

**Aus der Orthopädischen Klinik, König-Ludwig-Haus  
der Universität Würzburg  
Orthopädisches Zentrum für Muskuloskelettale Forschung**

Leitung: Professor Dr. med Franz Jakob

**Selenmangel und Niereninsuffizienz als putative Risikofaktoren  
für die Osteoporose**

Inaugural-Dissertation

Zur Erlangung der Doktorwürden der

Medizinischen Fakultät

Der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Christina Schenk

aus Bruchhausen-Vilsen

Würzburg, August 2010

Referent: Prof. Dr. Franz Jakob  
Korreferent: Prof. Dr. Hartwig Klinker  
Dekan: Prof. Dr. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 29.03.2011

Die Promovendin ist Ärztin

Denen, die mich unterstützen

## Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Zusammenfassung Osteoporose	1
1.2 Selenbiologie	4
1.2.1 Selen	4
1.2.2 Funktion von Selen	
1.2.3 Selenoproteine	5
1.3 Oxidativer Stress – Einfluß auf den Knochenstoffwechsel	9
1.4 Östrogene und Osteoporose	11
1.5 Therapie und Behandlungsoptionen	13
1.6 Renale Osteopathie	18
1.7 Therapie bei Niereninsuffizienz	19
1.8 Zielsetzung	20
2. Material und Methoden	21
2.1 Kontrolle und Patienten	21
2.2 Messung der Knochendichte	21
2.3 Serumproben der Patientengruppe	22
2.4 Serumproben der Kontrolle	22
2.5 GPx – Assay	22
2.6 Spektrofluorimetrische Selenbestimmung	23
2.7 Bestimmung des Kreatinin	23
2.8 Bestimmung der Glomerulären Filtrationsrate	24
2.9 Statistische Berechnung	24
3. Ergebnisse	24
3.1 GPx-Aktivität bei Patienten mit Osteoporose	24
3.2 Selenstatus und GPx-Aktivität	26
3.3 GFR und Osteoporose	28
3.4 GPx-Aktivität im Serum und GFR	31

4. Diskussion	34
5. Zusammenfassung	44
6. Abkürzungen	46
7. Literaturverzeichnis	47

# **1 Einleitung**

Durch Zunahme der Studien, deren vermehrte Aufmerksamkeit dem Spurenelement Selen und seinen Aufgaben galt, konnte gezeigt werden, dass dieses einen großen Einfluss auf biochemische Reaktionen des Körpers hat. Diverse Stoffwechselfvorgänge werden über Proteine gesteuert oder begünstigt, deren Sequenz die 21. Aminosäure Selenocystein beinhaltet. Bei diesen sogenannten Selenoproteinen befindet sich das Selenocystein hauptsächlich im aktiven Zentrum von antioxidativen Enzymen. Die Aktivität der Enzyme nimmt hierdurch um das 100-1000fache zu [1]. Diese Arbeit beschäftigt sich mit der Funktion und dem Einfluss dieser Enzyme insbesondere auf den Knochenstoffwechsel sowie die Funktion und Bedeutung der Nierenfunktion bei der Ausbildung der Osteoporose.

## **1.1 Zusammenfassung Osteoporose**

Die Osteoporose zählt zu den bedeutenden chronischen Erkrankungen welche durch eine höhere Lebenserwartung eine zunehmende sozioökonomische Bedeutung erlangt. Interdisziplinär beschäftigen sich verschiedene Fachrichtungen mit Prävention, Diagnose und Therapie.

Die WHO definiert die Osteoporose als „eine systemische Skeletterkrankung charakterisiert durch eine abnehmende Knochenmasse mit gestörter Mikroarchitektur und einer damit einhergehenden erhöhten Frakturgefährdung“. Sie stellt eine der häufigsten Knochenerkrankungen im höheren Lebensalter dar und bleibt lange klinisch stumm. Durch eine verminderte Bruchfestigkeit der Knochen tritt die Erkrankung dann in Erscheinung. Da altersbedingte Funktionseinschränkungen und Multimorbidität häufig auch eine erhöhte Sturzneigung bedingen, nimmt die Inzidenz von Frakturen jenseits des 60. Lebensjahrs zu.

Die Prävalenz in Deutschland liegt in der Gesamtbevölkerung bei ca 15% und bei Frauen über dem 50.Lebensjahr bei 30% berechnet auf Basis von Daten der US-Amerikanischen Bevölkerung durch die National Osteoporosis Foundation (NOF). Hochrechnungen der Bone-Eva Studie beziffern die Betroffenen im Jahr 2003 auf 7,8 Millionen (davon 6,8 Millionen Frauen) in der Altersgruppe über dem 50. Lebensjahr

was ca. einem Viertel dieser Schicht entspricht [2]. In der Altersgruppe über dem 75. Lebensjahr liegt der Anteil momentan bei ca. 60%. Insgesamt ist eine steigende Tendenz erkennbar. Enorme Auswirkungen auf das Gesundheitssystem werden v.a. durch die osteoporosebedingten Frakturen verursacht. In der Schweiz waren 1992 mehr Krankenhaustage auf diese Komplikationen zurückzuführen als auf Diabetes, Myokardinfarkt oder Brustkrebs [3].

Die direkten und indirekten Folgekosten sind erheblich: Behandlungs- und Pflegekosten, Verlust der Selbständigkeit, Invalidität, Pflegebedürftigkeit, Einbuße der Lebensqualität.

Aktuelle Daten beziffern die osteoporosebedingten Frakturen in der Europäischen Union auf 1700 pro Tag oder 650000 pro Jahr mit zunehmender Tendenz (WHO HEN 2006). 2005 betrug die Inzidenz für Schenkelhalsfrakturen in Deutschland 90/100 000 Einwohner [4]. Bei den über 65-Jährigen lag sie bei 600 bis 900/100 000 Einwohner/Jahr. Das Lebenszeitrisiko, eine Fraktur des koxalen Femurs zu erleiden, beträgt etwa 11 bis 23 Prozent bei Frauen und 5 bis 11 Prozent bei Männern [5].

Polygenetische Vererbung und umweltbedingte Faktoren spielen bei der Krankheitsentstehung eine Rolle.

In 95% handelt es sich um eine primäre Osteoporose (postmenopausal, senile Osteoporose) und lediglich in 5% um eine sekundäre Erkrankung wie beispielsweise bei endokrinen Erkrankungen (Hyperkortisolismus, Hypogonadismus u.a.), Immobilisation, Malabsorptionssyndrom mit verminderter Zufuhr von Vitamin D oder Kalzium oder der Langzeiteinnahme von Kortikosteroiden. Des Weiteren können hereditäre Leiden wie eine Osteogenesis imperfecta oder assoziierte Erkrankungen wie eine Rheumatoide Arthritis zugrunde liegen.

Osteoporose ist ein multifaktorielles Geschehen. Da es sich um eine vererbare Erkrankung handelt, deren Manifestation stark von den Lebensumständen und bestehenden Begleiterkrankungen abhängt, sind die auslösenden Faktoren vielfältig [6]. Therapeutisch nicht zu beeinflussen sind das Alter und die damit verbundene Abnahme der Knochenmasse sowie eine positive Familienanamnese. Das Geschlecht spielt eine wichtige Rolle, da Frauen eine niedrigere Knochenmasse haben, welche in der Menopause noch einmal abnimmt. Eine späte Menarche und frühe Menopause mit einer Östrogenexposition <30 Jahren und den Lebensstil betreffende Gründe wie körperliche Inaktivität, Ernährungsdefizite (Kachexie,

Kalzium- und Vitamin D-Mangel), starker Nikotin- und Alkoholkonsum hingegen sind beeinflussbare Risikofaktoren.

All diese Ursachen führen zu einem erhöhten Verlust an Knochenmasse. Die postmenopausale Osteoporose lässt sich in einen frühen bis 10 Jahre nach Menopause und einen späten (>10 Jahre nach Menopause) Typ einteilen. Dem „Fast-loser“-Patienten mit gesteigertem Umbau („high turnover“) und einem Verlust an trabekulärer Knochendichte von >3,5% jährlich steht der „slow-loser“-Patient mit reduziertem Umbau („low turnover“) und einem jährlichen Verlust von <3,5% gegenüber. Es kommt hauptsächlich zum spongiosabetontem Verlust von Knochenmasse. Bei der senilen Osteoporose sind dagegen Spongiosa und Kompakta des Knochens gleichermaßen betroffen.

Da im konventionellen Röntgen eine Verminderung um weniger als 30% nicht erkennbar ist, gehört neben dem lokalen radiologischen Befund (Lendenwirbelsäule, Becken) die Knochendichtemessung mittels DXA (Dual X Ray-Absorptiometry) an LWS oder am proximalen Femur zur Diagnostik dazu [7-9]. Bei einer Standardabweichung (SD) des hierbei ermittelten T-Score-Wertes über 2,5 unter den mittleren Wert der Peak bone mass (PBM), untersucht an Frauen um das 30. Lebensjahr, liegt nach WHO-Definiton eine Osteoporose vor. Werte zwischen -1,0 und -2,5 SD werden als Osteopenie oder Risikobereich beschrieben. Der T-Score beschreibt hierbei die Differenz zur Spitzenknochenmasse (PBM) junger gesunder Erwachsener in Standardabweichungen, während der Z-Score die Abweichung von der Knochenmineraldichte in Bezug auf ein gleichaltriges Normkollektiv angibt. Aktuelle Leitlinien fassen allerdings die erniedrigte Knochendichte vermehrt als starken Risikofaktor auf, der per se nicht als Diagnose verwendet werden kann, sondern nur im Kontext mit anderen Risikofaktoren für das Individuum und die Diagnose valide wird ([www.dv-osteologie.de](http://www.dv-osteologie.de)). Etwa 15% der Frauen der weißen Bevölkerung über dem 65. Lebensjahr weisen eine Osteoporose auf. Bis zum 75. Lebensjahr haben 30% eine osteoporosebedingte Fraktur erlitten [10]. 1999 waren knapp 34000 Krankenhausaufenthalte allein durch osteoporoseassoziierte Wirbelkörperfrakturen nötig. Die Kosten pro Fraktur belaufen sich nach Schätzungen auf knapp 4500 Euro bei den Frauen, etwas weniger bei den Männern. Aufgrund der gestiegenen Lebenserwartung nehmen solche Ereignisse seit einigen Jahren in Deutschland zu.



Somit stellt die Osteoporose eine Volkskrankheit dar, welcher eine zunehmende sozioökonomische Bedeutung zukommt und somit von gesteigertem interdisziplinärem Interesse ist.

## **1.2 Selenbiologie**

### **1.2.1 Selen**

Selen, ein Halbmetall, gehört zu den essentiellen Spurenelementen. Es kommt in anorganischen Salzen und organischen Verbindungen in lebenden Organismen vor. Die Verteilung in den Organen ist unterschiedlich. Die höchste Konzentration weisen Leber und Nieren, Milz, Gehirn, Gonaden, Thrombozyten, Erythrozyten und die rote Muskulatur auf. Wegen des hohen Gewichts wird in der Skelettmuskulatur mit bis zu 50% der höchste Anteil am Gesamtkörperbestand gespeichert. Dieser beträgt beim Erwachsenen 55-70 µg.

Bei auftretendem Selenmangel kommt es zu einer Umverteilung. Leber und Muskelgewebe mobilisieren das Spurenelement zugunsten der endokrinen Gewebe, der Gonaden und des zentralen Nervensystems.

Die Aufrechterhaltung der Homöostase erfolgt über die Anpassung der Urinausscheidung [1]. Erniedrigte Zufuhr hat ein Absinken der Selenausscheidung mit Stuhl und Urin zur Folge, wohingegen diese steigt wenn die Selenaufnahme zunimmt. Bei sehr großen Mengen an Selen erfolgt die Regulation auch über die Atmung. Der knoblauchartige Geruch entsteht, da das Spurenelement als Dimethylselenid abgeatmet wird.

Zur Erhebung des Selenstatus wird die Konzentration im Plasma sowie in der Gluthationperoxidase (GPx) der Erythrozyten oder die GPx-Aktivität im Serum gemessen.

### **1.2.2 Funktion von Selen**

Selen stellt einen wichtigen Bestandteil von Proteinen beziehungsweise Enzymen dar in welchen es in Form von Selenocystein enthalten ist [11].

In Anwesenheit einer Hairpin-Struktur, dem sogenannten „SECIS“-Element (Selenocysteine insertion sequence) in der nicht translatierten 3' Region der mRNA des betreffenden Gens wird das Stop-Codon UGA als Selenocystein translatiert. Am Selen-Einbau und der Synthese von Selenocystein sind eine Reihe weiterer Proteine beteiligt wie z.B. eEFsec (eukaryotic Sec-specific elongation factor), SBP2 (SECIS binding protein 2) und SPS2 (Selenophosphat-Synthase) [11, 12].

Zur Familie der Selenoproteine gehören Glutathionperoxidasen (GPxs), Dejodasen Typ 1,2 und 3, Thioredoxinreduktasen (TrxR), die Selenoproteine P und W und die Selenophosphatsynthetasen [12-14]. Die Selenophosphatsynthase ist auf ausreichende Selen- Zufuhr angewiesen, um die ersten Schritte der Selenoproteinbiosynthese zu kontrollieren. Ein Mangel an Selen führt zum Aktivitätsverlust dieser Enzyme [15]. Da diese Proteine eine wichtige Rolle im Redoxsystem des Körpers spielen, führt ein Selenmangel zu erhöhtem oxidativem Stress. Der oxidative Stress aktiviert bezogen auf das Mikroenvironment des Knochens über NF-κB die Osteoklasten, was eine erhöhten Knochenabbau zur Folge hat. Der Selenmangel kann also über diesen Weg an der Entstehung von Osteoporose beteiligt sein.

Auch Mangelerkrankungen wie die Keshan-Krankheit und die Kashin-Beck-Krankheit können mit einem Selenmangel in Verbindung gebracht werden [16]. Erstere ist eine Myocarditis, ausgelöst durch ein Coxsackie-Virus welches in einem Körper mit vermindertem Selenstatus eine höhere Virulenz entwickelt. Die Kashin-Beck-Erkrankung manifestiert sich in jungen Jahren durch symmetrische Deformierung der Gelenke an Armen und Beinen und durch eine Hemmung des Skelettwachstums. Sie stellt eine nutritive Gelenkknorpeldegeneration dar und kommt endemisch in Nordchina, Korea und Tibet vor.

### **1.2.3 Selenoproteine**

#### Glutathionperoxidasen

Die vier bekannten selenabhängigen Glutathionperoxidasen sind die cytosolische GPx, die gastrointestinale GPx, die Plasma-GPx und die Phospholipid-Hydroperoxid-GPx. Neben spezifischen Funktionen haben sie die gemeinsame Aufgabe, vor allem

in wässrigem Milieu Sauerstoffradikale zu eliminieren und so zum Schutz vor oxidativen Schäden beizutragen. Die selenreichen Proteine reduzieren organische Peroxide wie Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ ) und Lipidhydroperoxid zu Wasser durch Regeneration von Glutathion und verhindern so Zell- und Gewebeschäden [12].

Die selenhaltigen GPx sind ubiquitär exprimiert und kommen in höheren Konzentrationen vor allem in Erythrozyten, Thrombozyten, Phagozyten, Leber und in den Augen vor. Die Plasma GPx ist ein sezerniertes Protein und wird vor allem in der Niere, der Leber und im Darm gebildet. Wahrscheinlich stammen bis zu zwei Drittel der sezernierten GPx aus der Niere, was für die vorliegende Untersuchung von Bedeutung ist.

Bei einer Selenaufnahme von 60-80  $\mu\text{g}/\text{Tag}$  erreichen Selenoenzyme ihr Aktivitätsmaximum [17]. Neuere Schätzungen vermuten allerdings, dass die Aufnahme von bis zu 200 $\mu\text{g}$  pro Tag eine weitere Steigerung der Enzymaktivität bewirken kann. Toxische Wirkungen treten auf, wenn über längere Zeit mehr als 800  $\mu\text{g}$  pro Tag aufgenommen werden.

Selenoenzyme sind für verschiedene Organfunktionen von großer Bedeutung. So erzeugt z.B. der Knockout von Selenoprotein P als Transportprotein für Selen Epileptische Anfälle, Infertilität und Kleinwuchs, was für die Bedeutung im ZNS, den Testes und im Skelett spricht [18]. Auch für die Schilddrüsenfunktion ist ausreichend Selen sehr wichtig. Über die Glutathionperoxidasen wird die Schilddrüse vor Angriffen durch  $H_2O_2$  geschützt, welches bei der Hormonsynthese entsteht.

