Meinen Eltern

Aus dem Zentrum für Innere Medizin, Schwerpunkt Nephrologie
des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg
und des Universitäts-Klinikums Gießen und Marburg, Standort Marburg

in Zusammenarbeit mit der
Medizinischen Klinik III des Klinikums Fulda
Akademisches Lehrkrankenhaus der Philipps-Universität Marburg
Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. W. Fassbinder

Diagnostische Wertigkeit von β-CrossLaps bei Hämodialysepatienten

Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der gesamten Medizin

dem Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

Stephanie Graf
aus
Aachen

Marburg, 2006

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Philipps-Universität Marburg am: 19.01.2006.

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof. Dr. med. B. Maisch
Referent: Prof. Dr. med. W. Fassbinder
Koreferent: PD Dr. med. U. Kuhlmann

I. Inhaltsverzeichnis

I. Inhaltsverzeichnis I
II. Verzeichnis der Abkürzungen III
III. Abbildungen und Tabellen IV

1 Einleitung 1
1.1 Renale Osteopathie 2
1.1.1 Definition 2
1.1.2 Knochenstoffwechsel 3
1.1.3 Knochenstoffwechsel bei chronischer Niereninsuffizienz 5
1.1.3.1 Sekundärer Hyperparathyreoidismus 5
1.1.3.2 Veränderung des Knochenstoffwechsels bei chronischer Niereninsuffizienz 7
1.1.4 Histologische Klassifikation der renalen Osteopathie 8
1.1.4.1 Ostitis fibrosa 10
1.1.4.2 Osteomalazie 11
1.1.4.3 Adyname Knochenerkrankung 11
1.2 Marker des Knochen-Umsatzes bei renaler Osteopathie 13
1.2.1 Parathormon 15
1.2.2 Knochen-spezifische Alkalische Phosphatase 15
1.2.3 Osteocalcin 16
1.2.4 Tartrat-resistente saure Phosphatase 16
1.2.5 Marker des Kollagenstoffwechsels 17
1.2.5.1 Kollagenbildung und -abbau 17
1.2.5.2 Propeptide des Typ I Kollagens 19
1.2.5.3 Pyridinoline 19
1.2.5.4 C-Terminales Telopeptid des Typ I Kollagens 20
1.2.5.5 β-CrossLaps 21
1.3 Fragestellung 23
2 Material und Methoden 24
2.1 Labormethoden 24
2.1.1 β-CrossLaps 24
2.1.2 Parathormon (iPTH) 26
2.1.3 Osteocalcin 27
2.1.4 Standard-Parameter des Knochenstoffwechsels 28

2.2 Patienten 29
2.2.1 Probenentnahme und Verarbeitung 30
2.2.2 Variabilität der β-CrossLaps im Langzeitverlauf 30
2.2.3 Intraindividuelle Kurzzeit-Variabilität der β-CrossLaps bei Hämodialysepatienten und Reduktion durch Hämodialysebehandlung 31
2.3 Dialysetechnik 32
2.3.1 Quantitativer Nachweis der β-CrossLaps im Dialysat – Das Genius Therapie System – 32
2.3.2 Dialysatoren 34
2.4 Statistik 35
3 Ergebnisse 36
3.1 β-CrossLaps bei Hämodialysepatienten und Variabilität im Langzeitverlauf 36
3.1.1 Patientenkollektiv 36
3.1.2 Verteilung der β-CrossLaps bei Hämodialysepatienten 38
3.1.3 Korrelation mit Standard-Parametern des Knochenstoffwechsels 41
3.1.4 Variabilität der β-CrossLaps im Langzeitverlauf 45
3.1.5 Medikation mit Phosphatbindern und Vitamin-D-Präparaten 48
3.2 Einfluss der Hämodialysebehandlung auf die Variabilität der β-CrossLaps 50
3.2.1 Patientenkollektiv 50
3.2.2 Intraindividuelle Kurzzeitvariabilität der β-CrossLaps 50
3.2.3 Reduktion und Elimination der β-CrossLaps durch die Hämodialysebehandlung 53
4 Diskussion 55
4.1 β-CrossLaps als Marker der Knochenresorption bei chronischer Niereninsuffizienz und renaler Osteopathie 55
4.2 β-CrossLaps bei Hämodialysepatienten und Variabilität im Langzeitverlauf 56
4.3 Einfluss der Hämodialysebehandlung auf die Variabilität der β-CrossLaps 59
5 Zusammenfassung 61
6 Literaturverzeichnis 63

II. Verzeichnis der Abkürzungen

Al	Aluminium
AP	Alkalische Phosphatase
bAP	Knochen-spezifische Alkalische Phosphatase („bone alkaline phosphatase“)
CAPD	Kontinuierliche ambulante Peritonealdialyse
Ca x PO_4	Calcium-Phosphat-Produkt
CFU	„colony forming unit“
DPD	Deoxypyridinolin (Lysyl-Pyridinolin)
ECL	ElektroChemiLumineszenz
ECLIA	ElektroChemiLumineszenz Immunoassay
ELISA	„enzyme linked immunosorbent assay“
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
GM-CSF	Granulozyten-Makrophagen – Kolonie-stimulierender Faktor
HD	Hämodialyse
ICTP	C-terminales Telopeptid des Typ I Kollagens („type **I C**-terminal **t**elo**p**eptide“)
IL 1, IL 4, IL 6, IL 11	Interleukine 1, 4, 6, 11
IRMA	Immunoradiometrischer Test („immunoradiometric assay“)
K/DOQI	Kidney Diseases Outcome Quality Initiative
M-CSF	Makrophagen – Kolonie-stimulierender Faktor
NKF-DOQI	National Kidney Foundation – Dialysis Outcome Quality Initative
N-mid OC	N-terminales Fragment des Osteocalcins (Aminosäuren 1-43)
OC	Osteocalcin
OPG	Osteoprotegerin
PICP	C-terminales Propeptid des Typ I Prokollagens („procollagen type I C-terminal propeptide“)
PINP	N-terminales Propeptid des Typ I Prokollagens („procollagen type I N-terminal propeptide“)
PO_4	Anorganisches Phosphat
(i)PTH	(intaktes) Parathormon
PYD	Pyridinolin (Hydroxylysyl-Pyridinolin)
RANK	„receptor activator of nuclear factor kappa B“
RANKL	„receptor activator of nuclear factor kappa B ligand“
sHPT	Sekundärer Hyperparathyreoidismus
TGFβ	transforming growth factor β
TNFα	Tumornekrosefaktor α
TRAcP 5b	Tartrat-resistente saure Phosphatase Isoform 5b

III. Abbildungen und Tabellen

Abbildungen

Abbildung 1: Pathogenese des sekundären Hyperparathyreoidismus 6
Abbildung 2: Aminosäuresequenz des C-terminalen Telopeptids des Typ I Kollagens 21
Abbildung 3: Antigen-Antikörper-Reaktion als Grundprinzip des ECLIA. 25
Abbildung 4: Funktionsweise der ElektroChemiLumineszenz- Messzelle. 25
Abbildung 5: Verteilung der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps bei Hämodialysepatienten 38
Abbildung 6: Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps in Abhängigkeit von der Restdiurese 39
Abbildung 7: Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps bei Behandlung mit „low flux“ und „high flux“ Dialysatoren 40
Abbildung 8: Korrelation zwischen β-CrossLaps und Calcium-Phosphat-Produkt 42
Abbildung 9: Korrelation zwischen β-CrossLaps und Alkalischer Phosphatase 42
Abbildung 10: Korrelation zwischen β-CrossLaps und Osteocalcin 43
Abbildung 11: Korrelation zwischen β-CrossLaps und intaktem Parathormon 43
Abbildung 12: Korrelation zwischen Osteocalcin und intaktem Parathormon 44
Abbildung 13: Änderungen des Calcium-Phosphat-Produktes: Korrelation mit den Differenzen der β-CrossLaps. 46
Abbildung 14: Änderungen der Plasmakonzentrationen der Alkalischen Phosphatase: Korrelation mit den Differenzen der β-CrossLaps 47
Abbildung 15: Änderungen der Plasmakonzentrationen des intakten Parathormons: Korrelation mit den Differenzen der β-CrossLaps 47
Abbildung 16: Änderungen der Plasmakonzentrationen des Osteocalcins: Korrelation mit den Differenzen der β-CrossLaps 48
Abbildung 17: Änderungen der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps bei Patienten unter Therapie mit Vitamin D und Vitamin D-Analoga 49
Abbildung 18: Intraindividuelle Variation der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps 52
Abbildung 19: Elimination der β-CrossLaps durch Hämodialyse: Reduktionsraten 54
Abbildung 20: Elimination der β-CrossLaps durch Hämodialyse: Massenbilanz 54

Tabellen

Tabelle I: Klassifikation der renalen Osteopathie nach Delling 9
Tabelle II: Histologische Klassifikation der renalen Osteopathie (nach Hruska) 9
Tabelle III: Klassifikation der renalen Osteopathie nach histomorphometrischen Kriterien 10
Tabelle IV: Nomenklatur der Formations- und Resorptionsmarker des Knochens 14
Tabelle V: Dialysatoren (Untersuchungen der Longitudinal-Beobachtung) 34
Tabelle VI: Dialysatoren (Untersuchungen zur Kurzzeitvariabilität) 35
Tabelle VII: Verteilung der β-CrossLaps bei Hämodialysepatienten 39
Tabelle VIII: Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps in Abhängigkeit von der Restdiurese 40
Tabelle IX: Parameter des Knochenstoffwechsels (Gesamtkollektiv der Hämodialysepatienten) 41
Tabelle X: Differenzen der Parameter des Knochenstoffwechsels zwischen beiden Untersuchungsterminen: Größte absolute und prozentuale Zunahmen und Rückgänge 45
Tabelle XI: Patientenpopulation, Aufteilung nach Zeitpunkt des Dialysebeginns und der Höhe der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps 50
Tabelle XII: Variabilität der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps bei Untersuchung an fünf aufeinander folgenden Behandlungstagen 51

1 Einleitung

Chronische Nierenerkrankungen weisen in allen westlichen Industrieländern eine steigende Inzidenz [49-51;90;91] und Prävalenz auf, nicht zuletzt wegen des dramatischen Anstiegs der allgemeinen Inzidenz des Diabetes mellitus (insbesondere des Typs 2). Die Prävalenz der diabetischen Nephropathie liegt aktuell bei 36% [51] aller Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz. Durch die zunehmende Lebenserwartung unter chronischer Dialysebehandlung und nach Transplantation stehen auch die Folgeerkrankungen (unter anderem kardiovaskuläre Erkrankungen, Anämie und renale Osteopathie), die sich auch wechselseitig beeinflussen, im Blickpunkt anhaltenden Interesses.

Diagnose und Therapie der renalen Osteopathie sind nach wie vor Gegenstand intensiver Diskussion. Die diagnostischen Mittel sehen neben dem Goldstandard des histologischen Nachweises der verschiedenen Formen der renalen Osteopathie mittels Knochenbiopsie [85] die Evaluation direkter und indirekter laborchemischer Parameter des Knochenstoffwechsels vor [23;25;46;57;82;128].

In jüngerer Zeit sind zahlreiche neuere Methoden entwickelt worden, mit denen spezifische Marker der Knochenformation und seiner Degradation nachgewiesen werden konnten [17-19;22;39;61;63;75]. Diese Parameter haben bereits weite Verbreitung gefunden sowohl in der Diagnostik wie auch in der Überwachung der Therapie klassischer metabolischer Knochenerkrankungen, z.B. der Osteoporose [53;64;113;114], des M. Paget [60] oder bei Tumor-Erkrankungen mit ossärer Metastasierung [16;60;79;102].

Der Einsatz dieser neuen diagnostischen Verfahren bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz und renaler Osteopathie ist bislang nur teilweise evaluiert. Der diagnostische Wert dieser Methoden ist durch zahlreiche Störfaktoren limitiert. Hierzu zählen von der Nierenfunktion unabhängige Faktoren wie Alter, Geschlecht oder circadiane Rhythmen. Bei zunehmender chronischer und terminaler Niereninsuffizienz ist zusätzlich die Beeinflussung durch verminderte renale Elimination bei zunehmendem Abfall der glomerulären Filtrationsrate [46] wie auch eine mögliche Beeinflussung durch das gewählte Nierenersatzverfahren zu berücksichtigen. Bevor eine Beurteilung ihrer diagnostischen Wertigkeit in der Abgrenzung und Differenzierung der verschiedenen Formen der renalen Osteopathie im Vergleich mit anderen etablierten Diagnoseverfahren möglich ist, erscheint die Kenntnis des veränderten

Verhaltens dieser Parameter bei zunehmender Niereninsuffizienz und Dialysebehandlung von entscheidender Bedeutung.

1.1 Renale Osteopathie

1.1.1 Definition

Der Terminus der renalen Osteopathie (Synonym: renale Osteodystrophie) ist ein Oberbegriff für eine heterogene Gruppe metabolischer Knochenerkrankungen [72;85], die bei zunehmender chronischer Niereninsuffizienz regelhaft auftreten. Im engeren Sinne beschreibt der Begriff der renalen Osteopathie die histologisch nachweisbaren morphologischen Veränderungen des Knochens auf struktureller und zellulärer Ebene [83;85]. Im weiteren Sinne umfasst dieser Begriff jedoch auch die klinischen Symptome und die hiermit assoziierten metabolischen Veränderungen.

Bereits eine leichte Einschränkung der Nierenfunktion (Abfall der glomerulären Filtrationsrate (GFR) auf 60–90 ml/min/1,73 m²) führt zu einem Anstieg des intakten Parathormons [103;109]. Es ist somit einer der frühesten Marker des gestörten Knochenmetabolismus. Bei einer mittelschweren Einschränkung der Nierenfunktion (Kreatinin-Clearance von weniger als 15 - 50 ml/min/1,73 m²) weisen 75% der Patienten histologische Zeichen eines gestörten Knochenumbaus auf [65]. Zum Zeitpunkt des Dialysebeginns bestehen bei allen Patienten histologische Knochenveränderungen [35;127].

In den Leitlinien der National Kidney Foundation („K/DOQI: Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease“, Leitlinie 10) wird daher gefordert, dass bereits bei Patienten mit einem Abfall der GFR auf < 60 ml/min/1,73 m² Untersuchungen des Knochenstoffwechsels erfolgen sollen und gegebenenfalls therapeutische Maßnahmen einzuleiten sind [93].

In den ersten umfassenden Leitlinien zur Behandlung von Knochenerkranungen bei chronischer Niereninsuffizienz („K/DOQI: Clinical Practice Guidelines for Bone Metabolism and Disease in Chronic Kidney Disease“) [37] wird zur exakten Diagnosestellung des Typs der vorliegenden Knochenerkrankung weiterhin die Auswertung einer Knochenbiopsie mit histomorphometrischer Analyse als Goldstandard angesehen. Dennoch wird die Durchführung der Knochenbiopsie im

klinischen Alltag nicht regelhaft als notwendig erachtet und auch weiterhin speziellen Fragestellungen vorbehalten bleiben (Leitlinie 2). Für die Überwachung des Knochenstoffwechsels wird die regelmäßige Bestimmung der Serumspiegel von Calcium, Phosphat und intaktem Parathormon gefordert (Leitlinie 1), und bei einer Erhöhung des Parathormons über die bei den verschiedenen Stadien der Niereninsuffizienz gesetzten Zielspiegel wird die Bestimmung der Vitamin-D-Spiegel [25(OH)-Vitamin D im Serum] empfohlen (Leitlinie 7). Die diagnostische Wertigkeit weiterer Parameter des Knochenstoffwechsels wird noch als gering angesehen

1.1.2 Knochenstoffwechsel

Der gesunde Knochen unterliegt einem ständigen Umbauprozeß („Remodelling"), in dem Auf- und Abbauvorgänge in sich wiederholenden Zyklen ablaufen. Die Balance dieses Prozesses wird durch zahlreiche Faktoren beeinflusst. Neben genetischen Einflüssen spielen Alter, Geschlecht und hiermit verbunden hormonelle Faktoren eine Rolle. Darüber hinaus sind der Calcium- und Phosphathaushalt von entscheidender Bedeutung ebenso wie äußere Einflussgrößen (z.B. adäquate Ernährung, körperliche Bewegung, Belastung des Skeletts).

