

**Medizinische Klinik III und Poliklinik
der Justus-Liebig-Universität Gießen**

**Bone Sialoprotein (BSP) ein neuer
Knochenstoffwechselfparameter-
Wertigkeit unter Berücksichtigung der etablierten
Knochenumsatzparameter**

**Inauguraldissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
im Fachbereich
Haushalts- und Ernährungswissenschaft
der
Justus-Liebig-Universität
in
Gießen**

vorgelegt
von
Tilla Ruf
Gießen
1999

Mitglieder der Prüfungskommission:

Vorsitzender:	Herr Prof. Dr. P.M. Schmitz
1. Gutachter:	Herr Prof. Dr. med. H. Stracke
2. Gutachter:	Frau Prof. Dr. I. Bitsch
Prüfer:	Herr Prof. Dr. M. Krawinkel
Prüfer:	Herr prof. Dr. A. Schulz

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung und Problemstellung	1
2.	Knochen	3
2.1	Histologischer Aufbau des Knochengewebes	3
2.2	Grundlagen des Knochenstoffwechsels	6
2.3	Biochemische Marker des Knochenstoffwechsels	9
2.3.1	Biochemische Marker der Knochenformation	11
2.3.1.1	Alkalische Phosphatase (AP)	11
2.3.1.2	Osteocalcin (OC)	11
2.3.1.3	Prokollagen Typ I-Propeptide (PICP, PINP)	12
2.3.2	Biochemische Marker der Knochenresorption	14
2.3.2.1	Hydroxyprolin	14
2.3.2.2	Hydroxylysin-Glykoside	15
2.3.2.3	Hydroxypyridinium-Crosslinks	16
2.3.2.4	Tartrat-resistente-saure Phosphatase (TRAP)	17
2.4	Hormonelle Regulation	18
2.4.1	Parathormon (PTH)	18
2.4.2	Vitamin D3	18
2.4.3	Calcitonin	19
2.4.4	Östrogene	20
2.4.5	Weitere Faktoren	21
2.5	Biochemische Marker des Knochenstoffwechsels bei häufigen Knochenerkrankungen	23
2.5.1	Primärer Hyperparathyreoidismus	23
2.5.2	Morbus Paget	24
2.5.3	Knochenmetastasen	25
2.5.4	Weitere Anwendungsmöglichkeiten der biochemischen Knochenstoffwechselfparameter	27

2.6	Osteoporose	29
2.6.1	Definition der Osteoporose	29
2.6.2	Einteilung der Osteoporose	30
2.6.3	Pathophysiologie	31
2.6.4	Epidemiologie	33
2.6.5	Knochendichte und Osteoporose	34
2.6.6	Biochemische Marker des Knochenstoffwechsels	35
2.6.7	Risikofaktoren	37
2.6.7.1	Genetische Faktoren	39
2.6.7.2	Hormonelle Faktoren	39
2.6.7.3	Ernährungsbedingte Faktoren	39
2.6.7.4	Exogene Faktoren	40
2.6.8	Prophylaxe	40
2.6.9	Therapie	41
2.7	Bone Sialoprotein (BSP)	44
3.	Experimentelle Untersuchungen und Methoden	49
3.1	Studienpopulation und Datenerhebung	49
3.2	Laborchemische Bestimmung der Knochenstoffwechselfparameter	50
3.2.1	Knochenspezifische alkalische Phosphatase (BAP)	50
3.2.2	Osteocalcin (OC)	52
3.2.3	Carboxyterminales Propeptid des Typ I-Prokollagen (PICP)	54
3.2.4	Parathormon (PTH)	56
3.2.5	Bone Sialoprotein (BSP)	58
3.3	Knochendichtemessung	59
3.4	Statistische Auswertung	60
4.	Ergebnisse	61
4.1	Deskriptive Statistik	61

4.1.1	Bone Sialoprotein (BSP)	77
4.2	Knochenstoffwechselfparameter	78
4.2.1	Knochenspezifische alkalische Phosphatase (BAP)	78
4.2.2	Osteocalcin (OC)	81
4.2.3	Carboxy-(C)-terminales Prokollagen Typ-I-Propeptid (PICP)	84
4.2.4	Zusammenfassung	87
4.3	Parathormon (PTH)	88
4.4	Vitamin D3	91
4.5	Geschlechtshormone	94
4.5.1	Östradiol	94
4.5.2	Testosteron	98
4.6	Osteodensitometrie	100
4.6.1	Lendenwirbelsäule ap	100
4.6.2	Schenkelhals ap	103
4.7	Zusammenfassung der Ergebnisse	106
5.	Diskussion	107
5.1	Methodische Aspekte	107
5.2	Deskriptive Statistik der Studienpopulation	108
5.3	Knochenstoffwechselfparameter	109
5.3.1	Bone Sialoprotein (BSP)	109
5.3.2	Knochenspezifische alkalische Phosphatase	110
5.3.3	Osteocalcin (OC)	112
5.3.4	Carboxyterminales Propeptid des Typ I-Prokollagen (PICP)	114
5.4	Parathormon (PTH)	116
5.5	Vitamin D3	118

5.6	Östradiol und Testosteron	119
5.7	Knochendichte	121
6.	Zusammenfassung	123
7.	Literatur	126

Abkürzungen

AP	=	Alkalische Phosphatase
BAP	=	Knochenspezifische alkalische Phosphatase
BSP	=	Bone Sialoprotein
cAMP	=	zyklisches Adenosinmonophosphat
DPD	=	Deoxypyridinolin
GLM	=	general linear model
IGF	=	Insulin-like growth factor
M	=	Mittelwert
Med	=	Median
n	=	Anzahl
NKP	=	Nicht-kollagene Proteine
OC	=	Osteocalcin
OHP	=	Hydroxyprolin
ON	=	Osteonektin
OP	=	Osteopontin
PG	=	Proteoglykane
pHPT	=	primärer Hyperparathyreodismus
PICP	=	carboxyterminales Propeptid des Typ I-Prokollagens
PINP	=	aminoterninales Propeptid des Typ I-Prokollagens
PTH	=	Parathormon
PYD	=	Pyridinolin
RNS	=	Ribonukleinsäuren
ROC	=	receiver operating characteristic
SD	=	Standardabweichung
SDM	=	Standardabweichung vom Mittelwert
TAP	=	Gesamt-(totale) alkalische Phosphatase
TGFα	=	transforming growth factor α
TRAP	=	Tartrat-resistente saure („acid“) Phosphatase

1. Einleitung und Problemstellung

Das Krankheitsbild der Osteoporose hat in den letzten Jahren zunehmend das Interesse von Ärzten gewonnen, da sich aufgrund der veränderten Bevölkerungsstruktur ihr Auftreten vermehrt hat. Es handelt sich hierbei um die häufigste Stoffwechselerkrankung des Knochens, die weltweit verbreitet ist. Definiert wird Osteoporose „als eine systematische Skeletterkrankung, mit einer niedrigen Knochenmasse und einer Störung der Mikroarchitektur des Knochengewebes, mit daraus resultierender erhöhter Knochenbrüchigkeit und erhöhtem Frakturrisiko“ (Weltgesundheitsorganisation WHO 1994). Das vorrangig klinische Symptom ist eine Fraktur im Bereich der Wirbelsäule, am Schenkelhals und am distalen Radius. Innerhalb des ersten Jahres nach der Fraktur wurden Mortalitätsraten von 12-14% festgestellt. 30% aller Frauen und 5% aller Männer werden befallen, wobei der Anteil im Alter noch ansteigt. Osteoporose tritt überwiegend bei Frauen auf (80% der Erkrankten), bevorzugt solche, die sich in der Postmenopause befinden. Hauptursache ist ein Mangel an Sexualhormonen, hervorgerufen durch eine verminderte Funktion der Keimdrüsen. Doch auch Bewegungsmangel, Ernährungsdefizite an Kalzium und Vitamin D, sowie erhöhter Verzehr von phosphatreicher Kost (Spinat, Fisch) und übermäßiger Nicotin- und Alkohol-konsum fördern die Entstehung einer Osteoporose. Aufgrund unzureichender Heilungsmöglichkeiten ist die Prävention von besonderer Bedeutung. Schon durch ausreichende Bewegung (45 Minuten täglich) und ausgewogene Ernährung (1,5g Kalzium, 10 g Vitamin D pro Tag) läßt sich das Osteoporoserisiko senken. Zusätzlich ist eine Substitution der Geschlechtshormone empfehlenswert (37).

Die Diagnostik der Osteoporose besteht aus Anamnese, klinischen Untersuchungen, Knochendichtemessung und Laboruntersuchungen. Bei letztem stehen die biochemischen Marker des Knochenstoffwechsels im Vordergrund, die in Marker der Knochenformation (Osteocalcin OC, alkalische Phosphatase BAP, Prokollagen Typ-I-Propeptide PICP) und der Knochenresorption (Hydroxyprolin, Hydroxylysin-Glykoside, Hydroxypyridinium-Crosslinks, Tartrat-resistente saure Phosphatase TRAP) eingeteilt werden.

Liegt eine Osteoporose vor zielt die medikamentöse Therapie darauf ab, den Knochenaufbau zu stimulieren und den Abbau zu bremsen. Dafür gibt es verschiedene Möglichkeiten mit einer antiresorptiven Therapie und der Gabe von Kalzium, Vitamin D₃, Östrogen, Testosteron, Fluoride sowie Calcitoninen. Zusätzlich ist oft eine symptomatische Behandlung zur Verringerung der Schmerzen nötig.

Bone Sialoprotein (BSP) ist ein Protein, das von Osteoblasten und Osteoklasten gebildet wird. In bisher vorliegenden Studien wurde festgestellt, daß die BSP-Konzentration im Serum von postmenopausalen Frauen, Patienten mit Knochenerkrankungen und rheumatischer Arthritis sowie Krebspatienten mit Knochenmetastasen ansteigt. Sie korreliert bei Patienten mit

Knochenmetastasen mit der Konzentration von alkalischer Phosphatase (BAP) und der von Prokollagen Typ-I-Propeptide (PICP) (108). Die Konzentration von BSP korreliert in Patienten mit rheumatischer Arthritis mit Osterocalcin (86). BSP scheint somit, ein Marker für einen erhöhten Knochenstoffwechselumsatz zu sein.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es zu evaluieren, inwiefern BSP bei Patienten mit und ohne Osteoporose, getrennt nach Geschlecht, mit Markern des Knochenstoffwechsels, Parametern des Serums und der Knochendichte korreliert.

2. Knochen

2.1 Histologischer Aufbau des Knochengewebes

Knochen sind platten-, würfel- oder röhrenförmige Skelettelemente, die dem menschlichen Organismus hauptsächlich als Stütz- und Bewegungsapparat dienen. Daneben finden in ihnen Stoffwechselprozesse statt und sie sind ein Speicherorgan für Mineralstoffe (90% des Körperkalziums, 75% des Körperphosphats). Jeder Knochen besteht aus zwei unterschiedlichen Substanzen, der kompakten Kortikalis, die als äußere kompakte Schicht aus Lamellen den Knochen umgibt, und der trabekulären Spongiosa, die im Inneren ein schwammartiges Balkenwerk bildet. Jedoch sind diese Schichten je nach Knochenart verschieden stark ausgeprägt.

Die strukturelle Einheit des kortikalen Knochens bildet das Osteon, daß als zylindrische Struktur geformt ist, mit einer Länge von bis zu 5 cm und einem Durchmesser von 20 - 300 μm . Es besteht aus einem Zentralkanal (Havers'schen Kanal), um den konzentrisch 3-20 Lamellen von 2-3 μm Dicke angeordnet sind, die von Osteozyten und der Knochenmatrix umgeben sind. Die Lamellen werden durch parallel angeordnete Kollagenfaserbündel mit Apatitkristallen gebildet, während der Havers'sche Kanal aus Blut- und Nervengefäßen besteht. Verbunden werden die einzelnen Osteone durch laterale Verzweigungen, die Volkmann'schen Kanäle (68).

In jeder Lamelle eines Osteons liegen Osteozyten, die sich in abgeflachten Höhlen der Spongiosa befinden, von denen radiär Knochenkanälchen ausgehen. Diese bezeichnet man als Kanalikuli, sie dienen der Diffusion von Sauerstoff und Nährstoffen, stehen untereinander in Verbindung und schließen an den Zentralkanal an.

Das Osteon wird von zwei Bindegewebsschichten umhüllt. Das Periost (Knochenhaut) bedeckt den Knochen von außen, es enthält Mesenchymzellen, ist reich an Nerven und führt die für die Ernährung des Knochens notwendigen Gefäße, außerdem ist es für das Dickenwachstum verantwortlich. Das Endost liegt der Kortikalis als dünnes Bindegewebshäutchen von innen auf und grenzt sie vom Knochenmark ab.

Die trabekuläre Spongiosa enthält im Gegensatz zur kompakten Struktur der Kortikalis ein komplexes Netzwerk, in dem die Anordnung nicht so systematisch ist. Es fehlen hier die regulär aufgebauten Osteone, dagegen existieren konzentrisch angeordnete Osteozyten, die über kanalikuläre Verzweigungen miteinander in Verbindung stehen. In den Maschen des Netzwerkes befindet sich blutbildendes Knochenmark (136) (Abb.2.1).

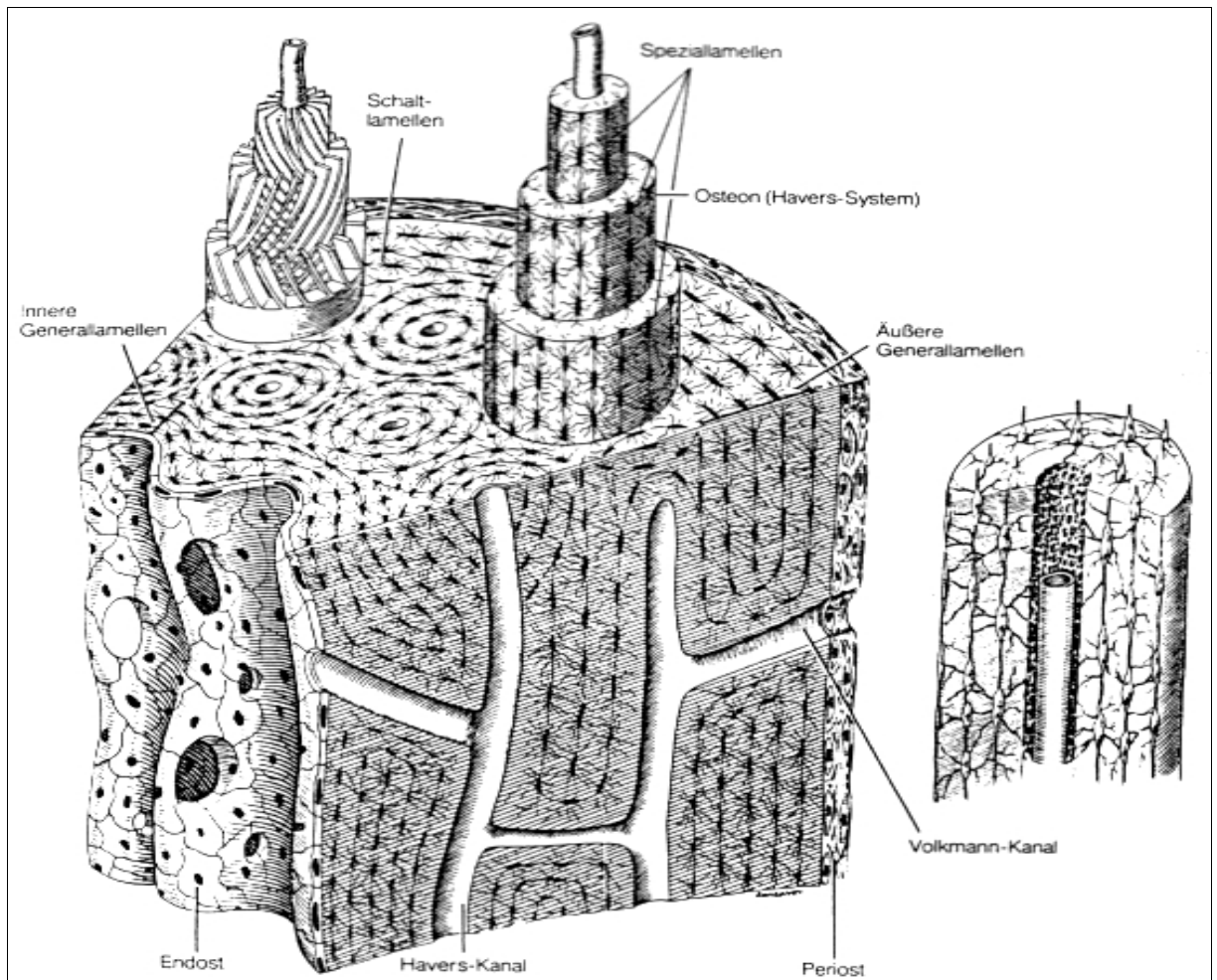


Abb. 2.1: Schematische Zeichnung eines Ausschnitts der Substantia compacta der Diaphyse eines Röhrenknochens. Zu unterscheiden sind vier Lamellensysteme: Osteone (Havers-Systeme) mit Speziallamellen eines Osteons dargestellt. Rechts sind ein Osteon mit Zentralkanal, der ein Blutgefäß enthält, Speziallamellen und Osteozyten mit Fortsätzen herausgezeichnet. (nach Tittel 1990 (136))

Knochen werden makroskopisch in drei Arten unterteilt: lange, kurze und platte Knochen. Lange Knochen werden als Röhrenknochen bezeichnet und sind typisch für die Extremitäten. Sie gliedern sich in die Diaphyse (Knochenmittelteil), Epiphysen (Knochenenden) und Metaphysen (Zwischenteil). Die Diaphyse hat eine sehr dicke oberflächliche Kortikalis und nur eine geringe Spongiosa, dadurch verbleibt im Knocheninneren eine zusammenhängende Knochenhöhle. In den Epiphysen ist die Kortikalis vergleichsweise dünn, aber Knochenbälkchen füllen das Innere aus. Sie sind teilweise überknorpelt und tragen Gelenke. Die Metaphysen dienen während der Knochenentwicklung als Epiphysenplatten dem Knochenwachstum.

Kurze Knochen, z. B. Wirbelkörper, haben eine dünne Kortikalis und eine ausfüllende Spongiosa, während bei flachen Knochen, z.B. Schulterblatt, Brustbein, beide Schichten nur sehr gering ausgeprägt sind (68).

Obwohl Geflechtknochen nur 20% der gesamten Knochenmasse ausmachen, haben sie durch ausgeprägte Verschachtelungen ein zehnfaches Oberflächen/Volumen-Verhältnis im Vergleich zur Kortikalis und eine achtmal höhere metabolische Aktivität. Somit haben Störungen der skelettalen Homöostase raschere Auswirkungen auf die trabekuläre als auf die kompakte Knochenmasse.

2.2 Grundlagen des Knochenstoffwechsels

Die zwei Hauptzelltypen des Knochens sind Osteoblasten, die für die Synthese der organischen Bestandteile der Knochengrundsubstanz (Kollagen, Proteoglykane, Glykoproteine) verantwortlich sind, und Osteoklasten, deren Hauptaufgabe in der Resorption des Knochens liegt (68).

Der Ursprung der Osteoblasten ist eine Vorläuferzelle mesenchymaler Herkunft, die sehr proliferationsfreudig ist und sich in eine Vielzahl von Zellen differenzieren kann. So können sich aus Osteoblasten Osteozyten und osteoblastische „Lining cells“ entwickeln (70). Diese Umwandlungsprozesse unterliegen komplexen, nur zum Teil bekannten, Steuerungsmechanismen, wobei osteotrope Hormone wie Parathormon, Vitamin D-Hormon und Calcitonin eine Rolle spielen. Doch auch Wachstums-, Schilddrüsenhormone und Wachstumsfaktoren (IGF, TGF α) sind von Bedeutung(30). Osteozyten sind wahrscheinlich an der interzellulären Kommunikation der Zellen beteiligt und geben Druckänderungen sowie chemische Informationen an die Oberflächenzellen weiter. „Lining cells“ sind Osteoblasten, die nach Beendigung der Syntheseleistung in der Ruhephase auf den trabekulären Oberflächen der Knochen liegen. Sie reagieren auf knochenresorbierende Hormone, in dem sie Botenstoffe freisetzen, die Osteoklasten aktivieren.

Die Hauptfunktion der Osteoblasten ist die Produktion und die Mineralisation der Knochenmatrix. Diese besteht zu 85-90% aus Typ-I-Kollagen und zu 10-15% aus nicht-kollagenen Proteinen und macht 40% des Trockengewichts aus. Unter den nicht-kollagenen Proteinen dominieren Osteocalcin und Osteonectin, die eine hohe Affinität zu Calcium besitzen, sowie Bone Sialoprotein (BSP) mit einem Anteil von jeweils 15%. Fibronectin und Osteopontin sind für die Zelladhäsivität verantwortlich. Hinzu kommen einige kleinere Proteoglykane wie Biglykan und Decorin (119) (Abb. 2.2).

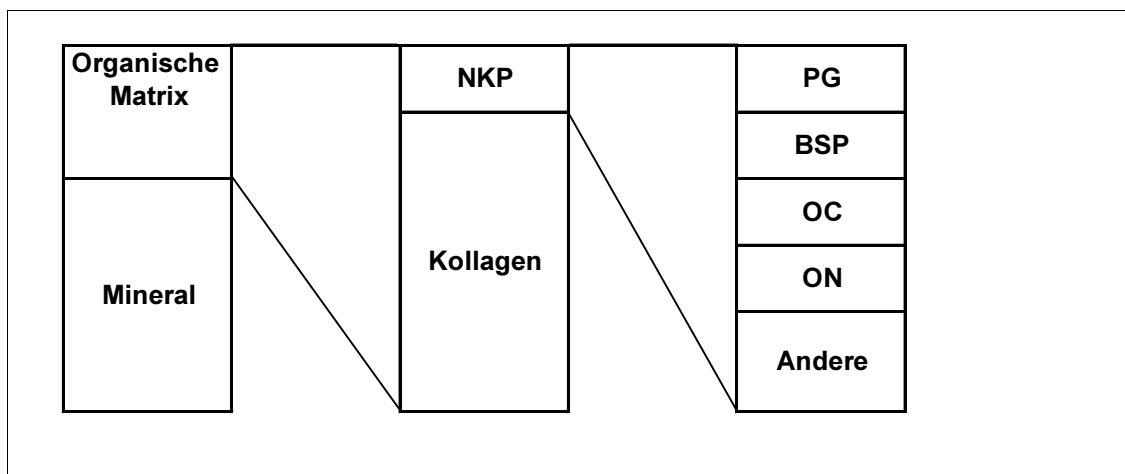


Abb. 2.2: Biochemie des Knochens

Knochen bestehen aus einer organischen Matrix, die durch eine Kalzium-reiche Mineralphase verstärkt und mechanisch stabilisiert wird. Die organische Matrix selbst, die ca. 40 % des Trockengewichts ausmacht, setzt sich zu 90% aus Kollagen Typ I und zu 10% aus nicht-kollagenen Proteinen (NKP) zusammen. Unter den nicht-kollagenen Proteinen dominieren Osteocalcin (OC) und Bone Sialoprotein (BSP) mit einem Anteil von je ca. 15%. Kleinere Proteoglykane (PG) wie Biglykan und decorin sowie eine Vielzahl anderer Matrixkomponenten kommen hinzu (nach Seibel et al 1993 (119)).

Die Proliferationsphase ist durch die Synthese von Typ-I-Kollagen charakterisiert, das die organische Matrix der noch nicht verkalkten Grundsubstanz bildet. Diese wird als Osteoid bezeichnet. Während der zehntägigen Reifungsphase wird alkalische Phosphatase, deren Aktivität im Serum zur Abschätzung der Osteoblastentätigkeit dient, sezerniert. Danach erfolgt die Mineralisation, bei der die Expression von Osteocalcin dominiert (127).

Bei der Knochenentwicklung unterscheidet man zwischen desmaler Ossifikation (direkte Knochenbildung) und chondraler Ossifikation (indirekte Knochenbildung). Bei ersterer geht der Knochen direkt aus dem Mesenchym hervor, wogegen bei der indirekten Bildung zuerst ein Knorpel gebildet wird, der dann schrittweise durch Knochen ersetzt wird. Die Zellen entstammen hier dem periostalem Bindegewebe und durchsetzen das Knorpelmodell ein (68).

Osteoklasten sind große, bewegliche, mehrkernige Riesenzellen, die in der Lage sind, Knochengrundsubstanz abzubauen. Sie entstehen aus einer genetisch determinierten Monozytenpopulation, die nach der Proliferationsphase fusionieren. Die Steuerung der Osteoklasten erfolgt hormonell, aktiviert werden sie durch Prostaglandine, Interleukine, Vitamin D-Hormon, Tumornekrosefaktor und Kollagen Typ I-Metaboliten, während Calcitonin, Östrogene, IL2 und TGF- β hemmend wirken.

Die Knochenmasse ist das Ergebnis gegenläufiger Stoffwechselprozesse und ergibt sich aus der Differenz zwischen Knochenneubildung und Knochenabbau. Beide Prozesse verlaufen parallel, so daß die Erhaltung der Masse gewährleistet ist. Eine solche Abstimmung wird als „coupling“ bezeichnet (65). Eine steigende Resorptionsaktivität bei gleicher Formationsaktivität oder eine verminderte Formation bei unveränderter Resorption nennt man „uncoupling“. Dies führt zu einem Knochenmasseverlust und daraus folgender Osteoporose. Zur Diagnose von Knochenerkrankungen werden die statische Knochenmasse und der dynamische Knochenumsatz gemessen (Abb. 2.3).

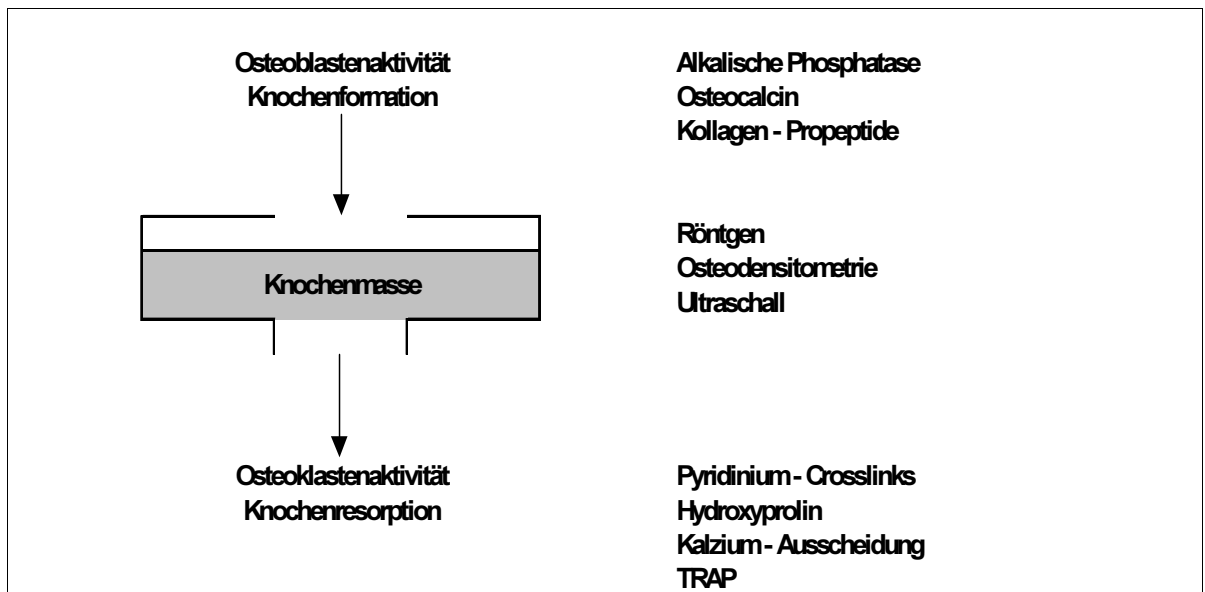


Abb. 2.3: Knochenmasse und Knochenstoffwechsel (119)

Die aktuelle Knochenmasse ist eine sich nur langsam verändernde Größe, die durch radiologische und osteodensitometrische Verfahren quantitativ erfaßt werden kann. Die Knochenmasse ist die Resultante des Netto-Effekts aus Knochenformation und Knochenresorption. Dies sind Prozesse, die ihrerseits durch mehr oder weniger spezifische Parameter des Knochenstoffwechsels evaluiert werden können. Statische Knochenmasse und dynamischer Knochenumsatz sind somit zwie komplementäre Größen, die sich in der Beurteilung der skelettalen Homöostase und in der Diagnostik von Knochenerkrankungen gegenseitig ergänzen sollten. (nach Seibel et al 1993 (119))

2.3 Biochemische Marker des Knochenstoffwechsels

Zur Bestimmung der Knochenmasse sowie der Knochenaufbau- und -abbauprozesse gibt es unterschiedliche biochemische Knochenmarker (Abb. 2.4), die sich in zwei Gruppen einteilen lassen:

- Parameter der enzymatischen Aktivität bei Formation und Resorption
- Matrixbestandteile, die beim Knochenstoffwechsel freigesetzt werden

Als enzymatischer Marker der Osteoblastentätigkeit gelten die alkalische Phosphatase (AP) und ihr Isoenzym die Knochen-AP (BAP), wogegen Osteocalcin und Propeptide des Typ-I-Prokollagens zu den Matrixbestandteilen zählen.

Für die Osteoklastenaktivität dagegen ist die Tartrat-resistente saure Phosphatase (TRAP) charakteristisch. Als Degradationsprodukte der organischen Knochenmatrix entsteht Hydroxyprolin, daß in der ausgeschiedenen Menge Urin gemessen wird und so als Knochenabbauparameter verwendet wird. Eine neuere Methode ist der Nachweis der Hydroxypyridinium-Crosslinks im Urin (119).

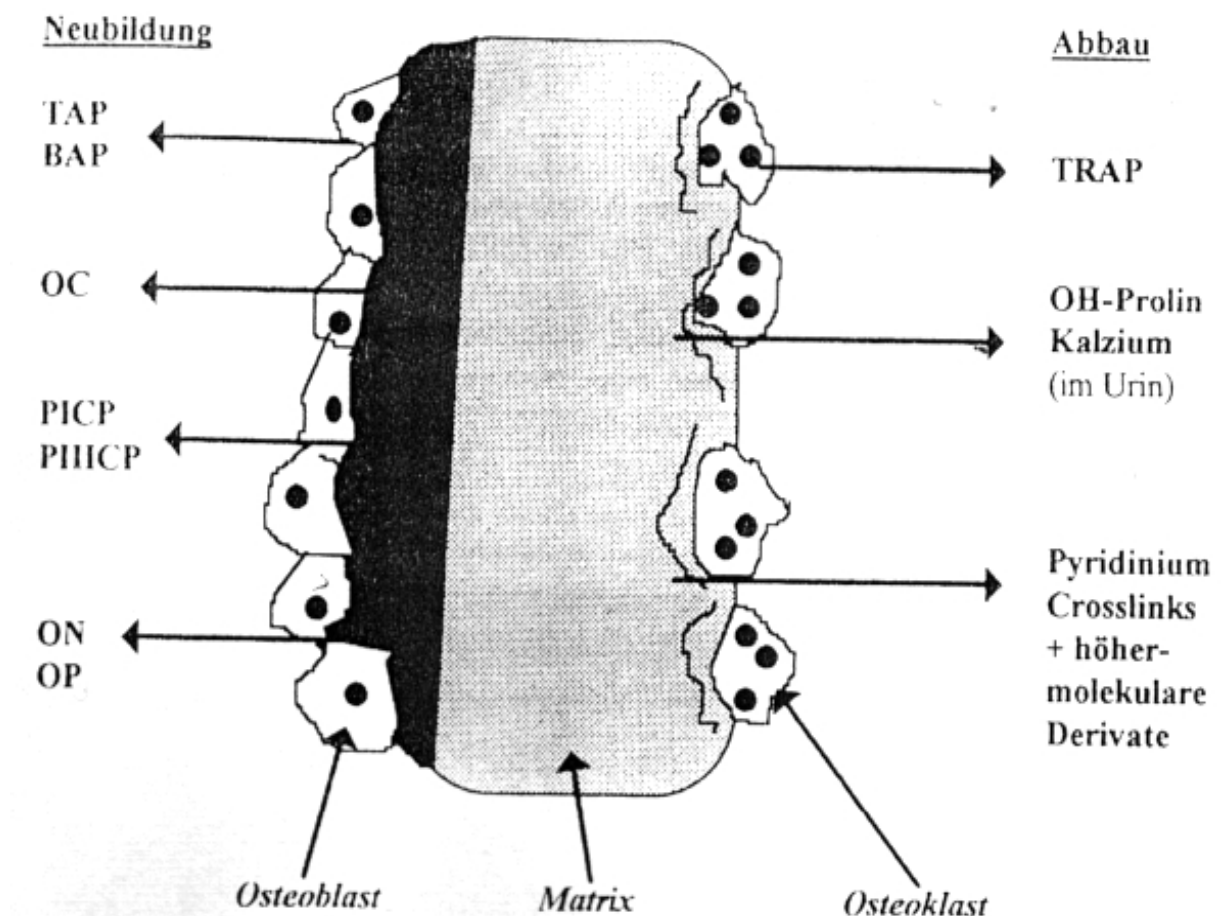


Abb. 2.4: Schematische Darstellung der derzeit aktuellen Knochenstoffwechselparameter

Als enzymatische Marker der osteoblastären Aktivität gelten die Gesamt-alkalische Phosphatase (TRAP) und sowie das Knochen-Isoenzym, die knochenspezifische alkalische Phosphatase (BAP). Matrix-assoziierte Aufbauprozesse werden durch die Bestimmung von Serum-Osteocalcin (OC) und –Kollagenpropeptiden (PICP) reflektiert. Die Plasmakonzentrationen der Tartrat-resistenten sauren Phosphatase (TRAP) als spezifisches Osteoklastenzym korrelieren mit der Knochenresorptionsrate, ebenso wie bestimmte Degradationsprodukte der organischen Knochenmatrix: Hydroxy-(OH-) prolin und Kalzium-Ausscheidung im Urin, Hydroxypyridinium-Crosslinks und quervernetzte Telopeptide. ON: Osteonectin, OP: Osteopontin (nach Seibel et al 1993 (119))

Tab. 2.1: Übersicht der biochemischen Parameter des Knochenumsatzes (nach Delmas 1993 (32))

Bildung	Resorption
Leistungsstarke Marker: - Osteocalcin (Gla-Protein des Knochens) - gesamte und knochenspezifische alkalische Phosphatase	Leistungsstarke Marker: - Pyridinolin, Deoxypyridinolin - gesamtes und dialysierbares Hydroxyprolin
Andere Marker: - Prokollagen I Extensionspeptide - andere nicht-kollagene Knochenproteine (?)	Andere Marker: - Tartrat-resistente saure Phosphatase - Hydroxylysin-Glykoside - freie γ-Carboxyglutaminsäure - Fragmente nicht-kollagener Proteine (?)

2.3.1 Biochemische Marker der Knochenformation

2.3.1.1 Alkalische Phosphatase (AP)

Die alkalische Serumphosphatase ist der am häufigsten verwendete Marker des Knochenaufbaus, jedoch ist ihre Spezifität eingeschränkt, da ihre Gesamtaktivität im Serum von Erwachsenen zur einen Hälfte aus der Leber stammt und zur anderen aus den Knochen. Bei Kindern überwiegt aufgrund des Skelettwachstums das knochenspezifische Isoenzym mit bis zu 90%. Da bei einer Osteoporose keine Erhöhung der gesamtalkalischen Phosphatase zu beobachten ist, wird der selektive Nachweis des knochenspezifischen Isoenzym der AP (BAP-Bone Alkaline Phosphatase) bevorzugt, wobei gute Korrelationen der Serum-BAP mit der Gesamt-AP festgestellt werden (37).

Als Bestimmungsmethoden wurden die elektrophoretische Auftrennung und die Lektinfällung verwendet, mittlerweile sind direkte Immunoassays (ELISA) verfügbar. Hierbei richten sich die monoklonalen Antikörper gegen die spezifischen Kohlenhydratkomponenten der Isoenzym-Seitenketten.

2.3.1.2 Osteocalcin (OC)

OC (Bone-GLA-Protein) gehört zu den nichtkollagenen Knochenproteinen und wird von Osteoblasten in der Phase der Mineralisation gebildet. Es ist ein Vitamin K-abhängiges und durch Vitamin D stimulierbares, Hydroxyapatit-bindendes Protein mit einem Molekulargewicht von 5000 D (104). Vom neusynthetisierten Osteocalcin werden 80% in die extrazelluläre Knochenmatrix eingebaut, wo das Peptid den größten Teil der nicht-kollagenen Proteinfraction ausmacht. Seine Funktion ist noch nicht ganz geklärt, man geht davon aus, daß es eine Rolle bei der Regulierung des Kalzifikationsprozesses im Osteoid spielt. Ein kleiner Teil des gebildeten OC wird in die Zirkulation abgegeben, wo es rasch degradiert wird (Abb. 2.5). Die Serum-Spiegel von OC korrelieren gut mit der Knochenformationsrate. Die Halbwertszeit beträgt in vivo etwa 4 Minuten, so finden sich im Serum intakte, bioaktive (= karboxylierte) Peptide und Proteinfragmente (119). Dadurch ergeben sich Schwierigkeiten bei der klinischen Anwendung dieses Markers, da die Osteocalcin-Fragmente bei eingeschränkter Kreatinin-Clearance kumulieren. Weiterhin reagieren die Antikörper mit Osteocalcin und dessen Fragmenten. Durch die Instabilität des Molekül und seine deutliche zirkadiane Rhythmik mit einem Peak am frühen Morgen, ist der Zeitpunkt der Konzentrationsmessung von großer Bedeutung.

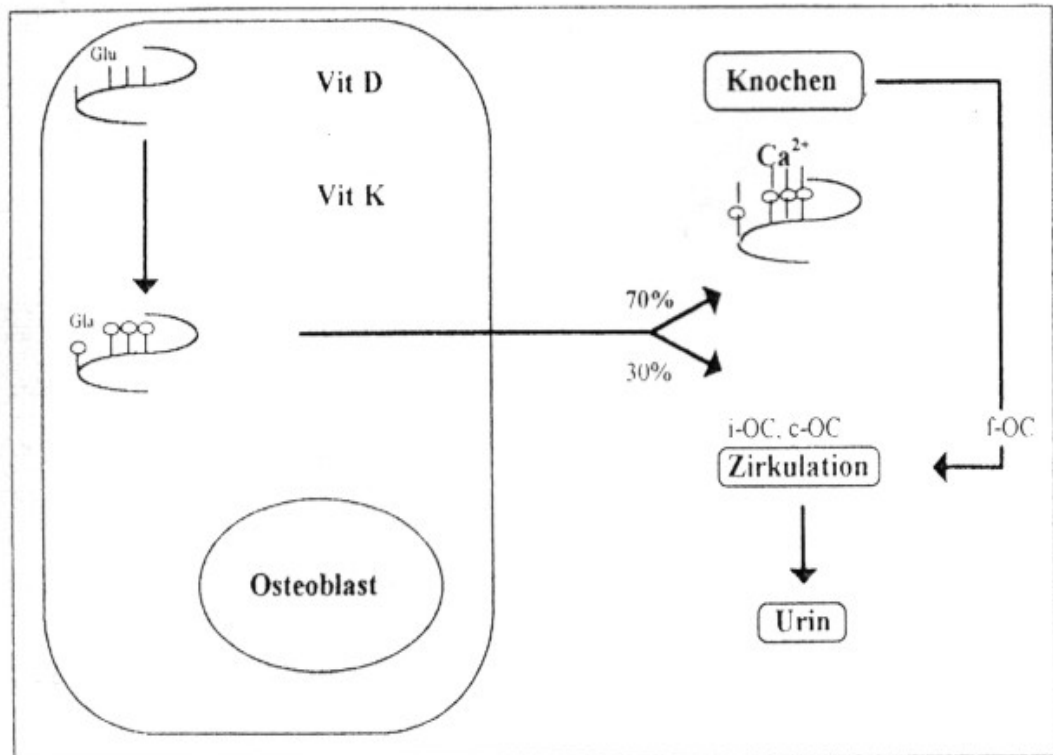


Abb. 2.5: Osteocalcin-Metabolismus

Die Synthese von Osteocalcin (OC) wird durch Vitamin D stimuliert und zeigt eine Abhängigkeit von der Vitamin K-Versorgung. 70-80% des neugebildeten OC werden über die Affinität der Gla-Residuen an Hydroxylapatit im Knochen gebunden, während 20-30% als intaktes (i-OC) bzw. carboxyliertes OC (c-OC) in die Zirkulation gelangen. Hier erfolgt eine rasche Degradation zu OC-Fragmenten (f-OC), die z.T. auch bei der Degradation des primär in den Knochen inkorporierten OC freigesetzt werden (nach Seibel et al 1993 (119))

2.3.1.3 Prokollagen Typ-I-Propeptide (PICP, PINP)

Typ I-Kollagen ist mit 90% der Gesamt-Proteinfraktion das am häufigsten vorkommende Knochenkollagen. Es wird bei der Matrixbildung während der osteoblastären Proliferationsphase synthetisiert. Je nach endständigen Extensionspeptiden unterscheidet man das amino-(N)-terminale (PINP) vom carboxy-C-terminalen (PICP) Propeptid. Diese werden nach der Sekretion des Prokollagens durch spezifische Endopeptidasen abgespalten und in die Zirkulation freigegeben (105). Pro Mol synthetisiertem Kollagen entstehen je ein Mol PICP und ein Mol PINP, somit ist es möglich, von den Propeptiden auf die Menge an neugebildeten Typ I-Kollagen zu schließen (Abb. 2.6).

Im Serum findet man verschiedene Kollagen-Typen, neben dem Knochenkollagen auch Hautkollagen (Typ III: PICP, PINP), die aufgrund ihrer unterschiedlichen immunochemischen Eigenschaften selektiv gemessen werden können. Es existieren Immunoassays, die beide

Propeptidarten getrennt bestimmen. In Studien wurde gezeigt, daß PICP eine gute Korrelation zur Knochenaufbaurrate und der Aktivität der alkalischen Phosphatase (AP) aufweist (45). Schwierigkeiten ergeben sich jedoch bei der Anwendung zur Diagnostik von Knochenerkrankungen, da PICP und PINP einem zirkadianen Rhythmus mit höheren Serumspiegeln in der Nacht und niedrigen am Vormittag unterliegen. Außerdem sind ihre Konzentrationen von der Leber- und Nierenfunktion abhängig (37).

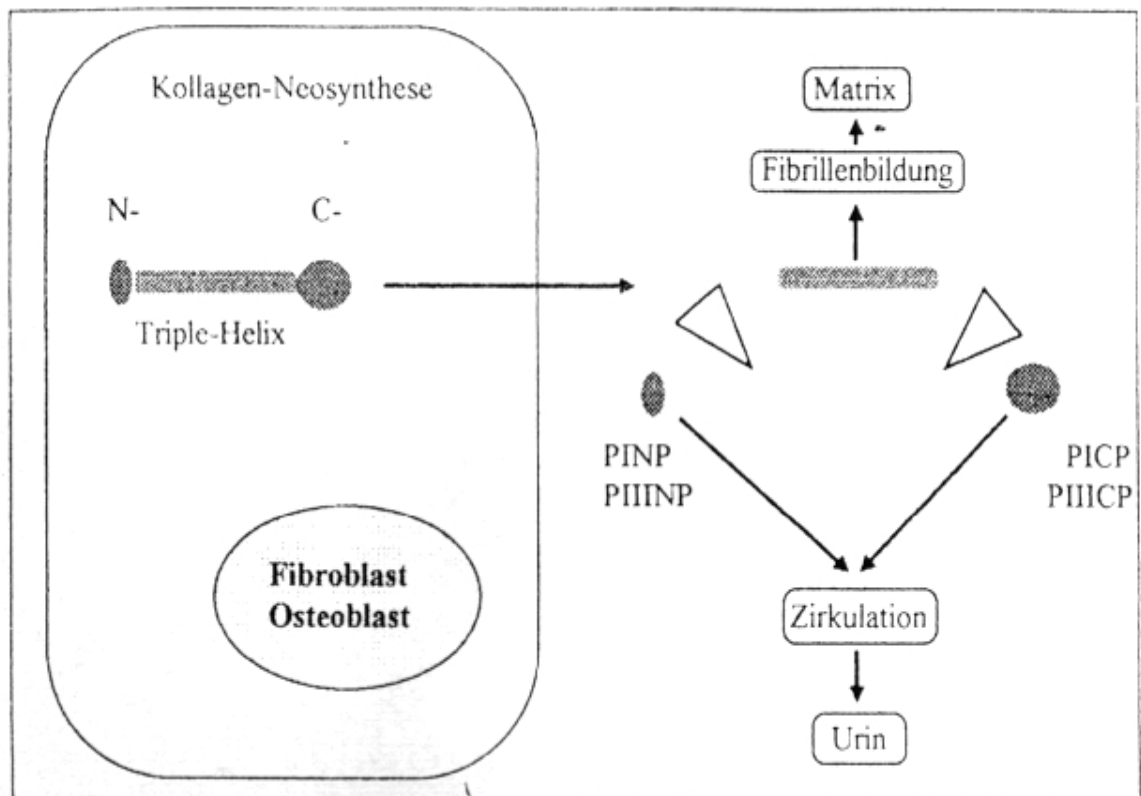


Abb. 2.6: Metabolismus der Kollagen-Propeptide

Die amino-(N-) und carboxyterminalen (C-) Propeptide (PINP, PICP) werden extrazellulär durch spezifische Propeptidasen vom Kollagenmolekül abgespalten und gelangen in äquimolarem Verhältnis zum neugebildeten Kollagen in die Zirkulation. Sie gelten als Typ-spezifische Marker der Kollagen-Neosynthese (nach Seibel et al 1993 (119)).

2.3.2 Biochemische Marker der Knochenresorption

2.3.2.1 Hydroxyprolin

Hydroxyprolin macht 12-14% des gesamten Aminosäuregehaltes im reifen Knochen aus und entsteht aus Prolin durch dessen Hydroxylierung. Beim Kollagenabbau wird es freigesetzt und befindet sich im Serum in drei Formen: als freie Aminosäure, als dialysierbares Hydroxyprolinpeptid und als nichtdialysierbares (kollagenähnliches) Protein. Da es für die Kollagenbiosynthese nicht reutilisiert werden kann, werden 75% zu Kohlendioxid und Wasser oxidiert, während der Rest unverändert im Urin ausgeschieden wird (83). Hier kann es in freier oder Peptid-gebundener Form mittels Kalorimetrischer oder HPLC-Methoden quantitativ bestimmt werden. Jedoch stammt nur die Hälfte des ausgeschiedenen Hydroxyprolins aus der Knochenmatrix, die anderer aus dem Kollagen mesenchymaler Gewebe. Der größte Anteil an zirkulierendem Hydroxyprolin, etwa 90%, wird bereits in der Leber metabolisiert (37) und ein kleiner Teil entstammt der Degradation neusynthetisierter Kollagene (Abb. 2.7). Außerdem kommt es noch in anderen kollagenen Bindegeweben wie z.B. der Haut (105) vor. Auch mit der Nahrung (Fleisch) kann Hydroxyprolin aufgenommen werden, weshalb eine Urinsammlung zur Bestimmung der Hydroxyprolinausscheidung als ein Maß für die Knochenresorption unter kollagenfreier Diät erfolgen muß.

Somit reflektiert die Messung der Hydroxyprolinausscheidung bei Knochenerkrankungen aufgrund mangelnder Spezifität nur ungenügend den Knochenumsatz.

