

**Vitamin-D-Rezeptor-Gen-Polymorphismen
und Knochenstoffwechsel bei Patienten
mit Spondylitis ankylosans**

Inauguraldissertation

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

vorgelegt von

Martin Bayer

aus Butzbach

Gießen 2006

Aus dem Institut für Pathologie
des
Fachbereichs Medizin der Justus Liebig Universität Gießen
Direktor: Prof. Dr. med. A. Schulz

Gutachter: Prof. Dr. A. Schulz

Gutachter: PD Dr. U. Lange

Tag der Disputation: 09.02.2007

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.

1	EINLEITUNG.....	1
1.1	MEDIZINHISTORISCHER ÜBERBLICK	1
1.2	DAS KRANKHEITSBILD DER ANKYLOSIERENDEN SPONDYLITIS	1
1.2.1	Definition und Diagnosekriterien.....	1
1.2.2	Synonyme.....	5
1.2.3	Ätiologie, Pathogenese und pathologische Anatomie	5
1.2.4	Epidemiologie	7
1.2.5	Klinik.....	8
1.2.6	Laborchemische Befunde	10
1.2.7	Radiomorphologische Befunde.....	10
1.2.8	Differentialdiagnosen.....	11
1.2.9	Therapie und Prognose	12
1.3	OSTEOPOROSE	14
1.3.1	Definition Osteoporose/Osteopenie.....	14
1.3.2	Idiopathische juvenile Osteoporose	15
1.3.3	Postmenopausale Osteoporose Typ I	15
1.3.4	Senile Osteoporose Typ II	15
1.3.5	Sekundäre Osteoporose Typ III.....	16
1.3.6	Risikofaktoren der Osteoporoseentstehung.....	16
1.3.7	Ursachen und Formen sekundärer Osteoporosen.....	16
1.3.8	Pathophysiologie der Osteoporose	17
1.3.9	Knochenstoffwechsel bei Spondylitis ankylosans	18
1.4	VITAMIN-D ₃	18
1.4.1	Physiologie des Vitamin-D-Metabolismus	18
1.4.2	Wirkungen des Vitamin-D	19
1.4.3	Knochenstoffwechsel und Vitamin-D ₃	20
1.4.4	Der Vitamin-D-Rezeptor	21
1.4.5	Vitamin-D-Rezeptor-Gen-Polymorphismen	21
1.4.6	VDR-Gen-Polymorphismen und Knochendichte	21
2	FRAGESTELLUNG	23
3	METHODIK UND STATISTIK.....	25
3.1	AUSWAHL DER PATIENTEN	25
3.2	LABORBESTIMMUNGEN.....	27
3.3	BATH ANKYLOSING SPONDYLITIS ACTIVITY INDEX (BASDAI).....	28
3.4	KNOCHENDICHTEMESSUNG	29
3.4.1	Dual-Photonenabsorptionsmetrie	29
3.4.2	Quantitative Computertomographie.....	30
3.4.3	Statistik.....	30
3.5	MOLEKULARBIOLOGISCHE ANALYSEN	31
3.5.1	Gewinnung von Leukozyten aus Vollblut	31
3.5.2	Isolierung von Desoxyribonukleinsäure (DNS).....	31
3.5.3	Polymerase-Kettenreaktion (PCR).....	31

3.5.4	Agarose-Gel-Elektrophorese.....	33
3.5.5	Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP)	33
3.5.6	Statistik.....	37
4	ERGEBNISSE.....	38
5	DISKUSSION	51
5.1	DISKUSSION DER METHODIK	51
5.1.1	Probenaufbereitung.....	51
5.1.2	Auswahl der Messparameter	52
5.2	DISKUSSION DER ERGEBNISSE	52
5.3	AUSBLICK	55
6	ZUSAMMENFASSUNG.....	56
7	LITERATURVERZEICHNIS	58
8	ANHANG	75
8.1	ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	75
8.2	TABELLENVERZEICHNIS.....	76
8.3	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	77
9	LEBENS LAUF	79
10	DANKSAGUNG	81

1 Einleitung

1.1 Medizinhistorischer Überblick

Eine erste pathologisch-anatomische Beschreibung der ankylosierenden Spondylitis (AS) verfasste der Anatom Realdo Colombo im Jahre 1559 in seinem Buch „De Re Anatomica“ (Colombo et al., 1559). Erst 130 Jahre nach der Schrift Colombos beschreibt Bernard Connor, ein irischer Arzt, ein humanes Skelett, welches er aufgrund seiner pathologischen Veränderungen für unbeweglich hielt: „I have lately seen in France part of an humane skeleton consisting of the os ilium, the os sacrum, the five vertebrae of the loins, ten of the back, five entire ribs on the right side and three on the left. From this construction of the parts, the body of this person must have been immovable, that could neither bend or stretch himself out, rise up, nor lie down, nor turn upon his side..... and his breathing must have been short“ (Connor et al., 1695). Es folgten Mitte des 19.Jahrhunderts mehrere Kasuistiken, ehe Ende des 19.Jahrhunderts wissenschaftliche Publikationen von Wladimir von Bechterew (1857-1927) (Bechterew, 1893), Adolf Strümpell (1853-1925) (Strümpell, 1897) und Pierre Marie (1853-1940) (Marie, 1898) über die Ankylose der Wirbelsäule veröffentlicht wurden. Den Terminus der ankylosierenden Spondylitis wurde von Simonds (1863-1903) geprägt.

Trotz Entdeckung der Röntgenstrahlung durch Wilhelm Conrad Roentgen im Jahre 1895 dauerte es fast 30 Jahre, ehe diese Neuentdeckung Eingang in die Diagnosestellung der ankylosierenden Spondylitis gefunden hat. Beschreibungen über eine Sakroiliitis in frühen Krankheitsstadien und Ausbildung von Syndesmophyten in späten Krankheitsstadien wurden von Krebs, Forestier, Scott und Robert verfasst (Forestier et al., 1964, Forestier et al., 1956). Mitte des 20.Jahrhunderts wurden Zusammenhänge zwischen der ankylosierenden Spondylitis und anderen Arthritisformen wie der Morbus Reiter, der Psoriasisarthritis und den reaktiven gastrointestinalen Arthritiden erkannt und fortan zur Gruppe der Spondylarthropathien zusammengefasst (Forestier et al., 1964, Forestier et al., 1956, Moll et al., 1974)

1.2 Das Krankheitsbild der ankylosierenden Spondylitis

1.2.1 Definition und Diagnosekriterien

Die Spondylitis ankylosans ist eine häufige chronisch entzündliche rheumatische Erkrankung unklarer Ätiologie mit sowohl destruktiven als auch proliferativen Veränderungen an den

Iliosakralgelenken und der Wirbelsäule. Der Befall der Sakroiliakalgelenke, als Sakroiliitis bezeichnet, gilt als das Markenzeichen der Erkrankung. Die ankylosierende Spondylitis kann zu ausgeprägten Störungen der Wirbelsäulenbeweglichkeit, einer Verschlechterung der Gesamtfunktion des muskuloskelettalen Systems, ausgeprägten Behinderungen sowie Beeinträchtigung der Lebensqualität führen. Ein Übergang zu einer vollständigen Ankylose der Wirbelsäule ist möglich. Charakteristisches Frühsymptom ist bei 75% der Erkrankten ein Rückenschmerz vom entzündlichen Typ mit Schmerzmaximum in der zweiten Nachthälfte und in den frühen Morgenstunden und einer zum Teil mehrere Stunden anhaltende Morgensteifheit. Bewegung lindert den Schmerz und die Steifigkeit.

Arthritiden stammnaher und peripherer Gelenke sowie Neigungen zu entzündlichen Enthesiopathien werden bei 20-50% der Patienten beobachtet. In 20% der Fälle treten periphere Arthritiden als Erstsymptom vor den typischen Rückenschmerzen auf. Interessanterweise kommt es häufiger zu einer peripheren Gelenkbeteiligung bei Frühmanifestationen der ankylosierenden Spondylitis im Vergleich zu Spätmanifestationen (Braun et al., 2000). Neigungen zu multilokulären Enthesitiden, vorzugsweise an den Achillessehneninsertionen und dem Plantaraponeurosenursprung am Calcaneus, aber auch an den Darmbeinschaukeln, dem pes anserinus oder beispielsweise den Hüftgelenken (Trochanter major) kommen gehäuft vor. Extraartikuläre Manifestationen der Augen, des kardiovaskulären Systems, der Nieren und der Lunge sind möglich. Der Verlauf der ankylosierenden Spondylitis ist variabel und zeichnet sich durch Spontanremissionen und Exazerbationen aus. Die Krankheitsaktivität überdauert in der Regel mehrere Jahrzehnte, eine längere Remission ist selten. Die Erkrankung kann bei einigen Patienten einen milden Verlauf zeigen. Ausschließliche Beteiligungen der Sakroiliakalgelenke oder der Lendenwirbelsäule sind möglich.

Die ankylosierende Spondylitis gehört zu der Erkrankungsgruppe der Spondyloarthritiden, die die Gemeinsamkeiten Becken-Wirbelsäulen-Syndrom, periphere Gelenkbeteiligung, familiäre Häufung, Enthesitiden sowie Assoziationen mit dem Humanen Leukozytenantigen (HLA)-B27 auf sich vereinen. Der Begriff der „seronegativen Spondarthritiden“ wurde durch Arbeiten von Wright und Reed (1964) sowie Moll et al. (1974) geprägt und grenzt die Erkrankungsgruppe durch das Fehlen von Rheumafaktoren und Rheumaknoten sowie der fehlenden Symmetrie des Gelenkbefalls von der rheumatoiden Arthritis ab (Moll et al. 1973). Erstmalige klinische Kriterien zur Diagnosestellung der Spondylarthritiden wurden 1961 in Rom aufgestellt (Tab.1) (Kellgren et al., 1963) und bereits 1966 in New York modifiziert (Tab.2) (Bennet et al., 1968).

Tabelle 1: Klinische Diagnosekriterien der AS nach den Rom-Kriterien

Klinische Kriterien	
1.	Tiefsitzender Rückenschmerz und Steifigkeit für mehr als 3 Monate, nicht erleichtert durch Ruhe
2.	Schmerz und Steifigkeit in der Thoraxregion
3.	Limitierte Beweglichkeit der LWS
4.	Limitierte Thoraxexkursion
5.	Anamnese oder Präsenz von Iritis oder deren Folgeerscheinungen
Radiologische Kriterien	
6.	Röntgenbild mit bilateralen Veränderungen der Sakroiliakalgelenke, die für eine spondylitis ankylosans charakteristisch sind
Sichere Diagnosestellung Spondylitis ankylosans, wenn: a) Grad 3-4 einer bilateralen Sakroiliitis mit wenigstens einem klinischen Kriterium b) Mindestens 4 klinische Kriterien	

Tabelle 2: Klinische Diagnosekriterien der AS nach den New York-Kriterien

Klinische Kriterien	
1.	Limitierte Beweglichkeit in der LWS in allen 3 Ebenen: anteriore Flexion, laterale Flexion und Extension
2.	Rückenschmerz im dorsolumbalen Übergang oder in der LWS
3.	Limitierte Thoraxexkursion <2,5cm oder weniger, gemessen im 4. Interkostalraum
<i>Graduierung der Röntgenbilder:</i> <i>Normal=0; Verdächtig=1, Minimale Sakroiliitis=2, Moderate Sakroiliitis=3; Ankylosis=4</i>	
Sichere Diagnosestellung Spondylitis ankylosans, wenn: a) Grad 3-4 einer bilateralen Sakroiliitis mit wenigstens einem klinischen Kriterium b) Mindestens Grade 3-4 einer unilateralen oder Grad 2 einer bilateralen Sakroiliitis mit klinischem Kriterium 1 oder Kriterium 2 und 3 Wahrscheinliche Diagnosestellung Spondylitis ankylosans, wenn: a) Grad 3-4 einer bilateralen Sakroiliitis ohne klinische Kriterien	

Mangelnde Sensitivität und Spezifität der New York-Kriterien führten zu einer Modifikation der New York-Kriterien im Jahre 1984 (Van der Linden et al., 1984) nach welchen zur Diagnosestellung neben einer unilateralen Sakroiliitis Grad 3-4 oder einer bilateralen Sakroiliitis Grad 2-4 ein zusätzliches klinisches Kriterium zur Diagnosesicherung erfüllt sein muss. Die Kriterien im Einzelnen zeigt Tabelle 3.

Tabelle 3: Klinische Diagnosekriterien der AS nach den modifizierten New York-Kriterien

Klinische Kriterien	
1.	Tiefsitzender Rückenschmerz und Steifigkeit für mindestens 3 Monate, nicht erleichtert durch Ruhe, verbessert durch Übungen
2.	Limitierte Beweglichkeit in der LWS in sagittaler und frontaler Ebene
3.	Limitierte Thoraxexkursionen nach Adaption für Alter und Geschlecht
4.	Bilaterale Sakroiliitis Grad 2-4
5.	Unilaterale Sakroiliitis Grad 3-4
Sichere Diagnosestellung Spondylitis ankylosans, wenn:	
a) Unilaterale Sakroiliitis Grad 3-4 oder bilaterale Sakroiliitis Grad 2-4 mit jedem klinischem Kriterium	

Trotz der Anwendung der modifizierten New York-Kriterien wurden einige Subgruppen der Spondylarthropathien, insbesondere bei noch fehlenden radiologischen Zeichen der Sakroiliitis, nicht oder zu spät diagnostiziert. Daher kam es 1991 zur Festlegung der Klassifikationskriterien der Spondylarthropathien der European Spondylarthropathy Study Group (ESSG), welches zur Diagnosestellung neben einem entzündlichen Rückenschmerz oder einer asymmetrischen Synovitis vornehmlich der unteren Extremitäten mindestens eines der in Tabelle 4 dargestellten Kriterien erfüllen muss: Beidseits wechselnder Gesäßschmerz, Sakroiliitis, Enthesiopathie, positive Familienanamnese bezüglich einer ankylosierenden Spondylitis, reaktive Arthritis, Befund oder Anamnese einer Psoriasis, chronische entzündliche Darmerkrankung (Morbus Crohn oder Colitis ulcerosa) oder Urethritis oder Cervizitis oder akute Diarrhoe auftretend innerhalb eines Monats vor dem Beginn der Arthritis (Dougados et al., 1991).

Tabelle 4: ESSG Klassifikationskriterien für Spondylarthritiden

Kriterien	
1.	Entzündlicher Rückenschmerz <i>oder</i> Synovitis (asymmetrisch, vor allem der unteren Extremität)
2.	Positive Familienanamnese
3.	Psoriasis
4.	Chronisch entzündliche Darmerkrankung
5.	Alterierender Gesäßschmerz
6.	Enthesiopathie
Diagnosestellung Spondylarthritiden, wenn:	
a) Vorliegen von Kriterium 1 und zusätzlich einem Kriterium der Gruppe 2-6	

Somit konnten auch Frühformen wie die seronegative Oligoarthritis, die Daktylitis sowie insbesondere die undifferenzierte Spondylarthropathie diagnostisch erfasst werden.

1.2.2 Synonyme

Als Synonyme der ankylosierenden Spondylitis sind neben dem Morbus Bechterew noch die Spondylitis ankylosans, Spondylitis ankylopoetica, primäre oder idiopathische seronegative Spondylarthrititis und die Strümpell-Marie-Bechterew-Krankheit im Sprachgebrauch.

1.2.3 Ätiologie, Pathogenese und pathologische Anatomie

Die Ätiologie und Pathogenese der ankylosierenden Spondylitis ist bislang nicht vollständig geklärt. Bislang konnte kein singuläres Agens als Auslöser der Erkrankung entdeckt werden. Es existieren allerdings Hinweise auf exogene Faktoren gepaart mit genetischer Disposition. Bekannt ist eine Assoziation mit dem humanen Histokompatibilitätsantigen B27, 90% der Patienten mit AS sind HLA-B27 positiv (Brewerton et al., 1973, Schlossstein et al., 1973). Es zeigt sich dass vorwiegend Träger von HLA-B27 mit einer reaktiven Arthritis, einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung sowie einer Psoriasis im weiteren Verlauf Ihrer Erkrankung das Vollbild einer ankylosierenden Spondylitis entwickeln. Dies konnte für 20-40% der HLA-B27 positiven Patienten mit reaktiver Arthritis (Leirisalo-Repo, 1998), 50% der Patienten mit chronisch entzündlicher Darmerkrankung (Purmann et al., 1988) und 10-20% der Patienten mit Psoriasis-Arthritis gezeigt werden (Suarez Almazor et al., 1990). Weitaus weniger kommt es zum Vollbild der AS bei HLA-B27 negativen Patienten mit der gleichen Erkrankung, hier

ist eine Inzidenz unterhalb von 5% beschrieben. Die enge Beziehung zwischen der AS, den reaktiven Arthritiden und den chronisch entzündlichen Darmerkrankungen, bei der eine Stimulation des Immunsystems durch Bakterien bei gestörter Barriere der Darmmukosa diskutiert wird, lässt eine pathogenetische Rolle von Bakterien vermuten. Unterstützt wird die Hypothese durch ein Tiermodell, in welchem HLA-B27 transgene Mäuse, welche in einer keimfreien Umgebung aufgewachsen sind, nicht an einer ankylosierenden Spondylitis erkranken (Taurog et al., 1994). Vermutet wird eine Präsentation von sog. arthritogenen Peptiden durch HLA-Moleküle gegenüber den T-Zellen und eine dadurch ausgelöste Immunantwort im Sinne einer Kreuzreaktivität gegenüber Autoantigenen. Unterstützung erhält diese These durch die Tatsache, dass bei Trägern der HLA-Subtypen B27-06 und B27-09 keine oder nur geringere Krankheitserscheinungen auftreten (Khan et al., 2000). Dies wird mit einer veränderten Aminosäuresequenz am proteinbindenden Bestandteil des Moleküls und damit in einer verminderten Präsentationsmöglichkeit der arthritogenen Peptide in Verbindung gebracht. Kommende Forschungsarbeiten müssen diesbezüglich abgewartet werden.

In den letzten Jahren kam es zu einem Beginn der systematischen Erforschung der pathologischen Anatomie der ankylosierenden Spondylitis. Früheste Veränderungen scheinen eine Synovitis und eine Entzündung im subchondralen Knochenmark zu sein. Eine Infiltration des subintimalen Bindegewebes durch Lymphozyten, Plasmazellen und Makrophagen konnte in Frühstadien der Erkrankung aufgezeigt werden (Robert et al., 2000). Im späteren Krankheitsverlauf – der mit in Röntgenbildern jetzt auch sichtbaren Sklerosierungen einhergeht – kommt es zur Erosion des Gelenkknorpels durch Granulationsgewebe, welches am ehesten vom Synovium und dem subchondralen Knochenmark ausgeht. Es kommt zur Überdeckung der Gelenkknorpeloberfläche und zu einem Teil auch der tieferen Schichten durch ein Pannusgewebe. Der subchondrale Knochen wird durch Osteoklasten, die neben dem Granulationsgewebe zu finden sind, lysiert. Neben destruierenden Vorgängen kommt es parallel zu Reparaturvorgängen: Es kommt zur Proliferation von Fibroblasten, Formation von Geflechtknochen sowie zu einer chondroiden Metaplasie mit enchondraler Ossifikation. In Spätstadien kommt es zur Gelenkankylose infolge von Synchondrosen. Auch der Gelenkknorpel sowie der metaplastische Knorpel werden durch Knochengewebe ersetzt. Auch kommt es zur Ossifikation interossärer Bänder, die ebenfalls entzündliche Veränderungen aufweisen (François et al., 2000). An den disco-vertebralen Übergangszonen kommt es ebenfalls zu einer Einwanderung von Granulationsgewebe und destruktiven Vorgängen, auch hier kommt es im Rahmen von Reparaturvorgängen zu Ossifikationen. Es

entsteht neben Geflechtknochen auch enchondral gebildeter Knochen und damit kommt es zur Ausbildung von Syndesmophyten an den Bandscheibenrändern. Im Rahmen des übergreifenden inflammatorischen Gewebewachstums auf die Wirbelkörper und die Bandscheiben kommt es zu einer Spondylitis und einer Diszitis. Weiterhin kommt es Ausbildung der typischen Tonnenwirbel im Rahmen der knöchernen Destruktionen und durch die Verschmälerung des Gelenkspaltes im zeitlichen Verlauf.

1.2.4 Epidemiologie

Die Erkrankung manifestiert sich für gewöhnlich im zweiten oder dritten Lebensjahrzehnt (Braun et al., 2000, Zink et al., 2000), der Manifestationsgipfel liegt um das 26. Lebensjahr. Der Erkrankungsbeginn liegt – ermittelt an einem Kollektiv von 3000 an AS erkrankten Patienten in Deutschland - in 90% der Fälle zwischen dem 15. und dem 40. Lebensjahr sowie bei 4% als juvenile ankylosierende Spondylitis mit einem Erkrankungsalter unterhalb von 15 Lebensjahren. 6% der Erkrankten waren in dieser Studie bei der Erstmanifestation älter als 40 Jahre (Feldtkeller, 1999). Eine neuerliche Studie an einem großen deutschen Kollektiv bestehend aus 8776 AS-Patienten erbrachte ein mittleres Manifestationsalter der AS von 28,7 Jahren. (Brophy et al., 2001). Auffallend ist eine erhöhte Inzidenz peripherer Arthritiden, und hier insbesondere die Beteiligung der Hüftgelenke, bei juveniler ankylosierender Spondylitis. Die Angaben über die Prävalenz der Gruppe der Spondylarthropathien schwanken. In einer Untersuchung an Berliner Blutspendern lag die Gesamtprävalenz der Spondylarthropathien bei 1,9%. (Braun et al., 1998), wobei ein deutlicher Zusammenhang zwischen der Prävalenz und den Merkmalsträgern von HLA-B27 besteht. Männer erkranken nach derzeitiger Studienlage zwei bis dreimal häufiger als Frauen, wobei die Angaben je nach geographischer Region zwischen 65% und 80% schwanken. Eine Studie an einem deutschen Kollektiv berichtet über 68,9% männlicher Erkrankter (Zink et al., 2000), während eine französische Studie eine Verteilung zu Gunsten der männlichen Erkrankten von 78,3% errechnete (Dougados et al., 1999). Frühere Angaben, wonach die quantitative Geschlechtsverteilung mit Bevorzugung des männlichen Geschlechts im Verhältnis 10:1 läge, sind in den letzten Jahren widerlegt worden. Als Ursache dieser Verhältnisverschiebung in Richtung des weiblichen Geschlechts sind mehrere Gründe zu nennen: Die Wirbelsäule und das Becken sind bei Männern häufiger betroffen, Frauen hingegen haben oft eine geringere Schmerzintensität im Bereich der Wirbelsäule, jedoch häufiger eine Beteiligung von Thorax, Hüften, Schultern und Füßen (Braunstein et al., 1982, Jimenez-Balderas et al., 1993, Resnick et al., 1976).

Krankheitsspezifische Befunde sind zweifellos bei Männern eher nachweisbar und führen häufiger zur Ankylose (Gran et al., 1985, Gran et al., 1984). Daher ist anzunehmen, dass die Erkrankung bei Frauen aufgrund weniger deutlich ausgeprägter radiomorphologischer Veränderungen bislang unterdiagnostiziert wurde – und womöglich auch heute noch unterdiagnostiziert wird.

1.2.5 Klinik

Die ersten Symptome manifestieren sich gewöhnlich im späten Jugendalter oder im frühen Erwachsenenalter. Der Befall der Wirbelsäule, insbesondere der Sakroiliakalgelenke, ist charakteristisch für die AS. Häufiges Erstsymptom ist daher ein dumpfer Schmerz in der Gesäßregion oder an der tiefsitzenden Lendenwirbelsäule. Der Schmerz ist häufig vergesellschaftet mit einer über Stunden anhaltenden Morgensteifheit in dieser Region, die unter Bewegung eine deutliche Besserung erfährt. Bei Inaktivität kommt es häufig zu einer erneuten Schmerzsymptomatik. Neurologische Ausfallerscheinungen fehlen. Im Verlauf kommt es zu bilateralen Schmerzangaben. Gewöhnlich besitzt der Schmerz während der zweiten Nachthälfte und in den frühen Morgenstunden die größte Intensität. Typisch sind anhaltende Beschwerden über drei Monate. Im Falle einer Ankylosierung kommt es über Jahre zu einer Versteifung der Wirbelsäule, die Schmerzintensität und die Morgensteifheit nehmen mit zunehmender Fusion der Wirbelkörper ab. Durch eine Abflachung der Lendenwirbelsäule und der Entwicklung einer BWS-Kyphose wird die normale Haltung der Wirbelsäule aufgehoben. Die verminderte Entfaltbarkeit der Lendenwirbelsäule lässt sich klinisch anhand des Schober-Maßes dokumentieren. Die Beweglichkeit der BWS kann mittels Ott-Maß beurteilt werden. Bei Beteiligung der HWS kommt es zu einem Verlust der Halsbeweglichkeit mit Vorwärtsneigung des Halses (Braun et al., 2002). Das Versteifungs- und Fehlhaltungsmaß kann durch den Kinn-Sternum-Abstand und durch den Hinterhaupt-Wand-Abstand nach Flèche bestimmt werden. Bei einem Befall der Costovertebral-, Costosternal- und Sternoclaviculargelenke lässt sich eine Verminderung der Atembreite objektivieren, wobei der beste von zwei Versuchen gewertet wird. Gemessen wird in Höhe des 4. Interkostalraums.

Der Verlauf der Erkrankung kann nach Schmidt wie folgt graduiert werden: Grad 0 entspricht einem klinischen und röntgennegativem Prodromal- und Verdachtsstadium. Grad I entspricht der nicht fixierten Wirbelsäulenversteifung, radiologisch zeigen sich Zeichen der Sakroiliitis. Grad II beschreibt eine irreversible Wirbelsäulenversteifung in einem Abschnitt der

Wirbelsäule mit nachweisbaren Syndesmophyten. Grad III entspricht knöchernen Ankylosen in mindestens zwei Abschnitten der Wirbelsäule, während Grad IV nach Schmidt einer Verknöcherung in drei Abschnitten der Wirbelsäule und dementsprechend dem Spät- oder Endstadium gleichkommt (Schmidt et al., 1991). Im Stadium III-IV fällt eine verminderte Lateralflexion und Rotation der Wirbelsäule auf. Tabelle 5 gibt eine Übersicht der Graduierung nach Schmidt.