Durch das sich laufend fortsetzende Remodelling ist der Knochen in der Lage, sich an veränderte biomechanische Erfordernisse ebenso anzupassen wie den Erhalt der Knochenmasse zu gewährleisten und Mikrofrakturen zu beseitigen. Physiologischerweise werden 3-10% des Knochens pro Jahr durch die koordinierten Umbauprozesse ersetzt [113].

Der Prozess des Remodellings [71;72;128] kann in 4 Phasen eingeteilt werden: Ruhephase, Resorptionsphase, Umschaltphase und Formationsphase. Die Neubildung von Knochen erfolgt dabei nur an den Stellen, an denen zuvor resorptive Prozesse stattgefunden haben, so dass unter physiologischen Bedingungen ein Äquilibrium zwischen Resorption und Formation besteht.

In der **Ruhephase** ist die neu gebildete Knochenoberfläche (Osteoid und Geflechtknochen) bedeckt von differenzierten, weitgehend inaktiven Osteoblasten (Belagzellen oder „lining cells"). Der ruhende Anteil der Knochenoberfläche beträgt normalerweise etwa 80 % [86;95].

Die Aktivierung des Umbauzyklus erfolgt unter der Wirkung von Parathormon (PTH), aber auch Interleukin 1 (IL 1) und Tumornekrosefaktor α (TNFα), die osteoblastische Vorläuferzellen und Knochenmarks-Stromazellen stimulieren. Osteoblasten und ihre Vorläuferzellen stammen von pluripotenten mesenchymalen Stammzellen ab, während die Osteoklasten aus der hämatopoetischen Granulozyten-Makrophagen Zelllinie (CFU – „colony forming unit“) abstammen [6;29;112].

Durch die Freisetzung weiterer Zytokine aus diesen aktivierten Präosteoblasten werden osteoklastische Vorläuferzellen zur Proliferation und Differenzierung stimuliert. Zu diesen Zytokinen zählt der Granulozyten-Makrophagen Kolonie-stimulierende Faktor (GM-CSF), der Makrophagen Kolonie-stimulierende Faktor (M-CSF), Interleukin 6 (IL 6) und Interleukin 11 (IL 11). PTH, TNFα, IL 1 und Calcitriol stimulieren jedoch auch direkt die späte Differenzierung der Osteoklasten. Ein weiteres Zytokin-System ist RANK/RANKL/OPG (receptor activator of NF-κB, receptor activator of NF-κB ligand und Osteoprotegerin). Hierbei fördert RANK die Differenzierung der Osteoklasten, während Osteoprotegerin (OPG) eine hemmende Wirkung auf die Osteoklastendifferenzierung ausübt [55;70]. Zahlreiche Matrixproteine, die aus rupturierter Knochenoberfläche freigesetzt werden, entfalten lokal eine chemotaktische Wirkung auf die Osteoklasten. Hierzu zählen Osteocalcin und Osteopontin („bone sialoprotein I“).

Der funktionsfähige Osteoklast ist eine multinukleäre Zelle, die eine hochpolarisierte Struktur aufweist [101]. In der **Resorptionsphase** kommt es über Zell-Matrix-Interaktionen (Integrin $\alpha_v\beta_3$) zu einer festen (für Ionen impermeablen) Verankerung der Osteoklasten mit der Knochenoberfläche und Ausbildung der Resorptionszone. Die resorptive Aktivität entfalten die Osteoklasten über die der Knochenoberfläche zugewandte zerklüftete Membran, die über eine vakuoläre Protonenpumpe (H^+-ATPase) ein saures Milieu in der Resorptionszone aufbaut. Den Hauptanteil der mineralisierten, anorganischen Komponente des Knochens stellt Hydroxyapatit dar, das in niedrigen pH-Bereichen aus dem Knochen gelöst wird. Lysosomale Proteasen führen zur Degradation von Kollagen Typ I und anderen Matrixproteinen, die die organische Komponente des Knochenbälkchens bilden [131]. Die Abbauprodukte werden nach ihrer Endozytose u. a. durch die Tartrat-resistente saure Phosphatase Isoform 5b (TRAcP 5b) durch Dephosphorylierung weiter degradiert. Bei der anschließenden Exozytose über die apicale Membran werden TRAcP und die Degradationsprodukte über das Knochenmark in den Blutkreislauf sezerniert [62].

In der **Umschaltphase** kommt es durch die Wirkung der Osteoklasten auf den Knochen zur Freisetzung von Calcium, gleichzeitig werden weitere Zytokine aktiviert, die sowohl die Osteoklastenfunktion inhibieren als auch als Wachstumsfaktoren für die Osteoblasten fungieren. Hierzu zählen der transforming growth factor β (TGFβ) und Fibroblastenwachstumsfaktoren (FGF). Die Osteoklastenaktivität nimmt ab, und der Ablösung der Osteoklasten von der Knochenoberfläche folgt ihre Apoptose.

Die **Formationsphase** beginnt mit der Differenzierung der Osteoblasten. Aus unspezialisierten Mesenchymzellen des Knochenmarks bilden sich unter dem Einfluss von PTH und insulin-like growth factor I (IGF I) osteoblastäre Vorläuferzellen. Diese proliferieren und differenzieren – maßgeblich unter der Wirkung von Calcitriol – zu reifen Osteoblasten. In der vormaligen Resorptionslakune führen die reifen Osteoblasten zur Neubildung von Matrix (Osteoid) und Mineralisation sowie zur Ausbildung reifen, lamellären Knochens.

1.1.3 Knochenstoffwechsel bei chronischer Niereninsuffizienz

1.1.3.1 Sekundärer Hyperparathyreoidismus

Einer der entscheidenden Faktoren in der Entstehung der renalen Osteopathie ist die Entwicklung des sekundären Hyperparathyreoidismus (sHPT) (Übersichten bei [33;81;122]). Die Assoziation von sekundärem Hyperparathyreoidismus und Nierenerkrankungen ist seit Ende der 60-iger Jahre bekannt [5;110] und in den letzten Jahren konnten zahlreiche Mechanismen in der Entstehung des sHPT aufgeklärt werden.

Beim Menschen wird die Sekretion von Parathormon (PTH) durch Calcium, Phosphat und Calcitriol (1α,25 $(OH)_2$-D_3, Vitamin D_3) reguliert (Abbildung 1, [122]). Durch zunehmende Nephrondestruktion entsteht ein Mangel der in den Tubuluszellen gebildeten 1α-Hydroxylase, der konsekutiv zu einer verminderten Verfügbarkeit der aktiven Form des Vitamin D_3 führt. Zusätzlich (wenn auch in geringerem Maße) wirkt sich die Hyperphosphatämie hemmend auf die Aktivität der 1α-Hydroxylase aus.

Der Mangel an aktivem Vitamin D_3 reduziert die intestinale Calcium-Absorption und begünstigt die Entwicklung der Hypocalcämie. An den Parathyroideazellen führt der Calcitriolmangel zu verminderter Expression des Vitamin-D-Rezeptors und hierdurch zu einer Verminderung der Suppression der Parathormon-Synthese. Darüber hinaus

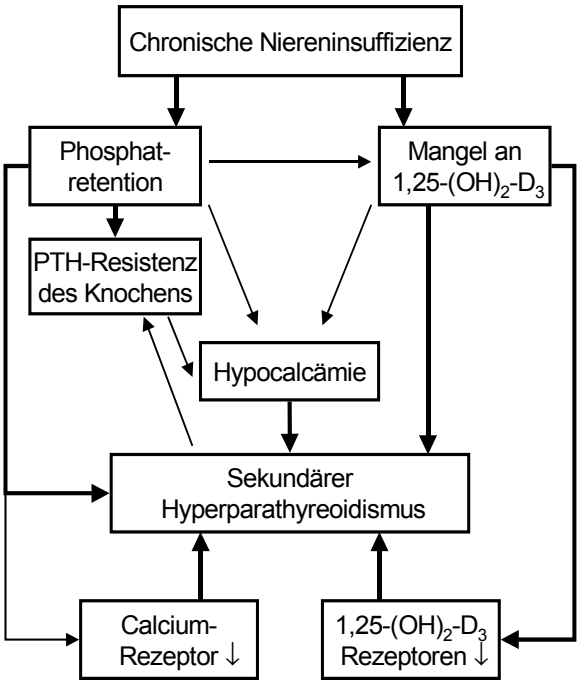

Abbildung 1: Pathogenese des sekundären Hyperparathyreoidismus [122]

entfaltet Calcitriol direkte Wirkungen am Knochen durch die Förderung der Differenzierung von Osteoblasten. Diese Differenzierung ist entscheidend für die Fähigkeit der Osteoblasten, die gebildete Matrix zu mineralisieren. Hieraus resultiert, dass ein Mangel an Calcitriol am Knochen zu einer überwiegenden Störung der Knochenmineralisation führt.

Bei chronischer Niereninsuffizienz (Abfall der GFR auf < 25 ml/min/1,73 m²) entwickelt sich neben dem Vitamin D_3-Mangel eine zunehmende Hyperphosphatämie infolge verminderter renaler Phosphatexkretion. Die Hyperphosphatämie begünstigt ebenfalls die Entwicklung der Hypocalcämie, hemmt die Bildung des aktiven Hormons 1,25-Vitamin D_3 (Calcitriol) und dessen Wirkung. Darüber hinaus entfaltet Phosphat jedoch auch einen direkten stimulierenden Effekt an den Parathyroideazellen, der sowohl von der Hypocalcämie wie auch von der Vitamin D_3-Wirkung unabhängig ist [122]. Die durch die Hyperphosphatämie ausgelöste Hyperplasie der Parathyroideazellen ist irreversibel, wenn auch durch Absenkung der Serum-Phosphat-Spiegel eine Reduktion der PTH-Sekretion erzielt werden kann [123]. Daher kommt der frühzeitigen Beeinflussung des Calcium-Phosphat-Stoffwechsels eine entscheidende Rolle zu.

Die Hypocalcämie als Folge von Vitamin D_3-Mangel und Hyperphosphatämie tritt oft erst spät im Verlauf der chronischen Nierenerkrankung auf und ist gelegentlich nur diskret ausgeprägt. Eine Reduktion der Konzentration des ionisierten extrazellulären Calciums führt innerhalb von Sekunden zu einer Zunahme der PTH-Sekretion aus intrazellulären Speichern. Im Verlauf von Wochen und Tagen wird auch die PTH-Synthese gesteigert und die intrazelluläre Degradation von PTH reduziert. Bei Persistenz der Hypocalcämie über Wochen und Monate entwickelt sich schließlich eine Zellproliferation der Parathyroideazellen (Übersicht bei [33;81]).

Die klinische Bedeutung des gestörten Calcium-Phosphat-Haushaltes und des sekundären Hyperparathyreoidismus liegt nicht nur in seinen negativen Auswirkungen auf den Knochen oder der Entwicklung extraossärer Verkalkungen oder einer Calciphylaxie [80]. Zahlreiche Untersuchungen der letzten Jahre bestätigen, dass die Exzessmortalität der Dialysepatienten signifikant mit unzureichend kontrollierter Hyperphosphatämie und erhöhtem Calcium-Phosphat-Produkt korreliert [9]. Neben der Kalzifizierung koronarer Plaques entwickeln sich Verkalkungen der Herzklappen und des Myokards ebenso wie eine diffuse myokardiale Fibrose [2;13;56;80].

Die anzustrebenden Grenzwerte bei Dialysepatienten wurden dementsprechend streng festgelegt (Zielspiegel für Serum-Calcium 9,2 – 9,6 mg/dl ≅ 2,3 – 2,4 mmol/l, Serum-Phosphat 2,5 – 5,5 mg/dl ≅ 0,8 – 1,8 mmol/l und Calcium-Phosphat-Produkt 55 mg²/dl² ≅ 4,3 mmol²/l²) [8;10]. Unter der gängigen Dialysebehandlung sind die begleitenden diätetischen und medikamentösen Maßnahmen jedoch oft schwierig umzusetzen [34]; 60% aller Dialysepatienten weisen nach wie vor Serum-Phosphat-Spiegel von > 5,5 mg/dl (1,8 mmol/l) auf und bei > 40% liegt das Calcium-Phosphat-Produkt oberhalb von 60 mg²/dl² [10].

1.1.3.2 Veränderung des Knochenstoffwechsels bei chronischer Niereninsuffizienz

Die Effekte der gesteigerten Parathormonwirkung auf den Knochen und das Knochenremodelling bei zunehmender Niereninsuffizienz sind vielfältig. Einerseits entfaltet PTH katabole Effekte über die Aktivierung der Osteoklasten, die Inhibition der Osteoblastendifferenzierung und die Inhibition der Kollagensynthese. Andererseits beruhen die osteoanabolen Effekte des Parathormons auf der Fähigkeit des PTH, die Zahl der aktiven, knochenbildenden Osteoblasten zu vergrößern, in dem die Entdifferenzierung osteoblastischer lining cells gefördert wird. Eine mitogene Wirkung entfaltet PTH an den differenzierten Osteoblasten nicht. PTH wirkt jedoch vermutlich mitogen auf in ihrer Differenzierung noch nicht festgelegte osteoblastische Vorläuferzellen, die sich in Richtung fibroblastischer Zellen weiterentwickeln und für die Ausbildung der typischen Knochenmarksfibrose verantwortlich sind (Übersicht bei [71]).

Darüber hinaus spielen Zytokine eine entscheidende Rolle in der Ausbildung der verschiedenen Formen der renalen Osteopathie. Zytokine sind bei Dialysepatienten in

der Regel deutlich erhöht und die Balance zwischen Zytokinen und ihren spezifischen Inhibitoren ist gestört [32;99]. Eine Vielzahl negativer Effekte (u. a. inflammatorische Prozesse, verminderte Immunantwort) wird mit der Wirkung der Zytokine assoziiert [100].

TNFα und IL 1, die die Aktivierung des Remodellings mit auslösen, können bei urämischen Patienten in hohen Konzentrationen nachgewiesen werden [47;68], wobei neben der reduzierten renalen Clearance auch die Hyperphosphatämie die Bildung z.B. von TNFα fördert [12]. IL 6, das die Differenzierung der Osteoklasten fördert, findet sich bei Patienten mit fortgeschrittener Niereninsuffizienz und Nierenversagen deutlich erhöht [47;69]. Erhöhte Spiegel wurden auch für Osteoprotegerin bei urämischen Patienten gefunden, ohne dass die genaue Wirkung des RANK/RANKL/OPG Systems bei den verschiedenen Formen der renalen Osteopathie bislang bekannt ist [76]. Die Osteoblasten supprimierenden Faktoren und somit möglicherweise bedeutsam in der Entwicklung der adynamen Knochenerkrankung sind Interleukin 11 (IL 11) und Interleukin 4 (IL 4) [71].

1.1.4 Histologische Klassifikation der renalen Osteopathie

Mit der breiten Einführung der Dialysebehandlung in die Therapie der terminalen Niereninsuffizienz zu Beginn der 70-iger Jahre wurden zunehmend schwere Formen der renalen Osteopathie diagnostiziert; zunächst überwog die klassische Osteitis (Ostitis) fibrosa als prädominante Erkrankung (67%) neben osteomalazischen Formen (24%) und gemischten Störungen (9%) [120]. Eine klassische Einteilung der renalen Osteopathie findet sich bei Delling [30] (Tabelle I).

Im Laufe der folgenden beiden Dekaden wurde zunehmend eine weitere Sonderform der renalen Osteopathie beobachtet mit gering ausgeprägtem Remodelling im Sinne eines adynamen Knochens. Ätiologisch ließ sich diese adyname Knochenerkrankung auf zunehmende Aluminiumablagerungen zurückführen [3], verursacht zum einen durch die hochdosierte Gabe aluminiumhaltiger Phosphatbinder und durch teilweise hohe Konzentrationen von Aluminium in der Dialysierflüssigkeit.

Nach Aufklärung der pathophysiologischen Probleme im Zusammenhang mit der hohen Aluminiumexposition auf den Knochen (aber auch auf andere Organsysteme), wurde der Einsatz aluminiumhaltiger Phosphatbinder reduziert wie auch die Aluminiumbelastung der Dialysierflüssigkeit streng begrenzt.

