

**Einfluss einer auf Cyclosporin A basierenden immunsuppressiven Therapie
auf den Knochenmineralstoffwechsel nach orthotoper Herztransplantation**

Silvia Maria Echtler

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik IV
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. M. Reincke

**Einfluss einer auf Cyclosporin A basierenden immunsuppressiven Therapie
auf den Knochenmineralstoffwechsel nach orthotoper Herztransplantation**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Silvia Maria Echtler
aus Dachau
2014

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Hans-Ulrich Kreider-Stempfle

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. Manfred Stangl
Prof. Dr. Simon Rothenfuß

Mitbetreuung durch den
promovierten Mitarbeiter: Dr. Christiane Werner

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 08.05.2014

Für meine Eltern und Anton Ehtler

Inhaltsverzeichnis

1.	Abbildungsverzeichnis	9
2.	Tabellenverzeichnis	11
3.	Abkürzungsverzeichnis	13
4.	Einleitung	15
5.	Hintergrund	19
5.1.	Definition der Osteoporose.....	19
5.2.	Pathophysiologie der Osteoporose	20
5.3.	Diagnostik der Osteoporose	24
5.3.1.	Radiologische Methoden	24
5.3.1.1.	Konventionelle Röntgendiagnostik	24
5.3.1.2.	Quantitative Computertomographie	26
5.3.1.3.	Osteodensitometrie	27
5.3.2.	Spezifische Marker des Knochenstoffwechsels	30
5.3.2.1.	Knochenformationsmarker	31
5.3.2.2.	Knochenresorptionsmarker.....	33
5.4.	Therapeutische Ansätze in der Posttransplantationsosteoporose	35
5.4.1.	Calcium.....	35
5.4.2.	Vitamin D	36
5.5.	Wirkung der Immunsuppressiva auf den Knochenstoffwechsel	37
5.5.1.	Glukokortikoide.....	37
5.5.2.	Cyclosporin A.....	42
5.5.3.	Tacrolimus	44
5.5.4.	Azathioprin	45
5.5.5.	Mycophenolat Mofetil	45
6.	Methodik	47
6.1.	Studiendesign	47
6.2.	Studienkollektiv.....	47
6.3.	Ein- und Ausschlusskriterien.....	47
6.4.	Medikation.....	48
6.4.1.	Immunsuppression.....	48
6.4.2.	Osteoporoseprävention: Basis- und Studienmedikation.....	48
6.5.	Untersuchungen	49
6.5.1.	Einschlussuntersuchungen.....	49
6.5.1.1.	Osteologische und endokrinologische Anamnese	49
6.5.1.2.	Körperliche Untersuchung.....	49
6.5.1.3.	Blut- und Urinuntersuchungen	49
6.5.1.3.1.	Bestimmung der Laborparameter	50
6.5.1.3.2.	Hormonstimulationstest.....	52
6.5.1.4.	Radiologische Untersuchungen	52
6.5.1.4.1.	Konventionelle Röntgenaufnahme	52
6.5.1.4.2.	Osteodensitometrie	52
6.5.1.4.3.	Quantitative Computertomographie	53
6.5.2.	Kontrolluntersuchungen	53
6.6.	Statistik.....	54

7.	Ergebnisse	55
7.1.	Patientencharakteristika.....	55
7.1.1.	Basisdaten aller Patienten.....	55
7.1.2.	Vergleich der Basisdaten unterteilt in Calcitriol- und Placebogruppe	56
7.2.	Knochendichtemessungen	57
7.2.1.	Digitale Radiographie.....	57
	7.2.1.1.Knochendichteausgangswerte aller Patienten	57
	7.2.1.2.Knochendichteverlaufswerte unterteilt in Calcitriol- und Placebogruppe	59
7.2.2.	Quantitative Computertomographie	61
7.2.3.	Konventionelle Röntgenuntersuchung	62
	7.2.3.1.Frakturnrate bei der Basisuntersuchung aller Patienten	62
	7.2.3.2.Frakturnrate im Verlauf unterteilt in Calcitriol- und Placebogruppe ..	63
7.3.	Biochemische Untersuchungen	64
7.3.1.	Knochenstoffwechselfparameter	64
	7.3.1.1.Basisdaten der Knochenstoffwechselfparameter	64
	7.3.1.2.Knochenstoffwechselfparameter nach Randomisierung und im Verlauf ..	66
7.3.2.	Sexualhormonstatus.....	67
7.3.3.	Spezifische Knochenmarker	69
	7.3.3.1.Basisdaten aller Patienten	69
	7.3.3.2.Knochenmarker nach Randomisierung und im Verlauf	73
8.	Diskussion	77
8.1.	Knochendichtemessungen	77
8.1.1.	Knochendichteminderung nach Herztransplantation	77
8.1.2.	Knochendichte im Verlauf unter Therapie	78
8.2.	Frakturen.....	81
8.2.1.	Frakturnrate nach Herztransplantation	81
8.2.2.	Frakturen im Verlauf unter Therapie.....	82
8.3.	Spezifische Knochenmarker	83
8.3.1.	Knochenmarkerausgangswerte	83
8.3.2.	Knochenmarker unter Studienmedikation	85
8.4.	Hyperparathyreoidismus.....	85
8.4.1.	Parathormonspiegel nach Herztransplantation	85
8.4.2.	Verlauf des Parathormonspiegels unter Studienmedikation.....	87
8.5.	Hypogonadismus	88
9.	Zusammenfassung	91
10.	Literaturverzeichnis	95
11.	Danksagung	111

1. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Anzahl der Herztransplantationen (Stehlik 2012)	15
Abbildung 2: Darstellung der zentralen Rolle des Osteoblasten für die Regulation der Differenzierung und Aktivität des Osteoklasten durch das OPG-RANKL-System (Bartl 2008)	21
Abbildung 3: Regulation der Osteoklastengnese (Hofbauer 2000)	23
Abbildung 4: Manifestation der Osteoporose an der Wirbelsäule (Dirisamer 2002).....	25
Abbildung 5: a) QCT an der LWS (Schild 92).....	26
b) Auswertung für spongiösen und kortikalen Knochen (Schild 92).....	26
Abbildung 6: Aufbau Dual-Energy-X-Ray-Absorptiometrie (Hologic QDR-1000) (Schild 92).....	28
Abbildung 7: a) Knochendichtemessung mit QDR (Lunar Expert XL): LWS a.p. (Schild 92)	29
b) Knochendichtemessung mit QDR (Hologic QDR): LWS von lateral (Donhauser 95)	29
Abbildung 8: Klinische Parameter der Knochenresorption und Knochenneubildung (Pfeilschifter 90)	31
Abbildung 9: Mechanismus des Knochenmasseverlustes nach Transplantation (Kulak 2006).....	38
Abbildung 10: Mechanismus der Glucocorticoid-induzierten Osteoporose (Patschan 2001)	39
Abbildung 11: Korrelation der Knochendichte in Abhängigkeit vom Zeitpunkt nach HTx.....	57
Abbildung 12: BMD im Vergleich bei Patienten nach HTx mit Fraktur und ohne Fraktur.....	58
Abbildung 13: BMD im Vergleich bei hypogonaden und normogonaden Patienten nach HTx.....	59
Abbildung 14: Jährliche Knochendichteänderung bis zu 3 Jahre nach Studieneinschluss unterteilt in Calcitriol- und Placebogruppe	60
Abbildung 15: Knochendichteänderung im ersten Jahr nach HTx bei frühpostoperativ (3±2 Monate) randomisierten Patienten unterteilt in Calcitriol- und Placebogruppe	60

Abbildung 16: Mineralsalzgehalt im QCT nach Herztransplantation.....	61
Abbildung 17: Vertebrale Knochendichte früh (< 6 Monate) und spät (> 6 Monate) postoperativ nach orthotoper Herztransplantation im Vergleich zum Normalkollektiv	62
Abbildung 18: Alter der Patienten mit und ohne Fraktur nach HTx	63
Abbildung 19: Frakturnrate der Calcitriol- und Placebogruppe im Vergleich im Verlauf von 3 Jahren....	64
Abbildung 20: Verlauf des intakten Parathormons bei Einschluss in die Studie und nach 12 Monaten ..	66
Abbildung 21: Korrelation zwischen Testosteron und dem Zeitpunkt nach Herztransplantation	68
Abbildung 22: Korrelation zwischen Pyridinolin und dem Zeitpunkt nach Herztransplantation	70
Abbildung 23: Ausgangswerte der Knochenresorptionsmarker der früh postoperativ untersuchten Patienten im Vergleich zu den übrigen Patienten an den Beispielen: Pyridinolin (PYD)	71
Abbildung 24: Desoxypyridinolin (DPD)	71
Abbildung 25: Aminoterminales Kollagen Typ I Telopeptid (NTx)	72
Abbildung 26: Korrelation zwischen Pyridinolin und dem frühen Zeitpunkt nach HTx.....	72
Abbildung 27: Verlauf der spezifischen Knochenmarker, am Beispiel NTx nach Randomisierung, sowie nach 3 und 12 Monaten in der Placebo-und Calcitriolgruppe	74

2. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Charakteristika der 101 Patienten nach orthotoper Herztransplantation unter einer Immunsuppression mit Cyclosporin A.....	55
Tabelle 2: Charakteristika von 23 Patienten früh nach HTx	55
Tabelle 3: Patientencharakteristika nach HTx unterteilt nach Calcitriol und Placebo (n=101).....	56
Tabelle 4: Basisdaten der biochemischen Untersuchungen nach Herztransplantation	65
Tabelle 5: Biochemische Untersuchungen nach Randomisierung und nach 12 Monaten	67
Tabelle 6: Basisdaten des Sexualhormonstatus nach HTx	68
Tabelle 7: Spezifische Knochenmarker nach HTx.....	69
Tabelle 8: Spezifische Knochenmarker nach Randomisierung bei der Basisuntersuchung sowie der Kontrolle nach 3 und 12 Monaten.....	73
Tabelle 9: Spezifische Knochenmarker der Subgruppe nach Randomisierung bei der Basis- untersuchung sowie der Kontrolle nach 3 und 12 Monaten (n=23).....	75

3. Abkürzungsverzeichnis

ACTH	Adrenokortikotropes Hormon
AMP	Adenosinmonophosphat
BMP	Bone morphogenetic protein
Ca	Calcium
Calcitriol	1,25 Dihydroxy- Vitamin D3
cAMP	Zyklisches Adenosinmonophosphat
Cr	Creatinin
CrCl	Creatininclearance
C RH	Corticotropin releasing hormone
C y A	Cyclosporin A
DNA	Desoxyribonukleinsäure
D PD	Desoxypyridinolin
DXA	Engl. Dual X-ray Absorptiometry, Zwei-Spektren-Absorptiometrie
FGF	Fibroblast growth factor
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
GH	Engl. Growth hormone, Wachstumshormon
GM-CSF	Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
GnRH	Gonadotropin-releasing Hormon
HCG	Human Chorionic Gonadotropin
HTx	Herztransplantation
IFN γ	Interferon γ
IGF	Insulin-like growth factor
IGFBP	Insulin-like growth factor Bindungsprotein
IL	Interleukin
iPTH	Intaktes Parathormon
LH	Luteinisierendes Hormon
LWS	Lendenwirbelsäule
M-CSF	Macrophage colony-stimulating factor
MHC	Major Histocompatibility Complex
NTx	Aminotermiales Kollagen Typ I Telopeptid
n.s.	Nicht signifikant
PGE2	Prostaglandin E2

PGF	Prostaglandin F
Pyd	Pyridinolin
QCT	Quantitative Computertomographie
RNA	Ribonukleinsäure
SD	Standardabweichung
SHBG	Sexualhormon-bindendes Protein
Sv	Sievert
fT 3	Freies Trijodthyronin
fT4	Freies Tetrajodthyronin
TGF β	Transforming growth factor β
TNF	Tumornekrose Faktor
TRH	Thyreotropin releasing hormone
TSH	Thyroid stimulating hormone, Thyreotropin
WHO	World Health Organisation

4. Einleitung

Während der letzten vier Jahrzehnte hat sich die orthotope Herztransplantation zu einer etablierten Behandlungsmethode der terminalen Herzinsuffizienz entwickelt. Die tierexperimentellen Grundlagen dazu wurden von Lower und Shumway an den Universitäten Minneapolis und Stanford erarbeitet und 1960 publiziert (Lower 60). 1967 und 1968 wurden die ersten primär erfolgreichen menschlichen Herzverpflanzungen durchgeführt. Längerfristig war in dieser Anfangsphase der postoperative Verlauf mit 1-Jahresüberlebensraten um 20 % allerdings enttäuschend. Der Durchbruch zur erfolgreichen klinischen Anwendung gelang erst in den folgenden Jahren durch die Entwicklung effektiver Immunsuppressiva und damit die Verhinderung akuter Abstoßungsreaktionen.

Seit 1980 kam es mit der Einführung des Immunsuppressivums Cyclosporin A weltweit zu einem drastischen Anwachsen der Transplantationsrate (siehe Abbildung 1).

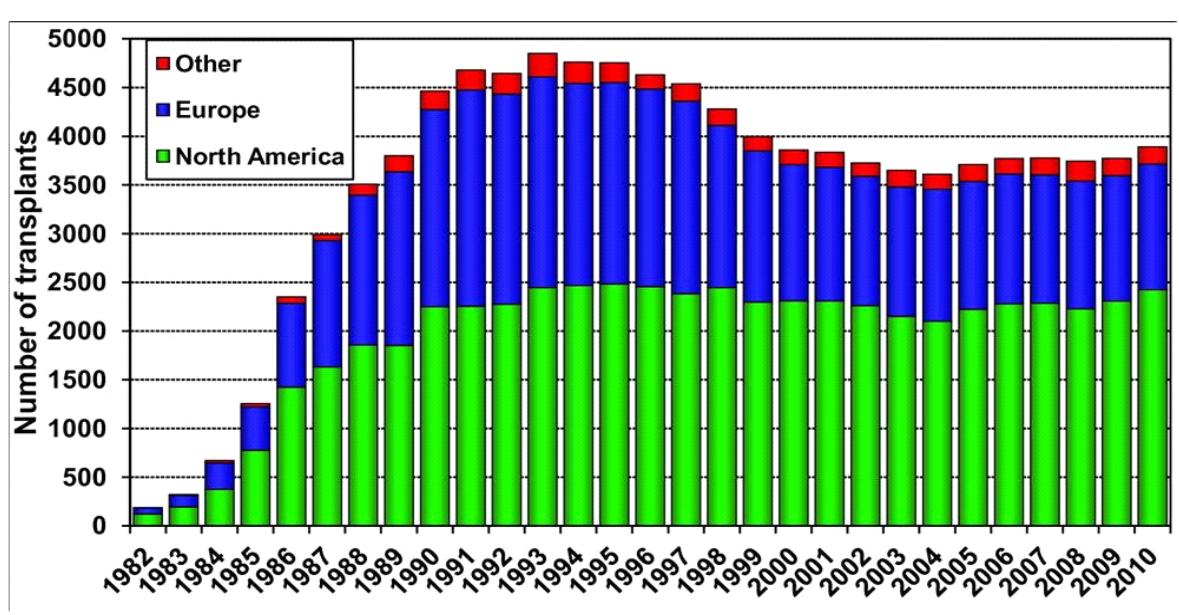


Abbildung 1: Anzahl der Herztransplantationen pro Jahr (Stehlik 2012)

1994 wurde mit weltweit über 4460, die bislang höchste Anzahl von Herztransplantationen pro Jahr erreicht. Insgesamt sind mittlerweile 85000 Patienten im Register der Internationalen Gesellschaft für Herztransplantation erfasst (Taylor 2009).

Seit 1994 jedoch nimmt die Anzahl der jährlich durchgeführten Transplantationen kontinuierlich ab. In erster Linie ist dies auf den limitierten Pool an geeigneten Spenderherzen, aber auch auf eine insgesamt abnehmende Registrierung, zurückzuführen. In den letzten Jahren hat sich eine Stabilisierung auf ca. 3300 Transplantationen pro Jahr gezeigt.

Die 1-Jahresüberlebensrate liegt derzeit bei 80-90 %, die mittlere Überlebenszeit beträgt derzeit 10 Jahre.

Die Patienten, die das erste postoperative Jahr überleben, haben eine mittlere Überlebenszeit von etwa 13 Jahren. Zwischen dem ersten und dem fünfzehnten Jahr nach HTx beträgt die jährliche Mortalitätsrate 3,5 % (Taylor 2006 und 2009).

Viele Faktoren sind für den Anstieg der Überlebensraten verantwortlich. Während wie bereits erwähnt, die Entdeckung von Cyclosporin A und anderen verwandten immunsuppressiven Substanzen den vielleicht wichtigsten Einzelfortschritt bedeuteten, haben aber auch das Erarbeiten differenzierter Empfänger- und Spenderkriterien sowie die Einführung der Endomyokardbiopsie und eine aggressive Abstoßungs- und Infektionstherapie zur weiteren Zunahme des Langzeitüberlebens beigetragen (Hornbostel 92). Durch die wachsende Zahl an Langzeit-überlebenden Patienten ergeben sich aber auch zunehmende Probleme und Erkrankungen, die hauptsächlich durch die lebenslange immunsuppressive Therapie bedingt sind. So sind neben dem Auftreten z.B. eines arteriellen Hypertonus, einer chronischen Niereninsuffizienz, einer Hyperlipidämie oder eines Diabetes mellitus, insbesondere auch die Entwicklung einer progredient verlaufenden Osteoporose zu nennen. Erst in den letzten ca. 20 Jahren wurde der erhebliche Einfluss der Immunsuppressiva auf den Knochenstoffwechsel offensichtlich. Gerade in der frühen postoperativen Phase nach Transplantation kommt es durch die Effekte von hoch dosierten Glukokortikoidgaben in Kombination mit anderen immunsuppressiven Medikamenten wie z. B. Cyclosporin A oder Tacrolimus besonders an der Wirbelsäule und am Oberschenkelknochen zu einem raschen Knochenmasseverlust.

Shane et al. konnten bereits vor Transplantation bei 43% der terminal herzkranken Patienten eine Osteopenie und bei 7 % eine Osteoporose, infolge von Immobilität, Malnutrition, Kachexie sowie jahrelanger Therapie mit Diuretika und Antikoagulantien feststellen (Shane/Mancini 97).

Nach HTx kommt es dann insbesondere im ersten postoperativen Jahr zu einer erheblichen Abnahme des Mineralsalzgehaltes. Es wurde in unterschiedlichen Studien eine Abnahme der Knochendichte in den ersten 6 Monaten von 6-11 % sowie Frakturraten von 14-65 % im postoperativen Verlauf beschrieben (Sambrook 94, Berguer 94, Thiebaud 96, Shane/Rivas 97, Valimaki 99, Cohen 2003, Stein 2007). Dies kann wesentliche Einschränkungen der Lebensqualität und kostenintensive Behandlungen nach sich ziehen.

Die Diagnostik, Therapie und Prävention der Posttransplantations-Osteoporose sind das Thema der nachfolgenden wissenschaftlichen Arbeit .

In der vorliegenden Studie, deren Ergebnisse auch vorab veröffentlicht worden sind (Stempfle HU et al.: Prevention of osteoporosis after cardiac transplantation. Transplantation 1999; 68: 523-530), wurde bei 101 Patienten nach Herztransplantation der Einfluss einer auf Cyclosporin A basierenden immunsuppressiven Kombinationstherapie auf den Knochenstoffwechsel untersucht.

Nachfolgend wurde im longitudinalen Verlauf bis zu drei Jahren erforscht, ob und in welchem Ausmaß, Calcium, Vitamin D-Metaboliten und eine Hormonsubstitution bei nachgewiesenem Hypogonadismus zur Verbesserung der Knochendichte und Abnahme der Frakturrate führen können.

Folgende Fragestellungen sollen bearbeitet und geklärt werden:

1. Wie häufig tritt ein Osteopathie, gemessen mittels des Mineralsalzgehaltes der LWS und der Knochenresorptionsparameter Pyridinolin, Desoxypyridinolin und des aminoterminalen Kollagens Typ I Telopeptid (NTx) sowie der Knochenformationsmarker Alkalische Phosphatase, Osteocalcin und der Prokollagen Typ I-Propeptide nach Herztransplantation auf?
2. Wie hoch ist die Frakturrate nach orthograder Herztransplantation?
3. Wie wirkt sich die Immunsuppression auf die Nierenfunktion, auf den Parathormon- und Vitamin D-Haushalt aus? Welche Ursachen liegen den Veränderungen zugrunde?
4. Wie ausgeprägt ist der Einfluss von Herztransplantation und Langzeitimmunsuppression auf den Sexualhormonhaushalt und wie wirkt sich das auf den Knochenstoffwechsel aus?
5. Ist eine Hormonsubstitution bei nachgewiesenem Hypogonadismus im Hinblick auf die Knochendichte sinnvoll?
6. Sind eine Calciumsubstitution und eine Normalisierung des Sexualhormonhaushaltes als alleinige Therapie der Osteopathie ausreichend oder ist eine zusätzliche Gabe von Vitamin D-Metaboliten notwendig?

5. Hintergrund

5.1. Definition der Osteoporose

Die frühere Diagnose der Osteoporose forderte den röntgenologischen Nachweis einer verminderten Knochenmasse (mindestens 30 % Mineralsalzverlust) in Verbindung mit Frakturen. Die Möglichkeit, die Knochenmasse exakt zu quantifizieren, eröffnete den Einschluss des präklinischen Stadiums der manifesten Osteoporose (Ziegler 96).

Osteoporosen sind metabolische Knochenerkrankungen, bei denen durch eine Verminderung der Knochenmasse, -struktur und -funktion bereits bei einem geringfügigen Trauma eine Fraktur eintreten kann (Pfeifer 2001). Bis zum heutigen Zeitpunkt sind die Expertendiskussionen und -meinungen zum Thema Osteoporosedefinition keineswegs abgeschlossen und einheitlich. Die klassische Osteoporosedefinition von Albright lautete: „Too little normal bone“ (Dambacher 92).

Folgende Krankheitsdefinition wurde schließlich 1994 von der Weltgesundheitsorganisation veröffentlicht (Bezugspunkt ist dabei die sogenannte „Peak Bone Mass“, also der Knochenmineralgehalt, dessen Maximum etwa um das 30. Lebensjahr erreicht wird): Knochendichtewerte, die innerhalb einer Standardabweichung um die Peak Bone Mass (der entsprechenden Normalpopulation) streuen, gelten als normal. Weicht der Knochenmineralgehalt um mehr als -2,5 SD vom Mittelwert der Peak Bone Mass (T-Score < -2,5) ab, spricht man von einer Osteoporose, wobei man Messergebnisse, die zwischen -1 und -2,5 SD liegen, als Osteopenie bezeichnet. Liegt zusätzlich eine Fraktur vor, handelt es sich um eine manifeste Osteoporose (WHO 1994, Kanis 2000, Pfeifer 2001). Anhand der Knochendichte kann dann auch das Frakturrisiko folgendermaßen definiert werden: Es besteht kein Frakturrisiko bei einer Verminderung des T-Wertes von weniger als einer SD in der Zwei-Spektren-Röntgenabsorptiometrie (DXA) bzw. bei einem Mineralsalzgehalt über 120 mg/ml in der quantitativen Computertomographie (QCT). Kein signifikant erhöhtes Frakturrisiko ist bei der Abnahme des T-Wertes um 1 bis 2,5 SD in der DXA und bei einem Mineralsalzgehalt von 80 bis 120 mg/ml vorhanden. Ein signifikant erhöhtes Frakturrisiko besteht bei einem T-Wert über -2,5 SD bzw. einem Mineralsalzgehalt unter 80mg/ml (Engelke 2002).

Nach einer weiteren Definition des National Institute of Health (NIH) von 2000 wird die Osteoporose als eine Skeletterkrankung bezeichnet, die aufgrund unzureichender Knochenfestigkeit zu einem erhöhten Frakturrisiko prädisponiert. Die Knochenfestigkeit wird durch das Zusammenwirken des Mineralsalzgehaltes des Knochens und der Knochenqualität

determiniert. Man geht davon aus, dass die Knochenfestigkeit zu etwa 70% durch die Knochendichte bestimmt wird (NIH 2000).

Des Weiteren werden im Wesentlichen zwei Formen der Osteoporose unterschieden, zum einen die primäre und zum anderen die sekundäre Osteoporose. Hierbei entspricht die primäre Form einer idiopathischen Osteoporose, d.h. einer Osteoporose mit unbekannter Ätiologie, während der sekundären Form, bekannte Ursachen wie z.B. endokrine Störungen oder gastrointestinale Erkrankungen, aber auch die Verabreichung bestimmter Medikamente oder generalisierte Inaktivität, zugrunde liegen. Innerhalb der primären Osteoporoseformen werden hauptsächlich die Begriffe Typ I- und Typ II-Osteoporosen verwendet.

Die Typ I-Osteoporose entspricht der Osteoporose nach Hormonmangel, der sogenannten Postmenopausenosteoporose. Hierbei tritt der Knochenmasseverlust vorwiegend im Bereich der Spongiosa auf und es werden vorzugsweise Frakturen am Stammskelett (Wirbelkörperfrakturen) beobachtet. Außerdem erfolgt die Manifestation erst nach der fünften Lebensdekade.

Die Typ-II-Osteoporose (senile Osteoporosen) zeigt ein späteres Auftreten, im Alter zwischen 60 - 70 Jahren. Hierbei kommt es zum generalisierten, d.h. sowohl die Spongiosa als auch die Kompakta betreffenden Knochenmasseverlust, was besonders in Radius- oder Schenkelhalsfrakturen seinen Ausdruck findet (Schild 92).

5.2. Pathophysiologie der Osteoporose

Die Knochengrundsubstanz des Menschen wird kontinuierlich durch Resorption von Knochen mit Hilfe von Osteoklasten und durch die Knochenformation der Osteoblasten umgebaut und ersetzt, was als „Remodeling“ bezeichnet wird. Dieses Prinzip von Knochenresorption und -neubildung hat sich in der Osteologie unter dem Begriff des Coupling etabliert. Der Ablauf dieses Couplings findet in kleinen, lokalen und definierten Einheiten von Zellansammlungen statt. Diese Umbaueinheiten werden „bone remodeling units“ (BRU) genannt (Marcus 92). Die Entdeckung des RANK-Ligand (RANKL)/Osteoprotegerin (OPG)-Systems hat zu einem neuen Verständnis des Coupling geführt.

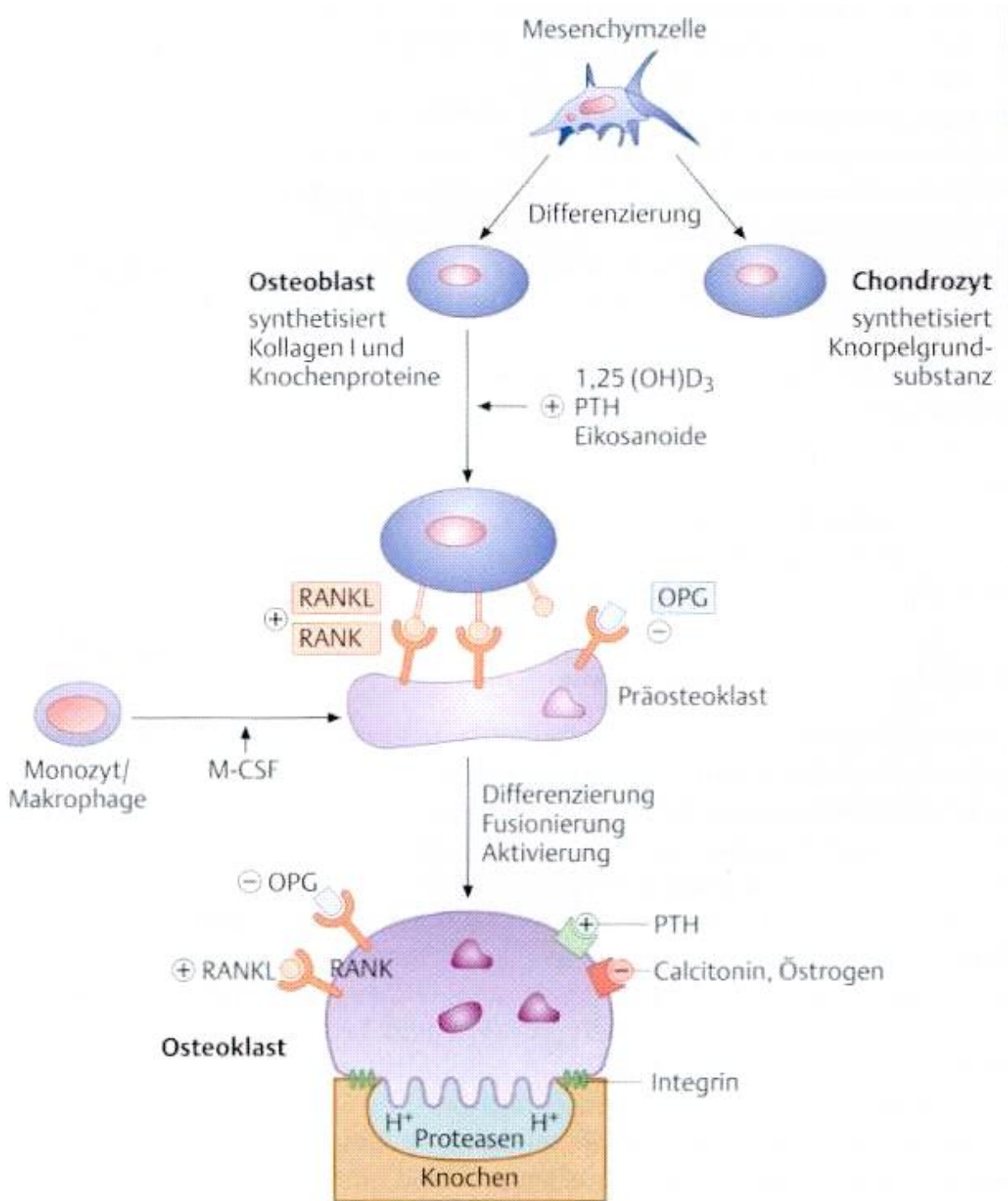


Abbildung 2: Darstellung der zentralen Rolle des Osteoblasten für die Regulation der Differenzierung und Aktivität des Osteoklasten durch das OPG-RANKL-System (Bartl 2008)

RANK-Ligand (receptor-aktivator of NF κ B-Ligand) ist ein Tumornekrosefaktor, der in der Membran der Osteoblasten exprimiert wird, aber auch als sezernierte Form existiert. RANK-Ligand kann an einen Rezeptor (receptor aktivator of NF κ B=RANK) in der Osteoklastenmembran binden, wodurch sowohl eine Differenzierung und Proliferation von

Osteoklastenvorstufen als auch eine Aktivierung von reifen Osteoklasten ausgelöst werden kann. Zusätzlich hemmt diese Bindung die Apoptose der Osteoklasten, d.h. die Lebensdauer aktiver Osteoklasten wird verlängert.

Im Gegensatz dazu steht das Osteoprotegerin (OPG), das ebenfalls von den Osteoblasten als löslicher Rezeptor sezerniert wird und sich an den RANK-Liganden bindet. Die Bindung von Osteoprotegerin inaktiviert auf diese Weise den RANK-Ligand. Ausführliche Untersuchungen der letzten 10 Jahre haben gezeigt, dass letztlich das quantitative Verhältnis von Osteoprotegerin zu RANK-Ligand darüber entscheidet, ob eher die knochenaufbauende Funktion der Osteoblasten oder aber die knochenabbauende Aktivität der Osteoklasten überwiegt (Hüfner 2003, Hofbauer 2000).

Es konnte nachgewiesen werden, dass beispielsweise Glukokortikoide, Östrogendefizit oder auch aktivierte T-Zellen das Verhältnis von RANK-Ligand zu Osteoprotegerin erhöhen und so die Knochenresorption fördern (Hofbauer 2004).

Präklinische Untersuchungen bestätigen ebenfalls die wichtige Rolle von RANK und RANK-Ligand bei der Regulation des Mineralgehaltes des Knochens. So weisen Mäuse mit inaktiviertem RANK-Gen verkürzte und keulenförmige Röhrenknochen auf (Li 2000). Dagegen konnte bei OPG-Überexpression durch eine permanente Suppression des RANKL eine stark verminderte Osteoklastogenese nachgewiesen werden. Die Form der Knochen war normal, jedoch war deren Mineralgehalt deutlich erhöht. Im Gegensatz dazu kam es bei OPG-Knockout-Mäusen zu einem Verlust der Knochenmineraldichte, da durch das OPG-Defizit die Osteoklastenaktivität gesteigert wird. Diese Mäuse zeigten bereits im frühen Lebensalter Spontanfrakturen (Simonet 97, Bucay 98).