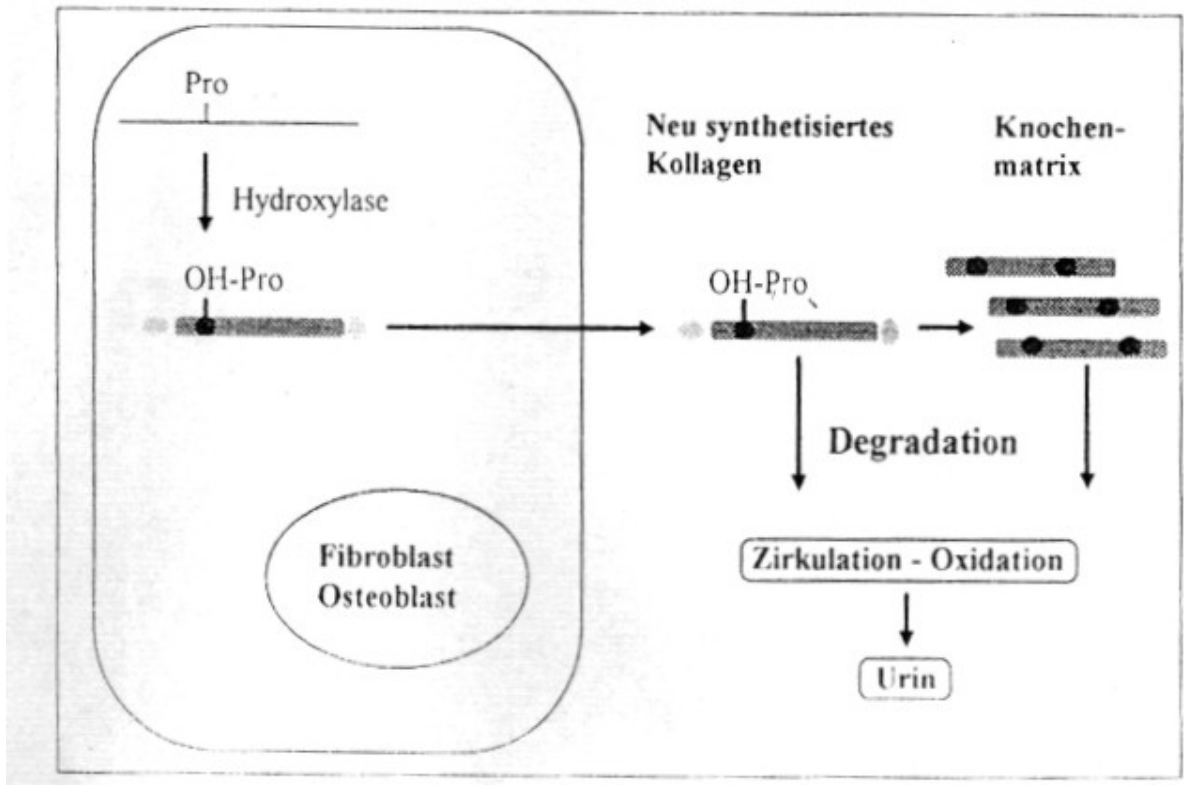


Abb. 2.7: Metabolismus von Hydroxyprolin

Hydroxyprolin (OH-Pro) entsteht intrazellulär durch die Hydroxylierung von Prolin und liegt damit bereits im neu-synthetisierten Kollagenmolekül vor. Während der größte Teil des OH-Prolins in die organische Matrix inkorporiert wird, gelangt ein kleinerer Teil bereits durch den Abbau von überschüssigem Neo-Kollagen in die Zirkulation. Etwa 90% des Serum-OH-Prolins werden in der Leber oxidiert, nur 10% gelangen in den Urin (nach Seibel et al 1993 (119))

2.3.2.2 Hydroxylysin-Glykoside

Hydroxylysin entsteht während der Kollagensynthese und wird als Kollagenbestandteil in die Knochenmatrix eingebaut. Es liegt in glykolisierter Form als Glukosyl-Galaktosyl- und als Galaktosyl-Hydroxylysin vor. Beim Knochenabbau wird es freigesetzt und im Urin ausgeschieden, wo es direkt quantitativ bestimmt werden kann (83). Die glykolisierten Formen von Hydroxylysin lassen sich nicht mehr metabolisieren, was ein Vorteil bei der Messung der Knochenresorptionsrate ist. Weiterhin finden sich in den Geweben unterschiedliche Anteile der glykolisierten Reste, so daß man spezifisch auf ein Gewebe (Haut, Knochen) schließen kann (74).

2.3.2.3 Hydroxypyridinium-Crosslinks

Die 3-(OH)-Pyridinium-Derivate Pyridinolin (PYD) und Deoxypyridinolin (DPD), die während der Knochenreifung gebildet werden, sind Quervernetzungs-komponenten (Crosslinks), welche die Triple-helices des Kollagens verbinden (37). Während der Knochenresorption wird die Matrix proteolytisch abgebaut, wobei die Quervernetzungen freigesetzt werden und in die Zirkulation gelangen (Abb. 2.8). Sie werden nicht mehr metabolisiert und über die Niere in freier oder peptidgebundener Form ausgeschieden. DPD ist ein spezifischer Bestandteil des Knochenkollagens, PYD dagegen kommt auch in Knorpelgewebe und Bändern vor, beide Derivate fehlen in dem Kollagen der Haut. Die peptidfreien Crosslink-Komponenten werden anhand ihrer natürlichen Fluoreszenz nachgewiesen. Es liegt hier eine Spezifität für resorptive Prozesse vor, da Hydroxypyridinium-Crosslinks im Gegensatz zu Hydroxyprolin nicht von der Kollagenneusynthese beeinflusst werden. Dies wurde durch Studien belegt, die eine gute Korrelation zwischen Crosslinks-Ausscheidung und Resorptionsparametern feststellten (31). Eine Verfälschung der Ergebnisse durch ernährungsbedingte Zufuhr ist nicht gegeben, da PYD und DPD nicht mit der Nahrung aufgenommen werden können. Somit liegt hier für DPD eine hohe Prozeß- und Gewebsspezifität vor (115).

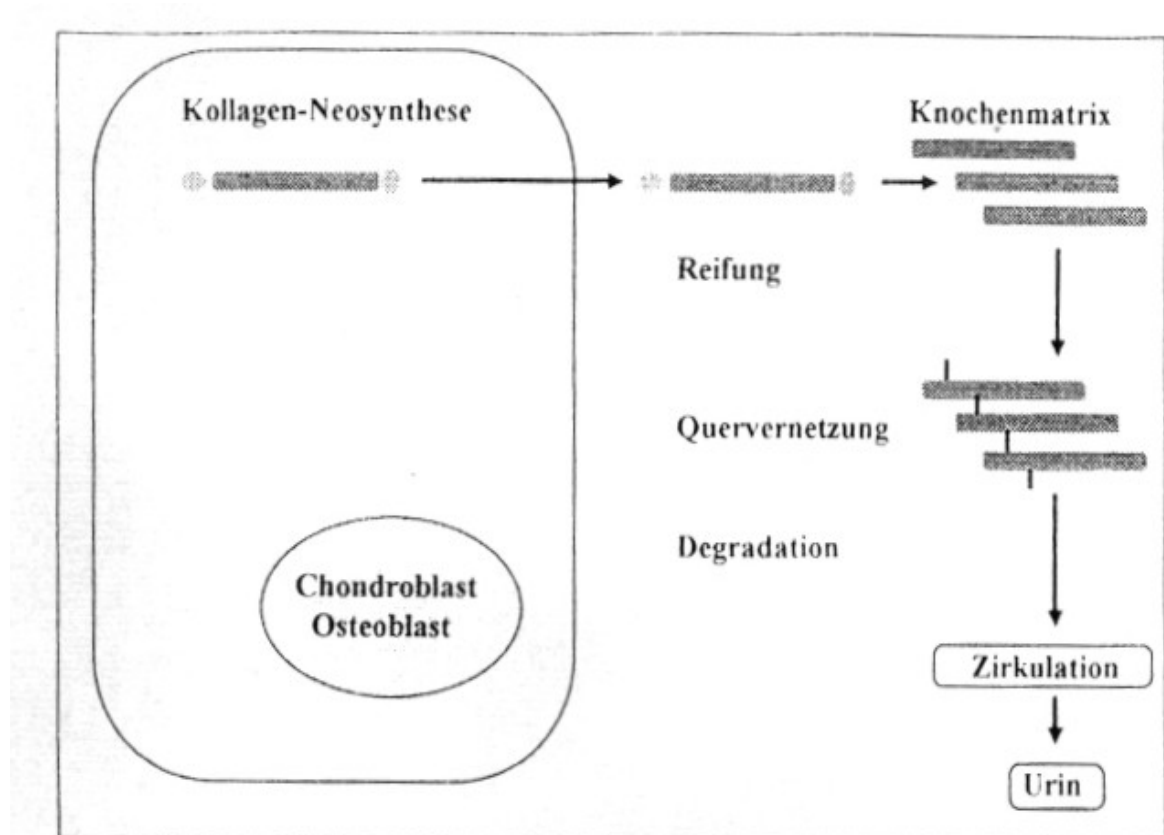


Abb. 2.8: Metabolismus von Hydroxypyridinium-Crosslinks

Nach der Aggregation der Kollagenmoleküle in der extrazellulären Matrix erfolgt die Quervernetzung des Kollagen-Netzwerkes. Dieser Quervernetzungsprozeß wird enzymatisch durch das Enzym Lysyloxidase initialisiert, im weiteren Verlauf entstehen über zunächst unreife Zwischenstufen nicht-reduzierbare, d.h. reife multifunktionelle Crosslinks. Bei der Degradation von Kollagen werden diese Quervernetzungskomponenten freigesetzt und, da sie im Körper nicht weiter utlisiert werden können, im Urin ausgeschieden (nach Seibel et al 1993 (119)).

Zum quantitativen Nachweis im Urin waren anfänglich aufwendige Chromatographie-Methoden (HPLC) notwendig. Mittlerweile jedoch existieren hochsensitive ELISA-Systeme zur Bestimmung von freiem PYD im Urin. Ein Nachteil besteht darin, daß die Anteile an Pyridinium-Derivaten im Urin auch bei gesunden Menschen großen interindividuellen Schwankungen unterliegen (121).

In zahlreichen Studien finden sich signifikant unterschiedliche Werte für prä- und postmenopausale osteoporotische Kollektive, wobei die gemessenen Werte vom Alter und der Dauer der Menopause abhängig sind. Bis zur Menopause bei Frauen und zum Alter von 55 Jahren bei Männern zeigen sich keine wesentlichen Änderungen der Hydroxypyridinium-Crosslink-Konzentrationen im Urin. Bei postmenopausalen Frauen und Männern in höherem Lebensalter sind steigende Urinkonzentrationen zu beobachten (121). Weiterhin unterliegt der Urinspiegel einer Tagesrhythmik mit hohen Werten in den frühen Morgenstunden und niedrigen am Nachmittag (109).

2.3.2.4 Tartrat-resistente-saure Phosphatase (TRAP)

Die saure Phosphatase ist ein ubiquitär vorkommendes Enzym, dessen verschiedene Isoenzyme in Knochen, Erythrozyten, Thrombozyten, Milz und Prostata vorkommen. TRAP ist charakteristisch für Osteoklasten, allerdings befinden sie sich auch in geringer Konzentration in den Erythrozyten (88). Durch ihre direkte Reaktion auf knochenabbauende Prozesse ist es ein wertvoller Parameter der Knochenresorption. Bei osteolytischen Metastasen, Morbus Paget und primärem Hyperparathyreodismus ist die Enzymaktivität deutlich erhöht (20), während sie bei chronischen Knochenerkrankungen mit niedriger Knochenumsatzrate, wie z.B. der Low-Turnover-Osteoporose, niedrige Werte zeigt.

Die Schwierigkeiten bei der Messung liegen in der Vermeidung einer Hämolyse bei der Probenentnahme und bei einer Stabilisierung des Enzyms mit Zitratpuffer, da TRAP bei Raumtemperatur rasch an Aktivität verliert (79). Somit spielt TRAP in der Bestimmung von Knochenerkrankungen eine untergeordnete Rolle.

2.4 Hormonelle Regulation

2.4.1 Parathormon

Das Parathormon hat einen osteoanabolen Effekt, der die Knochenneubildung stimuliert, sowie einen katabolen Effekt, der den Abbau des Knochens fördert. Dieser wird durch PTH-Rezeptoren auf Osteoblasten und „lining cells“ vermittelt, während der katabole auf der Stimulation der osteoklastären Knochenresorption bei gleichzeitiger Hemmung der osteoblastären Knochenformation zurückzuführen ist. Dies führt zu einer vermehrten Kalziumfreisetzung aus dem Knochen und zu erhöhtem Serumkalzium. Daneben wird die organische Knochenmatrix abgebaut, was durch erhöhte Spiegel von Kollagenpeptiden und Hydroxyprolin im Serum nachgewiesen werden kann. Im Knochen sind proteolytische, lysosomale und säureproduzierende Enzyme erhöht, wie z.B. die saure Phosphatase, die β -Glucuronidase und die Carboanhydrase, welches Osteoklastenmarker sind (70).

Nach der Parathormonexposition treten morphologische Veränderungen an Osteoblasten und Osteoklasten auf. Die Osteoblasten auf der Knochenoberfläche ziehen sich zusammen, was den direkten Kontakt mit dem Knochen ermöglicht. Die Osteoklasten bilden einen Bürstensaum und es erscheinen endozytische Vakuolen im Zytoplasma.

Parathormon aktiviert vorhandene Osteoklasten und erhöht den Osteoklastenpool durch Fusion mononukleärer Osteoklasten-Vorstufen. In der Niere stimuliert PTH die 25-Hydroxyvitamin-D₁- α -Hydroxylase, so daß das 25-Hydroxyvitamin D₃ in das biologisch aktive 1,25-Dihydroxycholecalciferol D₃ umgewandelt wird. Daneben stimuliert Parathormon die Kalzium- und Magnesiumausscheidung, während es die Phosphat- und Bicarbonat-Rückresorption hemmt. Dies führt zu einer Erhöhung des Serumkalziums, einer Erniedrigung des Serumphosphats und Begünstigung einer metabolischen Azidose (37).

2.4.2 Vitamin D₃

Der Tagesbedarf an Vitamin D schwankt zwischen 400 und 600 IE, wovon 60% durch kurze Sonnenlichteinwirkung von einigen Minuten in der Haut aus 7-Dehydrocholesterol synthetisiert werden. Die restlichen 40% stammen aus der Nahrung. Vitamin D₃ gelangt durch proteinabhängigen Transport in die Leber, wo es an der Seitenkette zu 25-Hydroxyvitamin D₃ hydroxyliert wird. Diese Zwischenstufe gelangt in die Niere, dort wird es unter dem Einfluß von Parathormon und Östrogenen in den biologisch aktivsten Metaboliten 1,25 Dihydroxycholecalciferol D₃ hydroxyliert. Um einer Hypervitaminose vorzubeugen, unterliegen alle Reaktionsschritte einer negativen Produkthemmung (37).

Das aktive Vitamin D₃ stimuliert die Ausreifung des frühen Präosteoklasten zum späten Präosteoklasten in der Differenzierungskaskade. In den Mukosazellen des Dünndarms stimuliert es die Synthese des kalziumbindenden Proteins, das für die Kalziumresorption aus dem Dünndarm notwendig ist, so daß der Kalziumserumspiegel ansteigt. Weiterhin wirkt es auf die natriumabhängige Phosphataufnahme im Bürstensaum der Zellen, was den aktiven Transport des Phosphates durch die intestinale Mukosa bewirkt. In der Niere steigert es die parathormonabhängige Kalziumrückresorption und fördert eine Phosphatausscheidung bei erhöhter Phosphatkonzentration im Serum (70).

2.4.3 Calcitonin

Calcitonin ist ein bedeutender Regulator der Kalziumhomöostase. Das Peptid besteht aus 32 Aminosäuren und wird in den C-Zellen der Schilddrüse gebildet. Der Hauptregulator der Calcitoninsekretion ist das Serumkalzium, zwischen beiden Komponenten besteht eine positive Dosis-Wirkung-Beziehung (70). Daneben stimulieren β -adrenerge Agonisten und einige gastrointestinale Hormone wie Gastrin, Cholecystokin-Pankreozym, Glukagon, Caerulein und Sekretin die Calcitoninfreisetzung, während sie durch α -adrenerge Agonisten, Dopamin und Medikamente wie Diphenylhydantoin, Puromycin und Actinomycin gehemmt wird.

Die höchsten Calcitoninkonzentrationen finden sich im Menschen nach der Geburt und in der Kindheit und fallen mit zunehmendem Alter ab. Bei Frauen sind die Spiegel generell niedriger als bei Männern, was durch die Menopause und den damit verbundenen Ausfall der Östrogene noch verstärkt wird (37).

Die biologischen Wirkungen von Calcitonin am Skelett sind die hypokalzämische Wirkung, die Hemmung der Osteoklastenfunktion, die Verminderung des raschen Kalziumstroms von der Knochenoberfläche ins Blut, die antihyperkalzämische Wirkung und die Speicherung von Kalzium im Knochen (70). (Abb. 2.9).

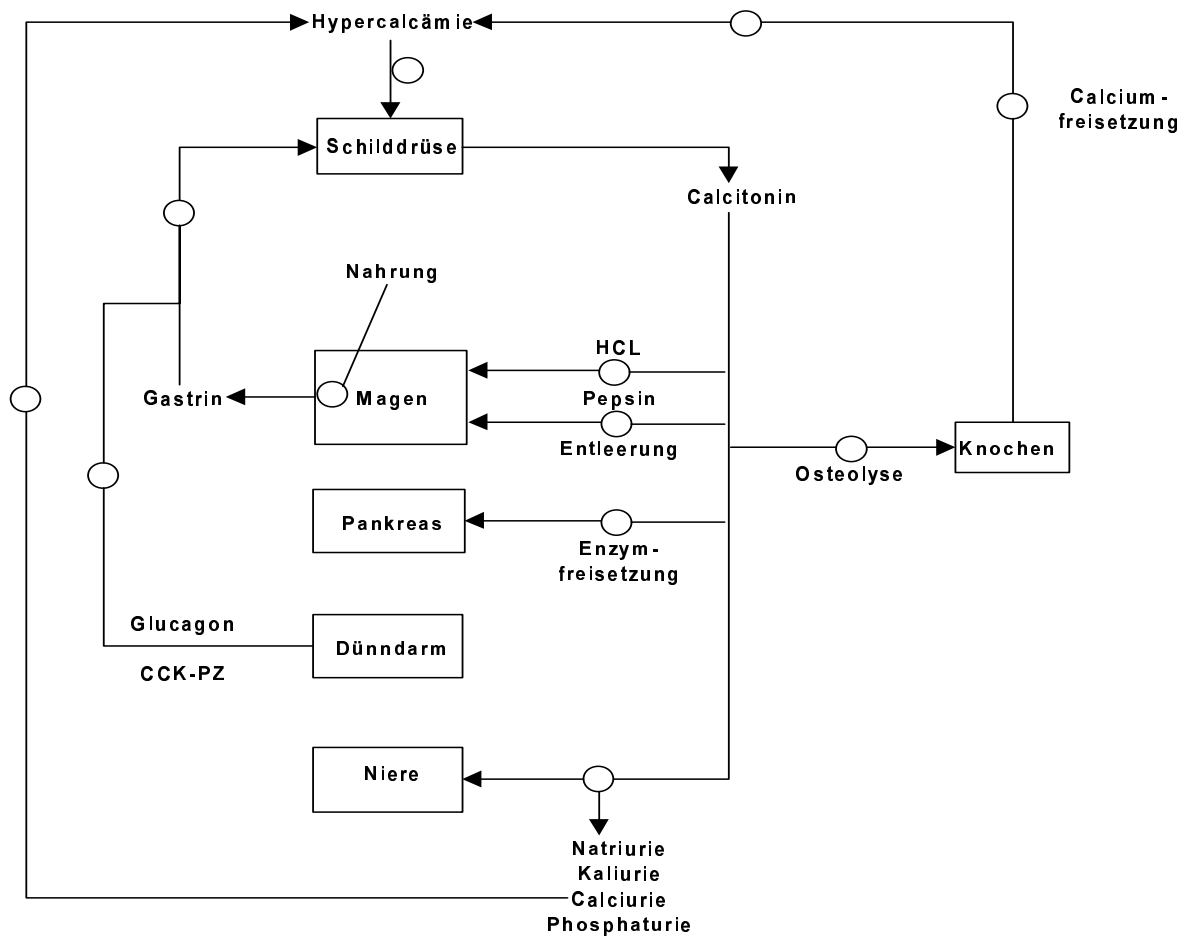


Abb. 2.9: Physiologische Wirkung von Calcitonin (nach Keck 1990 (70))

2.4.4 Östrogene

Östrogene sind wichtige Hormone für die Balance des Knochenstoffwechsels. Das in der Menopause eintretende Östrogendefizit ist der bedeutendste Faktor für die Entstehung einer postmenopausalen Osteoporose.

Durch Eriksen et al. wurde 1988 erstmals nachgewiesen, daß in Osteoblastenzellen spezifische nukleäre Östrogenrezeptoren vorhanden sind. Es handelt sich hierbei um einen hochaffinen 17- β -Estradiol-Rezeptor (37). Östrogene führen zu einer erhöhten Zellproliferation nachweisbar durch erhöhten Thymidineinbau und einer erhöhten Aktivität der RNS-Polymerase. Auf zellulärer Ebene vermindern sie die parathormonvermittelte Kalzium- und Magnesiumfreisetzung, wobei die Ursache dafür die Hemmung der CAMP-abhängigen Prostaglandin-E2-Produktion in den Knochenzellen ist. Auf der Ebene der Nebenschilddrüsen stimulieren sowohl Östrogene als auch Progesteron die Parathormonsekretion, dies wurde

auch bei postmenopausalen Frauen festgestellt. Parathormon bewirkt einen erhöhten Knochenumsatz, ohne die Balance zwischen Formation und Resorption zu beeinflussen. Da Östrogene jedoch die Parathormonwirkung auf zellulärer Ebene verhindern, stellt man bei postmenopausalen Frauen nach Östrogengabe einen erniedrigten Knochenumsatz fest.

In der Postmenopause sind die Plasmacalcitoninkonzentrationen und ihre sekretorische Reserve erniedrigt, die sich jedoch nach Östrogengabe erhöhen.

In der Niere führen Östrogene zu einer Stimulation der 25-Hydroxyvitamin-D₃-1 α -Hydroxylase. Bei postmenopausalen, osteoporotischen Frauen wurde eine erniedrigte Kalziumabsorption aus dem Dünndarm nachgewiesen, die nach Gabe von 1,25-Dihydroxyvitamin-D₃ ansteigt. Dieser Effekt könnte durch eine Folge des Östradiolabfalls in der Menopause mitbedingt sein (70).

Ein direkter Effekt von Östrogenen auf Osteoblasten konnte nicht nachgewiesen werden, doch ein Mechanismus der Östrogenwirkung ist die Modulation der Osteoblast-Osteoklast-Interaktion über Zytokine, welche die Osteoklastenfunktion hemmen. Ein derartiges Zytokin ist z.B. TGF- β , dessen Spiegel unter Östrogenbehandlung ansteigt.

Unter Östrogen/Progesteron-Therapie reduziert sich die Aktivierungsfrequenz, d.h. die Häufigkeit der Erneuerungszyklen, um ca. 50%, was durch Verminderung der biochemischen Knochenumsatzparameter belegt werden konnte. Viele Studien zeigen für die ersten beiden Jahre der Östrogentherapie einen 3-5%igen Anstieg der Knochendichte pro Jahr als Maß für die Knochenmasse.

Östrogene haben Einfluß auf das kalziumregulierende System, so führt ein langjährig bestehendes Östrogendefizit zur Verminderung der Calcitoninsekretion, zur Verminderung der Kalziumresorption aus dem Darm sowie zur Steigerung der renalen Kalziumexkretion (37).

2.4.5 Weitere Faktoren

Osteoblasten werden durch das Wachstumshormon STH und den Insulin like growth factor 1 (IGF-1) stimuliert, wobei letzterer die Replikation, Differenzierung und Matrixsynthese der Osteoblasten anregt. Mehr bekannt ist über die Faktoren, die die Osteoklasten stimulieren wie das Interleukin-1-beta (IL-1- β), Interleukin 6 (IL6), Prostaglandin E2 (PGE-2) und der „tumor necrosis factor alpha“ (TNF- α). Interleukin- 1-beta fördert in vitro die Bildung von osteoklastenähnlichen Zellen und erhöht in vivo die Knochenresorption.

Tab. 2.1: Interzelluläres Coupling (70)

	Stimulation	Hemmung
Osteoblast	STH, IGF-1	
Osteoklast	IL-1, IL-6, PGE-2, TNF- α	TGF- β , IL2

Bei Patienten mit Osteoporose wurde eine erhöhte Interleukin-1-Freisetzung aus Monozyten gefunden, die nach einer Östrogentherapie wieder in den Normalbereich sank. Ebenso steigt unter IL-1-Einwirkung die Anzahl der Osteoklasten und die Knochenresorptionsrate. Nach Gabe von Östrogenen wird die Synthese von IL-6 durch Knochenmarkszellen und Osteoblasten und die IL-1- β -Freisetzung gehemmt. Dagegen stimuliert IL-1 die Freisetzung von IL-6 (70).

Der „transforming growth factor beta“ (TGF- β) fördert die Knochenneubildung, in dem er die osteoklastäre Resorption und die Bildung von Osteoklasten-Präkursorzellen hemmt. So werden die hemmenden Effekte der Östrogene auf die Knochenresorption durch einen Anstieg von TGF- β verursacht.

2.5 Biochemische Marker des Knochenstoffwechsels bei häufigen Knochen- erkrankungen

2.5.1 Primärer Hyperparathyreodismud

Der primäre Hyperparathyreodismus ist die Folgeerscheinung einer Überfunktion der Nebenschilddrüsen, die durch eine autonome Regulationsstörung der Parathormon-Sekretion gekennzeichnet ist. Durch die erhöhten Serumspiegel von PTH kommt es zu einer Hyperkalzämie und Hyperkalziurie. Eine Ostitis entsteht, in der Knochengewebe durch zystisch abgekapseltes fibröses Bindegewebe ersetzt wird (osteitis fibrosa cystica). Mittels Osteodensitometrie läßt sich hier ein signifikanter kortikaler Knochenverlust nachweisen, wobei der Knochenumsatz insgesamt gesteigert ist (97). Die Diagnose richtet sich heute nicht nach den skelettalen Veränderungen sondern nach dem Kalziumstoffwechsel und dem damit verbundenen erhöhten Serum-PTH-Spiegel. Die Bestimmung der alkalischen Phosphatase (AP) im Serum erwies sich als nicht sensitiv genug, um geringe Veränderungen des Knochenmetabolismus beim primären Hyperparathyreodismus wiederzugeben. Das knochenspezifische Isoenzym BAP dagegen liefert spezifische Werte, die auf eine vermehrte Knochenformation schließen lassen (124) (Tab. 2.2).

In einigen Studien wurden erhöhte Serum-Osteocalcinwerte bei vorliegendem Hyperparathyreodismus nachgewiesen (129), nach operativer Entfernung der Nebenschilddrüse ist ein rascher Abfall dieses Spiegels zu verzeichnen. Bei der Therapie spielt OC als Marker somit eine Rolle.

Für die weiteren biochemischen Marker des Knochenstoffwechsels liegen bisher nur wenige Daten vor.

Die Serumspiegel von PICP liegen im Normbereich und steigen nach Parathyreoidektomie für kurze Zeit an, während die Werte der alkalischen Phosphatase (AP) erhöht sind und nach operativem Eingriff abfallen.

Die Ausscheidung von Hydroxyprolin liegt häufig im oberen Normbereich, ohne daß sich eine Korrelation mit dem Serum-PTH-Spiegel oder den Kalziumwerten finden läßt (124). Hydroxylisin-Glykoside sind im Vergleich ein sensitiverer Marker. Gesteigert ist ebenfalls die Ausscheidung der Hydroxypyridinium-Crosslinks Pyridinolin (PYD) und Deoxypyridinolin (DPD), wobei in 60% der Fälle pathologische Urinkonzentrationen festgestellt wurden. Auch hier findet sich keine Beziehung zu Kalzium- oder Parathormonwerten. Nach Parathyreoidektomie fallen beide Parameter rasch und andauernd ab, diese Veränderungen gehen den der AP und des Hydroxyprolins im Urin voraus (114). Die Plasmaspiegel der Tartrat-resistenten sauren Phosphatase (TRAP) sind beim primären Hyperparathyreodismus signifikant erhöht. Sie

korrelieren positiv mit den AP-Serum-Spiegeln und der Hydroxyprolinausscheidung im Urin. Nach erfolgreichem operativem Eingriff kommt es auch hier zu einer Normalisierung (128).

2.5.2 Morbus Paget

Der Morbus Paget ist eine Knochenerkrankung, die sich in einem überstürzt ablaufendem Knochenumbau, der mono- und proteolytisch abläuft, äußert. Der Knochenumbau kann bis auf das 20-fache gesteigert sein, wobei Knochenformation und –resorption gleichermaßen betroffen sind. Überwiegend sind Schädel, Beckengürtel und die Beine betroffen. Die Erkrankung durchläuft drei Phasen:

1. Die osteolytische Phase, in der die Markräume durch gut vaskularisiertes Bindegewebe ausgefüllt werden. Es kommt zu einer auffälligen Osteoklastenvermehrung der Kompakta und der Spongiosa, wobei große Resorptionshöhlen in der Kompakta entstehen. Die Osteoblastentätigkeit ist gesteigert.
2. Die Osteoblastenphase, in der die Knochenneubildung überwiegt.
3. Die „ausgebrannte“ Phase, in der die Knochenumbaurate absinkt, aber immer noch gegenüber dem normalen Knochengewebe gesteigert ist.

Das Resultat dieser „High-Turnover“-Osteopathie ist ein minderwertig strukturierter Faserknochen, der zu Spontanfrakturen und Deformierungen neigt. In 1-10% der manifesten Fälle kommt es zu einer Entdifferenzierung zum Osteosarkom. Die klinische Diagnose ist erschwert, da die meisten Patienten beschwerdefrei sind oder schwache, uncharakteristische Schmerzen haben. Morbus Paget wird radiologisch diagnostiziert und lokalisiert, wobei man eine Sklerosierung des Markraumes feststellen kann, während die Aktivität der Erkrankung durch Laborparameter eingeschätzt werden kann (56).

Insbesondere die alkalische Serumphosphatase AP ist hier ein guter Marker, sie ist im stark ausgeprägten Stadium der Erkrankung erhöht (29), doch in milden Formen kann sie auch im Normbereich liegen. Die Bestimmung des Knochenisoenzym BAP ist geeignet in der Verlaufskontrolle, da die Serumwerte von BAP bereits zu einem Zeitpunkt erhöht sind, zu dem die AP noch im Normbereich liegt (104). Kurz nach Beginn einer antiresorptiven Therapie fällt die BAP-Konzentration im Serum signifikant ab, dieser Effekt ist bei AP nicht so ausgeprägt (53). Bei unbehandelter Erkrankung korreliert der Serum-BAP-Spiegel gut mit dem der AP und der Plasma-Tartrat-resistenten sauren Phosphatase (TRAP) (Abb. 2.2).

Bei der Bestimmung von Osteocalcin (OC) bei Morbus Paget Patienten bergen die Ergebnisse einige Widersprüche. Oft werden erhöhte Serumspiegel festgestellt, doch in 40 % der Fälle mit zusätzlich erhöhten AP-Werten findet man erniedrigte OC-Konzentrationen (137). Als Grund dafür zieht man eine gesteigerte Affinität des Paget-Knochens für das Hydroxya-

patit-bindende OC in Betracht. Somit ist OC ein recht schlechter Marker der Knochenformation.

Die Kollagen-Propeptide PICP und PNCP verhalten sich wie die alkalische Phosphatase mit einer erhöhten Serumkonzentration bei Erkrankung und einem Abfall nach einer antiresorptiven Therapie (125).

Die Ausscheidung der Knochenresorptionsmarker Hydroxyprolin und Hydroxylysin-Glykosiden im Urin ist bei Morbus Paget deutlich gesteigert. Auch hier erfolgt nach medikamentöser Therapie ein signifikanter Abfall (128).

Die gleichen Veränderungen wurden auch für die Hydroxypyridinium-Crosslinks nachgewiesen, allerdings treten die jeweiligen Effekte stärker und schneller in Erscheinung (107).

In der aktiven Phase des Morbus Paget wurde eine sehr hohe Konzentration der Tartrat-resistenten sauren Phosphatase (TRAP) festgestellt, die unter Behandlung einer antiresorptiven Therapie rasch auf Normalwerte abfällt (125). TRAP korreliert mit den Serumspiegeln der alkalischen Phosphatase und der Hydroxyprolinausscheidung, woraus sich schließen läßt, daß beim Morbus Paget das Verhältnis von Knochenformation und Knochenresorption weitgehend erhalten wird (125).

2.5.3 Knochenmetastasen

Die häufigsten in den Knochen metastasierenden Organtumore sind das Mamma-, Nierenzell-, Bronchial- und Prostatakarzinom, die 80% aller skelettalen Metastasen ausmachen, wobei 2/3 der Knochenfiliae in der Wirbelsäule lokalisiert sind. Eine orale oder intravenöse antiresorptive Therapie beeinflusst die entstehenden Komplikationen dieser Erkrankung positiv, mit dem größten Nutzen im Frühstadium. Die frühzeitige Metastasendiagnostik am Knochen stützt sich auf Verfahren wie die Knochenszintigraphie, da serologische Tumormarker keine skelettale Spezifität besitzen. Jedoch reflektieren einige Metaboliten der kollagenen Knochenmatrix als organspezifische Marker auch kleinste Änderungen des Knochenstoffwechsels.

Bleibt bei osteoblastische Metastasierungen von Karzinomen das Verhältnis zwischen Formation und Resorption erhalten, finden sich gelegentlich Korrelationen zwischen Serum-BAP und anderen Markern des Knochenaufbaus (Osteocalcin, PINP) bzw. des Knochenabbaus (Kalzium-, Hydroxyprolinausscheidung im Urin) (7). Unter medikamentöser Therapie kommt es beim Prostatakarzinom zu einer Abnahme der alkalischen Phosphatase (AP) und Osteocalcin (18), während beim Mammakarzinom häufig auch ein Anstieg von BAP zu verzeichnen ist (16).

Bei Patienten mit Knochenmetastasen und einem normalen Kalziumspiegel ist der Serum-OC-Spiegel erhöht, wogegen er bei einer metastatischen Hyperkalzämie stark absinkt. Bei soliden, in das Skelett metastierenden Tumoren ist die sonst vorhandene Korrelation zwi-

schen Serum-Osteocalcin und anderen Knochenstoffwechselfparametern nicht mehr nachzuweisen (131,137). Eine inverse Korrelation zwischen Serum-OC-Werten und dem Tumorstadium findet sich beim multiplen Myelom. Bei 80% aller Plasmozytome existieren Osteoblasten-inhibierende Mediatoren, so daß die niedrigen OC-Spiegel durch osteoblastäre Hemmung entstehen. Supprimierte Osteocalcin-Konzentrationen sind hier mit kürzeren Überlebenszeiten assoziiert. Unter Chemotherapie kehren die OC-Werte wieder in den Normalbereich zurück (12).

Zu den Knocheninformationsparametern PICP und PINP liegen noch keine systematischen Untersuchungen vor.

Die Hydroxyprolinausscheidung im Urin ist bei Patienten mit manifesten Knochenmetastasen signifikant höher als beim nicht-metastierten Tumor, wo die Werte im Normbereich bleiben. Die Exkretion gilt als aussagekräftiger Parameter für den Erfolg einer Chemo- oder Hormontherapie (7), auch unter einer Biphosphonattherapie sinkt die Hydroxyprolinausscheidung. Bei Patienten mit Tumorhyperkalzämie werden erhöhte Urinkonzentrationen für Hydroxyprolin beschrieben (7) (Tab.2.2).

Nach einigen Studien weisen 80-95% aller Tumorpatienten mit Knochenmetastasen eine erhöhte Ausscheidung von Hydroxypyridinium-Crosslinks (PYD, DPD) auf (9,117). Die Urinkonzentration von DPD ist schon erhöht, bevor die Metastasen durch Röntgen nachweisbar sind. Unter antiresorptiver Therapie kommt es zu einem Abfall der Hydroxypyridiniumausscheidung, der jedoch nicht so stark ist wie der Rückgang der prätherapeutisch nachgewiesenen Hyperkalziurie und der vermehrten Hydroxyprolinausscheidung. Zu einem Wiederanstieg der Urin-Crosslinks kommt es schon nach 10-14 Tagen medikamentöser Therapie (Pamidronat). Eine Korrelation zwischen der Kalzium- und Crosslinks-Ausscheidung wurde hierbei nicht nachgewiesen (19), daraus läßt sich schließen, daß Demineralisation und Destruktion der Interzellularmatrix verschiedenen Prozessen im Ablauf der Skelettmetastasierung unterliegen.

Bei Patienten mit Knochenmetastasen konnten signifikant erhöhte TRAP-Serum-Spiegel nachgewiesen werden, die aber unter Therapie in den normalen Bereich absinken. Eine Differenzierung der Gesamt-sauren Phosphatase ist hier angebracht, da eine Tartrathemmable saure Phosphatase durch das Tumorgewebe selbst gebildet wird, die erhöhten Serumspiegel der TRAP dagegen von den Knochen stammen und auf eine Knochenmetastasierung hinweisen (135).

Tumorerkrankungen mit und ohne Knochenmetastasen können eine Hyperkalzämie hervorrufen. Auslöser für eine Tumorhyperkalzämie ist das dem Parathormon ähnliche Peptid PTHrp (PTH related peptid), daß von dem Tumor sekretiert wird. Es bindet an den PTH-Rezeptor und imitiert so einen PTH-Exzeß, folglich stimuliert die osteoklastäre Knochenresorption und verstärkt die renale Kalziumabsorption. Bei 53-98% einer nicht selektionierten

Patientengruppe mit Tumorhyperkalzämie können erhöhte Werte für PTHrP gemessen werden, jedoch finden sich bei Patienten mit soliden Tumoren häufiger erhöhtes PTHrP.

Tab. 2.2: Das Verhalten der wichtigen biochemischen Parameter des Knochenstoffwechsel bei verschiedenen Knochenerkrankungen (37)

Osteopathien	Kalzium	Phosphat	Serum-AP	Serum-PTH	PTHrp	Hydroxyprolin (Urin)	Pyridinolin Deoxypyridinolin
Knochenmetastasen	N ↑↓	N ↓	N ↑	N ↓	(N) ↑	N ↑	N ↑
Morbus Paget	N	N	↑↓	N	N	↑↓	(N) ↑↓
Osteoporose	N	N	N (↑)	N	N	N (↑)	(N) ↑
Osteomalazie	N ↓	N ↓	↑	↑	N	↑	
renale Osteodystrophie	N ↓	↑	N ↑	↑	N	(↑)	N ↑
Prim. Hyperparathyreodismus	↑	N ↓	N ↑	↑	N (↑)	↑	(N) ↑

N = normal ↑ = erhöht ↓ = erniedrigt

2.5.4 Weitere Anwendungsmöglichkeiten der biochemischen Marker des Knochenstoffwechsels

Störungen des Kalzium- und Knochenstoffwechsels sind nicht nur eigenständige Erkrankungen sondern auch Nebeneffekte anderer Krankheitsbilder. Somit können hier Marker des Knochenstoffwechsels zur Bestimmung der Erkrankungen herangezogen werden.

Sämtliche Knochenmarker liegen in der Zeit des Wachstums um ein Vielfaches höher als bei Erwachsenen. Wachstumsstörungen bei Kindern sind durch eine Verzögerung der Knochenreifung und einen damit verbundenen verschobenen Knochenstoffwechsel gekennzeichnet.

Einige Studien dokumentieren einen kontinuierlichen Anstieg der Serum-Osteocalcin-Spiegel während der Kindesentwicklung mit maximalen Werten zur Zeit der Pubertät und einem anschließenden deutlichen Abfall (59). BAP dagegen ist bei Kindern mindestens doppelt so hoch wie bei Erwachsenen, kann aber auch das zehnfache erreichen.

Die Ausscheidung der Hydroxypyridinium-Derivate PYD und DPD liegt im Kindesalter ungefähr beim 5-fachen der Erwachsenen norm, doch auch sie fallen am Ende der Pubertät auf Erwachsenenwerte ab (87). Man findet hier eine enge Korrelation mit der Wachstumsge-

schwindigkeit. Analoge Daten liegen für die Ausscheidung der Hydroxylysin-Glykoside im Urin vor (103).

Im Erwachsenenalter sind entzündliche und immobilisierende Erkrankungen wie Rheuma häufig mit osteopathischen Veränderungen verbunden. So findet man bei der rheumatoiden Arthritis eine entzündlich bedingte Demineralisation des periartikulären Knochens und eine Osteopenie bzw. Osteoporose. Dies beruht auf der inhibierenden Wirkung entzündlicher Mediatoren auf den Knochenstoffwechsel und auf der Immobilisation (99). Beim Vorliegen akuter Entzündung ist die Knochenresorption gesteigert, was sich in der erhöhten Urinausscheidung von Hydroxyprolin, Hydroxylysin-Glykosiden und Hydroxypyridinium-Crosslinks manifestiert. Die Knochenformation ist dagegen unverändert oder abgeschwächt, was sich in erniedrigten Serum-Spiegeln für PICP und Osteocalcin äußert (99, 110).

Nach einmaliger Kortikoid-Gabe ist ein reversibler Abfall der Serum-OC und PICP-Spiegel zu beobachten, während die alkalische Phosphatase unverändert bleibt. Daraus läßt sich schließen, daß eine einmalige Applikation von Glukokortikoiden den Knochenabbau kurzzeitig supprimieren (134), die längerfristige Gabe jedoch in Tierexperimenten zu vermehrter Knochenresorption und zur Entwicklung einer Osteoporose führt (112). Patienten mit rheumatoider Arthritis haben unter einer Glukokortikoidtherapie eine höhere Knochenresorptionsrate als unter einer Basistherapie mit nichtsteroidalen Antirheumatika (z.B. d-Penicillamin) (110).

Bei Morbus Cushing ist Osteocalcin im Serum signifikant erniedrigt, während die Plasmaspiegel von TRAP als Ausdruck einer gesteigerten Osteoklastenaktivität und Knochenresorption leicht erhöht sind (91).

Unter langfristiger Einnahme von Antikonvulsiva kommt es zum Knochenverlust durch das medikamenten-erzeugte Calcitriol-Defizit. Die Parathormonspiegel im Serum sind erhöht, sowie als Ausdruck eines gesteigerten Knochenstoffwechsels die Parameter der Knochenformation (BAP; OC; PICP) und die der Knochenresorption (ICTP) (138).

2.6 Osteoporose

2.6.1 Definition der Osteoporose

Osteoporose (osteon=Knochen, poros=Loch) wurde erstmals international auf der Consensus Development Conference in Kopenhagen (1990) definiert. Auf den folgenden Weltkongressen in Hongkong (1993) und in Amsterdam (1996) wurde die Definition nur unwesentlich verändert und gilt heute wie folgt: „Osteoporose ist eine systemische Skeletterkrankung, die durch eine niedrige Knochenmasse und eine Störung der Mikroarchitektur des Knochengewebes, mit konsekutiv erhöhter Knochenbrüchigkeit und erhöhtem, Frakturrisiko charakterisiert ist. Der Knochenmineralgehalt kann mit akzeptabler Genauigkeit und Präzision gemessen werden und bildet die Basis für eine operationale Definition der Osteoporose zur besseren klinischen Nutzbarkeit“ (37). Diese chronische Erkrankung tritt in höherem Lebensalter weltweit auf und weist eine lange Latenzzeit ohne Beschwerdensymptomatik auf.

Durch die chronische Störung des Knochenstoffwechsels kommt es im präklinischen Stadium zu einer fortlaufenden Zerstörung der dreidimensionalen Struktur und Mikroarchitektur knöchernen Gewebes. Dieser verstärkte Abbau der Knochenmasse führt zu einer verminderten biochemischen Stabilität des Knochens. Die Frakturen treten vornehmlich im Bereich der Wirbelsäule, am Schenkelhals und am distalen Radius auf. Anhand dieses Krankheitsverlaufs lässt sich die Osteoporose in drei Stadien unterteilen:

1. Altersassoziierter Knochenmasseverlust (Osteopenie)
2. Präklinische Osteoporose mit potentieller Frakturgefährdung
3. Manifeste Osteoporose mit eingetretenen Frakturen

Während die Stadien 1 und 2 prophylaktische Maßnahmen erfordern, um die Knochenmasse nicht weiter absinken zu lassen, bedarf das letzte Stadium zusätzlich therapeutischer Maßnahmen, die geeignet sind, die Knochensubstanz wieder zu vermehren und über die Frakturschwelle anzuheben (70).

Im Gegensatz zu Osteoporose kennzeichnet die Osteopenie den Befund einer reduzierten Knochenmasse unterschiedlicher Ursachen.

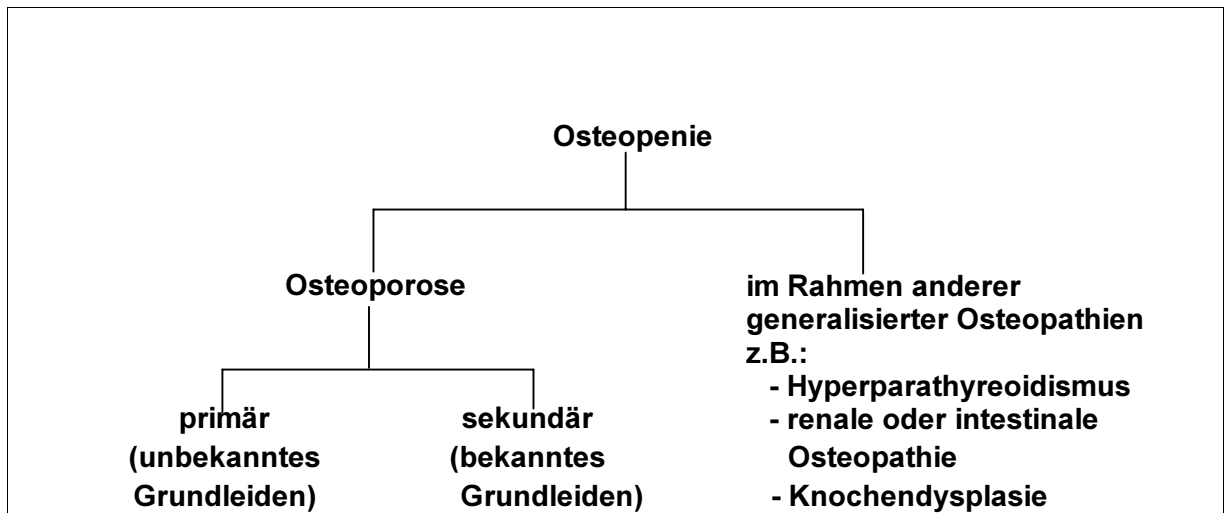


Abb. 2.10: Der Begriff Osteopenie kennzeichnet den Befund einer reduzierten Knochenmasse unterschiedlicher Ursache (nach Keck 1990 (70))

2.6.2 Einteilung der Osteoporose

Die klassische Einteilung unterscheidet die primäre Osteoporose mit unbekannter Ätiologie von der sekundären, die sich auf ein bekanntes Grundleiden zurückführen lässt. Auch die postmenopausale Osteoporose wird der primären Form zugeordnet, da der Östrogenmangel allein in vielen Fällen keine ausreichende Erklärung für die Erkrankung ist (70). Der sekundären Osteoporose lassen sich spezifische Grunderkrankungen wie Hypogonadismus, Hämoblastosen, verschiedene Malabsorptionssyndrome und medikamentöse Einflüsse zuordnen. Bei Frauen tritt die sekundäre Form nur in 5-10% der Fälle auf, während sie bei Männern jedoch bis zu 50% ausmacht. Jedoch liegt der Anteil der an Osteoporose erkrankten Frauen (30%) sechsmal höher als der osteoporotischer Männer (37).

Bei der Pathogenese der primären Form spielen Faktoren wie Östrogenmangel, Alterseinflüsse, genetische Disposition und Umwelteinflüsse eine Rolle. Je nach Frakturlokalisation und Lebensalter wird sie in Typ I- (vertebrale, postmenopausale) und Typ II-Osteoporose unterteilt (Tab. 2.3).

Tab. 2.3: Charakteristika der Typ I- und Typ II-Osteoporose (70)

Osteoporose	Typ I	Typ II
Alter (Jahre)	50-75	> 70
Geschlecht (weibl:männl)	7:1	3:1
Knochenabbau	Spongiosa	Spongiosa, Kortikalis
Frakturen	Wirbelkörper, distaler Radius	Schenkelhals, distaler Radius
Hauptursachen	Postmenopause	Altern

Beim Typ I steht in erster Linie ein Verlust der trabekulären Knochenmasse im Vordergrund, was vornehmlich zu Frakturen der Wirbelkörper prädisponiert. Hiervon sind vor allem Frauen nach Eintritt der Postmenopause betroffen, mitverursacht durch den postmenopausal veränderten Hormonhaushalt.

Der Typ II wird als Altersosteoporose bezeichnet, die Personen jenseits des 70. Lebensjahres betrifft und mit einem Massenverlust der Spongiosa und der Kortikalis einhergeht. Als klinisch relevante Fraktur steht der Schenkelhals im Vordergrund.

In allgemeinen definiert das Frakturereignis in Verbindung mit einer densitometrisch gesicherten Osteopenie eine manifeste Osteoporose.

2.6.3 Pathophysiologie

Der Knochen befindet sich in den ersten 30 Lebensjahren in der Aufbauphase, an deren Ende er seine maximale Knochenmasse (peak bone mass) erreicht. Männer erreichen generell eine höhere peak bone mass als Frauen. Für die Höhe der Knochenmasse sind mehrere Faktoren verantwortlich, die individuell unterschiedliche Bedeutung haben. Hierzu gehören genetische und hormonelle Faktoren, Ernährungsgewohnheiten, Bewegung und Umwelteinflüsse (37).

In der folgenden Plateauphase bleibt die Spitzenknochenmasse durch ausgeglichene Knochenanbau- und Knochenabbauprozesse („coupling“) bis etwa zum 40. Lebensjahr konstant. Die Abbauphase bewirkt eine physiologische Abnahme der Knochenmasse um 3-5% pro Lebensdekade, dieser Knochenverlust ist obligatorisch und generell nicht als krankhaft zu bewerten. Jedoch besteht bei Frauen, die generell eine geringere Peak bone mass aufweisen als Männer, ein größeres Risiko den unteren Schwellenwert der Knochenmasse zu erreichen, der entscheidend für den Übergang eines präklinisch gestörten Knochenstoffwechsels in ein klinisch manifestes Stadium (Osteoporose) ist (Abb. 2.11).