Tabelle 5: Graduierung der AS nach Schmidt (1991)

Grad	Krankheitszeichen
0	Klinisches, röntgenologisches Prodromal- oder Verdachtsstadium
I	Nicht fixierte Wirbelsäulenversteifung, radiologisch Sakroiliitis
II	Irreversible Wirbelsäulenversteifung in einem Abschnitt der Wirbelsäule mit nachweisbaren Syndesmophyten
III	Verknöcherungen in mindestens 2 Abschnitten der Wirbelsäule
IV	Spät-, Endstadium. Verknöcherungen in 3 Abschnitten der Wirbelsäule

20-50% der Erkrankten leiden an einer peripheren asymmetrischen, meist die untere Extremität betreffende Mon- oder Oligoarthritis, die in 30% der Fälle auch Erstsymptom ist (Smuker et al., 1982). Die Arthritis ist üblicherweise vorübergehender Dauer, selten chronisch und in aller Regel nicht-erosiv. Es kommt darüber hinaus häufig zu Enthesitiden, hier mit Bevorzugung des Ursprungs der Plantaraponeurose am calcaneus sowie des Ansatzes der Achillessehne. Extraartikuläre Manifestationen sind möglich, im Vordergrund steht die uveitis anterior, die sich in 10-50% der Fälle manifestiert (Mylius, 1955). Weitere viszerale Krankheitsmanifestationen sind die Amyloidose in 3,6-8% der Fälle (Villiaumy, 1983) mit Ausbildung eines nephrotischen Syndroms und Unterschenkelödemen, Assoziationen mit einer Aorteninsuffizienz, Auftreten einer Aortitis (Bulkley et al., 1973), Reizleitungsstörungen und Auftreten höhergradiger AV-Blockierungen (Weed, 1966, Harvey et al., 1976), Perikarditis (Baite et al., 1980) sowie einer zystischen pulmonalen Fibrose (Hamilton, 1949). Gehäuft kommt es zu Frakturen der Wirbelsäule, auf die im späteren Teil der vorliegenden Arbeit noch näher eingegangen wird. Ein großes Problem ist die Latenzzeit vom Auftreten erster Krankheitserscheinungen bis zu Diagnosestellung. Ursache ist neben einem häufigen Verschwinden der klinischen Initialsymptomatik die Latenzzeit bis zur radiologischen Manifestation einer Sakroiliitis, weiterhin die Ähnlichkeit zu anderen rheumatischen Erkrankungen, die eine exakte Diagnosestellung in Frühphasen der Erkrankung erschwert.

1.2.6 Laborchemische Befunde

Für die Diagnose, den Krankheitsverlauf sowie der Ermittlung der Aktivität der ankylosierenden Spondylitis sind Laborparameter derzeit von untergeordneter Bedeutung, da die Diagnose klinisch sowie radiomorphologisch gestellt wird. Lediglich zur Erhärtung der Verdachtsdiagnose einer ankylosierenden Spondylitis können Laborbefunde herangezogen werden. HLA-B27 ist bei 90% der an AS erkrankten weißen Bevölkerung nachweisbar und stellt somit eine wichtige zusätzliche Laborbestimmung bei einer Frühdiagnose der AS dar. Der Nachweis von HLA-B27 darf jedoch nur im Zusammenhang mit der entsprechenden Klinik bewertet werden, da 6-9% der weißen Gesamtbevölkerung Träger dieses Merkmals der MHC-Klasse I sind. Das C-reaktive Protein (CRP) sowie die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (BSG) können als Verlaufsp Parameter herangezogen werden, wobei sowohl für die Blutsenkungsgeschwindigkeit in 20-30% der Fälle bekannt ist dass trotz erhöhter Krankheitsaktivität eine Erhöhung der BSG nahezu ausbleibt (Fellmann et al., 1962, Ogryzlo, 1974), auch für das CRP ist dies beschrieben. Andere Akut-Phase-Parameter können ebenfalls erhöht sein. Erhöhte IgA-Spiegel korrelieren mit laborchemischen und klinischen Parametern (Trull et al., 1984). Eine erhöhte Gammaglobulinfraktion in der Eiweißelektrophorese ist mit einer peripheren Gelenkbeteiligung sowie einer erhöhten Krankheitsaktivität assoziiert (Sturrock et al. 1976).

1.2.7 Radiomorphologische Befunde

Die ersten radiomorphologischen fassbaren Befunde betreffen üblicherweise die Iliosakralgelenke. Typischerweise zeigen sich Zeichen von Destruktionen, Sklerose und Ankylose, was auch als „buntes Bild“ bezeichnet wird (Dihlmann, 1982). Nach Bennett und Wood (Bennet und Wood, 1968) werden die radiologischen Veränderungen der Iliosakralgelenke in Stadien eingeteilt, eine Übersicht über die Stadieneinteilung gibt Tabelle 6.

Tabelle 6: Beurteilung der Iliosakralgelenke im Röntgenbild nach Bennett und Wood (1968)

Grad	Befund
0	Normalbefund
I	Verdächtige Veränderungen
II	Sklerose, wenige Erosionen
III	Starke Erosionen, Erweiterung des Gelenkspaltes, geringe Ankylose
IV	Weitgehende Ankylose

In fortgeschrittenen Stadien kommt es in 60% der Fälle zu Veränderungen im dorsolumbalen Übergangsbereich mit Ausbildung von Syndesmophyten, die Verknöcherungen am Anulus fibrosus sowie Verknöcherungen subligamentärer Anteile entsprechen. Weiterhin finden sich häufig radiologische Zeichen einer Osteoporose, dies sowohl in frühen als auch in späten Stadien der Erkrankung. Die Ätiologie der Osteoporose ist umstritten. Im Endstadium der AS imponiert eine komplette Ankylose der Wirbelsäule, die wegen der Ähnlichkeit als „Bambusstab-Wirbelsäule“ beschrieben wird.

Weitere radiologische Befunde sind Defekte der vorderen Wirbelkörperkante durch Arrosionen der Randleiste, auch als „Romanus-Läsion“ beschrieben (Dihlmann et al., 1982), eine ventralseitige konvexe Kontur der Wirbelkörper im Sinne von „Tonnenwirbeln“ (Dihlmann, 1968) und das Auftreten von Kastenwirbeln als Folge von Begradigungen der Wirbelkörpervorderkante durch periostale Knochenneubildung auf der Konkavseite sowie Abbauvorgängen bei partieller vorderer Randleistenosteolyse (Fellmann, 1989). In Spätstadien kann es zu einer Diszitis/Spondylodiszitis mit Bandscheiben- und Wirbelkörperzerstörungen (Fellmann, 1989) sowie in sehr seltenen Fällen zu einer atlanto-axialen Dislokation als Folge von Entzündungsprozessen am Ligamentum transversum und anulare kommen (Sharp et al., 1961).

Die Enthesitiden können radiologisch als unscharfe, verwaschene Knochenbegrenzung imponieren, teilweise fallen dornartige Exostosen und Ansatzverkalkungen auf. Verknöcherungen der Ligamente im Wirbelsäulenbereich sind in der Regel erst im Endstadium sichtbar.

1.2.8 Differentialdiagnosen

Im Rahmen der Abklärung tiefsitzender Rückenschmerzen müssen degenerative Wirbelsäulenleiden, Bandscheibenerkrankungen und auch urologische Erkrankungen in die Überlegungen mit einbezogen werden. Bei nachgewiesener Sakroiliitis kommen ursächlich

alle Erkrankungen der Gruppe der Spondylarthritiden in Betracht, bei einseitigem Befall muss eine bakterielle - und hier insbesondere die tuberkulöse - Sakroiliitis ausgeschlossen werden. Bei Spondylitis sollte eine bakterielle Spondylitis, eine Spondylitis hyperostotica, eine Ochronose, eine Chondrocalcinose sowie juvenile chronische Polyarthritiden in die Differentialdiagnose miteinbezogen und dementsprechend ausgeschlossen werden.

1.2.9 Therapie und Prognose

Bis heute steht eine kausale Therapie der AS nicht zur Verfügung. Daher ist das primäre Therapieziel die Reduktion des Schmerzes, um eine konsequente physikalische Therapie mit dem Ziel der Erhalt der Beweglichkeit zu ermöglichen. Ein Therapiekonzept der AS beinhaltet immer ein Gesamtkonzept aus medikamentösen, physikalischen, lokalen, konservativ orthopädischen und ggf. operativen Maßnahmen (Köhler et al., 2000). Derzeit an erster Stelle der medikamentösen Therapie stehen nichtsteroidale Antirheumatika (NSAR), die sich in mehreren Studien als wirksam erwiesen haben (Dougados et al., 1999, Dougados et al., 2001, Toussiro et al., 1998). Von therapierefraktärer AS wird gesprochen wenn trotz adäquaten Einsatzes von zwei verschiedenen NSAID in der zugelassenen Höchstdosis der Wirbelsäulenschmerz nur unzureichend supprimiert wird (Amor et al., 1995). In Abhängigkeit der Schmerzlokalisation erfolgen weitere Therapiemaßnahmen: Intraartikuläre und periartikuläre Injektionen von Glukokortikoiden führen bei Sakroiliitis zu einer signifikanten Schmerzreduktion (Braun et al., 1996, Luukkainen et al., 1999, Maugars et al., 1996). Im Falle der Entzündung mehrerer Wirbelsäulenabschnitte muss jedoch systemisch therapiert werden. Orale Glukokortikoidgaben sind in der Regel wirkungslos, allerdings zeigten sich hohe intravenös verabreichte Dosierungen von 500mg Methylprednisolon - über die Dauer von drei bis fünf Tagen verabreicht - auch bei therapierefraktären Verläufen über einen Zeitraum von 3-21 Monaten als wirksam (Peters et al., 1992, Richter et al., 1983). Eine hervorragende Wirkung auf Wirbelsäulenschmerzen, Wirbelsäulenbeweglichkeit und Wirbelsäulenentzündung konnte sowohl für Infliximab (Braun et al., 2003, Van den Bosch et al., 2002) als auch für Etanercept (Brandt et al., 2003, Gormon et al., 2002) nachgewiesen werden. Zum Einsatz dieser Therapeutika kam es nachdem 1995 der Nachweis des proinflammatorischen Zytokins Tumornekrosefaktor (TNF) in Biopsien aus Iliosakralgelenken gelang (Braun et al., 1995). Mit dem Einsatz der Tumornekrosefaktor- α -Inhibitoren Infliximab und Etanercept konnte im Mittel bei mehr als 50% der Patienten die Krankheitsaktivität um mindestens 50% gesenkt werden. Auch nach einjähriger

Therapiedauer konnte in einer kürzlich veröffentlichten Studie ein anhaltender Effekt für Infliximab nachgewiesen werden (Braun et al., 2003). Ein Einsatz der TNF- α -Inhibitoren bei ankylosierender Spondylitis sollte nach den Empfehlungen der Arbeitsgruppe „Assessments in Ankylosing Spondylitis“ (ASAS) nach folgenden Kriterien erfolgen: Voraussetzung zum Einsatz von TNF- α -Inhibitoren ist neben einer gesicherten Diagnose das Vorliegen einer Erkrankung über vier Wochen, das Vorliegen einer therapierefraktären Erkrankung (siehe oben) sowie die Beachtung entsprechender Vorsichtsmaßnahmen und Kontraindikationen für die Anwendung von Biologika (Braun et al., 2003).

Ein großes diagnostisches Problem ist eine Latenzzeit von in der Regel mehreren Jahren vom Beginn der klinischen Symptomatik bis zur Ausbildung einer röntgenologisch klassifizierbaren Sakroiliitis, so dass die modifizierten New-York-Kriterien zur Diagnose einer Frühform einer Spondylarthropathie ungeeignet erscheinen. Eine Untersuchung von 3000 an ankylosierender Spondylitis erkrankter deutscher Patienten aus dem Jahre 1996 mittels Fragebögen dokumentierte eine mittlere Diagnoseverzögerung von 9,8 Jahren bei weiblichen und von 8,4 Jahren bei männlichen Erkrankten, wobei der Mittelwert der Diagnoseverzögerung in Jahren im Zeitverlauf von durchschnittlich 15 (in den 50er Jahre erkrankten Patienten) auf 7,5 der in den Jahren 1975-1979 erkrankten Patienten gesunken ist (Feldtkeller, 1999). Die Tatsache, dass viele Patienten zu Beginn der klinischen Symptomatik keine ärztliche Hilfe in Anspruch nehmen, verhindert zusätzlich eine frühe Diagnosestellung. Neuere Daten sprechen dafür dass der größte Verlust an Funktion und Schaden innerhalb der ersten 10 Krankheitsjahre voranschreitet (Gran et al., 1997, Carette et al., 1983). Es ist daher anzunehmen dass etwa ein Drittel der gesamten AS-Erkrankten bereits bei Diagnosestellung deutliche Schäden aufweisen (Braun et al., 2002). Eine norwegische Studie an 100 Patienten zeigte dass nach 16 Jahren 50% der Patienten nicht mehr Vollzeitarbeiten konnten. Nach einer mittleren Krankheitsdauer von 15,6 Jahren waren die Patienten arbeitsunfähig (Gran et al., 1997). Von prognostischer Bedeutung zeigt sich eine Hüftgelenksbeteiligung, die mit der Schwere der Erkrankung assoziiert ist (Brophy et al., 2002). Eine 1994 durchgeführte französische Studie verweist auf sieben Risikofaktoren, die mit einem schweren Verlauf der AS einhergehen: Hüftgelenksbeteiligung, Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit $>30\text{mm}$ in der ersten Stunde, geringe Wirksamkeit nichtsteroidaler Antirheumatika, eine Einschränkung der Lendenwirbelsäulenbeweglichkeit, eine Daktylitis der Finger oder der Zehen, eine Oligoarthritis und ein Beginn der Erkrankung vor dem 16. Lebensjahr (Amor et al., 1994). Erstmals über eine erhöhte Mortalität der AS-Erkrankten gegenüber der Normalbevölkerung berichtete eine norwegische Studie bereits im Jahre 1977, wobei ein vierfach erhöhtes Risiko

für alle gastrointestinalen Erkrankungen, ein zweifach erhöhtes Risiko für Unfälle, Selbstmord und cerebrovaskuläre Erkrankungen und 40% mehr Herz-Kreislauf-Erkrankungen erwähnt werden (Radford et al., 1977). Insgesamt ist eine erhöhte Mortalität derzeit jedoch weiterhin umstritten.

1.3 Osteoporose

1.3.1 Definition Osteoporose/Osteopenie

Bei der Osteoporose handelt es sich um eine Erkrankung mit einer Neigung zu Knochenfrakturen. Nach Definition der Weltgesundheitsorganisation WHO spricht man von einer Osteoporose, wenn die Verminderung der Knochenmineraldichte verglichen mit einem jungen, gesunden, geschlechtsgleichen Organismus um mehr als 2,5 Standardabweichungen abweicht. Definitionsgemäß besteht eine Osteopenie bei Abweichen der Standardabweichung um -1 und -1,5. Es liegt neben einer Verminderung der Knochenqualität auch eine Verminderung der Knochenmasse vor. Derzeit geht man in Deutschland von einer Prävalenz der Osteoporose von 4-8% aus. Die Ursache der reduzierten Knochensubstanz ist entweder eine negative Knochenbilanz (Verhältnis der Knochenformation zur Knochenresorption) oder eine wachstumsbedingte Unterentwicklung der physiologischen Knochensubstanz. Das Leitsymptom der Osteoporose ist die Fraktur. Akute Frakturen entstehen bevorzugt am distalen Radius, am proximalen Femur, an den Wirbelkörpern und an den Rippen. Chronische Frakturen führen zu Knochenverformungen und Weichteilschmerzen (Hoffmann, 1987). Der physiologische Knochenaufbau erreicht im Lebensalter von 18-20 Jahren bereits sein Maximum, ab dem 35. Lebensjahr beginnt ein physiologischer Knochenabbau. Dieser beträgt pro Jahr ca. 0,5-1% der Knochensubstanz. Überdurchschnittlich hohe Verluste an Knochensubstanz erfahren Frauen bis zu 5-7 Jahre nach der Menopause.

Die Osteoporose lässt sich in eine lokale und eine generalisierte Form einteilen. Man unterscheidet dabei eine primäre oder idiopathische Osteoporose, zu der auch die idiopathische juvenile Osteoporose zu zählen ist, von einer sekundären Osteoporose, die sich auf ein bekanntes Grundleiden zurückführen lässt (Riggs et al., 1983).

1.3.2 Idiopathische juvenile Osteoporose

Die idiopathische juvenile Osteoporose tritt bei präpubertären Kindern auf, die Ätiologie ist bislang unklar. Es zeigt sich hierbei ein vermindertes Wachstum der langen Röhrenknochen mit verstärkter Frakturanfälligkeit. Typischerweise kommt es nach einer Dauer von zwei bis drei Jahren zu einer Normalisierung des Knochenwachstums.

1.3.3 Postmenopausale Osteoporose Typ I

Ursache der Entstehung einer postmenopausalen Typ-I-Osteoporose ist der Abfall der physiologischen Ovarialfunktion bei Eintritt der Menopause. Durch Absinken des Östrogenspiegels entsteht bei vermehrtem Knochenabbau eine negative Knochenbilanz. Dies führt zu einem erhöhten Serumcalciumspiegel (Lindsay, 1988) und konsekutiv zu einer verminderten Parathormon-Sekretion aus der Nebenschilddrüse, einer reduzierten Aufnahme von Vitamin-D aus dem Darmlumen und eine geringere Umwandlung von Vitamin-D zu seinem aktiven Metaboliten 1,25-Dihydroxyvitamin D₃. Durch die verminderte Parathormon-Sekretion wird die Calcium-Reabsorption aus den Nierentubuli vermindert. Das dabei entstehende Calciumdefizit wird durch forcierten Abbau von Knochensubstanz ausgeglichen, es resultiert ein Ungleichgewicht mit Überwiegen der Knochenresorption gegenüber der Knochenformation. (Yasumara et al., 1987). Betroffen hiervon sind vor allem aufgrund des hohen Anteils trabekulären Knochens die Wirbelkörper sowie der distale Radius und der proximale Femur (Riggs et al., 1986).

1.3.4 Senile Osteoporose Typ II

Im Unterschied zum Typ I der Osteoporose betrifft die senile Osteoporose Typ II sowohl Frauen als auch Männer im Alter von über 70 Jahren im gleichen Verhältnis. Neben dem auch beim Typ I betroffenen trabekulären Knochen ist bei Typ II auch der kortikale Knochen in annähernd gleichem Verhältnis betroffen, dadurch sind auch die Röhrenknochen beteiligt. Es resultieren die häufigen Oberschenkelhalsfrakturen sowie Frakturen an anderer Lokalisation. Ursache der senilen Osteoporose Typ II ist eine zunehmende Einschränkung der osteoblastären Knochenformation. Es liegt eine verminderte renale 1 α -Hydroxylase-Aktivität vor. Dies hat eine verminderte Synthese des 1,25-Dihydroxyvitamin D₃, einen dadurch

bedingten erniedrigten Serumcalciumspiegel mit sekundärem Hyperparathyreoidismus zur Folge, was zur Osteoporose führt (Gallagher, 1990).

1.3.5 Sekundäre Osteoporose Typ III

Der Manifestation einer Typ-III-Osteoporose liegen ursächlich eine oder mehrere Primärerkrankungen zugrunde. Neben dem Faktor der Immobilisation gehören hierzu Erkrankungen endokrin-metabolischen Ursprungs wie z.B. eine Hyperthyreose, ein Morbus Cushing, ein Hypogonadismus, ein Diabetes mellitus oder ein sekundärer Hyperparathyreoidismus im Rahmen einer chronischen Niereninsuffizienz. Weitere Ursachen sind Malabsorptionsstörungen, Hepatopathien oder tumoröse Veränderungen. Iatrogene Ursachen sind ebenfalls bekannt, hier sei beispielsweise die Heparintherapie wie auch die Steroid-Langzeittherapie genannt (Ringe et al., 1985).

1.3.6 Risikofaktoren der Osteoporoseentstehung

Nach Keck und Kruse (Keck und Kruse, 1994) existieren eine Reihe von Risikofaktoren, die zwar nicht obligat zu einer Osteoporose führen, die das Risiko einer Osteoporose-Entwicklung allerdings deutlich erhöhen. Hierzu zählen genetische Faktoren wie das weibliche Geschlecht, kaukasische oder asiatische Rasse, grazier Habitus oder eine positive Familienanamnese hinsichtlich der Osteoporose. Weiter gelten bestimmte hormonelle Faktoren als Risikofaktor, hier insbesondere der Östrogenmangel. Ernährungsbedingte Problematiken wie eine calciumarme Kost, eine ausgeprägte Phosphatzufuhr, eine vermehrte Eiweisszufuhr und eine faserreiche Kost werden ebenso zu den Risikofaktoren gezählt wie der Bewegungsmangel, ein Mangel an UV-Exposition, ein Alkoholabusus und die Einnahme bestimmter Medikamente (Heparin, Glukokortikoide, Laxantien etc.).

1.3.7 Ursachen und Formen sekundärer Osteoporosen

Eine Reihe weiterer Ursachen, die zur sekundären Ausbildung einer Osteoporose führen, sind bekannt. So führen ein Hyperthyreoidismus und ein Hyperparathyreoidismus zu einer Steigerung des Knochenabbaus. Ein Hyperkortisolismus führt über eine verminderte Calcium-Aufnahme zur Osteoporose. Chronisch entzündliche Darmerkrankungen wie der Morbus Crohn und die Colitis ulcerosa führen durch eine erhöhte entzündliche Aktivität und eine

verminderte Aufnahme von Calcium und Vitamin-D zu einer Osteoporose. Eine Niereninsuffizienz führt über die Ausbildung eines sekundären Hyperparathyreoidismus zu einer Vitamin-D-Hypovitaminose. Weitere Ursachen sind maligne Erkrankungen durch Produktion osteolytischer Faktoren. Die Immobilisation führt über einen verminderten physikalischen Anreiz zur verminderten Knochenneubildung. Bekanntermaßen kann eine immunsuppressive Therapie ebenfalls zu einer sekundären Osteoporose führen, weshalb Patienten nach Organtransplantation erhöht gefährdet sind.

1.3.8 Pathophysiologie der Osteoporose

Die beiden Hauptzellen des Knochens sind die Osteoblasten und die Osteoklasten. Die Osteoblasten liegen auf trabekulären Oberflächen und synthetisieren organische Knochensubstanz. Osteoblasten sind in der Lage auf knochenresorbierende Hormone zu reagieren. Sie können Osteoklasten aktivieren und nehmen daher eine zentrale Stellung im Knochenmetabolismus ein. Osteoblasten reagieren mit einer Knochenneubildung, wenn durch Osteoklasten eine Knochenresorption erfolgte. Nach Abschluss des Längenwachstums des Knochens besteht normalerweise ein geregeltes Wechselspiel zwischen Osteoblasten und Osteoklasten. Dieses wird als „Remodeling“ bezeichnet und ist aneinander gekoppelt (Delling et al., 1992). Eine Steuerung des Remodelingprozesses erfolgt neben vielen, bislang noch nicht bekannten Faktoren durch Calcium, Vitamin-D-Metabolite, Prostaglandine, Parathormon, Calcitonin und Prostaglandine. Im Erwachsenenalter kommt es zu einem leichten Ungleichgewicht zugunsten des Knochenabbaus bedingt durch eine leicht negative Knochenbilanz, es wird demnach etwas mehr Knochen pro Jahr ab- als aufgebaut. Dies bezeichnet man auch als altersassoziierte Osteopenie.

Betroffen von der Osteopenie ist zunächst der spongiöse Knochen. Zum einen liegt dies am vermehrten Knochenmetabolismus innerhalb des spongiösen Knochens gegenüber der Kortikalis, zum anderen liegt dies am großen Oberflächen-Volumen-Verhältnis, da sowohl Osteoblasten als auch Osteoklasten nur an Oberflächen aktiv werden können.

Ein Knochenmasseverlust kann zwei Ursachen haben: Entweder erklärt er sich über eine verminderte Knochenneubildung oder durch eine vermehrte Knochenresorption (Albright et al., 1941). Entsprechend dem Knochenumbau unterscheidet man eine Low-turn-over Osteoporose mit normalem Knochenabbau und vermindertem Knochenanbau von der High-turn-over Osteoporose mit verstärktem Knochenabbau bei vermindertem Knochenanbau.

1.3.9 Knochenstoffwechsel bei Spondylitis ankylosans

Die Spondylitis ankylosans ist innerhalb der Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises neben der rheumatoiden Arthritis vermehrt mit einem erhöhtem Osteoporoserisiko vergesellschaftet (Bessant et al., 2003, Bessant et al., 2002). Es zeigt sich eine erhöhte Inzidenz vor allem vertebraler Frakturen (Ralston et al., 1990). Vertebrale Frakturen stellen häufig eine Komplikation der Spondylitis ankylosans dar und tragen zur Deformation der Wirbelsäule und zur Ausbildung von Knochenschmerzen bei der Spondylitis ankylosans mit bei (Sivri et al., 1996). Die genaue Ursache der Osteoporose bei Spondylitis ankylosans ist bis heute unklar (Bölnzer et al., 2003, Bronson et al., 1998, Gran et al., 1998). Eine genetische Ursache erscheint ebenfalls verantwortlich für die Entstehung der Osteoporose zu sein (Obermayer-Pietsch et al., 2003, Obermayer-Pietsch et al., 1999). Weitere Faktoren, die die Ausbildung einer Osteoporose bei Spondylitis ankylosans begünstigen, sind neben genetischen Faktoren auch Nebenwirkungen einer medikamentösen Therapie wie beispielsweise die Steroidtherapie, weiter spielen auch Faktoren wie Ernährung und Bewegung sowie letztlich die durch erhöhte inflammatorische Aktivität bedingte vermehrte Zytokinausschüttung eine große Rolle.

