

Aus dem Institut für Laboratoriumsmedizin
und Pathobiochemie, Molekulare Diagnostik, Standort Marburg

Geschäftsführender Direktor:
Prof. Dr. H. Renz

**Tartrat-resistente saure Phosphatase (TRAP) Isoform 5b:
ein neuer Serummarker der Knochenresorption
bei Hämodialyse-Patienten**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung
des Doktorgrades der gesamten Humanmedizin

dem Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

Martina Bandorski

aus Lich

Marburg, 2015

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg

am: 27.10.2015

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Herr Prof. Dr. H. Schäfer

Referent: Herr PD Dr. Dr. H. G. Wahl

1. Korreferent: Herr Prof. Dr. A Hegele

Meinen Eltern, meinem Mann Dirk und unserem Sohn Johannes David
gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Renale Osteopathie	1
1.1.1 Epidemiologie	1
1.1.2 Ätiologie	2
1.1.3 Diagnostik	3
1.2 Knochenstoffwechsel	3
1.2.1 Hormonelle Regulation des Knochenstoffwechsels	4
1.2.2 Parathormon	4
1.2.3 Vitamin D	5
1.2.4 Calcitonin	6
1.2.5 Marker der Osteoblastenaktivität	6
1.2.6 Marker der Osteoklastenaktivität	7
1.2.7 Tartratresistente saure Phosphatase des Knochens (TRAP)	8
1.3 Fragestellung	10
2. Patienten und Methoden	11
2.1 Studiendesign	11
2.2 Ausschlusskriterien der Studie	12
2.3 Ablauf der Studie	12
2.3.1 Messgrößen und Follow up	12
2.4 Messverfahren der Studie	13
2.4.1 Tartratresistente saure Phosphatase Isoform 5b	13
2.4.1.1 Testprinzip	13
2.4.1.2 Untersuchungsmaterial	14
2.4.1.3 Testdurchführung	14
2.4.1.4 Testeigenschaften	15
2.4.1.5 Referenzwerte	15
2.4.2 Calcium	15
2.4.2.1 Testprinzip	15
2.4.2.2 Testeigenschaften	15
2.4.2.3 Referenzwerte	16
2.4.3 Phosphat	16

2.4.3.1 Testprinzip	16
2.4.3.2 Testeigenschaften	16
2.4.3.3 Referenzwerte	16
2.4.4 Alkalische Phosphatase	16
2.4.4.1 Testprinzip	17
2.4.4.2 Testeigenschaften	17
2.4.4.3 Referenzwerte	17
2.4.5 Intaktes Parathormon	17
2.4.5.1 Testprinzip	17
2.4.5.2 Testeigenschaften	18
2.4.5.3 Referenzwerte	18
2.4.6 Aluminium	18
2.4.6.1 Testprinzip	18
2.4.6.3 Referenzwerte	18
2.5 Statistische Auswertung	18
3. Ergebnisse	20
3.1 Patienten der Studie	20
3.1.1 Bei Studienbeginn aufgenommene Patienten	20
3.1.2 Im Studienverlauf ausgeschieden Patienten	20
3.1.3 Patienten der TRAP-Studiengruppe	21
3.2 Parameter des Knochenstoffwechsels im Studienkollektiv	21
3.2.1 Parameter TRAP 5b	21
3.2.1.1 Abhängigkeit vom Alter	21
3.2.1.2 Geschlechtsabhängigkeit	23
3.2.1.3 Abhängigkeit von der Dialysedauer	23
3.2.1.4 Korrelation mit der Calcium-Konzentration	24
3.2.1.5 Korrelation mit der Phosphatkonzentration	25
3.2.2.6 Korrelation mit der Alkalischen Phosphatase-Aktivität	26
3.2.2.7 Korrelation mit der Parathormon-Konzentration	27
3.2.2 Parameter des Knochenstoffwechsels im Verlauf	28
3.2.2.1 TRAP 5b-Aktivität	28
3.2.2.2 Calcium-Konzentration	29
3.2.2.3 Phosphatkonzentration	30

3.2.2.4 Alkalische Phosphatase-Aktivität	31
3.2.2.5 Parathormon-Konzentration	32
3.2.3 Parameter TRAP 5b zur Differenzierung der Patienten	34
3.3 Stabilität der TRAP 5b im Serum	38
4. Diskussion	39
4.1 Hintergrund	39
4.2 Patienten	40
4.3 Betrachtung der Messergebnisse	41
5. Zusammenfassung (Deutsch und Englisch)	53
6. Literaturverzeichnis	57
7. Anhang	64
7.1 Verzeichnis meiner akademischen Lehrer	65
7.2 Danksagung	66

1. Einleitung

1.1 Renale Osteopathie

1.1.1 Epidemiologie

Die im Rahmen einer chronischen Niereninsuffizienz auftretenden Skelettveränderungen werden unter dem Begriff der renalen Osteopathie zusammengefasst, welche im Folgenden definiert wird. Die chronische, dialysepflichtige Niereninsuffizienz ist in den westlichen Industrieländern eine zahlenmäßig zunehmende Erkrankung, mitbedingt durch die ansteigende Zahl von Diabetikern (*Schwenger et al*, 2001). In Deutschland liegt die Inzidenz der dialysepflichtigen Niereninsuffizienz bei 0,7/1000 Personen in der Bevölkerung und die Prävalenz bei 0,18/1000 Personen. Auch in den USA zeigt sich eine Zunahme der Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz.

Die renale Osteopathie beginnt in den frühen Stadien der Niereninsuffizienz und findet sich bereits bei einer Abnahme der glomerulären Filtrationsrate (GFR) um 50% (*Hamdy et al*, 1995). Aufgrund der Manifestation in bereits frühen Stadien der chronischen Niereninsuffizienz ist die renale Osteopathie nicht nur nephrologisch, sondern auch allgemeinmedizinisch relevant. Sie findet sich am stärksten ausgeprägt bei Patienten, die wegen terminaler Niereninsuffizienz chronisch hämodialysiert werden.

Aufgrund der zunehmenden Häufigkeit werden metabolische Knochenerkrankungen wie die renale Osteopathie im Jahre 2030 weltweit an siebter Stelle der chronischen Krankheiten stehen und werden daher von der WHO als „major health problem“ eingestuft.

Die klinische Bedeutung der renalen Osteopathie liegt in ihrer Manifestation mit unter anderem diffusen Knochenschmerzen, Spontanfrakturen, Muskelschwäche vom proximalen Typ (*Brahee et al*, 2001; *Leone et al*, 2001; *Shiota et al*, 2001; *Fontaine et al*, 2000; *Sakalkale et al*, 1999), und bedingt durch Calcium-Phosphat-Ablagerungen, Schmerzen an den großen Gelenken, vor allem am Schulter- und Hüftgelenk, frühzeitige Verkalkungen von Herzklappen sowie Sklerose der Koronarien und der Media von Arterien (*Hampl et al*, 1999; *Block et al*, 1998; *Braun et al*, 1996).

Die klinischen Symptome und auch die kardiovaskuläre Komorbidität haben für den Patienten eine wichtige soziale und ökonomische Bedeutung. Die Minderung der Lebensqualität infolge von Invalidität, verbunden mit Einschränkung der sozialen und gegebenenfalls beruflichen Aktivität sowie der Freizeitgestaltung geht mit hohen persönlichen und gesellschaftlichen Kosten einher (*Rostand und Driieke*, 1999).

1.1.2 Ätiologie

Für die renale Osteopathie als Manifestation der im Rahmen einer chronischen Niereninsuffizienz auftretenden Skelettveränderungen sind in der Literatur verschiedene Ursachen beschrieben. Der Großteil der Ursachen ist eine Folge der chronischen Niereninsuffizienz.

Es müssen grundsätzlich zwei verschiedene Typen der renalen Osteopathie unterschieden werden: Die high-turnover- und die low-turnover- bzw. adyname Osteopathie. Bei der high-turnover Osteopathie, die sich bei ca 70% der Dialysepatienten findet (*Sherrard et al, 1993*), ist infolge eines Hyperparathyreoidismus (HPT) die Aktivität von Osteoklasten und Osteoblasten deutlich gesteigert. Dagegen zeigt sich eine verminderte Osteoblasten- und Osteoklastenaktivität bei der low-turnover Osteopathie (ca 30 % der Dialysepatienten), die ihrerseits mit einer normalen bis gering erhöhten Parathormonkonzentration im Serum einhergeht (*Goodman et al, 1994; Couttenye et al, 1996*).

Unabhängig von der chronischen Niereninsuffizienz ist die durch aluminiumhaltigen Phosphatbinder ausgelöste low-turnover-Osteopathie (*Kosch et al, 2000; Driücke et al, 1980; Parkinson et al, 1979*).

Parameter	„low turnover“ bzw. „adyname“ Osteopathie	„high-turnover“-Osteopathie
Häufigkeit	ca. 30%	ca. 70%
Intaktes Parathormon	maximal dreifach erhöht	mindestens zweifach erhöht
Alkalische Phosphatase/ Knochenisoenzym (BAP)	normal	erhöht
Phosphat	normal	erhöht
Kalzium	normal	erniedrigt
Tartratresistente saure Phosphatase 5b (TRAP 5b)	erniedrigt	erhöht

Tab. 1.1 typische Laborkonstellationen bei „low turnover“ und „high turnover“ Osteopathie

1.1.3 Diagnostik

Die Diagnose der renalen Osteopathie wird durch Anamnese (diffuse Knochenschmerzen, Spontanfrakturen, Muskelschwäche vom proximalen Typ etc.),

klinische Untersuchungen (Weichteilverkalkungen, akute Periarthritis, Konjunktivitis, Pruritus, Kalziphylexie, etc.), radiologische Befunde (verminderte Knochendichte, Osteosklerose, „braune Tumoren“, Spontanfrakturen, aseptische Knochennekrosen, Gewebs-, Gefäß- und Organverkalkungen etc.), gegebenenfalls histologische Befunde (Knochenbiopsie), und eine Auswahl an verschiedenen Laborparametern gestellt. Zu den klinisch relevanten Laborparametern gehören Calcium, Phosphat, Calciumphosphatprodukt, alkalische Phosphatase, Parathormon und Aluminium.

Der Goldstandard in der Diagnostik der renalen Osteopathie sind zum jetzigen Zeitpunkt die Röntgenaufnahme des Handskeletts und die Knochenbiopsie. Während die radiologischen Befunde eine Differenzierung des Typs der renalen Osteopathie (low-turnover und high-turnover Osteopathie) nicht ermöglichen, ist dies histologisch möglich.

Eine neuere, jedoch nicht invasive Untersuchungsverfahren zur Differenzierung des Typs der renalen Osteopathie durch die Bestimmung der Osteoblasten-/Osteoklastenaktivität ist die Messung der Aktivität der tartratresistenten sauren Phosphatase 5b (TRAP 5b).

1.2 Knochenstoffwechsel

Das Verständnis der molekularen und zellulären Mechanismen des ständig stattfindenden Knochenumbaus (Remodelling) ist für die Behandlung und Prävention der renalen Osteopathie von grundlegender Bedeutung. Beim Remodelling stehen der Umbau des Skeletts zur Anpassung an die aktuellen biomechanischen Erfordernisse, der Erhalt der dazu nötigen Knochenmasse und die Reparatur von Mikrofrakturen an oberster Stelle (*Nakasato et al., 1999*). Knochenabbau und Knochenanbau sind dabei eng aneinander gekoppelt.

Die Weitergabe biochemischer Signale an die verschiedenen Knochenzelltypen nimmt dabei eine zentrale Rolle ein (*Kostenuik et al., 1999; Manalogas et al., 2000*). Die Knochenneubildung beginnt mit der Aktivierung von Knochenmarksvorläuferzellen, die zu mehrkernigen Osteoklasten, und damit zu den eigentlichen knochenresorbierenden Zellen differenzieren. Osteoklasten lagern sich an die Knochenoberfläche an und lösen die organische Matrix durch die Ausscheidung von lysosomalen Enzymen und Protonen auf. Außerdem sind Osteoklasten reich an tartratresistenter saurer Phosphatase 5b (TRAP 5b), welche eine wichtige Rolle bei der Dephosphorylierung von Knochenproteinen einnimmt. Daher kann der Serumspiegel der tartratresistenten sauren

Phosphatase als Knochenstoffwechselmarker zur Beurteilung bei metabolischen Osteopathien eingesetzt werden (*Torres et al., 1991; Halleen et al., 2000; Alatalo et al., 2002; Hannon et al., 2002*).

Der Resorptionsprozess verlangsamt sich nach 3-5 Wochen und es kommt nach einer sogenannten Umschaltphase zu einer allmählichen Anlagerung von Osteoblasten an die Knochenoberfläche. In der nachfolgenden Aufbauphase entsteht neues Knochengewebe aus dem von den angelagerten Osteoblasten sezernierten und anschließend mineralisierten Osteoid. Eine Schlüsselrolle spielt dabei die alkalische Phosphatase (AP) des Osteoblasten, die aus organischen Verbindungen der Knochenmatrix anorganisches Phosphat freisetzt, welches dann mit Calcium reagiert und Hydroxylapatit bildet. Die Hydroxylapatitkristalle sorgen zum einen für die Festigkeit der Knochenstruktur, zum anderen stellen sie einen reversiblen Speicher dar, in dem je nach Bedarf Calcium und Phosphat eingelagert oder mobilisiert werden können.

In der Ruhephase werden aus den zuvor aktiven Zellen dann ruhende Osteozyten (Belagzellen). Der gesamte Remodelling- Zyklus dauert etwa 3-4 Monate.

1.2.1 Hormonelle Regulation des Knochenstoffwechsels

Die Hormone Parathormon, Vitamin D₃ (Calcitriol) und Calcitonin sind durch ihre Rolle in der Regulation des Calciumhaushaltes die hauptsächlichen Regulatoren des Knochenumbaus; daneben spielen auch Thyroxin und Steroidhormone, biomechanische und genetische Faktoren sowie Umweltfaktoren eine Rolle im Stoffwechsel des Knochens.

1.2.2 Parathormon

Parathormon (syn. Parathyrin, PTH) ist ein aus 84 Aminosäuren bestehendes Peptidhormon der Nebenschilddrüsen (Epithelkörperchen). Der entscheidende Stimulus für die Ausschüttung von PTH ist die Erniedrigung des ionisierten (freien) Calciums im Plasma.

Intaktes Parathormon (PTH 1-84) wird in Abhängigkeit der Serumkonzentration von ionisiertem Calcium pulsatil sezerniert. Diese pulsatile Sekretion geht bei chronischer Niereninsuffizienz verloren (*Schmitt et al., 1998*). Zudem hemmt ein bei Niereninsuffizienz auftretender hoher Magnesiumspiegel die Sekretion von PTH (*Navarro et al., 1999*).

In der Niere fördert PTH die Reabsorption von Calcium sowie die Exkretion von Phosphat und stimuliert die Synthese von 1,25-Dihydroxycholecalciferol (Calcitriol) und somit die intestinale Calciumabsorption. Im Knochen bewirkt PTH eine Mobilisation von Calcium, indem es die Osteoblasten über das Adenylatzyklase-cAMP-System zur Freisetzung von Faktoren anregt, die sowohl reife Osteoklasten direkt aktivieren als auch die Proliferation und Differenzierung von Osteoklastenvorläuferzellen fördern (*Hruska und Teitelbaum, 1995; Manolagas, 2000*). Darüber hinaus induziert PTH in physiologischen Konzentrationen die Knochenneubildung über eine Vermehrung der Osteoblasten-Vorläuferzellen und eine zusätzliche Induktion der osteoblastären Synthese der anabol wirkenden „insulin-like growth factors“ (IGFs) (*Mohan, 1993; Kostenuik et al., 1999*).

Bei hohen PTH-Konzentrationen wird dagegen die Syntheseleistung von reifen Osteoblasten gehemmt und die Osteoklasten, also Zellen des Knochenabbaus, über die Sekretion von Prostaglandinen stimuliert. Damit kommt es bei chronischer PTH-Erhöhung zu einem erhöhten Knochenumsatz durch eine vermehrte Anzahl und Aktivität von Osteoblasten und Osteoklasten.

1.2.3 Vitamin D

Cholecalciferol, das Vitamin D₃ (Calcitriol), ist im Calcium- und Phosphathaushalt des Menschen der wichtigste Vertreter der D-Vitamine. Es wird aus einem Provitamin, dem 7-Dehydrocholesterin unter Einwirkung von Ultraviolettstrahlung in der Haut gebildet. Durch zwei weitere Hydroxylierungsprozesse in Leber und Niere wird es zum 1 α ,25-Dihydroxycholecalciferol, dem wirksamen Calcitriol (syn. D-Hormon) umgewandelt (*Jakob, 1999*). Hierbei fördert Parathormon die rasche Bildung des Calcitriols durch Steigerung der Aktivität der renalen 1 α -Hydroxylase. Zielorgane des Vitamin D₃ sind Darm, Knochen und Niere. Es führt durch Bindung an spezifische, intrazellulär gelegene Rezeptoren zur Öffnung von Calciumkanälen in der intestinalen Bürstensaummembran und fördert damit die Calciumresorption. Auch die intestinale Phosphatresorption wird durch Vitamin D₃ gesteigert. Die Präzipitation von Calcium und Phosphat, und damit die Bildung von Hydroxylapatitkristallen im Knochen wird begünstigt.

1.2.4 Calcitonin

Calcitonin, ein in den parafollikulären Zellen gebildetes und aus 32 Aminosäuren bestehendes Peptidhormon, wird bei einer Erhöhung des Plasmacalciumspiegels freigesetzt. Calcitoninproduzierende Zellen kommen vor allem in der Schilddrüse, aber auch in den Nebenschilddrüsen und im Thymus vor. Calcitonin hat eine hemmende Wirkung auf Osteoklasten und begünstigt gleichzeitig die Kalzifizierung des Skeletts durch Verlagerung von Calcium und Phosphat in den Knochen zum Aufbau von Hydroxylapatitkristallen.

An den Zellen des proximalen Tubulus und der Henle-Schleife der Niere finden sich spezifische Membranrezeptoren für Calcitonin; Calcitonin führt über eine Verminderung der renalen Calciumreabsorption zur Calciurie. Calcitonin senkt damit den Calcium- und Phosphatspiegel im Blut vor allem durch Einlagerung von Calcium und Phosphat in den Knochen, sowie verstärkter Ausscheidung über die Niere und auch über den Darm.

1.2.5 Marker der Osteoblastenaktivität (alkalische Phosphatase, Osteocalcin)

Als Marker der Osteoblastenaktivität sind die alkalische Phosphatase (AP) und Osteocalcin (OC) zu nennen.

Die im Serum messbare AP ist kein einheitliches Enzym. Sie besteht zum einen aus den Aktivitätsanteilen der genetisch determinierten Isoenzymgruppen Leber-Knochen-Niere, Darm und Plazenta. Ohne genetische Kontrolle werden die Gallengangs-AP und die Tumorphosphatasen gebildet, welche damit keine echten Isoenzyme darstellen (*Moss, 1992*).

Während die Serumaktivität der Gesamt-AP nicht organspezifisch ist, hat die Bestimmung der AP-Isoenzyme einen differentialdiagnostischen Wert. Das betrifft insbesondere die Knochen- und Gallengangs-AP. Erhöhungen der Gesamt-AP liegen im Wesentlichen Erkrankungen der Leber, des Knochens oder ein Tumorleiden zugrunde.

Physiologische Erhöhungen der AP werden in der Schwangerschaft und während des Knochenwachstums gesehen. Die beim Gesunden messbare Gesamt-AP stammt aus der Leber und dem Knochen. Bei Erhöhung der Gesamt-AP sollte eine Bestimmung der Isoformen zur weiteren Abklärung erfolgen. Nach Leber- und Gallenerkrankungen stellen Mitbeteiligung des Knochen- und Skelettsystems bei verschiedenen Erkrankungen (z.B. renale Osteopathie) die zweithäufigste Ursache dar. Pathophysiologisch ist die knochenspezifische AP (bone alkaline phosphatase, BAP)

ein Marker für die Osteoblastenaktivität. Die BAP ist im Serum sehr stabil und akkumuliert aufgrund ihrer hepatischen Elimination nicht bei chronischer Niereninsuffizienz.

Das aus 49 Aminosäuren bestehende Osteocalcin stellt 25% des nicht-kollagenen Knochenproteins sowie 2% des Gesamtknochenproteins dar. Die physiologische Funktion des Osteocalcins ist weitestgehend ungeklärt. Vermutlich inhibiert es die Präzipitation von Calcium und Phosphat, so dass eine exzessive Mineralisation verhindert wird (*Urena et de Vernejoul, 1999*). Aufgrund seiner renalen Elimination kumuliert es bei eingeschränkter Nierenfunktion und wird außerdem bei Resorption aus der Knochengrundsubstanz vermehrt freigesetzt (*Hauschka et al., 1975; Price et al., 1976*).

1.2.6 Marker der Osteoklastenaktivität (Hydroxyprolin, Pyridiniumcrosslinks, TRAP)

Um eine Aussage über die Aktivität der Osteoklasten zu erhalten, eignet sich vor allem die Bestimmung von Hydroxyprolin, Pyridiniumcrosslinks und der tartratesistenten sauren Phosphatase 5b (TRAP 5b).

Hydroxyprolin ist eine Aminosäure, die fast ausschließlich in kollagenem Bindegewebe vorkommt. Da sich etwa die Hälfte des Kollagens im Knochen befindet, kann aus dem freiwerdenden Hydroxyprolin auf den Abbau der Knochensubstanz geschlossen werden. Dabei ist jedoch zu beachten, dass 90% des im Blut zirkulierenden Hydroxyprolins in der Leber metabolisiert wird und ein Anteil des renal ausgeschiedenen Hydroxyprolins direkt dem Abbau überschüssiger neusynthetisierter Kollagene entstammt. Außerdem kommt Hydroxyprolin auch in anderen kollagenen Bindegeweben wie z.B. der Haut vor.

Die Ausscheidung dieses Markers ist bei allen entzündlichen Erkrankungen mit erhöhtem Kollagenstoffwechsel, wie Affektionen des knöchernen Skeletts und Systemerkrankungen des Binde- und Stützgewebes, vermehrt. Da auch bestimmte Nahrungsmittel, wie z.B. Süßspeisen mit Gelatinezusatz und Fleisch relevante Mengen an Hydroxyprolin enthalten ist die Messung im Urin nur bei Einhaltung einer hydroxyprolinfreien Diät verwertbar (*Delmas, 1992*).

Weitere Marker der Osteoklastenaktivität sind die Pyridiniumcrosslinks, welche ebenfalls aus dem Kollagenstoffwechsel stammen. Die mechanische Stabilität des

Knochenkollagens ergibt sich aus der Struktur des Kollagenmoleküls (Tripelhelix) und durch Quervernetzungs-komponenten (Crosslinks) zwischen den einzelnen Kollagenmolekülen. Während der osteoklastischen Resorptionsphase werden die Matrixkollagene proteolytisch abgebaut und die Quervernetzungsprodukte Pyridinolin und Desoxypyridinolin in die Blutzirkulation freigesetzt. Die Moleküle können vom Körper nicht wiederverwertet und für eine erneute Kollagensynthese genutzt werden (Robins *et al.*, 1991). Aufgrund ihres geringen Molekulargewichtes von 429-591 Dalton werden die Crosslinks unverändert renal ausgeschieden (Eyre, 1987; Robins *et al.*, 1991; Seibel *et al.*, 1994; Kamel *et al.*, 1995; Colwell *et al.*, 1996). Im Urin liegen sie zu etwa 60-70% peptidgebunden vor (Hattersley *et al.*, 1991). Im Gegensatz zu Hydroxyprolin werden mit der Nahrung aufgenommene Crosslink-Moleküle im Darm nicht resorbiert, so dass die Einhaltung einer Diät zum Zeitpunkt der Diagnostik nicht notwendig ist. Während Desoxypyridinolin praktisch ausschließlich im Typ-I-Kollagen des Knochens vorkommt, kann Pyridinolin in Knochen, Knorpel und in geringer Menge auch in Sehnen und Bändern nachgewiesen werden (Eyre *et al.*, 1984, Eyre *et al.*, 1987, Uebelhart *et al.*, 1990). Weder Pyridinolin noch Desoxypyridinolin werden in den Kollagenen der Haut und des Bindegewebes nachgewiesen.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Tatsache, dass die Crosslinks nicht weiter metabolisiert oder von der Nahrung beeinflusst werden, sie zu spezifischen Markern des Knochenabbaus macht. Hierbei bleibt jedoch unbedingt zu beachten, dass über den Einfluss der Niereninsuffizienz auf die Spiegel der Crosslinks im Urin unterschiedliche Angaben vorliegen (McLaren *et al.*, 1993; Robins *et al.* 1994; Ibrahim *et al.*, 1995).