Ross et al. untersuchten am Rattenmodell den Einfluss einer Behandlung mit OPG auf die Knochenstärke bzw. Bruchschwelle. Es konnte insgesamt eine Verbesserung der mechanischen Eigenschaften des Femurknochens, d.h. eine Anhebung der Frakturschwelle bei Krafteinwirkung, sowie eine höhere Mineraldichte erreicht werden (Ross 2001).

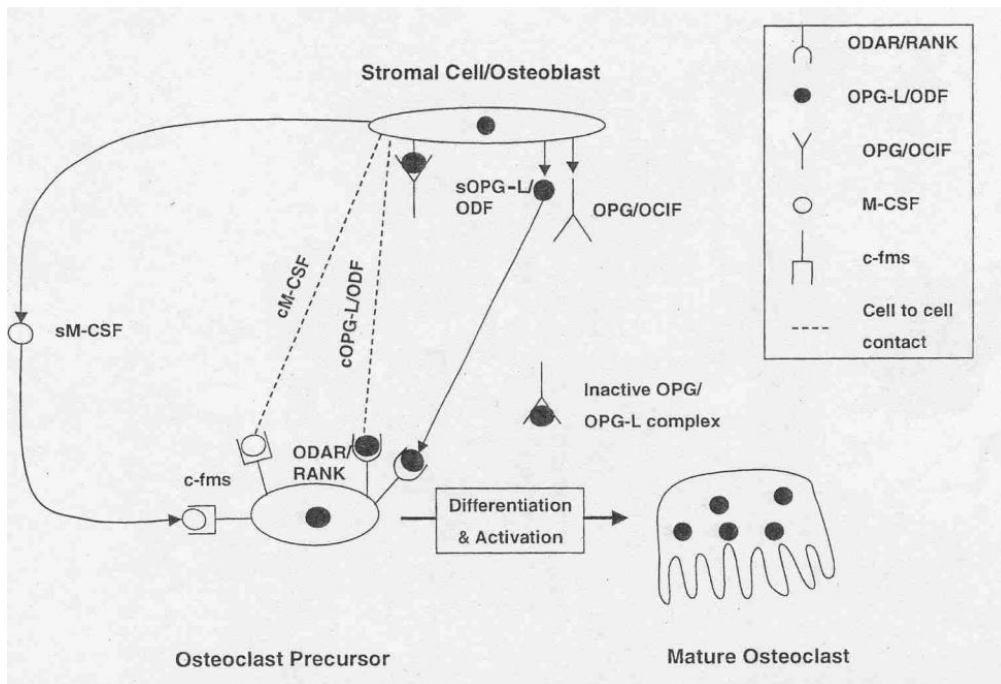


Abbildung 3: Regulation der Osteoklastengnese (Hofbauer 2000)

Gesteuert wird das Coupling durch eine Vielzahl unterschiedlicher Faktoren wie z.B. durch Calcium, Calcitonin, Vitamin-D-Metaboliten, Hormonen, Prostaglandinen und unterschiedlichen lokal wirksamem Zytokinen. Beim Erwachsenen gibt es ca. zwei Millionen solcher Umbauzonen, so dass jährlich etwa 25 % des trabekulären Knochens und etwa 3 % des kortikalen Knochens erneuert werden. Normalerweise kommt es zu keiner nennenswerten Änderung der Knochenmasse, da Knochenresorption und -neubildung miteinander im Gleichgewicht stehen. Wenn jedoch einer der beiden Prozesse überwiegt, kommt es zu einer Zu- oder Abnahme der Knochenmasse. Unterscheiden muss man nach metabolischen Charakteristika hierbei den sogenannten „high turnover“ vom „low turnover“. Beim „high turnover“ kann der Knochenmasseverlust durch gesteigerten Umbau erklärt werden. Die postmenopausale Osteoporose z.B. zählt zu den häufigsten Vertretern einer High-turnover-Osteoporose. Dagegen bezeichnet man eine Low-turnover-Osteoporose als Knochenmassenverlust mit reduziertem Umbau, wie er z.B. bei der senilen Osteoporose beobachtet werden kann (Schild 92).

5.3. Diagnostik der Osteoporose

Die Diagnostik der Osteoporose kann nach Berücksichtigung von Anamnese, körperlicher Untersuchung, Laboruntersuchungen, Röntgendiagnostik, Ultraschall und Knochenhistologie gestellt werden. Der Einsatz von Knochendichtemessungen, Ultraschall und Bestimmung der Knochenmarker hat im Laufe der letzten Jahre zunehmend an Bedeutung für die Diagnosestellung und Verlaufskontrolle gewonnen.

5.3.1. Radiologische Methoden

5.3.1.1. Konventionelle Röntgendiagnostik

Neben einer reduzierten Knochendichte werden bei der Osteoporose Änderungen der Knochenstruktur und -form sowie Frakturen beobachtet. Da mindestens eine 30 %-Reduzierung der mineralisierten Knochenmasse vorliegen muss, damit im konventionellen Röntgen-Bild sicher eine Osteopenie erkannt werden kann, ist eine Frühdiagnose anhand dieses Verfahrens nicht möglich (Epstein 86). Neben der eigentlichen Knochenmasse bzw. Mineralisation beeinflussen eine Vielzahl von Faktoren wie z.B. falsche Belichtungsparameter, Überlagerungen und subjektive untersucherabhängige Kriterien, wie sich ein Knochen auf dem Röntgenbild abbildet und hinsichtlich seiner Mineralisation eingeschätzt wird (Cockshot 83). Die Wirbelsäule ist bei der generalisierten Osteoporose meist mit befallen. Im konventionellen Röntgenbild lassen sich aber eine Zunahme der Knochentransparenz, Verdünnung der Kortikalis und Wirbelkörperdeformierungen erkennen. (Schild 92).



Dirisamer A, Grampp S Journal für Mineralstoffwechsel 2002; 9 (4): 7-15
©

Abbildung 4: Manifestation der Osteoporose an der Wirbelsäule (Dirisamer 2002)

Insgesamt hat die konventionelle Röntgendarstellung weniger eine Bedeutung für die Objektivierung der Diagnose einer Osteoporose, als vielmehr für den Nachweis oder Ausschluss osteoporosebedingter Komplikationen.

Osteodensiometrische Verfahren wie die quantitative Computertomographie (QCT) oder absorptiometrische Methoden messen sehr viel zuverlässiger und frühzeitiger den Knochenschwund (Schild 92).

5.3.1.2. Quantitative Computertomographie

Die Computertomographie wurde schon Ende der 70-iger Jahre, also mit ihrer Einführung in die Klinik, für die Knochenmineralmessungen am Stammskelett eingesetzt (Schild 92). Hauptmessorte für die zentrale QCT sind die LWS und der distale Unterarm.

Untersuchungen der LWS werden mit klinischen Ganzkörperperitomographen durchgeführt. Dafür existieren spezielle Aufnahme- und Auswerteprotokolle. Der entscheidende Vorteil besteht darin, dass Überlagerungseffekte vermieden werden, dass spongiöser und kortikaler Knochen getrennt beurteilt werden können und dass gleichzeitig ein Bild von hoher Qualität vorliegt (Schild 92, Engelke 2002).

Mit der QCT wird die Konzentration des Knochenmineralgehaltes innerhalb einer definierten Auswerteregion (ROI, region of interest) bestimmt. Die Konzentration wird als Knochenmineraldichte (BMD, bone mineral density) bezeichnet und in g/cm^3 angegeben.

Dabei werden die gemessenen CT-Werte mit Hilfe eines Kalibrierphantoms in äquivalente Knochenmineraldichtewerte umgerechnet. (Engelke 2002).

Die WHO-T-score Definition ist jedoch für das QCT nicht gültig (Blake 2007). Es werden stattdessen die oben bereits genannten absoluten Werte verwendet.

Die Strahlenbelastung (verwendete Energie: 75 - 85 KW, alternativ 120-140 KW) einer Untersuchung liegt bei ca. 60 mSv (Mikrosievert). Die Genauigkeit der Methode liegt bei 5-10%, die Reproduzierbarkeit bei 1-3 % (Kalender 91).

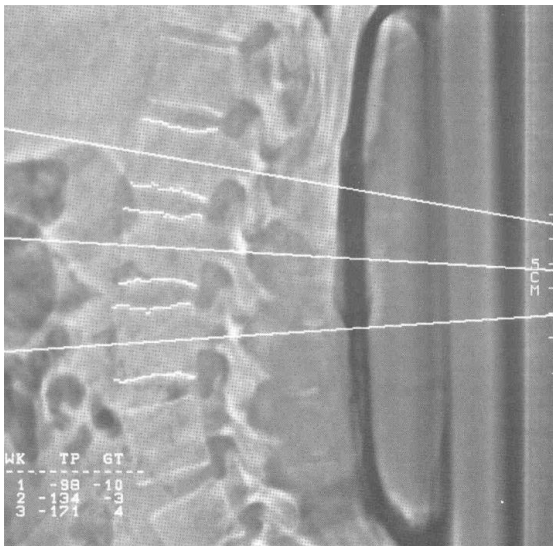


Abbildung 5a: QCT an der LWS (Schild 92)

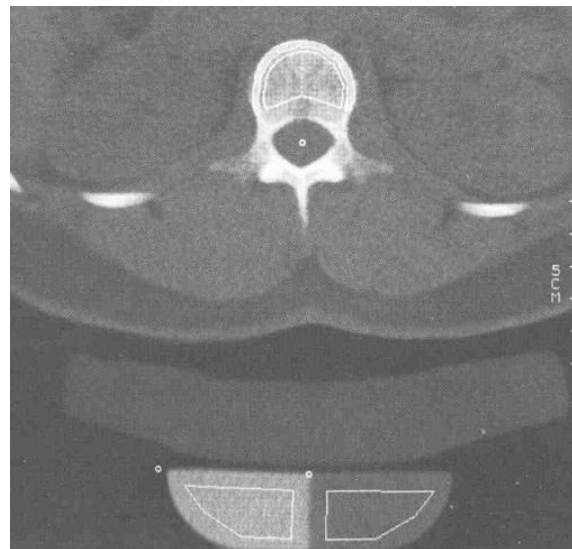


Abbildung 5b: Auswertung für spongiösen und kortikalen Knochen (Schild92)

5.3.1.3. Osteodensitometrie

Die Absorptiometrie stellte das erste quantitative Verfahren zur Bestimmung der Knochenmasse dar. Sie wurde in den 60-iger Jahren von Cameron und Sorenson eingeführt und hat seitdem zahlreiche Weiterentwicklungen und Verbesserungen erfahren. Alle absorptiometrischen Methoden basieren auf Messungen, die angeben, wie stark ein Photonenstrahl, gleichgültig, ob von einer Radioisotopen- oder von einer Röntgenquelle ausgehend, durch das Objekt geschwächt wird (Schild 92). Die Osteodensitometrie ist also ein nicht invasives Verfahren, das die Schwächung ionisierender Strahlung im Knochengewebe misst (Gowin 97). Alle im Strahlengang liegenden, einander überlagernden calciumhaltigen Strukturen werden in ihrer Summe erfasst. Es handelt sich immer um integrale Messungen, eine Trennung von Kortikalis und Spongiosa ist nicht möglich (Schild 92).

Seit Anfang der 90-iger Jahre hat sich die Messung des Knochenmineralsalzgehaltes durch die Dual-Energy-X-Ray-Absorptiometrie (DEXA)-Technik etabliert. Das Prinzip der Knochendichtemessung mittels Absorptiometrie soll beispielhaft für die Lendenwirbelsäule erläutert werden. Mittels einer Röntgenröhre werden zwei Photonenstrahlen unterschiedlicher Energie erzeugt, die beim Durchgang durch den Körper geschwächt werden. Durch die unterschiedliche Absorption der beiden Strahlen kann der störende Einfluss von Weichteilen und Fett rechnerisch eliminiert werden. Die Messung erfolgt meist am zweiten bis vierten Lendenwirbelkörper im posterioren-anterioren oder lateralen Strahlengang. Die Reproduzierbarkeit liegt bei den modernen Geräten bei ein bis zwei Prozent, die Messzeit bei weniger als fünf Minuten. Die Angabe der Knochendichte erfolgt als Mineralsalzgehalt in Gramm pro cm^2 der gemessenen Wirbelkörperfläche (Pfeilschifter 97). Der Vorteil dieser Untersuchungsmethode liegt in der geringen Strahlenbelastung (ca. 1 mSV/Untersuchung), in der guten Verfügbarkeit, vielseitigen Anwendung und in der zwischenzeitlich fortgeschrittenen Standardisierung der LWS-Messungen.

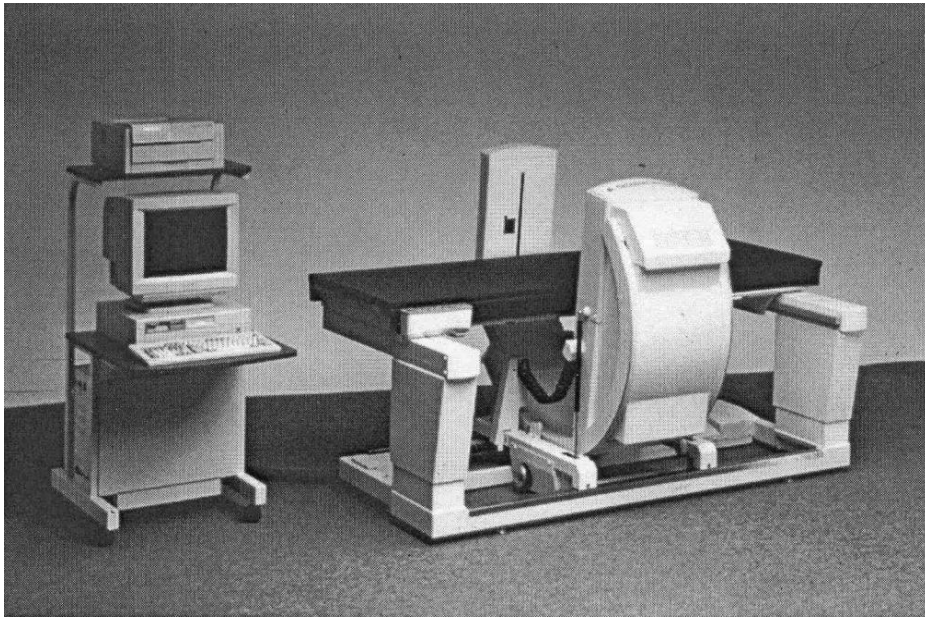


Abbildung 6: Aufbau Dual-Energy-X-Ray-Absorptiometrie Gerät (Hologic QDR-1000) (Schild 92)

Eine unkritische Beurteilung der Messwerte führt jedoch zu Fehleinschätzungen. Höhergradige Osteoarthrosen, Aortenverkalkungen, Skoliosen und zusammen gesinterte Wirbel können zu falsch hohen Messungen führen. Zum Teil unterscheiden sich die Knochendichtemessgeräte bezüglich der Messmethoden, der Messregionen und der Kalibrierung. Am meisten trifft dies wahrscheinlich für die Schenkelhalsregion zu. Deshalb sollte kein direkter Vergleich der Absolut- und Prozentwerte, sondern unbedingt der T- und Z-Werte verschiedener Messgeräte erfolgen. Diese Werte geben die Standardabweichung (SD) vom Mittelwert eines Kollektives von Personen ohne bekannte Knochenerkrankung, nach oben und unten an. Eine Abweichung um eine SD entspricht dabei in etwa 10 % Knochenmasse. Der Z-Wert gibt hierbei die Abweichung vom Mittelwert alters- und geschlechtsgleicher Personen, der T-Wert die Abweichung vom Mittelwert geschlechtsgleicher gesunder 30-jähriger an. Durch Transformierung in Z- und T-Werte lassen sich also Messungen verschiedener Geräte weitaus besser vergleichen. Trotzdem sollten Verlaufsmessungen wenn möglich auf dem gleichen Gerät durchgeführt werden. (Pfeilschifter 97).

Fischer und Mitarbeiter konnten bei einer vergleichenden Untersuchung an 10 DEXA-Geräten unterschiedlicher Hersteller Messdifferenzen von mehr als 20 % feststellen (Fischer 93). Mehrere prospektive Studien haben gezeigt, dass mittels der Knochendichtemessung eine Beurteilung der Frakturgefährdung möglich ist. Jede Abnahme der Knochendichte um eine SD vom Mittelwert, bedingt unabhängig vom Messort eine Verdoppelung des Frakturrisikos (Genant 96).

Darüber hinaus findet sich häufig der Begriff der „Frakturrisikogrenze“. Dieser bezeichnet einen Knochendichtewert, unter dem 90 % aller osteoporotischen Frakturen beobachtet werden. Dies entspricht in etwa einem T-Wert von -2SD (Kanis 94).

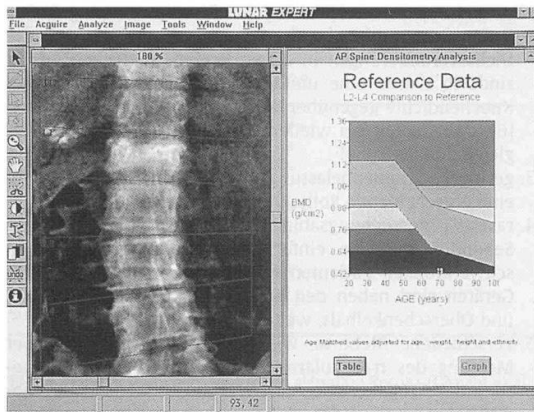


Abbildung 7a: Knochendichtemessung mit QDR (Lunar Expert XL): LWS a.p. (Schild 92)

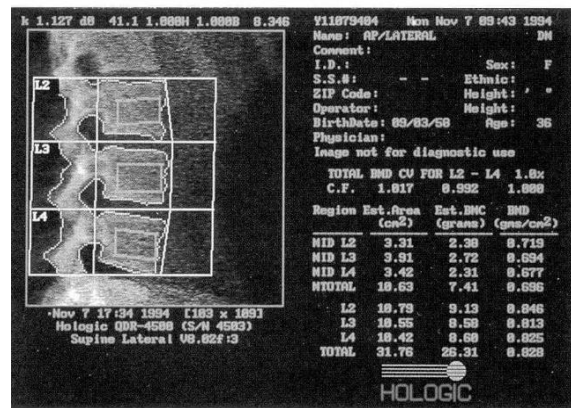


Abbildung 7b: Knochendichtemessung mit QDR (Hologic QDR 4500 A): LWS von lateral (Donhau. 95)

Die DXA an der LWS und/oder am proximalen Femur wird derzeit als das Verfahren der Wahl zur Bestimmung der Knochendichte empfohlen. Sie dient sowohl als Grundlage zur Abschätzung des Gesamtfrakturrisikos und zur Stellung der Diagnose Osteoporose im Sinne der WHO-Definition, als auch zur Kontrolle der Effektivität von Therapien.

Gründe hierfür sind ihre hohe Standardisierung, das Bestehen von umfangreichen Referenzdaten für unterschiedliche Patientenkollektive, die Möglichkeit zur Frakturprädiktion und die Tatsache, dass in Interventionsstudien zur Behandlung der Osteoporose die DXA-Messung sowohl zur Indikationsstellung als auch zur Verlaufsbeurteilung herangezogen wurde (Kanis 2005, Blake 2007).

5.3.2. Spezifische Marker des Knochenstoffwechsels

Die Knochenmasse wird kontinuierlich durch zwei gegenläufige, aber gekoppelte Aktivitäten erneuert. Das sind zum einen die Resorption durch die Osteoklasten, zum anderen die Knochenneubildung durch die Osteoblasten. Beide Zelltypen sind für den Abbau bzw. Aufbau der Knochengrundsubstanz verantwortlich. Diese besteht aus einer anorganischen Mineralphase und einer organischen Matrix, die zu 90% aus Typ I Kollagen und zu 10 % aus nicht-kollagenen Proteinen wie z.B. dem Osteocalcin besteht. Die An- und Abbauvorgänge des Knochens lassen sich durch Enzymaktivitäten der Osteoblasten (z.B. alkalische Phosphatase) bzw. durch die Messung der Knochenmatrixproteine, die ins Blut oder in den Urin abgegeben werden können, bestimmen (Seibel 93). Diese Knochenmarker spiegeln, im Gegensatz zu den radiologischen Messverfahren, die eine statische Momentaufnahme der Knochenmasse erfassen, den dynamischen Knochenstoffwechsel wieder. Veränderungen im Knochenumbau, wie vermehrte Knochenresorption und/oder eine pathologische Knochenformation können durch eigene Knochenmarker nachgewiesen werden (Walne 95). Sie können jedoch Knochendichtemessungen nicht ersetzen, sondern lediglich ergänzen (Eastell 2008).

Mehrere prospektive Studien bei postmenopausalen Frauen konnten eine Assoziation zwischen einem erhöhten Frakturrisiko und erhöhten Knochenumsatzmarkern, unabhängig von der Knochenmineraldichte nachweisen (Garnero 96 und 2000, Delmas 2000).

Neben ihrem Stellenwert in der Beobachtung der Therapie gelten die Knochenresorptionsmarker auch als mögliche Entscheidungshilfe für eine Therapieindikation bei Patienten mit fehlenden Osteoporoserisikofaktoren und verminderten Knochenmineraldichtewerten (Delmas 2000).

Im Folgenden wird eine kurze Übersicht der einzelnen biochemischen Marker des Knochenstoffwechsels, unterteilt nach Formation und Resorption, gegeben.

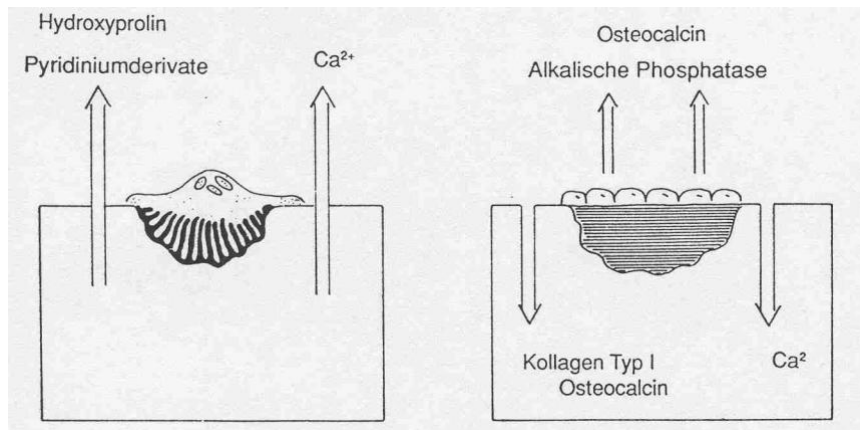


Abbildung 8: Klinische Parameter der Knochenresorption (links) und Knochenneubildung (rechts)
(Pfeilschifter 90)

5.3.2.1. Knochenformationsmarker

Alkalische Phosphatase (AP)

Die alkalische Phosphatasen (AP) bildet eine Familie von Isoenzymen, die in hoher Aktivität v.a. in der Leber und im Knochen, aber auch in Darm, Niere, Lunge und Plazenta nachzuweisen sind (Haag 95). Die hepatospezifischen und die osteoblastenspezifischen Enzyme werden vom gleichen Gen codiert; d.h. die Aminosäuresequenz dieser Isoenzyme ist identisch. Während die Gesamt-AP bei Lebergesunden als relativ zuverlässiger Index der Knochenneubildung gelten kann, ist ihre klinische Wertigkeit bei gleichzeitig bestehenden Lebererkrankungen zwangsläufig eingeschränkt. Aufgrund der höheren Spezifität und Sensitivität sollte deshalb der selektive knochenspezifische Nachweis des skelettalen Isoenzym bevorzugt werden. Hierfür wurden quantitative immunologische Assays eingeführt. Die knochenspezifische AP weist eine relativ hohe Anreicherung in den Osteoblasten auf und wird über zahlreiche Mechanismen in den Kreislauf abgegeben (Garnero 94, Seibel 2005). Dieser Marker ist sowohl zur Diagnose als auch zur Verlaufsbeobachtung von knochenformenden Prozessen geeignet.

Osteocalcin

Osteocalcin ist ein Vitamin K abhängiges und durch Vitamin D stimulierbares, Hydroxyapatit-bindendes Protein mit einem Molekulargewicht von 5800 Dalton (D) (Seibel 2005). Osteocalcin wird von den Osteoblasten während der Phase der Matrixmineralisation produziert (Risteli L 93). Circa 80% des Proteins werden direkt nach der Freisetzung aus den Osteoblasten in die Knochenmatrix inkorporiert (Seibel/Woitge 93). Ein kleiner Teil gelangt jedoch direkt in die Zirkulation, wo es einer raschen Biodegradation unterliegt und immunquantitativ nachweisbar ist (Seibel/Raue 93). Der Abbau erfolgt renal (Risteli L 93). Die Serumspiegel von Osteocalcin korrelieren gut mit der histomorphometrisch nachgewiesenen Knochenformationsrate. Allerdings zirkulieren im Serum sowohl intakte bzw. bioaktive Peptide als auch verschiedene Osteocalcin-Fragmente. Aus der hieraus resultierenden Heterogenität der Osteocalcin-Fragmente ergeben sich erhebliche Limitationen bei der klinischen Anwendung dieses a priori hochspezifischen Markers und können zu nicht zu vernachlässigenen Messfehlern führen. Die Entwicklung neuer Osteocalcin-Assays zielt deshalb v.a. auf Molekül-Spezifität für intaktes Osteocalcin bzw. für seine definierten Propeptide ab. Bei der Beurteilung ist der kontrollierte Entnahmezeitpunkt von Bedeutung, da das Serum-Osteocalcin deutlichen tageszeitlichen Schwankungen mit hohen Werten in den frühen Morgenstunden und einem Nadir am Nachmittag unterliegt (Seibel /Woitge 93).

Prokollagen Typ I-Propeptide (PICP, PINP)

Typ I Kollagen ist der Kollagen-Typ des Knochens, der am häufigsten vorkommt und ca. 90% der Gesamt-Proteinfraktion ausmacht. Es wird in Form von Prokollagen während der osteoblastären Proliferationsphase synthetisiert. Diese Vorläufermoleküle sind durch endständige Extensionspeptide charakterisiert. Nach Sekretion des Prokollagens in den Extrazellularraum werden diese Propeptide enzymatisch in ein aminotermiales (PINP) und ein carboxyterminales (PICP) Peptid abgespalten und in die Zirkulation freigesetzt (Seibel/Woitge 93). Die messbaren Propeptide im Serum reflektieren die Osteoblastenaktivität und können durch Immunoassays bestimmt werden (Risteli J 93).

Während die klinische Relevanz von PICP weiterhin umstritten ist, scheint PINP eine größere diagnostische Bedeutung zu haben (Seibel 2005). Wie bei anderen Knochenmarkern besteht ebenfalls ein tageszeitlicher Rhythmus mit höheren Werten in der Nacht und niedrigeren Serumspiegeln am Nachmittag (Seibel/Woitge 93).

5.3.2.2. Knochenresorptionsmarker

Hydroxyprolin

Der Kollagenabbau im Körper wurde traditionell durch die Urinausscheidung von 4-Hydroxyprolin bestimmt (Risteli J 93). Hydroxyprolin entsteht intrazellulär durch die posttranslationale Hydroxylierung von Prolin und macht ca. 12-14 % des totalen Aminosäuregehaltes im reifen Kollagen aus. Das während der Degradation der Knochenkollagene freigesetzte Hydroxyprolin wird nicht wiederverwertet und gelangt über die Zirkulation in den Urin. Die Ausscheidung von Hydroxyprolin im Urin wird in praxi als Index der Knochenresorptionsrate verwandt (Seibel/Woitge 93). Obwohl sich Hydroxyprolin also als nützlich in der Erkennung von ausgeprägten Anstiegen der Knochenresorption erwies, zeigt dieser Knochenresorptionsparameter eine niedrige Sensitivität durch verschiedene Einschränkungen. So werden 90 % des zirkulierenden Hydroxyprolinpools in der Leber metabolisiert und ein nicht unbedeutender Teil des im Urin ausgeschiedenen Hydroxyprolin entstammt der Degradation neu synthetisierter Kollagene (Smith 80, Seibel 2005). Darüber hinaus kommt Hydroxyprolin auch in anderen kollagenen Bindegeweben wie z.B. in der Haut vor und wird zudem bei der Metabolisierung von Elastin und der C1q-Fraktion des Komplementsystems der unspezifischen Immunabwehr freigesetzt (Robins 80, Consensus 93). Da bestimmte Nahrungsmittel wie Gelatine und Fleisch relevante Mengen an Hydroxyprolin enthalten, liefert die Messung von Hydroxyprolin im Urin nur bei Einhaltung einer hydroxyprolinfreien Kost verwertbare Ergebnisse.

Die Bestimmung der Hydroxyprolinausscheidung ist damit eine insgesamt eher unspezifische Methode zur Evaluation der Knochenresorptionsrate, die in der klinischen Praxis durch spezifischere Verfahren ersetzt werden sollte (Seibel 2005).

Pyridinium-Crosslinks: Pyridiolin (Pyd) und Desoxypyridinolin (Dpd)

Die 3-(OH)-Pyridinium-Derivate Pyridinolin (PYD) und Deoxypyridinolin (DPD) werden als Quervernetzungsprodukte („Crosslinks“) zwischen dem terminalen, nicht helikalen Teil und dem helikalen Teil des Kollagenmoleküls bei der Kollagenentstehung gebildet und sind für die Stabilität des extrazellulären Kollagens verantwortlich (Withold 96).

Während der Knochenresorption werden diese ausgereiften Matrixkollagene proteolytisch abgebaut, was u.a. zur Freisetzung der darin enthaltenen Quervernetzungsbestandteile in die Zirkulation führt. Da für diese komplex aufgebauten Strukturen keine weitere

Utilisationsmöglichkeit im Körper besteht, werden PYD und DPD im Urin ausgeschieden. Die peptidfreien Crosslinks-Komponenten sind hier anhand ihrer natürlichen Fluoreszenz nachweisbar. Im Gegensatz zur Hydroxyprolin-Bestimmung wird die Messung der Hydroxypyridinium-Crosslinks nicht durch die Neubildung von Kollagenen beeinflusst, so dass eine Spezifität für resorptive Prozesse besteht. Da weder PYD noch DPD mit der Nahrung aufgenommen werden, kann die Bestimmung der Pyridinium-Crosslinks im Urin diätunabhängig erfolgen (Seibel 2005). Zudem ist ihre Ausscheidung unabhängig von körperlicher Aktivität und der Nierenfunktion, sofern die Creatinin-Clearance über 25 ml/min liegt (Seibel 94). Außerdem zeichnen sich beide Hydroxypyridinium-Komponenten durch eine hohe Spezifität für skelettale Gewebe aus.

Pyridinoline können aus dem Knochen, dem Knorpel, zu geringen Teilen auch aus den Sehnen und Blutgefäßen stammen. Pyridinolin ist ein Kollagen, dessen höchste Konzentration im Knorpel und im Knochen vorkommt. In der Haut kann es nicht nachgewiesen werden. Die höchste Konzentration von Desoxypyridinolin ist ebenfalls im Knochen vorhanden. Im Knorpel und in der Haut fehlt es (Seibel/Raue 93). Die Ausscheidung der Pyridinium-Crosslinks schwankt beim Gesunden innerhalb enger Grenzen und zeigt bei Frauen bis zur Menopause, sowie bei Männern bis zu einem Alter von ca. 55 Jahren keine wesentlichen Änderungen. Bei postmenopausalen Frauen und bei Männern im höheren Lebensalter sind deutlich steigende Urinkonzentrationen zu beobachten (Beardsworth 90, Seibel/Raue 89 und 93). Zusätzlich geht man von einer Tagesrhythmik aus, wobei höhere Werte während der frühen Morgenstunden und niedrigere Spiegel am Nachmittag auftreten (Eastell 92). Morgenurin und 24-Stunden-Sammelurin ergeben vergleichbare Werte (Abiati 93).

Insgesamt gelten Pyridinium-Crosslinks als Parameter mit der größten Spezifität und Sensitivität für die Knochenresorption und haben deshalb in der klinischen Routine einen hohen Stellenwert erreicht (Seino 87, Gasser 2001).

