

VITAMIN D-REZEPTOR-GEN-POLYMORPHISMEN
UND KNOCHENSTOFFWECHSEL BEI TÜRKISCHEN
MIGRANTEN IN DEUTSCHLAND IM VERGLEICH ZU
EINER GESUNDEN DEUTSCHEN KONTROLLGRUPPE

YASEMIN ÜSKÜDAR

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Medizin
des Fachbereichs Medizin der
Justus-Liebig-Universität Gießen



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

Das Werk ist in allen seinen Teilen urheberrechtlich geschützt.

Jede Verwertung ist ohne schriftliche Zustimmung des Autors oder des Verlages unzulässig. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung in und Verarbeitung durch elektronische Systeme.

1. Auflage 2009

All rights reserved. No part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted, in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise, without the prior written permission of the Author or the Publishers.

1st Edition 2009

© 2009 by VVB LAUFERSWEILER VERLAG, Giessen
Printed in Germany



édition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

STAUFENBERGRING 15, D-35396 GIESSEN
Tel: 0641-5599888 Fax: 0641-5599890
email: redaktion@doktorverlag.de

www.doktorverlag.de

**Vitamin D-Rezeptor-Gen-Polymorphismen und
Knochenstoffwechsel
bei türkischen Migranten in Deutschland
im Vergleich zu einer gesunden deutschen
Kontrollgruppe**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Medizin
des Fachbereichs Medizin der
Justus-Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von

Yasemin Üsküdar

aus Rheda-Wiedenbrück

Gießen 2009

Aus der Abteilung Rheumatologie,
Klinische Immunologie, Physikalische Medizin und Osteologie
der Kerckhoff-Klinik in Bad Nauheim

Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. U. Müller-Ladner

Gutachter: Prof. Dr. med. U. Lange

Gutachter: Prof. Dr. med. Dr. h.c. H.-R. Tinneberg

Tag der Disputation: 4. November 2009

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	4
1 Einleitung.....	6
1.1 Hintergrund dieser Arbeit	6
1.2 Der Knochenstoffwechsel und seine Regulation	7
1.2.1 Parathormon	7
1.2.2 Kalzium	9
1.2.3 Osteocalcin	10
1.2.4 Alkalische Phosphatase	11
1.2.5 Phosphat.....	11
1.2.6 β -CrossLaps.....	12
1.3 Vitamin D	12
1.3.1 Physiologie des Vitamin D-Stoffwechsels	13
1.3.2 Wirkungen.....	15
1.3.3 Vitamin D ₃ und Knochenstoffwechsel	17
1.4 Vitamin D-Rezeptor.....	17
1.4.1 VDR-Gen	18
1.4.2 VDR-Gen-Polymorphismus.....	18
1.4.3 VDR-Gen-Polymorphismus und Knochenstoffwechsel	19
1.4.4 VDR-Gen-Polymorphismen und das Auftreten verschiedener Krankheiten.....	22
1.5 Osteomalazie	23
1.5.1 Definition	24
1.5.2 Pathophysiologie.....	24
1.5.3 Risikofaktoren	25
1.6 Osteoporose	26
2 Fragestellung	28
3 Methodik und Statistik.....	30
3.1 Studienaufbau.....	30
3.2 Laborbestimmungen	31
3.2.1 Parathormon intakt.....	31
3.2.2 Kalzium	32
3.2.3 Osteocalcin	32
3.2.4 Alkalische Phosphatase.....	33
3.2.5 Phosphat.....	33
3.2.6 β -CrossLaps.....	33

3.2.7	25(OH)-Vitamin D ₃	34
3.3	Knochendichtemessung.....	34
3.3.1	Statistik	37
3.4	Molekularbiologische Analysen.....	38
3.4.1	DNA-Extraktion	38
3.4.2	Polymerase-Kettenreaktion (PCR).....	39
3.4.3	Agarose-Gel-Elektrophorese.....	41
3.4.4	Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP).....	41
3.4.5	Statistik	44
4	Ergebnisse.....	45
5	Diskussion.....	60
5.1	Diskussion der Methodik.....	60
5.1.1	Probenaufbereitung	60
5.1.2	Auswahl der Messparameter	61
5.1.3	Knochendichtemessverfahren.....	63
5.2	Diskussion der Ergebnisse.....	64
5.2.1	Laborparameter	64
5.2.2	VDR-Gen-Polymorphismen.....	67
6	Zusammenfassung – Summary	72
6.1	Zusammenfassung.....	72
6.2	Summary.....	74
7	Anhang.....	76
7.1	Abbildungsverzeichnis	76
7.2	Tabellenverzeichnis	77
7.3	Abkürzungsverzeichnis	79
8	Literatur	82
9	Danksagung	102
10	Lebenslauf.....	103
11	Erklärung	104

1 Einleitung

1.1 Hintergrund dieser Arbeit

Während die Osteoporose durch einen Verlust von Knochenmasse, eine gestörte Mikroarchitektur und gesteigerte Fragilität charakterisiert ist, handelt es sich bei der Osteomalazie um die Folge einer unzureichenden Mineralisierung der Extrazellulärmatrix des Knochens durch eine gestörte Aufnahme, Aktivierung und Rezeptorwirkung von Vitamin D oder einen Mangel der für die Mineralisierung erforderlichen Substrate Kalzium und Phosphat. Beide Krankheiten sind somit systemische metabolische Knochenerkrankungen, welche die Architektur und Funktion des Knochens beeinträchtigen. Als Migrantenosteomalazie werden die Mineralisationsstörungen zumeist von Frauen bezeichnet, die aus religiösen oder kulturellen Gründen eine Verschleierung (Kopftuch, Tschador, Burka) tragen, welche die Sonnenlichtexposition der Haut und damit die Vitamin D-Synthese verhindert bzw. beeinträchtigt.

Die Extrazellulärmatrix des Knochens wird Vitamin D-abhängig mineralisiert, wobei eine gestörte Aufnahme, Aktivierung und Rezeptoraktivierung von Vitamin D, eine mangelhafte Aufnahme von Kalzium und Phosphat oder ein Phosphatverlust zu einer unzureichenden Mineralisierung der Extrazellulärmatrix führen.

In der vorliegenden Dissertationsschrift galt das Interesse einer Migrantenosteomalazie, osteologischen Markern mit Einfluss auf den Knochenstoffwechsel sowie möglichen Polymorphismen des Vitamin D-Rezeptor-Gens.

Zunächst erfolgt eine einleitende Darstellung zu den Bereichen Knochenstoffwechsel und seine Regulation, Vitamin D-Stoffwechsel, Vitamin D-Rezeptor und das Krankheitsbild Osteomalazie, gefolgt von der Fragestellung, den Ergebnissen und einer Diskussion.

1.2 Der Knochenstoffwechsel und seine Regulation

Der Knochen unterliegt einem ständigen Remodellingprozess: einerseits kommt es zu einer osteoklastenvermittelten Knochenresorption, andererseits wird durch die Osteoblasten Knochen neu gebildet. Dieser Prozess wird unter anderem durch Vitamin D reguliert.

Im Alter von 30-35 Jahren besitzt der Knochenaufbau seine maximale Masse („peak bone mass“) gefolgt von einem physiologischen Abbau, welcher jährlich Werte um 0,5% einnimmt. Im Laufe eines Menschenlebens kann der Verlust der Knochenmasse bei Männern 20 bis 30%, bei Frauen sogar 30 bis 40% betragen. Bei der weiblichen Bevölkerung ist in den ersten 10 Jahren nach der Menopause eine überdurchschnittlich hohe Reduktion der Knochenmasse von über 2% jährlich möglich.

Das Knochengewebe ist so aufgebaut, dass es zu 15% aus zellulären Bestandteilen, zu 40% aus organischer Matrix und zu 45% aus anorganischer und mineralischer Phase besteht. Zunächst wird von den Osteoblasten das weiche, unverkalkte Osteoid, also die organische Matrix, gebildet. Diese setzt sich zu 10% aus Wasser, zu 20% aus organischen Materialien (z. B. Kollagen und Proteoglycane) zu 70% aus anorganischen Stoffen zusammen. Hierzu gehören die Hydroxylapatitkristalle, welche in das Osteoid eingebaut werden. Dieser Schritt wird auch „Mineralisation“ genannt. Durch nachfolgende Einlagerungen von Kalziumphosphat wird der Knochen hart und gewinnt an Stabilität.

Liegt eine Störung der Osteoid-Mineralisation vor, entsteht das Krankheitsbild einer Vitamin D-Mangel induzierten Osteomalazie, während bei der Osteoporose eine verminderte Bildung der Knochenmasse im Vordergrund steht (Herold et al. 2005).

1.2.1 Parathormon

In den Nebenschilddrüsen (Glandulae Parathyroideae) wird zunächst das aus 115 Aminosäuren bestehende PräProParathormon gebildet. Durch eine proteolytische Modifikation entsteht schließlich über mehrere Schritte das Parathormon (PTH), welches aus 84 Aminosäuren zusammengesetzt ist. PTH weist ein pulsatile Sekretionsverhalten und einen zirkadianen Rhythmus mit

höheren Werten in den abendlichen und nächtlichen Stunden auf (Seibel & Stracke 1997).

Die biologische Halbwertszeit dieses Polypeptidhormons ist relativ kurz und beträgt nur einige Minuten. Der proteolytische Abbau von PTH erfolgt in den Epithelkörperchen, in der Leber und auch in den Nieren. Aufgrund der Tatsache, dass nur ein geringer Anteil des Hormons für die biologische Aktivität verantwortlich ist, entstehen bei seinem Abbau Zwischenprodukte, welche noch biologisch aktiv sind und im Blut nachgewiesen werden können.

Die Hauptaufgabe des Parathormons besteht in der Aufrechterhaltung der Kalziumhomöostase und unterliegt einem reziproken Regulationsmechanismus, für den ein G-Protein-gekoppelter kalziumsensitiver Rezeptor verantwortlich ist. Sobald die Kalzium-Konzentration im Plasma (die ionisierte Fraktion) die engen Grenzen des optimalen Bereiches unterschreitet, kommt es zu einer verstärkten PTH-Sekretionsrate und nachfolgend durch Reifung und Aktivierung der Osteoklasten zu einer Kalzium- und Phosphat-Mobilisation aus dem Knochengewebe. Ein erhöhter Kalzium-Spiegel wiederum führt zu einer Hemmung der Parathormon-Produktion (negative Rückkopplung) (Brown et al. 1993). Ferner hemmt das Parathormon im proximalen Tubulus der Niere die Resorption von Phosphat, im distalen Tubulus hingegen fördert es die Kalzium-Wiederaufnahme. Durch die verstärkte Phosphat-Ausscheidung mit dem Urin sinkt der Phosphat-Spiegel im Blut. Dadurch wird vermieden, dass in der Niere zu viele schwerlösliche Kalzium-Phosphat-Komplexe gebildet werden und diese dann eventuell zu einer sogenannten „Kalkniere“ führen. Außerdem wird die PTH-Sekretion durch den Vitamin D₃-Gehalt im Körper reguliert (Seibel & Stracke 1997). Das Parathormon besitzt ferner die Fähigkeit, die 1,25(OH)₂D₃-Synthese anzuregen. Dadurch steigt der Kalziumspiegel im Serum an und aufgrund der negativen Rückkoppelungsschleife wird die Sekretion des Parathormons wieder reduziert.

Zusammenfassend führt PTH also zu einem Anstieg des Kalziumgehaltes über eine verminderte renale Ausscheidung, vermehrte enterale Kalziumaufnahme und auch über eine Kalziummobilisation aus dem Knochen (Seibel & Stracke 1997).

1.2.2 Kalzium

Das Spurenelement Kalzium (Ca^{2+}) stellt den mengenmäßig am stärksten vertretenen Mineralstoff im menschlichen Körper dar. Es findet sich sowohl extra- als auch intrazellulär. Der Kalzium-Stoffwechsel wird durch die Hormone Calcitriol, Calcitonin und Parathormon reguliert (Seibel & Stracke 1997, Brown et al. 1993). Ca^{2+} -Rezeptoren sind spezifische Zellen, die in der Lage sind, bei Abweichung eines optimalen Kalziumspiegels Gegenregulationsmechanismen anzutreiben.

Über 95 % des im Körper vorkommenden Kalziums befinden sich in Knochen und Zähnen. Das Skelettsystem dient ferner als Speicher für Kalzium, bei einem Ca^{2+} -Mangel kann ein Teil davon durch die PTH-Wirkung mobilisiert und dem Organismus für andere Aufgaben zur Verfügung gestellt werden (Seibel & Stracke 1997). Als das Schlüsselorgan der Kalziumhomöostase gilt die Niere. Zum einen ist sie Syntheseort von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (dem biologisch aktiven Vitamin D), zum anderen wichtigstes Regulativ der Kalzium- und Phosphatexkretion bzw. -reabsorption. Bis zu 98% des in den Primärharn abgegebenen Kalziums werden reabsorbiert.

Von dem Gesamt-Kalzium im Körper finden sich nur 0,1% extrazellulär. Hiervon sind ca. 30 bis 50% an Proteine gebunden und 5 bis 15% liegen in Form von Komplexen vor (z. B. Kalzium-Phosphat-Komplexe). 50% des extrazellulären Kalziums (Ca^{2+}) liegt frei ionisiert in biologisch aktiver Form vor (Calvi & Bushinsky 2008). Der Gehalt an diesen Ionen wird in einem relativ engen Rahmen gehalten, nämlich bei etwa 2,1 bis 2,6 mmol/l im Blut (Seibel & Stracke 1997), so dass eine permanente Verfügbarkeit zur Erfüllung verschiedener Aufgaben gewährleistet ist. Im Gegensatz hierzu wird der Gehalt an intrazellulären Kalziumionen (Ca_i^{2+}) in einem wesentlich größeren Bereich reguliert (Pozzan et al. 1994).

Ca^{2+} -Ionen spielen u. a. eine wichtige Rolle bei der Signaltransduktion in verschiedenen Zellen. Sie beeinflussen z. B. das Gerinnungssystem und die Muskel- und Nervenerregung. Weiterhin sind sie an der Aufrechterhaltung der Zellmembranen beteiligt. Hohe Ca^{2+} -Werte stimulieren Parameter osteoblastischer Vorgänge, führen zu einer gesteigerten Calcitonin-Sekretion und hemmen die PTH-Sekretion (Dören et al. 1997, Brown et al. 1993).

Weiterhin unterdrücken sie (in in-vitro-Versuchen) die Aktivität von Osteoklasten (Kanatani et al. 1999).

1.2.3 Osteocalcin

Das im Jahre 1975 entdeckte Peptidhormon Osteocalcin (OC) wird vor allem in Zähnen und Knochen gebildet und zwar von Odontoblasten bzw. Osteoblasten. Es wird in der extrazellulären Matrix des Knochens gespeichert und stellt eines der wichtigsten nicht-kollagenen Proteine des Knochens dar. Weiterhin repräsentiert es als spezifischer Marker die Aktivität der Zellen, die für den Knochenaufbau bzw. -umsatz verantwortlich sind (Delmas et al. 1985). OC ist ebenfalls in der Lage, die Mineralisierung des Knochens zu hemmen.

Da das fertige Molekül drei Gamma-Carboxyglutamat-Reste (Gla) besitzt, wird es auch „bone γ -carboxylglutamic acid-containing protein“ (BGP) genannt. Mit Hilfe dieser Gla-Reste ist das Osteocalcin in der Lage, Kalzium und Hydroxylapatit zu binden. Beim Menschen besteht das BGP aus insgesamt 40 Aminosäuren und befindet sich auf dem Chromosom 1q25-q31. Seine Synthese in den Osteoblasten wird durch das Vitamin D₃ induziert und ist an das Vorhandensein des Kofaktors Vitamin K und das Enzym γ -Glutamylcarboxylase gebunden (Houben et al. 1999). Bei Versuchen an Mäusen, denen das Osteocalcin-Gen fehlte, fand man heraus, dass die Knochenmineralisation abnorm erhöht und die Knochensubstanz stark zunehmend war bei gleichzeitiger Instabilität in Form einer verminderten Bruchfestigkeit und zusätzlicher Einengung des Markraums (Ducy et al. 1996, Wolf 1996).

Die biologische Halbwertszeit des OC liegt bei etwa 5 Minuten und ist somit als kurz einzustufen ist. Der im Serum gemessene Osteocalcin-Wert spiegelt somit lediglich die Neusynthese des Proteins wieder. Die Ausscheidung erfolgt über die Nieren, so dass bei eingeschränkter Nierenfunktion ein erhöhter OC-Wert nur bedingt verwertbar ist. Allgemein findet man erhöhte Osteocalcin-Werte z. B. bei primärem oder sekundärem Hyperparathyreoidismus, high-turnover-Osteoporose mit einem beschleunigten Knochenstoffwechsel, Osteomalazie und Niereninsuffizienz. Ein reduzierter Spiegel ist häufig bei Hypoparathyreoidismus, einer länger andauernden systemischen Cortisol-Therapie, rheumatoider Arthritis und low-turnover Osteoporose mit niedrigem Knochenumsatz nachweisbar (Seibel & Stracke 1997).

Neuere Studien geben weiterhin Hinweise darauf, dass das Osteocalcin sowohl blutzuckersenkende Eigenschaften als auch fettabbaufördernde Eigenschaften besitzt (Ferron et al. 2008, Lee et al. 2007).

1.2.4 Alkalische Phosphatase

Die alkalische Phosphatase (AP) ist ein Enzym und in der Lage, Phosphat-Gruppen von Molekülen (z. B. von Proteinen oder Nukleotiden) zu entfernen. Am effektivsten kann sie bei alkalischen pH-Werten dephosphorylieren.

Beim menschlichen Organismus unterscheidet man 15 verschiedene gewebespezifische Isoenzyme aus Leber, Knochen, Dünndarm oder Plazenta. Eine Erhöhung der gesamt-AP (gAP) ist meistens auf einen Anstieg der Leber- oder Knochen-AP zurückzuführen, also z. B. auf eine Erkrankung im Skelettsystem, im Leberparenchym oder in den Gallenwegsepithelien. Diese beiden Isoenzyme werden durch ein einziges Gen kodiert und unterscheiden sich nur durch posttranslationale Modifikationen voneinander. Gesteigerte gAP-Werte findet man u. a. bei Osteomalazie, Osteoporose, Knochenmetastasen und Lebererkrankungen. Physiologisch höhere AP-Spiegel liegen bei Kindern im Wachstum oder bei Schwangeren vor. Niedrige Werte hingegen sind häufig bei einer Hypothyreose und einem Vitamin C-Mangel.

Da man bei alleiniger Messung der gAP aber nicht unbedingt auf die Ursache bzw. den Ort der Erkrankung schließen kann, sollte man v. a. bei der Frage nach osteoporotischen Veränderungen mit einem oft nur diskret veränderten Knochenumsatz die Bestimmung der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase, welche als sensitiver Marker für einen verstärkten Knochenumsatz gilt, der gAP vorziehen. In der Praxis sollte also auf eine Differenzierung der beiden AP-Formen geachtet werden (Hata et al. 1996, Withold et al. 1996, van Hoof & de Broe 1994).

1.2.5 Phosphat

Phosphate sind definiert als Salze und Ester der Ortho-Phosphorsäuren. Sie entstehen, in dem ein, zwei oder drei Wasserstoffatome der Phosphorsäure durch Metalle ersetzt werden.

Eine große Rolle spielen Phosphate bei biochemischen Prozessen lebender Organismen. So sind sie für den Aufbau wichtiger Moleküle wie die DNA

zuständig. Aber auch am Knochenstoffwechsel sind sie beteiligt: Mit Kalzium gehen sie eine Verbindung ein, wodurch das Kalziumapatit entsteht. Dieses wird dann in das Skelettsystem eingebaut.

Weiterhin hat Phosphat die Eigenschaft, den PTH-Gehalt zu erhöhen. Hierdurch kann indirekt der Kalziumgehalt erhöht werden. Außerdem wird die Vitamin D₃-Synthese durch einen niedrigen Phosphatspiegel gefördert (Wu et al. 1996, Henry 1979, Baxter & DeLuca 1976, Gray et al. 1972).

1.2.6 β -CrossLaps

CrossLinks verbinden und stabilisieren die kollagenen Fasern, welche einen Anteil von bis zu 90% der organischen Knochenmatrix ausmachen. Sie werden durch Osteoklasten freigesetzt und über den Urin ausgeschieden (Seibel & Stracke 1997). Die endständigen Peptide (Telopeptide) der kollagenen Fasern, an denen die CrossLinks haften, werden β -CrossLaps (β -CTx) genannt. Sie werden ebenfalls von Osteoklasten freigesetzt. Diese Freisetzung erfolgt bei beiden Markern verstärkt in Zuständen gesteigerten Knochenab- und -umbaus. Beim Anbau knöchernen Gewebes hingegen gehen die Marker wieder zurück.

Der Nachweis der β -CrossLaps erfolgt im Serum und eignet sich v. a. zum Nachweis eines erhöhten Kollagenabbaus, zur Risikoabschätzung des künftigen Knochenmasseverlustes von Unbehandelten und zum Monitoring einer antiresorptiven Osteoporose-Therapie (Spanuth 2003, Okabe et al. 2001).

Bei eingeschränkter Nierenfunktion ist jedoch zu beachten, dass eine verminderte Ausscheidung und konsekutiv höhere Serumkonzentrationen der β -CTx möglich sind. Ferner muss auch die zirkadiane Rhythmik berücksichtigt werden: die höchsten Werte sind in den frühen Morgenstunden, die niedrigsten mittags zu verzeichnen (Okabe et al. 2001, Wichers et al. 1999).

1.3 Vitamin D

Die Entdeckung von Vitamin D oder auch Calciferol geht mit der Suche nach einem Heilmittel für die Rachitis einher (Rajakumar 2003). In den Jahren 1919 und 1921 konnte gezeigt werden, dass diese Erkrankung durch Bestrahlung mit künstlich erzeugtem UV-Licht und durch Bestrahlung mit normalem Sonnenlicht (Hess et al. 1921) geheilt werden kann. McCollum und Howland fanden heraus,

dass der heute als Vitamin D bekannte Stoff für diesen Effekt verantwortlich war (Rajakumar 2003). Die Namensgebung „Vitamin D“ erfolgte dann nach der Reihenfolge der Entdeckung als viertes Vitamin hinter den Vitaminen A, B und C.

Vitamin D liegt in zwei Varianten vor: zum einen gibt es das pflanzliche Vitamin D₂ (Ergocalciferol) und zum anderen das Vitamin D₃ (Cholecalciferol) tierischen Ursprungs. Beide Formen können entweder mit der Nahrung aufgenommen und im Dünndarm resorbiert oder zum überwiegenden Teil (etwa zu 85 %) in der Epidermis unter dem Einfluss von UV-Strahlen photosynthetisch gebildet werden (Holick et al. 1980, Milde 1991).

Ferner gehört 1,25(OH)₂D₃ nach seiner chemischen Struktur der Gruppe der Steroide an: es besitzt eine gemeinsame Vorstufe mit dem Cholesterin und zeichnet sich durch einen offenen B-Ring und eine Seitenkette aus (Abb. 1).

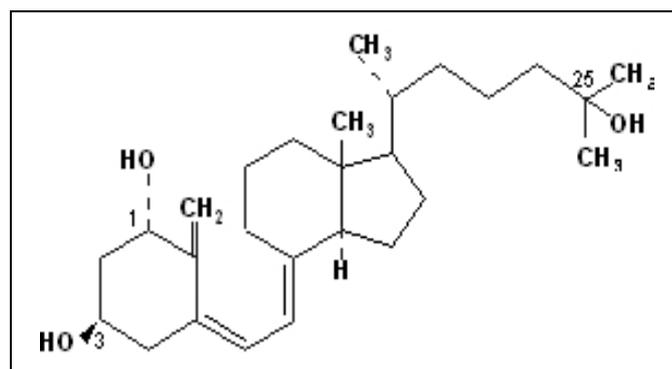


Abb. 1: Strukturformel von 1 α ,25(OH)₂Vitamin D₃

Der aktive Metabolit von Vitamin D₃ wird in Form des Calcitriols (1 α ,25(OH)-Dihydroxy-Vitamin D₃; 1,25(OH)₂D₃) dargestellt (Issa et al. 1998).

1.3.1 Physiologie des Vitamin D-Stoffwechsels

Vitamine sind definitionsgemäß lebensnotwendige Substanzen, welche vom Körper nicht selbständig hergestellt werden können und daher zugeführt werden müssen. Da aber die Vorstufen des Vitamin D in der Haut des Menschen selbst hergestellt werden können, und zwar mit Hilfe von UV-B-Strahlen (290 - 315 nm) aus dem Sonnenlicht (MacLaughlin et al. 1982), hat es die Funktion eines Pro-Hormons. Somit wird der Begriff „Vitamin“ für 1 α ,25(OH)₂D₃ nicht korrekt angewendet.

Der Ausgangsstoff für die endogene Vitamin D-Synthese ist das vor allem im Stratum basale und Stratum spinosum der Epidermis vorhandene, als Pro-Vitamin D₃ bezeichnete 7-Dehydrocholesterol bzw. 7-DHC (Holick et al. 1980). Hierbei handelt es sich um ein chromophores Molekül, welches in den Hepatozyten aus Cholesterol durch das Enzym Cholesterol-Dehydrogenase entsteht und unter dem Einfluss von Photoenergie Isomere bildet. Durch die Energie der UV-Strahlen wird der B-Ring des Pro-Vitamins geöffnet. Aus 7-DHC entsteht dann das Pro-Vitamin D (Abb. 2) (Esvelt et al. 1978, Windaus et al. 1936), welches durch Verschiebung der Doppelbindungen zum stabilen Vitamin D isomerisiert (Velluz & Amirad 1949). Diese Gleichgewichtsreaktion läuft solange ab, wie das Vitamin D aus der Zelle geschleust wird (Haddad et al. 1993). In der Leber folgt dann die Hydroxylierung durch eine Cytochrom P-450 abhängige mitochondriale Hydroxylase an den Kohlenstoffatomen der Position C₂₅. In den Mitochondrien der Zellen des proximalen Tubulus der Nieren wird dann das 25(OH)Vitamin D₃ durch die 1 α -Hydroxylase zum biologisch aktiven 1,25(OH)₂Vitamin D₃ (Calcitriol) weiter hydroxyliert. Das Vitamin D₃ und seine Metabolite werden dann im Blut über in der Leber gebildete Vitamin D₃-Bindeproteine (DBP) transportiert (Braun et al. 1992, Haddad 1992 und 1987, Cooke & Haddad 1989).

Der Abbau des Calcitriols erfolgt ebenfalls in den Nieren durch die gegensätzlich regulierte 24-Hydroxylase zum inaktiven 24R,25(OH)₂Vitamin D₃ (Issa et al. 1998, Okuda et al. 1995, Andersson et al. 1989). Das Endprodukt des Vitamin D-Stoffwechsels ist die Calcitronsäure, welche in der Leber in die Gallenflüssigkeit sezerniert wird (Jones 1999).

Die Aufgabe der verschiedenen Regulationsmechanismen des Calcitriol-Stoffwechsels besteht letztendlich darin, dass nur soviel Vitamin D synthetisiert wird wie der Körper benötigt, um in seiner aktuellen Situation seinen Phosphat- und Kalziumbedarf decken zu können.

Durch einen erhöhten Parathormon-Gehalt, erniedrigte Kalzium- oder Phosphatspiegel kommt es zu einer Aktivierung der 1 α -Hydroxylase und somit zu einer Förderung der 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D₃-Synthese (Wu et al. 1996, Henry 1979, Baxter & DeLuca 1976, Gray et al. 1972). Aber auch Östrogen, Glucocorticoide, Calcitonin, Somatotropin und Prolactin haben einen Einfluss auf den Vitamin D-Stoffwechsel. Calcitriol selbst hat ebenfalls eine regulierende

Funktion: Es ist in der Lage, die 1α -Hydroxylase zu hemmen und somit die 24-Hydroxylase zu aktivieren (Ohyama et al. 1994, Zierold et al. 1994). Ebenso aktiviert es seinen eigenen zellulären Rezeptor (VDR) (Dusso et al. 2005). Die Konzentration von freiem $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ korreliert also weitgehend mit seiner eigenen Aktivität.