1.4 Vitamin-D₃

1.4.1 Physiologie des Vitamin-D-Metabolismus

Vitamin-D ist neben Parathormon und Calcitonin einer der wichtigsten Regulatoren der Calciumhomeostase und des Knochenstoffwechsels. Das aktive Hormon $1\alpha, 25$ -Dihydroxyvitamin-D [$1,25(\text{OH})_2\text{D}$] entsteht durch Hydroxylierung des Vitamin-D in der Leber (25-Hydroxylierung) und in den Nieren (1α -Hydroxylierung). Vitamin-D entfaltet ähnlich den Steroidrezeptoren seine Wirkung am Vitamin-D-Rezeptor (VDR) und reguliert dort die Transkription verschiedener Gene. Hauptaufgabe des Vitamin-D ist die Förderung der intestinalen Calcium- und Phosphataufnahme, um einen ausreichenden Calcium-Serumspiegel zu gewährleisten und somit genügend Calcium zur Knochenformation bereitzustellen.

Vitamin-D existiert in zwei Varianten: Zum einen als Vitamin-D₃ (Cholecalciferol), zum anderen als Vitamin-D₂ (Ergocalciferol). Beide Varianten können im Körper zu den aktiven

Hormonen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (Calcitriol) umgewandelt werden (Issa et al., 1998). Mittels UV-B-Strahlung aus dem Sonnenlicht erfolgt eine Umwandlung des Provitamin- D_3 (7-Dehydrocholesterin) in Cholecalciferol (Vitamin- D_3). Hierdurch entstehen ca. 80% des täglichen Bedarfs an Vitamin- D_3 , der Rest (ca.20%) wird über die Nahrung bereitgestellt. Es erfolgt der Transport von Cholecalciferol über ein Vitamin-D-bindendes Transportprotein zur Leber (Daigner et al., 1975). Hier erfolgt die Bildung von 25-Hydroxycholecalciferol [$25(\text{OH})\text{D}_3$] durch die 25-Hydroxylase. Das 25-Hydroxycholecalciferol wird nach Transport in die Nieren durch die 1α -Hydroxylase unter dem Einfluss von Parathormon, Phosphat, $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, Calcitonin und auch Östrogenen in das biologisch aktive Hormon $1,25-(\text{OH})_2\text{D}_3$ hydroxyliert (Slatopolsky et al., 1997). Insbesondere das Parathormon als Aktivator der 1α -Hydroxylase nimmt hierbei eine zentrale Stellung ein (Bell et al., 1985, Beckerman et al., 1999). $1,25$ -Dihydroxycholecalciferol ist in der Lage die Bildung des weniger wirksamen Metaboliten $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ zu fördern. Eine negative Produkthemmung verhindert eine Überproduktion von biologisch aktivem $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.

1.4.2 Wirkungen des Vitamin-D

Der Knochen unterliegt einem ständigen Remodelingprozess durch osteoklastenvermittelte Knochenresorption und osteoblastenvermittelte Knochenneubildung. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ spielt hierbei als Regulator eine wichtige Rolle. Vitamin-D ist unabdingbar für die normale Skelettentwicklung. Ein Mangel an Vitamin-D resultiert in einem Mineralisationsdefekt, was bei Kindern zum Erkrankungsbild der Rachitis und bei Erwachsenen zum Erkrankungsbild der Osteomalazie führt (Parfitt, 1997). Vitamin-D-Rezeptoren werden in Osteoblasten exprimiert, hierbei bewirkt $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ eine Stimulation des Zellwachstums sowie eine Stimulation der Zelldifferenzierung hin zu matrix-protein-synthetisierenden und knochenformierenden Zellen (Aubin, 1997). Weiterhin hat $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ einen Einfluss auf die osteoklastäre Differenzierungskaskade durch Stimulation der frühen zum späten Präosteoklasten. Am Darm kommt es zu einer vermehrten Stimulation des calciumbindenden Proteins, an der Niere ist $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ an der parathormonabhängigen Calciumrückresorption beteiligt und stimuliert bei Hyperphosphatämie die Elimination von Phosphat.

1.4.3 Knochenstoffwechsel und Vitamin-D₃

Vitamin-D₃ ist ein wichtiger Metabolit zur Regulation der Calcium-Homöostase. Der Organismus ist auf einen konstanten Calcium-Plasmaspiegel angewiesen. Gemeinsam mit dem Parathormon reguliert es die intestinale Resorption, die renale Exkretion sowie die Mobilisation des Calciums aus dem Knochen. Physiologischerweise liegt die Hauptfunktion des 1,25-Dihydroxyvitamin-D₃ in der Bereitstellung von Calcium. Am Dünndarm bewirkt 1,25-Dihydroxyvitamin-D₃ durch Bindung an den Vitamin-D-Rezeptor eine vermehrte Calciumabsorption. Weiterhin kommt es bei Calciummangel zu einer vermehrten Sekretion von Parathormon, welche eine vermehrte Synthese von 1,25-Dihydroxyvitamin-D₃ in Gang setzt und zu einer vermehrten Calciumabsorption führt. Weiterhin beeinflusst Parathormon die Calcium-Homöostase durch Bindung an Rezeptoren innerhalb der Nephronen der Niere sowie innerhalb von Osteoblasten (Brown et al., 1993). Parathormon aktiviert an den proximalen Tubuluszellen der Niere eine vermehrte 1 α -Hydroxylase-Transkription, hierdurch kommt es zu einer vermehrten Bildung von 1,25-Dihydroxyvitamin-D₃ (Garabedian et al., 1974). Weiterhin wird durch eine verminderte 24-Hydroxylase-Synthese weniger 1,25-Dihydroxyvitamin-D₃ abgebaut. 1,25-Dihydroxyvitamin-D₃ selbst hemmt in hohen Spiegeln die Sekretion von Parathormon aus der Nebenschilddrüse.

Weiterhin kann unter dem Einfluss von 1,25-Dihydroxyvitamin-D₃ und Parathormon Calcium aus dem Knochen mobilisiert werden. Osteoklasten verfügen zwar über keinen Rezeptor für Parathormon oder 1,25-Dihydroxyvitamin-D₃, eine Calciumresorption kann jedoch über eine Bindung des 1,25-Dihydroxyvitamin-D₃ an Rezeptoren der Osteoblasten, welche dann Osteoklasten-Vorläuferzellen stimulieren, aktiviert werden (Tanaka et al., 1982, Boivin et al., 1987). Über die Bindung von 1,25-Dihydroxyvitamin-D₃ an den Vitamin-D-Rezeptor der Osteoblasten wird die Synthese der Matrixproteine Osteocalcin, Osteopontin, Bone Sialoprotein und Kollagen Typ I reguliert. Dies ist offensichtlich die Ursache eines knochenanabolen Effektes des 1,25 Hydroxyvitamin-D₃ (Lian et al., 1993). Allerdings kommt es durch die oben genannte Osteoklastenaktivierung auch zu einem knochenkatabolen Effekt. 1,25-Dihydroxyvitamin-D₃ besitzt daher offensichtlich eine große Rolle auf das Knochen-Remodeling.

1.4.4 Der Vitamin-D-Rezeptor

Die Wirkung des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ erfolgt über einen Vitamin-D-Rezeptor-vermittelten Mechanismus, der den Steroidhormonen ähnelt. Der Vitamin-D-Rezeptor (VDR) wurde erstmals 1969 entdeckt (Haussler et al., 1969), ist intrazellulär lokalisiert und wurde erstmals von der Arbeitsgruppe Baker geklont und beschrieben (Baker AR et al., 1988).

Das Vitamin-D-Rezeptor-Gen ist auf dem Chromosom 12q13-14 lokalisiert (Labuda et al., 1992) und zeigt eine Länge von 1281 Nukleotiden, welches das aus 427 Aminosäuren bestehende VDR-Protein der Molekülmasse 48.000Da kodiert. Dem VDR-Gen geht eine nichtkodierende Sequenz aus 115 Basenpaaren voraus, weiterhin befindet sich am 3'-Ende eine 3,2kb große Region, welche nicht translatiert wird. Das Vitamin-D-Rezeptor-Gen verfügt über insgesamt 11 Exons, welche mit den dazwischenliegenden Introns eine Länge von mehr als 75kb umspannen. Die nichtkodierende Region am 5'-Ende beherbergt drei Exons 1A, 1B und 1C, die verbleibenden Exons codieren das Translationsprodukt (Issa et al., 1998).

1.4.5 Vitamin-D-Rezeptor-Gen-Polymorphismen

Innerhalb des Bereichs der Introns am 3'-Ende des Vitamin-D-Rezeptor-Gens sind polymorphe Abschnitte gelegen, die durch die Restriktionsenzyme BsmI und TaqI gespalten werden. Die Restriktionsstelle für BsmI befindet sich in Intron 8 während die Restriktionsstelle TaqI in Exon 9 lokalisiert ist (Morrison NA et al. 1992, Hustmyer FG et al. 1993). Ein weiterer Polymorphismus befindet sich am 5'-Ende im Bereich der Translations-Initiationsstelle, dem sog. Startcodon. Dieser wird durch das Restriktionsenzym FokI gespalten. Aufgrund der Lage des Polymorphismus bezeichnet man diesen auch als Startcodon-Polymorphismus (Baker et al., 1988, Arai et al., 1997, Gross et al., 1998, Harris et al., 1997).

1.4.6 VDR-Gen-Polymorphismen und Knochendichte

In der Literatur finden sich viele Studien, die sich mit dem Zusammenhang von VDR-Polymorphismen und Knochendichte auseinandersetzen. Studien an monozygoten und dizygoten Zwillingen kamen zu dem Ergebnis dass Unterschiede bei der Knochendichte bei monozygoten Zwillingen alleine auf umweltbedingte Faktoren zurückzuführen sind. Bei dizygoten Zwillingen hingegen können Unterschiede in der Knochendichte sowohl genetisch

als auch durch Umweltfaktoren bedingt sein (Kelly et al., 1995). Die Beobachtung dass die Osteocalcinausschüttung sowie die Kollagensynthese durch 1,25-Dihydroxyvitamin-D₃ reguliert werden führte zu der Hypothese eines Zusammenhangs zwischen Vitamin-D-Rezeptorpolymorphismen und der Knochendichte (Kelly et al., 1995). Morrison et al. zeigten eine signifikant erniedrigte Knochendichte bei Abwesenheit der Schnittstellen für die Restriktionsendonuklease BsmI (Genotyp BB) bei dizygoten Zwillingspaaren (Morrison et al., 1994). Ähnliche Ergebnisse wurden von Fleet et al. publiziert (Fleet et al., 1995). Es folgten im Verlauf weitere, allerdings widersprüchliche Studiendaten: Looney et al. sahen keinen Zusammenhang des BB-Genotyps mit schwerer Osteoporose (Looney et al., 1995). Salamone et al. hingegen zeigten einen signifikanten Zusammenhang des bb-Genotyps (Anwesenheit von BsmI-Restriktionsschnittstellen auf beiden Allelen) mit verminderter Knochendichte. Hier zeigte sich eine höhere Knochendichte bei Vorhandensein des BB- und des Bb-Genotyps (Salamone et al., 1996). Weitere Studien mit dem Ergebnis einer erniedrigten Knochendichte bei präpubertären und adoleszenten Mädchen bei Vorhandensein des Genotyps BB gegenüber den Genotypen Bb und bb folgten (Ferrari SL, 1998). Es wurden in weiteren Untersuchungen altersabhängige Assoziationen der Knochendichte mit dem VDR-Genpolymorphismus diskutiert (Riggs et al., 1995). Ähnlich den Ergebnissen von Morrison et al. aus dem Jahre 1994 (Morrison, 1994) zeigten Spector et al. 1995 bei der Untersuchung des TaqI-Polymorphismus eine Assoziation niedriger Knochendichte mit dem Genotyp tt (Vorhandensein der Schnittstelle der Restriktionsendonuklease Taq I auf beiden Allelen) bei postmenopausalen Zwillingen (Spector et al., 1995). In einem nordamerikanischen Kollektiv konnten diese Ergebnisse allerdings nicht bestätigt werden, hier zeigte sich keine signifikante Assoziation mit den Genpolymorphismen BsmI, ApaI und TaqI (Hustmeyer et al., 1994), zu ähnlichen Ergebnissen kam auch die Gruppe Garnero et al. (Garnero et al., 1995). Hinweise auf einen Zusammenhang der Knochendichte mit dem FokI-Genotyp wurden von Harris et al. beschrieben (Harris et al., 1997), auch hier zeigten sich jedoch weitere widersprüchliche Studienergebnisse (Eccleshall et al., 1998, Ferrari et al., 1998). Zusammenfassend sind aufgrund der derzeit vorliegenden Datenlage keine Aussagen über den Einfluss von Vitamin-D-Polymorphismen und der Knochendichte möglich.

2 Fragestellung

Die Gruppe der Spondylarthritiden ist eine Gruppe rheumatischer Erkrankungen mit Beteiligung der Wirbelsäule oder der Iliosakralgelenke. Bei Patienten mit Spondylitis ankylosans findet man gehäuft eine verminderte Knochendichte (Will et al., 1989, Ralston et al., 1990, Sivri et al., 1996). Vertebrale Frakturen stellen eine häufig unerkannte Komplikation der Spondylitis ankylosans dar und tragen zur Entstehung der spinalen Deformierungen sowie von Kreuzschmerzen bei (Sivri et al., 1996). Die vertebrale Osteoporose zeigt sich vornehmlich bei Patienten mit fortgeschrittener Spondylitis ankylosans (Ralston et al., 1990, Donnelly et al., 1994), wurde allerdings auch bereits in früheren Stadien der Erkrankung beobachtet (Ralston et al., 1990, El Maghraoui et al., 1994). Mittels der Dual-Energy-Röntgen-Absorptiometrie (DEXA) werden im Bereich der Lendenwirbelsäule häufig falsch-normale oder sogar erhöhte Knochendichten aufgrund paravertebraler Kalzifikationen und Ossifikationen gemessen (Donnelly et al., 1994), während Messungen am proximalen Femur aufgrund nahezu fehlender Artefakte gehäuft eine Osteopenie oder eine Osteoporose zeigten (Aglas et al., 2004, Meirelles et al., 1999).

Die genaue Genese der Osteoporose bei Spondylitis ankylosans ist bis heute nicht geklärt, stellt bei Auftreten von Frakturen, insbesondere der Wirbelkörper, jedoch eine nicht zu unterschätzende klinische Bedeutung dar (Bessant et al., 2003, Bölzner et al., 2003, Bronson et al., 1998, Gran et al., 1998). Mehrere Faktoren zur Genese der Osteoporose bei Spondylitis ankylosans wurden in der Vergangenheit diskutiert, so der Einfluss mehrerer Zytokine wie Prostaglandine, Interleukine und Wachstumsfaktoren (Gowne et al., 1986, Gratacós et al., 1994). Eine vermehrte Immobilität aufgrund vermehrter Gelenkschmerzen, Steifigkeit und mangelnder Beweglichkeit (Szesnfeld et al., 1997) wird pathogenetisch ebenso diskutiert wie eine Muskelschwäche und eine Muskelatrophie im Zuge der Spondylitis ankylosans (Simmons et al., 1991). Bei Patienten mit Spondylitis ankylosans und erniedrigter Knochendichte finden sich erhöhte Entzündungsparameter (El Maghraoui et al., 1994), hier ist eine entzündungsbedingte Funktionseinschränkung der Osteoblasten angenommen worden. Die Analyse biochemischer Marker erbrachte hierbei jedoch häufig widersprüchliche Ergebnisse.

Bezüglich der Pathogenese der Osteoporose wurde in der Vergangenheit die Rolle diverser Gene diskutiert, so auch das des Vitamin-D-Rezeptors (VDR). Erstmals wurde 1994 von Morrison et al. über eine Korrelation der Knochendichte mit einem Polymorphismus des auf Chromosom 12 kodierten VDR-Rezeptors berichtet (Morrison et al., 1994). Neben diesem sog. BsmI-Polymorphismus existiert mit FokI ein Polymorphismus an der Translations-

Initiationsstelle im VDR-Gen, der durch das Vorhandensein zweier ATG-Startcodons charakterisiert ist und als FokI-Polymorphismus bezeichnet wird. Über VDR-Polymorphismen erfolgten in den folgenden Jahren in unterschiedlichen Populationen mehrere Untersuchungen bezüglich der Korrelation von VDR-Polymorphismen zur Knochendichte mit diskrepanten Resultaten.

Bei rheumatoider Arthritis (RA) im Frühstadium wurde in einer Studie ein Zusammenhang zwischen VDR-Polymorphismen und verminderter Knochendichte nachgewiesen (Gough et al., 1998). Hinsichtlich der Entwicklung einer Osteoporose bei Patienten mit Spondylitis ankylosans wäre ein prädiktiver Faktor von großer Bedeutung, um frühzeitig bei entsprechenden Patientenkollektiven der Ausbildung einer Osteoporose, der Ausbildung klinisch bedeutender Wirbelkörperfrakturen sowie weiterer Komplikationen entgegenwirken zu können. Somit ergeben sich, ausgehend von der Hypothese einer auch bei ankylosierender Spondylitis (AS) vorliegenden Mutation des VDR-Gens als möglichen genetischen Faktor einer osteopenen/osteoporotischen Determinante, in der vorliegenden Arbeit folgende Fragestellungen:

- 1) Lassen sich bei Patienten mit ankylosierender Spondylitis Mutationen des Vitamin-D-Rezeptor-Gens (BsmI-, FokI- und TaqI- Polymorphismen) nachweisen?
- 2) Lassen sich aus Mutationen des Vitamin-D-Rezeptor-Gens Aussagen über die Knochendichte und die Entstehung einer Osteoporose bei Patienten mit Spondylitis ankylosans treffen?
- 3) Ergibt sich hieraus ein geeigneter Parameter zur Vorhersagbarkeit der Entstehung einer Osteoporose bei Spondylitis ankylosans?
- 4) Gibt es einen Zusammenhang zwischen dem Genotyp des VDR-Gens und der Entzündungsaktivität und damit dem klinischen Verlauf der Spondylitis ankylosans?

3 Methodik und Statistik

3.1 Auswahl der Patienten

56 Patienten(innen) aus der rheumatologischen Ambulanzsprechstunde der Kerckhoff Klinik Bad Nauheim (Deutschland, Hessen) – Rheumatologie wurden untersucht. Das Kollektiv beinhaltete insgesamt 18 Frauen mit einem Durchschnittsalter von 39,3 Jahren und einer durchschnittlichen Krankheitsdauer von 15,3 Jahren sowie 38 Männer mit einem Durchschnittsalter von 44,5 Jahren bei einer durchschnittlichen Krankheitsdauer von 19,4 Jahren. Alle Patienten erfüllten die modifizierten New York-Kriterien zur Diagnose der ankylosierenden Spondylitis aus dem Jahre 1984. Ausschlusskriterien waren eine bestehende Medikation mit Einfluss auf den Knochenmetabolismus, eine osteoprotektive Medikation, eine Steroidmedikation oberhalb der „Cushing-Schwellendosis“ von 7,5mg Prednisolonäquivalent sowie eine bestehende Niereninsuffizienz. Neben der Anamnese und klinischen Untersuchung erfolgte die Bestimmung der Krankheitsdauer, eine Erhebung der NSAR-Medikation, das Ausfüllen eines Fragebogens zur Erfassung einer regelmässigen Heilgymnastik, die Einschätzung der Schmerzsymptomatik nach der visuellen Analogskala (0-100), eine Gewichts- und Größenbestimmung sowie eine Einteilung in die Krankheitsstadien I-IV einer ankylosierenden Spondylitis nach radiomorphologischen Kriterien (Bennet und Wood, 1968). Genauere Informationen zum ausgewählten Patientengut enthält Tabelle 7.

Tabelle 7: Daten zum ausgewählten Patientengut

	AS-Patientinnen (n = 18)	AS-Patienten (n = 38)	Gesamt (n = 56)
Alter (Jahre)	39,3 ± 9,2	44,5 ± 14,1	42,8 ± 12,9
Alter bei Diagnose	33,4 ± 8,7	32,8 ± 13,2	33 ± 12,9
Krankheitsdauer (Jahre)	15,3 ± 8,9	19,4 ± 12,8	18 ± 11,8
Gewicht (kg)	72,7 ± 6,3	73,8 ± 6,3	73,5 ± 6,5
Größe (cm)	170,5 ± 4	177,2 ± 6,1	174,9 ± 6,3
Medianes CRP (mg/l)	12,5 ± 5,8	16,2 ± 10,5	15 ± 9,4
Aktuelles CRP (mg/l)	11,1 ± 8,3	14,4 ± 14,4	13,3 ± 12,8
BSG (mm/1h)	16,3 ± 12,6	14,9 ± 13,5	15,4 ± 13,2
BASDAI	5 ± 1,4	5 ± 2,2	5 ± 2
Schmerzskala	57 ± 16	56,8 ± 24	56,9 ± 21,7
DMARDs *	2	4	6
NSAR*	12	30	42
Steroide*	1	1	2
HLA-B27 (+)	16	36	52
AS Stadium I	9	13	22
AS Stadium II	8	10	18
AS Stadium III	0	5	5
AS Stadium IV	1	10	11
Gymnastik **	18	36	54
* Aktuelle Medikation. Steroiddosis im Cushingschwellenbereich, entsprechend 7,5mg Prednisolonäquivalent. DMARDs: Methotrexattherapie ** Mindestens 1x/Woche Gymnastik von 1-2 Stunden Dauer			

3.2 Laborbestimmungen

Nach erfolgter Blutentnahme wurden die Proben einer zehnminütigen Zentrifugation bei 3600 Umdrehungen/Minute zugeführt und, sofern nicht eine sofortige Bestimmung der Laborparameter erfolgte, bei -20°C eingefroren. Es erfolgte jeweils eine Doppelbestimmung der Laborparameter.

Osteocalcin: Die Bestimmung von Osteocalcin erfolgte aufgrund einer geringen präanalytischen Stabilität direkt nach der Entnahme der Proben. Die Bestimmung erfolgte im Endokrinologischen Labor der III. Medizinischen Klinik und Poliklinik der Universität Giessen (Clini Gamma Counter der Fa. LKB Wallac) mit immunradiometrischer Technik (Osteocalcin 125 RIA KIT, Corporation, Stillwater, Minnesota, USA). Der Normbereich liegt bei 1,8-6,6ng/ml.

Crosslinks: Die Pyridinoline wurden mittels KIT der Firma Biermann, Bad Nauheim, Germany, radioimmunologisch bestimmt. Der Normbereich liegt bei 15-60 nMol/pyr/mMol Crea.

Alkalische Phosphatase (AP): Die Serumaktivität der AP stammt zu etwa gleichen Teilen aus der Leber und dem Knochen. Bei Patienten ohne Hepatopathien kann somit die Gesamt-AP als Parameter der Osteoblastenaktivierung recht zuverlässig herangezogen werden. Die Bestimmung erfolgte durch Transphosphorylierung (ALK P Testpack, Du Pont de Nemours GmbH; Bad Homburg, Germany). Der Normbereich liegt für Frauen bei 40-160 U/l, für Männer bei 60-170 U/l.

Knochenspezifische alkalische Phosphatase: Die Bestimmung der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase bringt gegenüber der Bestimmung der Gesamt-Alkalischen Phosphatase einen deutlichen Zuwachs an Spezifität. Die Bestimmung erfolgte mittels Endpunktmessung bei 405nm (Enzym-Immuno-Assay, quantitative Bestimmung; DPL Biermann GmbH, Bad Nauheim, Germany). Der Normbereich für Frauen im Alter von 25-55 Jahren liegt bei 11,6-30,6 U/l, bei einem Alter >55 Jahren bei 14,8-43,4 U/l. Für Männer liegt der Normbereich zwischen 15-41,3 U/l.

Hydroxyprolin im 24-Stunden-Urin: Die Messung erfolgte mit Hilfe der Absorptionsphotometrie (Fa. Organon, Epsom, Finnland). Zur Vermeidung einer Verfälschung der Ausscheidungswerte durch alimentär zugeführtes Kollagen erfolgte ein Tag vor und während der Sammelperiode eine hydroxyprolinfreie Ernährung. Der Normbereich für Frauen liegt bei 2,5-5 nM Dpd/mM Kreatinin, für Männer bei 2,5-5 nM Dpd/mM Kreatinin.

Akut-Phase-Parameter: Neben der Bestimmung der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit BSG (Normwert Männer bis 15 mm/1h; Frauen bis 20mm/1h) wurde immunnephelometrisch (N Latex CRP mono, Behring Diagnostics GmbH, Marburg, Germany) das C-reaktive Protein bestimmt (Normalwert < 5mg/l).

Ostase (alkalische Skelettphosphatase): Die Bestimmung der Ostase erfolgte mittels RIA der Firma Hybritech GmbH, Köln, Germany. Das Isoenzym ist in Osteoblasten lokalisiert. Aktive Osteoblasten weisen im Vergleich zu ruhenden Osteoblasten eine höhere spezifische AP-Aktivität auf. Der Normbereich für Frauen liegt bei 7,5-15,7µg/l, für Männer bei 8-16,7µg/l.

3.3 Bath Ankylosing Spondylitis Activity Index (BASDAI)

Nach den 1994 erstmals beschriebenen Kriterien (Garrett et al., 1994) wurde bei allen Patienten mit Spondylitis ankylosans als Maß für die Krankheitsaktivität der Bath Ankylosing Disease Activity Index (BASDAI), der die Müdigkeit, die Schmerzen und die Morgensteifheit zu einem Messwert zusammenfasst, definiert. Der Patient wird gebeten, in dem wiedergegebenen Fragebogen auf jeder Skala die Stelle zu markieren, die nach seiner Einschätzung die betreffende Frage am besten beantwortet. Der BASDAI-Index wird vom Patienten unbeeinflusst ausgefüllt und anschließend in drei Schritten berechnet: Zunächst erfolgt eine Umrechnung der Zeitskala aus Frage 6 in eine Skala von 0-10, wobei ¼ Stunde einer 1, ½ Stunde einer 2,5, eine ¾ Stunde eine 3,75 usw. entspricht. Anschließend wird ein Mittelwert aus den Fragen fünf und sechs gebildet, weiterhin ein Mittelwert aus den Fragen 1-4. Den BASDAI-Index erhält man nach Gesamtmittelwertbildung aus den Fragen 1-4 und 5-6. Es ergibt sich ein Wert zwischen 0 (günstigster Wert) und 10 (schlechtester Wert). Die entsprechenden Fragen sind der Abbildung 1 zu entnehmen.