Aminotermiales Kollagen Typ I Telopeptid (NTx)

Das aminotermiale Kollagen Typ I Telopeptid (NTx) ist ebenso wie Pyridinolin und Desoxypyridinolin ein Marker der Knochenresorption. Da es in der höchsten Konzentration im Knochen und nur in sehr geringen Mengen in der Haut vorkommt, weist es eine hohe Spezifität und Sensitivität auf (Seibel 2001). Ebenso unterliegt die Konzentration von NTx, die im Serum und im Urin bestimmt werden kann, einer tageszeitlichen Schwankung. Im

Serum konnten erhöhte Werte in den frühen Morgenstunden und ein Nadir am frühen Nachmittag nachgewiesen werden (Gertz 98).

Die Sensitivität für NTx liegt bei 52 %, bei einer Spezifität von 100 % (De la Piedra 97).

5.4. Therapeutische Ansätze in der Posttransplantationsosteoporose

Zur Prävalenz und Genese der Osteoporose nach Herztransplantation existieren zahlreiche Publikationen. Deren Prävention und Therapie ist Gegenstand der Untersuchungen der letzten Jahre. Es ist zunächst fraglich, ob die Behandlungsergebnisse der Kortikoidosteoporose ohne weiteres auf die Osteoporose nach Herztransplantation übertragen werden dürfen (Ringe 96). Da fast alle potentiellen Empfänger eines allogenen Organtransplantates lange Zeit eingeschränkt körperlich aktiv oder sogar bettlägerig sind, ist die Knochendichte oft bereits schon vor der Transplantation vermindert (Shane 93). Außerdem tragen eine reduzierte Nahrungs- und Mineralstoffaufnahme sowie zahlreiche Medikamente wie z.B. Diuretika oder Heparin zum Knochenmasseverlust bei (Ginsberg 90).

5.4.1. Calcium

Eine ausreichende Calciumzufuhr hat sich als Basistherapie der Osteoporose etabliert.

Der tägl. Calciumbedarf wird mit 800-1000 mg, nach der Menopause mit 1500 mg angegeben. Die Ernährung und hier insbesondere Milch und Milchprodukte sind bei der Calciumversorgung von entscheidender Bedeutung, durch sie werden täglich ca. 500 mg Calciumionen aufgenommen. Die regelhaft verwendete Calciumsubstitution liegt deshalb bei 1000 mg/d. Diese Dosierung hat sich insbesondere in der Prävention einer steroidinduzierten Osteoporose als wirksam erwiesen (Reid 86). Die Risiken einer additiven Calciumzufuhr sind vernachlässigbar, allerdings besteht eine Kontraindikation bei Patienten mit erhöhter intestinaler Calciumresorption, Hypercalciämie oder bei manifester oder rezidivierender Nephrolithiasis (Eibl 98).

Die Zufuhr von Phosphaten (Colagetränke, Fleisch) limitiert die intestinale Calciumzufuhr und ist daher zu begrenzen (Pfeifer 2001).

5.4.2. Vitamin D

Vitamin D₃ (Cholecalciferol) wird durch Photolyse in der Haut in einer UV-Licht katalysierten Reaktion aus 7-Dehydrocholesterin gebildet. Mit der Nahrung aufgenommenes D₂ (Ergocalciferol) und D₃ werden im proximalen Dünndarm über das intestinale Lymphsystem resorbiert. Cholecalciferol und Ergocalciferol unterscheiden sich nur in einer Seitenkette. Das unsubstituierte Vitamin D selbst ist biologisch inaktiv. Das aus dem Darm und der Haut stammende Vitamin D₃ wird zunächst in der Leber nach einer 25-Hydroxilierung zu 25-Hydroxy-Vitamin D₃. Anschließend findet in der Niere durch das Enzym 25(OH)D-1 α -Hydroxylase die Transformation zu 1 α ,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ statt (Nijs 2004, Reichel 89, Bell 85). Die biologische Aktivität des 1 α ,25-Dihydroxy Vitamin D₃ ist 1000-fach höher als die der Vorstufe 25-Hydroxy-Vitamin D₃. Die Umwandlung von 25-Hydroxy-Vitamin D₃ zu 1,25-Dihydroxy Vitamin D₃ ist durch den Parathormon-, den 1,25-Dihydroxy Vitamin D₃- und den Phosphat Spiegel streng reguliert. Das Parathormon stimuliert die 1 α -Hydroxylase-Aktivität, während 1,25-Dihydroxy Vitamin D₃ dieses Enzym über Mediatoren hemmt.

Eine Hypophosphatämie dagegen führt zu einem Anstieg des 1,25-Dihydroxy Vitamin D₃-Spiegels. Dies beruht zum einen auf einen direkten Effekt des Phosphates auf die Nieren, zum anderen auf eine gesteigerte Sekretion von Parathormon (Reichel 89).

Aktive Vitamin D-Metaboliten wie z.B. Calcitriol (1,25-Dihydroxyvitamin D₃) und Alphacalcidol (1- α -Hydroxyvitamin D₃), werden erfolgreich zur Therapie der Glukokortikoid- und Posttransplantationsosteoporose eingesetzt. Diese beiden Substanzen haben unterschiedliche Stoffwechselwege.

Alphacalcitriol ist die Vorläuferform von Calcitriol und wird durch Hydroxylierung in der Leber zu Calcitriol umgewandelt. Dadurch hängt der Beginn der Wirkung von Alphacalcitriol in erster Linie von seiner Umwandlungsgeschwindigkeit und Verteilung auf die Zielorgane, Leber und Knochen ab. Calcitriol dagegen steigert dann direkt die intestinale Calcium-Resorption, indem es unmittelbar an den Vitamin D-Rezeptor der Mucosazellen bindet. Diese unterschiedliche Verstoffwechselung führt zu einem unterschiedlichen pharmakokinetischen Wirkungsprofil. Dadurch erreicht Calcitriol nach ca. 2 Stunden seinen höchsten Serum-Peak, während Alphacalcitriol erst nach 8-18 Stunden im Serum ansteigt (Nijs 2004).

Die Calcitriol-Gabe nach Organtransplantation wurde in unterschiedlichen Studien untersucht, die Ergebnisse waren kontrovers.

Sambrook et al. konnten in einer Doppelblindstudie über 2 Jahre an 65 Patienten nach Herz- oder Lungentransplantation zeigen, dass Calcitriol (0,5-0,75 μ g/d) zusätzlich zur

Basistherapie mit 600 mg Calcium pro Tag gegeben, den Knochenmasseverlust im Bereich des Femurs reduzieren konnte. In der Calcitriol-Gruppe traten zudem weniger Frakturen auf (Sambrook 2000).

Neuhaus et al. demonstrierten anhand von 90 lebertransplantierten Patienten, dass es nach 2 Jahren unter Therapie mit 0,25 oder 0,5 µg Calcitriol/d zu einem signifikanten Anstieg der Knochendichte sowohl am Femur als auch an der Lendenwirbelsäule kommt (Neuhaus 95).

In einer 2004 von Shane et al. veröffentlichten Studie ergab sich anhand der Untersuchung von 149 Herztransplantierten, die entweder Alendronat oder Calcitriol erhielten, zwar kein signifikanter Unterschied bezüglich Knochenmasseverlust oder Frakturhäufigkeit zwischen den beiden Therapiegruppen, jedoch zeigte sich, dass die Knochendichte im Bereich des Femurs signifikant höher war, als in der unbehandelten Referenzgruppe (Shane 2004).

Cleemput et al. konnte nach Gabe von Alphacalcidol und Etidronat in beiden Therapiegruppen einen signifikanten Knochenverlust in Bereich des Femurs und der Lendenwirbelsäule zeigen (Cleemput 96). Und auch in der Untersuchung von Cueto-Manzano et al. ergab die zusätzliche Gabe von Calcitriol nach Nierentransplantation keinen Benefit bezüglich der Knochendichte (Cueto-Manzano 2000).

5.5. Wirkung der Immunsuppressiva auf den Knochenstoffwechsel

5.5.1. Glukokortikoide

Die glukokortikoidinduzierte Osteoporose ist seit 1932, als Cushing erstmals die skelettale Demineralisierung bei Patienten mit ACTH produzierenden Hypophysentumoren beschrieb, bekannt. Glukokortikoid induzierter Knochenverlust wurde aber erst nach zunehmendem therapeutischen Einsatz von Steroiden relevant und auffällig. Die entzündungshemmenden und immunsuppressiven Eigenschaften von Glukokortikoiden haben sie nämlich trotz vielfacher Nebenwirkungen zu einem wichtigen Bestandteil in der Behandlung unterschiedlicher Erkrankungen gemacht.

Insbesondere in der immunsuppressiven Therapie nach Herztransplantation spielen sie eine wichtige Rolle. Obwohl nach Einführung von anderen Immunsuppressiva wie Cyclosporin A oder FK 506 eine deutliche Reduzierung der Steroiddosierung erreicht werden konnte, werden immer noch relativ hohe Steroiddosen zur Prophylaxe (ca. 0,1 mg/kg) und Therapie (500-1000mg/d über 3 Tage) akuter Abstoßungsreaktionen verabreicht, so dass die Glukokortikoid-induzierte Osteoporose weiterhin eine der wichtigsten und häufigsten Komplikationen darstellt. Die Dosis und Dauer der Gabe ist dabei von entscheidender Bedeutung, in welchem

Ausmaß es zu einem Knochenmasseverlust bezüglich des kortikalen, aber v.a. auch des trabekulären Knochens kommt. Ein Verlust an Knochenmasse tritt vor allem in den ersten 6 Monaten nach Therapiebeginn auf. Trotz zahlreicher Untersuchungen und tierexperimentellen Studien ist die genaue Pathophysiologie der Glukokortikoid-induzierten Osteopathie multifaktoriell und in seinen Einzelheiten bis heute noch nicht vollständig geklärt (Lukert 90, Marcus 92).

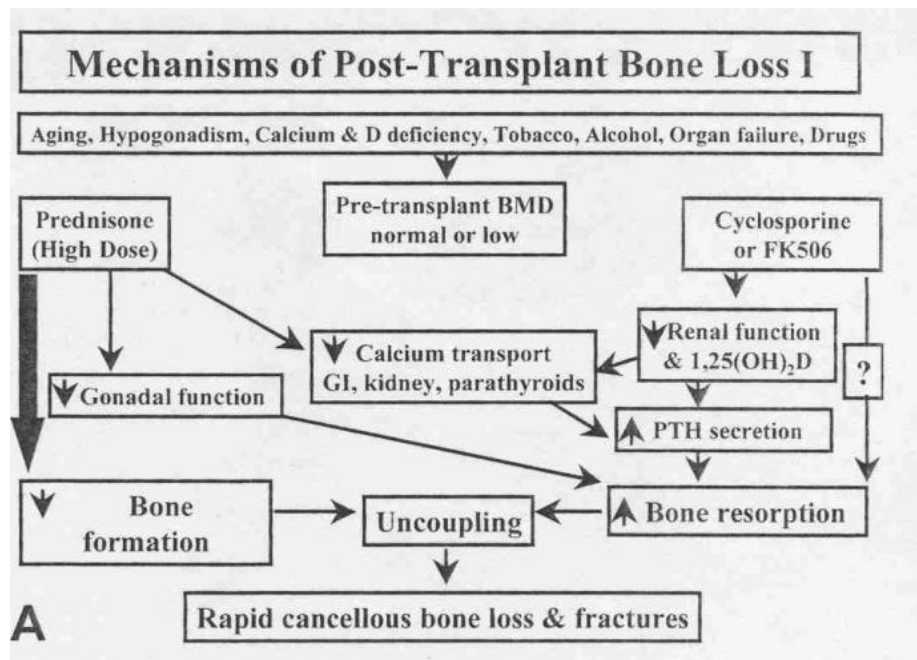


Abbildung 9: Mechanismus des Knochenmasseverlustes nach Transplantation (Kulak 2006)

Glukokortikoide beeinflussen den Knochenstoffwechsel auf vielfältige Weise. Ihre Wirkungen lassen sich in direkte und indirekte Einflüsse unterteilen. Auf direktem Wege kommt es z.B. zu einer gesteigerten Knochenresorption, aber auch zu einer bedeutend verminderten Knochenneubildung.

Indirekte Einflüsse kommen dagegen z.B. durch eine herabgesetzte intestinale Calciumabsorption, eine erhöhte renale Calciumausscheidung, Veränderungen des Sexualhormonhaushaltes, erhöhten PTH-Spiegeln oder verminderten Vitamin-D-Werten zustande (Torregrosa 2001).

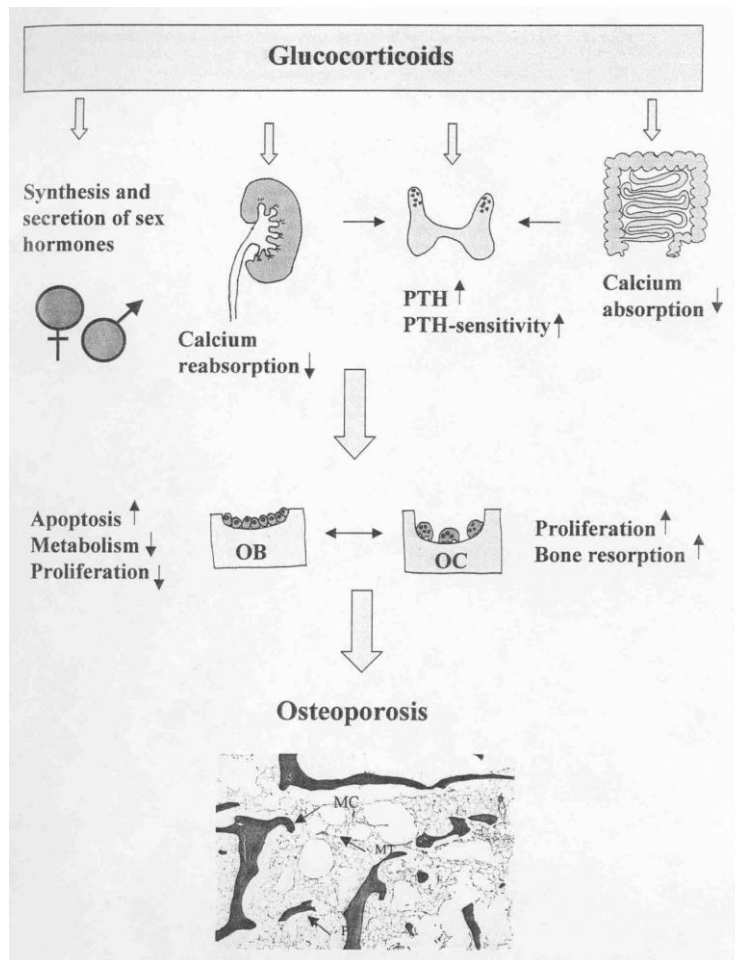


Abbildung 10: Mechanismus der Glucocorticoid-induzierten Osteoporose (Patschan 2001)

Direkte Einflüsse auf den Knochenstoffwechsel

Die Mechanismen, die zur Verminderung der Knochenneubildung führen sind wegen der vielen potenziellen Angriffspunkte im Calcium- und Knochenstoffwechsel komplex und unübersichtlich. Es besteht jedoch Konsens darüber, dass eine Hemmung der Osteoblastenzahl und -funktion ursächlich im Mittelpunkt steht.

Hauptsächlich durch drei Wirkungen haben Glukokortikoide einen direkt hemmenden Einfluss auf die Osteoblasten:

Verminderte Replikation präosteoblastischer Zellen, verminderte Differenzierung und Funktion reifer Osteoblasten sowie Induktion einer Osteoblastenapoptose (Torregrosa 2001).

Eine drastische Abnahme der Osteocalcin-Transkription und Kollagen I-Expression als Marker der Matrix und Knochenneubildung und somit eine Abnahme der Kollagensynthese, wurde in vitro- und in vivo-Untersuchungen nachgewiesen (Canalis 2002). Zusätzlich kommt es durch eine gesteigerte Kollagenase Expression zu einem vermehrten Abbau des bestehenden Kollagens (Canalis 1996). Die Wirkung auf die Osteoblasten wird über

Wachstumsfaktoren vermittelt. So kommt es durch Glukokortikoide über verschiedene Mechanismen zu einer verminderten Synthese von IGF-I und IGF-II. Durch diese reduzierte Synthese und einem gesteigerten Abbau von IGFBP-5 fällt zum einen der steigernde Effekt auf die IGF-I-Aktivität weg, zum anderen führen Steroide zu einer gesteigerten IGFBP-6 Transkription und Synthese in den Osteoblasten, was eine Abnahme des freien IGF-II bedingt. Insgesamt kommt es also durch die Verminderung der IGF-I- und IGF-II-Menge zu einer geringeren Osteoblastenzahl und zu einer Abnahme der Kollagensynthese und zusätzlich sogar zu einem vermehrten Kollagenabbau (Canalis 1996).

Glukokortikoide beeinflussen zusätzlich auch die Wirkung von TGF- β und verhindern somit deren Einfluss auf die Replikation der Osteoblasten (Centrella 91, Torregrosa 2001). Der Mechanismus des Glukokortikoideinflusses auf die Knochenresorption ist immer noch nicht vollständig geklärt. In unterschiedlichen Untersuchungen wurde zum einen eine Hemmung der osteoklastären Knochenresorption, zum anderen ein gesteigerter Knochenabbau nachgewiesen. Der direkte Effekt in vivo, insbesondere bei hohen Dosierungen, besteht in einer Hemmung der osteoklastären Knochenresorption. Lukert und Mitarbeiter konnten im Tierexperiment bei heranwachsenden Ratten zeigen, dass hochdosierte Glukokortikoide die Knochenresorption am trabekulären Knochen der proximalen Tibiametaphyse verhindern (Lukert 90). Bisher wurde vermutet, dass über eine gesteigerte rezeptorvermittelte Osteoklastenapoptose die Knochenresorption vermindert wird. Der Mechanismus der gesteigerten Knochenresorption hingegen, der auch anhand einiger histomorphometrischer Untersuchungen am Menschen vor allem in der Frühphase nachgewiesen werden konnte, steht dazu im Gegensatz.

Bisher wurde ein sekundärer Hyperparathyreoidismus, eine mögliche Nebenwirkung der Steroidtherapie, als Ursache für diese Resorptionssteigerung postuliert.

Rubin wies jedoch nach, dass die PTH-Spiegel in dieser Phase eher niedrig waren. Zudem spräche auch die geringe Osteoblastentätigkeit gegen einen Hyperparathyreoidismus. Parathormon müsste eigentlich im Rahmen des „Coupling“ sowohl die Osteoblasten- als auch die Osteoklastentätigkeit stimulieren. Auch die überwiegend am trabekulären Knochen nachgewiesene Osteoporose ist eher untypisch für einen Hyperparathyreoidismus (Rubin 2002). Dass jedoch eine katabole, knochenresorptive Aktivität unter Glukokortikoideinfluss auch trotz Fehlen eines sekundären Hyperparathyreoidismus vorliegen kann, haben neuere Untersuchungen des RANKL/OPG-Systems gezeigt. In vitro-Untersuchungen weisen dahingehend zwei entscheidende Wirkungen von Glukokortikoiden nach. Glukokortikoide stimulieren zum einen die Expression von RANK-Ligand und begünstigen damit die Aktivität

des Osteoklastensystems. Gleichzeitig hemmen sie zum anderen die Produktion von Osteoprotegerin, dem Gegenspieler von RANK-Ligand, wodurch die katabole Wirkung der Glukokortikoide weiter verstärkt wird (Dempster 98).

Indirekte Einflüsse auf den Knochenstoffwechsel

Glukokortikoide vermindern sowohl in Tierversuchen als auch im menschlichen Körper die intestinale Calciumresorption. Wahrscheinlich bewirkt insbesondere eine Hemmung des aktiven transzellulären Calcium-Transportes im Duodenum, eine reduzierte Synthese des calciumbindenden Proteins und einen vermehrten Abbau von Calcitriol (Torregrosa 2001). Andere Untersuchungen gehen davon aus, dass die intestinale Calciumabsorption ein Vitamin D unabhängiger Prozess ist (Hahn 81). Zusätzlich kommt es zu einer Herabsetzung der Calciumfreisetzung aus den Mitochondrien und zu einer Stimulation der membrangebundenen Natrium-Kalium-ATPase (Lukert 90). Nach Torregrosa et al. haben Glukokortikoide möglicherweise einen direkt hemmenden Einfluss auf die tubuläre Calciumreabsorption. Es ist jedoch umstritten, ob diesem Effekt wirklich eine direkte Wirkung der Glukokortikoide zugrunde liegt oder ob es sich um eine Erhöhung der primär filtrierte Menge an Calciumionen aufgrund einer plötzlichen Verminderung der Knochenneubildung und einer dadurch geringeren Aufnahme von Calcium durch neu gebildeten Knochen handelt (Lukert 90, Cleemput 96). Außerdem erhöhen Steroide die Calciummobilisation aus dem Knochen. Dies führt nachfolgend zu einer Hypercalciurie und zu einer kompensatorischen Stimulation der Sekretion und Aktivität von Parathormon. Glukokortikoide potenzieren zudem die Wirkung des Parathormons. Sie scheinen die Parathormon-induzierte cAMP-Bildung durch eine Zunahme der cAMP-Aktivität und durch eine Hemmung der Phosphodiesterase, ein Enzym, das für den Abbau des cAMP verantwortlich ist, zu bewirken (Lukert 90). Glukokortikoide haben spezifische Einflüsse auf Hypothalamus und Hypophyse. Der hemmende Effekt auf Hypophyse und Hypothalamus ist dosisabhängig und beschränkt sich nicht ausschließlich auf die CRH-ACTH-Achse. Glukokortikoide hemmen nicht nur die Bildung von ACTH und Wachstumshormonen, sie haben auch einen inhibitorischen Effekt auf die hypophysäre Gonatropinsekretion und einen negativen Einfluss auf die Steroidproduktion von Ovar und Testes. In Tierversuchen zeigten sich unter Therapie mit Steroiden eine Hemmung der FSH-abhängigen Östrogenproduktion sowie eine verminderte LH-abhängige Testosteronproduktion der Hoden (MacAdams 86). Klinisch kommt es geschlechtsunabhängig zu einer verminderten Ausscheidung des luteinisierenden Hormons

unter Stimulation mit LHRH (Rosen 94). Der Mangel an Sexualhormonen bedingt vor allem einen beschleunigten trabekulären Knochenverlust. Dies wird möglicherweise über systemische und lokale Wachstumsfaktoren wie Interleukin I, Interleukin-6 und Interleukin-11 reguliert (Bellido 93, Kimble 94, Girasole 92). Die Hemmung der TSH-Sekretion spielt klinisch keine Rolle. Auch unter hochdosierter Glukokortikoidtherapie wurden keine Hypothyreosen beobachtet (v. Werder 96).

5.5.2. Cyclosporin A

Cyclosporin A ist ein lipophiles, zyklisches Undecapeptid, das ursprünglich aus dem Bodenpilz *Tolypocladium inflatum* Gams, isoliert wurde (Seethalakshmi 90). Seit Einführung dieses Immunsuppressivum in die Transplantationsmedizin hat sich die Langzeitüberlebensrate von Organempfängern dramatisch verändert. Neben Verhinderung von Abstoßungsreaktionen und Verlängerung der Überlebenszeit zeigen sich jedoch einige Nebenwirkungen, zu denen auch die Entwicklung einer Osteopenie (in vivo bei Tierversuchen, klinisch bei Menschen) gehört. Cyclosporin A wirkt, indem es in den CD4 T-Helferzellen an spezifische Protein-Rezeptoren, die Cyclophiline bindet. Diese bilden hierauf einen Komplex mit Calcineurin, wodurch die Calcineurin-Phosphatase gehemmt wird. Diese Hemmung verhindert die Expression verschiedener Zytokine, wie z. B. des Interleukin-2-Gens, das an der Regulation der T-Zell-Aktivierung und bestimmter Proto-Onkogene beteiligt ist (Stephan 89). Die Wirkungen von Cyclosporin A auf den menschlichen Knochenstoffwechsel sind noch nicht eindeutig geklärt. Die Bewertung gestaltet sich schwierig, da sowohl begleitende Erkrankungen als auch andere Immunsuppressiva wie z.B. die Glukokortikoide ihrerseits, prädisponierend für Knochenerkrankungen wirken können.

Um zu testen, ob der bekannte supprimierende Einfluss von Cyclosporin A auf Zytokine auch zu einer Hemmung der Aktivität der stimulierten Osteoklasten führt, wurden zunächst Untersuchungen an Organ- und Knochenzellkulturen in vitro durchgeführt. Hierbei zeigte sich, dass Cyclosporin A abhängig von Dauer und Konzentration der Verabreichung nicht nur die Osteoblastenproliferation und -resorption in den Knochenzellkulturen beeinträchtigt, sondern auch zu deren vermehrtem Zelltod durch Apoptose führt (Moreira 2009).

In diesen in vitro Studien konnten jedoch sekundäre Effekte wie z. B. Veränderungen im Sexualhormonhaushalt, Vitamin D-Metabolismus, Mineralstoffwechsel oder der Nieren- und Leberfunktion nicht berücksichtigt werden. So ist es nicht überraschend, dass bezüglich der Untersuchungen zur Wirkung von Cyclosporin A auf den Knochenstoffwechsel ein Widerspruch zwischen den in vivo und in vitro gewonnenen Daten besteht (Epstein 96).

In vivo-Studien an Ratten zeigten je nach Alter und Art der Tiere bisher unterschiedliche Ergebnisse. Movsowitz und Mitarbeiter stellten anhand Untersuchungen mit Ratten fest, dass es unter Therapie mit Cyclosporin A zu einer dosis- und zeitabhängigen „high-turnover“ Osteopenie am trabekulären Knochen kommt (Movsowitz 88 und 90). Zusätzlich konnte ein Anstieg der Konzentration des 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ und des Osteocalcins, ohne relevante Nierenfunktionseinschränkungen oder Veränderungen der Parathormon- oder der Calcium-Konzentration, beobachtet werden. Diese Wirkungen wurden durch gleichzeitig bestehenden Östrogenmangel noch verstärkt (Epstein 96).

Orcel und Mitarbeiter fanden jedoch im Gegensatz dazu eine verminderte Knochenresorption und eine erhöhte Knochenformation, die aber am ehesten auf eine primär hohe Wachstumsrate und Knochenneubildung des „Weanling Rattenmodell“ zurückzuführen sein dürfte (Orcel 89).

Neben diesen direkten Wirkungen, kommt es unter Cyclosporin A über Veränderungen des Sexualhormonstatus und der Nierenfunktion auch zu indirekten Einflüssen auf den Knochenstoffwechsel. Sikka und Mitarbeiter konnten zeigen, dass die Gabe von Cyclosporin A zu einer dosisabhängigen Abnahme sowohl des Serum- und des intratestikulären Testosterons, als auch des luteinisierenden Hormons (LH) führt. Dieser durch Cyclosporin A verursachte hypogonadotrope Hypogonadismus war nach Absetzen des Medikamentes wieder vollständig reversibel. Weiterhin kam es unter Gonatropin Releasing Hormon zu einer normalen Hypophysenantwort (Sikka 88). Dies würde bedeuten, dass Cyclosporin A direkt auf den Hypothalamus wirkt, indem es bei vermindertem LH-Spiegel sekundär zur Verminderung von Testosteron führt.

Andere Arbeitsgruppen wie z.B. Seethalakshmi et al. fanden im Gegensatz dazu, dass Cyclosporin direkt die Testosteronsynthese in den Leydigzellen an unterschiedlichen Stellen hemmt. LH und HCG binden an den Rezeptoren in der Membran der Leydig-Zellen und stimulieren die Bildung von cAMP. cAMP fördert den Transport von Cholesterol in die Mitochondrien, wo die enzymatische Umwandlung zu Testosteron erfolgt. Cyclosporin A konkurriert aber nicht mit LH um die Rezeptorstellen, sondern beeinträchtigt wahrscheinlich einen Schritt früher die HCG stimulierte Testosteronproduktion. Das hydrophobe Molekül Cyclosporin A intercaliert mit der Doppellipidmembran der Lymphozyten und diffundiert passiv in die Zelle. Außerdem geht Cyclosporin A eine Calcium-abhängige Bindung mit Calmodulin ein. Calmodulin wiederum ist, unter Stimulation von LH und cAMP, an der Regulation des Cholesteroltransportes in die Mitochondrien der Leydig-Zellen beteiligt. Letztendlich würde Cyclosporin also durch seine Bindung mit Calmodulin den Cholesterol-

Transport beeinträchtigen und damit eine Reduktion der Testosteronbildung bewirken (Seethalakshmi 92).

Ein anderer möglicher Mechanismus die Testosteronsynthese zu beeinflussen, wäre die Einwirkung auf das Cytochrom P-450-System (Kahan 85). Ein funktionierendes Cytochrom-P-450-System ist die Grundlage einer regelrechten Funktion der meisten Enzyme der Testosteronsynthese, speziell die der 17- α -Hydroxylase und der 17,20 Desmolase (Nakajin 81). Sikka und Mitarbeiter fanden heraus, dass deren HCG stimulierte Aktivität, Cytochrom P-450 abhängige Enzyme beeinträchtigt und so indirekt auch die Testosteronsynthese (Sikka 88).

Tierexperimentell wurde von Al-Chalabi und Mitarbeiter beobachtet, dass Cyclosporin A außerdem zu einer verminderten Funktion und strukturellen Schädigung der Ovarien führen kann (Al Chalabi 84). Cyclosporin A zeigt jedoch auch vielfältige renale Nebenwirkungen. Es treten sowohl funktionelle, als auch strukturelle Schädigungen des tubulären und vaskulären Systems auf (Mason 90). Je nach Ausmaß der Nierenschädigung kann es durch einen Vitamin-D-Mangel und sekundären Hyperparathyreoidismus zu einer renalen Osteopathie kommen (Handelsmann 85). Insgesamt dürften aber die direkten Effekte von Cyclosporin A auf den Knochen- und Sexualhormonhaushalt im Vordergrund stehen und die renal bedingten Knochenmasseverluste eher zweitrangig sein.

5.5.3. Tacrolimus

Tacrolimus ist ein Macrolid-Lacton, das 1984 von japanischen Wissenschaftlern aus *Streptomyces tsukubaensis* isoliert wurde (European FK 506 Multicentre Liver Study group 94). Tacrolimus bindet mit hoher Affinität an ein spezifisches zytosolisches Protein aus der Gruppe der Immunophiline, das FK-Bindungs-Protein-12 /FKBP-12, Macrophilin und bildet so eine biologisch aktive Einheit (Wiesner 93). Der Tacrolimus/FKBP-12-Komplex hemmt die Calciumabhängige Protein-Phosphatase-Aktivität des Calcineurin-Calmodulin-Komplexes, der in den T-Zellen eine Schlüsselrolle bei den Signalübertragungsprozessen von der Zellmembran zum Zellkern spielt (Fung 94, Häyry 93). Dadurch wird die Transkription des IL-2-Gens und anderer Gene verhindert, was wiederum zu einer Hemmung der Proliferation von zytotoxischen T-Lymphozyten führt (European FK 506 Multicentre Liver Study group 94). Nach ersten klinischen Erfahrungen ging man zunächst davon aus, dass Tacrolimus eine stärkere immunsuppressive Wirkung bei möglicherweise geringeren Nebenwirkungen im Vergleich zu Cyclosporin A aufweist (Inoue 2000). Neuere Studien an

Ratten haben jedoch gezeigt, dass auch Tacrolimus mit ähnlich negativen Effekten auf den Knochenstoffwechsel verbunden ist wie Cyclosporin A (Abdelhadi 2002).

5.5.4. Azathioprin

Azathioprin ist ein Purinanalogon und ein Antimetabolit der DNA- und RNA-Synthese. Es wird häufig in Kombination mit anderen Immunsuppressiva wie Glukokortikoiden und Cyclosporin A eingesetzt. Deshalb wurden mögliche Nebenwirkungen von Azathioprin am Knochen nicht ausführlich untersucht. Tierexperimentelle Studien an Ratten konnten keinen Einfluss auf die Knochenmasse nachweisen, obwohl es zu einem Anstieg der Osteoklastenzahl kam (Rodino 98). Gleichzeitig nahmen die Osteocalcinkonzentrationen, im Sinne einer verminderten Osteoblastentätigkeit, leicht ab (Bryer 95). Möglicherweise ergeben sich schädigende Wirkungen auf den Knochenstoffwechsel aber erst nach lang andauernder Gabe.

5.5.5. Mycophenolat Mofetil

Mycophenolat Mofetil ist der Morpholinoethylester der Mycophenolsäure und ein nicht-kompetitiver, reversibler Hemmstoff der DNA- und RNA-Synthese (Allison 91). Erste tierexperimentelle Untersuchungen zeigen, dass die Gabe von Mycophenolat Mofetil über einen kurzen Zeitraum zu keinem wesentlichen Knochenmasseverlust führt (Dissanayake 98). Derzeit gibt es keine ausreichenden Studien über Langzeitnebenwirkungen auf den Knochenmineralstoffwechsel beim Menschen (Torregrosa 2001).