Da die TRAP Gegenstand der vorliegenden Studie war wird im Folgenden Abschnitt genauer darauf eingegangen.

1.2.7 Tartratresistente saure Phosphatase des Knochens (TRAP)

Ein weiterer Marker der Osteoklastenaktivität ist die tartrat-resistente saure Phosphatase (TRAP), welche in den letzten Jahren als Marker bei Osteopathien vermehrt in den Mittelpunkt des Interesses gerückt ist. Bei der im Serum messbaren TRAP kann zwischen zwei Unterformen, der Isoform 5a und 5b, unterschieden werden. Die beiden Isoformen sind im Serum in etwa gleichen Mengen enthalten (Lam *et al.*, 1978). Der Ursprung der Isoform 5a ist unbekannt; bisher konnte sie nur in Gaucherzellen der Milz

bei Morbus Gaucher nachgewiesen werden (*Lam et al., 1981*). Die Isoform 5b hingegen konnte sowohl in Osteoklasten als auch in aktivierten Makrophagen nachgewiesen werden. Während aktivierte Makrophagen das Enzym in seiner inaktiven Form sezernieren (*Nakasato et al., 1999*), wird es von den Osteoklasten in der aktiven Form sezerniert (*Yaiji et al., 1995*). Aufgrund der hepatischen Elimination kumuliert TRAP nicht bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz (*Fredlund et al., 1973*).

Osteoklasten resorbieren Knochengewebe durch Sekretion von lysosomalen Proteasen und Säure in den Raum zwischen Zellmembran und der Knochenmatrix. Durch die Säure wird Hydroxylapatit gelöst; die Proteasen entziehen und degradieren organische Komponenten der Knochenmatrix (Typ 1 Kollagen und andere Matrixproteine).

Diese Matrixabbauprodukte werden mittels Endocytose von der Zelle eingeschlossen. Die endocytotischen Vesikel fusionieren mit TRAP- enthaltenden Vesikeln. Matrix-Abbauprodukte und TRAP werden durch den Osteoklasten transportiert. Im Zuge dieses Prozesses generiert TRAP aktive Sauerstoffradikale, welche die Matrixkomponenten weiter angreifen und zerstören. Letztendlich werden die Matrixabbauprodukte gemeinsam mit aktiven TRAP-Molekülen über eine funktionelle sekretorische Domäne in die basolaterale Membran sezerniert (*Halleen et al., 1999*). Damit wird durch die Menge der in die Zirkulation freigesetzten TRAP die Knochenresorptionsrate reflektiert (*Halleen et al., 1999*).

In mehreren klinischen Studien wurde die TRAP als Marker des Knochenstoffwechsels bei verschiedenen Erkrankungen untersucht. Untersuchungen an kleineren Kollektiven liegen bei Patientinnen mit Mammakarzinomen vor (*Capeller et al., 2002*), bei Patienten mit Knochenmetastasierung bei Prostatakarzinomen (*Lein et al., 2002*), Patienten mit Morbus Paget (*Torres et al., 1991*), Patienten mit primärem Hyperparathyreoidismus (*Stepan et al., 1987*) und bei Patienten mit multiplen Myelom (*Stepan et al., 1984*). Umfangreichere Untersuchungen liegen bei Patientinnen mit Osteoporose vor. Die TRAP wurde dabei als Verlaufsparemeter unter antiresorptiver Therapie benutzt und mit verschiedenen Parametern des Knochenstoffwechsels korreliert (*Halleen et al., 2000; Alatalo et al., 2002; Hannon et al., 2002*).

An kleineren Kollektiven konnten bei dialysepflichtigen Patienten von Janckila et al. und von Nakanishi et al. erhöhte Serumaktivitäten sowie Korrelationen mit anderen Parametern des Knochenstoffwechsels für die TRAP 5b gezeigt werden (*Nakanishi et al., 1999; Janckila et al., 2001*), während Messungen der Serumaktivitäten unter Therapie noch ausstehen.

Die folgende Tabelle gibt einen Überblick der verwendeten Parameter zur Bestimmung der Osteoblasten/-klastenaktivität.

	Parameter		
Knochenaufbau	Alkalische Phosphatase	Osteocalcin	
Knochenabbau	Hydroxyprolin	Pyridiniumcrosslinks	tartratresistente saure Phosphatase 5b (TRAP 5b)

Tabelle 1.2 Parameter Knochenaufbau/-abbau

1.3 Fragestellung

Zur Untersuchung des Knochenstoffwechsels bei Dialysepatienten existieren mehrere Parameter, welche aufgrund ihrer Eigenschaften, wie z.B. Abhängigkeit von der Nahrungsaufnahme, Art der Elimination etc., mehr oder weniger spezifisch die Aktivität der Osteoblasten bzw. der Osteoklasten widerspiegeln.

In der vorliegenden Arbeit soll an einem größeren Kollektiv von Dialysepatienten die Eignung der TRAP Isoform 5b, einem Marker der Osteoklastenaktivität, als Verlaufsparemeter bei renaler Osteopathie untersucht werden.

Bisher existieren bei Dialysepatienten Studien an kleinen Kollektiven, welche erhöhte Serumaktivitäten der TRAP Isoform 5b zeigen konnten. Untersuchungen über die Serumaktivität der TRAP im Verlauf bzw. unter einer Therapie wurden in den bisher vorliegenden Studien bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz nicht durchgeführt, so dass die vorliegende Studie die folgenden Fragen beantworten soll:

1. Wie hoch sind die Serumaktivitäten der TRAP Isoform 5b bei einem größeren Kollektiv von dialysepflichtigen Patienten?
2. Kann die TRAP Isoform 5b bei Dialysepatienten als Verlaufsparemeter der renalen Osteopathie eingesetzt werden?
3. Wie verhält sich die TRAP Isoform 5b bei Dialysepatienten im Vergleich mit anderen Parametern des Knochenstoffwechsels?

2. Patienten und Methoden

2.1 Studiendesign

In der Zeit von Mai 2001 bis November 2001 wurde die im Folgenden beschriebene Studie im Institut für Laboratoriumsmedizin (Direktor Priv.-Doz. Dr. J. Bohner) am Klinikum Fulda in Zusammenarbeit mit dem Kuratorium für Heimdialyse (KfH) Fulda (Leiter Prof. Dr. W. Faßbinder) als prospektive Kohortenuntersuchung durchgeführt.

Die in die Studie eingeschlossenen Patienten befanden sich wegen einer terminalen Niereninsuffizienz in ambulanter chronisch intermittierender Hämodialysebehandlung. Es erfolgte keine Veränderung der zum Zeitpunkt der Probenentnahmen bestehenden Form der Hämodialysebehandlung (Häufigkeit und Dauer, Zusammensetzung der Dialysierflüssigkeit und des Dialysators) oder der Begleitmedikation. Ebenso wurden auch die zur Behandlung der renalen Osteopathie/des sekundären Hyperparathyreoidismus verordneten Medikamente (Phosphatbinder und gegebenenfalls Vitamin-D-Präparate und Vitamin-D-Analoga) im Rahmen der Studien nicht modifiziert.

Es erfolgte eine Erhebung der demographischen Charakteristika (Alter, Geschlecht, Zeitdauer seit Beginn der Dialysebehandlung).

Zusätzlich wurde die medikamentöse Therapie zur Behandlung der renalen Osteopathie (Menge der verordneten Phosphatbinder und Dosis der Vitamin-D Präparate oder ihrer Analoga) erfasst.

Die Blutentnahmen erfolgten im Rahmen der routinemäßig durchgeführten vierwöchigen Laboruntersuchungen. Die Bestimmung der verschiedenen Parameter diente der direkten Diagnostik oder trug zur Optimierung der Diagnostik bei. Alle Patienten wurden über die Studie ausführlich informiert und gaben ihre Einwilligung. Die Durchführung der Studien erfolgte gemäß den Regeln der Deklaration von Helsinki. Unmittelbar nach Aufnahme in die Studie wurden die Patientendaten anonymisiert. Alle Daten wurden mit Hilfe von standardisierten Bögen erfasst und anschließend in einer Datenbank (Microsoft Excel®) gesammelt. Die Datenbank war mit einem Paßwort gesichert.

2.2 Ausschlusskriterien der Studie

Folgende Kriterien schlossen einen Patienten von der Studie aus oder führten zum Ausscheiden des Patienten aus der Studie:

- fehlende Einverständniserklärung des Patienten
- nicht einwilligungsfähiger Patient
- Rücknahme der Einwilligung des Patienten
- Tod des Patienten
- Transplantation im Studienzeitraum
- Ortswechsel/Wechsel des Dialysezentrums

2.3 Ablauf der Studie

2.3.1 Messgrößen und Follow up

Bei allen in die Studie aufgenommenen Patienten erfolgten Blutabnahmen zur Analyse der im Folgenden aufgeführten Parameter am Beginn der Studie und sechs Monate später jeweils vor Durchführung der Hämodialyse.

Parameter der Osteoklasten-Aktivität:

- Tartratresistente saure Phosphatase Isoform 5b (TRAP 5b) im Serum

Parameter der Osteoblasten-Aktivität:

- Alkalische Phosphatase (AP) im Plasma

Parameter des Knochenstoffwechsels:

- Calcium im Plasma
- Phosphat im Plasma
- Parathormon (PTH intakt) im Serum

Kontrolle der Medikation mit Phosphatbindern:

- Aluminium im Serum

Im Rahmen dieser Studie wurde sowohl am Beginn der Studie als auch nach sechs Monaten eine ausführliche Anamnese erhoben, wobei insbesondere Veränderungen beim Dialyseverfahren und der Medikation erfasst wurden.

2.4 Messverfahren der Studie

2.4.1 Tartratresistente saure Phosphatase Isoform 5b

Die Bestimmung der Serumkonzentration der tartratresistenten sauren Phosphatase Isoform 5b (TRAP 5b) wurde mit dem Bone Trap-Assay® der Firma Medac Diagnostica (Wedel, Deutschland) durchgeführt. Dieser immunologische Test misst spezifisch die von den Osteoklasten in die Zirkulation sezernierten enzymatisch aktive Moleküle der TRAP 5b und spiegelt damit die Osteoklastenaktivität zum Zeitpunkt der Blutabnahme wider. Die Osteoklastenaktivität gilt als Maß der Knochenresorption.

2.4.1.1 Testprinzip

Der Bone TRAP-Assay ® ist ein Immunoassay bei dem Mikrotiterplatten eingesetzt werden, die mit monoklonalen Anti-TRAP 5b-Antikörpern beschichtet sind. Die Bindung der TRAP 5b an den Antikörper kann erst erfolgen, nachdem das im Serum in proteingebundener Form vorliegende TRAP 5b-Molekül mit einem speziellen Reagenz aus seiner Proteinbindung freigesetzt worden ist (Abb. 1).

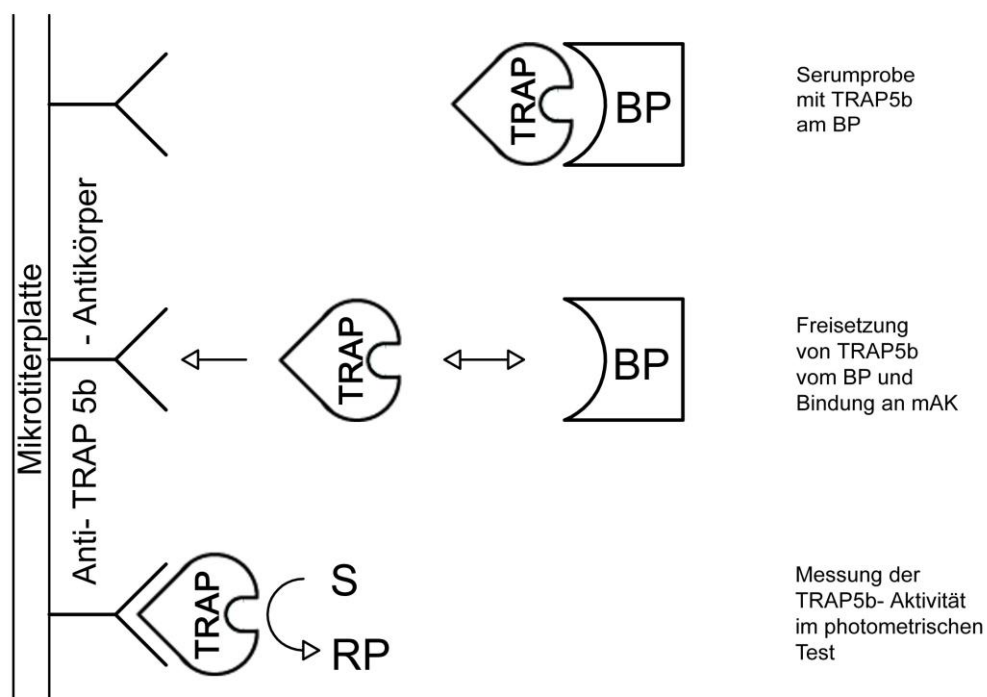


Abbildung 1: Prinzip der enzymimmunologischen TRAP 5b-Bestimmung mit dem Bone TRAP-Assay. TRAP: TRAP 5b-Molekül; BP: Bindungsprotein; S: Substrat (p-NPP); RP: Reaktionsprodukt (p-NP).

2.4.1.2 Untersuchungsmaterial

Das für die Bestimmung der TRAP 5b benötigte Serum wurde durch Zentrifugation aus Blut gewonnen, das der ungestauten Vene entnommen worden war. Die Serumproben wurden portioniert und bis zur Analyse ohne konservierenden Zusatz bei -20°C eingefroren. Die tiefgefrorenen Proben sind zwei Monate haltbar. Sämtliche TRAP 5b Analysen wurden im Batch-Verfahren durchgeführt.

2.4.1.3 Testdurchführung

Die Durchführung des TRAP 5b-Tests erfolgte nach den Angaben des Herstellers in den folgenden Arbeitsschritten:

- Antikörperbeschichtung

In die Kavitäten der Mikrotiterplatte werden jeweils 100 μl Anti-TRAP 5b-Antikörperlösung pipettiert. Inkubation der Mikrotiterplatte für 60 min bei Raumtemperatur unter kontinuierlichem Schütteln mit 950 rpm. Danach viermaliges Auswaschen der Kavitäten mit jeweils 300 μl Pufferlösung (Tris/ NaCl/ Tween; pH 7,75). Nach Beendigung des Auswaschvorgangs Ausklopfen der Mikrotiterplatte auf Filterpapier.

- Probenbeschickung

In die Kavitäten der Mikrotiterplatte werden jeweils 100 μl Leerwertlösung (0,9 %ige NaCl), Standardlösungen mit unterschiedlicher TRAP 5b-Aktivität (humane rekombinante TRAP 5b) in Standard 1 (1,0 U/l), Standard 2 (5,0 U/l) und Standard 3 (10 U/l), Kontrolllösung (humane rekombinante TRAP 5b, Aktivität chargenabhängig, innerhalb des Sollwertbereiches gelegen) sowie Patientenproben pipettiert. Danach werden in jede Kavität 50 μl Freisetzungsreagenz (die Zusammensetzung unterliegt dem Firmengeheimnis) pipettiert. Erneute Inkubation der Mikrotiterplatte für 60 min bei Raumtemperatur und kontinuierliches Schütteln mit 950 rpm. Wiederholung des viermaligen Waschvorgangs mit 300 μl Pufferlösung.

- Messung der Enzymaktivität

Zugabe von jeweils 100 μl der pNPP-haltigen Substratlösung in die Kavitäten der Mikrotiterplatte. Nochmalige Inkubation der Mikrotiterplatte für 60 min bei 37°C . Danach wird die Enzymreaktion durch den Zusatz von 25 μl einer NaOH-Lösung (0,32 M) gestoppt. Anschließend erfolgt die Auswertung der Mikrotiterplatte bei 37°C und einer Wellenlänge von 405 nm mit dem Immunoassay-Analyseautomaten Elecsys 2010

(Roche, Mannheim). Die TRAP 5b- Aktivitäten der Patientenproben werden nach Leerwertabzug über die Standardkurve ermittelt.

2.4.1.4 Testeigenschaften

Analytische Sensitivität: Als untere Nachweisgrenze des Bone TRAP-Assay® wird eine TRAP 5b-Aktivität von 0,06 U/l angegeben.

Linearität: Der Test ist bis zu einer TRAP-Aktivität von 10,0 U/l linear. Bei höherer TRAP-Aktivität muss die Serumprobe verdünnt werden.

Präzision: Die Intraassay-Varianz des Assays liegt bei < 6% und die Interassay-Varianz beträgt < 8%.

Wiederfindung: Die Wiederfindung verschiedener Mengen gereinigter humaner osteoklastischer TRAP in Seren wurde mit 96,6±2,7% ermittelt.

2.4.1.5 Referenzwerte („Bone TRAP Assay“, Medac Diagnostika)

Referenzbereiche der TRAP 5b-Aktivität im Serum.

- Frauen prämenopausal 2,59 – 4,27 U/l
- Frauen postmenopausal 3,53 – 5,73 U/l
- Männer 2,51 – 5,11 U/l

2.4.2 Calcium

Die Bestimmung der Gesamt-Calcium-Konzentration im Plasma erfolgte mit dem photometrischen Test der Firma Roche Diagnostics mit einem klinisch-chemischen Analyseautomaten Hitachi 917 (Roche Diagnostics, Mannheim).

2.4.2.1 Testprinzip

Komplexometrische Methode, die auf der Reaktion des Calciums mit o-Kresolphthalein-Komplexon im alkalischen Milieu beruht. Da diese Reaktion störende Magnesium wird mit 8-Hydroxychinolin eliminiert. Die Farbintensität der gebildeten violetten Calcium- o-Kresolphthalein-Komplexe ist direkt proportional zur Calciumkonzentration und wird photometrisch gemessen.

2.4.2.2 Testeigenschaften

Messgröße Calciumkonzentration im Plasma.

Messbereich: 0,05 – 7,0 mmol/L

Präzision von Tag zu Tag: Variationskoeffizient 1,76% - 1,87%

2.4.2.3 Referenzwerte (Tietz, 1987)

Calciumkonzentration im Plasma.

Erwachsene: 2,15-2,55 mmol/L

2.4.3 Phosphat

Die Bestimmung der Konzentration von anorganischem Phosphat im Plasma wurde mit dem photometrischen Test der Firma Roche Diagnostics mit einem klinisch-chemischen Analyseautomaten Hitachi 917 (Roche Diagnostics, Mannheim) durchgeführt.

2.4.3.1 Testprinzip

Anorganisches Phosphat bildet mit Ammoniummolybdat in schwefelsaurer Lösung einen Ammoniumphosphomolybdat-Komplex. Der Zusatz eines Akzelerators beschleunigt diese Reaktion. Der Ammoniummolybdat-Komplex wird im UV-Bereich (340 nm) photometrisch gemessen.

2.4.3.2 Testeigenschaften

Messgröße Phosphatkonzentration im Plasma.

Messbereich: 0,10 – 6,46 mmol/L

Präzision von Tag zu Tag: Variationskoeffizient 0,80 – 1,17%

2.4.3.3 Referenzwerte (Saunders, 1994)

Phosphatkonzentration im Plasma.

Erwachsene: 0,87 – 1,45 mmol/L

2.4.4 Alkalische Phosphatase

Die Bestimmung der Plasmaaktivität der Alkalischen Phosphatase (AP) erfolgte nach der standardisierten Methode der International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) von 1983 mit dem ALP-Test der Firma Roche Diagnostics auf dem klinisch-chemischen Analysengerät Hitachi 917 (Roche Diagnostics, Mannheim). Dieser Test erfasst die Aktivität der Gesamt-AP im Plasma, die sich beim Gesunden zu über 90% aus den beiden Isoformen Leber- AP und Knochen- AP zusammensetzt.

2.4.4.1 Testprinzip

Das Substrat p-Nitrophenylphosphat wird in Gegenwart von Magnesium- und Zinkionen durch Phosphatasen im alkalischen Milieu in Phosphat und p-Nitrophenol gespalten. Die Menge des pro Zeiteinheit gebildeten farbigen Produktes p-Nitrophenol, gemessen als Absorptionszunahme bei 405 nm, ist ein Maß der katalytischen Aktivität der AP.

Messtemperatur: 25°C.

2.4.4.2 Testeigenschaften

Messgröße Aktivität der AP im Plasma.

Messbereich: 1 – 1200 U/l

Präzision von Tag zu Tag: Variationskoeffizient 2,75 – 2,97%

2.4.3.3 Referenzwerte (Tietz, 1986)

Erwachsene: 55 – 175 U/l

2.4.5 Intaktes Parathormon

Die Bestimmung der Serumkonzentration von intaktem Parathormon (iPTH) wurde mit dem immunologischen in vitro-Test der Firma Roche Diagnostics an einem Immunoassay Analyseautomaten Elecsys 2010 (Roche, Mannheim) durchgeführt.

PTH (Polypeptidkette mit 84 Aminosäuren (AS)) wird in den Nebenschilddrüsen gebildet und in den Blutkreislauf sezerniert. Das selektive Messen des intakten PTH (iPTH) im Serum ermöglicht eine direkte Erfassung der sekretorischen Aktivität der Nebenschilddrüsen und damit den Nachweis von Funktionsstörungen wie Hyper- und Hypoparathyreoidismus.

2.4.5.1 Testprinzip

Der Elecsys-Test zur Quantifizierung von iPTH verwendet das Sandwich-Testprinzip, wobei ein biotinylierter monoklonaler Antikörper mit dem N-terminalen Segment (AS 1-37) und ein zweiter mit Ruthenium markierter monoklonaler Antikörper mit dem C-terminalen Segment (AS 38-84) des iPTH reagiert.

Durch Zugabe von streptavidinbeschichteten Mikropartikeln werden die komplexierten iPTH-Moleküle über die Biotin-Streptavidin-Wechselwirkung an die Festphase gebunden. In der Messzelle werden dann die Mikropartikel durch magnetische Wirkung

auf der Oberfläche einer Elektrode fixiert und die Konzentration der iPTH-Moleküle über die induzierte Chemielumineszenzemission des Rutheniums quantifiziert.

2.4.4.3 Testeigenschaften

Messgröße Konzentration des iPTH im Serum.

Messbereich: 1,2 – 5000 ng/l

Präzision von Tag zu Tag: Variationskoeffizient 4,3 – 7,1%

2.4.4.4 Referenzwerte (Blind, 1990)

Erwachsene: 15 – 65 ng/l

2.4.5 Aluminium

Die Kontrolle der Medikation mit dem Phosphatbinder [Phosphonorm®/Medice (Komplex aus $\text{Al}(\text{OH})_3/\text{AlCl}_3$)] bei den Dialysepatienten erfolgte über die Bestimmung der Aluminiumkonzentration im Serum.

2.4.6.1 Testprinzip

Atomabsorptions-Spektrometrie (Bioscientia, Mainz).