Abbildung 1: Fragebogen zum BASDAI Index

Wie ist es Ihnen in den letzten 7 Tagen ergangen?

Bitte kreuzen Sie auf den nachfolgenden Skalen jeweils eine Zahl an. Auch wenn die Beschwerden (Schmerzen, Müdigkeit) geschwankt haben, entscheiden Sie sich **bitte für eine Zahl** als Angabe für die durchschnittliche Stärke der Beschwerden.

1. Wie würden Sie Ihre allgemeine Müdigkeit und Erschöpfung beschreiben?

keine Müdigkeit/
Erschöpfung ☐ 0 ☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10 sehr starke
Müdigkeit/Erschöpfung

2. Wie stark waren Ihre Schmerzen in Nacken, Rücken oder Hüfte?

keine
Schmerzen ☐ 0 ☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10 sehr starke
Schmerzen

3. Wie stark waren Ihre Schmerzen oder Schwellungen in anderen Gelenken?

keine
Schmerzen ☐ 0 ☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10 sehr starke
Schmerzen

4. Wie unangenehm waren für Sie besonders berührungs- oder druckempfindliche Körperstellen?

gar nicht ☐ 0 ☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10 sehr stark

5. Wie ausgeprägt war Ihre Morgensteifigkeit nach dem Aufwachen?

gar nicht ☐ 0 ☐ 1 ☐ 2 ☐ 3 ☐ 4 ☐ 5 ☐ 6 ☐ 7 ☐ 8 ☐ 9 ☐ 10 sehr stark

6. Wie lange dauert diese Morgensteifigkeit im allgemeinen?

in Stunden ☐ 0 ☐ ¼ ☐ ½ ☐ ¾ ☐ 1 ☐ 1¼ ☐ 1½ ☐ 1¾ ☐ ≥2
hatte keine

3.4 Knochendichtemessung

3.4.1 Dual-Photonenabsorptionsmetrie

Die Messung erfolgte mit einem Lunar DPX Gerät (LUNAR Radiation Corporation, 313 West Beltline Highway, Madison, Wisconsin 53713, United States). Gemessen wurden die Lendenwirbelkörperregion LWK 2-4 in anteroposteriorer Projektion, seitlich sowie das Ward'sche Dreieck am linken Oberschenkelhals. Eine Angabe erfolgt zum einen in Prozent als auch als T-Score. T-Score bezeichnet die Abweichung des Messwertes vom Mittelwert

eines Referenzkollektivs von jungen geschlechtsreifen gesunden Personen im Alter um 30 Jahre. Nach der WHO-Definition der Knochendichtebeurteilung besteht eine normale Knochendichte bei einer Abweichung von weniger als -1 Standardabweichung, bei einer Abweichung von -1 bis -2,5 Standardabweichungen besteht eine erniedrigte Knochenmasse, als Osteopenie bezeichnet, während eine Abweichung größer als -2,5 Standardabweichungen einer Osteoporose entspricht.

3.4.2 Quantitative Computertomographie

Die Single-Energy-quantitative Computertomographie (SE-QCT) bietet einen großen Vorteil, da bei Querschnittsdarstellung keine Überlagerungsmöglichkeiten auftreten. Weiterhin kann zwischen trabekulärem und kortikalem Knochen unterschieden werden. Hierdurch ist eine hohe Genauigkeit der Untersuchung mit guter Reproduzierbarkeit gegeben. Untersucherabhängige Fehler treten bei automatisierter Auswertung nicht auf. Die gesamte Untersuchung umfasst die Bestimmung der Untersuchungsebene, die Messung der Knochendichte, die Auswertung, die Kalibrierung sowie die Qualitätskontrolle. Die Untersuchungsebene umfasst die mittlere vertebrale Schicht der BWK 12 bis LWK 4 im lateralen, digitalen Radiogramm, getrennt nach spongiosen und kortikalem Knochen. Die Knochendichte wird dabei an einer etwa 8-10mm dicken Schicht ermittelt.

3.4.3 Statistik

Die einzelnen Messwerte wurden Patientenweise aufgelistet, anschließend erfolgte eine Zuordnung der einzelnen Messparameter zu den Gruppen und die Ermittlung des Mittelwertes und der Standardabweichung. Die Auswertung erfolgte unter Anwendung von SPSS 7.5 für Windows (SPSS Advanced Statistic 6.1, Inc. Chicago, 1994). Bei allen erhobenen Parametern wurden die Mittelwerte mit dem T-Test auf Signifikanz geprüft, hierbei wurde $p < 0,05$ als signifikant angenommen. Die Korrelationsbestimmungen erfolgten durch die Bestimmung des Pearson Korrelationskoeffizienten (r).

3.5 Molekularbiologische Analysen

3.5.1 Gewinnung von Leukozyten aus Vollblut

Die für die molekularanalytische Genotypisierung benötigte DNA wurde aus peripheren Leukozyten von 56 Patienten(innen) mit ankylosierender Spondylitis gewonnen. Hierzu wurde EDTA-antikoaguliertes Vollblut für zehn Minuten bei 3000g zentrifugiert. Durch die Zentrifugation entsteht ein dreischichtiger Aufbau der Blutsäule. Diese beinhaltet eine Schicht Leukozyten und Thrombozyten (= Buffy coat) zwischen dem Blutplasma und den sedimentierten Erythrozyten. Das Blutplasma sowie der Buffy coat wurden abpipettiert.

3.5.2 Isolierung von Desoxyribonukleinsäure (DNS)

Zur Extraktion der DNA aus den peripheren Leukozyten wurde das QiaAmp-Blood-Kit verwendet (Quiagen Ltd, Max-Volumer-Strasse, Hilden, Deutschland). Plasma und Buffy coat wurden durch Abpipettieren in ein 1,5ml-Tube überführt. 100µl wurden mit 20µl Proteinase K und 180µl 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 Thermocycler (Fa. Eppendorf) inkubiert. Danach folgte eine zehnminütige Erhitzung des Lysats in einem auf 99°C erwärmten Wasserbad zur Inaktivierung der Proteinase K.

Nach Zusatz von 200µl Puffer AL und 210µl Ethanol (96-100%) wurde der Ansatz für weitere zehn Minuten bei 70°C inkubiert. Hiernach folgten zwei Waschungen: Das Gemisch wurde in ein mitgeliefertes Filtertube pipettiert, 500µl Puffer AW1 wurden hinzugefügt und für eine Minute bei 6000g zentrifugiert. Das entstehende Ultrazentrifugat wurde verworfen. Dem oberen Reservoir des Filtertubs wurden in einem weiteren Arbeitsschritt 500µl Puffer AW2 hinzugefügt und erneut für eine Minute bei 6000g zentrifugiert. Die DNA wurde durch Zentrifugation bei 20.000g mit 200µl aqua dest. aus dem Filtertube eluiert und in einem sterilen 1,5ml Tube aufgefangen.

3.5.3 Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Aufgrund exponentieller Vermehrungsraten der DNA bezeichnet man diese Technik als Polymerase-Kettenreaktion (Polymerase Chain Reaction = PCR). Die PCR ermöglicht es,

eine bestimmte Stelle innerhalb eines Genoms beliebig zu vervielfältigen (= amplifizieren). Hierzu benötigt man neben einer DNA-Matrize (=Template) noch Oligonukleotide (=dNTP's), zwei sog. Primer, die komplementär zu den Enden einer definierten Sequenz sind und eine Polymerase, die den denaturierten Einzelstrang der DNA durch Verlängerung der angelagerten Primer mittels Einbau von Nukleosiden kopiert.

Das Prinzip der PCR sei kurz dargestellt: Als Ausgangsmaterial (Template) der PCR dient Genom-DNA, Plasmide, DNA-Fragmente etc. Der erste Schritt basiert auf der Denaturierung eines ds-DNA Templates bei hoher Temperatur (94-96°C), an welches sich in einem zweiten Schritt am 5' und 3'-Ende des zu amplifizierenden Bereiches spezifische Oligonukleotidmoleküle (Primer) anlagern (Annealing). Im dritten Schritt, der Elongation, werden diese Primer von einer DNA-abhängigen DNA-Polymerase in Anwesenheit freier Desoxynukleotid-Triphosphate (dNTP's) verlängert (elongiert). Dabei elongiert die DNA-Polymerase den entstehenden DNA-Doppelstrang (ds-DNA) in 5'-3'-Richtung solange, bis sie von der DNA „abfällt“ oder die Reaktion unterbrochen wird. Ein Abbruch kann u.a. durch Erhöhung der Inkubationstemperatur auf 95°C und dadurch bedingte Denaturierung der ds-DNA erfolgen. Kühlt man anschließend in Anwesenheit freier Primer wieder auf 60-40°C ab, so binden diese wieder in Abhängigkeit ihres mittleren Schmelzwertes (T_m -Wertes) an die komplementären Sequenzen des Templates, so dass die Synthese eines weiteren Doppelstranges erfolgen kann.

Die in H₂O gelöste DNA der peripheren Leukozyten diente als Ausgangsmaterial für die folgende molekularbiologische Genotypisierung. Bekanntlich befindet sich die Region des VDR innerhalb des Genlokus 12q3. Für die Amplifikation der drei untersuchten Regionen des VDR wurden die Primer entsprechend den Arbeiten von Morrison et al. (Morrison et al., 1994) und Gross et al. (Gross et al., 1996) verwendet.

Folgende Ansätze wurden pipetiert: 4µl extrahierte DNA; 5µl 10x Puffer (Fa. Perkin Elmer); 1µl 3'Primer (20pmol/µl); 1µl 5'Primer (20pmol/µl); 0,5µl dNTP (Eurobio); 0,3µl AmpliTaq Gold (Fa. Perkin Elmer); ad 50µl H₂O. Der jeweilige Reaktionsansatz wurde in einer PCR-Maschine (Trio-Block, Biometra) unter den in Tabelle 8 angegebenen Bedingungen amplifiziert:

Tabelle 8: PCR-Bedingungen

Ansatz 1: B1 & B2 Amplifikation	Ansatz 2: T1 & T2 Amplifikation	Ansatz 3: F1 & F2 Amplifikation
1x 94°C, 5 Minuten	1x 94°C, 5 Minuten	1x 94°C, 5 Minuten
40x 94°C, 1 Minute	40x 94°C, 1 Minute	40x 94°C, 1 Minute
60°C, 1 Minute	59°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	1x 72°C, 5 Minuten

3.5.4 Agarose-Gel-Elektrophorese

8µl der PCR-Produkte wurden jeweils mit 2µl Ladepuffer versetzt und auf die Slots verteilt. Nach Anlegung einer Spannung von 100mV bei 1000mA wandert die elektrisch negativ geladene DNA von der Kathode in Richtung Anode. Die gleichzeitige Auftragung eines genormten Längenmarkers parallel zu einer Slots zeigt unter Betrachtung des Gels im 300nm-UV-Transluminatorlicht Größenunterschiede der einzelnen Fragmente und lässt eine semiquantitative Beurteilung der Länge der einzelnen Amplikons zu. Die Gele wurden zur Dokumentation fotografiert und archiviert.

3.5.5 Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP)

Mittels Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP)-Analyse ist es möglich, Mutationen innerhalb eines Gen-Abschnitts zu erkennen und mit Hilfe der Gel-Elektrophorese sichtbar zu machen. Hierzu wird ein Amplikon bestimmter Länge mit einer Endonuklease vermischt und bei der für die Endonuklease optimalen Temperatur $T_{(m)}$ für einige Zeit inkubiert. Ist eine für das Endonuklease-Enzym spezifische Stelle innerhalb eines Allels vorhanden, so spaltet das Enzym den Gen-Abschnitt an einer für dieses Enzym spezifischen Stelle. Die Schnittstellen innerhalb eines Allels der in der vorliegenden Arbeit verwendeten Restriktions-Endonukleasen zeigt Tabelle 9.

Tabelle 9: Schnittstellen der verwendeten Restriktions-Endonukleasen

BsmI	TaqI	FokI
5'...GAATGCN/...3' 3'...CTTAC/GN...5'	5'...T/CGA...3' 3'...AGC/T...5'	5'...GGATG(N) ₉ ▼....3' 3'...CCTAC(N) ₁₃ ▲...5'

Die Anwesenheit einer Schnittstelle für die BsmI-Endonuklease wird mit dem Buchstaben (b), die Abwesenheit mit (B) bezeichnet. Entsprechend zeigt (t) und (f) die Anwesenheit und (T) und (F) die Abwesenheit der Schnittstelle des TaqI- und FokI-Enzyms an. Somit ergeben sich für die Polymorphismen jeweils drei Möglichkeiten: (bb), (tt) und (ff) zeigen jeweils eine Restriktionsschnittstelle auf beiden Allelen, (Bb), (Tt) und (Ff) zeigen jeweils einen heterozygoten Genotyp und die Typen (BB), (TT) und (FF) deuten auf die homozygote Abwesenheit der Restriktionsstelle hin. So zeigt sich in der Gel-Elektrophorese beim Typ BB eine Bande der Länge 900bp, der Typ Bb eine 900bp und eine 760bp-Bande, während man beim Genotyp bb lediglich eine 760bp-Bande findet.

Die Analyse der Genloci der Allele erfolgte im Anschluss an die PCR. Folgender Ansatz wurde in einem sterilen 1500µl Tube pipettiert: 8µl PCR-Puffer; 2µl 10x Puffer (10mM Tris-HCl, 10mM MgCl₂, 100mM KCl, 100µg/ml BSA), 1µl BsmI bzw. TaqI bzw. FokI Endonuklease (10⁴ U/ml), Hybaid-AGS, Heidelberg, 9µl H₂O.

Die Ansätze wurden bei entsprechenden Temperaturen (BsmI - 37°C, TaqI - 37°C, FokI - 31°C) für 10 Stunden inkubiert. Anschließend erfolgte eine erneute Auftragung auf ein 2% Agarose TAE Gel und die Betrachtung unter dem UV-Licht (300nm). Die Abbildungen 2-4 zeigen entsprechende Bandenmuster zum BsmI-, TaqI- und FokI-Polymorphismus.

Abbildung 2: Gel-Bandenmuster des Bsm I-Polymorphismus

Bsm I - Polymorphismen

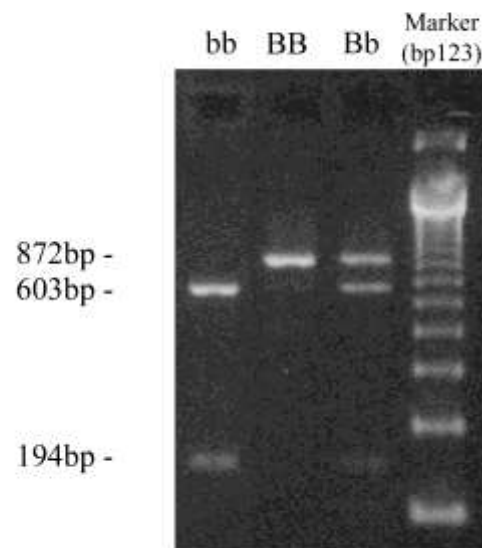


Abbildung 3: Gel-Bandenmuster des TaqI-Polymorphismus

Taq I - Polymorphismen

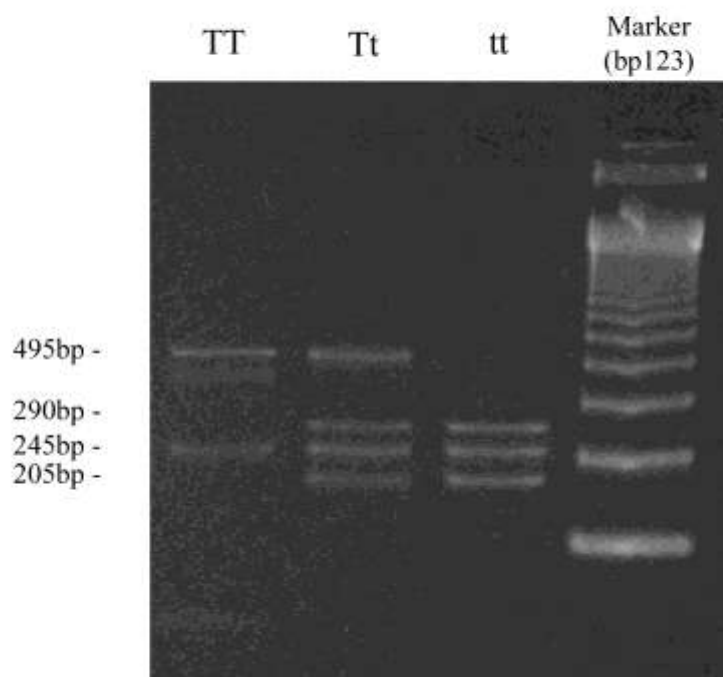
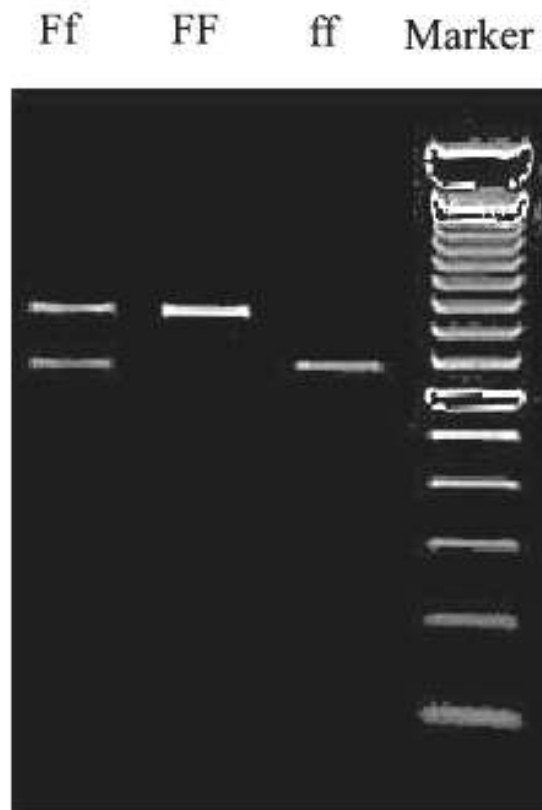


Abbildung 4: Gel-Bandenmuster des FokI-Polymorphismus

Fok I - Polymorphismen



3.5.6 Statistik

Entsprechend dem Resultat der VDR-Genotypisierung wurden die Patienten(innen) in die Subgruppen BB, Bb, bb / FF, Ff, ff / TT, Tt, tt 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 drei Gruppen der Scheffé-Test verwandt (Sachs, 1997). Waren die Voraussetzungen für die Durchführung einer einfaktoriellen Varianzanalyse nicht erfüllt (Normalverteiltetheit, 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

Im der vorliegenden Arbeit wurden insgesamt 56 Patienten (innen)innen mit Erfüllung der modifizierten New-York-Kriterien der ankylosierenden Spondylitis untersucht. Im Gesamtkollektiv befanden sich 18 Patientinnen mit einem Durchschnittsalter von 44,5 Jahren sowie 38 Patienten mit einem Durchschnittsalter von 44,5 Jahren. Das durchschnittliche Alter bei Diagnosestellung lag bei den Frauen im Alter von 33,4 Jahren, das der männlichen AS-Patienten bei 32,9 Jahren. Die durchschnittliche Dauer der Krankheits-Symptomatik betrug im vorliegenden Krankengut bei den Männern 22,9 Jahre, bei den Frauen 21,1 Jahre. Das aktuelle CRP lag wie auch das mediane CRP bei den AS-Patienten im Vergleich zu den AS-Patientinnen geringfügig höher. Die exakten Daten des Gesamtkollektivs enthält Tabelle 7.

Im Gesamtkollektiv zeigte sich eine Osteopenie an der LWS mittels DEXA-Messung (T-Score) in 12,5% der Fälle (7/56), am linken Schenkelhals mittels DEXA-Messung (T-Score) in 19,6% der Fälle (11/56), bei der CT-Spongiosamessung (T-Score) zeigte sich eine Osteopenie in 37,5% der Fälle (21/56). Die Daten im Einzelnen sind der Tabelle 10 zu entnehmen.

Bei Betrachtung der männlichen ankylosierenden Spondylitis-Gruppe konnte eine signifikante Assoziation der Knochendichte (DEXA-LWS, DEXA-LWS-T-Score, DEXA li. Schenkelhals, DEXA li. Schenkelhals-T-Score, CT-Spongiosa und CT-Spongiosa-T-Score) mit den FokI-Genotypen nachgewiesen werden (siehe Tabelle 14, Abbildungen 5-10). Hierbei zeigten sich die niedrigsten Knochendichtewerte für die Gruppe FF ($p < 0,05$). Das mediane C-reaktive Protein (CRP) sowie das aktuell gemessene CRP war für den Genotyp FF signifikant am höchsten ($p < 0,05$; siehe Tabelle 14 und Abbildungen 11 und 12), wohingegen die Blutsenkungsgeschwindigkeit keine signifikante Assoziation aufwies. Laborchemische Vergleichsparameter der Knochenmetabolismus-Marker Osteocalcin, Ostase und letztlich auch der Deoxypyridinolin-Crosslinks im Urin zeigten keine signifikanten Korrelationen im vorliegenden Kollektiv. Diese Daten sind der Tabelle 14 zu entnehmen.

Bei den AS-Patienten ließ sich eine signifikant verminderte Knochendichte ($p < 0,05$; DEXA-li. Schenkelhals, CT-Spongiosa) aufzeigen, allerdings ergaben sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Taq-Polymorphismen im Anschlussstest (siehe Tabelle 16 und Abbildung 13 und 14).

Für den Bsm-I-Polymorphismus zeigte sich bei männlichen AS-Patienten keine Assoziation mit den ermittelten Knochendichtewerten (siehe Tabelle 12).

Eine signifikante Assoziation des Serum-Osteocalcins mit den ermittelten Genotypen konnte nicht aufgezeigt werden, in allen Kollektiven lagen die ermittelten Werte zudem innerhalb des Normbereichs. Auch die Bestimmung der Ostase ergab keine signifikanten Unterschiede. Ebenfalls ohne signifikante Assoziation mit den Genotypen BsmI, TaqI und FokI zeigten sich die ermittelten, weitgehend knochenspezifischen Deoxypyridinolin-Crosslinks im Urin als Marker des Knochenabbaus. Der Vergleich der verschiedenen VDR-Genotypen mit den Parametern des Knochenstoffwechsels ergab daher insgesamt keine Assoziation bestimmter Genotypen mit Veränderungen der Marker des Knochenmetabolismus bei Patienten mit Spondylitis ankylosans.

Eine signifikante Korrelation mit dem Bath Ankylosing Disease Activity Index konnte ebenfalls nicht hergestellt werden: Sowohl bei der Bestimmung der Vitamin-D-Rezeptor-Gen-Polymorphismen Bsm-I, Apa-I als auch bei der Bestimmung des Taq-I-Polymorphismus zeigte sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang mit einem Maß der Krankheitsaktivität BASDAI.

Signifikante Unterschiede der Körpergröße von Frauen zwischen den Genotypen TT und Tt mit einer niedrigeren Körpergröße des Genotyps Tt im Vergleich zu TT konnten aufgezeigt werden ($p < 0,05$). Die männliche Gruppe zeigte diesbezüglich keine signifikanten Unterschiede, auch für die Genotypen BsmI und FokI konnten in der vorliegenden Arbeit keine signifikanten Assoziationen mit der Körpergröße hergestellt werden.

Als nicht signifikant erwies sich die Korrelation des Körpergewichtes der männlichen und weiblichen Patienten mit den ermittelten Genotypen des Vitamin-D-Rezeptors.