## Dejodasen

Auch die Jodthyronin-Dejodasen Typ I-III enthalten Selen. Diese sind an der Aktivierung (Typ I und II) und Inaktivierung (Typ III) von Schilddrüsenhormonen in der Peripherie beteiligt [1, 19]. Dabei wird die Umwandlung von Thyroxin -T4- zum wirksameren T3 durch eine 5`-Dejodase sowie die Umwandlung von T3 und reversem T3 -rT3 - zu inaktivem Dijodthyronin -T2- katalysiert [13]. Die Synthese der Schilddrüsenhormone, Stoffwechsel und Wirkung hängen von den essentiellen Spurenelementen Jod und Selen ab, welche so Einfluss auf die von diesen Hormonen gesteuerten Stoffwechselforgänge ausüben. Unzureichende Selenzufuhr bewirkt eine Erhöhung des Verhältnisses von T4 zu T3 im Serum was mit

Schilddrüsenfunktionsstörungen einhergehen kann. Eine übermäßige Jodzufuhr kann ebenfalls Änderungen des Schilddrüsenstoffwechsels hervorrufen [20, 21].

## Selenoprotein P und W

Selenoprotein P ist ein extrazelluläres, monomeres Glycoprotein welches 10 Selenocysteine in der Aminosäuresequenz enthält. Große Mengen werden in der Leber synthetisiert und ins Plasma abgegeben. Es kommt in fast allen Geweben von Säugern vor und bindet in humanem Plasma den größten Teil des Selengehaltes was ca 60% ausmacht [22-24].

Selenoprotein P ist eines von zwei bekannten extrazellulären Selenoproteinen. Die Konzentration im Plasma korreliert sehr gut mit dem Selenstatus des Körpers und stellt somit einen empfindlichen laborchemischen Marker dar [13].

Ihm kommt eine Bedeutung als Antioxidans zu und es stellt ein Transportprotein für Selen dar [11, 18, 25]. Die antioxidative Wirkung kommt beim Abbau von Peroxinitrit sowie beim Schutz der Biomembranen durch Reduktion von Phospholipid-Hydroperoxiden zum Tragen.

Selenoprotein W findet sich vorwiegend in Muskelgewebe, kommt aber auch im Gehirn und anderen Geweben vor.

## Thioredoxinreduktasen

Zur selenhaltigen Thioredoxinreduktase-Familie gehören u.a. TrxR1, TrxR2 und TGR (Thioredoxin Glutathion Reduktase). Sie spielen bei der Reduktion von oxidiertem Thioredoxin und anderen Substanzen wie z.B. Dehydroascorbinsäure eine Rolle. Das Thioredoxin-Thioredoxinreduktase-System reguliert redoxsensitive Transkriptionsfaktoren. Durch Reduktion von Disulfidbrücken wird die Proteinfaltung beeinflusst [19]. Auch an der DNA-Synthese, am Zellwachstum und Apoptose von Tumorzellen sowie der Regenerierung von antioxidativ wirksamem Vitamin E sind diese Proteine beteiligt.

Neben den genannten Selenoproteinen gibt es noch weitere Enzyme, die auf ausreichend Selen angewiesen sind. Diese finden sich in Ovarien, den Nebennieren und im Pankreas. Vorkommen von Selenoproteinen in den Gonaden und im Prostataepithel zeigen eine Bedeutung von Selen für die Spermatogenese und Reproduktion [26].

Auch für die Immunfunktion hat Selen eine Bedeutung. Als Stimulator der humoralen und zellulären Immunität besitzt es immunmodulierende Effekte. Betroffen sind davon die Produktion von Antikörpern, die Stimulierung der Chemotaxis von Neutrophilen, die Erhöhung der Zytotoxizität von natürlichen Killerzellen und zytotoxischen T-Lymphozyten und die Hemmung der Suppressorzellen [27].

Die Wirkungen hängen stark von der Selenaufnahme ab. Eine unzureichende Zufuhr wie auch eine Überdosierung des Spurenelements kann das Immunsystem beeinträchtigen. Ein Defizit wirkt negativ auf die Glutathionperoxidaseaktivität was eine erhöhte Radikalbildung und Ansammlung von Lipidhydroperoxiden nach sich zieht. Dies wiederum steigert die Bildung von entzündungsfördernden Prostaglandinen.

### 1.3 Oxidativer Stress – Einfluss auf den Knochenstoffwechsel

Aerobe Organismen sind zur Energieproduktion auf molekularen Sauerstoff angewiesen. Dabei entstehen aus O<sub>2</sub> ständig kleine Mengen reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) welche einerseits eine toxische Wirkung haben können, andererseits aber auch wichtig sind für redox-sensitive biologische Funktionen. Bei überschießender Produktion sind die Zellen einem permanenten Stress durch diese reaktive Sauerstoffspezies (ROS) wie z.B. Superoxid Anion, Hydroxylradikale und Hydrogenperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ausgesetzt. Diese entstehen intrazellulär als Nebenprodukt beim mitochondrialen Elektronentransport oder durch Enzymaktivitäten z.B. der NADPH Oxidase und Cyclooxygenase.

Hohe Konzentrationen an reaktiven Sauerstoffspezies können eine inflammatorische Antwort, Apoptose oder Ischämie auslösen. In geringen Dosen wird den ROS eine Rolle als second messenger zugeschrieben [28].

Oxidativer Stress kann Zellschäden verursachen. Bei der Oxidation von Lipiden kommt es zu strukturellen Veränderungen. Freie Radikale schädigen Biomembranen und Lipoproteine und führen zu einer Störung der Barrierefunktion was wiederum die Zellorganellen oder die ganze Zelle beeinträchtigen kann [29].

Auch das Risiko für die Entstehung von Osteoporose ist mit der Zunahme von oxidativem Stress durch freie Sauerstoffspezies (ROS) erhöht. ROS beeinflussen den Knochenstoffwechsel direkt, indem sie über eine Stimulation der Osteoklastendifferenzierung die Knochenresorption begünstigen [30-33].

Risikofaktoren für Osteoporose wie Rauchen, Hypertonie und Diabetes mellitus gehen mit erhöhtem oxidativen Stress einher.

Der Knochenstoffwechsel unterliegt einem empfindlichen Gleichgewicht aus Bildung und Resorption, wobei Osteoblasten bzw. Osteoklasten die zentrale Rolle spielen. Kommt dieses System aus dem Gleichgewicht, können Erkrankungen mit einer pathologisch erhöhten Knochenresorption wie z.B. Osteoporose entstehen.

Die ROS beeinflussen den Knochenstoffwechsel über zwei verschiedene Mechanismen. Durch Suppression der Knochenneubildung und Stimulation der Knochenresorption.

Freie Radikale beeinflussen die Differenzierung von Osteoklasten. Diese entstehen aus myeloischen Vorläuferzellen unter dem Einfluss von RANKL (Receptor Activator of NFκB Ligand) und M-CSF (Macrophage Colony-Stimulating Factor) [34]. Das

erstgenannte ist ein in der Zytoplasmamembran von Osteoblasten bzw. Stromazellen verankertes Protein [33] und ausschlaggebend für Reifung und Überleben der Osteoklasten. Zunahme der Expression von RANKL ist demnach mit einer gesteigerten Knochenresorption und Knochenschwund verbunden. Bindet RANKL an den entsprechenden Rezeptor (RANK) auf der Osteoklasten-Progenitor-Zelle (Makrophage), hat dies die Rekrutierung von TNF receptor-associated factor 6 (TRAF6) an der zytoplasmatischen Domäne von RANK zur Folge. Eine Enzymkaskade führt dann letztlich u.a. über Stimulation von NF $\kappa$ B zur Aktivierung und Ausdifferenzierung der Osteoklastenzelle [28, 33] und somit zu einem erhöhten Knochenumsatz [28, 30]. Der intrazelluläre Anstieg von reaktiven Sauerstoffspezies induziert die Expression von RANKL durch die Osteoblasten und unterstützt so die Osteoklastenbildung und Aktivierung.

Andere Faktoren wie TGF- $\beta$ , 1,25-(OH) $_2$ D $_3$ , PTH, Interleukin-1 $\beta$  und Prostaglandin E $_2$  spielen eine Rolle bei der Ausdifferenzierung von Osteoklasten indem sie die Expression von RANKL auf den Stromazellen/Osteoblasten stimulieren [35].

Ein weiteres an diesem Vorgang beteiligtes Protein der Osteoblasten ist M-CSF (Macrophage Colony-Stimulating Factor). Dieser Faktor ist nicht spezifisch für Osteoklasten sondern fördert Proliferation und Differenzierung von gemeinsamen Vorläufern von Makrophagen und Osteoklasten. Kontrolliert wird RANKL über Osteoprotegerin (OPG), ein Mitglied der Tumornekrosefaktor-Rezeptorfamilie. Dieses ebenfalls von den Osteoblasten exprimierte Protein konkurriert mit dem eigentlichen Rezeptor RANK um die Bindung von RANKL. Als frei lösliches Protein löst es keine Signaltransduktion aus und inhibiert so kompetitiv die Wirkung von RANK und damit die Osteoklastendifferenzierung aus Vorläuferzellen.

Reife Osteoklasten sezernieren Protonen und Proteasen, die den Knochen auflösen und anschließend resorbieren. Die bei der Arbeit der Osteoklasten entstehenden reaktiven Sauerstoffspezies wirken in relativ hoher Konzentration auf die Umgebung und hemmen die Osteoblasten [36]. Hierbei spielen „extracellular signal-regulated kinase“ (ERK) und NF- $\kappa$ B eine Rolle [37]

Ein intrazellulärer Anstieg der ROS wird endogen durch reguläre Stoffwechselforgänge wie dem mitochondrialen Elektronentransport oder exogen durch Zytokine oder UV-Strahlung verursacht. Sind die antioxidativen Mechanismen vermindert, wie z.B. bei einer Östrogendeffizienz nach Ovariectomie, kann dies die Zelle unter erhöhten oxidativen Stress setzen [37].

Um bei einer Störung des Redox-Gleichgewichtes Beeinträchtigungen der Enzymfunktion und deren Interaktionen abzufangen, hat die Zelle verschiedene Mechanismen, um sich vor schädigenden ROS und anderen Radikalen zu schützen. Sie enthält Antioxidantien, die als Reduktionsmittel leicht mit oxidierenden Substanzen reagieren und dadurch wichtige Moleküle vor Oxidation schützen. Neben Vitamin C, E u.a. ist das Glutathion ( Sequenz Glu-Cys-Gly) besonders wichtig. Es kommt in vielen Zellen in hoher Konzentration vor. Eine zentrale Rolle bei der Aufrechterhaltung der Redox-Homöostase spielen die Selenoproteine [11].

Dies geschieht über ein antioxidatives System zu dem die Glutathionperoxidasen, welche  $H_2O_2$  direkt abfangen, die Thioredoxinreduktasen und Selenoprotein P gehören. Das Glutathion ist ein wichtiges Coenzym der Glutathionperoxidase bei der Neutralisation von Peroxiden.

Sie neutralisieren z.B. Hydrogenperoxid ( $H_2O_2$ ) indem sie es in Sauerstoff ( $O_2$ ) und Wasser ( $H_2O$ ) umwandeln und so verhindern, dass es zu Zellschäden durch oxidativen Stress kommt [31].

Die Abnahme dieser neutralisierenden Systeme hat Schäden an der Zelle zur Folge.

#### **1.4 Östrogene und Osteoporose**

Knochenaufbau und Abbau unterliegen einem fein abgestimmten System durch Osteoblasten und Osteoklasten. Zahlreiche Zytokine, Hormone und Medikamente fördern bzw. hemmen den Einfluss von RANKL oder OPG und bestimmen so die Knochenbilanz. Der Mechanismus unterliegt dem endokrinen Einfluss von Östrogen und PTH sowie parakrinen Faktoren wie dem bone morphogenetic protein (BMP) und insulin-like growth factor [38]. Dieser wird sowohl lokal als auch systemisch, stimuliert durch STH, in Leber, Niere und Bindegewebe freigesetzt.

Der Verlust von Hormonen nach der Menopause führt zu einem starken Anstieg des Knochenumsatzes und einem Ungleichgewicht zwischen Knochenauf- und -abbau das die Entstehung von Osteoporose begünstigt. Somit stellt der Abfall des Östrogenspiegels die wichtigste Ursache der postmenopausalen Osteoporose dar [36]. Die Inhibition der Osteoklastogenese ist einer der Hauptmechanismen über den Östrogene den Verlust von Knochen verhindern [34]. Die Hormone hemmen normalerweise die Stimulation der Osteoklasten-Differenzierung durch die



Osteoblasten über eine Senkung der Zytokinspiegel von IL-1, IL-6 (Osteoklastenaktivierung) und TNF alpha, welcher über die Induzierung von ROS in Osteoklasten wiederum Einfluss auf deren Differenzierung nimmt [34, 36]. Die Östrogene haben so eine hemmende Wirkung auf die Expression von RANKL. Ferner inhibieren sie die Bildung von M-CSF ebenfalls über ein IL-1/TNF-abhängigen Mechanismus. Da Östrogene die Produktion von Osteoprotegerin fördern, sinkt mit fehlenden Hormonen ebenfalls die Menge dieses löslichen endogenen Rezeptorantagonisten und somit dessen hemmende Wirkung bei der Osteoklastogenese [34]. Fallen nun all diese Wirkungen weg, überwiegen die Knochen abbauenden Zellen und es kommt zur verstärkten Knochenresorption.

Nach Ovariectomie steigt der oxidative Stress in Form von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und Lipid-Peroxidation (LPO) während es zu einem Absinken der antioxidativen Enzyme wie Superoxid Dismutase (SOD), Glutathionperoxidase (GPx) und Glutathion S Transferase (GST) kommt [36]. Die Expression von Glutathionperoxidase steigt durch RANKL und 17β-Östradiol. Durch Fehlen der antioxidativ wirksamen Mechanismen kommt es zu einer Akkumulation der ROS und die Zelle steht unter erhöhtem oxidativen Stress. Dies stimuliert wiederum die Ausdifferenzierung von Osteoklasten wie oben dargestellt.

Durch die bekannte Assoziation von oxidativem Stress mit der Ausbildung der Osteoporose wird den Antioxidantien ein möglicher therapeutischer Wert zugeschrieben. Die Gabe von Inhibitoren der durch RANKL angetriebenen ROS-produzierenden Mechanismen oder die reaktiven Sauerstoffspezies neutralisierenden Stoffe könnten demnach eine alternative Therapiestrategie bei Knochenerkrankungen darstellen.

## 1.5 Therapie- und Behandlungsoptionen

Die Osteoporosetherapie setzt sich aus prophylaktischer Therapie, Schmerztherapie und knochenspezifischer Therapie zusammen.

Beim älteren Menschen bezieht sich Ersteres auf die körperliche Bewegung, Verbesserung des Knochenstoffwechsels, Senkung des Sturzrisikos durch Verbesserung der neuromuskulären Funktion, Wiederherstellung oder Verbesserung der Funktionalität nach erlittenen Frakturen, Gewichtsreduktion, Anhebung der Lebensqualität und damit Zunahme der sozialen und körperlichen Aktivität.

Die Schmerztherapie nach erlittenen Frakturen folgt im Wesentlichen den Empfehlungen zur Bekämpfung des Tumorschmerzes nach WHO-Schema und soll hier nicht weiter ausgeführt werden.

Eine kalziumreiche Ernährung mit Milch und Milchprodukten vor allem für ältere Menschen zählt ebenso wie die Supplementierung von Kalzium und Vitamin D zur Basis-Behandlung. Für postmenopausale Frauen und Männer über dem 65. Lebensjahr wird eine Kalziumgabe von 1000-1500mg/d empfohlen. Da bei Älteren oft ein latenter Mangel an Kalzium und Vitamin D vorliegt, kann die zusätzliche Zufuhr von 600-800 IE Vitamin D3 einen Anstieg der Knochendichte bewirken und das Risiko von Oberschenkelhalsfrakturen senken [10]. Die aktuellen Leitlinien des Dachverbands Osteologie haben die empfohlene Dosis an Vitamin D3 auf bis zu 2000 U/Tag angehoben ([www.dv-osteologie.de](http://www.dv-osteologie.de)).

Durch den vielfach geführten Nachweis zur Verhinderung osteoporotischer Frakturen, stehen die antiresorptiv wirksamen Bisphosphonate in der Therapie der postmenopausalen Osteoporose an erster Stelle. Auch bei den sekundär induzierten Osteoporosen sind sie die Therapie der ersten Wahl. Sie haben neben dem hemmenden Effekt auf die Osteoklasten auch eine supprimierende Wirkung auf die Osteoblasten.

Für die in Deutschland zugelassenen Medikamente Etidronat, Alendronat, und Risedronat, Ibandronat und Zoledronat sind durch zahlreiche Studien Effekte auf Knochendichte und Frakturrisiko nachgewiesen worden. Diese sind substanzspezifisch aber nicht gruppenspezifisch. Gesichert ist der Nutzen für Alendronat, Risedronat, Ibandronat und Zoledronat die eine Klasse-A-Empfehlung haben.