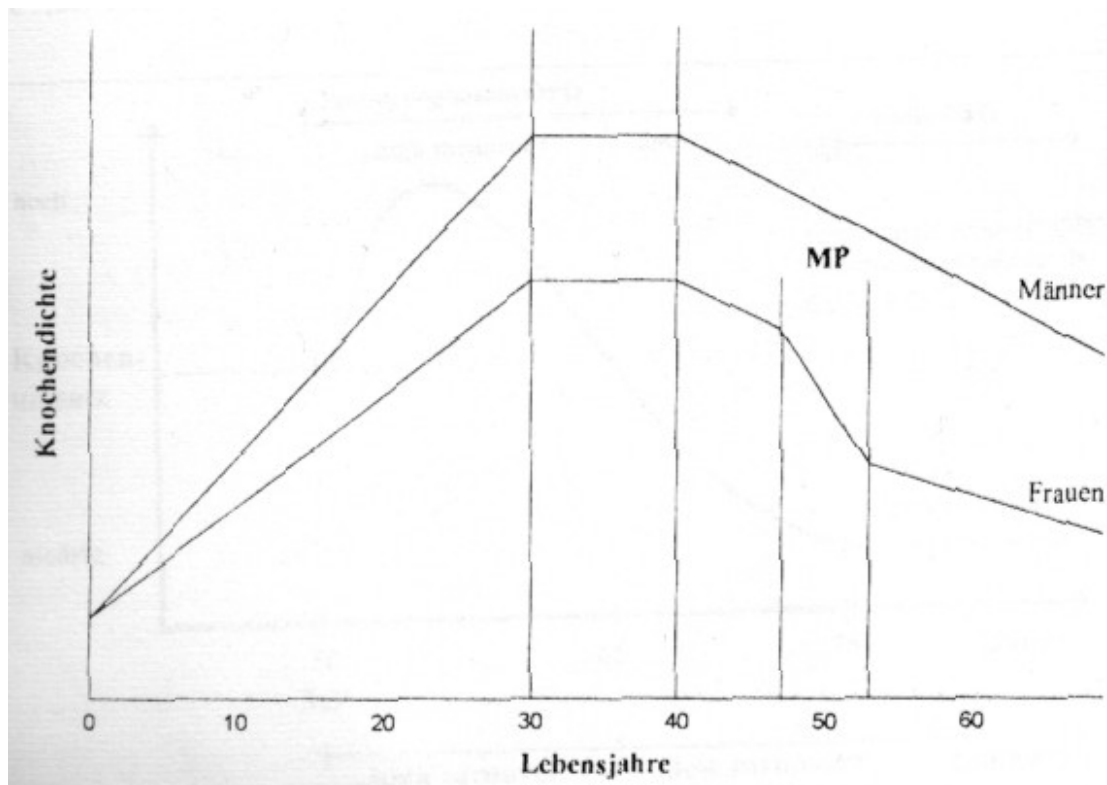


Abb. 2.11: Altersabhängige Entwicklung und Verlauf der Knochendichte als Maß für die Knochenmasse im weiblichen und männlichen Kollektiv (nach Stracke et al 1997 (37))

In der Menopause kommt es zu einem Abfall der ovariellen Östrogenproduktion bei unveränderter Parathormonsekretion. Dadurch überwiegt die Parathormonwirkung, es kommt zu erhöhter Osteoklastentätigkeit, was zu einem vermehrten Kalziumstrom aus dem Knochen führt. Das erhöhte Serumkalzium bewirkt eine Verminderung der Parathormonproduktion, was wiederum die Aktivität der $1\text{-}\alpha$ -Hydroxylase der Vitamin D_3 -Vorstufe in der Niere hemmt. Somit wird weniger aktives 1,25-Dihydroxyvitamin D_3 gebildet. Östradiol ist ebenfalls in der Lage, diese Hydroxylase zu stimulieren, doch die Wirkung von Parathormon ist stärker. Daraus folgt eine verminderte aktive Kalziumresorption aus dem Dünndarm, was in einer negativen Kalziumbilanz resultiert, die unter anderem zu Osteoporose führt (37).

Auf parakriner Ebene kommt es bei verminderter Östrogenproduktion zur Erhöhung der Prostaglandinsynthese. Die erhöhte Prostaglandin- E_2 -Produktion ist verantwortlich für eine Interleukin-1-vermittelte Erhöhung der Knochenresorption.

Je nach Zeitpunkt des Auftretens von Störungen im Knochenstoffwechsel wird das Erreichen einer optimalen Knochenmasse verhindert oder ein pathologisch beschleunigter Abbau induziert. Entscheidend für den Krankheitsverlauf ist die Geschwindigkeit, mit der pathologische Knochenstoffwechselprozesse ablaufen. Man unterscheidet hier die „low-turnover“-Osteoporose von der „high-turnover“-Osteoporose.

Letztere weist einen insgesamt erhöhten Knochenstoffwechsel auf, was zu Strukturanomalien und damit zu verminderter Bruchfestigkeit oder zu Knochenverlusten bei überhöhtem Knochenabbau führen kann. Die „low-turnover“-Osteoporose dagegen geht mit einer allgemeinen Verminderung des Knochenmetabolismus und einer Verlangsamung der Anbauleistung einher.

Aufgrund veränderter hormoneller Einflüsse bei Frauen in der Menopause kommt es zu einer Akzeleration des Knochenstoffwechsels, die zu einem uncoupling im Form eines vermehrten Knochenmasseverlusts führt. Nimmt sie pathologische Ausmaße an, wird letztlich der Schwellenwert erreicht und es entwickelt sich eine „high-turnover“-Osteoporose.

Nach einigen Jahren in der Postmenopause beruhigt sich die Stoffwechselsituation der Knochen wieder. Jetzt auftretende Störungen führen zu einer „low-turnover“-Osteoporose, die letztendlich in eine senile Typ II-Osteoporose übergehen (145).

Wenn im Alter der reduzierte Knochenmetabolismus ansteigt und mit deutlich erhöhten Knochenabbauleistungen einhergeht, liegt eine senile „high-turnover“-Osteoporose vor. Hier scheint ein Zusammenhang mit der Entwicklung einer Osteomalazie zu bestehen.

Männer sind nicht so gefährdet, an manifester Osteoporose zu erkranken. Dies liegt an der höheren Peak bone Mass, so daß die Knochenmasse nach Eintritt der Andropause wesentlich später den kritischen Schwellenwert erreicht. Hier kommt es eher zu der Entwicklung einer senilen Osteoporose.

2.6.4 Epidemiologie

Zuverlässige Daten über die Häufigkeit der Osteoporose in der Bundesrepublik Deutschland liegen durch die EVOS-Studie vor (Statistisches Jahrbuch Wiesbaden, 1994). Studien sind durch die Verwendung unterschiedlicher Definitionen und diagnostischer Kriterien schwer vergleichbar und nicht von einer Bevölkerungsgruppe auf eine andere übertragbar, da es ethnische und geographische Unterschiede gibt. Afrikaner haben eine größere Knochenmasse als Weiße, ihr Frakturrisiko ist somit geringer, während in Japan die Osteoporose-Prävalenz deutlich höher als in Europa liegt (70). Im Norden Europas findet sich eine um das 10fache erhöhte Inzidenz an Oberschenkelhalsbrüchen im Vergleich zum Süden.

Weltweit leiden etwa 75 Millionen Menschen an manifester Osteoporose, wobei die meisten Untersuchungen sich auf Oberschenkelhalsfrakturen beziehen, die eine Domäne der Altersosteoporose sind (23). In Deutschland sind rund 4,2 Millionen Menschen (7% der Gesamtbevölkerung) an Osteoporose erkrankt, hiervon entfallen 3,1 Millionen auf Frauen (85% der Erkrankten) und 1,1 Millionen auf Männer (70). Etwa 30-35% der Frauen erkranken an einer postmenopausalen Osteoporose. Eine amerikanische Studie ergab, daß weiße Frauen jenseits des 50. Lebensjahres eine um den Faktor 2 erhöhte Inzidenz an Schenkelhalsbrüchen

im Vergleich zu gleichaltrigen Männern aufweisen. Von den untersuchten Frauen zwischen 50 und 80 Jahren erlitten 15% eine Fraktur des Oberschenkelhalses. Etwa 80% aller Femurfrakturen treten bei über 80jährigen Frauen auf. Die Inzidenz für Schenkelhalsfrakturen beträgt für deutsche Frauen 291 je 100000, für Männer 110 je 100000, was insgesamt ca. 70000 Schenkelhalsfrakturen jährlich bedeutet. Niedriger ist sie bei der weißen Bevölkerung der USA, hier liegt sie für Frauen bei 236 je 100000 und für Männer bei 136 je 100000.

Wirbelkörperfrakturen treten bei postmenopausalen Frauen häufiger auf als bei gleichaltrigen Männern. Die Prävalenz dafür liegt in den USA bei über 65jährigen Frauen bei 27%, in der Bundesrepublik ist sie um etwa 5% geringer (23). 50% der über 80jährigen Frauen in Westeuropa haben bereits Wirbelkörperbrüche erlitten.

Die Inzidenz der distalen Unterarmfraktur wächst nach dem 5. Jahr der Postmenopause bei Frauen deutlich an und erreicht ihren Höhepunkt zwischen 60 und 70 Jahren. Etwa 80% dieser Frakturen betreffen den distalen Radius. Das Risiko eines Bruchs beträgt hier bei deutschen und amerikanischen Frauen 15%, wobei etwa 20% aller 70jährigen Frauen mindestens eine Handgelenksfraktur erlitten haben (37).

Die Kosten für die medizinische Versorgung in Verbindung mit Krankenhausaufenthalt, Operationen, Nachsorge in Rehabilitations- und Dauerpflegereinrichtungen und medikamentöse Langzeittherapien sind hoch. Die Behandlung einer Oberschenkelhalsfraktur mit 14tägigem Klinikaufenthalt und 4 wöchiger Rehabilitation kostet rund 12000 DM, was bei 70000 Femurhalsfrakturen pro Jahr etwa 1 Milliarde DM ausmacht. S(70).

2.6.5 Knochendichte und Osteoporose

Das konventionelle Röntgen dient der morphologischen Diagnosestellung (Fraktur ja/nein), der Differentialdiagnose und der Verlaufskontrolle bei bereits stattgefundenen Frakturereignissen. Das Prinzip der Osteodensitometrie ist die Messung der Abschwächung eines Photonen- oder Röntgenstrahls beim Durchtritt durch den Körper. Neben den computertomographischen existieren integrale Methoden, zu denen die Dual-photon-absorptiometrie (DPA) zählt, die hier angewendet wurde. Bei diesem Verfahren wird der Knochen flächig abgebildet, das Meßergebnis wird als Gewichtswert (g) pro Flächeneinheit (cm^2) angegeben. Durch die zwischen dem Mineralsalzgehalt des Knochens und der Knochenmasse bestehende Korrelation, läßt sich die biochemische Stabilität und damit das Frakturrisiko beurteilen. Die Reduktion der Knochenmasse verbunden mit der daraus hervorgehenden verminderten Stabilität des Knochens ist Osteoporose. Die Knochendichtemessung ermöglicht hier eine Früherkennung, durch die das Frakturrisiko erkannt werden kann. Bis zu einem Knochendichtewert von -1SD herrscht ein normaler Mineralsalzgehalt ohne pathologische Verminderung der Knochenmasse. Bei der operationalen Definition spricht man zwischen -1SD und $2,5\text{SD}$

von einer Osteopenie, während bei einer Knochendichte unter $-2,5SD$ eine Osteoporose vorliegt (37).

2.6.6 Biochemische Marker des Knochenstoffwechsels bei Osteoporose

Besteht der Verdacht auf das Vorliegen einer primären Osteoporose, zeigt es sich bei laborchemischen Untersuchungen, daß die konventionellen Laborparameter wie 25 (OH)Vitamin D, Parathormon, alkalische Phosphatase und Serumkalzium meist im Normbereich liegen. Die Diagnose einer primären Osteoporose vor der ersten Fraktur ist schwierig, da durch fehlende Normwerte die Abgrenzung zwischen eines pathologischen Knochenschwundes und einer altersbedingten physiologischen Kalksalzverarmung problematisch ist. Der Mineral-salzgehalt des Knochens ändert sich sehr langsam, so daß eine einmal jährliche Knochendichtemessung zur Einschätzung des Knochenstoffwechsels als Risikoabschätzung für eine Osteoporoseerkrankung vorgenommen werden muß. Laborparameter finden Anwendung im Therapieverlauf. Die Diagnose einer Osteoporose besteht in einem Zusammenspiel von Anamnese, klinischer Untersuchung, Laboruntersuchungen und radiologischer Verfahren (Osteodensitometrie) (37), wobei durch die Laborwerte zuerst anderweitige Erkrankungen ausgeschlossen werden sollen, bevor spezifische Knochenstoffwechselfparameter zur Diagnose einer Osteoporose herangezogen werden.

Die alkalische Phosphatase (AP), ein Marker der Knochenformation, ist nur in Ausnahmefällen bei Osteoporosepatienten erhöht. Auch kurz nach einer Fraktur ändert sich der Parameter nur selten. Die Bestimmung des knochenspezifischen Isoenzym (BAP) weist hingegen spezifischere Ergebnisse auf. Jedoch steigt das Serum-BAP nach der Menopause stärker an als die alkalische Phosphatase (53).

Osteocalcin (OC) ist auch beim Gesunden altersabhängig (39), ein signifikanter Anstieg der Serumspiegel ist nach der Menopause zu verzeichnen. Er reflektiert den erhöhten Knochenumsatz und den Knochenverlust (111). Es besteht ein inverser Zusammenhang zwischen Serum-OC und der aktuellen Knochendichte (11). Liegt eine Homöostase von Knochenaufbau und -abbau vor, korreliert OC mit der alkalischen Phosphatase und der negativen Hydroxyprolin-Ausscheidung (41). Unter Östrogentherapie kommt es zu einem signifikanten Abfall der Serum-OC-Spiegel (116).

Bei manifester Osteoporose findet man in nur 30% der Fälle gestiegene OC-Konzentrationen, die einen erhöhten Knochenumsatz nachweisen. Normale OC-Werte liegen so bei der Mehrzahl der Patienten mit primärer Osteoporose vor (11), jedoch sind die Serumkonzentrationen des nicht-carboxylierten Osteocalcins bei Patienten mit seniler Osteoporose und Schenkelhalsfrakturen erhöht, was einen latenten Vitamin D-Mangel reflektiert

(132). Bei manifester Steroidosteopathie lassen sich erniedrigte Serum-OC-Werte nachweisen, da hier die Osteoblastentätigkeit supprimiert wird.

Eine Therapie mit Calcitonin zeigt bei Patienten mit gesteigertem Knochenumsatz und hohem Serum-OC bessere Ergebnisse als bei Patienten mit niedrigem Knochenumsatz (17). Änderungen der OC-Spiegel sind auch unter Fluoridtherapie (27) und Vitamin D-Substitution zu beobachten (38). Neue Studien stellten einen Anstieg der OC-Werte bei osteoporotischen Frauen bei körperlichen Aufbautraining und nach einer Fraktur fest (85).

Bei Osteomalazie findet man höhere OC-Spiegel, weil die Synthese von OC Vitamin D-abhängig ist. Es liegt eine inverse Korrelation mit dem 25 (OH)-Vitamin-D₃-Mangel vor, doch nicht mit den Serumwerten vom aktiven Vitamin D₃ (1,25 (OH)₂-Vitamin-D₃). Durch die gestiegenen Osteocalcinspiegel wird die vermehrte Osteoidbildung reflektiert nicht der Mineralisationsdefekt (33).

Die Serumkonzentrationen der Kollagen-Propeptide PICP und PINP zeigen bei prä- und postmenopausalen Frauen nur geringe Unterschiede (61), während bei osteoporotischen Patienten im Vergleich zu Gesunden signifikantere Veränderungen festgestellt werden können. Eine Östrogensubstitution sowie eine antiresorptive Therapie führt zum raschen Abfall von den PICP-Werten, diese Änderung ist ausgeprägter als bei OC (77). Beim osteoporotischen Patienten korreliert das Serum-PICP mit der alkalischen Phosphatase und dem Kalzium-Kreatinin-Quotienten.

Die Ausscheidung von Hydroxyprolin im Urin nimmt im Alter zu, sie liegt bei einer manifesten Osteoporose jedoch meist im Normbereich. Nur bei ausgeprägten Knochenverlusten steigt die Urinkonzentration gelegentlich an. Signifikant erhöhte Werte findet man bei postmenopausalen Frauen im Vergleich zu prämenopausalen (15).

Die Hydroxypyridinium-Crosslinks PYD, DPD haben im Gegensatz zu Hydroxyprolin eine höhere Prozeß- und Gewebe-Spezifität. Ihre Ausscheidung steigt im Alter an, mit Eintritt der Menopause sogar um 50-80% (110,118). In vielen Fällen korreliert die Crosslink-Ausscheidung im Urin invers mit der Knochendichte bei postmenopausalen Frauen (89). Unter Östrogentherapie kommt es generell bei postmenopausalen Frauen mit oder ohne Osteoporose zu einer Abnahme der Ausscheidung auf prämenopausale Werte. Der postmenopausale Knochenstoffwechsel scheint sich hier zu normalisieren. Liegt eine manifeste Osteoporose vor, ist die Ausscheidung von PYD und DPD erhöht, sie fällt jedoch unter Östrogengabe und antiresorptiver Therapie wieder ab (116).

Die Plasma-Spiegel der Tartrat-resistenten sauren Phosphatase (TRAP) sind bei postmenopausalen Frauen und bei Patienten mit manifester Osteoporose erhöht. Es existiert eine inverse Korrelation mit der Knochendichte und eine Korrelation mit der Hydroxyprolin-Ausscheidung. Unter Calcitonintherapie kommt es zu einem signifikanten Abfall der TRAP-Werte.

Bei den Knochenformationsparametern sind Osteocalcin sowie die knochenspezifische Phosphatase leistungsstarke Marker bei der Diagnose einer Osteoporose, während die Prokollagen Typ-I-Propeptide wegen ihrer Abhängigkeit von der Leber- und Nierenfunktion nur bedingt aussagekräftig sind (vgl. Tab. 2.1).

Auf der Seite der Knochenresorptionsparameter erwiesen sich Hydroxyprolin und das Hydroxypyridinium-Crosslinks als leistungsstarke Marker, während die Tartrat-resistente-saure Phosphatase wegen ihrer direkten Hämolyse in ihrer Anwendung zurückgestellt wird.

2.6.7 Risikofaktoren

Es gibt eine Reihe von Faktoren, die nicht obligat zu einer Osteoporose führen, aber das Risiko einer Osteoporoseerkrankung erhöhen. Sie lassen sich in vier Gruppen unterteilen:

1. genetische Faktoren
2. hormonelle Faktoren
3. ernährungsbedingte Faktoren
4. exogene Faktoren

Tab. 2.4: Risikofaktoren für die Osteoporose-Entstehung (37)

1. Genetische Faktoren

weibliches Geschlecht
positive Familienanamnese
graziler Habitus
kaukasische oder asiatische Rasse
Vitamin-D-Rezeptor-Allel-Polymorphismus

2. Hormonelle Faktoren

Östrogenmangel: späte Menarche
frühe Menopause
Ovarektomie
Ameno-/Oligomenorrhoe
Nullipara

3. Ernährungsbedingte Faktoren

kalziumarme Ernährung
phosphatreiche Ernährung
proteinreiche Ernährung
faserreiche Kost

4. Exogene Faktoren

Mangel an Bewegung
geringe UV-Exposition
toxische Faktoren (z.B. Nikotin, Alkohol)
Medikamente (z.B. Glukokortikoide, Heparin, Laxantien)

2.6.7.1 Genetische Faktoren

Das höchste Osteoporoserisiko haben weiße Frauen der kaukasischen Rasse und Asiatinnen, da sie eine genetisch determinierte geringere maximale Knochenmasse (peak bone mass) aufweisen.

Studien an eineiigen Zwillingen und Mutter-Tochter-Untersuchungen stützen die Auffassung einer genetischen Disposition, d.h. Frauen, deren Mütter oder Schwestern an Osteoporose erkrankt, erkranken häufiger daran als andere.

Bei Frauen mit grazilem Habitus, insbesondere blonden und hellhäutigen, kann das geringe Fettgewebe neben den genetischen Faktoren von Bedeutung sein. Im Gegensatz dazu haben adipöse Frauen ein geringeres Osteoporoserisiko, da in den Fettzellen Systeme der Konvertierung und Aromatisierung vorhanden sind, das aus Androgenen, z.B. dem Androstendion Östrogene synthetisieren kann. In der Postmenopause korreliert hier die Fettmasse positiv mit den basalen Östrogenspiegeln (70).

2.6.7.2 Hormonelle Faktoren

Den Hauptrisikofaktor stellt hier ein Östrogenmangel dar. Die Skelettmasse der Frau korreliert mit der Gesamtzeit der Östrogenexposition, so daß eine späte Menarche und eine frühe Menopause das Risiko einer Osteoporoseerkrankung erhöhen. Hinzu kommen eine vorzeitige Ovariectomie ohne nachfolgende Hormonbehandlung und Zeiten von Amenorrhoe. Ein Östrogenmangel vor Erreichen der peak bone mass ist besonders kritisch, da der Knochenverlust in einer Phase einsetzt, in der der Knochenaufbau noch stattfindet.

Nullipara haben gegenüber Frauen, die eine Schwangerschaft durchgemacht haben, ein höheres Osteoporoserisiko, da während der Schwangerschaft die erhöhten Östrogene zu einem verbesserten Schutz des Knochengewebes führen. Dieser positive Effekt kann jedoch durch den vermehrten Kalziumverlust in der Stillzeit aufgehoben (70).

2.6.7.3 Ernährungsbedingte Faktoren

In allen Lebensabschnitten ist eine adäquate Kalziumzufuhr bedeutsam für die normale Entwicklung und den Erhalt des Skelettsystems. Im Kindes- und Jugendalter, während Schwangerschaft und Laktation sowie im höheren Lebensalter wird eine tägliche Gabe von 1,5g empfohlen, als Minimum für Erwachsene sollten die Zufuhr 800mg täglich betragen. Während des Heranwachsens entwickelt sich aus dem Gesamtkörperpool von ca. 25g zum Zeitpunkt der Geburt ein Kalziumpool von ca. 1,0-1,3 kg beim Erwachsenen (37). Die orale Kalzium-

einnahme scheint bei Frauen die Knochenmasse bis zur Menopause positiv zu beeinflussen, der postmenopausale Knochenabbau weist dagegen keine Abhängigkeit auf. Ein erhöhtes menopausales Kalziumangebot ersetzt eine Hormonsubstitution nur zum Teil.

Jüngere Menschen können sich durch Steigerung der intestinalen Kalziumzufuhr und Drosselung der renalen Ausscheidung besser an eine geringe Kalziumzufuhr adaptieren als ältere. Eine fortlaufende negative Bilanz von nur 100mg täglich führt zu einem Knochenmassenverlust von rund 2,5-3% jährlich.

Eine hohe Phosphatzufuhr hemmt die 1,25-Dihydroxycholecalciferol-Synthese in der Niere, was die Knochenresorption verstärkt. Proteine und Faserstoffe sind in der Lage die intestinale Kalziumzufuhr zu hemmen (70).

2.6.7.4 Exogene Faktoren

Langdauernde Immobilität führt zu einem verstärkten Knochenabbau, wogegen eine regelmäßige körperliche Aktivität bei Erwachsenen in der zweiten Lebenshälfte den obligaten Knochenverlust verlangsamen kann. Sport erhöht in jüngeren Jahren die peak bone mass, außerdem hat er einen positiven Einfluß auf den Knochenmineralgehalt, doch ob dieser Effekt im höheren Lebensalter anhält, konnte bislang nicht festgestellt werden.

Raucherinnen von mehr als 15 Zigaretten pro Tag haben gegenüber Nichtraucherinnen einen niedrigeren Serum-Östradiol-Spiegel, außerdem tritt bei ihnen die Menopause durchschnittlich zwei Jahre früher auf.

Alkohol hat einen direkten toxischen Effekt auf knochenspezifische Zellen, besonders auf Osteoblasten. Weiterhin bewirkt Alkoholgenuß einen gestörten D-Hormonstoffwechsel, niedrige Testosteronspiegel beim Mann und geht oft mit Mangel- und Fehlernährung sowie Bewegungsmangel einher.

Als Risikofaktoren für sekundäre Osteoporose kommen Medikamente wie Glucocorticoide, Heparin und Laxantien in Frage. Diese Osteoporosen werden jedoch als sekundäre bezeichnet, so ist das Medikament in dem Fall auch die Ursache der Erkrankung (70).

2.6.8 Prophylaxe

Die Prophylaxe mit Hormontherapie richtet sich nach dem Zeitpunkt der Menopause, davor soll die maximale Knochenmasse erhalten werden, nach der Menopause ist es das Ziel diese erreichte Knochenmasse zu halten. Um in den jüngeren Jahren die Knochenmasse zu erhöhen, gibt es drei Empfehlungen. Als erstes sollte eine sinnvolle sportliche Tätigkeit vorhanden sein, wobei sich eine kurze intervallartige Belastung am günstigsten auf das Skelett-

system auswirkt. Frauen, die solchen Sport betreiben, weisen die höchste Knochendichte auf gefolgt von Frauen ohne sportliche Betätigung. Die geringste Knochendichte haben Frauen, die Ausdauersportarten betreiben (Marathonläuferinnen), da sie häufig an sekundärer Amenorrhö erkrankt sind, was zu einem erniedrigten Östrogenspiegel führt (50).

Die zweite Empfehlung zielt auf die richtige Ernährung. Hierbei sollte man besonders auf eine ausreichende Kalziumzufuhr von 1g pro Tag achten. Doch auch die Reduktion der Phosphat- und Proteinzufuhr ist von Bedeutung.

Wesentlich spielen die Hormone Östrogen und Gestagen eine Rolle (70). Östrogene stimulieren die TGF- β Expression, was eine verminderte Osteoklastenaktivität bewirkt. Synergistisch wirken Östrogene und Gestagene potenzierend auf den Knochenerhalt. Frauen, die diese in jüngeren Jahren einnahmen zeigen später eine höhere Knochenmasse als Frauen, die keine Hormonpräparate eingenommen haben.

Liegt die Menopause vor, so reichen die oben genannten Empfehlungen nicht mehr für eine sinnvolle Prophylaxe aus. Hier können bei Fehlen von Kontraindikationen nun Östrogene und Gestagene eingesetzt werden. Da der Östrogenschutz am Knochen dosisabhängig ist, müssen mindestens 0,6mg konjugierte natürliche Östrogene bzw. 1mg Östradiolvalerat eingesetzt werden. Diese Dosen erfordern gleichzeitig eine Gestageneinnahme, da diese die Zellproliferation und somit Gebärmutterkrebs verhindern. Die Prophylaxe sollte so lange wie möglich durchgeführt werden, da der Knochenmineralgehalt erhalten und das Frakturrisiko gesenkt werden können (70).

2.6.9 Therapie

Eine sinnvolle Therapie verfolgt zwei Ziele, die Erhöhung der Knochenmasse und die Verminderung der Frakturnrate, d.h. sie sollte den Knochenaufbau stimulieren, antiresorptiv wirken das gebildete Osteoid mineralisieren und den Abbau bremsen.

Die medikamentöse Therapie umfaßt Stoffe, die den Abbau hemmen, den Knochenaufbau stimulieren, hierbei spielen Fluoride die bedeutendste Rolle, die Mineralisation fördern, die Kalziumbilanz verbessern, die Eiweiße aufbauen und psychisch umstimmend sind (Tab. 2.5).

Tab. 2.5: Therapeutische Beeinflussung des Knochens (70)

Aufbau stimulierend	Fluoride, PTH, CGRP, N-proCT
Mineralisation, Verbesserung der Ca-Bilanz	Kalzium, Vitamin D und Metabolite
Abbau hemmend	Östrogene, Calcitonin, Biphosphonate
Eiweißaufbauend, psychisch umstimmend	Anabolika

In der Gruppe der knochenaufbauenden Stoffe sind Fluoride die am häufigsten benutzte Substanzgruppe, sie stehen als Natriumfluorid oder Natriummonofluorphosphat zur Verfügung. Der osteoblastenstimulierende Effekt der Fluoridionen führt zu einer kontinuierlichen Zunahme der trabekulären Knochendichte. Durch den Einbau der Fluoridionen in das Hydroxylapatit entstehen größere und stabilere Kristalle und der osteoklastäre Abbau wird gehemmt. Es werden 40-60mg Natriumfluorid entsprechend 18-27mg Fluoridionen oder 114-152mg Natriummonofluorphosphat entsprechend 15-20mg Fluoridionen täglich appliziert. Angestrebt wird eine maximale Zunahme der Knochendichte um 5% an der Wirbelsäule pro Jahr.

Daneben stimulieren auch Substanzen wie das Parathormon, das Calcitonin Gene related peptide (CGRP) und des N-Procalcitonin die Osteoblastenaktivität, doch sie sind nicht medikamentös applizierbar (37).

Bei den Medikamenten, die den Knochenabbau hemmen, spielen die Östrogene die größte Rolle. Ihre Wirkungen sind unabhängig vom Eintritt der Menopause bis ins Alter vorhanden. Östrogene stimulieren die 1-alpha-Hydroxylase zur Bildung des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in der Niere und hemmen die Parathormonwirkung auf zellulärer Ebene am Knochen. Die endogene Calcitoninsekretion aus den C-Zellen der Schilddrüse wird gesteigert, die Osteoklastenaktivität gesenkt, die intestinale Kalziumabsorption gesteigert und die Aktivierungsfrequenz normalisiert. Da die Östrogenwirkung am Knochen dosisabhängig ist, sollten sie möglichst hoch dosiert werden: Östradiolderivate in eine Dosierung von 1-2mg, konjugierte natürliche Östrogene in einer Dosis von 0,6mg. Die Östrogengaben müssen mit Gestagenen gekoppelt werden, damit das Endometrium nicht dauernd stimuliert wird.

Daneben wirkt auch Calcitonin auf den Knochenabbau, hier liegen Rezeptoren auf den stimulierten Osteoklasten, die dadurch gehemmt werden. Die Dosierung liegt für etwa zwei Wochen bei 100IE pro Tag, für die anschließenden 6-8 Wochen bei 2-3 Mal 100IE pro Woche.

Die Indikation für die Bisphosphonate ist ähnlich der von Calcitonin, sie haben eine hemmende Wirkung auf die Osteoklasten. Die Dosierung von Etidronat liegt bei 400mg pro Tag für zwei Wochen. Zyklische Langzeittherapien über 3 Jahre haben zu einem Knochenmassezuwachs von etwa 4-6% geführt (70).

Neben der Hemmung der Osteoklastenaktivität ist die Mineralisation der neugebildeten organischen Knochengrundsubstanz von Bedeutung. Dies geschieht durch die Gabe von Kalzium und Vitamin D als Dauertherapie. Die Kalziumdosis beträgt 1g pro Tag, während 1000IE Vitamin D täglich verabreicht werden sollten.

Kombiniert man die vier Hauptkomponenten der Osteoporosetherapie Fluorid, Kalzium, Vitamin D und Östrogen (medikamentöses Viererschema) beträgt die jährliche Zunahme an Knochenmasse bei Frauen je nach Alter 10-14% (70). Eine Erhöhung der Östrogendosis auf 1,25mg steigert den Knochenzuwachs auf 16-17%. Nach konsequenter Therapie ist ein

Knochenmassezuwachs von 30-40% zu verzeichnen. Die peripheren Frakturen gehen innerhalb von 5 Jahren Therapie um 85%, die zentralen Frakturen um 75% zurück (70).

Zur Unterstützung der medikamentösen Therapie soll auf eine den Bedürfnissen angepaßte Ernährung und auf ein tägliches Maß an körperlicher Aktivität geachtet werden.

2.7 Bone Sialoprotein (BSP)

Bone Sialoprotein wird von Osteoblasten und Osteoklasten gebildet, es hat eine molekulare Masse von $M_r = 75000$ D. Es besteht aus 50% Proteinen, 12% sialic Säure, 7% Glucosaminen und 6% Galactosaminen (49), enthält kein Cystein und im Vergleich zum BSP des Kalbs, was als erstes BSP entdeckt wurde, wenig Leucin. BSP macht etwa 12% des nicht-kollagenen Proteinanteils im Knochen, sowie 1% im Zahndentin aus (48). Vorhandene Arg-Gly-Asp (R-G-D) Sequenzen dienen als Zellkontakte und als Rezeptoren für integrale Zellproteine, während Abschnitte mit hohem Glutaminsäureanteil kalziumbindende Eigenschaften besitzen (108). Weiterhin gibt es drei Regionen, die reich an sauren Aminosäuren sind und drei reich an Tyrosin (48). Das BSP weist einen hohen Grad an Phosphorylierung auf, da 30% der Serinreste phosphoryliert sind.

Die Funktion des Proteins ist noch nicht endgültig geklärt. In vitro stimuliert es die Bildung der Hydroxyapatite (86). Es bindet an Hydroxyapatite und Zellen und scheint als Zell-Adhäsionsmolekül zu dienen, was die Bindung von Zellen an die Extrazellulärmatrix ermöglicht. Die Bildung von BSP wird durch 1,25 Dihydroxyvitamin D_3 gehemmt und durch Dexamethason stimuliert (108).

Es gibt einige Studien über das Verhalten von BSP im Knochenstoffwechsel, bei Knochenerkrankungen und rheumatoider Arthritis im Vergleich mit anderen Knochenstoffwechselfaktoren.

Yuming et al (144) fand heraus, daß die BSP-Konzentration bei Kindern und Jugendlichen höher ist als bei Erwachsenen mit Maximalwerten in der frühen Kindheit und während der Pubertät. Nach der Menopause steigen die BSP-Werte bei Frauen um 50% an. Generell unterliegt das Protein tageszeitlichen Schwankungen mit einem Peak zwischen 4.00 und 8.00 Uhr und einem stetigen Abfall bis zum Mittag (5,0–21,6 ng/ml). Die Konzentrationsunterschiede betragen hierbei 20 %, was 10,5 ng/ml entspricht. Doch daneben existieren auch Differenzen zwischen verschiedenen Tagen, die sich durchschnittlich auf 11,7% (7,3 – 17,7%) belaufen.

Seibel et al (123) untersuchte das Verhalten von BSP in Gesunden im Vergleich zu Patienten mit Knochenerkrankungen. Die BSP-Levels waren in gesunden, postmenopausalen Frauen höher ($M = 13,3$ ng/ml) als in prämenopausalen ($M = 9,04$ ng/ml). Eine mäßige Korrelation konnte zwischen Serum-BSP und Alter, jedoch nicht zur Dauer der Menopause festgestellt werden. Es existierte kein Unterschied der BSP-Levels zwischen früher und später Menopause. Bei Männern gab es keinen Zusammenhang zwischen Serum-BSP-Level und Alter, Körpergröße, Gewicht, Knochendichte und Serum-Kalzium.

Tab. 2.6: Charakteristika der gesunden Population (123)

	Männer	Frauen (prämenopausal)	Frauen (postmenopausal)
Anzahl	75	20	38
Alter (Jahre)	59 (20 – 79)	44 (20 – 48)	68 (45 – 80)
Serum-BSP (ng/ml)	11,24 (3,7 – 27,4)	9,04 (2,6 – 19,3)	13,3 (5,4 – 23,5)
Serum-BAP (U/l)	12,7 (3,9 – 42,0)	10,4 (3,5 – 16,8)	13,3 (7,1 – 28,5)
Serum-Kalzium (mM/l)	2,38 (2,16 – 2,62)	2,39 (2,17 – 2,59)	2,41 (2,25 – 2,72)
Urin-Deoxypyridinoline (nM/mM Creatinin)	5,0 (2,0 – 11,1)	5,1 (1,9 – 17,1)	7,2 (3,3 – 14,5)

Die Serum-BSP-Levels bei Stoffwechsel – und bösartigen Knochenkrankheiten sind im Vergleich zu Gesunden wesentlich erhöht. Das gleiche läßt sich bei chronischen Nierenerkrankungen und eingeschränkter Lungenfunktion feststellen, jedoch scheinen chronische Lebererkrankungen keinen Einfluß auf den BSP-Spiegel zu haben.

Tab. 2.7: Charakteristika bei Knochenerkrankungen (123)

	prim.Hyperparathyreodismus	Morbus Paget	Sek.Hyperparathyreodismus	Brustkrebs
Anzahl	26	14	25	17
Männer/ Frauen	3/23	11/3	16/9	0/17
Alter (Jahre)	62,0 (15 – 92)	58,4 (43 – 71)	51,9 (33 – 77)	66,0 (28 – 71)
Serum-BSP (ng/ml)	17,3 (5 – 101)	24,9 (10,8 – 38,3)	29 (12,6 – 84,7)	17,8 (11,6 – 99,3)
Serum-BAP (U/l)	19,1 (4,2 – 73,3)	60,8 (40,8 – 119)	13 (4,8 – 61,2)	18 (13,7 – 20)
Serum-Kalzium (mM/l)	2,8 (2,6 – 3,51)	2,35 (2,08 – 2,51)	2,29 (1,9 – 2,54)	2,13 (2,04 – 2,41)
Urin-Deoxypyridinoline (nM/mM Cr)	12,8 (3,9 – 3,9)	18 (7,5 – 35,7)	9,5 (3,4 – 28,7)	24,6 (0,21 – 43,9)

Tab. 2.8: Charakteristika bei Nicht-Knochenerkrankungen (123)

	chron.Nieren- funktionsstörung	chron.Leberfunktions- störung	chron.Lungenleiden
Anzahl	26	35	26
Männer/Frauen	14/12	30/5	18/8
Alter (Jahre)	50 (32 – 71)	53,8 (35 – 71)	66 (36 – 74)
Serum-BSP (ng/ml)	17,6 (8,3 – 125)	11,1 (2,0 – 26,2)	16,5 (7,7 – 33,5)
Serum-BAP (U/l)	9,4 (5,2 – 66,4)	13,9 (5,3 – 67,1)	9,5 – (5,8 – 26,2)
Serum-Kalzium (mM/l)	2,33 (2,09 – 2,74)	2,24 (1,9 – 2,44)	2,43 (2,16 – 2,59)
Urin-Deoxypyridinoline (nM/mM Creatinin)	10,5 (3,2 – 22,7)	17,1 (3 – 74,3)	9,4 (2,6 – 43,4)

Karmatschek et al (69) bestätigte 1997 die Untersuchungsergebnisse von Seibel et al. Das Serum-BSP lag hier bei Gesunden bei 12,1 ng/ml (6,2 – 22,4 ng/ml). In Patienten mit Morbus Paget ($M = 32,3 \pm 17,3$ ng/ml), primärem ($24,7 \pm 13,5$ ng/ml) und sekundärem Hyperparathyreodismus ($23,0 \pm 14,7$ ng/ml), sowie renaler Funktionsstörung erhöht, jedoch hat eine Leberfunktionsstörung keinen Einfluß auf den BSP-Level. Treten sekundärer Hyperparathyreodismus und renale Funktionsstörung zusammen auf, steigen die BSP-Werte (11,7 – 49,5 ng/ml).

In einer Studie zum Verhalten des Bone Sialoprotein bei Mamma-Karzinom von Diehl et al (36) ergab sich eine hohe Korrelation zwischen der BSP-Konzentration und dem Auftreten von Knochenmetastasen. Während das Serum- BSP bei Patienten mit Mamma-Karzinom ohne Knochenmetastasen bei 11,2 ng/ml liegt, steigt es beim Vorkommen von Metastasen auf 24 ng/ml an. Je höher der BSP-Level bei Mamma-Karzinom-Erkrankungen desto größer ist das Risiko der Entwicklung von sklettalen Metastasen. Karzinomzellen fördern die Expression von einigen Knochenmatrixproteinen wie Osteonectin, Osteopontin und BSP (13). Diese Ergebnisse wurden von Bellahcene et al bestätigt (4,5).

Withold et al (141) untersuchten BSP im Serum von Patienten mit bösartigen Knochenerkrankungen. In Gesunden fanden sich Serum-BSP-Konzentrationen von 2-23 µg/l, die keinen geschlechtsspezifischen Unterschied aufwiesen. Bei postmenopausalen Frauen waren die BSP-Werte ($27,3 \pm 11,9$ µg/l) um 142% höher als bei prämenopausalen, bei älteren Männern lagen sie mit $18,4 \pm 5,0$ µg/l um 63% höher als bei jüngeren. Patienten mit Knochenmetastasen wiesen höhere BSP-Konzentrationen im Serum auf als Tumorpatienten ohne Metastasen im Knochen. Ebenso verhielt es sich mit der knochenspezifischen Phosphatase (BAP), dem carboxyterminalen Propeptid (PICP) und der Urinausscheidung von Deoxy-

pyridinolin. Marker der Knochenformation korrelierten hier im Gegensatz zu BSP mit der Ausscheidung von Deoxypyridinolin im Urin. Kein Unterschied der BSP-Werte wurde in Patienten ohne Knochenmetastasen mit Brustkrebs ($24 \pm 8 \mu\text{g/l}$) oder anderen Krebsarten ($22 \pm 6 \mu\text{g/l}$) gefunden.

Das Verhalten des Bone Sialoproteins beim Vorliegen von Arthritiden wird in den folgenden Studien beschrieben.

Peterson et al (100) fand heraus, daß die Serum-Konzentration von Proteinen der Knochenmatrix und des BSP in Patienten mit Osteoarthritis und Knieschmerzen im Vergleich zu Gesunden erhöht ist. Die BSP-Werte liegen bei Gesunden um $7,48 \text{ ng/ml}$ und steigen bei Arthritispatienten auf $8,24 \text{ ng/ml}$ (101). Die Serum-Level der Knochenmatrixproteine korrelieren positiv mit dem Schweregrad der Arthritis ($r = 0,56$, $p = 0,002$), während dies bei BSP nicht der Fall ist.

In einer Untersuchung von Saxne et al in Schweden (108) wurde in Gesunden eine BSP-Serum-Konzentration von durchschnittlich $74,7 \text{ ng/ml}$ ($49,8\text{-}99,8 \text{ ng/ml}$) gemessen. Diese Werte zeigten keine Abhängigkeit vom Geschlecht oder Alter, und es gab keine Unterschiede zwischen Frauen und Männern sowie bei Patienten, die Glucocorticoide einnahmen oder nicht.

Bei Patienten mit rheumatoider Arthritis stieg die Plasma-BSP-Konzentration mit dem Grad der Gelenkschädigung an. Die Korrelation ist hoch und signifikant ($r = 0,6848$, $P > 0,001$). Die Serumkonzentration von BSP steigt ebenfalls, korreliert jedoch nicht mit dem Grad der Arthritis.

Reziprok fallen die Osteocalcinwerte (OC) aus. Die Plasmakonzentration korreliert hier nicht mit dem Grad der Erkrankung ($r = -0,1496$), aber die Serumwerte steigen mit der fortschreitenden Gelenkschädigung an ($r = 0,4567$, $P < 0,001$). In Bezug auf Alter und Geschlecht verhält sich OC wie BSP.

Die Serumwerte von BSP und OC korrelieren in Gesunden schwach ($r = 0,3371$, $P < 0,02$). Unterteilt man die Patientengruppe jedoch nach Geschlecht und Alter findet man eine signifikante Korrelation dieser Marker bei Frauen im Alter von 51-70 Jahren ($r = 0,7932$, $P < 0,01$).

In der Gruppe der Arthritis-Patienten korrelieren die Serum-Konzentrationen von BSP und OC signifikant ($r = 0,4568$, $P < 0,001$), dies ist auch der Fall, wenn man die über 50jährigen Patienten nach dem Geschlecht unterteilt (Männer: $r = 0,6378$, $P < 0,01$; Frauen: $r = 0,4233$, $P < 0,01$). Bei Frauen unter 50 Jahren wurde dagegen keine Korrelation gefunden.

Die Plasmakonzentrationen von BSP und OC korrelieren weder in Gesunden noch in Arthritis-Patienten ($r = 0$).

Eine weitere Studie über die BSP-Konzentrationen in Patienten mit rheumatoider Arthritis zeigte erhöhte BSP-Werte bei Erkrankten im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe. Eine Unterteilung der Untersuchungsgruppe in Patienten mit rasch und langsam fortschreitendem

Knorpel- und Knochenabbau ergab höhere Konzentrationen von BSP bei schnellerem Krankheitsverlauf (86,7-136,8 ng/ml) im Vergleich zu gemäßigtem Verlauf (64,0-159,8 ng/ml). Jedoch liegen die Werte beider Gruppen, deutlich über den bei Gesunden gemessenen (49,8-96,2 ng/ml). Die BSP-Konzentration korrelierte hier nicht mit anderen Markern des Knochenstoffwechsels (86).

Zusammenfassend lassen diese Studien den Schluß zu, daß erhöhte BSP-Level ein Indikator für einen erhöhten Knochenumsatz sind.

3. Experimentelle Untersuchungen und Methoden

3.1 Studienpopulation und Datenerhebung

Untersucht wurden 170 Patienten im Alter von 20 bis 93 Jahren, die mit Verdacht auf Osteoporose in die Poliklinik gewiesen wurden. Anhand von Blutabnahme und Sammeln einer Urinprobe zur Bestimmung osteotroper Hormone und Kollagenbestandteilen und biochemischer Marker des Knochenstoffwechsels sowie der Messung der Knochendichte wurde die Diagnose einer Osteoporose bestätigt oder verworfen. Die für diese Arbeit verwendeten Untersuchungen fanden zwischen Januar 1997 und Juni 1998 statt.

Die Blutentnahme und das Sammeln von Urin erfolgte zwischen 8.00 und 10.00 Uhr morgens in nüchternem Zustand der Patienten. Die Blutproben wurden unmittelbar nach der Entnahme zentrifugiert und bei -80°C eingefroren, die Urinproben wurden bei -30°C gelagert. Innerhalb der folgenden Wochen wurden die Proben ohne ein zwischenzeitliches Auftauen im Labor analysiert.

Die Messung der Knochendichte an der LWS (L2-L4) und dem Schenkelhals erfolgte mittels Dual-Röntgen-Absorptiometrie. Mittels der jeweiligen Referenzbereiche wurde die Standardabweichung berechnet, anhand dieser die Diagnose einer manifesten Osteoporose gestellt werden konnte, wobei die Ergebnisse der Laborbestimmungen nicht mit berücksichtigt wurden.

Die erhobenen Daten der Blutproben und der Knochendichtemessung wurden auf das Vorhandensein einer Korrelation zu dem Knochenstoffwechselparameter BSP untersucht. Da BSP hauptsächlich einen Parameter für den Knochenaufbau darstellt, wurden nur die Knocheninformationsparameter BAP, OC und PICP in ihrem Verhältnis zu BSP überprüft. Ein Vergleich von BSP mit den wichtigsten Knochenabbauparametern wie die Hydroxypyridinium-Crosslinks und die Tartrat-resistente-saure Phosphatase würde hierbei keinen Sinn ergeben, obwohl ihre Bedeutung für die Verlaufskontrolle einer Therapie bei Osteoporose außer Frage steht.

3.2 Laborchemische Bestimmung der Knochenstoffwechselfparameter

3.2.1 Knochenspezifische alkalische Phosphatase (BAP)

Der Test der Firma Metra Biosystems Inc. ist ein Enzym Immunoassay zur quantitativen Bestimmung der Aktivität des knochenspezifischen Isoenzym der alkalischen Phosphatase (BAP) im Serum.

Reagenzien:

1. Anti-BAP-beschichtete Mikrostrips: monoklonales Maus-IgG
2. BAP-Standards mit 0, 2, 20, 50, 80 und 140U BAP/l
3. hohe und niedrige Kontrolle
4. Waschpuffer
5. Assaypuffer
6. Substratpuffer
7. p-Nitrophenyl-Phosphat (pNPP)-Tabletten a 20 mg
8. Stop-Lösung (1N NaOH)

Testprinzip:

Der hier verwendete Assay ist ein immunologischer Festphasentest, der mit Antikörpern gegen zwei verschiedene antigene Determinanten des BAP-Moleküls arbeitet. Serumproben, Kontrollen oder Standards werden in Anti-BAP beschichtete Küvetten der Mikroplatte pipetiert. Während der ersten dreistündigen Inkubation bindet das BAP der Proben an die Bindungsstellen der an die Festphase gebundenen monoklonalen BAP-Antikörper. Ungebundene Reaktionspartner werden in einem anschließenden Waschschrift entfernt. Anschließend zugegebenes Substrat, p-Nitrophenyl-Phosphat (pNPP), wird vom gebundenen Enzym während einer weiteren dreißigminütigen Inkubation zu einem farbigen Endprodukt umgesetzt. Durch Zugabe der Stop-Lösung (1N NaOH) wird die enzymatische Reaktion abgestoppt. Die bei einer Wellenlänge von 405nm gemessene optische Dichte der Lösung ist der Aktivität der BAP in der Probe direkt proportional.

Methode:

Vor Testbeginn müssen alle Reagenzien vor Verwendung im Assay auf Zimmertemperatur temperiert werden.

Zunächst werden jeweils 125µl Assaypuffer auf den Boden der Mikroküvetten pipettiert und 20µl der Standards, Kontrollen und Proben dazugegeben. Nach dem Mischen der Reagenzien auf einem Mikroplattenschüttler werden die Mikrostrips abgedeckt und drei Stunden bei Raumtemperatur (20-28°C) inkubiert. Es folgt ein Dekantieren und viermaliges Waschen mit 300µl verdünntem Waschpuffer. Nun werden 150µl Substratlösung in jede Mikroküvette pipettiert, die abgedeckt 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren. Danach gibt man 100µl Stop-Lösung (1N NaOH) zu jeder Küvette.

Die Messung der optischen Dichte erfolgt im Spektralphotometer bei 405nm. Die Ergebnisse werden in U/l angegeben, wobei 1 Unit des Alkphase-B-Assays 1µmol pNPP entspricht, welches pro Minute bei 25°C in 2-Amino-2-Methyl-1-Propanol-Puffer hydrolysiert wird.