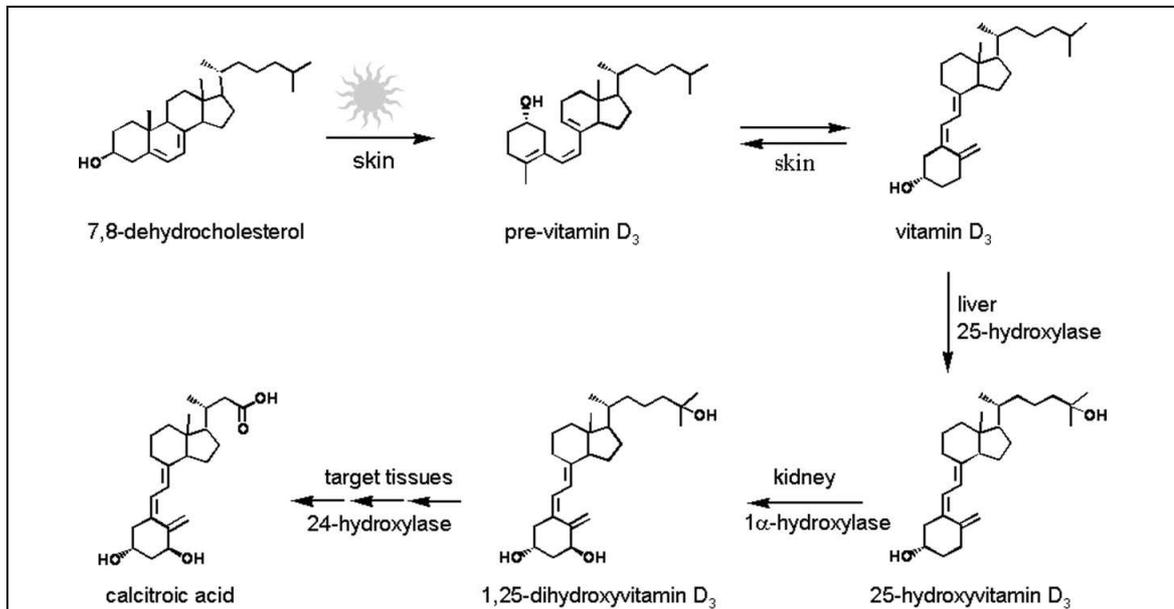


Abb. 2: Syntheseweg von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (modifiziert nach Dusso et al. 2005)

1.3.2 Wirkungen

Calcitriol hat in seinen Zielzellen die Wirkungsweise eines Steroidhormons: Es wird an ein intrazelluläres Vitamin D-Rezeptorprotein gebunden und in den Zellkern transportiert. Dort wird dann die Transkription verschiedener Gene reguliert.

Die Hauptfunktion vom Vitamin D liegt in der Förderung der intestinalen Kalzium- und Phosphat-Aufnahme, was wiederum eine ausreichende Konzentration dieser beiden Stoffe im Serum ermöglicht und so eine genügende Menge an Kalzium für die notwendige Knochenformation bereitgestellt werden kann (Walters 1992). Ferner übt das Vitamin D, unter anderem durch seine autokrinen Funktionen, einen Einfluss auf die Entwicklung und Funktion des Nerven- und Muskelsystems, aber auch auf die Zelldifferenzierung, -Proliferation, Apoptose und Immunmodulation aus (Carlberg et al. 1998).

Ein Mangel an Vitamin D führt u. a. zur Beeinflussung der Zahnentwicklung und des Knochenaufbaus. Im Kindesalter entsteht bei einem Mangel das Bild einer Rachitis, bei Erwachsenen spricht man von einer Osteomalazie (Parfitt 1997). Des Weiteren kann sich durch einen geringen Vitamin D-Gehalt im Organismus eine Osteoporose mit verminderter Knochenstabilität entwickeln.

Ferner besteht eine allgemein erhöhte Sterblichkeit (Dobnig et al. 2008) und ein größeres Risiko für die Entstehung von Autoimmunkrankheiten (wie z. B. Diabetes mellitus Typ 1 oder Multiple Sklerose) und kardiovaskulären Erkrankungen (Valdivielso & Fernandez 2006). Ein erhöhter Gehalt an Vitamin D dagegen führt zur Hyperkalziurie und Hyperkalziämie (Vieth 1990).

Neuere Studien haben gezeigt, dass Vitamin D zusätzlich protektiv bezüglich verschiedener Karzinome wirkt (Park et al. 2007). Ferner werden Vitamin D-Analoga als effektive Proliferationshemmer angesehen (van Leeuwen et al. 1999, Halline et al. 1994, Colston et al. 1981). So konnte zum Beispiel gezeigt werden, dass $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ die Proliferation von myeloiden Maus-Leukämiezellen hemmt und die Differenzierung zu Makrophagen induziert (Abe et al. 1981). Zudem wurde in verschiedenen in-vitro- und Tiermodell-Studien bewiesen, dass Calcitriol und seine Analoga die Proliferation von Mammakarzinomzelllinien hemmen können (Vandewalle et al. 1995, Hansen et al. 1994, Colston et al. 1989, Simpson & Arnold 1986, Frampton et al. 1983). Arguello et al. wiesen mit einer im Jahre 1988 durchgeführten Studie an Nacktmäusen nach, dass das Vitamin D-Analogon EB 1089 eine präventive Wirkung gegen Knochenmetastasierungen besitzt. Des Weiteren habe das Calcitriol einen allgemein lebensverlängernden Effekt (El Abdaimi et al. 2000).

Parathormon hat einen großen Einfluss auf die Vitamin D-Synthese. So wird durch einen verminderten Kalziumgehalt im Blut reaktiv vermehrt PTH sezerniert (Brown et al. 1993). Gleichzeitig kommt es zu einer Stimulation der renalen 1α -Hydroxylase-Synthese und Hemmung der 24 -Hydroxylase-Bildung. Dies hat wiederum zur Folge, dass vermehrt $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -synthetisiert wird. Durch dessen kalzämischen Effekt im Darm und in den Nieren wird dann der Kalziumspiegel im Serum wieder angehoben.

1.3.3 Vitamin D₃ und Knochenstoffwechsel

Neben dem Parathormon und Calcitonin gilt das Vitamin D₃ als einer der wichtigsten Regulatoren der Kalziumhomöostase und des Knochenstoffwechsels. Seine Hauptaufgabe besteht darin, gemeinsam mit dem Parathormon die intestinale Resorption, renale Exkretion und Mobilisation des Kalziums aus dem Knochengewebe zu regulieren. Das Vitamin D bewirkt hierbei eine Bereitstellung des Kalziums.

Bei einem verminderten Vitamin D-Gehalt bzw. einer fehlenden Wirkung von Calcitriol entsteht aufgrund einer eingeschränkten enteralen Aufnahme und renalen Rückresorption des Kalziums wie auch einer verminderten Kalziummobilisation aus dem Knochen eine Hypokalzämie. Dieser Zustand wiederum bewirkt eine verstärkte Synthese und Sekretion des Parathormons und kann letztendlich auch zu einer Hyperplasie der Nebenschilddrüse führen (sekundärer Hyperparathyreoidismus). Erhöhte PTH-Spiegel steigern den Kalziumgehalt im Serum wie auch die renale Phosphat-Clearance mit der möglichen Folge einer Hypophosphatämie. Durch dieses Missverhältnis der Konzentrationen von Kalzium und Phosphat im Serum resultiert eine Störung im Knochenstoffwechsel: der Kalziummangel, die fehlregulierte Mineralisierung der Knochenmatrix und die durch PTH induzierte verstärkte Knochen-Abbauraten führen zu einer verminderten Mineralisierung des Knochengewebes mit einhergehender mechanischer Instabilität. Das sich hieraus entwickelnde Krankheitsbild ist unter dem Namen „Osteomalazie“ bekannt.

1.4 Vitamin D-Rezeptor

Um eine hormonale Wirkung in den Zielzellen entfalten zu können, benötigt Calcitriol den Vitamin D-Rezeptor. Dieser wurde erstmals 1969 entdeckt und beschrieben (Hausler & Norman 1969). Er hat ein nahezu ubiquitäres Vorkommen im Körper (Provvedine et al. 1986, Tsoukas et al. 1984, Stumpf et al. 1984, 1983, 1979, Kim et al. 1983, Bhalla et al. 1983) und gehört zu der Familie der Steroidrezeptoren. Somit stellt der VDR mit seinen insgesamt fünf funktionellen Domänen einen Liganden-aktivierten Transkriptionsfaktor dar, welcher die Transkription bestimmter Zielgene aktiviert bzw. hemmt (je nach Gen) und somit Einfluss auf den Stoffwechsel ausübt. Dies geschieht durch die Bindung an eine spezifische DNA-Erkennungssequenz (VDRE, Vitamin D

responsive element). Der bevorzugte Ligand des Vitamin D-Rezeptors ist das $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (Brown et al. 1999).

1.4.1 VDR-Gen

Das VDR-Gen ist auf dem Chromosom 12q13-14 lokalisiert (Labuda et al. 1992) und hat eine Länge von 1281 Nukleotiden, welche das aus 427 Aminosäuren bestehende VDR-Protein mit der Molekülmasse von 48.000 Da kodieren (Baker et al. 1988). Diesem Gen geht eine nicht-kodierende Sequenz aus insgesamt 115 Basenpaaren voraus. Des Weiteren findet man am 3'-Ende eine 3,2 kb große Region, welche nicht translatiert wird (UTR = untranslated region). Das VDR-Gen verfügt außerdem über 11 Exons, die zusammen mit den dazwischen liegenden Introns eine Länge von etwa 75 kb umspannen (Szipirer et al. 1991). Die nicht-kodierende Region am 5'-Ende beherbergt die drei Exone 1A, 1B und 1C. Die verbleibenden Exone kodieren das Translationsprodukt (Issa et al. 1998).

1.4.2 VDR-Gen-Polymorphismus

Verschiedene Längenpolymorphismen von Restriktionsfragmenten (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP), also allele Varianten, sind für das menschliche VDR-Gen bekannt. Diese gehen mit Unterschieden in der Knochendichte und Neigung zum Hyperparathyreoidismus, Resistenz auf eine Vitamin-D-Therapie, Empfänglichkeit für Infekte und Neigung für bestimmte Autoimmunkrankheiten und Krebserkrankungen einher.

Die Restriktionsenzyme BsmI, TaqI und ApaI spalten polymorphe Abschnitte, die im Bereich des Introns am 3'-Ende des VDR-Gens liegen. Auf dem Intron 8 sind die Polymorphismen BsmI und ApaI zu finden (Morrison et al. 1994, Hustmeyer et al. 1994). Ein weiterer Polymorphismus liegt am 5'-Ende auf dem sog. Startcodon, also im Bereich der Translations-Initiationsstelle. Dieser wird durch das Restriktionsenzym FokI gespalten und ist aufgrund seiner Lage auch als Startcodon-Polymorphismus (SCP) bekannt (Baker et al. 1998, Gross et al. 1998, Arai et al. 1997, Harris et al. 1997) (siehe Abbildung 3).

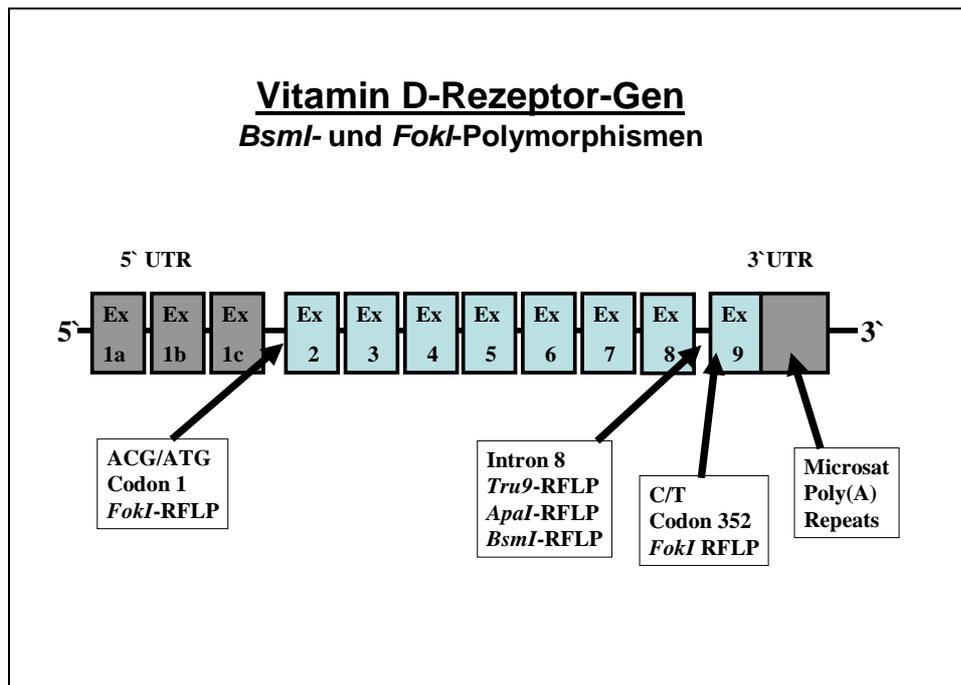


Abb. 3: Struktur des Vitamin D-Rezeptor-Gens

1.4.3 VDR-Gen-Polymorphismus und Knochenstoffwechsel

In der Literatur finden sich viele Studien, die sich mit dem Zusammenhang zwischen bestimmten VDR-Gen-Polymorphismen und der Knochendichte befassen haben.

So führte die Tatsache, dass die Osteocalcin- und Kollagensynthese einer Regulation durch 1,25-Dihydroxyvitamin-D₃ unterliegt, zu der Hypothese über einen Einfluss von VDR-Gen-Polymorphismen auf die Knochendichte. Kelly et al. (1995) fanden heraus, dass bei monozygoten Zwillingen mögliche Unterschiede bei der Knochendichte auf Umweltfaktoren zurückzuführen waren. Bei dizygoten Zwillingen hingegen waren solche Unterschiede sowohl umweltbedingt als auch genetisch zu erklären. Auch andere Untersuchungen an Zwillingen zeigten einen ausgeprägten Effekt genetischer Faktoren auf die BMD-Werte (Slemenda et al. 1991, Pocock et al. 1987).

Eine Studie an präpubertären Mädchen bis hin zu prämenopausalen Frauen führte zu dem Ergebnis, dass bei Vorliegen eines BB-Genotyps (= homozygote Abwesenheit der Schnittstellen für die Restriktionsendonuklease *BsmI*) die Knochendichte der jungen Probandinnen niedriger war als beim Bb- (= heterozygoter Genotyp) und bb-Genotyp (= homozygote Anwesenheit der Restriktionsstellen) (Ferrari et al. 1998). 1995 wurde von Fleet et al. eine Studie

an prämenopausalen amerikanischen Frauen weißer und schwarzer Hautfarbe durchgeführt. Hierbei zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der Häufigkeit der einzelnen BsmI Genotypen zwischen den beiden „Typen“. Jedoch war in der Gesamtgruppe mit dem Genotyp BB eine signifikant niedrigere Knochendichte zu beobachten als bei den Bb- oder bb-Genotypen. Morrison et al. (1994) stellten mit ihrer Studie an dizygoten Zwillingspaaren ähnliche Zusammenhänge fest, ebenso eine Untersuchung an Kaukasierinnen aus Nord Californien (McClure et al. 1997) und an 105 gesunden Indern (Vupputuri et al. 2006). Letztere Studie zeigte, dass die Prävalenz eines Vitamin D-Mangels hoch angesiedelt war. Durch die zusätzliche Untersuchung der VDR-Gen-Polymorphismen TaqI und BsmI konnte weiterhin erkannt werden, dass Probanden mit dem Genotyp TT oder bb insgesamt eine höhere Knochendichte hatten als Tt, BB oder Bb (Vupputuri et al. 2006). Salamone et al. (1996) hingegen kamen zu einem gegenteiligen Ergebnis: Die untersuchten prämenopausalen Frauen zeigten einen signifikanten Zusammenhang des Genotyps bb mit einem reduzierten BMD wohingegen bei den beiden Genotypen BB und Bb die Knochendichte-Werte höher lagen. Ferner zeigen die Studien an postmenopausalen Frauen von Mitra et al. (2006) und Duman et al. (2004), dass die T-Allele des TaqI-Polymorphismus einen positiven Effekt auf BMD-Werte haben, wohingegen die Allele tt, ff und BB mit einer niedrigeren Knochendichte einhergehen.

Keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Vorliegen des BB-Genotyps und einer verminderten Knochendichte ergab die Untersuchung an Probanden mit ausgeprägter Osteoporose im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe (Looney et al. 1995). Auch in einem Kollektiv von nordamerikanischen di- und monozygoten Zwillingspaaren fehlte eine signifikante Beziehung zwischen den VDR-Gen-Polymorphismen BsmI, Apal und TaqI (Hustemeyer et al. 1994). Garnero et al. (1995) kamen mit ihrer Untersuchungsreihe an gesunden prämenopausalen Frauen zu ähnlichen Resultaten.

In weiteren Studien mit einem Kollektiv aus postmenopausalen Frauen mit Osteoporose und jungen gesunden Frauen wurde eine altersabhängige Assoziation zwischen der BMD und VDR-Gen-Polymorphismen diskutiert. Hier konnten bei den osteoporotischen Frauen keine Unterschiede hinsichtlich

bestimmter Genotypen nachgewiesen werden, während der Effekt des Genotyps bei den jungen Frauen ausgeprägter war (Riggs et al. 1995). In den Untersuchungen von Ak et al. (2005) und Kahraman et al. (2004) konnten auch keine Zusammenhänge zwischen einer verminderten Knochendichte bzw. einer Osteomalazie und VDR-Gen-Polymorphismen (Apal, Taql, Bsml) nachgewiesen werden.

Weiterhin beschäftigten sich auch mehrere Studiengruppen mit einem möglichen Zusammenhang zwischen Fokl-Genotypen und der Knochendichte. Hierbei kam es ebenfalls zu teilweise widersprüchlichen Resultaten (Arai et al. 2000, Obermayer-Pietsch et al. 2000 & 2003, Eccleshall et al. 1998, Ferrari et al. 1998, Harris et al. 1997, Gross et al. 1996).

So ergab eine Untersuchung an postmenopausalen Frauen mit und ohne Hyperthyreose keinen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen dem Fokl-Genotyp und Knochendichtewerten (Obermayer-Pietsch et al. 2000). Zu dem gleichen Resultat führte die Studie von Harris et al. (1997) mit prämenopausalen weißen und schwarzen amerikanischen Frauen. Ferrari et al. (1998) konnten ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen Fokl-Polymorphismen und der BMD finden, weder für prämenopausale Frauen noch für präpubertäre Mädchen. In der OFELY-Studie mit prämenopausalen Französisinnen zeigte sich ebenfalls keine Beziehung zwischen Fokl-VDR-Genpolymorphismen und der Knochendichte (Eccleshall et al. 1998).

Aber es gibt auch Studien, die das Gegenteil behaupten und sehr wohl einen signifikanten Zusammenhang von Fokl-Genotypen und der Knochendichte sehen. Hierzu gehören Arai et al. (1997), welche Untersuchungen an prämenopausalen Japanerinnen durchführten. Das Ergebnis lautete hierbei, dass die Probandinnen mit dem Genotyp ff geringere BMD-Werte aufwiesen als mit dem Genotyp FF. Ähnliche Resultate erbrachte eine Studie von Gross et al. (1996) mit postmenopausalen Frauen aus einer mexikanisch-amerikanisch-kaukasischen Population. Lu et al. (2003) kamen mit ihren Untersuchungen an rachitischen Kinder zu dem Resultat, dass F-Allele häufiger mit dieser Knochenmineralisationsstörung assoziiert waren als f-Allele.

Insgesamt lassen sich also aufgrund der derzeit vorliegenden, teilweise sehr widersprüchlichen Studienergebnisse keine eindeutigen Aussagen über einen Zusammenhang zwischen VDR-Genpolymorphismen und der Knochendichte machen.

1.4.4 VDR-Gen-Polymorphismen und das Auftreten verschiedener Krankheiten

Nicht nur Studien über VDR-Gen-Polymorphismen und einen möglichen Zusammenhang zu Veränderungen der Knochendichte wurden bisher veröffentlicht. Auch das Auftreten verschiedener Erkrankungen und die Frage über eine signifikante Assoziation zu den Polymorphismen wurden in neueren Studien diskutiert.

Eine aktuelle Meta-Analyse führte zu dem Ergebnis, dass die VDR-Gen-Polymorphismen BsmI, ApaI und TaqI keinen Einfluss auf die Entstehung eines Mamma-Karzinoms bei der Europäischen Bevölkerung haben. Der FokI-Polymorphismus hingegen schien signifikant häufiger bei Brustkrebs vorzuliegen und könnte somit als Biomarker für das Mamma-Karzinom fungieren (Tang et al. 2009).

Auch Zusammenhänge zum Morbus Crohn und der Colitis ulcerosa wurden diskutiert. Naderi et al. (2008) bewiesen mit ihren Untersuchungen an 230 Patienten mit den chronisch entzündlichen Darmerkrankungen und 150 gesunden Probanden aus dem Iran, dass der FokI-Polymorphismus (im Gegensatz zu BsmI, TaqI und ApaI) häufiger bei den kranken Patienten vorlag.

Eine weitere wissenschaftliche Arbeit in Bezug zum kolorektalen Karzinom in der chinesischen Bevölkerung erlaubt die Aussage, dass der BB-Genotyp des BsmI-Polymorphismus mit einer Senkung des Risikos für die Entstehung des Malignoms einhergeht, wohingegen der FokI-Polymorphismus keinen Einfluss hat (Li et al. 2008). Ferner scheint das B-Allel mit einem höheren Risiko für die Entstehung einer Sarkoidose behaftet zu sein (Takashi et al. 1999).

Li et al. (2007) fanden heraus, dass das t-Allel des TaqI-Gen-Polymorphismus protektiv auf die Entwicklung eines malignen Melanoms wirkt, wohingegen das FokI-f-Allel als Risikofaktor gilt. Das Vorhandensein des ff-Allels scheint weiterhin einen Zusammenhang mit dem Auftreten einer Lungen-Tuberkulose bei Chinesen zu haben (Liu et al. 2003).

In einer Dissertationsschrift zeigte sich, dass TT-Genotypen signifikant häufiger, tt-Genotypen hingegen seltener bei Patienten mit einem Typ 1 Diabetes mellitus im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe auftreten. Die Polymorphismen FokI und BsmI hingegen hätten keinen Einfluss auf diese Stoffwechselerkrankung (Weissmüller 2002). Chang et al. (2000) hingegen kamen zu dem Resultat, dass die Genotypen BB und Bb signifikant häufiger bei Typ 1 Diabetikern zu finden waren.

Weitere Studien wiesen einen immunmodulierenden Effekt des Vitamin D bei Patienten mit ankylosierender Spondylitis (Lange et al. 2001, Lange 2000) und einen FokI-Polymorphismus in Assoziation zur Knochendichte nach (Obermayer-Pietsch et al. 2003).

1.5 Osteomalazie

Bei den beiden Erkrankungen „Osteomalazie“ und „Rachitis“ handelt es sich um systemische Knochenleiden, die zu einer Beeinträchtigung des Knochengewebes bezüglich seiner Funktion, Zusammensetzung und Architektur führen. In Deutschland wird heutzutage das Krankheitsbild „Osteomalazie“ mit Hilfe von Nachweisverfahren steigender Sensitivität zunehmend häufiger diagnostiziert. Betroffen sind überwiegend die ältere Bevölkerung oder Menschen mit chronischen Erkrankungen.

Der Begriff der „Migrantenosteomalazie“ wurde erstmals in den 70er Jahren benutzt. Bei pakistanischen und indischen Migranten in England konnte eine erhöhte Prävalenz eines sekundären Hyperparathyreoidismus und eines Vitamin D-Mangels nachgewiesen werden (Clark et al. 1972, Ford et al. 1972). 1978 führte Offermann eine ähnliche Studie an türkischen Migranten in Deutschland durch. Erkal (2006) konnte mit einer Arbeit an 994 Probanden (566 türkische Migranten in Deutschland, 327 türkische und 101 deutsche in ihrem jeweiligen Heimatland lebende Probanden) beweisen, dass ein Calcitriol-Mangel und sekundärer Hyperparathyreoidismus signifikant häufiger bei den türkischen Probanden vorlag – unabhängig davon, ob sie in der Türkei oder in Deutschland lebten. Des Weiteren fiel auf, dass vor allem die türkischen Frauen – und zwar vor allem die, die ein Kopftuch trugen – besonders stark betroffen waren. Aber nicht nur das Anlegen einer Kopfbedeckung war ausschlaggebend, sondern auch der geographische Wohnsitz („Breitengrad“) schien Einfluss auf

ein mögliches Vitamin D-Defizit zu haben: die Türken, die weiter im Süden lebten, wiesen generell höhere $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Werte auf.

1.5.1 Definition

Ein Mangel an Vitamin D führt mittelfristig zu einer Mineralisationsstörung des Knochens: Bei Kindern entsteht das klinische Bild einer Rachitis, bei Erwachsenen spricht man von einer Osteomalazie (Parfitt 1997). Typischerweise sind biochemisch nachweisbare Veränderungen wie eine verminderte Konzentration der Kalzium- und Phosphat-Spiegel wie auch eine verstärkte Aktivität der alkalischen Phosphatase erkennbar (Herold et al. 2005).

Ein verminderter Vitamin D-Wert ist laborchemisch durch die Messung des 25-Hydroxy-Vitamin D-Spiegels im Serum diagnostizierbar (Kruse et al. 1994). Das Calcitriol ist aufgrund seiner hohen Bindungsaffinität zum Vitamin D-bindenden Protein (DBP) der Hauptmetabolit im Serum und repräsentiert die Speicherform vom Vitamin D. Bei Patienten mit Osteomalazie findet man in der Regel Calcitriol-Werte unterhalb von 5 ng/ml.

1.5.2 Pathophysiologie

Für die Knochenmineralisation sind ausreichende Mengen an Kalzium und Phosphat Voraussetzung. Ferner sind in ihrer Funktion intakte Osteoblasten und Chondrozyten wie auch eine adäquate Kollagenmatrix notwendig. Hemmende Substanzen wie Proteoglykanaggregate oder anorganische Phosphate sollten dagegen nur in niedrigen Konzentrationen vorliegen. Wenn die Osteoblasten nicht-mineralisierte Matrixkomponenten produzieren, entsteht das klinische Bild der Rachitis bzw. der Osteomalazie (Parfitt 1997).

Bei zunehmendem Schweregrad der Osteomalazie kann sich aufgrund des abfallenden Kalziumspiegels im Serum mit nachfolgend gesteigerter Knochenresorption zusätzlich ein sekundärer Hyperparathyroidismus entwickeln. Die Knochenneubildung ist insgesamt reduziert.

Bei noch im Wachstum befindlichen Skelettsystemen fallen Symptome wie eine Wachstumsretardierung, Knochendeformationen, eine überschießende Produktion der Knochenmatrix an Epiphysenfugen (im Bereich der Rippen spricht man von dem sog. „Rosenkranz“), unzureichende Zahnbildung und eine verminderte Muskelkraft auf. Ferner liegen häufig auch Knochenschmerzen,

eine Hypokalzämie und -phosphatämie sowie ein sekundärer (reaktiver) Hyperparathyreoidismus vor (Lu et al. 2003). Bei Adulten lässt sich häufig eine verstärkte Frakturanfälligkeit beobachten. Im Vordergrund jedoch stehen eher uncharakteristische Symptome wie eine allgemeine Muskelschwäche und diffuse Beschwerden und Schmerzen im Bereich der Gelenke und Knochen (Schott et al. 1976) – man spricht auch von einem sogenannten „Pseudorheumatismus“. Aufgrund dieser Symptome, die eher „normalen Altersbeschwerden“ ähneln, stellen sich an Osteomalazie leidende ältere Menschen erst recht spät beim Arzt vor.

1.5.3 Risikofaktoren

Insgesamt gilt für die Osteomalazie, dass man durch verschiedene präventive Maßnahmen ihren Krankheitsverlauf positiv beeinflussen kann (Därr et al. 2008). Diese Erkrankung kann vor allem durch einen Calcitriol-Mangel und eine Vitamin D-Stoffwechselstörung hervorgerufen werden.

Da wie bereits erwähnt die Calcitriol-Synthese stark von der Nierenfunktion abhängt, können Erkrankungen, die in den Nieren lokalisiert sind und hier zu einer Funktionseinschränkung führen, mit einer Störung des Vitamin D-Haushaltes einhergehen (Holick et al. 1972). Auch die Tatsache, dass während der kompletten UV-Exposition laufend Vitamin D gebildet werden kann, erklärt, dass unter Bedingungen limitierter Sonneneinstrahlung (wie z. B. bestimmte Jahres- und Tageszeiten, Sonnenschutzmaßnahmen, Hautpigmentierung und geographische Lage) der Vitamin D-Gehalt vermindert ist (Lu et al. 1992, Matsuoku et al. 1992, Webb et al. 1988). Weiterhin führen auch Stoffwechselerkrankungen auf Leberebene wie auch Malassimilationssyndrome zu einem Vitamin D-Mangel. Hierzu gehören u. a. eine Leberzirrhose, ein Laktasemangel, eine exokrine Pankreasinsuffizienz und ein Zustand nach einer Magenresektion (Seibel & Stracke 1997, Herold et al. 2005). Aber auch ein Defekt auf Ebene des Vitamin D-Rezeptors und in selteneren Fällen eine Störung des Phosphatstoffwechsels können ein $25(\text{OH})\text{D}_3$ -Defizit hervorrufen.