2.4.5.2 Referenzwerte (Savory, 1986)

Gesunde Erwachsene: < 10 µg/l

Dialysepatienten: 10 – 60 µg/l

2.5 Statistische Verfahren

Die demographischen Daten (Geschlecht, Alter) der Patienten und die Dialysedauer wurden deskriptiv dargestellt. Graphische Darstellungen der erhobenen Messwerte erfolgten in Form von Box-Plot-Diagrammen (Abb. 2).

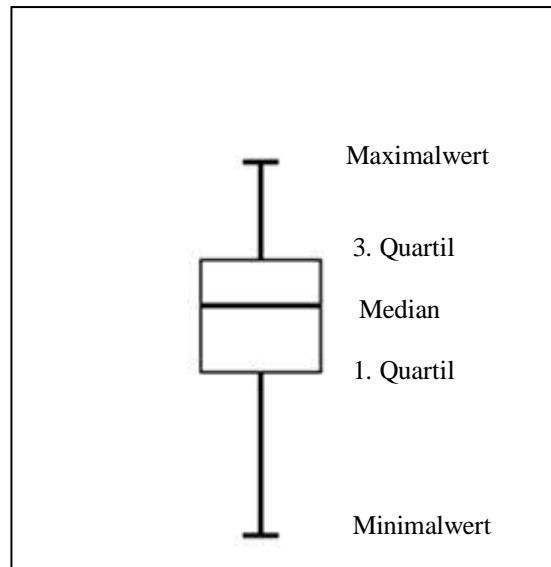


Abb. 2: Boxplotdiagramm mit Darstellung des Median, 1. und 3. Quartil und Minimal- und Maximalwert

Die Verteilung der Messwerte wurde mit dem Kolmogorov-Smirnov-Anpassungstest auf ihre Verteilung hin geprüft. Bei einer Normalverteilung wurde bei der weiteren Auswertung der T-Test für gepaarte Stichproben angewandt. Wenn keine Normalverteilung vorlag, so wurde der Wilcoxon-Test für gepaarte Stichproben angewandt.

Eine Fehlerwahrscheinlichkeit von weniger als 5 Prozent ($p < 0,05$) wurde als signifikant gewertet.

Als Statistik-Programm wurde SPSS für Windows, Version 7.5.2G, SPSS Inc., benutzt.

3. Ergebnisse

3.1 Patienten der Studie

3.1.1 Bei Studienbeginn aufgenommene Patienten

In der Zeit vom 15.05.2001 bis zum 15.11.2001 wurden in die Studie initial insgesamt 161 Patienten aufgenommen, bei denen im Kuratorium für Heimdialyse (KfH) Fulda eine Hämodialyse anstand, für die keines der eingangs definierten Ausschlusskriterien zutraf und bei denen unmittelbar vor der Dialyse eine Blutuntersuchung der Parameter des Knochenstoffwechsels durchgeführt werden konnte.

Die demographischen Daten der 161 Dialysepatienten sind in Tabelle 3.1 zusammengestellt.

Altersverteilung	Jahre
Mittelwert \pm SD	66 \pm 13
Medianwert	67
Altersspanne	20 - 90
Geschlechtsdifferenz	Anzahl/Prozent
Frauen	75 / 47
Männer	86 / 53
Dialysedauer	Jahre
Mittelwert \pm SD	4,3 \pm 4,0
Medianwert	3,0
Zeitspanne	0,1-21,0

Tab. 3.1: Demographische Daten der initial in die Studie aufgenommenen 161 Dialysepatienten

3.1.2 Im Studienverlauf ausgeschiedene Patienten

Im Verlauf der Studie mussten von den anfänglich 161 in die Studie aufgenommenen Dialysepatienten insgesamt 35 von der Studie ausgeschlossen werden, da die zweite Blutuntersuchung der Parameter des Knochenstoffwechsels sechs Monate nach der initialen Untersuchung aus unterschiedlichen Gründen nicht mehr durchzuführen war. Von diesen 35 Patienten verstarben 11 Patienten vor dem zweiten Untersuchungstermin, und bei fünf Patienten war zwischenzeitlich eine Nierentransplantation durchgeführt worden. Der Wechsel an ein anderes Dialysezentrum war bei 10 weiteren Patienten der Grund für das Ausscheiden aus der Studie. Zum Zeitpunkt des zweiten Untersuchungstermins befanden sich sieben Patienten in stationärer Behandlung, so dass die Dialyse nicht mehr im KfH Fulda durchgeführt wurde und bei zwei Patienten konnte der Grund für das Ausscheiden aus der Studie nicht mehr ermittelt werden.

3.1.3 Patienten der TRAP-Studiengruppe

Nach dem Ausscheiden der 35 Dialysepatienten aus der Studie konnten bei den verbleibenden 126 Patienten nach dem ersten Termin (Mai 2001) auch beim zweiten Termin (November 2001) die Untersuchungen der Parameter des Knochstoffwechsels durchgeführt werden. Diese Gruppe der 126 Dialysepatienten wird im Folgenden als „TRAP-Studiengruppe“ bezeichnet. Die demographischen Daten der Studiengruppe sind in Tab. 3.2 zusammengestellt.

Altersverteilung	Jahre
Mittelwert \pm SD	66 \pm 13
Medianwert	69
Altersspanne	25-89
Geschlechtsdifferenz	Anzahl/Prozent
Frauen	60 / 48
Männer	66 / 52
Dialysedauer	Jahre
Mittelwert \pm SD	4,3 \pm 4,1
Medianwert	3,0
Zeitspanne	0,1-21,0

Tab. 3.2: Demographische Daten der 126 Dialysepatienten der TRAP-Studiengruppe

3.2 Parameter des Knochenstoffwechsels im Studienkollektiv

3.2.1 Parameter TRAP 5b

3.2.1.1 Abhängigkeit vom Alter (n=161)

Zwischen der Serumaktivität der TRAP 5b und dem Alter der Dialysepatienten findet sich eine inverse signifikante Korrelation ($p < 0,01$) bei einer erheblichen Streubreite der TRAP 5b-Werte von 0,80 U/l bis 16,50 U/l. Bemerkenswert ist auch, dass ein hoher Anteil der TRAP 5b-Werte bei den Dialysepatienten oberhalb und ein vergleichsweise geringer Anteil der Werte unterhalb des Referenzbereiches liegt (Abb. 3.1).

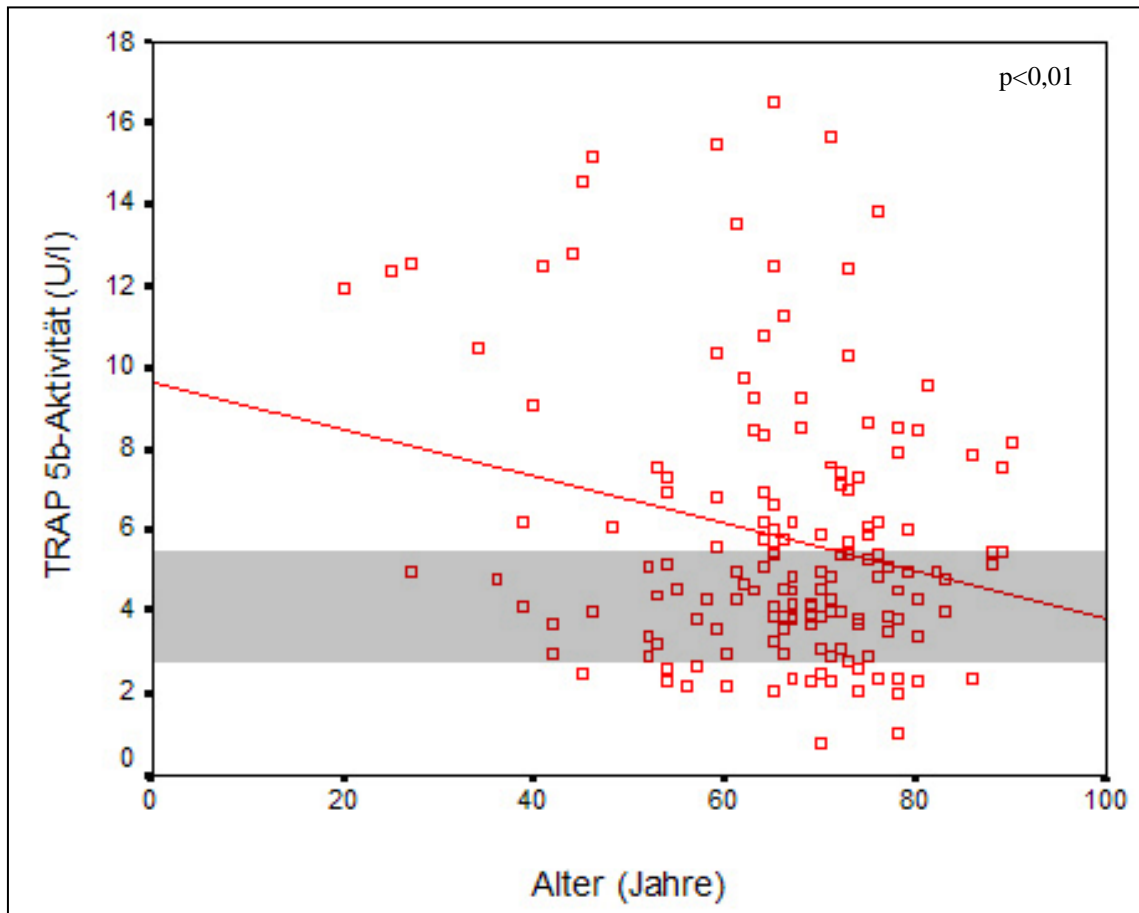


Abb. 3.1: Korrelation zwischen TRAP 5b-Aktivität (Ordinate) und Lebensalter (Abszisse) bei 161 Dialysepatienten. Regressionsgerade: $\text{TRAP 5b-Aktivität} = -0,06 \times \text{Alter} + 9,63$. Korrelationskoeffizient: $-0,237$. Referenzbereich grau unterlegt.

3.2.1.2 Geschlechtsabhängigkeit (n=161)

Bei der Differenzierung der TRAP 5b-Werte der 161 Dialysepatienten zeigten die Frauen im Mittel rund 12% höhere TRAP 5b-Serumaktivitäten als die Männer (Tab. 3.3). Dieser Unterschied ist aber statistisch nicht signifikant ($p>0,05$).

TRAP 5b- Aktivitäten	U/l
Alle Patienten (161)	
Mittelwert \pm SD	5,79 \pm 3,24
Medianwert	4,90
Streubreite	0,80-16,50
Frauen (75)	Jahre
Mittelwert \pm SD	6,14 \pm 3,39*
Medianwert	5,10
Streubreite	2,20-16,50
Männer (86)	Jahre
Mittelwert \pm SD	5,48 \pm 4,09*
Medianwert	4,60
Streubreite	0,80-15,70

Tab. 3.3: TRAP 5b- Aktivitäten der initial in die Studie aufgenommenen 161 Dialysepatienten, *Unterschied Frauen/Männer=n.s.

3.2.1.3 Abhängigkeit von der Dialysedauer

Zwischen der TRAP-5b-Serumaktivität und der Dialysedauer der Patienten besteht eine positive signifikante Korrelation ($p<0,01$), wobei die TRAP 5b-Werte auch hier eine große Streubreite zeigen. Somit steigt die Serumaktivität der TRAP-5b mit zunehmender Dialysedauer über die Jahre tendenziell an (Abb. 3.2).

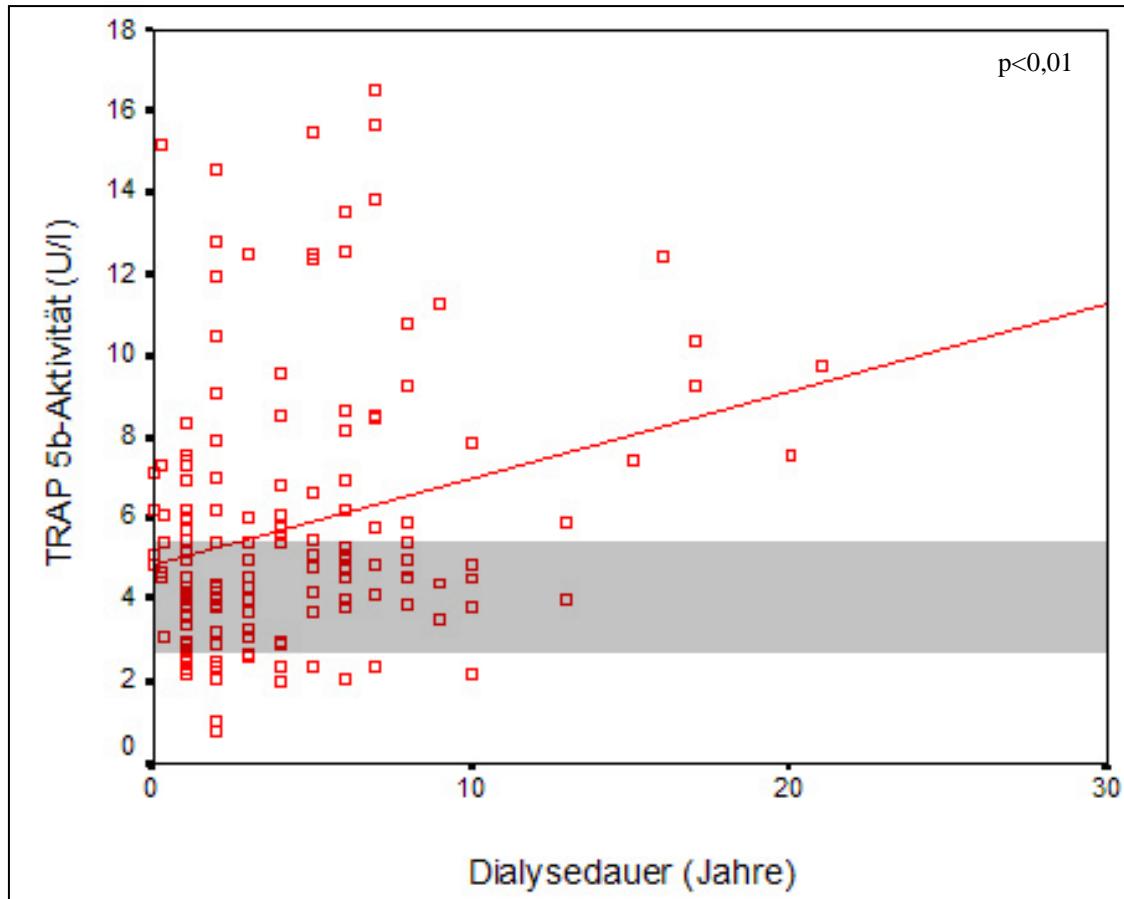


Abb. 3.2: Korrelation zwischen der TRAP 5b-Aktivität (Ordinate) und der Dialysedauer (Abszisse) bei 161 Patienten. Regressionsgrade: $\text{TRAP 5b-Aktivität} = 0,215 \times \text{Dialysedauer} + 4,88$. Korrelationskoeffizient: 0,264. Referenzbereich grau unterlegt.

3.2.2.4 Korrelation mit der Calcium-Konzentration

Die TRAP 5b-Serumaktivität und die Calcium-Konzentration zeigen eine schwache, positive und signifikante Korrelation ($p < 0,05$). In Abb. 3.3 ist der Zusammenhang zwischen der TRAP 5b-Aktivität und der Calcium-Konzentration dargestellt.

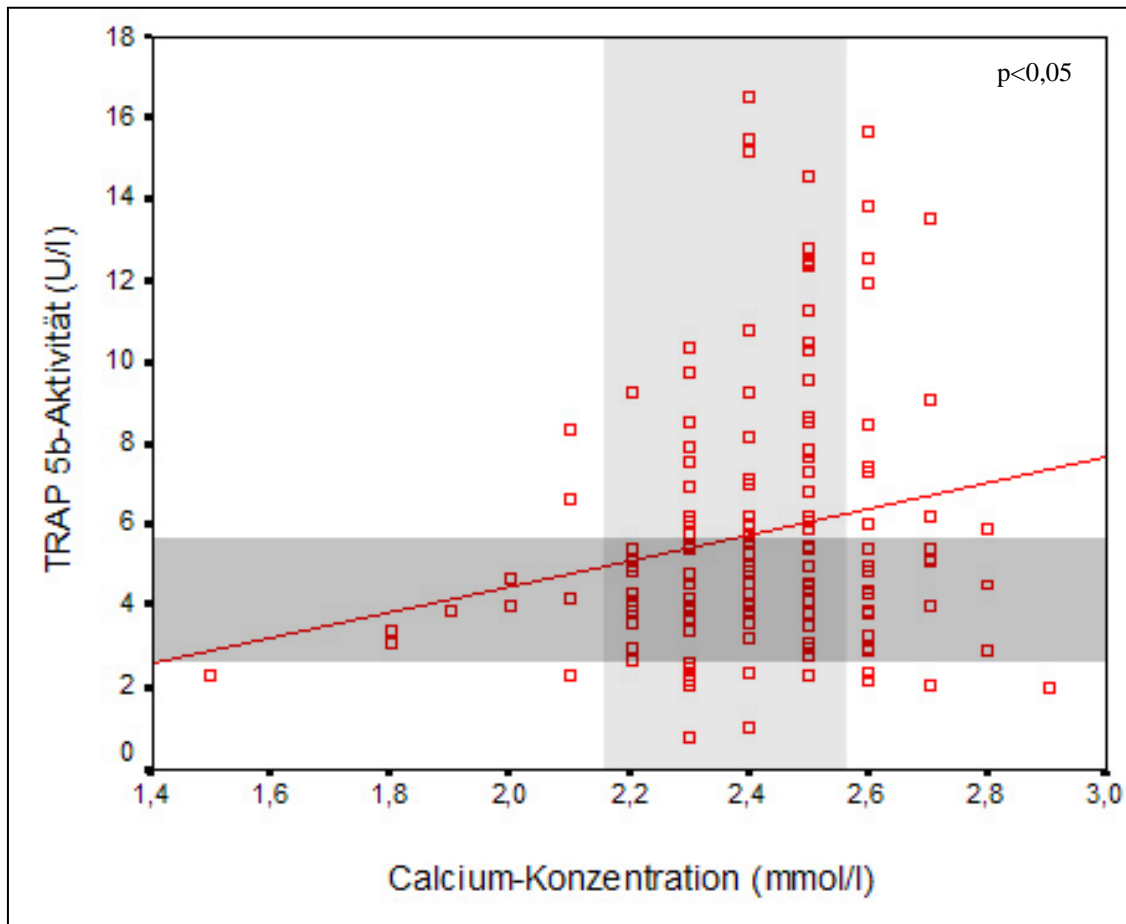


Abb. 3.3: Korrelation zwischen der TRAP 5b-Aktivität (Ordinate) und der Calcium-Konzentration (Abszisse) bei 161 Patienten. Regressionsgrade: TRAP 5b-Aktivität = $3,127 \times \text{Calcium-Konzentration} - 1,732$. Korrelationskoeffizient: 0,192. Referenzbereiche: Calcium-Konzentration hellgrau unterlegt, TRAP 5b-Aktivität dunkelgrau unterlegt.

3.1.2.5 Korrelation mit der Phosphat-Konzentration

Die TRAP 5b-Serumaktivität und die Phosphat-Konzentration zeigen ebenfalls eine schwache, positive und hoch signifikante Korrelation ($p < 0,01$). Abb. 3.4 gibt Auskunft über das konkordante Verhalten zwischen der TRAP 5b-Aktivität und der Phosphat-Konzentration.

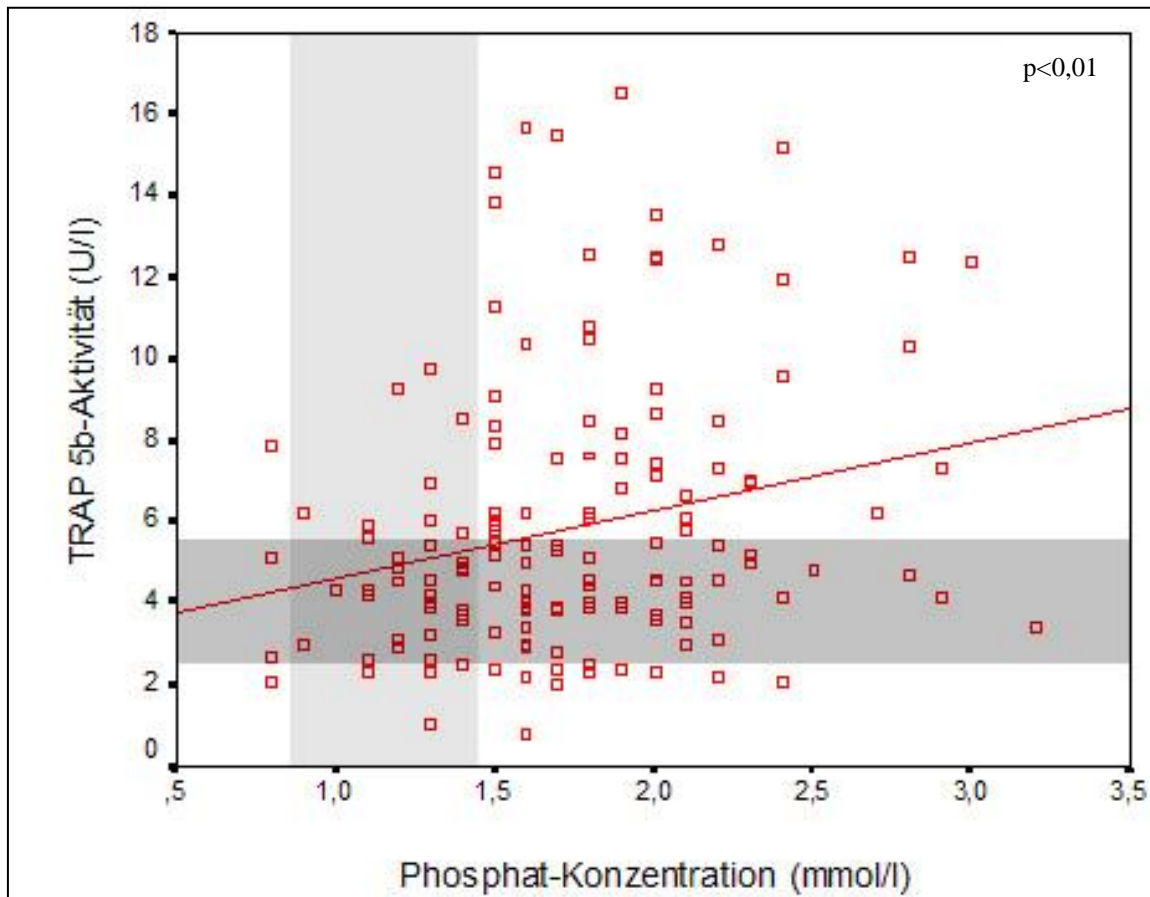


Abb. 3.4: Korrelation zwischen der TRAP 5b-Aktivität (Ordinate) und der Phosphat-Konzentration (Abszisse) bei 161 Patienten. Regressionsgrade: TRAP 5b-Aktivität = $1,680 \times \text{Phosphat-Konzentration} + 2,902$. Korrelationskoeffizient: 0,241. Referenzbereiche: Phosphat-Konzentration hellgrau unterlegt, TRAP 5b-Aktivität dunkelgrau unterlegt.

3.1.2.6 Korrelation mit der Alkalischen Phosphatase-Aktivität

Die TRAP 5b-Serumaktivität und die Alkalische Phosphatase-Aktivität zeigen eine positive und hoch signifikante Korrelation von $p < 0,01$ (Abb. 3.5), welche deutlich stärker ist als bei den Korrelationen der TRAP 5b-Aktivität mit der Calcium-Konzentration und der Phosphat-Konzentration (siehe Abb. 3.3 und Abb. 3.4).