6. Methodik

6.1. Studiendesign

Es handelt sich bei der vorliegenden Studie um eine prospektive, randomisierte und placebokontrollierte Doppelblind-Studie. Es wurden die Effekte einer prophylaktischen Gabe von Calcitriol gegenüber einer Placebogabe in Bezug auf Knochendichte, Frakturen und Parameter des Knochenmetabolismus nach orthotoper Herztransplantation unter einer auf Cyclosporin A-basierenden immunsuppressiven Dreifachkombinationstherapie untersucht. Bei allen Patienten wurde ein Screening des Sexualhormonstatus durchgeführt. Wenn ein Hypogonadismus vorlag, erfolgte die adäquate Substitution mit Testosteron bzw. Östrogenen vor Studieneinschluss. Aus ethischen Gründen erhielten alle Patienten eine Basismedikation mit Calcium.

6.2. Studienkollektiv

Es wurden Patienten, die sich im Rahmen der postoperativen Nachsorge routinemäßig im Klinikum Innenstadt der Ludwig-Maximilians-Universität vorstellten, untersucht. Es wurden 101 Patienten (13 weibliche und 88 männliche) mit einem durchschnittlichen Alter von 51 ± 10 Jahre sowie 35 ± 25 Monate nach Herztransplantation mit einer auf Cyclosporin A-basierenden immunsuppressiven Therapie in die Studie aufgenommen und über mindestens ein Jahr nach verfolgt. 58 bzw. 30 Patienten wurden über einen Zeitraum von 24 bzw. 36 Monaten nach beobachtet. Der Einschluss in die Studie erfolgte unter strengen Ein- und Ausschlusskriterien.

6.3. Ein- und Ausschlusskriterien

Eingeschlossen wurden Patienten, die sich einer Herztransplantation unterzogen haben, die älter als 18 Jahre alt waren und die nach ausführlicher Aufklärung schriftlich ihre Zustimmung gaben.

Dagegen stellten komplexe Rhythmusstörungen, Nephrolithiasis, Nephrocalcinosis, Hypercalciämie, Hypercalciurie, dialysepflichtige terminale Nierenfunktionsstörungen, Gravidität, Vorbehandlung mit Vitamin D-Metaboliten oder Phosphatbindern, Marcumartherapie bei Männern, die eine intramuskuläre Hormonsubstitution benötigten, aber auch schwere Begleiterkrankungen, wie ein metastasierender Tumor, Kollagenosen, autoimmunologische Lebererkrankungen und ein sekundär autonomer Hyperparathyreoidismus, Kontraindikationen für die Aufnahme in die Studie dar.

6.4. Medikation

6.4.1. Immunsuppression

Nach erfolgter Herztransplantation erhielten alle Patienten als Langzeittherapie im Rahmen einer immunsuppressiven Therapie eine Dreifachkombination aus Cyclosporin A, Glukokortikoiden und Azathioprin. Die mittlere Cyclosporin A Dosis betrug 2-5 mg/kg/Tag. Um eine Konzentration von 120-180 ng/ml im Blut aufrechtzuerhalten, wurde die tägliche Dosis den jeweiligen Serumspiegeln angepasst. Glukokortikoide wurden in Form von Methylprednisolon und oralen Prednisolon verabreicht. Es wurden intraoperativ 500 mg und postoperativ, während der ersten 24 Stunden drei mal jeweils 125 mg Methylprednisolon gegeben. Ab dem ersten postoperativen Tag erhielten alle Patienten oral 1mg/kg/d Prednisolon. Innerhalb von drei bis vier Wochen erfolgte eine Dosisreduktion auf 7,5 mg Prednisolon täglich. Nach zwei Jahren wurde der Prednisolon-Bedarf auf 5 mg/d und nach drei Jahren nach Herztransplantation auf 2,5 mg/d verringert.

Keiner der in die Studie aufgenommenen Patienten bekam eine glukokortikoidfreie Immunsubstitutionstherapie. Zusätzliche Glukokortikoidgaben waren bei Abstoßungsreaktionen (>1B) nötig. An drei aufeinander folgenden Tagen wurden 0,5-1,0 g Methylprednisolon intravenös verabreicht. Azathioprin wurde in einer Dosis von 1-2mg/kg/d gegeben und so angepasst, dass die Anzahl der Leukozyten bei > 6000/mm³ lag.

6.4.2. Osteoporoseprävention: Basis- und Studienmedikation

Die Patienten erhielten eine Basistherapie in Form von 1g Calcium per os/d (Calcium-Sandoz forte, Novartis Consumer Health GmbH, Deutschland).

Männliche Patienten mit einem anhand von Gesamttestosteron und freiem Testosteronindex nachgewiesenem Hypogonadismus wurden mit 250 mg Testosteronester (Testosteron-Depot, Schering, Deutschland) alle 3 Wochen intramuskulär substituiert.

In der vorliegenden Untersuchung wurde bei 18 Männern eine Hormonsubstitution durchgeführt. In Abhängigkeit vom Basisspiegel wurde das Dosisintervall in Einzelfällen auf 2 bzw. 4 Wochen adaptiert. 4 der postmenopausalen Frauen erhielten 2 mg 17 β -Estradiol, 1 mg Estriol und 1 mg Norethisteronacetat (Kliogest, Novo Nordisk Pharma GmbH, Deutschland). Eine Patientin wurde mit 0,6 mg konjugierten Estrogenen und intermediär 5 mg Medrogeston (Presomen 0,6 compositum, Kali-Chemi Pharma GmbH, Deutschland) substituiert und eine weitere Patientin erhielt eine transdermale Estradiolapplikation (Estraderm TTS, 4 mg Estradiol, Ciba-Geigy GmbH, Deutschland). Alle Studienteilnehmer

wurden doppelblind zu 0,25 µg Calcitriol (1,25-Dihydroxy-Vitamin D3, Rocaltrol, Hoffmann-La Roche, Basel, Schweiz) täglich oder Placebo zufallsrandomisiert.

6.5. Untersuchungen

6.5.1. Einschlussuntersuchungen

Alle Patienten wurden einer Eingangsuntersuchung unterzogen. Diese Basisuntersuchung umfasste folgende Bereiche:

osteologische/endokrinologische Anamnese, körperliche Untersuchung, Blut- und Urinuntersuchungen, radiologische Untersuchung, Knochendichtemessungen.

6.5.1.1. Osteologische und endokrinologische Anamnese

Bei der osteologischen endokrinologischen Anamnese wurden Schmerzen im Bereich der Knochenstrukturen bei und ohne Belastung, Körpergrößenreduktion, Frakturen, Menarchenalter, Zyklusdauer/-unregelmäßigkeiten, Menopausenalter, Amenorrhoeaphase, Ovariectomie, Hysterektomie, Östrogensubstitution, Libido, Potenz, Gewichtsabnahme, Rasurhäufigkeit, Malabsorptionssyndrom, autoimmune Lebererkrankungen, längere Immobilisationsphasen, Nierenerkrankungen, Hyper-/Hypothyreosen, Alkohol-/Medikamenteneinnahmegewohnheiten abgefragt.

6.5.1.2. Körperliche Untersuchung

Hierbei wurden zunächst Körpergröße und -gewicht festgestellt. Die Wirbelsäule wurde auf Druck-, Stauchungs- und Kompressionsschmerz, sowie nach radikulären Schmerzen mit dem Laségue-Zeichen getestet. Außerdem galt es Auffälligkeiten des Skeletts wie z.B. Skoliosen oder Kyphosen zu beschreiben. Ebenso wurde die Beweglichkeit der Wirbelsäule mit dem Finger- Boden-Abstand und dem Schoberzeichen registriert.

6.5.1.3. Blut- und Urinuntersuchungen

Alle Laborparameter, außer den Knochenresorptionsparametern wurden im Zentrallabor der Medizinischen Klinik-Innenstadt des Klinikums der Universität München bestimmt. Als Abnahmesystem diente das Monovetten-System.

Die Knochenresorptionsparameter Pyridinolin, Desoxypyridinolin und NTx wurden im Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Tierernährung der Tierärztlichen Fakultät der Universität München ermittelt.

6.5.1.3.1. Bestimmung der Laborparameter

Für die Bestimmung der Parameter Calcium, Eiweiß, Albumin, Magnesium, Phosphat, Creatinin, Harnstoff-N und alkalische Phosphatase wurde Lithium-Heparin-Blut als Material verwendet. Die Analyse erfolgte anhand eines automatischen Photometers (Hitachi 917, Boehringer, Mannheim).

Gesamttestosteron (Byk-Santec Diagnostica, München), SHBG (Delfia, Wallec Oy, Freiburg), freier Testosteronindex, Estradiol (Sorin Biomedica Diagnostics, München), Prolaktin (Delfia Prolaktin, IFMA Wallec Oy, Freiburg), Gonadotropine (LH MAIAclone, FSH MAIAclone, Serono Diagnostics, München), intaktes Parathormon (Magic lite intact PTH, Ciba Corning, Fernwald), 25-Hydroxyvitamin D (Protein-Bindungs-Assay nach Bothe und Schmidt-Gyk, Heidelberg), Thyreoid stimulierendes Hormon (TSH), freies Trijodthyronin und Thyroxin (fT3 und fT4) (alle ACS 180, Chiron Diagnostics, Fernwald) wurden mittels Radioimmunoassay bestimmt.

Für die Bestimmung des Cyclosporin A-Spiegels wurde der Test TDx/TDxFLx Cyclosporin Monoklonal-Assay der Firma Abbott Diagnostika verwendet, beruhend auf dem Prinzip eines Fluoreszenzpolarisations-Immunoassays.

Die Creatinin-Clearance wurde nach folgender Formel berechnet:

$$\text{Creatinin-Clearance} = \frac{\text{Urinvolumen} \times \text{Urin-Creatinin}}{\text{Serum-Creatinin} \times 1440}$$

Der freie Testosteronindex wurde nach dieser Formel berechnet:

$$\text{Testosteron-Index} = \frac{\text{Testosteron-Konzentration (nmol/l)} \times 100}{\text{SHBG-Konzentration (nmol/l)}}$$

Crosslinked-vernetztes N-terminales Telozeptid (NTx) im ersten Morgenurin

Das crosslinked-vernetztes N-terminale Telozeptid wurde mit einem kompetitiven Enzymimmunoassay (ELISA, ELItest Ntx) der Firma B.R.A.H.M.S Diagnostika GmbH, Berlin bestimmt. Das Testprinzip beruht auf einer Konkurrenzreaktion zwischen dem NTx der Probe und dem beschichteten NTx der Mikrotiterplatten, um die im Überschuss vorliegenden Bindungsstellen des Enzymkonjugates (anti-NTx-Antikörper-peroxidase-Konjugat-monoklonal, Maus).

Collagen-Crosslinks (Pyridinolin und Desoxypyridinolin) im ersten Morgenurin

Die Bestimmung der Einzelkonzentrationen von Pyridinolin und Desoxypyridinolin erfolgte mittels High-Performer-Liquid-Chromatography (HPLC) beruhend auf einer modifizierten isokratischen Methode nach Collwell et al. (1993) und Black et al. (1988).

Nach saurer Hydrolyse und Vorreinigung über Cellulose-Chromatographie-Säulen erfolgte die Detektion von Pyridinolin und Desoxypyridinolin mittels Eigenfluoreszenz in einer Ionenpaar-Reversed-Phase-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie-Anlage.

C-terminale Propeptid des Typ I-Kollagens (PICP)

a) Radioimmunoassay (RIA)

Die Bestimmung des PICP im Serum mittels RIA erfolgte durch die Verwendung eines Kompetitionsassay („OSCAtest[®] PICP“, B.R.A.H.M.S. Diagnostica GmbH, Berlin).

Die Messung der RIAs wurde mit Hilfe eines Gammazählers (Auto-Gamma 500, United Technologies Packard) durchgeführt.

b) Sandwich Enzym Immunoassay

Als ELISA für die Messung des C-terminalen Propeptid des Typ I-Kollagens im Serum wurde der Sandwich-Enzym Immunoassay „Prolagen-CTM“ (DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim, Art.-Nr. MB 004) gewählt.

Osteocalcin

a) Radioimmunoassay

Als RIA zur Bestimmung der Osteocalcinkonzentration im Serum wurde ein kompetitiver Radioimmunassay mit coated-tube-Technik ausgewählt („OSCAtest[®]“, B.R.A.H.M.S Diagnostica GmbH, Berlin).

b) Kompetitiver Festphasen-Enzym Immunoassay

Zur Bestimmung der Osteocalcinkonzentration im Serum mittels ELISA wurde ein kompetitiver Festphasen-Enzym Immunoassay „NovocalcinTM“ (DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim, Art.NR. Mb 004) verwendet.

6.5.1.3.2. Hormonstimulationstest

Im Rahmen der Blutuntersuchungen wurde auch ein Hormonstimulationstest mit Relefact® LH-RH (Wirkstoff: Gonadorelin) der Firma Hoechst, Frankfurt am Main, angewendet. Gonadorelin ist ein synthetisches Dekapeptid, das dem natürlich im Hypothalamus vorkommenden Releasing-Hormon entspricht und somit sowohl das luteinisierende Hormon (LH) als auch das follikelstimulierende Hormon (FSH) aus der Hypophyse freisetzt. Auf diese Weise konnte die Funktion des Hypophysenvorderlappens beurteilt werden und eventuelle Hypophyseninsuffizienzen erkannt oder ausgeschlossen werden. Dem Patienten wurden nach Entnahme von einigen Millilitern Venenblut, 0,025 mg Relefact LH-RH rasch injiziert. Etwa 30 Minuten nach dieser Injektion erfolgte eine zweite Blutentnahme. In beiden Proben wurden dann LH und FSH radioimmunologisch bestimmt.

6.5.1.4. Radiologische Untersuchungen

Alle Untersuchungen wurden in der radiologischen Abteilung der Medizinischen und der Chirurgischen Klinik-Innenstadt des Klinikums der Universität München durchgeführt.

6.5.1.4.1. Konventionelle Röntgenaufnahme

Zur Bestimmung von atraumatischen und osteoporotischen Wirbelkörperfrakturen wurden konventionelle Röntgenaufnahmen der Brust- und der Lendenwirbelsäule in zwei Ebenen (anterior-posterior und lateral) angefertigt. Die Frakturen wurden nach den internationalen Richtlinien der „Osteoporotic fracture group“ definiert (Eastell 91).

6.5.1.4.2. Osteodensitometrie

Die Knochenmineralsalzdichte (BMD) wurde an der Lendenwirbelsäule (L1-L4) mit Hilfe der Dual-Energy X-Ray Absorptiometry (DEXA) mit einem Gerät der Marke Hologic QDR-1000 (Hologic, Inc. Waltham, MA, USA) bzw. Lunar Expert-XL (Lunar, Madison, WI, USA) bestimmt. Die Präzision der Untersuchung beträgt bei einem Normalkollektiv 1 %.

An unterschiedlichen Geräten durchgeführte Messungen wurden, falls notwendig anhand eines alters- und geschlechtsabhängigen Korrekturfaktors umgerechnet, der durch Parallelmessungen an einem Normalkollektiv erstellt wurde. Der mittlere Knochenmineralsalzgehalt an der Lendenwirbelsäule wurde aus anterior-posterior Messungen der Wirbelkörper LWK1-LWK4 errechnet. Frakturierte Wirbelkörper wurden aus der Messung ausgeschlossen. Die Knochendichte wurde in Gramm pro cm² und prozentualen

sowie standardisiertem T-Score gemessen, der die individuellen Werte auf junge, gesunde, gleichgeschlechtliche Erwachsene der Altersgruppe 25-35 Jahre bezieht.

Die Definition einer Osteoporose bzw. Osteopenie erfolgte nach den Richtlinien der WHO.

6.5.1.4.3. Quantitative Computertomographie (QCT)

Der Knochenmineralsalzgehalt des spongiösen Knochens wurde im Bereich der Lendenwirbelkörper LWK 1-4 mittels quantitativer Computertomographie gemessen. Verwendet wurde dazu die Zwei-Energie-Methode (Somatom Plus 4, Siemens AG, Forchheim, Germany).

Alle Patienten wurden in Rückenlage positioniert und ein seitliches Radiogramm angefertigt. Anschließend wurde die mittervertebrale Schicht, in der Regel von LWK1-3 und jeweils der Auswertebereich (Region of Interest, ROI) in der Spongiosa festgelegt. Der gemessene, energieabhängige Wert in Hounsfield-Einheiten wurde zur Festlegung der vertebrale Knochendichte (VBD) mit einem Referenzsystem bekannter Zusammensetzung und Dichte verglichen. Die Kalibrierung der Messwerte auf mg Hydroxylapatit (HA) pro cm^3 erfolgte über ein Phantom, welches Referenzsubstanzen wie wässrige K_2HPO_4 -Lösungen der Kunststoffmaterialien mit HA-Beimengungen enthält. Das Ergebnis wurde als Mittelwert von LWK1-3 ausgedrückt und mit einem altersbezogenen, kaukasischen Normalkollektiv verglichen. Die Reproduzierbarkeit lag bei 2 %, die Genauigkeit bei 5-10 %.

In der vorliegenden Studie wurden zur Einteilung der Mineralsalzminderung im QCT folgende Kriterien verwendet: Normal $>120 \text{ mg/cm}^3$; Osteopenie $80-120 \text{ mg/cm}^3$ und Osteoporose $<80 \text{ mg/cm}^3$.

6.5.2. Kontrolluntersuchungen

Im Verlauf der Studie wurden folgende Kontrolluntersuchungen durchgeführt:

1. Kontrolle nach 6 Wochen: **Serum:** Creatinin, evt. Überprüfung der Sexual- bzw. der Schilddrüsenhormone;
24-Stunden-Urin: Calcium, Phosphat, Creatininclearance, Creatinin
2. Kontrolle nach 3 Monaten: **Serum:** Creatinin, Phosphat, Calcium, 25-Hydroxyvitamin D_3 , intaktes Parathormon, gesamt-ALP, knochenspezifische-ALP, Osteocalcin, PICP
24-Stunden-Urin: siehe 1. Kontrolle
Morgenurin: Ntx, Collagen-crosslinks (Pyr und Dpd)

3. und 4. Kontrolle nach 6

bzw. 9 Monaten: **Serum:** intaktes Parathormon, 25-Hydroxyvitamin D₃, Calcium, Phosphat

24-Stunden-Urin: siehe 1.Kontrolle

5./6./7. Kontrolle nach 12,

24 bzw. 36 Monaten: wie 2. Kontrolle, zusätzlich Kontroll - DPX

6.6. Statistik

Alle Daten in Text, Tabellen und Graphiken wurden als Mittelwert \pm Standardabweichung (SD) angegeben, soweit nicht anders vermerkt. Zum Vergleich der Gruppen wurde ein gepaarter bzw. ungepaarter t-Test für normal verteilte Variablen sowie der Mann-Whitney-U-Test für nicht normal verteilte Variablen benutzt. Für Korrelationsanalysen wurden Pearson's bivariate Korrelationskoeffizienten errechnet. Logistische Regressionsanalysen wurden zur Erkennung von Prädiktoren für Knochendichteveränderungen und dem Auftreten von Frakturen durchgeführt. Für alle Tests wurden Unterschiede als signifikant gewertet, wenn der p-Wert des jeweiligen statistischen Testverfahrens $< 0,05$ war. Die Datenaufnahme und -verarbeitung wurde mit dem SPSS 8,0 Statistik-Software-Paket für Windows 95 und Microsoft Excel 2007 durchgeführt. Die Studiendurchführung wurde von der Ethikkommission des Fachbereiches Medizin der Ludwigs-Maximilians-Universität München genehmigt.

7. Ergebnisse

7.1. Patientencharakteristika

7.1.1. Basisdaten aller Patienten

Tabelle 1 zeigt die demographischen und klinischen Ausgangsmerkmale der 101 Patienten mit einer auf Cyclosporin A basierenden immunsuppressiven Therapie.

Tab.1: Charakteristika der 101 Patienten nach orthotoper Herztransplantation unter einer Immunsuppression mit Cyclosporin A

Patientencharakteristika	
Patientenanzahl	101
Geschlecht (männl./weibl.)	88 / 13
Alter (Jahre)	51 ± 12
Zeit nach HTx (Monate)	33 ± 31
Indikation für HTx (*dCMP/**iCMP/ andere)	59 / 35 / 7
Anzahl hypogonader Patienten (männl./weibl.)	18 / 6
Anzahl der Abstoßungsreaktionen (IA/ ≥IB)	391 / 259
Mittl. Cyclosporinserumkonzentration (ng/ml)	139 / 11
Kumulative Kortikosteroiddosis (g)	11,5 ± 6,5

*dCMP=dilatative Kardiomyopathie,**iCMP=ischämische Kardiomyopathie

Auf Grund der Heterogenität der Cyclosporin A-Gruppe bzgl. des Einschlusszeitpunktes nach HTx wurden die Daten und die statistische Analyse zusätzlich für eine Untergruppe von Patienten, die früh postoperativ (mittl. Zeitraum post HTx: 3 ± 2 Monate) untersucht wurden, durchgeführt.

Tabelle 2 zeigt die Untergruppe (n=23) von Patienten, die 3±2 Monate nach HTx in die Studie aufgenommen wurden

Tab 2: Charakteristika von 23 Patienten früh nach HTx

Patientencharakteristika (früh nach HTx)	
Patientenanzahl	23
Geschlecht (männl./weibl.)	21 / 2
Alter (Jahre)	51 ± 8
Zeit nach HTx (Monate)	3 ± 2
Indikationen für HTx (*dCMP/**iCMP/andere)	16 / 7 / 0
Anzahl hypogonader Patienten (männl./weibl.)	5 / 2
Anzahl der Abstoßungsreaktionen (IA/ ≥IB)	91 / 75
Mittl. Cyclosporinserumkonzentration (ng/ml)	154 ± 26
Kumulative Kortikosteroiddosis (g)	7,8 ± 2,4

7.1.2. Vergleich der Basisdaten unterteilt in Calcitriol- und Placebogruppe

Tabelle 3 zeigt die demographischen und klinischen Ausgangsmerkmale der 101 Patienten nach Randomisierung, unterteilt in Calcitriol- und Placebogruppe.

Die Studienmedikation wurde von allen Patienten gut vertragen. 4 Patienten in der Calcitriolgruppe und 3 Patienten in der Placebogruppe entwickelten eine asymptomatische Hypercalciämie (Ca >2,6 mmol/l). Daraufhin wurde die Calciummedikation auf 500 mg/d reduziert.

Zwischen den beiden Gruppen waren keine wesentlichen Unterschiede bezüglich des Zeitpunktes nach Herztransplantation, der Genese der Grunderkrankung, der Patientenanzahl mit vorbestehendem Hypogonadismus, der Anzahl der Abstoßungen, des Serumspiegels von Cyclosporin A und der kumulativen Dosis der Glukokortikosteroide aufgefallen.

Tab. 3: Patientencharakteristika nach HTx unterteilt nach Calcitriol und Placebo (n=101)

Patientencharakteristika	Calcitriol	Placebo
Patientenanzahl	54	47
Geschlecht (männl./weibl.)	45 / 9	43 / 4
Alter (Jahre)	50 ± 12	53 ± 8
Zeit nach HTx (Monate)	33 ± 35	34 ± 27
Indikationen für HTx (dCMP*/iCMP**/andere)	34 / 16 / 4	25 / 19 / 3
Anzahl (weibl./männl.)hypogonade Pat. vor Randomisierung	4 / 9	2 / 9
Anzahl der Abstossungsreaktioen (IA/ ≥IB)	204/141	187/118
Mittlere Cyclosporinkonzentration im Serum (ng/ml)	142,9 ± 13,5	134,9 ± 7,4
Kumulative Kortikosteroiddosis (g)	11,8 ± 7,2	11,1 ± 5,8

*dCMP=dilatative Kardiomyopathie,**iCMP=ischämische Kardiomyopathie

7.2. Knochendichtemessungen

7.2.1. Digitale Radiographie

7.2.1.1. Knochendichteausgangswerte aller Patienten

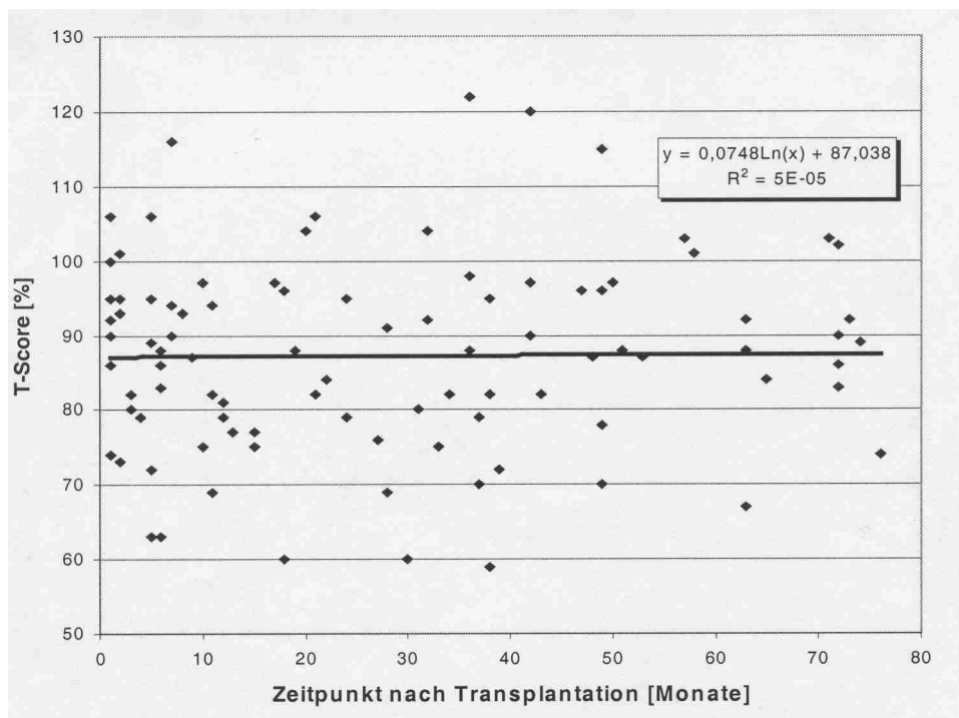


Abbildung 11: Korrelation der Knochendichte (T-Score in %) in Abhängigkeit vom Zeitpunkt nach HTx

Die Darstellung der Einzelwerte ergaben sehr variable Ausgangswerte unabhängig vom Zeitpunkt der Transplantation.

Im Vergleich zu gesunden, jungen gleichgeschlechtlichen Erwachsenen konnte eine signifikante Reduktion der BMD (CyA: BMD-T-Score: $86 \pm 13\%$) nachgewiesen werden.

In der Untergruppe der früh postoperativ untersuchten Patienten fiel ebenfalls ein signifikanter Unterschied zum Normalkollektiv (BMD-T-Score: $86 \pm 12\%$) auf.

Patienten, die bereits eine Fraktur aufwiesen, hatten eine signifikant erniedrigte mittlere BMD ($74 \pm 10\%$) gegenüber den Patienten ohne Fraktur (BMD-T-Score: $87 \pm 10\%$, $p < 0,001$).

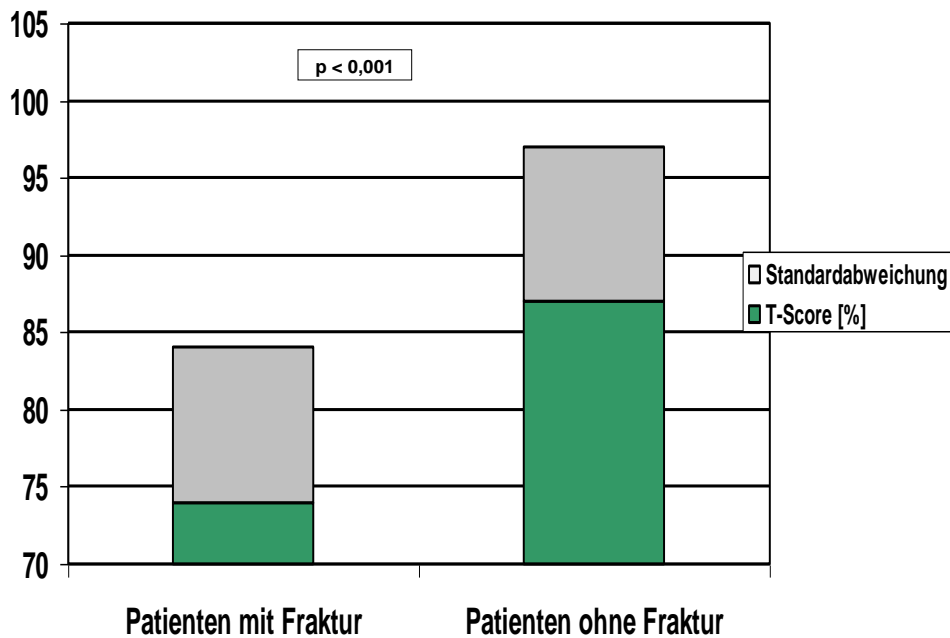


Abbildung 12: BMD im Vergleich bei Patienten nach HTx mit Fraktur und ohne Fraktur

17 männliche Patienten mit nachgewiesenem Hypogonadismus zeigten ebenso eine signifikant erniedrigte mittlere Knochendichte gegenüber normogonaden männlichen Patienten ($78 \pm 14\%$ vs. $88 \pm 12\%$; $p < 0,01$).

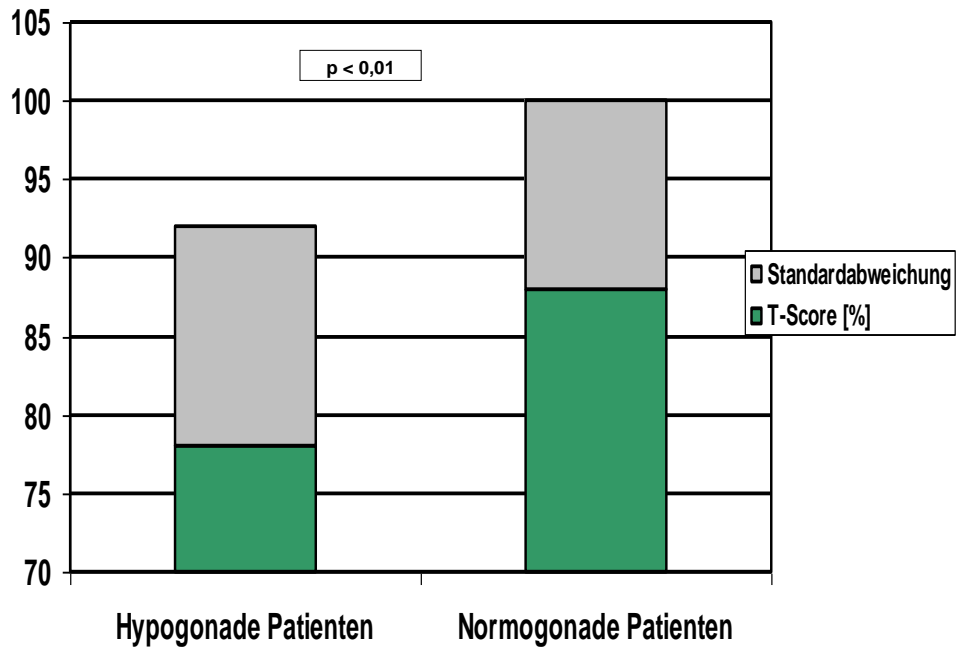


Abbildung 13: BMD im Vergleich bei hypogonaden und normogonaden Patienten nach HTx

7.2.1.2. Knochendichteverlaufswerte unterteilt in Calcitriol- und Placebogruppe

Innerhalb eines 12, 24 und 36- monatigen Beobachtungszeitraumes nach Studieneinschluss, kam es im Verlauf von 3 Jahren sowohl in der Calcitriol- mit 5,7 %, als auch in der Placebo-Gruppe mit 6,1 % zu einer kontinuierlichen prozentualen Zunahme der BMD. Auf Grund der großen Heterogenität der BMD-Werte war dies nicht statistisch signifikant.