Das Risiko einer Wirbelkörper- oder Schenkelhalsfraktur sinkt unter Alendronat bzw Risedronat deutlich ab, auch bei schon abgelaufener Fraktur. Risedronat zeigt auch bei einer deutlichen Minderung der Knochendichte (T-Score < -3) eine Wirksamkeit zur Reduktion des Risikos von Oberschenkelhalsfrakturen und allen nicht vertebrealen Frakturen. Empfohlen sind 10mg/d oder 1x70mg/Woche bei der Gabe von Alendronat und 5mg/d bzw 1x35mg/Woche bei Risedronat. Die schwere Niereninsuffizienz (Alendronat Crea-Clearance < 35ml/min; Risedronat < 30ml/min) ist bei beiden eine Kontraindikation. Für das Ibandronat gibt es eine monatliche Dosierung mit 150 mg p.o. oder eine dreimonatige intravenöse Therapie mit 3 mg. Das Zoledronat wird einmal jährlich mit 5 mg intravenös verabreicht.

Die Behandlung mit dem seit 2007 für die Osteoporosetherapie zugelassenen Zoledronat senkt das Risiko, eine morphometrische Fraktur zu erleiden um 70%, das einer Hüftfraktur um rund 40% verglichen mit der Gabe eines Placebos. Entsprechend sinkt das Risiko anderer Frakturen. Unter i.v.-Gabe nahm die Knochendichte (BMD) so wie die metabolischen Marker des Knochens zu.

Das Bisphosphonat Zoledronat Aclasta® wird vom Hersteller aufgrund mangelnder klinischer Erfahrungen bei Patienten mit einer Nierenfunktionsstörung (Kreatinin-Clearance < 30ml/min) nicht empfohlen. In der von Black et al [39] durchgeführten HORIZON-Studie an 3889 Patienten über die Auswirkungen einer jährlichen Infusion von 5mg Zoledronsäure wurden innerhalb von 3 Jahren keine signifikanten Unterschiede von Serumkreatinin und Kreatinin-Clearance zwischen der Placebogruppe und der Verumgruppe gemessen. Allerdings kam es in der Verumgruppe signifikant häufiger zu schwerwiegendem Vorhofflimmern (50 [1,3%] versus 20 [0,5%] unter Plazebo,  $p < 0,001$ ).

Vor Verabreichung ist auf eine gute Flüssigkeitsversorgung zu achten. Gleichzeitige Gaben von Medikamenten welche die Nierenfunktion signifikant beeinflussen, z. B. Aminoglykoside und Diuretika die eine Dehydratation bewirken können, müssen beachtet werden. Eine vorbestehende Hypokalzämie sollte mit ausreichend Aufnahme von Kalzium und der Gabe von Vitamin D therapiert werden.

Ein für die Osteoporosetherapie wichtiges Medikament stellt das Strontiumranelat Protelos® dar. Es liegen zwei verschiedene Wirkmechanismen vor. Protelos® steigert die Replikation von osteoblastären Vorstufen und die Synthese von Knochenkollagen, während gleichzeitig die Differenzierung osteoklastärer Vorstufen

und die Aktivität reifer Osteoklasten gehemmt wird. Der Zelluntergang von Osteoklasten wird gefördert. Somit kommt es zu einer Verschiebung des natürlichen Prozesses der Knochenerneuerung zugunsten der Knochenbildung. Die Trabekelvernetzung wird verbessert und die Homogenisierung der Spongiosastruktur führt zur Festigung.

Das Medikament ist wirksam in allen Osteoporosesituationen und zeichnet sich durch einen frühen Wirkeintritt aus. Der Wirkstoff verringert bei Patienten sowohl mit als auch ohne vorausgegangene vertebrale Fraktur nach einem Jahr das Risiko von vertebrealen Frakturen. Das Risiko für Hüftfrakturen wird ebenfalls reduziert [40, 41].

Das in der Nebenschilddrüse gebildete und ausgeschüttete Parathormon (PTH) fungiert als zentraler Calciumregulator und reguliert die Anzahl und Aktivität der knochenbauenden Osteoblasten. Während ein dauerhaft erhöhter Parathormonspiegel osteokatabol wirkt, stimuliert eine niedrige Konzentration bei pulsatiler Freisetzung die Bildung von Osteoblasten und Matrixproteinen.

Dies wird in der Osteoporosetherapie ausgenutzt. Parathormon wird als Peptid von 84 Aminosäuren freigesetzt (PTH 1-84). Die amino-terminale Sequenz 1-34 ist für die biologische Wirksamkeit im Sinne der Bindung an den Rezeptor ausreichend. Bei dem Osteoporosemedikament handelt es sich um ein biotechnologisch hergestelltes, 34 Aminosäuren langes Fragment des endogenen Parathormons. Die Gabe von beispielsweise 20µg (= Zulassungsdosis) Teriparatid stimuliert die Knochenneubildung. Es startet Signalkaskaden, die zu einer Aktivierung von bone-linig-cells zu aktiven Osteoblasten und zu einer Hemmung der Apoptose der Osteoblasten führt. Es wird durch Vernetzung der Trabekel und eine Zunahme der Kortikalisdicke neues, belastbares Knochengewebe aufgebaut. Somit wirkt Teriparatid anders als Antiresorptiva wie beispielsweise die Bisphosphonate, die über eine Hemmung der Osteoklasten einen Knochenabbau verhindern.

Neer et al [42] zeigten die Knochenwirksamkeit in einer Frakturstudie bei 1637 postmenopausalen Frauen mit fortgeschrittener Osteoporose. Unter einer Basistherapie mit Calcium und Vitamin D wurde das Auftreten von vertebrealen Frakturen um 90% gegenüber der Placebogruppe gesenkt. Multiple vertebrale Frakturen wurden um 77% reduziert. Die Knochenmineraldichte an der Wirbelsäule wurde signifikant erhöht.

Ebenfalls eine Klasse-A-Empfehlung stellt der selektive Östrogenrezeptormodulator (SERM) Raloxifen dar. Hierunter wird in Kombination mit Basistherapie aus Kalzium und Vitamin D das Auftreten von Wirbelkörperfrakturen deutlich gesenkt jedoch kein Effekt auf Schenkelhalsfrakturen festgestellt. Empfohlen werden 60mg/d. Auch hier ist eine bestehende Kontraindikation die schwere Niereninsuffizienz.

Unter die Medikamente 2. Wahl mit Klasse-B-Empfehlung fallen Etidronat, Calcitonin nasal und Fluoride. Alle haben eine Klasse-B-Empfehlung, das heißt es liegt eine eingeschränkte, teils widersprüchliche Datenlage vor. Sie wirken antiresorptiv und vermindern das Auftreten von Wirbelkörperfrakturen. Fluorid ist ein Stimulans der Osteoblasten und bewirkt den Anbau von neuem aber schlecht strukturiertem Knochen. Eine Minderung der Frakturrate ist nicht belegt.

Ferner stehen noch die Östrogene und die Östrogen/Gestagen-Verbindungen zur Verfügung, welche aber mit Klasse-C-Empfehlung und erhöhtem Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse und Mamma-Ca nur noch sehr eingeschränkt für die Osteoporosetherapie indiziert sind.

Eine zurückhaltende Anwendung der 2. Wahl-Medikamente zugunsten der Klasse-A-Empfehlungen ist angebracht.

Laut Leitlinien DVO ist zur Behandlung der Osteoporose bei entsprechender zusätzlicher Indikationsstellung (Kachexie; Muskelschwäche) auch das Anabolikum Nandrolat zugelassen. Für Nandrolat ist ein Effekt auf das Frakturrisiko bislang nicht in RCTs untersucht worden. 1,25-Dihydroxy-Vitamin D<sub>3</sub>=Calcitriol ist in Deutschland nicht zugelassen, daher ist nur eine Off-Label-Anwendung möglich.

Diskutiert werden medikamentöse Möglichkeiten zur Herabsetzung des Frakturrisikos. Dabei handelt es sich um den Einsatz von HMG-CoA-Reduktase Inhibitoren (Statine) und Thiazid-Diuretika sowie des Gestagens Tibolon mit teils androgener und östrogenen Wirkung.

Allerdings liegen hier keine Daten aus RCTs vor. Beobachtungsstudien haben vor allem für Thiaziddiuretika einen protektiven Effekt auf das Frakturrisiko gezeigt und eine protektive Wirkung auf die Knochendichte durch eine RCT belegt (DVO Leitlinien 2006).

## Nebenwirkungen und Risiken der Osteoporosetherapie

Bei der therapeutischen Entscheidungsfindung sollten die möglichen Risiken und unerwünschten Nebenwirkungen, die Langzeiteffekte und das individuelle Risiko welches die Patientin durch eventuelle Komorbidität hat, berücksichtigt werden:

### Bisphosphonate

Kontraindikationen für eine Bisphosphonattherapie sind Osteomalazie, Hypokalzämie, schwere Niereninsuffizienz mit einer Creatinin-Clearance <35 ml/min und vorbestehende Ösophaguserkrankungen. Eine herabgesetzte Nierenfunktion oder Nierenstein-Anamnese erfordern die konstante Überwachung des Serum- und Urinkalziums da durch Komplexbildung mit Kalzium die Gefahr der Hypokalzämie besteht. Daneben treten Mineralisationsdefekte bis hin zur Osteomalazie v.a. bei hoch dosierter Dauergabe auf. Die rasche i.v.-Gabe birgt die Gefahr der Niereninsuffizienz bis hin zum akuten Nierenversagen. Die orale Verfügbarkeit ist schlecht. Gastrointestinale Nebenwirkungen belaufen sich auf Irritationen, selten Ösophagitis und Ulzerationen. Diese treten bei täglicher Einnahme unter Risedronat seltener (20-30%) auf als unter Alendronat (40-50%). Die wöchentliche Gabe hat bezüglich der NW einen günstigeren Verlauf als die tägliche Einnahme.

Die frühen Bisphosphonate wie Etidronat bewirkten in höherer Dosierung eine Verminderung der Mineralisierung und damit eine Osteomalazie. Dies ist bei modernen Bisphosphonaten kein klinisch relevantes Problem mehr.

### Raloxifen

Es besteht eine Erhöhung thrombembolischer Ereignisse analog zur Hormonersatztherapie, deren Häufigkeit mit dem Alter und der Therapiedauer ansteigt.

Dementsprechend ist ein aktuelles oder früheres thrombembolisches Ereignis eine Kontraindikation neben ungeklärten Uterusblutungen, Endometrium-Ca, Männer und gebärfähige Frauen, Leberinsuffizienz und schwere Niereninsuffizienz.

Die Einnahme senkt das Risiko an Mamma-Ca oder Hypertonie zu erkranken. Raloxifen wird nach der Bindung an Glucuronsäure im Wesentlichen über den Stuhl ausgeschieden, nur 6% werden renal eliminiert.

Unter den genannten NW der Therapeutika der ersten Wahl soll hier der Nierenfunktion besondere Beachtung geschenkt werden. Eingeschränkte Nierenfunktion mit einer Clearance von  $< 35$  ml/min (Alendronat) bzw  $< 30$  ml/min (Risedronat) zählen zu den starken Kontraindikationen. Vor allem Alendronat wird fast ausschließlich renal eliminiert.

Da mit zunehmendem Alter Inzidenz und Prävalenz von Osteoporose und renalen Funktionseinschränkungen ansteigen, stellt sich bei drohender Akkumulation der Bisphosphonate die Frage nach der Sicherheit der Therapie. Dies und der Zusammenhang zwischen Abnahme der Nierenfunktion und Osteopathien soll im Folgenden kurz aufgegriffen werden.

## **1.6 Renale Osteopathie**

Eine chronische Niereninsuffizienz kann zu einer renalen Osteopathie wie zum Beispiel sekundärer bzw. tertiärer Hyperparathyreoidismus, Osteomalazie oder einer adynamischen Knochenerkrankung führen.

Im Verlauf der Entwicklung einer chronischen Niereninsuffizienz kommt es früh zu Störungen im Vitamin-D-Stoffwechsel und später im Kalzium- und Phosphatstoffwechsel. Mit Abnahme der glomerulären Filtrationsrate (GFR) kommt es durch Retention bzw. verminderte renale Exkretion zur Hyperphosphatämie. Dies führt über indirekte Mechanismen zu einem Anstieg an Parathormon. Beim Gesunden wird das 25-(OH)D<sub>3</sub> in der Niere durch 1 $\alpha$ -Hydroxylase zu 1-25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> hydroxyliert. Beim chronisch Nierenkranken ist dieser Vorgang schon ab einer GFR  $< 50$  ml/min gestört wodurch ein Mangel an Calcitriol entsteht. Die verminderte GFR bzw die gestörte Aufnahme des Komplexes aus 25-(OH)D<sub>3</sub> und des Vitamin D-bindenden Proteins tragen ebenfalls zur Entstehung eines sHPT bei.

Die Patienten entwickeln eine Phosphatretention, was zur Hyperphosphatämie führt, die die Hydroxylierung von Vit D weiter hemmt.

Durch den Calcitriolmangel und die Hyperphosphatämie entsteht ein Kalziummangel was ein weiterer Stimulus für die Entstehung eines HPT darstellt, da PTH ansteigt und die Parathyreoideazellen stimuliert werden [43].

Durch den HPT nimmt die Zahl der Osteoklasten zu und die Knochenresorption wird gesteigert. Folge sind subperiostale Resorptionen der Kortikalis und Akrolysen bei der leichteren Form. Die Spongiosa wird vergrößert und braune Tumoren können sich entwickeln. Bei Überschreiten des Löslichkeitsprodukts kommt es zu extraossären Verkalkungen in Weichteilen und Gefäßen [44]. Eine Hyperphosphatämie entwickelt sich obligat bei einer Niereninsuffizienz mit einer GFR < 30ml/min. In Studien wurde gezeigt, dass eine frühzeitige Therapie mit Vitamin D bei einer GFR < 50 ml/min die Entstehung eines sHPT verhindern kann [45]. Anzustreben ist dabei ein normaler Kalziumspiegel.

In der Labordiagnostik findet sich beim renalen sHPT: erniedrigtes Kalzium, Phosphat erhöht, PTH erhöht, Creatinin erhöht.

Da die Niere zu einem großen Teil die Produktion der sezernierten GPx übernimmt, hat die zunehmende Niereninsuffizienz eine erhebliche Bedeutung für die antioxidative Kapazität im Serum, so dass dieser Faktor die komplexe Pathogenese der renalen Osteopathie deutlich verstärkt.

## **1.7 Therapie der Osteoporose bei Niereninsuffizienz**

In der NHANES-Studie (National Health und Nutrition Examination Survey) wurden 1988-94 Daten über Häufigkeit und Ausmaß der Niereninsuffizienz (NI) - berechnet nach Cockroft und Gault – bei Patienten mit Osteoporose und Osteopenie ab einem Alter von 20 gesammelt. Demnach ist bei Frauen mit Osteoporose in 85% eine leichte bis moderate Niereninsuffizienz mit einer GFR < 60ml und in 24% eine schwere NI mit GFR < 35ml/min anzunehmen. Altersspezifisch steigt die Prävalenz der schweren NI ab dem 60. Lebensjahr bei Frauen mit Osteoporose bis auf 54% und bei Frauen mit Osteopenie auf 37% an [46].

Das nephrotoxische Potential der Bisphosphonate ist substanz- und dosisabhängig. Um eine Akkumulation zu vermeiden sollte bei einer Einschränkung der Nierenfunktion von <60ml/min vor Therapiebeginn die Kreatinin-Clearance bestimmt werden und die Dosisreduktion in Abhängigkeit davon erfolgen.

Im Tierexperiment wurde bei Gabe von Alendronat nachgewiesen, dass es mit zunehmender Niereninsuffizienz zum Anstieg der Konzentration in Plasma und Knochen kommt [47].



Systematische Untersuchungen zum Einsatz der Bisphosphonate bei fortgeschrittener Nierenfunktionseinschränkung (GFR <35 ml/min) gibt es nicht. Bei einer leichten bis mäßigen NI (GFR 35-60ml/min) ist eine Dosisanpassung nicht erforderlich unabhängig von täglicher oder wöchentlicher Einnahme.

In einer retrograden Analyse mehrerer Studien, die Patienten mit unterschiedlicher NI einschlossen, zeigte sich, dass bei einer mittleren Behandlungsdauer von 2 Jahren die Inzidenz unerwünschter Ereignisse unabhängig vom Ausmaß der NI im Vergleich zur Placebogruppe war. Somit kann Risedronat auch bei schwerer NI gegeben werden. [48].

Da Raloxifen hauptsächlich nach Bindung an Glucuronsäure über den Stuhl ausgeschieden wird und nur 6% renal eliminiert werden, kann es bei NI verabreicht werden [49].