Dies bedeutet also, dass Menschen mit bestimmten Nieren- und Lebererkrankungen, vor allem auch bei chronischen Verläufen, wie auch Patienten mit Malassimilationssyndromen vorbeugend stoffwechselaktive Vitamin D-Metabolite wie z. B. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ einnehmen sollten, um einem

Vitamin D-Mangel entgegenzuwirken. Ebenso ist darauf zu achten, in Wintermonaten oder bei einem Wohnsitz in nördlichen Breitengraden auf eine ausreichende Sonnenexposition zu achten. Es ist auch notwendig, dass vor allem Kinder über die Nahrung ausreichend Vitamin D zugeführt bekommen. In der EsKiMo-Studie wurde in den Jahren 2003 bis 2006 das Ernährungsverhalten von 2500 deutschen Kindern im Alter von 6 bis 11 Jahren untersucht. Das Ergebnis war, dass durchschnittlich gerade einmal 30% der eigentlich empfohlenen DGE-Empfehlung (Deutsche Gesellschaft für Ernährung) für Vitamin D aufgenommen wurden. Aufgrund dieser mangelnden Calcitriol-Zufuhr wurde gefolgert, dass bei Kindern, die sich nur sehr wenig im Freien aufhielten und somit einer nur sehr geringen Sonnenexposition ausgeliefert waren, langfristig mit negativen Folgen für die Knochengesundheit zu rechnen ist (Mensink 2007). Die nur ein Jahr später veröffentlichte DONALD-Studie mit 598 Teilnehmern im Alter von 1 bis 12 Jahren bestätigte die Vitamin D₃-Unterversorgung bei Kindern (Kersting & Bergmann 2008).

1.6 Osteoporose

Die Systemerkrankung Osteoporose gehört zu den häufigsten Knochenerkrankungen und wird definiert als eine lokal begrenzte oder allgemeine Reduktion von Knochenmasse, -struktur und -funktion. Betroffen sind sowohl organische als auch anorganische Anteile des Knochengewebes. Klinisch wird differenziert zwischen einer Osteopenie ohne Knochenfrakturen und einer Osteoporose ohne oder mit bestehender Fraktur, also der klinisch-manifesten Form. Diese wird in eine primäre und eine sekundäre Form unterteilt. Der primären Osteoporose liegen metabolische Störungen des Knochens zugrunde, sie entstehen v. a. durch postmenopausale Änderungen des Hormonhaushaltes. Sekundäre Osteoporoseformen machen insgesamt einen Anteil von weniger als 10% aus und betreffen beide Geschlechter annähernd gleichermaßen. Verursacht wird diese Form z. B. durch fehlende Mobilisation, medikamentöse Therapien (z. B. Corticoide und Zytostatika), Mangelernährung (z. B. durch Malabsorptionsstörungen oder zystische Fibrose) und endokrine Störungen (z. B. Hyperthyreodismus oder -cortisolismus).

Obwohl das Osteoporoserisiko entscheidend durch endokrine und genetische Faktoren beeinflusst wird, spielen auch Lebensstilfaktoren wie körperliche

Aktivität und Ernährung eine wichtige Rolle bei der Knochengesundheit (Ilich & Kerstetter 2000).

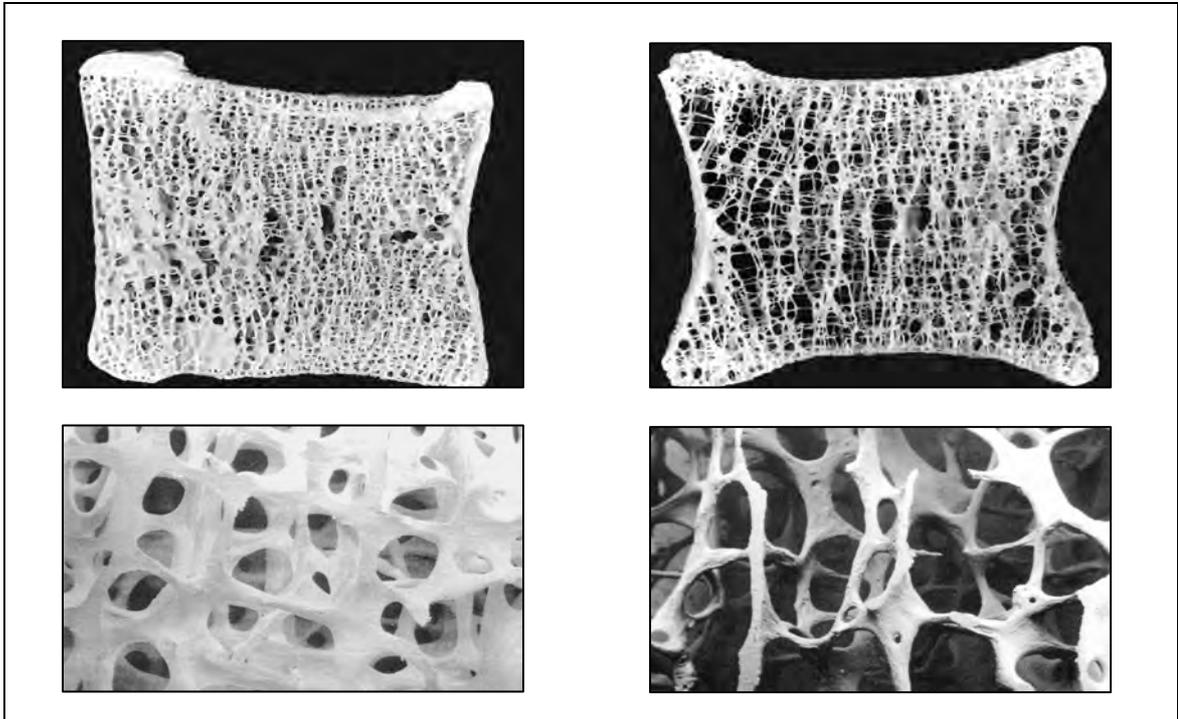


Abb. 4: Wirbelkörper

links: mit gesundem trabekulären Knochen rechts: mit Osteoporose (unten: vergrößert)

(Quelle: Prof. Dr. med. U. Lange, Bad Nauheim)

2 Fragestellung

Als Determinante einer Knochendichteminderung spielen epigenetische (im Laufe des Lebens erworbene) und genetische Risikofaktoren eine entscheidende Rolle. Insbesondere Mutter-Tochter- und Zwillingsstudien untermauern den genetischen Hintergrund, wobei eine 60%ige erbliche Komponente neben Umwelteinflüssen, verschiedenen Erkrankungen und Medikamenten diskutiert wird (Lange & Schulz 2005, Obermayer-Pietsch et al. 2002, 1999, 1997).

Eine Minderung der Knochendichte mit dem Endstadium einer Osteoporose kann zu Frakturen führen und damit auch zu einer deutlichen Einschränkung der Lebensqualität. Erstmals wurde 1994 darüber berichtet, dass ein Polymorphismus des auf Chromosom 12 kodierten Vitamin D-Rezeptors (VDR) die Knochendichte und damit letztendlich osteoporotische Frakturen voraussagen könnte (Morrison et al. 1994). Aber auch andere Kandidatengene (u. a. Östrogen-Rezeptor-Gen, Collagen-I-alpha-1-Gen) wurden in der Zwischenzeit als weitere mögliche genetische Basis bei der Osteoporoseentwicklung detektiert (Cordes et al. 1998, Grant et al. 1996).

Ein Knochenverlust im Sinne der Osteoporose verläuft i. d. R. symptomlos und erst eine manifeste Fraktur stellt für die Betroffenen einen Krankheitswert dar. Zudem sind osteoporotische Frakturen allgemein einer suffizienten Schmerztherapie nur wenig zugänglich.

In Bezug auf die Migrantenosteomalazie ist ein Polymorphismus des VDR von weiterem Interesse. Vitamin D kann nur nach Bindung an seinen VDR biologisch aktiv werden. Bei entsprechenden Polymorphismen des VDR wäre somit eine Alteration der Vitamin D-Wirkung denkbar, wenn zudem noch ein zusätzliches Vitamin D-Defizit vorliegt, wären die Auswirkungen möglicherweise umso ausgeprägter.

In der vorliegenden Arbeit waren daher folgende Fragestellungen von Interesse:

1. Lassen sich zwischen den beiden Kollektiven hinsichtlich der Knochendichteminderung (Osteopenie und Osteoporose) signifikante Unterschiede feststellen?
2. Zeigen türkische Migranten im Vergleich zu altersentsprechenden Deutschen signifikant häufiger ein Vitamin D-Defizit?
3. Zeigen sich signifikante Unterschiede bei beiden Kollektiven bezüglich biochemischer Marker mit Einfluss auf den Knochenstoffwechsel (Parathormon, Kalzium, Osteocalcin, alkalische Phosphatase, Phosphat und β -CrossLaps)?
4. Lassen sich zwischen den beiden Nationalitäten Unterschiede in der Verteilung der VDR-Polymorphismen erkennen?
5. Zeigen detektierbare Polymorphismen des VDR Zusammenhänge mit einer Knochendichteminderung und den laborchemischen Parametern? Sind hier insbesondere geschlechtsspezifische Unterschiede objektivierbar?

3 Methodik und Statistik

3.1 Studienaufbau

An der vorliegenden Studie nahmen insgesamt 229 Probanden im Alter von 21 bis 70 Jahren teil. Sie wurden nach ihrem Herkunftsland in zwei Gruppen eingeteilt: Deutsche und Türken. Die Gesamtzahl der türkischen Migranten beträgt 183 (98 Männer, 85 Frauen), die der Deutschen 46 (13 Männer, 33 Frauen).

Die teilnehmenden Personen mussten mind. 18 Jahre alt sein, bei Frauen war das Vorhandensein der Menopause ein Ausschlusskriterium. Weiterhin wurde sichergestellt, dass kein Proband an einer chronischen Erkrankung leidet, ferner keine Medikamente eingenommen werden, die den Knochenumsatz beeinflussen könnten (Glukokortikoide, Diuretika, Heparin, Antiepileptika, Antazida). Zu den Ausschlusskriterien zählten weiter: ein Alter von über 70 Jahren, die Einnahme von Multivitamin- und / oder Ca^{2+} - / Vitamin D-Präparaten, schwere Allgemeinerkrankungen, Malabsorptionsstörungen und bekannte Knochenerkrankungen.

Von jedem einzelnen Probanden wurde die Knochendichte im LWS-Bereich und am rechten gesamten Schenkelhals osteodensitometrisch gemessen. Weiterhin wurden folgende Laborparameter bestimmt: Parathormon, Kalium, Osteocalcin, Phosphat, alkalische Phosphatase, β -CrossLaps und 25-Vitamin D_3 . Ferner wurde eine molekularbiologische Untersuchung der beiden Vitamin D-Rezeptor-Gen-Polymorphismen Bsm1 und FokI durchgeführt. Hierfür wurde die DNA aus den peripheren Leukozyten gewonnen. Ein Fehlen bzw. Vorhandensein der Schnittstellen für die Restriktionsendonukleasen wurde definiert als „B“, „F“ bzw. „b“, „f“.

Alle Probanden meldeten sich freiwillig zur Teilnahme an der Studie und gaben nach ausführlichen Informationen ihr schriftliches Einverständnis.

3.2 Laborbestimmungen

Nach erfolgter Blutentnahme wurden Proben mit jeweils 20 ml zehn Minuten lang bei 3600 Umdrehungen/min zentrifugiert. Für die weiteren Schritte wurden die Proben in kleinere Portionen verteilt. Es wurde mit dem Serum der Probanden gearbeitet.

Sofern die Laborparameter nicht sofort bestimmt werden konnten, wurden die Blutproben bei -20°C eingefroren und zum nächstmöglichen Zeitpunkt wieder aufgetaut und bearbeitet. Alle Parameter wurden durch Doppelbestimmung parallel ermittelt.

3.2.1 Parathormon intakt

Das Parathormon besteht bekanntlich aus 84 Aminosäuren. Für seine Bestimmung wurde ein ELISA (Enzyme-linked Immuno-Sorbent Assay) angewendet (PTH intact ELISA von DRG Instruments GmbH, Marburg, Germany).

Zwei polyklonale Ziege-Antikörper gegen humanes PTH sind affinitätschromatografisch gereinigt worden. Sie sind für hinreichend definierte Regionen des PTH-Moleküls spezifisch. Einer von den beiden AK ist biotinyliert und spezifisch gegen die mittregionale und C-terminale AS-Sequenz 39-84. Der andere AK, der als Detektions-AK mit Meerrettich-Peroxidase markiert wurde, ist nur regionsspezifisch gegen die N-terminale AS-Sequenz 1-34.

In dem Assay werden Kalibratoren, Kontrollen und Probandenproben gleichzeitig mit dem enzymgekoppelten und einem Biotin-gekoppelten Antikörper in Streptavidin-beschichteten Vertiefungen der Mikroplatte inkubiert. Anschließend erfolgen mehrere Waschungen. Dies erlaubt das Entfernen nicht-gebundener Komponenten. Die an die feste Phase gebundenen Enzyme mit Tetramethylbenzidin inkubiert. Um die Reaktion aufzuhalten, muss eine saure Stopplösung hinzugefügt werden. Dadurch kommt es zu einem Farbumschlag nach gelb und die zum Nachweis erforderlichen Sandwich-Komplexe werden photometrisch messbar.

Die entstehende Farbtintensität ist direkt proportional zu der in der Probe nachgewiesenen iPTH-Konzentration.

Der Normbereich liegt für beide Geschlechter bei 8,3 bis 68 pg/ml.

3.2.2 Kalzium

Der Kalzium-Gehalt in den Proben wurde mit dem Farbttest CA von Roche mit Hilfe eines Hitachi 917-Gerätes ermittelt (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). Nach mehreren Reaktionsschritten entsteht ein violetter Kalzium-o-Kresolphthalein-Komplex. Seine Farbintensität ist photometrisch messbar und direkt proportional zu der Ca^{2+} -Konzentration in der Probe.

Die Normwerte liegen bei 2,15-2,55 mmol/l bzw. 8,6-10,2 mg/dl.

3.2.3 Osteocalcin

Das Osteocalcin wird von Osteoblasten synthetisiert und gilt daher als spezifischer Marker des Knochenumbaus. Aufgrund seiner geringen präanalytischen Stabilität muss es jedoch rasch nach der Blutprobenentnahme gemessen werden.

Für die quantitative Bestimmung diente ein direkter Two-Site-Chemilumineszenz-Immunoassay (CLIA) nach der Sandwich-Methode („LIAISON® Osteocalcin“, DiaSorin Inc., Stillwater, MN, USA).

Als erstes erfolgt die Auftragung eines affinitätschromatografisch gereinigten Maus-Antikörpers gegen synthetisches humanes Osteocalcin auf die feste Phase. Der zweite, ebenfalls affinitätschromatografisch gereinigte Maus-AK wird mit einem Isoluminolderivat konjugiert. Während der Inkubation bindet sich das Osteocalcin an die feste Phase und wird daraufhin durch den Isoluminol-konjugierten AK gebunden. In einem weiteren Schritt muss das ungebundene Material durch einen Spülzyklus entfernt werden. Anschließend werden die Starter-Reagenzien hinzugefügt. Hierdurch wird eine Blitz-Chemilumineszenzreaktion ausgelöst. Das entstehende Lichtsignal wird durch einen Fotovervielfacher als relative Lichteinheiten (RLU) gemessen und ist proportional zur Konzentration von Osteocalcin. Diese wird durch den LIAISON® Analyzer automatisch berechnet und wird in ng/ml angegeben.

Der Referenzwert liegt bei Männern zwischen 12,0 und 51,1 ng/ml. Bei den Frauen vor der Menopause gilt eine Konzentration von 6,5 bis 42,3 ng/ml als normwertig.

3.2.4 Alkalische Phosphatase

Die Konzentration der alkalischen Phosphatase wurde photometrisch mit dem Test ALP flüssig nach IFCC von Roche mit Hilfe eines Hitachi 917-Gerätes ermittelt (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany).

Der Referenzbereich reicht von 40-129 U/l bei Männern und von 35-104 U/l bei Frauen.

3.2.5 Phosphat

Auch für die Messung des Phosphat-Gehaltes wurde ein Test von Roche und das Hitachi 917-Gerät benötigt (PHOS von Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany). Bei diesem Verfahren bildet das anorganische Phosphat mit Ammoniummolybdat in saure Lösung einen Ammoniumphosphomolybdat-Komplex. Dieser wird im ultravioletten Bereich, bei etwa 340 nm, photometrisch gemessen.

Die Normwerte liegen für beide Geschlechter bei 0,87-1,45 mmol/l bzw. 2,7-4,5 mg/dl.

3.2.6 β -CrossLaps

Die β -CrossLaps-Werte wurden immunologisch durch ECLIA (Elektro-Chemi-Lumineszenz-Immunoassay) nach dem Sandwichprinzip bestimmt (β -CrossLaps/serum von Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany).

Zunächst müssen 50 μ l der Probe und ein biotinylierter monoklonaler β -CrossLaps-AK inkubiert werden. Hierbei werden Antigene von Serumbestandteilen freigesetzt. Anschließend wird ein spezifischer monoklonaler β -CrossLaps-AK, welcher mit einem Ruthenium-Komplex markiert wurde, hinzugegeben. Daraufhin entsteht ein Sandwichkomplex, der mit Hilfe von Streptavidin-beschichteten Mikropartikeln an die feste Phase gebunden wird. Dieses Reaktionsgemisch wird schließlich in die Messzelle überführt. Hier werden die Mikropartikel durch magnetische Wirkung auf die Oberfläche der Elektrode fixiert. Danach erfolgt die Entfernung der ungebundenen Substanzen. Durch das Anlegen einer Spannung wird die Chemi-Lumineszenz-Emission induziert und mit einem Fotomultiplier gemessen.

Folgende Tabelle gibt die Normwerte wieder:

Männer	30-50 Jahre	< 0,548 ng/ml
	50-70 Jahre	< 0,704 ng/ml
	> 70 Jahre	< 0,854 ng/ml
Frauen	prämenopausal	< 0,573 ng/ml

Tab. 1: β -CrossLaps-Normwerte

3.2.7 25(OH)-Vitamin D₃

Für die quantitative Bestimmung der 25(OH)Vitamin D₃ wurde ein Enzym-Immuno-Assay (EIA) von der Firma Immundiagnostik (Bensheim, Germany) verwendet. Der Kit arbeitet nach dem Prinzip eines kompetitiven Protein-Bindungs-Assay. Hierbei konkurriert das 25(OH)Vitamin D₃ aus der Probe mit dem des Tracers um die Bindung an das Vitamin D-bindende Protein (VDBP). Am Ende aller Reaktionsschritte, nämlich nach Zugabe einer Stopplösung, wechselt die Farbe von blau nach gelb. Diese Farbentwicklung ist umgekehrt proportional zur in der Probe nachgewiesenen 25(OH)Vitamin D₃-Menge.

Die Normwerte liegen, für beide Geschlechter, bei 10 bis 50 mg/ml.

3.3 Knochendichtemessung

Für die Messung der Knochendichte wurde das nicht-invasiven Verfahrens der Osteodensitometrie (DEXA, Dual Energy X-Ray Absorptiometrie) angewendet. Hierfür wurde ein Lunar DPX Gerät benutzt (LUNAR Radiation Corporation, West Beltline Highway, Madison, Wisconsin 53713, USA). Der Vorteil dieser Methode liegt in der Früherkennung des qualitativ noch normalen, quantitativ aber bereits osteopenischen Knochens (Hagiwara et al. 1994).

Für die Studie wurden immer folgende zwei Stellen gemessen: einmal die Lendenwirbelkörperregion LWK 1 bis 4 in antero-posteriorer Projektion und einmal der gesamte rechte Oberschenkelhals. Die Ergebnisse wurden in Prozent oder als T-Score angegeben. Der altersentsprechende Prozentwert vergleicht die BMD des Probanden mit den erwarteten BMD-Werten einer Referenzpopulation desselben Alters und des gleichen Geschlechtes. Dieser

Vergleich ist notwendig um erkennen zu können, ob eine Person in Bezug auf ihr Alter und Geschlecht von den Normwerten abweicht. Der T-Score hingegen ist definiert als eine Abweichung des gemessenen Wertes von dem Mittelwert eines Referenzkollektivs von gesunden Personen um das 30. Lebensjahr. Die WHO definiert eine normale Knochendichte bei einer Abweichung von weniger als -1 Standardabweichungen. Eine Osteopenie, also eine reduzierte Knochenmasse, liegt vor bei Abweichungen zwischen -1 und -2,5 Standardabweichungen. Von einer Osteoporose ist auszugehen ab einem Wert, der größer als -2,5 Standardabweichungen ist.

Um die Knochendichte der LWS bestimmen zu können, müssen sich die Probanden in Rückenlage befinden. Weiterhin ist eine Flexion der Knie in 45° Stellung notwendig, hierfür wurde ein quadratisches Kissen als Hilfestellung benutzt. Um den BMD-Wert des Schenkelhalses zu ermitteln, mussten die Probanden wieder auf dem Rücken liegen und die Knie etwa 25° nach innen rotieren (Hagiwara et al. 1994). Die gesamte Prozedur nahm einen Zeitaufwand von etwa 10 Minuten in Anspruch.

Die DEXA-Methode basiert auf einer Messung der Strahlungstransmission von zwei separaten Photonen-Energien (38 KeV und 70 KeV) durch ein Medium, das aus zwei unterschiedlichen Komponenten zusammengesetzt ist, nämlich Knochen und Weichteilgewebe. Mit Hilfe der ermittelten abgeschwächten Photonenflussrate beider Energieniveaus, der unabgeschwächten Photonenflussrate und dem linearen Schwächungskoeffizienten kann dann der Mineralgehalt des Knochens, also seine Dichte, errechnet werden. Die Angabe erfolgt in g/cm^2 (Knochenmasse / Knochendichte) (aus: LUNAR® Handbook of Operator Manual).

Für die Messung der Femur- und der LWK-Region beträgt die mittlere Hauteingangsdosis innerhalb des Scanbereichs im 3000 μA -Modus etwa 2,4 mrem. Die effektive Dosis für DEXA-Messungen ist mit 1-3 μSv angegeben (Hagiwara et al. 1994).

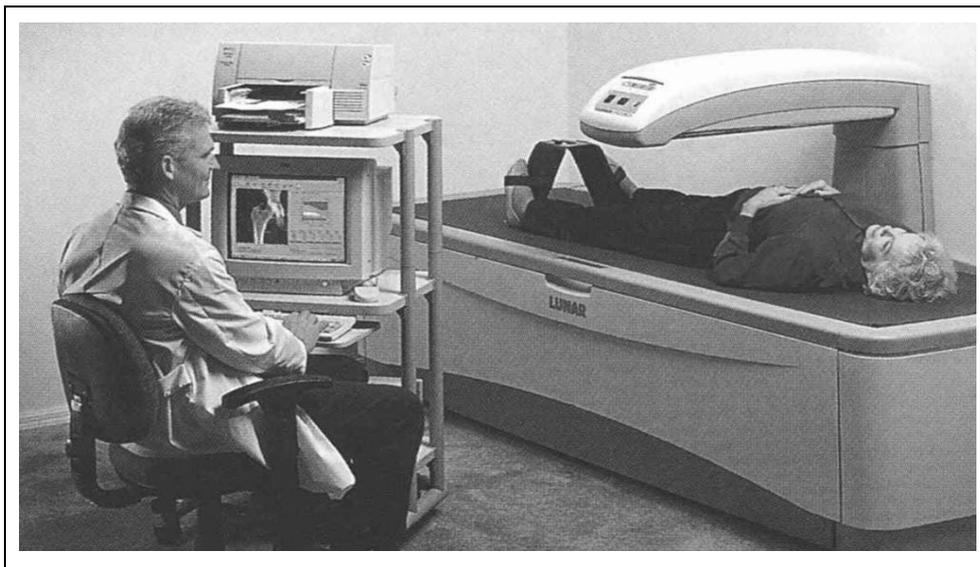


Abb. 5: Osteodensitometrie (Quelle: Prof. Dr. med. U. Lange, Bad Nauheim)

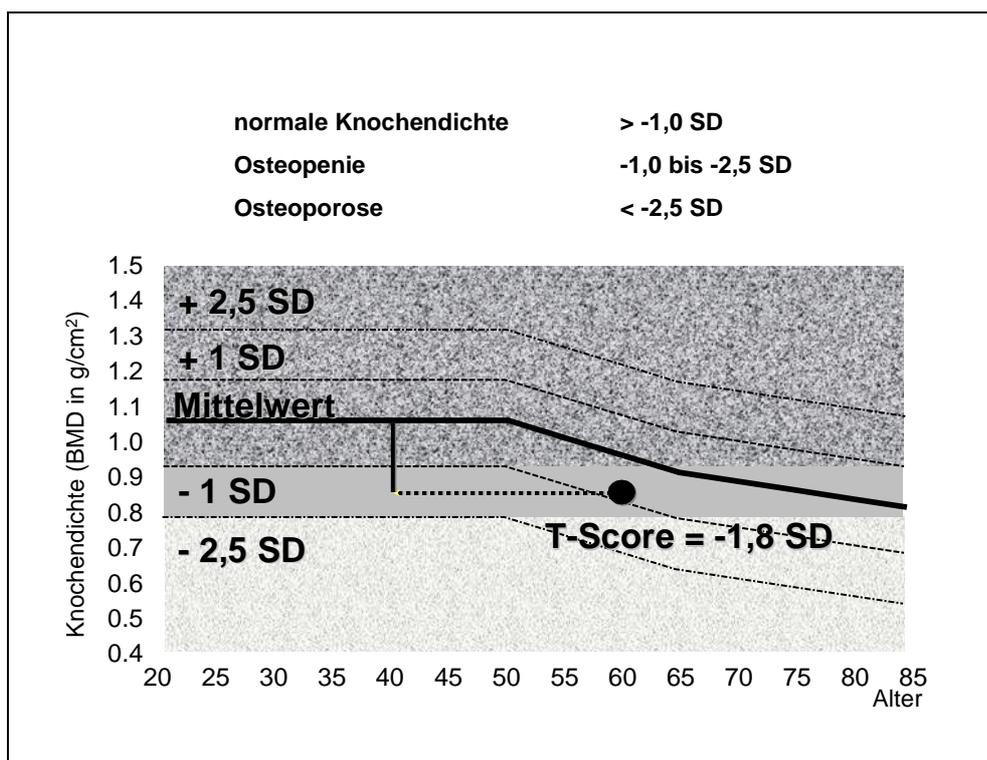


Abb. 6: T-Score einer Knochendichtemessung

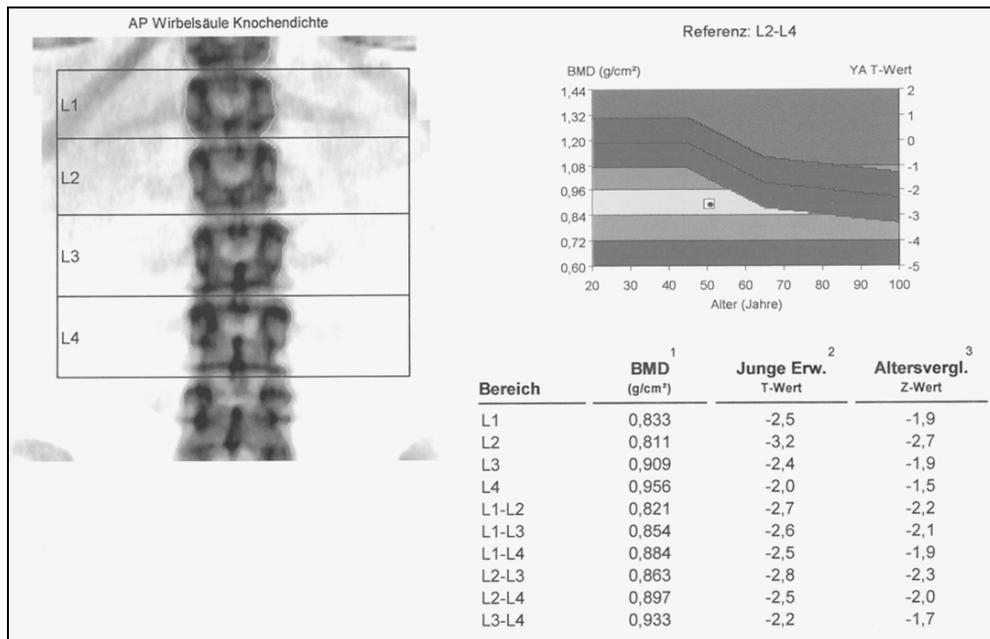


Abb. 7: Knochendichtemessung, LWS (LWK 1-4)

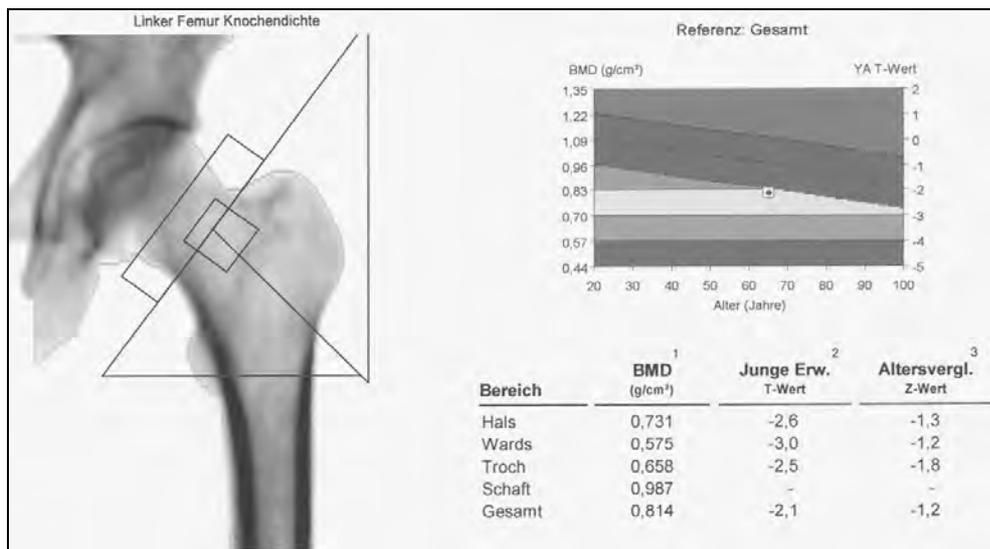


Abb. 8: Knochendichtemessung, Schenkelhals

3.3.1 Statistik

Zunächst erfolgte die probandenweise Auflistung der einzelnen Messwerte. Anschließend wurden diese Messparameter den Gruppen zugeordnet und der Mittelwert und die Standardabweichung ermittelt. Die Auswertung erfolgte unter der Anwendung von SSPS 7.5 für Windows (SSPS Advanced Statistic 6.1, Inc. Chicago, 1994).