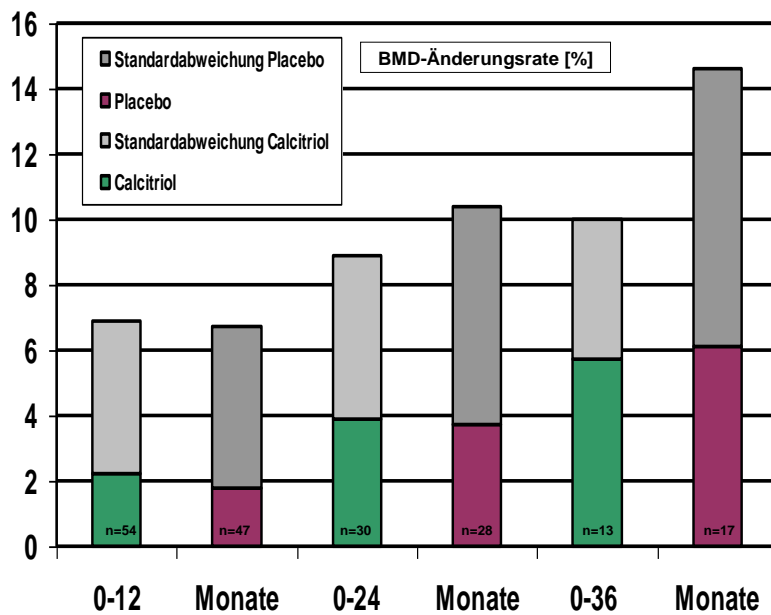


Abbildung 14: Jährliche Knochendichteänderung bis zu 3 Jahre nach Studieneinschluss unterteilt in Calcitriol- und Placebogruppe

In der Untergruppe der frühzeitig randomisierten Patienten konnte nur in der Calcitriol-Gruppe ein Anstieg der Knochendichte um $2,3 \pm 5,9$ % nachgewiesen werden. Die Placebo-Gruppe nahm im ersten Jahr um $0,3 \pm 5,1$ % ab, ohne sich damit signifikant von der Verum-Gruppe zu unterscheiden.

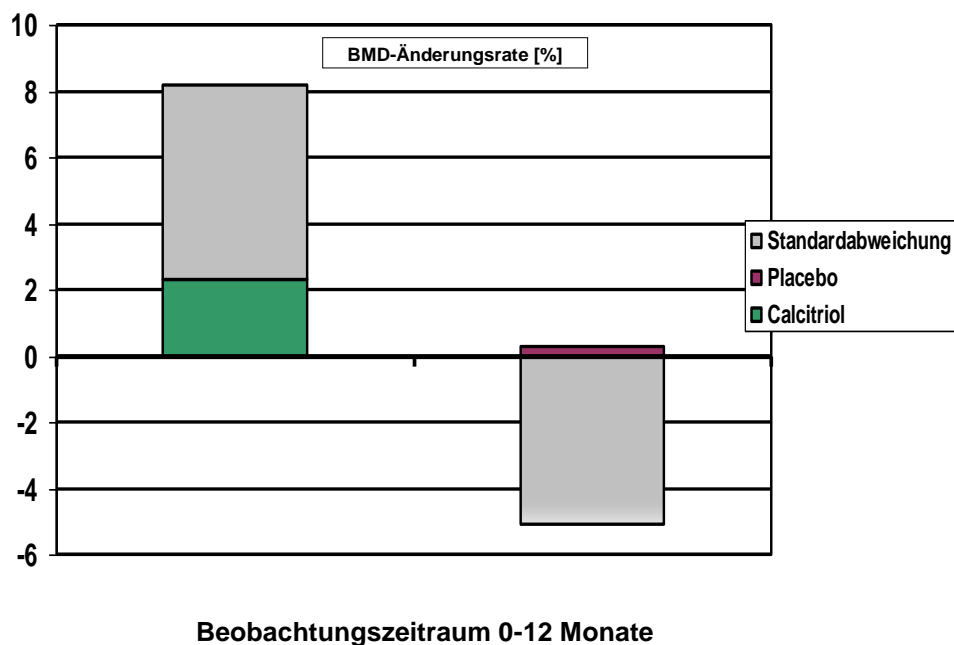


Abbildung 15: Knochendichteänderung im ersten Jahr nach HTx bei frühpostoperativ (3 ± 2 Monate) randomisierten Patienten unterteilt in Calcitriol- und Placebogruppe

7.2.2. Quantitative Computertomographie

Abbildung 16 zeigt den Mineralsalzgehalt bei Einschluss in die Studie.

Legt man die in 6.5.1.4.3. erwähnten Kriterien zur Einteilung der Mineralsalzminderung im QCT zugrunde, zeigt sich, dass bei Einschluss in die Studie nur bei 11 % der Patienten ein normaler Mineralsalzgehalt vorlag.

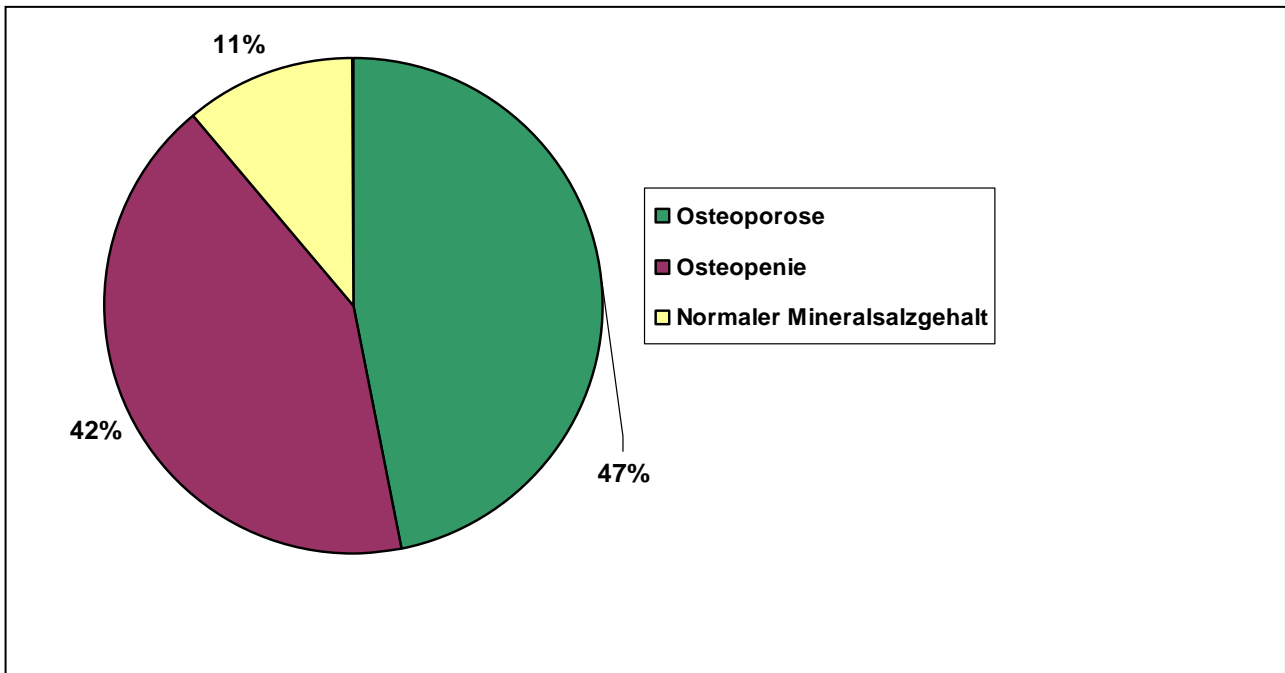


Abbildung 16: Mineralsalzgehalt im QCT nach Herztransplantation

Die Messung der vertebrealen Knochendichte mittels quantitativer Computertomographie zeigte eine signifikante Erniedrigung gegenüber einem Normalkollektiv (VBD: 87 ± 30 mg/ml vs. 125 ± 26 mg/ml, $p < 0,001$) (Abb 18).

In der Untergruppe konnte ebenfalls eine signifikante VBD-Reduktion (VBD: 79 ± 28 mg/ml vs. 127 ± 19 mg/dl, $p < 0,001$).

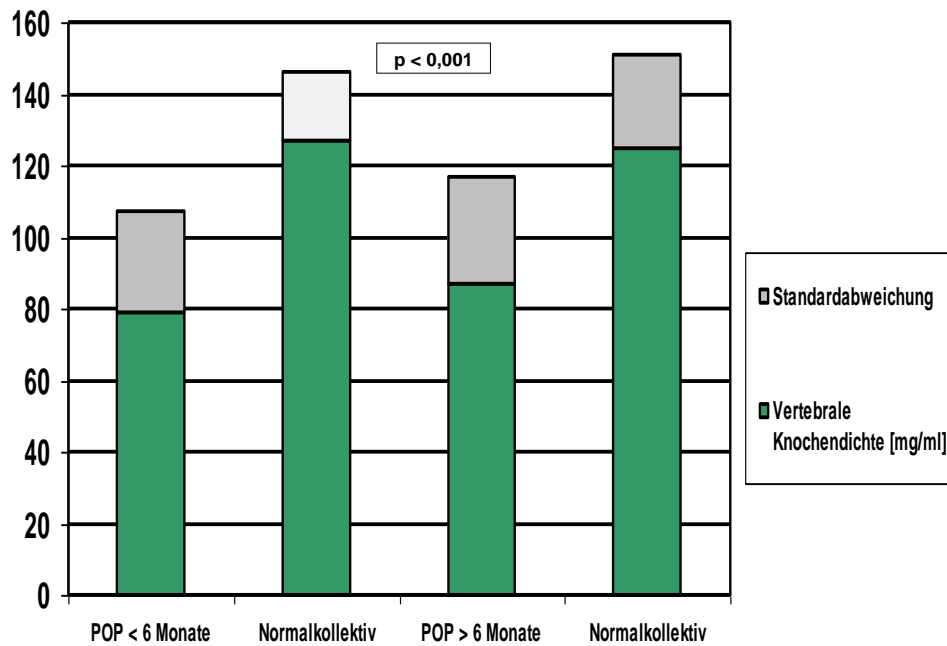


Abbildung 17: Vertebrale Knochendichte früh (< 6 Monate) und spät (> 6 Monate) postoperativ nach orthotoper Herztransplantation im Vergleich zum Normalkollektiv.

7.2.3. Konventionelle Röntgenuntersuchung

7.2.3.1. Frakturrate bei der Basisuntersuchung aller Patienten

In der Aufnahmeuntersuchung wiesen 11 Patienten (10,9 %) 39 radiologisch nachgewiesene Wirbelkörperfrakturen auf. Die Frakturen waren alle atraumatischer Genese.

Es bestand kein signifikanter Altersunterschied zwischen den Patienten mit und ohne Fraktur (59 ± 8 Jahre vs. 51 ± 10 Jahre).

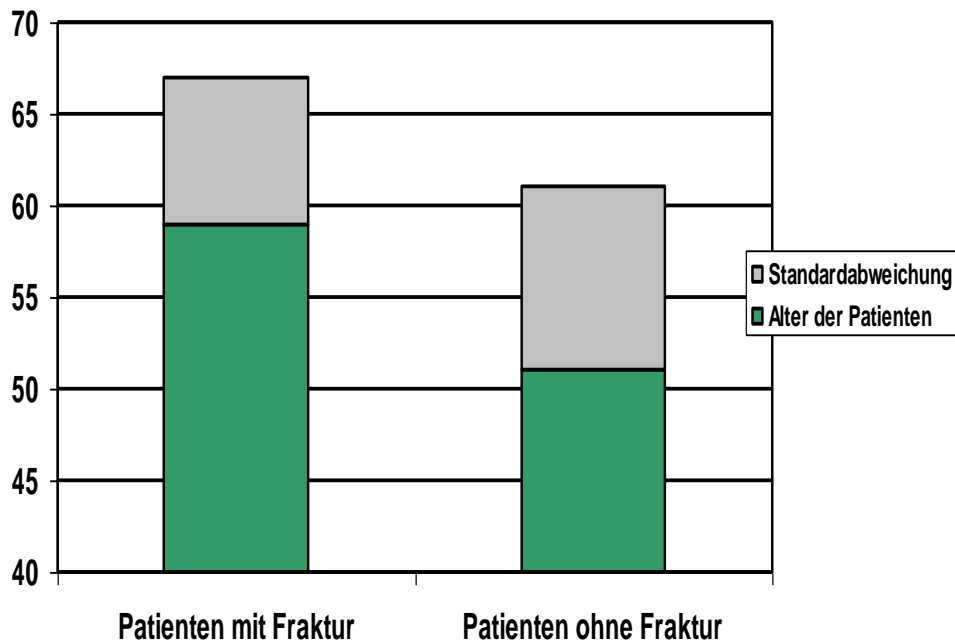


Abbildung 18: Alter der Patienten mit und ohne Fraktur nach HTx

Wie in 7.2.1.1. erwähnt hatten alle diese Patienten eine signifikant erniedrigte BMD.

Die Untergruppe, der früh nach HTx untersuchten Patienten wiesen zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses keine Fraktur auf.

7.2.3.2. Frakturrate im Verlauf unterteilt in Calcitriol- und Placebogruppe

Nach Randomisierung ereignete sich bei 2 Patienten (3,7 %) in der Calcitriol-Gruppe im ersten Jahr jeweils eine neue Wirbelkörperfraktur. In der Placebo-Gruppe trat im ersten Jahr keine neue Fraktur auf.

Im zweiten Jahr nach Studieneinschluss zeigte sich sowohl in der Calcitriol- (3,3 %), als auch in der Placebogruppe (3,6 %) bei jeweils einem Patienten eine neue Wirbelkörperfraktur.

Im dritten Jahr kam es bei beiden Patientengruppen zu keiner neuen Fraktur mehr.

Alle Frakturen traten atraumatisch, aber verbunden mit einer akuten Schmerzsymptomatik im Wirbelkörperbereich auf. Die Untergruppe wies im Beobachtungszeitraum keine neuen Frakturen auf.

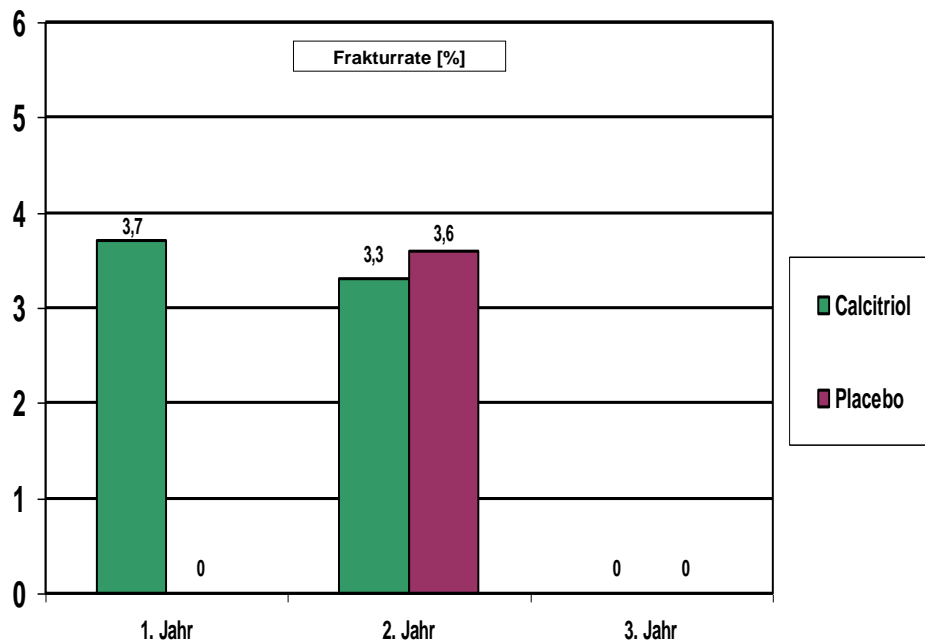


Abbildung 19: Frakturrate der Calcitriol- und Placebogruppe im Vergleich im Verlauf von 3 Jahren

7.3. Biochemische Untersuchungen

7.3.1. Knochenstoffwechselfparameter

7.3.1.1. Basisdaten der Knochenstoffwechselfparameter

Bei Aufnahme (siehe Tab. 4) in die Studie war auffallend, dass die Patienten eine Einschränkung der Nierenfunktion mit einer signifikant verminderten Creatinin-Clearance sowie signifikant erhöhte Creatinin- und Harnstoff-N-Werte im Vergleich zur Norm zeigten. Zusätzlich war das mittlere intakte Parathormon im Sinne eines sekundären Hyperparathyreoidismus mit 84 ± 70 pg/ml, erhöht.

Tab. 4: Basisdaten der biochemischen Untersuchungen nach Herztransplantation

Biochemische Marker (Normbereich)	Patienten Mw \pm SDA
Serum	
Creatinin (0,5-1,2 mg/dl)	1,7 \pm 0,6
Harnstoff - N (9-23 mg/dl)	33 \pm 15
Intaktes Parathormon (10-55 pg/ml)	84 \pm 70
25-OH.Vitamin D ₃ (50-300 nmol/l)	118 \pm 66
Eiweiß (6,1-8,2 g/dl)	7,4 \pm 1,2
Albumin (3,5-5,0 g/dl)	4,9 \pm 0,3
Alkalische Phosphatase (40-190 U/l)	104 \pm 37
Calcium (2,1-2,6 mmol/l)	2,4 \pm 0,2
Phosphat (2,5-4,8 mg/dl)	3,0 \pm 0,6
Magnesium (0,65-1,2 mmol/l)	0,7 \pm 0,1
TSH (0,4-4 μ U/ml)	1,1 \pm 1,3
FT3 (2,3-4,2 pg/dl)	3,1 \pm 0,6
FT4 (0,8-1,8 ng/dl)	1,3 \pm 0,4
Prolaktin (<500 μ E/ml)	315 \pm 605
Urin	
Kalzium/24h (<10mmol)	3,8 \pm 2,6
Phosphat/24h (<1000mg)	929 \pm 451
Creatinin/24h (0,8-22g)	14,2 \pm 6,2
Creatinin-Clearance (>95ml/min)	64 \pm 30

Creatinin im Serum, Harnstoff-N und intaktes PTH korrelieren positiv mit dem Zeitpunkt nach Operation ($r = 0,26$ und $p < 0,01$; $r = 0,27$ und $p < 0,01$; $r = 0,21$ und $p < 0,05$).

Intaktes PTH korreliert positiv mit Creatinin, Harnstoff-N und der Glukokortikoid-Dosis ($r = 0,48$ und $p < 0,001$; $r = 0,47$ und $p < 0,001$; $r = 0,23$ und $p < 0,05$) und negativ mit der Creatininclearance ($r = 0,22$ und $p < 0,05$).

Serumphosphat korreliert ebenfalls positiv mit Creatinin, Harnstoff-N ($r = 0,29$ und $p < 0,05$; $r = 0,31$ und $p < 0,05$).

Eine leicht positive Korrelation kann zwischen der vertebrealen Knochendichte (VBD) und der Creatininclearance ($r = 0,22$ und $p < 0,05$) nachgewiesen werden.

7.3.1.2. Knochenstoffwechselfparameter nach Randomisierung und im Verlauf

Tab. 5 zeigt die wichtigsten biochemischen Untersuchungen nach Randomisierung und nach 12 Monaten unterteilt in Calcitriol- und Placebogruppe.

Zwischen den beiden Gruppen ergab sich im Untersuchungszeitraum bis zu drei Jahren kein signifikanter Unterschied.

Beide Gruppen wiesen eine pathologisch verminderte Creatininclearance mit nachfolgend erhöhten Retentionsparametern auf. Wobei sich die Nierenfunktion im Beobachtungszeitraum kontinuierlich verschlechterte (mittl. Creatininclearance nach 3 Jahren: 52 ± 30 ml/min; mittl. Serum-Creatinin nach 3 Jahren: $1,9 \pm 0,5$ mg/dl), ohne jedoch eine statistische Signifikanz gegenüber den Werten nach 12 Monaten zu erreichen.

Das intakte Parathormon war in beiden Gruppen initial signifikant im Sinne eines sekundären Hyperparathyreoidismus erhöht. Im Verlauf unter Therapie kam es ebenfalls in beiden Gruppen zu einer signifikanten Abnahme von iPTH, ohne jedoch Normalwerte zu erreichen (siehe Abbildung 20 und Tabelle 5).

Die Werte blieben im weiteren 2-jährigen Verlauf weitgehend unverändert.

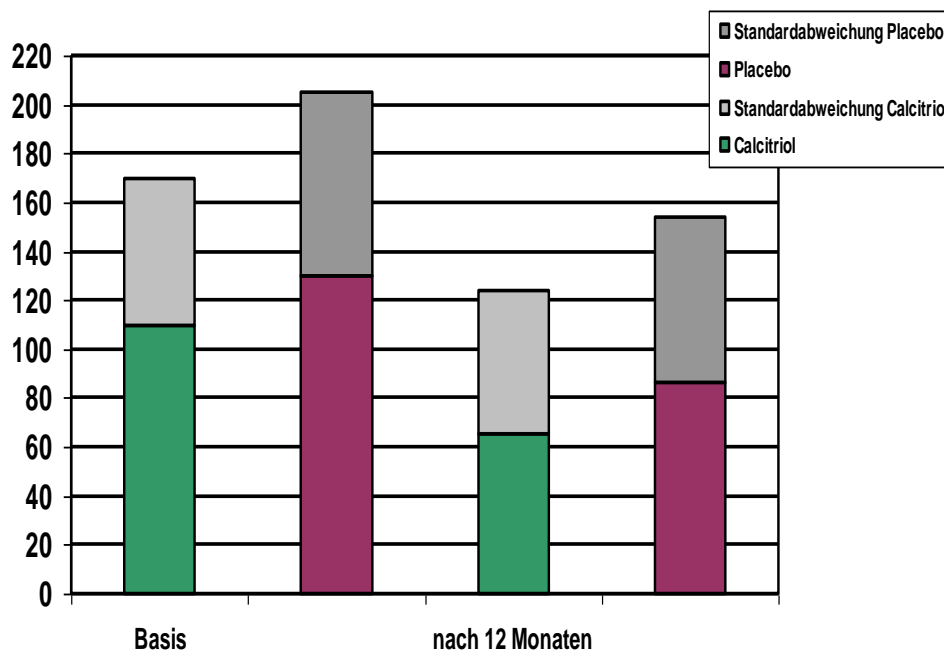


Abbildung 20: Verlauf des intakten Parathormons bei Einschluss in die Studie und nach 12 Monaten

Tab.5: Biochemische Untersuchungen nach Randomisierung und nach 12 Monaten

Parameter (Normbereich)	Basisuntersuchung		nach 12 Monaten	
	Calcitriol	Placebo	Calcitriol	Placebo
Serum				
Calcium (2,1-2,6 mmol/l)	2,4±0,1	2,4±0,3	2,4±0,2	2,5±0,1
Phosphat (2,5-4,8 mg/dl)	3,1±0,6	3,0±0,7	3,6±1,9	3,8±1,9
Creatinin (0,5-1,2 mg/dl)	1,6±0,6	1,7±0,6	1,9±0,7	1,8±0,5
25-OH VitD ₃ (50-300 nmol/l)	108±58	130±73	154±102	145±60
Intaktes Parathormon (10-55 pg/ml)	110±60	130±75	65±59 ^a	86±68 ^b
Urin				
Phosphat in 24h (<1000 mg)	923±403	936±504	843±338	810±340
Calcium in 24h (< 10 mmol)	4,3±3,1	3,4±1,8	4,6±3,0	3,8±2,9
Creatinin in 24 h (0,8-22g)	14,6±7,0	13,7±5,4	13,8±4,8	13,5±5,2
Creatininclearance (>95 ml/min)	68±32	60±28	58±27	56±29

^a = p<0,01 Vergleich der Basis- zur Verlaufskontrolle, Mann-Whitney U Test

^b = p<0,01 Vergleich der Basis- zur Verlaufskontrolle, Mann-Whitney U Test

Calcium stieg leicht in der 24-Stunden Urinuntersuchung an, ohne statistische Signifikanz.

Zudem zeigte sich eine signifikante Zunahme von 25-Hydroxy-Vitamin D₃ in der Calcitriol-Gruppe (108±58 vs. 154±102; p<0,01), die am ehesten durch eine Kreuzreaktion des Radioimmunoassays mit Calcitriol bzw. Metaboliten zu erklären ist.

7.3.2. Sexualhormonstatus

Tabelle 6 zeigt die Ergebnisse der Untersuchung des Sexualhormonstatus bei männlichen Patienten.

Die mittlere Gesamtkonzentration von Testosteron, SHBG und freiem Testosteronindex zeigte keinen signifikanten Unterschied zu einem männlichen Referenzkollektiv.

Bei 18 der 88 männlichen Patienten (20 %) bestand ein Hypogonadismus mit erniedrigtem Gesamttestosteron (307±93 ng/dl) und freiem Testosteronindex (29±6 %).

Alle hypogonaden Patienten zeigten inadäquat niedrige Gonadotropine (LH: 6,2±3,9 mU/ml, FSH:11±10 mU/ml) mit einem normalen Anstieg 30 min nach intravenöser Gabe von Gonadotropin-Releasing-Hormon (LH: 24±17 mU/ml, FSH 15±13 mU/ml) vereinbar mit einem tertiären Hypogonadismus.

6 der 13 (46 %) weiblichen Patienten waren in der Menopause mit entsprechend erhöhten Gonadotropinen, aber erniedrigtem Estradiol 2.

Tab. 6: Basisdaten des Sexualhormonstatus nach HTx

Sexualhormone (Normwerte)	Normogonade männliche Patienten	Hypogonade männliche Patienten
LH (1,5-9,2 mU/ml)	5,0±2,5	6,2 ± 3,9
LHT *	21± 11	24 ± 17
FSH (1-14 mU/ml)	6,2±5,5	11,0 ± 10,2
FSH *	9 ± 7	15 ± 13
Testosteron (350-1000 ng/dl)	518 ± 163	307 ± 93
SHBG (20-50 nmol/l)	33 ± 22	36 ± 15
Testosteronfreier Index (>35%)	63 ± 25	29 ± 6
Estradiol (15-45 pg/ml)	27 ± 7	23 ± 9

* 30 Minuten nach Stimulation mit 0,1 mg Gonadotropin-Releasing Hormon (Gonadorelin®)

Abbildung 21 zeigt Querschnittsdaten über den Verlauf von Testosteron in Abhängigkeit vom Zeitpunkt nach der Herztransplantation. Die Testosteronwerte waren mit einem minimalen, nicht signifikanten, jährlichen Anstieg von 4,5 ng/dl, weitgehend unabhängig vom Zeitpunkt nach Transplantation.

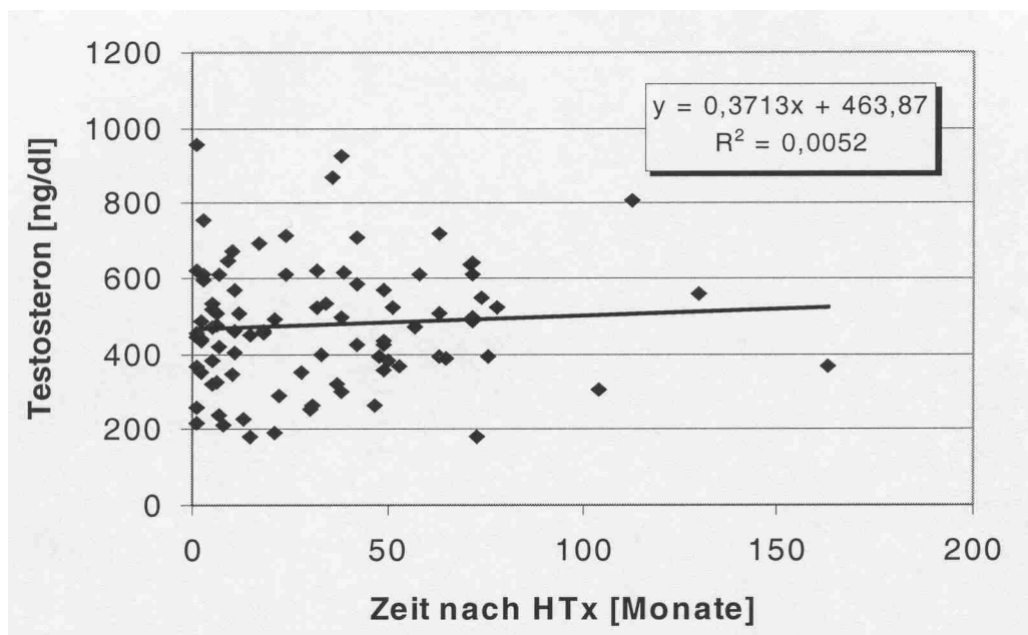


Abbildung 21: Korrelation zwischen Testosteron und dem Zeitpunkt nach Herztransplantation

7.3.3. Spezifische Knochenmarker

7.3.3.1. Basisdaten aller Patienten

Alle Knochenmarker weisen eine hohe Intra- und Intervariabilität auf (Tab.7).

Die Formationsmarker Osteocalcin und PICP waren erhöht, bei normaler knochenspezifischer APH.

Alle Resorptionsmarker waren signifikant erhöht.

Diese Ergebnisse sind vereinbar mit einem „high turnover“-Status.

Der Nettoverlust der Knochenmasse ist durch eine deutlich erhöhte Knochenresorption bei gleichzeitig inadäquat gesteigerter Knochenformation zu erklären.

Tab 7: Spezifische Knochenmarker nach HTx

Parameter (Normwerte)	Patienten
Knochenspezifische APH (10-80 U/l)	43 ± 28
Osteocalcin (4-12 ng/dl)	19 ± 20
PICP (80-200 ng/ml)	320 ± 242
Pyridinolin (18-24 nmol/mmol Creatinin im Urin)	43 ± 33
Desoxypyridinolin (4,5-6 nmol/mmol Creatininim Urin)	11 ± 8
NTx (25-70 nmol/mmol im Urin)	102 ± 89

Abbildung 22 zeigt die Einzelwerte von Pyridinolin.

Unabhängig vom Zeitpunkt der Transplantation ist mit sehr variablen Ausgangswerten zu rechnen.

Die mittlere jährliche Abnahme des Resorptionsmarkers Pyridinolin betrug 3,5 nmol/mmol Creatinin an Hand der Querschnittsdaten.

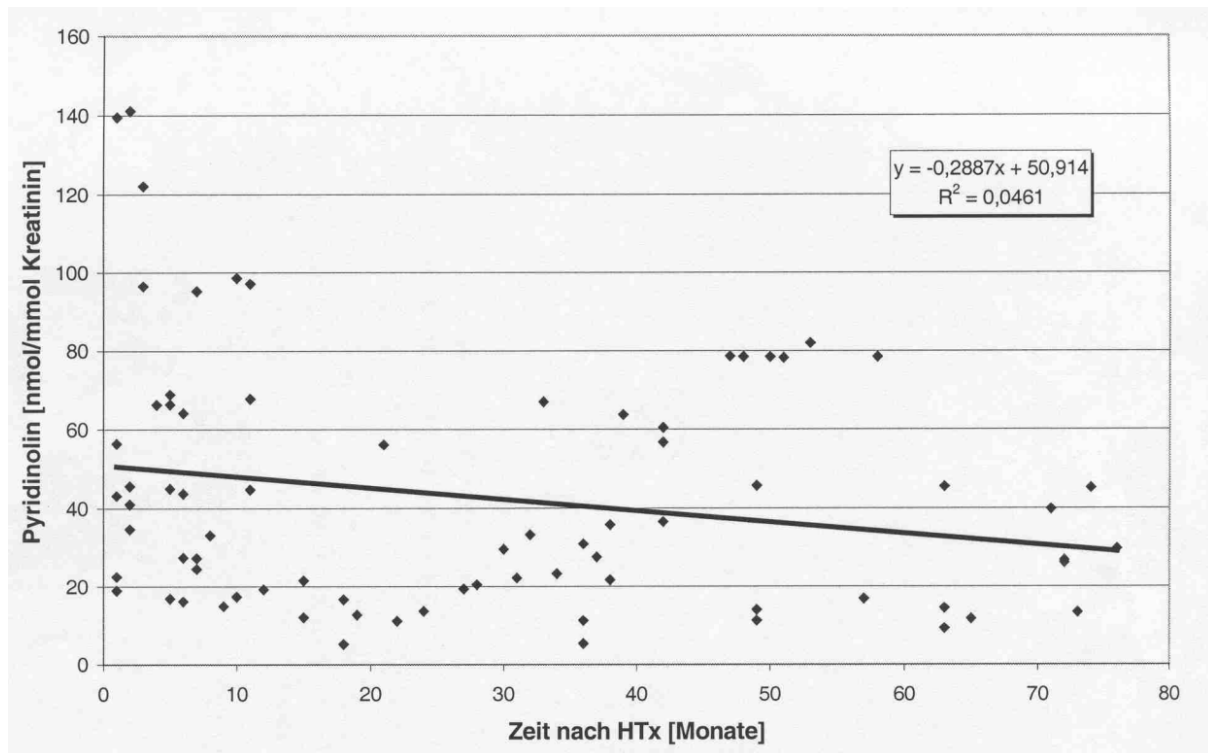


Abbildung 22: Korrelation zwischen Pyridinolin und dem Zeitpunkt nach Herztransplantation

Pyridinolin und Desoxypyridinolin korrelieren negativ mit der vertebrealen Knochendichte (VBD) ($r = 0,25$ und $p < 0,05$; $r = 0,23$ und $p < 0,05$).