Tabelle 10: Resultate der Knochendichtemessungen

	Gesamt (n = 56)		AS-Patientinnen (n = 18)		AS-Patienten (n = 38)	
	Osteopenie	Osteoporose	Osteopenie	Osteoporose	Osteopenie	Osteoporose
DEXA-LWS (T-Score)	7 (12,5%)	3 (5,3%)	2	0	5	3
DEXA-li. SH (T-Score)	11 (19,6%)	3 (5,3%)	1	1	10	2
CT-Spongiosa (T-Score)	2 (3,5%)	19 (34%)	1	3	1	16

Tabelle 11: Mittelwerte und Standardabweichungen der BsmI-Genotypen bei Frauen

Frauen	BsmI-Gruppen						Sig. p	Gesamt	
	BB	N	Bb	N	bb	N		Mean ± SD	N
Osteocalcin (ng/ml)	2,60 ± 0,72	3	3,31 ± 1,30	10	3,06 ± 1,07	5	0,66	3,12 ± 1,14	18
Ostase (µg/l)	17,53 ± 4,99	3	19,71 ± 7,68	10	17,14 ± 2,27	5	0,73	18,63 ± 6,08	18
Crosslinks (nM Dpd/mM)	6,40 ± 3,87	3	6,56 ± 5,33	10	3,92 ± 0,91	5	0,54	5,80 ± 4,29	18
Größe (cm)	169,33 ± 1,53	3	170,60 ± 4,25	10	170,00 ± 4,85	5	0,89	170,22 ± 3,95	18
Gewicht (kg)	72,00 ± 7,55	3	73,50 ± 6,88	10	71,60 ± 7,09	5	0,87	72,72 ± 6,67	18
DEXA LWS (BMD/g/cm ²)	0,77 ± 0,14	3	0,78 ± 0,19	10	0,71 ± 0,14	5	0,74	0,76 ± 0,16	18
LWS ap (T-Score)	0,40 ± 1,48	3	0,52 ± 0,95	10	-0,32 ± 1,63	5	0,48	0,27 ± 1,23	18
DEXA li. SH (BMD/g/cm ²)	0,73 ± 0,28	3	0,75 ± 0,12	10	0,65 ± 0,14	5	0,53	0,72 ± 0,15	18
li. SH (T-Score)	0,13 ± 2,20	3	0,47 ± 1,24	10	-0,52 ± 1,40	5	0,47	0,14 ± 1,42	18
CT-Kortikalis (mg/l)	298,83 ± 53,18	3	299,06 ± 58,39	10	284,30 ± 54,14	5	0,89	294,92 ± 53,60	18
CT-Spongiosa (T-Score)	-0,03 ± 1,81	3	-0,39 ± 1,35	10	-0,14 ± 1,94	5	0,93	-0,26 ± 1,50	18
CT-Spongiosa (mg/l)	149,93 ± 43,01	3	131,00 ± 47,65	10	144,74 ± 39,71	5	0,76	137,97 ± 43,10	18
BSG (mm/h)	21,00 ± 26,06	3	14,90 ± 8,44	10	19,00 ± 13,62	5	0,74	17,06 ± 12,95	18
CRP (mg/l)	7,60 ± 4,50	3	10,60 ± 6,34	10	15,30 ± 13,65	5	0,46	11,41 ± 8,65	18
med. CRP (mg/l)	10,27 ± 3,15	3	11,62 ± 5,30	10	14,80 ± 8,58	5	0,54	12,28 ± 6,02	18
BASDAI	6,00 ± 1,73	3	4,50 ± 1,08	10	5,20 ± 1,79	5	0,27	4,94 ± 1,43	18
Alter (Jahre)	42,00 ± 5,57	3	38,00 ± 11,44	10	39,80 ± 9,01	5		39,17 ± 9,72	18
Alter bei Diagnose (Jahre)	31,00 ± 5,29	3	31,70 ± 10,25	10	37,20 ± 8,58	5		33,11 ± 9,12	18
Symptome (Jahre)	30,33 ± 6,03	3	18,50 ± 10,16	10	23,00 ± 6,96	5		21,72 ± 9,49	18
Krankheitsdauer (Jahre)	25,00 ± 9,64	3	13,20 ± 8,60	10	15,60 ± 7,40	5		15,83 ± 9,05	18
DEXA-LWS % Altersnorm	94,00 ± 11,14	3	100,20 ± 17,29	10	98,80 ± 26,30	5		98,78 ± 18,46	18
DEXA li. SH % Altersnorm	103,33 ± 33,84	3	102,40 ± 14,97	10	86,00 ± 14,30	5		98,00 ± 18,98	18
Schmerzskala	65,00 ± 21,79	3	55,00 ± 15,09	10	52,00 ± 16,05	5		55,83 ± 16,02	18
Ott (cm)	32,33 ± 0,58	3	31,40 ± 1,17	10	32,30 ± 0,97	5		31,81 ± 1,10	18
Schober (cm)	14,33 ± 0,76	3	13,40 ± 1,58	10	14,40 ± 0,42	5		13,83 ± 1,29	18
APH (U/l)	110,67 ± 7,09	3	126,90 ± 45,74	10	119,80 ± 23,57	5		122,22 ± 35,81	18
OHP (mg/24h)	14,67 ± 7,02	3	15,91 ± 13,65	10	13,10 ± 8,08	5		14,92 ± 11,01	18

Tabelle 12: Mittelwerte und Standardabweichungen der BsmI-Genotypen bei Männern

Männer	BsmI-Genotypen									
	BB		Bb		bb		Sig.	Gesamt		
	Mean ± SD	N	Mean ± SD	N	Mean ± SD	N	p	Mean ± SD	N	
Osteocalcin (ng/ml)	5,05 ± 2,44	6	4,12 ± 1,71	15	3,93 ± 1,10	15	0,36	4,19 ± 1,63	36	
Ostase (µg/l)	24,32 ± 5,08	6	21,75 ± 7,35	15	25,02 ± 11,57	15	0,61	23,54 ± 9,02	36	
Crosslinks (nM Dpd/mM)	8,05 ± 6,55	6	7,55 ± 5,17	15	7,12 ± 7,74	15	0,96	7,46 ± 6,40	36	
Größe (cm)	175,67 ± 3,44	6	179,53 ± 7,23	15	175,00 ± 5,35	15	0,12	177,00 ± 6,23	36	
Gewicht (kg)	75,00 ± 6,07	6	73,53 ± 6,72	15	73,87 ± 7,47	15	0,91	73,92 ± 6,78	36	
DEXA LWS (BMD/g/cm ²)	0,67 ± 0,21	6	0,77 ± 0,24	15	0,82 ± 0,24	15	0,43	0,77 ± 0,23	36	
LWS ap (T-Score)	-1,03 ± 1,38	6	-0,16 ± 1,53	15	0,52 ± 1,19	15	0,07	-0,02 ± 1,44	36	
DEXA li. SH (BMD g/cm ²)	0,70 ± 0,20	6	0,76 ± 0,24	15	0,73 ± 0,19	15	0,84	0,73 ± 0,21	36	
li. SH (T-Score)	-0,63 ± 1,55	6	-0,23 ± 1,66	15	-0,05 ± 1,16	15	0,71	-0,22 ± 1,42	36	
CT-Kortikalis (mg/l)	212,93 ± 45,60	6	262,36 ± 75,69	15	267,41 ± 54,59	15	0,20	256,23 ± 64,59	36	
CT-Spongiosa (T-Score)	-1,30 ± 1,21	6	-0,73 ± 1,45	15	-0,99 ± 1,39	15	0,68	-0,93 ± 1,37	36	
CT-Spongiosa (mg/l)	108,18 ± 51,34	6	114,81 ± 46,10	15	98,87 ± 50,88	15	0,67	107,06 ± 48,13	36	
BSG (mm/h)	17,33 ± 23,26	6	17,53 ± 13,13	15	10,87 ± 9,09	15	0,38	14,72 ± 13,79	36	
CRP (mg/l)	21,35 ± 27,22	6	12,57 ± 9,47	15	13,32 ± 13,59	15	0,47	14,35 ± 15,02	36	
med. CRP (mg/l)	23,75 ± 16,43	6	15,27 ± 8,27	15	14,95 ± 10,01	15	0,21	16,55 ± 10,80	36	
BASDAI	6,67 ± 1,97	6	4,73 ± 2,63	15	4,67 ± 1,91	15	0,17	5,03 ± 2,31	36	
Alter (Jahre)	37,67 ± 16,01	6	40,27 ± 10,80	15	49,47 ± 15,36	15		43,67 ± 14,25	36	
Alter bei Diagnose (Jahre)	34,33 ± 13,52	6	28,67 ± 12,98	15	34,67 ± 13,78	15		32,11 ± 13,35	36	
Symptome (Jahre)	17,83 ± 9,87	6	17,93 ± 11,80	15	27,93 ± 13,16	15		22,08 ± 12,80	36	
Krankheitsdauer (Jahre)	11,83 ± 7,05	6	15,07 ± 11,09	15	24,93 ± 13,78	15		18,64 ± 12,75	36	
DEXA-LWS % Altersnorm	81,50 ± 10,50	6	94,33 ± 20,55	15	99,13 ± 15,39	15		94,19 ± 17,82	36	
DEXA li. SH % Altersnorm	89,33 ± 16,02	6	95,13 ± 21,64	15	90,53 ± 14,72	15		92,25 ± 17,80	36	
Schmerzskala	75,00 ± 16,43	6	54,67 ± 26,15	15	51,33 ± 23,26	15		56,67 ± 24,49	36	
Ott (cm)	31,42 ± 0,49	6	31,77 ± 1,08	15	31,77 ± 0,94	15		31,71 ± 0,94	36	
Schober (cm)	12,50 ± 1,38	6	13,13 ± 1,39	15	12,70 ± 1,36	15		12,85 ± 1,36	36	
APH (U/l)	196,83 ± 60,09	6	153,40 ± 44,62	15	164,00 ± 35,57	15		165,06 ± 45,28	36	
OHP (mg/24h)	26,82 ± 16,10	6	25,47 ± 15,35	15	20,03 ± 15,79	15		23,43 ± 15,48	36	

Tabelle 13: Mittelwerte und Standardabweichungen der FokI-Genotypen bei Frauen

FokI-Genotypen									
Frauen	FF		Ff		ff		Sig.	Gesamt	
	Mean ± SD	N	Mean ± SD	N	Mean ± SD	N	p	Mean ± SD	N
Osteocalcin (ng/ml)	3,25 ± 0,85	6	2,38 ± 0,63	6	3,61 ± 1,38	7	0,12	3,11 ± 1,11	19
Ostase (µg/l)	18,05 ± 2,07	6	17,70 ± 3,29	6	20,79 ± 9,56	7	0,62	18,95 ± 6,06	19
Crosslinks (nM Dpd/mM)	3,92 ± 1,07	6	8,35 ± 6,58	6	5,33 ± 2,22	7	0,17	5,84 ± 4,17	19
Größe (cm)	167,50 ± 3,39	6	171,83 ± 4,31	6	172,00 ± 3,32	7	0,08	170,53 ± 4,06	19
Gewicht (kg)	74,50 ± 5,54	6	70,50 ± 8,09	6	73,14 ± 6,12	7	0,58	72,74 ± 6,48	19
DEXA LWS (BMD/g/cm²)	0,79 ± 0,20	6	0,67 ± 0,15	6	0,79 ± 0,14	7	0,41	0,75 ± 0,16	19
LWS ap (T-Score)	0,07 ± 1,43	6	-0,32 ± 1,31	6	0,71 ± 0,96	7	0,34	0,18 ± 1,24	19
DEXA li. SH (BMD g/cm²)	0,67 ± 0,17	6	0,75 ± 0,15	6	0,72 ± 0,15	7	0,70	0,71 ± 0,15	19
li. SH (T-Score)	-0,35 ± 1,57	6	0,38 ± 1,28	6	0,14 ± 1,54	7	0,69	0,06 ± 1,42	19
CT-Kortikalis (mg/l)	318,78 ± 69,16	6	272,62 ± 50,57	6	280,89 ± 45,22	7	0,33	290,24 ± 55,94	19
CT-Spongiosa (T-Score)	-0,12 ± 2,01	6	-0,18 ± 1,12	6	-0,61 ± 1,42	7	0,82	-0,32 ± 1,48	19
CT-Spongiosa (mg/l)	144,98 ± 52,29	6	135,18 ± 31,89	6	129,07 ± 47,08	7	0,82	136,03 ± 42,74	19
BSG (mm/h)	12,50 ± 11,11	6	26,17 ± 16,77	6	11,14 ± 5,15	7	0,07	16,32 ± 13,00	19
CRP (mg/l)	8,88 ± 7,81	6	16,53 ± 11,31	6	8,26 ± 4,17	7	0,17	11,07 ± 8,54	19
med. CRP (mg/l)	12,63 ± 7,55	6	13,15 ± 6,10	6	11,94 ± 5,23	7	0,94	12,54 ± 5,96	19
BASDAI	4,83 ± 1,94	6	5,50 ± 1,22	6	4,71 ± 1,11	7	0,60	5,00 ± 1,41	19
Alter (Jahre)	39,83 ± 10,07	6	41,83 ± 8,01	6	36,71 ± 10,78	7		39,32 ± 9,46	19
Alter bei Diagnose (Jahre)	34,33 ± 10,50	6	35,83 ± 9,11	6	30,43 ± 7,83	7		33,37 ± 8,93	19
Symptome (Jahre)	24,17 ± 7,94	6	24,00 ± 8,56	6	15,86 ± 10,82	7		21,05 ± 9,67	19
Krankheitsdauer (Jahre)	20,33 ± 8,31	6	15,33 ± 8,89	6	10,86 ± 8,88	7		15,26 ± 9,14	19
DEXA-LWS % Altersnorm	101,33 ± 22,80	6	86,83 ± 11,53	6	104,00 ± 17,48	7		97,74 ± 18,50	19
DEXA li. SH % Altersnorm	93,50 ± 21,30	6	99,67 ± 20,40	6	97,86 ± 18,07	7		97,05 ± 18,90	19
Schmerzskala	55,00 ± 19,49	6	62,50 ± 15,41	6	54,29 ± 16,18	7		57,11 ± 16,53	19
Ott (cm)	31,92 ± 1,28	6	32,17 ± 0,41	6	31,21 ± 1,29	7		31,74 ± 1,11	19
Schober (cm)	13,67 ± 1,33	6	14,17 ± 0,52	6	13,86 ± 1,77	7		13,89 ± 1,29	19
APH (U/l)	117,50 ± 36,42	6	131,33 ± 31,21	6	128,14 ± 48,33	7		125,79 ± 38,12	19
OHP (mg/24h)	12,53 ± 8,87	6	16,18 ± 7,38	6	16,47 ± 15,02	7		15,14 ± 10,75	19

Tabelle 14: Mittelwerte und Standardabweichungen der FokI-Genotypen bei Männern

Männer	FokI-Genotypen								Gesamt	N
	FF	N	Ff	N	Ff	N	Sig. p	Mean ± SD		
Osteocalcin (ng/ml)	4,59 ± 2,07	8	4,12 ± 1,41	22	3,91 ± 1,86	8	0,70	4,18 ± 1,63	38	
Ostase (µg/l)	23,40 ± 5,57	8	24,36 ± 10,56	22	21,51 ± 6,59	8	0,75	23,56 ± 8,87	38	
Crosslinks (nM Dpd/mM)	5,55 ± 2,79	8	8,22 ± 7,39	22	7,11 ± 5,20	8	0,59	7,42 ± 6,22	38	
Größe (cm)	176,25 ± 2,92	8	176,73 ± 7,36	22	179,25 ± 4,86	8	0,56	177,16 ± 6,17	38	
Gewicht (kg)	73,13 ± 2,64	8	72,95 ± 7,81	22	76,88 ± 5,30	8	0,35	73,82 ± 6,62	38	
DEXA LWS (BMD/g/cm ²)	0,57 ± 0,27	8	0,81 ± 0,21	22	0,88 ± 0,21	8	0,02* ¹⁾	0,78 ± 0,24	38	
LWS ap (T-Score)	-1,45 ± 1,27	8	0,38 ± 1,43	22	0,63 ± 0,90	8	<0,01* ¹⁾	0,05 ± 1,50	38	
DEXA li. SH (BMD g/cm ²)	0,55 ± 0,19	8	0,77 ± 0,19	22	0,81 ± 0,17	8	0,01* ¹⁾	0,73 ± 0,20	38	
li. SH (T-Score)	-1,45 ± 1,27	8	0,02 ± 1,28	22	0,54 ± 1,17	8	0,01* ¹⁾	-0,18 ± 1,40	38	
CT-Kortikalis (mg/l)	230,88 ± 61,52	8	263,82 ± 68,93	22	255,88 ± 71,38	8	0,51	255,21 ± 67,45	38	
CT-Spongiosa (T-Score)	-2,13 ± 1,14	8	-0,57 ± 1,24	22	-0,83 ± 1,41	8	0,02* ¹⁾	-0,95 ± 1,37	38	
CT-Spongiosa (mg/l)	62,50 ± 45,81	8	116,65 ± 41,81	22	116,64 ± 47,72	8	0,01* ¹⁾	105,25 ± 48,17	38	
BSG (mm/h)	21,88 ± 20,88	8	12,73 ± 11,67	22	14,13 ± 8,32	8	0,27	14,95 ± 13,65	38	
CRP (mg/l)	29,33 ± 24,66	8	10,82 ± 7,76	22	9,33 ± 4,39	8	<0,01* ¹⁾	14,40 ± 14,64	38	
med. CRP (mg/l)	29,05 ± 12,30	8	11,45 ± 7,02	22	16,56 ± 6,22	8	<0,01* ¹⁾	16,23 ± 10,63	38	
BASDAI	6,13 ± 2,30	8	4,73 ± 2,21	22	4,88 ± 2,30	8	0,32	5,05 ± 2,25	38	
Alter (Jahre)	49,88 ± 12,51	8	44,32 ± 15,13	22	39,50 ± 13,24	8		44,47 ± 14,30	38	
Alter bei Diagnose (Jahre)	32,75 ± 12,51	8	33,91 ± 15,26	22	30,00 ± 8,80	8		32,84 ± 13,38	38	
Symptome (Jahre)	27,25 ± 12,19	8	23,09 ± 13,34	22	17,88 ± 12,54	8		22,87 ± 12,98	38	
Krankheitsdauer (Jahre)	23,25 ± 13,48	8	19,86 ± 12,92	22	14,50 ± 12,77	8		19,45 ± 12,98	38	
DEXA-LWS % Altersnorm	79,50 ± 14,88	8	97,59 ± 16,88	22	101,50 ± 16,65	8		94,61 ± 17,92	38	
DEXA li. SH % Altersnorm	78,38 ± 16,30	8	96,14 ± 16,77	22	100,50 ± 17,51	8		93,32 ± 18,22	38	
Schmerzskala	65,00 ± 27,26	8	52,27 ± 24,09	22	61,25 ± 21,67	8		56,84 ± 24,28	38	
Ott (cm)	31,38 ± 1,03	8	31,73 ± 0,90	22	31,75 ± 1,10	8		31,66 ± 0,95	38	
Schober (cm)	11,75 ± 1,39	8	13,18 ± 1,02	22	12,69 ± 1,75	8		12,78 ± 1,36	38	
APH (U/l)	188,63 ± 55,27	8	163,45 ± 42,04	22	157,00 ± 42,17	8		167,39 ± 45,25	38	
OHP (mg/24h)	30,00 ± 15,56	8	21,74 ± 17,19	22	27,01 ± 12,51	8		24,59 ± 15,99	38	

¹⁾ Signifikant unterschiedlich: Gruppe FF zu den Gruppen Ff und ff

Tabelle 15: Mittelwerte und Standardabweichungen der TaqI-Genotypen bei Frauen

Frauen	TaqI-Genotypen									
	TT		Tt		Tt		Sig.	Gesamt		
	Mean ± SD	N	Mean ± SD	N	Mean ± SD	N	p	Mean ± SD	N	
Osteocalcin (ng/ml)	3,36 ± 1,30	10	2,88 ± 1,04	6	2,73 ± 0,15	3	0,60	3,11 ±	1,11 19	
Ostase (µg/l)	17,41 ± 3,44	10	22,38 ± 8,42	6	17,20 ± 6,95	3	0,26	18,95 ±	6,06 19	
Crosslinks (nM Dpd/mM)	6,21 ± 5,35	10	5,97 ± 2,84	6	4,33 ± 1,88	3	0,81	5,84 ±	4,17 19	
Größe (cm)	172,40 ± 3,41	10	167,17 ± 3,19	6	171,00 ± 4,36	3	0,03* ¹⁾	170,53 ±	4,06 19	
Gewicht (kg)	71,00 ± 7,59	10	75,00 ± 5,83	6	74,00 ± 1,00	3	0,48	72,74 ±	6,48 19	
DEXA LWS (BMD/g/cm ²)	0,77 ± 0,14	10	0,78 ± 0,21	6	0,63 ± 0,13	3	0,42	0,75 ±	0,16 19	
LWS ap (T-Score)	0,41 ± 1,15	10	0,18 ± 1,35	6	-0,57 ± 1,54	3	0,52	0,18 ±	1,24 19	
DEXA li. SH (BMD g/cm ²)	0,73 ± 0,14	10	0,70 ± 0,21	6	0,69 ± 0,11	3	0,87	0,71 ±	0,15 19	
li. SH (T-Score)	0,12 ± 1,42	10	-0,03 ± 1,74	6	0,07 ± 1,23	3	0,98	0,06 ±	1,42 19	
CT-Kortikalis (mg/l)	290,90 ± 47,95	10	295,82 ± 73,34	6	276,90 ± 63,36	3	0,90	290,24 ±	55,94 19	
CT-Spongiosa (T-Score)	0,03 ± 1,34	10	-0,93 ± 1,89	6	-0,27 ± 1,03	3	0,48	-0,32 ±	1,48 19	
CT-Spongiosa (mg/l)	145,44 ± 39,49	10	123,62 ± 54,97	6	129,47 ± 29,95	3	0,62	136,03 ±	42,74 19	
BSG (mm/h)	18,20 ± 14,76	10	13,00 ± 11,28	6	16,67 ± 13,05	3	0,76	16,32 ±	13,00 19	
CRP (mg/l)	10,85 ± 9,44	10	9,82 ± 7,74	6	14,30 ± 9,20	3	0,78	11,07 ±	8,54 19	
med. CRP (mg/l)	10,53 ± 5,55	10	14,80 ± 7,29	6	14,73 ± 2,42	3	0,32	12,54 ±	5,96 19	
BASDAI	4,70 ± 1,25	10	5,17 ± 1,72	6	5,67 ± 1,53	3	0,58	5,00 ±	1,41 19	
Alter (Jahre)	37,70 ± 10,80	10	39,50 ± 9,38	6	44,33 ± 3,21	3		39,32 ±	9,46 19	
Alter bei Diagnose (Jahre)	33,40 ± 10,46	10	30,67 ± 5,68	6	38,67 ± 9,02	3		33,37 ±	8,93 19	
Symptome (Jahre)	18,20 ± 9,68	10	25,33 ± 8,80	6	22,00 ± 11,36	3		21,05 ±	9,67 19	
Krankheitsdauer (Jahre)	12,80 ± 7,38	10	21,83 ± 9,81	6	10,33 ± 8,39	3		15,26 ±	9,14 19	
DEXA-LWS % Altersnorm	101,70 ± 19,12	10	96,17 ± 19,46	6	87,67 ± 15,89	3		97,74 ±	18,50 19	
DEXA li. SH % Altersnorm	101,50 ± 19,24	10	94,00 ± 21,92	6	88,33 ± 10,41	3		97,05 ±	18,90 19	
Schmerzskala	59,50 ± 17,71	10	50,00 ± 15,17	6	63,33 ± 15,28	3		57,11 ±	16,53 19	
Ott (cm)	32,15 ± 0,94	10	31,50 ± 1,22	6	30,83 ± 1,04	3		31,74 ±	1,11 19	
Schober (cm)	14,00 ± 0,85	10	13,33 ± 1,94	6	14,67 ± 0,58	3		13,89 ±	1,29 19	
APH (U/l)	124,10 ± 36,25	10	125,17 ± 42,57	6	132,67 ± 50,46	3		125,79 ±	38,12 19	
OHP (mg/24h)	11,61 ± 6,27	10	19,92 ± 16,64	6	17,33 ± 5,69	3		15,14 ±	10,75 19	

¹⁾ Signifikant unterschiedlich: Gruppe TT zu der Gruppen Tt

Tabelle 16: Mittelwerte und Standardabweichungen der TaqI-Genotypen bei Männern

Männer	TaqI-Genotypen						Sig. p	Gesamt	
	TT	N	Tt	N	Tt	N		Mean ± SD	N
Osteocalcin (ng/ml)	4,24 ± 1,40	16	4,21 ± 2,02	17	3,86 ± 0,78	5	0,90	4,18 ± 1,63	38
Ostase (µg/l)	25,74 ± 8,32	16	22,85 ± 8,60	17	18,97 ± 11,19	5	0,31	23,56 ± 8,87	38
Crosslinks (nM Dpd/mM)	5,61 ± 2,17	16	8,66 ± 7,74	17	9,04 ± 8,83	5	0,31	7,42 ± 6,22	38
Größe (cm)	177,13 ± 6,06	16	178,00 ± 6,82	17	174,40 ± 3,91	5	0,53	177,16 ± 6,17	38
Gewicht (kg)	73,19 ± 4,87	16	74,76 ± 8,36	17	72,60 ± 5,41	5	0,73	73,82 ± 6,62	38
DEXA LWS (BMD/g/cm ²)	0,69 ± 0,25	16	0,85 ± 0,24	17	0,80 ± 0,18	5	0,16	0,78 ± 0,24	38
LWS ap (T-Score)	-0,38 ± 1,57	16	0,31 ± 1,39	17	0,52 ± 1,60	5	0,33	0,05 ± 1,50	38
DEXA li. SH (BMD g/cm ²)	0,65 ± 0,17	16	0,82 ± 0,22	17	0,69 ± 0,15	5	0,05* ¹⁾	0,73 ± 0,20	38
li. SH (T-Score)	-0,78 ± 1,32	16	0,34 ± 1,36	17	-0,06 ± 1,29	5	0,07	-0,18 ± 1,40	38
CT-Kortikalis (mg/l)	237,93 ± 67,46	16	274,66 ± 72,90	17	244,40 ± 28,40	5	0,28	255,21 ± 67,45	38
CT-Spongiosa (T-Score)	-1,56 ± 1,29	16	-0,55 ± 1,42	17	-0,40 ± 0,76	5	0,06	-0,95 ± 1,37	38
CT-Spongiosa (mg/l)	81,97 ± 51,33	16	120,64 ± 40,31	17	127,44 ± 35,96	5	0,03* ¹⁾	105,25 ± 48,17	38
BSG (mm/h)	17,88 ± 15,91	16	12,06 ± 12,12	17	15,40 ± 10,81	5	0,48	14,95 ± 13,65	38
CRP (mg/l)	20,06 ± 18,59	16	9,06 ± 7,68	17	14,42 ± 14,18	5	0,10	14,40 ± 14,64	38
med. CRP (mg/l)	18,65 ± 12,67	16	13,88 ± 8,48	17	16,50 ± 10,41	5	0,45	16,23 ± 10,63	38
BASDAI	5,75 ± 2,18	16	4,41 ± 2,35	17	5,00 ± 1,87	5	0,24	5,05 ± 2,25	38
Alter (Jahre)	48,13 ± 15,55	16	42,59 ± 13,64	17	39,20 ± 11,69	5		44,47 ± 14,30	38
Alter bei Diagnose (Jahre)	37,50 ± 16,82	16	29,53 ± 9,41	17	29,20 ± 9,47	5		32,84 ± 13,38	38
Symptome (Jahre)	26,81 ± 14,50	16	20,59 ± 10,71	17	18,00 ± 14,05	5		22,87 ± 12,98	38
Krankheitsdauer (Jahre)	23,19 ± 14,85	16	17,35 ± 10,68	17	14,60 ± 13,13	5		19,45 ± 12,98	38
DEXA-LWS % Altersnorm	87,50 ± 16,26	16	98,88 ± 18,01	17	102,80 ± 17,75	5		94,61 ± 17,92	38
DEXA li. SH % Altersnorm	87,50 ± 18,36	16	100,00 ± 18,27	17	89,20 ± 11,23	5		93,32 ± 18,22	38
Schmerzskala	60,63 ± 23,80	16	53,53 ± 26,44	17	56,00 ± 20,74	5		56,84 ± 24,28	38
Ott (cm)	31,81 ± 1,11	16	31,35 ± 0,75	17	32,20 ± 0,84	5		31,66 ± 0,95	38
Schober (cm)	12,38 ± 1,35	16	12,88 ± 1,45	17	13,70 ± 0,45	5		12,78 ± 1,36	38
APH (U/l)	176,69 ± 47,36	16	156,24 ± 42,78	17	175,60 ± 47,44	5		167,39 ± 45,25	38
OHP (mg/24h)	27,85 ± 16,74	16	23,39 ± 16,14	17	18,22 ± 13,10	5		24,59 ± 15,99	38