Der Mann-Whitney-U-Test diente zur Gleichheit der Mittelwerte der Ränge.

Mittels Fishers-Exact-Test wurden Unterschiede zwischen den beiden Nationalitätengruppen berechnet.

Bei allen erhobenen Parametern wurden die Mittelwerte mit dem T-Test auf Signifikanz geprüft, hierbei wurde $p < 0,05$ als signifikant angenommen. Die Korrelationsberechnungen erfolgten durch die Bestimmung des Pearson Korrelationskoeffizienten (r).

3.4 Molekularbiologische Analysen

Die für die molekularanalytische Genotypisierung benötigte DNA wurde aus den peripheren Leukozyten der Probanden gewonnen. Die entnommenen Blutproben (EDTA-antikoaguliertes Vollblut) mussten für 10 Minuten bei 3000g zentrifugiert werden, so dass eine Dreischichtung der Blutsäule entstand. Die mittlere Schicht zwischen dem Blutplasma und den sedimentierten Erythrozyten wird Buffy coat genannt. Es handelt sich also um eine Mischung aus Leukozyten und Thrombozyten. Dieser Buffy coat wie auch das Blutplasma wurden abpipettiert und weiter bearbeitet.

3.4.1 DNA-Extraktion

Um die DNA aus den peripheren Leukozyten zu isolieren, kam der QiaAmp-Blood-Kit (Quiagen Ltd., Hilden, Germany) zum Einsatz. Buffy coat und Plasma der Probanden wurden abpipettiert und in ein 1,5 ml Tube überführt. 100 μ l wurden mit 20 μ l Proteinkinase K und 180 μ l Puffer ATL versetzt. Unter Zuhilfenahme einer sterilen Spritze mit 20G Nadel und vier- bis fünfmaligem Aufziehen wurde die Zellsuspension homogenisiert und anschließend zehn Minuten bei 55°C in einem Thermozykler (Fa. Eppendorf) inkubiert. Zur Inaktivierung der Proteinkinase K folgte hiernach eine zehnminütige Erhitzung des Lysats in einem auf 99°C erwärmten Wasserbad.

Nach Zusatz von 200 μ l Puffer AL und 210 μ l Ethanol (96-100%) wurde der Ansatz für weitere zehn Minuten bei 70°C inkubiert. Hiernach folgten zwei Waschungen: Das Gemisch wurde in ein mitgeliefertes Filtrertube pipettiert, 500 μ l Puffer AW1 wurden hinzugefügt und für eine Minute bei 6000g zentrifugiert, Das entstehende Ultrazentrifugat wurde verworfen. Dem oberen Reservoir des Filtrertubes wurden in einem weiteren Arbeitsschritt 500 μ l Puffer AW2

hinzugefügt und erneut für eine Minute bei 6000g zentrifugiert. Die DNA wurde durch Zentrifugation bei 20.000g mit 200 µl Aqua dest. aus dem Filtertube eluiert und in einem sterilen 1,5 ml Tube aufgefangen.

3.4.2 Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Die Polymerase-Kettenreaktion ist eine in-vitro-Technik mit der es möglich ist, einen definierten DNA-Abschnitt innerhalb eines Genoms, welcher zwischen zwei bekannten DNA-Sequenzen liegt, zu amplifizieren (= vervielfältigen). Dieser bestimmte zu vervielfältigende Teil kann ein Gen, nur ein Teil eines Gens oder auch eine nicht-kodierende DNA-Sequenz sein. Der Begriff „Kettenreaktion“ bedeutet, dass die Produkte der vorherigen Zyklen als Ausgangsstoffe für den folgenden Zyklus dienen und somit eine exponentielle Amplifikation möglich machen.

Die PCR besteht insgesamt aus 12 bis 50 Zyklen und wird in einem Thermocycler durchgeführt. Hierbei handelt es sich um ein Gerät, welches die in ihr befindlichen Reaktionsgefäße präzise auf die Temperatur erhitzt und kühlt, die für den jeweiligen Schritt benötigt wird.

Für die Reaktion werden Oligonukleotidprimer (= Amplimere) benötigt, also kurze einsträngige DNA-Moleküle, die zu den Enden einer definierten Sequenz der DNA-Matrize (= Template) komplementär sind. Wichtig ist auch eine in allen Lebewesen vorkommende Polymerase, die den denaturierten DNA-Einzelstrang in Gegenwart von Desoxynukleosidtriphosphaten (= dNTP's) durch Verlängerung der angelagerten Primer mittels Einbau von Nukleosiden kopiert. Diese Primer legen auf den Einzelsträngen der DNA jeweils den Startpunkt der Neu-Synthese fest. Der neu produzierte DNA-Strang ist dann komplementär zur Matrize. Ferner sind für eine PCR auch Mg^{2+} -Ionen und Pufferlösungen notwendig, damit die DNA-Polymerase seiner Funktion nachgehen kann.

Jeder Zyklus besteht aus folgenden drei Schritten:

1. Denaturierung (melting): In diesem Schritt wird die doppelsträngige DNA auf etwa 95°C erhitzt. Durch die hohen Temperaturen werden die Wasserstoffbrückenbindungen, die die beiden DNA-Stränge zusammenhalten, aufgebrochen.

2. Im nächsten Schritt der Primerhybridisierung (primer annealing) wird die Temperatur ca. 30 Sekunden lang so hoch gehalten, dass der Primer an die DNA anlagern kann, und zwar am 5'- und am 3'-Ende. Meist liegt diese Temperatur 2 bis 3°C unterhalb des Schmelzpunktes der Primersequenz, also bei etwa 55 bis 65°C.

3. Beim letzten Schritt kommt es zur Elongation (polymerisation): die DNA-Polymerase füllt die Stränge mit Nukleotiden (dNTP's) auf. Dabei fängt sie am 3'-Ende des angelagerten Primers an und arbeitet sich weiter an dem Strang vor. Der Primer wird nicht wieder abgelöst, sondern bildet den Anfang eines neuen Einzelstranges. Thermocycler werden benutzt, um die Reaktionsansätze nach Vollendung aller Zyklen auf Werte um 6°C abzukühlen (MTA Praxis 2002).

In dieser Studie stellte die in H₂O gelöste DNA der Leukozyten das Ausgangsmaterial für die molekularbiologische Genotypisierung dar. Das Vitamin D-Rezeptor-Gen ist bekanntlich auf dem Chromosom 12q13-14 lokalisiert (Labuda et al. 1992). Für die Vervielfältigung der zwei untersuchten Regionen des VDR (nämlich BsmI und FokI) wurden die Primer entsprechend den Untersuchungen von Gross et al. (1996) und Morrison et al. (1994) verwendet.

Pipettiert wurden folgende Ansätze:

4 µl extrahierte DNA, 5 µl 10x Puffer (Fa. Perkin Elmer), 1 µl 3'-Primer (20 pmol/µl), 1 µl 5'-Primer (20 pmol/µl), 0,5 µl dNTP (Eurobio), 0,3 µl AmpliTaq Gold (Fa. Perkin Elmer); ad 50 µl H₂O. Jeder Ansatz wurde in einem PCR-Gerät (Trio-Block, Biometra) unter den folgenden Bedingungen amplifiziert:

<i>Ansatz 1:</i>	<i>Ansatz 2:</i>
B1 und B2 Amplifikation	F1 und F2 Amplifikation
1x 94 °C, 5 Minuten	1x 94 °C, 5 Minuten
40x 94°C, 1 Minute	40x 94°C, 1 Minute
60°C, 1 Minute	60°C, 1 Minute
60°C, 1 Minute	60°C, 1 Minute
1x 72°C, 5 Minuten	1x 72°C, 5 Minuten

Tab. 2: PCR-Bedingungen

3.4.3 Agarose-Gel-Elektrophorese

Von den PCR-Produkten wurden 8 µl mit jeweils 2 µl Ladepuffer vermischt und auf die Slots verteilt. Nachdem eine Spannung von 100 mV bei 1000 mA angelegt wurde, kam es zu einer Wanderung der negativ geladenen DNA von der Kathode in Richtung Anode. Durch gleichzeitiges Auftragen eines genormten Längenmarkers parallel zu einem Slot war es möglich, unter Betrachtung des Gels im 300nm-UV-Transluminatorlicht Größenunterschiede der einzelnen Fragmente zu erkennen. Dies erlaubte eine semiquantitative Beurteilung der Länge der einzelnen Amplikons.

Die Gele wurden zur Dokumentation fotografiert und archiviert.

3.4.4 Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP)

Die Methode des Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus ermöglicht es, mögliche Mutationen innerhalb eines Gen-Abschnitts zu analysieren und mit Hilfe der Gel-Elektrophorese sichtbar zu machen. Hierfür muss ein Amplikon einer bestimmten Länge mit einer Endonuklease vermischt und dann bei der für die Endonuklease optimalen Temperatur T inkubiert werden. Das Enzym spaltet einen Gen-Abschnitt an einer für die Endonuklease spezifischen Stelle. Die Schnittstellen innerhalb eines Allels der in dieser Arbeit verwendeten Restriktions-Endonuklease zeigt folgende Tabelle:

Bsml	FokI
5'...GAATGCN/...3'	5'...GGATG(N) ₉ ...3'
3'...CTTAC/GN...5'	3'...CCTAC(N) ₁₃ ...5'

Tab. 3: Schnittstellen der verwendeten Restriktions-Endonukleasen

Mit den Buchstaben (b) bzw. (f) wird die Anwesenheit einer Schnittstelle für die Bsml- bzw. FokI-Endonuklease gekennzeichnet, eine Abwesenheit hingegen stellen die Buchstaben (B) und (F) dar. Somit ergeben sich für die untersuchten Polymorphismen jeweils drei Möglichkeiten: (bb) und (ff) mit Restriktionsschnittstellen auf beiden Allelen, (BB) und (FF) als Ausdruck einer homozygoten Abwesenheit der Restriktionsstellen und (Bb) und (Ff), welche einen heterozygoten Genotyp zeigen.

Im Anschluss an die PCR erfolgte die Analyse der Allel-Genloci. Hierfür wurden in sterile 1500 µl Tubes folgende Ansätze pipettiert: 8 µl PCR-Puffer, 2 µl 10x Puffer (10 mM Tris-HCl, 10 mM MgCl₂, 100 mM KCl, 100 µl/ml BSA), 1 µl Bsml- bzw. FokI-Endonukelase (10⁴ U/ml), Hybaid-AGS, Heidelberg, 9 µl H₂O. Daraufhin wurden diese Ansätze für insgesamt 10 Stunden inkubiert: für die Bsml-Endonuklease bei 37°C und für die FokI-Endonuklease bei 31°C. Danach folgte eine erneute Auftragung auf ein 2% Agarose-TAE-Gel mit einhergehender Betrachtung unter dem UV-Licht (300 nm). Die Abbildungen 9 und 10 zeigen die entsprechenden Bandenmuster für den Bsml- und FokI-Polymorphismus.

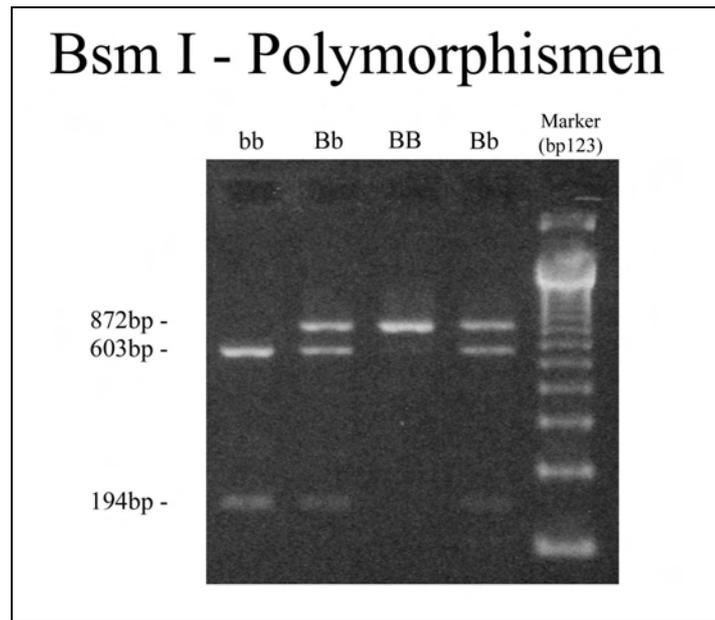


Abb. 9: Gel-Foto zum BsmI-Bandenmuster

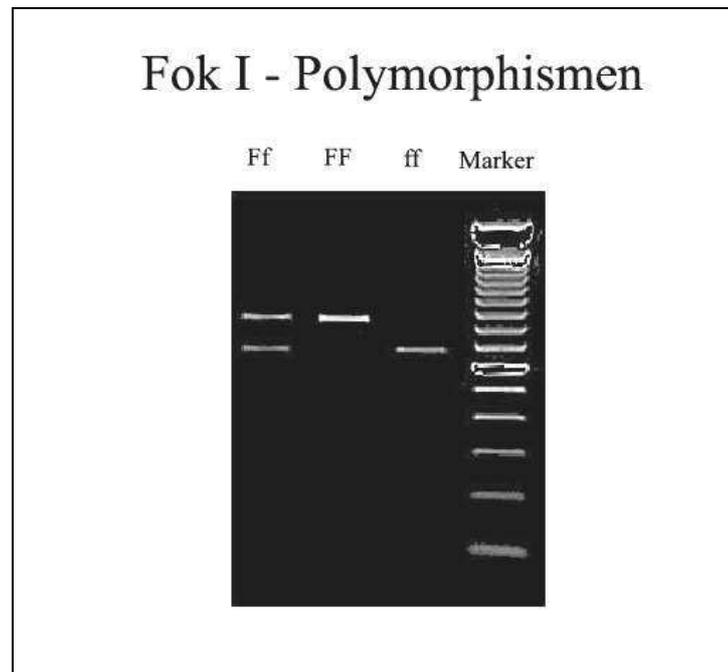


Abb. 10: Gel-Foto zum FokI-Bandenmuster

3.4.5 Statistik

Entsprechend dem Ergebnis der VDR-Genotypisierung wurden die Probanden / -innen in die Subgruppen BB, Bb, bb und FF, Ff, ff unterteilt. Die deskriptive Darstellung der Parameter erfolgt in tabellarischer Form mit Mittelwert, Standardabweichung und der jeweiligen Fallzahl. Im Rahmen der statistischen Analyse wurde eine einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) für die Parameter von Interesse durchgeführt. Als multipler Anschlussstest an die Varianzanalyse wurde aufgrund des ungleichen Stichprobenumfangs der zwei Gruppen der Scheffé-Test verwandt (Sachs 1997). Waren die Voraussetzungen für die Durchführung einer einfaktoriellen Varianzanalyse nicht erfüllt (Normalverteiltheit, Varianzhomogenität), wurde der nichtparametrische Kruskal-Wallis Test mit anschließendem Dunn-Test für multiple Vergleiche durchgeführt (Kruskal et al. 1952 & 1953, Dunn 1964).

Das Signifikanzniveau dieser Studie liegt bei $\alpha = 0,05$.

4 Ergebnisse

In der vorliegenden Studie wurden insgesamt 229 Probanden untersucht. Davon gehörten 183 in die Gruppe der türkischen Migranten, die restlichen 46 Probanden deutscher Herkunft dienten als Kontrollgruppe.

Die exakten Daten des Gesamtkollektivs enthält die folgende Tabelle.

Parameter	Kontrolle	Migranten	p-Wert*
Alter	39,67 ± 14,74	40,96 ± 10,39	0,339
Gewicht	75,79 ± 14,74	75,57 ± 13,32	0,779
Größe	172,84 ± 8,66	163,81 ± 8,70	<0,0005
BMI	25,29 ± 4,54	28,16 ± 4,53	<0,0005
LWS BMD	1,17 ± 0,14	1,16 ± 0,17	0,581
LWS T-Score	-0,15 ± 1,14	-0,34 ± 1,45	0,363
LWS Z-Score	-0,27 ± 1,16	-0,37 ± 1,38	0,486
RF BMD	1,03 ± 0,14	1,04 ± 0,12	0,626
RF T-Score	0,05 ± 1,07	-0,04 ± 0,99	0,837
RF Z-Score	0,01 ± 0,96	0,07 ± 0,89	0,728
Vitamin D	21,86 ± 24,25	8,85 ± 9,90	<0,0005
iPTH	109,48 ± 40,75	109,44 ± 42,54	0,875
AP	59,74 ± 16,65	64,81 ± 19,78	0,098
Phosphat	1,20 ± 0,16	1,10 ± 0,18	<0,0005
Kalzium	2,39 ± 0,14	2,33 ± 0,14	0,005
β-CrossLaps	0,41 ± 0,21	0,35 ± 0,18	0,071
Osteocalcin	16,91 ± 7,89	14,25 ± 4,86	0,034

* p-Wert des Mann-Whitney-U-Tests auf Gleichheit der Mittelwert der Ränge. Signifikante Werte ($p \leq 0,05$) sind fett und kursiv markiert.

Tab. 4: Gesamtkollektiv

Die Migranten unterschieden sich in ihrem Alter nicht signifikant von der Kontrollgruppe. Bedeutende Unterschiede bei den Phosphat-, Kalzium- und Osteocalcin-Konzentrationen waren zwar statistisch gegeben, die Werte lagen aber sämtlich im Normbereich (Tab. 4). Die Migranten zeigten außerdem signifikant höhere BMI-Werte und eine geringere Körpergröße auf.

Die folgende Tabelle gibt zusammenfassend die Häufigkeitsverteilung der jeweiligen Labortwertkonzentrationen bei den türkischen Migranten und der deutschen Kontrollgruppe wieder:

Deutsche	Ca²⁺ (2,15-2,55 mmol/l)	Phosphat (0,87-1,45 mmol/L)	AP (m: 40-129 U/l, w: 35-104)	PTH (8,3-68 pg/ml)	Vit D₃ (10-50mg/ml)	Osteocalcin (m: 12-51,1 ng/ml, w: 6,5- 42,3)	β-CrossLaps (m: 30-50 J. < 0,548 ng/ml, 50-70 J.< 0,704 und w: < 0,573)
im Normbereich	38 (82,6%)	44 (95,7%)	43 (93,5%)	9 (19,6%)	19 (41,3%)	42 (91,3%)	38 (82,6%)
außerhalb der Norm	8 (17,4%)	2 (4,3%)	3 (6,5%)	37 (80,4%)	27 (58,7%)	4 (8,7%)	8 (17,4%)
unter dem Normbereich	3 (6,5%)	0	3 (6,5%)	0	21 (45,7%)	3 (6,5%)	0
über dem Normbereich	5 (10,9 %)	2 (4,3%)	0	37 (80,4%)	6 (13,0%)	1 (2,2%)	8 (17,4%)
türkische Migranten	Ca²⁺ (2,15-2,55 mmol/l)	Phosphat (0,87-1,45 mmol/L)	AP (m: 40-129 U/l, w: 35-104)	PTH (8,3-68 pg/ml)	Vit D₃ (10-50mg/ml)	Osteocalcin (m: 12-51,1 ng/ml, w: 6,5- 42,3)	β-CrossLaps (m: 30-50 J. < 0,548 ng/ml, 50-70 J.< 0,704 und w: < 0,573)
im Normbereich	165 (90,2%)	161 (88,0%)	171 (93,4%)	33 (18,0%)	30 (16,4%)	161 (88,5%)	157 (87,2%)
außerhalb der Norm	18 (19,8%)	22 (12,0%)	12 (6,6%)	150 (82,0%)	153 (83,6%)	21 (11,5%)	23 (12,8%)
unter dem Normbereich	14 (7,7%)	17 (9,3%)	10 (5,5%)	0	152 (83,1%)	21 (11,5%)	0
über dem Normbereich	4 (2,2%)	5 (2,7%)	2 (1,1%)	150 (82,0%)	1 (0,5%)	0	23 (12,8%)

Tab. 5: Laborwerte

Zwischen den beiden Nationalitätengruppen lagen hinsichtlich der Verteilung der Anteile der Osteoporosegrade keine signifikanten Unterschiede vor (Linear-by-Linear Association mit $p=0,115$, Tab. 6). Auch zwischen den beiden Geschlechtergruppen der Migranten konnte hinsichtlich dieser Verteilung keine bedeutende Differenz nachgewiesen werden (Linear-by-Linear Association mit $p=0,284$, Tab. 7). Messtechnisch zeigte sich gemäß den WHO-Kriterien mittels DXA-Messung eine Osteopenie bei 32,2% der türkischen Migranten und bei 32,6% der Deutschen. Eine Osteoporose war bei 8,2% der Migranten ermittelbar, die restlichen 59,6% wiesen normale Knochendichtewerte auf. Bei den Deutschen konnte kein einziger Proband mit Osteoporose gefunden werden, 67,4% waren in Bezug auf ihre BMD-Werte normwertig (Tab. 6).

Anhand der Tabelle 8 lässt sich erkennen, dass zwischen den beiden Nationalitätengruppen hinsichtlich der Verteilung der Anteile der Vitamin D-Normbereiche signifikante Unterschiede vorlagen (Fishers-Exact-Test mit $p < 0,0005$). Eine Vitamin D-Hypovitaminose konnte bei 45,7% der Deutschen und 83,1% der Migranten nachgewiesen werden. Der Anteil der Probanden innerhalb des Normbereichs war bei den Deutschen signifikant höher. Zwischen den Geschlechtern gab es hingegen weder bei den Deutschen (Fishers-Exact-Test mit $p = 0,746$) noch bei den türkischen Migranten (Fishers-Exact-Test mit $p = 0,113$) signifikante Differenzen (Tab. 9 und 10).

Bezüglich der Parameter Parathormon (Fishers-Exact-Test mit $p = 0,832$), Kalzium (Fishers-Exact-Test mit $p = 0,191$), Osteocalcin (Fishers-Exact-Test mit $p = 0,088$), alkalische Phosphatase (Fishers-Exact-Test mit $p = 1,000$), Phosphat (Fishers-Exact-Test mit $p = 0,179$) und β -CrossLaps (Fishers-Exact-Test mit $p = 0,471$) konnten hinsichtlich der Verteilung der Normwert-Anteile zwischen den beiden Nationalitätengruppen keine signifikanten Unterschiede detektiert werden (Tab. 11 bis 16). Ein erhöhtes PTH war bei 82% der Migranten objektivierbar und 6,6 % zeigten die klassische laborchemische Konstellation eines sekundären Hyperparathyreoidismus (Tab. 11 und 17).

Bezogen auf die Verteilung der BsmI-Polymorphismen lassen sich zwischen den türkischen Migranten und den Deutschen als Kontrollkollektiv keine signifikanten Unterschiede nachweisen (Linear-by-Linear Association mit $p = 0,180$, Tab. 18).

Bei der Verteilung der FokI-Polymorphismen hingegen sind signifikante Unterschiede zwischen den beiden Nationalitätengruppen vorhanden (Linear-by-Linear Association mit $p = 0,009$). In der Gruppe der türkischen Migranten findet man eine signifikant höhere Anzahl an FF-Genotypen (Tab. 19).

Außerdem zeigten Frauen aus der Gruppe der Migranten, bei denen ein Ff-Genotyp nachgewiesen werden konnte, sowohl im LWS-Bereich als auch am rechten Schenkelhals verminderte BMD- und T-Score-Werte ($p < 0,046$). Bezeichnende Assoziationen zu den untersuchten Laborparametern waren nicht erkennbar. Die Männer aus der Gruppe der Türken wiesen keine Assoziation zwischen BMD-Werten und FokI-Genotypen auf (Tab. 22 und 23).

Bei den Probanden mit BsmI-Genpolymorphismen ließen sich keine Zusammenhänge mit einer Knochendichteminderung erkennen (Tab. 20 und 21).