Zwischen der Glukokortikoiddosis und der knochenspezifischen APH ($r = 0,29$ und $p < 0,05$) konnte ebenso eine negative Korrelation festgestellt werden.

Dagegen ergab sich eine positive Korrelation zwischen Osteocalcin und Creatinin im Serum ($r = 0,32$ und $p < 0,01$).

Die Untergruppe der früh postoperativ untersuchten Patienten zeigte signifikant höhere Resorptionsmarker als die übrigen Patienten (PYD: $58,8 \pm 38,5$ nmol/mmol Cr vs. $37,4 \pm 26,7$ nmol/mmol Cr; $p < 0,05$; DPD: $14,1 \pm 9,6$ nmol/mmol Cr vs. $9,4 \pm 6,6$ nmol/mmol Cr; $p < 0,05$; NTx: $150,3 \pm 126,0$ nmol/mmol Cr vs. $88,4 \pm 63,7$ nmol/mmol Cr; $p < 0,05$).

Abbildungen 23, 24 und 25: Ausgangswerte der Knochenresorptionsmarker der früh postoperativ untersuchten Patienten im Vergleich zu den übrigen Patienten an den Beispielen Pyridinolin (PYD), Desoxypyridinolin (DPD) und aminotermiales Kollagen Typ I Telopeptid (NTx)

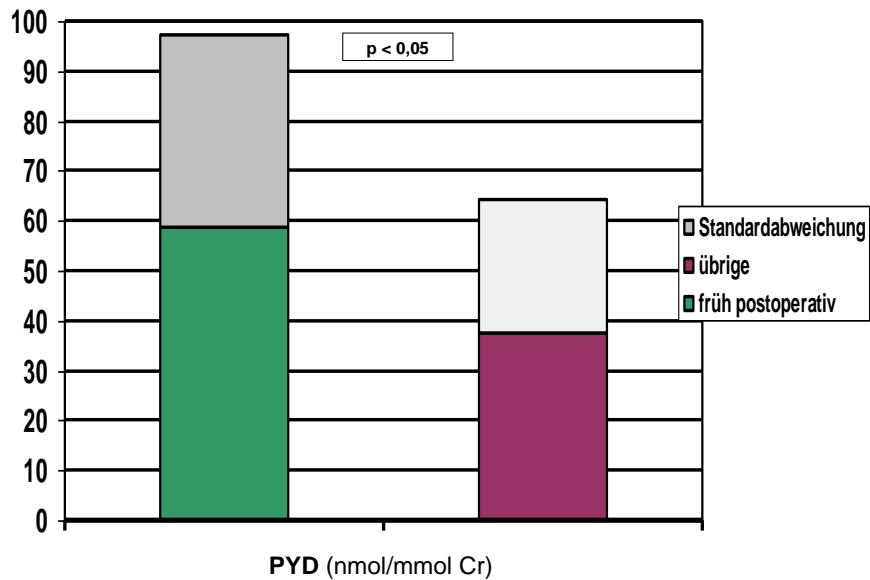


Abbildung 23

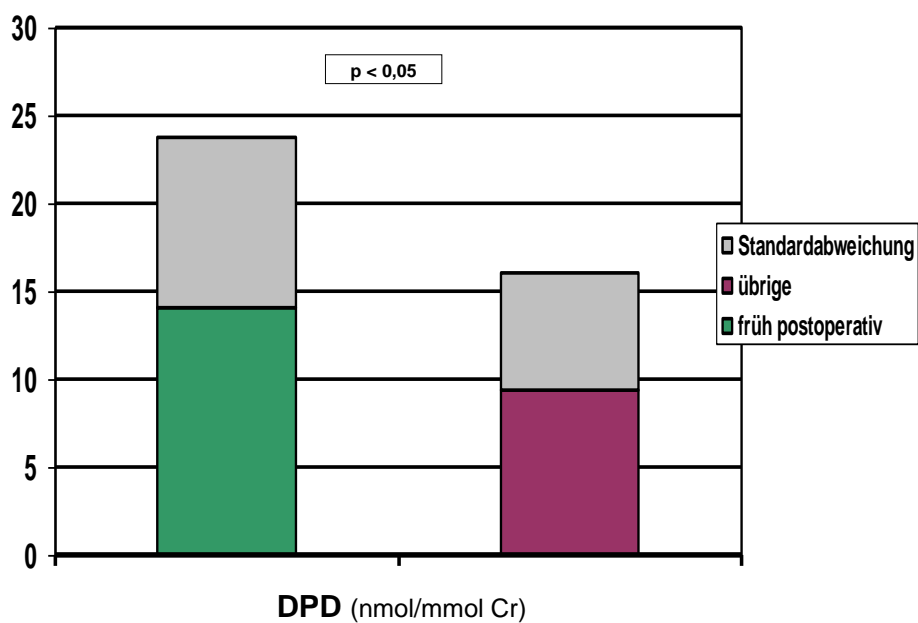


Abbildung 24

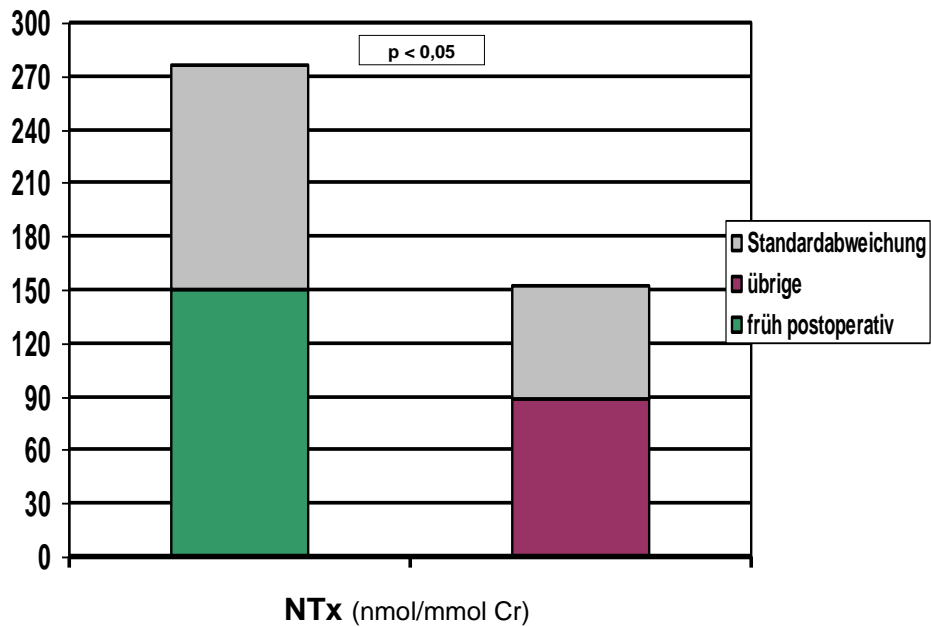


Abbildung 25

Bezüglich der Formationsmarker zeigten sich in beiden Gruppen keine Unterschiede.

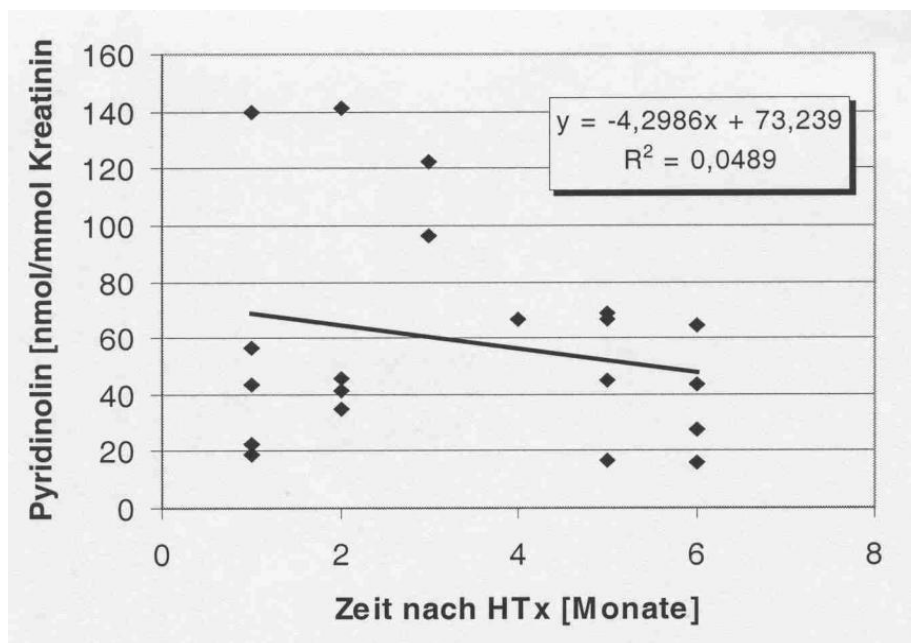


Abbildung 26: Korrelation zwischen Pyridinolin und dem frühen Zeitpunkt nach HTx

In Abbildung 26 sind die Einzelwerte von Pyridinolin für die Subgruppe dargestellt. Die mittlere, jährliche Abnahme des Resorptionsmarkers Pyridinolin betrug 21,7 nmol/mmol Creatinin für die frühe postoperative Phase.

7.3.3.2. Knochenmarker nach Randomisierung und im Verlauf

In der Tabelle 8 sind die Veränderungen der Knochenformations- und -resorptionsmarker nach Randomisierung in der Calcitriol- und Placebogruppe dargestellt.

Alle Knochenmarker zeigen auch im Verlauf eine hohe Intra- und Intervariabilität.

In beiden Therapiegruppen kam es zu keiner signifikanten Änderung der teilweise erhöhten Formationsmarker.

Die knochenspezifische APH nahm innerhalb des Normbereiches in beiden Gruppen signifikant ab ($p < 0,001$).

Tabelle 8: Spezifische Knochenmarker nach Randomisierung bei der Basisuntersuchung sowie der Kontrolle nach 3 und 12 Monaten

Parameter (Normwerte)	Basiswerte	Calcitriol		Basiswerte	Placebo	
		Delta 0-3	Delta 0-12		Delta 0-3	Delta 0-12
BAPH (10-80 U7l)	41 ± 28	-26 ± 21	-17 ± 26	36 ± 14	-21 ± 18	-10 ± 15
Oc (4-12 ng/dl)	23 ± 24	-12 ± 21	-10 ± 267	21 ± 23	-11 ± 25	-5 ± 27
PICP (80-200 ng/ml)	388 ± 264	-139 ± 221	-102 ± 240	299 ± 245	-93 ± 275	-17 ± 284
PYD (18-24 nmol/mmol Cr)	51 ± 45	-20 ± 31 ^a	-17 ± 31 ^c	34 ± 24	4 ± 20	16 ± 26
DPD (4,5-6 nmol/mmol Cr)	12 ± 10	-5 ± 7 ^a	-4 ± 7 ^c	9 ± 7	1 ± 6	3 ± 7
NTx (25-70 nmol/mmol Cr)	140 ± 116	-56 ± 85 ^a	-66 ± 97 ^b	84 ± 77	-1 ± 68	-14 ± 77

^a = $p < 0,01$ Calcitriol und Placebo Delta 0-3 Monate, Mann-Whitney U Test

^b = $p < 0,05$ Calcitriol und Placebo Delta 0-12 Monate, Mann-Whitney U Test

^c = $p < 0,001$ Calcitriol und Placebo 0-12 Monate, Mann-Whitney U Test

Im Gegensatz dazu kam es zu einer signifikanten Abnahme und teilweise Normalisierung aller Resorptionsmarker innerhalb der Calcitriolgruppe für den 3- bzw. 12 Monatszeitraum (PYD, DPD und NTx alle $p < 0,001$ vs. Basiswert) sowie gegenüber der Placebogruppe (vgl. Tab.8).

Innerhalb der Placebogruppe kam es zu keiner signifikanten Veränderung der Resorptionsmarker.

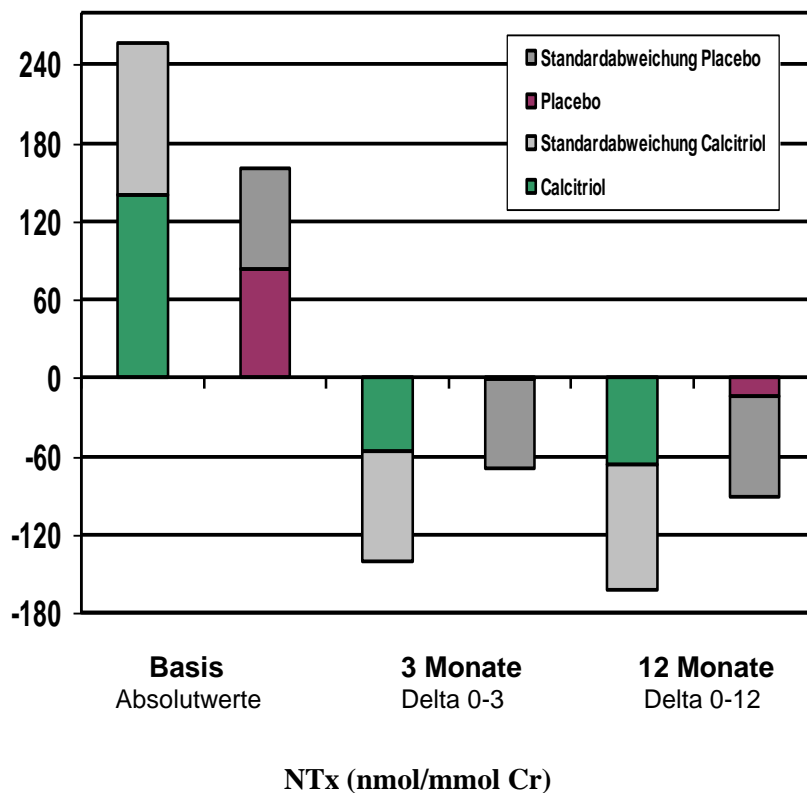


Abbildung 27: Verlauf der spezifischen Knochenmarker, am Beispiel NTx nach Randomisierung, sowie nach 3 und 12 Monaten in der Placebo und Calcitriolgruppe

Tabelle 9 zeigt die Knochenmarker in der Subgruppe der frühzeitig nach HTx untersuchten Patienten.

Diese Untergruppe wies als Ausgangswert signifikant erhöhte Resorptionsmarker gegenüber den länger transplantierten Patienten (PYD: $58,8 \pm 38,5$ nmol/mmol Cr vs. $37,4 \pm 26,7$ nmol/mmol Cr; $p < 0,05$; DPD: $14,1 \pm 9,6$ nmol/mmol Cr vs. $9,4 \pm 6,6$ nmol/mmol Cr; $p < 0,05$; Ntx: $150,3 \pm 126,0$ nmol/mmol Cr vs. $88,4 \pm 63,7$ nmol/mmol Cr; $p < 0,05$) auf. Bezüglich der Formationsmarker als Ausgangswert ergab sich in beiden Gruppen kein signifikanter Unterschied.

Vergleichbar zu der Gesamtgruppe wurde in der Untergruppe eine signifikante Abnahme der Resorptionsmarker Pyridinolin und Desoxypyridinolin für den 3 bzw. 12 Monatszeitraum innerhalb der Calcitriol-Gruppe gefunden (PYD und DYD alle $p < 0,05$ vs. Basiswert).

Wegen der geringen Patientenzahl in der Subgruppe war die Abnahme des Resorptionsmarkers NTx gerade nicht mehr statistisch signifikant.

Die Resorptionsmarker in der Placebogruppe und die Formationsmarker in der Calcitriol- und Placebo-Gruppe zeigten im Verlauf keine signifikante Änderung.

Der divergente Verlauf des Formationsmarkers PICP für den 3- und 12- Monatszeitraum sowie des Resorptionsmarkers Pyridinolin für den 12- Monatszeitraum führte zu einem signifikanten Unterschied zwischen Placebo- und Calcitriol-Gruppe (alle $p < 0,05$, vgl. Tabelle 9).

Tabelle 9: Spezifische Knochenmarker der Subgruppe nach Randomisierung bei der Basisuntersuchung sowie der Kontrolle nach 3 und 12 Monaten (n=23)

Parameter (Normwerte)	Calcitriol			Placebo		
	Basiswerte	Delta 0-3	Delta 0-12	Basiswerte	Delta 0-3	Delta 0-12
BAPH (10-80 U7l)	49 ± 48	-20 ± 20	-24 ± 12	57 ± 46	-28 ± 25	-28 ± 10
Oc (4-12 ng/dl)	19 ± 10	-5 ± 10	-6 ± 10	11 ± 9	-4 ± 10	4 ± 11
PICP (80-200 ng/ml)	362 ± 281	-98 ± 200 ^a	-133 ± 202 ^b	163 ± 132	113 ± 40	142 ± 45
PYD (18-24 nmol/mmol Cr)	74 ± 52	-27 ± 28	-26 ± 26 ^b	58 ± 32	0,4 ± 20,3	27 ± 50
DPD (4,5-6 nmol/mmol Cr)	17 ± 11	-8 ± 7	-6 ± 8	16 ± 12	-4 ± 10	3 ± 14
NTx (25-70 nmol/mmol Cr)	206 ± 168	-84 ± 130	-69 ± 148	95 ± 95	35 ± 82	-13 ± 44

^a = $p < 0,05$ Calcitriol und Placebo Delta 0-3 Monate, Mann-Whitney U Test

^b = $p < 0,05$ Calcitriol und Placebo Delta 0-12 Monate, Mann-Whitney U Test

8. Diskussion

8.1. Knochendichtemessungen

8.1.1. Knochendichteminderung nach Herztransplantation

Es existieren nur wenige Studien, die den Verlust an Knochendichte nach Herztransplantation ohne entsprechende Präventionstherapie untersuchen.

So konnten Sambrook et al. in den ersten 6 Monaten nach HTx einen raschen Knochenmasseverlust von 7,4% in der Lendenwirbelsäule zeigen, der in weiteren 6 Monaten wesentlich auf 0,4% abnahm (Sambrook 94).

Rich und Mitarbeiter wiesen eine maximale Knochendichteabnahme am Femur bei -3,1 SD T-Score und -1,6 SD T-Score an der Lendenwirbelsäule nach (Rich 92).

In der vorliegenden Studie fanden sich bei Einschluss in die Studie bei Patienten unter einer auf Cyclosporin A basierenden immunsuppressiven Therapie, sowohl mittels DEXA- als auch mittels quantitativer CT-Messung signifikant erniedrigte Knochendichtewerte im Vergleich zu einem Normalkollektiv.

So ergab sich in der Quantitativen Computertomographie (QCT) nur bei 11 % ein normaler Mineralsalzgehalt der Knochendichte. Bei 47 % lag im QCT eine Osteopenie, bei 42 % Osteoporose vor.

In der Literatur ist eine entsprechende Häufigkeit von Osteoporose bzw. Osteopenie nach HTx beschrieben. Shane et al. fanden bei Pat. nach Herztransplantation in 28 % eine Osteopenie der LWS und in 20 % des Femur (Shane 93). Meys et al. wiesen ebenso bei 34% ihres Patientenkollektives osteoporotische oder osteopenische Veränderungen nach (Meys 93). Auch Rodino et al. berichten in ihrer Studie mit 101 Patienten nach Herztransplantation bei 50 % über eine verminderte Knochendichte an der LWS (Rodino 98).

In Übereinstimmung dazu kamen Cohen et al. in ihrer 2003 veröffentlichten Studie zu dem Ergebnis, dass bereits bei 43 % der Pat. vor HTx eine Osteopenie und bei 7 % eine Osteoporose vorliegt. (Cohen 2003).

8.1.2. Knochendichte im Verlauf unter Therapie

In Zusammenschau der Daten kommt es unter einer auf Cyclosporin A basierenden immunsuppressiven Therapie im Bereich der Lendenwirbelsäule zu einem Knochenmasseverlust zwischen 6 und 10 % in den ersten 6 Monaten. In den nachfolgenden zwei Jahren ist die Abnahme der Knochendichte mit ca. 1-2 % wesentlich geringer.

Als Hauptgrund für die Stabilisierungsphase nach dem frühen Knochenmasseverlust ist die Dosisabnahme der immunsuppressiven Medikamente zu sehen. Die tägliche Dosis der Glukokortikoide wird insbesondere im Verlauf der ersten 12 Monate deutlich reduziert. Zudem nimmt die jährliche kumulative Glukokortikoiddosis auf Grund der Frequenzabnahme von akuten Organabstoßungen mit nachfolgender notwendiger Hochdosis-Steroidtherapie ab. Außerdem wirkt sich die Zunahme der körperlichen Aktivität nach erfolgter Herztransplantation bei vorausgegangener häufiger Immobilität im Rahmen einer terminalen Herzinsuffizienz positiv auf die Knochendichte aus.

Unter einer Präventionstherapie mit 1000 mg Calcium pro Tag und einer Hormonsubstitution mit Testosteron bei Pat. mit nachgewiesenem Hypogonadismus kam es in der vorgelegten placebo-kontrollierten, randomisierten Studie zu einem mittleren Anstieg der Knochenmineralsalzdichte um ca. 2 % pro Jahr. Diese Zunahme der Knochendichte war damit 3-4-fach höher als bei unbehandelten Patienten, bei denen die mittlere jährliche Zunahme der Knochendichte in der LWS ca. 0,6 % an Hand der Querschnittsdaten betrug. Die zusätzliche Gabe von 0,25 µg Calcitriol ergab keine signifikante Zunahme der Knochendichte. So bestand zwischen der Calcitriol- und der Placebogruppe weder bei Einschluss noch im 12-, 24- und 36-monatigem Beobachtungszeitraum ein signifikanter Unterschied im Bezug auf den Mineralsalzgehalt der LWS.

In der Untergruppe der frühzeitig randomisierten Patienten allerdings kam es nur in der Calcitriolgruppe zu einer Zunahme der Knochendichte. Wohingegen in der Placebogruppe eine leichte Abnahme des Mineralsalzgehaltes zu verzeichnen war. Auf Grund der diesbezüglich kleinen Patientenzahl konnte insgesamt jedoch kein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

Vergleichbar mit den vorliegenden Daten fanden Meys et al. sowie Garcia und Mitarbeiter heraus, dass eine zusätzliche Vitamin D-Therapie gerade während der ersten 18 Monate nach HTx, also in der frühen postoperativen Phase, mit einer sogar signifikanten Zunahme der Knochendichte assoziiert ist (Meyers 93, Garcia-Delgado 97). Dies lässt sich dadurch erklären, dass Calcitriol durch Beeinflussung des sekundären Hyperparathyreoidismus zum einen und der glukokortikoidinduzierten Hemmung der Osteoblasten zum anderen, der Reduktion der

intestinalen Calciumabsorption entgegenwirkt (Rodino 98, Cohen 2002). Allerdings sind deshalb Hypercalciämie und Hypercalciurie häufige Nebenwirkungen einer Vitamin D-Therapie. Engmaschige Kontrollen des Serum- und Urincalciums sind so unerlässlich (Rodino 98). Auch in der vorliegenden Studie trat bei 7 % der Pat. unter Therapie mit Calcitriol und Calcium eine Hypercalciämie auf. Daraufhin wurde die orale Calciumgabe reduziert oder abgesetzt.

Sambrook et al. veröffentlichten eine doppelblinde Studie mit 65 herz- oder lungentransplantierten Patienten. In Übereinstimmung mit der vorliegenden Untersuchung erhielt eine Gruppe ein Placebo, die andere wurde entweder über 12 oder über 24 Monate mit Calcitriol, allerdings in höherer Dosierung (0,5-0,75 µg/d), behandelt. Alle Studienteilnehmer bekamen eine Basismedikation mit zusätzlich 600 mg Calcium täglich. Nach 2 Jahren zeigte der Knochenmasseverlust an der Wirbelsäule ebenfalls keine signifikant unterschiedlichen Werte zwischen den Gruppen. Er betrug durchschnittlich 3 % für diejenigen, die mit Calcium als Monotherapie behandelt wurden und 2,9 % für die Studienteilnehmer, die über insgesamt zwei Jahre mit zusätzlich Calcitriol behandelt wurden. Bei den Patienten, die nur 12 Monate mit Calcitriol therapiert wurden und im 2. Jahr nur Calcium als Monotherapie erhielten, betrug der Knochenmassenverlust 5,6 %. Der Knochenmasseverlust am Oberschenkel gemessen, war insgesamt höher. Wobei hier wieder die Patienten, die über 24 Monate Calcitriol eingenommen hatten, weniger Knochenmasseverlust aufwiesen, gegenüber denjenigen, die in der Placebogruppe Calcium als Monotherapie eingenommen hatten. In der Placebogruppe ergab sich nach zwei Jahren ein Knochenmasseverlust von 8,3 %, gegenüber 5 % in der Calcitriolgruppe. Um 7,4 % nahm der Mineralsalzgehalt bei der Gruppe ab, die nur im ersten Jahr Calcitriol erhalten hatte (Sambrook 2000).

Im Gegensatz dazu randomisierten Henderson et al. 41 Patienten, die während der ersten sechs Monate nach Herz- oder Lungentransplantation entweder Calcitriol (0,5 µg/d) oder Bisphosphonate (Etidronat) erhielten. Nach Absetzen der Therapie erfolgte noch eine 6-monatige Nachbeobachtung. Als Referenzgruppe dienten Patienten, die 5 Jahre zuvor transplantiert wurden. Beide Gruppen zeigten trotz Therapie einen signifikanten und vergleichbaren Knochenmasseverlust an der Wirbelsäule und am Femur, der zwischen 3-8 % lag und dabei v.a. an der Wirbelsäule weniger ausgeprägt war als in der unbehandelten Vergleichsgruppe. Ein Vergleich der beiden Therapiegruppen mit der Referenzgruppe nach 12 Monaten und 2 Jahren nach Transplantation ergab, dass nach Beendigung der Therapie mit Calcitriol kein protektiver Effekt im weiteren Verlauf zu verzeichnen war, d.h. kein signifikanter Unterschied bezüglich des weiteren Knochenmasseverlust. Allerdings ist die

Aussagekraft der Studie möglicherweise mit Einschränkungen zu beurteilen, da die Referenzgruppe, die zum Vergleich herangezogen wurde, bereits 5 Jahre früher transplantiert worden war (Henderson 2001).

Im Vergleich der beiden Studien ist interessant, dass der Knochenmasseverlust im Bereich der Wirbelsäule in der Placebogruppe bei Sambrook et al., trotz höherer kumulativer Steroiddosen, bei 3 %, im Vergleich zu 6,7 % in der Untersuchung von Henderson et al. lag. Möglicherweise könnte also schon eine Calciummonotherapie allein ausreichend für die Behandlung des Knochenmasseverlustes an der Wirbelsäule sein.

In früheren longitudinalen Studien über einen längeren Zeitraum zeigte sich unter Basissubstitution mit 1000 mg Calcium und 4000 IU Vitamin D eine Abnahme der BMD bis zu 10 % im Bereich der Lendenwirbelsäule und bis zu 15% im Bereich des Femur. Im 2. Jahr konnte bei einer Mehrzahl der Patienten eine Abnahme des Knochendichteverlustes bzw. ein Sistieren beobachtet werden. Wobei im 3. postoperativen Jahr sogar ein Anstieg der Knochendichte um ca. 1-2 % im Bereich der LWS, bei weitgehend stabilen Werten im Bereich des Femurhalses vorlag (Henderson 95, Shane/Rivas 97). Beide vorher genannten Untersuchungen zeigen, dass Patienten nach Herz- oder Lungentransplantation von einer zusätzlichen Calcitriol-Therapie auch über einen längeren Zeitraum (hier 2 Jahre) profitieren. In beiden Untersuchungen lag jedoch die Calcitriol-Dosis 2-3-fach höher als in der vorliegenden Studie.

Insgesamt kann also anhand der unterschiedlichen Untersuchungen davon ausgegangen werden, dass sich eine zusätzliche Gabe von Calcitriol, insbesondere in den ersten 12 Monaten nach Transplantation positiv auf die Knochendichte auswirkt. Im Gegensatz zur vorliegenden Studie muss aber möglicherweise eine höhere Calcitriol-Dosis, d.h. mehr als 0,25 µg/d verabreicht werden.

8.2. Frakturen

8.2.1. Frakturnrate nach Herztransplantation

Bei den hier untersuchten 101 Patienten wurden vor Randomisierung bei 11 % altersunabhängig atraumatisch entstandene Wirbelkörperfrakturen beobachtet. Diese Patienten wiesen auch eine signifikant erniedrigte BMD gegenüber denjenigen ohne Fraktur auf. Wie hoch der Prozentsatz der nach Transplantation entstandenen Frakturen tatsächlich ist, lässt sich auf Grund fehlender präoperativer Röntgenaufnahmen nicht genau sagen. Leidig-Brückner et al. konnten bereits bei 5 % der Patienten vor Herztransplantation Frakturen nachweisen (Leidig-Bruckner 2001).

Im Gegensatz dazu fanden Christ et al., die in ihrer Studie 39 Männer mit terminaler Herzinsuffizienz vor geplanter Herztransplantation untersuchten, klinisch bei keinem der Patienten einen Anhalt für Wirbelkörperfrakturen (Christ 1996).

In der vorliegenden Studie fand sich in der Gruppe der früh postoperativ untersuchten Patienten ebenfalls keine Fraktur.

Es ist davon auszugehen, dass Frakturen aber nicht nur in der Frühphase, sondern auch zu einem späteren Zeitpunkt, insbesondere bei erniedrigten Knochendichtewerten auftreten. Dies konnten auch Ramsey-Goldmann et al. in ihrer Studie zeigen, die eine mittlere Zeitdauer zwischen der Herztransplantation und dem Auftreten einer symptomatischen Fraktur von 11 Monaten fanden (Ramsey-Goldmann 99).

Insgesamt werden in der Literatur Frakturdaten zwischen 7 und 54 % angegeben.

So fanden Sambrook et al. eine Frakturnrate von 7 %, andere Studien von Rich, Meys, Lee, Shane et al. konnten deutlich höhere Werte zwischen 18 und 54 % nachweisen (Sambrook 94, Rich 92, Meys 93, Lee 94, Shane 96). Auch in den letzten Jahren wurden unterschiedliche diesbezügliche Daten veröffentlicht, so wiesen Sambrook et al. bei 15 % und Henderson et al. bei 10 % Frakturen nach (Sambrook 2000, Henderson 2001). Cohen und Mitarbeiter beobachteten dagegen bei 22-35 % Frakturen (Cohen 2003).

Diese zum Teil erheblich differierenden Frakturdaten lassen sich durch verschiedene Faktoren erklären. Auf Grund von z.B. unterschiedlich großen, heterogenen und zum Teil vorselektionierten Studienkollektiven, aber auch durch verschiedene immunsuppressive Therapieregime bezüglich Dosis oder auch Kombination der Medikamente, sowie unterschiedlicher Zeitpunkte zwischen Operation und Evaluierung, lassen sich die Studien nur bedingt miteinander vergleichen.

8.2.2. Frakturen im Verlauf unter Therapie

Nach Randomisierung und im Verlauf der Studie zeigte sich vereinbar mit dem oben beschriebenen Anstieg der Knochendichte eine geringere Frakturrate in der Früh- und Spätphase nach Herztransplantation. Für die Calcitriol-Gruppe lag die Frakturrate im ersten Jahr bei 3,7 %, im zweiten Jahr bei 3,3 % und 0 % im dritten Jahr. In der Placebo-Gruppe ergab sich im ersten Jahr eine Frakturrate von 0 %, im zweiten Jahr von 3,6 % und im dritten Jahr von 0 %. Im Vergleich der beiden Gruppen trat aber bezüglich der Frakturrate kein signifikanter Unterschied auf.