Die Normalwerte für die Serumkonzentration von BAP betragen laut Hersteller bei Frauen im Alter von 25 bis 55 Jahren 11,6-30,6 U/l, bei über 56jährigen 14,8-43,4U/l. Männer weisen Werte von 15,0-41,3 U/l auf.

3.2.2 Osteocalcin (OC)

Osteocalcin wurde mit Hilfe eines zweiseitigen immunoradiometrischen Assays des Nichols Institute Diagnostics quantitativ im Serum bestimmt.

Reagenzien:

1. Osteocalcin-Antikörper beschichtete Kugeln: Anti-OC 20-36
2. ^{125}J -OC-Antikörper: Anti-OC 1-19 in 0,25 M Phosphat gepufferter Kochsalzlösung mit Proteinstabilisatoren und 0,1% Natriumazid
3. OC-Null-Standard: lyophilisiertem Humanserum mit 0,1% Natriumazid
4. OC Standards: Human OC lyophilisiert in Serum mit 0,1% Natriumazid
5. OC-Kontrollen: Human OC lyophilisiert in Serum mit 0,1% Natriumazid
6. Waschlösungskonzentrat: Surfactant in Phosphat gepufferter Kochsalzlösung mit 0,5% Natriumazid
7. OC Standard (optional)

Testprinzip:

Die Bestimmung von intaktem OC und dem N-terminalen Fragment der Mittelregion erfolgt mittels zweiseitigem immunoradiologischem Assay (IRMA).

Zwei verschiedene polyklonale Antikörper von humanem OC werden durch Affinitäts-Chromatographie gereinigt. Der Antikörper, der die Region 20-34 des Peptids erkennt, ist auf den Kugeln fixiert und bindet das OC-Molekül. Der andere Antikörper bindet nur die Region 1-19 und wird zur Erkennung radioaktiv markiert.

Die OC enthaltene Probe wird mit einer Antikörper beschichteten Kugel und dem mit ^{125}J markierten Antikörper inkubiert. Das enthaltene OC wird von beiden Antikörpern zu einem „Sandwich-Komplex“ gebunden.

Kugel Anti-OC (20-36) ---- Osteocalcin ---- ^{125}J Anti-OC (1-19)

Am Ende der Inkubation wird die Kugel gewaschen, um die ungebundenen Komponenten zu entfernen. Die auf der festen Phase gebundene Radioaktivität wird in einem Gammazähler gemessen. Die Radioaktivität des Antikörper-Komplexes ist direkt proportional zu der Menge an Osteocalcin in der Probe.

Mit den gemessenen Counts der Standards wird eine Eichkurve erstellt, aus der direkt die Konzentrationen des OC in den Kontroll- und Patientenproben gemessen werden.

Methode:

Von den Standards, Kontrollen oder Proben werden jeweils 10 µl in Röhrchen pipettiert, dazu mischt man 200 µl des $^{125}\text{J-OC}$ -Antikörpers. Mit dem Kugel Dispensor verteilt man eine Kugel in jedes Röhrchen, welches dann verschlossen für drei Stunden bei Raumtemperatur (18-22°C) inkubiert wird. Danach wird jede Kugel dreimal gewaschen und die restliche Flüssigkeit abgesaugt. Alle Teströhrchen werden im Gammazähler für eine Minute gezählt und die Impulsraten aufgezeichnet.

Die Normwerte liegen laut Hersteller bei Frauen bei 2,4-10,0 ng OC/ml und bei Männern bei 3,4-11,7 ng OC/ml.

3.2.3 Carboxyterminales Propeptid des Typ I-Prokollagen (PICP)

Der angewendete Test der Firma Metra Biosystems Inc. ist ein Sandwich-Enzym Immunoassay zur quantitativen Bestimmung von C-terminalem Propeptid des Typ I-Prokollagens im Serum.

Reagenzien:

1. Anti-CICP-beschichtete Mikrostrips: monoklonales Maus IgG
2. Anti-CICP: polyklonal, Kaninchen
3. alkalische Phosphatase-markiertes Anti-Kaninchen IgG: polyklonal, Ziege (Enzym-Konjugat)
4. CICP-Standards mit 0, 1, 2, 5, 20 und 80ng PICP/ml
5. Assaypuffer
6. Substratpuffer
7. p-Nitrophenyl-Phosphat (pNPP)-Tabletten a 20mg
8. Waschpuffer
9. CICP-Kontrollen
10. Stop-Lösung (3N NaOH)

Testprinzip:

Der hier verwendete Test ist ein Immunoassay und bedient sich der Doppelantikörpermethode.

Serumproben, Kontrollen oder Standards werden in Anti-CICP beschichtete Küvetten pipetiert. Während der ersten zweistündigen Inkubation bindet das CICP der Proben an die Bindungsstelle der an die Festphase gebundenen monoklonalen CICP-Antikörper. Ungebundene Reaktionspartner werden in einem anschließenden Waschschrift entfernt. In einem zweiten 45-minütigen Inkubationsschritt bindet ein zweiter polyklonale Anti-CICP-Kaninchenantikörper an das Festphasen-gebundene CICP. Durch einen Waschschrift werden wieder die ungebundenen Komponenten entfernt. Anschließend zugegebenes Enzym-Konjugat bindet in einem weiteren 45-minütigen Inkubationsschritt an die polyklonalen Kaninchen-Anti-CICP-Antikörper. In einem dritten Waschschrift wird ungebundenes Enzym-Konjugat entfernt.

Zugegebenes Substrat, p-Nitrophenyl-Phosphat (pNPP), wird vom gebundenen Enzym während einer 30-minütigen Inkubation zu einem farbigen Endprodukt umgesetzt. Durch Zugabe der Stop-Lösung (3N NaOH) wird die enzymatische Reaktion abgestoppt.

Die bei einer Wellenlänge von 405nm gemessene optische Dichte der Lösung ist der Konzentration des CICP in der Probe direkt proportional

Methode:

Alle Reagenzien müssen vor Testbeginn auf Raumtemperatur (18-20°C) gebracht werden. Die Serumproben werden vor Einsatz in den Assay im Verhältnis 1:12 mit Assaypuffer verdünnt. Jeweils 100µl der Standards, Kontrollen und verdünnten Proben werden in Mikroküvetten pipettiert und die abgedeckten Strips zwei Stunden bei Zimmertemperatur (18-25°C) inkubiert. Es folgt ein Dekantieren und dreimaliges Waschen mit jeweils 300µl Waschlösung. Im Anschluß daran sind 100µl Anti-CICP in jede Küvette zu pipettieren, worauf ein 45-50-minütiges Inkubieren in abgedeckten Mikrostrips bei Raumtemperatur erfolgt. Wie beim vorausgegangenen Schritt wird hiernach dekantiert und gewaschen. In die Küvetten werden 100µl Enzym-Konjugat pipettiert, die abgedeckt wiederum 45-50 Minuten bei 18-25°C inkubieren und dann gewaschen werden. Im letzten Schritt pipettiert man 100µl in jede Küvette, inkubiert 30-35 Minuten bei Zimmertemperatur und gibt anschließend 50µl Stop-Lösung (3N NaOH) hinzu. Die Messung der optischen Dichte der Proben erfolgt im Spektralphotometer bei 405nm.

Zur Auswertung des CICP-Assays werden die gemessenen Daten (linear) gegen die CICP-Standardkonzentrationen (logarithmisch) aufgetragen. Die Berechnung erfolgt mittels der 4-Parameter-Logistik. Als Alternativverfahren bietet sich die Logit-log-Auswertung an. Dazu werden die optischen Dichten der Proben durch die der Standards dividiert und die %-Bindungen gegen die CICP-Konzentration (logarithmisch) auf Logit-log-Papier aufgetragen. Die aus der Standardkurve abgelesenen Konzentrationen sind mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor zu multiplizieren.

Die Normalwerte für die Serumkonzentration von CICP liegen laut Hersteller bei prämenopausalen Frauen bei 69-147 ng CICP/ml, bei postmenopausalen bei 65-165 ng CICP/ml. Normale Männer weisen Werte von 76-163 ng CICP/ml auf.

3.2.4 Parathormon (PTH)

Das Intakt PTH Immunoassay System von Nichols Institute Diagnostika ist ein zweiseitiger immuno-radiometrischer Assay (IRMA) zur Bestimmung des biologisch intakten PTH im Serum.

Reagenzien:

1. PTH-Antikörper beschichtete Kugeln: Anti-PTH 39-84 Ziegenantikörper
2. ^{125}J -PTH-Antikörper Lösung: Anti-PTH 1-34 Ziegenantikörper in Phosphat gepufferter Kochsalzlösung mit Proteinstabilisatoren und 0,1% Natriumazid
3. Intakt PTH Null Standard: lyophilisiertem Humanserum mit 0,1% Natriumazid
4. Intakt PTH Standards: Human PTH 1-84 lyophilisiert in Serum mit 0,1% Natriumazid
5. Waschlösungskonzentrat: Surfactant in Phosphat gepufferter Kochsalzlösung mit 0,2% Natriumazid
6. Intakt PTH Kontrollen: PTH 1-84 lyophilisiertem Humanserum mit 0,1% Natriumazid
7. Intakt PTH Standard (optional): PTH 1-84 lyophilisiert in Serum mit 0,1% Natriumazid

Testprinzip:

Es handelt sich hier um ein zweiseitiges immuno-radiometrischer Assay. Zwei polyklonale Antikörper

aus der Ziege wurden durch Affinitäts-Chromatographie gereinigt. Sie sind spezifisch für zwei verschiedene Bereiche des intakten Moleküls. Ein Antikörper ist dazu bestimmt, nur das der Mittelregion und C-terminale PTH 39-84 zu binden und wird auf Kugeln fixiert. der andere Antikörper bindet nur das N-terminale PTH 1-34 und wird zwecks Erkennung radioaktiv markiert.

Die PTH enthaltende Probe wird mit einer Antikörper beschichteten Kugel und ^{125}J markierten Antikörper inkubiert. Das in der Probe vorhandene PTH wird von beiden, dem fixierten wie auch dem markierten Antikörper, zu einem Sandwich-Komplex gebunden.

Kugel Anti-PTH (39-84) ---- Intaktes PTH (1-84) ---- ^{125}J Anti-PTH (1-34)

Obwohl Mittelregion und C-terminale Fragmente von dem Antikörper überzogenen Kugeln gebunden werden, bildet jedoch nur das intakte PTH 1-84 den Komplex, der für den Nachweis notwendig ist. Die Kapazität des fixierten Antikörpers wurde so angeglichen, daß keine Beeinträchtigung durch inaktive Fragmente, auch bei sehr hohen Werten, auftritt.

Am Ende der Inkubation wird die Kugel gewaschen, um nicht gebundene Komponenten zu entfernen. Die auf der festen Phase gebundene Radioaktivität wird in einem Gammazähler

gemessen. Da die Formation eines Sandwich-Komplexes nur in Gegenwart eines intakten PTH Moleküls stattfindet, steht die Radioaktivität des kugelgebundenen Komplexes in direktem Verhältnis zu der in der Probe vorhandenen Menge an intaktem PTH.

Mit den gemessenen Counts der Standards wird eine Eichkurve erstellt. Die Konzentration der intakten PTH Kontroll- und Patientenproben werden direkt aus dieser Kurve ermittelt.

Methode:

Jeweils 200 µl Standards, Kontrollen oder Patientenproben werden in Röhrchen pipettiert, dazu kommen 100 µl der Antikörperlösung. Mit einem Kugel-Dispensor verteilt man eine Kugel in jedes Röhrchen, verschließt dieses und inkubiert bei Raumtemperatur 22 ± 2 Stunden. Danach werden die Kugeln gewaschen, in dem man 2,0 ml Waschlösung in die Röhrchen gibt und die Flüssigkeit komplett absaugt. Jedes Teströhrchen wird im Gammazähler für eine Minute gezählt und die Impulsraten werden aufgezeichnet.

Die Normalwerte für PTH im Serum für Erwachsene liegen laut Hersteller bei 10-65 pg PTH/ml.

3.2.5 Bone Sialoprotein (BSP)

Das Bone Sialoprotein aus Serum wurde quantitativ mit Hilfe eines Radio-Immuno-Assays (RIA) von Immun Diagnostik in Bensheim bestimmt.

Reagenzien:

1. OC-Standard Null
2. OC-Standard in den Konzentrationen 1,8-3,75-7,5-15-30-60-120 µg/l
3. NSB
4. ^{125}J -BSP-Tracer
5. Anti-BSP-Antiserum
6. Anti-BSP-Antiserum
7. Waschpuffer

Testprinzip:

Das Bone Sialoprotein der Proben konkurriert mit einem ^{125}J -markierten BSP-Tracer um die freien Bindungsstellen des Antikörpers (Anti-BSP-Hühner-Antiserum). Die BSP-Tracer-Antikörper-Komplexe werden mittels Doppelantikörper-Präzipitation von der ungebundenen Fraktion abgetrennt. Die Radioaktivität des präzipitierten Pellets wird im Gamma-Zähler gemessen. Die Höhe der gemessenen Radioaktivität verhält sich reziprok proportional zur BSP-Menge in den Proben und kann anhand einer mitgeführten Eichkurve quantifiziert werden.

Methode:

Jeweils 100µl Standards, NSB und Patientenproben werden in Röhrchen pipettiert und 100µl Erst-Antikörper dazugegeben. Nach Zugabe von 100µl ^{125}J -Tracer wird 24 Stunden lang bei 4°C inkubiert. Danach pipettiert man 500µl Zweit-Antikörper dazu und inkubiert nochmals eine Stunde bei 4°C. Die Röhrchen werden zehn Minuten bei 1800 x g zentrifugiert und die Überstände dekantiert. Nun kommen 500µl Waschpuffer dazu und es wird wieder zentrifugiert. Das Sediment wird im Gammazähler gezählt.

Die Normalwerte liegen laut Hersteller bei 5,0 – 21,6µg BSP/l.

3.3 Knochendichtemessung

Das Grundprinzip der Osteodensitometrie mittels planarer Methoden ist die Messung der Abschwächung eines Photonen- oder Röntgenstrahls beim Durchgang durch den Körper. Die Messung der Knochendichte (BMD) erfolgt über die Bestimmung des Knochenmineralgehaltes pro cm^2 mittels einer Zwei-Energie-Absorptionsmethode, der Dual-Röntgen-Absorptiometrie. Es werden Skelettabschnitte mit überwiegend spongiösem Knochen, wie die Lendenwirbelsäule am 2.-4. Lendenwirbelkörper (a.p., seitlich), und mit hohem Kortikalisanteil, wie der Schenkelhals (Ward's Dreieck) gemessen. Die erreichte Präzision liegt bei 1-4% (70). Diese Untersuchung erfolgt einmal im Jahr, um das Frakturrisiko abschätzen zu können.

Für Frauen liegen Referenzdaten vor, anhand dessen die Diagnose gestellt werden kann. Nach der operationalen Definition (WHO 1994) liegt bis zu einem Knochendichtewert von -1SD unterhalb des Mittelwertes des Referenzbereichs Gesunder ein normaler Knochenmineralgehalt vor, zwischen -1SD und $-2,5\text{SD}$ eine Osteopenie und unter $-2,5\text{SD}$ eine Osteoporose (37).

Im Vergleich zu den biochemischen (funktionellen) Parametern wie OC, BSP ist die Messung der Knochendichte ein morphologischer, statischer Parameter, der in der Diagnose einer Osteoporose der „goldene Standard“ ist. Auch wenn beide Parameter für die Erhebung der Diagnose einer Osteoporose verwendet werden, dienen die Knochenstoffwechselfparameter eher der Verlaufskontrolle in der Osteoporosetherapie und können die Osteodensitometrie in ihrer Aussagekraft nicht ersetzen.

3.4 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte durch die Statistikprogramme SPSS und Excel 7.0. Die Patienten wurden nach dem Geschlecht und dem Vorliegen einer Osteoporose eingeteilt.

Mittels deskriptiver Statistik wurden die untersuchten Parameter auf eine Abweichung von der Gauß'schen Normalverteilung hin überprüft und Mittelwert, Median, Standardabweichung sowie Varianz berechnet. Die Normalverteilung ist Voraussetzung für statistische Berechnungen, somit wurde BSP zu seinem natürlichen Logarithmus transformiert, da es als einzige Variable keine Normalverteilung aufwies. Durch einseitige Varianz- und GLM-Analyse wurden der Pearson's Korrelationskoeffizient und die Signifikanz bestimmt. Die Abhängigkeit von BSP von anderen Knochenstoffwechselfparametern wurde in Diagrammen durch eine lineare Regressionsgerade dargestellt. Der Wertebereich des Korrelationskoeffizienten erstreckt sich über $-1 \leq r \leq 1$. Ist der Koeffizient größer Null, so spricht man von positiver Korrelation (direkte Proportionalität), d.h. große (kleine) Werte von X treten mit großen (kleinen) Werten von Y auf. Eine negative Korrelation liegt vor, wenn der Koeffizient kleiner als null ist, hier treten große Werte von X mit kleinen Werten von Y auf und umgekehrt (indirekte Proportionalität).

Allen statistischen Tests wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% ($\alpha=0,05$) auf Basis zweiseitiger Tests zugrunde gelegt.

4. Ergebnisse

4.1 Deskriptive Statistik

Die Ergebnisse der untersuchten biochemischen Marker des Knochenstoffwechsels, die verschiedenen Parameter der Knochendichte sowie des Serums sind in den folgenden Tabellen (Tab. 4.1-4.9) aufgelistet. Angegeben werden Mittelwert, Standardabweichung, Standardfehler des Mittelwerts, Median und Variationsbreite der jeweiligen Meßgröße. Die Gesamtstudienpopulation wird nach Geschlecht und Diagnose in verschiedenen Tabellen unterteilt.

Alle Meßgrößen werden auf ihr Verhältnis zu Bone Sialoprotein Werten überprüft, dies geschieht mit Hilfe der Pearson's Korrelation. Die Ergebnisse sind in den aufgeführten Tabellen (Tab. 4.10-4.15) gezeigt, weiterhin werden sie in dem jeweiligen Kapitel für eine spezifische Meßgröße mit Hilfe der linearen Regressionsanalyse in Diagrammform dargestellt. Hierbei werden Männer ohne Osteoporose aufgrund ihres geringen Auftretens in der Studienpopulation nicht berücksichtigt.

Tab. 4.1: Deskriptive Statistik der biochemischen Parameter des Knochenstoffwechsels und der Variablen der Knochendichte in der Gesamtpopulation

	n	Mittelwert	SD	SDM	Median	Variation
BSP (ng/ml)	170	8,272	4,959	0,38	7,35	1,9 - 36,4
Vit D3 (ng/ml)	159	23,838	15,482	1,228	21	3 - 99
Ca (mmol/l)	168	4,821	22,094	1,705	2,4	2 - 206
P (mmol/l)	169	1,734	7,839	0,603	1,1	0,6 - 103
Cortisol (µg/ml)	160	16,218	6,501	0,514	14,84	2,69 - 35,57
Creatinin (mg/dl)	154	1,542	52,165	4,204	66	0,8 - 336
PTH (pg/ml)	170	39,586	43,291	3,32	31,55	4,4 - 508
Östradiol (pg/ml)	147	60,516	69,241	5,711	30	1 - 385
Testosteron (ng/dl)	23	437,391	175,305	36,554	387	185 - 890
FSH (mU/ml)	154	81,856	513,69	41,394	42,85	0,6 - 640,4
LH (mU/ml)	153	13,972	10,919	0,883	12,6	0,53 - 54
T3 (mg/dl)	166	150,56	24,837	1,928	149,5	93 - 234
FT4-RIA (pg/ml)	165	13,477	2,884	0,225	13,3	4,97 - 22,6
Deoxypyr. (nmol/mmol)	154	11,014	40,379	3,254	6,4	0,8 - 501
OC (ng/ml)	169	5,492	3,003	0,231	5	0,5 - 22,3
PICP (ng/ml)	165	98,41	74,185	5,775	84,2	31,6 - 875
BAP (U/l)	167	23,633	20,344	1,574	19,6	2,4 - 182
Mittel LWS ap (g/cm ²)	151	0,971	0,202	0,016	0,947	0,669 - 2,445
Mittel Z von LWS ap	151	-0,635	1,27	0,103	-0,773	- 3,585 - 3,325
Mittel Schenkelhals (g/cm ²)	150	0,737	0,13	0,011	0,732	0,432 - 1,113
Mittel Z von Schenkelhals	149	-0,339	0,953	0,078	-0,333	- 2,647 - 2,227

Tab. 4.2: Deskriptive Statistik der biochemischen Parameter des Knochenstoffwechsels und der Variablen der Knochendichte in der Gruppe der weiblichen Patienten

	n	Mittelwert	SD	SDM	Median	Variation
BSP (ng/ml)	144	8,45	5,214	0,435	7,45	1,9 - 36,4
Vit D3 (ng/ml)	135	24,237	16,172	1,392	21	3 - 99
Ca (mmol/l)	142	5,265	24,018	2,016	2,4	2 - 206
P (mmol/l)	143	1,846	8,522	0,713	1,1	0,6 - 103
Cortisol (µg/ml)	136	16,37	6,849	0,587	15,03	2,69 - 35,57
Creatinin (mg/dl)	132	72,916	52,018	4,528	60,7	0,8 - 336
PTH (pg/ml)	144	40,01	45,259	3,772	31,8	7,3 - 508
Östradiol (pg/ml)	124	64,833	74,288	6,671	29	1 - 385
FSH (mU/ml)	132	94,568	554,122	48,23	49,75	0,6 - 640,4
LH (mU/ml)	131	15,822	10,718	0,937	14,5	0,53 - 54
T3 (mg/dl)	141	151,78	24,89	2,096	150	99 - 234
FT4-RIA (pg/ml)	140	13,391	2,904	0,245	13,2	4,97 - 22,6
Deoxypyr. (nmol/mmol)	132	11,661	43,445	3,781	6,4	0,8 - 501
OC (ng/ml)	143	5,418	2,975	0,249	4,9	0,5 - 22,3
PICP (ng/ml)	139	90,249	40,414	3,428	80,6	31,6 - 291
BAP (U/l)	141	24,136	21,813	1,837	19,8	2,4 - 182
Mittel LWS ap (g/cm ²)	131	0,968	0,209	0,018	0,94	0,669 - 2,445
Mittel Z von LWS ap	131	-0,519	1,234	0,108	-0,743	- 3,17 - 3,325
Mittel Schenkelhals (g/cm ²)	130	0,724	0,129	0,011	0,716	0,432 - 1,113
Mittel Z von Schenkelhals	129	-0,273	0,912	0,08	-0,297	- 2,52 - 2,227

Tab. 4.3: Deskriptive Statistik der biochemischen Parameter des Knochenstoffwechsels und der Variablen der Knochendichte in der Gruppe der männlichen Patienten

	n	Mittelwert	SD	SDM	Median	Variation
BSP (ng/ml)	26	7,285	3,091	0,606	6,2	3,3 - 16,6
Vit D3 (ng/ml)	24	21,592	10,799	2,204	21	3,2 - 48
Ca (mmol/l)	26	2,4	0,117	0,023	2,4	2,2 - 2,6
P (mmol/l)	26	1,119	0,217	0,043	1,1	0,7 - 1,7
Cortisol (µg/ml)	24	15,359	3,996	0,816	14,39	8,79 - 22,41
Creatinin (mg/dl)	22	97,391	49,071	10,462	87,45	34,7 - 227
PTH (pg/ml)	26	37,235	30,749	6,03	30,55	4,4 - 165
Östradiol (pg/ml)	23	37,244	17,061	3,558	33	6,2 - 83
Testosteron (ng/dl)	23	437,391	175,305	36,554	387	185 - 890
FSH (mU/ml)	22	5,589	3,413	0,728	4,2	1,46 - 13,4
LH (mU/ml)	22	2,957	1,837	0,392	2,25	0,96 - 7,6
T3 (mg/dl)	25	143,68	23,853	4,771	147	93 - 185
FT4-RIA (pg/ml)	25	13,96	2,781	0,556	13,4	10,7 - 21,2
Deoxypyr. (nmol/mmol)	22	7,136	9,314	1,986	5,2	2,4 - 48,1
OC (ng/ml)	26	5,904	3,181	0,624	5,75	2,7 - 20
PICP (ng/ml)	26	142,042	157,279	30,845	98,25	56,6 - 875
BAP (U/l)	26	20,908	8,641	1,695	17,9	8,1 - 42,2
Mittel LWS ap (g/cm ²)	20	0,995	0,148	0,033	0,975	0,697 - 1,274
Mittel Z von LWS ap	20	-1,389	1,271	0,284	-1,539	- 3,585 - 0,983
Mittel Schenkelhals (g/cm ²)	20	0,82	0,109	0,024	0,852	0,608 - 9837
Mittel Z von Schenkelhals	20	-0,767	1,113	0,249	-0,58	- 2,647 - 1,087

Tab. 4.4: Deskriptive Statistik der biochemischen Parameter des Knochenstoffwechsels und der Variablen der Knochendichte in der Gruppe der osteoporotischen Patienten

	n	Mittelwert	SD	SDM	Median	Variation
BSP (ng/ml)	144	8,392	4,854	0,405	7,35	2,1 - 36,4
Vit D3 (ng/ml)	134	24,143	16,049	1,386	21	3 - 99
Ca (mmol/l)	142	5,263	24,018	2,016	2,4	2 - 206
P (mmol/l)	143	1,848	8,522	0,713	1,1	0,6 - 103
Cortisol (µg/ml)	135	15,704	6,457	0,556	14,02	2,69 - 35,57
Creatinin (mg/dl)	130	79,35	54,327	4,765	66,75	0,8 - 336
PTH (pg/ml)	144	41,279	46,576	3,881	31,8	4,4 - 508
Östradiol (pg/ml)	125	60,167	67,373	6,026	31	1 - 385
Testosteron (ng/dl)	21	445,286	181,664	39,642	397	185 - 890
FSH (mU/ml)	134	87,337	550,592	47,564	42,4	0,6 - 6404
LH (mU/ml)	133	14,053	11,129	0,965	12,1	0,53 - 54
T3 (mg/dl)	141	149,816	24,878	2,095	147	93 - 234
FT4-RIA (pg/ml)	141	13,54	2,846	0,24	13,2	7,4 - 22,6
Deoxypyr. (nmol/mmol)	130	11,69	43,9	3,85	6,4	0,8 - 501
OC (ng/ml)	143	5,517	3,07	0,257	4,6	1,1 - 22,3
PICP (ng/ml)	140	100,424	79,32	6,704	84,25	31,6 - 875
BAP (U/l)	141	23,812	19,65	1,655	19,9	2,4 - 182
Mittel LWS ap (g/cm ²)	128	0,947	0,202	0,018	0,923	0,669 - 2,445
Mittel Z von LWS ap	128	-0,801	1,263	0,112	-1,053	- 3,585 - 3,325
Mittel Schenkelhals (g/cm ²)	127	0,716	0,117	0,01	0,713	0,432 - 0,993
Mittel Z von Schenkelhals	127	-0,46	0,895	0,079	-0,377	- 2,647 - 1,457

Tab. 4.5: Deskriptive Statistik der biochemischen Parameter des Knochenstoffwechsels und der Variablen der Knochendichte in der Gruppe der gesunden Patienten

	n	Mittelwert	SD	SDM	Median	Variation
BSP (ng/ml)	26	7,608	5,561	1,091	7,4	1,9 - 28,5
Vit D3 (ng/ml)	25	22,2	12,138	2,428	19	3 - 99
Ca (mmol/l)	26	2,408	0,089	0,018	2,4	2,3 - 2,6
P (mmol/l)	26	1,112	0,161	0,032	1,1	0,7 - 1,5
Cortisol (µg/ml)	25	18,998	6,138	1,228	17,76	3,33 - 33,32
Creatinin (mg/dl)	24	60,504	35,146	7,174	51,05	18 - 121
PTH (pg/ml)	26	30,212	12,347	2,422	29,45	7,6 - 56,9
Östradiol (pg/ml)	22	62,5	80,775	17,221	28	6 - 321
Testosteron (ng/dl)	2	354,5	31,82	22,5	354,5	332 - 377
FSH (mU/ml)	20	45,135	34,869	7,797	43,75	2 - 101
LH (mU/ml)	20	13,439	9,643	2,156	13,75	0,58 - 30,4
T3 (mg/dl)	25	154,76	24,68	4,936	153	99 - 202
FT4-RIA (pg/ml)	24	13,107	3,139	0,641	13,5	4,97 - 18,8
Deoxypyr. (nmol/mmol)	24	7,358	4,643	0,948	5,85	2 - 19,4
OC (ng/ml)	26	5,358	2,651	0,52	5,15	0,5 - 12,6
PICP (ng/ml)	25	87,132	31,807	6,361	82,2	45,2 - 178
BAP (U/l)	26	22,662	24,185	4,743	17,7	7,5 - 135
Mittel LWS ap (g/cm ²)	23	1,107	0,143	0,03	1,114	0,872 - 1,358
Mittel Z von LWS ap	23	0,29	0,854	0,178	0,108	- 0,868 - 2,013
Mittel Schenkelhals (g/cm ²)	23	0,847	0,149	0,031	0,797	0,606 - 1,113
Mittel Z von Schenkelhals	22	0,361	0,993	0,212	0,053	- 0,81 - 2,227

Tab. 4.6: Deskriptive Statistik der biochemischen Parameter des Knochenstoffwechsels und der Variablen der Knochendichte in der Gruppe der osteoporotischen weiblichen Patienten

	n	Mittelwert	SD	SDM	Median	Variation
BSP (ng/ml)	121	8,638	5,154	0,469	7,4	2,1 - 36,4
Vit D3 (ng/ml)	113	24,531	16,78	1,579	21	3 – 99
Ca (mmol/l)	119	5,819	26,218	2,403	2,4	2 – 206
P (mmol/l)	120	1,988	9,302	0,849	1,2	0,6 – 103
Cortisol (µg/ml)	114	15,794	6,811	0,638	14,04	2,69 - 35,57
Creatinin (mg/dl)	110	75,625	54,412	5,188	62,9	0,8 – 336
PTH (pg/ml)	121	41,75	48,933	4,449	34,2	7,3 – 508
Östradiol (pg/ml)	104	64,599	72,709	7,13	29	1 – 385
FSH (mU/ml)	113	102,572	598,745	56,325	50	0,6 - 640,4
LH (mU/ml)	112	16,12	10,926	1,032	14,3	0,53 – 54
T3 (mg/dl)	119	151,311	24,716	2,266	148	107 – 234
FT4-RIA (pg/ml)	119	13,454	2,845	0,261	13,2	7,4 - 22,6
Deoxypyr. (nmol/mmol)	110	12,472	47,54	4,533	6,4	0,8 – 501
OC (ng/ml)	120	5,428	3,017	0,275	4,8	1,1 - 22,3
PICP (ng/ml)	117	90,764	41,745	3,859	80,6	31,6 – 291
BAP (U/l)	118	24,332	21,1	1,942	19,95	2,4 – 182
Mittel LWS ap (g/cm ²)	110	0,944	0,212	0,02	0,912	0,669 - 2,445
Mittel Z von LWS ap	110	-0,668	1,239	0,118	-0,859	-3,17 - 3,325
Mittel Schenkelhals (g/cm ²)	109	0,701	0,111	0,011	0,702	0,432 - 0,993
Mittel Z von Schenkelhals	109	-0,401	0,836	0,08	-0,36	- 2,52 - 1,457

Tab. 4.7: Deskriptive Statistik der biochemischen Parameter des Knochenstoffwechsels und der Variablen der Knochendichte in der Gruppe der osteoporotischen männlichen Patienten

	n	Mittelwert	SD	SDM	Median	Variation
BSP (ng/ml)	23	7,096	2,482	0,517	6,3	3,3 - 13,5
Vit D3 (ng/ml)	21	22,057	11,431	2,495	21	3,2 – 48
Ca (mmol/l)	23	2,387	0,118	0,025	2,4	2,2 - 2,6
P (mmol/l)	23	1,113	0,23	0,048	1	0,7 - 1,7
Cortisol (µg/ml)	21	15,21	4,119	0,899	13,94	8,79 - 22,41
Creatinin (mg/dl)	20	99,835	50,313	11,25	87,45	34,7 – 227
PTH (pg/ml)	23	38,8	32,128	6,699	30,6	4,4 – 165
Östradiol (pg/ml)	21	38,22	17,559	3,832	35	6,2 – 83
Testosteron (ng/dl)	21	445,286	181,664	39,642	397	185 – 890
FSH (mU/ml)	21	5,36	3,32	0,724	4,2	1,46 - 13,4
LH (mU/ml)	21	3,027	1,852	0,404	2,3	0,96 - 7,6
T3 (mg/dl)	22	141,727	24,745	5,276	144,5	93 – 185
FT4-RIA (pg/ml)	22	14,009	2,871	0,612	13,35	10,7 - 21,2
Deoxypyr. (nmol/mmol)	20	7,385	9,752	2,181	5,35	2,4 - 48,1
OC (ng/ml)	23	5,978	3,367	0,702	5,8	2,7 – 20
PICP (ng/ml)	23	149,565	165,96	34,605	104	65,3 – 875
BAP (U/l)	23	21,144	8,974	1,871	17,9	8,1 - 42,2
Mittel LWS ap (g/cm ²)	18	0,967	0,128	0,03	0,962	0,697 - 1,215
Mittel Z von LWS ap	18	-1,611	1,126	0,265	-1,574	- 3,585 - 0,815
Mittel Schenkelhals (g/cm ²)	18	0,81	0,111	0,026	0,827	0,608 - 0,984
Mittel Z von Schenkelhals	18	-0,82	1,159	0,273	-0,84	- 2,647 - 1,087

Tab. 4.8: Deskriptive Statistik der biochemischen Parameter des Knochenstoffwechsels und der Variablen der Knochendichte in der Gruppe der gesunden weiblichen Patienten

	n	Mittelwert	SD	SDM	Median	Variation
BSP (ng/ml)	23	7,461	5,529	1,153	7,5	1,9 - 28,5
Vit D3 (ng/ml)	22	22,727	12,822	2,734	21	5 – 51
Ca (mmol/l)	23	2,396	0,088	0,018	2,4	2,3 - 2,6
P (mmol/l)	23	1,104	0,169	0,035	1,1	0,7 - 1,5
Cortisol (µg/ml)	22	19,352	6,388	1,362	18,395	3,33 - 33,32
Creatinin (mg/dl)	22	59,373	35,801	7,633	51,05	18 – 121
PTH (pg/ml)	23	30,861	12,223	2,549	29,4	7,6 - 56,9
Östradiol (pg/ml)	20	66,05	84,054	18,795	29,5	6 – 321
FSH (mU/ml)	19	46,963	34,826	7,99	43,9	2 – 101
LH (mU/ml)	19	14,067	9,477	2,174	14,5	0,58 - 30,4
T3 (mg/dl)	22	154,318	26,263	5,599	151,5	99 – 202
FT4-RIA (pg/ml)	21	13,037	3,27	0,714	13,5	4,97 - 18,8
Deoxypyr. (nmol/mmol)	22	7,605	4,774	1,018	6,25	2 - 19,4
OC (ng/ml)	23	5,361	2,806	0,585	5,1	0,5 - 12,6
PICP (ng/ml)	22	87,509	33,132	7,064	80,5	45,2 – 178
BAP (U/l)	23	23,126	25,669	5,352	17,6	7,5 – 135
Mittel LWS ap (g/cm ²)	21	1,094	0,142	0,031	1,113	0,872 - 1,358
Mittel Z von LWS ap	21	0,26	0,882	0,192	0,085	0,868 - 2,01
Mittel Schenkelhals (g/cm ²)	21	0,841	0,839	0,034	0,792	0,606 - 1,113
Mittel Z von Schenkelhals	20	0,426	1,015	0,227	0,125	-0,81 - 2,227

Tab. 4.9: Deskriptive Statistik der biochemischen Parameter des Knochenstoffwechsels und der Variablen der Knochendichte in der Gruppe der gesunden männlichen Patienten

	n	Mittelwert	SD	SDM	Median	Variation
BSP (ng/ml)	3	8,733	6,936	4,004	6,1	3,5 - 16,6
Vit D3 (ng/ml)	2	18,333	4,042	2,333	19	14 - 22
Ca (mmol/l)	3	-	-	-	-	-
P (mmol/l)	3	1,167	0,058	0,033	1,2	1,1 - 1,2
Cortisol (µg/ml)	2	16,403	3,49	2,015	14,52	14,26 - 20,43
Creatinin (mg/dl)	2	72,95	34,012	24,05	72,95	48,9 - 97
PTH (pg/ml)	3	25,233	14,836	8,566	30	8,6 - 37,1
Östradiol (pg/ml)	2	27	2,828	2	27	25 - 29
Testosteron (ng/dl)	2	354,5	31,82	22,5	354,5	332 - 377
FSH (mU/ml)	1	-	-	-	-	-
LH (mU/ml)	1	-	-	-	-	-
T3 (mg/dl)	3	158	7	4,042	161	150 - 163
FT4-RIA (pg/ml)	3	13,6	2,452	1,415	13,5	11,2 - 16,1
Deoxypyr. (nmol/mmol)	2	4,65	1,061	0,75	4,65	3,9 - 5,4
OC (ng/ml)	3	5,333	1,106	0,639	5,2	4,3 - 6,5
PICP (ng/ml)	3	84,367	24,511	14,152	93,5	56,6 - 103
BAP (U/l)	3	8,733	6,936	4,004	6,1	3,5 - 16,6
Mittel LWS ap (g/cm ²)	2	1,245	0,042	0,029	1,245	1,215 - 1,274
Mittel Z von LWS ap	2	0,604	0,536	0,379	0,604	0,225 - 0,983
Mittel Schenkelhals (g/cm ²)	2	0,912	0,006	0,004	0,912	0,907 - 0,916
Mittel Z von Schenkelhals	2	-0,287	0,438	0,31	-0,287	- 0,597 - 0,023

Tab. 4.10: Einfache Pearson's Korrelation zwischen BSP und den biochemischen Parametern des Knochenstoffwechsels bzw. den Variablen der Knochendichte in der Gesamtpopulation

	ln BSP		
Vit D3	r= -0,1627	p= 0,040	n= 159
Ca	r= 0,0435	p= 0,575	n= 168
P	r= 0,169	p= 0,828	n= 169
Cortisol	r= -0,0037	p= 0,963	n= 160
Creatinin	r= -0,0781	p= 0,336	n= 154
PTH	r= 0,2965	p< 0,0001	n= 170
Östradiol	r= -0,2469	p= 0,003	n= 147
Testosteron	r= 0,2747	p= 0,205	n= 23
FSH	r= 1862	p= 0,021	n= 154
LH	r= 0,2524	p= 0,002	n= 153
T3	r= 0,0218	p= 0,781	n= 166
FT4-RIA	r= 0,1247	p= 0,110	n= 165
Deoxypyr.	r= 0,1073	p= 0,185	n= 154
OC	r= 0,5880	p< 0,0001	n= 169
PICP	r= 0,1777	p= 0,022	n= 165
BAP	r= 0,5322	p< 0,0001	n= 167
Mittel LWS ap	r= -0,2112	p= 0,009	n= 151
Mittel Z von LWS ap	r= -0,1619	p= 0,047	n= 151
Mittel Schenkelhals	r= -0,3611	p< 0,0001	n= 150
Mittel Z von Schenkelhals	r= -0,1973	p= 0,016	n= 150

Tab. 4.11: Einfache Pearson's Korrelation zwischen BSP und den biochemischen Parametern des Knochenstoffwechsels bzw. den Variablen der Knochendichte in der Gruppe der weiblichen Patienten

	ln BSP		
Vit D3	r= -0,1672	p= 0,053	n= 135
Ca	r= 0,0431	p= 0,611	n= 142
P	r= 0,0152	p= 0,857	n= 143
Cortisol	r= -0,0208	p= 0,810	n= 136
Creatinin	r= -0,1019	p= 0,245	n= 132
PTH	r= 0,3024	p< 0,0001	n= 144
Östradiol	r= -0,2740	p= 0,002	n= 124
FSH	r= 0,1898	p= 0,029	n= 132
LH	r= 0,2582	p= 0,003	n= 131
T3	r= 0,0310	p= 0,716	n= 141
FT4-RIA	r= 0,1275	p= 0,133	n= 140
Deoxypyr.	r= 0,1109	p= 0,206	n= 132
OC	r= 0,6316	p< 0,0001	n= 143
PICP	r= 0,3982	p< 0,0001	n= 139
BAP	r= 0,5465	p< 0,0001	n= 141
Mittel LWS ap	r= -0,2333	p= 0,007	n= 131
Mittel Z von LWS ap	r= -0,2216	p= 0,011	n= 131
Mittel Schenkelhals	r= -0,3739	p< 0,0001	n= 130
Mittel Z von Schenkelhals	r= -0,2421	p= 0,006	n= 130

Tab. 4.12: Einfache Pearson's Korrelation zwischen BSP und den biochemischen Parametern des Knochenstoffwechsels bzw. den Variablen der Knochendichte in der Gruppe der männlichen Patienten

	ln BSP		
Vit D3	r= -0,1216	p= 0,571	n= 24
Ca	r= -0,1117	p= 0,587	n= 26
P	r= 0,2314	p= 0,255	n= 26
Cortisol	r= 0,2165	p= 0,310	n= 24
Creatinin	r= 0,2171	p= 0,332	n= 22
PTH	r= 0,2181	p= 0,284	n= 26
Östradiol	r= 0,2976	p= 0,168	n= 23
Testosteron	r= 0,2747	p= 0,205	n= 23
FSH	r= 0,3343	p= 0,128	n= 22
LH	r= 0,3957	p= 0,068	n= 22
T3	r= -0,0985	p= 0,639	n= 25
FT4-RIA	r= 0,1381	p= 0,510	n= 25
Deoxypyr.	r= -0,0655	p= 0,772	n= 22
OC	r= 0,3444	p= 0,085	n= 26
PICP	r= -0,0065	p= 0,975	n= 26
BAP	r= 0,3190	p= 0,112	n= 26
Mittel LWS ap	r= 0,1531	p= 0,519	n= 20
Mittel Z von LWS ap	r= 0,1981	p= 0,402	n= 20
Mittel Schenkelhals	r= -0,1702	p= 0,473	n= 20
Mittel Z von Schenkelhals	r= 0,0034	p= 0,989	n= 20

Tab. 4.13: Einfache Pearson's Korrelation zwischen BSP und den biochemischen Parametern des Knochenstoffwechsels bzw. den Variablen der Knochendichte in der Gruppe der weiblichen osteoporotischen Patienten

	ln BSP		
Vit D3	r= -0,2141	p= 0,025	n= 110
Ca	r= 0,0412	p= 0,660	n= 116
P	r= 0,0102	p= 0,913	n= 117
Cortisol	r= 0,0282	p= 0,769	n= 111
Creatinin	r= -0,1299	p= 0,182	n= 107
PTH	r = 0,334	p< 0,0001	n= 118
Östradiol	r= -0,2516	p= 0,011	n= 101
FSH	r= 0,1979	p= 0,038	n= 110
LH	r= 0,1796	p= 0,062	n= 109
T3	r= 0,0597	p= 0,525	n= 116
FT4-RIA	r= 0,0777	p= 0,407	n= 116
Deoxypyr.	r= 0,1187	p= 0,223	n= 107
OC	r= 0,6287	p< 0,0001	n= 117
PICP	r= 0,4553	p< 0,0001	n= 114
BAP	r= 0,5235	p< 0,0001	n= 115
Mittel LWS ap	r= -0,1744	p= 0,072	n= 107
Mittel Z von LWS ap	r= -0,2114	p= 0,029	n= 107
Mittel Schenkelhals	r= -0,2986	p= 0,002	n= 106
Mittel Z von Schenkelhals	r= -0,1645	p= 0,092	n= 106

Tab. 4.14: Einfache Pearson's Korrelation zwischen BSP und den biochemischen Parametern des Knochenstoffwechsels bzw. den Variablen der Knochendichte in der Gruppe der männlichen osteoporotischen Patienten

	ln BSP		
Vit D3	r= -0,2430	p= 0,288	n= 21
Ca	r= -0,1616	p= 0,461	n= 23
P	r= 0,2710	p= 0,211	n= 23
Cortisol	r= 0,3251	p= 0,150	n= 21
Creatinin	r= 0,2244	p= 0,342	n= 20
PTH	r= 0,2214	p= 0,310	n= 23
Östradiol	r= 0,2498	p= 0,275	n= 21
Testosteron	r= 0,2636	p= 0,248	n= 21
FSH	r= 0,5492	p= 0,010	n= 21
LH	r= 0,3596	p= 0,109	n= 21
T3	r= -0,1551	p= 0,491	n= 22
FT4-RIA	r= 0,3077	p= 0,164	n= 22
Deoxypyr.	r= -0,1028	p= 0,666	n= 20
OC	r= 0,3579	p= 0,094	n= 23
PICP	r= -0,0279	p= 0,899	n= 23
BAP	r= 0,2519	p= 0,246	n= 23
Mittel LWS ap	r= 0,4204	p= 0,082	n= 18
Mittel Z von LWS ap	r= 0,4405	p= 0,067	n= 18
Mittel Schenkelhals	r= -0,0894	p= 0,724	n= 18
Mittel Z von Schenkelhals	r= 0,0284	p= 0,911	n= 18

Tab. 4.15: Einfache Pearson's Korrelation zwischen BSP und den biochemischen Parametern des Knochenstoffwechsels bzw. den Variablen der Knochendichte in der Gruppe der weiblichen gesunden Patienten

	ln BSP		
Vit D3	r= 0,1319	p= 0,569	n= 21
Ca	r= 0,6043	p= 0,003	n= 22
P	r= 0,3950	p= 0,069	n= 22
Cortisol	r= -0,0993	p= 0,668	n= 21
Creatinin	r= -0,1275	p= 0,582	n= 21
PTH	r= 0,0939	p= 0,678	n= 22
Östradiol	r= -0,3513	p= 0,140	n= 19
FSH	r= 0,5648	p= 0,015	n= 18
LH	r= 0,6286	p= 0,005	n= 18
T3	r= -0,0489	p= 0,833	n= 21
FT4-RIA	r= 0,3174	p= 0,173	n= 20
Deoxypyr.	r= 0,0882	p= 0,704	n= 21
OC	r= 0,6899	p<0,0001	n= 22
PICP	r= 0,2111	p= 0,358	n= 21
BAP	r= 0,6608	p= 0,001	n= 22
Mittel LWS ap	r= -0,5916	p= 0,006	n= 20
Mittel Z von LWS ap	r= -0,3216	p= 0,167	n= 20
Mittel Schenkelhals	r= -0,5950	p= 0,006	n= 20
Mittel Z von Schenkelhals	r= -0,4681	p= 0,037	n= 20

4.1.1 Bone Sialoprotein (BSP)

In der gesamten untersuchten Population weist BSP eine große Variationsbreite von 1,9 ng/ml bis 36,4 ng/ml auf, mit einem Mittelwert von 8,272 ng/ml (Tab. 4.1). Unterteilt man die Patienten nach dem Geschlecht fällt auf, daß Frauen geringfügig höhere BSP-Spiegel ($M = 8,45$ ng/ml) (Tab. 4.2) haben als Männer ($M = 7,285$) (Tab. 4.3)). Dagegen scheint sich das Vorliegen einer Osteoporose nicht sonderlich auf den BSP-Wert auszuwirken, da an Osteoporose erkrankte Menschen nur einen wenig erhöhten Mittelwert von 8,392 ng/ml im Gegensatz zu gesunden ($M = 7,608$) aufweisen. Jedoch ist die Variationsbreite bei Osteoporose-Patienten wesentlich größer, sie liegt bei Osteoporosepatienten im Bereich von 2,1 – 36,4 ng/ml und bei Gesunden zwischen 1,9 – 28,5 ng/ml (Tab. 4.4, Tab. 4.5).

Nimmt man eine Einteilung der Patienten nach Geschlecht und Diagnose vor, so stellt man bei Frauen mit Osteoporose höhere BSP-Spiegel fest (Tab. 4.6) als bei Männern (Tab. 4.7). Bei Gesunden ist das Verhältnis umgekehrt. Die Variationsbreite der BSP-Werte bei Frauen ist ungefähr doppelt so hoch wie bei Männern (Tab. 4.8, Tab. 4.9).

Tab. 4.16: Mittelwert und Variationsbreite der BSP-Spiegel im Serum

	Osteoporose	keine Osteoporose
Frauen	$M = 8,638$ ng/ml $V = 2,1 - 36,4$ ng/ml	$M = 7,461$ ng/ml $V = 1,9 - 28,5$ ng/ml
Männer	$M = 7,096$ ng/ml $V = 3,3 - 13,5$ ng/ml	$M = 8,733$ ng/ml $V = 3,5 - 16,6$ ng/ml

4.2 Knochenstoffwechselfparameter

4.2.1 Knochenspezifische alkalische Phosphatase (BAP)

BAP, ein spezifischer Marker der Knochenformation, weist eine große Variationsbreite (2,4 – 182 U/ml, Tab. 4.1) bei der Gesamt-Studienpopulation auf, der Mittelwert liegt bei 23,633 U/ml. Im Vergleich zu Männern (M = 20,908 U/ml) liegt der BAP-Mittelwert bei Frauen (M = 24,136 U/ml) etwas höher, wobei die Streuung der Werte bei Männern geringer ist (Tab. 4.2, Tab. 4.3). Im Hinblick auf das Vorhandensein einer Osteoporose unabhängig vom Geschlecht lässt sich dagegen kein Unterschied in der Konzentration der alkalischen Phosphatase nachweisen (Osteoporose M = 23,812 U/ml, keine Osteoporose M = 22,662 U/ml, Tab. 4.4, Tab. 4.5). Ebenso verhält es sich bei der Kopplung von Diagnose und Geschlecht (Tab. 4.6 – 4.9).