Ausgehend von einer milden bis moderaten Niereninsuffizienz mit einer GFR-Einschränkung zwischen 90-30ml/min sind die verschiedenen Substanzklassen, die für die Osteoporosetherapie zugelassen sind, unbedenklich anzuwenden. Der bei zunehmender NI entstehende  $1\alpha$ -Hydroxylasemangel führt zu verminderten Spiegeln an aktivem Vitamin D. Es sollte also eine Substitution bei diesen Patienten erfolgen, um eine Progression der renalen Osteopathie zu verhindern.

## **1.8 Zielsetzung**

In einer vorhergehenden Untersuchung der Arbeitsgruppe Prof. Jakob wurde ein Zusammenhang der Glutathionperoxidase Aktivität im Serum und der Schwere der Osteoporose festgestellt. Patienten, bei denen mehr als eine Wirbelkörperfraktur vorlagen, haben signifikant erniedrigte GPx Werte im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv. Der Hauptproduktionsort der Plasma-GPx ist die Niere.

In der nun vorliegenden Arbeit werden Zusammenhänge zwischen dem Auftreten einer Osteoporose und einer verminderten Nierenfunktion untersucht.

Daten von Patientengruppen mit den Diagnosen Osteoporose und Osteopenie wurden mit denen einer gesunden Kontrollgruppe verglichen. Anschließend an die Bestimmung ausgewählter Laborwerte wurde nach einem Zusammenhang zwischen den Ergebnissen und der vorliegenden Diagnose Osteoporose gesucht.

## **2. Material und Methoden**

### **2.1 Kontrolle und Patienten**

Es wurden 3 Gruppen klassifiziert. Die Kontrolle bestand aus 43 Personen, die in Anamnese und Fragebogen keine Risikofaktoren für Osteoporose aufwiesen und bisher keine Frakturen erlitten hatten. Das mittlere Alter lag bei 73.70 $\pm$  0.97. Die Patientengruppe beinhalteten 120 Personen aus der Osteoporoseambulanz, welche Risikofaktoren für Osteoporose aufwiesen und schon Frakturen erlitten hatten. Es erfolgte eine weitere Einteilung in zwei Gruppen einmal mit Patienten, die an milder bzw. schwerer Osteoporose litten. Gruppe 2 bestand aus 48 Teilnehmern, die einen T-Score von  $\leq -2,5$  oder darunter bei Messung der Knochendichte mittels DXA an Wirbelkörper und/oder Hüfte zeigten, keine oder nur 1 morphometrische Fraktur hatten. Der Altersdurchschnitt lag hier bei 74,08  $\pm$  1,05. Die dritte Gruppe umfasste 72 Personen und unterlag denselben Kriterien wie oben genannt, hatte aber eine höhere Krankheitsaktivität (T-Score  $\leq -2,5$ ) und mehr als 2 bis hin zu multiplen Frakturen erlitten bzw. Höhenminderungen über 4mm an Wirbelkörpern. Das durchschnittliche Alter lag bei 75.11  $\pm$  0.71. Alle Patienten wurden in die Studie aufgenommen unabhängig davon, ob sie sich schon einer Therapie unterzogen hatten oder eine Osteoporose neu diagnostiziert wurde. Da die Nierenfunktion mit jeder Lebensdekade um einen relativ konstanten Wert (ca. 5ml/min/1.73m<sup>2</sup>) absinkt, wurden Proben von Personen ab einem Alter von 65 Jahren ausgewertet, um eine vergleichbare Aussage machen zu können.

### **2.2 Messung der Knochendichte**

Die Ergebnisse der Knochendichtmessung wurden von den zuweisenden Ärzten mitgegeben bzw. über unsere universitäre Einrichtung der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin ermittelt. Es wurden DXA-Messungen akzeptiert, bei denen wir Zugang zum Messprotokoll hatten um die Messtechniken zu überprüfen und mögliche Störgrößen auszuschließen. Die T-Scores wurden an Lendenwirbelsäule oder Hüfte ermittelt und die Patienten entsprechend eingeteilt.

### **2.3 Serumproben der Patienten**

Im Rahmen einer vorangegangenen Studie über Glutathionperoxidasen (GPx) von Professor Dr. Jakob und Frau Claudia Becker aus dem Zentrum für experimentelle und klinische Osteologie der orthopädischen Abteilung der Universität Würzburg wurden von 2004 bis 2005 Serum von 164 Patienten mit der Diagnose Osteoporose und Serum von 67 Patienten mit der Diagnose Osteopenie untersucht. Die Rekrutierung fand über die Osteoporoseambulanz im König-Ludwig-Haus Würzburg statt. Bestimmt wurde die GPx.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde die Untersuchung um Ca i.S., Phosphat i.S., Alkalische Phosphatase und Creatinin i.S. erweitert und die Korrelationen mit der GFR berechnet. Die Werte wurden bei der vorangegangenen Studie routinemäßig mitbestimmt.

### **2.4 Serumproben der Kontrolle**

Für die Kontrolle der entsprechenden Konzentrationen im Serum wurde 64 Personen Blut abgenommen und die benötigten Werte bestimmt. Diese Kontrollgruppe setzte sich aus 23 Mitarbeitern und 41 stationären Patienten ohne Diagnose Osteoporose zusammen. Später erfolgte eine Altersangleichung um eine vergleichbare Gruppe zu erhalten.

### **2.5 Spektrofluorimetrische Selenbestimmung**

Serumproben à 100 µl wurden vollständig in einer Mischung von Nitritsäure und Perchlorat aufgelöst und im Folgenden durch Hydrochlorat zu Selen-IV reduziert. Die Quantifizierung erfolgt mittels Fluorimetrischer Analyse. Hierbei wurden Piazselenolkomplexe gemessen, welche sich durch Zugabe von 2,3-Diaminophenolphthalein bildeten.

Zur Validierung der Methode wurden zwei unabhängige Referenzmaterialien verwendet. Im Handel erhältliches Humanes Standard Serum (Sera AS, Billingstad, Norwegen) und eine Standardlösung zur Absorption von Selenatomen ( 1000 µg/ml,

Sigma Aldrich GmbH). Der Variationskoeffizient im Bereich von humanem Serumselengehalt lag unter 20%. Die Selenbestimmung wurde in Kooperation mit Prof. Dr. Josef Köhrle und Dr. Lutz Schomburg, Experimentelle Endokrinologie, Charité, Berlin durchgeführt.

## 2.6 Bestimmung des Kreatinin

Die Messung erfolgte nach Anleitung des Herstellers aus Urinproben mittels Kreatinin Assay (Thermo Electron Co, Vantaa, Finland) unter Verwendung eines Konelab 30i Analysegerätes (Thermo Electron Co).

## 2.7 Bestimmung der Glomerulären Filtrationsrate

Die Bestimmung der Nierenfunktion erfolgte über die Bestimmung der Creatinin-Clearance nach der mathematischen Formel von Cockroft und Gault:

$$\begin{aligned} \text{Kreatinin-Clearance (ml/min)} &= \frac{(140 - \text{Lebensjahre}) \times \text{kg KG}}{72 \times \text{Serum-Kreatinin (mg/dl)}} \\ &\text{bzw.} \\ &= \frac{(140 - \text{Lebensalter}) \times \text{kg KG}}{0,82 \times \text{Serum-Kreatinin (\mu mol/l)}} \end{aligned}$$

Die Bestimmung des Serum-Kreatinins im Labor erfolgte in  $\mu\text{mol/L}$  und wurde mittels des Faktors 0,0113 in mg/dl umgerechnet. Dieser Wert wurde mit 88,4 multipliziert, um den Wert in  $\mu\text{mol/L}$  zu erhalten.

Die benötigten Parameter Serum-Kreatinin, Alter des Patienten, Geschlecht und Körpergewicht wurden dem Osteoporosefragebogen bzw der Krankenakte entnommen.

Der Wert wurde bei Frauen noch mit dem Korrekturfaktor 0,85 multipliziert.

## 2.8 Statistische Berechnungen

Die statistischen Berechnungen erfolgten mit SPSS 15.0 für Windows.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 GPx-Aktivität bei Patienten mit Osteoporose

Die vorausgegangene Studie (Claudia Becker) zeigte, dass die Aktivität der GPx im Serum bei Patienten mit Osteoporose vermindert ist.

Da die GPx-Aktivität von der Raumtemperatur und dem Alter der Reagenzien abhängig war, wurden die Proben zur Angleichung für die Messungen in Portionen tiefgefroren. Damit erfolgte eine Normalisierung sowohl für die Abweichungen innerhalb einer Messung als auch für die Messungen der Serumproteine.

Die GPx-Aktivität in der Kontrollgruppe lag bei  $3,26 \pm 0,13$  nmol NADPH/min/mg Protein während sie in der Gruppe mit Osteopenie bei  $2,99 \pm 0,09$  nmol NADPH/min/mg Protein lag.

Patienten aus der Gruppe mit manifester Osteoporose und erlittenen Frakturen zeigten eine weitere Erniedrigung der GPx-Aktivität auf  $2,60 \pm 0,07$  nmol NADPH/min/mg Protein. Dieses Ergebnis wich signifikant von der Kontrollgruppe ( $p < 0,005$ , Mann-Whitney Test) und der Osteopeniegruppe ( $p < 0,05$ , Mann-Whitney Test) ab (Abb.1).

Die durchschnittliche GPx-Aktivität gesunder Personen im Alter von 20-40 liegt bei  $4,2$  nmol NADPH/min/mg Protein [50]. Dies könnte als Hinweis auf eine regional bedingt erniedrigte Selenaufnahme interpretiert werden.

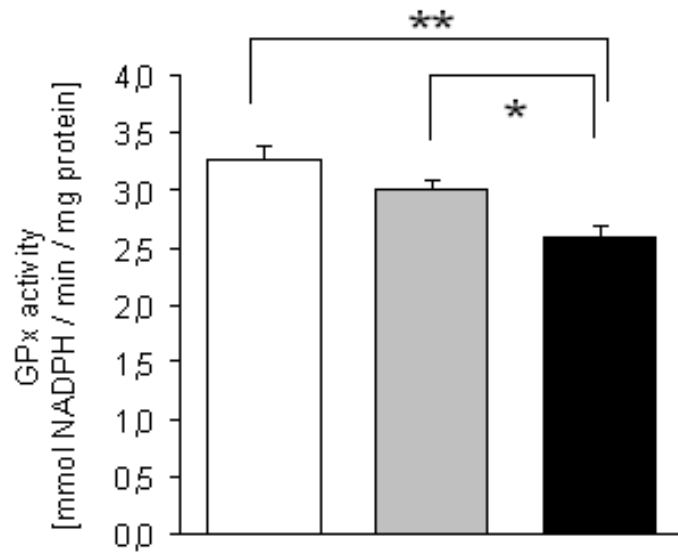


Abbildung 1:

GPx-Aktivität Kontrollgruppe (weisse Säule), Osteopenie ( graue Säule), Osteoporose (schwarze Säule). Abweichung Osteoporose/Kontrolle signifikant  $p < 0,005$  (Mann-Whitney-Test).

Abweichung Osteoporose/Osteopenie signifikant;  $p < 0,05$  (Mann-Whitnes-Test).

### 3.2 Selenstatus und GPx-Aktivität

Die Werte für Selen zeigten in den verschiedenen Gruppen keinen signifikanten Unterschied (Abb. 2).

Um von vornherein auszuschließen, dass eine unterschiedliche Versorgung mit Selen eine niedrige GPx-Aktivität verursacht, wurde bei allen Patienten und den Kontrollen der Selenstatus bestimmt. Dieser befand sich im normal niedrigen Bereich und war in den verschiedenen Gruppen gleich. In der Kontrollgruppe lag der mittlere Selenwert bei  $93,96 \pm 3,27$  ng/ml. Die Gruppe mit milder Osteoporose wies einen Wert von  $93,51 \pm 2,97$  ng/ml auf und die Gruppe mit ausgeprägter Osteoporose lag bei  $90,03 \pm 2,48$  ng/ml.

Der Vergleich Kontrollgruppe mit der Osteopenie-Gruppe zeigte im Mann-Whitney-Test für die 2-seitige Signifikanz einen Wert von 0,903, nach Wald-Wolfowitz bei der 1-seitigen Signifikanz einen Wert von 0,752.

Zwischen der Osteopenie- und der Osteoporosegruppe wurden Werte von 0,258 und 0,800 gefunden. Der Vergleich von Kontrollgruppe mit der Osteoporosegruppe ergab entsprechende Werte von 0,280 und 0,724.

Somit waren die Selenwerte im Serum zwischen den einzelnen Gruppen nicht signifikant unterschiedlich.

Zwischen der Höhe des Serumselengehaltes und der GPx-Aktivität wurde keine Korrelation gefunden (Pearsons Test) (Abb. 3).

Dies wurde als Hinweis interpretiert, dass der erniedrigte GPx-Level vom Selenstatus beziehungsweise der Zufuhr von Selen unabhängig ist.

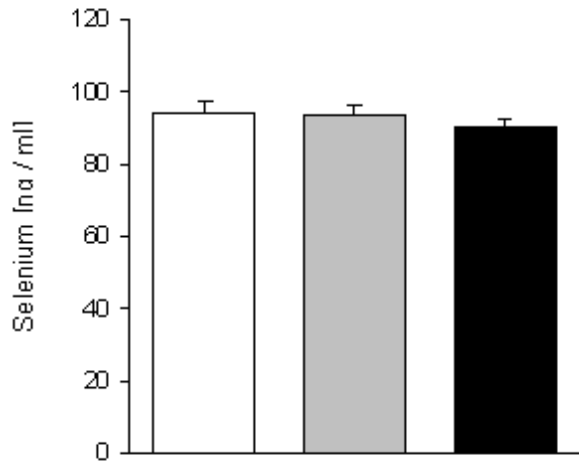


Abbildung 2:

Durchschnittlicher Selengehalt. Kontrolle 93,96 $\pm$  3,27 ng/ml, Osteopenie 93,51  $\pm$  2,97 ng/ml, Osteoporose 90,03  $\pm$  2,48 ng/ml.

Kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen.

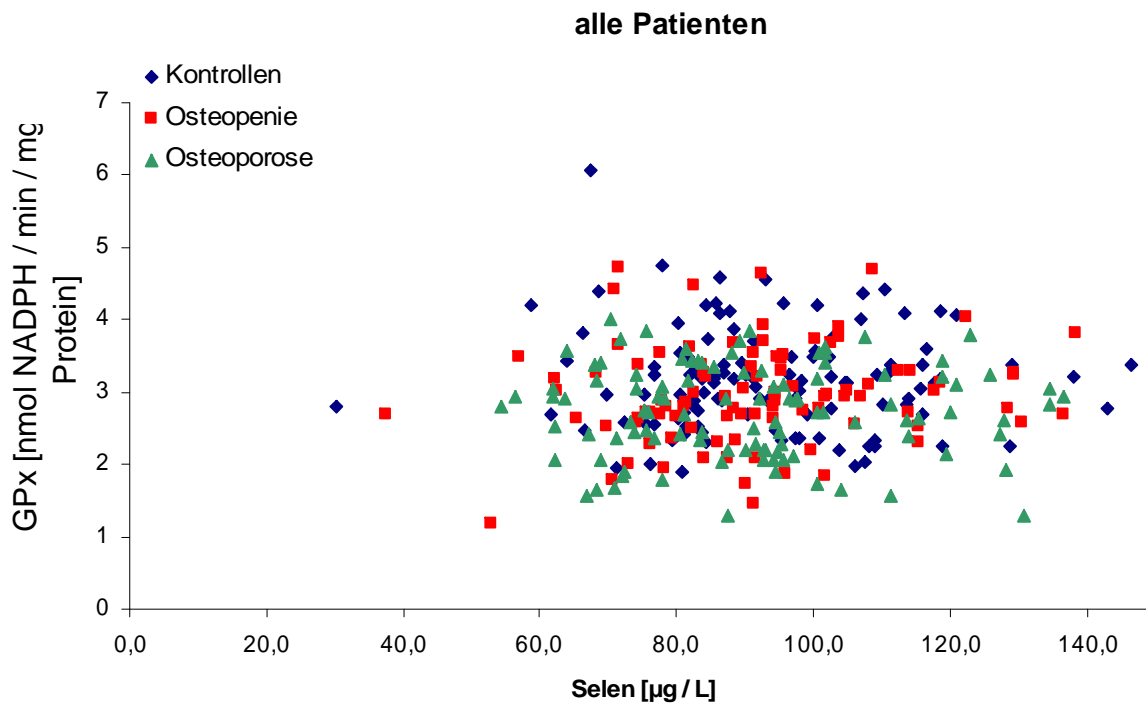


Abbildung 3: GPx-Aktivität und Selengehalt aller Patienten. Keine Korrelation (Pearsons Test)



### 3.3 GFR und Osteoporose

Die Glomeruläre Filtrationsrate wurde nach der Gleichung von Cockroft und Gault aus den Daten der Krankenakten berechnet. In der Kontrollgruppe lag diese bei 72,83 +/- 4,38 ml / min / 1,73 m<sup>2</sup>, in der Osteopeniegruppe bei 65,05 +/- 3,94 ml / min / 1,73 m<sup>2</sup> und in der Osteoporosegruppe bei 61,85 +/- 2,72 ml / min / 1,73 m<sup>2</sup>.