Leidig-Bruckner konnte in einer vergleichbaren longitudinalen Studie nach Transplantation und unter einer Basismedikation von 1000 mg Calcium/d und 1000 IU Vitamin D/d deutlich höhere Frakturdaten nachweisen. Bei insgesamt 235 untersuchten Patienten nach Transplantation (105 nach Herz- und 130 nach Lebertransplantation) trat im ersten Jahr bei 21 %, im 2. Jahr bei 27 % und im 3. und 4. Jahr bei 31 bzw. 32 % der Transplantierten eine Fraktur auf (Leidig-Bruckner 2001). Diese höhere Frakturrate ist am ehesten damit erklärbar, dass kein, wie in der vorliegenden Studie, aktiver Vitamin-D-Metabolit verabreicht wurde. Vergleicht man beide Substanzen ist bei z.B. der Einnahme von Calcitriol von einer mehr als 100-fach stärkeren Wirkung auszugehen. Noch dazu wurden alle Patienten sofort (im Mittel nach 2 bis 73 Tagen) nach Herztransplantation in die Studie aufgenommen. In diesem Zusammenhang haben viele Untersuchungen gezeigt, dass sich die meisten Frakturen (18-50 %) während des ersten Jahres, besonders im Laufe der ersten 6 Monate nach Transplantation ereignen (Shane 96, Meys 94, Rich 92).

Und schließlich wurde weder der Sexualhormonstatus systematisch untersucht noch eine Hormonsubstitution durchgeführt. Zudem existiert immer noch keine einheitliche Definition zur Festlegung einer Fraktur, so dass wahrscheinlich unterschiedliche Frakturbewertungen den jeweiligen Untersuchungen zugrunde liegen und einen direkten Vergleich erschweren.

Im Gegensatz dazu ermittelten sowohl Cleemput et al. als auch Sambrook und Mitarbeiter jährliche Frakturdaten von 4,5 % bzw. 5,5 % (Cleemput 96, Sambrook 94). Diese Daten entsprechen somit weitgehend den Ergebnissen der vorliegenden Studie.

8.3. Spezifische Knochenmarker

8.3.1. Knochenmarkerausgangswerte

Wie auch in vielen anderen Publikationen, zeigen die Knochenmarker als Parameter des dynamischen Knochenstoffwechsels eine hohe Intra- und Intervariabilität (Garnero 94).

Auch in der vorliegenden Untersuchung waren alle Resorptionsmarker signifikant erhöht und nahmen im Verlauf der Studie kontinuierlich ab. So lag z.B. der Wert für Pyridinolin bei 43 ± 33 nmol/mmol (Normbereich zwischen 18-24 nmol/mmol) bei einer mittleren jährlichen Abnahme von 3,5 nmol/mmol. Die nachgewiesene Abnahme von Pyridinolin und Desoxypyridinolin korrelierte dabei positiv mit der Zunahme der vertebrealen Knochendichte.

Die Mittelwerte aller übrigen Resorptionsmarker lagen ebenfalls oberhalb des Normbereiches. In der Untergruppe der früh postoperativ untersuchten Patienten zeigten sich signifikant noch höhere Resorptionsmarker. In Übereinstimmung dazu fanden sich in der Studie von Guo et al. mit 50 Männern, die 0,5 bis 47 Monate nach Herztransplantation untersucht wurden, bei 42 % der Teilnehmer ein signifikanter, über das zweifache der Norm erhöhter NTx -Spiegel, im Vergleich zu einem altersentsprechendem Normalkollektiv (Guo 98). Ebenso konnten Shane et al. in ihrer Untersuchung, ein und drei Monate nach HTx erhöhte Resorptionsmarker nachweisen. Bereits nach 6 Monaten kam es jedoch zu einem Rückgang auf die Ausgangswerte (Shane/Rivas 97). Ebenso stellten Kulak et al. in einer kürzlich veröffentlichten Arbeit fest, dass Knochenresorptionsmarker in der ersten Phase nach Transplantation erhöht waren. Dies führten sie auf eine durch Cyclosporin A verursachte Niereninsuffizienz sowie einen daraus resultierenden sekundären Hyperparathyreoidismus zurück. Im Weiteren normalisierten sich die Knochenformationsmarker im Verlauf von 6 bis 12 Monaten nach Transplantation (Kulak 2010).

Bei den Formationsmarker zeigten sich anhand der in dieser Studie erhobenen Daten unterschiedliche Ergebnisse. Osteocalcin und PICP waren mit einem Mittelwert von 19 ± 20 (Normwert 4-12 ng/dl) bzw. mit 320 ± 242 (Normwert 80-200 ng/ml) erhöht. Osteocalcin korrelierte dabei positiv mit den Nierenretentionsparametern. Osteocalcin wird primär über die Nieren ausgeschieden und kann deshalb im Rahmen von Nierenfunktionsstörungen erhöht sein (Rich 92). Möglicherweise kann deshalb die Erhöhung des Osteocalcin auch Ausdruck einer zunehmenden Abnahme der Creatininclearance unter einer nephrotoxischen Therapie mit Cyclosporin A sein. Die knochenspezifische APH war im Gegensatz dazu mit 43 ± 28 (Normwerte 10-80 U/l) im Normbereich.

Die klinischen Daten nach Transplantation legen einen großen Einfluss von Glukokortikoiden und Cyclosporin A auf den Stoffwechsel der Knochenmarker nahe. Glukokortikoide behindern in vielfacher Weise die Knochenformation, indem sie sowohl die Osteoblasten in ihrer Synthese und Reifung, als auch die kollagenen und nicht kollagenen Matrixkomponenten beeinträchtigen.

Deshalb fanden Shane und Mitarbeiter unter Steroidtherapie erniedrigte Werte von Osteocalcin, knochenspezifischer APH und PICP, die sich nach Absetzen der Steroide schnell wieder normalisierten (Shane/Rivas 97). Auch Kulak et al. beschreiben in ihrer Arbeit in der frühen Phase nach Transplantation erniedrigte Osteocalcin-Werte (Kulak 2010).

Parallel dazu kommt es unter Steroidtherapie zu einem raschen Anstieg der Calcium-, Hydroxyprolin- und Crosslinks-Ausscheidung als Ausdruck einer gesteigerten Knochenresorption. Tierexperimentielle Daten zeigen, dass Cyclosporin A zu einer „high turnover“-Osteoporose führt. Es kommt zu einer erhöhten Knochenformation und davon entkoppelt zu einer deutlich gesteigerten Knochenresorption. Dies führt als Nettoeffekt zu einem Knochenmasseverlust. Vereinar dazu zeigen Studien an Ratten erhöhte Serumwerte für die alkalische Phosphatase, Osteocalcin und im Urin eine erhöhte Ausscheidung von Calcium, Hydroxyprolin und Pyridinium-Crosslinks (Joffe 92, Movsowitz 88, Orsel 89, Schlosberg 89, Stein 91). Insgesamt konnte gezeigt werden, dass insbesondere in der Frühphase nach Herztransplantation eine Glukokortikoid-bedingte Suppression der Knochenformation bei gesteigerter Knochenresorption vorliegt. Im weiteren Verlauf nach Abnahme der Steroiddosis kommt es zu einer Normalisierung bzw. Erhöhung der Formationsmarker. Dies ist zum einen möglicherweise auf Cyclosporin A-Effekte, zum anderen auf eine eingeschränkte Nierenfunktion und gonadale Dysfunktion zurückzuführen. Die Resorptionsmarker normalisieren sich oder können zum Teil im Langzeitverlauf erhöht bleiben, so dass auch in der Spätphase nach Herztransplantation auf Grund einer Entkoppelung der Knochenformation und Knochenresorption mit einem weiteren Knochenmasseverlust gerechnet werden muss.

Die Daten der früh nach HTx untersuchten Patienten ergaben eine fünffach schnellere Abnahme der Resorptionsmarker in den ersten Monaten nach Transplantation. So betrug z.B. die mittlere jährliche Abnahme des Resorptionsmarkers Pyridinolin 21,7 nmol/mmol für die frühe postoperative Phase. Ursächlich hierfür dürften die hohen immunsuppressiven Dosierungen, insbesondere der Steroide zu diesem Zeitpunkt sein.

8.3.2. Knochenmarker unter Studienmedikation

Die Knochenmarker wiesen unter Osteoporosepräventionstherapie wie auch bei den Basisuntersuchungen eine hohe Intra- und Intervariabilität auf.

Unter Studienmedikation kam es zu keiner signifikanten Änderung der zum Teil erhöhten Knochenformationsmarker. Im Gegensatz dazu konnte bezüglich der Resorptionsmarker in der Calcitriol-Gruppe nach 3 bzw. 12 Monaten eine signifikante Abnahme oder auch teilweise Normalisierung beobachtet werden. In der Placebogruppe kam es zu keiner signifikanten Veränderung der Resorptionsmarker. Die zusätzliche Gabe von Calcitriol wirkt sich korrespondierend zu den Knochendichteuntersuchungen positiv auf die Knochenresorptionsmarker aus. Die Abnahme der Knochenresorptionsmarker konnte nicht nur bei Patienten, die früh nach Herztransplantation untersucht wurden, sondern auch in der späteren postoperativen Phase nachgewiesen werden.

Auch Shane et al. untersuchten 70 Patienten nach HTx, die standardmäßig 500 mg Calcium und 400 IU Calcitriol erhielten und konnten vor allem im ersten halben Jahr nach Transplantation deutlich erhöhte Werte bezüglich Pyridinolin und Desoxypyridinolin und eine Erniedrigung von Osteocalcin nachweisen, die sich im weiteren Verlauf unter Therapie wieder normalisierten. Shane führte dies vor allem auf die höhere Dosis an Steroiden und niedrigeren Konzentrationen von Testosteron und Vitamin D-Metaboliten in der frühen postoperativen Phase zurück (Shane/Rivas 97).

8.4. Hyperparathyreoidismus

8.4.1. Parathormonspiegel nach Herztransplantation

Bei Einschluss war sowohl in der Calcitriol-, mit einem Mittelwert von 110 ± 60 pg/ml, als auch in der Placebogruppe mit einem Mittelwert von 130 ± 75 pg/dl, das mittlere intakte Parathormon im Sinne eines sekundären Hyperparathyreoidismus erhöht.

Der sekundäre Hyperparathyreoidismus spielt eine entscheidende Rolle für die gesteigerte Knochenresorption und die verminderte Knochendichte bei Patienten nach Herztransplantation unter immunsuppressiver Therapie. Der erhöhte iPTH-Spiegel ist dabei hauptsächlich auf zwei Faktoren zurückzuführen.

In vitro wurden direkt stimulierende Effekte von Glukokortikoiden auf die PTH-Synthese und -Sekretion beobachtet. So stimuliert Cortisol die PTH-Sekretion von Parathyreoidalzellen bei Ratten (Au 76). Peraldi et al. konnten zeigen, dass abhängig von Dosis und Dauer auch bei menschlichen Parathyreoidalzellen die PTH-Ausschüttung durch Dexamethason gesteigert

werden konnte (Peraldi 90). Wohingegen nach Parathyreodektomie kein exzessiver Knochenmasseverlust unter Glukokortikoidtherapie nachgewiesen werden konnte (Urena 94). Darüber hinaus verändern Glukokortikoide die Sensitivität von Osteoblasten und Osteoklasten (Wong 79). So erhöhen Glukokortikoide die Wirkung von PTH auf die Osteoblasten mittels einer gesteigerten Expression von PTH-Rezeptoren (Ziegler 98). Durch Glukokortikoide kommt es zudem zu einer Reduktion der intestinalen Calciumabsorption und vermehrter renaler Calciumausscheidung (Patschan 2001). Der dadurch entstehende Calciummangel führt zu einer erhöhten Parathormonsekretion und damit erneut zu einer vermehrten Knochenresorption.

Es existieren aber auch einige Untersuchungen, die keinen Anstieg von iPTH nach Steroideinnahme verzeichnen. Vor allem in älteren Studien wie bei Sambrook et al und Lee et al . werden normale Parathormonspiegel beschrieben (Sambrook 94, Lee 94).

Zur Entstehung eines sekundären Hyperparathyreoidismus trägt aber noch ein zweiter wichtiger Faktor bei. Durch die Einnahme von Cyclosporin A kann es zu einer zunehmenden renalen Schädigung mit zunehmender Niereninsuffizienz und dann nachfolgender Veränderung der Parathormon-Vitamin D-Achse kommen. In Übereinstimmung dazu konnten Shane und Guo zeigen, dass eine positive Korrelation zwischen der freien Parathormon-Konzentration und dem Serum-Creatinin und –Harnstoff besteht (Shane 93, Guo 98).

Thiebaud et al. sowie Glendenning und Mitarbeiter hingegen fanden keine Korrelation zwischen iPTH und dem Serum-Creatinin-Wert. Wobei Glendenning bei 50 % der Patienten mit sekundärem Hyperparathyreoidismus eine signifikante Einschränkung der Nierenfunktion mit einer Creatinin-Clearance unter 70 ml/min nachwies (Thiebaud 96, Glendenning 99).

Auch Maalouf et al. dokumentierten, dass 25-43% der Patienten nach Nierentransplantation mit Creatininwerten unter 1,5 mg/dl im ersten postoperativen Jahr einen persistierenden Hyperparathyreoidismus aufwiesen (Maalouf 2005).

Reichel und Mitarbeiter kamen zu ähnlichen Ergebnissen. Sie untersuchten 63 Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz unterschiedlicher Ätiologie. Bereits in der frühen Phase einer Niereninsuffizienz mit einer glomerulären Filtrationsrate von 60-90 ml/min kam es bei einem Teil der Patienten zu einem erhöhten Parathormonspiegel und damit zur Entwicklung eines sekundären Hyperparathyreoidismus. Reichel führte dies auf die Abnahme des 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃ im Serum zurück. Bei 9 von 19 Patienten ergab sich ein erniedrigter Spiegel von 1,25-Dihydroxy-Vitamin D₃. Diese These wird durch eine zusätzlich beobachtete negative Korrelation zum iPTH noch unterstützt (Reichel 89). Ursächlich hierfür dürfte eine intrazelluläre Anhäufung von Phosphaten in den Tubuluszellen sein, die zur einer Hemmung

der renalen 1α -Hydroxylase führt und damit konsekutiv sowohl zu einer verminderten Calcitriol-Biosynthese, als auch zu einer verminderten Phosphatreabsorption sowie Tendenz zur Hypophosphatämie. Zusätzlich wird auch eine aktive Hemmung der renalen 1α -Hydroxylase durch urämische Toxine diskutiert (Reichel 91, Hsu 92). Calcitriol und PTH zeigen zudem eine verminderte Wirkung an den Zielorganen, die wahrscheinlich auf eine Downregulation von Vitamin D und PTH-Rezeptoren zurückzuführen ist (Fukuda 93).

Auch die Ergebnisse der vorliegenden Studie deuten auf diese möglichen Ursachen des sekundären Hyperparathyreoidismus hin. So korreliert das Serum iPTH positiv mit Creatinin, Harnstoff und der Glukokortikoid-Dosis. Die Phosphat-Ausscheidung im Urin war bei überwiegend normalen Serum-Calcium und -Phosphat grenzwertig erhöht.

8.4.2. Verlauf des Parathormonspiegels unter Studienmedikation

Bei Randomisierung in die Calcitriol- und Placebogruppe war in beiden Gruppen der intakte Parathormonspiegel im Sinne eines sekundären Hyperparathyreoidismus erhöht. Unter der Studienmedikation kam es zu einer signifikanten Abnahme des intakten Parathormons ohne Normalwerte zu erreichen. Dies bestätigen die im vorherigen Abschnitt bereits erläuterten Faktoren.

Im Verlauf der Studie konnte gezeigt werden, dass es mit Reduzierung der Glukokortikoiddosis unter der Basistherapie mit Calcium und unter Hormonsubstitution bei nachgewiesenem Hypogonadismus im Langzeitverlauf zu einem Absinken des intakten Parathormons kommt. Die zusätzliche Gabe von Calcitriol führt dagegen sowohl in der Früh- als auch in der Spätphase zu einem signifikanten iPTH-Abfall. Dies spiegelt die Wirksamkeit von Calcium mit und ohne Calcitriol wieder, zumindest partiell das iPTH zu supprimieren. Möglicherweise wäre durch höhere Calcitriol-Dosierungen eine Normalisierung des iPTH zu erreichen gewesen. Torres und Mitarbeiter zeigten in ihrer Studie bei 86 Patienten nach Nierentransplantation, dass die zusätzliche Gabe von Calcitriol (0,5 μ g/48h) zu einem signifikanten Abfall von iPTH führte. Bereits nach 3 Monaten lag das iPTH um 30 % niedriger als in der Placebogruppe (Torres 2004). Auch Meys et al. wiesen eine Reduktion des Parathormons unter Therapie mit Calcium und Calcidiol bzw. Fluoride bei Patienten nach HTx nach (Mey 93).

Im Gegensatz dazu ergaben sich in der Untersuchung von Shane in der Frühphase nach HTx trotz eingeschränkter Creatininclearance normale iPTH-Werte (Shane/Rivas 97). Auch Sambrook et al. konnten keine erhöhten iPTH-Werte nachweisen (Sambrook 94). Diese Unterschiede lassen sich möglicherweise auf unterschiedliche Dosierungen sowohl des

Calciums (zwischen 500mg und 1000mg) als auch der Vitamin D-Metaboliten (zwischen 250 und 8000 IU) zurückführen.

Ein sekundärer Hyperparathyreoidismus induziert einen Knochenmasseverlust durch eine gesteigerte Knochenresorption bei inadäquater Knochenformation. Der schnelle Abfall des iPTH nach Beginn der Präventionsmedikation, der parallel mit einem Abfall der Knochenresorptionsparameter und mit einem Anstieg der Knochendichte einhergeht, zeigt die Bedeutung des sekundären Hyperparathyreoidismus und seiner Therapie auf den Knochenmasseverlust nach Herztransplantation.

8.5. Hypogonadismus

20 % der männlichen Patienten nach Herztransplantation wiesen bei Einschluss in die Studie unter immunsuppressiver Therapie einen Hypogonadismus mit einem erniedrigtem Gesamttestosteron und einem verminderten freien Testosteron-Index auf.

Mehrere Faktoren dürften ursächlich für die Entstehung eines Hypogonadismus insbesondere nach Transplantation sein. So senkt die immunsuppressive Therapie mit Cyclosporin A im Tierexperiment an der Ratte und auch beim Menschen die Testosteronspiegel. Seethalakshmi konnte demonstrieren, dass Cyclosporin A die Testosteronsynthese an unterschiedlichen Stellen, insbesondere aber durch die Hemmung der 17- α -Hydroxylase und die 17- β -Hydroxysteroiddehydrogenase in den Leydig-Zellen des Hodens, reduziert (Seethalakshmi 92). Auch Stief und Stempfle wiesen in ihrer Untersuchung von 88 Herztransplantierten in allen Altersstufen unter Cyclosporin-basierter immunsuppressiver Therapie eine gehäufte Prävalenz eines Hypogonadismus nach. Insgesamt zeigten in Übereinstimmung mit der vorliegenden Studie 24% der Patienten einen Hypogonadismus. Insbesondere bei den jungen Patienten waren sogar schon 43% betroffen (Stief 2004). Diese Daten unterstützen die Ergebnisse bisheriger klinischer Studien. So beobachteten auch Rivas et al. bei 22 % der männlichen Studienteilnehmer nach Herztransplantation einen Hypogonadismus. Dabei korrelierte der Testosteronspiegel negativ mit der Cyclosporin-Dosis (Rivas 93). Muchmore und Mitarbeiter begannen aufgrund erniedrigter Gesamttestosteronwerte sogar bei 52 % der Herztransplantierten eine Hormonsubstitution (Muchmore 92). Im Gegensatz dazu fanden Glendenning et al. bei keinem der 27 männlichen Patienten, die sich in den letzten 10 Jahren einer Herztransplantation unterzogen hatten, einen Hypogonadismus (Glendenning 99). Dies dürfte jedoch auf Grund der niedrigen Fallzahl als nicht repräsentativ zu werten sein. Zudem erfolgte der Einschluss zu einem sehr späten Zeitpunkt nach Transplantation (zwischen 5 und 10 Jahren), so dass der Hypogonadismus in der postoperativen Frühphase nicht erfasst werden

konnte. Shane, Fleischer und auch Sambrook stellten nämlich insbesondere einen Testosteronabfall in der frühen postoperativen Phase fest. Im Verlauf der ersten beiden Jahre nach Transplantation scheint das Gesamttestosteron in der Regel wieder auf Normalwerte anzusteigen (Shane/Rivas 97, Fleischer 2008, Sambrook 94). Dies konnte anhand der vorliegenden Daten allerdings nicht belegt werden. Die Testosteronwerte zeigten sich weitgehend unabhängig vom Zeitpunkt nach Transplantation. Insgesamt konnte nur ein minimaler und nicht signifikanter jährlicher Anstieg von 4,5ng/dl festgestellt werden.

Neben direkten Einflüssen auf die Leydig-Zellen des Hodens, spricht die Tatsache, dass in der hier vorgestellten Studie, alle hypogonaden Patienten inadäquat niedrige Gonadotropine bei normaler Stimulationsantwort auf Gonatropin-Releasing-Hormon zeigen, dafür, dass eine zusätzliche Wirkung auf die Hypothalamus-Hypophysen-Achse vorliegen muss.

Von Sikka und Mitarbeiter beobachteten, dass Cyclosporin A zu einer dosisabhängigen Reduktion des intratestikulären Testosterons und des Serum-Testosterons führt. Im Tierversuch mit männlichen Ratten kam es zu einem Abfall des luteinisierenden Hormons im Serum. Da LH der wichtigste Stimulator der Testosteronsynthese in den Leydig-Zellen ist, kommt es ohne LH zu einer Atrophie der Leydig-Zellen und zum raschen Abfall der Testosteron-Werte (Sikka 88).

Fleischer et al. führten dagegen bei 108 untersuchten Patienten nach Herztransplantation den erniedrigten Testosteronspiegel in erster Linie auf die supprimierende Wirkung der Steroide auf Hypothalamus und Hypophyse zurück (Fleischer 2008).

Der Mangel an Sexualhormonen ist am Knochen besonders durch einen beschleunigten trabekulären Knochenverlust gekennzeichnet. Bei allen Patienten mit nachgewiesenem Hypogonadismus konnte auch eine signifikante Knochendichteerniedrigung gegenüber normogonaden Männern nachgewiesen werden. Dies ist zum einen mit dem bekannten Effekt des Hypogonadismus auf den Mineralsalzgehalt des Knochens und zum anderen mit der gesteigerten Sensitivität der Knochenzellen für Parathormon unter Sexualhormonmangel zu erklären (Orimo 72). Vergleichbar mit den vorliegenden Daten zeigten sich auch in der Untersuchung von Stief und Stempfle insbesondere bei den hypogonaden Patienten signifikant erniedrigte Knochendichtewerte (Stief 2004).

Ebenso zeigte eine Studie von Guo et al. bei Patienten mit hypogonadotropen Hypogonadismus eine erniedrigte Knochendichte. Der Mineralsalzgehalt am Femur und am Gesamtskelett korrelierte positiv mit dem Testosteronspiegel. Zudem war der Knochenresorptionsmarker NTx im Vergleich zum Normalkollektiv erhöht (Guo 97). In Übereinstimmung dazu wies Inoue im Tierversuch bei 10 Wochen alten männlichen Ratten,

die mit Cyclosporin A behandelt wurden, eine signifikante Reduktion der Knochendichte am Femur nach (Inoue 2000). Im weiteren beobachtete Fahrleitner, dass hypogonade Männer nach HTx, die Testosteron erhielten, nach einem Jahr, sogar signifikant höhere Knochendichtewerte, im Vergleich zu Patienten, die keine Hormonsubstitution erhielten, aufwiesen, (Fahrleitner 2002). Abweichend dazu ließ sich von Stief und Stempfle kein signifikanter Unterschied bezüglich des Zugewinns an Knochendichte zwischen der hypogonadalen Gruppe und den normogonadalen Patienten feststellen. Auch nach 2-jähriger Substitution von Testosteron zeigte sich bei den diesbezüglich 38 untersuchten Patienten kein signifikanter Unterschied, was aber aufgrund der niedrigen Fallzahl nur bedingt zu werten ist. Zusammenfassend wird festgestellt, dass der Effekt einer zusätzlichen Testosteronsubstitution auf die Knochendichte bei Patienten mit Hypogonadismus nach Herztransplantation noch nicht ausreichend nachgewiesen werden konnte. Positive Effekte konnten aber in einigen Studien wie z.B. von Anderson, Behre und Sih (Anderson 98, Behre 97, Sih 97) gezeigt werden, so dass bis zum Vorliegen weiterer placebo-kontrollierter Studien, die Testosteron-Substitution befürwortet werden sollte. Potentielle Nebenwirkungen der Testosteron-Therapie wie z.B. Hyperlipidämie, Prostatahypertrophie oder Leberenzymanstieg können durch engmaschiges diesbezügliches Monitoring erkannt werden.

9. Zusammenfassung

Die Posttransplantations-Osteoporose wird in ihrer Bedeutung in der Behandlung von herztransplantierten Patienten häufig unterschätzt. Die hoch dosiert lebenslange Kombinationstherapie aus verschiedenen Immunsuppressiva führt zur Entwicklung eines raschen Knochenmasseverlustes, verbunden mit einer erhöhten Frakturinzidenz.

In der vorliegenden Arbeit wurde bei 101 Patienten nach orthotoper Herztransplantation die Wirkung der Langzeitimmunsuppression auf den Knochenstoffwechsel und den Sexualhormonhaushalt untersucht. Hierbei wurden insbesondere die Knochendichte, verschiedene laborchemische Parameter des Knochenstoffwechsels, inklusive spezifischer Knochenmarker in Serum und Urin sowie der Sexualhormonstatus bestimmt. Im Verlauf von 3 Jahren wurde schließlich der Einfluss des Vitamin D-Metaboliten Calcitriol zusätzlich zur Basispräventionstherapie aus Calcium und bei nachgewiesenem Hypogonadismus gegebener Hormonsubstitution, überprüft und deren Effekt auf die Verbesserung der Knochendichte und der Frakturrate aufgezeigt.

Bei Studieneinschluss fand sich bei 80-90 % der Patienten nach orthotoper Herztransplantation eine verminderte Knochenmineralsalzdichte. Die Rate der radiologisch nachgewiesenen Wirbelkörperfrakturen betrug 11 % und war häufig mit einer die Lebensqualität einschränkenden Schmerzsymptomatik verbunden. Bei Frakturen wiesen die Patienten gegenüber den Patienten ohne Frakturen eine statistisch signifikant niedrigere Knochendichte auf.

Der dynamische Knochenstoffwechsel wurde anhand der Knochenresorptionsmarker Pyridinolin, Desoxypyridinolin und des aminoterminalen Kollagen Typ I Telopeptid (NTx) sowie der Knochenformationsmarker AP, Osteocalcin und der Prokollagen Typ I-Propeptide (PICP, PINP) untersucht. So waren bei Einschluss in die Studie sowohl die Werte für Pyridinolin, als auch für Desoxypyridinolin und NTx als Ausdruck einer pathologisch gesteigerten Knochenresorption, bei gleichzeitig bestehender inadäquater Knochenneubildung, signifikant erhöht.

Die beiden wichtigsten Ursachen der gesteigerten Knochenresorption sind nach der vorliegenden Arbeit zum einen das Auftreten eines sekundären Hyperparathyreoidismus, zum anderen Veränderungen des Sexualhormonstatus. So fand sich ein erhöhter Parathormonspiegel im Sinne eines sekundären Hyperparathyreoidismus bei fast 50 % der untersuchten Patienten. Dies ist hauptsächlich auf die Verschlechterung der Nierenfunktion nach Herztransplantation, bedingt durch die Nephrotoxizität von Cyclosporin A,

zurückzuführen. Eine nachgewiesene positive Korrelation zwischen dem Serum-Creatinin und dem Parathormonspiegel belegt dies noch zusätzlich.

Bei ca. 20 % der männlichen und bei 46 % der weiblichen Patienten lag zudem ein hypogonadotroper Hypogonadismus vor. Dabei wiesen diese Patienten inadäquat niedrige Gonadotropinspiegel bei normaler Stimulierbarkeit durch Gonadotropin-releasing Hormon auf.

Alle Patienten erhielten bei nachgewiesenem Hypogonadismus eine adäquate Hormonsubstitution. Darunter kam es in Kombination mit 1g Calcium/d zu einem 3-fachen Anstieg der Knochendichte im Verlauf von 3 Jahren. Die zusätzliche Gabe von 0,25 µg des Vitamin-D-Metaboliten Calcitriol führte zu keiner weiteren signifikanten Zunahme der Knochendichte. Jedoch wurde in der Frühphase nach Herztransplantation zumindest ein positiver Trend, der auf Grund der kleinen untersuchten Patientenzahl statistisch nicht signifikant war, diesbezüglich beobachtet. Eine zusätzliche Wirkung von Calcitriol zeigte sich jedoch in einer signifikanten Abnahme und teilweise auch Normalisierung der Knochenresorptionsmarker. Zudem kam es unter oben gewählter Dosierung zu einer signifikanten Abnahme des iPTH ohne jedoch Normalwerte zu erreichen.

Insgesamt lässt sich auf Grund der Ergebnisse in der vorgelegten Arbeit konstatieren, dass die alleinige Substitution von Calcium und Hormonen bei nachgewiesenem Hypogonadismus, einen weiteren Knochendichteverlust nach Herztransplantation aufhalten oder sogar zu einem Anstieg der Knochendichte führen kann.

Nach den bisherigen Ergebnissen kann eine generelle Therapie mit Vitamin D-Metaboliten insbesondere in der postoperativen Spätphase nach HTx nicht empfohlen werden. Da es aber unter Behandlung mit Calcitriol zu einer Abnahme der Knochenresorptionsmarker kommt und insbesondere in der Frühphase nach Transplantation positive Auswirkungen auf die Knochendichte zu verzeichnen sind, könnte ihr Einsatz v.a. in den ersten 12-24 postoperativen Monaten positive Effekte auf den Knochenstoffwechsel bringen.

Anhand der aktuellen Studienlage ist jedoch davon auszugehen, dass Calcitriol in höherer Dosierung im Bereich von 0,5-0,75 µg/d den Knochenmasseverlust durchaus signifikant reduzieren kann (Shane 2004, Sambrook 2000). Entscheidend ist also wahrscheinlich eine ausreichend hohe Dosierung des Vitamin-D-Metaboliten. Möglicherweise ist auch eine höhere Dosierung bis zur Normalisierung des Parathormonspiegels sinnvoll und effektiver.

Hierbei ist die damit verbundene höhere Inzidenz an möglichen Nebenwirkungen wie z.B. Hypercalciurie oder Hypercalciämie zu beachten, die jedoch durch engmaschige

Kontrolluntersuchungen und nachfolgender entsprechender Dosisanpassung minimiert werden können.

Ein Osteoporosescreening sowohl vor, als auch nach der Transplantation, ist in jedem Fall zu empfehlen, ebenso wie auch eine Basistherapie, die eine Calcium- und eine Hormonsubstitution bei nachgewiesenem Hypogonadismus, beinhaltet. So kann eine Reduzierung des Knochenmasseverlustes und eine damit verbundene geringere Frakturinzidenz erreicht werden. Dies bedeutet nicht nur für den einzelnen Patienten eine deutliche Steigerung seiner Lebensqualität und -zufriedenheit, sondern gesamt-ökonomisch gesehen, auch eine erhebliche Reduzierung von kostenaufwendigen Behandlungen und Komplikationen.

10. Literaturverzeichnis

1. Abdelhadi M, Ericzon BG, Hultenby K, Sjöden G, Reinholt FP, Nordenström J: Structural skeletal impairment induced by immunosuppressive therapy in rats: cyclosporine A vs tacrolimus. *Transpl Int* 2002; 15: 180-187.
2. Abiati G, Bartucci F, Longoni A et al.: Monitoring of free and total urinary pyridinoline and deoxypyridinoline in healthy volunteers: sample relationships between 24-h and fasting early morning urine concentration. *Bone and Mineral* 1993; 21: 9-19.
3. Al-Chalabi, HA.: Effect of cyclosporin A on the morphology and function of the ovary and fertility in the rabbit. *Int J Fertil* 1984; 29: 218-223.
4. Allison AC, Eugui EM: Immunosuppressive and long-acting anti-inflammatory activity of mycophenolic acid and derivatives, RS 61443. *Br J Rheum* 1991; 30: 57-61.
5. Anderson FH, Francis RM, Selby PL, Cooper C: Sex hormones and osteoporosis in men. *Calcif Tissue Int* 1998; 62: 185-188.
6. Au WY: Cortisol stimulation of parathyroid hormone secretion by rat parathyroid glands in organ culture. *Science* 1976; 193: 1015-1017.
7. Beardsworth LJ, Eyre DR, Dickson IR: Changes with age in the urinary excretion of lysyl- and hydroxylysylpyridinoline two new markers of bone collagen turnover. *J Bone Miner Res* 1990; 5: 671-676.
8. Behre HM, Kliesch S, Leifke E, Link T, Nieschlag E: Long-term effect of testosterone therapy on bone mineral density in hypogonadal men. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 2386-2390.
9. Bell NH: Vitamin D-endocrine system. *J Clin Invest* 1985; 76: 1-6.
10. Bellido T, Girasole G, Jilka RL, Crabb D, Manolagas SC: Demonstration of androgen receptors in bone marrow stromal cells and their role in the regulation of transcription from the human interleukin-6 (IL-6) gene promoter. *J Bone Miner Res* 1993; 8 Suppl 1: 131.
11. Berguer DG, Krieg MA, Thiebaud D et al.: Osteoporosis in heart transplant recipients: a longitudinal study. *Transplant Proc* 1994; 26: 2649-2651.