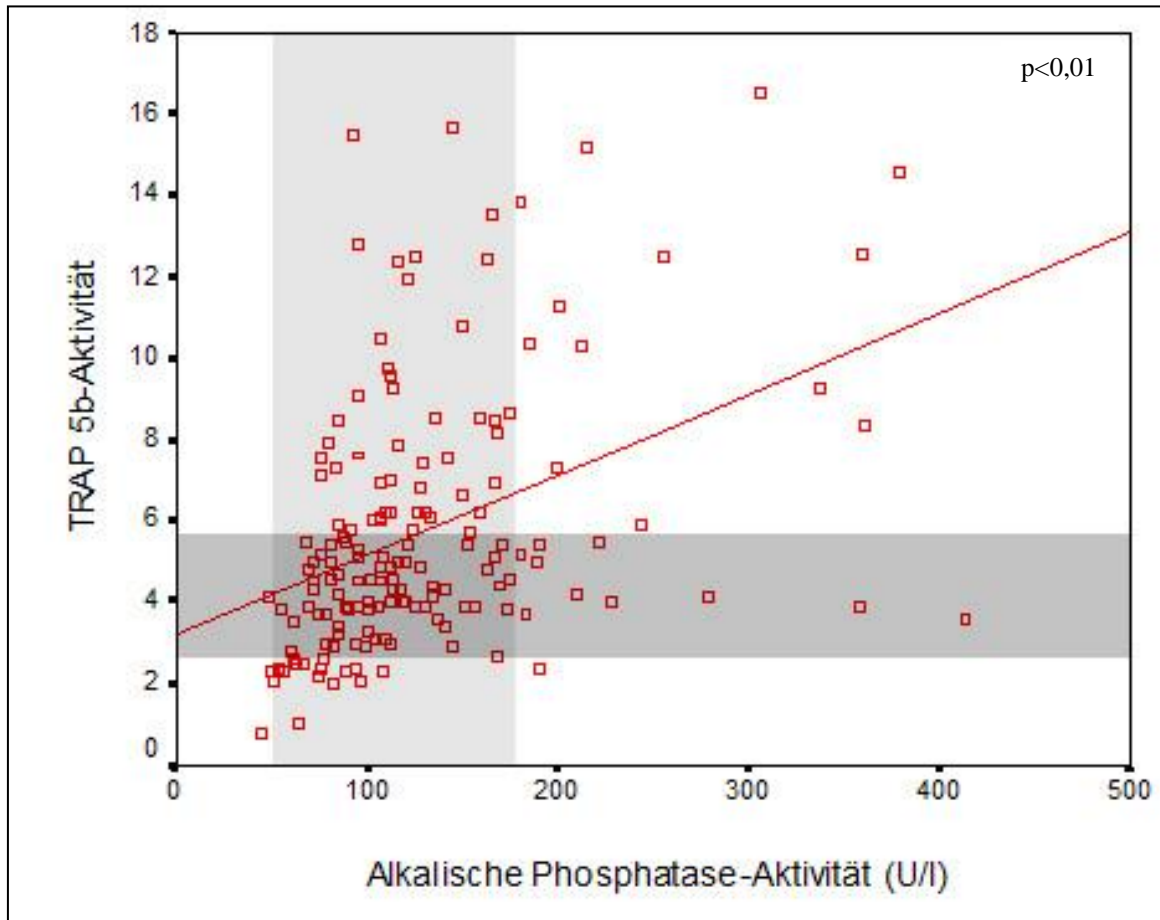


Abb. 3.5: Korrelation zwischen der TRAP 5b-Aktivität (Ordinate) und der Alkalischen Phosphatase-Aktivität (Abszisse) bei 161 Patienten. Regressionsgrade: TRAP 5b-Aktivität = $0,0198x$ Alkalischen Phosphatase-Aktivität + $3,252$. Korrelationskoeffizient: $0,406$. Referenzbereiche: Alkalische Phosphatase-Aktivität hellgrau unterlegt, TRAP 5b-Aktivität dunkelgrau unterlegt.

3.1.2.7 Korrelation mit der Parathormon-Konzentration

Die TRAP 5b-Serumaktivität und die Parathormon-Konzentration zeigen eine ebenfalls stärkere, positive und hoch signifikante Korrelation ($p < 0,01$), welche in Abb. 3.6 dargestellt ist.

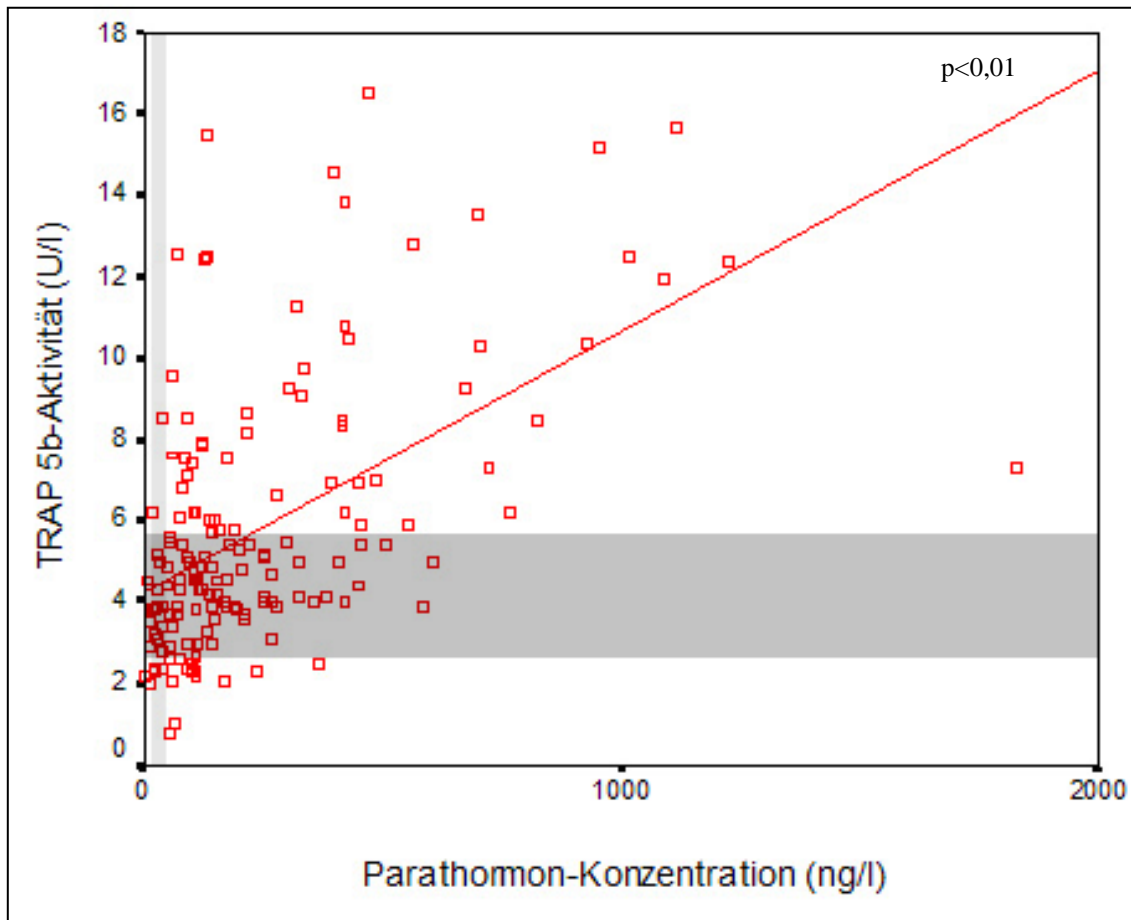


Abb. 3.6: Korrelation zwischen der TRAP 5b-Aktivität (Ordinate) und der Parathomon-Konzentration (Abszisse) bei 161 Patienten. Regressionsgrade: TRAP 5b-Aktivität = $0,0064x$ Parathomon-Konzentration + $4,258$. Korrelationskoeffizient: $0,535$. Referenzbereiche: Parathomon-Konzentration grau unterlegt, TRAP 5b-Aktivität dunkelgrau unterlegt.

3.2.2 Parameter des Knochenstoffwechsels im Verlauf

Von den anfänglich 161 Dialysepatienten der Studie, bei denen im Mai 2001 die Untersuchungen der Parameter des Knochenstoffwechsels stattgefunden hatten, wurden 126 Patienten (TRAP-Studiengruppe) bei einem zweiten Termin im November 2001 nachuntersucht. Somit konnten die Veränderungen dieser Stoffwechselfparameter auch nach Ablauf einer sechsmonatigen Dialysetherapie erfasst werden.

3.2.2.1 TRAP 5b-Aktivität

Bei den 126 Patienten der TRAP-Studiengruppe fand sich vom ersten auf den zweiten Untersuchungstermin eine signifikante Abnahme ($p < 0,05$) der TRAP 5b-Aktivität im Serum von $5,78 \pm 3,38$ U/l auf $5,19 \pm 2,89$ U/l (Mittelwert \pm SD) (Abb. 3.7). Bei den männlichen Patienten ($n=66$) war diese Abnahme von $5,54 \pm 3,42$ U/l auf $4,66 \pm 2,07$ U/l statistisch signifikant ($p < 0,05$) und deutlicher ausgeprägt als bei den weiblichen

Patienten (n=60), bei denen die TRAP 5b-Aktivität innerhalb der sechs Monate von $6,06 \pm 3,35$ U/l auf $5,79 \pm 3,53$ U/l nicht signifikant abfiel ($p > 0,05$).

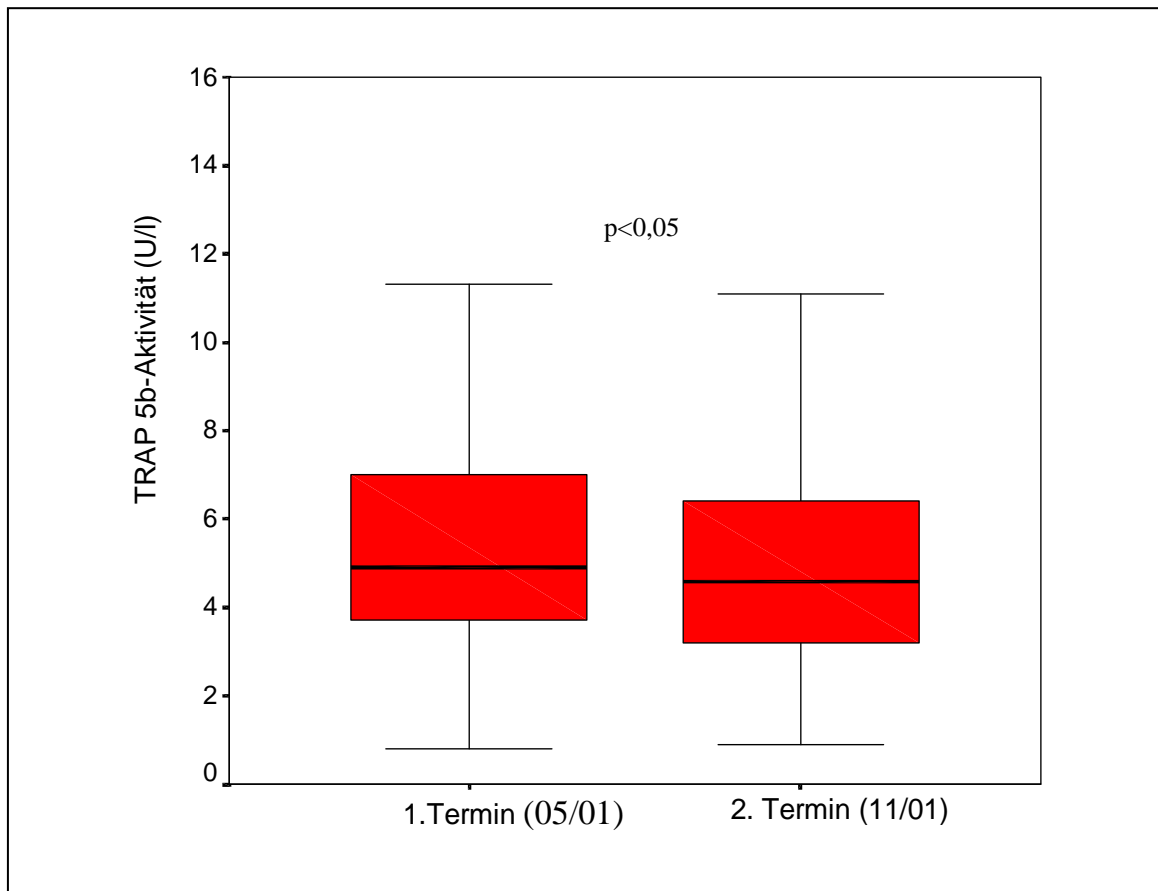


Abb. 3.7: Veränderung der TRAP 5b-Aktivität im Serum von 126 Dialysepatienten der TRAP-Studiengruppe von Mai 2001 (1. Termin) bis November 2001 (2. Termin). Box-Plott-Diagramm: Median (schwarzer Balken) und 1. und 3. Quartile (rot unterlegt). Minimal- und Maximalwerte (Antennen).

3.2.2.2 Calcium-Konzentration

Die Plasmakonzentration des Calciums zeigte vom ersten zum zweiten Untersuchungstermin bei den 126 Patienten der TRAP-Studiengruppe nur einen marginalen, wenngleich statistisch signifikanten Anstieg ($p < 0,05$) von $2,4 \pm 0,2$ mmol/l auf $2,5 \pm 0,02$ mmol/l (Abb. 3.8).

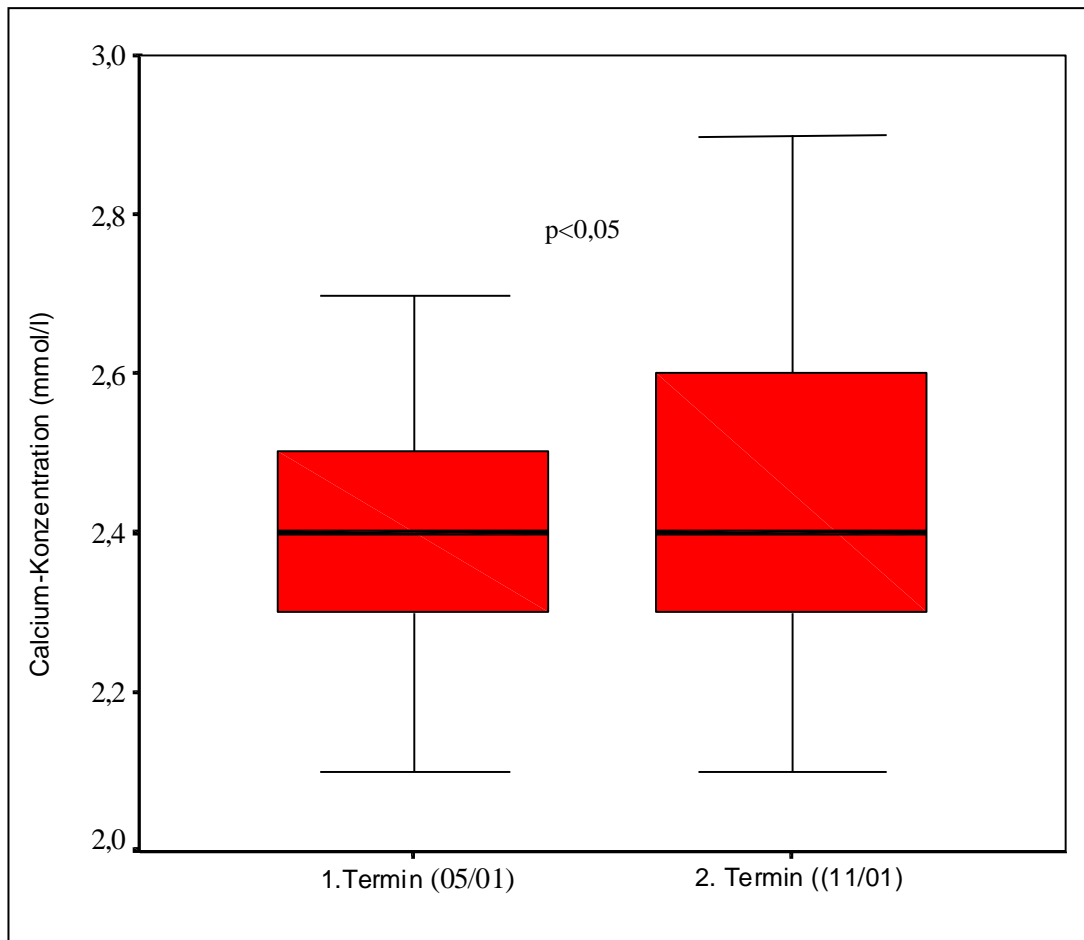


Abb. 3.8: Veränderung der Calcium-Konzentration im Plasma von 126 Dialysepatienten (TRAP-Studiengruppe) von Mai 2001 (1. Termin) bis November 2001 (2. Termin). Box-Plott-Diagramm: Median (schwarzer Balken) und 1. und 3. Quartile (rot unterlegt). Minimal- und Maximalwerte (Antennen).

3.2.2.3 Phosphat-Konzentration

Auch die Plasmakonzentration des Phosphats nahm vom ersten zum zweiten Untersuchungstermin bei den 126 Patienten der TRAP-Studiengruppe nur diskret von $1,7 \pm 0,4$ mmol/l auf $1,6 \pm 0,4$ mmol/l ab. Diese Abnahme ist ebenfalls statistisch signifikant ($p < 0,05$) (Abb. 3.9).

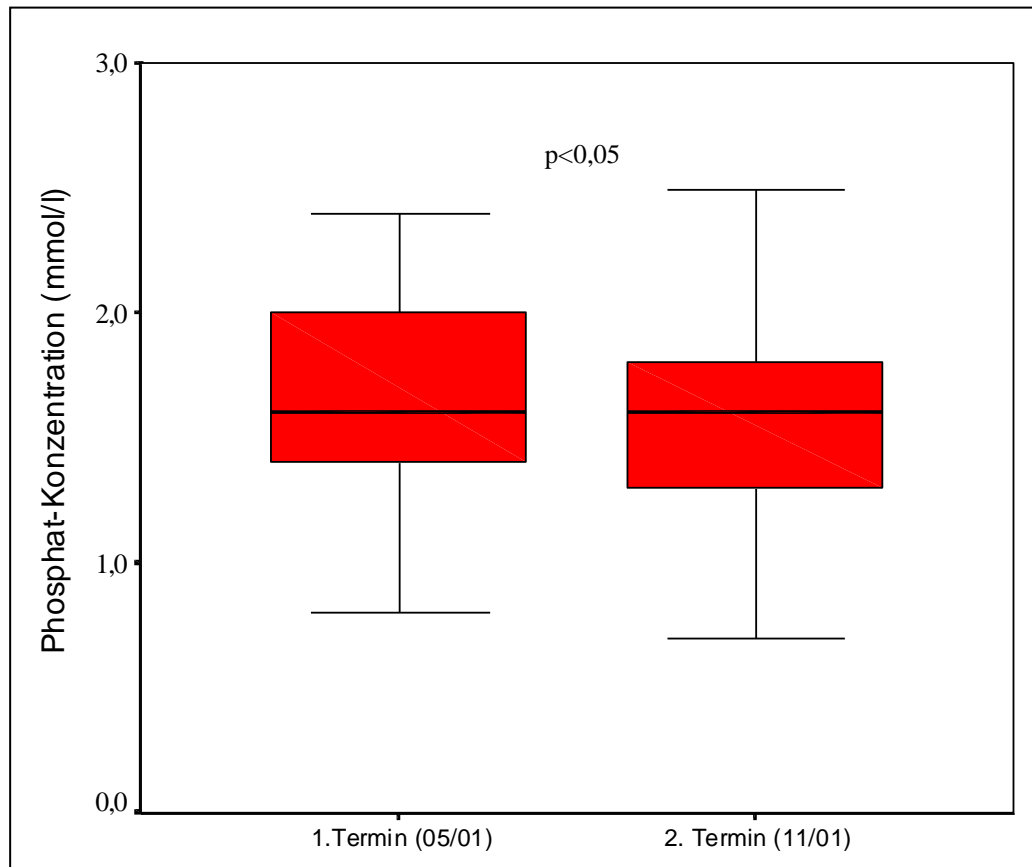


Abb. 3.9: Veränderung der Phosphat-Konzentration im Plasma von 126 Dialysepatienten (TRAP-Studiengruppe) von Mai 2001 (1. Termin) bis November 2001 (2. Termin). Box-Plott-Diagramm: Median (schwarzer Balken) und 1. und 3. Quartile (rot unterlegt). Minimal- und Maximalwerte (Antennen).

3.2.2.4 Alkalische Phosphatase-Aktivität

Die Plasmaaktivität der Alkalischen Phosphatase stieg von der ersten zur zweiten Untersuchung bei den 126 Patienten der TRAP-Studiengruppe statistisch signifikant ($p < 0,05$) von 126 ± 65 U/l auf 138 ± 92 U/l an (Abb. 3.10).

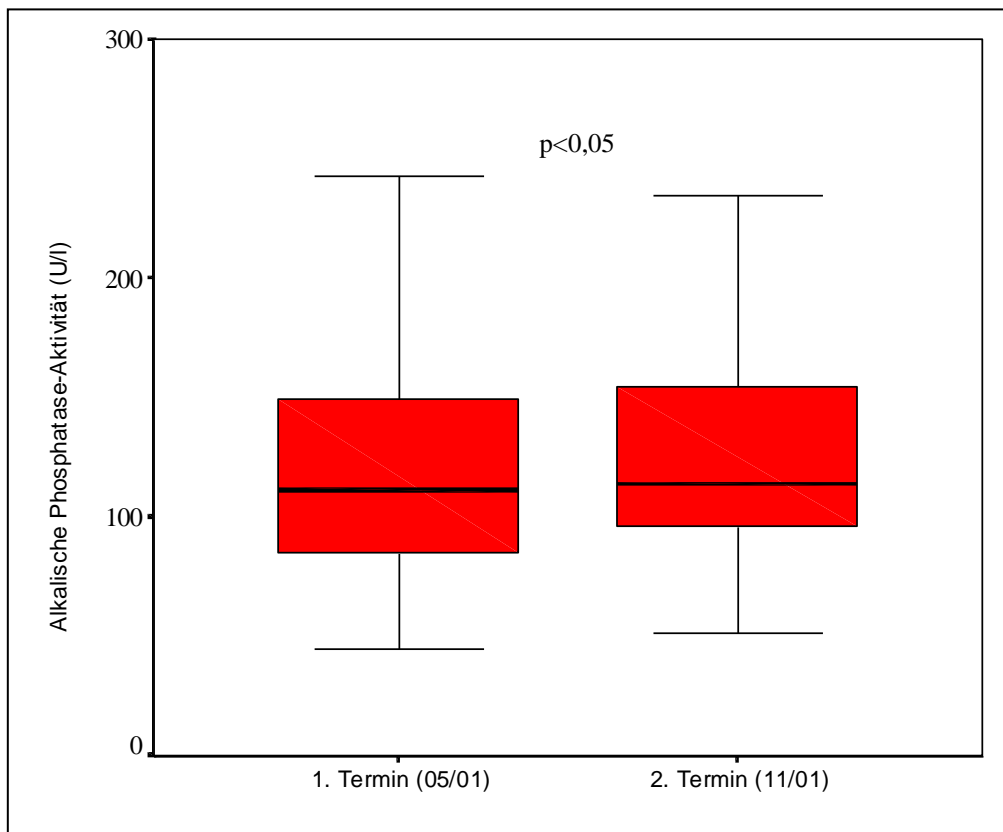


Abb. 3.10: Veränderung der Alkalischen Phosphatase-Aktivität im Plasma von 126 Dialysepatienten (TRAP-Studiengruppe) von Mai 2001 (1. Termin) bis November 2001 (2. Termin). Box-Plott-Diagramm: Median (schwarzer Balken) und 1. und 3. Quartile (rot unterlegt). Minimal- und Maximalwerte (Antennen).