Tabelle I: Klassifikation der renalen Osteopathie nach Delling [30]

Typ	Histologie	Ursache
I	Fibroosteoklasie	Sekundärer Hyperparathyreoidismus
II	Osteoidose	Mineralisationsstörung
III	Fibroosteoklasie und Osteoidose	Sekundärer Hyperparathyreoidismus und Mineralisationsstörung
	Endostaler Spongiosaumbau	
a	reduziert = „low turnover“	
b	normal bis gering erhöht	
c	stark erhöht = „high turnover“	
	Knochenmasse	
-	vermindert (Osteopenie)	
+	vermehrt (Osteosklerose)	

Zahlen über die Prävalenz der verschiedenen Formen der renalen Osteopathie variieren deutlich [73;84;98;121], dennoch wird seit Ende der 80-iger Jahre eine kontinuierliche Zunahme des Auftretens einer Form der adynamen Knochenerkrankung (häufig synonym als „low turnover“ - Osteopathie) beschrieben, die ätiologisch nicht auf eine Aluminiumüberladung zurückzuführen ist [28]. Einteilungen nach der prädominanten klinischen Erscheinungsform berücksichtigen diese Form der renalen Osteopathie als eigenständige Entität (Tabelle II und III) [3;72;121].

Tabelle II: Histologische Klassifikation der renalen Osteopathie (nach Hruska, NEJM, 1995 [72])

Erkrankung	Beschreibung	Pathogenese
Ostitis fibrosa	Peritrabekuläre Fibrose, Erhöhtes Remodelling – Resorption und Formation –	sek. Hyperparathyreoidismus, sekundäre Rolle von Zytokinen und Wachstumsfaktoren
Osteomalazie	Vermehrte Bildung von Osteoid, defekte Mineralisation	Aluminiumablagerungen, unbekannte Faktoren
Gemischte Störungen	Zeichen sowohl der Ostitis fibrosa als auch der Osteomalazie	sek. Hyperparathyreoidismus, Aluminiumablagerungen, unbekannte Faktoren
Milde Störung	Gering gesteigertes Remodelling	Beginnender oder behandelter Hyperparathyreoidismus
Adyname Knochenerkrankung	Hypozelluläre Knochenoberfläche, kein Remodelling	Aluminiumablagerungen, PTH-Suppression, andere Faktoren

Tabelle III: Klassifikation der renalen Osteopathie nach histomorphometrischen Kriterien [3;121]

Erkrankung	**Knochenformationsrate (µm²/mm² Gewebefläche/Tag)**	**Osteoidfläche (%)**	**Fibrose (%)**
Ostitis fibrosa	> 108	< 15%	> 0,5%
Osteomalazie	< 108	> 15%	< 0,5%
Gemischte Störungen	> 108	> 15%	> 0,5%
Milde Störung	> 108	< 15%	< 0,5%
Adyname Knochenerkrankung	< 108	< 15%	< 0,5%

1.1.4.1 Ostitis fibrosa

Die Ostitis fibrosa als klassische Form der renalen Osteopathie [71;72] wird hauptsächlich verursacht durch einen prädominanten sekundären Hyperparathyreoidismus. Die Wirkung des PTH auf den Knochen wird durch die Wirkung von Zytokinen[47;55;68], einen Mangel an Calcitriol und die chronische metabolische Azidose [15;89] verstärkt. PTH fördert die Markfibrose durch eine positive Wirkung auf die Fibroblastogenese. Das Remodelling findet seinen Ausdruck in einer vermehrten Zahl und gesteigerter Aktivität der Osteoklasten als Zeichen vermehrter Resorption. Die vermehrte Knochenformation („high bone turnover“) beruht auf der höheren Zahl aktiver Osteoblasten mit gesteigerter Bildung von Osteoid und nicht-lamellärem Knochen. Dieser mineralisierte, aber nicht-lamelläre unreife Geflechtknochen ist gekennzeichnet durch eine unregelmäßige, nicht-fibrilläre Ablagerung der Kollagenmoleküle. Er ist wesentlich instabiler als reifer, lamellärer Knochen (mit fibrillärer Kollagenablagerung) und begünstigt das Auftreten von Mikrofrakturen. Darüber hinaus ist das normalerweise vorliegende Äquilibrium des Remodellings bei der renalen Osteopathie dahingehend gestört, dass die resorptiven Prozesse überwiegen. Dieser Unterschied verstärkt sich mit zunehmendem Alter, so dass in späten Stadien eine Osteopenie die Schwere der renalen Knochenerkrankung weiter aggraviert.

Klinisch ist diese Form der renalen Osteopathie oft lange asymptomatisch. Neben Knochenschmerzen und Spontanfrakturen können auch eine Myopathie oder ein ausgeprägter Pruritus als extraossäre Manifestationen des sekundären Hyperparathyreoidismus im Vordergrund des klinischen Bildes stehen.

1.1.4.2 Osteomalazie

Die isolierte Form der Osteomalazie in ihrer speziellen renalen Ausprägung wird in den letzten Jahren, zumindest in den westlichen Industrieländern, zunehmend seltener beobachtet (circa 4%) [28]. Neben einer niedrigen Knochenumbaurate wird im Gegensatz zur adynamen Knochenerkankung ein Mineralisationsdefekt beobachtet mit vermehrter Bildung von Osteoid (nicht-mineralisierter Matrix). Der Mineralisationsdefekt kann durch Aluminium und andere Metalle (Cadmium, Strontium [28]) ausgelöst werden. Darüber hinaus wird die metabolische Azidose als weiterer wichtiger Faktor diskutiert [15], ohne dass ein direkter Effekt gesichert werden konnte. Der Typ der renalen Osteomalazie ist nicht vergleichbar mit der klassischen Osteomalazie infolge Vitamin D_3-Mangels, denn ein Calcitriol-Mangel konnte als Ursache der Osteomalazie nicht verifiziert werden. Möglicherweise steht ein Mangel an 25(OH) Vitamin D_3 in Zusammenhang mit der gestörten Mineralisation (Übersicht bei [15]).

Die klinischen Symptome der Osteomalazie sind Knochenschmerzen bei Belastung (mit Betonung des Achsenskelettes) und Gelenkbeschwerden der großen Gelenke sowie eine erhöhte Frakturanfälligkeit und das Auftreten von Knochendeformitäten.

1.1.4.3 Adyname Knochenerkrankung

Eine seit Ende der 80-iger Jahre zunehmend beobachtete Form der renalen Osteopathie ist die adyname Knochenerkrankung (oder häufig synonym als „low turnover“ Erkrankung bezeichnet). Auch bei dieser Form der Osteopathie steht die reduzierte Zahl der Osteoblasten und Osteoklasten mit deutlich reduzierter Knochenformationsrate im Vordergrund. Im Gegensatz zur Osteomalazie verläuft die Mineralisation jedoch mit normaler Rate, so dass die Menge an unverkalktem Osteoid nicht gesteigert ist [15].

Die Ursachen für das vermehrte Auftreten dieser Form der Osteopathie sind nicht befriedigend geklärt. Häufig finden sich sehr niedrige PTH-Spiegel, die im Sinne eines „relativen“ Hypoparathyreoidismus zu werten sind. Daher werden Ziel-Spiegel für das intakte Parathormon bei Dialysepatienten derzeit mit dem zwei- bis dreifachen normaler Werte angestrebt. Darüber hinaus spielt möglicherweise die Supplementation mit calcium-haltigen Phosphatbindern und die Gabe von Vitamin D_3 oder seiner

Analoga eine entscheidende Rolle. Weitere Faktoren, die mit dem Auftreten einer adynamen Knochenerkrankung assoziiert sind, sind höheres Alter, männliches Geschlecht und Diabetes mellitus [84;121]. Auch das gewählte Dialyseverfahren scheint einen nicht unerheblichen Einfluss auf die prädominante Form der renalen Osteopathie zu haben [27;127], wobei die höhere und dauerhafte Calcium-Supplementation im Dialysat mit der erhöhten Prävalenz der adynamen Knochenerkrankung bei CAPD-Patienten in Zusammenhang gebracht wird. Nicht zuletzt ist die Rolle der Zytokine bei adynamer Knochenerkrankung nur unzureichend evaluiert.

Auch bei der adynamen Knochenerkrankung stehen Knochenschmerzen und die erhöhte Frakturrate im Vordergrund des klinischen Bildes. Häufig besteht eine Tendenz zur Hypercalcämie selbst bei Gabe geringer Mengen calciumhaltiger Phosphatbinder.

1.2 Marker des Knochen-Umsatzes bei renaler Osteopathie

Während der letzten 10 Jahre wurden zahlreiche Verfahren etabliert zum Nachweis zirkulierender biochemischer Marker des Knochen-Umsatzes. Eine zunehmende Bedeutung haben diese Parameter gewonnen in der Behandlung von Patienten mit metabolischen Knochenerkrankungen [134]. Sie werden heute vor allem eingesetzt zur Diagnose und Überwachung einer antiresorptiven Therapie der Osteoporose [53;113] sowie in der Diagnostik von Knochenmetastasen [16;79;102] und bei multiplem Myelom [38;125]. Auch bei selteneren Krankheitsbildern des Knochenstoffwechsels wie primärem Hyperparathyreoidismus und M.Paget [119;133] und rheumatologischen Erkrankungen [1;58] wurden verschiedene Parameter evaluiert.

Die Klassifikation der verschiedenen Marker des Knochen-Umsatzes kann nach der Zugehörigkeit zu ihrem biologischen Kompartiment erfolgen:

- Parameter der zellulären Enzymaktivität (Marker der Osteoblasten- und Osteoklastenaktivität).
- Komponenten, die während der Formation und der Resorption der organischen Knochenmatrix entstehen und in die Zirkulation gelangen.
- Parameter der anorganischen Knochensubstanz (Calcium und Phosphat).

Der „ideale biochemische Marker des Knochen-Umsatzes sollte knochenspezifisch sein, die vollständige Aktivität des Knochens reflektieren und gut mit histomorphometrischen Ergebnissen zu korrelieren sein“ [46]. Dies ist gerade im Fall der renalen Osteopathie schwierig, da neben allgemeinen Faktoren wie Alter, Geschlecht oder Ernährung die Schwere der Niereninsuffizienz, die damit verbundene verminderte Clearance oder das Dialyseverfahren Einfluss auf die Serum- oder Plasmakonzentrationen dieser Parameter nehmen.

Sowohl die bei Niereninsuffizienz intensiv untersuchten Parameter als auch neuere Entwicklungen werden im Folgenden dargestellt (Tabelle IV, modifiziert nach [31]).

Tabelle IV: Nomenklatur der Formations- und Resorptionsmarker des Knochens [31]

Marker der Knochenformation	**Abkürzung**	
Osteocalcin		
Osteocalcin (bone gla protein)	OC	
Untercarboxyliertes Osteocalcin	ucOC	
Totales Osteocalcin	Total OC	Intaktes und N-mid Osteocalcin
Intaktes Osteocalcin	OC[1-49]	
N-mid Fragment des Osteocalcins	OC[1-43]	
Alkalische Phosphatase		
Totale alkalische Phosphatase	total ALP, tAP	
Alkalische Phosphatase des Knochens	bone ALP, bAP	
Propeptide des Typ I Kollagens		
N-terminales Propeptid des Typ I Pro-Kollagens	PINP	
C-terminales Propeptid des Typ I Pro-Kollagens	PICP	

Marker der Knochenresorption	**Abkürzung**	
Pyridinoline		
Pyridinolin	PYD	nachweisbar als totale, freie oder peptidgebundene Formen
Deoxypyridinolin	DPD	
Telopeptide des Typ I Kollagens		
N-terminales Telopeptid des Typ I Kollagens	NTX, NTX-I	
C-terminales Telopeptid des Typ I Kollagens	CTX, CTX-I	Assays für α- und β-isomerisierte Formen, meist β-CTX.
Metalloproteinase-generiertes C-terminales Telopeptid des Typ I Kollagens	CTX-MMP, ICTP	
Osteopontin („bone sialoprotein I“)	BSP	
Tartrat-resistente saure Phosphatase Isoform 5b	TRAcP 5b	

1.2.1 Parathormon

Die biochemische Diagnose oder die Art des im Einzelfall vorliegenden histologischen Typs der renalen Osteopathie beruhte lange Zeit allein auf der Messung des (intakten) Parathormons (iPTH) im Plasma [128]. Es hat eine relativ gute Korrelation mit histomorphometrischen Parametern [116;121]. Dennoch ist die Bestimmung von Parathormon allein oft nicht hinreichend für die endgültige Diagnose der Form der Osteopathie, denn es reflektiert im Wesentlichen den Grad der parathyreoidalen Überfunktion. Darüber hinaus hat sich gezeigt, dass aufgrund der Resistenz des Knochens gegenüber der PTH-Wirkung das normale Verhältnis zwischen Knochenformationsrate und PTH aufgehoben ist [122]. Vor allem im Bereich zwischen 65 und 450 pg/ml ist der prädiktive Wert für die zugrunde liegende Form der Knochenerkrankung niedrig [108].

Möglicherweise werden mit den derzeit verwendeten radioimmunologischen Methoden die Werte des „realen“, aktiven PTH überschätzt. Neuere Tests messen neben dem aktiven humanen (1-84)-PTH auch potentiell inhibierend wirkende (7-84)-PTH-Fragmente [14;124]. Inwieweit die Differenzierung dieser PTH-Fragmente sinnvoll für die Diagnostik der Unterformen der renalen Osteopathie eingesetzt werden kann, ist derzeit noch Gegenstand der Diskussion.

1.2.2 Knochen-spezifische Alkalische Phosphatase

Das knochenspezifische Isoenzym der alkalischen Phosphatase („bone alkaline phosphatase“, bAP) hat sich als ein guter Marker der Knochenformation auch bei Hämodialysepatienten etabliert [23;130]. Werte der bAP von > 20 ng/ml (Ostase®-IRMA) sind konstant assoziiert mit sekundärem Hyperparathyreoidismus oder „high bone turnover“. Die Korrelation der bAP mit histomorphometrischen Parametern ist besser als die des iPTH. Bei einer Dissoziation zwischen den beiden Parametern iPTH und bAP, die zahlreiche Ursachen haben kann [128], ist die Sensitivität der bAP höher als die des iPTH im Vergleich mit histomorphometrischen Daten und somit ein besserer Indikator des Knochenremodellings.

1.2.3 Osteocalcin

Osteocalcin ist ein nicht-kollagenes, Vitamin K-abhängiges Protein der Knochenmatrix, das ausschließlich von Osteoblasten und Odontoblasten unter der Wirkung von Calcitriol gebildet und als Regulationsfaktor der Knochenformation angesehen wird [52;53;128]. Das Molekül entfaltet sowohl indirekt über eine Interaktion mit PTH und möglicherweise auch direkt eine inhibierende Wirkung an den Osteoblasten. Intaktes Osteocalcin, OC[1-49], das im Serum zirkuliert, wird durch verschiedene Proteasen rasch gespalten. Hauptsächlich erfolgt die Proteolyse durch Plasmin, mit Entstehung eines N-terminalen Fragmentes (N-mid Osteocalcin, OC[1-43]) und eines C-terminalen Peptids. Das N-terminale Fragment ist sowohl in vivo als auch in vitro wesentlich stabiler als das intakte Osteocalcin, so dass Tests zur Bestimmung des Osteocalcins im Wesentlichen gegen Epitope dieser Spaltprodukte gerichtet sind. Intaktes Osteocalcin macht etwa ein Drittel der im Serum vorkommenden Formen aus, ein weiteres Drittel das N-Terminale Fragment.

Das 49 Aminosäuren umfassende Peptid (MG 5800 Dalton) und seine Fragmente werden renal eliminiert. Bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz akkumulieren Osteocalcin und seine Fragmente, über deren Funktion bislang nichts bekannt ist. Zur Differenzierung eines „high bone turnover“ gegenüber einem normalen oder „low bone turnover“ hat sich Osteocalcin dennoch als valide erwiesen, nicht jedoch zur Abgrenzung einer adynamen Knochenerkrankung [129].

1.2.4 Tartrat-resistente saure Phosphatase

Saure Phosphatasen werden wie alkalische Phosphatasen von zahlreichen Organen in verschiedenen Isoenzymen gebildet. Die Knochen-spezifische Tartrat-resistente saure Phosphatase (TRAcP 5b) wird von den Osteoklasten gebildet. Eine der biochemischen Aufgaben der TRAcP 5b ist die Dephosphorylierung von Knochenmatrixproteinen wie Kollagen und Osteopontin („bone sialoprotein“ I) [59;119]. Der Abbau des Enzyms erfolgt nach Inaktivierung in der Leber, so dass keine Interferenz durch eine verminderte renale Clearance besteht. Neue Immunassays messen spezifisch die aktive Isoform 5b der Tartrat-resistenten sauren Phosphatase, die nur von Osteoklasten in die Zirkulation sezerniert wird. Die in Makrophagen ebenfalls vorhandene TRAcP 5b ist nicht aktiv und wird von diesen Assays nicht erfasst. Bei nicht renalen metabolischen

Knochenerkrankungen ist der ELISA mittlerweile gut validiert [60;113]. Erste Analysen bei Dialysepatienten [75] und der Vergleich mit histomorphometrischen Befunden [20] weisen auf eine gute Korrelation dieses Parameters mit den histologischen Befunden der Osteoklastentätigkeit hin und lassen diesen auch für die renale Osteopathie als einen geeigneten Marker der Knochenresorption erscheinen.