12. Blake GM, Fogelman I: The role of DXA bone density scans in the diagnosis and treatment of osteoporosis. *Postgrad Med J* 2007; 83: 509-517.
13. Bryer HP, Isserow JA, Armstrong EC, Mann GN, Rucinski B, Buchinsky FJ, Romero DF, Epstein S: Azathioprine alone is bone sparing and does not alter cyclosporin A-induced osteopenia in the rat. *J Bone Miner Res* 1995; 10: 132-138.
14. Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, Morony S, Tarpley J: Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev* 1998; 12: 1260-1268.
15. Canalis E: Mechanisms of glucocorticoid action in bone: Implications to glucocorticoid-induced osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 3441-3447.
16. Canalis E, Delany AM: Mechanisms of glucocorticoid action in bone. *Ann NY Acad Sci* 2002; 966: 73-81.
17. Centrella M, McCarthy TL, Canalis E: Glucocorticoid regulation of transforming growth factor β 1 (TGF- β 1) activity and binding in osteoblast-enriched cultures from fetal rat bone. *Mol Cell Biol* 1991; 11: 4490-4496.
18. Christ E, Linka G, Schmid CH: Knochendichte und Laborparameter des Knochenstoffwechsels bei Patienten mit terminaler Herzerkrankung. *Schweiz Med Wochenschr* 1996; 126 (Nr 37): 1553-1559.
19. Cleemput JV, Daenen W, Geusens P, Dequeker J, Van de Werf F, Vanhaecke J.: Prevention of bone loss in cardiac transplant recipients. *Transplantation* 1996; 61: 1495-1499.
20. Cockshot WP, Park WM: Observer variation in skeletal radiology. *Skelet Radiol* 1983; 10: 86.
21. Cohen A, Shane E: Osteoporosis after solid organ and bone marrow transplantation. *Osteoporos Int* 2003; 14: 617-630.
22. Consensus Development Conference: Diagnosis, prophylaxis and treatment of osteoporosis. *Am J Med* 1993; 94: 646-650.

23. Cueto-Manzano AM, Konel S, Freemont AJ et al.: Effect of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and calcium carbonate on bone loss associated with long-term renal transplantation. *Am J Kidney Dis* 2000; 35: 227-236.
24. Dambacher MA, Wilfert H, Neff M, Rügsegger P: Stadieneinteilung der Osteoporose. *Internist* 1992; 33: 724-727.
25. Delmas PD, Eastell R, Garnero P, Seibel MJ, Stepan J: The use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. Committee of Scientific Advisors of the International Osteoporosis Foundation. *Osteoporos Int* 2000; 11 (6): 2-17.
26. Dempster D: Bone histomorphometry in glucocorticoid-induced osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1998; 13: 137-141.
27. Dissanayake IR, Goodman GR, Bowman AR, Ma Y, Prun S, Jee WSS, Epstein S: Mycophenolate mofetil: A promising new immunosuppressant that does not cause bone loss in the rat. *Transplantation* 1998; 65: 275-278.
28. Donhauser P, Donhauser S, Gottwalt J, Schenk F: Radiologische Verfahren zur Diagnostik und Verlaufskontrolle einer Post-Transplantations-Osteoporose. *Osteologie forum* 1996; 5: 176-183.
29. Eastell R, Calvo MS, Burritt MF et al.: Abnormalities in circadian patterns of bone resorption and renal calcium conservation in type I osteoporosis. *J Clin Endocrin Metab* 1992; 74: 487-494.
30. Eastell R, Hannon R: Biomarkers of bone health and osteoporosis risk. *Proc Nutr Soc* 2008; 67: 157-162.
31. Eibl B, Newrkla S, Wilfert H, Resch H: Leitfaden zur medikamentösen Standardtherapie in der Osteoporose. *J Miner Stoffwechs* 1998; 1: 25-29.
32. Engelke K: Quantitative Computertomographie. *J Miner Stoffwechs* 2002; 4: 22-31.
33. Epstein DM, Dalinka MK, Kaplan FS, Aronchik JM, Marinelli DL, Kundel HL: Observer variation in the detection of osteopenia. *Skelet Radiol* 1986; 15: 347.
34. Epstein S: Post-transplantation bone disease: the role of immunosuppressive agents and the skeleton. *J Bone Miner Res* 1996; 11: 1-7.

35. European FK506 Multicenter Liver Study group: Randomised trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporin in prevention of liver allograft rejection. *Lancet* 1994; 344: 423-428.
36. Fahrleitner A, Prenner G, Tscheliessnigg KH et al.: Testosterone supplementation has additional benefits on bone metabolism in cardiac transplant recipients receiving intravenous biphosphonate treatment: a prospective study. *J Bone Miner Res* 2002; 17: 388.
37. Fischer M, Felsenberg D, Kempers B: Methoden der Knochendichtemessung heutiger Stand. *Klinikerzt* 1993; 1/22: 15-23.
38. Fleischer J, McMahon DJ, Hembree W, Addesso V, Lomgcope C, Shane E: Serum testosterone levels after cardiac transplantation. *Transplant* 2008; 86 (6): 834-83.
39. Fukuda N, Tanaka H, Tominaga Y, Fukagawa M, Kurokawa K, Seino Y: Decreased 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor density is associated with a more severe form of parathyroid hyperplasia in chronic uremic patients. *J Clin Invest* 1993; 92: 1436-1443.
40. Fung JJ, Shapiro R, Armitage J et al.: Influence of FK506 in clinical transplantation. In: *Immunosuppressive drugs. Developments in anti-rejection therapy*. Eds. Thomson AW and Starzl TE, Edward Arnold, London, Boston, Melbourne, Auckland, 1994; 121-140.
41. Garcia-Delgado I, Prieto S, Fragnas LG et al.: Calcitonin, editronate and calcidioltreatment in bone loss after cardiac transplantation. *Calcif Tissue Int* 1997; 60: 155-159.
42. Garnero P, Hausherr E, Chapuy MC, Marcelli C, Grandjean H, Muller C, Cormier C, Breart G, Meunier PJ, Delmas PD: Markers of bone resorption predict hip fracture in elderly women: the EPIDOS prosective study. *J Bone Miner Res* 1996; 11: 1531-1538.
43. Garnero P, Shin WJ, Gineyts E, Karpf DB, Delmas PD: Comparison of new biochemical markers of bone turnover in late postmenopausal osteoporotic women in response to alendronate treatment. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79: 1693-1700.

44. Garnero P, Sornay-Rendu E, Claustrat B, Delmas PD: Biochemical markers of bone turnover, endogenous hormones and the risk of fractures in postmenopausal women: the OFFELY study. *J Bone Miner Res* 2000; 15: 1526-1536.
45. Gasser RW: Anwendung und klinische Relevanz der Bestimmung von Knochenbauparametern bei Osteoporose: Ein Überblick; *J Mineral Stoffwechs* 2001, 3: 15-19.
46. Genant HK, Engelke T, Fuerst et al.: Noninvasive assessment of bone mineral and structure: state of the art. *J Bone Miner Res* 1996; 11: 707-730.
47. Gertz BJ, Clemens JD, Holland SD, Yuan W, Greenspan S: Application of a new serum assay for type I collagen cross-linked N-telopeptides: assessment of diurnal changes in bone turnover with and without alendronate treatment. *Calcif Tissue Int* 1998, 63: 102-106.
48. Ginsberg JS, Kowalchuk G, Hirsh J, Webber C: Heparin effect on bone density. *Thrombosis and Haemostasis* 1990; 64: 286-289.
49. Girasole G, Jilka RL, Passeri G et al.: 17 β -Estradiol inhibits interleukin-6 production by bone marrow derived stromal cells and osteoblasts in vitro: a potential mechanism for the antiosteoporotic effect of estrogens. *J Clin Invest* 1992; 89: 883-891.
50. Glendenning P, Kent GN, Adler BD, Matz L, Watson I, O'Driscoll GY, Hurley DM: High prevalence of osteoporosis in cardiac transplant recipients and discordance between biochemical turnover markers and bone histomorphometry: *Clin Endocrinol (Oxf)* 1999; 50: 347-355.
51. Gowin W, Felsenberg D: Osteoporose: Radiologische Diagnostik. In: *Medizin im Bild* 1997; 4: 21-30.
52. Guo C-Y, Johnson A, Locke TJ, Eastell R: Mechanisms of bone loss after cardiac transplantation. *Bone* 1998; 22: 267-271.
53. Guo C-Y, Jones TH, Eastell R: Treatment of isolated hypogonadotropic hypogonadism: effect on bone mineral density and bone turnover. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 658-665.

54. Haag P, Seibel MJ, Werle E, Ziegler R: Die knochenspezifische alkalische Phosphatase: Analytische Methoden und Wertigkeit in der Knochenstoffwechsel-Diagnostik. *Klein Lab* 1995; 41: 217-227.
55. Häyry P; Isoniemi H, Yilmaz S et al.: Chronic allograft rejection. *Immunol. Rev.* 1993; 134: 33-81.
56. Hahn TJ, Halstead LR, Baran DT: Effects of short term glucocorticoid administration on intestinal calcium absorption and circulating vitamin D metabolite concentrations in man. *J Clin Endocrinol Metab* 1981; 52: 111-115.
57. Handelsman DJ: Hypothalamic-pituitary gonadal dysfunction in renal failure, dialysis and renal transplantation. *Endocrine Reviews* 1985; 6: 151-182.
58. Henderson NK, Eisman JA, Keogh AM, MacDonald P, Glanville A, Spratt P, Sambrook PN: Protective effect of short-term calcitriol or cyclical etidronate on bone loss after cardiac or lung transplantation. 2001; 16: 565-571.
59. Henderson Nk, Sambrook PN, Kelly PJ, MacDonald P, Keogh A, Spratt P, Eisman JA: Bone mineral loss and recovery after cardiac transplantation. *Lancet* 1995; 346: 905.
60. Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, Lacey DL, Boyle WJ, Riggs BL: The roles of osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand in the paracrine regulation of bone resorption. *J Bone Miner Res* 2000; 15: 2-12.
61. Hofbauer LC, Schoppet M: Clinical implications of the Osteoprotegerin/RANK/RANKL system for bone and vascular diseases. *JAMA* 2004; 292: 490-495.
62. Hornbostel H, Kaufmann W, Siegenthaler W (Hrsg.): *Innere Medizin in Praxis und Klink.* Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York; 1992: 1448-1459.
63. Hsu CH, Patel S: Uremic plasma contains factors inhibiting 1-alpha-hydroxylase activity. *J Am Soc Nephrol* 1992; 3: 947-952.
64. Hübner M, Siggelkow H: Neuere Erkenntnisse zur Pathogenese der Steroidosteoporose. *Dtsch Med Wochenschr* 2003; 128: 1602-1608.

65. Inoue T, Kawamura I, Matsuo M, Aketa M, Mabuchi M, Seki J, Goto T: Lesser reduction in bone mineral density by the immunosuppressant, FK506, compared with cyclosporine in rats. *Tranpl* 2000; 5: 774-779.
66. Joffe I, Katz I, Jacobs T, Epstein S: 17 β -Estradiol prevents ostopenia in the oophorectomized rat treated with cyclosporin A. *Endocrinology* 1992; 130: 1578-1586.
67. Kahan BD: Individualization of cyclosporine therapy using pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters. *Transpl* 1985; 40: 457-76.
68. Kalender WA: The estimation of the effective dose in bone mineral measurements with photon absorptiometry and computes tomography. *Rofo Fortschr Geb Röntgenstr Neuen Bildgeb Verfahr* 1991; 155 :149-154.
69. Kanis JA, Borgstrom F, De Laet C, Johansson H, Johnell O, Jonsson B: Assessment of fracture risk. *Osteoporos Int* 2005; 16 (6): 581-589.
70. Kanis JA, Gluer CC, for the Committee of Scientific Advisors, International Osteoporosis Foundation: An update on the diagnosis and assessment of osteoporosis with densiometry. *Osteoporos Int* 2000; 11: 192-202.
71. Kanis JA, Melton III LJ, Christiansen C, Johnston CC, Khaltaev N: The diagnosis of osteoporosis. *J Bone Miner Res* 1994; 9: 1137-1141.
72. Kimble RB, Vannice JL, Bloedow DC, et al.: Interleukin-1 receptor antagonist decreases bone loss and bone resorption in ovariectomized rats. *J Clin Invest* 1994; 93: 1959-1967.
73. Kulak CA, Borba VZ, Kulak junior J, Campos DJ, Shane E: Post-transplantation osteoporosis. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2010; 54: 143-149.
74. Kulak CA, Borba VZ, Kulak junior J, Shane E: Transplantation osteoporosis. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2006; 50: 783-792.
75. Lee AH, Mull RL, Keenan GF, Callegari PE, Dalinka MK, Eisen HJ, Mancini D.M, Di SesaVJ, Attie MF: Osteoporosis and bone morbidity in cardiac transplant recipients. *Am J Med* 1994; 96: 35-41.

76. Leidig-Bruckner G, Hosch S, Dododou P, et al.: Frequency and predictors of osteoporotic fractures after cardiac or liver transplantation: a follow-up study. *Lancet* 2001; 357: 342-347.
77. Li J, Sarosi I, Yan X-Q, Morony S, Capparelli C: RANK is the intrinsic hematopoietic cell surface receptor that controls osteoclastogenesis and regulation of bone mass and calcium metabolism. *PNAS* 2000; 97: 1566-1571.
78. Lower RR, Shumway NE: Studies on orthotopic transplantation of the canine heart. *Surg Forum* 1960; 11: 18-24.
79. Lukert BP, Raisz LG: Glucocorticoid induced osteoporosis: Pathogenesis and management. *Annals of Int Med* 1990; 112: 352-364.
80. Maalouf NM, Shane E: Osteoporosis after solid organ transplantation. *J Endocrinol Metab* 2005; 90: 2456-2465.
81. MacAdams MR, White RH, Chipps BE: Reduction of serum testosterone levels during chronic glucocorticoid therapy. *Ann Intern Med* 1986; 104 : 648-651.
82. Marcus R: Secondary Forms of Osteoporosis. In Coe, F.L., M.J.Favus (Ed.): Disorders of bone and mineral metabolism. Raven Press, New York. 1992: 889-901.
83. Mason J: Renal side-effects of cyclosporin A. *Br J Dermatol* 1990; 122: 71-77.
84. Meys E, Fontanges E, Fourcade N, Thomasson A, Pouyet M, Delmas PD: Bone loss after orthotopic liver transplantation. *Am J Med* 1994; 97: 445-450.
85. Meys E, Terreaux-Duvert F, Beaume-Six T, Dureau G, Meunier PJ: Bone loss after cardiac transplantation: Effects of calcium, calcidiol and monofluorophosphate. *Osteoporosis Int* 1993; 3: 322-329.
86. Moreira RO, Thiago LS, Oliveira FL, Balsuino A, Borojevic R, Duarte ME, Farias ML: Cyclosporin A, but not tacrolimus, is associated with impaired proliferation and differentiation of human osteoblast-like cells in vitro: *Med Sci Monit* 2009; 15: 65-70.
87. Movsowitz C, Epstein S, Fallon M, Ismail F, Thomas S: Cyclosporin-A in vivo produces severe osteopenia in the rat: effect of dose and duration of administration. *Endocrinology* 1988; 123: 2571-2577.

88. Movsowitz C, Schlosberg M, Epstein S, Ismail F, Fallon M, Thomas S: Combined treatment with cyclosporine A and cortisone acetate minimizes the adverse bone effects of either agent alone. *J Orthop Res* 1990; 8: 635-641.
89. Muchmore JS, Cooper KC, YE Y, Schlegel V, Pribil A, Zuhdi N: Prevention of loss of vertebral bone density in heart transplant patients. *J Heart Lung Transplant* 1992; 11: 959-964.
90. National Institutes of Health: Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy: NIH Consensus Statement 2000; 17 (1): 1-45.
91. Nakajin S, Hall PF, Onoda M: Testicular microsomal cytochrom P-450 for C21 steroid side chain cleavage. Spectral and binding studies. *J Biol Chem* 1981; 256: 6134-6139.
92. Neuhaus R, Lohmann R, Platz KP, Guckelberger O, Schon M, Lang M, Hierholzer J, Neuhaus P: Treatment of osteoporosis after liver transplantation. *Transplant Proc* 1995; 27: 1226-1227.
93. Nijs de RNJ, Jacobs JWG, Algra A, Lems WF, Bijlsma JWJ: Prevention and treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis with active vitamin D₃ analogues: a review with meta-analysis of randomized controlles trials including organ transplantation studies. *Osteoporos Int* 2004; 15: 589-602.
94. Orcel P, Bielakoff J, Modrowski D, Miravet L, Vernejoul MC: Cyclosporin A induces in vivo inhibition of resorption and stimulation of formation in rat bone. *J Bone Min Res* 1989; 4: 387-391.
95. Orimo H, Fujita T, Yoshikawa M.: Increased sensitivity of bone to parathyroid hormone in ovariectomized rats. *Endocrinology* 1972; 90: 760-763.
96. Patschan D, Loddenkemper K, Buttgerit F: Molecular mechanisms of glucocorticoid-induced osteoporosis: *Bone* 2001; 29: 498-505.
97. Peraldi MN, Rondeau E, Jousset V, Sraer JD et al: Dexamethasone increases preproparathyroid hormone messenger RNA in human hyperplastic parathyroid cells in vitro. *Eur J Clin Invest* 1990; 20: 392-297.
98. Pfeifer M, Lehmann R, Minne HW: Die Therapie der Osteoporose aus dem Blickwinkel einer auf Evidenz basierenden Medizin. *Med Klin* 2001; 96: 270-80.

99. Pfeilschifter J: Der Knochenstoffwechsel und seine Aktivitätsparameter. *Der Internist* 1990; 31: 727-736.
100. Pfeilschifter J: Diagnostik der Osteoporose. *Kliniker* 1997; 5/26: 115-121.
101. Piedra de la C, Traba ML, Dominguez Cabrera C, Sosa Henriquez M: New biochemical markers of bone resorption in the study of postmenopausal osteoporosis. *Clin Chim Acta* 1997; 265: 225-234.
102. Ramsey-Goldman R, Dunn J, Dunlop DD et al.: Increased risk of fracture in patients receiving solid organ transplants. *J Bone Miner Res* 1999; 14: 456-63.
103. Reichel H, Deibert B, Schmidt-Gayk H, Ritz E: Kalzium metabolism in early chronic renal failure: Implications for the pathogenesis of hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Transplant* 1991; 6: 162-169.
104. Reichel H, Koeffler HP, Norman AW: The role of the vitamin D endocrine system in health and disease. *N Engl J Med* 1989; 320: 980-991.
105. Reid IR, Ibbertson HK: Kalzium supplements in the prevention of steroid-induced osteoporosis. *Am J Clin Nutr.* 1986; 44: 287-290.
106. Rich GM, Mudge GH, Laffel GL, LeBoff MS: Cyclosporine A and prednisone associated osteoporosis in heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 1992;11: 950-958.
107. Ringe JD: Aktuelle Therapiekonzepte der Posttransplantationsosteoporose. *Osteologie forum* 1996; 2: 214-216.
108. Risteli J, Elomaa I, Niemi S, Novamo A, Risteli L: Radioimmunoassay for the pyridinoline cross-linked carboxyterminal telopeptide of type I collagen: a new serum marker of bone collagen degradation. *Clin Chem* 1993; 39: 635-640.
109. Risteli L, Risteli J: Biochemical markers of bone metabolism. *Annals of Med* 1993; 25: 385-393.
110. Rivas M, Kim TS, Staron RB, Shane E: Hypogonadism, bone mass and fractures in men after heart transplantation. *J Bone Miner Res* 1993; 8: 601 A.

111. Robins SP: Turnover of collagen and its precursors. In: *Biology of Collagen*, Viidik A, Wust J (eds.), Academic Press, New York 1980; 135.
112. Rodino MA, Shane E: Osteoporosis after organ transplantation. *Am J Med* 1998; 104: 459-469.
113. Rosen HN, Dresner-Pollak R, Moses AC, Rosenblatt M, Zeind AJ, Clemens JD, Greenspan SL: Specificity of urinary excretion of cross-linked N-telopeptides of type I collagen as a marker of bone turnover. *Calcif Tiss International* 1994; 54: 26-29.
114. Ross AB, Bateman TA, Kostenuik PJ, Ferguson VL, Lacey DL: The effects of osteoprotegerin on the mechanical properties of rat bone. *J Mater Sci Mater Med* 2001; 12: 583-588.
115. Rubin MR, Bilezikian JP: Clinical review 151: The role of parathyroid hormone in the pathogenesis of glucocorticoid-induced osteoporosis: a re-examination of the evidence. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 4033-4041.
116. Sambrook P, Henderson NK, Keogh A, Mac Donald P, Glanville A, Spratt P, Bergin P, Ebeling P, Eisman J: Effect of calcitriol on bone loss after cardiac or lung transplantation. *J of Bone and Mineral Reser*; 2000; 15: 1818-1824.
117. Sambrook PN, Kelly PJ, Keogh A.M, Macdonald P, Spratt P, Freund J, Eisman JA: Bone loss after heart transplantation: A prospective study. *J Heart Lung Transplant* 1994; 13: 116-121.
118. Schild HH, Heller M (Hrsg.): *Osteoporose*. Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York. 1992.
119. Schlosberg M, Movsowitz C, Epstein S, Ismail F, Fallon M, Thomas S: A administration and its withdrawal on bone mineral metabolism. *Endocrinology* 1989; 124: 2179-2185.
120. Seethalakshmi L, Flores C, Carboni A, Bala R, Diamond DA, Menon M: Cyclosporine: Its effects on testicular function and fertility in the prepubertal rat. *J Androl* 1990; 11: 17-24.

121. Seethalakshmi L, Flores C, Malhotra RK, Pallias JD, Tharakan D, Khauli RB, Menon M: The mechanism of cyclosporine's action in the inhibition of testosterone biosynthesis by rat leydig cells in vitro. *Transplantation* 1992; 53: 190-195.
122. Seibel MJ: Biochemical markers of bone turnover part I: biochemistry and variability. *Clin Biochem. Rev* 2005; 26: 97- 122.
123. Seibel MJ: Laborchemische Diagnostik und Differentialdiagnostik der Osteoporose. In: *Osteoporose 2001. Gesellschaftliche Bedeutung-Diagnose-Therapeutische Maßnahmen*. Minne HW (HRS.G.); Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg 2001: 11-14.
124. Seibel MJ, Duncan A, Robins SP: Urinary hydroxypyridinium crosslinks provide indices of cartilage and bone involvement in arthritic diseases: *J Rheumatol* 1989; 16: 964-970.
125. Seibel MJ, Raue F: Biochemische Marker des Knochenstoffwechsels und ihre Bedeutung bei der Osteoporose-Diagnostik. *Endokrinologie. Informationen* Nr. 1 1993; 17: 18-21.
126. Seibel MJ, Woitge HW, Ziegler R: Biochemische Marker des Knochenstoffwechsels I: Grundlagen. *Klein Lab* 1993; 39: 717-727.
127. Seibel MJ, Zipf A, Ziegler R: Pyridinium-Crosslinks im Urin. *Dtsch med Wschr* 1994; 119: 923-929.
128. Seino Y, Tanaky H, Yamaoka K, Yabuuchi H: Circulating $1\alpha,25$ -dihydroxyvitamin D₃ or 1α -hydroxyvitamin D₃ in normal men. *J Bone Miner Res* 1987; 2: 479-485.
129. Shane E, Adesso V, Namerow PB, Mc Mahon DJ, Lo SH, Staron RB, Zucker M, Pardi S, Maybaum S, Mancini D: Alendronate versus calcitriol for the prevention of bone loss after cardiac transplantation. *N Engl J Med* 2004; 350: 767-776.
130. Shane E, Mancini D, Aaronson K, Silverberg SJ, Seibel MJ, Adesso V, McMahan DJ: Bone mass, vitamin D deficiency, and hyperparathyroidism in congestive heart failure. *Am J Med* 1997; 4: 169-175.
131. Shane E, Rivas M, McMahan DJ, Staron RB, Silverberg SJ, Seibel MJ, Mancini D, Michler RE, Aaronson K, Adesso V, Lo SH: Bone loss and turnover after cardiac transplantation. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 1497-1506.

132. Shane E, Rivas C, Silverberg SJ, Kim TS, Staron RB, Bilezikian JP: Osteoporosis after cardiac transplant. *Am J Med* 1993; 94: 257-264.
133. Shane E, Rivas M, Staron RB, Silverberg SJ, Seibel MJ, Kuiper J, Mancini D, Adesso V, Michler RE, Factor-Litvak P: Fracture after cardiac transplantation: a prospective longitudinal study. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 1740-1760.
134. Sih R, Morley JE, Kaiser FE, Perry HM, Ping P, Ross C: Testosterone replacement in bolder hypogonadal men: a 12-month randomized controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 1661-1667.
135. Sikka SC, Bhasin S, Coy DC, Koyle MA, Swerdloff RS, Rajfer J: Effects of cyclosporine on the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in the male rat: Mechanism of action. *Endocrinology* 1988; 123: 1069-1074.
136. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS: Osteoprotegerin: A novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997; 89: 309-319.
137. Smith R: Collagen and disorders of bone. *Clin Sci* 1980; 59: 215.
138. Stehlik J, Edwards LB, Kucheryavaya AY, Benden C, Christie JD, Dipchand AI, Dobbels F, Kirk R, Rahmel AO, Hertz MI: The Registry of the international society for heart and lung transplantation: 29th official adult heart transplant report-2012. *J Heart Lung Transplant* 2012; 31: 1052-1064.
139. Stein B, Halloran P, Reinhardt T, Engstrom GW, Bales CW, Drezner MK, Currie KL, Takizawa M, Adams JS, Epstein S: Cyclosporin-A increases synthesis of 1,25-Dihydroxyvitamin D3 in the rat and mouse. *Endocrinology* 1991; 128: 1369-1373.
140. Stein B, Takizawa M, Katz I, Joffe I, Berlin J, Epstein S: Salmon calcitonin prevents cyclosporin-A-induced high turnover bone loss. *Endocrinology* 1991; 129: 92-98.
141. Stein E, Ebeling P, Shane E: Post-transplantation osteoporosis: *Endocrinol Metab Clin North Am* 2007; 36: 937-963.
142. Stief J, Sohn HY, Alt A, Überfuhr P, Theisen K, Stempfle HU: Einfluss des Immunsuppressiva-induzierten Hypogonadismus auf den Knochenmetabolismus nach Herztransplantation. *Dtsch Med Wochenschr* 2004; 129: 1674-1678.

143. Stepan JJ, Lachmann M, Zverina J, Pacovsky V, Baylink DJ: Castrated men exhibit bone loss: effect of calcitonin treatment on biochemical indices of bone remodeling. *J Clin Endocrinol Metab* 1989; 69: 523-527.
144. Taylor DO, Edwards LB, Boucek MM, Trulock EP, Keck BM, Hertz MI: The registry of the international society for heart and lung transplantation: Twenty-third official adult heart transplant report-2006. *J Heart Lung Transplant* 2006; 25: 869-879.
145. Thiebaud D, Krieg MA, Gillard-Berguer D, Jcquet AF, Goy JJ, Burckhardt P: Cyclosporine induced high bone turnover and may contribute to bone loss after heart transplantation. *Euro J Clin Invest* 1996; 26: 549-555.
146. Torres A, Garcia S, Gomez A, Gonzalez A, Salido E et al.: Treatment with intermittent calcitriol and calcium reduces bone loss after renal transplantation. *Kidney Intern* 2004; 65: 705-712.
147. Torregrosa JV: Immunosuppression and bone loss after transplantation. *Transplantation Proceedings* 2001; 33: 3665-3667.
148. Urena P, Iida-Klein A, Kong XF: Regulation of parathyroid hormone (PTH)/PTH-related peptide receptor messenger ribonucleic acid by glucocorticoids and PTH in ROS 17/2.8 and OK cells. *Endocrinology* 1994; 134: 451-456.
149. Valimaki MJ, Kinnunen K, Tahtela R et al.: A prospective study of bone loss and turnover after cardiac transplantation: effect of calcium supplementation with or without calcitonin. *Osteoporos Int* 1999; 10: 128-136.
150. Walne AJ, James IT, Perrett D: The stability of pyridinium crosslinks in urine and serum. *Clin Chim Acta* 1995; 240: 95-97.
151. Werder v. K: Einfluß von Glucocorticoiden und Cyclosporin auf die Hypophyse und Hypothalamus. *Osteologie forum* 1996; 2: 192-195.
152. Wiesner RH, Krom RAF: Advances in the diagnosis and treatment of hepatic allograft rejection. In: *Liver transplantation in childrens*. Eds.: willital GH, de Hemptinne B, Lehmann RR, Kerremans I, Movagakis M, W. Pabst Verlag, 1993; 17-19.

153. Withold W: Monitoring of bone turnover biological, preanalytical and technical criteria in the assessment of biochemical markers. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1996; 34: 785-799.
154. Wong GL: Basal activities and hormone responsiveness of osteoclast-like and osteoblast-like bone cells are regulated by glucocorticoids. *J Biol Chem* 1979; 254: 6337-6340.
155. World Health Organization: Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis: technical report series 843. Geneva: WHO 1994.
156. Ziegler R: Osteoporose - Diagnose und Therapie. *Med Klinik* 1996; 91 (Suppl. I): 29-33.
157. Ziegler R, Kasperk C: Glucocorticoid-induced osteoporosis: Prevention and treatment. *Steroids* 1998; 63: 344-348.
158. Ziegler R, Wüster C: Empfehlungen zur Diagnostik und Prophylaxe einer Osteopathie nach Organtransplantation. *Endokrinologische -Informationen* 1992; 16: 55-56.

11. Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. H.-U. Kreider-Stempfle für die Überlassung des Themas, seine langjährige Betreuung und wertvolle Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.

Frau Dr. C. Werner danke ich für die hilfreiche Begleitung und die vielen fachlichen Anregungen.

Herrn Prof. Dr. med. K. Theisen danke ich für die großzügige Arbeitsmöglichkeit in seiner Abteilung.

Bedanken möchte ich mich auch bei der Herzchirurgischen Abteilung von Herrn Prof. Dr. med. B. Reichart des Klinikum Großhadern, insbesondere Frau Schüpferling für die gute Kooperation.

Weiterhin möchte ich mich bei allen Mitarbeitern der kardiologischen Abteilung der Medizinischen Klinik-Innenstadt des Klinikums der Universität München für ihre Hilfsbereitschaft und die freundliche Atmosphäre bedanken.

Mein besondere Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. W.A. Rambeck, Herrn Dr. med. U. Wehr und Frau Dr. med. M. Wirner vom Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Tierernährung der Tierärztlichen Fakultät der Universität München für die Bestimmung der Knochenresorptionsmarker und die gute Zusammenarbeit.

Dem emeritierten Herrn Prof. Dr. med. P.C. Scriba und seinen Nachfolgern Herrn Prof. Dr. med. D. Schlöndorff und Herrn Prof. Dr. med. M. Reincke, danke ich für die Möglichkeit diese Arbeit an ihrer Klinik erstellen zu können.

Schließlich möchte ich mich bei allen Patienten für ihre Bereitwilligkeit an dieser klinischen Untersuchung teilzunehmen sowie für ihr Durchhaltevermögen bedanken.

Mein besonderer Dank gilt meiner Familie für die immerwährende Unterstützung, Motivation und Beistand ohne die diese Arbeit nicht fertig gestellt worden wäre.

Meinem Bruder und Sabine Schöttl danke ich ganz herzlich für die Hilfe bei der graphischen Gestaltung dieser Arbeit.

Eidesstattliche Versicherung:

Hiermit versichere ich ausdrücklich, dass ich die vorliegende Dissertation selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre ferner, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ort, Datum

Unterschrift