3.2.2.5 Parathormon-Konzentration

Die Serumkonzentration des Parathormons zeigte bei den 126 Patienten der TRAP-Studiengruppe zwar eine auffallend große interindividuelle Streubreite, aber keinen statistisch zu sichernden Unterschied zwischen der ersten (227 ± 271 ng/l) und zweiten (225 ± 324 ng/l) Untersuchung (Abb. 3.11).

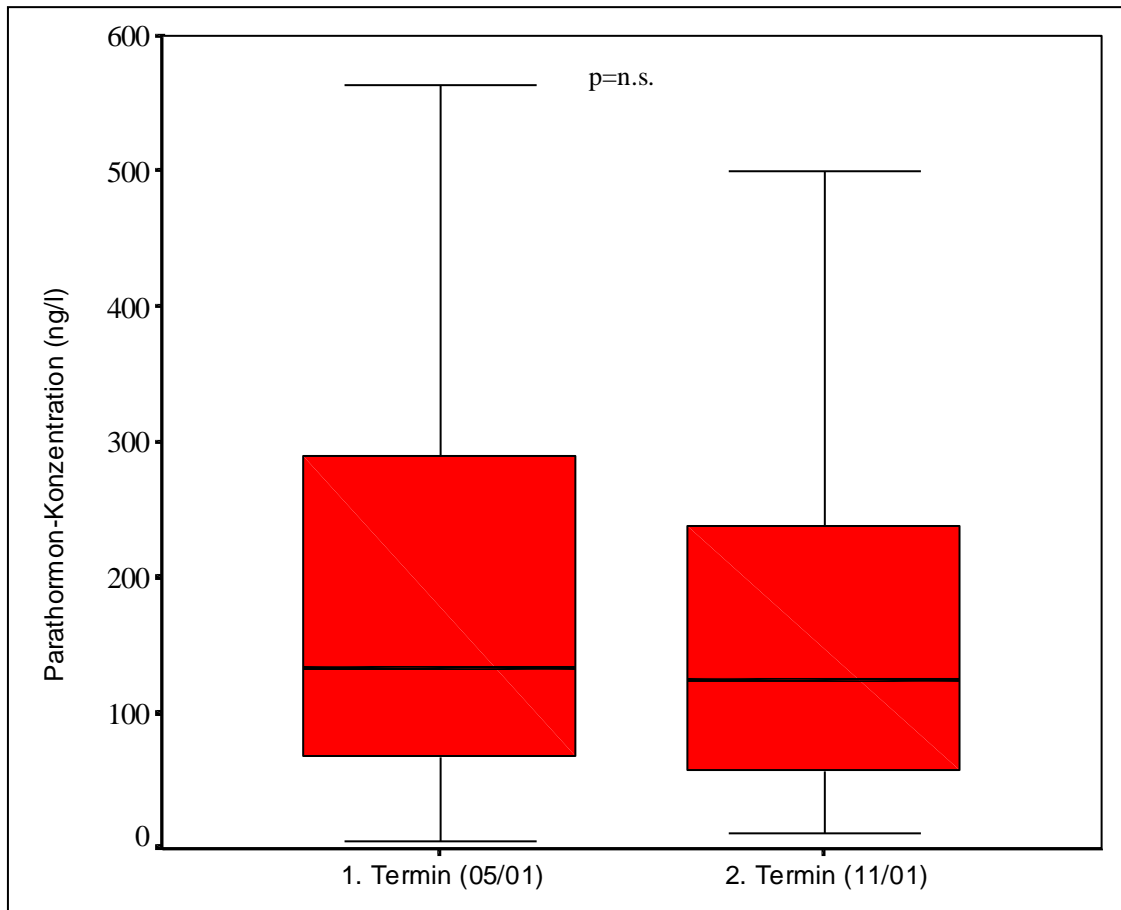


Abb. 3.11: Parathormonkonzentration im Serum von 126 Dialysepatienten (TRAP-Studiengruppe) im Mai 2001 (1. Termin) und im November 2001 (2. Termin). Box-Plott-Diagramm: Median (schwarzer Balken) und 1. und 3. Quartile (rot unterlegt). Minimal- und Maximalwerte (Antennen).

3.2.3 Parameter TRAP 5b zur Differenzierung der Patienten

Anhand der Richtung und dem Ausmaß der Veränderung der TRAP 5b-Aktivität im Serum der 126 Dialysepatienten (TRAP-Studiengruppe) in den sechs Monaten von der ersten bis zur zweiten Untersuchung lassen sich die folgenden vier Patientenkategorien bilden (Tab. 3.4 bis 3.6):

- Kategorie 1 (20 Patienten):

Zunahme der TRAP 5b-Aktivität von >50%

- Kategorie 2 (14 Patienten):

Abnahme der TRAP 5b-Aktivität von >50%

- Kategorie 3 (43 Patienten):

Zunahme der TRAP 5b-Aktivität von <50%

- Kategorie 4 (49 Patienten):

Abnahme der TRAP 5b-Aktivität von <50%

Zwischen den beiden Patientenkategorien 1 und 2 zeigten sich signifikante Unterschiede beim Parathormon (PTH)-Spiegel und der Phosphat-Konzentration bei der Erstuntersuchung. Beide Patientenkategorien unterscheiden sich auch signifikant ($p < 0,05$) in der Tagesdosis des zur Phosphatbindung eingenommenen Aluminiumpräparates. Während die Tagesdosis des $\text{Al}(\text{OH})_3$ in der Patientenkategorie 1 (Anstieg der TRAP5b-Aktivität >50%) im Mittel 0,6 g/d betrug, waren es in der Patientenkategorie 2 (Abfall der TRAP5b-Aktivität >50%) 4,8 g/d.

Keine signifikanten Unterschiede zwischen den Patientenkategorien 1 und 2 fanden sich bei beiden Untersuchungsterminen in der Alkalischen Phosphatase (AP)-Aktivität, der Calcium-Konzentration sowie dem PTH-Spiegel und der Phosphatkonzentration am zweiten Untersuchungstermin (Tabelle 3.4).

		Kategorie 1 TRAP 5b- Zunahme>50%	Kategorie 2 TRAP 5b- Abnahme>50%	p
Patienten	n	20	14	
Alter	Jahre	71±11	61±17	ns
Geschlecht	w/m	9/11	4/10	
Dialyse	Jahre	3,1±2,9	5,1±4,1	ns
TRAP 5b I	U/l	3,52±1,83	8,15±4,35	s
TRAP 5b II	U/l	6,44±3,34	3,31±1,96	s
ΔTRAP 5b	U/l	2,91±1,8	-4,83±2,52	s
AP I	U/l	102±52,8	131,1±59,3	ns
AP II	U/l	118,1±60,3	130,5±58	ns
ΔAP	U/l	16,1±23,1	-1,7±28,6	ns
PTH I	ng/l	117,7±85,8	372,9±350,4	s
PTH II	ng/l	136±125,7	267,8±266,9	ns
ΔPTH	ng/l	20,8±74,4	-105,1±224,6	ns
Calcium I	mmol/l	2,42±0,13	2,44±0,18	ns
Calcium II	mmol/l	2,44±0,15	2,55±0,17	ns
ΔCalcium	mmol/l	0,02±0,16	0,12±0,19	ns
Phosphat I	mmol/l	1,46±0,43	1,79±0,46	s
Phosphat II	mmol/l	1,49±0,48	1,67±0,37	ns
ΔPhosphat	mmol/l	0,02±0,48	0,03±0,21	ns
Aluminium	µg/l	10,21±8,93	10,20±6,27	ns
Al(OH) ₃	g/Tag	0,6±1,0	4,8±3,3	s
Vitamin D	µg/ Woche	0,16±0,54	0,45±1,14	ns

Tabelle 3.4 Veränderungen der Parameter des Knochenstoffwechsels innerhalb von sechs Monaten in der TRAP 5b-Patientengruppe. Vergleich der Patienten von Kategorie 1 (Zunahme der TRAP 5b-Aktivität >50%) und Kategorie 2 (Abnahme der TRAP 5b-Aktivität >50%).

Aktivität/Konzentration des Parameters (Mittelwert ± Standardabweichung) bei der ersten (I) und zweiten (II) Untersuchung. Differenz der Aktivität/Konzentration des Parameters von II-I (Δ). Unterschied des Parameters zwischen Patienten der Kategorie 1 und Kategorie 2 statistisch signifikant (s, p<0,05) oder nicht signifikant (ns, p>0,05).

Im Vergleich zu den Patienten der Kategorie 1 zeigen die Patienten der Kategorie 3 (Zunahme der TRAP 5b-Aktivität von <50%) im Verlauf eine, wenn auch statistisch nicht signifikante (p>0,05) Abnahme des Parathormon (PTH)-Spiegels und der Phosphat-Konzentration.

Bezüglich der eingenommenen Dosis des zur Phosphatbindung eingenommenen Aluminiumpräparates liegt ein signifikanter Unterschied (0,6±1,0 vs. 3,8±3,0 g/d; p<0,05) vor. Der Anstieg der Alkalischen Phosphatase (AP) ist bei den Patienten der Kategorie 3 wesentlich geringer ausgeprägt.

Die Aktivität der AP zwischen den Patientenkategorien 1 und 3 war bei beiden Untersuchungsterminen nicht unterschiedlich. Bezüglich der Calcium-Konzentrationen ergibt sich weder an einem der Untersuchungstermine noch im Verlauf ein signifikanter Unterschied (Tabelle 3.5).

		Kategorie 1 TRAP 5b- Zunahme>50%	Kategorie 3 TRAP 5b- Zunahme<50%	p
Patienten	n	20	43	
Alter	Jahre	71±11	69±12	ns
Geschlecht	w/m	9/11	23/20	
Dialyse	Jahre	3,1±2,9	3,5±3,4	ns
TRAP 5b I	U/l	3,52±1,83	4,92±2,95	s
TRAP 5b II	U/l	6,44±3,34	5,79±3,26	ns
ΔTRAP 5b	U/l	2,91±1,8	-0,88±0,76	s
AP I	U/l	102±52,8	127,9±77,11	ns
AP II	U/l	118,1±60,3	139,2±78,44	ns
ΔAP	U/l	17,4±55,32	1,74±36,56	ns
PTH I	ng/l	117,7±85,8	212,9±311,2	ns
PTH II	ng/l	136±125,7	211,7±430,1	ns
ΔPTH	ng/l	20,8±74,4	-1,2±167,1	ns
Calcium I	mmol/l	2,42±0,13	2,4±0,22	ns
Calcium II	mmol/l	2,44±0,15	2,46±0,17	ns
ΔCalcium	mmol/l	0,02±0,16	0,06±0,25	ns
Phosphat I	mmol/l	1,46±0,43	1,72±0,39	s
Phosphat II	mmol/l	1,49±0,48	1,52±0,43	ns
ΔPhosphat	mmol/l	0,02±0,48	-0,21±0,55	ns
Aluminium	µg/l	10,21±8,93	9,03±6,09	ns
Al(OH) ₃	g/Tag	0,6±1,0	3,8±3,0	s
Vitamin D	µg/ Woche	0,16±0,54	0,30±0,26	ns

Tabelle 3.5 Veränderungen der Parameter des Knochenstoffwechsels innerhalb von sechs Monaten in der TRAP 5b-Patientengruppe. Vergleich der Patienten von Kategorie 1 (Zunahme der TRAP 5b-Aktivität >50%) und Kategorie 3 (Zunahme der TRAP 5b-Aktivität <50%).

Aktivität/Konzentration des Parameters (Mittelwert ± Standardabweichung) bei der ersten (I) und zweiten (II) Untersuchung. Differenz der Aktivität/Konzentration des Parameters von II-I (Δ). Unterschied des Parameters zwischen Patienten der Kategorie 1 und Kategorie 2 statistisch signifikant (s, p<0,05) oder nicht signifikant (ns, p>0,05).

Zwischen den beiden Patientenkategorien 2 und 4 zeigten sich nicht signifikante Unterschiede beim Parathormon (PTH)-Spiegel, welche im Verlauf zum zweiten Untersuchungstermin in beiden Gruppen rückläufig sind, wobei die Abnahme bei den

Patienten der Kategorie 4 deutlich geringer ist ($-105,1 \pm 224,6$ vs. $-23,4 \pm 144,1$ ng/l; $p > 0,05$).

Die Phosphat-Konzentration bei der Erst- und der Kontrolluntersuchung unterscheiden sich nicht signifikant ($p > 0,05$). Die Tagesdosis des zur Phosphatbindung eingenommenen Aluminiumpräparates ist in beiden Kategorien ebenfalls nicht signifikant unterschiedlich ($4,8 \pm 3,3$ vs. $4,1 \pm 3,7$ g/d; $p > 0,05$).

Keine signifikanten Unterschiede zwischen den Patientenkategorien 2 und 4 fanden sich bei beiden Untersuchungsterminen in der AP-Aktivität und der Calcium-Konzentration am zweiten Untersuchungstermin (Tabelle 3.6).

		Kategorie 2 TRAP 5b- Abnahme >50%	Kategorie 4 TRAP 5b- Abnahme <50%	p
Patienten	n	14	49	
Alter	Jahre	61±17	64±12	ns
Geschlecht	w/m	4/10	24/25	
Dialyse	Jahre	5,1±4,1	5,0±4,8	ns
TRAP 5b I	U/l	8,15±4,35	6,64±3,29	s
TRAP 5b II	U/l	3,31±1,96	4,66±2,27	s
ΔTRAP 5b	U/l	-4,83±2,52	-1,98±1,53	s
AP I	U/l	131,1±59,3	133,1±60,2	ns
AP II	U/l	130,5±58	147,3±117,7	ns
ΔAP	U/l	3,2±30,2	3,15±28,2	ns
PTH I	ng/l	372,9±350,4	238,7±243,1	ns
PTH II	ng/l	267,8±266,9	258,8±298,3	ns
ΔPTH	ng/l	-105,1± 224,6	-23,4±144,1	ns
Calcium I	mmol/l	2,44±0,18	2,40±0,21	ns
Calcium II	mmol/l	2,55±0,17	2,43±0,18	ns
ΔCalcium	mmol/l	0,12±0,19	0,003±0,18	ns
Phosphat I	mmol/l	1,79±0,46	1,74±0,43	ns
Phosphat II	mmol/l	1,67±0,37	1,67±0,44	ns
ΔPhosphat	mmol/l	0,03±0,21	-0,08±0,52	ns
Aluminium	µg/l	10,20±6,27	12,95±16,87	ns
Al(OH) ₃	g/Tag	4,8±3,3	4,1±3,7	ns
Vitamin D	µg/ Woche	0,45±1,14	0,15±0,29	ns

Tabelle 3.6 Veränderungen der Parameter des Knochenstoffwechsels innerhalb von sechs Monaten in der TRAP-Patientengruppe. Vergleich der Patienten von Kategorie 2 (Abnahme der TRAP 5b-Aktivität >50%) und Kategorie 4 (Abnahme der TRAP 5b-Aktivität <50%). Aktivität/Konzentration des Parameters (Mittelwert ± Standardabweichung) bei der ersten (I) und zweiten (II) Untersuchung. Differenz der Aktivität/Konzentration des Parameters von II-I (Δ). Unterschied des Parameters zwischen Patienten der Kategorie 1 und Kategorie 2 statistisch signifikant (s, $p < 0,05$) oder nicht signifikant (ns, $p > 0,05$).

3.3 Stabilität der TRAP 5b im Serum

Im Folgenden werden Messungen zur Stabilität der TRAP 5b im Serum vorgestellt. Bei insgesamt 20 Patienten wurde an fünf verschiedenen Tagen (Montag, Mittwoch, Freitag, Montag, Mittwoch) eine Blutprobe zur Messung der Aktivität entnommen. Die Proben wurden bei -20°C eingefroren. Nach Erhalt der jeweils fünf Proben von jedem der 20 Patienten wurde die Messung durchgeführt. Dabei ergaben sich bei allen Patienten sehr konstante Messergebnisse mit einer intraindividuellen Abweichung von weniger als 5 Prozent. Das nachfolgende Diagramm stellt die Ergebnisse dar.

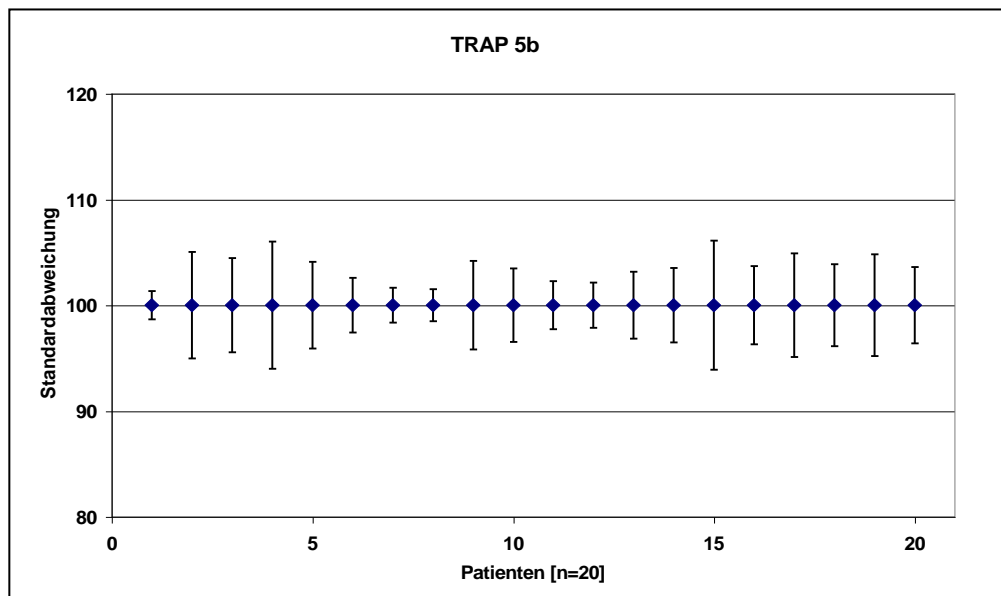


Abb. 3.12 Stabilität der Bone Trap 5b im Serum bei 20 Patienten

4. Diskussion

4.1 Hintergrund

Die chronische Niereninsuffizienz ist in den westlichen Industrieländern eine zahlenmäßig zunehmende Erkrankung, unter anderem bedingt durch die ansteigende Zahl an Diabetikern (*Schwenger et al., 2001*). Die im Rahmen der chronischen Niereninsuffizienz, als renale Osteopathie bezeichneten, auftretenden Skelettveränderungen beginnen bereits in frühen Stadien der Niereninsuffizienz, so dass ihnen eine große Bedeutung zukommt (*Hamdy et al., 1995*).

Zur Diagnostik der renalen Osteopathie stehen mehrere diagnostische Verfahren zur Verfügung. Klinische Manifestationen, anamnestisch eruierbar durch diffuse Knochenschmerzen, Belastungsschmerz, disproportionale Abnahme der Körpergröße als Folge einer vertebrealen Höhenminderung und häufige Spontanfrakturen, v.a. der Wirbelkörper sind erst bei bereits aufgetretenen Folgen der renalen Osteopathie erkennbar. Patienten in Frühstadien der Erkrankung sind mit alleiniger Anwendung klinischer Parameter nicht erfassbar. Die histologische Untersuchung mittels Knochenbiopsie ist als invasive Diagnostik für Patienten belastend und weist potentielle Risiken wie Blutung und Infektion auf. Aus den genannten Gründen ist die Knochenbiopsie zur Diagnostik nur begrenzt einsetzbar und nicht beliebig oft wiederholbar. Die weit weniger invasive Messung der Knochendichte ist bei Dialysepatienten aufgrund von Weichteilverkalkungen mit Fehlern behaftet und bei nur einmaliger Messung diagnostisch nicht verwertbar (*Hutchinson et al., 1993*). Bei diesem Verfahren sind Wiederholungsmessungen notwendig, was jedoch eine erhöhte Strahlenbelastung für den Patienten bedeutet.

Die Röntgenaufnahme des Handskeletts zur Diagnostik subperiostaler Erosionen der Phalangen gilt bis zum jetzigen Zeitpunkt als radiologisch sensitivste Methode in der Diagnostik der renalen Osteopathie (*Rostand und Drüecke, 1999; Hutchinson et al., 1993*). Die Handaufnahme ist zudem für die Verlaufsbeobachtung des Knochens wertvoll, da hiermit die Entwicklung einer Osteopenie frühzeitig diagnostiziert werden kann (*Schulz, 1996*). Sie bietet sich darüber hinaus auch zur Erfassung und Verlaufskontrolle bei Gefäßverkalkungen an (*Rostand und Drüeke, 1999, Braun et al., 1999, Hampl et al., 1999*).

Allen genannten Untersuchungsverfahren ist gemeinsam, dass sie nicht zur Erkennung von frühen Stadien der renalen Osteopathie geeignet sind. Die Lücke in diesem diag-

nostischen Dilemma schließen Laboruntersuchungen, die bei Beachtung von Einflüssen und richtiger Interpretation der Messwerte bereits vor Auftreten morphologischer Veränderungen Pathologien des Knochenstoffwechsels anzeigen können. Bereits in einigen Studien konnte die TRAP 5b als biochemischer Marker des Knochenstoffwechsels bei ossärer Metastasierung (*Lein et al., 2002; Capeller et al., 2002*), bei Osteoporose (*Halleen et al., 2000; Alatalo et al., 2002; Hannon et al., 2002*) und bei dialysepflichtigen Patienten gezeigt werden (*Nakanishi et al., 1999; Janckila et al., 2001, Cavalier 2006, Shidara 2008, Hamano 2009, Osorio 2011*). Besonders die Ergebnisse der Studien von Nakanishi und Janckila gaben Anlass für die vorliegende Studie zur Untersuchung der TRAP 5b als Verlaufsparemeter bei Dialysepatienten.

4.2 Patienten

Im Studienzeitraum von Mai bis November 2001 konnten insgesamt 161 Patienten in die Studie eingeschlossen werden. Von diesen 161 Patienten sind insgesamt 35 Patienten (22%) aus der Studie ausgeschieden. Die häufigsten Ausscheidungsgründe waren „Tod“ und „Wechsel an ein anderes Dialysezentrum“ mit 11 bzw. 10 Patienten. Der hohe Ausschluss durch Tod (7%) ist einerseits durch das zum Teil hohe Alter der verstorbenen Patienten, andererseits aber auch durch die die Niereninsuffizienz begleitende Komorbidität zu erklären, welche sich im Rahmen einer renalen Osteopathie als frühzeitige Verkalkung von Herzklappen, Koronargefäßen und der Media von Arterien manifestiert (*Braun et al., 1996; Block et al, 1998; Hampl et al., 2001*). Die genannten Veränderungen führen größtenteils durch kardiovaskuläre Komplikationen zu einer höheren Mortalität bei Dialysepatienten (*Rostand und Drüeke, 1999*).

Das durch „Wechsel an ein anderes Dialysezentrum“ bedingte Ausscheiden ist im Studienkollektiv häufig. Das Alter der Patienten weist Differenzen zwischen 20 und 77 Jahren auf. Dabei ist zu berücksichtigen, dass die Gründe für den Wechsel des Dialysezentrums mit z.B. Veränderungen im beruflichen Umfeld, Versorgung des Patienten durch Angehörige an einem anderen Ort etc. recht unterschiedlich sind.

Dritthäufigster Grund für das Ausscheiden aus der Studie war ein stationärer Aufenthalt zur Zeit des zweiten Untersuchungstermins, so dass die Dialyse im Studienzentrum nicht durchgeführt werden konnte. Bei der Ansicht der Gründe für den stationären Aufenthalt finden sich, wie bereits oben dargelegt, Folgen kardiovaskulärer Ereignisse, wie Apoplex, Amputationen bei pAVK, Shuntverschlüsse etc.

An vierter Stelle der Gründe für das Ausscheiden aus der Studie steht bei insgesamt 5 Patienten eine Nierentransplantation im Studienzeitraum. Diese Patienten wurden gemäß dem Studienprotokoll aus der Studie ausgeschlossen.