		Deutsche	Migranten	gesamt
Osteoporose	Anzahl	0	15	15
	%	0,0%	8,2%	6,6%
Osteopenie	Anzahl	15	59	74
	%	32,6%	32,2%	32,3%
normale KD	Anzahl	31	109	140
	%	67,4%	59,6%	61,1%
gesamt	Anzahl	46	183	229
	%	100,0%	100,0%	100,0%

Tab. 6: Verteilung der Knochendichte bei Deutschen und türkischen Migranten

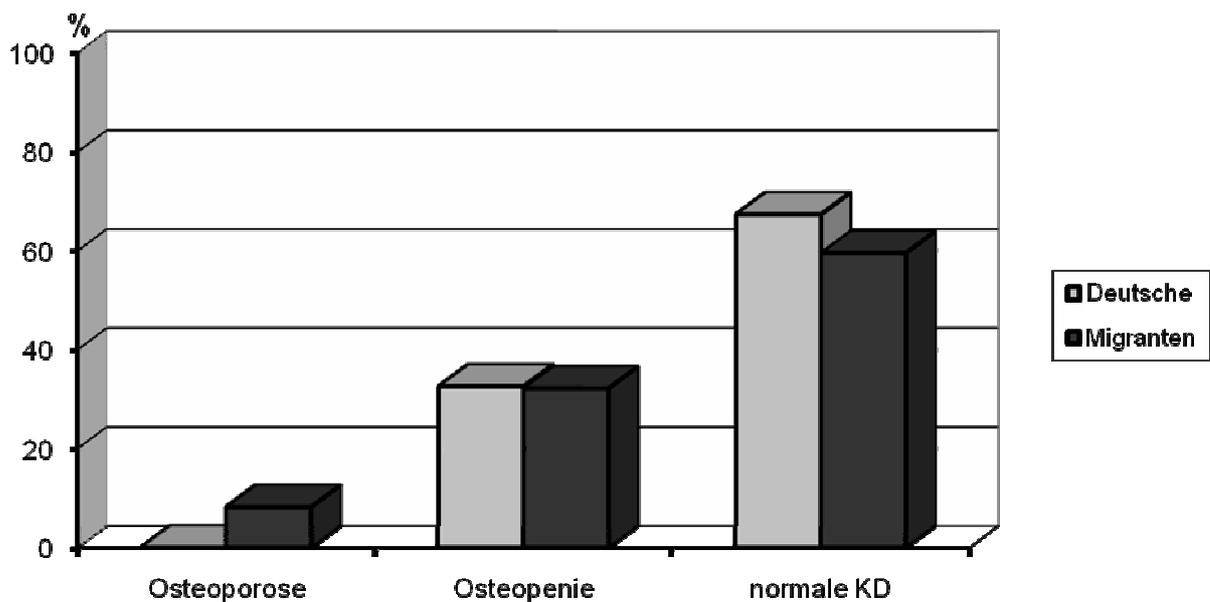


Abb. 11: grafische Verteilung der Knochendichte bei Deutschen und türkischen Migranten

Migranten		weiblich	männlich	gesamt
Osteoporose	Anzahl	7	8	15
	%	7,1%	9,4%	8,2%
Osteopenie	Anzahl	29	30	59
	%	29,6%	35,3%	32,3%
normale KD	Anzahl	62	47	109
	%	63,3%	55,3%	59,5%
gesamt	Anzahl	98	85	183
	%	100,0%	100,0%	100,0%

Tab. 7: Verteilung der Knochendichte bei türkischen Frauen und Männern

25-Vitamin D₃		Deutsche	Migranten	gesamt
innerhalb des Normbereichs	Anzahl	19	30	49
	%	41,3%	16,4%	21,4%
unterhalb des Normbereichs	Anzahl	21	152	173
	%	45,7%	83,1%	75,5%
oberhalb des Normbereichs	Anzahl	6	1	7
	%	13,0%	0,5%	3,1%
gesamt	Anzahl	46	183	229
	%	100,0%	100,0%	100,0%

Tab. 8: Verteilung von 25-Vitamin D₃ bei Deutschen und türkischen Migranten

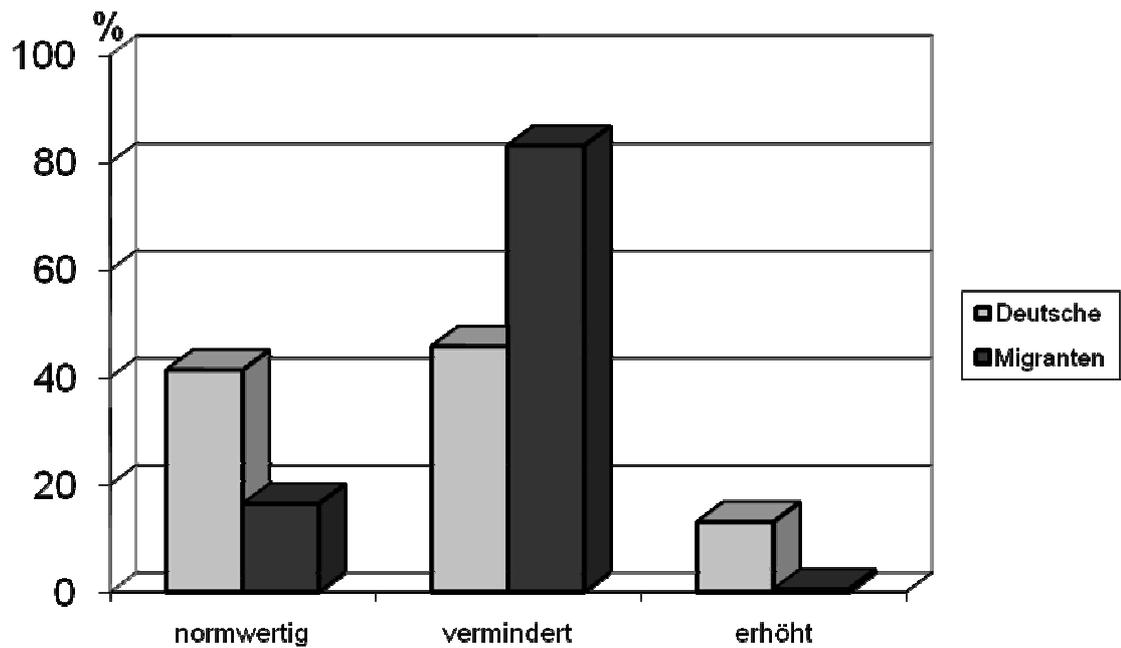


Abb. 12: grafische Verteilung von 25-Vitamin D₃ bei Deutschen und türkischen Migranten

Deutsche 25-Vitamin D ₃		Weiblich	männlich	gesamt
innerhalb des Normbereichs	Anzahl	13	6	19
	%	39,4%	46,3%	41,3%
unterhalb des Normbereichs	Anzahl	15	6	21
	%	45,5%	46,2%	45,7%
oberhalb des Normbereichs	Anzahl	5	1	6
	%	15,1%	7,6%	13,0%
gesamt	Anzahl	33	13	46
	%	100,0%	100,0%	100,0%

Tab. 9: Verteilung von 25-Vitamin D₃ bei deutschen Frauen und Männern

Migranten				
25-Vitamin D₃		weiblich	männlich	gesamt
innerhalb des Normbereichs	Anzahl	12	18	30
	%	12,2%	21,2%	16,4%
unterhalb des Normbereichs	Anzahl	86	66	152
	%	87,8%	77,6%	83,1%
oberhalb des Normbereichs	Anzahl	0	1	1
	%	0,0%	1,2%	0,5%
gesamt	Anzahl	98	85	183
	%	100,0%	100,0%	100,0%

Tab. 10: Verteilung von 25-Vitamin D₃ bei türkischen Frauen und Männern

PTH		Deutsche	Migranten	gesamt
innerhalb des Normbereichs	Anzahl	9	33	42
	%	19,6%	18,0%	18,3%
oberhalb des Normbereichs	Anzahl	37	150	187
	%	80,4%	82,0%	81,7%
gesamt	Anzahl	46	183	229
	%	100,0%	100,0%	100,0%

Tab. 11: Verteilung von Parathormon bei Deutschen und türkischen Migranten

Kalzium		Deutsche	Migranten	gesamt
innerhalb des Normbereichs	Anzahl	38	165	203
	%	82,6%	90,2%	88,6%
unterhalb des Normbereichs	Anzahl	3	14	17
	%	6,5%	7,7%	7,4%
oberhalb des Normbereichs	Anzahl	5	4	9
	%	10,9%	2,2%	4,0%
gesamt	Anzahl	46	183	229
	%	100,0%	100,0%	100,0%

Tab. 12: Verteilung von Kalzium bei Deutschen und türkischen Migranten

Osteocalcin		Deutsche	Migranten	gesamt
innerhalb des Normbereichs	Anzahl	42	161	203
	%	91,3%	88,5%	89,0%
unterhalb des Normbereichs	Anzahl	3	21	24
	%	6,5%	11,5%	10,5%
oberhalb des Normbereichs	Anzahl	1	0	1
	%	2,2%	0,0%	0,5%
gesamt	Anzahl	46	182	228
	%	100,0%	100,0%	100,0%

Tab. 13: Verteilung von Osteocalcin bei Deutschen und türkischen Migranten

AP		Deutsche	Migranten	gesamt
innerhalb des Normbereichs	Anzahl	43	171	214
	%	93,5%	93,4%	93,4%
unterhalb des Normbereichs	Anzahl	3	10	13
	%	6,5%	5,5%	5,7%
oberhalb des Normbereichs	Anzahl	0	2	2
	%	0,0%	1,1%	0,9%
gesamt	Anzahl	46	183	229
	%	100,0%	100,0%	100,0%

Tab. 14: Verteilung von Alkalischer Phosphatase bei Deutschen und türkischen Migranten

Phosphat		Deutsche	Migranten	gesamt
innerhalb des Normbereichs	Anzahl	44	161	205
	%	95,7%	88,0%	89,5%
unterhalb des Normbereichs	Anzahl	0	5	5
	%	0,0%	2,7%	2,2%
oberhalb des Normbereichs	Anzahl	2	17	19
	%	4,3%	9,3%	8,3%
gesamt	Anzahl	46	183	229
	%	100,0%	100,0%	100,0%

Tab. 15: Verteilung von Phosphat bei Deutschen und türkischen Migranten

β-CrossLaps		Deutsche	Migranten	gesamt
innerhalb des Normbereichs	Anzahl	38	157	195
	%	82,6%	87,2%	86,3%
oberhalb des Normbereichs	Anzahl	8	23	31
	%	17,4%	12,8%%	13,7%%
gesamt	Anzahl	46	180	226
	%	100,0%	100,0%	100,0%

Tab. 16: Verteilung von β -CrossLaps bei Deutschen und türkischen Migranten

Ca ²⁺ vermindert, Phosphat normal, PTH erhöht	sHPT	Deutsche	Migranten	gesamt
	ja	Anzahl	3	12
%		6,5%	6,6%	6,6%
nein	Anzahl	43	171	214
	%	93,5%	93,4%	93,4%
gesamt	Anzahl	46	183	229
	%	100,0%	100,0%	100,0%

Tab. 17: Häufigkeit einer laborchemischen Konstellation eines sek. Hyperparathyreoidismus

VDR BsmI-Genotyp		Deutsche	Migranten	gesamt
BB	Anzahl	10	49	59
	%	21,7%	26,8%	25,8%
Bb	Anzahl	12	62	74
	%	26,1%	33,9%	32,3%
bb	Anzahl	24	72	96
	%	52,2%	39,3%	41,9%
gesamt	Anzahl	46	183	229
	%	100,0%	100,0%	100,0%

Tab. 18: Verteilung der BsmI-Genotypen bei Deutschen und türkischen Migranten

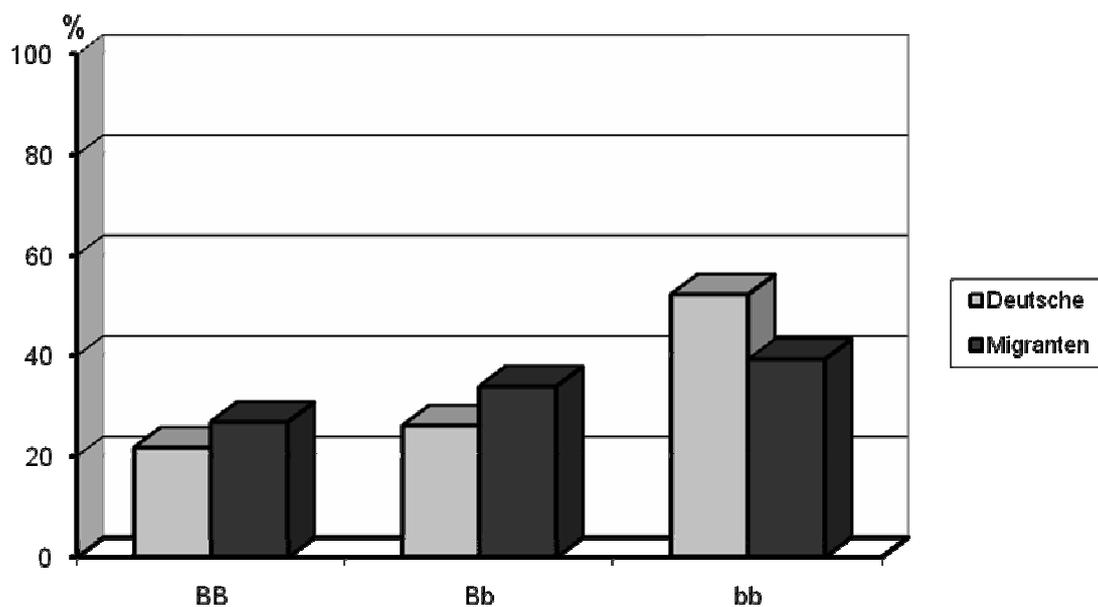


Abb. 13: grafische Verteilung der BsmI-Genotypen bei Deutschen und türkischen Migranten

VDR FokI-Genotyp		Deutsche	Migranten	gesamt
FF	Anzahl	16	99	115
	%	34,8%	54,1%	50,2%
Ff	Anzahl	22	69	91
	%	47,8%	37,7%	39,7%
ff	Anzahl	8	15	26
	%	17,4%	8,2%	10,0%
gesamt	Anzahl	46	183	229
	%	100,0%	100,0%	100,0%

Tab. 19: Verteilung der FokI-Genotypen bei Deutschen und türkischen Migranten

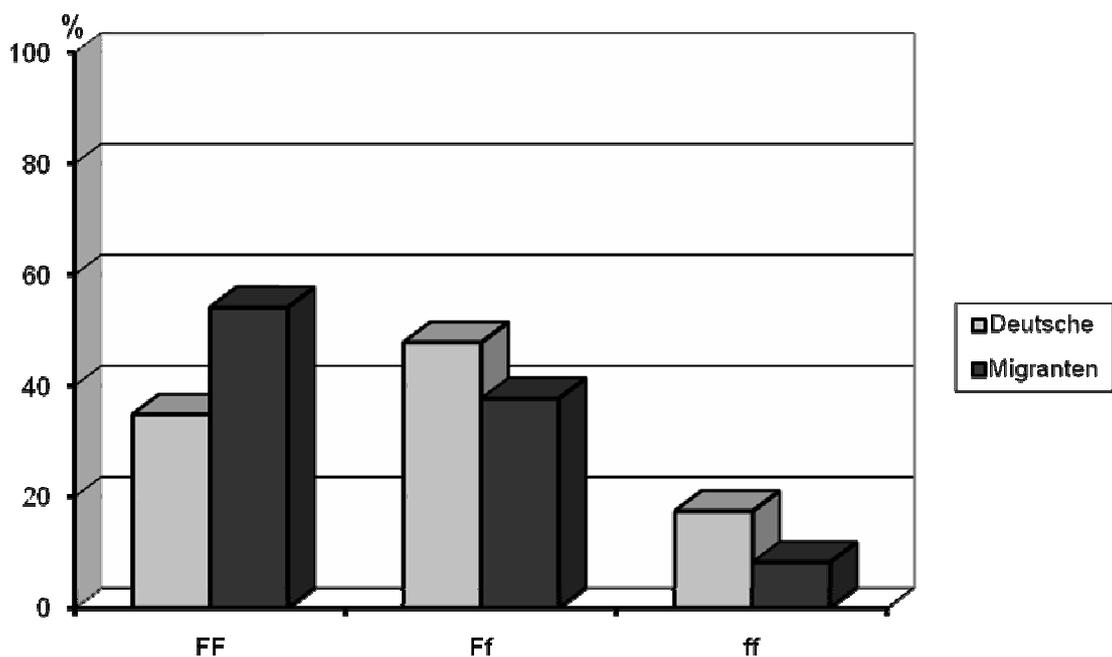


Abb. 14: grafische Verteilung der FokI-Genotypen bei Deutschen und türkischen Migranten

Bezüglich möglicher Assoziationen der Knochendichte und osteologischer Marker zu den jeweiligen BsmI- und FokI-Polymorphismen des VDR-Gens sei auf die Tabellen 20 bis 23 verwiesen.

Tab. 20: Mittelwerte und Standardabweichungen der BsmI-Genotypen bei der deutschen Kontrollgruppe

D / Frauen	BB	N	Bb	N	bb	N	p-Wert*	gesamt	N
Alter	39,14 ± 10,72	8	29,24 ± 10,49	9	37,31 ± 13,57	16	0,196	35,56 ± 12,45	33
Gewicht	73,96 ± 20,98	8	71,08 ± 8,78	9	73,21 ± 14,42	16	0,916	72,81 ± 14,64	33
Größe	166,25 ± 6,59	8	172,06 ± 5,70	9	170,38 ± 7,16	16	0,198	169,83 ± 6,81	33
BMI	26,81 ± 7,77	8	24,18 ± 4,17	9	24,93 ± 3,50	16	0,539	25,18 ± 4,93	33
LWS BMD	1,09 ± 0,17	8	1,24 ± 0,11	9	1,16 ± 0,12	16	0,055	1,16 ± 0,14	33
LWS T-Score	-0,53 ± 1,30	8	0,54 ± 1,02	9	-0,23 ± 0,98	16	0,110	-0,09 ± 1,12	33
LWS Z-Score	-0,86 ± 1,54	8	0,42 ± 0,84	9	-0,26 ± 0,91	16	0,063	-0,22 ± 1,14	33
RF BMD	1,03 ± 0,15	8	1,05 ± 0,14	9	0,98 ± 0,10	16	0,412	1,01 ± 0,12	33
RF T-Score	0,29 ± 1,20	8	0,39 ± 1,18	9	-0,15 ± 0,84	16	0,394	0,10 ± 1,03	33
RF Z-Score	0,23 ± 1,14	8	0,29 ± 1,10	9	-0,18 ± 0,81	16	0,448	0,05 ± 0,97	33
Vitamin D	12,16 ± 8,99	8	29,01 ± 20,57	9	27,35 ± 34,57	16	0,364	24,12 ± 27,04	33
iPTH	90,80 ± 33,01	8	113,84 ± 36,79	9	112,84 ± 42,96	16	0,383	107,77 ± 39,21	33
AP	54,25 ± 17,27	8	65,78 ± 17,94	9	54,56 ± 12,96	16	0,190	57,55 ± 15,83	33
Phosphat	1,23 ± 0,10	8	1,36 ± 0,08	9	1,19 ± 0,17	16	0,013**	1,24 ± 0,15	33
Kalzium	2,34 ± 0,09	8	2,35 ± 0,19	9	2,41 ± 0,14	16	0,473	2,38 ± 0,15	33
β-CrossLaps	0,45 ± 0,19	8	0,48 ± 0,26	9	0,34 ± 0,21	16	0,297	0,40 ± 0,22	33
Osteocalcin	14,08 ± 2,93	8	17,52 ± 5,17	9	16,76 ± 10,11	16	0,631	16,32 ± 7,63	33

** Unterschiede in den Gruppen bb vs. Bb

Deutsche Frauen mit dem Genotyp bb wiesen im Vergleich zum Genotyp Bb signifikant niedrigere Phosphat-Spiegel auf, wobei diese Werte sämtlich im Normbereich lagen.

D / Männer	BB	N	Bb	N	bb	N	p-Wert*	gesamt	N
Alter	37,00 ± 12,73	2	34,53 ± 4,71	3	39,09 ± 17,15	8		37,72 ± 13,88	13
Gewicht	90,00 ± 5,23	2	79,13 ± 9,56	3	83,24 ± 14,78	8		83,33 ± 12,52	13
Größe	177,50 ± 2,12	2	178,50 ± 11,82	3	181,94 ± 8,52	8		180,46 ± 8,36	13
BMI	28,40 ± 2,26	2	24,83 ± 0,57	3	25,15 ± 4,20	8		25,58 ± 3,51	13
LWS BMD	1,34 ± 0,16	2	1,24 ± 0,18	3	1,14 ± 0,10	8		1,19 ± 0,14	13
LWS T-Score	1,00 ± 1,13	2	0,10 ± 1,61	3	-0,76 ± 0,94	8		-0,29 ± 1,23	13
LWS Z-Score	0,45 ± 1,20	2	0,03 ± 1,50	3	-0,79 ± 1,15	8		-0,41 ± 1,24	13
RF BMD	1,23 ± 0,37	2	1,08 ± 0,04	3	1,03 ± 0,12	8		1,07 ± 0,16	13
RF T-Score	1,45 ± 2,33	2	-0,10 ± 0,30	3	-0,45 ± 0,89	8		-0,08 ± 1,19	13
RF Z-Score	1,05 ± 2,33	2	-0,03 ± 0,55	3	-0,38 ± 0,58	8		-0,08 ± 0,98	13
Vitamin D	10,04 ± 2,38	2	33,75 ± 20,82	3	11,02 ± 7,37	8		16,12 ± 14,34	13
iPTH	146,09 ± 113,11	2	80,75 ± 37,83	3	118,17 ± 23,93	8		113,83 ± 45,81	13
AP	77,00 ± 12,73	2	72,33 ± 25,38	3	59,75 ± 15,92	8		65,31 ± 18,01	13
Phosphat	1,08 ± 0,22	2	1,02 ± 0,06	3	1,12 ± 0,14	8		1,09 ± 0,14	13
Kalzium	2,46 ± 0,02	2	2,44 ± 0,12	3	2,41 ± 0,11	8		2,42 ± 0,10	13
β-CrossLaps	0,36 ± 0,08	2	0,38 ± 0,04	3	0,44 ± 0,20	8		0,41 ± 0,16	13
Osteocalcin	11,15 ± 5,87	2	16,97 ± 9,57	3	20,76 ± 8,67	8		18,41 ± 8,66	13

Bei den deutschen Männern ließen sich keine signifikanten Assoziationen objektivieren.

Tab. 21: Mittelwerte und Standardabweichungen der Bsml-Genotypen bei den türkischen Migrantinnen

TK / Frauen	BB	N	Bb	N	bb	N	p-Wert*	gesamt	N
Alter	41,27 ± 7,36	31	39,53 ± 10,26	25	39,98 ± 9,11	42	0,739	40,27 ± 8,86	98
Gewicht	69,96 ± 10,25	31	71,68 ± 15,53	25	71,73 ± 13,65	42	0,831	71,16 ± 13,10	98
Größe	156,48 ± 5,93	31	160,02 ± 7,02	25	158,87 ± 5,70	42	0,087	158,41 ± 6,23	98
BMI	28,52 ± 3,99	31	27,89 ± 5,32	25	28,46 ± 5,67	42	0,881	28,33 ± 5,05	98
LWS BMD	1,16 ± 0,16	31	1,14 ± 0,18	25	1,18 ± 0,17	42	0,677	1,16 ± 0,17	98
LWS T-Score	-0,19 ± 1,31	31	-0,40 ± 1,51	25	-0,11 ± 1,45	42	0,714	-0,21 ± 1,42	98
LWS Z-Score	-0,26 ± 1,29	31	-0,42 ± 1,45	25	-0,16 ± 1,33	42	0,748	-0,26 ± 1,34	98
RF BMD	1,03 ± 0,12	31	1,03 ± 0,15	25	1,01 ± 0,13	42	0,743	1,02 ± 0,13	98
RF T-Score	0,26 ± 0,96	31	0,14 ± 1,12	25	0,03 ± 1,04	42	0,645	0,13 ± 1,03	98
RF Z-Score	0,27 ± 0,84	31	0,17 ± 0,99	25	0,00 ± 0,92	42	0,438	0,13 ± 0,91	98
Vitamin D	8,90 ± 7,77	31	8,92 ± 7,42	25	6,47 ± 2,78	42	0,145	7,86 ± 6,09	98
iPTH	110,92 ± 44,85	31	112,90 ± 48,34	25	97,97 ± 37,09	42	0,284	105,88 ± 42,77	98
AP	56,39 ± 13,43	31	63,04 ± 18,66	25	58,43 ± 18,83	42	0,350	58,96 ± 17,27	98
Phosphat	1,13 ± 0,17	31	1,13 ± 0,17	25	1,09 ± 0,13	42	0,476	1,11 ± 0,15	98
Kalzium	2,27 ± 0,19	31	2,33 ± 0,13	25	2,32 ± 0,15	42	0,335	2,31 ± 0,16	98
β-CrossLaps	0,24 ± 0,10	30	0,36 ± 0,18	25	0,29 ± 0,15	41	0,013**	0,29 ± 0,15	96
Osteocalcin	13,29 ± 5,05	31	14,77 ± 5,05	25	13,31 ± 5,03	42	0,457	13,68 ± 5,03	98

** Unterschiede in den Gruppen BB vs. Bb

Migrantinnen mit dem Genotyp Bb hatten signifikant höhere β-CrossLaps-Werte als mit dem Genotyp BB.

TK / Männer	BB	N	Bb	N	bb	N	p-Wert*	gesamt	N
Alter	42,19 ± 8,86	18	46,06 ± 13,28	37	42,18 ± 10,73	30	0,316	43,87 ± 11,62	85
Gewicht	83,26 ± 11,45	18	81,10 ± 11,76	37	78,52 ± 11,84	30	0,384	80,65 ± 11,72	85
Größe	167,33 ± 6,64	18	171,43 ± 6,59	37	169,93 ± 6,83	30	0,108	170,04 ± 6,78	85
BMI	29,75 ± 3,31	18	27,66 ± 4,00	37	27,25 ± 3,76	30	0,076	27,96 ± 3,86	85
LWS BMD	1,18 ± 0,17	18	1,18 ± 0,16	37	1,12 ± 0,19	30	0,424	1,16 ± 0,17	85
LWS T-Score	-0,40 ± 1,47	18	-0,36 ± 1,37	37	-0,72 ± 1,63	30	0,582	-0,50 ± 1,48	85
LWS Z-Score	-0,51 ± 1,42	18	-0,30 ± 1,34	37	-0,70 ± 1,54	30	0,528	-0,49 ± 1,42	85
RF BMD	1,06 ± 0,14	18	1,06 ± 0,11	37	1,04 ± 0,11	30	0,792	1,06 ± 0,12	85
RF T-Score	-0,22 ± 1,12	18	-0,20 ± 0,86	37	-0,29 ± 0,90	30	0,919	-0,23 ± 0,92	85
RF Z-Score	-0,11 ± 0,99	18	0,09 ± 0,85	37	-0,05 ± 0,84	30	0,691	0,00 ± 0,87	85
Vitamin D	8,15 ± 5,10	18	8,95 ± 6,20	37	12,35 ± 20,29	30	0,453	9,98 ± 12,93	85
iPTH	117,56 ± 39,53	18	109,41 ± 38,40	37	116,23 ± 48,58	30	0,730	113,54 ± 42,15	85
AP	69,44 ± 18,27	18	70,76 ± 18,98	37	73,83 ± 23,60	30	0,737	71,56 ± 20,43	85
Phosphat	1,05 ± 0,19	18	1,10 ± 0,22	37	1,09 ± 0,20	30	0,744	1,08 ± 0,20	85
Kalzium	2,31 ± 0,13	18	2,35 ± 0,11	37	2,39 ± 0,09	30	0,079	2,35 ± 0,11	85
β-CrossLaps	0,40 ± 0,18	18	0,42 ± 0,20	36	0,41 ± 0,17	30	0,947	0,41 ± 0,18	84
Osteocalcin	15,39 ± 4,68	18	15,18 ± 5,19	36	14,34 ± 3,75	30	0,675	14,93 ± 4,58	84

* p-Wert des F-Tests der Varianzanalyse (D/m: keine Tests, da N zu klein)

Bei den männlichen türkischen Migrantinnen konnten keine signifikanten Zusammenhänge nachgewiesen werden.

Tab. 22: Mittelwerte und Standardabweichungen der Fokl-Genotypen bei der deutschen Kontrollgruppe

D / Frauen	FF	N	Ff	N	ff	N	p-Wert*	gesamt	N
Alter	36,35 ± 16,55	10	35,91 ± 10,56	18	32,68 ± 11,72	5	0,859	35,56 ± 12,45	33
Gewicht	74,23 ± 11,49	10	71,99 ± 14,76	18	72,92 ± 21,98	5	0,932	72,81 ± 14,64	33
Größe	171,20 ± 6,17	10	169,03 ± 6,57	18	170,00 ± 9,72	5	0,732	169,83 ± 6,81	33
BMI	25,54 ± 5,90	10	25,12 ± 4,77	18	24,68 ± 4,33	5	0,951	25,18 ± 4,93	33
LWS BMD	1,16 ± 0,14	10	1,20 ± 0,14	18	1,04 ± 0,07	5	0,063	1,16 ± 0,14	33
LWS T-Score	0,03 ± 0,90	10	0,15 ± 1,18	18	-1,20 ± 0,64	5	0,047**	-0,09 ± 1,12	33
LWS Z-Score	-0,13 ± 1,03	10	0,06 ± 1,15	18	-1,38 ± 0,66	5	0,038	-0,22 ± 1,14	33
RF BMD	1,02 ± 0,09	10	1,03 ± 0,14	18	0,95 ± 0,13	5	0,522	1,01 ± 0,12	33
RF T-Score	0,18 ± 0,74	10	0,19 ± 1,16	18	-0,36 ± 1,07	5	0,564	0,10 ± 1,03	33
RF Z-Score	0,17 ± 0,80	10	0,13 ± 1,05	18	-0,50 ± 0,98	5	0,400	0,05 ± 0,97	33
Vitamin D	21,22 ± 17,76	10	28,07 ± 33,13	18	15,68 ± 17,21	5	0,625	24,12 ± 27,04	33
iPTH	128,98 ± 32,86	10	106,37 ± 38,80	18	70,39 ± 24,27	5	0,018***	107,77 ± 39,21	33
AP	60,00 ± 16,75	10	55,67 ± 15,05	18	59,40 ± 19,37	5	0,766	57,55 ± 15,83	33
Phosphat	1,26 ± 0,16	10	1,23 ± 0,15	18	1,28 ± 0,16	5	0,773	1,24 ± 0,15	33
Kalzium	2,43 ± 0,15	10	2,34 ± 0,14	18	2,40 ± 0,16	5	0,268	2,38 ± 0,15	33
β-CrossLaps	0,41 ± 0,24	10	0,39 ± 0,24	18	0,43 ± 0,19	5	0,937	0,40 ± 0,22	33
Osteocalcin	17,49 ± 11,47	10	16,31 ± 5,91	18	14,00 ± 3,28	5	0,718	16,32 ± 7,63	33

** Unterschiede in den Gruppen Ff vs. ff, *** Unterschiede in den Gruppen FF vs. Ff

Deutsche Frauen mit dem Genotyp ff zeigten signifikant niedrigere T-Score-Werte im Bereich der LWS als mit dem Genotyp Ff. Weitere Signifikanzen waren im Bereich der PTH-Konzentrationen objektivierbar: FF-genotypische Frauen hatten höhere Werte als deutsche Frauen mit dem Ff-Genotyp.

D / Männer	FF	N	Ff	N	ff	N	p-Wert*	gesamt	N
Alter	37,15 ± 13,96	6	30,03 ± 4,19	4	49,10 ± 18,13	3		37,72 ± 13,88	13
Gewicht	84,03 ± 13,69	6	78,30 ± 10,80	4	88,63 ± 14,25	3		83,33 ± 12,52	13
Größe	183,75 ± 8,26	6	178,50 ± 10,12	4	176,50 ± 5,64	3		180,46 ± 8,36	13
BMI	24,77 ± 2,88	6	24,68 ± 3,96	4	28,40 ± 3,77	3		25,58 ± 3,51	13
LWS BMD	1,23 ± 0,11	6	1,26 ± 0,16	4	1,04 ± 0,06	3		1,19 ± 0,14	13
LWS T-Score	0,00 ± 1,03	6	0,33 ± 1,22	4	-1,70 ± 0,50	3		-0,29 ± 1,23	13
LWS Z-Score	-0,18 ± 1,05	6	0,33 ± 0,95	4	-1,83 ± 0,93	3		-0,41 ± 1,24	13
RF BMD	1,05 ± 0,09	6	1,16 ± 0,24	4	1,00 ± 0,12	3		1,07 ± 0,16	13
RF T-Score	-0,18 ± 0,66	6	0,55 ± 1,87	4	-0,70 ± 0,87	3		-0,08 ± 1,19	13
RF Z-Score	-0,27 ± 0,41	6	0,53 ± 1,65	4	-0,50 ± 0,46	3		-0,08 ± 0,98	13
Vitamin D	14,52 ± 8,63	6	12,42 ± 6,73	4	24,24 ± 29,07	3		16,12 ± 14,34	13
iPTH	111,04 ± 29,68	6	126,26 ± 70,55	4	102,83 ± 49,05	3		113,83 ± 45,81	13
AP	67,17 ± 20,11	6	66,00 ± 20,12	4	60,67 ± 16,86	3		65,31 ± 18,01	13
Phosphat	1,04 ± 0,13	6	1,20 ± 0,15	4	1,03 ± 0,05	3		1,09 ± 0,14	13
Kalzium	2,40 ± 0,07	6	2,43 ± 0,06	4	2,45 ± 0,20	3		2,42 ± 0,10	13
β-CrossLaps	0,48 ± 0,20	6	0,36 ± 0,11	4	0,33 ± 0,06	3		0,41 ± 0,16	13
Osteocalcin	21,52 ± 10,80	6	18,98 ± 5,79	4	11,43 ± 2,31	3		18,41 ± 8,66	13

Bei den deutschen Männern gab es keine Signifikanzen.