Der Mann-Whitney-Test ergab eine signifikante Reduzierung ( $p < 0,05$ ) der GFR in Patienten mit ausgeprägter Osteoporose im Vergleich zur Kontrollgruppe.

Zwischen Kontrolle und Osteopenie-Gruppe sowie Osteopenie- und Osteoporosegruppe bestand keine signifikante Reduzierung der GFR (Abb. 4).

Zwischen der Glomerulären Filtrationsrate und dem Alter bestand eine signifikante Korrelation (nach Pearson) (Abb. 5).

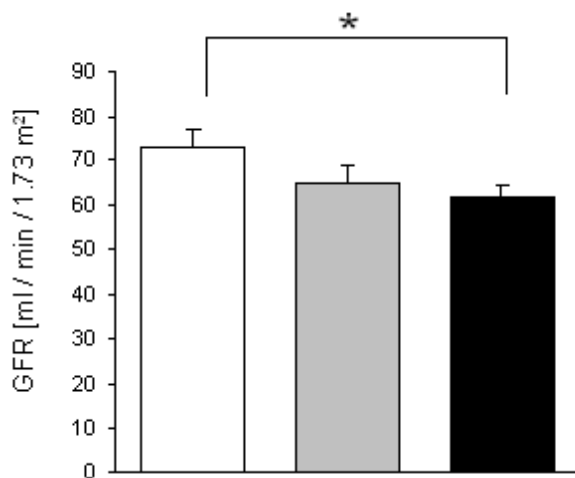


Abbildung 4:

GFR in ml/min/1,73 m<sup>2</sup>; Kontrolle: 72,83 +/- 4,38 ml / min / 1,73 m<sup>2</sup> (weiße Säule),

Osteopenie: 65,05 +/- 3,94 ml / min / 1,73 m<sup>2</sup> (graue Säule),

Osteoporose: 61,85 +/- 2,72 ml / min / 1,73 m<sup>2</sup> (schwarze Säule).

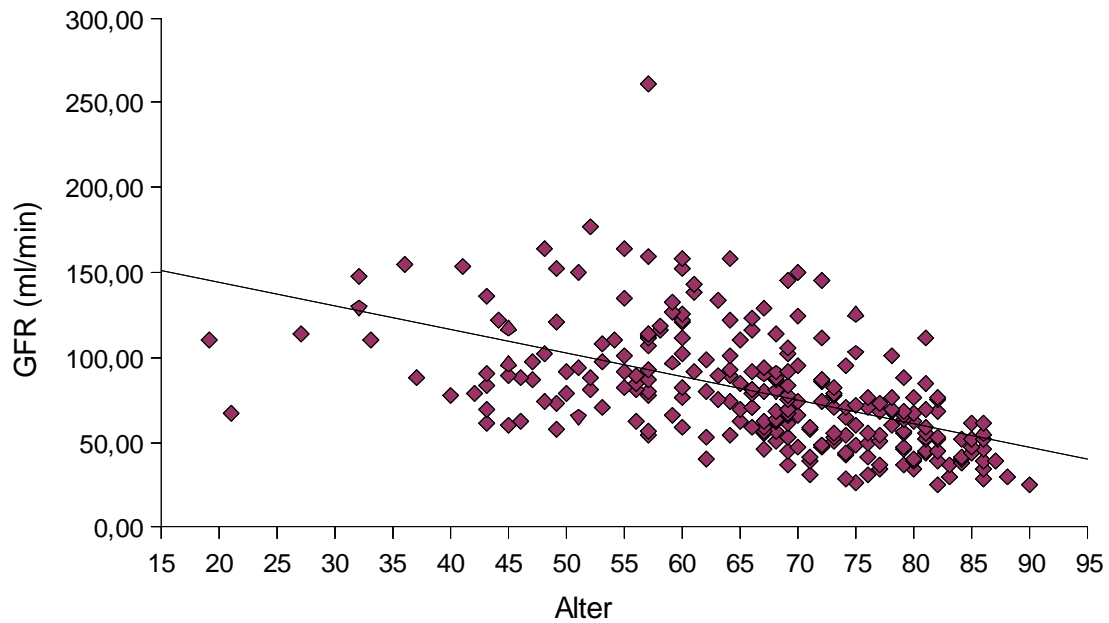


Abbildung 5: Glomeruläre Filtrationsrate und Alter.

Die Messung des T-Score zeigte eine positive Korrelation der GFR bei Messung mittels DXA an der LWS (Pearsons Test). Eine gering negative Korrelation zeigten die Ergebnisse an der Hüfte sowie einen linearen Zusammenhang in der Messung mittels Computertomographie (Abb.6-8).

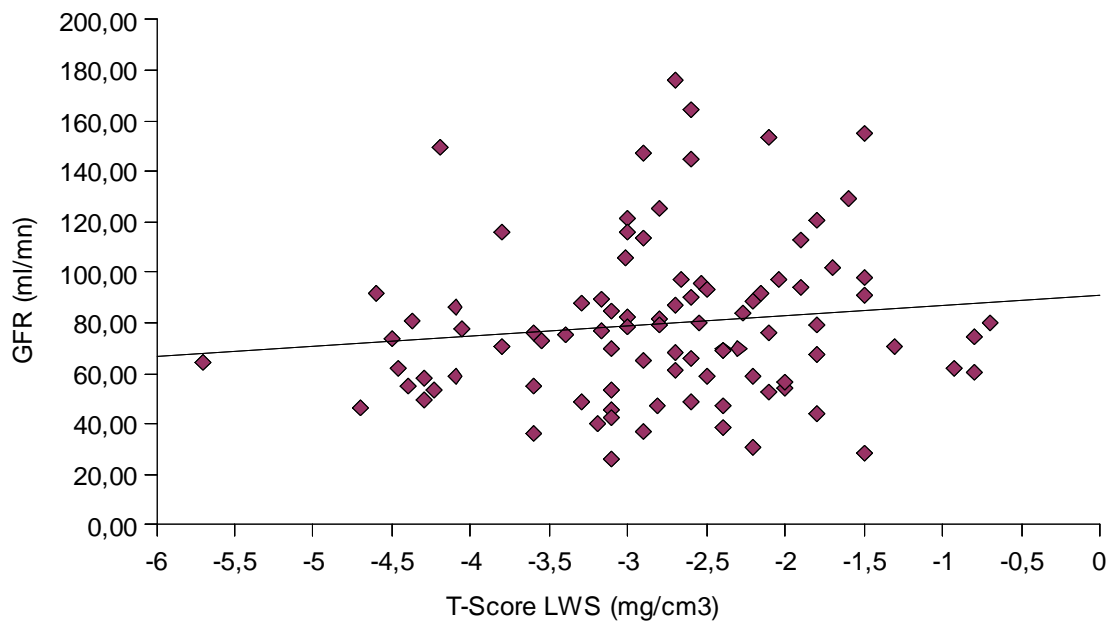


Abbildung 6: GFR und T-Score LWS.

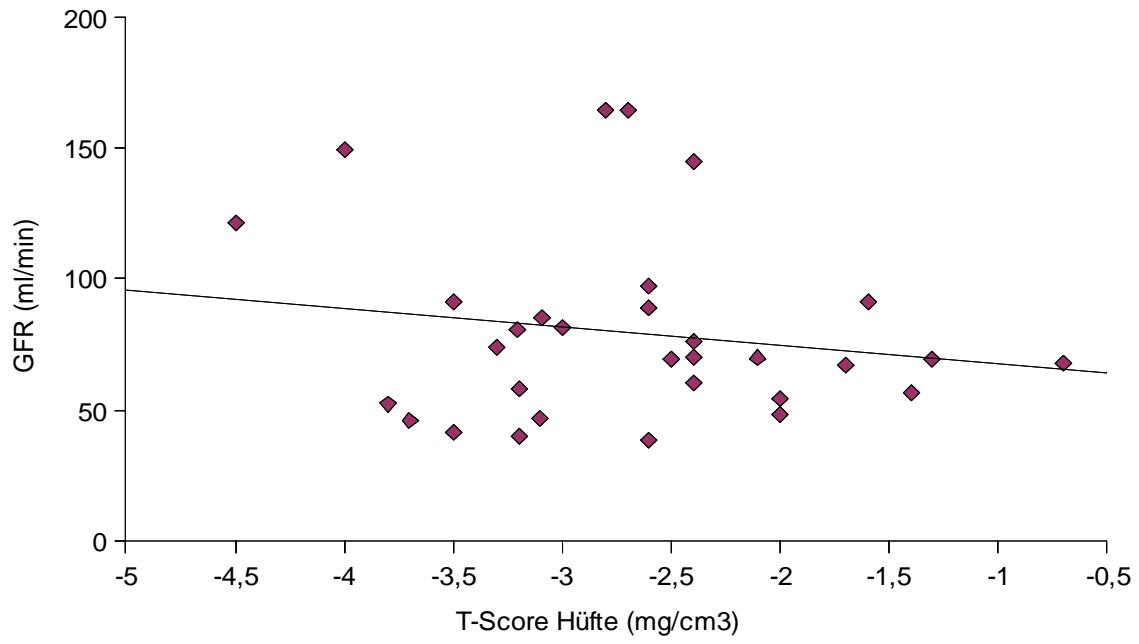


Abbildung 7: GFR und T-Score Hüfte.

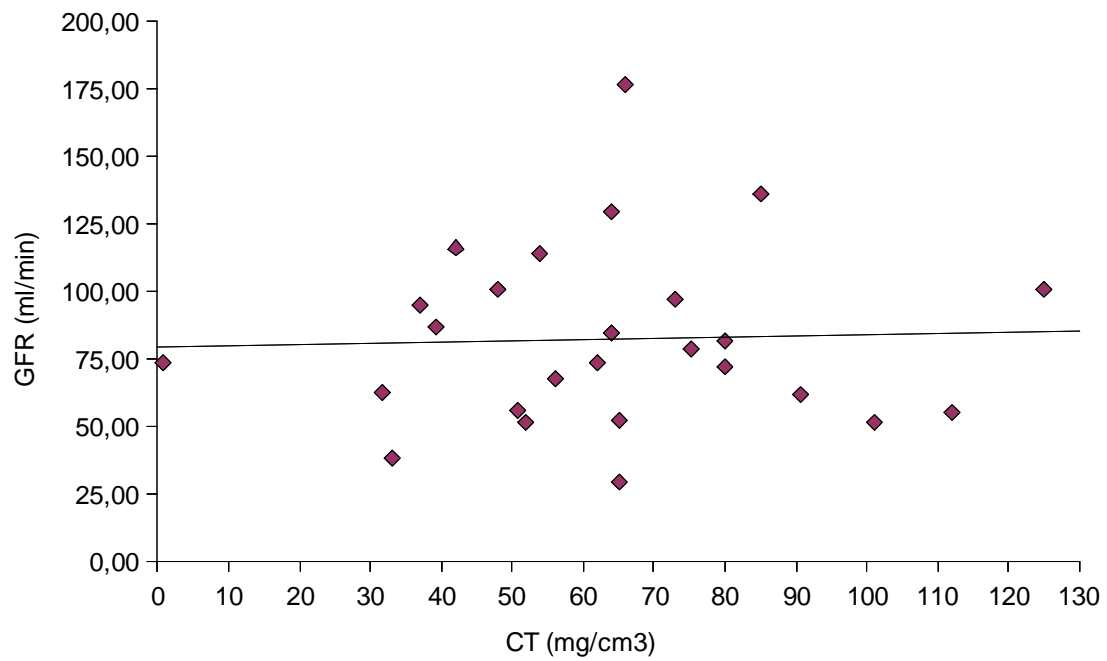


Abbildung 8: GFR und Knochendichte im CT.

### 3.4 Korrelation zwischen GPx-Aktivität im Serum und GFR

Die Niere stellt den Produktionsort von annähernd zwei Drittel des freigesetzten GPx dar. Somit konnte ein Zusammenhang zwischen der glomerulären Filtrationsrate (GFR) und der GPx-Aktivität im Patientenserum vermutet werden.

Die GFR wurde nach der Formel von Cockcroft und Gault berechnet, welche Alter, Gewicht und Serumkreatinin verwendet, sowie einen Korrekturfaktor bezüglich des Geschlechts mit einbezieht (s.o.).

Es wurde eine signifikante Korrelation zwischen der GPx-Aktivität und der glomerulären Filtrationsrate gefunden. Korrelation nach Pearson 0,149 mit einer Signifikanz von 0,018 oder Spearman-Rho 0,162 mit Signifikanz 0,010 beides

p < 0,05 (Abb. 9).

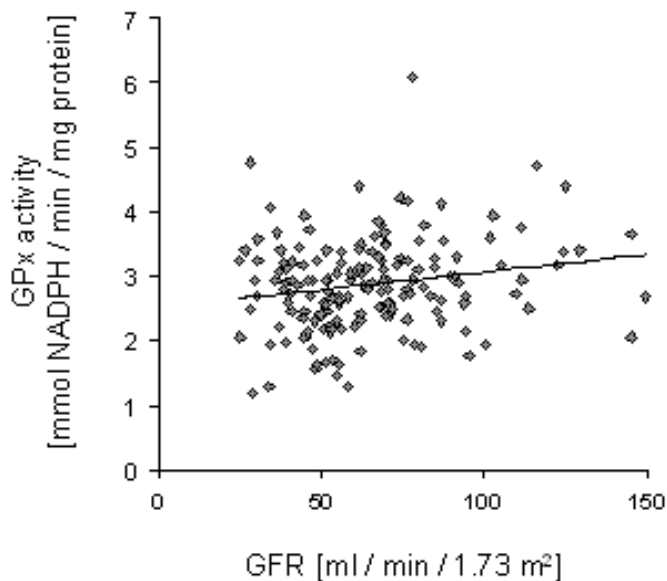


Abbildung 9:

GPx-Aktivität in mmol NADPH / min / mg Protein und GFR ml / min / 1,73m<sup>2</sup>.

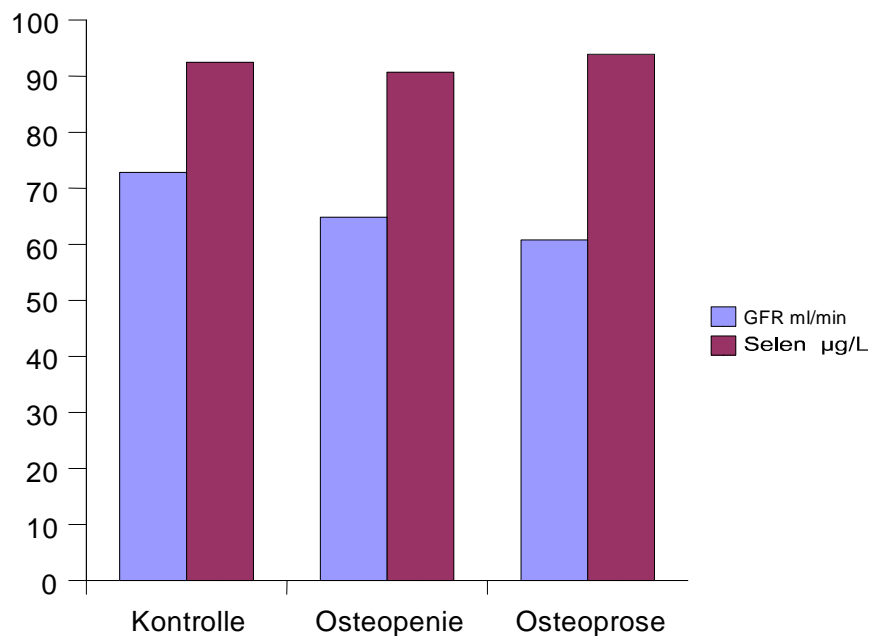


Abbildung 10:

Darstellung GFR in ml/min und Selen in µg/L der Kontrollgruppe, Osteopenie- und Osteoporosegruppe

Kontrollen 0	Anzahl	Prozentual
HPT	0	0,00
Cholesterin	2	4,65
Diabetes	1	2,33
SD	1	2,33
Arteriosklerose/KHK	1	2,33
Hypertonie	2	4,65
gesamt	43	100,00
Osteopenie 1 + 2	Anzahl	Prozentual
HPT	0	0,00
Cholesterin	3	6,25
Diabetes	4	8,33
SD	2	4,17
Arteriosklerose/KHK	3	6,25
Hypertonie	9	18,75
gesamt	48	100,00
Osteoporose 3	Anzahl	Prozentual
HPT	1	1,37
Cholesterin	3	4,11
Diabetes	6	8,22
SD	5	6,85
Arteriosklerose/KHK	6	8,22
Hypertonie	19	26,03
gesamt	73	100,00

Abbildung 11:  
Begleiterkrankungen der Kontrollgruppe, Osteopenie- und Osteoporosegruppe.