1.2.5 Marker des Kollagenstoffwechsels

1.2.5.1 Kollagenbildung und -abbau

Die organische Matrix des Knochens besteht zu 90% aus Kollagen Typ I. 10% stellen nicht-kollagene Matrixproteine dar, zu denen Osteocalcin und Osteopontin zählen. Kollagen Typ I, das sich in Knochen und Bindegewebe findet, wird von aktivierten Osteoblasten (und Fibroblasten) überwiegend in ihrer Proliferationsphase gebildet und in den Extrazellulärraum sezerniert. In der Reifungsphase der Osteoblasten, in der das Kollagen in die Osteoidsäume eingelagert wird, überwiegt die Expression der alkalischen Phosphatase. In der Mineralisationsphase stellt Osteocalcin das Hauptprodukt der Osteoblasten dar [97].

Kollagen Typ I ist ein Heterotrimer aus drei Polypeptid-Ketten (α-Ketten), zwei α1-Ketten und einer α2-Kette, die eine Tripel-Helix ausbilden. Am Amino- und Carboxy-terminalen (N- und C-terminalen) Ende der Peptidketten befinden sich nicht-helicale Telopeptide (mit 16 bzw. 25 Aminosäuren), die für die Quervernetzung der Kollagen-Tripelhelix-Moleküle untereinander von entscheidender Bedeutung sind. Die Telopeptide stellen darüber hinaus die am meisten immunogen wirkenden Regionen des Kollagenmoleküls dar [117].

Die **Kollagenbildung** [104-106] beginnt **intrazellulär** mit der Synthese eines Prokollagen-Moleküls, wobei Pro-α1- und Pro-α2-Ketten gleichzeitig synthetisiert werden. Das N-terminale Propeptid des Typ I Pro-Kollagens (PINP) ist notwendig für den intrazellulären Transport ins endoplasmatische Retikulum. Von dort erfolgt der Weitertransport in den Golgi-Apparat und schließlich die Exozytose des Moleküls über spezifische sekretorische Vesikel. Das C-terminale Propeptid (PICP) ist Cystein-reich und bildet Disulfidbrücken zwischen jeweils drei α-Ketten aus. Die Ausbildung der Disulfidbrücken ist entscheidend für die Aggregation der α-Ketten und für die Entwicklung der Tripel-Helix.

Nach Exozytose des Prokollagen-Moleküls werden **extrazellulär** die beiden N- und C-terminalen Propeptide durch spezielle Proteasen abgespalten. Die Menge der Propeptide entspricht somit der Menge des neu gebildeten Kollagens.

Aufgrund unterschiedlicher hydrophober und hydrophiler Sequenzregionen mit negativen und positiven Ladungsschwerpunkten lagern sich die 280 nm langen Kollagenmoleküle jeweils mit einem Versatz von 70 nm zu pentameren Mikrofibrillen zusammen. Diese Parallelaggregation wird durch die Ausbildung von Quervernetzungen (sog. „cross-links“) nochmals deutlich stabilisiert.

Die „cross-links“ sind kovalente Bindungen, die z.B. zwischen Lysin- und Hydroxylysin-Aminosäuren ausgebildet werden [40;42;43]. Zwei Bildungswege der „cross-links“ werden unterschieden. In Haut, Cornea und Skleren entstehen sie aus Allysin (Aldehyd des Lysins). Im Knochen ist Hydroxyallysin (Aldehyd des Hydroxylysins) die prädominante Aminosäure, die an der Bildung der „cross-links“ beteiligt ist [41]. Die Aldehyde werden unter Wirkung des Enzyms Lysyloxidase gebildet.

Jeweils eine Lysin- oder Hydroxylysin-Aminosäure befindet sich im N- und C-terminalen Telopeptid sowie zwei weitere im helicalen Bereich des Kollagens an Position 87 und 930. Aus 2 Hydroxyallysin-Molekülen und 1 Lysin- bzw. Hydroxylysin-Aminosäuren entstehen Deoxypyridinolin (oder Lysyl-Pyridinolin, DPD) bzw. Pyridinolin (oder Hydroxylysyl-Pyridinolin, PYD). Diese Moleküle sind keiner enzymatischen Spaltung mehr zugänglich. Es werden jeweils zwei Lysine der α1-Ketten aus der Telopeptid-Region eines Kollagen-Moleküls mit einem Lysin aus der helicalen Region eines zweiten Kollagen-Moleküls miteinander zu einem Pyridinolin vernetzt [117].

Darüber hinaus existieren auch andere Strukturformen der „cross-links“, z.B. Pyrrole als Produkt des Hydroxylysin-Bildungswegs, die jedoch im Gegensatz zu den Pyridinolinen instabil sind. Pyrrole finden sich vor allem im Bereich der N-terminalen Telopeptide. Weitere „cross-links“ unter Einbeziehung der Aminosäure Histidin finden sich z.B. in Typ I Kollagenen der Haut.

Der im Rahmen sowohl des physiologischen Remodellings als auch bei pathologischen Prozessen stattfindende enzymatische **Kollagenabbau** wird durch verschiedene Proteasen gesteuert. Diese Kollagenasen sind teilweise organspezifisch und weisen unterschiedliche Merkmale bezüglich ihrer kollagenolytischen Fähigkeiten auf.

Die fast ausschließlich im Knochen vorkommende und von aktivierten Osteoklasten gebildete Kollagenase ist Kathepsin K. Das Enzym findet sich im Bereich der zerklüfteten Membran, die der Resorptionslakune zugewandt ist sowie in lysosomalen Vesikeln nahe der zerklüfteten Membran und in perinucleären Regionen. Kathepsin K hat seine höchste enzymatische Aktivität bei einem sauren pH von 5,5 und bei erhöhter Temperatur. Es hat die Fähigkeit, Kollagen sowohl im Bereich der helicalen Regionen als auch im Bereich der Telopeptide zu spalten.

Weitere Kollagenasen, die nicht knochenspezifisch sind, sind Metalloproteinasen (Übersicht bei [117]). Insbesondere im Bereich der Telopeptide entstehen durch diese Kollagenasen andere als durch Kathepsin K gebildete Spaltprodukte. Diese unterschiedlichen Degradationsprodukte der Telopeptide werden von verschiedenen Immunoassays speziell detektiert (s. 1.2.5.4 und 1.2.5.5).

1.2.5.2 Propeptide des Typ I Kollagens

Marker der Kollagenformation sind demnach Amino- und Carboxy-terminales Propeptid des Typ I Kollagens („**p**rocollagen type **I N**-terminal and **C**-terminal **p**ropeptide“, PINP und PICP) [66;96]. PICP hat ein MG von 115 kDa, wird hepatisch eliminiert und hat eine kurze Halbwertszeit von 6-8 Minuten. PINP hat ein MG von 70 kDa und wird ebenfalls hepatisch eliminiert. Beide Parameter sind somit unabhängig von der Nierenfunktion. Klinische Relevanz haben sie jedoch bei osteologischen Krankheitsbildern nicht erlangt [36].

Bei Patienten mit schwerer Niereninsuffizienz wurden deutlich erhöhte Konzentrationen von PICP gefunden [26], diese korrelierten jedoch nur gering mit anderen biochemischen Markern und histomorphometrischen Befunden [24;78].

1.2.5.3 Pyridinoline

Die Pyridinolin- und Hydroxypyridinolin-„cross-links“ bilden sich während des extrazellulär stattfindenden Reifungsprozesses fibrillärer Kollagene (s. 1.2.5.1). Daher reflektiert der Nachweis dieser „cross-links“ (im Gegensatz zu Hydroxyprolin) den Abbau des reifen, bereits in ein Gewebe inkorporierten Kollagens. Pyridinoline finden sich in Serum und Urin als freie oder peptidgebundene Formen. Der Nachweis der gebundenen Pyridinoline erfolgt nach Abspaltung der Peptide durch Hydrolyse (in vitro)

in ihrer freien Form. Im Urin erscheinen 40-50% der Pyridinoline bereits in ihrer freien Form. Dieser Wert ist relativ konstant, so dass der Nachweis der freien Pyridinoline ebenfalls den Grad der Knochenresorption reflektiert [97].

Bei leichter Einschränkung der Nierenfunktion wird die Elimination der Pyridinoline nicht behindert. Bei progredienter Niereninsuffizienz und dialysepflichtigem Nierenversagen wurden 50-100 fach erhöhte Werte der Pyridinoline gefunden. Nach Hämodialyse konnte ein deutlicher Abfall der zirkulierenden Pyridinoline dokumentiert werden bei gleichzeitigem Nachweis der Pyridinoline im Dialysat [74].

Trotz des Einflusses der Nierenfunktion auf die Höhe der Pyridinoline konnte gezeigt werden, dass auch bei Dialysepatienten hohe Serumkonzentrationen der Pyridinoline mit einer „high turnover" Osteopathie assoziiert sind und die Höhe der Pyridinolin-Spiegel korrelierte besser mit den histologischen Befunden als die des iPTH und des Osteocalcins (N-Mid Osteocalcin, ELSA-OSTEO IRMA Kit) [129]. Der Typ der verwendeten Dialysemembran („low flux" oder „high flux" Membran) hatte keinen Einfluss auf die Höhe der Serumkonzentrationen der Pyridinoline. Sie eignen sich somit vor allem zur Beurteilung des Ausmaßes des gesteigerten Knochen-Remodellings, weniger zur Diagnostik der adynamen Formen der renalen Osteopathie.

1.2.5.4 C-Terminales Telopeptid des Typ I Kollagens

C-terminale Telopeptide des Typ I Kollagens („type I C-terminal telopeptide", ICTP) entstehen durch proteolytische Spaltung durch Kollagenasen. Ein ICTP-Molekül besteht aus zwei C-terminalen Peptidketten der α1-Ketten eines Kollagenmoleküls und einem helicalen Segment einer α1- oder α2-Kette eines weiteren Kollagenmoleküls, verbunden durch ein „cross-link" [66;96]. Sein Molekulargewicht beträgt ca. 9.000 Da [67]. ICTP entsteht nach Spaltung durch Metalloproteinase [117;118]. Spaltung des Kollagens durch Kathepsin K zerstört die Aminosäure-Sequenz, die für die Detektion durch den polyklonalen Antikörper des Immunoassays [111] essenziell ist (Abbildung 2).

Da die Spaltung des Kollagens des Knochens überwiegend durch Kathepsin K erfolgt, reflektiert ICTP unter physiologischen Bedingungen somit überwiegend die Degradation von Kollagen nicht-ossären Ursprungs. Es hat einen Stellenwert in der Diagnostik von Erkrankungen aus dem rheumatischen Formenkreis [1;58], jedoch nicht bei der Beurteilung einer Osteoporose-Therapie bei postmenopausalen Frauen [94;114].

Bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz und dialysepflichtigem Nierenversagen akkumuliert ICTP aufgrund des renalen Eliminationsweges. Histomorphometrische Vergleichsstudien bei Dialysepatienten haben ebenfalls bestätigt, dass ICTP sich nicht als humoraler Marker der Knochenresorption eignet [88;129].

1.2.5.5 β-CrossLaps

β-CrossLaps sind ebenfalls Degradationsprodukte des C-terminalen Telopeptids des Typ I Kollagens. Der Immunoassay mit zwei monoklonalen Antikörpern detektiert eine kleine Aminosäure-Sequenz in den beiden α1-Ketten des Telopeptids (EKAH-βD-GGR) [19;114] (Abbildung 2). Kathepsin K führt zur Spaltung des Kollagens unter Erhalt dieser Aminosäure- Sequenz [117]. Darüber hinaus ist die β-Konfiguration des Aspartats (βD) notwendig für die Detektion durch den Antikörper [114] wie auch die freie Arginin-Aminosäure (R) am Ende der Sequenz. Die nicht-enzymatische β-Isomerisierung des Aspartats tritt spontan auf und findet sich vor allem in langlebigen Kollagenen wie dem Kollagen des Knochens [48;114]. Daher eignen sich β-CrossLaps wesentlich besser als ICTP zur Beurteilung der Knochenresorptionsrate und haben sich in Studien zum Monitoring einer antiresorptiven Therapie bei Osteoporose als valide erwiesen [94].

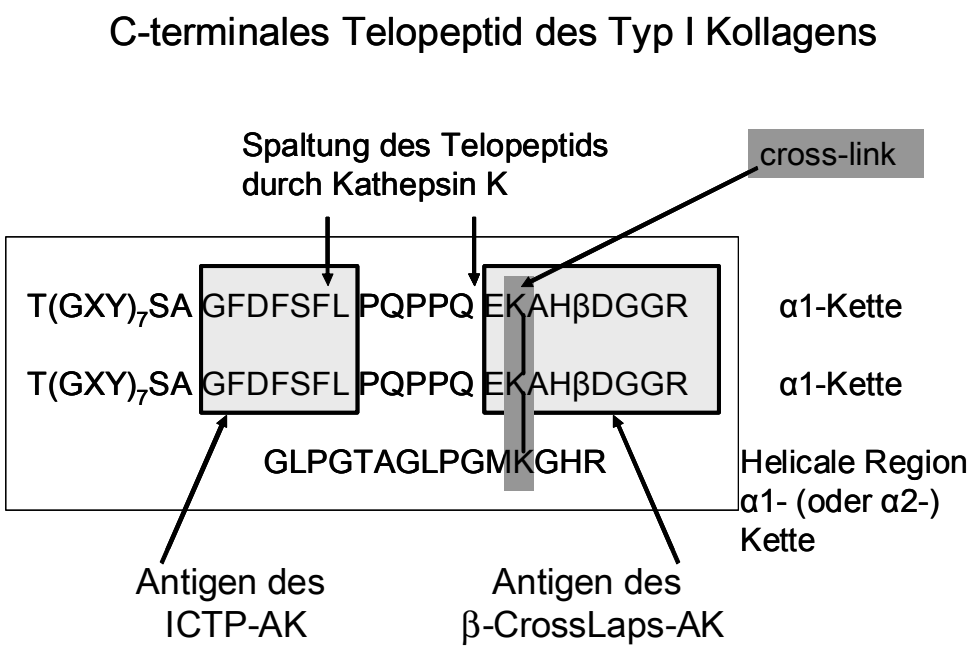

Abbildung 2: Aminosäuresequenz des C-terminalen Telopeptids des Typ I Kollagens [117]

(Abkürzungen: A: Alanin, D: Aspartat, E: Glutamat, F: Phenylalanin, G: Glycin, H: Histidin, K: Lysin, L: Leucin, M: Methionin, P: Prolin, Q: Glutamin, R: Arginin, S: Serin, T: Threonin, X: Hydroxyprolin, Y: Tyrosin.)

Bei der Beurteilung der Höhe der Serum- oder Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps ist zunächst zu beachten, dass die intraindividuelle Variabilität an zwei aufeinander folgenden Untersuchungstagen auch bei gleichem Abnahmezeitpunkt bis zu 20% betragen kann [94]. Zudem ist bedeutsam, dass die β-CrossLaps, wie andere Parameter der Knochenresorption auch, eine deutliche circadiane Rhythmik aufweisen, mit den höchsten Werten in den frühen Morgenstunden (08:00h-08:30h) und niedrigeren Werten zwischen 10:30h und 12:00h [94;132]. Probenabnahme bei nüchternen Patienten (12-stündige Nahrungskarenz) reduziert diese intraindividuelle tageszeitliche Variabilität von circa 34% auf circa 14% [17].

Durch die Entstehung verschiedener Spaltprodukte bei der Einwirkung unterschiedlicher Kollagenasen wurden Telopeptide, die durch den β-CrossLaps Immunoassay detektiert werden, mit Molekulargewichten zwischen 1.000 und 10.000 Da bestimmt. Der größte Teil der detektierten Telopeptide weist ein Molekulargewicht von ca. 2900 Da auf [114]. Wie die Pyridinoline und andere Spaltprodukte des Kollagens werden sie renal eliminiert und akkumulieren bei Niereninsuffizienz. Sie wurden daher bislang bei Dialysepatienten nicht evaluiert.