Bei einer Patientin ließ sich trotz intensivster Nachforschung der Grund für das Ausscheiden aus der Studie nicht ermitteln, eine andere Patientin war zum Zeitpunkt des zweiten Untersuchungstermins im Urlaub und hat dort an einer „Feriendialyse“ teilgenommen, so dass auch diese Patientin gemäß dem Studienprotokoll ausgeschlossen werden musste.

Insgesamt stellt ein Ausscheiden von 35 Patienten (22 %) bei einem Kollektiv von 161 Patienten eine zufriedenstellende Quote dar.

4.3 Betrachtung der Messergebnisse

Bei der Betrachtung der ermittelten Messwerte zeigen sich fünf Aspekte, die im Folgenden näher betrachtet werden sollen:

1. Bei unseren Patienten finden sich erhöhte Konzentrationen der TRAP 5b im Serum, welche eine gute Korrelation zu den anderen Parametern des Knochenstoffwechsels zeigen.

Bereits in anderen Studien, von Scanecchia et al. und Gavilanes et al., liegen Untersuchungen der Serumkonzentration der Bone Trap bei verschiedenen Erkrankungen vor (*Scanecchia et al., 1991; Gavilanes et al., 1994*). In der Untersuchung von Scanecchia et al. wurden Patienten mit verschiedenen Krankheitsbildern, wie primärem Hyperparathyreoidismus (pHPT), Dialyse-Patienten, Patienten mit Knochenmetastasen bei verschiedenen Tumoren (Mamma, Lunge, Magen, Mundboden, Ovar), Patienten mit einem Hypoparathyreoidismus, M. Paget und Osteomalazie untersucht. Bei dieser Untersuchung wurden verschiedene Parameter des Knochenstoffwechsels, unter anderem die TRAP 5b und das intakte PTH, untersucht. Wie auch in der vorliegenden Untersuchung mit einer Korrelation von 0,535 (initial) zeigte sich bei den Patienten mit einem pHPT eine gute signifikante Korrelation von 0,58 zwischen den beiden Parametern. Ähnlich gute Ergebnisse mit einem Wert von 0,75 ($p < 0,05$) bezüglich der Korrelation zwischen der TRAP 5b und dem intakten PTH zeigte die Untersuchung von Gavilanes et al., bei der insgesamt 39 Patienten mit verschiedenen Graden einer Niereninsuffizienz, 10 Patienten ohne Dialyse, 10 Patienten mit HD weniger als ein Jahr, 10 Patienten mit HD mehr als ein Jahr und 9 Patienten mit

einer Lebererkrankung und HD über mehr als ein Jahr untersucht wurden (*Gavilanes et al., 1994*). Es zeigte sich bei der Untersuchung kein signifikanter Unterschied zwischen den biochemischen Parametern bei den Patienten mit und ohne Leberinsuffizienz. In einer weiteren Studie von Coen et al. (*Coen et al., 1998*) finden sich für die Korrelation zwischen intaktem PTH und der TRAP 5b mit 0,401 ähnlich gute Werte wie in unserer Untersuchung. Bei den genannten Studien muss jedoch bedacht werden, dass zur Zeit der Durchführung nur ein Test zur Bestimmung der Gesamt-TRAP, mit ihren Unterformen 5 a und b, zur Verfügung stand. Seit dem Jahr 2000 (*Halleen et al., 2000*) steht mit dem von uns verwendeten Test eine Methode zur Verfügung, die spezifisch die TRAP 5b erfasst. Untersuchungen aus dem Jahr 2004 von Nowak et al. und Reichl et al. zeigen noch höhere Korrelation zwischen der TRAP 5b und dem intakten PTH. In der Untersuchung von Nowak et al. an 84 Patienten, 61 Patienten mit HD und 23 Patienten mit CAPD, bzw. von Reichel et al. an 90 Dialyse-Patienten zeigte sich eine hoch signifikante Korrelation um 0,65 (*Nowak et al, 2004; Reichel et al, 2004*).

Aus dem Jahr 2008 liegen zwei weitere Untersuchungen zur Korrelation zwischen TRAP 5b und iPTH vor. In der Studie von Malyszko et al. wurden Dialysepatienten, Patienten mit CAPD und Z.n. Nierentransplantation (NTX) sowie Gesunde untersucht. Bei den HD-Patienten (Alter 51 ± 16 Jahre) zeigte sich eine Korrelation zwischen TRAP 5b und iPTH von 0,40 ($p=0,008$) (*Malyszko 2008*). Ein ähnliches Ergebnis ergab sich in den Studien von Cavalier und Shidara bei HD-Patienten (Alter $65 \pm 16 / 67 \pm 9$ Jahre) Die Korrelationen lagen in diesen Studien bei 0,523 bzw. 0,467 ($p < 0,01$) (*Cavalier 2008; Shidara 2008*).

Bei der Betrachtung der Ergebnisse für die Korrelation zwischen der AP und der TRAP 5b finden sich in den Studien von Scanecchia et al. und Gavilanes et al. (*Scanecchia et al., 1991; Gavilanes et al., 1994*) signifikante Werte von 0,7 bzw. 0,77 für die Korrelation zwischen der AP und der TRAP 5b, die deutlich höher waren als die Werte in unserer Untersuchung mit 0,416 ($p < 0,05$).

Die oben genannten Studien von Malyszko, Cavalier und Shidara untersuchten ebenfalls die Korrelationen zwischen TRAP 5b und der alkalischen Phosphatase. Hierbei fanden sich unterschiedliche Ergebnisse: 0,29 ($p=0,054$; Malyszko), 0,515 ($p < 0,01$; Cavalier) und 0,721 ($p < 0,0001$; Shidara).

Ursachen für die z.T. deutlich unterschiedlichen Korrelationen der Parameter zwischen unserer Studie und den genannten Studien können in verschiedenen Ursachen begrün-

det sein. Bei den genannten Untersuchungen ist nicht bekannt welche Art von renaler Osteopathie (low turnover/adynamisch, high turnover, Tabelle Einleitung) vorliegt. Zusätzlich können Begleiterkrankungen, wie z.B. hepatische Insuffizienz mit Kumulation der AP, das Alter der Patienten bzw. die Dauer der HD eine Rolle spielen. Bezüglich der Studie von Nowak et al. ist z.B. anzumerken, dass ca. 40% der untersuchten Patienten eine CAPD durchführten. Bei der CAPD findet sich häufiger ein verminderter Knochenumsatz ohne Vorliegen einer Aluminiumintoxikation im Sinne einer adynamen Osteopathie (Schulz et Delling, 1982; Goodman et al., 1994; Couttenye et al., 1996). Die Ursache dafür ist in darin zu sehen, dass bei der CAPD kontinuierlich höhere Calciumspiegel vorliegen, die das PTH soweit supprimieren, dass ein normaler Knochenumsatz nicht mehr aufrechterhalten werden kann. Auch könnten die niedrigeren Spiegel der Vitamin-D-Metabolite bei Peritoneal- im Vergleich zu Hämodialyse von Bedeutung sein, die zum Teil durch einen Verlust von Vitamin D und seinem Bindungsprotein in das Peritonealdialysat bedingt sind. Andere Faktoren wie höheres Alter, eine vermehrte orale Einnahme von Kalziumkarbonat, hohe Magnesiumspiegel sowie eine höhere Diabetes-Inzidenz könnten weiterhin eine Rolle spielen (Jehle et al., 1998, Navarro et al., 1999, Holgado et al., 2000).

In zwei Studien wurden Korrelationen zwischen der TRAP 5b und histologischen Befunden erhoben. Die Studie von Lehmann et al. untersuchte 132 Patienten (Alter 45 ± 14 Jahre, HD-Dauer 45 ± 44 Monate), 36 Patienten im Stadium 3/4 einer chronischen Niereninsuffizienz (CNI) und 96 Patienten im Stadium 5 einer CNI (Lehmann 2005). Dabei zeigte sich, dass eine „high turnover Osteopathie“ die häufigste Form der renalen Osteopathie war (Stadium 3/4: 47%; 5: 61%; alle 57,5%).

Für die TRAP 5b fanden sich bei den Patienten im Stadium 5 der CNI höhere Werte der Aktivität (low turnover: Stadium 3/4: 1,3 U/l Stadium 5: 1,5 U/l; high turnover: Stadium 3/4: 1,5 U/l, Stadium 5: 2,3 U/l) und höhere Korrelationen zum ossären Mineralisierungsgrad. Außerdem war der positiv prädiktive Wert der TRAP 5b für eine renale Osteopathie im Stadium 5 deutlich höher als im Stadium 3/4 (1,0 vs. 0,73) bei ähnlicher Sensitivität (0,52 vs. 0,44). Die Sensitivität der TRAP 5b war in dieser Studie niedriger als die von PTH und AP (ca. 0,7 im Stadium 5 vs. 0,52), jedoch war der positiv prädiktive Wert höher (1,0 vs. 0,9).

Somit zeigt die TRAP 5b eine höhere Diskriminierungsrate bei Patienten im Stadium 5 der CNI im Vergleich zum Stadium 3/4.

In der Studie von Chu wurden 14 Patienten (Alter 41 ± 12 Jahre / HD-Dauer $31 \pm 16,6$ Monate) und 6 „gesunde Kontrollpersonen“ mittels einer Knochenbiopsie und Biomarkern untersucht (Chu 2003). Die mittlere Aktivität der TRAP 5b lag bei den „gesunden Kontrollpersonen“ bei $3,25 \pm 0,59$ U/l ($n=6$), bei den Patienten mit einem sHPT bei $11,97 \pm 8,92$ U/l ($n=6$) und den übrigen Formen der renalen Osteopathie bei $2,17 \pm 0,61$ U/l ($n=8$).

Die Aktivität der TRAP 5b korrelierte stark mit den histologischen Parametern der Osteoklastenaktivität (Osteoklastenoberfläche / Knochenoberfläche und Anzahl der Osteoklasten / 100-mm Knochendurchmesser) mit einem Wert um 0,9 ($p < 0,01$). Die entsprechenden Korrelationen für das iPTH lagen bei 0,76 bzw. 0,81 für die Osteoklastenoberfläche / Knochenoberfläche bzw. Aktivität der Osteoklasten / 100-mm Knochendurchmesser.

Die Werte für iPTH und TRAP 5b korrelierten ähnlich gut für die histologischen Parameter der knöchernen Erosionen (Erosionstiefe: 0,78 vs. 0,67; Erosionsoberfläche / Knochenoberfläche: 0,59 vs. 0,5).

Zwischen dem iPTH und der TRAP 5b ergab sich in der vorliegenden Studie eine Korrelation von 0,72 ($p < 0,01$). Die Ergebnisse zeigen nach Aussage der Autoren, dass die Spiegel des iPTH und die Knochenbildungsrate (BFR) aufgrund einer Resistenz des Knochens gegen iPTH nicht immer streng korrelieren (Sherrard 1993, Sherrard 1974, Salusky 1994, Pei 1992, Cohen-Solal 1991, Urena 1994, Urena 1996). Bemerkenswert in dieser Studie ist ebenfalls, dass die Aktivität der TRAP 5b bei Patienten mit den „übrigen Formen der renalen Osteopathie“ niedriger war als bei Gesunden.

Diese Ausführungen zeigen, dass die Pathogenese der renalen Osteopathie multifaktoriell ist und dass verschiedene Faktoren berücksichtigt werden müssen, was auch bei der Vergleichbarkeit von Studien untereinander beachtet werden muss. Bemerkenswert ist weiterhin, dass in den Studien von Scanecchia et al., Gavilanes et al., Coen et al., Nowak et al. und Reichel et al. mit 30-90 Patienten die Fallzahlen jeweils deutlich niedriger als in unserer Studie mit 161 Patienten initial und 129 Patienten mit zweimaliger Untersuchung waren.

2. Die vorliegende Studie hat ein Follow-up bei Dialysepatienten bezüglich der Parameter des Knochenstoffwechsels durchgeführt.

In der vorliegenden Studie wurde erstmals eine Follow-up-Untersuchung bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz über einen Zeitraum von 6 Monaten durchgeführt.

Bisher liegen nur Studien vor, die jeweils zu einem Zeitpunkt eine Bestimmung der TRAP 5b vorgenommen haben (*Gavilanes et al., 1994; Nakanishi et al., 1999; Janckila et al., 2001, Malyszko 2006, Cavalier 2006, Shidara 2008, Qin 2008, Yamada 2008, Lehmann 2006, Lu 2011*).

Studien mit einer Verlaufskontrolle der TRAP 5b bei Patientinnen mit einer Osteoporose liegen von Halleen et al. und von Rosenbrock et al. aus den Jahren 2000 und 2002 vor (*Halleen et al., 2000; Rosenbrock et al., 2002*). Dabei wurde von Halleen et al. die TRAcP unter einer Hormonersatztherapie (täglich 2 mg Estradiol und 1 mg Noretisterone, Kliogest, Novo Nordisk, Davis, CA, USA) bei 20 postmenopausalen Frauen untersucht. In dieser Untersuchung konnte gezeigt werden, dass es unter der Hormonersatztherapie zu einer signifikanten Abnahme ($p < 0,001$) der TRAP 5b von ca 50% innerhalb von 6 Monaten kam, während in der Placebogruppe der Wert für die TRAP 5b nahezu konstant (+1,8%, $p > 0,05$) blieb. In der Studie von Rosenbrock et al. zeigte sich bei prä-, peri- und postmenopausalen Frauen ohne therapeutische Interventionen ein Anstieg der TRAP 5b über einen Zeitraum von zwei Jahren, der bei den postmenopausalen Frauen am ausgeprägtesten war (*Rosenbrock et al., 2002*). Die Tatsache, dass in unserer Studie ca. 80% der untersuchten Frauen postmenopausal sind könnte für die geringer ausgeprägte Abnahme der TRAP 5b mitverantwortlich sein.

Aus dem Jahr 2002 liegt von Sasaki et al. eine Studie vor, in der 13 Patienten im Alter von $44,1 \pm 5,9$ Jahren unter einer erstmaligen Glukokortikoidtherapie bei einer chronischen Glomerulonephritis untersucht wurden. Bei dieser Studie wurde unter anderem die TRAP 5b über einen Verlauf von 6 Monaten bestimmt, wobei sich für die TRAP 5b als Marker der Knochenresorption ein signifikanter Anstieg ($p < 0,001$) von $3,8 \pm 0,6$ U/l auf $8,4 \pm 0,9$ U/l zeigte (*Sasaki et al., 2002*). Die Nierenfunktion der Patienten war normal, das Serumkreatinin war $< 1,2$ mg/dl, so dass die gesehenen Effekte auf die Wirkung des Kortisons zurückzuführen sind und nicht (u.a.) im Rahmen einer renalen Osteopathie auftraten.

Eine aktuelle Studie von Lu untersuchte die Korrelation zwischen der TRAP 5b und der Knochendichte (BMD) nach Parathyreoidektomie im Verlauf eines Jahres (*Lu 1011*). In der Studie wurde zu Beginn und nach 12 Monaten nach Parathyreoidektomie mit Au-

totransplantation eine Knochendichtemessung bei 26 Patienten (Alter 49 ± 11 Jahre; HD-Dauer 69 ± 21 Monate) sowie eine Bestimmung der Aktivität der TRAP 5b am Tag der PTX, 1 und 3 Tage / 1, 2, 3 Wochen / 1, 3, 6, 9, 12 Monate nach PTX durchgeführt. Es zeigte sich eine Abnahme der Aktivität der TRAP 5b von $9,01 \pm 5,13$ U/l auf $2,71 \pm 0,5$ U/l nach 12 Monaten, ein Anstieg der Knochendichte nach 12 Monaten ($p < 0,01$) sowie eine negative Korrelation um $-0,4$ zwischen der Knochendichte der Lendenwirbelsäule und der TRAP 5b.

Bei der Betrachtung unserer Ergebnisse zeigen sich zwei Untergruppen (20/14 Patienten), bei denen es im Verlauf von 6 Monaten zu einer signifikanten ($p < 0,05$) Zu-/Abnahme der Konzentration der TRAP 5b um mindestens 50% kommt.

Innerhalb der ersten Gruppe (Zunahme der Aktivität der TRAP $> 50\%$) zeigt sich ein leichter Anstieg der AP um 20%/des PTH um 15%, bei einem Anstieg der Calciumkonzentration um ca. 5% im Verlauf. Die Patienten dieser Gruppe haben deutlich weniger aluminiumhaltigen Phosphatbinder ($0,6 \pm 1,0$ g/Tag vs. $3,8 \pm 3,0$ g/Tag) eingenommen als die Patienten mit einer Zunahme der TRAP 5b $< 50\%$ im Verlauf. Diese Laborkonstellationen sprechen für eine Progredienz einer vorbestehenden Osteopathie im Sinne einer „high turnover-Osteopathie“.

Die Patienten der zweiten Gruppe (Abnahme der Aktivität der TRAP 5b $> 50\%$) zeigen einen deutlichen Abfall des PTH-Spiegels um 100 ng/l entsprechend einem prozentualen Abfall von ca. 25% innerhalb von 6 Monaten. Diese Patienten haben innerhalb des Studienkollektives die höchste Einnahme von aluminiumhaltigem Phosphatbinder pro Tag. Der Ausgangsserumspiegel der Aluminiumkonzentration ist nahezu identisch zu den anderen drei Gruppen mit einem Wert um 10 $\mu\text{g/l}$. Eine Verlaufskontrolle innerhalb des Studienzeitraumes ist nicht durchgeführt worden, sodass keine Aussage zur Einnahme der Menge an aluminiumhaltigem Phosphatbinder und der Serumkonzentration an Aluminium getroffen werden kann. Die Abnahme der Aktivität der TRAP 5b, die nur leicht erhöhten Phosphatkonzentrationen und die hochnormalen Calciumkonzentrationen lassen die Vermutung zu, dass sich bei diesen Patienten eine „low turnover-Osteopathie“ im Studienverlauf entwickelte. Die nach 6 Monaten ermittelten Aktivitäten der TRAP 5b liegen in der Größenordnung eines Kollektives von Coen et al. bei Patienten mit einer „low turnover“-Osteopathie (Coen et al., 1998). Zusätzlich weisen die Patienten in dieser Gruppe im Vergleich zu den anderen Gruppen die im Mittel längste Dialysedauer ($5,1 \pm 4,1$ Jahre), einem bekannten Risikofaktor für eine „low turnover“-Osteopathie (Duarte et Teitelbaum, 1998), auf.

Die dritte Gruppe (Zunahme der Aktivität der TRAP 5b $<50\%$) unterscheidet sich signifikant von denen der Gruppe 1 lediglich bzgl. der täglichen Aufnahme von aluminiumhaltigem Phosphatbinder. Die signifikant höhere tägliche Dosis an aluminiumhaltigem Phosphatbinder und die für eine low turnover-Osteopathie typische Erhöhung des PTH-Spiegels gibt Hinweise für eine Progredienz einer vorbestehenden Osteopathie jedoch eher im Sinne einer „mixed osteodystrophy“.

Die Patienten der Gruppe 4 (Abnahme der Aktivität der TRAP 5b $<50\%$) unterscheiden sich nicht signifikant von denen der Gruppe 2. Als Interpretation dieser Befunde muss die Entwicklung einer „low turnover-Osteopathie“ unterschiedlichen Ausmaßes in Erwägung gezogen werden.

Die Analyse der Studienergebnisse (Gruppe 1-4) zeigt, dass der Verlauf der Aktivität der TRAP 5b in einem nicht unerheblichen Ausmaß von der täglichen Einnahme aluminiumhaltigem Phosphatbinders abhängig zu sein scheint. Anhand des Verlaufes der Serumkonzentrationen des Phosphates ist ein Nutzen dieser Therapie erkennbar. Auch bei bester Compliance des Patienten ist die Einhaltung einer Diät nur eingeschränkt möglich, sodass orale Phosphatbinder vor bzw. zu den Mahlzeiten verabreicht werden müssen, wobei bis in die 80er Jahre nur aluminiumhaltige Salze zur Verfügung standen (*Schulz et al., 1983*). Problematisch bei der Anwendung dieser Substanzen ist jedoch, dass überschüssiges Aluminium, welches kein Phosphat bindet, im Gewebe abgelagert wird. In der Folge können, abhängig von der Organmanifestation, unterschiedliche Symptome auftreten (*O'Hara JA et Murnagham, 1982; Disler P et al., 1981*). Eine klare Korrelation zwischen klinischen Symptomen und der Aluminium-Plasmakonzentration besteht nicht (*Kosch M, 2000*). Um die potentiell osteopathischen Nebenwirkungen zu vermeiden wurden in den letzten Jahren zunehmend alternative, aluminiumfreie Phosphatbinder entwickelt (*Schulz et Deuber, 1988*), wobei kalzium- bzw. magnesiumhaltige Salze der Zitronensäure, Glukonsäure, Essigsäure oder ein kationisches Sevelamerhydrochlorid (*Burke et al., 1997; Chertow et al., 1997; Goldberg et al., 1998; Slatopolsky et al., 1999*) zum Einsatz kommen. Deren Einsatz ermöglicht in vielen Fällen die gänzliche Vermeidung aluminiumhaltiger Phosphatbinder (*Deuber, 1995; Deuber et Schulz, 1990*). Der freie, nicht zur Phosphatbindung verwendete Kalziumanteil kann zusätzlich genutzt werden, um die Hypokalziämie auszugleichen (*Deuber, 1995; Deuber et Schulz, 1990*).

Im Rahmen der Studie wurde die Begleitmedikation nicht erfasst, sodass in der Zukunft zur weiteren Evaluation des Einflusses der Medikation auf den Knochenstoffwechsel

bei Dialysepatienten die Durchführung einer gezielten Interventionsstudie wünschenswert wäre.

3. Nach 6 Monaten sind die Korrelationen zwischen den Parametern niedriger als zu Beginn der Studie.

Bei der Betrachtung der Ergebnisse aller 126 Patienten mit kompletten Datensätzen fällt auf, dass die Korrelationen der Messwerte zwischen der TRAP 5b und dem intakten PTH (0,516, $p < 0,01$ vs. 0,261, $p < 0,01$) bzw. der AP (0,416, $p < 0,01$ vs. 0,256, $p < 0,01$) bei der zweiten Messung nach 6 Monaten niedriger sind. Während die AP einen signifikanten ($p < 0,05$) Anstieg von $126,55 \pm 65,14$ U/l auf $138,01 \pm 91,98$ U/l zeigt und die TRAP 5b signifikant ($p < 0,05$) von $5,78 \pm 3,38$ U/l auf $5,19 \pm 2,89$ U/l fiel zeigte das Parathormon hingegen eine statistisch nicht signifikante Abnahme ($p > 0,05$) von $227,34 \pm 270,66$ ng/l auf $224,92 \pm 323,94$ ng/l. Der Wert für das Parathormon bleibt praktisch konstant. Vergleichende Studien zu den von uns erhobenen Werten liegen, wie bereits gesagt, nicht vor. In den Studien von Hallen et al. aus dem Jahr 2000 (Hallen et al., 2000) und von Rosenbrock et al. (Rosenbrock et al., 2002) wurden im Vergleich zu unserer Studie andere Parameter des Knochenstoffwechsels bestimmt (Pyridinoline, Cross Links), sodass die Ergebnisse, speziell bezüglich der Korrelationen nach erfolgter Therapie/nach 6 Monaten bzw. 2 Jahren, nicht mit unseren Daten vergleichbar sind. In den genannten Studien werden außerdem keine Zahlen für die Korrelationen der bestimmten Parameter untereinander genannt, wobei es interessant wäre zu sehen, wie hoch die Korrelationen in diesen Studien nach erfolgter Therapie/nach 6 Monaten bzw. 2 Jahren liegen.