## 4. Diskussion

Bei der Entstehung der Osteoporose spielen neben der polygenetischen Vererbung auch Faktoren wie oxidativer Stress durch endogene oder exogene Stimulation der Produktion reaktiver Sauerstoffspezies eine Rolle.

Zwischen der Nierenfunktion und dem Knochenstoffwechsel besteht eine enge Verbindung. Viele den Knochenstoffwechsel beeinflussenden Stoffe werden in der Niere produziert oder aktiviert. Der Haushalt von 1,25 Vitamin D<sub>3</sub>, Calcium und Phosphat wird ebenfalls über die Niere reguliert.

Aktuelle Studien deuten darauf hin, dass eine verminderte Nierenfunktion schon in frühen Stadien als Risikofaktor für die Entwicklung einer Osteoporose gewertet werden kann [51].

In einer vorangegangenen Arbeit von Claudia Becker und Franz Jakob konnte gezeigt werden, dass eine verminderte Aktivität des aus der Niere stammenden antioxidativen Selenoproteins Glutathionperoxidase mit einem erhöhten Risiko an Osteoporose zu erkranken vergesellschaftet ist. Unsere Arbeitshypothese bestand nun darin, zu überprüfen, welchen Einfluss Selen als Bestandteil der Selenoproteine sowie eine verminderte Funktion der Nieren als Hauptproduktionsort der Proteine auf die Krankheitsentstehung hat.

### *Oxidativer Stress*

Das individuelle Risiko für eine Erkrankung an Osteoporose kann durch eine verstärkte Exposition der Osteoblasten und Osteoklasten gegenüber oxidativem Stress zunehmen. Dies kann auf der einen Seite über NFκB zur Aktivierung der Osteoklasten und auf der anderen Seite zur Funktionsbeeinträchtigung der Osteoblasten führen.

Sauerstoffradikale werden unter normalen Bedingungen endogen produziert und steigen unter oxidativem Stress an. Die häufigsten Radikale sind Superoxid (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), Hydrogenperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) und das Hydroxyl Radikal (OH<sup>-</sup>). Superoxid wird u.a. während der mitochondrialen Atmung, durch die NADPH Oxidase und Cytochrom P450 gebildet. Superoxid nimmt spontan ein Elektron auf, um Hydrogenperoxid zu bilden. Diese Reaktion wird durch die Superoxiddismutase (SOD) katalysiert. Die dabei entstehenden freien Radikale üben oxidativen Stress aus, der dem Körper Schaden zufügt. Um dies zu verhindern, muss eine Neutralisierung der Radikale erfolgen. Hydrogenperoxid kann dann durch Catalase oder Glutathionperoxidase in

Gegenwart von Glutathion (GSH) zu Wasser umgewandelt werden. Die Antioxidativen Systeme und ihre klinische Bedeutung sind Gegenstand von klinischen und experimentellen Studien. Neben den endogenen enzymatischen Antioxidantien gibt es noch weitere Radikalfänger und Metallbindende Proteine, die zur Prävention von oxidativem Stress beitragen. Es finden sich Ascorbinsäure (Vitamin C),  $\alpha$ -Tocopherol (Vitamin E), Flavonoide, Karotinoide, Bilirubin und Thiole. Diese sind entweder wasserlöslich wie Vitamin C im Plasma oder fettlöslich wie  $\alpha$ -Tocopherol welches die Oxidation von Membranen und Lipoproteinen verhindert.

Übersteigt nun der oxidative Stress die Neutralisationsmechanismen, kann es zu Schäden an Proteinen und Membranen kommen. Fraglich ist, ob und in welcher Form oxidativer Stress mit einer negativen Knochenbilanz assoziiert ist. Neben den schon genannten Schäden hat dieser auch direkte Auswirkungen auf den Knochenstoffwechsel. Dabei spielt der nukleare Faktor kappa B (NF- $\kappa$ B) eine wichtige Rolle. Dieser Transkriptionsfaktor reagiert auf oxidativen Stress mit verstärkter Aktivität, was zu einer erhöhten Knochenresorption führt. Freie Sauerstoffradikale stimulieren die Expression von RANKL auf den Osteoblasten bzw. Stromazellen. Dieser Ligand bindet an den entsprechenden Rezeptor (RANK) auf der Osteoklasten-Vorläuferzelle und sorgt über eine Enzymkaskade, ausgelöst durch TRAF6 (TNF-receptor-associated-factor 6) in der Progenitorzelle, für die Aktivierung von NF- $\kappa$ B. Folge ist die Ausdifferenzierung und Aktivierung der Osteoklasten und somit ein erhöhter resorptiver Knochenstoffwechsel was zu einer abnehmenden Knochenmasse führt [30].

Folglich führen verminderte antioxidative Mechanismen zu einer vermehrten Aktivierung der Osteoklasten.

#### *Selenoproteine-Antioxidative Systeme*

Die Selen-abhängigen Familien der Glutathionperoxidasen und Thioredoxinreduktasen sind am Erhalt des Gleichgewichts zwischen systemischen und lokalen Antioxidantien und oxidativem Stress beteiligt. Eine Beeinflussung dieser Enzymfunktion kann zu einem Ungleichgewicht der Interaktionen von Osteoblasten und Osteoklasten führen, was sich letztendlich durch eine vermehrte Knochenresorption und verminderte Knochenbildung zeigt.

Die Plasma Glutathionperoxidase ist eine Isoform aus der Familie der GPx-Enzyme, welche in die systemische Zirkulation sezerniert werden. Mit der Produktion von



nahezu zwei Dritteln der GPx stellt die Niere den Hauptproduktionsort dar. Der Rest stammt aus dem Intestinaltrakt. Die Produktion hängt ab vom Spurenelement Selen und der gesamten Nierenfunktion [52]. In Anwesenheit einer Hairpin-Struktur, dem sogenannten „SECIS“-Element (Selenocysteine insertion sequence) in der nicht translatierten 3´Region der mRNA des betreffenden Gens wird das Stop-Codon UGA als Selenocystein translatiert. Es besteht eine Hierarchie des Seleneinbaus zwischen den verschiedenen Selenoproteinen. Bei Eintritt einer Selendefizienz ist die Translation der Plasma GPx rasch vermindert. Folglich kommt es bei Selenmangel wie auch bei einer verminderten Nierenfunktion zur Abnahme der GPx-Produktion. Zu diskutieren ist, ob eine Nahrungsergänzung mit Selen sinnvoll eingesetzt werden könnte.

#### *Selen und seine Rolle in der Osteoporose*

In der vorangegangenen Arbeit von Claudia Becker wurden signifikant erniedrigte Werte von GPx bei Osteoporotikern beschrieben. Unsere weitere Arbeitshypothese bestand in der Annahme, dass ein Selenmangel als Ursache für erniedrigte GPx-Werte in Patienten mit Osteoporose in Frage kommt.

Es wurden 3 Gruppen klassifiziert. Die Kontrolle bestand aus 43 Personen ohne Osteoporoserisiko. Die Patientengruppe beinhaltete 120 Personen und wurde noch einmal unterteilt. Gruppe 2 bestand aus 48 Teilnehmern mit einer Osteopenie. Das heißt, T-Scorewerte zwischen -1 bis -2,5, nicht mehr als eine morphometrische Fraktur und eher mäßigem Osteoporoserisiko. In Gruppe 3 wurden 72 Teilnehmer mit der Diagnose Osteoporose (T-Score  $\leq$  -2,5) und mehr als einer Fraktur oder Höhenminderungen an Wirbelkörpern ab 4mm zusammengefasst.

Die Bestimmung des Selenstatus erfolgte nach der optimierten spektrofluorimetrischen Methode zur Selenbestimmung in biologischen Proben welche in der Arbeit von C. Stober beschrieben und durch Lutz Schomburg etabliert wurde. Von der vormals geplanten Bestimmung des Selenhaushaltes durch Messung des Selenoprotein P wurde im Folgenden abgesehen da der Selenstatus und SeP eine sehr gute Korrelation zeigen [53].

Die Ernährungslage bezüglich Selen in Deutschland stellt sich im europaweiten Vergleich erniedrigt dar [54]. Die Selenspiegel in unserem Kollektiv lagen im niedrig-

normalen Bereich. Neben wenigen Ausreißern stellten sich die Werte homogen dar. Bei den erhobenen Daten zeigte sich überraschenderweise keine signifikante Korrelation der Selenversorgung mit der GPx-Aktivität oder dem Auftreten der Osteoporose. Die angewandte Messmethode kann als verlässlich betrachtet werden. Unterschiede in der Selenaufnahme beeinflussen demnach nicht die niedrige GPx-Aktivität. Also müssen andere Faktoren für die Expression von GPx relevant sein.

#### *Verminderte Nierenfunktion – Ursache für niedrige GPx?*

Da zwei Drittel der GPx aus der Niere stammen, war die nächste Annahme, dass es zwischen der GPx-Aktivität, der Glomerulären Filtrationsleistung und dem Auftreten von osteoporosebedingten Frakturen eine Korrelation gibt.

Im Alter kommt es zu einer Abnahme der Nierenfunktion und möglicherweise auch der GPx produzierenden Zellen. Frauen mit der Diagnose Osteoporose sind in bis zu 85% der Fälle von einer leichten bis mäßigen NI und in bis zu 24% der Fälle von einer schweren Niereninsuffizienz betroffen. Bezogen auf das Alter steigt die Prävalenz der schweren NI bei osteoporotischen Frauen ab 60 bis auf 54% an [55].

Der Altersdurchschnitt der Kontrollgruppe war zwar deutlich geringer, hatte aber keinen Einfluss auf die Ergebnisse, da die GPx unabhängig vom Alter ist. Der Mittelwert für die GFR in den einzelnen Gruppen nahm von der Kontrollgruppe (Klassifikation 1) mit 72,82 ml/min über 64,84 ml/min in der Osteopeniegruppe (Klassifikation 2) bis 61,54 ml/min in der Osteoporosegruppe (Klassifikation 3) ab. Auch nach Anpassung des Alters (nur Personen > 65 LJ) liegt eine Assoziation der GFR und der Diagnose Osteoporose vor. Es konnte gezeigt werden, dass eine verminderte GPx-Aktivität im Serum bei Patienten mit Osteoporose signifikant mit der glomerulären Filtrationsleistung korreliert (Mann-Whitney-Test).

Um eine objektive Beurteilung der individuellen Nierenfunktion zu gewährleisten, verwendeten wir die Gleichung nach Cockcroft und Gault, welche Alter, Gewicht und Kreatinin einschließt. Auf die Berechnung mittels der MDRD-Formel („Modified Diet for Renal Disease“) in ihrer vereinfachten Form, in die nur das Kreatinin, das Alter und ein Korrekturfaktor für das Geschlecht eingeht, wurde verzichtet. Hier fehlt das Gewicht des Patienten, welches im Alter massiv aus der Norm fallen kann und somit einen erheblichen Einfluss auf die Kreatinin-Clearance haben kann.

Das Besondere an den erhobenen Daten ist, dass bereits bei einer relativ geringen Einschränkung der Nierenfunktion ein Abfall der GPx-Aktivität gefunden wird und dass diese Korrelation einhergeht mit der zunehmenden Manifestation einer Osteoporose mit Frakturen. Somit kann schon eine geringe Verminderung der aus der Niere stammende GPx als früher Risikofaktor für die Entwicklung einer Osteoporose bei Niereninsuffizienz noch vor Entstehung einer renalen Osteopathie interpretiert werden.

### *Renale Osteopathie*

Erste Anzeichen für eine renale Osteopathie entstehen bei einem Anstieg des Serum-Kreatinins auf 2mg/dl. Beim Gesunden wird das in der Leber an der 25. Position hydroxylierte Vitamin D in der Niere in aktives Calcitriol (1-25(OH)2D3) umgewandelt. Die 1- $\alpha$ -Hydroxylierung ist bei dem chronisch Nierenkranken schon ab einer glomerulären Filtrationsleistung von unter 50 ml/min gestört wodurch ein Mangel an Calcitriol entstehen kann [43]. Bei einer zunehmend verminderten Nierenfiltration kommt es zur Phosphatretention was die Hydroxylierung von Vitamin D zusätzlich hemmt. Der Calcitriolmangel sowie die Hyperphosphatämie bewirken eine Hypokalzämie was einen weiteren Stimulus für die PTH-Sekretion darstellt. Die Entwicklung einer Hyperphosphatämie ist bei niereninsuffizienten Patienten mit einer GFR < 30ml/min nahezu obligat. Diesen Wert wiesen im Gesamtkollektiv nur 3 Patienten der Gruppe 3 auf. Hier lag die GFR bei 23 Personen unter 50 ml/min, in Gruppe 2 bei 15 Patienten, in Gruppe 1 bei 7 Personen mit GFR <50ml/min. Die Grenze von 30 ml/min wurde in Gruppe 1 und 2 nicht unterschritten.

Einem vorliegenden Substratmangel, welcher zur Auslösung des beschriebenen Mechanismus führt, kann mit einer frühzeitigen (d.h. schon ab einer GFR <50 ml/min) Supplementation von Vitamin D entgegengewirkt werden. Bei Voraussetzen einer entsprechenden Einnahme-Compliance der Patienten kommt es hier nicht zu einem sekundären Hyperparathyreoidismus. Um die entsprechenden Fällen auf Vorliegen eines sekundären Hyperparathyreoidismus zu prüfen, müssten die PTH-Werte bestimmt werden. Ein erhöhtes PTH würde neben einer Hyperphosphatämie und Hypokalzämie auf einen sHPT renaler Ursache hinweisen.

### *Begleiterkrankungen die Nierenfunktionsminderung verursachen könnten*

Unter der Annahme, dass bei dem untersuchten Kollektiv auch Krankheiten vorlagen, welche einen Einfluss auf die Funktion der Nieren haben wurde der gesamte Gesundheitszustand der Patienten berücksichtigt. Hierbei lag ein besonderes Augenmerk auf Erkrankungen wie Hypertonie und Diabetes [56]. 8% der Osteoporosepatienten litten an Diabetes und 26% an einem Hypertonus. In der Gruppe mit Osteopenie war Diabetes in 8% der Fälle und eine Hypertonie in 19% der Fälle vertreten. Dies könnten Ursachen für das Auftreten leichter Niereninsuffizienzen in unserer Kohorte sein. Andere Gründe sind möglicherweise nicht diagnostiziert worden und reichen von Infekten über rheumatische Ursachen bis hin zu kardiovaskulären Erkrankungen. Unabhängig von der Ursache welche letztendlich zur Schädigung der Niere geführt hat, die Konsequenz einer abnehmenden Nierenfunktion und somit verminderten GPx-Sekretion bleibt die Gleiche. Ebenso die daraus entstehende Folge einer Begünstigung der Erkrankung an Osteoporose und Arteriosklerose.

In Übereinstimmung mit anderen Studien zeigten auch Roxborough et al. [57], dass die GPx-Aktivität bei Nierenversagen vermindert ist. Keinen Einfluss hatte die Form des Nierenversagens an dem die Patienten litten. Es wurde kein Anhalt dafür gefunden, dass die gestörte Funktion der GPx auf eine verminderte Synthese der Proteine bei Nierenversagen zurückzuführen war [57]. Möglicherweise spielen der urämische Status und andere Mechanismen bei der Suppression eine Rolle. Turan et al [58, 59] brachten die verminderte Aktivität der GPx mit einer Selendefizienz in Verbindung. Die Selenkonzentration betreffend sind die Aussagen über niereninsuffiziente Patienten widersprüchlich. In einer Studie von Zachara et al [60] wurde bei Patienten mit Nierenversagen ebenfalls niedrige Plasmakonzentrationen für Selen gefunden. Diese schienen aber mit den erniedrigten Werten von Gesamtprotein und Albumin zusammenzuhängen, was als Grund für die Selendefizienz interpretiert wurde. Die Supplementation von Selen hatte keinen steigernden Effekt auf die Aktivität der GPx. In der SIC-Studie wurde gezeigt, dass eine Selengabe bei schwer erkrankten Patienten mit Multiorganversagen mit einer verminderten Mortalität assoziiert war, während in der Kontrollgruppe erniedrigte Selen Spiegel mit einer höheren Mortalität einhergingen [61].