Bei Patienten mit milder chronischer Niereninsuffizienz war die Höhe der β-CrossLaps abhängig von Serum-Kreatinin und von der Dauer der Erkrankung. Die Konzentrationen der β-CrossLaps korrelierten jedoch auch positiv mit der Höhe der alkalischen Phosphatase und dem Serum-Phosphat [107].

1.3 Fragestellung

Die Arbeit soll folgende Fragen beantworten:

I. Verhalten der β-CrossLaps bei Hämodialysepatienten:
   A. Darstellung einer „Normalverteilung“ der β-CrossLaps.
   B. Vergleich der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps bei Hämodialysepatienten in Bezug auf die alters- und geschlechtsbezogenen Normwerte.
   C. Variabilität der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps in einem längerfristigen Beobachtungszeitraum (6 Monate).

II. Korrelation der β-CrossLaps zu weiteren Parametern des Knochenstoffwechsels, insbesondere zu intaktem Parathormon und Osteocalcin.

III. Einfluss der Hämodialysebehandlung auf die Höhe der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps:
   A. Einfluss unterschiedlicher Dialysemodalitäten (insbesondere Änderungen bei Verwendung von „low flux“ und „high flux“ Dialysatoren)
   B. Kurzzeitvariabilität der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps bei aufeinander folgenden Hämodialysebehandlungen.
   C. Reduktion und Elimination der β-CrossLaps durch die Hämodialysebehandlung.

2 Material und Methoden

2.1 Labormethoden

2.1.1 β-CrossLaps

Die immunologische Bestimmung der β-CrossLaps erfolgte mit Hilfe eines **E**lektro**C**hemi**L**umineszenz **I**mmuno**A**ssays (ECLIA) an einem Immunoassay Analyseautomaten (Elecsys 2010, Roche Diagnostics, Mannheim).

C-terminale Telopeptide des Typ I Kollagens, die durch den β-CrossLaps Immunoassay detektiert werden, enthalten die Aminosäure-Sequenz EKAH-βD-GGR (Oktapeptid β-8AA) zweifach. Die normalerweise in den C-terminalen Telopeptiden vorkommende Aminosäure α-Aspartat wird bei der Alterung des Kollagens / des Knochens in β-Aspartat (βD) umgewandelt und ist essentiell für die Detektion dieser Telopeptide durch die monoklonalen Antikörper. Die Natur des „cross-links" (Pyridinolin oder Pyrrol) mit der helicalen Struktur des zweiten Kollagen-Moleküls ist hingegen für die Detektion durch den β-CrossLaps Assay irrelevant. Es werden somit alle Fragmente des Kollagenabbaus, die das isomerisierte Oktapeptid β-8AA zweifach enthalten, erfasst.

Der Elecsys β-CrossLaps/Serum ECLIA (Roche Diagnostics, Mannheim, Code-Nr. 1972308) ist nach einem Sandwichprinzip aufgebaut (Abbildung 3) [4]:

1. Im ersten Inkubationsschritt werden ein biotinylierter monoklonaler β-CrossLaps Antikörper und ein mit Ruthenium-Komplex markierter ebenfalls spezifischer monoklonaler Antikörper mit der Probe (in flüssiger Phase, Inkubationszeit 9 min) versetzt und bilden einen „Sandwich"-Komplex. Jeder Antikörper erkennt ein unterschiedliches Epitop des Oktapeptid-Antigens.
2. Dieser so formierte Antigen-Antikörper-Komplex bildet über Biotin eine kovalente Bindung mit Streptavidin-beschichteten magnetisierbaren Mikropartikeln (Inkubationszeit wiederum 9 min). Durch die chemisch stabile Biotin-Streptavidin-Bindung wird das Antigen sicher an die Festphase der Mikropartikel gebunden.
3. Das Reaktionsgemisch wird in die ElektroChemiLumineszenz- (ECL-) Messzelle überführt. Dort werden die Mikropartikel durch magnetische Wirkung auf die

Oberfläche der Mess-Elektrode fixiert (Abbildung 4). Der Rest der Probe wird durch geeignete Spüllösungen (ProCell) ausgewaschen.

4. Nachfolgend wird nach Anlegen einer Spannung die ElektroChemiLumineszenz-Emission des Rutheniums mit einem Photomultiplier gemessen (Abbildung 4).

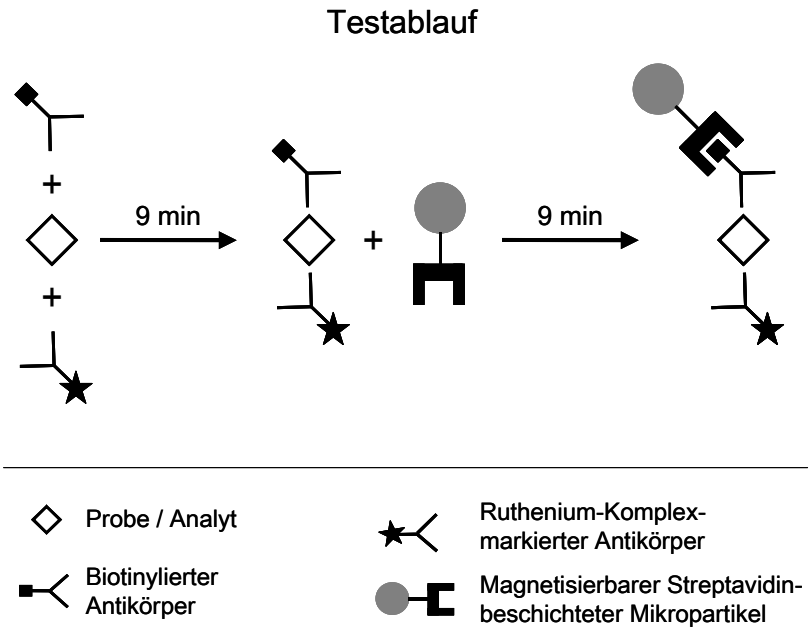

Abbildung 3: Antigen-Antikörper-Reaktion als Grundprinzip des ECLIA [4].

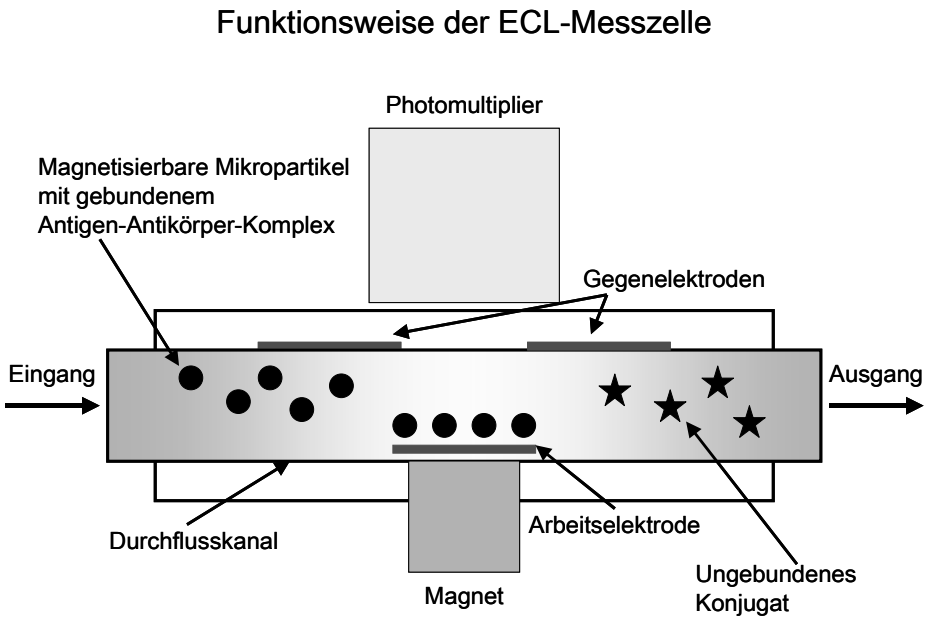

Abbildung 4: Funktionsweise der ElektroChemiLumineszenz- Messzelle [4].

Die Kalibration des Testes erfolgt anhand einer Kalibrationskurve, gewonnen durch eine 2-Punkt-Kalibration und eine Masterkurve, die vor Beginn des Testes über den Reagenzbarcode gerätespezifisch generiert wird. Die Berechnung der Probenkonzentrationen erfolgt automatisch durch den Elecsys 2010-Analyseautomaten.

Vorteil dieses Testverfahrens ist insbesondere die kurze Inkubationszeit (2 x 9 min) für die Antigen-Antikörper-Reaktionen. Der Einsatz der Mikropartikel erlaubt zudem eine sichere Bindung an die Elektrode der Messzelle.

Die Bestimmung der Proben kann in Serum, K_3-EDTA-Plasma und in Na-Heparin-Plasma erfolgen. Die größte Stabilität weisen K_3-EDTA-Plasma-Proben auf. Deshalb wurden in allen Versuchsreihen K_3-EDTA-Plasma-Proben verwandt.

An gesunden Probanden wurden mit β-CrossLaps/Serum Elecsys folgende Normwerte ermittelt [Angaben für Männer: Dokumentation Roche Diagnostics, Angaben für Frauen: Messungen aus Proben der OFELY („**O**s des **Fe**mmes de **Ly**on")- Studie [54]]:

β-CrossLaps	MW ± SD (ng/ml)	MW ± SD (pg/ml)
Männer bis 70 Jahre	0,300 ± 0,200	300 ± 200
Männer über 70 Jahre:	0,394 ± 0,230	394 ± 230
Frauen prämenopausal	0,299 ± 0,137	299 ± 137
Frauen postmenopausal	0,556 ± 0,226	556 ± 226

Der Messbereich liegt zwischen 0,010 – 6,0 ng/ml bzw. 10 – 6000 pg/ml.

2.1.2 Parathormon (iPTH)

Die Bestimmung des intakten Parathormons (iPTH) erfolgte ebenfalls immunologisch mit dem Elecsys ECLIA Test (Roche Diagnostics, Mannheim, Code-Nr. 1972103), der wie die Bestimmung der β-CrossLaps auf einem Sandwichprinzip beruht. Spezifische monoklonale Antikörper gegen PTH, jeweils mit Biotin und Ruthenium markiert, bilden im ersten Inkubationsschritt einen Sandwich-Komplex. Hierbei bindet der erste monoklonale, biotinylierte Antikörper an das N-terminale Fragment des iPTH (AS 1-37), der mit Ruthenium-Komplex markierte zweite Antikörper erkennt das C-terminale Fragment (AS 38-84). Die erkannten Epitope entsprechen den Aminosäuren 26-32 und 55-64. Nach Inkubation mit den Streptavidin-beschichteten Mikropartikeln erfolgt die

Messung wie unter 2.1.1 beschrieben. Der Elecsys iPTH Test weist eine gute Korrelation mit radioimmunologischen Verfahren auf, insbesondere mit dem meist verwendeten iPTH-IRMA (Nichols IRMA Allegro) [115].

Die Bestimmung der Proben kann aus Serum und K_3-EDTA-Plasma erfolgen. Auf Grund der besseren Probenhaltbarkeit wird die Verwendung von K_3-EDTA-Plasma empfohlen (Haltbarkeit im Serum: bei 15-25°C acht Stunden, bei 2-8°C zwei Tage, bei -20°C sechs Monate, Haltbarkeit im Plasma: bei 15-25°C zwei Tage, bei 2-8°C drei Tage, bei -20°C sechs Monate). Auch für iPTH wurden in allen Versuchsreihen K_3-EDTA-Plasma-Proben analysiert.

Der Normbereich des mit dem Elecsys ECLIA gemessenen intakten Parathormons liegt zwischen 15 – 65 pg/ml bzw. 1,6 – 6,9 pmol/l [7].
(Umrechnungsfaktor pg/ml x 0,106 = pmol/l; pmol/l x 9,43 = pg/ml).

Der Messbereich liegt zwischen 1,20 – 5000 pg/ml bzw. 0,127 – 530 pmol/l.

2.1.3 Osteocalcin

Für die Messung des Osteocalcins wurde der Elecsys N-MID Osteocalcin ECLIA (Roche Diagnostics, Mannheim, Code-Nr. 2149133) eingesetzt. Das N-MID-Fragment (AS 1-43) des 49 Aminosäuren großen Peptids der organischen Knochenmatrix ist wesentlich stabiler als das intakte (1-49) Osteocalcin (s. 1.2.3).

Die beiden verwendeten monoklonalen Antikörper (wiederum ein biotinylierter Antikörper und ein Ruthenium-Komplex markierter Antikörper) sind gegen Epitope auf dem N-MID-Fragment und auf dem N-terminalen Fragment gerichtet. Somit werden durch den Test das (nur kurzlebige) intakte (1-49) Osteocalcin und das (1-43) N-MID-Fragment erfasst. Das C-terminale Fragment (AS 43-49) stellt kein Epitop für die beiden Antikörper dar und eignet sich zudem aufgrund seiner Instabilität nicht für eine korrekte Erfassung der Osteocalcin-Konzentration.

Die Bestimmung der Proben kann aus Serum, Li-Heparin-Plasma und K_3-EDTA-Plasma erfolgen. Auch für Osteocalcin weisen die Proben die längste Stabilität in K_3-EDTA-Plasma auf (Haltbarkeit im Serum: bei 15-25°C acht Stunden, bei 2-8°C zwei Tage, bei -20°C drei Monate, nur 1x Einfrieren, Haltbarkeit im Plasma: bei 15-25°C

zwei Tage, bei 2-8°C drei Tage, bei -20°C drei Monate, nur 1x Einfrieren). Osteocalcin wurde ebenfalls in allen Versuchsreihen aus K_3-EDTA-Plasma-Proben bestimmt.

An gesunden Probanden wurden folgende Normwerte ermittelt (Dokumentation Roche Diagnostics):

Osteocalcin	**5. – 95. Perzentile (ng/ml)**
Männer 18 bis < 30 Jahre	24 - 70
Männer 30 bis 50 Jahre	14 – 42
Männer > 50 – 70 Jahre	14 – 46
Frauen prämenopausal	11 – 43
Frauen postmenopausal	15 – 46

Der Messbereich liegt zwischen 0,5 – 300 ng/ml.

2.1.4 Standard-Parameter des Knochenstoffwechsels

Calcium und Phosphat als Parameter des anorganischen Knochenstoffwechsels wurden photometrisch am Standardanalyseautomaten (Hitachi 917, Roche Diagnostics, Mannheim) bestimmt. Die Proben können in Serum und NH_4-Heparin-Plasma gemessen werden. Im vorliegenden Fall wurden NH_4-Heparin-Plasma-Proben analysiert.

Für das (Gesamt-) Calcium liegt der Normbereich für Erwachsene bei:

2,25 – 2,62 mmol/l (entsprechend 9,0 – 10,5 mg/dl).

Für Phosphat reicht der Normbereich für Erwachsene von

0,81 – 1,62 mmol/l (entsprechend 2,5 – 5,0 mg/dl).

Die (Gesamt-) Alkalische Phosphatase wurde ebenfalls aus NH_4-Heparin-Plasma-Proben mit originalen Test-Kits am Standard-Analyse-Automaten (Hitachi 917) gemessen.

Der Normbereich der Alkalischen Phosphatase bei Messung bei 25° C liegt für Erwachsene bei 60 – 170 U/l.

Die Bestimmung des Serum-Aluminiums erfolgte mittels Atomabsorptionsspektrometrie (externes Labor). Der Referenzbereich für die Normalpopulation liegt zwischen

2,1 – 4,3 ug/l.

Bei Dialysepatienten werden Werte bis 50 µg/l akzeptiert, bei Konzentrationen > 100 µg/l ist eine relevante Aluminiumakkumulation zu vermuten [77].

2.2 Patienten

Alle untersuchten Patienten befanden sich wegen eines endgültigen Nierenversagens in ambulanter chronisch intermittierender Hämodialysebehandlung. Die zum Zeitpunkt der Probenentnahmen bestehende Form der Hämodialysebehandlung (Häufigkeit und Dauer, Zusammensetzung der Dialysierflüssigkeit und der Dialysator) und die medikamentöse Begleitmedikation wurden nicht verändert. Auch die zur Behandlung der renalen Osteopathie / des sekundären Hyperparathyreoidismus verordneten Medikamente (Phosphatbinder und gegebenenfalls Vitamin-D-Präparate und Vitamin-D-Analoga) wurden im Rahmen der Studien nicht modifiziert.