¹⁾ Keine signifikanten Unterschiede zwischen einzelnen Gruppen im Anschlussstest

Abbildung 5: DEXA LWS bei männlichen AS-Patienten in Abhängigkeit von FokI-Genotypen. Auswertung ANOVA mit multiplem Anschlussstest

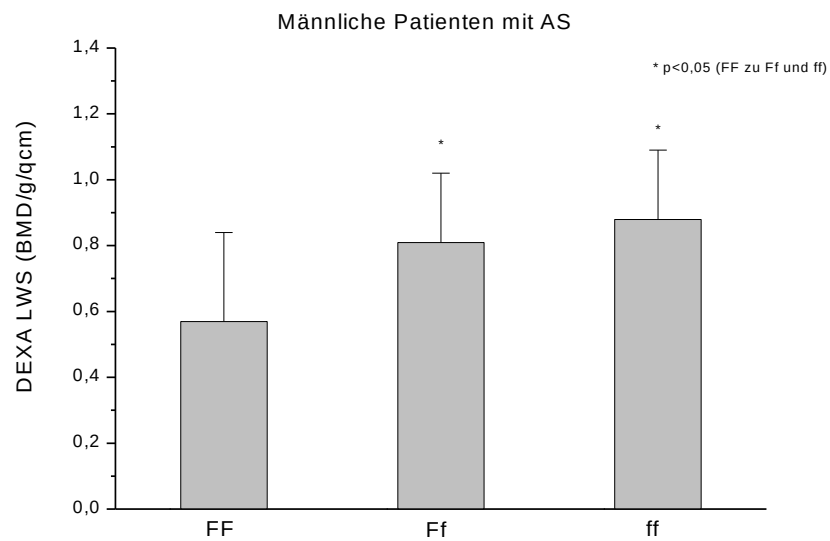


Abbildung 6: LWS ap (T-Score) bei männlichen AS-Patienten in Abhängigkeit von FokI-Genotypen. Auswertung: ANOVA mit multiplem Anschlussstest

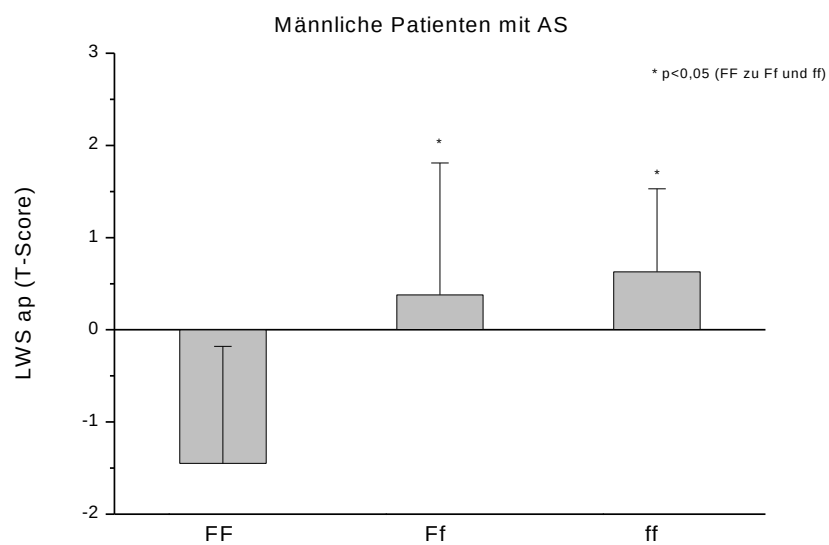


Abbildung 7: DEXA li. Schenkelhals (BMD g/cm²) bei männlichen Patienten mit AS, abhängig von FokI-Genotypen. Auswertung: ANOVA mit multiplem Anschlussstest

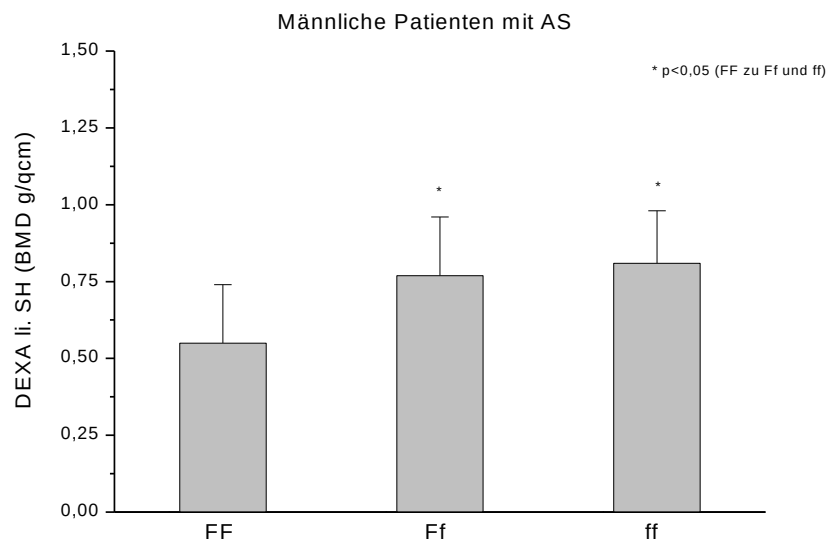


Abbildung 8: Li. Schenkelhals (T-Score) bei männlichen Patienten mit AS, abhängig von FokI-Genotypen. Auswertung: ANOVA mit multiplem Anschlussstest

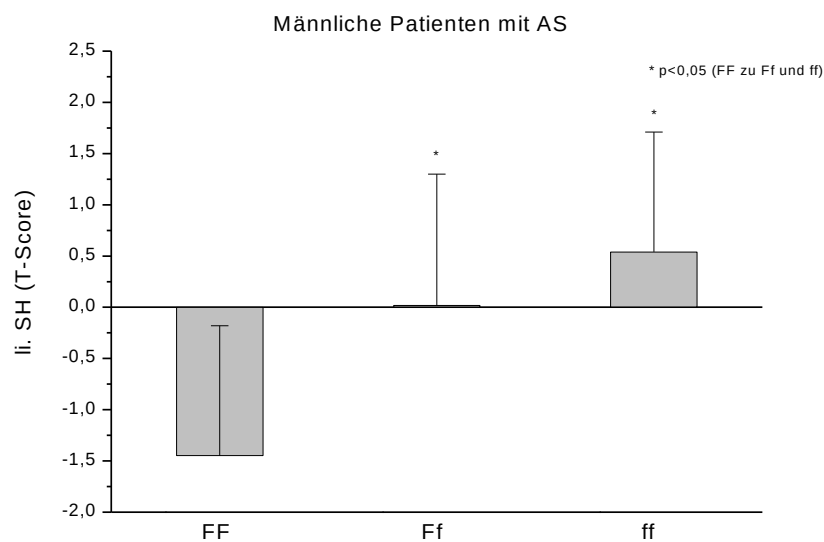


Abbildung 9: Li. Schenkelhals (T-Score) bei männlichen Patienten mit AS, abhängig von FokI-Genotypen. Auswertung: ANOVA mit multiplem Anschlussstest

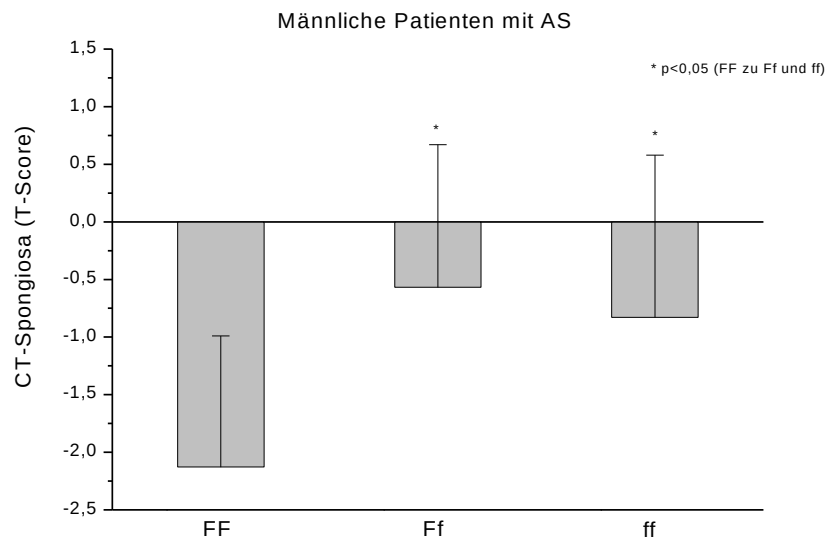


Abbildung 10: CT-Spongiosa (mg/l) bei männlichen Patienten mit AS, abhängig von FokI-Genotypen. Auswertung: ANOVA mit multiplem Anschlussstest

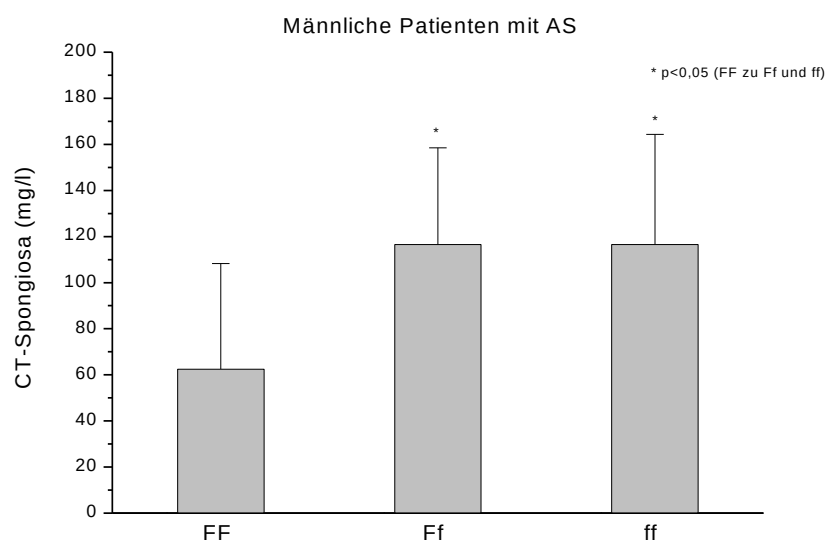


Abbildung 11: CRP (mg/l) bei männlichen Patienten mit AS, abhängig von FokI-Genotypen. Auswertung: ANOVA mit multiplem Anschlussstest

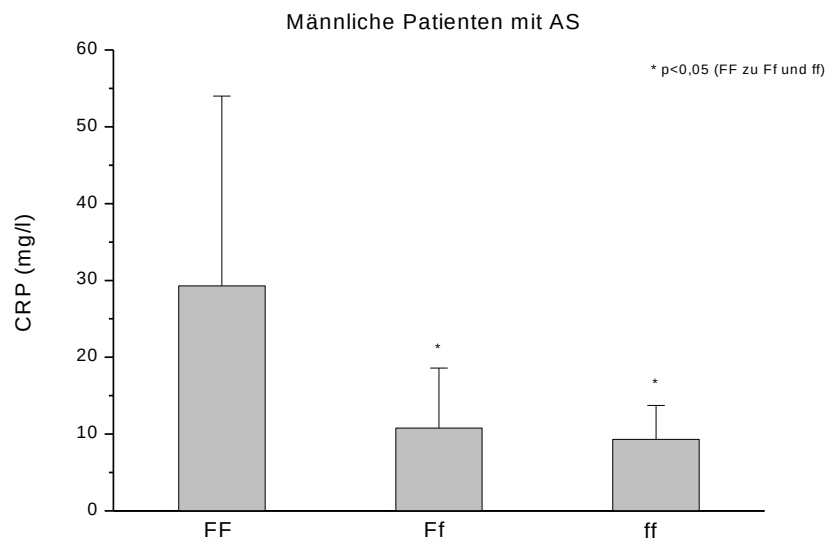


Abbildung 12: Medianes CRP (mg/l) bei männlichen Patienten mit AS, abhängig von FokI-Genotypen. Auswertung: ANOVA mit multiplem Anschlussstest

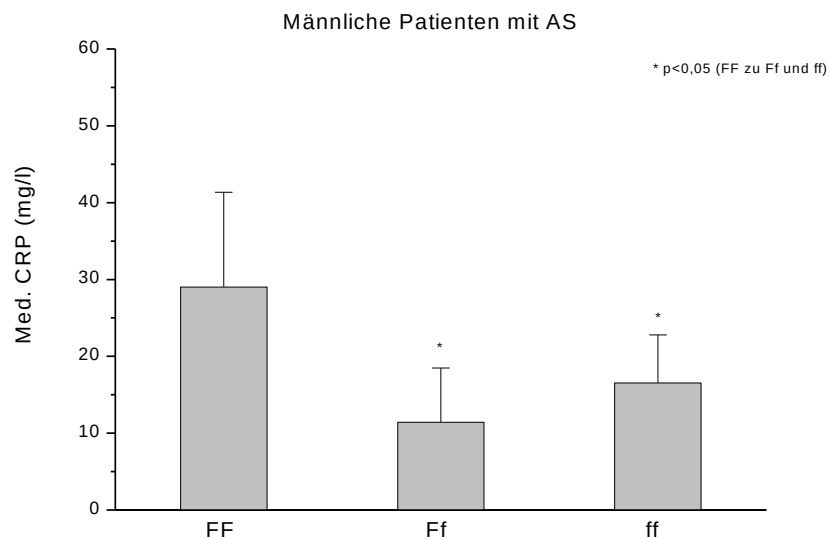


Abbildung 13: DEXA li. Schenkelhals (BMD g/cm²) bei männlichen Patienten mit AS, abhängig von Taq-I-Genotypen. Auswertung: ANOVA mit multiplen Anschlussstest

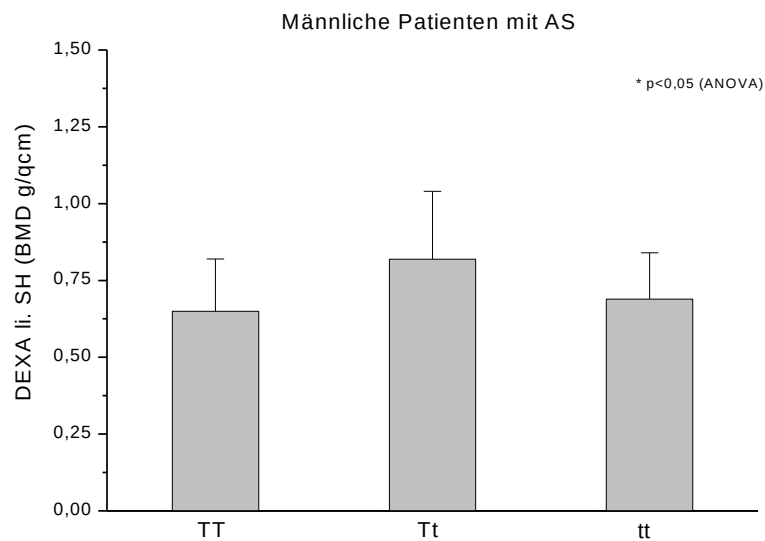
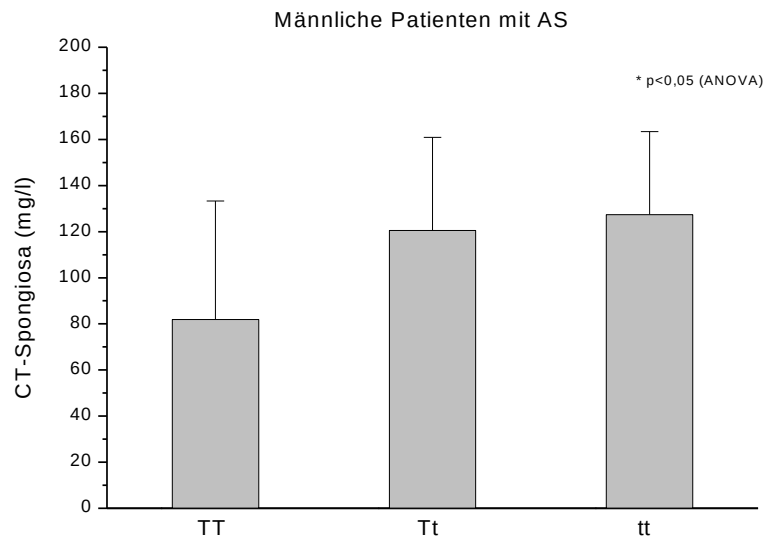


Abbildung 14: CT-Spongiosa (mg/l) bei männlichen Patienten mit AS, abhängig von Taq-I-Genotypen. Auswertung: ANOVA mit multiplen Anschlussstest



5 Diskussion

5.1 Diskussion der Methodik

5.1.1 Probenaufbereitung

Es gibt vielfältige Möglichkeiten, DNA für eine PCR zu gewinnen. In der vorliegenden Arbeit wurde die DNA aus Blut extrahiert. Nach erfolgter Blutentnahme wird die Koagulation des Blutes durch EDTA-Zusatz in die Blutröhrchen verhindert. Heparin ist zur Antikoagulation nicht geeignet, da es zu einer Hemmung der DNA-Amplifizierung kommt. Ebenso hemmen Porphyrinverbindungen die PCR deutlich, weshalb sie durch Lysieren der Erythrozyten und anschließende Abzentrifugation der Leukozyten aus dem Probenansatz entfernt werden.

Während der DNA-Extraktion können Substanzen, die zur Zelllyse und zur Denaturierung verwendet werden, die PCR konzentrationsabhängig inhibieren. Im Allgemeinen hemmen nichtionische Detergentien die PCR bis zu einer Konzentration von 5% nicht, ionische Detergentien werden von der PCR allerdings nur in sehr geringer Konzentration toleriert. Daher müssen notwendige ionische Detergentien mittels Phenolextraktion und folgender Ethanol-fällung aus dem Probenansatz entfernt werden.

Zur Extraktion der DNA mittels Detergentien ist in aller Regel die Zugabe von Proteinase K notwendig. Dieses Enzym baut denaturierte Proteine ab. Eine Entfernung oder Inaktivierung der Proteinase K aus dem Probenansatz vor anschließender PCR ist notwendig, da es die DNA-Polymerase beeinflusst. Dies erfolgt durch Denaturierung der Proteinase K bei 95°C, eine anschließende Phenolextraktion zerstört die Proteinase K ebenfalls. Eine anschließende Zentrifugation trennt die in der organischen Phenolphase verbleibende Proteinase K von der DNA in der wässrigen Phase. Restliche Phenolspuren werden durch Ethanol-fällung eliminiert (Newton et al., 1994). Die Bestimmung knochenspezifischer alkalischer Phosphatase muss aus Serum erfolgen. EDTA-, Heparin- und Zitratplasma sind hierfür nicht geeignet, dies gilt auch für hämolytische Proben (Parfitt et al., 1987, Winterbottom et al., 1992). Osteocalcin sollte aus Serumproben bestimmt werden, eine Bestimmung aus EDTA-Plasma ist jedoch möglich.

Die Probengewinnung für die Bestimmung der Knochenstoffwechselfparameter umfasste jeweils das Abzentrifugieren der zellulären Blutbestandteile und die Lagerung der Proben bei -20°C. Die Urinproben zur Bestimmung der DPD-Crosslinks wurden ebenfalls abzentrifugiert und bei -20°C gelagert.

5.1.2 Auswahl der Messparameter

Da die Produktion des Osteocalcins sowie die Kollagensynthese durch Calcitriol über den VDR reguliert werden, ist die Struktur des VDR-Gens möglicherweise an den genetischen Einflüssen auf die Knochendichte beteiligt. Auf dieser Hypothese basieren zahlreiche Untersuchungen bezüglich des Zusammenhangs zwischen VDR-Gen-Polymorphismen und Knochendichte (Kelly et al., 1995). Bei den Messparametern des Knochenstoffwechsels handelt es sich um Parameter des Knochenanbaus (BAP, OC) und des Knochenabbaus (DPD). Die knochenspezifische alkalische Phosphatase (BAP) ist ein Isoenzym der gesamten alkalischen Phosphatase. Osteocalcin (OC) wird ausschließlich von Osteoblasten und Odontoblasten während des Knochenanbaus gebildet und primär in die Knochenmatrix eingebaut, jedoch gelangt auch ein Teil des gebildeten OC in das periphere Blut und kann dort quantitativ erfasst werden (Garnero et al., 1994, Masters et al., 1994, Deftos, 1991, Epstein, 1988). Deoxypyridinolin (DPD) entsteht auf enzymatischem Weg bei resorptiven Vorgängen am Knochen, gelangt in die Zirkulation und wird unverändert renal ausgeschieden. Die Ausscheidung von DPD wird durch Ernährungsgewohnheiten nicht beeinflusst (Delmas, 1992, Withold et al., 1995). Die Bestimmung unterschiedlicher Parameter des Knochenstoffwechsels soll dabei helfen, auch minimale Veränderungen des Knochenmetabolismus bei Patienten mit ankylosierender Spondylitis zu erfassen. Ebenso wird versucht mit Hilfe der Knochenstoffwechselparameter die klinische Relevanz der VDR-Gen-Polymorphismen herauszustellen.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

Die letzten Jahrzehnte der Forschung hinsichtlich der ankylosierenden Spondylitis wurden hauptsächlich der Pathogenese der Knochenneubildung sowie der sekundären Verknöcherung des Bandapparates gewidmet. 1990 wurde erstmals über die vertebrale Osteoporose und daraus resultierende Kompressionsfrakturen als eine häufige Komplikation der ankylosierenden Spondylitis berichtet (Ralston et al., 1990). Ursächlich stehen neben einer medikamentösen Therapie mit Glukokortikoiden die vermehrte Immobilisation, Ernährungsfaktoren, Bewegung sowie Freisetzung von Zytokinen im Vordergrund. Der Einfluss genetischer Faktoren ist sicherlich nicht zu unterschätzen.

Vitamin-D besitzt eine zentrale Rolle im Knochenstoffwechsel (Gallagher et al., 1990). In der Vergangenheit wurden mehrfach mögliche immunsuppressive Wirkungen des Vitamin-D bei entzündlich rheumatischen Erkrankungen diskutiert: Der Einfluss von Vitamin-D und dessen Rezeptor in chronisch entzündliche Prozesse konnte sowohl in in-vitro-Untersuchungen (Spittler et al., 1997, D'Ambrosio et al., 1998, Larsson et al., 1998) als auch bei unterschiedlichen Autoimmunerkrankungen wie Morbus Crohn, Diabetes mellitus Typ I und der Autoimmunhepatitis nachgewiesen werden (Vogel et al., 2002, Simmons et al., 2000, Ban et al., 2001). Klinische Studien konnten einen immunmodulatorischen Einfluss des Vitamin-D bei Patienten mit ankylosierender Spondylitis aufzeigen (Lange et al., 2001, Lange, 2000), eine Suppression aktiver T-Zellen sowie eine Suppression der T-Zell-Proliferation konnte aufgezeigt werden (Amento, 1987).

Bei Patienten mit ankylosierender Spondylitis konnte bereits eine negative Korrelation der Erkrankungsaktivität mit Serumspiegeln von Vitamin-D und Parathormon nachgewiesen werden, bei erhöhter Krankheitsaktivität zeigten sich zudem vermehrte Knochenresorptionsmarker als Zeichen einer knochenkatabolen Situation (Lange et al., 2001). Ein Beitrag eines verminderten Vitamin-D-Serumspiegels zu einer Erhöhung der Krankheitsaktivität bei ankylosierender Spondylitis ist demnach denkbar, bei der rheumatoiden Arthritis wurde dies bereits 1998 beschrieben (Oelzner et al., 1998). Bei ankylosierender Spondylitis konnten erhöhte Serum-Spiegel des Zytokins TNF-alpha als Entzündungsmediator nachgewiesen werden (Lange et al., 2000), die Therapie mit anti-TNF-Alpha bei ankylosierender Spondylitis ist mittlerweile aufgrund des guten Ansprechens klinischer Symptome (Baeten et al., 2001, Braun et al., 2003) etabliert. TNF-alpha fördert sowohl die Osteoklastogenese als auch die Apoptose von Osteoblasten und besitzt somit Einfluss sowohl auf die Knochenresorption als auch auf die Knochenneubildung (Quinn et al., 2001). TNF-alpha ist in der Lage die Bindung von Vitamin-D an das Vitamin-D bindende Element des Osteocalcin-Gens zu hemmen (Fernandez-Martin et al., 1998, Kuno et al. 1994), weiterhin wird eine Verminderung der 24-Hydroxylase-Aktivität in den Nieren angenommen (Schacht, 2000). Hemmende Einflüsse von Vitamin-D sowohl bezüglich der Expression von TNF-alpha Messenger-RNA (mRNA) als auch auf die TNF-alpha Proteinsynthese in vitro wurden nachgewiesen (Shany et al., 2001).

Somit erscheint ein Einfluss von Vitamin-D und seines Rezeptors auf die Regulation der Entzündungskaskade und des Knochenstoffwechsels bei entzündlich rheumatischen Erkrankungen wie der ankylosierenden Spondylitis denkbar, insbesondere aufgrund der Tatsache, dass verschiedene FokI-Genotypen in der Translation des VDR unterschiedlich

lange mRNA-Stränge bewirken und somit einen geänderten VDR in allen Körperzellen exprimieren.

Balzer et al. konnten 1999 zeigen dass eine Assoziation der Knochendichte am Achsenskelett mit Polymorphismen der VDR-Allele mit Einfluss auf den Knochenstoffwechsel und die Frakturrate besteht (Baltzer et al., 1999). Hinweise auf Zusammenhänge der Knochendichte und der Akut-Phase-Proteine mit dem Translations-Initiations-Polymorphismus des Vitamin-D-Rezeptors, dem sog. FokI-Polymorphismus, konnte die Arbeitsgruppe um Obermayer-Pietsch et al. 1999 aufzeigen (Obermayer-Pietsch et al., 1999). Weitere Untersuchungen zum FokI-Polymorphismus deuten auf eine mögliche Assoziation einer verminderten Knochendichte und einer genetischen Prädisposition bei bestimmten Genotypen hin (Gross et al., 1996, Harris et al., 1997).