Eine eindeutige Klärung der Zusammenhänge gestaltet sich schwierig. Roxborough et al fanden nach Hämodialyse einen Anstieg der GPx-Aktivität, während die Konzentration gleich blieb [57]. Es wurde die Annahme getätigt, dass es einen urämischen Inhibitor gibt, der durch die Dialyse entfernt wurde. Auch wurde eine erhöhte oxidative Aktivität bei Patienten unter Dialyse gefunden, welche nach Behandlung nicht mehr nachzuweisen waren [62]. Es wurde davon ausgegangen, dass sich endogene Oxidantien in der Urämie ansammeln und somit die GPx in ihrer Aktivität hemmen könnten.

Dem erhöhten oxidativen Stress stehen bei Patienten, die an Osteoporose erkrankt sind, verminderte antioxidative Mechanismen gegenüber. Die Einnahme von Antioxidantien kann dem entgegenwirken.

Die klinische Relevanz antioxidativer Systeme bei der Osteoporose waren Gegenstand mehrerer experimenteller und klinischer Studien.

Maggio et al. zeigten in einer Studie mit 75 Frauen mit Osteoporose denen 75 gesunde Frauen gegenübergestellt wurden, dass die Aktivität antioxidativer Enzyme im Plasma wie z. B. SOD und GPx bei älteren Frauen mit Osteoporose erniedrigt ist [32]. Die Knochendichte, gemessen am Oberschenkelhals zeigte eine negative Korrelation mit dem Alter bei Patienten mit Osteoporose. Obwohl Antioxidantien generell positiv mit der Knochendichte korrelierten, boten bei Bestimmung nur Vitamin A, Vitamin C und GPx im Plasma eine strenge statistische Signifikanz. Der oxidative Stress war negativ mit der Knochendichte assoziiert, was auf die Erniedrigung der gemessenen Antioxidantien in Patienten mit Osteoporose zurückzuführen war. Kim et al zeigten, dass die Einnahme von Antioxidantien bei Erkrankungen, die mit oxidativem Stress assoziiert sind, positive Auswirkungen hatte [63]. Die Einnahme von Vitamin C führte zu einem Anstieg der Knochendichte. In Ratten zeigte die Supplementation von Vitamin C sowie N-Acetylcystein einen hemmenden Effekt auf den ovariektomie-induzierten Knochenschwund [64, 65]. Die antioxidative Substanz Alpha-Liponsäure ( $\alpha$ -Lipoic acid) wird klinisch zur Behandlung der diabetischen Neuropathie angewendet. Es wurde untersucht, ob in vitro Effekte von  $\alpha$ -LA auf die Differenzierung der Osteoklasten feststellbar waren [63]. Die Substanz hemmte die Osteoklastogenese aus den Vorläuferzellen welche mit hochdosierter Zugabe von RANKL bzw. niedrig dosierter Zugabe von RANKL und TNF-  $\alpha$  kultiviert wurden. Der hemmende Effekt wurde einer supprimierenden

Wirkung der  $\alpha$ -LA bei Entstehung von ROS zugeschrieben. Aufgrund einer verminderten Aktivierung von NF- $\kappa$ B ist die Stimulierung der Osteoklasten reduziert. Auch hier die Schlussfolgerung, dass ein erniedrigter Status an Antioxidantien über erhöhten oxidativen Stress zu vermehrtem Knochenabbau führt.

Vitamin C und E besitzen die Fähigkeit, freie Radikale abzufangen. Bei älteren an Osteoporose leidenden Frauen sind die Werte dieser aus der Nahrung stammenden oder als Präparat zugeführten Substanzen niedriger. Ozgocmen et al [66] fanden im Plasma und Erythrozyten erhöhte Werte für MDA (Malondialdehyd); ein Endprodukt der Lipidoxidation; und deutlich verringerte Aktivität der Katalase in Erythrozyten. Dies zeigt ebenfalls, dass Patientinnen mit Osteoporose einem erhöhten oxidativen Stress ausgesetzt sind. Die Einnahme von Vitamin C wirkte sich bei postmenopausalen Frauen positiv auf die Knochendichte aus (BMD: bone mineral density) [64, 67] bzw führte zu einer Abnahme der Knochenresorption [68].

#### *Alterung und Mortalität*

Bislang können drei wichtige Kandidaten benannt werden, die im Alterungsprozess und Mortalität eine Rolle spielen: Dazu gehören neben dem antioxidativen Protein Gluthationperoxidase das den Alterungsprozess hemmende Gen Klotho und der Fibroblastenwachstumsfaktor 23 (FGF23).

Als Bestandteil der harten Knochensubstanz spielt Phosphat im Knochenstoffwechsel eine wichtige Rolle. In den letzten Jahren wurden bei Untersuchungen des Phosphatstoffwechsels Botenstoffe gefunden, die einen spezifischen Einfluss auf die systemischen Wirkungen von Phosphat haben.

Ein Beispiel dieser als Phosphatonine bezeichneten Substanzen stellt der Fibroblastenwachstumsfaktor 23 (FGF23) dar. Dieser phosphaturische Faktor beeinflusst den Vitamin D Stoffwechsel und die renale Reabsorption von Phosphat und stellt eine wichtige Stellgröße im Phosphathaushalt dar [69]. Die Überexpression verursacht durch herabgesetzten renalen Transport eine Phosphaturie und hemmt die Produktion von 1,25-Vitamin D in der Niere.

Eng verbunden mit FGF23 ist das Protein Klotho, welches den Alterungsprozess hemmt. Das Gen wurde von Kuro-o et al 1997 zufällig entdeckt, da beim Einschleusen eines Fremdgens in das Klotho-Gen eine Klotho-knock-out-Maus erzeugt wurde. Bei diesen Mäusen wurde ein frühzeitiger Alterungsprozess beobachtet und es traten Symptome auf, die denen von Patienten mit chronischen Nierenfunktionsstörungen

ähnelten: Arteriosklerose, Osteoporose, Muskelatrophie und vorzeitige Alterung mit verkürzter Lebenszeitspanne. Das Gen codiert eine Glycosidase mit zwei in Reihe geschalteten katalytischen Zentren und exprimiert eine membranständige und eine lösliche Form, die im Blut zirkuliert und sich auch in anderen Geweben nachweisen lässt. Klotho wirkt als essentieller Cofaktor bei der Stimulation des FGF-Rezeptors (FGFR) durch FGF23 mit. Es bindet an multiple FGF-Rezeptoren (FGFR) und führt so zu einer deutlichen Steigerung der Affinität dieses Komplexes zu FGF23 als FGFR oder Klotho alleine. Der phosphaturische Effekt von FGF23 wird so moduliert. Klotho selber hat einen Einfluss auf den Kalziumhaushalt. Zwei Kalzium-Kanalproteine wurden identifiziert welche nach Deglykosylierung durch Klotho eine Aktivitätssteigerung zeigten. Der TRPV5 (Transient Receptor Potential Vanilloid 5) ist maßgeblich an der Kalziumresorption in der Niere beteiligt während der TRPV6 an der Kalziumresorption im Darm beteiligt ist [70].

Die Osteoblasten von Klotho-defiziente Mäuse zeigten bei einer normalen Proliferation eine verminderte Produktion von Alkalischer Phosphatase und eine verminderte Fähigkeit zur Mineralisation extrazellulärer Matrix. Die Osteoklasten hatten eine normale knochenabbauende Funktion und Überlebensrate, wiesen aber Störungen im Differenzierungsprozess auf [71].

[72] untersuchten Single-Nukleotid Polymorphismen im Klotho-Gen bei kaukasischen und japanischen Frauen. Es ergab sich eine signifikante Assoziation mit erniedrigter Knochendichte bei kaukasischen postmenopausalen Frauen <65 und bei postmenopausalen Frauen in Japan. Keine Assoziation wurde bei prämenopausalen und jüngeren postmenopausalen Frauen gefunden. Folglich nimmt Klotho Einfluss auf den Knochenverlust im Alter, hat aber weniger Einfluss auf den Substanzverlust in der Menopause.

Die Regulation erfolgt über verschiedene Mechanismen. Bei Mäusen mit einer Östrogendefizienz zeigten sich erhöhte Werte für Klotho in der Niere, welche nach Therapie mit Östradiol abnahmen. Kalzium, Phosphat und 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> alleine haben nur geringfügigen Einfluss wohingegen eine Kombination aus Kalzium und Phosphat einen siebenfachen Anstieg der Expression von Klotho-mRNA in der Niere zur Folge hat.

Der Anstieg an Klotho wiederum führt zu einer gesteigerten Aktivität des FGF23. Razzaque und Lanske [73] zeigten, dass oxidativer Stress die Klotho-Expression in einer Abhängigkeit von Dosis und Zeit vermindern kann.

Die gestörte Kalzium- und Phosphathomöostase in den Maus-Modellen mit Gendefekt geht mit einem gesteigerten Wert von 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> einher. Bei einer Reduzierung von Kalzium und 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> und einer diätetischen Phosphatreduktion konnten die vorzeitigen Alterserscheinungen gemindert werden [74].

Die Vitamin D Substitution spielt in der Therapie der Osteoporose eine große Rolle. Es ist allerdings fraglich, ob neben dem erwünschten Effekt einer Vitamin D-Gabe nicht der Alterungsprozess unterstützt wird. Somit können für den Alterungsprozess drei verantwortliche Kandidaten benannt werden: Das Antioxidative Protein GPx, Klotho und FGF3, welches für die Phosphatausscheidung eine Rolle spielt.

Ein anderen Aspekt wirft die Studie von Gallagher et al [75] auf, in der eine Assoziation zwischen einer schweren Niereninsuffizienz und verminderter 1,25-Dihydroxyvitamin D-Produktion sowie verminderter Expression von Vitamin-D-Rezeptoren in der Muskulatur gefunden wurde. Es besteht ein Zusammenhang mit dem Sturzrisiko bei Frauen >65 da abnehmende Muskelkraft mit Zunahme der Stürze assoziiert war. Eine von Bischoff-Ferrari über den Zeitraum von 1999-2006 durchgeführte Metaanalyse, welche 5 randomisiert kontrollierte Studien einschloss, fand eine Reduktion der Sturzereignisse von über 20% bei einer Supplementation mit Vitamin D gegenüber Kalzium und Placebo [76].

Wir konnten zeigen, dass Patienten die an einer schweren Osteoporose leiden eine erniedrigte Aktivität der GPx Aktivität haben und diese mit der GFR korreliert. Dies ist unabhängig von der nutritiven Versorgung mit dem Spurenelement Selen. Die gemessenen Werte sind vergleichbar mit anderen klinischen Risikosituationen wie Dialyse oder Lebererkrankungen.

Die verminderte GPx Aktivität könnte zusammen mit anderen noch zu identifizierenden Faktoren aus der Niere, eine signifikante Ursache dafür sein, dass eine leicht eingeschränkte GFR als Risikofaktor für die Entwicklung einer Osteoporose gelten kann.



## 5. Zusammenfassung

Mit einer Prävalenz von 15% der Gesamtbevölkerung und sogar über 30% bei den Frauen über dem 50. Lebensjahr zählt die Osteoporose zu den Erkrankungen welcher bei steigender Lebenserwartung zunehmend sozioökonomisches Gewicht zukommt. Die Folgekosten bei Komplikationen wie Frakturen nach Stürzen übersteigen die einer Therapie um einiges.

Ein Motor der Entstehung von Osteoporose ist oxidativer Stress. Dieser regt über Enzymkaskaden die Bildung und Aktivierung von Osteoklasten an, was einen erhöhten Knochenabbau zur Folge hat. Zu den körpereigenen Verteidigungsstrategien gegen Oxidation gehören Selenoproteine wie Glutathionperoxidasen. In einer vorangegangenen Arbeit von Prof. Jakob und C. Becker wurde bereits ein Zusammenhang der GPx-Aktivität mit der Ausbildung von Osteoporose nachgewiesen. Osteoporotiker hatten eine signifikant verminderte Aktivität dieses Enzyms. Ein essentielles Spurenelement für die Herstellung der Glutathionperoxidasen ist Selen. Deutschland gilt diesbezüglich als Mangelversorgungsgebiet. Es ist bekannt, dass ein Mangel an Selen Krankheiten begünstigen kann. Als Beispiele seien hier die Keshan-Krankheit oder Kashin-Beck-Krankheit genannt. Auch in der Intensivmedizin wurde ein Nutzen der Selengabe bei Sepsispatienten nachgewiesen.

Die Selenspiegel aller eingeschlossenen 163 Probanden wurden untersucht. Es zeigte sich durchgehend eine leichte Erniedrigung. Signifikante Unterschiede ergaben sich nicht. Ein mutmaßlicher Mangel an Selen war als Ursache für eine verminderte Glutathionperoxidaseaktivität nicht nachzuweisen. Da der Hauptproduktionsort der GPx die Niere ist, wurde als Arbeitsthese die Vermutung aufgestellt, dass eine Niereninsuffizienz über eine verminderte Produktion dieser antioxidativ wirkenden Enzyme als Ursache einer Osteoporose in Frage kommt.

Berechnet wurde die Niereninsuffizienz in Form der GFR nach der Cockcroft-Gault-Formel. Es ergab sich eine signifikante Reduzierung der GFR zwischen Kontrolle und Osteoporosegruppe ( $p < 0,05$ ) nicht aber zwischen Kontrolle und Osteopeniegruppe und Osteopenie- und Osteoporosegruppe. Bezüglich des Alters und GFR konnte eine signifikante Korrelation nachgewiesen werden.

Zwischen der GPx-Aktivität und der glomerulären Filtrationsrate bestand eine signifikante Korrelation ( Korrelation nach Pearson 0.149 mit einer Signifikanz von 0.018; Spearman-Rho 0.162 mit Signifikanz 0.010 beides  $p < 0,05$ ).

Es bestätigt sich also die in der Literatur bekannte positive Assoziation der gestörten Nierenfunktion mit der Manifestation der Osteoporose. Mit der GPx wird in dieser ersten Arbeit ein Sekretionsprodukt der Niere identifiziert, welches über eine Verminderung der Sekretion in der gestörten Nierenfunktion die antioxidative Kapazität des Organismus einschränkt und damit die Entstehung einer Osteoporose begünstigen könnte.

## 6. Abkürzungen

$\alpha$ -LA: alpha lipoic acid (Alpha Liponsäure)

AP alkalische Phosphatase

AP i.S. AP im Serum

BDM: Bone mineral density

BMP: bone morphogenetic protein

DVO: Dachverband Osteologie

EEFsec: eukaryotic Sec-specific elongation factor

ERK: extracellular signal-regulated kinase

FGFR: Fibroblasten Growth Factor Receptor

GFR: Glomeruläre Filtrationsrate

H<sub>2</sub>O: Wasser

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Hydrogenperoxid

IGF: insulin-like growth factor

M-CSF: Macrophage Colony-Stimulating Factor

MDA: Malondialdehyde

NF- $\kappa$ B: nuclearer Faktor kappa B

NHANES: National Health und Nutrition Examination Survey

NI: Niereninsuffizienz

O<sub>2</sub>: Sauerstoff

sHPT: sekundärer Hyperparathyreoidismus

PTH: Parathormon, Parathyrin

RANK: Receptor for Activation of Nuclear Factor Kappa B

RANKL: Ligand für Receptor for Activation of Nuclear Factor Kappa B

RCT: Randomised controlled trial

ROS: reaktive Sauerstoffspezies

SEM: Standard error of the mean

SERM: Selektiver Östrogen Rezeptor Modulator

SBP2: SECIS binding protein 2

STH: somatotropes Hormon

SPS2: Selenophosphat-Synthase

TGF- $\beta$ : Transforming growth factor- $\beta$

TRAF6: TNF receptor-associated factor 6

## 7. Literaturverzeichnis

1. Burk, R.F., *Selenium, an antioxidant nutrient*. Nutr Clin Care, 2002. **5**(2): p. 75-9.
2. Haussler, B., et al., *Epidemiology, treatment and costs of osteoporosis in Germany--the BoneEVA Study*. Osteoporos Int, 2007. **18**(1): p. 77-84.
3. Lippuner, K., et al., *Incidence and direct medical costs of hospitalizations due to osteoporotic fractures in Switzerland*. Osteoporos Int, 1997. **7**(5): p. 414-25.
4. Bonnaire, F., et al., *[Prosthetic care of proximal femur fractures]*. Unfallchirurg, 2005. **108**(5): p. 387-399; quiz 400.
5. Scheidt-Nave, *Osteoporotische Wirbelfrakturen - Epidemiologie und Krankheitslast*. Z Allg Med, 2003.
6. Rosen, C.J., *Pathogenesis of osteoporosis*. Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab, 2000. **14**(2): p. 181-93.
7. El Maghraoui, A. and C. Roux, *DXA scanning in clinical practice*. Qjm, 2008.
8. Gluer, C.C., Y. Lu, and K. Engelke, *Quality and performance measures in bone densitometry. Part 2: fracture risk*. Osteoporos Int, 2006. **17**(10): p. 1449-58.
9. Engelke, K. and C.C. Gluer, *Quality and performance measures in bone densitometry: part 1: errors and diagnosis*. Osteoporos Int, 2006. **17**(9): p. 1283-92.
10. Fassbender, W.J. and U.C. Stumpf, *[DVO guideline 2006. What changes have there been in the diagnosis, prevention and treatment of osteoporosis?]*. Z Rheumatol, 2006. **65**(5): p. 364-6, 368-9.