Tab. 4.17: Mittelwert und Variationsbreite der BAP-Konzentration im Serum

	Osteoporose	keine Osteoporose
Frauen	M = 24,332 U/ml V = 2,4 – 182 U/ml	M = 23,126 U/ml V = 7,5 – 135 U/ml
Männer	M = 21,144 U/ml V = 8,1 – 42,2 U/ml	M = 8,733 U/ml V = 3,5 – 16,6 U/ml

Betrachtet man das Verhältnis des Bone Sialoproteins zur knochenspezifischen alkalischen Phosphatase, so findet sich eine gute Korrelation zwischen BSP und BAP ($r = 0,532$), die hoch signifikant ist ($p < 0,0001$) (Abb. 4.1). Für Frauen liegt sie mit $r = 0,547$ ($p < 0,0001$) sogar noch etwas höher (Tab. 4.11), während Männer eine schwache Korrelation aufweisen ($r = 0,319$, $p < 0,112$) (Tab. 4.12). Bei Frauen, die nicht an Osteoporose erkrankt sind, findet sich die beste Pearson's Korrelation ($r = 0,661$, $p = 0,001$) (Abb. 4.4), während sie bei Frauen mit Osteoporose niedriger ist ($r = 0,524$, $p < 0,0001$) (Abb. 4.2). Dagegen ist die Korrelation von BSP mit BAP bei Männern mit Osteoporose deutlich schwächer ($r = 0,2519$, $p = 0,246$) (Abb. 4.3).

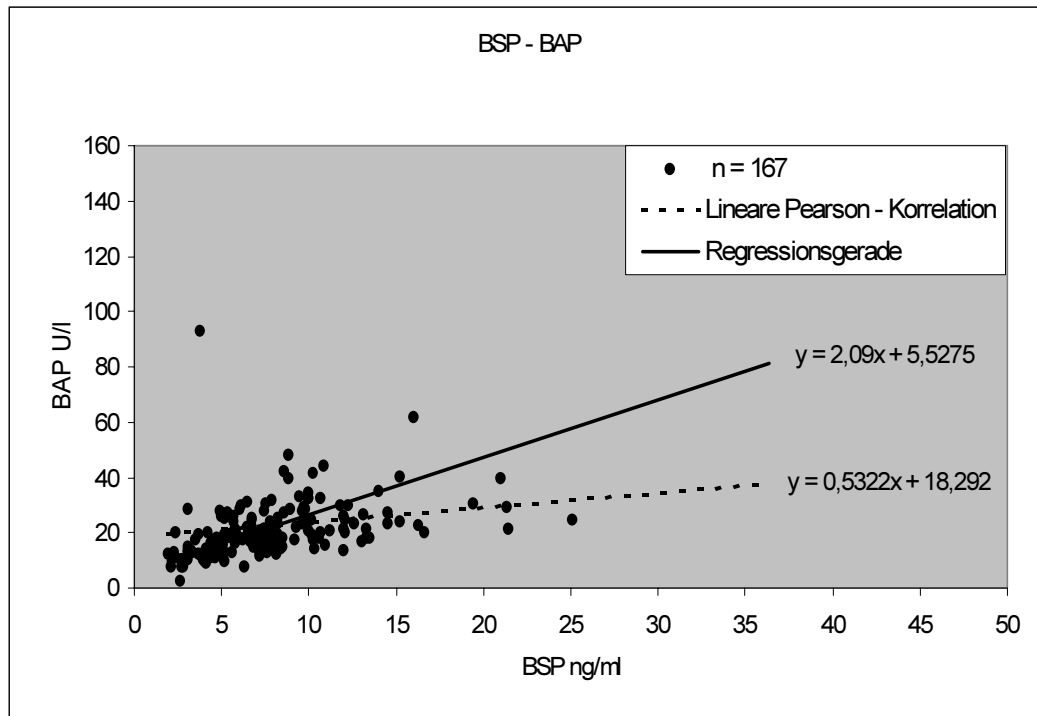


Abb. 4.1: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und BAP in der Gruppe der Gesamtpatienten

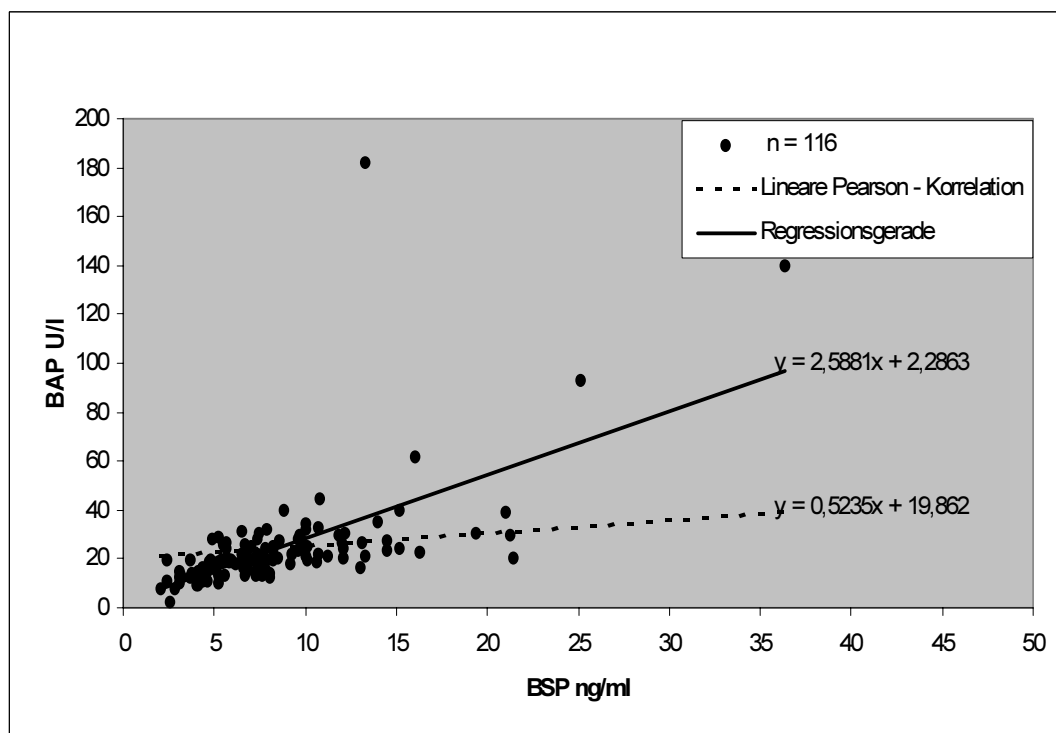


Abb. 4.2: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und BAP in der Gruppe osteoporotischer Frauen

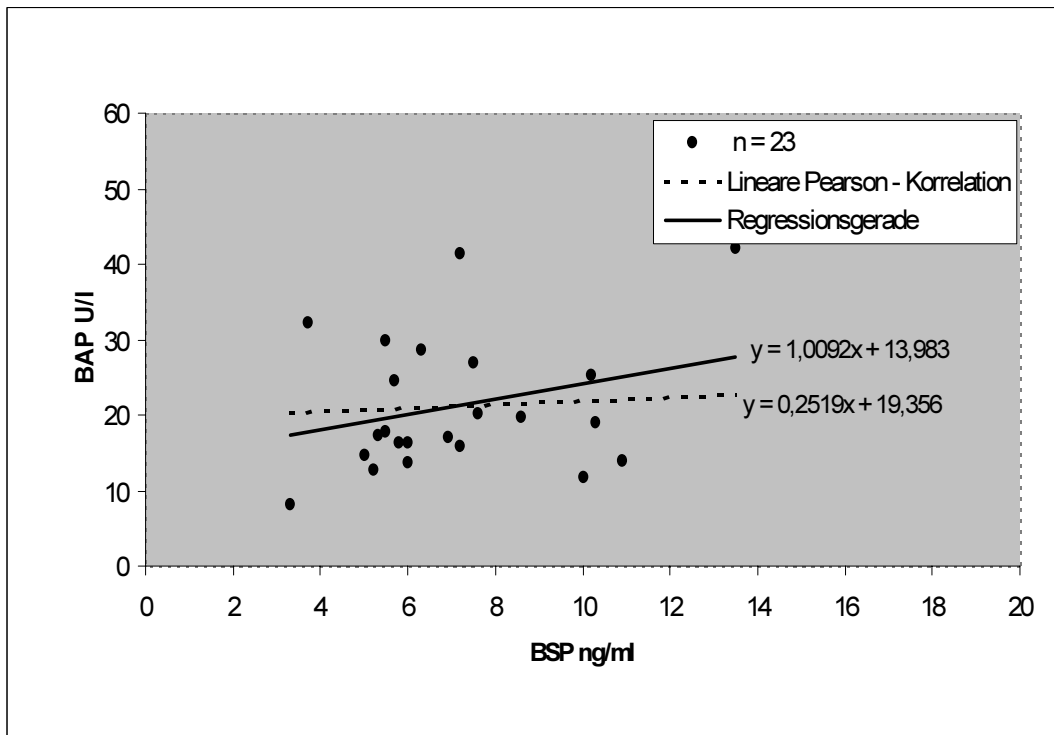


Abb. 4.3: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und BAP in der Gruppe osteoporotischer Männer

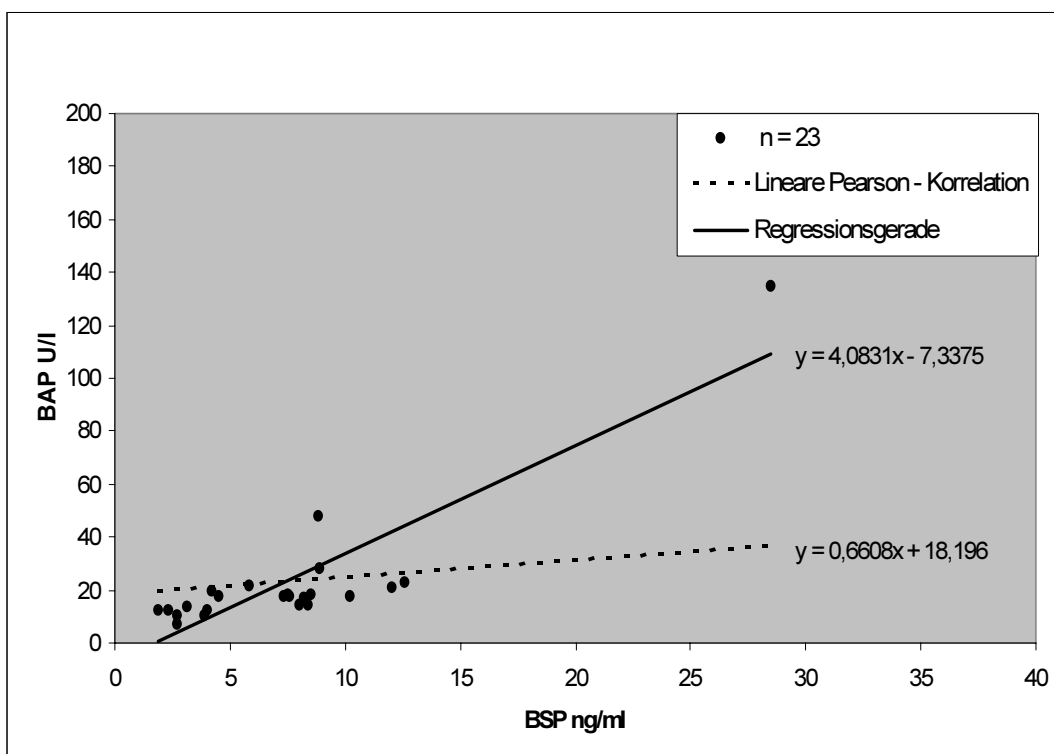


Abb. 4.4: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und BAP in der Gruppe gesunder Frauen

4.2.2 Osteocalcin (OC)

Die Konzentration des Knochenformationsparameters Osteocalcin (OC) liegt in der Gesamtstudienpopulation bei 0,5 – 22,3 ng/ml ($M = 5,492$) (Tab. 4.1). Zwischen Männern und Frauen sind keine spezifischen Unterschiede im Mittelwert und der Variationsbreite von OC festzustellen (Tab. 4.2, Tab. 4.3). Das gleiche gilt für die OC-Werte in Abhängigkeit der Diagnose einer oder keiner Osteoporose (Tab. 4.4, Tab. 4.5). Unterteilt man die Patienten nach Geschlecht und Diagnose weisen die Osteocalcin-Konzentrationen für keine der Gruppen eine Signifikanz auf (Tab. 4.6 – 4.9).

Tab. 4.18: Mittelwert und Variationsbreite der OC-Konzentration im Serum

	Osteoporose	keine Osteoporose
Frauen	M = 5,361 ng/ml V = 0,5 – 12,6 ng/ml	M = 5,428 ng/ml V = 1,1 – 22,3 ng/ml
Männer	M = 5,978 ng/ml V = 2,7 – 20 ng/ml	M = 5,333 ng/ml V = 4,3 – 6,5 ng/ml

Zwischen BSP und OC liegt eine gute Korrelation vor ($r = 0,588$, $p < 0,0001$) (Abb.4.5), die bei Frauen höher ist ($r = 0,632$; $p < 0,0001$) (Tab. 4.11) als bei Männern ($r = 0,344$; $p = 0,085$) (Tab. 4.12). Dieses geschlechterspezifische Verhältnis bleibt auch dann bestehen, wenn man eine weitere Einteilung nach dem Vorliegen einer Osteoporose vornimmt. Hier korrelieren BSP und OC besonders gut bei Frauen, die nicht an Osteoporose erkrankt sind ($r = 0,690$, $p < 0,0001$) (Abb. 4.8). Nur etwas niedriger liegt der Wert bei osteoporotischen Frauen ($r = 0,629$, $p < 0,0001$) (Abb. 4.6), wogegen in der entsprechenden männlichen Gruppe nur eine schwache Korrelation ($r = 0,358$, $p = 0,094$) festzustellen ist (Abb. 4.7).

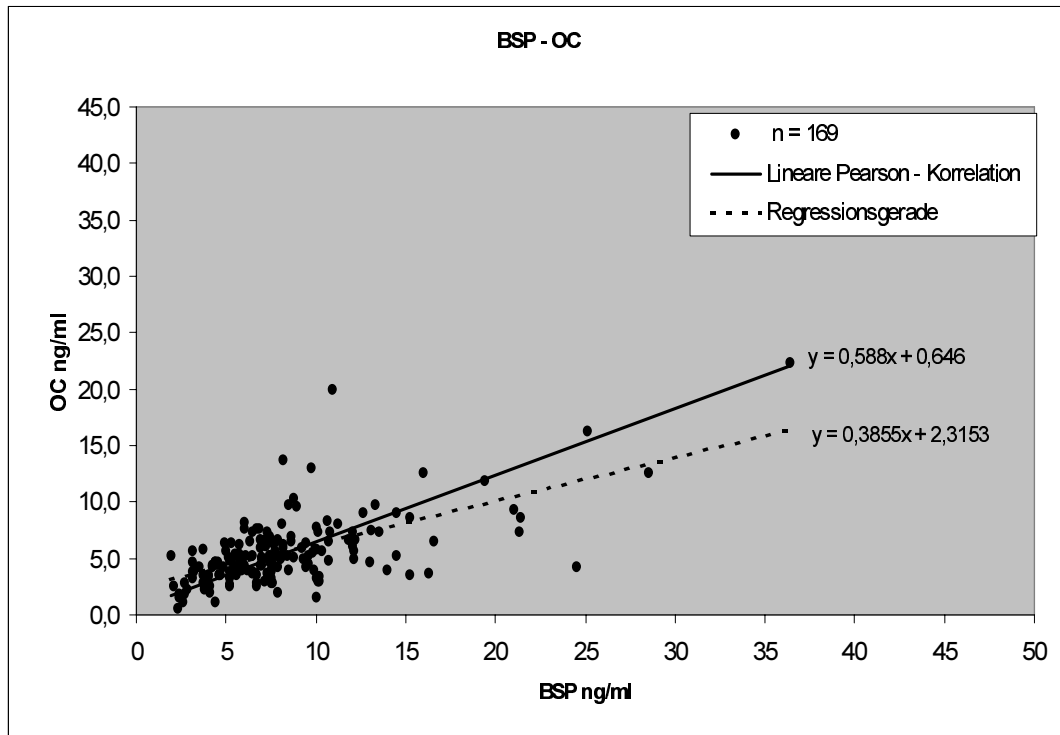


Abb. 4.5: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und OC in der Gruppe der Gesamtpatienten

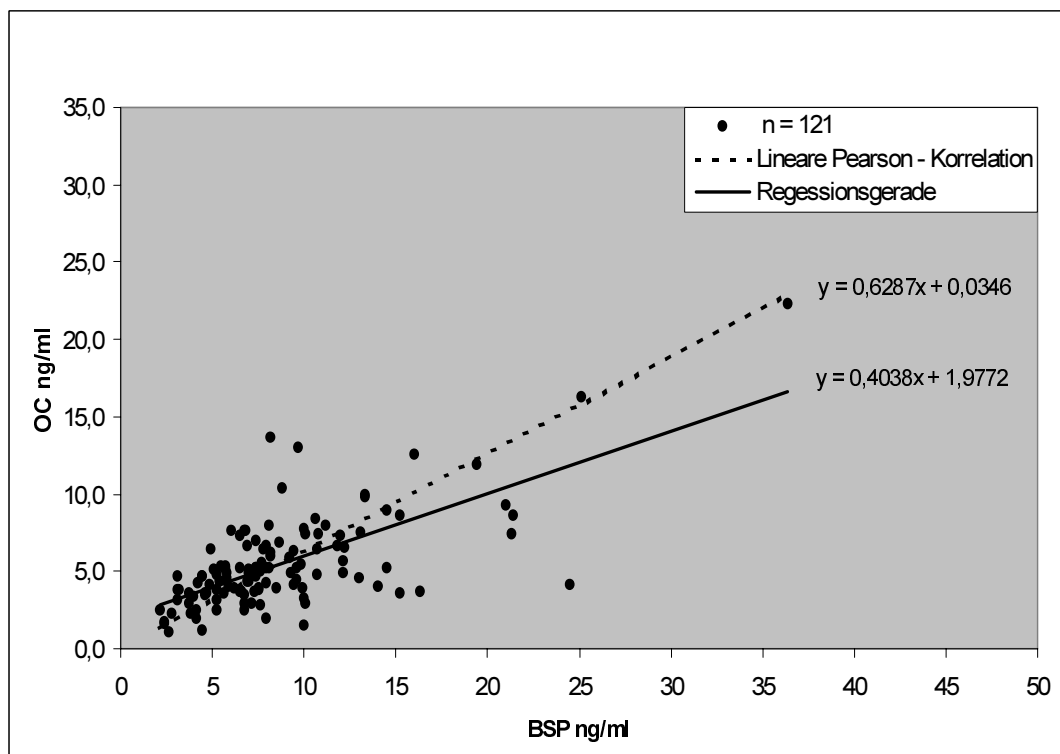


Abb. 4.6: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und OC in der Gruppe osteoporotischer Frauen

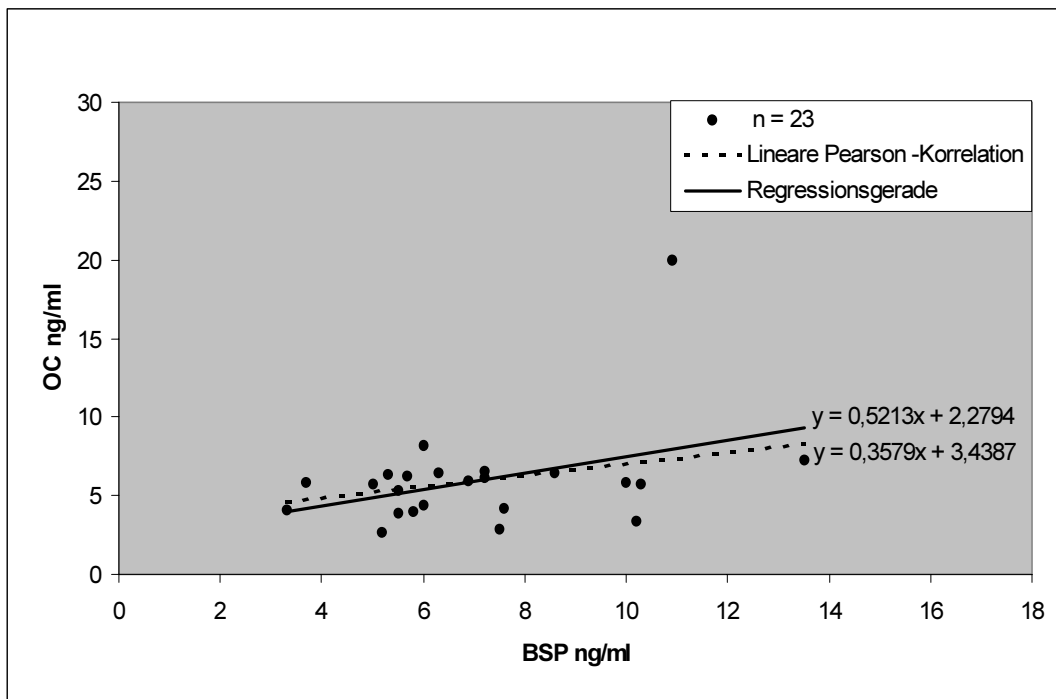


Abb. 4.7: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und OC in der Gruppe osteoporotischer Männer

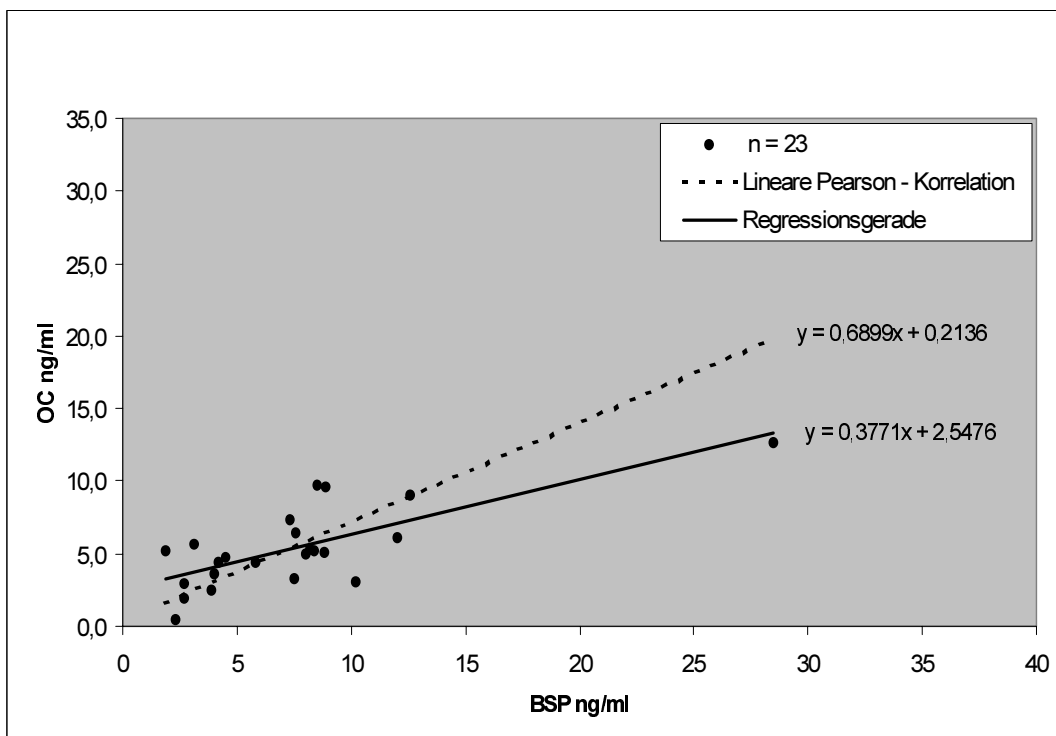


Abb. 4.8: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und OC in der Gruppe gesunder Frauen

4.2.3 Carboxy-(C)-terminales Propeptid des Typ I-Prokollagen (PICP)

PICP ist wie BAP und OC ein Parameter des Knochenauf- und -anbaus, der bei den untersuchten Patienten eine große Variationsbreite von 31,6 – 875 ng/ml ($M = 98,41$ ng/ml) aufweist (Tab. 4.1), wobei der Maximalwert eine Ausnahme ist, der nicht der Norm entspricht. Männer haben eine höhere PICP-Serumkonzentration ($M = 142,042$ ng/ml, $V = 56,6$ -875 ng/ml) (Tab. 4.3) als Frauen ($M = 90,249$ ng/ml, $V = 31,6$ -291 ng/ml) (Tab. 4.2). Liegt eine Osteoporose vor, so ist der PICP-Spiegel höher ($M = 100,424$ ng/ml, $V = 31,6$ -875 ng/ml) (Tab. 4.4) als dies bei Gesunden der Fall ist ($M = 87,132$ ng/ml, $V = 45,2$ -178 ng/ml) (Tab. 4.5). Dies lässt sich auch bei einer geschlechts- und diagnosespezifischen Unterteilung feststellen (Tab. 4.6 – 4.9).

Tab. 4.19: Mittelwert und Variationsbreite der PICP-Konzentration im Serum

	Osteoporose	keine Osteoporose
Frauen	$M = 90,764$ ng/ml $V = 31,6 - 291$ ng/ml	$M = 87,509$ ng/ml $V = 45,2 - 178$ ng/ml
Männer	$M = 149,565$ ng/ml $V = 65,3 - 875$ ng/ml	$M = 84,367$ ng/ml $V = 56,6 - 103$ ng/ml

Die Pearson-Korrelation zwischen BSP und PICP ist sehr schwach ($r = 0,178$; $p = 0,022$) (Abb. 4.9), bei Frauen liegt sie höher ($r = 0,398$; $p < 0,0001$) (Tab. 4.11), wogegen sie bei Männern in den negativen Bereich abgeleitet ($r = -0,007$; $p = 0,975$) (Tab. 4.12). Frauen mit Osteoporose, weisen eine schwache, aber die im Vergleich zu gesunden Frauen (Abb. 4.12) und osteoporotischen Männern (Abb. 4.11) deutlichere Korrelation auf ($r = 0,455$; $p < 0,0001$) (Abb. 4.10).

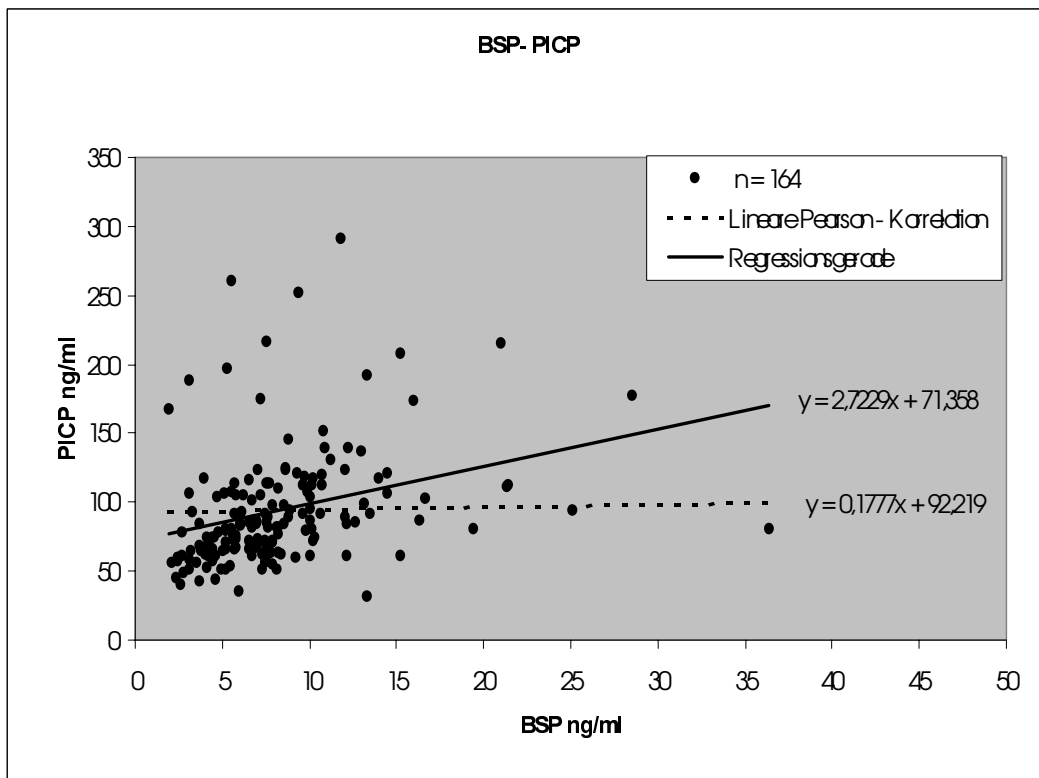


Abb. 4.9: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und PICP in der Gruppe der Gesamtpatienten

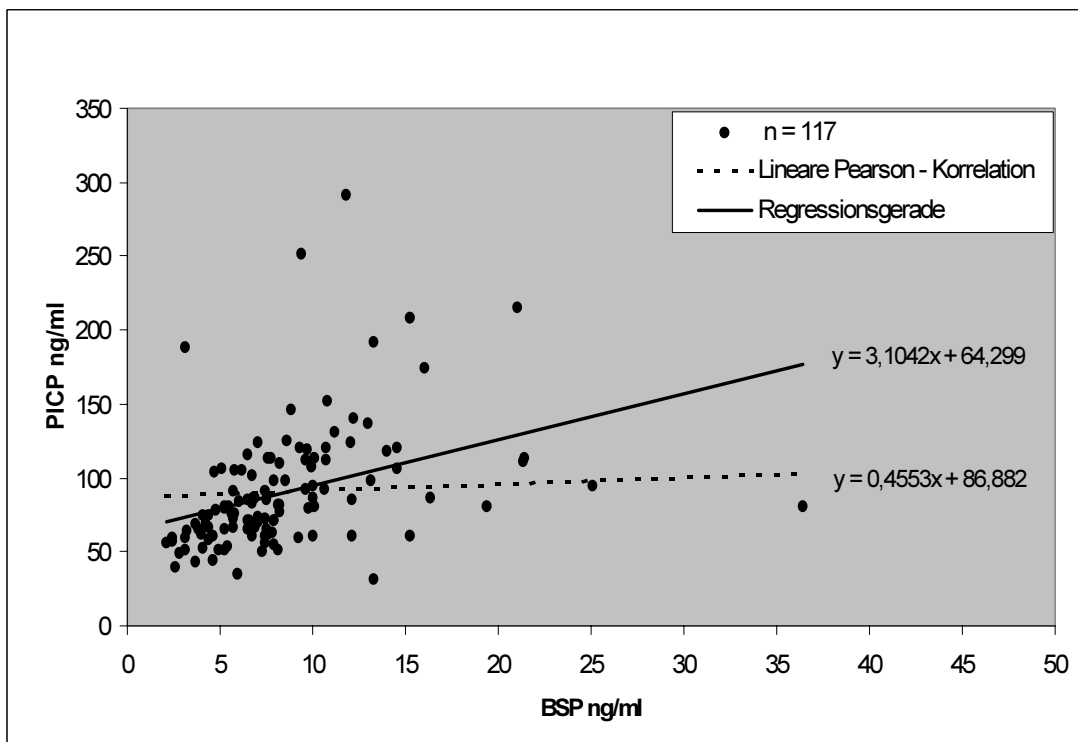


Abb. 4.10: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und PICP in der Gruppe der osteoporotischen Frauen

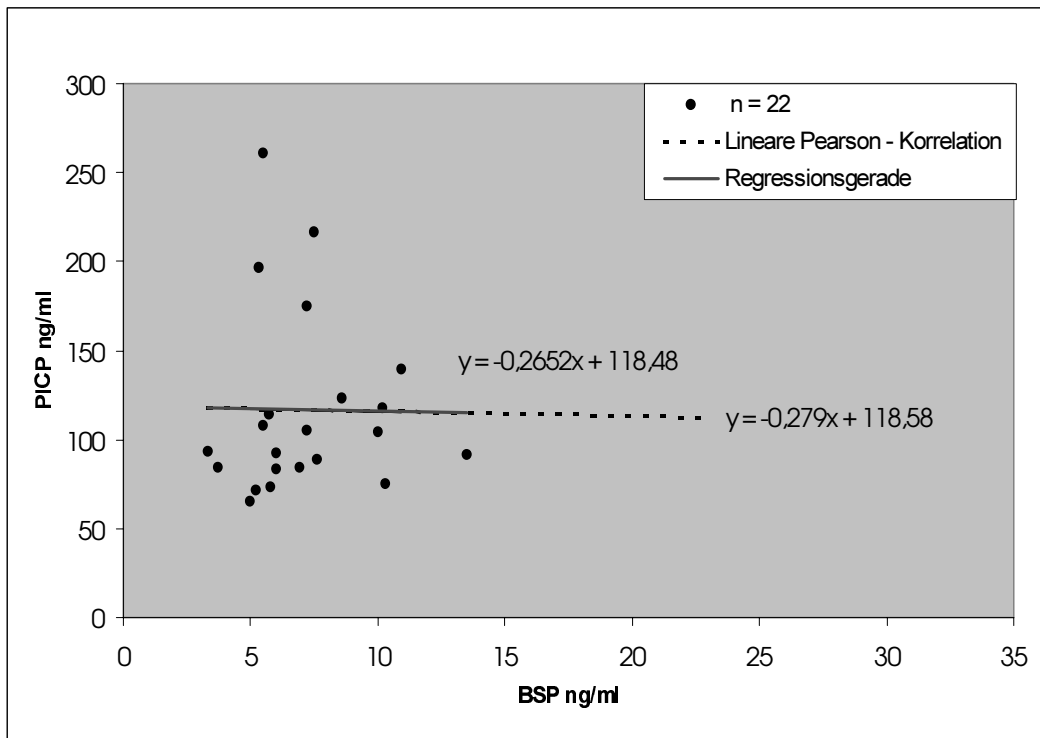


Abb. 4.11: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und PICP in der Gruppe der osteoporotischen Männer

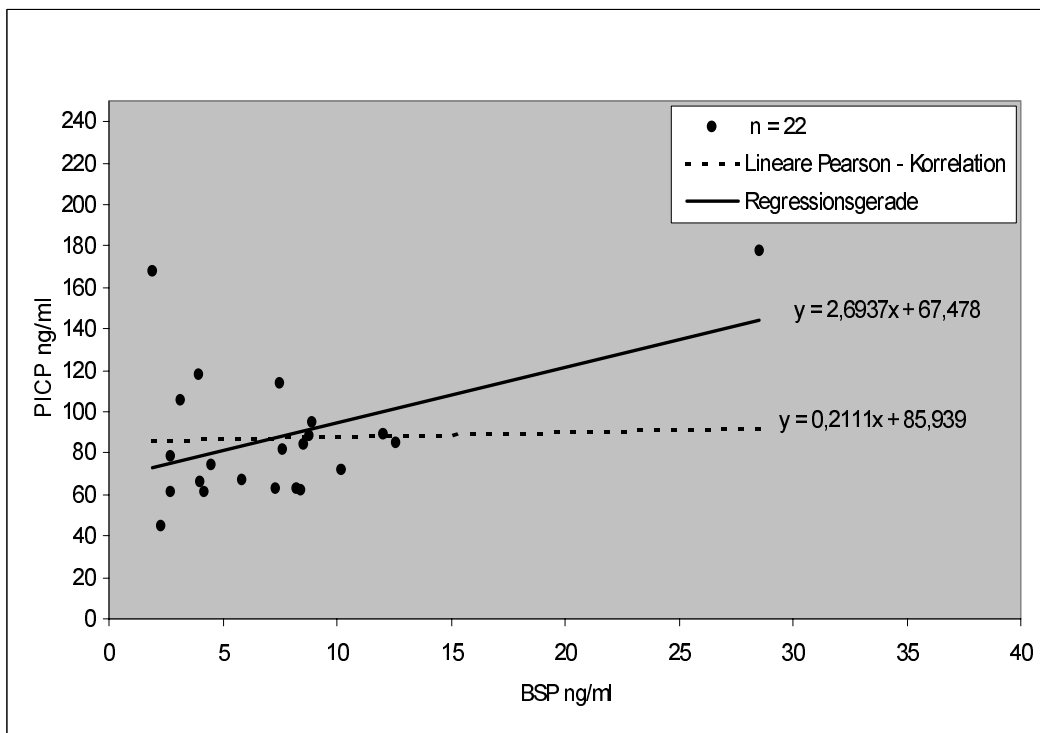


Abb. 4.12: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und PICP in der Gruppe der gesunden Frauen

4.2.4 Zusammenfassung

Während die Serumkonzentrationen von OC und PICP bei Männern höhere Werte als bei Frauen erreichen, liegt bei BAP der umgekehrte Fall vor. Alle drei Knocheninformationsparameter sind bei einer Osteoporose erhöht. Diese Verhältnisse bleiben auch bestehen, wenn die untersuchten Patienten nach Geschlecht und Diagnose unterteilt werden.

Eine gute Pearson Korrelation findet man zwischen BSP und OC ($r = 0,588$, $p < 0,0001$) sowie BSP und BAP ($r = 0,532$, $p < 0,0001$). In den geschlechtsspezifischen Gruppen zeigt sich das gleiche Bild, jedoch werden bei Frauen bessere Korrelationen gefunden als bei Männern. Die Serumkonzentrationen aller drei Knochenaufbauparameter korrelieren gut mit BSP bei den osteoporotischen Frauen. Doch ist die Korrelationen von OC und BAP bei gesunden Frauen deutlicher. Osteoporotische Männer weisen wesentlich schwächere Korrelationen auf, wobei sie bei OC am höchsten liegt und bei PICP negativ wird.

4.3 Parathormon (PTH)

PTH wirkt abhängig von der Dosis fördernd auf den Knochenaufbau, in dem es die renale Phosphatausscheidung und die renale Kaliumrückresorption steigert sowie die Osteoblasten hemmt, und auf den Knochenabbau, durch eine Aktivierung der Osteoklasten. Der Mittelwert der PTH-Konzentration im Serum liegt in der Gruppe der Gesamtpatienten bei $M = 39,586$ pg/ml ($V = 4,4-508$ pg/ml) (Tab. 4.1). Zwischen den Geschlechtern sind keine signifikanten Unterschiede feststellbar (Frauen $M = 40,01$ pg/ml; Männer $M = 37,235$ pg/ml) (Tab. 4.2, Tab. 4.3), jedoch weisen an Osteoporose erkrankte Patienten höhere PTH-Serum-Werte auf ($M = 41,279$ pg/ml) (Tab. 4.4) als gesunde ($M = 30,212$ pg/ml) (Tab. 4.5). Hinsichtlich der geschlechts- und diagnosespezifischen Unterteilung bleiben die oben genannten Verhältnisse in den einzelnen Gruppen bestehen (Tab. 4.6-4.9).

Tab. 4.20: Mittelwert und Variationsbreite von PTH im Serum

	Osteoporose	keine Osteoporose
Frauen	$M = 41,75$ pg/ml $V = 7,3 - 508$ pg/ml	$M = 30,861$ pg/ml $V = 7,6 - 56,9$ pg/ml
Männer	$M = 38,8$ pg/ml $V = 4,4 - 165$ pg/ml	$M = 25,233$ pg/ml $V = 8,6 - 37,1$ pg/ml

Die Pearson Korrelation zwischen BSP und PTH ist schwach ($r = 0,297$; $p < 0,0001$) (Abb. 4.13), doch liegt sie bei Frauen etwas höher ($r = 0,302$; $p < 0,0001$) als bei Männern ($r = 0,218$; $p = 0,284$) (Tab. 4.11, Tab. 4.12). Osteoporotische Frauen weisen die höchste Korrelation auf ($r = 0,335$; $p < 0,0001$) (Abb. 4.14), wogegen bei gesunden Frauen BSP und BAP nicht korrelieren ($r = 0,094$; $p = 0,678$) (Abb. 4.16). Das Verhältnis der beiden Knochenstoffwechselparameter bei Männern, die an Osteoporose erkrankt sind, ist nur schwach ausgeprägt ($r = 0,221$; $p = 0,031$) (Abb. 4.15).

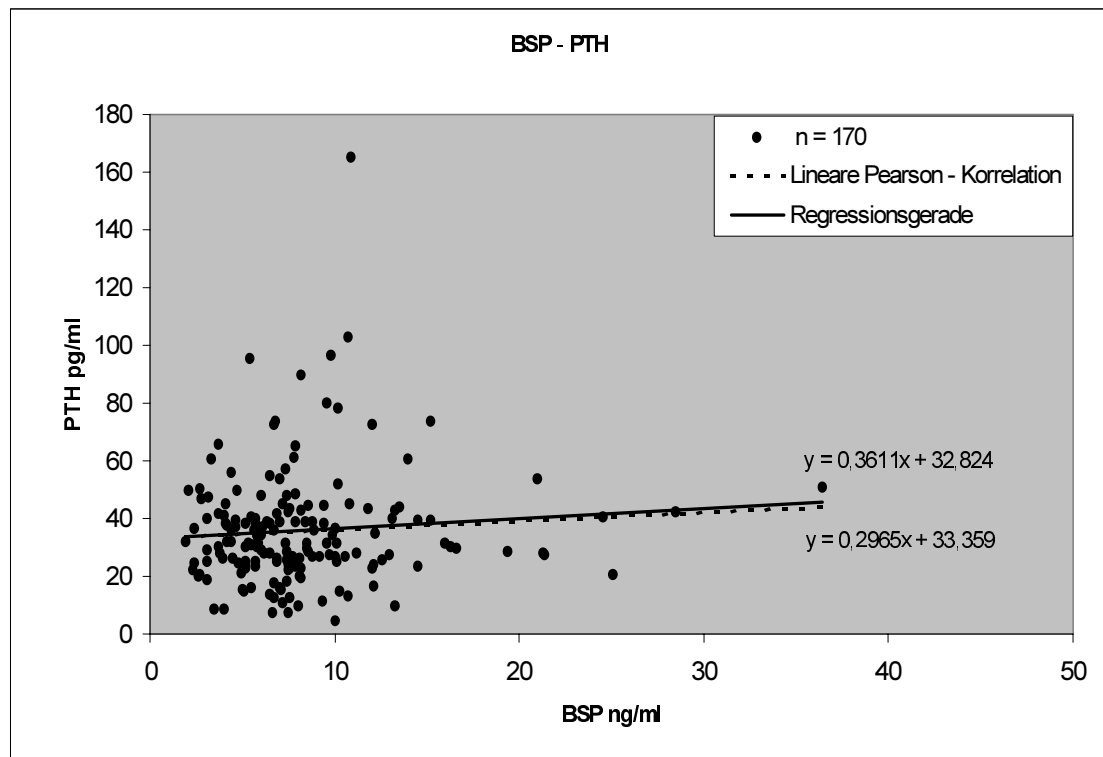


Abb. 4.13: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und PTH in der Gruppe der Gesamtpatienten

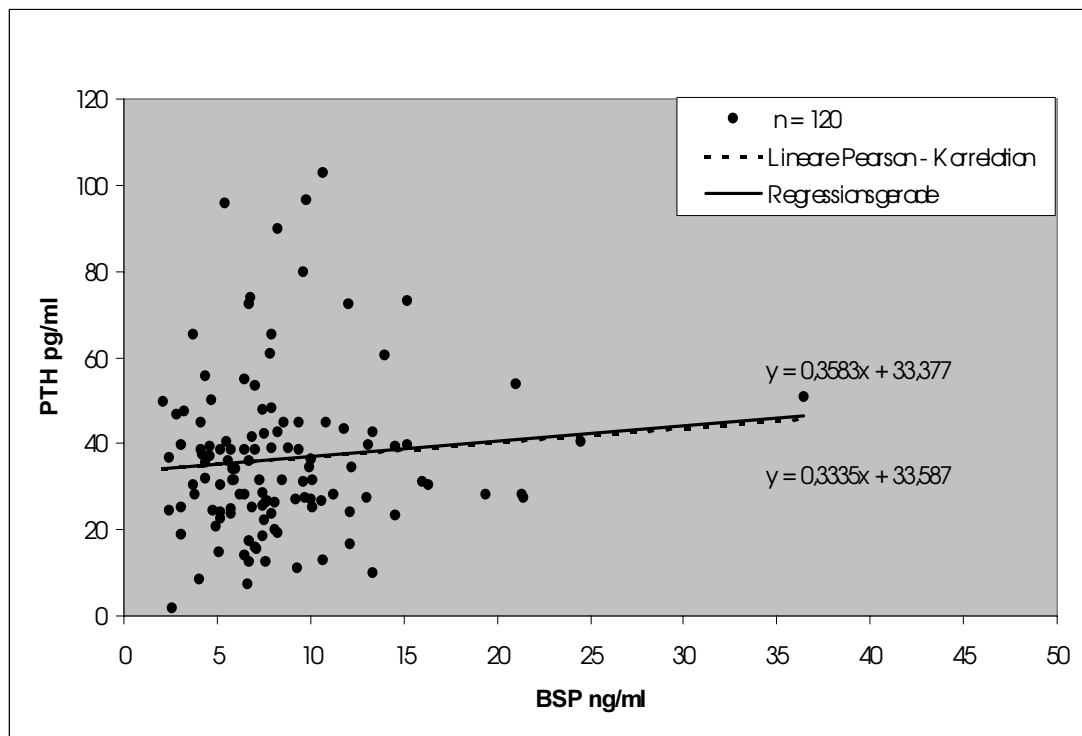


Abb. 4.14: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und PTH in der Gruppe osteoporotischer Frauen

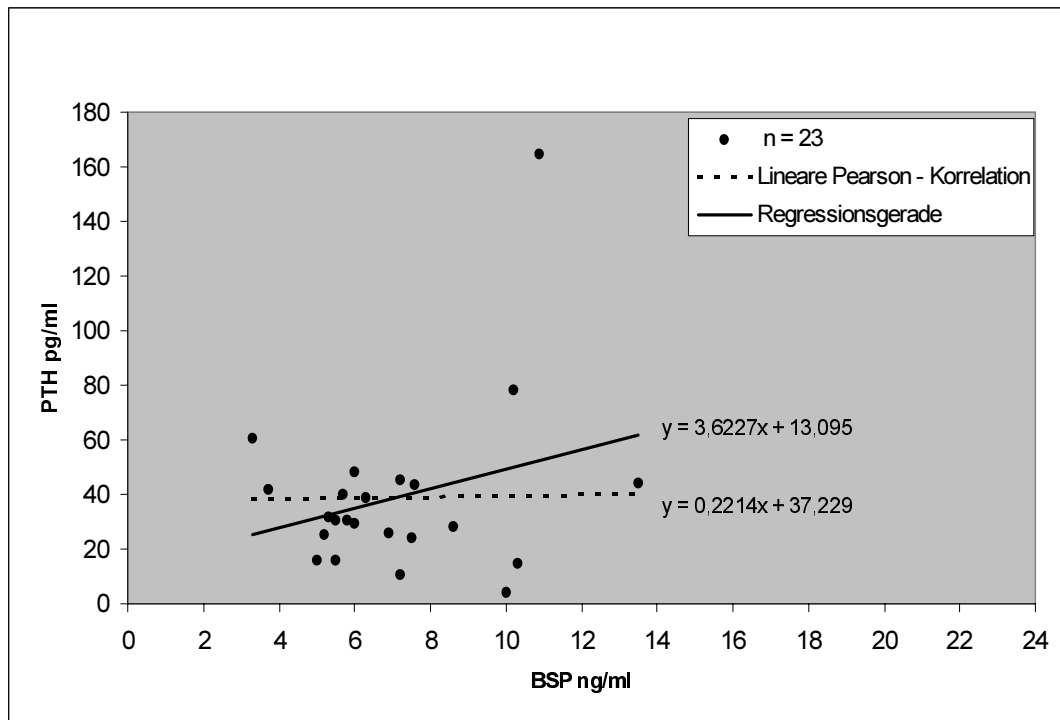


Abb. 4.15: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und PTH in der Gruppe osteoporotischer Männer

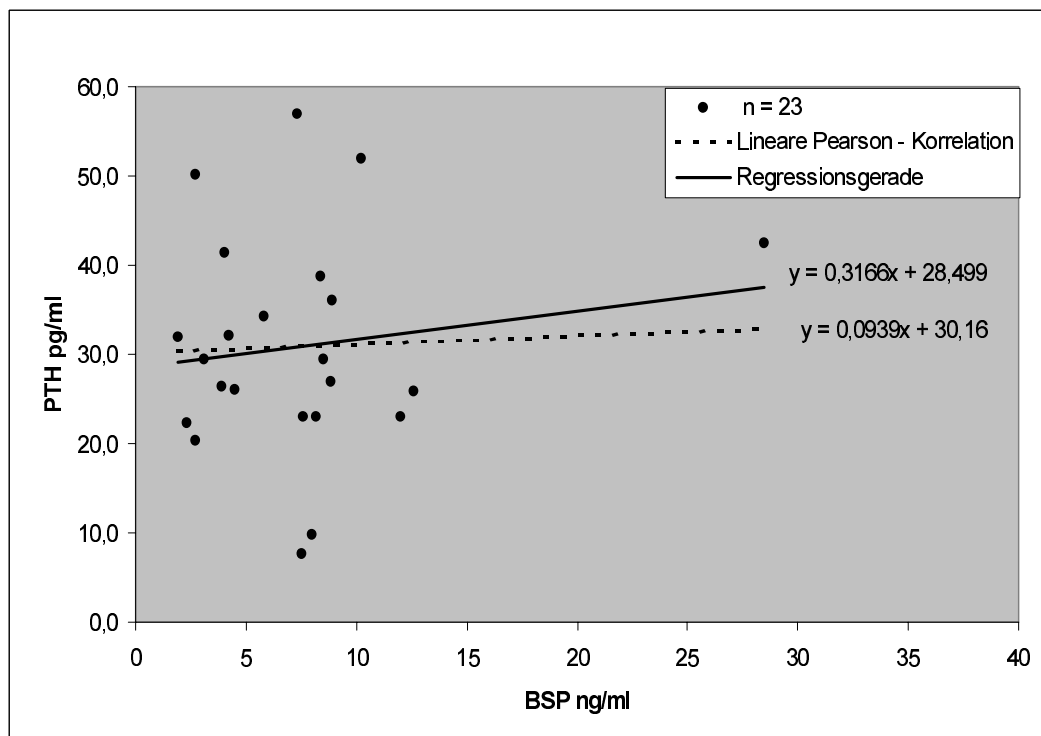


Abb. 4.16: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und PTH in der Gruppe gesunder Frauen

4.4 Vitamin D₃

Vitamin D₃ wirkt auf die Mineralisation und die Verbesserung der Kalzium-Bilanz und fördert so den Knochenaufbau. Die Normwerte liegen bei 16 – 74 ng/ml. Die Serumkonzentration ist individuell sehr unterschiedlich, die Variationsbreite liegt zwischen 3 und 99 ng/ml (M = 23,838 ng/ml) (Tab. 4.1). Frauen weisen geringfügig höhere Werte auf (M = 24,237 ng/ml, V = 3 – 99 ng/ml) (Tab. 4.2) als Männer (M = 21,592 ng/ml, V = 3,2 – 48 ng/ml) (Tab. 4.3). Beim Vorliegen einer primären Osteoporose sind keine signifikanten Unterschiede zu den Vitamin D₃-Konzentrationen im Serum von gesunden Patienten feststellbar, sie liegen bei osteoporotischen Patienten nur wenig höher (Tab. 4.4, Tab. 4.5). Diese Verhältnisse bleiben auch bei Einteilung in Gruppen nach Geschlecht und Diagnose bestehen (Tab. 4.6 – 4.9).