Tab. 23: Mittelwerte und Standardabweichungen der Fokl-Genotypen bei den türkischen Migranten

TK / Frauen	FF	N	Ff	N	ff	N	p-Wert*	gesamt	N
Alter	40,18 ± 8,81	53	40,43 ± 9,34	38	40,07 ± 7,53	7	0,989	40,27 ± 8,86	98
Gewicht	73,10 ± 13,07	53	67,89 ± 13,29	38	74,17 ± 9,60	7	0,142	71,16 ± 13,10	98
Größe	158,35 ± 6,93	53	157,87 ± 4,89	38	161,79 ± 6,93	7	0,312	158,41 ± 6,23	98
BMI	29,10 ± 4,90	53	27,20 ± 5,06	38	28,64 ± 5,80	7	0,207	28,33 ± 5,05	98
LWS BMD	1,19 ± 0,17	53	1,11 ± 0,16	38	1,23 ± 0,14	7	0,046	1,16 ± 0,17	98
LWS T-Score	0,03 ± 1,43	53	-0,65 ± 1,36	38	0,34 ± 1,09	7	0,045	-0,21 ± 1,42	98
LWS Z-Score	-0,08 ± 1,34	53	-0,59 ± 1,36	38	0,13 ± 0,94	7	0,141	-0,26 ± 1,34	98
RF BMD	1,05 ± 0,13	53	0,98 ± 0,13	38	1,06 ± 0,11	7	0,033	1,02 ± 0,13	98
RF T-Score	0,31 ± 0,99	53	-0,19 ± 1,04	38	0,47 ± 0,89	7	0,045	0,13 ± 1,03	98
RF Z-Score	0,28 ± 0,88	53	-0,12 ± 0,95	38	0,34 ± 0,74	7	0,099	0,13 ± 0,91	98
Vitamin D	7,96 ± 6,10	53	8,11 ± 6,62	38	5,78 ± 0,47	7	0,643	7,86 ± 6,09	98
iPTH	102,99 ± 40,59	53	110,02 ± 44,25	38	105,28 ± 55,13	7	0,745	105,88 ± 42,77	98
AP	59,91 ± 17,25	53	57,61 ± 17,72	38	59,14 ± 17,03	7	0,824	58,96 ± 17,27	98
Phosphat	1,10 ± 0,16	53	1,12 ± 0,15	38	1,20 ± 0,14	7	0,279	1,11 ± 0,15	98
Kalzium	2,32 ± 0,18	53	2,29 ± 0,14	38	2,34 ± 0,10	7	0,622	2,31 ± 0,16	98
β-CrossLaps	0,31 ± 0,15	51	0,28 ± 0,16	38	0,25 ± 0,08	7	0,372	0,29 ± 0,15	96
Osteocalcin	13,95 ± 4,86	53	13,78 ± 5,51	38	11,03 ± 3,02	7	0,351	13,68 ± 5,03	98

Bei den türkischen Migrantinnen mit dem Genotyp Ff waren signifikant niedrige BMD- und T-Score-Werte sowohl im Bereich der LWS als auch am rechten Schenkelhals gesamt erkennbar.

TK / Männer	FF	N	Ff	N	ff	N	p-Wert*	gesamt	N
Alter	43,20 ± 10,94	46	43,51 ± 13,08	31	49,11 ± 9,07	8	0,409	43,87 ± 11,62	85
Gewicht	80,37 ± 11,92	46	79,75 ± 11,79	31	85,74 ± 10,30	8	0,429	80,65 ± 11,72	85
Größe	169,76 ± 5,99	46	169,07 ± 7,37	31	175,38 ± 7,19	8	0,057	170,04 ± 6,78	85
BMI	27,95 ± 3,79	46	27,99 ± 4,24	31	27,88 ± 2,99	8	0,997	27,96 ± 3,86	85
LWS BMD	1,15 ± 0,17	46	1,18 ± 0,18	31	1,14 ± 0,16	8	0,640	1,16 ± 0,17	85
LWS T-Score	-0,56 ± 1,46	46	-0,33 ± 1,55	31	-0,76 ± 1,41	8	0,692	-0,50 ± 1,48	85
LWS Z-Score	-0,57 ± 1,38	46	-0,28 ± 1,54	31	-0,83 ± 1,23	8	0,533	-0,49 ± 1,42	85
RF BMD	1,05 ± 0,12	46	1,08 ± 0,11	31	0,99 ± 0,11	8	0,139	1,06 ± 0,12	85
RF T-Score	-0,29 ± 0,95	46	0,00 ± 0,86	31	-0,79 ± 0,82	8	0,075	-0,23 ± 0,92	85
RF Z-Score	-0,04 ± 0,89	46	0,19 ± 0,84	31	-0,53 ± 0,73	8	0,108	0,00 ± 0,87	85
Vitamin D	10,52 ± 16,59	46	9,07 ± 6,99	31	10,43 ± 4,48	8	0,888	9,98 ± 12,93	85
iPTH	112,19 ± 39,22	46	112,90 ± 44,29	31	123,81 ± 53,78	8	0,772	113,54 ± 42,15	85
AP	67,41 ± 18,00	46	76,84 ± 23,88	31	75,00 ± 15,20	8	0,123	71,56 ± 20,43	85
Phosphat	1,07 ± 0,17	46	1,10 ± 0,26	31	1,07 ± 0,15	8	0,783	1,08 ± 0,20	85
Kalzium	2,33 ± 0,12	46	2,37 ± 0,10	31	2,39 ± 0,10	8	0,178	2,35 ± 0,11	85
β-CrossLaps	0,38 ± 0,13	45	0,43 ± 0,23	31	0,47 ± 0,22	8	0,325	0,41 ± 0,18	84
Osteocalcin	14,93 ± 3,86	45	14,54 ± 5,49	31	16,41 ± 4,74	8	0,593	14,93 ± 4,58	84

* p-Wert des F-Tests der Varianzanalyse (D/m: keine Tests, da N zu klein)

Bei den männlichen Migranten konnten keine signifikanten Assoziationen nachgewiesen werden.

5 Diskussion

5.1 Diskussion der Methodik

5.1.1 Probenaufbereitung

Zur DNA-Gewinnung für eine PCR stehen mehrere Möglichkeiten zur Verfügung. In der vorliegenden Arbeit kam es zur Extraktion der DNA aus morgendlich gewonnenen Nüchternblutproben. Um eine Koagulation des Blutes zu verhindern, sind Röhrchen mit EDTA-Zusatz benutzt worden. Heparin-Zusätze wären für eine PCR-Probe ungeeignet, da sie auf die DNA-Amplifizierung einen hemmenden Effekt ausüben. Auch Porphyrinverbindungen haben einen negativen Einfluss auf die PCR, so dass sie durch Lysieren der Erythrozyten und nachfolgender Abzentrifugation der Leukozyten aus dem Probenansatz entfernt werden müssen.

Zur Extraktion der DNA mittels Detergentien ist die Zugabe von Proteinkinase K notwendig. Dieses Enzym hat die Aufgabe, denaturierte Proteine abzubauen. Da aber die DNA-Polymerase eine Empfindlichkeit gegenüber diesem Enzym aufweist, muss die Proteinkinase K vor der Durchführung der PCR aus dem Probenansatz entfernt oder inaktiviert werden. Die Inaktivierung ist durch eine Denaturierung des Enzyms bei 95°C möglich. Eine anschließende Phenolextraktion dient ebenfalls seiner Zerstörung. Nach der Inaktivierung der Proteinkinase K muss eine Zentrifugation erfolgen, wodurch in der wässrigen Phase das in der organischen Phenolphase verbleibende Enzym von der DNA getrennt wird. Durch Ethanolfällung werden dann die restlichen Phenolspuren aus dem Probenansatz eliminiert (Newton et al. 1994).

Zur Bestimmung der Knochenstoffwechselfparameter dienten Seren der Probanden. Proben, die Präzipitate enthielten, mussten zur Vermeidung falscher Ergebnisse vor der Testung zentrifugiert werden, so dass die zellulären Bestandteile entfernt werden konnten.

Die Probenlagerung erfolgte bei -20°C. Um ein möglichst genaue Werte zu erhalten, wurden die Parameter durch Doppelbestimmungen parallel ermittelt.

5.1.2 Auswahl der Messparameter

Um eine hormonale Wirkung in den Zielzellen entfalten zu können, benötigt Calcitriol den Vitamin D-Rezeptor. Viele Studien beschäftigten sich mit der Struktur des VDR-Gens und einer möglichen Assoziation eines VDR-Gen-Polymorphismus und Veränderungen in der Knochendichte.

Der Knochenumbau ist durch zwei antagonistische Mechanismen charakterisiert: Die Formation neuen Knochens durch Osteoblasten und die Resorption älteren Knochens durch Osteoklasten. Das Maß der Neubildung bzw. des Abbaus der Knochenmatrix kann durch Messung der enzymatischen Aktivität der Knochenbildenden bzw. -abbauenden Zellen abgeschätzt werden.

Bei den in dieser Arbeit bestimmten Laborwerten handelt es sich insgesamt um Parameter, die Aussagen über den aktuellen Knochenmetabolismus erlauben und dabei helfen, Veränderungen des Knochenstoffwechsels zu erfassen. Hierzu gehören die Werte von: Parathormon intakt, Kalzium, Osteocalcin, alkalische Phosphatase, Phosphat, β -Crosslaps und 25(OH)Vitamin D₃.

PTH dient hauptsächlich der Aufrechterhaltung der Kalziumhomöostase. Sobald die Kalzium-Konzentration im Plasma (die ionisierte Fraktion) die engen Grenzen des optimalen Bereiches unterschreitet, kommt es zu einer verstärkten PTH-Sekretionsrate. Dies wiederum führt zu einem Anstieg des Kalzium-Gehaltes über eine verminderte renale Ausscheidung, vermehrte enterale Kalzium-Aufnahme und auch über eine Kalzium-Mobilisation aus dem Knochen (Seibel & Stracke 1997).

Der Kalzium-Stoffwechsel unterliegt einer hormonellen Regulation durch Calcitonin, Calcitriol und Parathormon (Seibel & Stracke 1997, Brown et al. 1993). Das Spurenelement findet sich sowohl extra- (Ca^{2+}) als auch intrazellulär (Ca_i^{2+}). Hohe Ca^{2+} -Werte führen zu einer gesteigerten Calcitonin-Sekretion, hemmen die PTH-Sekretion und stimulieren Parameter osteoblastischer Vorgänge (Dören et al. 1997, Brown et al. 1993). Bei einem Ca^{2+} -Defizit kann ein Teil des im Skelettsystem gespeicherten Kalziums durch die PTH-Wirkung mobilisiert und dem Organismus für andere Aufgaben zur Verfügung gestellt werden (Seibel & Stracke 1997).

Das von Odonto- und Osteoblasten synthetisierte Osteocalcin repräsentiert als spezifischer Marker die Aktivität der Zellen, die für den Knochenaufbau bzw.

-umsatz verantwortlich sind (Delmas et al. 1985). Ein Teil wird in die Knochenmatrix eingebaut, jedoch gelangt auch ein Teil des gebildeten Osteocalcins in das periphere Blut und kann dort quantitativ erfasst werden (Garnero et al. 1995).

Die alkalische Phosphatase dient unter anderem als anaboler Marker für einen verstärkten Knochenumsatz. Die Serumaktivität der AP stammt zu etwa 50% aus dem Knochen und zu 50% aus der Leber. Bei Ausschluss einer hepatischen Erkrankung kann somit die gesamt-AP als Parameter der Osteoblastenaktivierung angesehen werden. Obwohl Messungen der alkalischen Phosphatase als biochemischer Marker für den Knochenmetabolismus oft verwendet werden, ist die Nützlichkeit spezifischer Parameter bei Knochenerkrankungen stark eingeschränkt.

Auch Phosphat hat eine Beteiligung am Knochenstoffwechsel: Es hat die Eigenschaft, den PTH-Gehalt zu erhöhen. Hierdurch kann indirekt der Kalziumgehalt gesteigert werden. Weiterhin wird durch einen reduzierten Phosphatspiegel die Vitamin D₃-Synthese gefördert (Wu et al. 1996, Henry 1979, Baxter & DeLuca 1976, Gray et al. 1972).

Über 90% der organischen Knochenmatrix besteht aus Typ I Kollagen, welches bevorzugt im Knochen synthetisiert wird. Hier findet ein ständiger Auf- und Abbau statt. Mittels Bestimmung eines Knochenresorptionsmarkers lässt sich die Aktivität / Dynamik des Knochenumbaus bestimmen. Bei erhöhter Resorption wird vermehrt Kollagen Typ I abgebaut, entsprechend steigt die Konzentration von Kollagenbruchstücken im Blut an. Ein relevantes Kollagen Typ I-Buchstück stellt das C-terminale isomerisierte Telopeptid (β -CTX = β -CrossLaps) dar, welches spezifisch für den Abbau von Kollagen Typ I ist. Die Freisetzung von β -CrossLaps erfolgt durch Osteoklasten. Dies erfolgt verstärkt in Zuständen gesteigerten Knochenab- und -umbaus. Der Nachweis der β -CTX erfolgt im Serum und eignet sich v. a. zum Nachweis eines erhöhten Kollagenabbaus, zum Monitoring einer antiresorptiven Osteoporose-Therapie und zur Risikoabschätzung des künftigen Knochenmasseverlustes von Unbehandelten (Spanuth 2003, Okabe et al. 2001).

25-Vitamin D₃ besitzt einen kalzämischen Effekt. Bei erhöhten Konzentrationen wird durch den kalzämischen Effekt in den Nieren und im Darm der

Kalziumgehalt im Serum angehoben. Durch einen erhöhten PTH-Gehalt, erniedrigte Kalzium- oder Phosphatspiegel kommt es zu einer Förderung der $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Synthese (Wu et al. 1996, Henry 1979, Baxter & DeLuca 1976, Gray et al. 1972).

5.1.3 Knochendichtemessverfahren

Die in dieser Studie verwendete etablierte Standardmethode zur Messung der Knochendichte ist die duale Röntgenabsorptiometrie (DEXA). Es handelt sich hierbei um eine schmerzfreie, nicht-invasive Röntgenanalyse des Knochens, mit der quantitativ der Knochenmineralgehalt bestimmt wird. Die Angabe erfolgt in g/cm^2 (Knochenmasse/Knochendichte). Das Verfahren beruht auf einer Abschwächung von Röntgenstrahlen beim Durchlaufen des Knochengewebes. Die Patienten sind einer geringen Strahlenbelastung von 1 bis 3 μSiev ert/Aufnahme ausgesetzt. Messfehler können entstehen durch Überlagerungen von Metallteilen oder degenerative Anbauten (Lange et al. 2005).

Eine weitere non-invasive Methode zur indirekten Messung des Knochenmineralgehalts ist die digitale Radiografie. Der Nachteil dieses Verfahrens besteht in der relativ hohen Strahlenbelastung des Patienten. Zudem erfolgt hierbei nur eine Auswertung an den Röntgenaufnahmen der Hand und nicht an den Prädilektionsstellen der Osteoporose. Ferner wird dieses Verfahren nicht in den Leitlinien des DVO zur Knochendichtemessung empfohlen.

Die quantitative Computertomografie (qCT) stellt ein Schnittbildverfahren dar und wird zur Evaluierung der Knochendichte und -geometrie benutzt. Durch dieses Röntgenverfahren können transversale Schichten dargestellt und somit Gewebe überlagerungsfrei zweidimensional präsentiert werden. Ferner ermöglicht die qCT als einziges Knochendichtemessverfahren durch eine Summation der einzelnen Schichten eine dreidimensionale Betrachtung des untersuchten Gewebes (Reiser et al. 2006). Jedoch ist die Strahlenbelastung viel höher als bei den anderen Verfahren. Nicht zu vernachlässigen sind auch die höheren Kosten für diese Methode (Kolbeck et al. 1999). Allerdings lassen sich mit dieser Methode der trabekuläre (spongiose) Knochen und die kortikale Schicht getrennt messen (Lange et al. 2005).

Auch sonografisch kann aufgrund der Laufzeiten und Reflexionen des Schalls in den Extremitäten auf die Knochendichte geschlossen werden. Der Vorteil dieser Methode liegt in der Wiederholbarkeit, Belastungs- und Strahlungsfreiheit, guten Verfügbarkeit und den geringen Kosten (Kolbeck et al. 1999). Jedoch ist das Ergebnis des Ultraschalls von dem Können des Untersuchers abhängig und bisher nicht in dem Ausmaß reproduzierbar wie die anderen Knochendichtemessmethoden. Dieses Verfahren wird derzeit lediglich als Screeningmethode vom Dachverband Osteologie empfohlen.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

5.2.1 Laborparameter

Hinsichtlich der gemessenen Laborparameter konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den türkischen Migranten und Deutschen nur bezüglich der Vitamin D-Werte ermittelt werden. So fand sich bei 83,1% der türkischen Migranten ein 25(OH)D₃-Defizit, wohingegen dieser Zustand nur bei 45,7% der Deutschen vorlag. Bezüglich der anderen bestimmten Laborparameter konnten keine Signifikanzen errechnet werden.

Die β -CrossLaps als biochemische Marker der Knochenresorption waren bei 12,8% der türkischen Probanden erhöht. Indessen waren die Werte von Osteocalcin, welches wie bereits erwähnt als Marker des Knochenaufbaus fungiert, bei 11,5% der Migranten und 6,5% der Deutschen vermindert. Demzufolge veranschaulichen diese genannten biochemischen Marker eine Veränderung des generellen Knochenmetabolismus und weisen bezüglich des Knochenstoffwechsels auf einen verringerten Aufbau und einen verstärkten Abbau hin. Dieser Zustand war bei den Migranten verstärkt vorhanden, was auch das häufigere Auftreten einer Knochendichteminderung erklären könnte.

Vitamin D₃ und seine Metabolite regulieren u. a. den Knochenmetabolismus und haben Einfluss auf die Muskelkraft. Bei einem Vitamin D-Defizit kann sich ein sekundärer Hyperparathyreoidismus (sHPT) manifestieren. Dieser zeigt die typische laborchemische Konstellation eines verminderten Kalzium-, erhöhten PTH- und normalen bis erhöhten Phosphatspiegels.

In dieser Studie zeigte sich bei 82% der Migranten ein erhöhtes PTH und 6,6% imponierten mit der klassischen laborchemischen Konstellation eines sek. Hyperparathyreoidismus. Ein 25(OH)D₃-Defizit konnte bei 83,1% der Migranten nachgewiesen werden.

Bekanntermaßen führen sowohl ein Mangel an Vitamin D als auch ein sHPT zur Knochendichteminderung / Osteomalazie (Kruse & Kuhlencordt 1994, Rao et al. 1983). Dies wiederum hat eine erhöhte Knochenresorptionsrate mit Minderung der Knochendichte und erhöhtem Frakturrisiko zur Folge. Die bedeutende Rolle des 25(OH)D₃ liegt folglich in der Prävention und Behandlung der durch Knochenmineralisationsstörungen gekennzeichneten Erkrankungen Osteomalazie und Rachitis.

Autoren verschiedener Studien definieren ein latentes Vitamin D-Defizit ab Serum-25(OH)D₃-Werten unter 10-12 ng/ml (Chapuy 1994, McKenna 1992). Vor allem in Ländern des Nahen Ostens (Libanon, Jordanien, Iran und Türkei) wird eine Calcitriol-Hypovitaminose beschrieben (Bartley 2008, Lips 2007). Zahlreiche Studien belegen, dass auch ältere hospitalisierte Menschen in Europa häufig an einem 25(OH)D₃-Defizit leiden (Sorva et al. 1991, Chapuy 1983, Oster et al. 1983, Offermann & Biehle 1978, Corless et al. 1975).

Der Vitamin D-Spiegel im Serum oder Plasma ist in hohem Maße von der Sonnenlichtexposition und somit auch von der geografischen Breite, der Höhenlage und Jahreszeit abhängig (reduzierte Spiegel in den Monaten Oktober bis April). Aber auch soziale Faktoren und die Mobilität einer Person haben Einfluss auf den 25(OH)D₃-Gehalt (Holick 1996). Die Hautpigmentierung, also der Melaningehalt, spielt ebenfalls eine bedeutende Rolle in der Calcitriol-Bildung: Das Melanin absorbiert die für die Prävitamin D-Synthese essentielle Strahlung (Wémeau 1995). Eine verminderte alimentäre 25(OH)D₃-Zufuhr kann ebenfalls eine Hypovitaminose hervorrufen, dies kann z. B. bedingt sein durch Konsum von in Cerealien vorhandenen Phytinsäuren, welche zusätzlich noch die Kalzium-Absorption vermindern können (Selby 2003). Auch die Einnahme von Antikonvulsiva und Erkrankungen wie Hypophosphatasien, intestinale Resorptions- und Nierenfunktionsstörungen können ein Vitamin D-Defizit verursachen.

Der Begriff der Migrantenosteomalazie ist erstmalig Anfang der 70er Jahre beschrieben worden. Hierzu erfolgte eine Studie an in England lebenden

indischen und pakistanischen Migranten. Diese Einwanderer waren häufiger von einem Vitamin D-Defizit betroffen (Hodgkin et al. 1973, Preece et al. 1973, Swan & Cooke 1971, Dunningan et al. 1962).

Soweit bekannt ist, handelt es sich bei der vorliegenden Arbeit um die erste, in der die Vitamin D-Rezeptor-Gen-Polymorphismen BsmI und FokI und der Knochenstoffwechsel bei einer großen Probandenzahl scheinbar gesunder türkischer Migranten mit Deutschen verglichen wurde.

Die untersuchten 229 Personen hatten anamnestisch keine Resorptionsstörungen und laborchemisch keinen Hinweis auf Nierenfunktionsstörungen oder auf eine Hypophosphatasie. Ferner wurde sichergestellt, dass die Probanden keine Medikamente wie Antikonvulsiva einnahmen, welche ebenfalls den 25(OH)D₃-Gehalt reduzieren könnten. Ein weiteres Ausschlusskriterium bei Frauen war das Vorliegen der Menopause.

Um jahreszeitliche Schwankungen der Vitamin D-Konzentrationen zu umgehen, wurden alle Blutproben zum Ende des Winters / Beginn des Frühlings (März und April 2007) gesammelt. Die Bestimmung des Vitamins zu einem Zeitpunkt geringer Sonnenlichtexposition könnte mit eine Ursache dafür sein, weshalb so viele Probanden Werte unterhalb der Norm aufzeigten. Ein zusätzlicher Grund für die signifikant reduzierten 25(OH)D₃-Werte könnte in der dunkleren Hautpigmentierung der Migranten liegen, aber auch traditionelle und kulturelle Gewohnheiten wie ein bestimmter Kleidungsstil (verstärkte Bedeckung der Haut, Tragen eines Kopftuches) und geringere körperliche Aktivitäten im Freien könnten eine D-Hypovitaminose hervorrufen.

Die vorliegende Arbeit bestätigt die in vergangenen Studien (Erkal et al. 2006, McKenna 1992, Offermann 1978) nachgewiesene hohe Prävalenz eines Vitamin D-Defizits bei türkischen Migranten in Deutschland (mit 83,1%). Frauen in der Migrantengruppe scheinen insgesamt einem höheren Risiko für einen Vitamin D-Mangel ausgesetzt zu sein (Türkinnen n=87,8%, Türken n=78,8%). Sehr wahrscheinlich liegt die Ursache der differenten Häufigkeitsverteilung darin, dass es bestimmte Risikofaktoren gibt, die nur für Frauen gelten. Zu diesen geschlechtsspezifischen Faktoren gehören z. B. die Anzahl der Geburten (je mehr Kinder eine Frau gebärt, desto niedriger ist der 25(OH)D₃-Spiegel im Durchschnitt bei Mutter und Kind, auch ein mit steigenden Geburten entstehender Vitamin D-Mangel in der Muttermilch wurde diskutiert) und das

Tragen eines Kopftuches bzw. bedeckender Kleidung (Güler et al. 2007, Güzel et al. 2001, el-Sonbaty & Abdul-Ghaffar 1996).

Über den BMI wurden ebenfalls Arbeiten mit gegensätzlichen Ergebnissen bezüglich möglicher Zusammenhänge mit Vitamin D-Konzentrationen und / oder der Knochendichte veröffentlicht. Auch in dieser Arbeit wurde der Body Mass Index bestimmt und es resultierte, dass ein hoher BMI mit verminderten 25(OH)D₃ Werten in direkter Beziehung stand, was möglicherweise auf einer Einlagerung des fettlöslichen 25(OH)D₃ in das Fettgewebe und dadurch verminderter Serumwerte beruht (Wortsman et al. 2000, Bell et al. 1985).

5.2.1.1 Schlussfolgerung und Ausblick

Ein unzureichender Vitamin D-Status kann zu Knochenmineralisierungsstörungen führen. Um deren möglichen Spätfolgen vermeiden zu können, sollte auch bei nur unvollständigen klinischen Symptomen, die für solch eine Störung sprechen könnten, eine Untersuchung des Knochenstoffwechsels veranlasst werden. Hierzu sollten idealerweise die Bestimmung der Laborparameter Kalzium, PTH und 25-Vitamin D₃ wie auch eine Knochendichtemessung erfolgen. Sobald ein reduzierter BMD-Wert und ein Calcitriol-Mangel erkannt werden, sollte eine adäquate osteoprotektive Vitamin D-Behandlung begonnen werden. Nur so können belastende Komplikationen wie sekundärer Hyperparathyreoidismus, Osteomalazie, Osteoporose, Frakturen, starke Knochen- und Muskelschmerzen vermieden werden.

5.2.2 VDR-Gen-Polymorphismen

Bei der Osteoporose handelt es sich um eine systemische Skeletterkrankung mit erniedrigter Knochenmasse und einhergehender Erhöhung der Knochenbrüchigkeit. Aufgrund ihrer sozialökonomischen Bedeutung erfährt sie in den letzten Jahren an stark zunehmender Bedeutung. Um die Osteoporose frühzeitig therapieren zu können, wäre ein prädiktiver Faktor in der Osteoporosediagnostik von großem Wert. Hierbei muss auch berücksichtigt werden, dass neben Mechanismen der ossären Mineralisation auch eine intakte Synthese der organischen Grundsubstanz für die lokale Knochenarchitektur essentiell ist. Denn in der Diagnostik der Osteoporose spielt nicht nur der quantitative Mineralgehalt des Knochengewebes eine wichtige Rolle, sondern

auch dessen strukturelle Zusammensetzung. Beide Faktoren bestimmen die Festigkeit des Knochens und somit auch seine Frakturgefährdung.

Die Knochendichte als Prädiktor von Knochenfrakturen ist in hohem Maß genetisch determiniert. So belegen Familien- und Zwillingsstudien, dass das Erreichen einer maximalen Knochenmasse („peak bone mass“) und damit auch ein biomechanisch kompetenter Knochen von genetischen Faktoren abhängt (Krall & Dawson-Hughes 1993, Slemenda et al. 1991, Pocock et al. 1987). Der genetische Hintergrund ist jedoch komplex und Faktoren wie Umwelt, Ernährung und Bewegungsverhalten haben einen nicht unerheblichen Einfluss auf den Knochenmetabolismus.

In den letzten Jahren haben sich auf diesem Gebiet neue Wege der molekularbiologischen Forschung etabliert. Zu den sogenannten Kandidatengenen, die als Steuergene des Knochenstoffwechsels mit diesem in Verbindung gebracht werden, gehört unter anderem auch das Vitamin D-Rezeptor-Gen. 1994 wurde erstmals beschrieben, dass ein Polymorphismus im VDR-Gen die Knochendichte und somit auch osteoporotische Frakturen voraussagen könnte (Morrison et al. 1994). In den letzten Jahren folgten eine Reihe von Studien über den Zusammenhang zwischen der Knochendichte und dem VDR-Gen. Hierfür wurden Untersuchungen an einer Vielzahl ethnischer Populationen durchgeführt. Bisher sind mehrere „single nucleotide“ Polymorphismen (SNP) in verschiedenen Regionen des Vitamin D-Rezeptor-Gens gefunden worden, diese werde u. a. detektiert durch die Restriktionsenzyme BsmI und FokI.