In der vorliegenden Arbeit konnten bei an ankylosierender Spondylitis Erkrankten ebenfalls signifikante Assoziationen der Knochendichte mit dem FokI-Polymorphismus aufgezeigt werden. Männliche Patienten mit dem Genotyp FF zeigten hierbei im Vergleich zu männlichen AS-Patienten mit dem Genotyp Ff oder ff eine signifikant niedrigere Knochendichte sowohl an der Wirbelsäule, hier mittels DEXA und QCT-Messung ermittelt, als auch am linken Schenkelhals am Ward'schen Dreieck, hier durch die DEXA-Messung bestimmt. Hierbei muss betont werden dass insbesondere die Messung einer erniedrigten Knochendichte im Bereich der LWS mit der QCT-Messung falsch-hohe Knochendichtewerte aufgrund von Überlagerungseffekten, wie sie bei der DEXA-Messung beobachtet werden, ausschließt.

Weiterhin konnte eine signifikante Erhöhung der systemischen Entzündungsaktivität bei männlichen AS-Patienten mit Nachweis des FokI-Genotyp FF im Vergleich zu den Genotypen Ff und ff hergestellt werden. Es kann daher ein direkter Zusammenhang zwischen dem Vitamin-D-System und Entzündungsprozessen am Knochen angenommen werden, eine Vermittlung könnte über TNF-alpha oder andere Zytokine erfolgen. Die Expression des Vitamin-D-Rezeptors könnte bei unterschiedlichen FokI-Genotypen verändert sein. Im Normalkollektiv könnte dieser Einfluss minimal sein, bei Patienten mit ankylosierender Spondylitis jedoch könnte eine Vitamin-D-Interaktion mit Zytokinen die Ausbildung einer Osteoporose fördern. Dies könnte als Erklärung dafür dienen, warum im hier vorliegenden Kollektiv die niedrigste Knochendichte bei Patienten mit FF-Genotyp gefunden wurde, während dieser Zusammenhang in vorhergehenden Untersuchungen bei Patienten mit primärer Osteoporose sowie bei Untersuchungen an jungen Gesunden nicht gefunden wurde (Gross et al., 1996, Rizzoli et al., 2001, Ferrari et al., 1998).

Die Befunde weisen auf eine Geschlechtsabhängigkeit hin: Bei an ankylosierender Spondylitis erkrankten Patientinnen zeigte sich nämlich keine signifikante Assoziation der Knochendichte mit den bestimmten VDR-Polymorphismen. Dies könnte im Rahmen der geringen Fallzahl zu werten sein, weitere Untersuchungen an einem größeren Kollektiv erscheinen daher sinnvoll. Keine Signifikanzen zeigten sich sowohl bei männlichen als auch bei weiblichen AS-Erkrankten bezüglich der Analyse der Patienten hinsichtlich der Bestimmung der BsmI- und Taq-Polymorphismen.

5.3 Ausblick

Die Zusammenhänge zwischen Mutationen des VDR und der Knochendichte und damit das Osteoporoserisiko erscheinen unter Berücksichtigung der Publikationen der letzten Jahre komplexer als ursprünglich vermutet: Neben Mechanismen der ossären Mineralisation ist auch eine intakte Synthese der organischen Grundsubstanz für die Knochenstabilität von großer Bedeutung. 90% des Knochenbindegewebes stellt das Kollagen-I dar. Bei der Osteogenesis imperfecta ist eine Vielzahl exonischer Mutationen des Collagen I-alpha-1-Gens beschrieben (Zhuang et al., 1996), was mit Strukturdefekten von Strukturproteinen und erhöhter Frakturnrate einhergeht (Cohn et al., 1986). Eine 1998 publizierte Studie über die Ausprägung von Vitamin-D-Rezeptor-Gen-Polymorphismen und Collagen I-alpha-1-Gen-Polymorphismen bei Männern und Frauen mit Osteoporose belegt teilweise die Vermutung, dass mehrere Polymorphismen die Knochendichte synergistisch beeinflussen (Cordes et al., 1998).

Insgesamt zeigt sich in der vorliegenden Arbeit bei männlichen Patienten mit ankylosierender Spondylitis der FokI-Polymorphismus als interessanter genetischer Marker der Knochendichte als auch der Entzündungsaktivität der Erkrankung. Die pathophysiologischen Mechanismen hierfür sind derzeit noch unklar. Eine frühzeitige Erfassung eines erhöhten Osteoporoserisikos bei Patienten mit ankylosierender Spondylitis mittels molekularanalytischer Bestimmungsmethoden könnte eine gezielte frühzeitige Prophylaxe und Therapie ermöglichen. Derzeit stellt eine routinemäßige Bestimmung von Genmutationen des Vitamin-D-Rezeptors in der täglichen Praxis noch keine realistische Option dar. Inwieweit ein dauerhafter Einsatz von Vitamin-D bei AS-Patienten sich als Vorteil oder als Nachteil erweist muss durch weitere Studien geklärt werden.

6 Zusammenfassung

Die Osteoporose ist eine systemische Skeletterkrankung mit erhöhtem Risiko für Knochenfrakturen und diesbezüglich erhöhter Morbidität und Mortalität aufgrund einer Verminderung der Knochenmasse, einer veränderten Knochenarchitektur sowie insgesamt einer verminderten Knochenfunktion. Eine erbliche Komponente der Knochendichte konnte in Zwillings- und Familienstudien belegt werden. Eine Reihe von Publikationen widmet sich dem molekulargenetischen Hintergrund der Knochendichte. Assoziationen der Knochendichte mit Vitamin-D-Rezeptor-Gen-Polymorphismen mit unterschiedlichen, teils widersprüchlichen Ergebnissen wurden in der Vergangenheit beschrieben.

Die sekundäre Osteoporose mit konsekutiven Frakturen stellt eine häufige Komplikation der ankylosierenden Spondylitis dar. In der vorliegenden molekulargenetischen Arbeit wurden die Beziehungen zwischen Vitamin-D-Rezeptor-Gen-Polymorphismen, Knochenstoffwechsel, Knochendichte und Aktivitätsindizes der ankylosierenden Spondylitis untersucht. Hierbei zeigte sich bei männlichen Patienten eine signifikante Assoziation der Knochendichte an der Wirbelsäule und dem linken Schenkelhals als auch der Entzündungsaktivität mit dem Translations-Initiations-Polymorphismus FokI (Genotyp FF). Keine Signifikanzen konnten für BsmI- und TaqI-Genotypen aufgezeigt werden. Bei an ankylosierender Spondylitis erkrankten Frauen konnten keinerlei diesbezügliche Signifikanzen aufgezeigt werden.

Die pathophysiologischen Mechanismen der vorgestellten Assoziation sind unklar. Dennoch lässt sich aus den vorliegenden Daten ein Einfluss einer FF-Allelkombination im Bereich des Vitamin-D-Rezeptors auf die Knochendichte und möglicherweise auf die Frakturnrate bei männlichen Patienten mit ankylosierender Spondylitis annehmen. Eine Analyse der Allele des Vitamin-D-Rezeptors könnte eine frühzeitige Erfassung eines Osteoporoserisikos bei männlichen AS-Patienten darstellen. Eine diesbezüglich frühzeitige Erfassung des Osteoporoserisikos könnte eine individuelle Risikoeinschätzung jedes Patienten mit frühzeitiger Einleitung einer osteoprotektiven Medikation und damit einer Verzögerung, bestenfalls einer Vermeidung osteoporotischer Frakturen zur Folge haben. Derzeit stellt eine routinemäßige Bestimmung von Genmutationen des Vitamin-D-Rezeptors in der täglichen Praxis allerdings noch keine realistische Option dar.

Summary

Osteoporosis is a systemic skeletal disease with high risk of bone fractures and is associated with high morbidity and mortality due to low bone mass. Changing in bone architecture which results in reduced bone function are common findings. Hereditary findings have been described before. Several candidate genes have been discussed as being involved in the pathogenesis of osteoporosis. A number of different loci within the vitamin D receptor gene (VDR) have been shown to be significantly associated with bone mineral density and calcium absorption in several reports, but results have been controversially discussed in different populations.

Secondary osteoporosis with bone fractures is a well known complication of patients with ankylosing spondylitis (AS). In this study the relationship was investigated between vitamin D receptor gene polymorphism and bone metabolism, bone mineral density (BMD) and disease activity in patients with AS. In male patients the FokI-genotype FF was significantly associated with spinal and with femoral bone mineral density. The inflammation marker CRP was also significantly associated with the FF-genotype. The genotype BsmI and TaqI showed no association in male patients. Female patients with ankylosing spondylitis showed no significant association with either FokI, BsmI or TaqI-genotypes of the VDR.

The pathophysiologics of the presented association is still unclear. The findings propose a close association of BMD and inflammatory activity with VDR FokI genotypes in and possibly association of fracture rates in male AS patients.

7 Literaturverzeichnis

AGLAS F, HERMANN J, KLEIN G, KULLICH W, LEB G, LIPP R, OBERMAYER-PIETSCH B (2004)

Osteoporose bei Spondylitis ankylosans – Einfluss von Lebensgewohnheiten
Journal für Mineralstoffwechsel 11(1):7-11

ALBRIGHT F, SMITH PH, RICHARDSON AM (1941)

Post-menopausal osteoporosis –1st clinical features
J Am Med Assoc (JAMA) 116: 2465-2474

AMENTO EP (1987)

Vitamin D and the immune system
Steroids 49:55-72

AMOR B, SANTOS RS, NAHAL R, LISTRAT V, DOUGADOS M (1994)

Predictive factors for the longterm outcome of spondyloarthropathies
J Rheumatol 21(10):1883-7

AMOR B, DOUGADOS M, KHAN MA (1995)

Management of refractory ankylosing spondylitis and related spondylarthropathies
Rheum Dis Clin North Am 21:117-128

ARAI H, MIYAMOTO K, TAKETANI Y, YAMAMOTO H, IEMORI Y, MORITA K, TONAI T, NISHISHO T, MORI 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 12:915-21

AUBIN JE, HEERSCHE JNM (1997)

Vitamin D and osteoblasts.
In „Vitamin D“, Academic Press, San Diego pp.313-328

BAETEN D, KRUIHOF E, VAN DEN BOSCH F, DEMETTER P, VAN DAMME N, CUVELIER C, DE VOS M, MIELANTS H, VEYS EM, DE KEYSER F (2001)

Immunomodulatory effects if anti-tumor necrosis factor alpha therapy on synovium in spondylarthropathy: histologic findings in eight patients from an open-label pilot study
Arthritis Rheum 44:186-195

BAITES JE, TUCEKR JB, BALDWIN JL, THOMAS GN (1980)

Pericarditis in ankylosing spondylitis
J Rheumatol 7:929-934

BAKER AR, MCDONNELL DP, HUGHES M, CRISP TM, MANGELSDORF DJ, HAUSSLER MR, PIKE JW, SHINE J, O'MALLEY BW (1988)

Cloning and expression of full-length cDNA encoding human vitamin D receptor
Proc Natl Acad Sci USA 85:3294-3298

- BALTZER AWA, REINECKE J, WEHLING P, GRANRATH M, SCHULITZ KP (1999)
Knochendichte und Knochenstoffwechsel unter dem Einfluss des Vitamin-D-Rezeptor-Allel-Polymorphismus in einem deutschen Untersuchungskollektiv
Z Orthop 137:273-279
- BAN Y, TANIYAMA M, YANAGAWA T, YAMADA S, MARUYAMA T, KASUGA A, BAN Y (2001)
Vitamin D receptor initiation codon polymorphism influences genetic susceptibility to type 1 diabetes mellitus in the Japanese population
BMC Med. Genet 2:7
- BECHTEREW W. (1893)
Steifigkeit der Wirbelsäule und ihre Verkrümmung als besondere Erkrankungsform
Neurol Centralbl 12:426-34
- BECKERMAN P, SILVER J (1999)
Vitamin D and the parathyroid
Am J Med Sci 317:363-369
- BELL NH (1985)
Vitamin D-endocrine system
J Clin invest 76:1-6
- BENNET PH, WOOD PHN (1968)
Population studies of the rheumatic diseases. Proceedings of the Third International Symposium.
New York, Excerpta Medica Foundation 456-57
- BESSANT R, HARRIS C, KEAT A (2003)
Audit of the diagnosis, assessment, and treatment of osteoporosis in patients with ankylosing spondylitis
J Rheumatol 30:779–782
- BESSANT R, KEAT A (2002)
How should clinicians manage osteoporosis in ankylosing spondylitis?
J Rheumatol 29:1511–1519.
- BÖLZNER C, MÜLLER A, BRÄUNIG E, HEIN G (2003)
Kollagenabbauaktivität bei Spondylitis ankylosans in Beziehung zu krankheitsrelevanten Daten
Z Rheumatol 62:459–467
- BOIVIN G., MESGUICH P., PIKE J.W., BOUILLON R., MEUNIER P.J., HAUSSLER M.R., DUBOIS P.M., MOREL G (1987)
Ultrastructural immunocytochemical localization of endogenous 1,25 dihydroxyvitamin D3 and its receptors in osteoblasts and osteocytes from neonatal mouse and rat calvaria
Bone Miner 3:125-136

BRANDT J, KHARIOUZOV A, LISTING J, HAIBEL H, SORENSEN H, GRASSNICKEL L, RUDWALEIT M, SIEPER J, BRAUN J (2003)

Six-month results of a double-blind, placebo controlled trial of etanercept treatment in patients with active ankylosing spondylitis

Arthritis Rheum 48:1667-1675

BRAUN J, BOLLOW M, NEURE L, SEIPELT E, SEYREKBASAN F, HERBST H, EGGENS U, DISTLER A, SIEPER J (1995)

Use of immunohistologic and in situ hybridization techniques in the examination of sacroiliac joint biopsy specimens from patients with ankylosing spondylitis

Arthritis Rheum 38:499-505

BRAUN J, BOLLOW M, SEYREKBASAN F, HABERLE HJ, EGGENS U, MERTZ A, DISTLER A, SIEPER J (1996)

Computed tomography guided injection of sacroiliac joint in patients with spondylarthropathy with sacroiliitis: clinical outcome and follow-up by dynamic magnetic resonance imaging

J Rheumatol 23:659-664

BRAUN J, BOLLOW M, REMLINGER G, EGGENS U, RUDWALEIT M, DISTLER A, SIEPER J (1998)

Prevalence of spondylarthropathies in HLA-B27 positive and negative blood donors

Arthritis Rheum 41:58-67

BRAUN J, SIEPER J (2000)

Inception cohorts for spondyloarthropathies

Z Rheumatol 59:117-21

BRAUN J, SIEPER J (2002)

Spondylitis ankylosans

Bremen, London, Boston: Unimed-Verlag

BRAUN J, BRANDT J, LISTING J, ZINK A, ALTEN R, GOLDER W (2003)

Treatment of active ankylosing spondylitis with infliximab: a randomised controlled multicentre trial

Lancet 359:1187-1193

BRAUN J, PHAM T, SIEPER J, VAN DER LINDEN S, DOUGADOS M, VAN DER HEIJDE D (2003)

For the ASAS working group. International ASAS consensus statement for the use of anti-TNF agents in patients with ankylosing spondylitis

Ann Rheum Dis 62:817-824

BRAUN J, BRANDT J, LISTING J, ZINK A, ALTEN R, BURMESTER G, GOLDER W, GROMNICA-IHLE E, KELLNER H, SCHNEIDER M, SORENSEN H, ZEIDLER H, REDDIG J, SIEPER J (2003)

Long term efficacy and safety of infliximab in the treatment of ankylosing spondylitis

Arthritis Rheum 48:2224-2233

BRAUNSTEIN EM, MARTEL W, MOIDEL R (1982)

Ankylosing spondylitis in men and women: a clinical and radiographic comparison

Radiology 144:91-4

BREWERTON DA, CAFFREY M, HART D, JAMES PCD, NICHOLLS A, SURROCK RD (1973)

Ankylosing spondylitis and HLA-B27

Lancet I: 904

BRONSON W, WALKER S, HILLMAN L, KEISLER D, HOYT T, ALLEN S (1998)

Bone mineral density and biochemical markers of bone metabolism in ankylosing spondylitis
J Rheumatol 25: 929–935

BROPHY S, CALIN A (2001)

Ankylosing spondylitis: interaction between genes, joints, age at onset, and disease expression
J Rheumatol 28:2283-8

BROPHY S, MACKAY K, AL-SAIDI A, TAYLOR G, CALIN A (2002)

The natural history of ankylosing spondylitis as defined by radiological progression
J Rheumatol 29(6):1236-43

BROWN E.M., GAMBA G, RICCARDI R., LOMBARDI M., BUTTERS R., KIFOR O., SUN A. HEDIGER M.A., LUTTON J., HERBERT C (1993)

Cloning and characterisation of an extracellular Ca^{2+} -sensing receptor from bovine parathyroid

Nat 366:575-580

BULKLEY BH, ROBERTS WC (1973)

Ankylosing spondylitis and aortic regurgitation. Description of the characteristic cardiovascular lesion from study of eight necropsy patients

Circulation 48(5):1014-27

CARETTE S, GRAHAM D, LITTLE H, RUBENSTEIN J, ROSEN P (1983)

The natural disease course of ankylosing spondylitis

Arthritis Rheum 26(2):186-90

COHN DH, BYERS PH, STEINMANN B, GELINAS RE (1986)

Lethal osteogenesis imperfecta resulting from a single nucleotide change in one human pro alpha 1 (I) collagen allele

Proc Natl Acad Sci USA 83(16):6045-6047

COLOMBO MR (1559)

De Re Anatomica

Venice

CONNOR B (1695)

An extract of a letter to Sir Charles Walgrave, published in French at Paris: Giving an account of a extraordinary humane skeleton, whose vertebrae of his back, the ribs and several bones down to the os sacrum, were firmly united into one solid bone, without jointing or cartilage

Pilos Trans 19:21-7

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

D'AMBROSIO P, CIPPITELLI M, COCCIOLA MG, MAZEO D, DI LUCIA P, LANG R, SIGNIGAGLIA F, PANINA-BORDIGNON P (1998)

Inhibition of IL-12 production by 1 α 25(OH)2D3-Involvement of NF-kappa B downregulation in transcriptional regression of the p40 gene

J Clin Invest 101:252-262

DEFTOS LJ (1991)

Bone protein and peptide assays in diagnosis and management of skeletal diseases

Clin Chem 37:1143-8

DELLING G, HAHN M, VOGEL M (1992)

Neuere Vorstellungen zur Struktur des Knochengewebes und zur Entwicklung der Osteoporose

Med Welt 43:176-180

DELMAS PD (1992)

Clinical use of biochemical markers of bone remodeling in osteoporosis

Bone 13:S17-S21

DIHLMANN W (1968)

Spondylitis ankylopoetica, die Bechterewsche Krankheit

Georg Thieme Verlag, Stuttgart

DIHLMANN W (1982)

Gelenke-Wirbelverbindungen

Klinische Radiologie, 2.Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart

Donnelly S, Doyle DV, Denton A, Rolfe I, McCloskey EV, Spector TD (1994)

Bone mineral density and vertebral compression fracture rates in ankylosing spondylitis

Ann Rheum Dis 53:117-121

DOUGADOS M, VAN DER LINDEN S, JUHLIN R, HUITFELDT B, AMOR B, CALIN A, CATS A, DIJKMANS B, OLIVIERI I, PASERO G, VEYS E, ZEIDLER H (1991)

The European Spondylarthropathy Study Group preliminary criteria for the classification of spondylarthropathy

Arthritis Rheum 34(10):1218-27

DOUGADOS M, GUEGUEN A, NAKACHE JP, VELICITAT P, VEYS EM, ZEIDLER H, CALIN A (1999)

Ankylosing spondylitis: what is the optimum duration of a clinical study? A one year versus a six weeks non-steroidal anti-inflammatory drug trial

Rheumatology (Oxford) 38:235-44

DOUGADOS M, BEHIER JM, JOLCINE I, CALIN A, VAN DER HEIJDE D, OLIVIERI I, ZEIDLER H, HERMAN H (2001)

Efficacy of celecoxib, a cyclooxygenase 2-specific inhibitor, in the treatment of ankylosing spondylitis: a six week controlled study with comparison against placebo and against a conventional nonsteroidal anti-inflammatory drug

Arthritis Rheum 44:180-85

- 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 13:31-5
- EL MAGHRAOUI A, BORDERIE D, CHERRUAU B, EDOUARD R, DOUGADOS M, ROUX C (1994)
Osteoporosis, body composition, and bone turnover in ankylosing spondylitis
Ann Rheum Dis 53:117-121
- EPSTEIN S (1988)
Bone derived proteins
Trends Endocrinol Metab 1:9-1
- FELDTKELLER E (1999)
Age at disease onset and delayed diagnosis of spondyloarthropathies
Z Rheumatol 58:21-30
- FELLMANN N, ENDERLIN M (1962)
Serological test in diseases of the joint and spine – a review of 930 cases
Germ med Mth 2:48-52
- FELLMANN N, SPRING H (1989)
Spondylitis ankylosans – Morbus Bechterew
Verlag Hans Huber, Bern/Stuttgart/Toronto
- FERNANDEZ-MARTIN JL, KURIAN S, FARMER P, NANES MS (1998)
Tumor necrosis factor activates a nuclear inhibitor of vitamin D and retinoid-X receptors
Moll Cell Endocrinol 25:65-72
- 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 13:363-70
- 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 13:925-30
- 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 10:985-90
- FORESTIER J. GILBERT SCOTT memorial oration (1964)
Ankylosing spondylitis at the beginning of the century
Rheumatism (Journal of the Charterhouse Rheumatism Clinic) 20:28-53

FORESTIER J, JACQUELINE F, ROLESQUEROL J, EDS (1956)

Ankylosing spondylitis: clinical considerations, roentgenology, pathologic anatomy, treatment
Springfield (IL): Charles C Thomas

FRANÇOIS RJ, GARDNER DL, DEGRAVE EJ, BYWATERS EGL (2000)

Histopathologic evidence that sacroiliitis in ankylosing spondylitis is not merely enthesitis.
Systematic study of specimens from patients and control subjects
Arthritis Rheum 43:2011-2024

GALLAGHER JC (1990)

The Pathogenesis of Osteoporosis
Bone Miner 9:215-227

GARABEDIAN M, TANAKA Y, HOLICK MF, DE LUCA HF (1974)

Response of intestinal calcium transport and bone calcium mobilisation to 1,25 dihydroxyvitamin D₃ in thyroparathyroidectomized rats
Endocrinology 94:1022-1027

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, GRIMAUX M, SEGUIN P, DELMAS PD (1994)

Characterization of immunoreactive forms of human osteocalcin in vivo and in vitro
J Bone Miner Res 9:255-64

GARRETT S, JENKINSON T, KENNEDY LG, WHITELOCK H, GAISFROD P, CALIN A (1994)

A new approach to defining disease status in ankylosing spondylitis: the Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index
J Rheumatol 21:2286-2291

GORMON JD, SACK KE, DAVIS JC JR (2002)

Treatment of ankylosing spondylitis by inhibition of tumor necrosis factor alpha
N Engl J Med 346:1349-1356

GOUGH A, SAMBROOK P, DEVELIN J, LILLEY J, HUISSON A, BETTERIDGE J, FRANKLYN J, NGUYEN T, MORRISON N, EISMANN J, EMERY P (1998)

Effect of Vitamin D Receptor Gene Allels on Bone Loss in Early Rheumatoid Arthritis
J Rheumatol 25(5):864-868

GOWNE M, MUNDY GR (1986)

Actions of recombinant interleukin 1, interleukin 2 and interferon-alpha on bone resorption in vitro
J Immunol 136:2478-2482

GRAN JT, HUSBY G, HORDVIK M, STORMER J, ROMBERG-ANDERSEN O (1984)

Radiological changes in men and women with ankylosing spondylitis
Ann Rheum Dis 43:570-575

GRAN JT, HUSBY G (1998)

Clinical, epidemiologic, and therapeutic aspects of ankylosing spondylitis
Curr Opin Rheumatol 10:292–298

GRAN JT, OSTENSEN M, HUSBY G (1985)

A clinical comparison between males and females with ankylosing spondylitis
J Rheumatol 12:126-129

GRAN JT, SKOMSVOLL JF (1997)

The outcome of ankylosing spondylitis: a study of 100 patients
Br J Rheumatol 36(7):766-771

GRATACÓS J, COLLADA A, FILELLA X, SANMARTÍ R, CANETE J, LLENA J, MOLINA R, BALLESTA A, MUNOZ-GOMEZ J (1994)

Serum cytokines (IL-6, TNF-alpha, IL-1 beta and IFN-gamma) in ankylosing spondylitis: a close correlation between serum IL-6 and disease activity and severity
Br J Rheumatol 33:927-931

GROSS C, ECCLESHALL TR, MALLOY PJ, LUZ VILLA M, MARCUS R, FELDMAN 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 11:1850-1855

GROSS C, KRISHNAN AV, MALLOY PJ, ECCLESHALL TR, ZHAO XY, FELDMAN D (1998)

The vitamin D receptor gene start codon polymorphism: a functional analysis of FokI variants
J Bone Miner Res 13:1691-9

HAMILTON KA (1949)

Pulmonary disease manifestations of ankylosing spondylitis
Ann Intern Med 31:216

HARRIS SS, ECCLESHALL TR, GROSS C, DAWSON-HUGHES B, FELDMAN 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 12:1043-8

HARVEY DB, HOLLENBERG M, KUNKEL F, SCHEINMAN MM (1976)

Ankylosing spondylitis with complete heart block
Arch Intern Med 136(9):1046-50

HAUSSLER MR, NROMAN AW (1969)

Chromosomal receptor for a vitamin D metabolite
Proc Natl Acad Sci USA 62:155-162

HOFFMANN P (1987)