Tab. 4.21: Mittelwert und Variationsbreite von Vitamin D₃ im Serum

	Osteoporose	keine Osteoporose
Frauen	M = 24,531 ng/ml V = 3 – 99 ng/ml	M = 22,727 ng/ml V = 5 – 51 ng/ml
Männer	M = 22,057 ng/ml V = 3,2 – 48 ng/ml	M = 18,333 ng/ml V = 14 – 22 ng/ml

Die Pearson Korrelation zwischen BSP und Vitamin D₃ ist in allen untersuchten Patientengruppierungen mit Ausnahme von nichtosteoporotischen Frauen negativ und nicht signifikant (Abb. 4.17 – 4.20), d.h. die gemessenen Parameter sind indirekt proportional zueinander, bei hohen Vitamin D₃-Werten finden sich niedrige BSP-Werte.

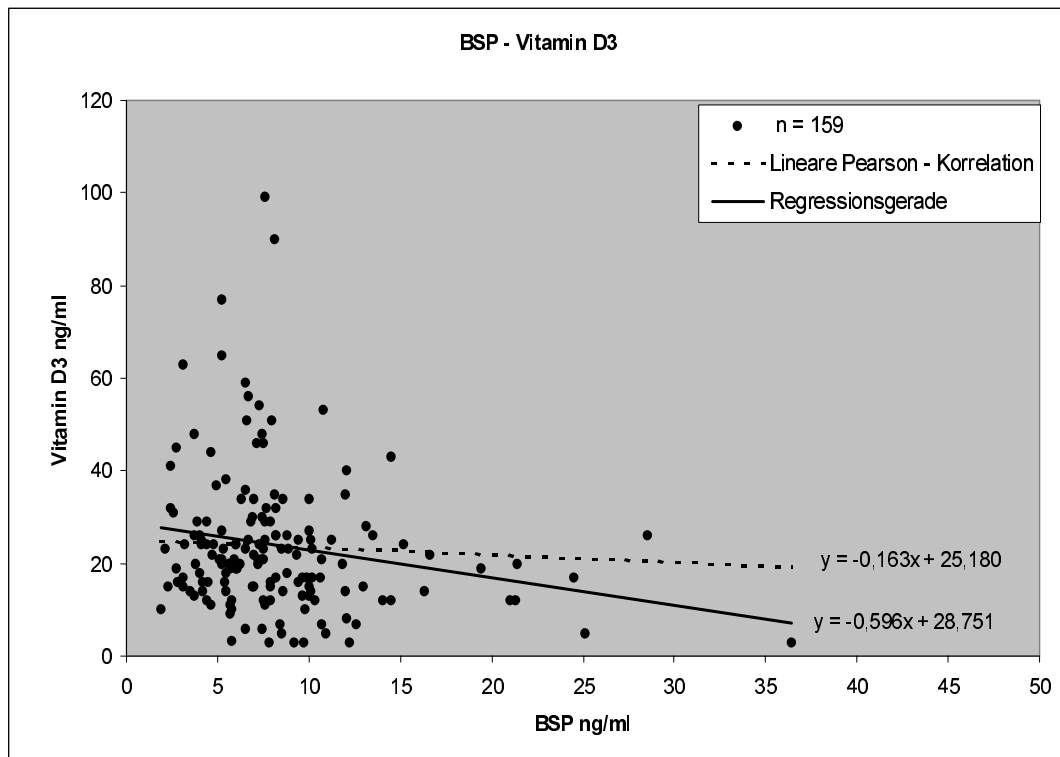


Abb. 4.17: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und Vitamin D₃ in der Gruppe der Gesamtpatienten

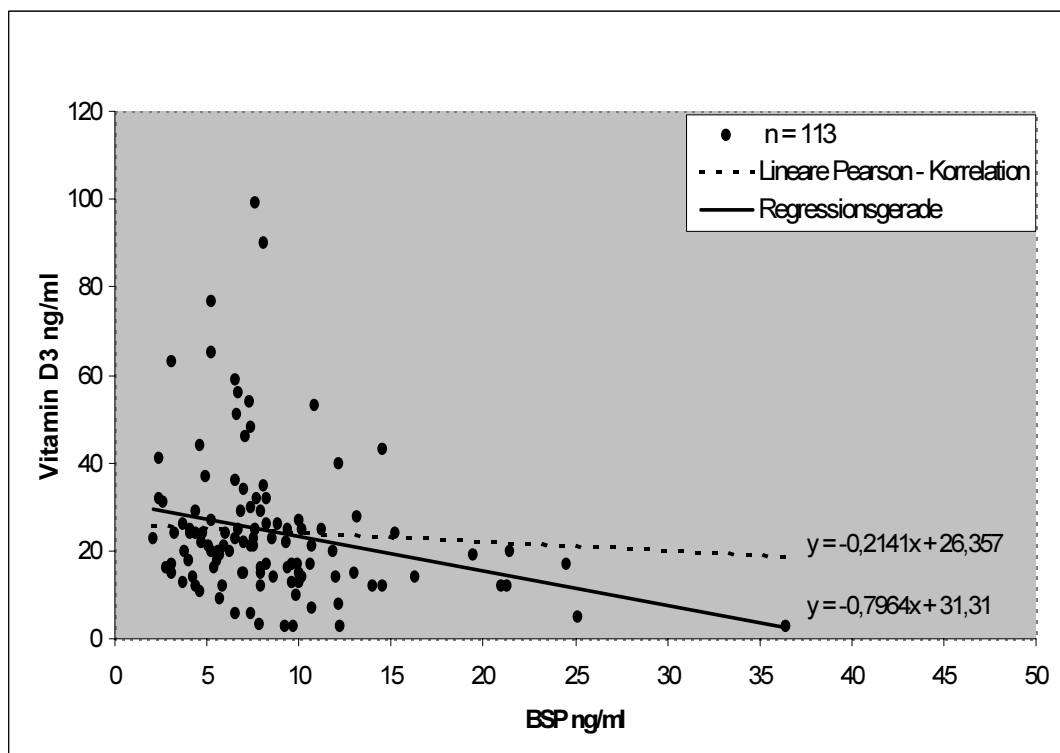


Abb. 4.18: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und Vitamin D₃ in der Gruppe osteoporotischer Frauen

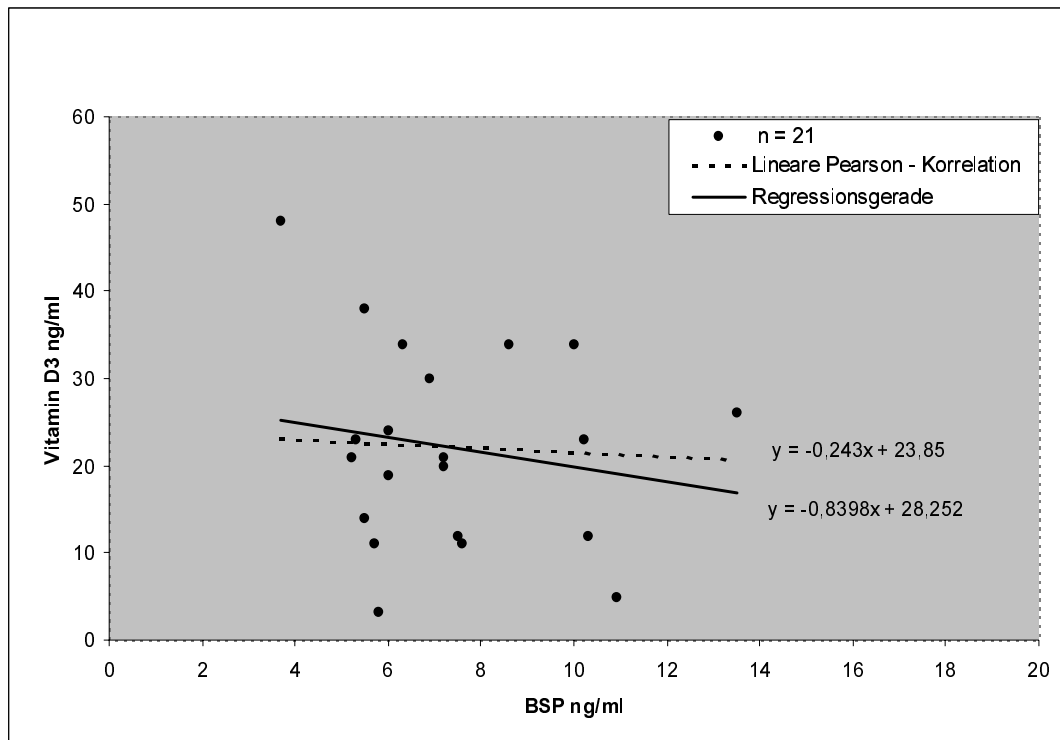


Abb. 4.19: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und Vitamin D₃ in der Gruppe osteoporotischer Männer

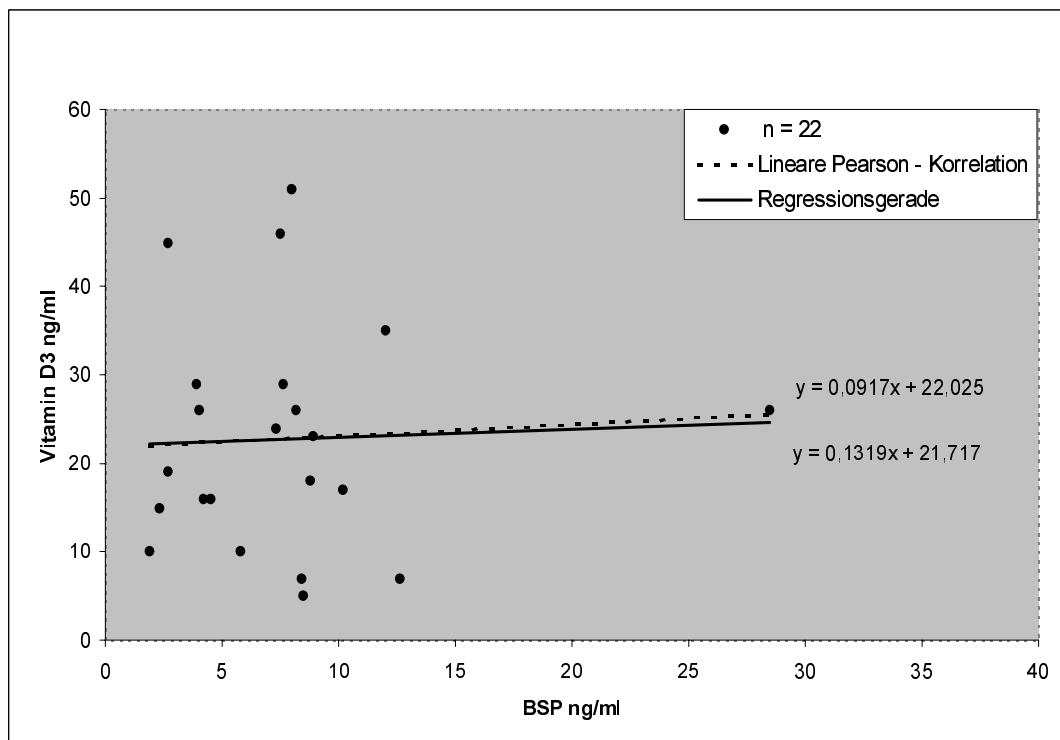


Abb. 4.20: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und Vitamin D₃ in der Gruppe gesunder Frauen

4.5 Geschlechtshormone

4.5.1 Östradiol

Der Einfluß eines postmenopausal bedingten Östrogenmangels auf den Knochenstoffwechsel ist einer der Hauptfaktoren für das Entstehen einer Osteoporose. Östradiol lag in den untersuchten Patienten mit einer durchschnittlichen Serumkonzentration von $M = 60,516 \text{ pg/ml}$ ($V = 1-385 \text{ pg/ml}$) vor (Tab. 4.1). Frauen weisen fast doppelt so hohe Serumwerte auf ($M = 64,833 \text{ pg/ml}$) (Tab. 4.2) wie Männer ($M = 37,244 \text{ pg/ml}$) (Tab. 4.3). Jedoch scheint der Östradiolspiegel keinen signifikanten Einfluß auf eine Osteoporose zu haben, er unterscheidet sich kaum zwischen osteoporotischen ($M = 60,167 \text{ pg/ml}$) (Tab. 4.4) und nichtosteoporotischen ($M = 62,5 \text{ pg/ml}$) (Tab. 4.5) Patienten. Diese Verhältnisse bleiben auch bei der Unterteilung der Patienten nach Geschlecht und dem Vorliegen einer Osteoporose bestehen (Tab. 4.6 – 4.9).

Tab. 4.22: Mittelwert und Variationsbreite von Östradiol im Serum

	Osteoporose	keine Osteoporose
Frauen	$M = 64,599 \text{ pg/ml}$ $V = 1 - 385 \text{ pg/ml}$	$M = 66,05 \text{ pg/ml}$ $V = 6 - 321 \text{ pg/ml}$
Männer	$M = 38,22 \text{ pg/ml}$ $V = 6,2 - 83 \text{ pg/ml}$	$M = 27 \text{ pg/ml}$ $V = 25 - 29 \text{ pg/ml}$

Betrachtet man die Pearson Korrelation zwischen BSP und Östradiol, stellt man fest, daß sie bei den Gesamtpatienten und weiblichen Gruppen negativ ist (indirekte Proportionalität), während sie bei osteoporotischen Männern ganz schwach positiv korreliert (Abb. 4.21 – 4.25).

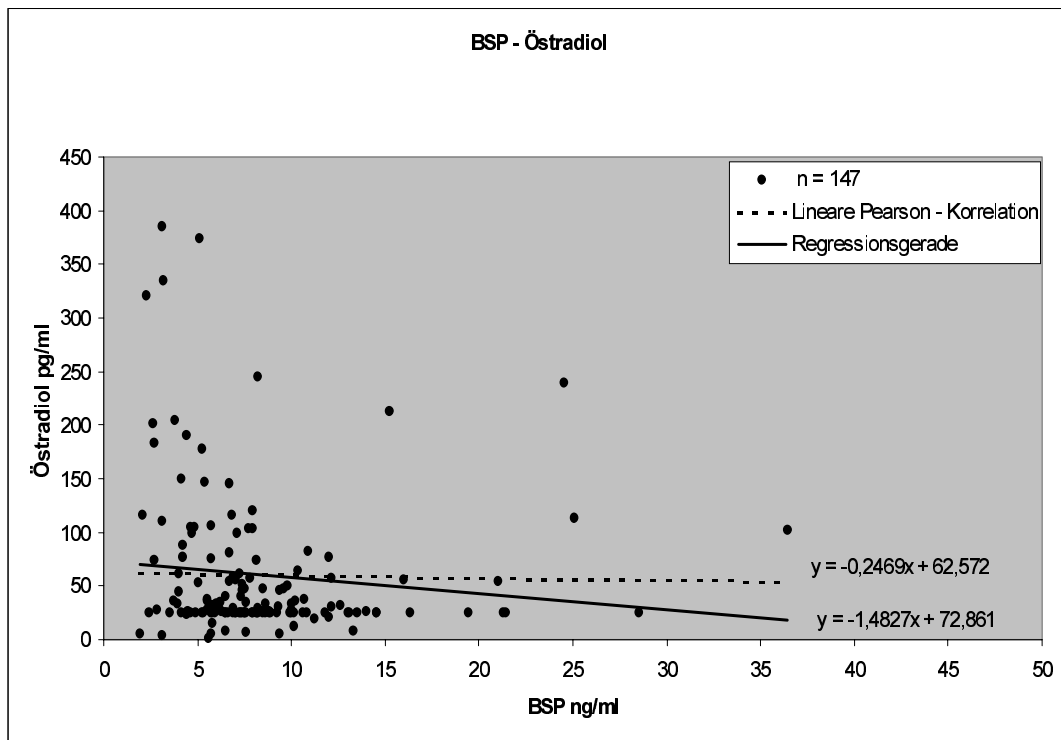


Abb. 4.21: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und Östradiol in der Gruppe der Gesamtpatienten

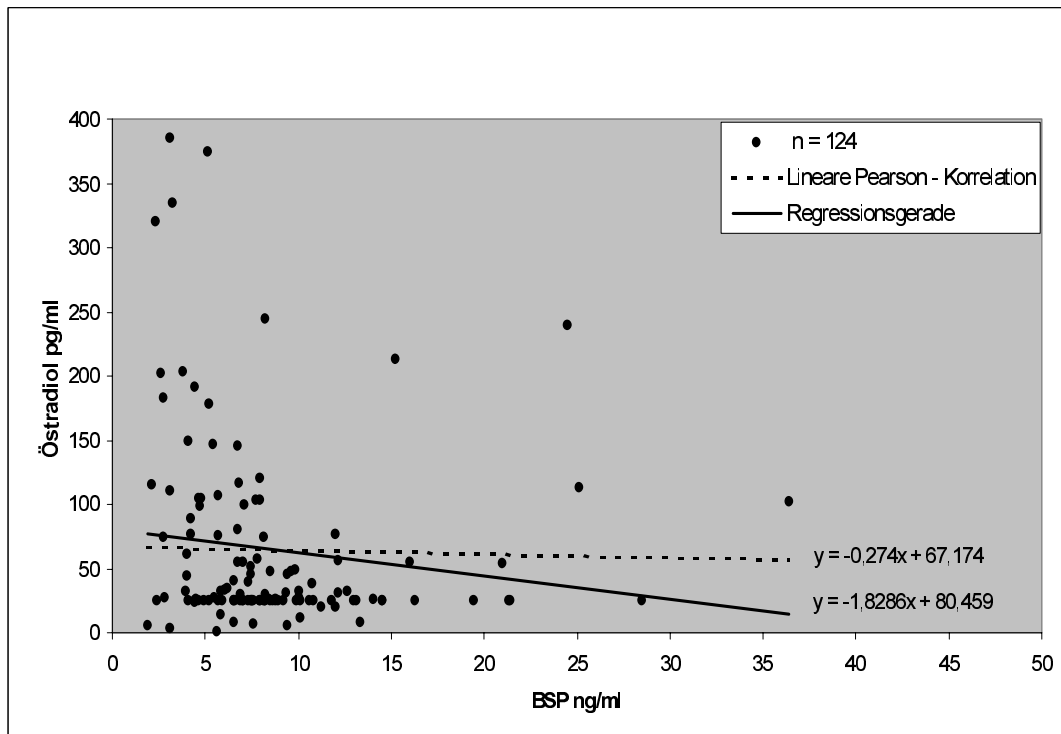


Abb. 4.22: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und Östradiol in der Gruppe der weiblichen Patienten

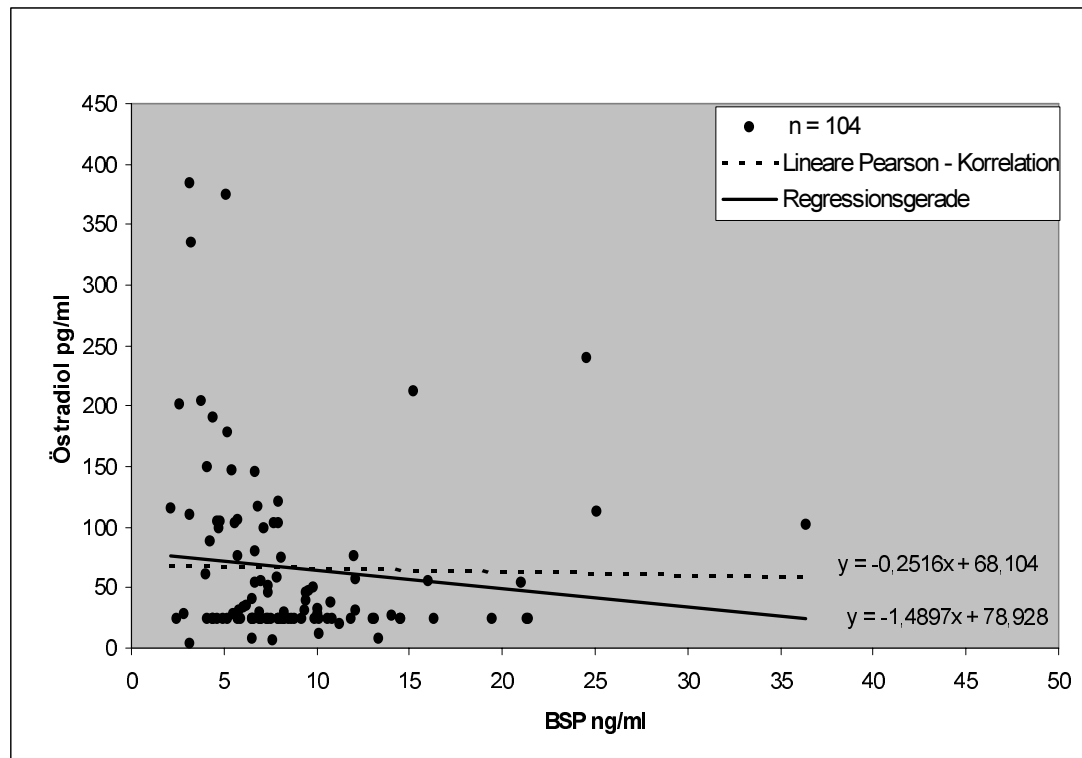


Abb. 4.23: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und Östradiol in der Gruppe der osteoporotischen Frauen

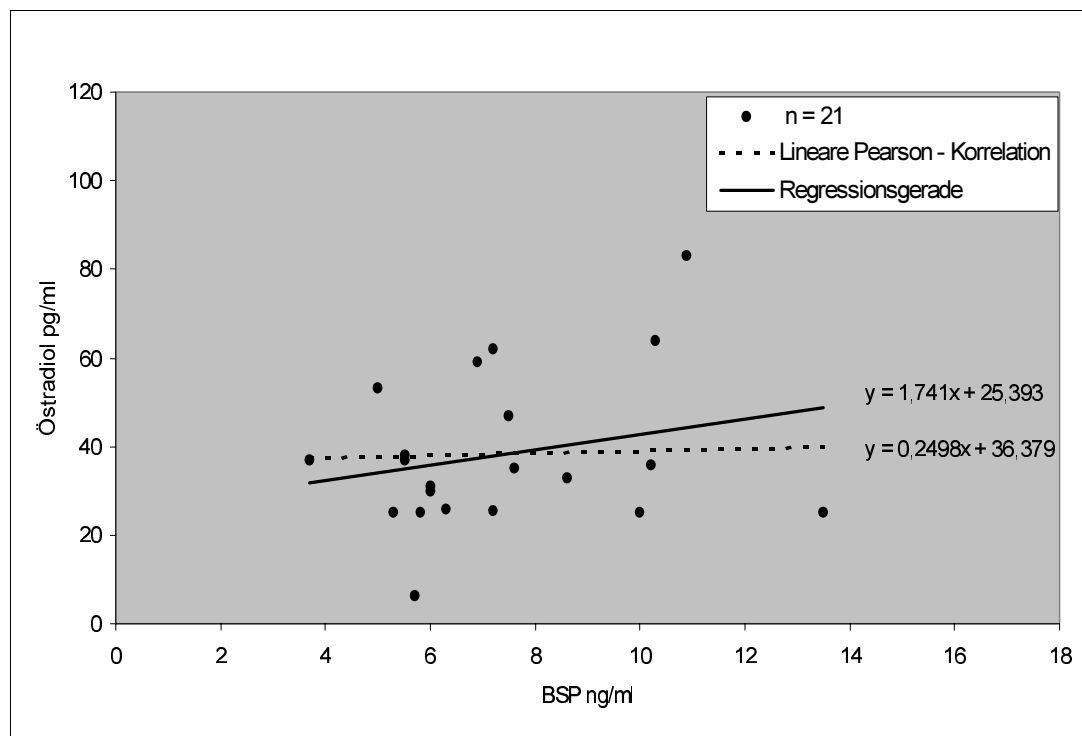


Abb. 4.24: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und Östradiol in der Gruppe osteoporotischer Männer

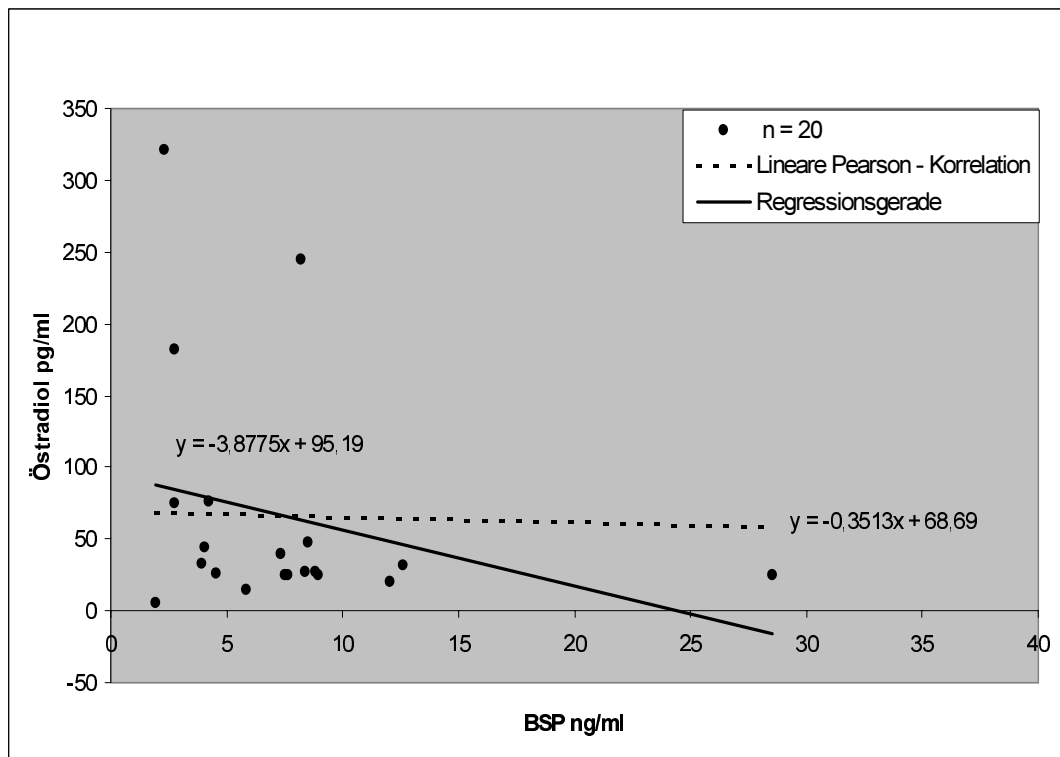


Abb. 4.25: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und Östradiol in der Gruppe gesunder Frauen

4.5.2 Testosteron

Die Serum-Testosteron-Spiegel liegen bei den männlichen Patienten zwischen 185 – 890 ng/dl (M = 437,391 ng/dl) (Tab. 4.3), womit sie teilweise unterhalb des Referenzbereichs (300 – 1000 ng/dl) liegen. Beim Vorliegen einer Osteoporose ist die Konzentration an Testosteron höher (M = 445,286 ng/dl) (Tab. 4.4) als bei gesunden Männern (M = 354,5 ng/dl) (Tab. 4.5). Die Pearson Korrelation zwischen BSP und Testosteron ist mit $r = 0,275$ ($p = 0,205$) sehr schwach (Abb. 2.26) und liegt bei osteoporotischen Männern noch etwas niedriger ($r = 0,264$; $p = 0,248$) (Abb. 4.27).

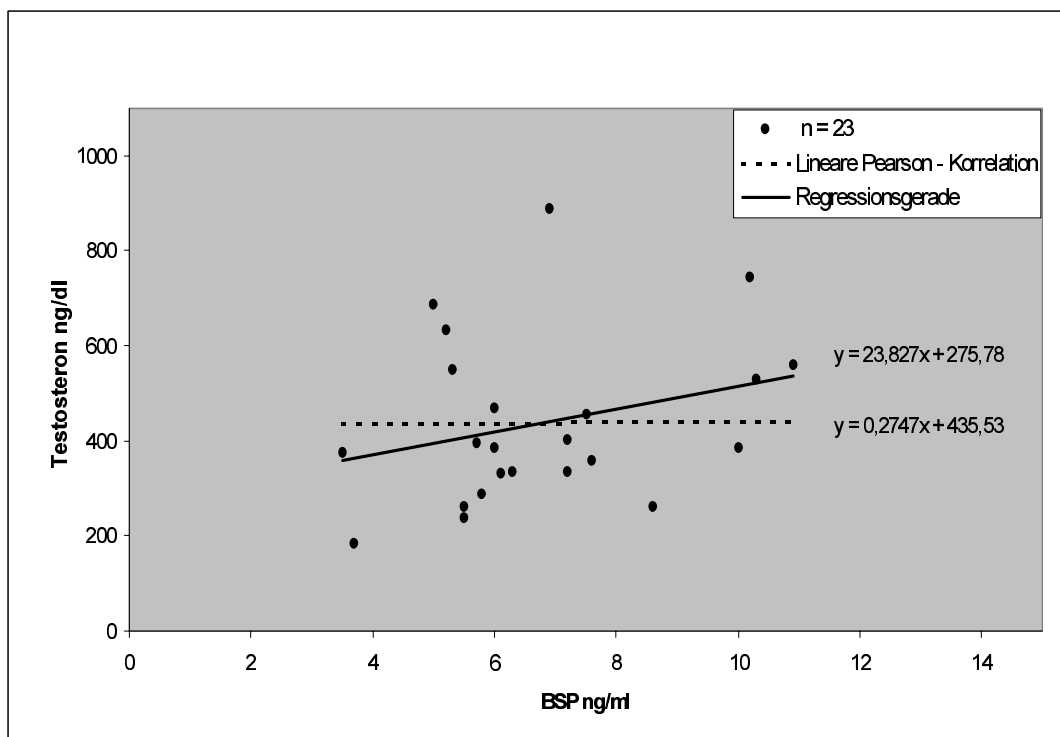


Abb. 4.26: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und Testosteron in der Gruppe männlicher Patienten

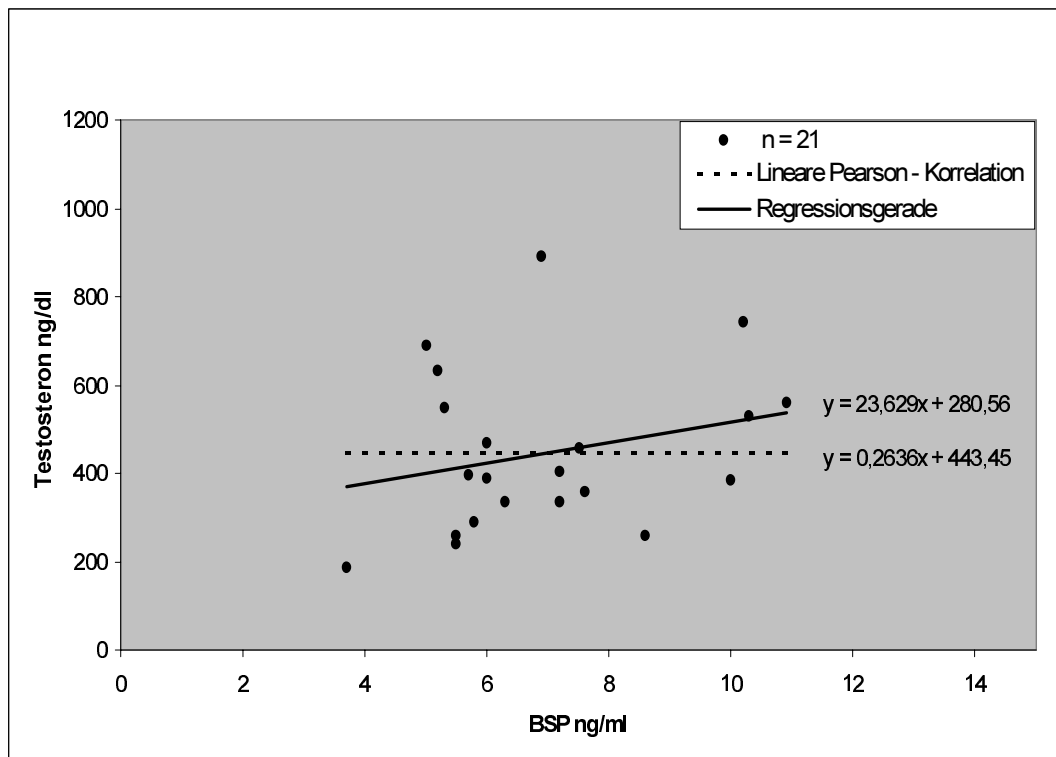


Abb. 4.27: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und Testosteron in der Gruppe osteoporotischer Männer

4.6 Osteodensitometrie

4.6.1 Lendenwirbelsäule ap

Von der Knochendichte der gemessenen Lendenwirbel wird der durchschnittliche Mittelwert berechnet, der den Berechnungen zugrunde liegt.

Die Knochendichte liegt bei den Gesamtpatienten im Mittel bei $M = 0,971 \text{ g/cm}^2$ ($V = 0,669 - 2,445 \text{ g/cm}^2$) (Tab. 4.1). Zwischen den Geschlechtern kann nur ein geringer Unterschied festgestellt werden, Männer weisen hier etwas höhere Werte auf ($M = 0,995 \text{ g/cm}^2$) als Frauen ($M = 0,968 \text{ g/cm}^2$), jedoch ist ihre Variationsbreite im Vergleich zu der von Frauen ($V = 0,669 - 2,445 \text{ g/cm}^2$) (Tab.4.2) kleiner ($V = 0,697 - 1,274 \text{ g/cm}^2$) (Tab. 4.3). Wie zu erwarten ist die Knochendichte in Gesunden höher ($M = 1,107 \text{ g/cm}^2$) (Tab. 4.5) als in osteoporotischen Patienten ($M = 0,947 \text{ g/cm}^2$) (Tab. 4.4). Diese geschlechts- und diagnosespezifischen Verhältnisse bleiben auch in gleicher Gruppenunterteilung bestehen (Tab. 4.6 – 4.9).

Tab. 4.23: Mittelwert und Variationsbreite der Knochendichte der Lendenwirbelsäule ap

	Osteoporose	keine Osteoporose
Frauen	$M = 0,994 \text{ g/cm}^2$ $V = 0,669 - 2,445 \text{ g/cm}^2$	$M = 1,094 \text{ g/cm}^2$ $V = 0,872 - 1,358 \text{ g/cm}^2$
Männer	$M = 0,967 \text{ g/cm}^2$ $V = 0,697 - 1,215 \text{ g/cm}^2$	$M = 1,245 \text{ g/cm}^2$ $V = 1,215 - 1,274 \text{ g/cm}^2$

Die Pearson Korrelation ist für alle Gruppen negativ, d.h. BSP und die Knochendichte sind reziprok proportional zueinander. Eine niedrige Knochendichte ist somit verbunden mit hohen BSP-Konzentrationen (Abb. 4.28, 4.29, 4.31).. Eine Ausnahme bilden die männlichen Patienten, sie weisen eine sehr schwach positive Korrelation zwischen den beiden Parametern auf ($r = 0,1531$) (Tab. 4.12). Bei osteoporotischen Männern korrelieren BSP und die Knochendichte der Lendenwirbelsäule mit $r = 0,420$ gut (Abb. 4.30) Jedoch lässt sich bei keiner Gruppe eine Signifikanz für diese Ergebnisse feststellen.

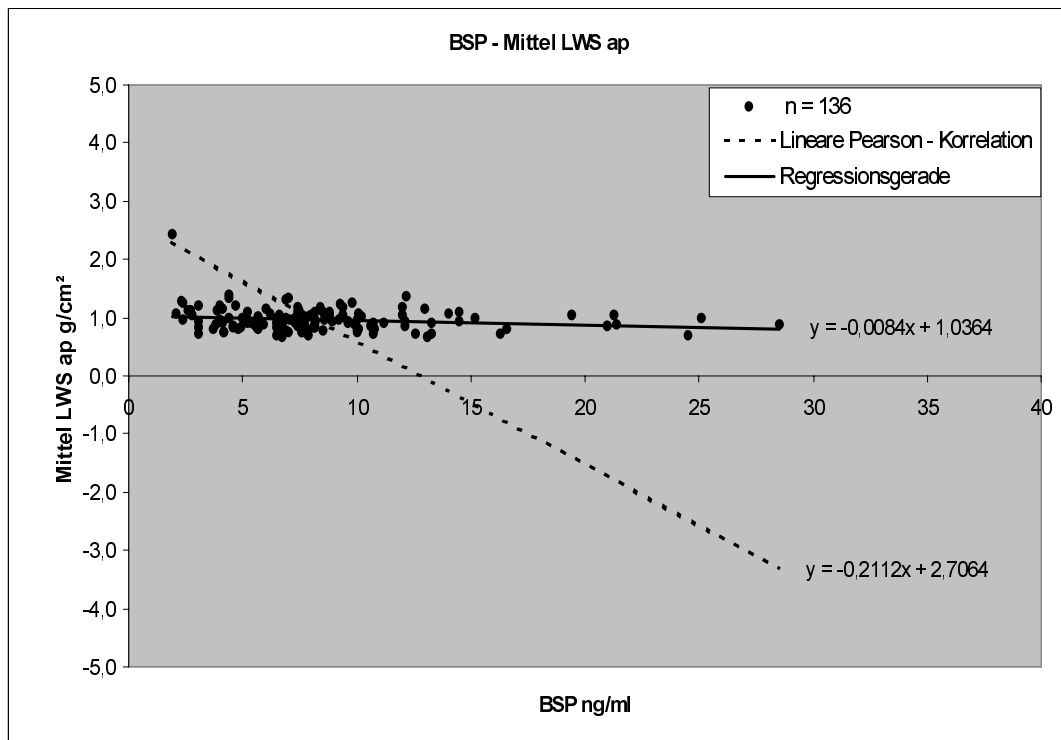


Abb. 4.28: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und der Knochendichte der Lendenwirbelsäule in der Gruppe der Gesamtpatienten

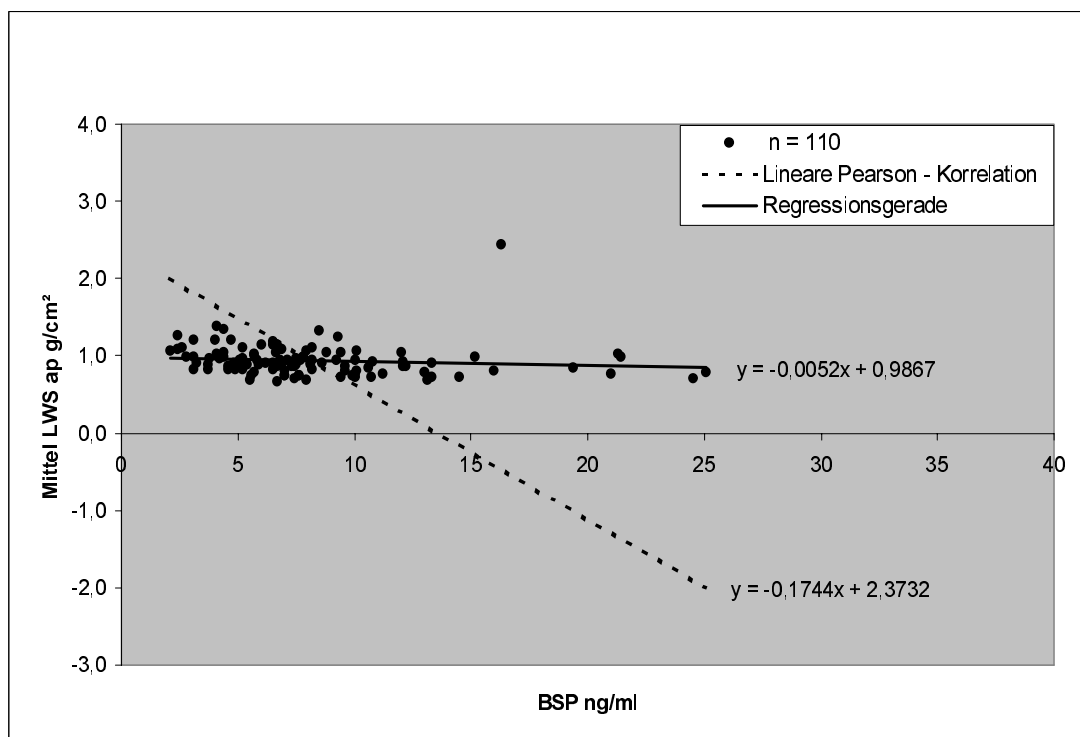


Abb. 4.29: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und der Knochendichte der Lendenwirbelsäule in der Gruppe osteoporotischer Frauen

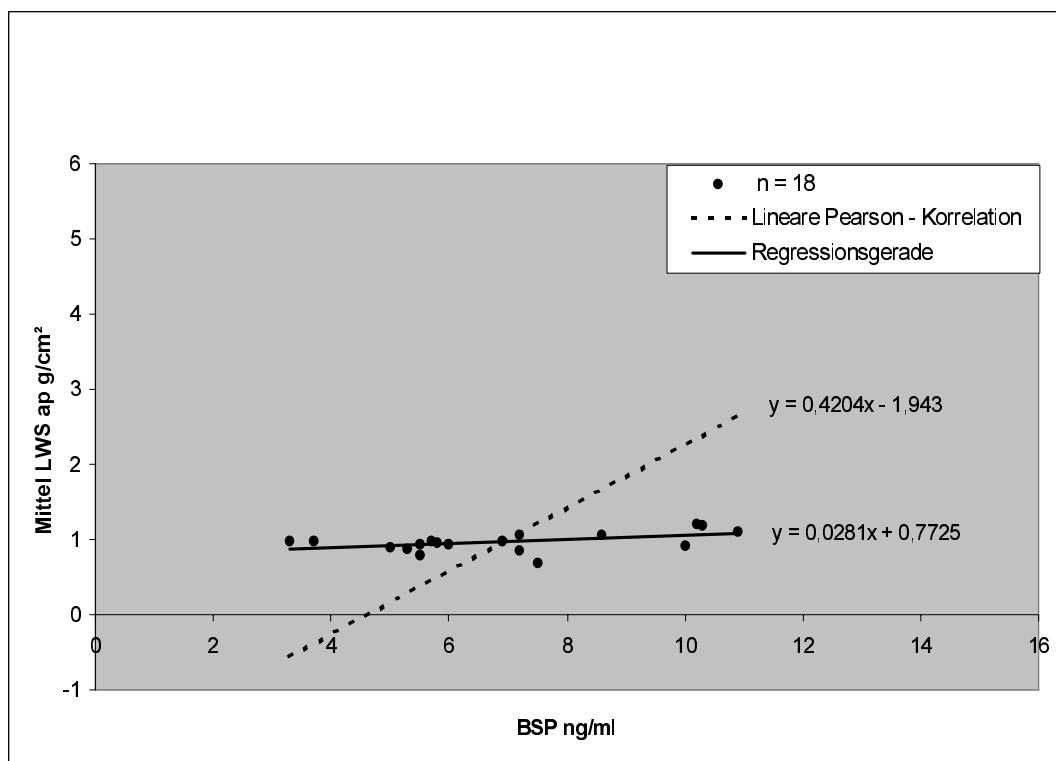


Abb. 4.30: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und der Knochendichte der Lendenwirbelsäule in der Gruppe osteoporotischer Männer

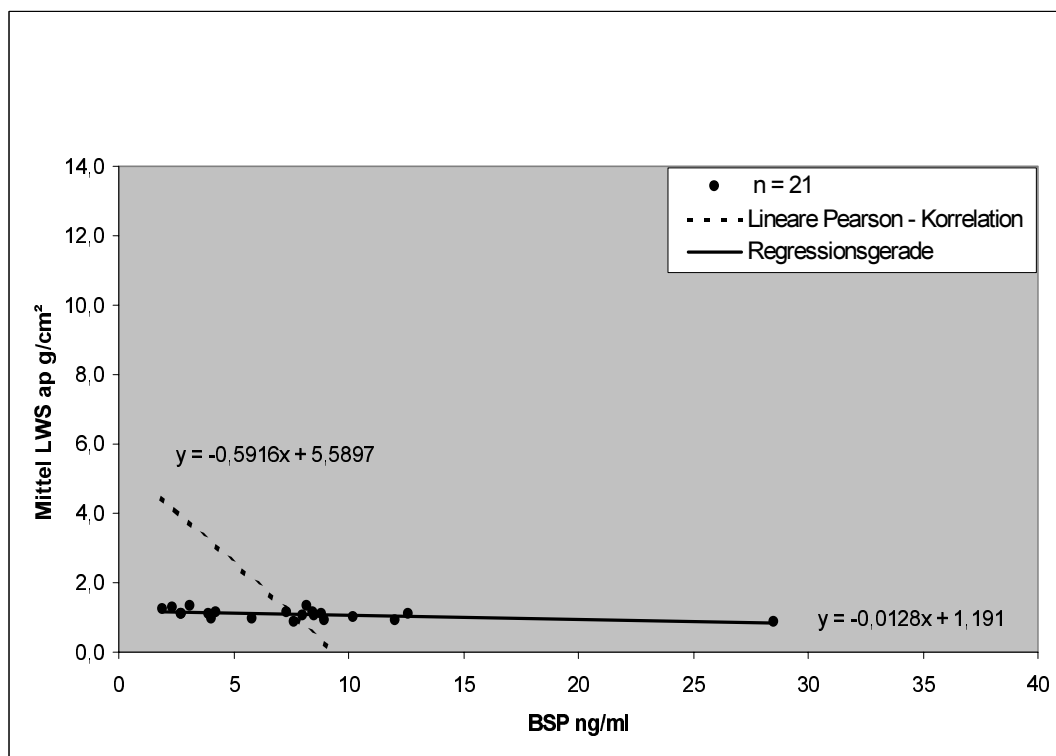


Abb. 4.31: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und der Knochendichte der Lendenwirbelsäule in der Gruppe gesunder Frauen

4.6.2 Schenkelhals ap

Die Knochendichte des Schenkelhalses betrug im Mittel $M = 0,737 \text{ g/cm}^2$ ($V = 0,432 - 1,113 \text{ g/cm}^2$) (Tab. 4.1) in der Gruppe der untersuchten Patienten. Frauen weisen eine geringere Mineralstoffdichte auf ($M = 0,724 \text{ g/cm}^2$) (Tab. 4.2) als Männer ($M = 0,82 \text{ g/cm}^2$) (Tab. 4.3). Bei Vorliegen einer Osteoporose ist der Gehalt an Mineralstoffen niedriger ($M = 0,716 \text{ g/cm}^2$) (Tab. 4.4) als bei gesunden Menschen ($M = 0,847 \text{ g/cm}^2$) (Tab. 4.5). Diese Verhältnisse bestehen auch in den geschlechts- und diagnosespezifischen Gruppen (Tab. 4.6 – 4.9).