Insgesamt entstanden bei den Untersuchungen unterschiedliche, teilweise gegensätzliche Resultate. Unter anderem könnte man diese Diskrepanzen in den Ergebnissen der bisher veröffentlichten Studien durch folgende Punkte erklären: (1) stark differierende Aufbauten der einzelnen Studien, (2) regional differente externe Einflüsse auf den Vitamin D-Haushalt, (3) Vorhandensein einer stark ausgeprägten geografischen Variabilität der VDR-Allele mit unterschiedlichen migrationsbedingten genetischen Vermischungen und (4) lassen sich aus biologischen Gründen nicht zwangsläufig statistisch lineare Zusammenhänge zwischen Mutationen in regulatorische Untereinheiten von VDR-Gen-Polymorphismen und dem Phänotyp der Erkrankung, also der Osteoporose, erwarten.

In Bezug auf die Migrantenosteomalazie ist ein Polymorphismus des Vitamin D-Rezeptors von weiterem Interesse. Vitamin D kann nur nach Bindung an seinen Rezeptor biologisch aktiv werden. Bei entsprechenden Polymorphismen des VDR wäre somit eine Alteration der Vitamin D-Wirkung denkbar. Bei zusätzlichem Vorliegen eines Vitamin D-Defizit wären die Auswirkungen möglicherweise umso ausgeprägter. So deuten Untersuchungen zu dem Fokl-Polymorphismus des VDR-Gens auf eine mögliche Assoziation einer reduzierten Knochendichte und einer genetischen Prädisposition bei bestimmten Genotypen hin. Verschiedene Fokl-Genotypen bewirken in der Translation der VDR unterschiedlich lange mRNA-Stränge. Bei der Translation des FF-Genotyps z. B. verkürzt sich der Vitamin D-Rezeptor um drei Aminosäuren, in den Körperzellen werden dann geänderte VDR exprimiert.

Die Arbeitsgruppe Baltzer et al. (1999) konnten zeigen, dass die BMD am Achsenskelett mit Polymorphismen der VDR-Allele assoziiert ist. Diese besitzen einen Einfluss auf den Knochenstoffwechsel und die Frakturrate. Obermayer-Pietsch et al. (1999) konnten Hinweise auf Zusammenhänge der Knochendichte mit dem Translations-Initiations-Polymorphismus des Vitamin D-Rezeptors, dem sog. Fokl-Polymorphismus aufzeigen. Weitere Untersuchungen zum Fokl-Polymorphismus deuten ebenfalls auf einen möglichen Zusammenhang einer verminderten Knochendichte und einer genetischen Prädisposition bei bestimmten Genotypen hin (Harris et al. 1997, Gross et al. 1996).

Auch in der vorliegenden Arbeit konnte eine signifikante Assoziation der Knochendichte mit dem Fokl-Polymorphismus aufgezeigt werden. Weibliche Probanden aus der Gruppe der türkischen Migranten mit dem Genotyp Ff zeigten im Vergleich zu Migrantinnen mit den Genotypen FF oder ff signifikant niedrigere BMD- und T-Score-Werte im Bereich der LWS und des Schenkelhalses auf. Die Befunde weisen auf eine Geschlechtsabhängigkeit hin, da bei den männlichen Migranten keine signifikanten Assoziationen nachgewiesen werden konnten. Dies könnte im Rahmen der geringen Fallzahl zu werten sein, weitere Untersuchungen an einem größeren Kollektiv erschienen daher sinnvoll. Keine Signifikanzen zeigten sich sowohl bei den männlichen als auch bei den weiblichen Migranten bezüglich des Bsml-Genpolymorphismus

Bezüglich des Einflusses der VDR-Polymorphismen auf den Knochenmetabolismus ist anzumerken, dass das Osteocalcin-Gen das einzige Gen darstellt, welches mit dem VDR-Gen interagiert. Das OC-Protein stellt einen klinischen Indikator der Knochenformation dar (Delmas et al. 1985). In Zellkulturen konnte beobachtet werden, dass die Aktivität eines eingeschleusten OC-Gens vom Vorhandensein und der Rezeptoranzahl des Vitamin D abhängt (28). Hierdurch liegt die Hypothese nahe, dass funktionell verschiedene Allele des Vitamin D-Rezeptors Auswirkung auf die Osteocalcin-Konzentration haben. Die Arbeitsgruppen von Howard (1995) und Morrison (1992) konnten dies mit ihren Untersuchungen beweisen.

Als weiterer Marker der Knochenformation gilt die knochenspezifische alkalische Phosphatase (Garnero & Delmas 1996). Jedoch konnte bisher kein genetischer Effekt des VDR auf diesen Parameter nachgewiesen werden (Murakami et al. 1998, Rauch et al. 1997).

Fazit bleibt, dass bei weiblichen türkischen Migranten der FokI-Polymorphismus des VDR-Gens ein interessanter genetischer Marker der Knochendichte zu sein scheint. Die VDR-Allel-Analyse könnte zur frühzeitigen Erfassung einer Knochendichteminderung bei Migranten ein brauchbares, wenn auch additives Verfahren darstellen. In der täglichen Praxis stellen Genmutationen des VDR-Gens zur Beurteilung des individuellen Risikos für einen Knochenmasseverlust jedoch noch keine realistische Option dar.

5.2.2.1 Schlussfolgerung und Ausblick

Forschungen zur Aufdeckung genetisch bedingter Zusammenhänge der Knochendichteminderung / Osteoporose bzw. des Knochenstoffwechsels sind generell noch in ihren Anfängen und trotz der Fülle an Studien sind die molekularen Zusammenhänge zwischen den Polymorphismen des VDR-Gens und dem Knochenstoffwechsel nach wie vor unklar.

Es werden immer mehr potentielle Gene und ihre Polymorphismen entdeckt, die für die oben genannte Systemerkrankung und die Regulation des Knochenmetabolismus verantwortlich gemacht werden. Die Ergebnisse sind aktuell eher von wissenschaftlichem Interesse und derzeit ohne klinische

Relevanz. In den nächsten Jahren jedoch sind entscheidende Impulse für die Erkrankungsvorhersage, Prävention, Diagnose, Prognose und Therapiestrategien zu erwarten.

Zukünftige Arbeiten müssten vor allem die genetischen Faktoren und die Gen-Umwelt-Interaktionen kritisch studieren und auch in unterschiedlichen ethnischen Gruppen genetische Untersuchungen in Relation zur Knochendichte und Frakturhäufigkeit durchführen.

6 Zusammenfassung – Summary

6.1 Zusammenfassung

An Osteoporose leidende Menschen weisen eine reduzierte Knochendichte (BMD) mit einhergehender Risikoerhöhung für knöcherne Frakturen auf. Weiterhin liegen eine gesteigerte Morbidität und Mortalität vor. Eine erbliche Komponente der Knochendichte konnte mit verschiedenen Zwillings- und Familienstudien belegt werden, woraufhin im Laufe der Jahre ein großes Interesse an einem molekulargenetischen Hintergrund der Knochendichte entstand. Obwohl die für die Regulation der Knochendichte verantwortlichen Gene noch nicht vollständig bekannt sind, findet man zahlreiche Publikationen über verschiedene Kandidatengene, die einen möglichen Einfluss haben könnten. So liegen diverse Untersuchungen vor, die sich mit Assoziationen der Knochendichte und dem Vitamin D-Rezeptor-(VDR-)Gen-Polymorphismus auseinandersetzen. Hierbei findet man unterschiedliche und teilweise sogar widersprüchliche Ergebnisse.

Das Ziel dieser Arbeit war die Beschreibung eines möglichen Zusammenhanges zwischen einer verminderten Knochendichte in Form von osteoporotischen Verhältnissen und Vitamin-D-Rezeptor-Gen-Polymorphismen bei in Deutschland lebenden türkischen Migranten im Vergleich zu einer gesunden deutschen Kontrollgruppe.

Hierfür wurden von insgesamt 183 türkischen Migranten (98 Männer, 46 Frauen) und 46 altersvergleichbaren Deutschen (13 Männer, 33 Frauen) die Knochendichte im Lendenwirbelsäulenbereich und am rechten Schenkelhals gesamt mit der DEXA-Methode gemessen. Weiterhin sind folgende Laborparameter bestimmt worden: Parathormon, Kalizum, Osteocalcin, Phosphat, alkalische Phosphatase, β -CrossLaps und 25-Vitamin D₃. Zusätzlich erfolgte eine molekulargenetische Analyse durch Extraktion der DNA aus peripheren Leukozyten zur Genotypisierung der beiden VDR-Gen-Polymorphismen BsmI und FokI. Das Fehlen bzw. Vorhandensein der Schnittstellen für die Restriktionsendonukleasen wurde definiert als „B“, „F“ bzw. „b“, „f“.

Insgesamt wiesen 83,1% der türkischen Migranten eine 25(OH)D₃-Hypovitaminose auf, dieser Zustand war bei den Deutschen nur zu 45,7% vorhanden. Weiterhin konnte bei 82% der Migranten ein erhöhter PTH-Spiegel und bei 6,6% die klassische laborchemische Konstellation eines sek. Hyperparathyreoidismus objektiviert werden.

Weder bei den Migranten noch bei den deutschen Probanden war es möglich, bedeutende Abweichungen hinsichtlich der Verteilung für einen BsmI-Polymorphismus auszumachen. Bezüglich der FokI-Allele hingegen waren sehr wohl signifikante Unterschiede vorhanden. So lagen in der Gruppe der türkischen Migranten häufiger die Genotypen „FF“ vor ($p=0,009$). Außerdem wiesen Frauen aus der Gruppe der Migranten, bei denen ein Ff-Genotyp nachgewiesen werden konnte, verminderte BMD- und T-Score-Werte sowohl im LWS-Bereich als auch am rechten Schenkelhals gesamt auf ($p<0,046$). Bezeichnende Assoziationen zu den untersuchten Laborparametern waren nicht erkennbar.

Die Männer aus der Gruppe der Türken wiesen keine Assoziation zwischen den Knochendichte-Werten und den FokI-Genotypen auf.

Aus den vorliegenden Daten lässt sich also ein Einfluss der FokI-Polymorphismen auf die Knochendichte bei türkischen Migrantinnen annehmen. Durch eine Analyse der Vitamin D-Rezeptor-Gen-Polymorphismen könnte man bei diesen Personen ein mögliches Osteopenie- bzw. Osteoporoserisiko frühzeitig erfassen und eine individuelle Risikoeinschätzung bezüglich einer hohen Knochenbruchgefahr bestimmen. Bei einer ermittelten Risikoerhöhung für Frakturen wäre es dann angebracht, eine osteoprotektive Medikation einzuleiten und somit den Prozess der Knochendichtereduktion zu verlangsamen.

Weitere, zukünftige Studien sind notwendig, um das genaue Ausmaß des Einflusses des VDR-Polymorphismus analysieren zu können. Hierbei muss aber auch darauf geachtet werden, dass alle Faktoren eliminiert werden, die einen Einfluss des VDR-Gen-Polymorphismus auf die Knochendichte maskieren könnten.

6.2 Summary

People with the systemic skeletal disease „osteoporosis“ have got a low bone mass density (BMD) and this accompanies an increased risk for bone fractures. It is also known that osteoporosis is linked up with increased morbidity and mortality. As a result of several studies with twins and families, genetic factors seem to be involved in the pathogenesis of low BMD. Due to this fact, many clinical trials are engaged in hereditarily facts influencing the bone mass. Although the gene which regulates the BMD is not entirely defined, a couple of publications suggest that several genes are involved. The vitamin D-receptor-gene (VDR-gene) has been implicated as a factor affecting the bone mass. However, associations of VDR-genotypes to bone mineral density in different populations have brought contradictionary results.

The aim of the current study was to research a possible coherence between the phenotypical expression of osteoporosis in Turkish migrants living in Germany and the genetic background of polymorphisms of the VDR-gene, compared to healthy Germans as a control. Exactly 183 Turkish migrants (98 males, 85 females) and 46 age-matched Germans (13 males, 33 females) were investigated for their femoral and lumbar BMD by DEXA. Furthermore, the following laboratory parameters were measured in parallel: parathormon, calcium, osteocalcin, phosphatase, alkaline phosphate, β -crossLaps and 25-vitamin D₃. By using genomic DNA from peripheral leukocytes the BsmI- and FokI-polymorphisms of the VDR-gene were also genotyped. Absent or present restriction sites were defined as “B”, “F” or “b”, “f”.

Of note Turkish immigrants had a significant higher prevalence of 25(OH)₂D₃ hypovitaminosis (in 83.1%), they also showed in 82% an elevated PTH and in 6,6% a secondary hyperparathyroidism.

There was no difference in the disposition of the BsmI-VDR-gene-polymorphism – neither at Turkish migrants nor at Germans. But the Turkish migrants showed a significant disposition in FokI-polymorphism (genotype FF in 54,1%, $p=0,009$). Besides, Ff-genotyped Turkish women exhibit significantly decreased BMD and T-Scores of their right femur and lumbar spine ($p<0,046$). Significant associations with any laboratory parameters could not be demonstrated. Male Turkish migrants did not show any compound between BMD and FokI-genotypes.

The current study observed that FokI-polymorphisms at the VDR gene are of clinical value in identifying female Turkish migrants who are at risk for decreased bone mineral density (osteopenia / osteoporosis). Further studies should define diagnostic and possible therapeutic implications.

7 Anhang

7.1 Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1 Strukturformel von $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{Vitamin D}_3$
- Abbildung 2 Syntheseweg von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$
- Abbildung 3 Struktur des Vitamin D-Rezeptor-Gens
- Abbildung 4 Wirbelkörper
- Abbildung 5 Osteodensitometrie
- Abbildung 6 T-Score einer Knochendichtemessung
- Abbildung 7 Knochendichtemessung, LWS (LWK 1-4)
- Abbildung 8 Knochendichtemessung, Schenkelhals
- Abbildung 9 Gel-Foto zum Bsml-Bandenmuster
- Abbildung 10 Gel-Foto zum Fokl-Bandenmuster
- Abbildung 11 grafische Verteilung der Knochendichte bei Deutschen und türkischen Migranten
- Abbildung 12 grafische Verteilung von 25-Vitamin D_3 bei Deutschen und türkischen Migranten
- Abbildung 13 grafische Verteilung der Bsml-Genotypen bei Deutschen und türkischen Migranten
- Abbildung 14 grafische Verteilung der Fokl-Genotypen bei Deutschen und türkischen Migranten

7.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	β -CrossLaps-Normwerte
Tabelle 2	PCR-Bedingungen
Tabelle 3	Schnittstellen der verwendeten Restriktions-Endonukleasen
Tabelle 4	Gesamtkollektiv
Tabelle 5	Laborwerte
Tabelle 6	Verteilung der Knochendichte bei Deutschen und türkischen Migranten
Tabelle 7	Verteilung der Knochendichte bei türkischen Frauen und Männern
Tabelle 8	Verteilung von 25-Vitamin D ₃ bei Deutschen und türkischen Migranten
Tabelle 9	Verteilung von 25-Vitamin D ₃ bei deutschen Frauen und Männern
Tabelle 10	Verteilung von 25-Vitamin D ₃ bei türkischen Frauen und Männern
Tabelle 11	Verteilung von Parathormon bei Deutschen und türkischen Migranten
Tabelle 12	Verteilung von Kalzium bei Deutschen und türkischen Migranten
Tabelle 13	Verteilung von Osteocalcin bei Deutschen und türkischen Migranten
Tabelle 14	Verteilung von Alkalischer Phosphatase bei Deutschen und türkischen Migranten
Tabelle 15	Verteilung von Phosphat bei Deutschen und türkischen Migranten
Tabelle 16	Verteilung von β -CrossLaps bei Deutschen und türkischen Migranten
Tabelle 17	Häufigkeit einer laborchemischen Konstellation eines sek. Hyperparathyreoidismus
Tabelle 18	Verteilung der Bsml-Genotypen bei Deutschen und türkischen Migranten
Tabelle 19	Verteilung der Fokl-Genotypen bei Deutschen und türkischen Migranten
Tabelle 20	Mittelwerte und Standardabweichungen der Bsml-Genotypen bei der deutschen Kontrollgruppe

-
- Tabelle 21 Mittelwerte und Standardabweichungen der BsmI-Genotypen bei den türkischen Migranten
- Tabelle 22 Mittelwerte und Standardabweichungen der FokI-Genotypen bei der deutschen Kontrollgruppe
- Tabelle 23 Mittelwerte und Standardabweichungen der FokI-Genotypen bei den türkischen Migranten

7.3 Abkürzungsverzeichnis

1,25(OH) ₂ D ₃	Vitamin D ₃
25(OH)D ₃	Vitamin D ₃
Abb.	Abbildung
Aqua dest.	Aqua destillata
AK	Antikörper
AP	alkalische Phosphatase
β-CTx	β-CrossLaps
BB	Abwesenheit von BsmI-Restriktionsschnittstellen auf beiden Allelen
Bb	heterozygoter Genotyp
bb	Anwesenheit von BsmI-Restriktionsschnittstellen auf beiden Allelen
BGP	bone γ-carboxylglutamic acid-containing protein
BMD	Bone Mineral Density
BMI	Body Mass Index
bp	Basenpaare
Ca ²⁺	Kalzium
Ca _e ²⁺	extrazelluläres Kalzium
Ca _i ²⁺	intrazelluläres Kalzium
CLIA	Chemi-Lumineszenz-Immunoassay
DBP	Vitamin D ₃ -Bindeprotein
DEXA	Dual Energy X-Ray Absorptiometrie
DGE	Deutsche Gesellschaft für Ernährung
DHC	Dehydrocholesterol
dl	Deziliter
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxynukleosidtriphosphat
DVO	Dachverband Osteologie e.V.

ECLIA	Elektro-Chemi-Lumineszenz-Immunoassay
EDTA	Etylendiamintetraessigsäure
EIA	Enzym-Immuno-Assay
ELISA	Enzyme-linked Immuno-Sorbent Assay
FF	Abwesenheit der Schnittstellen für die Restriktionsendonuklease FokI auf beiden Allelen
Ff	heterozygoter Genotyp
ff	Anwesenheit der Schnittstellen für die Restriktionsendonuklease FokI auf beiden Allelen
g	Gramm
gAP	gesamte alkalische Phosphatase
Gla	Gamma-Carboxyglutamat
H ₂ O	Wasser
iPTH	intakt Parathormon
kb	Kilobyte
KCl	Kaliumchlorid
KD	Knochendichte
l	Liter
LWK	Lendenwirbelkörper
LWS	Lendenwirbelsäule
μl	Mikroliter
m	männlich
mA	Milliampere
mg	Milligramm
MgCl ₂	Magnesiumchlorid
ml	Milliliter
mM	Millimol
mmol	Millimol
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
mV	Millivolt
ng	Nanogramm

nm	Nanometer
OC	Osteocalcin
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
pmol	Pikomol
PTH	Parathormon
qCT	quantitative Computertomografie
RF	rechter Femur
RFLP	Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus
RLU	relative Lichteinheiten
SCP	Startcodon-Polymorphismus
SD	Standardabweichung
sHPT	sekundärer Hyperparathyreoidismus
SNP	single nucleotide polymorphism
Sv	Sievert
T	Temperatur
Tab.	Tabelle
TM	türkische Migranten
U	Unit (Einheit)
u. a.	unter anderem
UTR	untranslated region
UV	Ultraviolett
VDBP	Vitamin D-bindendes Protein
VDR	Vitamin D-Rezeptor
VDRE	Vitamin D-responsive element
w	weiblich
WHO	Weltgesundheitsorganisation
z. B.	zum Beispiel

8 Literatur

Abe E, Miyaura C, Sakagami H, Takeda M, Konno K, Yamazaki T, Yoshiki S, Suda T (1981). Differentiation of mouse myeloid leukemia cells induced by 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃. Proc Natl Acad Sci USA, 78(8):4990-4994.

Ak DG, Kahraman H, Dursun E, Duman BS, Erensoy N, Alagöl F, Tanakol R, Yilmazer S (2005). Polymorphisms at the ligand binding site of the vitamin D receptor gene and osteomalacia. Dis Markers, 21(4):191-197.

Andersson S, Davis DL, Dahlback H, Jornvall H, Russell DW (1989). Cloning, structure and expression of the mitochondrial cytochrome P450 sterol 26-hydroxylase, a bile acid biosynthetic enzyme. J Biol Chem, 264(14):8222-8229.

Arai H, Miyamoto K, Taketani Y, Yamamoto H, Iemori Y, Morita K, Tonai T, Nishisho T, Moris S, Takeda E (1997). A vitamin D receptor gene polymorphism in the translation initiation codon: effect on protein activity and relation to bone mineral density in Japanese women. J Bone Miner Res, 12(6):915-921.

Arguello F, Baggs RB, Frantz CN (1988). A murine model of experimental metastasis to bone and bone marrow. Cancer Res, 48(23):6876-6881.

Baker AR, McDonnell DP, Hughes M, Crisp TM, Mangelsdorf DJ, Haussler MR, Pike JW, Shine J, O'Malley BW (1988). Cloning an expression of full-length cDNA encoding human vitamin D receptor. Proc Natl Acad Sci USA, 85(10):3294-3298.

Baltzer A, Reinecke J, Wehling P, Granrath M, Schulitz KP (1999). Genetic determination of bone density. Z Orthop Ihre Grenzgeb, 137:273-279.

Bartley J (2008). Prevalence of vitamin D deficiency among patients attending a multidisciplinary tertiary pain clinic. *N Z Med J*, 121(1286):57-62.

Baxter LA & DeLuca HF (1976). Stimulation of 25-hydroxyvitamin D₃-1alpha-hydroxylase by phosphate depletion. *J Biol Chem*, 251(10):3158-3161.

Bell NH, Epstein S, Greene A, Shary J, Oexman MJ, Shaw S (1985). Evidence for alteration of the Vitamin D endocrine system in obese subjects. *J Clin Invest*, 76(1):370-373.

Bhalla AK, Clemens T, Amento E, Holick MF, Krane SM (1983). Specific high-affinity receptors for 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in human peripheral blood mononuclear cells: presence in monocytes and induction in T lymphocytes following activation. *J Clin Endocrinol Metab*, 57(6):1308-1310.

Braun A, Bichlmaier R, Cleve H. (1992). Molecular analysis of the gene for the human vitamin D binding protein (group specific component): allelic differences of the common genetic GC types. *Hum Genet*, 89(4):401-406.

Brown EM, Gamba G, Riccardi D, Lombardi M, Butters R, Kifor O, Sun A, Hediger MA, Lutton J, Hebert SC (1993). Cloning and characterisation of an extracellular Ca²⁺-sensing receptor from bovine parathyroid. *Nature*, 366(6455):575-580.

Brown AJ, Dusso A, Slatopolsky E (1999). Vitamin D. *Am J Physiol*, 277(2):157-175.

Calvi L & Bushinsky D (2008). When is it appropriate to order an ionized calcium? *J Am Soc Nephrol*, 19(7):1257-1260.

Carlberg C & Polly P (1998). Gene regulation by vitamin D₃. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 8(3):19-42.

Chang TJ, Lei HH, Yeh JL, Chiu KC, Lee KC, Chen MC, Tai TY, Chuang LM (2000). Vitamin D receptor gene polymorphisms influence susceptibility to type 1 diabetes mellitus in the Taiwanese population. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 52(5):575-580.

Chapuy MC, Durr F, Chapuy P (1983). Age-related changes in parathyroid hormone and 25-hydroxycholecalciferol levels. *J Gerontol*, 38(1):19-22.

Chapuy MC, Larquier C, Peyron R, Meunier PJ (1994). Comparative effects of a threemonth supplement with 25(OH)D₃ or vitamin D in Vitamin D-deficient elderly patients. In: Norman AW, Bouillon R, Thomasset M (eds): *Vitamin D. A pluripotent steroid hormone: Structural studies, Molecular Endocrinology and Clinical Applications*. de Gruyter, Berlin, p. 877.

Clark F, Simpson W, Young JR (1972). Osteomalacia in immigrants from the Indian subcontinent in Newcastle upon Tyne. *Proc R Soc Med*, 65(5):478-480.

Colston K, Colston MJ, Feldman D (1981). 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and malignant melanoma: the presence of receptors and inhibition of cell growth in culture. *Endocrinology*, 108(3):1083-1086.

Colston KW, Berger U, Coombes RC (1989). Possible role for vitamin D in controlling breast cancer cell proliferation. *Lancet*, 1(8631):188-191.

Cooke NE & Haddad JG (1989). Vitamin D binding protein (Gc-globulin). *Endocr Rev*, 10(3):294-307.

Cordes U, Englisch S, Omran W, Hesch RD (1998). Die unterschiedliche Ausprägung von Vitamin D-Rezeptor-Gen und Collagen I-alpha-1-Gen-Polymorphismen bei Männern und Frauen mit Osteoporose. *Osteologie*, 7(2):105-112.

Corless D, Beer M, Boucher BJ, Gupta SP, Cohen RD (1975). Vitamin D status in long-stay geriatric patients. *Lancet*, 1(7922):1404-1406.

Därr R, Ziller V, Hadji P, Hofbauer LC (2008). Klinik und Diagnostik der Osteoporose und Osteomalazie. *Internist*, 49:1170-1177.

Delmas PD, Malaval L, Arlot ME, Meunier PJ (1985). Serum bone Gla-protein compared to bone histomorphometry in endocrine diseases. *Bone*, 6(5):339-341.

Dobnig H, Pilz S, Scharnagl H, Renner W, Seelhorst U, Wellnitz B, Kinkeldei J, Boehm B, Weihrauch G, Maerz W (2008). Independent association of low serum 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D levels with all-cause and cardiovascular mortality. *Arch Intern Med*, 168(12):1340-1349.

Dören M, Faßbender WJ, Lauritzen C, Stracke H (1997). Prophylaxe und Therapie der Osteoporose mit Östrogenen und Gestagenen. Georg Thieme Verlag, Stuttgart – New York.

Ducy P, Desbois C, Boyce B, Pinero G, Story B, Dunstan C, Smith E, Bonadio J, Goldstein S, Gundberg C, Bradley A, Karsenty G (1996). Increased bone formation in osteocalcin-deficient mice. *Nature* 382(6590):448-452.

Duman BS, Tanakol R, Erensoy N, Oztürk M, Yilmaz S (2004). Vitamin D receptor alleles, bone mineral density and turnover in postmenopausal osteoporotic and healthy women. *Med Princ Pract*, 13(5):260-266.

Dunn OJ (1964). Multiple comparisons using rank sums. *Technometrics*, 6:241-252.

Dunningan MG, Paton JPJ, Haase S, McNicol GW, Gardner MD, Smith CM (1962). Late rickets and osteomalacia in the Pakistani Community in Glasgow. *Scott Med J*, 7:159-167.

Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E (2005). Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol*, 289(1):8-28.

Eccleshall TR, Garnero P, Gross C, Delmas PD, Feldman D (1998). Lack of correlation between start codon polymorphism of the vitamin D receptor gene and bone mineral density in premenopausal French women: The OFELY study. *J Bone Miner Res*, 13(1):31-35.

El Abdaimi, Dion KN, Papavasiliou V, Cardinal PE, Binderup L, Goltzman D, Ste-Marie LG, Kremer R (2000). The vitamin D analogue EB 1089 prevents skeletal metastasis and prolongs survival time in nude mice transplanted with human breast cancer cells. *Cancer Res*, 60(16):4412-4418.

el-Sonbaty MR & Abdul-Ghaffar NU (1996). Vitamin D deficiency in veiled Kuwaiti women. *Eur J Clin Nutr* 50(5):315-318.

Erkal MZ, Wilde J, Bilgin Y, Akinci A, Demir E, Bödeker RH, Mann M, Bretzel RG, Stracke H, Holick MF (2006). High prevalence of vitamin D deficiency, secondary hyperparathyroidism and generalized bone pain in Turkish immigrants in Germany: identification of risk factors. *Osteoporos Int*, 17(8):1133-1140.

Esvelt RP, Schnoes HK, DeLuca HF (1978). Vitamin D₃ from rat skins irradiated in vitro with ultraviolet light. *Arch Biochem Biophys*, 188(2):282-286.

Ferrari S, Rizzoli R, Manen D, Slosman D, Bonjour JP (1998). Vitamin D receptor gene start codon polymorphisms (FokI) and bone mineral density: Interaction with age, dietary calcium, and 3'-end region polymorphisms. *J Bone Miner Res*, 13(6):925-930.

Ferrari SL, Rizzoli R, Slosman DO, Bonjour JP (1998). Do dietary calcium and age explain the controversy surrounding the relationship between bone mineral density and vitamin D receptor gene polymorphisms? *J Bone Miner Res*, 13(3):363-370.

Ferron M, Hinoi E, Karsenty G, Ducy P (2008). Osteocalcin differentially regulates beta cell and adipocyte gene expression and affects the development of metabolic diseases in wild-type mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105(13):5266-5270.

Fleet JC, Harris SS, Wood RJ, Dawson-Hughes B (1995). The BsmI vitamin D receptor restriction fragment length polymorphism (BB) predicts low bone density in premenopausal black and white women. *J Bone Miner Res*, 10(6):985-990.