Bei der Betrachtung der Messwerte, speziell in den Untergruppen mit einer Ab-/Zunahme der fällt auf, dass die Konzentrationen der Parameter AP und PTH eine geringe bis mäßige Abnahme zeigen, während die Serumkonzentration der TRAP 5b im Vergleich dazu eine deutliche Reduktion/Anstieg zeigt. Die Ursache dafür könnte darin begründet sein, dass die Serumkonzentration der TRAP 5b früher oder empfindlicher auf die durchgeführte Therapie anspricht.

4. Die TRAP 5b im Serum zeigt bei wiederholten Messungen eine hohe intraindividuelle Stabilität mit einer maximalen Abweichung von 5 %.

Im Rahmen der Studie wurden bei 20 Patienten innerhalb von einer Woche fünf Serumproben zur Bestimmung der TRAP 5b entnommen und bis zum Erhalt aller

Proben bei -20°C eingefroren. Bei allen Patienten zeigten sich sehr konstante Messergebnisse mit einer intraindividuellen Abweichung von weniger als 5 Prozent. Durch die fünfmalige Bestimmung der TRAP 5b innerhalb von 7 Tagen konnte anhand der sehr konstanten Messwerte gezeigt werden, dass die Serumkonzentration der TRAP 5b innerhalb kurzer Zeit, in unserer Studie eine Woche, nicht durch die Länge des Dialyseintervalls beeinflusst wird.

Dass die TRAP 5b im Serum im eingefrorenen Zustand stabil ist konnte bereits in anderen Studien gezeigt werden. In einer Studie von Lau et al. (Lau et al., 1987) wurde die Aktivität der TRAP 5b im Serum verglichen, nachdem die Proben für 105 Tage bei -20 bzw. -70°C eingefroren worden waren. Es erfolgten innerhalb des Intervalls von 105 Tagen insgesamt 8 Bestimmungen der Aktivität der TRAP 5b. Die Studie zeigte, dass nach 105 Tagen die Aktivität der TRAP 5b der bei -20°C eingefrorenen Proben im Vergleich zu den bei -70°C eingefrorenen Proben deutlich vermindert war. In den bei -70°C eingefrorenen Proben zeigte sich eine geringe, jedoch nicht signifikante Abnahme der Aktivität der TRAP 5b um ca. 10% des Ausgangswerts. Jedoch unterschieden sich die Aktivitäten nach einer Woche nicht merklich. In einer Studie von Halleen et al. (Halleen et al., 2000) wurden ebenfalls Vergleiche der Aktivität der TRAP 5b nach 6 Monaten durchgeführt, wobei die Proben über diesen Zeitraum bei -20 bzw. -80°C eingefroren worden waren. In den bei -20°C eingefrorenen Proben war die Aktivität der TRAcP 5b im Vergleich zu den bei -80°C eingefrorenen Proben auf 63% reduziert, wobei die Aktivität der TRAP 5b in den bei -80°C eingefrorenen Proben identisch mit dem Ausgangswert war.

In einer Studie von Hannon et al. wurde die Stabilität der Aktivität der TRAP 5b im Serum im Tagesverlauf bei 12 postmenopausalen gesunden Frauen untersucht. Dabei konnte gezeigt werden, dass die Amplitude der Aktivität im Vergleich zu β C-terminal cross Links mit $14\pm 4\%$ vs. $137\pm 14\%$ sehr gering ist. Die Aktivität der TRAP 5b war unabhängig von einer Nahrungsaufnahme. Dieses Ergebnis wurde in einer Studie von Shidara et al. bestätigt. Hierbei zeigte sich kein Unterschied der Aktivität der TRAP 5b vor und nach einer Mahlzeit (Shidara 2008). Die Studie konnte außerdem zeigen, dass die Durchführung einer Hämodialyse ebenfalls keinen signifikanten Einfluss auf die Aktivität der TRAP 5b im Serum hatte (Hannon et al., 2004).

In der Studie von Yamada bei 30 Patienten vor und nach einer HD zeigte sich im Gegensatz dazu ein Anstieg der TRAP 5b-Aktivität von $6,7\pm 4,2$ U/l auf $7,4\pm 4,7$ U/l

($p=0,11$), auch unter Berücksichtigung / Korrektur des Hämatokrits (Ausschluss eines Einflusses der Hämokonzentration) (Yanada 2008).

Ein ähnliches Ergebnis zeigte die Studie von Hamano (Hamano 2009). Hierbei fand sich ein statistisch signifikanter Anstieg der TRAP 5b-Aktivität von 16,7% nach HD, ebenfalls unter Berücksichtigung des Hämatokritwertes.

Die Ergebnisse der Studien zeigen, dass Serumproben bei längerer Lagerung bei am besten -80°C gelagert werden sollten, bei kürzerer Lagerung wäre eine solche Temperatur auch wünschenswert, wobei sich zeigte, dass bei -20°C innerhalb kurzer Zeit (ca. 1 Woche) kein wesentlicher Verlust der Aktivität der TRAP 5b im Serum auftritt. Die Aktivität der TRAP 5b im Serum ist unabhängig vom Zeitpunkt der Bestimmung, von einer Nahrungsaufnahme und sollte vor einer Hämodialyse bestimmt werden.

5. Zwischen der TRAP 5b im Serum und der Dialysedauer bzw. dem Alter der Patienten finden sich niedrige bzw. negative Korrelationen.

Bei der Betrachtung der Ergebnisse zeigt sich, dass zwischen der Aktivität der TRAP 5b im Serum und der Dialysedauer in Jahren bei statistischer Signifikanz eine niedrige Korrelation [$0,264$; $p<0,05$ für alle Patienten initial ($n=161$) und $0,298$; $p<0,05$ für die Studiengruppe ($n=126$)] besteht. Korrelationen zwischen der Dialysedauer und der Serumaktivität der TRAP 5b wurden bereits in einer Studie von Nakanishi et al. (Nakanishi et al., 1999) erhoben. Dabei zeigten sich im Vergleich zu unserer Studie höhere signifikante Werte von $0,516$ ($p<0,01$). In dieser Studie wurden insgesamt 88 dialysepflichtige Patienten, 49 Männer und 39 Frauen, neben anderen Patienten mit verschiedenen Erkrankungen wie Osteoporose, rheumatoider Arthritis, Osteogenesis imperfecta und Arthritis untersucht. Das Durchschnittsalter der untersuchten Dialysepatienten lag mit 53 ± 11 Jahren bei den Männern und mit 54 ± 11 Jahren bei den Frauen deutlich unter dem Alter der in dieser Studie untersuchten Patienten (Männer 64 ± 14 Jahre, Frauen $69\pm 11,5$ Jahre, Studiengruppe Männer 65 ± 13 Jahre, Frauen 66 ± 13 Jahre). Über die Begleiterkrankungen der untersuchten Patienten wird in der Studie keine Auskunft gegeben. Die Dauer der Dialysebehandlung liegt ähnlich wie in unserer Studie (3 Monate-21 Jahre) zwischen ca. einem Monat und 25 Jahren. Die Autoren der Studie führen die Korrelation zwischen den Parametern auf die Entwicklung verschiedener Formen einer renalen Osteodystrophie im Verlauf einer Dialysetherapie und verursacht durch die endokrinen Vorgänge bei Niereninsuffizienz zurück,

beschreiben aber keinen pathophysiologischen Zusammenhang, der für die Korrelation verantwortlich ist bzw. sein könnte.

Eine Studie von Duarte et al. (Duarte et al., 1998) charakterisierte bei 200 Patienten (Alter $40,7 \pm 14,8$ Jahren) mittels laborchemischer und invasiver Diagnostik die Häufigkeit der Formen der renalen Osteopathie. Dabei zeigte sich bei 75% der Patienten eine „high turnover-Osteopathie“ und bei 25% der Patienten eine „low turnover-Osteopathie“, wobei die Form der Osteopathie nicht von der Dialysedauer abhängig war. Lediglich bei der milden Form der „high-turnover Osteopathie“ zeigte sich, dass die Dialysedauer mit $50 \pm 44,1$ Monaten etwas kürzer war. Bei den Patienten mit anderen Osteopathieformen lag die Dialysedauer zwischen $73,7 \pm 36,1$ und $91,5 \pm 44,8$ Monaten. Betrachtet man die Ergebnisse der beiden genannten Studien und unsere Ergebnisse so lässt sich feststellen, dass die unterschiedlichen Korrelationen zwischen der Studie von Nakanishi et al. und unseren Daten wohl am ehesten auf das Alter der Patienten (Nakanishi: Frauen 54 ± 11 Jahre/Männer 53 ± 11 Jahre, diese Studie: Frauen $69 \pm 11,5$ Jahre/Männer: Frauen 64 ± 14 Jahre), verschiedene Begleiterkrankungen und unterschiedliche Therapieformen der untersuchten Patienten zurückzuführen ist, wobei die Dialysedauer nicht der entscheidende Faktor für die Entwicklung einer renalen Osteopathie zu sein scheint.

Bei der Ursache für die signifikant negativen Korrelationen um $-0,250$ ($p < 0,01$) zwischen dem Alter der untersuchten Patienten und der Aktivität der TRAP 5b muss an eine adyname Osteopathie als Ursache gedacht werden. Diese, mit einer erniedrigten Aktivität der Osteoblasten und der Osteoklasten einhergehende Form der renalen Osteopathie, findet sich bei ca. 30% der Dialysepatienten (Goodman et al, 1994; Couttenye et al, 1996). Risikofaktoren für die Entwicklung einer adynamen Osteopathie sind höheres Alter, männliches Geschlecht, Diabetes mellitus, aluminiumhaltige Medikamente, Parathyreoidektomie und (Post)Menopause (Sherrard et Andress, 1989; Sugimoto et al., 1990; Goodman et Duarte, 1991; Malluche et Monier-Faugere, 1992; Hercz et al, 1993; Goodman et al, 1999; Salusky et Goodman, 2001; Spasovski et al, 2003). Obwohl in der vorliegenden Studie keine histologische Differenzierung bzgl. der vorliegenden Formen der renalen Osteopathie bei den Patienten durchgeführt wurde, kann bei der Zusammensetzung des Studienkollektives, den genannten Risikofaktoren und der Prävalenz der adynamen Osteopathie von ca. 30% der Dialysepatienten (Goodman et al, 1994; Couttenye et al, 1996, Chu et al, 2003), davon ausgegangen

werden, dass auch bei unseren Patienten die adyname Osteopathie in einem höherem Maße vertreten ist, wodurch sich die negativen Korrelationen zwischen dem Alter der Patienten und der Aktivität der TRAcP im Serum erklären lassen könnten.

Schlussfolgerung

Die Serumkonzentration der TRAP 5b ist bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz, insbesondere im Stadium 5, im Vergleich zu Gesunden erhöht, wobei sich zwischen Männern und Frauen keine signifikanten Unterschiede fanden. Weitere Interventionsstudien unter einer Therapie, z.B. mit Phosphatbindern oder Vitamin D, sind notwendig um die Aktivität der TRAP 5b im Serum als Parameter im Verlauf zur Beurteilung eines Therapieerfolges zu evaluieren. Dabei scheint die Serumaktivität der TRAP 5b im Vergleich zu den anderen Parametern des Knochenstoffwechsels früher bzw. empfindlicher zu reagieren.

5. Zusammenfassung

Die chronische, dialysepflichtige Niereninsuffizienz ist in den westlichen Industrieländern mitbedingt durch die ansteigende Zahl von Diabetikern eine zahlenmäßig zunehmende Erkrankung. In Deutschland liegt die Inzidenz der dialysepflichtigen Niereninsuffizienz bei 0,7/1000 Personen in der Bevölkerung und die Prävalenz bei 0,18/1000 Personen. Auch in den USA zeigt sich eine Zunahme der Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz. Durch die steigende Anzahl der Patienten mit (dialysepflichtiger) Niereninsuffizienz steigt auch die Prävalenz der renalen Osteopathie, die bereits in frühen Stadien der Niereninsuffizienz bei einer Abnahme der glomerulären Filtrationsrate (GFR) auf 50 ml/min beginnt. Aufgrund der zunehmenden Häufigkeit werden metabolische Knochenerkrankungen im Jahre 2030 weltweit an 7. Stelle der chronischen Krankheiten stehen und werden daher von der WHO als „major health problem“ eingestuft. Zur Diagnostik der renalen Osteopathie stehen als diagnostische Verfahren die Anamnese, radiologische Untersuchungsverfahren und die invasive Diagnostik mittels Knochenbiopsie zur Verfügung. Allen genannten Untersuchungsverfahren ist gemeinsam, dass sie nicht zur Erkennung von frühen Stadien der renalen Osteopathie geeignet sind. Die Lücke in diesem diagnostischen Dilemma schließen Laboruntersuchungen, die bei Beachtung von Einflüssen und richtiger Interpretation der Messwerte bereits vor auftreten morphologischer Veränderungen Pathologien des Knochenstoffwechsels anzeigen können. Ein stabiler und wenigen Einflüssen unterlegener Parameter in der Diagnostik der renalen Osteopathie ist die Tartratresistente saure Phosphatase in ihrer Unterform 5b (im Folgenden als TRAP 5b bezeichnet). Diese Unterform wird von den Osteoklasten als aktives Enzym ins Blut abgegeben. In der vorliegenden Studie wurde bei initial 161 Patienten die Aktivität der TRAP 5b im Serum bestimmt. Der dabei verwendete Immunoassay (Firma Medac, Hamburg) detektiert ausschließlich Moleküle der aktiven TRAP 5b. Nicht erfasst werden die von aktivierten Makrophagen sezernierte inaktive Form des Enzyms und die Unterform 5a, welche bisher in Gaucherzellen der Milz nachgewiesen wurde. Damit ist die TRAP 5b ein spezifischer Marker für den Grad der Knochenresorption zum Zeitpunkt der Probenentnahme. Weiterhin wurden bei den Patienten die alkalische Phosphatase (AP) und das intakte Parathormon (iPTH) als Marker des Knochenstoffwechsels bestimmt. Zwischen den erhobenen Parametern und klinischen Daten, wie dem Alter der Patienten und der Dialysedauer wurden Korrelationen berechnet. Nach 6 Monaten erfolgte eine zweite Erhebung der Parameter, wobei aufgrund verschiedener Ursachen

(Nierentransplantation, Tod, stationäre Behandlung, Wechsel des Dialysezentrums, verschiedene) 126 Patienten erneut untersucht werden konnten.

Zwischen den initial erhobenen Parametern zeigten sich mit Werten von 0,406 ($p < 0,01$) zwischen der AP und der TRAP 5b und 0,535 ($p < 0,01$) zwischen iPTH und TRAP 5b gute hochsignifikante Korrelationen. Zwischen der Dialysedauer in Jahren bzw. dem Alter der Patienten und der TRAP 5b fand sich eine niedrigere Korrelation (0,264; $p < 0,01$) bzw. ein gegenläufiger Zusammenhang mit einer hochsignifikanten Korrelation von $-0,273$ ($p < 0,01$).

Bei den 126 Patienten, die initial und nach 6 Monaten untersucht wurden, zeigten sich ähnliche Werte für die Korrelationen; Dialysedauer vs. TRAP 5b 0,298 ($p < 0,01$) und Alter vs. TRAP 5b $-0,254$ ($p < 0,01$). Nach 6 Monaten zeigten sich zwischen den erhobenen Parametern niedrigere Korrelationen als bei der ersten Untersuchung. Innerhalb der 6 Monate zwischen den beiden Untersuchungsterminen kam es zu einer signifikanten Abnahme ($p < 0,05$) der TRAP 5b von $5,78 \pm 3,38$ U/l auf $5,19 \pm 2,89$ U/l.

In der Gruppe der 126 Patienten zeigten sich zwei Untergruppen, in denen sich eine Ab- bzw. Zunahme der TRAP 5b um mehr als 50% des Ausgangswertes fand. Die Patienten der Gruppe mit Abnahme der Serumkonzentration der TRAP 5b haben mit $4,8 \pm 3,3$ g/d vs. $0,6 \pm 1,0$ g/d $\text{Al}(\text{OH})_3$ eine signifikant höhere Dosis an Phosphatbinder eingenommen, wobei sich bezüglich der eingenommenen Dosis an Calcitriol/Alphacalcitriol ($0,16 \pm 0,54$ µg/Woche vs. $0,45 \pm 1,14$ µg/Woche) kein statistisch ($p > 0,05$) signifikanter Unterschied findet. Beide Gruppen zeigen eine wenig ausgeprägte Änderung des iPTH-Spiegels in dieser Zeit.

Weiterhin wurde in der Studie die Stabilität der TRAP 5b im Serum untersucht. Dabei zeigte sich, dass die TRAP 5b bei einer Lagerung bei -20°C eine gute intraindividuelle Stabilität mit einer maximalen Abweichung von 5% hat und die Aktivität nicht durch die Länge des Dialyseintervalls beeinflusst wird

Insgesamt konnte gezeigt werden, dass die Aktivität der TRAP 5b im Serum bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz im Vergleich zu Gesunden erhöht ist, wobei sich zwischen Frauen und Männern keine signifikanten Unterschiede fanden. Unter einer Therapie mit antiresorptiven Medikamenten scheint die TRAP 5b im Vergleich zu anderen Parametern des Knochenstoffwechsels früher bzw. empfindlicher zu reagieren. Die Bestimmung der TRAP 5b erlaubt ein nicht invasives Monitoring der renalen Osteopathie u.a. bei Dialysepatienten.

5. Summary

The number of patients with renal end-stage disease is increasing in western countries, due to the increasing numbers of diabetics. In Germany, the incidence of patients with renal end-stage disease is 0.7/1000 persons, while the prevalence is 0.18/1000 persons. The numbers of patients with end-stage renal disease is also increasing elsewhere, such as in the United States of America. The increasing numbers of patients with renal end-stage disease has resulted in a concomitant increase in the prevalence of renal osteopathy, which starts in the early stages of renal failure, indicated by a low creatinine clearance of 50 ml/min. Metabolic bone diseases are predicted to be the seventh commonest chronic disease in the year 2030, and are thus classed as “major health problem” by the World Health Organisation. The diagnosis of renal osteopathy includes anamnesis, X-ray, and invasive procedures such as a bone biopsy. However, the early stages of renal osteopathy cannot always be detected. Laboratory investigations close this diagnostic gap. Correct interpretation of diagnostic parameters, including clinical chemistry, permit diagnosis of renal osteopathy prior to the emergence of morphological characteristics. A stable parameter for diagnosis of renal osteopathy is the 5b isoform of tartrate resistant acid phosphatase (TRAP). The TRAP 5b is secreted by osteoclasts as active enzyme into the blood circulation. A recent study analysed the activity of TRAP 5b in the serum of 161 patients. The immunoassay employed (from Medac, Hamburg) detects exclusively active enzymes. Secreted inactive molecules (such as those activated macrophages) and the TRAP 5a isoform (from Gaucher’s cells) are not detected by this immunoassay. The TRAP 5b is a specific marker of the grade of bone resorption at the time-point of determination of TRAP 5b concentration in serum. Other markers of bone resorption determined in the present study were alkaline phosphatase (AP) and intact parathyroid hormone (iPTH). Correlations between the values and clinical data including the age of patients and the duration of hemodialysis were performed. All parameters were evaluated again after six months. For a variety of reasons (transplantation, death, stationary treatment, change of center for dialysis, others) only 126 patients were included in the second analysis. Correlations with high statistical significance between the initial levels determined for AP and TRAP 5b were 0.406 ($p < 0.01$) and between iPTH levels and TRAP 5b levels, .535 ($p < 0.01$). Low correlations were found between the time of hemodialysis and TRAP 5b levels (0.264; $p < 0.01$) and between the age of patients and TRAP 5b, where a reversed correlation of -

0.273 ($p < 0.01$) was noted. Correlations in 126 patients, investigated initially and after six months, between time of dialysis and TRAP 5b levels (0.298; $p < 0.01$) and between the age of patients and TRAP 5b levels (-0.254; $p < 0.01$) were similar to the values of the 161 patients investigated initially. Overall the correlations after six months were lower. During the six months, the concentration of TRAP 5b decreased from 5.78 ± 3.3 U/l to 5.19 ± 2.89 U/l.

The patients with decreased TRAP 5b levels exhibited a significant higher intake of phosphate binder $\text{Al}(\text{OH})_3$ (4.8 ± 3.3 g/d *versus* 0.6 ± 1.0 g/d) whereas the intake of calcitriol/ α -calcitriol was not different (0.16 ± 0.54 $\mu\text{g}/\text{week}$ *versus* 0.45 ± 1.14 $\mu\text{g}/\text{week}$). The value of iPTH did change significantly during this time in both groups.

The stability of TRAP 5b in serum was analysed in the present study as well. The results revealed high stability of TRAP 5b, with high intra-individual stability, and a variance of maximally 5% during storage of the samples at -20 °C. The activity of TRAP 5b was not influenced by the length of the time between the dialysis.

The recent study revealed that TRAP 5b levels are elevated in the serum of patients with renal end-stage disease in contrast to healthy individuals, without significant differences between women and men. Under a treatment with antiresorptive drugs, the values of TRAP 5b are more sensitive than other parameters of bone resorption. Estimation of serum levels of TRAP 5b enables a non-invasive means of monitoring of renal osteopathy.