Tab. 4.24: Mittelwert und Variationsbreite der Knochendichte des Schenkelhalses

	Osteoporose	keine Osteoporose
Frauen	$M = 0,701 \text{ g/cm}^2$ $V = 0,432 - 0,993 \text{ g/cm}^2$	$M = 0,841 \text{ g/cm}^2$ $V = 0,606 - 1,113 \text{ g/cm}^2$
Männer	$M = 0,81 \text{ g/cm}^2$ $V = 0,608 - 0,984 \text{ g/cm}^2$	$M = 0,912 \text{ g/cm}^2$ $V = 0,907 - 0,916 \text{ g/cm}^2$

Die Korrelation zwischen BSP und der Knochendichte des Schenkelhalses ist schwach negativ ($r = -0,361$, $p < 0,0001$) (Abb. 4.32), d.h. beide Parameter sind reziprok proportional zueinander. Eine hohe Knochendichte bedeutet somit niedrige BSP-Konzentrationen. Bei den männlichen Patienten ist die Korrelation höher ($r = -0,17$; $p = 0,473$) (Tab. 4.12) als bei weiblichen ($r = -0,374$; $p < 0,0001$) (Tab. 4.11), jedoch nicht signifikant. Frauen, die nicht an Osteoporose leiden, weisen den negativsten Korrelationskoeffizient auf ($r = 0,595$; $p = 0,006$) (Abb. 4.35), gefolgt von osteoporotischen Frauen ($r = -0,299$; $p = 0,002$) (Abb. 4.33). BSP und die Knochendichte des Schenkelhalses korrelieren bei osteoporotischen Männern nicht ($r = -0,089$; $p = 0,724$) (Abb. 4.34).

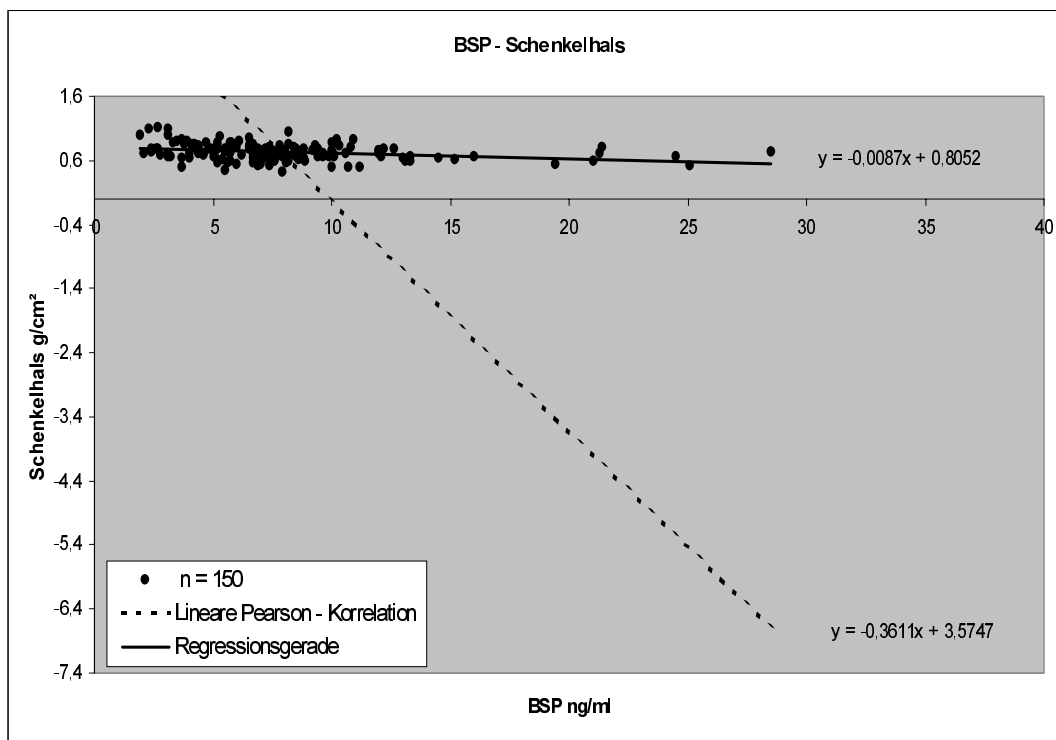


Abb. 4.32: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und der Knochendichte des Schenkelhalses in der Gruppe der Gesamtpatienten

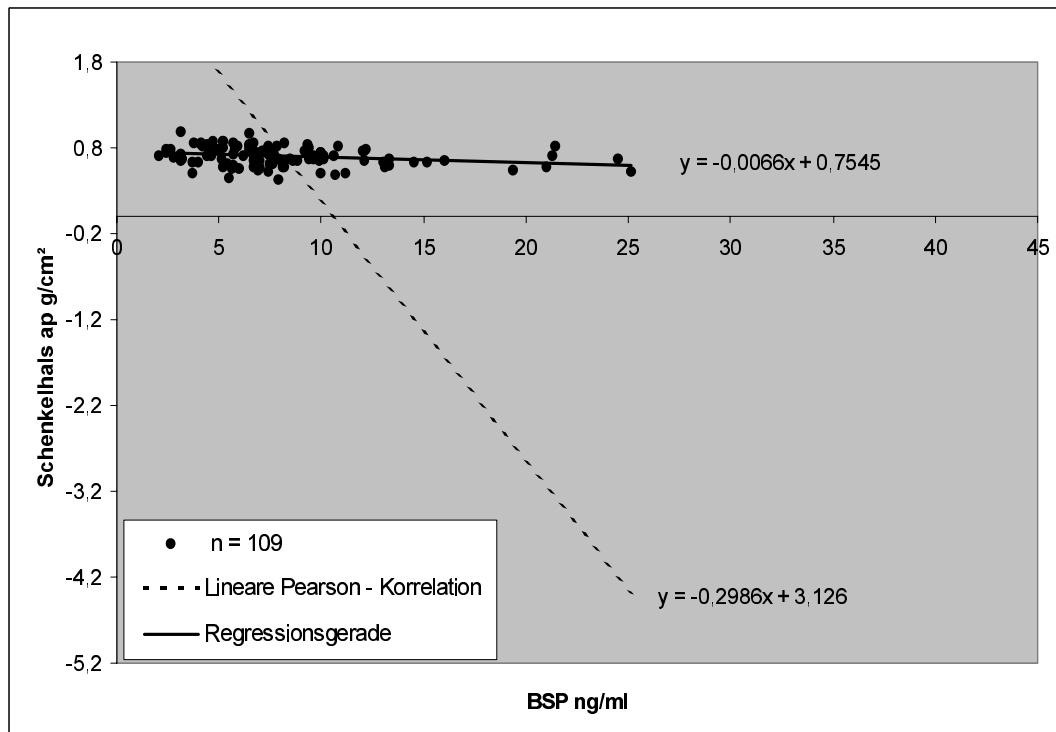


Abb. 4.33: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und der Knochendichte des Schenkelhalses in der Gruppe osteoporotischer Frauen

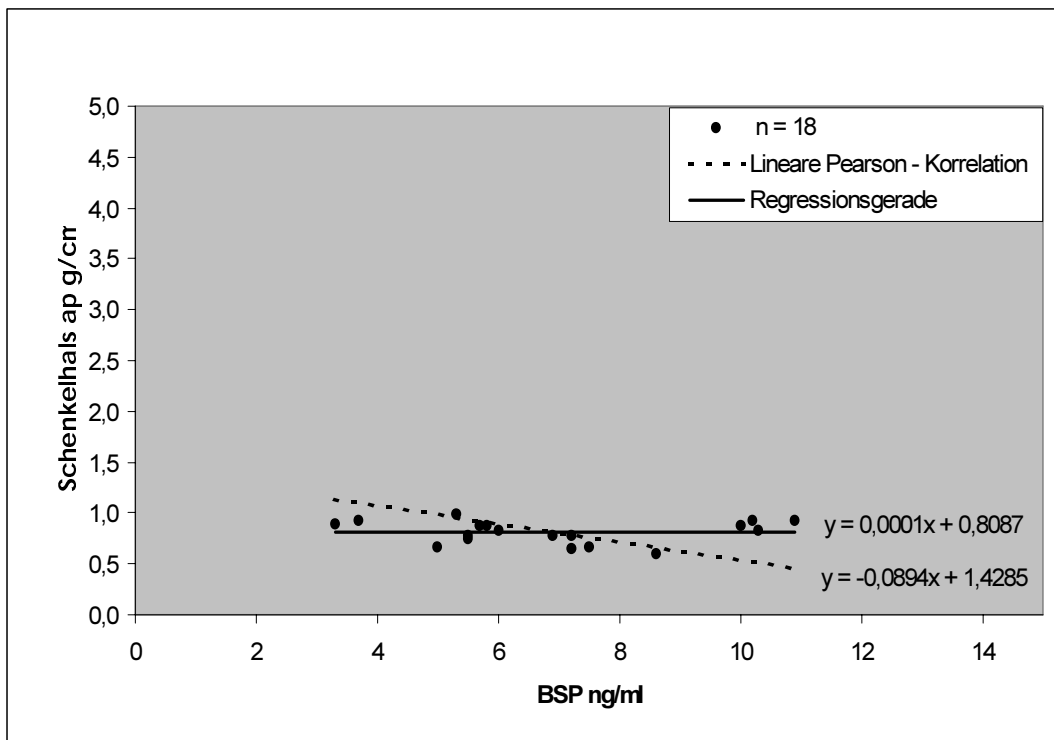


Abb. 4.34: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und der Knochendichte des Schenkelhalses in der Gruppe osteoporotischer Männer

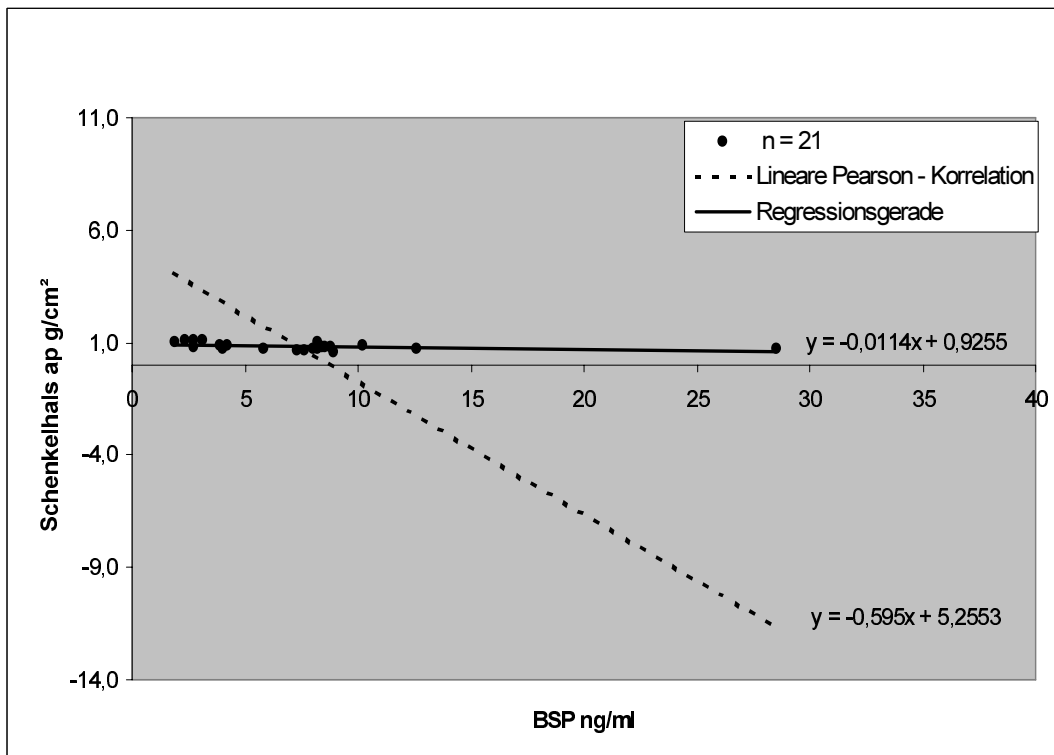


Abb. 4.35: Einfache Pearson Korrelation zwischen BSP und der Knochendichte des Schenkelhalses in der Gruppe gesunder Frauen

4.7 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die Konzentration des Bone Sialoprotein weist im Serum bei Frauen und Männern keine signifikanten Unterschiede auf, Frauen haben geringfügig höhere Werte als Männer. Liegt eine Osteoporose vor, so ist das BSP diskret erhöht. Der Knochenstoffwechselfparameter BAP liegt bei Frauen in höherer Konzentration vor als bei Männern, bei OC und PICP läßt sich das umgekehrte Verhältnis feststellen. Eine Osteoporoseerkrankung läßt die PICP-Werte ansteigen, während dies bei OC und BAP nur minimal festgestellt werden kann. Die Korrelationen zwischen BSP und BAP bzw. OC sind signifikant, dagegen korreliert BSP mit PICP nur schwach. Bei Frauen finden sich höhere Korrelationskoeffizienten als bei Männern.

Der Spiegel von PTH ist bei Frauen höher als bei Männern, sowie bei Vorliegen einer Osteoporose im Vergleich zu gesunden Menschen. BSP und PTH korrelieren nur schwach, wobei die Korrelation bei Frauen etwas besser ist.

Die Konzentrationen von Vitamin D₃ sind bei Frauen höher als bei Männern, der Unterschied in den Vitamin D₃-Werten bei osteoporotischen und nichtosteoporotischen Patienten ist gering, bei ersteren sind sie etwas höher. Die Korrelation zwischen BSP und Vitamin D₃ ist mit Ausnahme der Gruppe nichtosteoporotischer Frauen schwach negativ, es liegt hier eine reziproke Proportionalität zwischen den beiden Parametern vor, d.h. hohe Vitamin D₃-Werte sind vergesellschaftet mit niedrigen BSP-Werten und umgekehrt.

Die Östradiolkonzentration ist bei Frauen doppelt so hoch wie bei Männern, jedoch scheinen die Östradiolwerte keinen signifikanten Einfluß auf eine Osteoporoseerkrankung zu haben, sie liegen bei osteoporotischen Patienten nur etwas höher als bei gesunden Menschen. Die Korrelation zwischen BSP und Östradiol ist bei Frauen schwach negativ, während der Koeffizient bei Männern schwach positiv ist. Die Testosteron-Spiegel sind bei osteoporotischen Männern wesentlich höher als bei gesunden.

Die Knochendichte der Lendenwirbelsäule unterscheidet sich kaum zwischen Männern und Frauen. BSP korreliert bei Frauen schwach negativ (indirekte Proportionalität) mit der Knochendichte der Lendenwirbelsäule, bei Männern ist die Korrelation schwach positiv. Die Knochendichte des Schenkelhalses ist bei Männern höher als bei Frauen. Ein erniedrigter Mineralstoffgehalt begünstigt eine Osteoporoseerkrankung. Die Korrelationen zwischen BSP und der Knochendichte des Schenkelhalses sind negativ, hier weisen Frauen höhere Koeffizienten auf.

5. Diskussion

5.1 Methodische Aspekte

Drei grundsätzliche Probleme können die Ergebnisse der Untersuchungen beeinflussen: die Studienpopulation, die Probengewinnung und die Probenanalyse.

Die Studienpopulation besteht aus 170 Patienten (144 Frauen, 26 Männer), von denen nach Durchführung der spezifischen Untersuchungen bei 144 eine Osteoporose nachgewiesen wurde. Der Anteil der Frauen liegt deutlich über dem der Männer, somit ist ein Vergleich der Geschlechter schwer möglich. Auch wurde die Gruppe der Frauen nicht nach prä- und postmenopausal unterteilt, hier existieren jedoch große Unterschiede in der BSP-Konzentration. Bei nicht-osteoporotischen Frauen und osteoporotischen Männern läßt sich durch ihre geringe Anzahl kaum eine statistische Signifikanz nachweisen. Die Gruppe der nicht-osteoporotischen Männer konnte aufgrund ihrer geringen Anzahl ($n = 3$) nicht berücksichtigt werden.

Die Probenentnahme spielt bei der Beurteilung der Laborparameter ebenfalls eine wichtige Rolle. Hier gibt es zwei grundsätzliche Probleme. Zum einen wurden nicht bei allen Patienten die kompletten Werte erhoben, so daß nur ein Teil der jeweiligen Untergruppen auf die Fragestellung der Arbeit hin untersucht werden konnte. Zum anderen erfolgte die Durchführung der Blutentnahme und der Uringewinnung zwischen 8.00 – 10.00 vormittags, einer recht breiten Zeitspanne. Da die Literatur hierbei auf deutlich zirkadiane Rhythmen der Serum-Level von OC und des carboxyterminalen Propeptids des Typ-I-Prokollagens (37) sowie geringer auch der Urin-Spiegel der beiden Pyridinium-Crosslinks (PYD, DPD) (109) hinweist, kann eine Beeinflussung der Meßergebnisse aufgrund des unterschiedlichen Entnahmezeitpunkts nicht ausgeschlossen werden.

Weiterhin mußte nach der Probenentnahme auf eine Lagerung bei -80°C bis zur Analyse sowie auf eine rasche Weiterverarbeitung innerhalb von zwei Stunden geachtet werden, da langes Stehen der gewonnenen Blutproben bei Raumtemperatur für die Enzymbestimmung und die Messung von insbesondere OC im Serum zu falsch niedrigen Resultaten führen kann (35).

Die Probenanalyse erfolgte für alle untersuchten Parameter nach standardisierten Meßverfahren.

5.2 Deskriptive Statistik der Studienpopulation

Im Ergebnisteil wurden die Serum-Konzentrationen von BSP mit den untersuchten Knochenstoffwechselparametern, Blutwerten und der Knochendichte nach Pearson korreliert. Die Korrelationskoeffizienten blieben mit $< 0,3$ auf niedrigem Niveau, was sich durch die geringe Variationsbreite der gemessenen Parameter erklären lässt. Eine Ausnahme bildet OC und BAP, hier konnten gute Korrelationen in der Gesamtpopulation und der Gruppe der Frauen festgestellt werden. Durch extrem hohe Serum- und Urin-Level streckt sich der Wertebereich, was zu höheren Korrelationen führt. In den untersuchten Patientengruppen wurden die individuellen Extremwerte mit berücksichtigt, wodurch eine leichte Erhöhung der Korrelationskoeffizienten verursacht werden konnte. Jedoch handelt es sich hier um wenige, einzelne Fälle.

Trotz der beschriebenen relativ schwachen Korrelationen der untersuchten Parameter fanden sich im Regelfall statistisch signifikante p-Werte. Dies lässt sich auf die große Anzahl an Probanden zurückführen, eine Ausnahme hier ist die Gruppe der Männer.

Im Ergebnisteil wurde neben der Regressionsgeraden die Pearson-Korrelation als lineare Gleichung zum Vergleich dargestellt. Während die Pearson Korrelation das aktuell vorhandene Verhältnis der Parameter in der vorliegenden Studienpopulation aufzeigt, beschreibt die Regressionsgerade die Veränderung der Korrelation bei einer Erweiterung der Studienpopulation ins Unendliche. Sie stellt somit nicht die aktuellen sondern die extrapolierten Verhältnisse da.

5.3 Knochenstoffwechselfparameter

5.3.1 Bone Sialoprotein (BSP)

Die Serum-BSP-Level weisen in der Gesamtstudienpopulation eine große Variationsbreite von 1,9 – 36,4 ng/ml auf (M = 8,272 ng/ml). Bei gesunden Frauen lässt sich ein niedrigerer BSP-Spiegel (M = 7,461 ng/ml, V = 1,9 – 28,5 ng/ml) als bei gesunden Männern (M = 8,733 ng/ml, V = 3,5 – 16,6 ng/ml) feststellen. Die von uns gemessenen Mittelwerte liegen unter denen aus der Literatur (123, 69), was bei den Männern auf geringere Maximalwerte und bei den Frauen auf generell niedrigerere BSP-Konzentrationen zurückzuführen ist. Verschiedene Studien jedoch bestätigen den geringen Unterschied zwischen den Geschlechtern (123, 141, 108).

Der Unterschied zwischen den BSP-Werten bei an Osteoporose erkrankten und gesunden Menschen ist gering, erstere haben einen etwas erhöhten BSP-Wert von M = 8,392 ng/ml im Vergleich zu letzteren (M = 7,608 ng/ml). Die Höhe der BSP-Konzentration bei Osteoporoseerkrankungen entspricht der in einer Studie von Peterson et al (100) und Saxne et al (108) an Osteoarthritis-Patienten, ist jedoch in Untersuchungen von Seibel et al (123) über Hyperparathyreodismus-, Morbus Paget- und Brustkrebs-Patienten wesentlich signifikanter. Ein direkter Vergleich ist hier nicht möglich, da es sich um unterschiedliche Erkrankungen handelt, die sich verschieden auf das BSP auswirken. Die Grundaussage einer Erhöhung des BSP beim Vorliegen von Knochenerkrankungen und chronischen Krankheiten ist in allen Studien identisch. Somit ist BSP ein Parameter für einen gesteigerten Knochenstoffwechsel.

5.3.2 Knochenspezifische alkalische Phosphatase (BAP)

Die Konzentration von BAP liegt in der Gesamtstudienpopulation bei durchschnittlich 23,63 U/l ($V = 2,4 - 182$ U/l), beim Vorliegen einer Osteoporose steigen die Werte geringfügig an ($M = 23,81$ U/l), während sie bei Gesunden etwas sinken ($M = 22,66$ U/l). Dies bestätigt eine Untersuchung von Garnero et al, in der das Serum-BAP nach der Menopause, die häufig die Entwicklung einer Osteoporose begünstigt, anstieg (53). Im Vergleich zu einer Studie von Seibel et al (123) sind die Level hier sehr hoch, sie erreichen die doppelte Konzentration. Ein geschlechtsspezifischer Unterschied ist bei den Untersuchungen von Seibel nicht festgestellt worden, teilt man jedoch die Gruppe der gesunden Frauen nach dem Eintreten der Menopause ein, so haben postmenopausale Frauen einen höheren BAP-Spiegel als prämenopausale. Die hier vorliegenden Ergebnisse konnten dies nicht bestätigen, gesunde Frauen weisen wesentlich höhere BAP-Werte auf ($M = 23,13$ U/l) als gesunde Männer ($M = 8,73$ U/l). Doch ließen sich bei an Osteoporose erkrankte Frauen höhere BAP-Konzentrationen feststellen ($M = 24,33$ U/l). Osteoporotische Männer haben einen extrem erhöhten BAP-Level ($M = 21,14$ U/l). Ein Grund hierfür ist sicherlich die geringe Anzahl der untersuchten Männer, die keine statistisch signifikante Aussage zuläßt. Jedoch wurde in beiden Studien ein Anstieg der BAP-Konzentration beim Vorliegen von Knochenerkrankungen festgestellt, wobei dieser in der Studie von Seibel et al wesentlich signifikanter ist.

Berechnet man den Pearson Korrelationskoeffizient so ergibt sich eine gute Korrelation von $r = 0,532$ ($P < 0,0001$) zwischen BSP und BAP in der Gesamtstudienpopulation. Die geschlechtsspezifische Unterteilung ergibt für Frauen einen Koeffizienten von $r = 0,547$ ($p < 0,0001$) und für Männer $r = 0,319$ ($p = 0,112$). Die Korrelation ist bei gesunden Frauen am maximalsten, gefolgt von osteoporotischen Frauen und osteoporotischen Männern (Abb. 5.1). Da die Spiegel von BAP sowie BSP im Alter besonders bei postmenopausalen an Knochenerkrankungen leidenden Frauen ansteigen, läßt sich die gute Korrelation in dieser Gruppe gut erklären. Dies bestätigt auch die Ergebnisse von Withold et al, der einen Korrelationskoeffizient von $r = 0,34$ ($p < 0,01$) zwischen BSP und BAP bei Patienten mit Knochenmetastasen feststellte (141). Jedoch müßten die Korrelationen in den einzelnen Untergruppen recht identisch sein, da es für jede gleichsinnige Normwerte gibt.

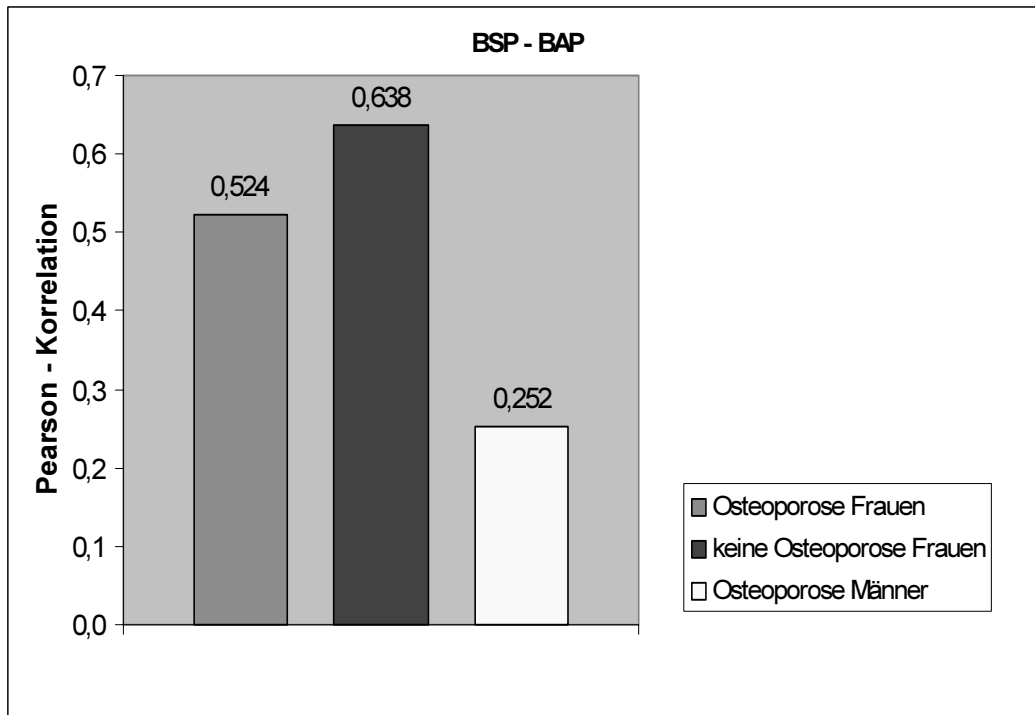


Abb. 5.1: Säulendiagramm der Pearson-Korrelationskoeffizienten zwischen BSP und BAP

5.3.3 Osteocalcin (OC)

Die Serum-Osteocalcinkonzentration liegt bei den Gesamtpatienten durchschnittlich bei 5,492 ng/ml und weist eine große Variationsbreite von 0,5 – 22,3 ng/ml auf. Die geschlechtsspezifischen Unterschiede sind gering, Frauen weisen einen etwas geringeren OC-Spiegel als Männer auf. Auch zwischen an Osteoporose erkrankten ($M = 5,517$ ng/ml, $V = 1,1 – 22,3$ ng/ml) und gesunden Probanden ($M = 5,358$ ng/ml, $V = 0,5 – 12,6$ ng/ml) zeigen sich keine signifikante Unterschiede, jedoch fällt die kleinere Bandbreite der Werte in letzter Gruppe auf. Dies entspricht der Literatur, in der nur bei 30% der Osteoporosepatienten eine gestiegene Konzentration von OC zu verzeichnen war (11). Ein Anstieg der OC-Level reflektiert einen erhöhten Knochenumsatz und Knochenverlust (111), weiterhin wurde ein inverser Zusammenhang zwischen dem Serum-OC und der Knochendichte nachgewiesen (11). Bei der Einteilung der untersuchten Personen nach Geschlecht und dem Vorliegen einer Osteoporose bestätigten sich die oben genannten Verhältnisse, so hatten osteoporotische Männer den höchsten ($M = 5,978$ ng/ml) und gesunde Frauen den niedrigsten ($M = 5,361$ ng/ml) OC-Spiegel.

Betrachtet man die Pearson's Korrelation zwischen BSP und OC finden sich gute Korrelationen in der Gesamtstudienpopulation ($r = 0,588$, $p < 0,0001$) und in der Gruppe der Frauen ($r = 0,632$, $p < 0,0001$), die eine hohe statistische Signifikanz aufweisen. Bei Männern liegt der Koeffizient wesentlich niedriger ($r = 0,344$, $p = 0,085$) und ist nicht signifikant, was auf die geringe Anzahl der untersuchten Personen zurückzuführen ist. Unterteilt man die weiblichen Probanden in osteoporotische und gesunde, so ist die Korrelation in der letzten Gruppe etwas besser ($r = 0,69$, $p < 0,0001$) im Vergleich zu ersterer ($r = 0,629$, $p < 0,0001$). Bei Männern, die an einer Osteoporose leiden, konnte nur eine schwache Korrelation von $r = 0,358$ ($p = 0,094$) nachgewiesen werden (Abb. 5.2).

In einem anderen Patientenkollektiv fand Saxne et al (108) in Gesunden eine schwache Korrelation zwischen BSP und OC ($r = 0,337$, $p < 0,02$), die jedoch bei Arthritis-Patienten auf $r = 0,457$ ($p < 0,001$) anstieg. Die Unterteilung nach dem Geschlecht ruft genau gegensätzliche Ergebnisse hervor, männliche Arthritis-Patienten weisen in der Studie von Saxne einen höheren Korrelationskoeffizienten auf als weibliche. Eine mögliche Erklärung hierfür ist die geringe Anzahl der männlichen Osteoporose-Patienten und die unterschiedliche Erkrankung.

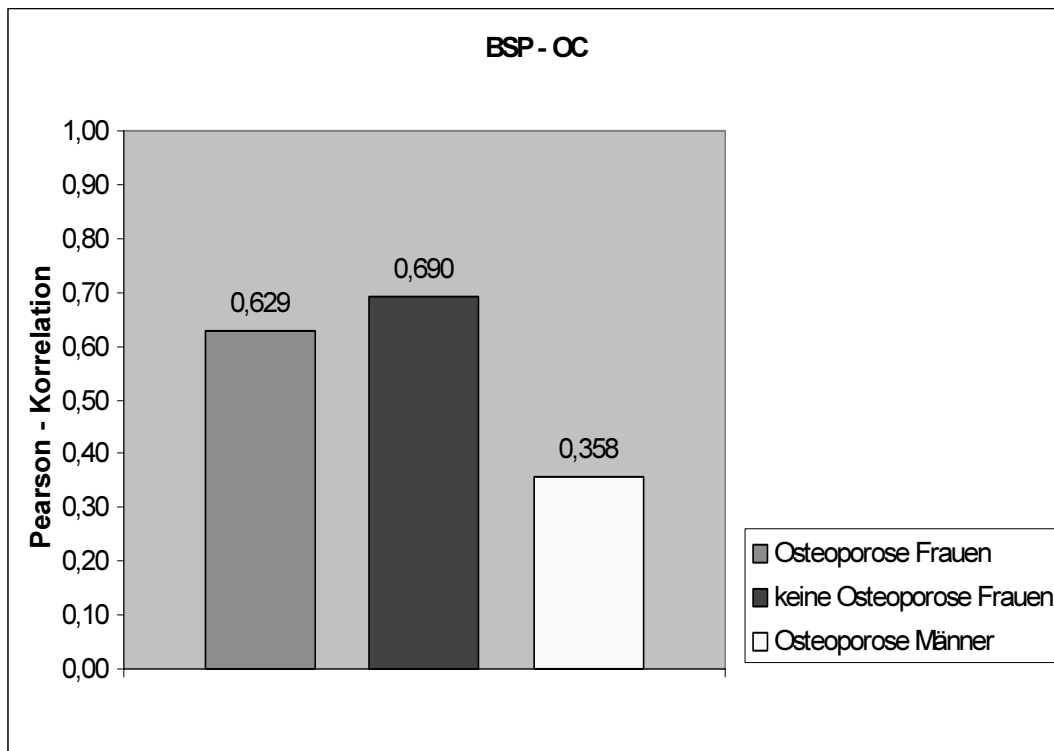


Abb. 5.2: Säulendiagramm der Pearson-Korrelationskoeffizienten zwischen BSP und OC

5.3.4 Carboxyterminales Propeptid des Typ I-Prokollagen (PICP)

Das carboxyterminale Propeptid des Typ I-Prokollagen ist wie Osteocalcin ein Parameter der Knochenformation, sein Serumspiegel beträgt durchschnittlich 98,41 ng/ml ($V = 31,6 - 875$ ng/ml), wobei der Maximalwert ein Einzelfall ist. Männer weisen eine wesentlich höhere PICP-Konzentration ($M = 142,04$ ng/ml) im Vergleich zu Frauen auf ($M = 90,25$ ng/ml). Beim Vorliegen einer Osteoporose lassen sich größere Werte des Propeptids feststellen ($M = 100,42$ ng/ml) als bei gesunden Probanden ($M = 87,13$ ng/ml).

Dies bestätigt auch eine Studie über Patienten mit Knochentumoren von Withold et al (141), in der Patienten mit Knochenmetastasen höhere Serum-PICP-Level aufweisen als Patienten ohne Knochenmetastasen. Jedoch konnten in einer anderen Untersuchung (61) keine Veränderung des PICP bei osteoporotischen Patienten im Vergleich zu Gesunden festgestellt werden.

Eine Korrelation zwischen BSP und PICP ließ sich in der Gesamtstudienpopulation nicht nachweisen ($r = 0,178$, $p = 0,022$). Betrachtet man dagegen nur die weiblichen Patienten korrelieren die beiden Parameter schwach mit $r = 0,398$ ($p < 0,0001$), bei Männern wird der Koeffizient negativ ($r = -0,007$, $p = 0,975$). Nur bei osteoporotischen Frauen liegt eine gute Korrelation zwischen den Parametern vor (Abb. 5.3), was bedeutet, dass beide Parameter beim Vorliegen einer Osteoporose erhöht sind.

Zur Zeit gibt es noch keine Studien, die die Rolle des PICP bei Osteoporoseerkrankungen erklären können, weiterhin fehlen Untersuchungen über die Beziehung von BSP zu PICP.

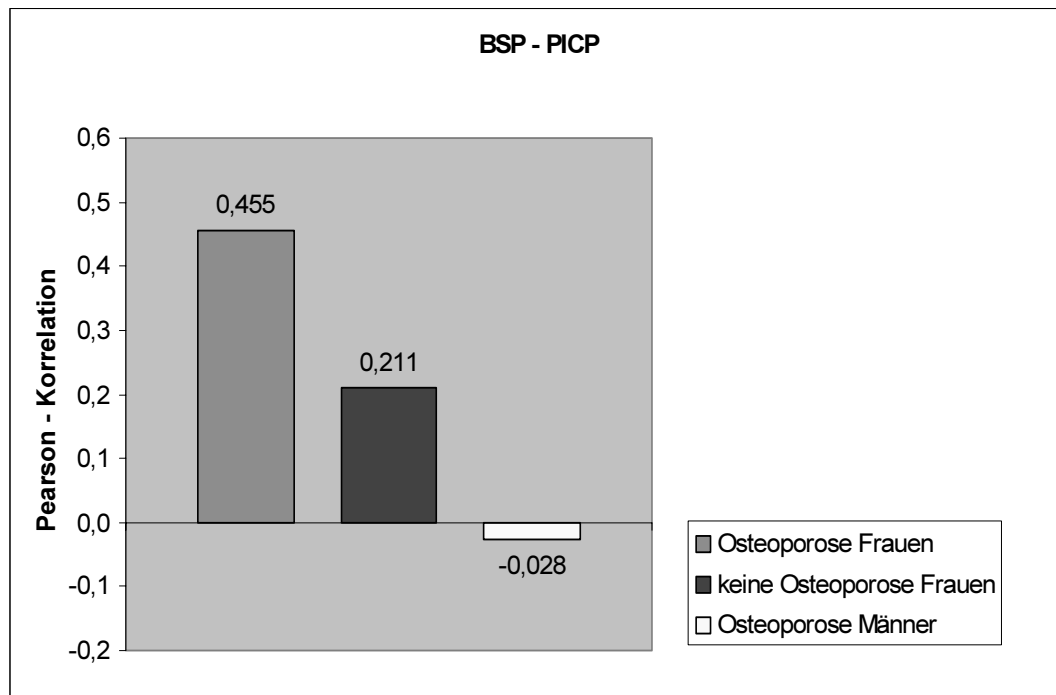


Abb. 5.3: Säulendiagramm der Pearson-Korrelationskoeffizienten zwischen BSP und PICP

5.4 Parathormon (PTH)

Das Parathormon aktiviert die Osteoklasten und hemmt die Bildung der Osteoblasten, was einen Knochenabbau bedeutet. Dies zeigen auch die PTH-Spiegel, die bei einer Osteoporoseerkrankung ($M = 41,28 \text{ pg/ml}$) im Vergleich zu gesunden Probanden ($M = 40,01 \text{ pg/ml}$) erhöht sind. Generell weisen Frauen größere PTH-Konzentrationen ($M = 40,01 \text{ pg/ml}$, $V = 7,3 - 508 \text{ pg/ml}$) auf als Männer ($M = 37,24 \text{ pg/ml}$, $V = 4,4 - 165 \text{ pg/ml}$). Jedoch schwanken die PTH-Werte interindividuell sehr ($V = 4,4 - 508 \text{ pg/ml}$), wobei der Maximalwert ein Einzelfall ist.

Die Pearson's Korrelation zwischen BSP und PTH ist bei den Gesamtpatienten mit $r = 0,297$ schwach aber signifikant ($p < 0,0001$). Eine Unterteilung nach dem Geschlecht erhöht den Koeffizient für Frauen ($r = 0,302$, $p < 0,0001$), während er bei Männern auf $r = 0,218$ ($p = 0,284$) absinkt, wobei aber durch die geringe Anzahl von untersuchten Personen keine statistische Signifikanz besteht. Beim Vorliegen einer Osteoporose korrelieren BSP und PTH bei weiblichen Patienten signifikant mit $r = 0,334$ ($p < 0,0001$) (Abb. 5.4).

Ein vergleichbares Ergebnis lieferte eine Studie von Seibel et al (123), in der Patienten mit sekundärer Osteoporose, die durch Hyperparathyreodismus hervorgerufen ist, erhöhte BSP- und PTH-Spiegel aufweisen. Somit lassen sich bei einer Osteoporose hohe BSP-Werte und hohe PTH-Level feststellen.

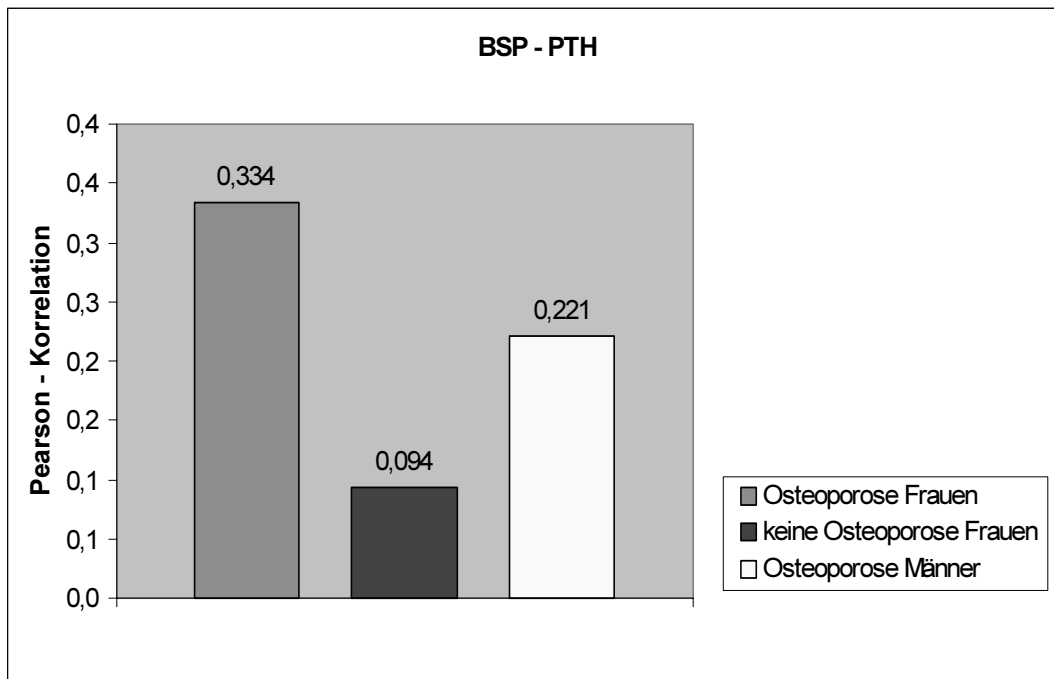


Abb. 5.4: Säulendiagramm der Pearson-Korrelationskoeffizienten zwischen BSP und PTH

5.5 Vitamin D₃

Die Vitamin D₃-Werte in der Gesamtstudienpopulation variieren weit über der Norm von 16-74 ng/ml hinaus ($V = 3 - 99$ ng/ml, $M = 23,84$ ng/ml), was sicherlich vom Ernährungsstatus der jeweiligen Person abhängig ist. Frauen weisen geringfügig höhere Serumkonzentrationen ($M = 24,24$ ng/ml) auf als Männer ($M = 21,59$ ng/ml). Zwischen osteoporotischen ($M = 24,14$ ng/ml) und gesunden ($M = 22,2$ ng/ml) Probanden lassen sich keine signifikanten Unterschiede in den Vitamin D₃-Leveln feststellen. Da es sich bei den Vitamin D₃-Konzentrationen bei osteoporotischen Patienten, um mit diesem Vitamin therapierte Patienten handelt, lassen sich die höheren Werte in dieser Gruppe erklären.

Die Pearson-Korrelation zwischen BSP und Vitamin D₃ liegt bei den Gesamtpatienten ($r = -0,163$; $p = 0,04$), sowie in der Gruppe der weiblichen ($r = -0,167$; $p = 0,053$) und männlichen ($r = -0,122$; $p = 0,571$) Patienten im negativen Bereich und weist keine statistische Signifikanz auf. Demnach scheinen niedrige Vitamin D₃-Level mit hohen BSP-Werten vergesellschaftet zu sein, was auf das Vorliegen einer Osteoporose hinweist. Bei einer Osteoporoseerkrankung finden sich hohe OC-Spiegel, die invers mit dem Vitamin korrelieren, obwohl die OC-Synthese Vitamin D₃ abhängig ist (33). Dieser Studie entsprechen auch die Korrelationen bei osteoporotischen Patienten (Abb.5.5). Somit scheint der Vitamin D₃-Level ein aussagekräftiger Parameter für eine Osteoporoseerkrankung zu sein.

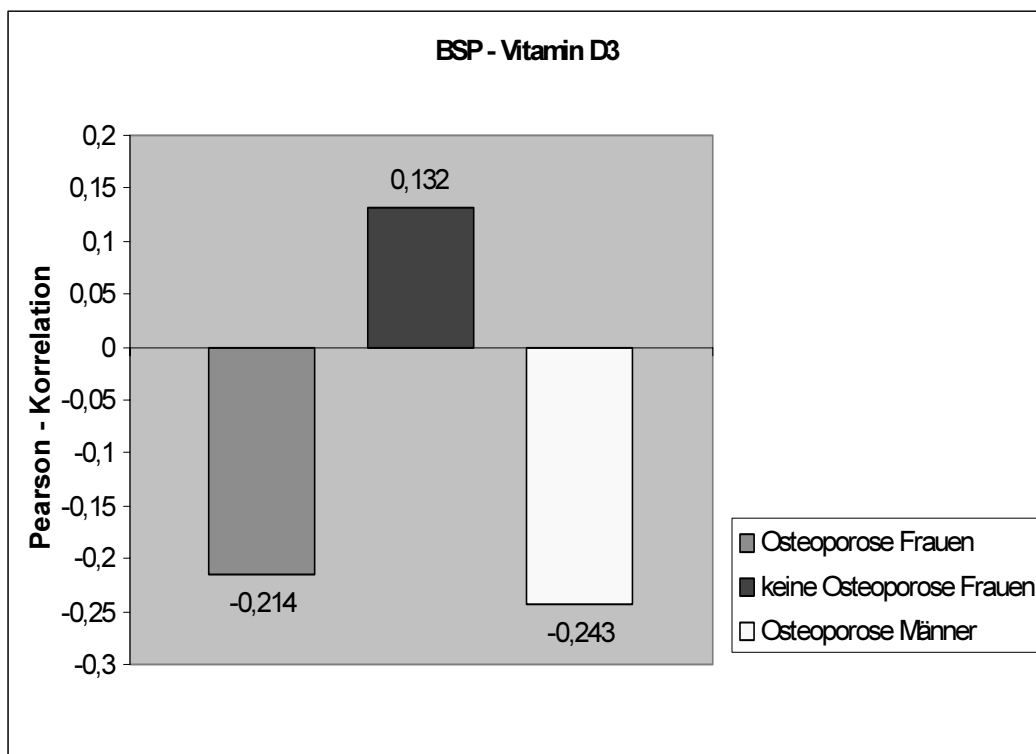


Abb. 5.5: Säulendiagramm der Pearson-Korrelationskoeffizienten zwischen BSP und Vitamin D₃

5.6 Östradiol und Testosteron

Der Östradiol-Spiegel liegt bei Frauen im Durchschnitt bei $M = 64,83 \text{ pg/ml}$, wobei je nach zeitlicher Entfernung zur Menopause die Werte stark variieren ($V = 1 - 385 \text{ pg/ml}$, Norm: $10 - 500 \text{ pg/ml}$). Männer weisen naturgemäß wesentlich geringere Östradiol-Konzentrationen auf ($M = 37,24 \text{ pg/ml}$), ihr Testosteron-Level liegt bei $M = 437,39 \text{ ng/dl}$ ($V = 185 - 890 \text{ ng/dl}$), was im unterem Normbereich ($300 - 1000 \text{ pg/dl}$) liegt. Liegt eine Osteoporose vor, so ist die Östradiol-Konzentration zwangsläufig niedriger ($M = 60,17 \text{ pg/ml}$), als bei gesunden Probanden ($M = 62,5 \text{ pg/ml}$). Da der in der Menopause eintretende Abfall der Östrogenproduktion einer der Hauptauslöser der Osteoporoseentwicklung ist (37), sind die Untersuchungsergebnisse zu erwarten, jedoch erscheint die Differenz der Werte sehr gering.

Die Testosteron-Spiegel hingegen verhalten sich genau konträr, sie steigen bei osteoporotischen Männern an ($M = 445,29 \text{ pg/dl}$), während sie bei gesunden abfallen ($M = 354,5 \text{ pg/dl}$). BSP korreliert mit Östradiol bei Frauen invers ($r = -0,274$; $p = 0,002$), was bestätigt, dass niedrige Östradiol-Spiegel und hohe BSP-Level ein Merkmal für eine Osteoporoseerkrankung sind (Abb. 5.6). In der Gruppe der Männer ist die Korrelation beider Sexualhormone schwach positiv, zeigt jedoch keinerlei Signifikanz (Östradiol: $r = 0,298$; $p = 0,168$ / Testosteron: $r = 0,275$; $p = 0,205$). Hier haben die Sexualhormone keinen entscheidenden Einfluß auf eine Erkrankung an Osteoporose.

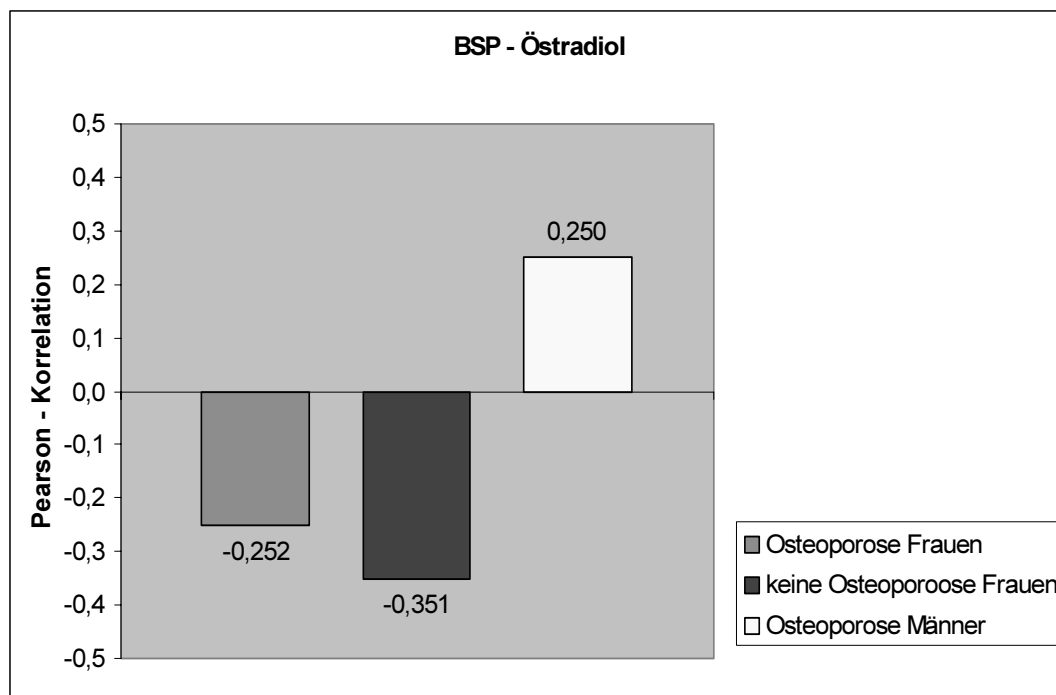


Abb. 5.6: Säulendiagramm der Pearson-Korrelationskoeffizienten zwischen BSP und Östradiol

5.7 Knochendichte

Die Knochendichtemessung ist das Hauptkriterium für die Diagnose einer Osteoporose. Für die Gesamtstudienpopulation beträgt die Knochendichte der Lendenwirbelsäule durchschnittlich $M = 0,971 \text{ g/cm}^3$, wobei die Variationsspanne recht groß ist ($V = 0,669 - 2,445 \text{ g/cm}^3$). Zwischen den Geschlechtern bestehen kaum wesentlichen Unterschiede, Männer weisen geringfügig höhere Mineralstoffgehalte auf ($M = 0,995 \text{ g/cm}^3$) als Frauen ($M = 0,968 \text{ g/cm}^3$). Die Knochendichte osteoporotischer Knochen ($M = 0,947 \text{ g/cm}^3$) ist gegenüber der gesunder Knochen ($M = 1,107 \text{ g/cm}^3$) erniedrigt. Diese Ergebnisse waren zu erwarten, da die Reduktion der Knochenmasse und die daraus hervorgehende verminderte Stabilität des Knochens der Hauptrisikofaktor für das Auftreten von Osteoporose ist (37).