Neben demographischen Charakteristika (Alter, Geschlecht, Zeitdauer seit Beginn der Dialysebehandlung) wurden klinische Daten zur renalen Grunderkrankung erhoben. Ebenso erfolgte die Dokumentation der Restnierenfunktion. Patientenbehandlungsdaten zur Dialysebehandlung umfassten Dialysatoren, Blutfluss, Dauer der Hämodialysebehandlung und Kt/V zum Zeitpunkt der Probenentnahmen. Darüber hinaus 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 verschiedenen Versuchsreihen ausführlich informiert und gaben ihre Einwilligung. Die Durchführung der Studien erfolgte gemäß den Regeln der Deklaration von Helsinki.

2.2.1 Probenentnahme und Verarbeitung

Die Entnahme der Blutproben (NH_4-Heparin-Plasma, K_3-EDTA-Plasma, aluminiumfreie Serummonovetten für Aluminium) vor Beginn der Hämodialysebehandlung erfolgte wie bei Routine-Blutentnahmen üblich aus dem arteriellen (distalen) Schenkel des Hämodialysezugangs.

Bei Entnahme von Proben nach der Hämodialysebehandlung wurde die „slow flow / stop pump sampling technique“ zum Ausschluss einer Shuntrezirkulation angewendet (wie bei Entnahmen für eine Kt/V-Bestimmung üblich [92]). Hierbei erfolgt für zwei Minuten eine Reduktion des Blutflusses auf 50 ml/min (beim Genius-Therapie-System gleichzeitige Reduktion des Dialysatflusses auf 50 ml/min) und eine Reduktion der Ultrafiltration auf die minimal mögliche Menge (beim Genius-Therapie-System 80 ml/h, bei allen anderen verwendeten Dialysemaschinen Stopp der Ultrafiltration).

Die Bestimmung von Calcium, Phosphat und alkalischer Phosphatase aus den Na-Heparin-Plasma-Proben erfolgte am Tag der Blutentnahme. Serumproben zur Aluminiumbestimmung wurden zentrifugiert (10 min bei 3500 U/min) und am Folgetag bestimmt. Für die Bestimmung von intaktem Parathormon, Osteocalcin und β-CrossLaps wurde das K_3-EDTA-Plasma durch Zentrifugation bei Zimmertemperatur (10 min bei 3500 U/min) separiert, die anschließende Lagerung der Proben bis zur Testdurchführung erfolgte bei -20°C.

Dialysatproben zur Bestimmung der Dialysat-Konzentration der β-CrossLaps wurden mit K_3-EDTA stabilisiert und ohne Zentrifugation bis zur Testdurchführung bei -20°C gelagert.

2.2.2 Variabilität der β-CrossLaps im Langzeitverlauf

Es existieren keine Referenzwerte für β-CrossLaps bei Hämodialysepatienten und keine Daten über die intraindividuelle Variabilität bei fortgesetzter Dialysebehandlung. Es erfolgte daher eine Longitudinal-Beobachtung bei einem großen Patientenkollektiv, ohne Einflussnahme auf die Art der Hämodialysebehandlung und die ergänzende medikamentöse Therapie.

Im Abstand von sechs Monaten (Mai 2001 und November 2001) erfolgten Probenentnahmen zum Zeitpunkt der regelmäßig stattfindenden Routine-Untersuchungen. Bis auf Aluminium, das nur im November 2001 bestimmt wurde, erfolgte die Bestimmung der übrigen Knochenstoffwechsel-Parameter zu beiden Terminen.

EDTA-Plasmaproben wurden ebenfalls zweimalig für die routinemäßige Bestimmung des intakten Parathormons entnommen und für die Bestimmung der β-CrossLaps und des Osteocalcins weiterverwendet.

Die Blutentnahmen erfolgten jeweils unmittelbar vor Beginn der Hämodialysebehandlung nach dem längsten dialysefreien Intervall (in der Regel montags oder dienstags). Bei Durchführung der Hämodialyse am Vormittag erfolgten die Blutentnahmen bei nüchternen Patienten um 07:00h, bei Hämodialyse am Nachmittag erfolgten die Blutentnahmen um 13:30h, bei einer späten Abenddialyse lagen Dialysebeginn und Zeitpunkt der Blutentnahme um 19:00h.

2.2.3 Intraindividuelle Kurzzeit-Variabilität der β-CrossLaps bei Hämodialysepatienten und Reduktion durch Hämodialysebehandlung

Bei 39 Hämodialysepatienten wurden EDTA-Plasmaproben an 5 aufeinander folgenden Behandlungstagen (Mittwoch, Freitag, Montag, Mittwoch und Freitag) jeweils vor Dialysebeginn und zu unterschiedlichen Tageszeitpunkten (07:00h bei Patienten der Frühschicht, 13:30h bei Patienten der Nachmittagsschicht und um 19:00h bei den Patienten der späten Abendschicht) zur Bestimmung der β-CrossLaps entnommen. Am zweiten Untersuchungstag erfolgte eine zusätzliche Abnahme unmittelbar nach der Hämodialysebehandlung, entsprechend der beschriebenen „slow flow / stop pump sampling technique“ (s. 2.2.1), um das Ausmaß der Elimination als Reduktionsrate zu berechnen.

Vor der Zentrifugation erfolgte aus den EDTA-Plasmaproben eine Blutbildbestimmung, um die nach der Dialyse gewonnenen Messwerte der β-CrossLaps entsprechend der Hämatokritänderung korrigieren und die Volumenreduktion unter der Dialysebehandlung berücksichtigen zu können.

Die Berechnung der Reduktionsrate erfolgte in Analogie zur Bestimmung der Harnstoffreduktionsrate nach der Formel

$$\text{Reduktionsrate} = \frac{(C_0 - C_t)}{C_0} = 1 - \frac{C_t}{C_0} \quad *$$

Der Hämatokrit-Korrekturwert infolge der Volumenreduktion wurde analog berechnet

$$Hkt_{korr.} = 1 - \left[\frac{(Hkt_0 - Hkt_t)}{Hkt_0}\right] \quad \dagger$$

und der gemessene Wert der β-CrossLaps nach der Hämodialysebehandlung wurde durch den Hämatokrit-Korrekturwert dividiert.

2.3 Dialysetechnik

2.3.1 Quantitativer Nachweis der β-CrossLaps im Dialysat – Das Genius Therapie System –

Zusätzlich zur Berechnung der Reduktionsraten erfolgte der quantitative Nachweis der β-CrossLaps im Dialysat. Es wurde eine Gruppe von 17 Hämodialysepatienten untersucht, die mit dem Genius Therapie System (Fresenius Medical Care, Bad Homburg) behandelt wurden. Neben der Entnahme von EDTA-Plasmaproben vor und nach der Hämodialysebehandlung erfolgte die Entnahme von Dialysatproben aus dem Genius-Tank, in dem die Dialysierflüssigkeit bis zum Ende der Dialysebehandlung verbleibt.

---

* C_0 = Konzentration der Probe vor der Hämodialysebehandlung,

C_t = Konzentration der Probe nach der Hämodialysebehandlung

† Hkt_0 = Hämatokrit vor der Hämodialysebehandlung

Hkt_t = Hämatokrit nach der Hämodialysebehandlung

Hkt_{korr} = Hämatokrit-Korrekturwert

Es handelt sich um ein „single pass batch system“ [44;45;126], bei der die Dialysierflüssigkeit vor Beginn der Dialysebehandlung aus (in einer Umkehrosmose aufbereitetem) Wasser und den erforderlichen Elektrolytbestandteilen in einem Tanksystem vorbereitet wird. Das Genius Therapie System ist eine Weiterentwicklung der ursprünglichen klassischen Batchsysteme.

Die temperierte Dialysierflüssigkeit befindet sich in einem vollständig gefüllten und somit luftfreien Glasbehälter mit einem Fassungsvermögen von 75l. In der Mitte des Dialysierflüssigkeitsbehälters ist ein Verteilungsrohr aus Quarzglas angeordnet, hierdurch kann auf den oberen und unteren Teil des Tanks separat zugegriffen werden. Frische Dialysierflüssigkeit wird während der Behandlung aus dem oberen Teil des Glasbehälters entnommen und nach der Passage durch das System und den Dialysator dem unteren Teil des Glasbehälters zugeleitet. Frische und gebrauchte Dialysierflüssigkeit vermischen sich nicht, da eine Unterschichtung des gebrauchten Dialysates stattfindet.

Die doppelseitige Schlauchrollenpumpe fördert Blut und Dialysat im fest gekoppelten Verhältnis von 1:1 durch den Dialysator mit Blut- und Dialysatflüssen von bis zu 300 ml/min. Über einen Ultrafiltrations-Monitor findet eine volumetrische UF-Kontrolle statt, und die separat aufgefangene Flüssigkeits- oder Ultrafiltrationsmenge entspricht in ihrer Zusammensetzung der gebrauchten Dialysierflüssigkeit.

Die Probenentnahme nach der Dialysebehandlung erfolgte wiederum nach der „slow flow / stop pump sampling technique“ und die gemessenen Werte der β-CrossLaps wurden Hämatokrit-korrigiert (s. 2.2.3). Die Entnahme der Dialysatproben erfolgte nach der Dialysebehandlung aus dem Ultrafiltrations-Auffangbehälter. Die Stabilisierung der Proben erfolgte ebenfalls mit EDTA.

Zur Berechnung der Gesamtmenge der eliminierten β-CrossLaps wurden die während der Dialysebehandlung tatsächlich verbrauchte Menge der Dialysierflüssigkeit und die Ultrafiltrationsmenge addiert und mit dem gemessenen Wert multipliziert.

2.3.2 Dialysatoren

Im Rahmen der Longitudinal-Beobachtung (Mai und November 2001, s. 2.2.2 und 3.2.1) der β-CrossLaps kamen folgende Dialysatoren zum Einsatz:

Tabelle V: Dialysatoren (Untersuchungen der Longitudinal-Beobachtung)

Dialysator	**Membran-Typ**	**EMO**	**UF-Faktor**	**Clearance** (Q_B = 200 ml/min, Q_D = 500 ml/min)		
Low Flux		(m^2)	(ml/mm Hg*h)	Harnstoff	Kreatinin	Vitamin B_{12}
GFS *Plus* 12	Hemophan	1,3	6,8	180	156	60
Polyflux 6 L	Polyamid		8,6	184	163	80
AM Bio 750	Asahi Biomembran	1,5	11,0	192	176	85
Lundia Pro 600 G	Gambrane	1,6	9,8	174	154	90
F 8 HPS	Polysulfon	1,8	11,1	188	175	102
High Flux						
APS 650	Asahi-Polysulfon	1,3	63,0	186	178	135
Polyflux 14 S	Polyamid	1,4	62,0	186	172	125
Polyflux 17 S	Polyamid	1,7	71,0	191	179	136
Polyflux 21 S	Polyamid	2,1	83,0	195	187	149

(EMO: Effektive Membranoberfläche; UF-Faktor: Ultrafiltrationsfaktor für Wasser als Maß der hydraulischen Permeabilität; Q_B: Blutfluss, Q_D: Dialysatfluss;

Hersteller: GFS *Plus* 12, Polyflux 6 L, Polyflux 14 S, 17 S und 21 S: Gambro, Hechingen; F 8 HPS: Fresenius Medical Care, Bad Homburg; AM Bio 750 und APS 650: Diamed Medizintechnik.)

In den Untersuchungen zur intraindividuellen Kurzzeitvariabilität (s. 2.2.3 und 3.2.2) und zum quantitativen Nachweis der β-CrossLaps (s. 2.3.1 und 3.2.3) wurden die nachfolgenden Dialysatoren verwandt:

Tabelle VI: Dialysatoren (Untersuchungen zur Kurzzeitvariabilität)

Dialysator	**Membran-Typ**	**EMO**	**UF-Faktor**	**Clearance** (Q_B = 200 ml/min, Q_D = 500 ml/min)		
Low Flux		(m^2)	(ml/mm Hg*h)	Harnstoff	Kreatinin	Vitamin B_{12}
Polyflux 14 L	Polyamid	1,4	9,5	190	174	92
High Flux						
Polyflux 14 S	Polyamid	1,4	62	186	172	125
F 60 S	Polysulfon	1,3	40	185	172	118
FX 60	Polysulfon	1,4	46	193	182	135

(EMO: Effektive Membranoberfläche; UF-Faktor: Ultrafiltrationsfaktor für Wasser als Maß der hydraulischen Permeabilität; Q_B: Blutfluss, Q_D: Dialysatfluss;

Hersteller: Polyflux 14 L und Polyflux 14 S: Gambro, Hechingen, F 60 S und FX 60: Fresenius Medical Care, Bad Homburg)

2.4 Statistik

Die statistische Analyse erfolgte mit Hilfe der Statistik-Software SPSS für Windows (SPSS Inc.) und „R“ Version 2.0.1 (The R Foundation for Statistical Computing, Version 2.0.1, ISBN 3-900051-07-0).

3 Ergebnisse

3.1 β-CrossLaps bei Hämodialysepatienten und Variabilität im Langzeitverlauf

3.1.1 Patientenkollektiv

Zum Zeitpunkt der ersten Evaluation (Mai 2001, Termin I) wurden 162 Patienten, die sich in chronisch intermittierender Hämodialysebehandlung befanden, untersucht. Bei Wiederholung der Untersuchung nach 6 Monaten (November 2001, Termin II) konnten aus diesem Kollektiv 123 Patienten erneut untersucht werden, so dass für diese Gruppe komplette Datensätze über einen Langzeitverlauf von sechs Monaten ausgewertet wurden.

Gründe des Ausscheidens aus der Behandlung/Studie (39 Patienten) waren Tod (11 Patienten), Nierentransplantation (5 Patienten) und Wechsel in andere Dialysezentren (9 Patienten). In Feriendialyse befand sich 1 Patient, stationär behandlungsbedürftig waren 7 Patienten, bei 6 Patienten lagen andere Gründe vor (1 Patient Heim-Hämodialyse, 5 Patienten mit unvollständigen Datensätzen).

Zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung lag das mittlere Alter bei 66,2 ± 12,4 Jahren (MW ± SD), die mittlere Dauer der Hämodialysebehandlung betrug 5,0 ± 4,2 Jahre (MW ± SD). Die Geschlechterverteilung war ausgeglichen mit 65 Männern und 58 Frauen.

Für die zur Dialysebehandlung führenden Grunderkrankungen fand sich in dem hier untersuchten Patientenkollektiv eine zahlenmäßig vergleichbare Verteilung wie in den Daten zur Prävalenz des QUASI-Niere-Berichtes 2001 [50]. Den größten Anteil stellten Patienten mit einer diabetischen Nephropathie [n = 31, 25% (QUASI-Niere: 22%)], gefolgt von Patienten mit vasculärer Nephropathie / Nephrosklerose [n = 22, 18% (11%)] und primären Glomerulonephritiden [n = 22, 18% (24%)]. Die weiteren Grunderkrankungen verteilten sich wie folgt: Anteil der Patienten mit interstitieller Nephritis [n = 12, 10% (15%)], unbekannte Genese der Niereninsuffizienz [n = 9, 7% (11%)], Zystennierenerkrankung [n = 13, 11% (8%)], andere hereditäre Erkrankungen [n = 2, 2% (2%)], Systemerkrankungen mit Nierenbeteiligung [n = 7, 6% (3%)] und verschiedene andere Ursachen [n = 5, 4% (3%)].

Die Dialysedauer der einzelnen Hämodialysebehandlung lag an beiden Untersuchungsterminen bei 4,6 ± 0,4 Stunden (MW ± SD). Die Wochendialysedauer lag am ersten Termin bei 14,0 ± 1,4 Stunden und am zweiten Termin bei 14,0 ± 1,3 Stunden. Der mittlere Blutfluss betrug 255,0 ± 16,3 ml/min und 259,5 ± 21,3 ml/min. Für den ersten Untersuchungszeitpunkt ergab sich ein Kt/V von 1,51 ± 0,28, am zweiten Termin von 1,52 ± 0,28.