Ford JA, Colhoun EM, McIntosh WB, Dunnigan MG (1972). Rickets and Osteomalacia in the Glasgow Pakistani Community, 1961-71. *Br Med J*, 2(5815):677-680.

Frampton RJ, Omond SA, Eisman JA (1983). Inhibition of human cancer cell growth by 1,25-dihydroxyvitamin D₃ metabolites. *Cancer Res*, 43(9):4443-4447.

Garnero P, Borel O, Sornay-Rendu E, Delmas PD (1995). Vitamin D receptor gene polymorphisms do not predict bone turnover and bone mass in healthy premenopausal women. *J Bone Miner Res*, 10:1283-1288.

Garnero P & Delmas PD (1996). New developments in biochemical markers for osteoporosis. *Calcif Tissue Int*, 59(2):2-9.

Grant SFA, Reid DM, Blake G, Herd R, Fogelman I, Ralston SH (1996). Reduced bone density and osteoporosis associated with a polymorphic Sp1 binding site in the collagen type I alpha 1 gene. *Nat Gene*, 14(2):203-205.

Gray RW, Omdahl JL, Ghazarian JG, DeLuca HF (1972). 25-hydroxycholecalciferol-1-hydroxylase: subcellular location and properties. *J Biol Chem*, 247(23):7528-7532.

Gross C, Eccleshall TR, Malloy PJ, Villa ML, Marcus R, Feldmann D (1996). The presence of a polymorphism at the translation initiation site of the vitamin D receptor gene is associated with low bone mineral density in postmenopausal Mexican-American women. *J Bone Miner Res*, 11(12):1850-1855.

Gross C, Krishnan AV, Malloy PJ, Eccleshall TR, Zhao XY, Feldmann D (1998). The vitamin D receptor gene start codon polymorphism: a functional analysis of FokI variants. *J Bone Miner Res*, 13(11):1691-1699.

Güler T, Sivas F, Baskan BM, Günesen O, Alemdaroglu E, Ozoran K (2007). The effect of outfitting style on bone mineral density. *Rheumatol Int*, 27(8):723-727.

Güzel R, Kozanoglu E, Guler-Uysal F, Soyupak S, Sarpel T (2001). Vitamin D status and bone mineral density of veiled and unveiled Turkish women. *J Womens Health Gend Based Med*, 10(8):765-770.

Haddad JG (1987). Traffic, binding and cellular access of vitamin D sterols. In: *Bone and Mineral Research*, Peck WA (ed). New York: Elsevier, 5:281-308.

Haddad JG (1992). Clinical aspects of measurements of plasma vitamin D sterols and the vitamin D binding protein. In: *Disorders of Bone and Mineral Metabolism*. Coe FL, Favus MJ (eds). New York Raven, 195-216.

Haddad JG, Matsuoko LY, Hollis BW, Hu YZ, Wortsman J (1993). Human plasma transport of vitamin D after its endogenous synthesis. *J Clin Invest*, 91(6):2552-2555.

Hagiwara, S, Seung-Oh Y, Glüer CC, Bendavid E, Genant HK (1994). Noninvasive bone mineral density measurement in the evaluation of osteoporosis. *Rheum Dis Clin North Am*, 20(3):651-669.

Halline AG, Davidson NO, Skarosi SF, Sitrin MD, Tietze C, Alpers DH, Brasitus TH (1994). Effects of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ on proliferation and differentiation of Caco-2 cells. *Endocrinology*, 134(4):1710-1717.

Hansen CM, Frandsen TL, Brunner N, Binderup L (1994). 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D₃ inhibits the invasive potential of human breast cancer cells in vitro. *Clin Exp Metastasis*, 12(3):195-202.

Harris SS, Eccleshall TR, Gross C, Dawson-Hughes B, Feldmann D (1997). The vitamin D receptor start codon polymorphism (FokI) and bone mineral density in premenopausal American black and white women. *J Bone Miner Res*, 12(7):1043-1048.

Hata K, Tokuhiko H, Nakatsuka K, Miki T, Nishizawa Y, Morii H, Miura M (1996). Measurement of bone-specific alkaline phosphatase by an immunoselective enzyme assay method. *Ann Clin Biochem*, 33(2):127-131.

Haussler MR & Norman NW (1969). Chromosomal receptor for a vitamin D metabolite. *Proc Natl Acad Sci USA*, 62(1):155-162.

Henry HL (1979). Regulation of the hydroxylation of 25-hydroxyvitamin D₃ in vivo and in primary cultures of chick kidney cells. *J Biol Chem*, 254(8):2722-2729.

Herold G und Mitarbeiter (2005). *Innere Medizin 2005*. Herold Verlag. Köln, 656-658.

Hess A & Unger L (1921). Cure of infantile rickets by sunlight. *JAMA*, 77:39-41.

Holick MF, Schnoes HK, DeLuca HF, Gray RW, Boyle ET, Suda T (1972). Isolation and identification of 24,25-dihydroxycholecalciferol, a metabolite of vitamin D₃ made in kidney. *Biochemistry*, 11(23):4251-4255.

Holick MF, MacLaughlin JA, Clark MB, Holick SA, Potts JT Jr., Anderson RR, Blank IH, Parrish JA, Elias P (1980). Photosynthesis of previtamin D₃ in human skin and the physiologic consequences. *Science*, 210(4466):203-205.

Holick MF (1996). Vitamin D and bone health. American Institute of Nutrition; Symposium: Nutritional advances in human bone metabolism.

Houben RJ, Jin D, Stafford DW, Proost P, Ebberink RH, Vermeer C, Soute BA (1999). Osteocalcin binds tightly to the gamma-glutamylcarboxylase at a site distinct from that of the other known vitamin K-dependent proteins. *Biochem J*, 341(2):265-269.

Howard G, Nguyen T, Morrison N, Watanabe T, Sambrook P, Eisman J, Kelly PJ (1995). Genetic influences on bone density: physiological correlates of vitamin D receptor gene alleles in premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, 80(9):2800-2805.

Huldschinsky K (1919). Heilung von Rachitis durch künstliche Höhensonne. *Dtsch Med Wochenschr*, 45:712-713.

Hustmeyer FG, Peacock M, Hui S, Johnston CC, Christian J (1994). Bone mineral density in relation to polymorphism at the vitamin D receptor gene locus. *J Clin Invest*, 94(5):2130-2134.

Ilich JZ & Kerstetter JE (2000). Nutrition in bone health revisited: a story beyond calcium. *J Am Coll Nutr*, 19(6):715-737.

Issa LL, Leong GM, Eismann JA (1998). Molecular mechanism of vitamin D receptor action. *Inflamm Res*, 47(12):451-475.

Jones G (1999). Metabolism and catabolism of vitamin D, its metabolites and clinically relevant analogs. In: *Vitamin D Physiology, Molecular Biology, and Clinical Applications*. Holick MF (ed). Humana Press Totowa NJ, pp. 57-84.

Kahraman H, Duman BS, Alagöl F, Tanakol R, Yilmazer S (2004). Lack of association between vitamin D receptor gene polymorphism (BsmI) and osteomalacia. *J Bone Miner Metabol*, 22(1):39-43.

Kanatani M, Sugimoto T, Kanzawa M, Yano S, Chihara K (1999). High extracellular calcium inhibits osteoclast-like cell formation by directly acting on the calcium-sensing receptor existing in osteoclast precursor cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 261(1):144-148.

Kim YS, Stumpf WE, Clark SA, Sar M, DeLuca HF (1983). Target cells for 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in developing rat incisor teeth. *J Dent Res*, 62(1):58-59.

Kelly PJ, Morrison NA, Sambrook KPN, Nguyen TV, Eisman JA (1995). Genetic influences on bone turnover, bone density and fracture. *Eur J Endocrinol*, 133(3):265-271.

Kersting M & Bergmann K (2008). Ausgewählte Ergebnisse der DONALD-Studie mit dem Fokus auf den Verzehr von Milchprodukten. *Ernährungsumschau* 09/2008.

Kolbeck S, Bail H, Weiler A, Windhagen H, Haas N, Raschke M (1999). Digital radiography. A predictor of regenerate bone stiffness in distraction osteogenesis. *Clin Orthop*, (366):221-228.

Krall EA & Dawson-Hughes B (1993). Heritable and lifestyle determinants of bone mineral density. *J Bone Miner Res*, 8(1):1-9.

Kruse HP & Kuhlencordt F (1994). Erkrankungen der Nebenschilddrüsen und Störungen des Kalzium-Phosphat-Stoffwechsels. In: Gross R, Schölmerich P, Gerok W (Hrsg.): *Die Innere Medizin*, 8. Aufl., Schattauer Verlag, Stuttgart, 874-87.

Kruskal WH & Wallis WA (1952 & 1953). Use of ranks in one-criterion variance analysis. *J Amer Stat Ass* 47:583-621 (1952) & 48:907-911 (1953)

Labuda M, Fujiwara TM, Ross MV, Morgan K, Garcia-Heras J, Ledbetter DH, Hughes MR, Glorieux FH (1992). Two hereditary defects related to vitamin D metabolism map to the same region of human chromosome 12q13-14. *J Bone Miner Res*, 7(12):1447-1453.

Lange U (2000). Skeletal status in ankylosing spondylitis. *J Rheumatol*, 27:4-27.

Lange U, Jung O, Teichmann J, Neeck G (2001). Relationship between disease activity and serum levels of vitamin D metabolites and parathyroid hormone in ankylosing spondylitis. *Osteoporos Int*, 12(12):1031-1035.

Lange U, Kluge A, Strunk J, Teichmann J, Bachmann G (2005). Ankylosing spondylitis and bone mineral density – what is the ideal tool for measurement? *Rheumatol Int*, 26(2):115-120.

Lange U & Schulz A (2005). Osteoporose und Genetik des Knochenstoffwechsels. *Akt Rheumatol*, 30:354-362.

Li C, Liu Z, Zhang Z, Strom SS, Gershenwald JE, Prieto VG, Lee JE, Ross MI, Mansfield PF, Cormier JN, Duvic M, Grimm FA, Wie Q (2007). Genetic variants of the vitamin D receptor gene alter risk of cutaneous melanoma. *J Invest Dermatol*, 127(2):276-280.

Li C, Li Y, Gao LB, Wang YY, Zhou B, Lv ML, Lu HM, Zhang L (2008). Vitamin D receptor gene polymorphisms and the risk of colorectal cancer in a Chinese population. *Dig Dis Sci*, 54(3):634-639.

Lips P (2007). Vitamin D status and nutrition in Europe and Asia. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 103(3-5):620-625.

Liu W, Zhang CY, Wu XM, Tian L, Li CZ, Zhao QM, Zhang PH, Yang SM, Yang H, Zhang XT, Cao WC (2003). A case-control study on the vitamin D receptor gene polymorphisms and susceptibility to pulmonary tuberculosis. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*, 24(5):389-392.

Looney JE, Yoon HK, Fischer M, Farley SM, Farley JR, Wergedal JE, Baylink DJ (1995). Lack of high prevalence of the BB vitamin D receptor genotype in severely osteoporotic women. *J Clin Endocrinol Metab*, 80(7):2158-2162.

Lu Y, Chen TC, Holick MF (1992). Influence of season and time of day on the synthesis of vitamin D₃. In: *Biological Effects of Light*. Holick MF, Kligman AM (eds). Berlin Walter de Gruyter, pp. 57-61.

Lu HJ, Li HL, Hao P, Li JM, Zhou LF (2003). Association of the vitamin D receptor gene start codon polymorphism with vitamin D deficiency rickets. *Zhonghua Er Ke Za Zhi*, 41(7):493-496.

MacLaughlin JA, Anderson RR, Holick MF (1982). Spectral character of sunlight modulates photosynthesis of previtamin D₃ and its photoisomers in human skin. *Science*, 216(4549):1001-1003.

Matsuoko LY, Wortsman J, Dannenberg MJ, Hollis B, Lu Z, Holick MF (1992). Clothing prevents ultraviolet-B radiation-dependent photosynthesis of vitamin D₃. *J Clin Endocrinol Metab*, 75(4):1099-1103.

McClure L, Eccleshall TR, Gross C, Villa ML, Lin N, Ramaswamy V, Kohlmeier L, Kelsey JL, Marcus R, Feldmann D (1997). Vitamin D receptor polymorphisms, bone mineral density and bone metabolism in postmenopausal Mexican-American women. *J Bone Miner Res*, 12(2):234-240.

McKenna MJ (1992). Differences of vitamin D status between various countries in young adults and the elderly. *Amer J Med*, 93(1):69-77.

Mensink G (2007). Die aktuelle Nährstoffversorgung von Kindern und Jugendlichen in Deutschland. Ergebnisse aus EsKiMo. In: *Ernährungsumschau*, 11:636-646.

Milde P (1991). Vitamin D und die Haut: neue Aspekte und die Perspektiven. *Hautarzt*, 42:671-676.

Mitra S, Desai M, Ikram Khatkhatay M (2006). Vitamin D receptor gene polymorphisms and bone mineral density in postmenopausal Indian women. *Maturitas*, 55(1):27-35.

Morrison NA, Qi JC, Tokita A, Kelly PJ, Crofts L, Nguyen TV, Sambrook PN, Eisman JA (1994). Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature*, 367(6460):284-287.

MTA Praxis (2002). Molekularbiologische Diagnostik. Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) und weitere Nukleinsäureamplifikationstechniken. Hoppenstedt Bonnier Zeitschriften GmbH.

Murakami F, Hagino H, Shimomura T, Ikawa S, Hirano Y, Iijima K, Yamamoto K (1998). Association of bone mineral density with vitamin D receptor gene polymorphism – changes in radial bone mineral density with long-term follow-up: logitudinal study. *Rinsho Byori*, 46(8):766-773.

Naderi N, Farnood A, Habibi M, Derkhshan F, Blaii H, Motahaari Z, Agah MR, Firouzi F, Rad MG, Aghazadeh R, Zojaji H, Zali MR (2008). Association of vitamin D receptor gene polymorphisms in Iranian patients with inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol Hepatol*, 23(12):1816-1822.

Lee NK, Sowa H., Hinoi E, Ferron M, Ahn JD, Confavreux C, Dacquin R, Mee PJ, McKee MD, Jund DY, Zhang Z, Kim JK, Mauvais-Jarvis F, Ducy P, Karsenty G (2007). Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton. *Cell*, 130(3):456-469.

Newton CR & Graham A (1994). Labor im Fokus – PCR 2. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag. Oxford, Berlin, Heidelberg.

Obermayer-Pietsch B, Lackner C, Frühauf G, Fahrleitner A, Leib G (1997). Mutter-Tochter-Paare und genetische Aspekte der Osteoporose. *J Miner Stoffwechs*, Sonderheft 2:5-6.

Obermayer-Pietsch B, Tauber G, Aglas F, Hermann J, Leb G (1999). Osteoporose bei M. Bechterew - neue Ansätze. J Miner Stoffwechs, 3:7-13.

Obermayer-Pietsch BM, Frühauf GE, Chararas K, Mikhail-Reinisch S, Rener W, Berghold A, Kenner L, Lackner C (2000). Association of the vitamin D receptor genotype BB with low bone density in hyperthyroidism. J Bone Miner Res, 15(10):1950-1955.

Obermayer-Pietsch B (2002). Osteoporose und Genetik des Knochenstoffwechsels. J Miner Stoffwechs, 1:7-12.

Obermayer-Pietsch B, Lange U, Tauber G, Frühauf G, Fahrleitner A, Dobnig H, Hermann J, Aglas F, Teichmann J, Neeck G, Leb G (2003). Vitamin D receptor initiation codon polymorphism, bone density and inflammatory activity of patients with ankylosing spondylitis. Osteoporos Int, 14(12):995-1000.

Offermann G (1978). Osteomalacia of immigrants in Germany. Dtsch Med Wochenschr, 103(36):1387-1388.

Offermann G & Biehle G (1978). Vitamin D-Mangel und Osteomalazie beim alten Menschen. Dtsch Med Wochenschr, 103(36):415-419.

Ohyama Y, Ozono K, Uchida M, Shinki T, Klato S, Suda T, Yamamoto O, Noshiro M, Kato Y (1994). Identification of a vitamin D-responsive element in the 5'-flanking region of the rat 25-hydroxyvitamin D₃ 24-hydroxylase gene. J Biol Chem, 269(14):10545-10550.

Okabe R, Nakatsuka K, Inaba M, Miki T, Naka H, Masaki H, Moriguchi A, Nishizawa Y (2001). Clinical evaluation of the Elecsys beta-CrossLaps serum assay, a new assay for degradation products of type I collagen C-telopeptides. Clin Chem, 47(8):1410-1414.

Okuda KI, Usui E, Ohyama Y (1995). Recent progress in enzymology and molecular biology of enzymes involved in vitamin D metabolism. *J Lipid Res*, 36(8):1641-1652.

Oster P, Tabouillot WV, Nold F, Schmidt-Gayk H, Schlierf G (1983). Prävalenz pathologischer Vitamin D- und Parathormonspiegel bei geriatrischen Patienten. *Akt Gerontol* 13:221-222.

Parfitt AM (1997). Vitamin D and the pathogenesis of rickets and osteomalacia. In: Feldmann D, Glorieux FH, Pike JW (eds). *Vitamin D*. Academic Press, San Diego, pp. 645-662.

Park SY, Murphy SP, Wilkens LR, Nomura AM, Henderson BE, Kolonel LN (2007). Calcium and vitamin D intake and risk of colorectal cancer: the multiethnic cohort study. *Am J Epidemiol*, 1;165(7):784-793.

Pocock NA, Eisman JA, Hopper JL, Yeates MG, Sambrook PN, Eberl S (1987). Genetic determinants of bone mass in adults. A twin study. *J Clin Invest*, 80(3):706-710.

Pozzan T, Rizzuto R, Volpe P, Meldolesi J (1994). Molecular and cellular physiology of intracellular calcium stores. *Physiol Rev*, 74(3):595-636.

Preece MA, McIntosh WB, Tomlinson S, Ford JA, Dunnigan MG, O'Riordan JL (1973). Vitamin D deficiency among Asian immigrants to Britain. *Lancet*, 28(7809):907-910.

Provvedine DM, Tsoukas CD, Deftos LJ, Manolagas SC (1986). $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D₃-binding makromoleküle in human B lymphocytes: effects on immunoglobulin production. *J Immunol*, 136(8):2734-2740.

Rajakumar K (2003). Vitamin D, cod-liver oil, sunlight, and rickets: a historical perspective. *Pediatrics* 112(2):132-135.

Rauch F, Radermacher A, Danz A, Schiedermaier U, Golucke A, Michalk D, Schonau E (1997). Vitamin D receptor genotypes and changes of bone density in physically active German women with high calcium intake. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 105:103-118.

Reiser M, Kuhn FP, Debus J (2006). Radiologie - Duale Reihe. 2. Auflage. Thieme Verlag, Stuttgart.

Riggs BL, Nguyen TV, Melton LJ 3rd, Morrison NA, O'Fallon WM, Kelly PJ, Egan KS, Sambrook PN, Muhs JM, Eisman JA (1995). The contribution of vitamin D receptor gene alleles to the determination of bone mineral density in normal and osteoporotic women. *J Bone Miner Res*, 10(6):991-996.

Sachs L (1997). Angewandte Statistik. Springer Verlag. Kap. 73.

Salamone LM, Glynn NW, Black DM, Ferrell RF, Palermo L, Epstein RS, Kuller LH, Cauley JA (1996). Determinants of premenopausal bone mineral density: The interplay of genetic and lifestyle factors. *J Bone Miner Res*, 11(10):1557-1565.

Schott GD & Wills MR (1976). Muscle weakness in osteomalacia. *Lancet*, 1(7960):626-629.

Seibel MJ & Stracke H (1997). Metabolische Osteopathien, Schattauer Verlag, 1. Auflage. Stuttgart/New York.

Selby P (2003). Rickets and osteomalacia. In: Rheumatology. Hochberg M, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt ME, Weisman MH (eds), *Metabolic bone disease*, third edition, Mosby, Toronto, pp. 2117-2128.

Simpson RU & Arnold AJ (1986). Calcium antagonizes 1,25-dihydroxyvitamin D₃ inhibition of breast cancer cell proliferation. *Endocrinology*, 119(5):2284-2289.

Slemenda CW, Christian JC, Williams CJ, Norton JA, Johnston CC Jr. (1991). Genetic determinants of bone mass in adult women: A reevaluation of the twin model and the potential importance of gene interaction on heritability estimates. *J Bone Miner Res*, 6(6):561-567.

Sorva A, Risetli L, Valimaki M, Tilvis R. (1991). Effect of vitamin D and calcium on markers of bone metabolism in geriatric patients with low serum 25-hydroxyvitamin D levels. *Calcif Tissue Int*, 49:588-589.

Spanuth E (2003). Therapiemonitoring in der Osteoporose. *Osteoporose & Rheuma Aktuell*, 3:34–35.

Stumpf WE, Sar M, Reid FA, Tanaka Y, DeLuca HF (1979). Target cells for 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in intestinal tract, stomach, kidney, skin, pituitary and parathyroid. *Science*, 206(4423):1188-1190.

Stumpf WE, Sar M, Narbaitz R, Huang S, DeLuca HF (1983). Autoradiographic localization of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in rat placenta and yolk sac. *Horm Res*, 18(4):215-220.

Stumpf WE, Clark SA, Sar M, DeLuca HF (1984). Topographical and developmental studies on target sites of 1,25(OH)₂-vitamin D₃ in skin. *Cell Tissue Res*, 238(3):489-496.

Swan CHJ & Cooke WT (1971). Nutritional osteomalacia in immigrants in an urban community. *Lancet*, 28(7722):356-359.

Szpirer S, Szpirer C, Riviere M, Levan G, Maryen P, Cassiman JJ, Wiese R, DeLuca HF (1991). The SP1 transcription factor gene (SP1) and the 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptor gene (VDR) are colocalized on human chromosomal arm 12q and rat chromosome 7. *Genomics*, 11(1):168-173.

Takashi N, Hiroshi T, Shigeki S, Haruhiko K, Kenji A, Hiroyoshi M, Yoshiki S, Ryuzo U (1999). Vitamin D receptor gene polymorphism in patients with sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med*, 160(4):1107-1109.

Tang C, Chen N, Wu M, Yuan H, Du Y (2009). Fokl polymorphism of vitamin D receptor gene contributes to breast cancer susceptibility: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat.* Published online: 6 January 2009.

Tsoukas CD, Provvedine DM, Manolagas SC (1984). 1,25-dihydroxyvitamin D₃, a novel immunoregulatory hormone. *Science*, 224(4656):1438-1440.

Valdivielso JM & Fernandez E (2006). Vitamin D receptor polymorphisms and diseases. *Clin Chim Acta*, 371(1-2):1-12.

Vandewalle B, Hornez L, Wattez N, Revillion F, Lefebvre J (1995). Vitamin-D₃ derivatives and breast-tumor cell growth: effect on intracellular calcium and apoptosis. *Int J Cancer*, 61(6):806-811.

van Hoof VO & de Broe ME (1994). Interpretation and clinical significance of alkaline phosphatase isoenzyme patterns. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 31(3):197-293.

van Leeuwen JPTM, Vink-van Wijngaarden T, Pols HAP (1999). Vitamin D and breast cancer. In: *Vitamin D Physiology, Molecular Biology and Clinical Applications*. Holick MF (ed). Humana Press Totowa NJ, pp. 411-429.

Velluz L & Amirad G (1949). Chimie organique – le precalciferol. *Compt Rend*, 228:692-694.

Vieth R (1990). The mechanisms of vitamin D toxicity. *Bone Miner*, 11:267-272.

Vupputuri MR, Goswami R, Gupta N, Ray D, Tandon N, Kumar N (2006). Prevalence and functional significance of 25-hydroxyvitamin D deficiency and vitamin D receptor gene polymorphisms in Asian Indians. *Am J Clin Nutr*, 83(6):1411-1419.

Walters MR (1992). Newly identified actions of the vitamin D₃ endocrine system. *Endocr Rev*, 13(4):719-764.

Webb AR, Kline L, Holick MF (1988). Influence of season and latitude on the cutaneous synthesis of vitamin D₃: Exposure to winter sunlight in Boston and Edmonton will not promote vitamin D synthesis in human skin. *J Clin Endocrinol Metab*, 67(2):373-378.

Weissmüller K (2002). Dissertationsschrift: Vitamin D-Rezeptor-Gen-Polymorphismen und Knochenstoffwechsel bei Patienten mit Typ 1 Diabetes mellitus und gesunden Kontrollpersonen.

Wémeau JL (1995). Calcitropic hormones and ageing. *Horm Res*, 43(1-3):76-79.

Wichers M, Schmidt E, Bidlingmaier F, Klingmüller D (1999). Diurnal rhythm of CrossLaps in human serum. *Clin Chem*, 45(10):1858-1860.

Windaus A, Schenck F, Weder F (1936). Über das antirachitisch wirksame Bestrahlungsprodukt aus 7-Dehydrocholesterin. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem*, 241:100-103.

Withold W, Schulte U, Reinauer H (1996). Method for determination of bone alkaline phosphatase activity: Analytical performance and clinical usefulness in patients with metabolic and malignant bone diseases. *Clin Chem*, 42(2):210-217.

Wolf G (1996). Function of the bone protein osteocalcin: definitive evidence. *Nutr Rev*, 54(10):332-333.

Wortsman J, Matsuoka LT, Chen TC, Lu Z, Holick MF (2000). Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr*, 72(3):690-693.

Wu SX, Finch J, Zhong M, Slatoposky E, Grieff M, Brown AJ (1996). Expression of the renal 25-hydroxyvitamin D-24-hydroxylase gene-regulation by dietary phosphate. *Am J Physiol*, 271(1 Pt 2):203-208.

Zierold C, Darwish HM, DeLuca HF (1994). Identification of a vitamin D-response element in the rat calcidiol (25-hydroxyvitamin D₃) 24-hydroxylase gene. *Proc Natl Acad Sci USA*, 91(3):900-902.

9 Danksagung

Zunächst möchte ich Herrn Prof. Dr. med. U. Lange für die Überlassung des Themas, die vertrauensvolle Zusammenarbeit, exzellente Betreuung und fortwährende Unterstützung danken. Ohne sein Fachwissen und ausgesprochenes Engagement wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Meinem Betreuer, Herrn Dr. med. Z. Erkal, möchte ich ebenfalls danken für die Unterstützung, Betreuung und vor allem für die Mobilisierung und Organisation der zahlreichen Probandengruppen aus weiten Teilen Deutschlands. Er war immer ansprechbar und äußerst engagiert.

Für die Bereitstellung sämtlicher Räumlichkeiten danke ich Herrn Prof. Dr. U. Müller-Ladner, dem ärztlichen Direktor der Abteilung für Rheumatologie und Klinische Immunologie der Kerckhoff-Klinik in Bad Nauheim.

Meinen Eltern und Geschwistern bin ich dankbar für ihre Unterstützung, die Kraft und die Liebe, die mich all die Jahre durch mein Studium begleitet haben.

“Teşekkür ederim“

Ein großes Danke gilt vor allem Ayla für ihre stetige Motivation und aufbauenden Worte.

Ebenso möchte ich allen Probanden, die an dieser Studie teilnahmen, meinen Dank aussprechen wie auch all denen, die nicht namentlich Erwähnung fanden, aber zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben

**Der Lebenslauf wurde aus der elektronischen
Version der Arbeit entfernt.**

**The curriculum vitae was removed from the
electronic version of the paper.**

11 Erklärung

Ich erkläre:

Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.

Das Ziel dieser Arbeit war die Beschreibung eines möglichen Zusammenhanges zwischen einer verminderten Knochendichte in Form von osteoporotischen Verhältnissen und Vitamin-D-Rezeptor-Gen-Polymorphismen bei in Deutschland lebenden türkischen Migranten im Vergleich zu einer gesunden deutschen Kontrollgruppe.

Bestimmt wurden verschiedene Laborparameter mit Einfluss auf den Knochenstoffwechsel und die Knochendichte. Weiterhin erfolgte eine Genotypisierung der beiden VDR-Gen-Polymorphismen BsmI und FokI.

Ergebnisse:

- 83,1% der türkischen Migranten und 45,7% der Deutschen wiesen eine 25(OH)D₃-Hypovitaminose auf
- bedeutende Abweichungen hinsichtlich der Verteilung für einen BsmI-Polymorphismus lagen nicht vor
- bezüglich der FokI-Allele zeigten türkische Migranten signifikant häufiger den Genotyp FF
- türkische Migrantinnen mit dem Ff-Genotyp wiesen verminderte BMD- und T-Score-Werte auf

Aus den ermittelten Daten lässt sich also bei in Deutschland lebenden türkischen Migrantinnen ein Einfluss der FokI-VDR-Gen-Polymorphismen auf die Knochendichte annehmen.

edition scientifique
VVB LAUFERSWEILER VERLAG

VVB LAUFERSWEILER VERLAG STAUFENBERGRING 15 D-35396 GIESSEN	ISBN 3-8359-5556-X
Tel: 0641-5599888 Fax: -5599890 redaktion@doktorverlag.de www.doktorverlag.de	 9 783835 495556 1