Die Pearson's Korrelation zwischen BSP und der Knochendichte der Lendenwirbelsäule ist bei den Gesamtpatienten wie erwartet negativ ($r = -0,211$; $p = 0,009$). Dies ändert sich in der Gruppe der Frauen nicht ($r = -0,233$; $p = 0,007$), jedoch liegt der Koeffizient bei Männern im positiven Bereich, ist aber nicht statistisch signifikant ($r = 0,153$; $p = 0,519$). Gesunde Frauen weisen eine gute signifikante inverse Korrelation der beiden Parameter auf ($r = -0,592$; $p = 0,006$), somit ist eine hohe Knochendichte mit niedrigen BSP-Werten vergesellschaftet. Bei osteoporotischen Frauen sind die Verhältnisse umgekehrt ($r = -0,174$; $p = 0,072$). Die gute Korrelation zwischen BSP und der Knochendichte bei osteoporotischen Männern ist nicht erklärbar, wahrscheinlich lässt die geringe Anzahl dieser Patienten keinen statistische Signifikanz zu ($r = 0,420$; $p = 0,082$) (Abb. 5.7).

Die Knochendichte des Schenkelhalses variiert zwischen $0,432 \text{ g/cm}^3$ bis $1,113 \text{ g/cm}^3$ und beträgt im Mittel $0,737 \text{ g/cm}^3$ in der Gesamtstudienpopulation. Auch hier weisen Männer eine höhere Dichte auf ($M = 0,82 \text{ g/cm}^3$) als Frauen ($M = 0,724 \text{ g/cm}^3$), die Differenz ist hier signifikanter als bei der Knochendichte der Lendenwirbelsäule. Osteoporose-Patienten haben erwartungsgemäß eine geringere Knochendichte ($M = 0,716 \text{ g/cm}^3$) als die gesunde Studienpopulation ($M = 0,847 \text{ g/cm}^3$).

Die Korrelation zwischen BSP und der Schenkelhalsknochendichte ist auch in der Gesamtstudienpopulation invers ($r = -0,361$, $p < 0,0001$). Hiermit vergleichbar ist der Korrelationskoeffizient in der Gruppe der Frauen ($r = -0,374$; $p < 0,0001$), wobei in den männlichen Patienten die Parameter nicht korrelieren ($r = -0,17$; $p = 0,473$). Auch in den Untergruppen bleiben die Korrelationen negativ (Abb. 5.8).

Das Verhältnis von BSP zu der Knochendichte des Schenkelhalses ist bei Frauen und Männern negativ, somit liegen bei Gesunden niedrige BSP-Werte und eine hohe Knochendichte vor, während bei Osteoporose-Patienten hohe BSP-Werte und eine niedrige Knochendichte zu finden ist.

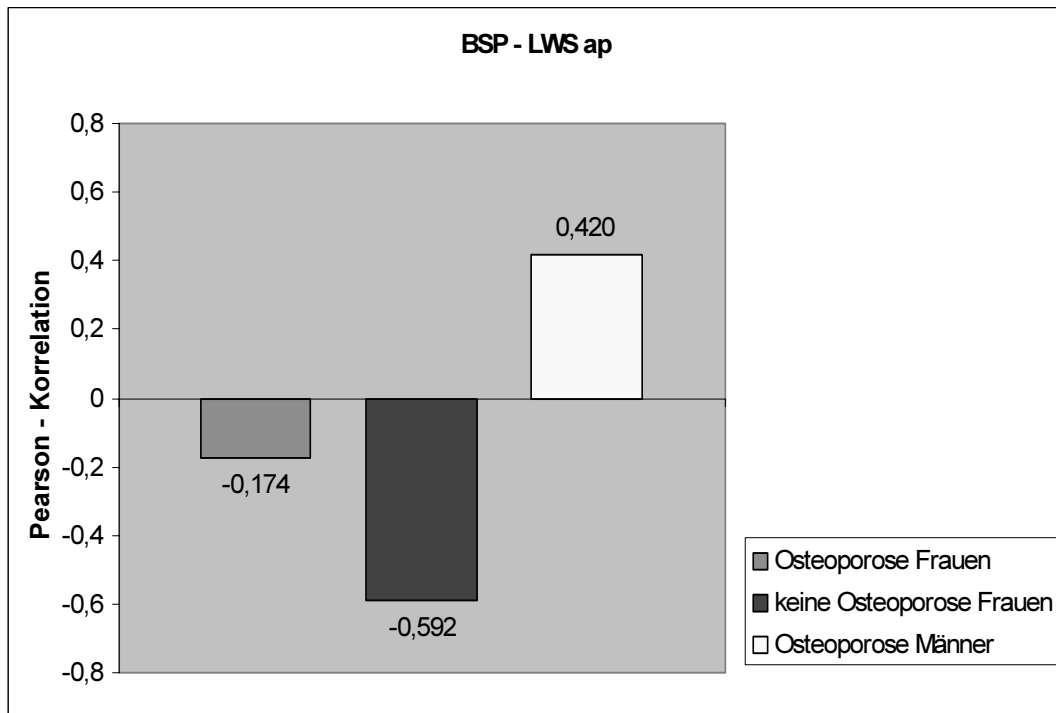


Abb. 5.7: Säulendiagramm der Pearson-Korrelationskoeffizienten zwischen BSP und der Knochendichte der Lendenwirbelsäule

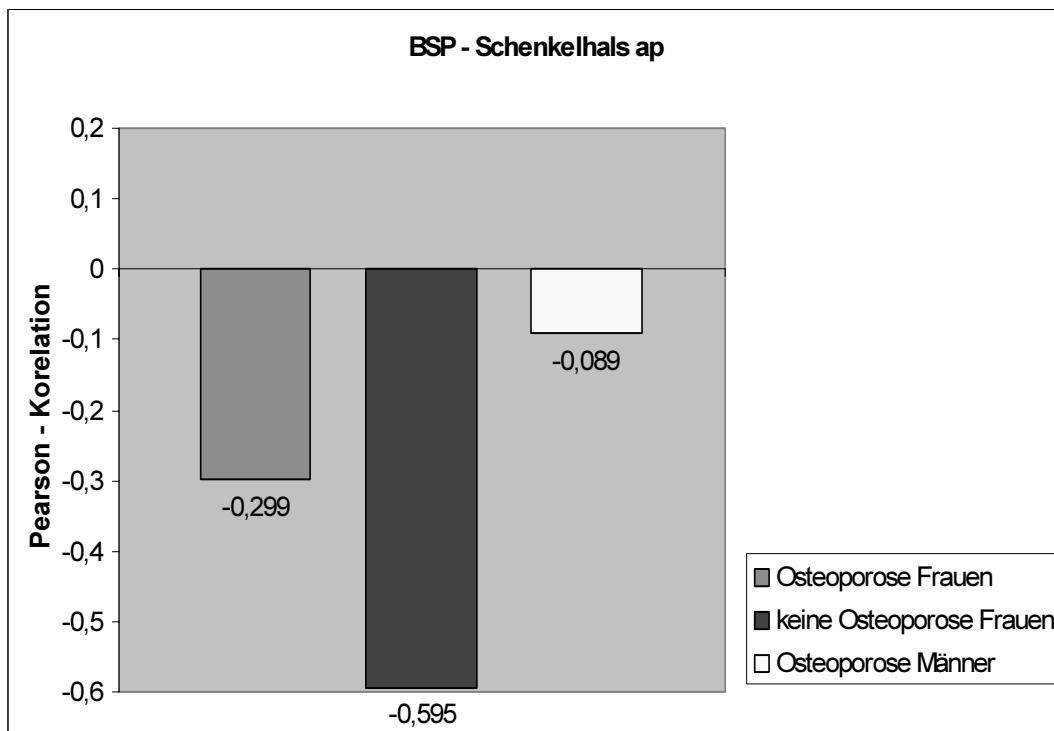


Abb. 5.8: Säulendiagramm der Pearson-Korrelationkoeffizienten zwischen BSP und der Knochendichte des Schenkelhalses

6. Zusammenfassung

Osteoporose ist eine chronische Knochenstoffwechselerkrankung, die mit Abnahme der Knochendichte und einem somit erhöhten Frakturrisiko einhergeht und hauptsächlich ältere Menschen betrifft. Durch die zunehmende Lebenserwartung in der Bevölkerung, steigt die Häufigkeit dieser Erkrankung. Ihre schleichende Entwicklung bis hin zur manifesten Osteoporose macht eine Früherkennung besonders wichtig. Bislang stehen diagnostische Mittel hierfür jedoch nur unzureichend zur Verfügung.

Ziel dieser Arbeit war es, den neuen Knochenstoffwechselfparameter Bone Sialoprotein (BSP) hinsichtlich seiner Wertigkeit in bezug auf das Screening und die Diagnose osteoporotischer Krankheitsbilder festzustellen.

Fragestellung:

In der Arbeit sollten folgende Fragestellungen untersucht werden:

In welchem Zusammenhang steht das BSP zu den etablierten routinemäßig gemessenen Parametern (biochemische Indizes, Knochendichte)?

Kann das BSP als zusätzliches Kriterium zur Osteoporose-Diagnose herangezogen werden?

Methoden:

Die Patientenpopulation bestand aus 170 Patienten, 144 Frauen und 26 Männern, im Alter von 20 bis 93 Jahren, die mit dem Verdacht auf Osteoporose in die Klinik kamen.

In venösem Blut und im Urin wurden die Konzentrationen osteotropher Hormone (PTH, Östradiol, Testosteron), biochemischer Marker des Knochenstoffwechsels (BAP, OC, PICP, BSP) sowie Kalzium, Vitamin D3 und Phosphat bestimmt. Die Konzentrationen der Knochenstoffwechselfparameter und des PTH wurden mittels verschiedener Immunoassays bestimmt. Weiterhin erfolgte die Messung der Knochendichte der Lendenwirbelsäule (frontal und seitlich) und eine frontale des Schenkelhalses mittels Dual-Röntgen-Absorptiometrie.

Die Patienten wurden nach der Knochendichte, die das Hauptdiagnosekriterium bei einer Osteoporose ist, diagnostiziert und in eine osteoporotische bzw. eine gesunde Gruppe aufgeteilt.

Der Zusammenhang der gemessenen Parameter zum BSP wurde in den eingeteilten Gruppen mittels der Pearson's Korrelation bestimmt.

Ergebnisse:

Die Serum-BSP-Level unterlagen großen interindividuellen Schwankungen, jedoch weisen Frauen ($M = 8,45 \text{ ng/ml}$) höhere BSP-Konzentrationen auf als Männer ($M = 7,285 \text{ ng/ml}$). Liegt eine Osteoporose vor, so steigen die BSP-Werte um etwa 10%. Daraus läßt sich schließen, daß erhöhte BSP-Werte ein Zeichen für einen erhöhten Knochenmetabolismus sind.

Die Knocheninformationsparameter knochenspezifische alkalische Phosphatase (BAP), Osteocalcin (OC) und Carboxy-terminales Propeptid des Typ I-Prokollagen (PICP) stiegen bei einer Osteoporoseerkrankung an. Bei weiblichen Osteoporosepatienten lagen gute Korrelationen zwischen BSP und BAP ($r = 5,235$, $p < 0,0001$) bzw. OC ($r = 0,6287$, $p < 0,0001$) bzw. PICP ($r = 0,4553$, $p < 0,0001$) vor, ähnlich verhalten sich auch die Korrelationen bei gesunden Frauen (Ausnahme BAP-PICP). Bei männlichen Patienten waren die Korrelationskoeffizienten halb so groß. Somit verhält sich das Bone Sialoprotein wie die bekannten Knochenanbauparameter. Der Anstieg der BSP-Konzentration kennzeichnet einen erhöhten Knochenmetabolismus und kann als wertvoller Ergänzungsparameter zu den etablierten Knocheninformationsparametern genutzt werden.

Das Parathormon (PTH) stieg ebenfalls bei einer Osteoporoseerkrankung an, da PTH die Osteoklasten aktiviert und die Osteoblasten hemmt, was zu einem erhöhten Knochenabbau führt. Doch konnte nur bei osteoporotischen Frauen eine signifikante Korrelationen ($r = 0,334$, $p < 0,0001$) zwischen BSP und PTH festgestellt werden.

Das Vitamin D₃ korrelierte bei Osteoporose-Patienten negativ aber nicht signifikant mit der BSP-Konzentration, d.h. niedrige Vitamin D₃-Werte waren vergesellschaftet mit hohen BSP-Werten, was auf eine Osteoporose hinweist, da das aktive Vitamin D₃ den Knochenanbau unterstützt. Es stimuliert die parathormonabhängige Kalziumrückresorption und erhöht damit den Serumkalziumspiegel sowie die Phosphatausscheidung. Bei gesunden Menschen ließ sich keine signifikante Korrelation nachweisen.

Die Östradiolkonzentration sinkt beim Vorliegen einer Osteoporose (Gesunde Menschen $M = 62,5 \text{ pg/ml}$, Osteoporosepatienten $M = 60,167 \text{ pg/ml}$). Der durch die Menopause bedingte Abfall der Östradiol-Level ist ein Hauptauslöser für eine Osteoporoseerkrankung bei Frauen. Die Korrelationen zwischen BSP und Östradiol waren bei weiblichen Patienten negativ ($r = -0,2740$, $p = 0,002$), somit sind niedrige Östradiol-Werte vergesellschaftet mit hohen BSP-Werten, was auf eine

Osteoporoseerkrankung hinweist. Bei Männern lag der Koeffizient im positiven Bereich, doch lag hier keine signifikante Korrelation vor.

Neben diesen biochemischen Parametern spielt die Knochendichte in der Diagnostik der Osteoporose die wichtigste Rolle. Männer (LWS $M = 1,245 \text{ g/cm}^2$, Schenkelhals $M = 0,912 \text{ g/cm}^2$) weisen naturgemäß eine höhere Peak Bone Mass auf als Frauen (LWS $M = 1,094 \text{ g/cm}^2$, Schenkelhals $M = 0,841 \text{ g/cm}^2$). Ist der altersbedingte Abfall der Knochendichte pathologisch beschleunigt, erreicht die Knochendichte einen unteren Schwellenwert, der zu Knochenfrakturen führt, was ein sicheres Zeichen für das Vorliegen einer Osteoporose ist. Die Korrelation zwischen BSP und der Knochendichte der Lendenwirbelsäule war bei Frauen invers (LWS $r = -0,2333$, $p = 0,007$), somit ist eine niedrige Knochendichte mit hohen BSP-Werten vergesellschaftet. Bei Männern lag der Koeffizient im positiven Bereich, war jedoch nicht signifikant. Somit konnte hier kein Bezug zwischen BSP und der Knochendichte festgestellt werden. Gleiches gilt auch für die Knochendichte des Schenkelhalses (Frauen $r = -0,3739$, $p < 0,0001$), wobei hier alle Korrelationen stärker im negativen Bereich lag.

Schlußfolgerung:

Die Diagnose einer manifesten Osteoporose ist mittels alleiniger Bestimmung der biochemischen Parameter kaum möglich. Es lagen erhebliche Unterschiede zwischen den untersuchten Laborparametern hinsichtlich ihrer Aussagefähigkeit über den Knochenmetabolismus vor. Somit bleibt die Knochendichtemessung der „goldene Standard“ für das Diagnostizieren einer Osteoporose. Unter Berücksichtigung unterschiedlicher Einflußfaktoren läßt sich jedoch die Einschätzung des aktuellen Knochenstoffwechselgeschehens mittels biochemischer Marker verbessern. Durch die Kombination der einzelnen Marker und unter Hinzunahme der Knochendichtemessung läßt sich eine relativ hohe diagnostische Wertigkeit erreichen. Derzeit scheinen die knochenspezifische alkalische Phosphatase und Osteocalcin im Serum als Knochenanbau sowie die beiden Hydroxypyridinium-Crosslinks im Urin als Knochenabbauparameter die Umbauvorgänge am Knochen am besten widerzuspiegeln. Hierbei ist das Bone Sialoprotein eine aussagekräftige Ergänzung, dessen weitere Untersuchung durchaus als lohnenswert zu betrachten ist. Die hohe Prävalenz der Osteoporose und die damit verbundenen Folgen lassen eine Weiterentwicklung meßtechnischer Verfahren zur Verbesserung der Sensitivität und Spezifität vorhandener sowie die Etablierung neuer knochenstoffwechselspezifischer Indizes als notwendig erscheinen.

7. Literatur

1. Barnett E., Nordin B.E.C. (1960)
The radiological diagnosis of osteoporosis: A new approach
Clin. Radiol 2: 166-174
2. Bauer R.L. (1988)
Ethnic differences in hip fracture
Am J Of Epidemiology 127: 145 – 149
3. Beardsworth I.J., Eyre D.R., Dickson I.R. (1990)
Changes with age in the urinary excretion of lysyl- and hydroxylysylpyridinoline, two new markers of bone collagen turnover
J Bone Miner Res 5: 671 – 676
4. Bellahcene A., Merville M.-P., Castronovo V. (1994)
Expression of bone sialoprotein, a bone matrix protein, in human breast cancer
Cancer Res 54: 2823 - 2826
5. Bellahcene A, Kroll M., Liebens F., Castronovo V. (1996)
Bone Sialoprotein expression in primary human breast cancer is associated with bone metastases development
J Bone Mineral Research 11: 665 - 670
6. Berning B., van Kuijk C, Schutte H.E., Kuiper J.W., Drogendijk A.C., Fauser B.C. (1993)
determinants of lumbar bone mineral density in normal weight, non-smoking women soon after menopause. A study using clinical data and quantitative computed tomography.
Bone Miner 21 (2): 129 – 139
7. Blomqvist C., Elomaa I., Virkkunen P., Porkka L., Karonen S.-L., Risteli L., Risteli J. (1987)
The response evaluation of bone metastases in mammary carcinoma. The value of radiology, scintigraphy and biochemical markers of bone metabolism.
Cancer 60: 2907 – 2912
8. Body J.J., Cleeren A., Pot M., Borkowski A. (1986)
Serum osteocalcin (BGP) in tumor-associated hypercalcemia
J Bone Miner Res 1: 523 – 527

9. Body J.J., delmas P.D. (1992)
 Urinary pyridinium cross-links as markers of bone resorption in tumor-associated hypercalcemia
 J Clin Endocrinol Metab 74: 471 – 475

10. Bouillon R., Vanderschueren D., van Herck E., Nielsen H.K., Bex M., Heyns W., van Baelen H. (1992)
 Homologous radioimmunoassay of human osteocalcin
 Clin Chem 38: 2055 – 2060

11. Brown J.P., Delmas P.D., Malaval L., Edouard C., Chapuy M.C., Meunier P.J. (1984)
 Serum bone Gla-protein: a specific marker for bone formation in postmenopausal osteoporosis
 Lancet 1: 1091 – 1093

12. Carlson K., Ljunghall S., Simonsson B., Smedmyr B. (1992)
 Serum osteocalcin concentrations in patients with multiple myeloma – correlation with disease stage and survival
 J Int Med 231: 133 – 137

13. Castronovo V., Bellahcene A. (1998)
 Evidence that breast cancer associated microcalcifications are mineralized malignant cells
 Int J Oncol 12 (2): 305 - 308

14. Charles P., Mosekilde L., Jensen F.T. (1986)
 Primary hyperparathyroidism: evaluated by 47 calcium kinetics, calcium balance and serum bone-Gla-protein
 Eur J Clin Invest 16: 277 – 283

15. Christiansen C., Riis B.J., Rodboro P. (1987)
 Prediction of rapid bone loss in postmenopausal women
 Lancet 1: 1105 – 1108

16. Citrin D.R., Cohen A.I., Harberg J., Schlise S., Houges R. (1981)
 systemic treatment of advanced prostatic cancer: development of a new system for defining response
 J Urol 125: 224 – 229

17. Civitelli R., Gonnelli S., Zacchei F., Bigazzi S., Vattimo A., Avioli L.V., Gennari C. (1988)
Bone turnover in postmenopausal osteoporosis. Effect of calcitonin treatment
J Clin Invest 82: 1268 – 1274

18. Clarke N.W., Mc Clure J., George N.J.R. (1992)
Disodium pamidronate identifies differential osteoclastic bone resorption in metastatic prostate cancer
Br J Urol 69: 64 – 70

19. Coleman R.E., Houston S., James I., Rodger A., Rubens R.D., Leonard R.C.F., Ford J. (1992)
Preliminary results of the use of urinary excretion of pyridinium crosslinks for monitoring metastatic bone disease
Br J Cancer 65: 766 – 768

20. Colson F., Berny C., Tebib J. (1990)
Assessment of bone resorption by measuring tartrate-resistant acid phosphatase (TacP) activity in serum
In: Osteoporosis, Christiansen C., Overgaard K. (eds.), Osteopress, Copenhagen 621 – 622

21. Compston J.E. (1990)
Osteoporosis
Clin Endocrinol 33: 653 - 682

22. Cosman F., Shen V., Herrington B.S., Fang X., Seibel M.J., Ratcliffe A., Lindsay R. (1993)
Estrogen protection against bone resorbing effects of parathyroid hormone infusion. Assessment by use of biochemical markers.
Ann Int Med 118: 337-343

23. Cöster A., Haberkamp M., Allolio B. (1994)
Inzidenz von Schenkelhalsfrakturen in der Bundesrepublik Deutschland im internationalen Vergleich.
Soz Präventivmed 39: 287 – 292

24. Cummings S.R., Kelsey J.L., Nevitt M.C., Odowd K.J. (1985)
Epidemiology of osteoporosis and osteoporotic fractures
Epidemiol Rev 7: 178 – 208

25. Cummings S.R., Black D.M., Navic M.C. (1990)
Appendicular bone density and age predict hip fracture in women
J Am Med Soc 263: 665 – 668

26. Dambacher M.A., Ittner J., Rüegsegger P. (1986)
Osteoporose-Pathogenese, Prophylaxe, Therapie
Internist 27: 206 – 213

27. Dandona P., Coumar A., Gill S., Bell S., Thomas M. (1988)
Sodium fluoride stimulates osteocalcin in normal subjects
Clin Endocrin 29: 437 – 441

28. De La Piedra C., Torres R., Rapado A., Diaz-Curiel M., Castro N. (1989)
Serum tartrate-resistant acid phosphatase and bone mineral content in postmenopausal osteoporosis
Calcif Tissue Int 45: 58 – 60

29. Deftos L.J., Wolfert R.L., Hill C.S. (1991)
Bone alkaline phosphatase in Paget's disease
Horm Metab Res 23: 559 – 561

30. Delling G. (1984)
Skelettsystem
In: W. Remmele (Herausgeber): Pathologie (Band 4), Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York- Tokio

31. Delmas P.D., Schlemmer A., Gineyts E., Riis B., Christiansen C. (1991)
Urinary excretion of pyridinoline crosslinks correlates with bone turnover measured on iliac crest biopsy in patients with vertebral osteoporosis
J Bone Miner Res 6: 639 – 644

32. Delmas P.D. (1993a)
Biochemical markers of bone turnover in postmenopausal osteoporosis
Calcif Tissue Int 52: S5, A18

33. Demiaux B., Arlot M.E., Chapuy M-C., Meunier P.J., Delmas P.D. (1992)
Serum osteocalcin is increased in patients with osteomalacia: correlations with biochemical and histomorphometric findings
J Clin Endocrin Metab 74: 1146 – 1151

34. Deutsches Grünes Kreuz (1997)
Osteoporose, Leitlinien Medizin, Die Empfehlungen der Deutschen Arbeitsgemeinschaft Osteoporose (DAGO)
2. Auflage, Kilian-Verlag

35. Diaz Diego E.M., Guerrero R., De la Piedra C. (1994)
Six osteocalcin assays compared
Clin Chem 40: 2071 – 2077

36. Diehl I.J. et al. (1997)
Elevated serum bone sialoprotein in primary breast cancer patients is potent marker for bone metastases
Proc Asco, Abstract #461

37. Dören M., Faßbender W.J., Lauritzen C., Stracke H. (1997)
Prophylaxe und Therapie der Osteoporose mit Östrogenen und Gestagenen
Thieme Verlag Stuttgart-New York

38. Duda R.J., Kumar R., Nelson K.I., Zinsmeister A.R., Mann K.G., Riggs B.L. (1987)
1,25-Dihydroxyvitamin D stimulation test for osteoblast function in normal and osteoporotic postmenopausal women
J Clin Invest 79: 1249 – 1253

39. Duda R.J., O'Brien J.F., Katzmann J.A., Peterson J.M., Mann K.G., Riggs B.L. (1988)
Concurrent assays of circulating bone Gla-protein and bone alkaline phosphatase: effects of sex, age and metabolic bone disease
J Clin Endocrinol Metab 66: 951-957

40. Eastell R., Delmas P.D., Hodgson S.F., Eriksen E.F., Mann K.G., Riggs B.L. (1988)
Bone formation rate in older normal women: concurrent assessment with bone histomorphometry, calcium kinetics and biochemical markers
J Clin Endocrinol Metab 67: 741 – 748

41. Ebeling P.R., Atley L.M., Eyre D.R., Guthrie J., Dennerstein L., Wark J.D. (1993)
Sensitivity of collagen cross-links and osteocalcin in detecting early menopausal changes in bone turnover
In: proceedings on the IVth international symposium on osteoporosis & consensus development conference Hongkong, Christiansen C., Riis B., Aalborg S156, A 580

42. Elffors I., Allander E., Kanis J.A., Gullberg B., Johnell O., Dequeker J., Dilsen G., Gennari C., Poles Vaz A.A., Lyritis G., Mazzuolio G.F., Miravet L., Passeri M., Perez Cano R., Rapado A., Ribot C. (1994)
The variable incidence of hip fracture in southern europe: the MEDOS study
Osteoporosis Int 4: 253 – 263

43. Epstein S., Poser J., McClintock R., Johnston C.C.jr., Bryce G., Hui S. (1984)
Differences in serum bone Gla-protein with age and sex
Lancet 1: 307 – 310

44. Epstein S. (1988)
Serum and urinary markers of bone remodelling: assessment of bone turnover
Endocrine Reviews 9: 437 – 449

45. Eriksen E.F., Charles P., Melsen F., Mosekilde L., Risteli L., Risteli J. (1993)
Serum markers of type I collagen formation and degradation in metabolic bone disease: correlation with bone histomorphometry
J Bone Miner Res 8: 127 – 132

46. Eyre D.R., Dickson I.R., Van Ness K.P. (1988)
Collagen crosslinks in human bone and cartilage
Biochem J 252: 495 – 500

47. Felson D.T., Zhang Y., Hannan M.T., Kiel D.P., Wilson P.W., Anderson J.J. (1993)
The effect of postmenopausal estrogen therapy on bone density in elderly women
N Engl J Med 329: 1141 – 1146

48. Fisher L.W., Mc Bride O.W., Termine J.D., Young M.F. (1990)
Human Bone Sialoprotein
J Biol Chem 265: 2347 – 2351

49. Fisher L.W., Whiteson S.W., Avioli L.V., Termine J.D. (1983)
Matrix Sialoprotein of developing bone
J Biol Chem 258: 12723 – 12727

50. Friedlander A.L., Genant H.K., Sadowsky S., Byl N.N., Glüer C.C. (1995)
A two-year program of aerobics and weight training enhances bone mineral density of young women
J Bone Miner Res 10: 574 – 585

51. Gambacciani M., Spinetti A., de Simone L., Cappagli B., Maffei S., Taponco F., Fioretti P. (1993)
The relative contribution of menopause and aging to postmenopausal vertebral osteopenia
J Clin Endocrinol Metab 77: 1148 – 1151

52. Gärdsell P., Johnell O., Nilsson B.E. (1991)
The predictive value of bone loss for fragility in women: A longitudinal study over 15 years
Calcif Tissue Int 49: 90 – 94

53. Garnero P., Delmas P.D. (1993)
Assessment of the serum levels of bone alkaline phosphatase with a new immunoradiometric assay in patients with metabolic bone disease
J Clin Endocrinol Metab 77: 1046 – 1053

54. Gennari C., Agnusdei D., Gonnelli S., Civitelli R., Zacchei F., Cepollaro C. (1990)
Bone turnover and bone loss in early postmenopausal women
In: Osteoporosis. Christiansen C., Overgaard K. (Herausgeber), third International Symposium on Osteoporosis, Copenhagen, Denmark: 673 – 675

55. Greenspan S.L., Maitland L.A., Kido T., Myers E.R. (1994)
Elderly women continue to lose trabecular and cortical bone
J Bone Miner Res 9: 385

56. Greskötter K.R. Dr. (1996)
Pathologie – Klinische Medizin, systematisch
Lorch Württemberg, Band II

57. Grey A.B., Ames R.W., Matthews R.D., Reid I.R. (1993)
Bone mineral density and bone composition in adult patients with cystic fibrosis
Thorax 48: 585 – 586

58. Gundberg C.M., Markowitz M.E., Mizruchi M., Rosen J.F. (1985)
Osteocalcin in human serum: a circadian rhythm
J Clin Endocrinol Metab 60: 736 – 739

59. Gundberg C.M., Lian J.B., Gallop P.M. (1988)
Measurements of gamma-carboxyglutamate and circulating osteocalcin in normal children and adults
Clin Chim Acta 128: 1 – 7

60. Gunja-Smith Z., Boucek R.J. (1981)
Collagen crosslinking compounds in human urine
Biochem J 197: 759 – 762

61. Hassager C., Fabbri-Mabelli G., Christiansen C. (1993)
The effect of the menopause and hormone replacement therapy on serum carboxyterminal propeptide of type I collagen
Osteoporosis Int 3: 50 – 52

62. Heinegard B., Carey D., Alini M., Ionescu M., Rosenberg L.G., Poole A.R., Heinegard D., Saxne T. (1995)
Cartilage and bone metabolism in rheumatoid arthritis
J Clin Invest 95: 1071 - 1077

63. Hetlund M.L., Haarbo J., Christiansen C. (1993)
Low bone mass and high bone turnover in male long distance runners
J Clin Endocrinol Metab 77: 770 – 775

64. Hosoda K., Eguchi H., Nakamoto T., Kubota T., Honda H., Jindai S., Hasegawa R., Kiyoki M., Yamaji T., Shiraki M. (1992)
sandwich immunoassay for intakt human osteocalcin
Clin Chem 38: 2233 – 2238

65. Jaworski Z.F.G. (1984)
Coupling of bone formation to bone resorption: a broader view
Calcif Tissue Int 36: 531 – 536

66. Johansson A.G., Forslund A., Hambræus L., Blum W.F., Ljunghall S. (1994)
growth hormone-dependent insulin-like growth factor binding protein is a major determinant of bone mineral density in healthy men
J Bone Miner Res 9: 915 – 921

67. Johnston C.C. (1989)
Clinical indications for bone mass measurements
J Bone Mineral Res 4: 1 – 28

68. Junqueira, Carneiro
Histologie
4. Auflage, Springer-Verlag

69. Karmatschek M., Maier I., Seibel M.J., Woitge H.W., Ziegler R., Armbruster F.P (1997)
Improved purification of human bone sialoprotein and development of homologous radioimmunoassay
Clin Chem 43: 11; 2076 - 2082

70. Keck E., Kruse H.-P. (1994)
Osteoporose: Klinik – Diagnostik – Therapie
Gustav Fischer Verlag, Jena – Stuttgart, 1. Auflage

71. Kelly P.J. (1990)
Dietary calcium, sex hormones and bone mineral density in men
Br Med J 300: 1361 – 1364

72. Kirk S., Sharp C.F., Elbaum N., Enders D.B., Simons S.M., Mohler J.G., Rude R.K. (1989)
Effect of long-distance running on bone loss mass in women
J Bone Miner Res 4: 515 – 522

73. Krall E.A., Dawson-Hughes B. (1993)
Heritable and life-style determinants of bone mineral density
J Bone Miner Res 8: 1 – 9

74. Krane S.M., Kantrowitz F.G., Byrne M., Pinnel S.R., Singer F.R. (1977)
urinary excretion of hydroxylysine and its glycosides as an index of collagen degradation
J Clin Invest 59: 819 – 827
75. Kroger H., Tuppurainen M., Honkanen R., Alhava E., Saarikoski S. (1994)
Bone mineral density and risk factors for osteoporosis – a population-based study of
1600 perimenopausal women
Calcif Tissue Int 55: 1 – 7
76. Kruse H.P., Kuhlencordt F. (1980)
Pathogenesis and natural course of primary osteoporosis
Lancet 1: 280 – 282
77. Kyd P.A., Jamil A., Fairney A. (1993)
Serum procollagen type I carboxyterminal extension peptide as an osteoblast marker of
bone turnover
Calcif Tissue Int 52: S7, A26
78. Laitinen K., Karkkainen M., Lalla M., Lamberg-Allardt C., Tunninen R., Tahtela R.,
Valimäki M. (1993)
Is alcohol an osteoporosis-inducing agent for young and middle-aged women?
Metabolism 42: 875 – 881
79. Lam K.W., Siemens M., Sun T., Li C.Y., Yam L.T. (1982)
Enzyme immunoassay for tartrate-resistant acid phosphatase
Clin Chem 28: 467 – 470
80. Leblanc A.D., Schneider V.S., Evans H.J., Engelbretson D.A., Krebs J.M. (1990)
Bone mineral loss and recovery after 17 weeks of bed rest
J Bone Miner Res 5: 843 – 850
81. Lian J.B., Friedman P.A. (1987)
The vitamin K-dependent synthesis of gamma-carboxyglutamic acid by bone
microsomes
J Biol Chem 253: 6623 – 6626

82. Lipton A., Demers L., Daniloff Y., Curley E., Hamilton C., Harvey H., Witters L., Seaman J., Van der Giessen R., Seyedin S. (1993)
Increased urinary excretion of pyridinium cross-links in cancer patients
Clin Chem 39: 614 – 618

83. Löffler G., Petrides P.E. (1990)
Physiologische Chemie
4.Auflage, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York-London-Paris-Tokio

84. Lukert B.P., Higgins J.C., Stoskopf M.M. (1986)
Serum osteocalcin is increased in patients with hyperparathyroidism and decreased in patients receiving glucocorticoids
J Clin Endocrinol Metab 62: 1056 - 1058

85. Mallmin H., Ljunghall S., Larsson K. (1993)
Biochemical markers of bone metabolism in patients with fracture of the distal forearm
Clin Orthop 295: 259 – 263

86. Mansson B., Carey D., Alini M., Ionescu M., Rosenberg L.C., Poole A.R., Heinegard D., Saxne T. (1995)
Cartilage and bone metabolism in rheumatoid arthritis
J Clin Invest 95: 1071 – 1077

87. Marowska J., Lukaszewicz J., Kobylinska M., Matusik H., Talajko A., Lebiedowski M., Olszaniecka M., Madzej M., Lorence R.S. (1993)
Age-related changes of urinary pyridinoline and deoxypyridinoline in healthy children
Pol Tyg Lek 48: 39 – 42

88. Minkin C. (1982)
Bone acid phosphatase: Tartrate-resistant acid phosphatase as a marker of osteoclast function
Calcif Tissue Int 34: 285 – 290

89. Mole P.A., Walkinshaw M.H., Robins S.P., Paterson C.R. (1992)
Can urinary pyridinium crosslinks and urinary oestrogens predict bone mass and rate of bone loss after the menopause?
Europ J Clin Invest 22: 767 – 771

90. Monaghan D.A., Power M.J., Fottrell P.F. (1993)
Sandwich enzyme immunoassay of osteocalcin in serum with use of an antibody against human osteocalcin
Clin Chem 39: 942 – 947

91. Monzani M., Sartorio A., Conti A. (1993)
Bone Gla-Protein levels in some Endocrinole disorders
Calcif Tissue Int 52: S 63, A 250

92. Moss D.W. (1982)
Alkaline phosphatase isoenzymes
Clin Chem 28: 2007 – 2016

93. Napal J., Amado J. A., Riancho J.A., Olmos J.M., Gonzalez-Macias J. (1993)
Stress decreases the serum level of osteocalcin
Bone Miner 21: 113 – 118

94. Nielson H. K., Brixen K., Kassem M., Christiansen S.E., Mosekilde L. (1991)
Diurnal rhythm in serum osteocalcin:relation with sleep, growth hormone and PTH (1-84)
Calcif Tissue Int 49: 373 – 377

95. Pagani F., Panthegini M. (1994)
Diurnal rhythm in urinary excretion of pyridinium crosslinks
Clin Chem 40: 952 – 953

96. Papapoulos S.E., Frolich M., Mudde A.H., Harinck H.L., V.d.Berg H., Bijvoet O.L. (1987)
Serum osteocalcin in Paget's disease of bone: basal concentrations and response to bisphosphonate treatment
J Clin Endocrinol Metab 65: 89 – 94

97. Parisien M., Silverberg S.J., Shane E., Dempster D.W., Bilzikian J.P. (1990)
Bone disease in primary hyperparathyroidism
Endocrinol Metab Clinics N America 19: 19 – 34

98. Paterson C.R., Robins S.P., Horobin J.M., Preece P.E., Cuschieri A. (1991)
Pyridinium crosslinks as markers of bone resorption in patients with breast cancer
Br J Cancer 64: 884 – 886

99. Peretz A., Praet J.-P., Rozenberg S., Bosson D., Famaey J.P., Bourdoux P. (1989)
Osteocalcin and bone mineral content in rheumatoid arthritis
Clin Rheumatol 8: 42 – 48
100. Peterson I.F., Boegard T., Dahlström J., Svensson B., Heinegard D., Saxne T. (1998)
Bone scan and serum markers of bone and cartilage in patients with knee pain and osteoarthritis
Osteoarthritis Cartilage 6: 33 – 39
101. Peterson I.F., Boegard T., Svensson B., Heinegard D., Saxne T. (1998)
Changes in cartilage and bone metabolism identified by serum markers in early osteoarthritis of the knee joint
Brit J Rheum 37: 46 - 50
102. Pietschmann P., Machold K.P., Woloszczuk W., Smolen J.S. (1989)
Serum osteocalcin concentrations in patients with rheumatoid arthritis
Ann Rheum Diseases 48: 654 – 657
103. Power M.J., Fottrell P.F. (1989)
Solid-phase enzymeimmunoassay for osteocalcin in human serum or plasma, with use of a monoclonal antibody
Clin Chem 35: 2087 – 2092
104. Price C.P., Mitchell C.A., Noonan K. (1993)
Experience with an immunoradiometric assay for skeletal alkaline phosphatase
Calcif Tissue Int 52: S94, A375
105. Prockop D.J., Kivirikko K.I., Tuderman L., Guzman N.A. (1979)
The biosynthesis of collagen and its disorders
New Engl J Med 301: 13 – 23
106. Riggs B.L., Tsai K.-S., Mann K.G. (1986)
Effect of acute increase in bone matrix degradation on circulating levels of bone-Gla-protein
J Bone Miner Res 1: 539 – 542
107. Robins S.P., Black D., Paterson R.C., Reid D.M., Duncan A., Seibel M.J. (1991)

Evaluation of urinary hydroxypyridinium crosslink measurement as resorption markers in metabolic bone disease

Europ J Clin Invest 21: 310 – 315

108.Saxne T., Zunino L., Heinegard D. (1995)

Increased release of bone sialoprotein into synovial fluid reflects tissue destruction in rheumatoid arthritis

Arth Rheum 38: 82 – 90

109.Schlemmer A., Hassager C., Jensen S.B., Christiansen C. (1992)

Marked diurnal variation in urinary excretion of pyridinium cross-links in premenopausal women

J Clin Endocrinol Metab 74: 476 – 480

110.Seibel M.J., Duncan A., Robins S.P. (1989)

urinary hydroxypyridinium crosslinks provide indices of cartilage and bone involvement in arthritic disease

J Rheumatol 16: 964 – 970

111.Seibel M.J., Cosman V., Shen V., Ratcliffe A., Lindsay R. (1991a)

Urinary hydroxy-pyridinium crosslinks of collagen are indicative of increased bone resorption in osteoporosis

Trans Orth Soc 16: 279 – 285

112.Seibel M.J., Hlibczuk V., Gräber M., Del Pozo, Mc Kinsey A., Ratcliffe A., Robins S.P. (1991b)

Serum keratan sulphate and urinary hydroxy-pyridinium crosslinks of collagen are independent markers of cartilage and bone involvement in adjuvant arthritis

Trans Orth Soc 16: 229 – 235

113.Seibel M.J. (1992a)

Hydroxypyridinium-Crosslinks im Urin als spezifischer Marker der Knochenresorption bei metabolischen Knochenerkrankungen

Klein Lab 38: 642 – 643

114.Seibel M.J., Gartenberg F., Silverberg S.J., Ratcliffe A., Robins S.P., Bilezikian J.P. (1992b)

Urinary hydroxypyridinium crosslinks of collagen in primary hyperparathyroidism

J Clin Endocrinol Metab 74: 481 – 486

115. Seibel M.J., Robins S.P., Bilezikian J.P. (1992c)
Urinary pyridinium crosslinks of collagen. Specific markers of bone resorption in metabolic bone disease
Trends Endocrinol Metab 3: 263 – 270
116. Seibel M.J., Cosman V., Shen V., Ratcliffe A., Lindsay R. (1993a)
Urinary hydroxy-pyridinium crosslinks of collagen as markers of bone resorption and estrogen efficacy in postmenopausal osteoporosis
J Bone Min Res 8: 881 – 889
117. Seibel M.J., Pecherstorfer M., Schilling T., Ziegler R. (1993b)
Pyridinium-Crosslinks im Urin bei tumorassoziiierter Hypercalcämie: Beziehung zu Serum-PTH und Biphosphonat-Therapie
Med Klinik 88: S2, PB146
118. Seibel M.J., Raue F. (1993c)
Biochemische Marker des Knochenstoffwechsels und ihre Bedeutung bei der Osteoporose-Diagnostik.
Endokrin Info 17: 18 – 22
119. Seibel M.J., Woitge H.W., Ziegler R. (1993d)
Biochemische Marker des Knochenstoffwechsels I: Grundlagen
Klein Lab 39: 717 – 727
120. Seibel M.J., Woitge H.W., Ziegler R. (1993e)
Biochemische Marker des Knochenstoffwechsels II: Klinische Anwendung
Klein Lab 39: 839 – 850
121. Seibel M.J., Woitge H.W., Scheidt-Nave C., Leidig-Bruckner G., Duncan A., Nicol P., Ziegler R., Robins S.P. (1994)
Urinary hydroxypyridinium crosslinks of collagen in a population-based screening for overt vertebral osteoporosis: results of a pilot study
J Bone Miner Res 9: 1433 - 1440
122. Seibel M.J., Woitge H.W., Pecherstorfer M., Karmatschek M., Horn E., Ludwig H., Armbruster F.P., Ziegler R. (1996)

Serum immunoreactive bone sialoprotein as a new marker of bone turnover in metabolic and malignant bone disease

J Clin Endocrinol Metab 81: 3289 – 3294

123. Seibel M.J., Woitge H.W., Karmatschek M., Horn E., Ludwig H., Armbruster F.P., Ziegler R. (1996)

A new radioimmunoassay for bone sialoprotein in serum, a potential marker of bone turnover

Clin Lab 42: 875 – 878

124. Silverberg S.J., Shane E., DeLaCruz L., Bilezikian J.P. (1989)

Skeletal disease in primary hyperparathyroidism

J Bone Miner Res 4: 283 – 291

125. Simon L.S., Krane S.M., Wortman P.D., Krane I.M., Kovitz K.L. (1984)

Serum levels of type I and type III procollagen fragments in Paget's disease of bone

J Clin Endocrinol Metab 58: 110 – 120

126. Smith R. (1980)

Collagen and disorders of bone

Clin Sci 59: 215 – 223

127. Stein G.S., Lian J.B., Owen T.A. (1990)

Relationship of cell growth to the regulation of tissue specific gene expression during osteoblast differentiation

FASEB J 4: 3111 - 3123

128. Stepan J.J., Silinkova-Malkova E., Havranek T., Formankova J., Zichova M.,

Lachmanova J., Strakova M., Broulik P., Pacovsky V. (1983)

Relationship of plasma tartrate-resistant acid phosphatase to the bone isoenzyme of serum alkaline phosphatase in hyperparathyroidism

Clin Chim Acta 133: 189 – 200

129. Stepan J.J., Presl J., Broulik P., Pacovsky V. (1987)

Serum osteocalcin levels and bone alkaline phosphatase isoenzyme after oophorectomy and in primary hyperparathyroidism

J Clin Endocrinol Metab 64: 1079 – 1082

130. Stepan J.J., Cimbalnikova E., Miichalska J., Tesarova A., Bayer M., Kutilek S. (1993)
Telopeptide ICTP is more specific than hydroxyproline, pyridinoline or galactosyl-hydroxylysine in the assessment of bone resorption in healthy children and adults
Calcif Tissue Int 52: S91, A364
131. Stracke H., Schatz C., Pralle H., Ullmann J., Schatz H. (1985)
Osteocalcin, ein Marker bei Erkrankungen mit erhöhtem Knochenumsatz
Dtsch Med Wschr 110: 1442 – 1446
132. Szulc P., Chapuy M.-C., Meunier P.J., Delmas P.D. (1993)
Serum undercarboxylated osteocalcin is a marker of the risk of hip fracture in elderly women
J Clin Invest 91: 1769 – 1774
133. Szulc P., Arlot M., Chapuy M.-C., Duboeuf F., Meunier P.J., Delmas P.D. (1994)
Serum undercarboxylated osteocalcin correlates with hip bone mineral density in elderly women
J Bone Miner Res 9: 1591 – 1595
134. Tasch O., Franck H., Ittel T.H., Herborn G., Rau R. (1993)
Bone turnover in patients with rheumatic arthritis, effect of anatomical stages, inflammatory activity and therapy
Calcif Tissue Int 52: S68, A269
135. Tavassoli M., Rizo M., Yam L.T. (1980)
Elevation of serum acid phosphatase in cancers with bone metastasis
Cancer 45: 2400 – 2403
136. Tittel K. (1990)
Beschreibende und funktionelle Anatomie des Menschen
11. Auflage, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York
137. Torres R., De la Piedra C., Rapado A. (1989)
Osteocalcin and bone remodelling in Paget's disease of bone, primary hyperparathyroidism, hypercalcaemia of malignancy and involutional osteoporosis
Scand J Clin Lab Invest 49: 279 – 285
138. Valimaki M., Tiihonen M., Laitinen K., Tahtela R., Karkkainen M. (1993)

Bone mineral density measured by dual-energy x-ray absorptiometry and novel markers of bone formation and resorption in patients on antiepileptic drugs
J Bone Miner Res 9: 631 – 637

139. Van Straalen J.P., Sanders E., Prummel M.F., Sanders G.T.B. (1991)

bone alkaline phosphatase as indicator of bone formation
Clin Chim Acta 201: 27 – 34

140. 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 – 799

141. Withold W., Armbruster F.P., Karmatschek M., Reinauer H. (1997)

Bone Sialoprotein in serum of patients with malignant bone disease
Clin Chem 43: 85 – 91

142. Woitge H.W. (1996)

Biochemische Marker des Knochenstoffwechsels bei Gesunden und Individuen mit vertebraler Osteoporose: Ergebnisse einer epidemiologisch-biochemischen Untersuchung
Dissertation, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

143. Yasumura S., Aloia J.F., Gundberg C.M., Yeh J., Vaswani A.N., Yuen K., Lo-Monte A.F., Ellis K.J., Cohn S.H. (1987)

Serum osteocalcin and total body calcium in normal pre- and postmenopausal women and postmenopausal osteoporotic patients
J Clin Endocrinol Metab 64: 681 – 685

144. Yuming L., Woitge H.W., Kissling C., Lang M., Oberwittler H., Karmatschek M., Armbruster F.P., Schickfus A.R.v., Ziegler R., Seibel M.J. (1998)

Biological variability of serum immunoreactive bone sialoprotein
Clin Lab 44: 553 – 555

145. Ziegler R. (1993)

Was ist gesichert in der Behandlung der Osteoporose der Frau in der Menopause?
Internist Berl 34: 18 - 24

Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Hilmar Stracke danke ich für die Auswahl und Zurverfügungstellung des Themas, für die Hilfe bei der Bearbeitung, für seine vielen nützlichen Hinweise, für ein immer offenes Ohr, für seine ständige Ansprechbarkeit und Geduld und für die angenehme Atmosphäre, ohne die diese Arbeit nicht zustande gekommen wäre.

Herrn Dr. med. Walter Faßbender, unter dessen Betreuung diese Arbeit entstand, danke ich für die gewissenhafte Anleitung, für die vielen Erläuterungen und Hilfestellungen, für sein persönliches Engagement, sowie für die freundschaftliche Zusammenarbeit.

Frau Jutta Sitte danke ich für die Erklärungen der Labortechniken und für die Überlassung vielseitigen Hilfsmaterials.

Herrn Hollenhorst gehört mein besonderer Dank für die Berechnung der Daten der deskriptiven Statistik und der Pearson's Korrelation. Er war immer äußerst hilfsbereit und geduldig bei seinen Bemühungen, mir die Statistik zu erklären.

Frau Albert, Frau Görnert, Frau Petter und Frau Röhrich danke ich für die ständige Hilfe bei der Patientenakteneinsicht.