Zum ersten Untersuchungstermin wurden 89 Patienten mit low flux Dialysatoren [GFS *Plus* 12: n= 6, Polyflux 6 L: n = 24, AM Bio 750: n = 9, Lundia Pro 600 G: n = 7, F 8 HPS: n = 43] und 34 Patienten mit high flux Dialysatoren behandelt [Polyflux 14 S: n = 13 (davon Hämofiltration, HFI: n = 1), Polyflux 17 S: n= 3 (HFI: n = 2), Polyflux 21 S: n= 5 (HFI: n = 4, Hämodiafiltration, HDFB: n = 1), APS 650: 13 Pat]. Eine ähnliche Verteilung fand sich zum zweiten Untersuchungszeitpunkt mit 87 Patienten mit low flux Dialyse [GFS *Plus* 12: n = 3, Polyflux 6 L: n = 23, AM Bio 750: n= 8, Lundia Pro 600 G: n = 5, F 8 HPS: n = 48] und 36 Patienten mit high flux Dialyse [Polyflux 14 S: n = 14, Polyflux 17 S: n = 5 (HFI: n = 4, HDFB: n = 1), Polyflux 21 S: n= 6 (HFI: n =4, HDFB: n=1), APS 650: n = 11].

Für die Beurteilung eines möglichen Einflusses der Restnierenfunktion auf die Höhe der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps wurden 2 Trenngrößen (Restdiurese größer oder kleiner 200 ml/die bzw. 500 ml/die) gewählt. Zum ersten Untersuchungstermin wiesen 61 Patienten eine Restdiurese von ≤ 200 ml auf (42 ± 8 ml/die, MW ± SEM) und 62 eine Restdiurese von > 200 ml auf (918 ± 61 ml/die). Bei einer Aufteilung nach einer Restdiurese von mehr oder weniger als 500 ml fand sich bei 78 Patienten eine Restdiurese von ≤ 500 ml (113 ± 17 ml/die) und bei 45 Patienten eine Restdiurese von > 500 ml (1126 ± 58 ml/die). Bis zum zweiten Untersuchungstermin zeigte sich ein leichter Rückgang der Zahl der Patienten mit höherer Restdiurese (≤ 200 ml: n = 63: 43 ± 8 ml/min, > 200 ml: n = 60: 887 ± 66 ml/min; ≤ 500 ml: n = 83: 121 ± 17 ml/min, > 500 ml: n = 40: 1147 ± 70 ml/min).

3.1.2 Verteilung der β-CrossLaps bei Hämodialysepatienten

Die mittleren Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps waren bei allen Patienten zu beiden Untersuchungsterminen deutlich erhöht (Termin I: 1,56 ± 0,11 ng/ml [MW ± SEM], Median 1,19 ng/ml, 25 % Perzentile 0,72 ng/ml, 75 % Perzentile 2,13 ng/ml. Termin II: 1,60 ± 0,11 ng/ml, Median 1,24 ng/ml, 25 % Perzentile 0,79 ng/ml, 75 % Perzentile 1,99 ng/ml) (Tabelle VII). Die Verteilung, die sich über den gesamten Messbereich erstreckt, weist zwischen beiden Untersuchungsterminen keine signifikanten Unterschiede auf (Abbildung 5).

Unterschiede der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps in Bezug auf das Geschlecht können bei Dialysepatienten nicht verifiziert werden, (Frauen 1,55 ± 0,16 ng/ml [MW ± SEM], Termin I; Männer 1,58 ± 0,16 ng/ml, Termin I), ebenso zeigten sich keine signifikanten Änderungen zwischen den beiden Untersuchungsterminen (Tabelle VII).

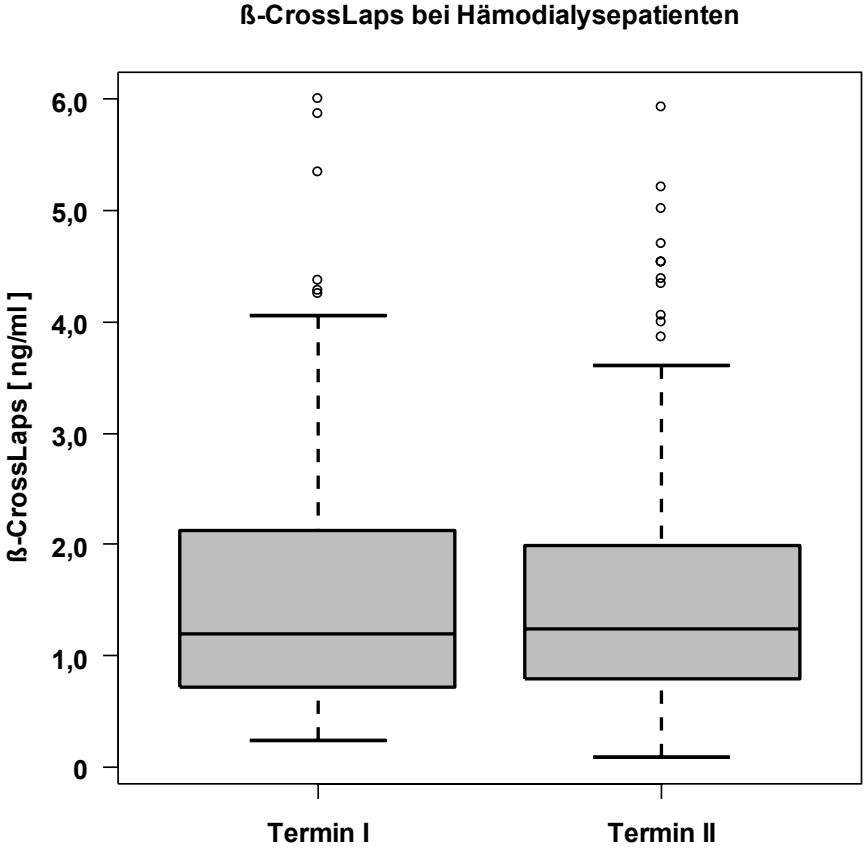

Abbildung 5: Verteilung der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps bei Hämodialyse-patienten

Tabelle VII: Verteilung der β-CrossLaps bei Hämodialysepatienten

β-CrossLaps [ng/ml]	Termin I			Termin II		
	Alle Pat. (n = 123)	Männer (n = 65)	Frauen (n = 58)	Alle Pat. (n = 123)	Männer (n = 65)	Frauen (n = 58)
MW	**1,56**	**1,58**	**1,55**	**1,60**	**1,66**	**1,53**
SD	**1,20**	**1,16**	**1,25**	**1,20**	**1,22**	**1,18**
SEM	**0,11**	**0,14**	**0,16**	**0,11**	**0,15**	**0,15**
Median	**1,19**	**1,13**	**1,26**	**1,24**	**1,21**	**1,28**
5 % Perzentile	**0,30**	**0,32**	**0,29**	**0,34**	**0,41**	**0,33**
25 % Perzentile	**0,72**	**0,73**	**0,72**	**0,79**	**0,87**	**0,69**
75 % Perzentile	**2,13**	**2,45**	**1,89**	**1,99**	**2,18**	**1,88**
95 % Perzentile	**4,05**	**3,46**	**4,31**	**4,39**	**4,05**	**4,43**

Die Restnierenfunktion hatte keinen Einfluss auf die Höhe der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps. Weder bei einer Aufteilung in die Gruppen mit einer Restdiurese von mehr oder weniger als 200 ml noch bei einer Aufteilung in Gruppen mit einer Restdiurese von mehr oder weniger als 500 ml fanden sich signifikante Unterschiede (Termin I: Abbildung 6). Dies galt für beide Untersuchungszeitpunkte (Tabelle VIII).

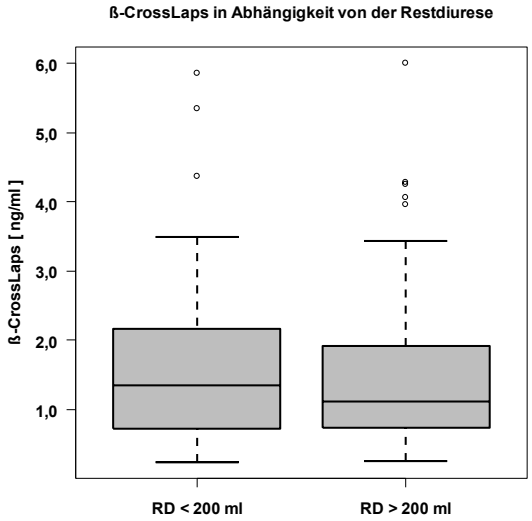

Abb. 6a

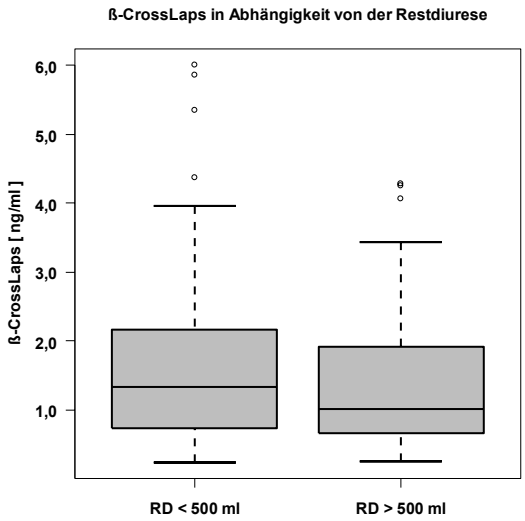

Abb. 6b

Abbildung 6: Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps in Abhängigkeit von der Restdiurese, Termin I:
6a: Aufteilung in Gruppen mit einer Restdiurese von mehr oder weniger als 200 ml.
6b: Aufteilung in Gruppen mit einer Restdiurese von mehr oder weniger als 500 ml.

Tabelle VIII: Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps in Abhängigkeit von der Restdiurese (MW ± SEM)

β-CrossLaps [ng/ml]			
Restdiurese	< 200 ml	> 200 ml	
Termin I	1,61 ± 0,15	1,53 ± 0,15	p = 0,72
Termin II	1,64 ± 0,15	1,56 ± 0,16	p = 0,72
Restdiurese	< 500 ml	> 500 ml	
Termin I	1,64 ± 0,14	1,44 ± 0,17	p = 0,38
Termin II	1,64 ± 0,13	1,51 ± 0,21	p = 0,59

In der Gesamtgruppe aller 123 Patienten fand sich zu beiden Terminen ebenfalls kein signifikanter Unterschied in der Höhe der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps in Abhängigkeit von den verwandten Dialysatoren. Zum ersten Termin lagen die Plasmakonzentrationen bei mit „low flux“ Membranen behandelten Patienten bei 1,56 ± 0,13 ng/ml (MW ± SEM) und für die Gruppe der mit „high flux“ Dialysatoren behandelten Patienten bei 1,57 ± 0,21 ng/ml (p = 0,99) (Abbildung 7). Zum zweiten Untersuchungstermin fand sich ein vergleichbares Ergebnis („low flux“: 1,57 ± 0,12, „high flux“ 1,66 ± 0,23 ng/ml, p = 0,70).

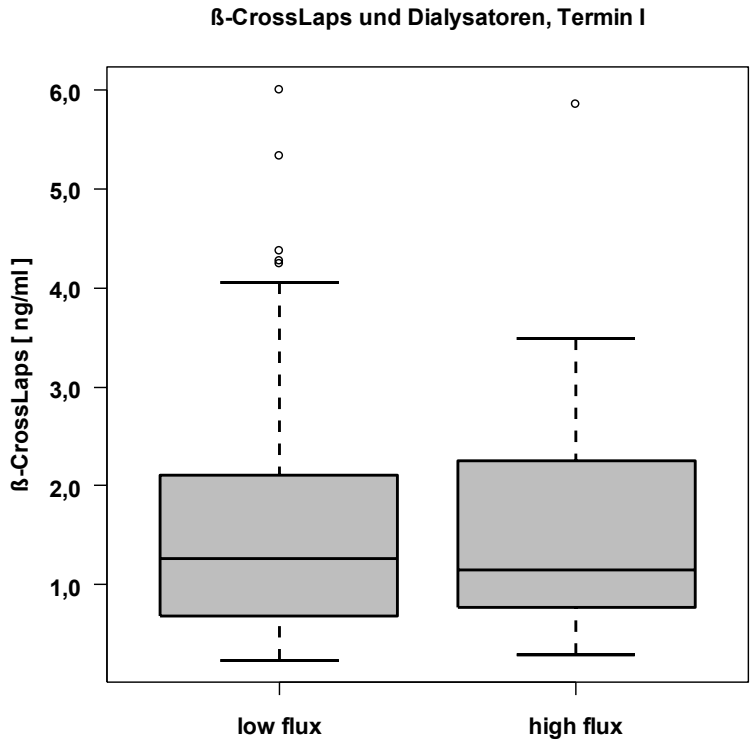

Abbildung 7: Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps bei Behandlung mit „low flux“ und „high flux“ Dialysatoren

3.1.3 Korrelation mit Standard-Parametern des Knochenstoffwechsels

Im Gesamtkollektiv lagen die Calcium-Plasmakonzentrationen zu beiden Untersuchungsterminen im mittleren Normbereich (Termin I: 2,41 ± 0,02 mmol/l; Termin II: 2,46 ± 0,02 mmol/l, MW ± SEM, Tabelle IX), die Mittelwerte des Phosphats befanden sich an der Obergrenze des Normbereiches (Termin I: 1,70 ± 0,04 mmol/l; Termin II: 1,59 ± 0,04 mmol/l). Dementsprechend variierten auch die Mittelwerte des Calcium-Phosphat-Produktes im Gesamtkollektiv nur gering (Termin I: 4,10 ± 0,10 $mmol^2/l^2$; Termin II: 3,90 ± 0,10 $mmol^2/l^2$). Die prozentualen Abweichungen der Einzelwerte sind bei beiden Parametern ebenfalls sehr gering (Calcium 2,78 ± 0,92 %; Phosphat -3,01 ± 2,78 %) (Tabelle IX).

Bei dem Vergleich der β-CrossLaps mit den Parametern Calcium und Phosphat fand sich keine strenge Beziehung. Zwischen der Höhe der β-CrossLaps und Calcium bestand keine Korrelation (Termin I: r = 0,122, p = 0,09; Termin II: r = -0,013, p = 0,445). Die Korrelation zu Phosphat (Termin I: r = 0,328, p < 0,0005, Termin II: r = 0,254, p = 0,002) und zum Calcium-Phosphat-Produkt (Termin I: r = 0,360, p < 0,0005; Abbildung 8; Termin 2: r = 0,251, p = 0,003) war zu beiden Untersuchungsterminen schwach, aber jeweils signifikant.

Tabelle IX: Parameter des Knochenstoffwechsels (Gesamtkollektiv der Hämodialysepatienten)

Patienten	**n = 123**		
ALTER [Jahre]	**66,2 ± 12,4**		
HD-DAUER [Jahre]	**5,0 ± 4,2**		
Geschlecht [m/w]	**65 / 58**		
	Termin I	**Termin II**	**Abweichung der Einzelwerte [%]**
Ca [mmol/l]	**2,41 ± 0,02**	**2,46 ± 0,02**	**2,78 ± 0,92**
PO_4 [mmol/l]	**1,70 ± 0,04**	**1,59 ± 0,04**	**-3,01 ± 2,78**
Ca x PO_4 [$mmol^2/l^2$]	**4,10 ± 0,10**	**3,90 ± 0,10**	**-0,59 ± 2,96**
β-CrossLaps [ng/ml]	**1,56 ± 0,11**	**1,60 ± 0,11**	**13,36 ± 4,64**
iPTH [pg/ml]	**227,3 ± 24,4**	**226,8 ± 29,5**	**13,6 ± 8,4**
OC [ng/ml]	**294,4 ± 33,3**	**304,1 ± 37,0**	**9,3 ± 6,2**
AP [U/l]	**126,8 ± 5,9**	**136,6 ± 8,4**	**8,8 ± 3,0**

(Alter und HD-Dauer als MW ± SD, Parameter des Knochenstoffwechsels als MW ± SEM)

Die alkalische Phosphatase als indirekter Parameter für das Ausmaß der Knochenformation war im Gesamtkollektiv zu beiden Untersuchungsterminen nicht erhöht (Termin I: 126,8 ± 5,9 U/l; Termin II 136,6 ± 8,4 U/l). Die intraindividuelle prozentuale Abweichung war gering ausgeprägt (8,8 ± 3,0 %) (Tabelle IX). Bei dem Vergleich der β-CrossLaps mit der alkalischen Phosphatase ließ sich ebenfalls nur eine schwache, aber signifikante Korrelation nachweisen (Termin I: r = 0,449, p < 0,0005, Abbildung 9; Termin II: r = 0,401, p < 0,0005).