11. Papp, L.V., et al., *The redox state of SECIS binding protein 2 controls its localization and selenocysteine incorporation function*. Mol Cell Biol, 2006. **26**(13): p. 4895-910.
12. Holben, D.H. and A.M. Smith, *The diverse role of selenium within selenoproteins: a review*. J Am Diet Assoc, 1999. **99**(7): p. 836-43.
13. Burk, R.F., K.E. Hill, and A.K. Motley, *Selenoprotein metabolism and function: evidence for more than one function for selenoprotein P*. J Nutr, 2003. **133**(5 Suppl 1): p. 1517S-20S.
14. Kohrle, J., et al., *Selenium, the thyroid, and the endocrine system*. Endocr Rev, 2005. **26**(7): p. 944-84.
15. Saito, Y., et al., *Cell death caused by selenium deficiency and protective effect of antioxidants*. J Biol Chem, 2003. **278**(41): p. 39428-34.
16. Ge, K. and G. Yang, *The epidemiology of selenium deficiency in the etiological study of endemic diseases in China*. Am J Clin Nutr, 1993. **57**(2 Suppl): p. 259S-263S.
17. Thomson, C.D., et al., *Long-term supplementation with selenate and selenomethionine: selenium and glutathione peroxidase (EC 1.11.1.9) in blood components of New Zealand women*. Br J Nutr, 1993. **69**(2): p. 577-88.
18. Schomburg, L., et al., *Gene disruption discloses role of selenoprotein P in selenium delivery to target tissues*. Biochem J, 2003. **370**(Pt 2): p. 397-402.
19. Dreher, I., et al., *Selenoproteins are expressed in fetal human osteoblast-like cells*. Biochem Biophys Res Commun, 1998. **245**(1): p. 101-7.

20. Eder, K., A. Kralik, and M. Kirchgessner, [*Effect on metabolism of thyroid hormones in deficient to subtoxic selenium supply levels*]. *Z Ernährungswiss*, 1995. **34**(4): p. 277-83.
21. Kohrle, J., *Selenium and the control of thyroid hormone metabolism*. *Thyroid*, 2005. **15**(8): p. 841-53.
22. Moschos, M.P., *Selenoprotein P*. *Cell Mol Life Sci*, 2000. **57**(13-14): p. 1836-45.
23. Brown, K.M. and J.R. Arthur, *Selenium, selenoproteins and human health: a review*. *Public Health Nutr*, 2001. **4**(2B): p. 593-9.
24. Burk, R.F. and K.E. Hill, *Selenoprotein P. A selenium-rich extracellular glycoprotein*. *J Nutr*, 1994. **124**(10): p. 1891-7.
25. Motsenbocker, M.A. and A.L. Tappel, *A selenocysteine-containing selenium-transport protein in rat plasma*. *Biochim Biophys Acta*, 1982. **719**(1): p. 147-53.
26. Flohe, L., *Selenium in mammalian spermiogenesis*. *Biol Chem*, 2007. **388**(10): p. 987-95.
27. Arthur, J.R., R.C. McKenzie, and G.J. Beckett, *Selenium in the immune system*. *J Nutr*, 2003. **133**(5 Suppl 1): p. 1457S-9S.
28. Lee, N.K., et al., *A crucial role for reactive oxygen species in RANKL-induced osteoclast differentiation*. *Blood*, 2005. **106**(3): p. 852-9.
29. Kuhn, H. and A. Borchert, *Regulation of enzymatic lipid peroxidation: the interplay of peroxidizing and peroxide reducing enzymes*. *Free Radic Biol Med*, 2002. **33**(2): p. 154-72.
30. Basu, S., et al., *Association between oxidative stress and bone mineral density*. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001. **288**(1): p. 275-9.

31. Oh, B., et al., *Associations of catalase gene polymorphisms with bone mineral density and bone turnover markers in postmenopausal women*. J Med Genet, 2007. **44**(1): p. e62.
32. Maggio, D., et al., *Marked decrease in plasma antioxidants in aged osteoporotic women: results of a cross-sectional study*. J Clin Endocrinol Metab, 2003. **88**(4): p. 1523-7.
33. Kim, H., et al., *Bimodal actions of reactive oxygen species in the differentiation and bone-resorbing functions of osteoclasts*. FEBS Lett, 2006. **580**(24): p. 5661-5.
34. Srivastava, S., et al., *Estrogen decreases osteoclast formation by down-regulating receptor activator of NF-kappa B ligand (RANKL)-induced JNK activation*. J Biol Chem, 2001. **276**(12): p. 8836-40.
35. Nakagawa, N., et al., *Basic fibroblast growth factor induces osteoclast formation by reciprocally regulating the production of osteoclast differentiation factor and osteoclastogenesis inhibitory factor in mouse osteoblastic cells*. Biochem Biophys Res Commun, 1999. **265**(1): p. 158-63.
36. Muthusami, S., et al., *Ovariectomy induces oxidative stress and impairs bone antioxidant system in adult rats*. Clin Chim Acta, 2005. **360**(1-2): p. 81-6.
37. Bai, Y.L., et al., *[High glucose regulates the production of MMP-9 in podocyte through ERK1/2 signal pathway]*. Zhonghua Yi Xue Za Zhi, 2005. **85**(21): p. 1451-5.
38. Moriguchi, N., et al., *Oral administration of phenolic antidiarrheic ingredients prevents ovariectomy-induced bone loss*. Biochem Pharmacol, 2007. **73**(3): p. 385-93.
39. Black, D.M., et al., *Once-yearly zoledronic acid for treatment of postmenopausal osteoporosis*. N Engl J Med, 2007. **356**(18): p. 1809-22.

40. Meunier, P.J., et al., *The effects of strontium ranelate on the risk of vertebral fracture in women with postmenopausal osteoporosis*. N Engl J Med, 2004. **350**(5): p. 459-68.
41. Bonnelye, E., et al., *Dual effect of strontium ranelate: stimulation of osteoblast differentiation and inhibition of osteoclast formation and resorption in vitro*. Bone, 2008. **42**(1): p. 129-38.
42. Neer, R.M., et al., *Effect of parathyroid hormone (1-34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis*. N Engl J Med, 2001. **344**(19): p. 1434-41.
43. Horn, *Renale Osteopathie*. Journal für Mineralstoffwechsel, 2001: p. 20-24.
44. Jevtic, V., *Imaging of renal osteodystrophy*. Eur J Radiol, 2003. **46**(2): p. 85-95.
45. Sanchez, C.P., W.G. Goodman, and I.B. Salusky, *Prevention of renal osteodystrophy in predialysis patients*. Am J Med Sci, 1999. **317**(6): p. 398-404.
46. Coburn, J.W., et al., *Calcium-sensing receptor and calcimimetic agents*. Kidney Int Suppl, 1999. **73**: p. S52-8.
47. Jeal, W., L.B. Barradell, and D. McTavish, *Alendronate. A review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy in postmenopausal osteoporosis*. Drugs, 1997. **53**(3): p. 415-34.
48. Miller, P.D., et al., *Safety and efficacy of risedronate in patients with age-related reduced renal function as estimated by the Cockcroft and Gault method: a pooled analysis of nine clinical trials*. J Bone Miner Res, 2005. **20**(12): p. 2105-15.



49. Hernandez, E., et al., *Effects of raloxifene on bone metabolism and serum lipids in postmenopausal women on chronic hemodialysis*. *Kidney Int*, 2003. **63**(6): p. 2269-74.
50. Al-Taie, O.H., et al., *Selenium supplementation enhances low selenium levels and stimulates glutathione peroxidase activity in peripheral blood and distal colon mucosa in past and present carriers of colon adenomas*. *Nutr Cancer*, 2003. **46**(2): p. 125-30.
51. Jassal, S.K., D. von Muhlen, and E. Barrett-Connor, *Measures of renal function, BMD, bone loss, and osteoporotic fracture in older adults: the Rancho Bernardo study*. *J Bone Miner Res*, 2007. **22**(2): p. 203-10.
52. Yoshimura, S., et al., *Plasma glutathione peroxidase deficiency caused by renal dysfunction*. *Nephron*, 1996. **73**(2): p. 207-11.
53. Persson-Moschos, M., et al., *Selenoprotein P in serum as a biochemical marker of selenium status*. *Analyst*, 1995. **120**(3): p. 833-6.
54. Oster, O. and W. Prellwitz, *The daily dietary selenium intake of West German adults*. *Biol Trace Elem Res*, 1989. **20**(1-2): p. 1-14.
55. Klawansky, S., et al., *Relationship between age, renal function and bone mineral density in the US population*. *Osteoporos Int*, 2003. **14**(7): p. 570-6.
56. Bakris, G.L., et al., *Preserving renal function in adults with hypertension and diabetes: a consensus approach. National Kidney Foundation Hypertension and Diabetes Executive Committees Working Group*. *Am J Kidney Dis*, 2000. **36**(3): p. 646-61.
57. Roxborough, H.E., et al., *Plasma glutathione peroxidase activity is reduced in haemodialysis patients*. *Nephron*, 1999. **81**(3): p. 278-83.

58. Turan, J.M., A. Bulut, and H. Nalbant, *The quality of family planning services in two low-income districts of Istanbul*. Nufusbil Derg, 1997. **19**: p. 3-24.
59. Turan, B., et al., *Serum selenium and glutathione-peroxidase activities and their interaction with toxic metals in dialysis and renal transplantation patients*. Biol Trace Elem Res, 1992. **33**: p. 95-102.
60. Zachara, B.A., et al., *Selenium supplementation on plasma glutathione peroxidase activity in patients with end-stage chronic renal failure*. Biol Trace Elem Res, 2004. **97**(1): p. 15-30.
61. Angstwurm, M.W. and R. Gaertner, *Practicalities of selenium supplementation in critically ill patients*. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2006. **9**(3): p. 233-8.
62. Roselaar, S.E., et al., *Detection of oxidants in uremic plasma by electron spin resonance spectroscopy*. Kidney Int, 1995. **48**(1): p. 199-206.
63. Kim, H.J., et al., *Antioxidant alpha-lipoic acid inhibits osteoclast differentiation by reducing nuclear factor-kappaB DNA binding and prevents in vivo bone resorption induced by receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and tumor necrosis factor-alpha*. Free Radic Biol Med, 2006. **40**(9): p. 1483-93.
64. Morton, D.J., E.L. Barrett-Connor, and D.L. Schneider, *Vitamin C supplement use and bone mineral density in postmenopausal women*. J Bone Miner Res, 2001. **16**(1): p. 135-40.
65. Lean, J.M., et al., *A crucial role for thiol antioxidants in estrogen-deficiency bone loss*. J Clin Invest, 2003. **112**(6): p. 915-23.
66. Ozgocmen, S., et al., *Role of antioxidant systems, lipid peroxidation, and nitric oxide in postmenopausal osteoporosis*. Mol Cell Biochem, 2007. **295**(1-2): p. 45-52.

67. Kaptoge, S., et al., *Effects of dietary nutrients and food groups on bone loss from the proximal femur in men and women in the 7th and 8th decades of age.* Osteoporos Int, 2003. **14**(5): p. 418-28.
68. Pasco, J.A., et al., *Antioxidant vitamin supplements and markers of bone turnover in a community sample of nonsmoking women.* J Womens Health (Larchmt), 2006. **15**(3): p. 295-300.
69. Inoue, Y., et al., *Role of the vitamin D receptor in FGF23 action on phosphate metabolism.* Biochem J, 2005. **390**(Pt 1): p. 325-31.
70. Gotz, R., [*Klotho: a glycosidase, slows the aging process*]. Pharm Unserer Zeit, 2006. **35**(4): p. 280-1.
71. Kawaguchi, H., et al., *Independent impairment of osteoblast and osteoclast differentiation in klotho mouse exhibiting low-turnover osteopenia.* J Clin Invest, 1999. **104**(3): p. 229-37.
72. Kawano, K.-I., et al., *Klotho Gene Polymorphisms Associated With Bone Density of Aged Postmenopausal Women.* Journal of Bone and Mineral Research, 2002. **17**(10): p. 1744-1751.
73. Mitobe, M., et al., *Oxidative stress decreases klotho expression in a mouse kidney cell line.* Nephron Exp Nephrol, 2005. **101**(2): p. e67-74.
74. Razzaque, M.S. and B. Lanske, *Hypervitaminosis D and premature aging: lessons learned from Fgf23 and Klotho mutant mice.* Trends Mol Med, 2006. **12**(7): p. 298-305.
75. Gallagher, J.C., P. Rapuri, and L. Smith, *Falls are associated with decreased renal function and insufficient calcitriol production by the kidney.* J Steroid Biochem Mol Biol, 2007. **103**(3-5): p. 610-3.

76. Bischoff-Ferrari, H.A., et al., *Effect of Vitamin D on falls: a meta-analysis*.  
Jama, 2004. **291**(16): p. 1999-2006.

## **Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. Franz Jakob für die Überlassung des Themas und die Vergabe der Arbeit.

Für die Übernahme des Korreferats möchte ich Herrn Professor Dr. Hartwig Klinker danken.

Dr. Regina Ebert danke ich für ihre ausdauernde Betreuung und großartige Unterstützung.

Ebenfalls erwähnt werden soll Dr. Sascha Göbel. Ihm gilt der Dank für die Vermittlung an Professor Dr. Jakob, ohne die ich gar nicht soweit gekommen wäre. Für die organisatorische Hilfe und liebevollen Ratschläge bedanke ich mich bei Monika Hofmann.

Die menschliche und herzliche Atmosphäre des Instituts habe ich durchweg als sehr besonders empfunden.

Meinen Eltern gebührt höchste Anerkennung für ihr Durchhaltevermögen und bedingungslose Unterstützung durch alle Höhen und Tiefen.

Für den letzten Ansporn sorgten mein Bruder und Erik

## Lebenslauf

### Persönliche Daten

Name: Christina Schenk  
Geburtsdatum: 02.12.1977  
Geburtsort: Aalen

### Schulbildung:

1984-1988	Grundschule Bruchhausen-Vilsen
1984-1989	Orientierungsstufe Bruchhausen-Vilsen
1990-1997	Gymnasium Syke, Abschluß Abitur

### Berufliche Ausbildung:

04/1998-03/2001	Krankenpflegeausbildung an den Städtischen Kliniken Oldenburg Krankenpflegeexamen 03/2001
-----------------	--

### Universitäre Ausbildung:

04/2001-11/2007	Julius-Maximilians-Universität Würzburg Humanmedizin
03/2003	Physikum (alte Approbationordnung)
11/2007	Staatsexamen (neue Approbationsordnung)

### Praktisches Jahr:

2006-2007	1. Tertial: Innere Medizin (Juliussspital Würzburg; Chefarzt Prof. Dr. med. Ignaz O. Auer)
	2. Tertial: Chirurgie (Kantonsspital Luzern / Schweiz; Chefarzt Prof. Dr. Reto Babst)
	3. Tertial: Orthopädie (Kantonsspital Luzern / Schweiz; Chefarzt Dr. med. Alex E. Staubli)

## **Famulaturen :**

08/2003 Innere Medizin, Schwerpunkt Gastroenterologie  
Städtisches Krankenhaus Friedrichshafen  
02/2004 Geburtshilfe und Gynäkologie,  
Krankenhaus St. Elisabeth  
Oberschwaben Klinik gGmbH; Ravensburg  
09/2004 Orthopädie;  
König-Ludwig-Haus der Universität Würzburg  
03/2005 Hand-, Ästhetische und Plastische Chirurgie;  
Zentrum Operative Medizin; Uniklinik Würzburg  
09/2005 Allgemeinmedizin; Praxis Dr. F. Pellmann;  
Bruchhausen-Vilsen

## **Nebentätigkeit**

**Während des Studiums:** Mehrwöchige Urlaubsvertretungen im Ambulanten  
Pflegedienst der Diakoniestation Vilsen  
Während des Semesters regelmäßige Aushilfstätigkeit im  
ambulanten Pflegedienst in Würzburg  
Teilnahme am Kinderprojekt „Teddyklinik“ Würzburg  
Fahrradkurierdienst für Arzneimittel

## **Berufstätigkeit:**

05/2008 bis 05/2009 Assistenzärztin Orthopädie Schloss  
Werneck  
Seit 06/2009 Assistenzärztin Innere Abteilung  
Geomedklinik Gerolzhofen

## **Promotion:**

Seit 2006 König-Ludwig-Haus am Orthopädischen Zentrum für  
Muskuloskelettale Forschung der Universität Würzburg  
unter Leitung von Prof. Dr. med. Franz Jakob

Hettstadt, August 2010