6. Literaturverzeichnis

	Autor
1.	Alatalo SL, Peng Z, Janckila AJ, Kaija H, Vihko P, Vaananen HK, Halleen JM. A novel immunoassay for the determination of tartrate resistant acid phosphatase 5b from rat serum. J Bone Miner Res 2003; 18: 134-9.
2.	Avbersek-Luznik I, Balon BP, Rus I, Marc J. Increased bone resorption in HD patients: is it caused by elevated RANKL synthesis? Nephrol Dial Transplant. 2005;20:566-70.
3.	Blind E: Measurement of Intact Parathyroid Hormone by an Extracting Two-Site Immunometric Assay, in Schmidt-Gayk H, Armbruster FP, Bouillon R (eds): Calcium regulating hormones, vitamin D metabolites, and cyclic AMP, Heidelberg: Springer, 1990, pp 151.
4.	Block GA, Hulbert-Shearon TE, Levin NW, Port FK. Association of serum phosphorus and calcium x phosphate product with mortality risk in chronic hemodialysis patients: a national study. Am J Kidney Dis 1998; 31:607-617
5.	Brahee DD, Guebert GM, Virgin B. Dialysis-related spondylarthropathy. J Manipulative Physiol Ther 2001; 24: 127-30.
6.	Braun J, Olderndorf M, Moshage W, Heidler R, Zeitler E, Luft FC. Electron beam computed tomography in the evaluation of cardiac calcifications in chronic dialysis patients. Am J Kidney Dis 1996; 27: 394-401
7.	Capeller B, Caffier H, Sütterlin MW, Dietl J. Evaluation of tartrate resistant acid phosphatase (TRAP) 5b as serum marker of bone metastases in human breast cancer. Anticancer Res 2003; 23: 1011-5.
8.	Cavalier E, Delanaye P, Collette J, Krzesinski JM, Chapelle JP. Evaluation of different bone markers in hemodialyzed patients. Clin Chim Acta. 2006;371(1-2):107-11.
9.	Coen G, Ballanti P, Bonucci E, Calabria S, Centorrino M, Fassino V, Manni M, Mantella D, Mazzaferro S, Napoletano I, Sardella D, Taggi F. Bone markers in the diagnosis of low turnover osteodystrophy in haemodialysis patients. Nephrol Dial Transplant 1998; 13: 2294-2302
10.	Solal ME, Sebert JL, Boudailliez B, Marie A, Moriniere P, Gueris J, Bouillon R, Fournier A. Comparison of intact, midregion and carboxy terminal assays of parathyroid hormone for the diagnosis of bone disease in hemodialysis patients. J Clin Endocrinol Metab 1991; 73: 516-524
11.	Colwell CW Jr, Robinson CA, Stevenson DD, Vint VC, Morris BA. Osteonecrosis of the femoral head in patients with inflammatory arthritis or asthma receiving corticosteroid therapy. Orthopedics 1996; 19: 941-6.
12.	Couttenye MM, D'Heese PC, Van Hoof VO, Lemoniatou E, Goodman W, Verpooten GA, De Broe ME. Low serum levels of alkaline phosphatase of bone origin: a good marker of

	adynamic bone disease in haemodialysis patients. Nephrol Dial Transplant 1996; 11: 1065-1072
13.	Delmas PD. Clinical use of biochemical markers of bone remodelling in osteoporosis. Bone 1992; 13 Suppl I: S17-21.
14.	Doumouchtsis K, Perrea D, Doumouchtsis S, Tziamalīs M, Poulakou M, Vlachos I, Kostakis A. Regulatory effect of parathyroid hormone on sRANKL-osteoprotegerin in hemodialysis patients with renal bone disease. Ther Apher Dial. 2009;13:49-55.
15.	Drüecke T. Dialysis, Osteomalacie, and Aluminium Intoxication. Nephron 1980 ; 26 : 207-210
16.	Duarte ME, Peixoto AL, Pacheco AS, Peicoto AV, Rodriguez AD, Lugon JR, Cruz EA. The spectrum of bone disease in 200 chronic hemodialysis patients: correlation between clinical, biochemical and histological findings. Sao Paulo Med J 1998; 116: 1790-7.
17.	Eyre DR, Koob TJ, Van Ness KP. Quantitation of hydropyridinium crosslinks in collagen by high-performance liquid chromatography. Anal Biochem 1984; 137: 380-8.
18.	Eyre DR, Apon S, Wu JJ , Ericsson LH, Walsh KA. Collagen type IX: evidence for covalent linkages to type II collagen in cartilage. FEBS Lett 1987; 220: 337-41.
19.	Fontaine MA, Albert A, Dubois B, Saint-Remy A, Roorive G. Fracture and bone mineral density in hemodialysis patients. Clin Nephrol 2000; 54: 218-26.
20.	Fahrleitner-Pammer A, Herberth J, Browning SR, Obermayer-Pietsch B, Wirnsberger G, Holzer H, Dobnig H, Malluche HH. Bone markers predict cardiovascular events in chronic kidney disease. J Bone Miner Res. 2008;23:1850-8.
21.	Fredlund PE, Ockerman PA, Vang JO. Release of acid hydrolases during perfusion of pig liver. Acta Chir Scand 1973; 139: 11-7.
22.	Goodman WG, Ramirez JA, Belin TR, Chon Y, Gales B, Segre GV, Salusky IB. Development of adynamic bone in patients with secondary hyperparathyroidism after intermitted calcitriol therapy. Kidney Int 1994; 46: 1160-1166
23.	Goodman WG, Duarte ME. Aluminium effects of bone and role in the pathogenesis of renal osteodystrophy. Miner Electrolyte Metab 1991; 17: 221-32.
24.	Halleen JM, Karp M, Viloma S, Laaksonen P, Hellman J, Käkönen S-M, Stepan JJ, Holmes S, Väänänen HK, Petterson K. Two-site immunoassays for osteoclastic tartrate-resistant acid phosphatase based on characterization of six monoclonal antibodies. J Bone Miner Res 1999; 14: 464-469
25.	Halleen JM, Alatalo SL, Suominen H, Cheng S, Janckila AJ, Väänänen HK. Tartrate-resistant acid phosphatase 5b : a novel serum marker of bone resorption.

	J Bone Miner Res 2000; 15:1337-1345
26.	Hamano T, Tomida K, Mikami S, Matsui I, Fujii N, Imai E, Rakugi H, Isaka Y. Usefulness of bone resorption markers in hemodialysis patients. <i>Bone</i> . 2009;45 Suppl 1:S19-25.
27.	Hamdy NA, Kanis JA, Beneton MN, Brown CB, Juttman JR, Jordans JG, Josse S, Meyrier A, Lins RL, Fahey IT. Effect of alfacalcidol on natural course of renal bone disease in mild to moderate renal failure. <i>Brit Med J</i> 1995; 310: 358-363
28.	Hampl H, Steinmüller T, Fröhling P, Naoum C, Leder K, Stabell U, Schnoy N, Jehle PM. Long-term results of total parathyroidectomy without autotransplantation in patients with and without renal failure: An argument for total parathyroidectomy alone. <i>Miner Electrol Metab</i> 1999b; 25: 161-170
29.	Hannon RA, Clowes JA, Eagleton AC, AL Hadari A, Eastell R, Blumsohn A. Clinical performance of immunoreactive tartrate resistant acid phosphatase isoform 5b as a marker of bone resorption. <i>Bone</i> 2004; 34: 187-94.
30.	Hattersley G, Champers TJ. Effects of transforming growth factor beta I on the regulation of osteoclastic development and function. <i>J Bone Miner Res</i> 1991; 6: 165-72.
31.	Hauschka PV, Lian JB, Gallop PM. Direct identification of the calcium-binding amino acid, gamma-carboxyglutamate in mineralized tissue. <i>Proc Natl Acad Sci USA</i> 1975; 72: 3925-9.
32.	Hercz G, Pei Y, Greenwood C, Manuel A, Saiphoo C, Goodman WG, Segre GV, Fenton S, Sherrard DJ. Aplastic osteodystrophy without aluminium: the rule of "suppressed" parathyroid function. <i>Kidney Int</i> 1993; 44: 860-6.
33.	Holgado R, Haire H, Ross D, Sprague S, Pahl M, Jara A, Martin-Malo A, Rodriguez M, Almaden Y, Felsenfeld AJ. Effect of low calcium dialysate on parathyroid hormone secretion in diabetic patients on maintenance hemodialysis. <i>J Bone Miner Res</i> 2000;15: 927-935
34.	Hruska KA, Teitelbaum SL. Renal Osteodystrophy. <i>N Engl J Med</i> 1995; 333: 166-174
35.	Hutchinson AJ, Whitehouse RW, Boulton HF, Adams JE, Mawer EB, Freemont TJ, Gokal R. Correlation of bone histology with parathyroid hormone, vitamin D3, and radiology in end-stage renal disease. <i>Kidney Int</i> 1993; 44: 1071-1077.
36.	Ibrahim S, Moijiminiyi S, Barron JL. Pyridium crosslinks in patients on haemodialysis and continuous ambulatory peritoneal dialysis. <i>Nephrol Dial Trasplant</i> 1995; 10: 2290-2294.
37.	Jakob F. 1.25(OH)2-Vitamin D3. Das Vitamin-D-Hormon. <i>Internist</i> 1999; 40: 414-430

38.	Janckila AJ, Takahashi K, Sun SZ, Yam LT. Naphthol-ASBI phosphatase as a preferred substrate for tartrate-resistant acid phosphatase isoform 5b. J Bone Miner Res 2001; 16: 788-93.
39.	Janckila AJ, Yam LT. Biology and clinical significance of tartrate-resistant acid phosphatases: new perspectives on an old enzyme. Calcif Tissue Int. 200;85:465-83.
40.	Jehle PM, Jehle DR, Mohan S, Keller F. Renal osteodystrophy: New insights in pathophysiology and treatment modalities with special emphasis on the insulin-like growth factor system. Nephron 1998; 79: 249-264
41.	Kamel S, Bazier M, Neri V, Picard C, Samson L, Desmed G, Sebert JL. Multiple molecular forms of pyridinolines cross-links excreted in human urine evaluated by chromatographic and immunoassay methods. J Bone Miner Res 1995; 10: 1385-92.
42.	Kosch M, Hausberg M, Lügering N, Dietl KH, Barenbrock M, Rahn KH, Senninger N, Kisters K. Akkumulation von Aluminium in B-Lymphozyten bei chronischer Dialysetherapie. Nieren- und Hockdruckkrankheiten 2000; 29: 66-70.
43.	Kostenuik PJ, Harris J, Halloran BP, Turner RT, Morey Holton ER, Bikle DD. Skeletal unloading causes resistance of osteoprogenitor cells to parathyroid hormone and to insulin-like growth factor-I. J Bone Miner Res 1999; 14: 21-31
44.	Lam WK, Eastlund DT, Li CY, Yam LT. Biochemical properties of tartrate-resistant acid phosphatase in serum of adults and children. Clin Chem 1978; 24: 1105-8.
45.	Lam KW, Li CY, Yma LT, Desnick RJ. Comparison of the tartrate-resistant acid phosphatase in Gaucher's disease and leucemic reticuloendotheliosis. Clin Biochem 1981; 14: 177-81.
46.	Lau KH, Onishi T, Wergedal JE, Singer FR, Baylink DJ. Characterization and assay of tartrate-resistant acid phosphatase activity in serum: potential use to assess bone resorption. Clin Chem 1987; 33: 458-62.
47.	Lehmann G, Ott U, Kaemmerer D, Schuetze J, Wolf G. Bone histomorphometry and biochemical markers of bone turnover in patients with chronic kidney disease Stages 3 - 5. Clin Nephrol. 2008;70:296-305.
48.	Lein PJ, Beck HN, Chandradekaran V, Gallagher PJ, Chen HL, Lin Y, Gou X, Kaplan PL, Tiedge H, Higgins D. Glia induce dendritic growth in cultured sympathetic neurons by modulating the balance between bone morphogenetic proteins (BMPs) and BMP antagonists. J Neurosci 2002; 22: 10377-87.
49.	Leone A, Sundaram M, Cerase A, Magnavita N, Tazza L, Marano P. Destructive spondylarthropathy of the cervical spine in long-term hemodialyzed patients: a five-year clinical radiological prospective study. Skeletal Radiol 2001; 30: 431-41.
50.	Lopes Gavilanes E, Gonzales Parra E, de la Pietra C, Caramelo C, Rapado A. Clinical usefulness of serum carboxyterminal propeptide of procollagen I and tartrate resistant acid phosphatase termination to evaluate bone turnover in patients with chronic renal failure.

	Miner Electrolyte Metab 1994; 20: 259-64.
51.	Lu KC, Ma WY, Yu JC, Wu CC, Chu P. Bone turnover markers predict changes in bone mineral density after parathyroidectomy in patients with renal hyperparathyroidism. Clin Endocrinol (Oxf). 2012;76:634-42.
52.	Malluche HH, Monier-Faugere MC. Risk of adynamic bone disease in dialyzed patients. Kidney Int Suppl.; 992;38: S62-7.
53.	Małyszko J, Małyszko JS, Pawlak K, Wołczyński S, Myśliwiec M. Tartrate-resistant acid phosphatase 5b and its correlations with other markers of bone metabolism in kidney transplant recipients and dialyzed patients. Adv Med Sci. 2006;51:69-72.
54.	Manalogas SC. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanisms and implications for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. Endocrine Rev. 2000; 21: 115-137
55.	McLaren AM, Isdale AH, Whiting PH, Bird HA, Robins SP. Physiological variations in the urinary excretion of pyridinium crosslinks of collagen. Br J Rheumatol 1993; 32: 307-12.
56.	Minisola S, Dionisi S, Pacitti MT, Paglia F, Carnevale V, Scillitani A, Mazzaferro S, De GS, Pepe J, Derasmo E, Romagnoli E. Gender differences in serum markers of bone resorption in healthy subjects and patients with disorders affecting bone. Osteoporos Int. 2002;13:171-5.
57.	Mohan S. Insulin-like growth factor binding protein in bone cell regulation. Growth Reg 1993; 3: 67-70
58.	Moss DW. Perspectives in alkaline phosphatase research. Clin Chem 1992; 38: 2486-2492.
59.	Nakanishi M, Yoh H, Uchida K, Maruo S, Rai SK, Matsuoka A. Clinical usefulness of serum tartrate-resistant fluoride-sensitive acid phosphatase activity in evaluating bone turnover. J Bone Miner Metab 1999; 17: 125-30.
60.	Nakasato YR, Janckila AJ, Halleen JM, Vaananen HK, Walton SP, Yam LT. Clinical significance of immunoassays for type-5 tartrate-resistant acid phosphatase. Clin Chem 1999; 45: 2150-7.
61.	Navarro JF, Mora C, Jimenez A, Torres A, Macia M, Garcia J. Relationship between serum magnesium and parathyroid hormone levels in hemodialysis patients. Am J Kidney Dis 1999; 34: 43-48.
62.	Nowak Z, Konieczna M, Wankowicz Z. Tartrate-resistant acid phosphatase-TRAP 5b-as a novel marker of bone resorption in patients with irreversible renal failure treated with dialysis. Pol Merkuriusz Lek 2004; 17: 138-41.
63.	Osorio A, Ortega E, Torres JM, Sanchez P, Ruiz-Requena E. Mineral-bone metabolism markers in young hemodialysis patients. Clin Biochem. 2011;44:1425-8.
64.	Parkinson IS, Ward MK, Teest TG, Fawcett RWP, Kerr DNS.

	Fracturing dialysis osteodystrophy and dialysis encephalopathy. Lancet 1979;1: 406-409
65.	Pei Y, Hercz G, Greenwood C, Sherrard D, Segre G, Manuel A, Saiphoo C, Fenton S. Non-invasive prediction of aluminium bone disease in hemo- and peritoneal dialysis patients. Kidney Int 1992; 41: 1374-1382.
66.	Price CP, Sammons HG. An interpretation of serum alkaline phosphatase isoenzyme patterns in patients with obstructive liver disease. J Clin Pathol 1976; 29: 976-80.
67.	Qin YJ, Zhang ZL, Zhang H, Hu WW, Liu YJ, Hu YQ, Li M, Gu JM, He JW. Age-related changes of serum tartrate-resistant acid phosphatase 5b and the relationship with bone mineral density in Chinese women. Acta Pharmacol Sin. 2008;29:1493-8.
68.	Reichel H, Esser A, Roth HJ, Schmidt-Gayk H. Influence of PTH assay methodology on differential diagnosis of renal bone disease. Nephrol Dial Transplant 2003; 18: 759-68.
69.	Robins SP, Woitge H, Hesley R, Ju J, Seyedin S, Seibel MJ. Direct, enzyme-linked immunoassay for urinary deoxypyridinoline as a specific marker for measuring bone resorption. J Bone Miner Res 1994; 9: 1643-1649.
70.	Robins SP, Black D, Patterson CR, Reid DM, Duncan A, Seibel MJ. Evaluation of urinary hydroxypyridinium crosslink measurements as resorption markers in metabolic bone diseases. Eur J Clin Invest 1991; 21: 310-315.
71.	Rosenbrock H, Seifert-Klauss V, Kaspar S, Busch R, Lupp PB. Changes of biochemical bone markers during the menopausal transition. Clin Chem Lab Med 2002; 40: 143-151.
72.	Rostand SG, Druke TB. Parathyroid hormone, vitamin D, and cardiovascular disease in chronic renal failure. Kidney Int 1999; 56: 383-392
73.	Sakalkale DP, Hozack WJ, Rothman RH. Total hip arthroplasty in patients on long-term renal dialysis. J Arthroplasty 1999; 14: 571-574.
74.	Salusky IB, Ramirez JA, Oppenheim WL, Gales B, Segre GV, Goodman WG. Biochemical markers of renal osteodystrophy in pediatric patients undergoing CAPD/CCPD. Kidney Int 1994; 45: 253-258.
75.	Salusky IB, Goodman WG. Adynamic renal osteodystrophy: is there a problem? J Am Soc Nephrol 2001; 12: 1978-85.
76.	Sasaki N, Kusano E, Ando Y, Nemeto J, Rimura O, Ito C, Takeda S, Yano K, Tsuda E, Asano Y. Changes in osteoprotegerin of bone metabolism during glucocorticoid treatment in patients with chronic glomerulonephritis. Bone 2002; 30: 853-8.
77.	Saunders WB in Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd ed. Philadelphia, 1994: 1909.
78.	Savory J, Wills MR.

	Analytical methods for aluminum measurement. Kidney Int Suppl. 1986;18:24-7
79	Scanecchia L, Minisola S, Pacitti MT, Carnevale V, Romagnoli E, Rosso R, Mazzuoli GF. Clinical usefulness of serum tartrate-resistant and phosphatase activity determination to evaluate bone turnover. Scand J Clin Lab Invest 1991; 51: 517-24.
80.	Schmidt-Gayk H, Kaiser R, Rausch R, Liebenstein J, Traber L, Kistner M, Jurkuhn K, Knörzer T. Effect of different oral and transdermal estradiol hormone replacement therapies on markers of bone metabolism in postmenopausal women. Clin Lab 1998; 44: 781-787
81.	Schulz W, Delling G: Osteopenie. Ein Problem der Langzeitanalyse. Fortschritte der Medizin 1982; 6: 222-227
82.	Schwenger V, Mussig, C, Hergesell O, Zeier M, Ritz E. Incidence and clinical characteristics of renal insufficiency in diabetic patients. Dtsch Med Wochenschr 2001; 126: 1322-6.
83.	Seibel MJ, Woitge H, Scheidt-Nave C, Leidig-Bruckner G, Duncan A, Nicol P, Ziegler R, Robins SP. Urinary hydroxypyridinium crosslinks of collagen in population-based screening for overt vertebral osteoporosis: results of a pilot study. J Bone Miner Res 1994; 9:1433-1440.
84.	Sherrard DJ, Hercz G, Pei Y, Maloney NA, Greenwood C, Manuel A, Saiphoo C, Fenton SS, Segre GV. The spectrum of bone disease in end-stage renal failure – An evolving disorder. Kidney Int 1993; 43: 436-442
85.	Sherrard DJ, Baylink DJ, Wergedal JE, Maloney N. Quantitative histological studies on the pathogenesis of uremic bone disease. J Clin Endocrinol Metab 1974; 39: 119-135.
86	Sherrard DJ, Andress DL. Aluminium-related osteodystrophy. Adv Intern Med 1989; 34: 307-23.
87.	Shidara K, Inaba M, Okuno S, Yamada S, Kumeda Y, Imanishi Y, Yamakawa T, Ishimura E, Nishizawa Y. Serum levels of TRAP5b, a new bone resorption marker unaffected by renal dysfunction, as a useful marker of cortical bone loss in hemodialysis patients. Calcif Tissue Int. 2008;82:278-87.
88.	Shiota E, Naito M, Tsuchiya K. Surgical therapy for dialysis-related spondylarthropathy: review of 30 cases. J Spinal Disord 2001; 14: 165-71.
89.	Spasovski GB, Bervoets AR, Behets GJ, Ivanovski N, Sikole A, Dams G, Couttenye MM, De Broe ME, D'Haese PC. Spectrum of renal bone disease in end-stage renal failure patients not yet on dialysis. Nephrol Dial Transplant 2003; 18: 1159-66.
90.	Stepan JJ, Lachmanová J, Strakoš M, Pacovský V. Serum osteocalcin, bone alkaline isoenzyme and plasma tartrate resistant acid phosphatase in patients on chronic maintenance hemodialysis. Bone and Mineral 1987; 3: 177-183.
91.	Stepan JJ, Silinkova-Malkova E, Havranek T, Formankova J, Zichova M,

	Lachmanova J, Strakova M, Broulik P, Pacovsky. Relationship of plasma tartrate resistant acid phosphatase to the bone isoenzyme of serum alkaline phosphatase in hyperparathyroidism. Clin Chim Acta 1983; 133: 189-200.
92.	Sugimoto T, Ritter C, Slatopolsky E, Morrissey J. Role of guanine nucleotide binding protein, cytosolic calcium and cAMP in fluoride-induced suppression of PTH secretion. Miner Electrolyte Metab. 1990; 16:224-31.
93.	Tietz NW ed. Fundamentals of Clinical Chemistry, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders Company, 1987:718-719.
94.	Tietz NW, Shuey DF. Reference intervals for alkaline phosphatase activity determined by the IFCC and AACC reference methods. Clin Chem. 1986; 32:1593-4.
95.	Torres R, de la Piedra C, Rapado A. Clinical usefulness of serum tartrate-resistant acid phosphatase in Paget's disease of bone: correlation with other biochemical markers of bone remodelling. Calcif Tissue 1991; 49 : 14-6.
96.	Uebelhart D, Gineyts E, Chapuy MC, Delmas PD. Urinary excretion of pyridinium crosslinks: A new marker of bone resorption in metabolic bone disease. Bone Miner 1990; 8 : 87-96.
97.	Ureña P, Kubrusly M, Mannstadt M, Hruby M, Trinh MM, Silve C, Lacour B, Abou-Samra AB, Segre GV, Drüeke T. The renal PTH/PTHrP receptor is down-regulated in rats with chronic renal failure. Kidney Int 1994; 45: 605-611
98	Urena P, Hruby M, Ferreira A, Ang K, de Vernejoul M. Plasma total versus bone alkaline phosphatase as marker of bone turnover in hemodialysis patients. J Am Soc Nephrol 1996; 7: 506-512
99.	Urena P, Vernejoul MC. Circulating biochemical markers of bone remodelling in uremic patients. Kidney Int 1999; 55: 214-156.
100.	Yamada S, Inaba M, Kurajoh M, Shidara K, Imanishi Y, Ishimura E, Nishizawa Y. Utility of serum tartrate-resistant acid phosphatase (TRACP5b) as a bone resorption marker in patients with chronic kidney disease: independence from renal dysfunction. Clin Endocrinol (Oxf). 2008 ;69:189-96.

Verzeichnis meiner akademischen Lehrer

Meine akademischen Lehrer an der Philipps-Universität zu Marburg und Fulda waren die Damen und Herren Dozenten und Professoren:

In Marburg:

Arnold, Aumüller, Austermann, Barth, Bartsch, Basler, Bauer, Baum, Becker, Bertalanffy, Bien, Bolm, Brilla, Christiansen, Daut, Engel, Feddersen, Fischer, Fruhstorfer, Fuhrmann, Gemsa, Geuß, Gotzen, Gressner, Grimm, Griss, Gröne, Grundner, Grzeschik, Habermehl, Happle, Hasilik, Hasse, Havemann, Herzum, Hesse, Hielscher, Hochbahn, Höffken, Hofmann, Hoffmann, Joseph, Jungclas, Kälble, Kaffarnik, Kern, Kienapfel, Klenk, Klose, Koolmann, Köhler, Krause, Kretschmer, Krieg, Kroh, Kroll, Kuni, Lang, Lemberg, Lange, Lengsfeld, Lennertz, Lorenz, Maisch, Mennel, Moll, Moog, Moosdorf, Nies, Oepen, Oertel, Radsak, Remschmidt, Richter, Röhm, Rothmund, Rüschoff, Schachtschabel, Schäfer, Schmidt, Schneider, Schüffel, Schulz, Schweigerer Seifart, Seitz, Seyberth, Slenczka, Spalke, Steiniger, Steinmetz, Stinner, Stempel, Sturm, Thomas, Vohland, Voigt, Wagner, Walter, Weihe, Werner, Wesemann, Westermann, v. Wichert, Zelder

In Fulda:

Arps, Bohner, Bonzel, Dölp, Draf, Faßbinder, Jaspersen, Langohr, Manke, Rumpf, Spätling, Stegmann, Töllner, Wörsdörfer.

Danksagung

Bei Herrn Privatdozent Dr. J. Bohner, ehemaliger Direktor des Instituts für Laboratoriumsmedizin am Klinikum Fulda, möchte ich mich für die Möglichkeit der Promotion bedanken.

Bei Herrn PD Dr. Dr. Wahl, jetzt Chefarzt im Institut für Laboratoriumsmedizin der Märkischen Kliniken, möchte ich mich für die Betreuung und Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit bedanken.

Bei Herrn Dr. D. Bandorski, Medizinische Klinik 2, Universitätsklinikum Gießen möchte ich mich für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Daten bedanken.

Bei allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Instituts für Laboratoriumsmedizin möchte ich mich für die freundliche Unterstützung bei der Durchführung während des klinischen Teils dieser Arbeit bedanken.

Dem Personal des Kuratoriums für Hämodialyse danke ich für ihre freundliche Unterstützung.

Bei meinen Eltern bedanke ich mich herzlich für deren Unterstützung, ohne die die Erstellung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.