Diagnostik, Prävention und Therapie der Osteoporose
Ther Umsch 37: 4427-4430

- HUSTMYER FG, DELUCA HF, PEACOCK M (1993)
ApaI, BsmI, EcoRV and TaqI polymorphisms at the human vitamin D receptor gene locus in Caucasians, Blacks and Asians
Human Molecular Genetics 2:487
- 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 94:2130-4
- ISSA LL, LEONG GM, EISMANN JA (1998)
Molecular mechanism of vitamin D receptor action
Inflamm Res 47:451-75
- JIMENEZ-BALDERAS FJ, MINTZ G (1993)
Ankylosing spondylitis: clinical course in women and men
J Rheumatol 20:2069-72
- KECK E, KRUSE HP (1994)
Osteoporose. Klinik-Diagnostik-Therapie. 1.Auflage
Gustav Fischer Verlag, Jena/Stuttgart
- KELLGREN JH, JEFFREY MR, BALL J (1963)
The epidemiology of chronic rheumatism.
Blackwell scientific publications, Oxford, II, 36
- KELLY PJ, MORRISON NA, SAMBROOK PN, NGUYEN TV, EISMAN JA (1995)
Genetic influences on bone turnover, bone density and fracture
Eur J Endocrinol 1995; 133:265-71
- KHAN MA
Ankylosing spondylitis: clinical features
In: Hochberg M, Silman A, Smolen J, Weinblatt M, Weismann M, eds. Rheumatology. 3rd ed. London, Mosby-Wolfe
- KHAN MA (2000)
HLA-B27 polymorphism and association with disease
J Rheumatol. May;27(5):1110-4
- KÖHLER L, ZEIDLER H, KUIPERS JG (2000)
Aktueller Stand der medikamentösen Therapie der Spondarthritiden und reaktiven Arthritiden
Akt Rheumatol 25:30-37
- KRUSKAL WH, WALLIS WA (1953 & 1964)
Use of ranks in one-criterion variance analysis.
J.Amer. Stat. Ass. 47, pp.583-621 und 48 (1953), pp.907-911. O.J. Dunn (1964). Multiple comparisons using rank sums. Technometrics 6,pp. 241-252

KUNO H, KURIAN SM, HENDY GN, WHITE J, DELUCA HF, EVANS CO, NANES MS (1994)

Inhibition of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ stimulates Osteocalcin gene transcription by tumor necrosis factor- α : structural determinants within the vitamin D response element
Endocrinology 134:2524-2531

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 7:1447-1453

LANGE U (2000)

Skeletal status in ankylosing spondylitis
J Rheumatol 27:4.27

LANGE U, TEICHMANN J, STRACKE H (2000)

Correlation between plasma TNF- α , IGF-1, biochemical markers of bone metabolism, markers of inflammation/disease activity, and clinical manifestations in ankylosing spondylitis
Eur J Med Res 5:507-511

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

LARSSON P, MATTSSON L, KLARESKOG L, JOHNSON C (1998)

A vitamin D analogue (MC1288) has immunomodulatory properties and suppresses collagen-induced arthritis (CIA) without causing hypercalcaemia
Clin Exp Immunology 114:277-283

LEIRISALO-REPO M (1998)

Prognosis, course of disease, and treatment of the spondyloarthropathies
Rheum Dis Clin North Am. 24(4):737-51

LIAN JB, STEIN GS (1993)

Vitamin D regulation of Osteoblast growth and differentiation. Nutrition and Gene expression (Eds.: C.D. Berdanier, J.L. Hargrove), Boca Raton, Fl; CRC Press 391-429

LINDSAY R (1988)

Sex steroids in the pathogenesis and prevention of osteoporosis
In: Osteoporosis: etiology, diagnosis and management (Eds.: B.L. Riggs, J.L. Melton III), Raven Press, New York, 333-358

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 80:2158-62

LUUKKAINEN R, NISSILÄ M, SANILA M, LETHINEN K, ALANAATU K, KAUTIANEN H (1999)
Periarticular corticoid treatment of the sacroiliac joint in patients with seronegative spondylarthropathy
Clin Exp Rheumatol 17:88-90

MARIE P (1898)
Sur la spondylose rhizomelique
Rev Medecine 18:285-315

MASTERS PW, JONES RG, PURVES DA, COOPER EH, COONEY JM (1994)
Commercial assays for serum and osteocalcin give clinically discordant results
Clin Chem 40:358-63

MAUGARS Y, MATHIS C, BERTHELOT JM, CHARLIER C, PROST A (1996)
Assessment of the efficacy of sacroiliac corticoid injections in spondylarthropathies: A double-blind study
Br J Rheumatol 35:767-770

MEIRELLES ES, BORELLI A, AND CAMARGO OP (1999)
Influence of Disease Activity and Chronicity on Ankylosing Spondylitis Bone Mass Loss
Clin Rheumatol 18:364-368

MOLL LMH, WRIGHT V (1973)
New York clinical criteria for ankylosing spondylitis. A statistical evaluation
Ann Rheum Dis 32:354

MOLL JM, HASLOCK I, MACRAE IF, WRIGHT V (1974)
Associations between ankylosing spondylitis, psoriatic arthritis, Reiter's disease, the intestinal arthropathies, and Behçet's syndrome
Medicine (Baltimore) 53:343-64

Morrison NA, Yeoman R, Kelly PJ, Eisman JA (1992)
Contribution of trans-acting factor alleles to normal physiological variability: Vitamin D receptor gene polymorphisms and circulating Osteocalcin
Proc Natl Acad Sci USA 89:6665-9

Morrison NA, Qi JC, Tokita A, Kelly PJ, Crofts L, Nguyen TV, Sambrook PN, Eisman JA (1994)
Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles
Nature 367:284-7

MYLIUS K. (1955)
Über Augenerkrankungen im Symptomenbild des Rheumatismus
Z Rheumaforsch

NEWTON CR, GRAHAM A (1994)
Labor im Fokus – PCR
2. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag; Oxford, Berlin, Heidelberg

OBERMAYER-PIETSCH BM, TAUBER G, AGLAS F, HERMANN J, LIPP R, LEB G. (1999)

Osteoporose bei Mb. Bechterew – Neue Ansätze

J Miner Stoffwechs 6(3):7–11

OBERMAYER-PIETSCH BM, LANGE U, TAUBER G, FRÜHAUF G, FAHRLEITNER A, DOBNIG H, HERMANN J, AGLAS F, TEICHMANN J, NEEK G, LEB G (2003)

Vitamin D receptor initiation codon polymorphism, bone density and inflammatory activity of patients with ankylosing spondylitis

Osteoporos Int 14:995–1000

OELZNER P, MULLER A, DESCHNER F, HULLER M, ABENDROTH K, HEIN G, STEIN G (1998)

Relationship between disease activity and serum levels of vitamin D metabolites and PTH in rheumatoid arthritis

Calcif Tissue Int 62(3):193-198

OGRYZLO MA (1974)

Ankylosing spondylitis

In: Hollander H, McCartney JR (eds.) Arthritis and Allied Conditions. A Textbook of Rheumatology, 8th ed. Lea & Febiger, Philadelphia

PARFITT AM, SIMON LS, VILLANUEVA AR, KRANE SM (1987)

Procollagen type I carboxyterminal extension peptide in serum as a marker of collagen biosynthesis in bone. Correlation with iliac bone formation rates and comparison with total alkaline Phosphatase

J Bone Miner Res 2:427-36

PARFITT AM (1997)

Vitamin D and the pathogenesis of rickets and osteomalacia

In „Vitamin D“, Academic Press, San Diego, 645-662

PETERS ND, EJSTRUP L (1992)

Intravenous methylprednisolone pulse therapy in ankylosing spondylitis

Scand J Rheumatol 21:134-138

PURRMANN J, ZEIDLER H, BERTRAMS J, JULI E, CLEVELAND S, BERGES W, GEMSA R, SPECKER C, REIS HE (1988)

HLA antigens in ankylosing spondylitis associated with Crohn's disease. Increased frequency of the HLA phenotype B27, B44

J Rheumatol 15(11):1658-61

QUINN JM, ITOH K, UDAGAWA N (2001)

Transforming growth factor beta affects osteoclast differentiation via direct and indirect actions

J Bone Min Res 16:1787-1794

RADFORD EP, DOLL R, SMITH PG (1977)

Mortality among patients with ankylosing spondylitis not given X-ray therapy

N Engl J Med 297(11):572-6

- RALSTON SH, URQUHART GDK, BRZESKI M, STURROCK RD (1990)
Prevalence of vertebral compression fractures due to osteoporosis in ankylosing spondylitis
Br Med J 300:563–565
- RESNICK D, DWOSH IL, GOERGEN TG, SHAPIRO RF, UTSINGER PD, WIESNER KB, BRYAN BL (1976)
Clinical and radiographic abnormalities in ankylosing spondylitis: a comparison of men and women
Radiology 119:293-7
- RICHTER MG, WOO P, PANAYI GS, TRULL A, UNGER A, SHEPHERD P (1983)
The effect of intravenous pulse methylprednisolone on immunological and inflammatory processes in ankylosing spondylitis
Clin Exp Rheumatol 53:51-59
- RIGGS BL, WAHNER HW, MELTON LJ 3RD, RICHELSON LS, JUDD HL, OFFORD KP (1986)
Postmenopausal osteoporosis
J Clin Invest 77:1487-91
- RIGGS BL, MELTON LJ (1983)
Evidence for two distinct syndromes of involutional osteoporosis
Am J Med 75:899-901
- RIGGS BL, NGUYEN TV, MELTON III LJ, 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 10:991-996
- RINGE JD (1985)
Pathogenese und Diagnostik der Osteoporose
Akt Endokr Stoffw 6:176-180
- RIZZOLI R, BONJOUR JP, FERRARI SL (2001)
Osteoporosis, genetics and hormones
J Mol Endocrinol 26:79-94
- ROBERT J, FRANÇOIS RJ, GARDNER DL, DEGRAVE EJ, BYWATERS EGL (2000)
Histopathologic evidence that sacroiliitis in ankylosing Spondylitis is not merely enthesitis. Systematic study of specimens from patients and control subjects
Arthritis Rheum 43:2011-2024
- SACHS L (1997)
Angewandte Statistik
Springer-Verlag. Kap.73.

SALAMONE LM, GLYNN NW, BLACK DM, FERRELL RE, 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 11:1557-65

SCHACHT E (2000)

Osteoporosis in rheumatoid arthritis: significance of alfacalcidol in prevention and therapy

Z Rheumatol 59:10-20

SCHLOSSSTEIN L, TERASAKI PI, BLUESTONE R, PEARSON CM (1973)

High association of an HLA antigen – B 27, with ankylosing spondylitis

New Engl J Med 288:704

SCHMIDT KL (1991)

Checkliste Rheumatologie

G. Thieme Verlag

SHANY S, LEVY Y, LAHAV-COHEN M (2001)

The effects of 1alpha,24(S)-dihydroxyvitamin D(2) analog on cancer cell proliferation and cytokine expression

Steroids 66:319-325

SHARP J, PURSER DW (1961)

Spontaneous atlanto-axial dislocation in ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis

Ann Rheum Dis 20:47-77

SIMMONS EH, GRAZIANO GP, HEFFNER JR R (1991)

Muscle disease as a cause of kyphotic deformity in ankylosing spondylitis

Spine 16(suppl 8):351-360

SIMMONS JD, MULLIGHAN C, WELSH KI, JEWELL DP (2000)

Vitamin D receptor gene polymorphism: association with Crohn's disease susceptibility

Gut 47:211-214

SIVRI A, KILINÇ S, GÖKÇE-KUTSAL Y, ARIYÜREK M (1996)

Bone mineral density in ankylosing spondylitis

Clin Rheumatol 15:51-54

SLATOPOLSKY ES, BROWN AJ (1997)

Vitamin D and renal failure

In „Vitamin D“. Academic press, San Diego, 849-865

SMUKER N (1982)

Arthritis disorders of the spine

In: Rothman RH, Simeone FA (eds.) The spine. Saunders, Philadelphia

SPECTOR TD, KEEN RW, ARDEN NK, MORRISON NA, MAJOR PJ, NGUYEN TV, KELLY PJ, BAKER JR, SAMBROOK PN, LANCHBURY JS (1995)

Influence of vitamin D receptor genotype on bone mineral density in postmenopausal women: A twin study in Britain

Br Med J 310:1357-60

SPITTLER A, WILHELM A, LEUMETZER F, OHLER R, KRUGLUGER W, REISSNER C, LUCAS T, BRODOWICZ T, ROTH E, BOLTZ-NITULESCU G (1997)

Effects of 1 α , 25-dihydroxy-vitamin D-3 and cytokines on the expression of MHC antigens, complement receptors and other antigens on human blood monocytes and U937 cells: Role in cell differentiation, activation and phagocytosis

Immunology 90:286-293

STRÜMPPELL A (1897)

Bemerkungen über chronisch-ankylosierende Entzündung der Wirbelsäule und der Hüftgelenks

Deutsch Nervenheilk 11:338-42

STURROCK RD, BARRETT AJ, VERSEY J, REYNOLDS P (1974)

Raised levels of complement inactivation products in ankylosing spondylitis

J Rheumatol 1:428

Sturrock RD (1976)

Clinical and immunological studies in ankylosing spondylitis

Thesis, London

SUAREZALMAZOR ME, RUSSELL AS (1990)

Sacroiliitis in psoriasis: relationship to peripheral arthritis and HLA-B27

J Rheumatol 17(6):804-8

SZESNFELD VL, MONIER-FAUGERE MC, BOGNAR BJ, BOSI FERRAZ M, MALLUCHE HH (1997)

Systemic osteopenia in mineralization defect in patients with ankylosing spondylitis

J Rheumatol 24:683-688

TANAKA H., ABE E., MIYAURA C., KURIBAYASHI T., KONNO K., NISHII Y., SUDA T (1982)

1- α -dihydroxycholecalciferol and a human myeloid leukemia cell line (HL-60). The presence of a cytosol receptor and induction of differentiation

Biochem J 204:713-719

TAUROG JD, RICHARDSON JA, CROFT JT, SIMMONS WA, ZHOU M, FERNANDEZ-SUEIRO JL, BALISH E, HAMMER RE (1994)

The germfree state prevents development of gut and joint inflammatory disease in HLA-B27 transgenic rats

J Exp Med 180(6):2359-64

TOUSSIROT E, WENDLING D (1998)

Current guidelines for drug treatment of ankylosing spondylitis

Drugs 5:225-240

TRULL A, EBRINGER A, PANAYI G, EBRINGER R, JAMES DCO (1984)

HLA-B27 and the immune response to enterobacterial antigens in ankylosing spondylitis

Clin Exp Immunol 55:74-80

VAN DEN BOSCH F, KRUIHOF E, BAETEN D, HERSSENS A, DE KEYSER F, MIELANTS H, VEYS EM (2002)
Randomized double-blind comparison of chimeric monoclonal antibody to tumor necrosis factor alpha (infliximab) versus placebo in active spondylarthropathy
Arthritis Rheum 46:755-765

VAN DER LINDEN SM, VALKENBURG HA, CATS A (1984)
Evaluation of the diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria
Arthritis Rheum 2:361-368

VILLIAUMY J (1983)
Les lésions extraarticulaires de la spondylarthrite ankylosante
Méd et Hyg (Genève) 41:1093-98

VOGEL A, STRASSBURG CP, MANNS MP (2002)
Genetic association of vitamin D receptor polymorphisms with primary biliary cirrhosis and autoimmune hepatitis
Hepatology 35:126-131

WEED CL, KULANDER BG, MASSARELLA JA, DECKER JL (1966)
Heart block in ankylosing spondylitis
Arch Intern Med 117(6):800-6

WILL R, PALMER R, BHALLA AK, RING F, CALIN A (1989)
Osteoporosis in early ankylosing spondylitis: a primary pathological event?
Lancet 2:1483-1485

WINTERBOTTOM N, VERNON S, CERELLI M (1992)
An immunoassay for the C-terminal propeptide of type I collagen
J Bone Miner Res (suppl.1), 254

WITHOLD W, GEORGESCU G, KHAKZAD H, VOSBERG H, MUELLER-GAERTNER HW, REINAUER H (1995)
Efficacy of simultaneous determination of bone alkaline phosphatase mass concentration in serum and urinary excretion of pyridinium cross-links for detection of bone metastases
Clin Biochem 28:511-7

WRIGHT V, REED WB (1964)
The link between Reiter's syndrome and psoriasis arthritis
Ann Rheum Dis 23:12

YASUMARA S., ALOIA J.F., GUNDBERG C.M., YEH J., VASWANI A.N., YUEN K., LOMONTE A.F., ELLIS K (1987)
Serum osteocalcin and total body calcium in normal pre- and postmenopausal women and postmenopausal osteoporotic patients
J Clin Endocrinol Metab 64:681-685

ZHUANG J, TROMP G, KUIVANIEMI H, CASTELLS S, BRUGGE M, PROCKOP DJ (1996)

Direct sequencing of PCR products derived from cDNAs for the pro alpha 1 and alpha 2 chains of type I procollagen as a screening method to detect mutations in patients with osteogenesis imperfecta

Hum Mutat 7(2):89-99

ZINK A, BRAUN J, LISTING J, WOLLENHAUPT J (2000)

Disability and handicap in rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis – results from the German rheumatological database

J Rheumatol 27:613-22

8 Anhang

8.1 **Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: Fragebogen zum BASDAI Index	29
Abbildung 2: Gel-Bandenmuster des Bsm I-Polymorphismus	35
Abbildung 3: Gel-Bandenmuster des TaqI-Polymorphismus	35
Abbildung 4: Gel-Bandenmuster des FokI-Polymorphismus	36
Abbildung 5: DEXA LWS bei männlichen AS-Patienten in Abhängigkeit von FokI-Genotypen. Auswertung ANOVA mit multiplem Anschlussstest.....	46
Abbildung 6: LWS ap (T-Score) bei männlichen AS-Patienten in Abhängigkeit von FokI-Genotypen. Auswertung: ANOVA mit multiplem Anschlussstest	46
Abbildung 7: DEXA li. Schenkelhals (BMD g/cm ²) bei männlichen Patienten mit AS, abhängig von FokI-Genotypen. Auswertung: ANOVA mit multiplem Anschlussstest.....	47
Abbildung 8: Li. Schenkelhals (T-Score) bei männlichen Patienten mit AS, abhängig von FokI-Genotypen. Auswertung: ANOVA mit multiplem Anschlussstest.....	47
Abbildung 9: Li. Schenkelhals (T-Score) bei männlichen Patienten mit AS, abhängig von FokI-Genotypen. Auswertung: ANOVA mit multiplem Anschlussstest.....	48
Abbildung 10: CT-Spongiosa (mg/l) bei männlichen Patienten mit AS, abhängig von FokI-Genotypen. Auswertung: ANOVA mit multiplem Anschlussstest	48
Abbildung 11: CRP (mg/l) bei männlichen Patienten mit AS, abhängig von FokI-Genotypen. Auswertung: ANOVA mit multiplem Anschlussstest	49
Abbildung 12: Medianes CRP (mg/l) bei männlichen Patienten mit AS, abhängig von FokI-Genotypen. Auswertung: ANOVA mit multiplem Anschlussstest	49
Abbildung 13: DEXA li. Schenkelhals (BMD g/cm ²) bei männlichen Patienten mit AS, abhängig von Taq-I-Genotypen. Auswertung: ANOVA mit multiplem Anschlussstest.....	50
Abbildung 14: CT-Spongiosa (mg/l) bei männlichen Patienten mit AS, abhängig von Taq-I-Genotypen. Auswertung: ANOVA mit multiplem Anschlussstest	50

8.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Klinische Diagnosekriterien der AS nach den Rom-Kriterien.....	3
Tabelle 2: Klinische Diagnosekriterien der AS nach den New York-Kriterien.....	3
Tabelle 3: Klinische Diagnosekriterien der AS nach den modifizierten New York-Kriterien ..	4
Tabelle 4: ESSG Klassifikationskriterien für Spondylarthritiden.....	5
Tabelle 5: Graduierung der AS nach Schmidt (1991).....	9
Tabelle 6: Beurteilung der Iliosakralgelenke im Röntgenbild nach Bennett und Wood.....	11
Tabelle 7: Daten zum ausgewählten Patientengut.....	26
Tabelle 8: PCR-Bedingungen.....	33
Tabelle 9: Schnittstellen der verwendeten Restriktions-Endonukleasen	33
Tabelle 10: Resultate der Knochendichtemessungen.....	39
Tabelle 11: Mittelwerte und Standardabweichungen der BsmI-Genotypen bei Frauen	40
Tabelle 12: Mittelwerte und Standardabweichungen der BsmI-Genotypen bei Männern.....	41
Tabelle 13: Mittelwerte und Standardabweichungen der FokI-Genotypen bei Frauen	42
Tabelle 14: Mittelwerte und Standardabweichungen der FokI-Genotypen bei Männern.....	43
Tabelle 15: Mittelwerte und Standardabweichungen der TaqI-Genotypen bei Frauen	44
Tabelle 16: Mittelwerte und Standardabweichungen der TaqI-Genotypen bei Männern.....	45

8.3 Abkürzungsverzeichnis

AP	Alkalische Phosphatase
Aqua dest.	Aqua destillata
AS	Ankylosierende Spondylitis
ASAS	Assessments in ankylosing Spondylitis
BASDAI	Bath Ankylosing Spondylitis Activity Index
BP	Basenpaare
BSG	Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit
Bsw.	Beispielsweise
BWK	Brustwirbelkörper
cDNA	complementary DNA
cm	Zentimeter
CRP	C-reaktives Protein
DEXA	Dual-energy x-ray absorptiometry
DMARD	Disease modifying antirheumatic drug
DNA	Dexoxyribonukleinsäure
dNTP	Desoxynukleotid-Triphosphat
DPD	Deoxypyridinolin
ds-DNA	Doppelstrang-DNA
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ESSG	European Spondylarthropathy Study Group
etc.	Et cetera
Fa.	Firma
h	Stunde
HLA	Humanes Leukozytenantigen
J	Jahr
kg	Kilogramm
l.	Liter
li.	Links
LWK	Lendenwirbelkörper
m	Meter
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mRNA	Messenger-RNA

nm	Nanometer
nM	Nanomol
NSAR	Nichtsteroidale Antirheumatika
OC	Osteocalcin
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
pmol	Pikomol
QCT	Quantitative Computertomographie
RA	Rheumatoide Arthritis
RIA	Radio-Immun-Assay
SE-QCT	Single-Energy-quantitative Computertomographie
SH	Schenkelhals
Stad.	Stadium
Tab.	Tabelle
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
u.a.	unter anderem
usw.	und so weiter
VDR	Vitamin-D-Rezeptor
WHO	Weltgesundheitsorganisation
z.T.	zum Teil

9 Lebenslauf

Martin Bayer

Geboren am:	25.08.1973 in Butzbach (Hessen)	
Schulische Ausbildung:	1980-1984	Grundschule der Stadtschule Butzbach
	1984-1993	Weidiggymnasium Butzbach
	Juni 1993	Erwerb der Allgemeinen Hochschulreife
Wehr-/Zivildienst:	1993 – 1994	Zivildienst am Institut für Pathologie der Justus- Liebig- Universität Gießen, Leiter Prof. Dr. med. A. Schulz
Universitäre Ausbildung:	Okt. 1994	Beginn des Studiums der Humanmedizin an der JLU Gießen
	Apr. 1997	Ärztliche Vorprüfung
	Apr. 1999	1. Staatsexamen
	Sep. 2000	2. Staatsexamen
	Okt. 2001	3. Staatsexamen
	Ausbildung im	
	Praktischen Jahr:	- Zentrum für Chirurgie, JLU Gießen - Zentrum für Pädiatrie, JLU Giessen - Medizinische Klinik, JLU Gießen
	Arzt im Praktikum:	01.01.2002 – 30.06.2003 an der Medizinischen Klinik und Poliklinik III der Justus-Liebig-Universität Gießen, Leiter Prof. Dr. med. R.G. Bretzel
	Vollapprobation:	am 01.07.2003
Zusätzliche Qualifikation:	20.03.2005	Erwerb des Zertifikats „Reisemedizin“
	07/2002 – 06/2003	Weiterbildungsjahr internistische Rheumatologie an der Medizinischen Klinik und Poliklinik III der

		Justus- Liebig- Universität Gießen, Prof. Dr. med. M. Berliner
	Seit 10/2003	Dozent an der Schule für Physiotherapie der JLU Gießen
	08/2005	Gründungsmitglied des „Beratungszentrums für Reise- und Tropenmedizin des Universitätsklinikums Gießen und Marburg (BZRT)“
	Seit 04/2006	Teilnahme am Ärztlichen Notdienst Gießen
Forschung und Lehre:	1996-1998	Forschung über Vitamin-D-Rezeptor- Polymorphismen an Osteosarkom- Zelllinien am Institut für Pathologie der Universität Gießen
	2003-2004	Teilnahme an klinischer Phase IIb- Studie: „Research in Active RA: Adalimumab“
	Seit 01/2002	Teilnahme am Studentenunterricht im Fach Innere Medizin, 2 Wochenstunden
	Seit 10/2003	Dozent an der Schule für Physiotherapie des Universitätsklinikums Gießen mit 2½ Wochenstunden
Publikationen:	Battmann A, Stahl U, Bayer M, Knoblauch B, Hinrichs B and Schulz A. Vitamin D Receptor (VDR) Gene Polymorphism in Different Human Osteosarcoma Cell Lines. Bone 22 Supp. C4	
	Battmann A, Stahl U, Bayer M, Gamerding U, Knoblauch B, Hinrichs B, Kern A, Jundt G and Schulz A. Characterization Of A Cell Line Demonstrated By The Osteosarcoma Cell Line HOS 58. Pathol. Res. Pract. 195:319	

10 Danksagung

Herrn Dr. med. A. Battmann danke ich herzlich für die Überlassung des Themas. Vielen Dank für die gute Betreuung und insbesondere für eine Menge Geduld.

Herrn PD Dr. med. U. Lange danke ich ebenfalls für die exzellente Betreuung, insbesondere hinsichtlich klinischer Fragestellungen.

Herrn Dr. med. U. Stahl danke ich für die Einarbeitung in die Thematik und die gute Zusammenarbeit.

Herrn PD Dr. med. L. Fink danke ich für die fortwährende Unterstützung auch zu „unmöglichsten“ Zeiten.

Herrn Prof. Dr. med. R.M. Bohle danke ich für die Nutzung des molekulargenetischen Labors des Zentrums für Pathologie.

Herrn Prof. Dr. med. A. Schulz danke ich für die vertrauensvolle Zusammenarbeit, die Bereitstellung sämtlicher Laboratorien und die Begutachtung der Dissertationsschrift.

Vielen Dank auch an alle Mitarbeiter des Zellkulturlabors sowie des molekulargenetischen Labors des Zentrums für Pathologie, hier seien stellvertretend Frau Stein und Frau Rösch genannt.

Nicht vergessen möchte ich meine Familie, die in der gesamten Zeit viel Verständnis auch in schweren Zeiten zeigte.