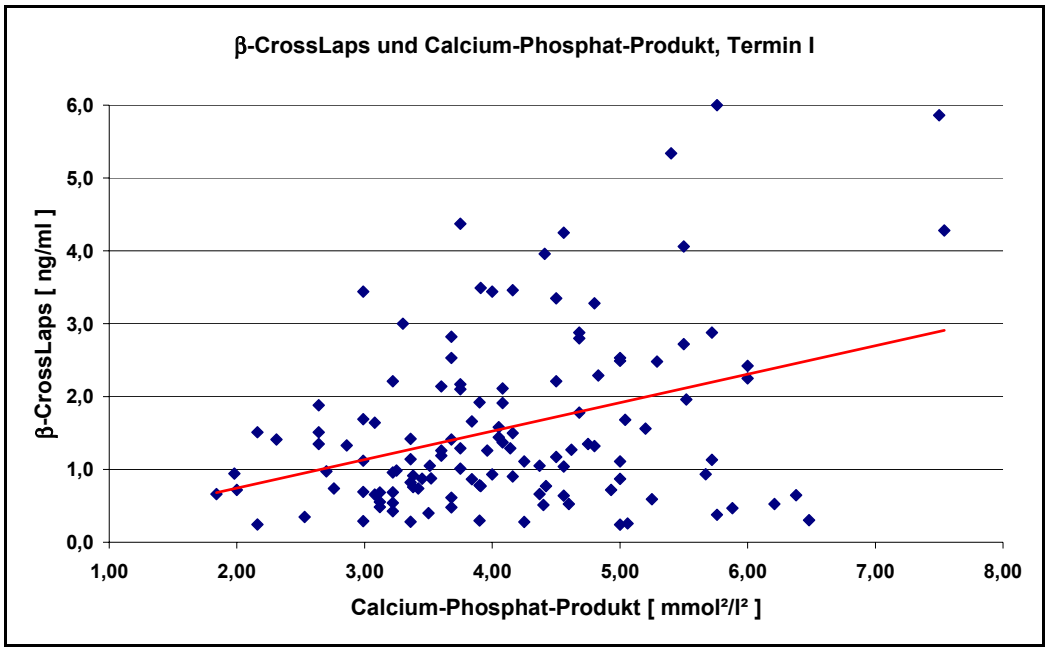

Abbildung 8: Korrelation zwischen β-CrossLaps und Calcium-Phosphat-Produkt

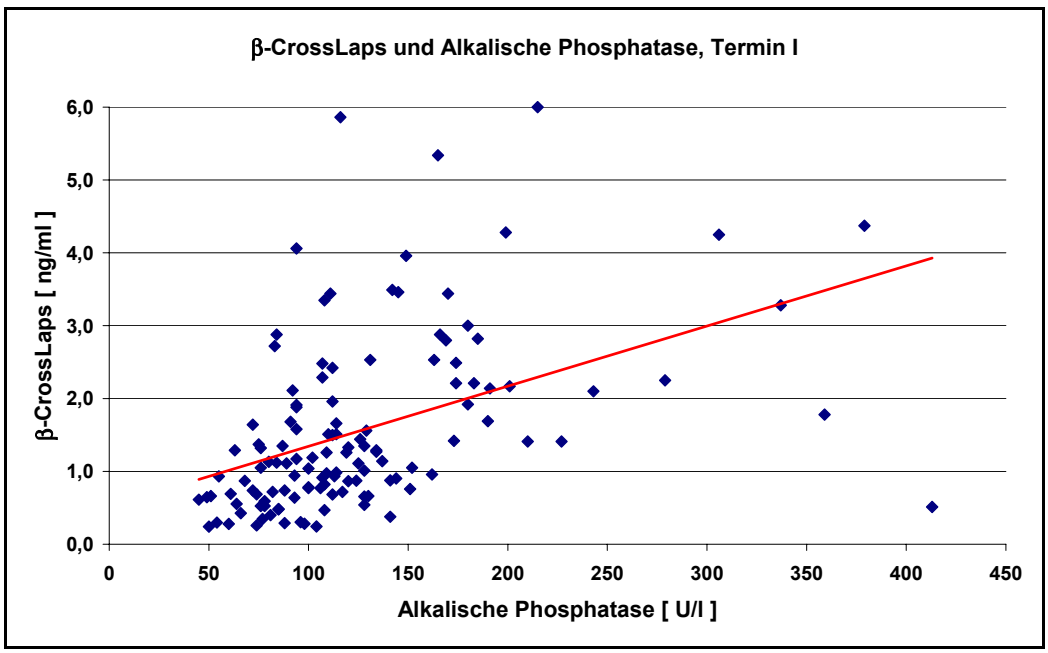

Abbildung 9: Korrelation zwischen β-CrossLaps und Alkalischer Phosphatase

Osteocalcin als weiterer Parameter der Knochenformation war zu beiden Untersuchungsterminen deutlich erhöht (Termin I: 294,4 ± 33,3 ng/ml; Termin II: 304,1 ± 37,0 ng/ml) (Tabelle IX). Die intraindividuelle prozentuale Abweichung der Einzelwerte (9,3 ± 6,2 %) war gering. Für Osteocalcin bestand eine signifikante positive Korrelation im Vergleich mit den β-CrossLaps (Termin I: r = 0,746, p < 0,0005, Abbildung 10; Termin II: r = 0,812, p < 0,0005).

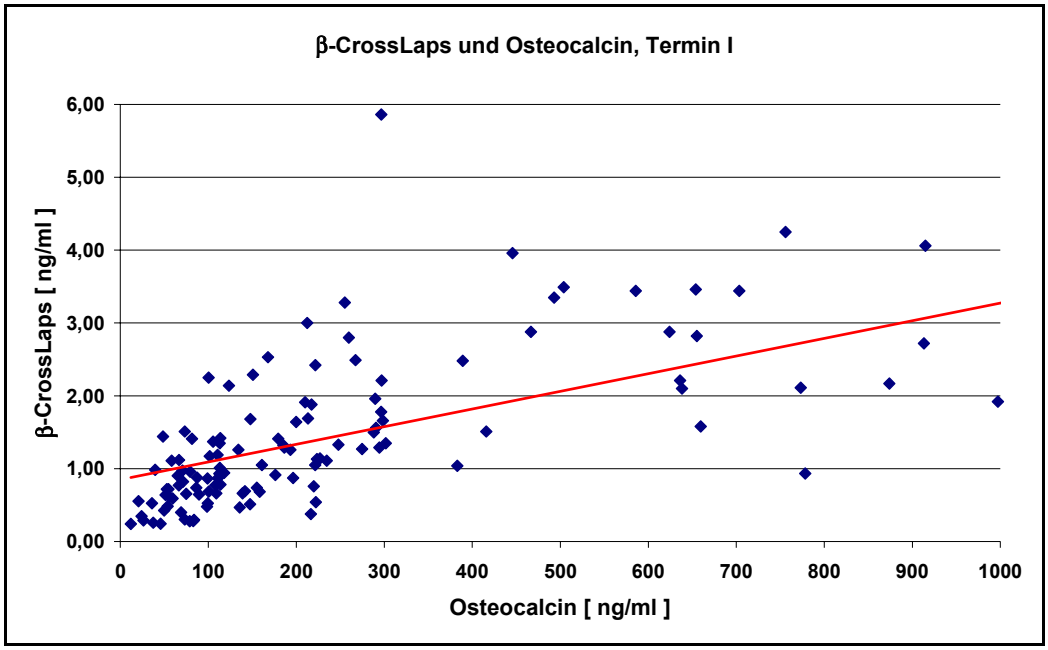

Abbildung 10: Korrelation zwischen β-CrossLaps und Osteocalcin

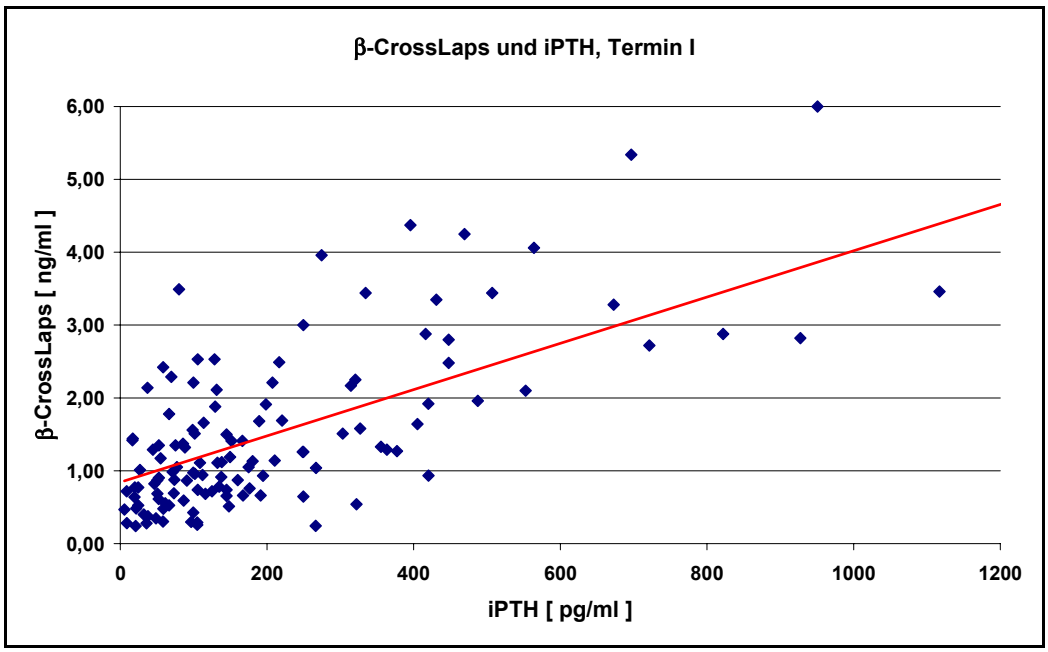

Abbildung 11: Korrelation zwischen β-CrossLaps und intaktem Parathormon

Eine positive signifikante Beziehung findet sich ebenso für die Korrelation von intaktem Parathormon und β-CrossLaps (Termin I: r = 0,717, p < 0,0005; Abbildung 11, Termin II: r = 0,697, p < 0,0005). Parathormon war zu beiden Untersuchungszeitpunkten deutlich erhöht (Termin I: 227,3 ± 24,4 pg/ml, Termin II: 226,8 ± 29,5 pg/ml). Die intraindividuelle prozentuale Abweichung der Einzelwerte entspricht mit 13,6 ± 8,4 % der für die β-CrossLaps gefundenen Differenzen (Tabelle IX).

Der Vergleich zwischen intaktem Parathormon und Osteocalcin bestätigt die gleiche positive Korrelation wie zwischen diesen beiden Parametern und den β-CrossLaps (Termin I: r = 0,707, p = < 0,0005, Abbildung 12, Termin II: r = 0,784, p < 0,0005). Im Gegensatz dazu ist die Korrelation zwischen Parathormon und Alkalischer Phosphatase deutlich schwächer (Termin I: r = 0,281, p = 0,001, Termin II: r = 0,440, p < 0,0005).

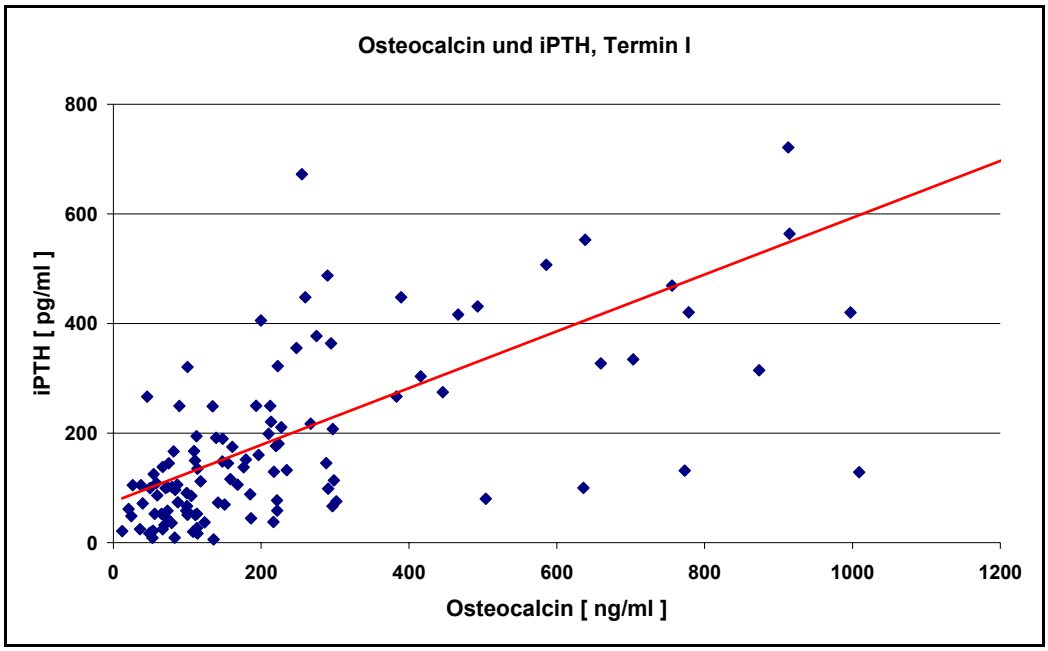

Abbildung 12: Korrelation zwischen Osteocalcin und intaktem Parathormon

3.1.4 Variabilität der β-CrossLaps im Langzeitverlauf

Während sich für das Gesamtkollektiv nur minimale Abweichungen in der Höhe der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps zwischen den beiden Untersuchungsterminen fanden (Abschnitt 3.1.2), so ließen sich intraindividuell jedoch sehr unterschiedliche Differenzen nachweisen. Bei 58 der 123 Patienten wurde ein Abfall der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps dokumentiert, wobei die prozentuale Abweichung der Einzelwerte von -0,79% bis -83,7% reichte (Tabelle X). 65 Patienten zeigten einen Anstieg der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps mit einer prozentualen Abweichung der Einzelwerte von +0,88% bis +66,8%. Die größte absolute Zunahme lag bei 2,57 ng/ml, der größte absolute Rückgang der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps betrug -2,91 ng/ml (Tabelle X).

Die Betrachtung der weiteren Parameter des Knochenstoffwechsels zeigte für Calcium die geringste Schwankungsbreite der Plasmakonzentrationen (zwischen -0,5 mmol/l und +0,6 mmol/l), etwas deutlicher ausgeprägt waren die Änderungen in Bezug auf Phosphat (zwischen -1,5 mmol/l und +1,2 mmol/l) und das Calcium-Phosphat-Produkt (zwischen -4,18 und + 3,12 mmol²/l²) (Tabelle X).

Große individuelle Variationsbreiten sowohl in den absoluten als auch prozentualen Differenzen zwischen den beiden Untersuchungsterminen fanden sich wie bei den β-CrossLaps auch für alle weiteren analysierten Parameter des Knochenstoffwechsels.

Tabelle X: Differenzen der Parameter des Knochenstoffwechsels zwischen beiden Untersuchungsterminen: Größte absolute und prozentuale Zunahmen und Rückgänge

	Größter Anstieg der Plasmakonzentrationen				**Größter Rückgang der Plasmakonzentrationen**			
	Absolut		**Prozentual**		**Absolut**		**Prozentual**	
Δ Ca	**0,6**	mmol/l	**25,0**	%	**0,5**	mmol/l	**17,2**	%
Δ PO_4	**1,2**	mmol/l	**50,0**	%	**1,5**	mmol/l	**68,2**	%
Δ Ca x PO_4	**3,12**	mmol²/l²	**59,1**	%	**4,18**	mmol²/l²	**68,2**	%
Δ β-CrossLaps	**2,57**	ng/ml	**66,8**	%	**2,91**	ng/ml	**83,7**	%
Δ iPTH	**847,0**	pg/ml	**88,0**	%	**803,2**	pg/ml	**86,6**	%
Δ OC	**1343,4**	ng/ml	**81,9**	%	**761,0**	ng/ml	**80,9**	%
Δ AP	**191**	U/l	**67,1**	%	**146**	U/l	**47,7**	%

Für das intakte Parathormon reichte die Spanne der Abweichungen von -803,2 pg/ml bis zu einem maximalen Anstieg von +847,0 pg/ml. Bei Osteocalcin zeigten sich ein größter Rückgang der Plasmakonzentrationen von 761,0 ng/ml und eine größte Zunahme von 1343,40 ng/ml. Für den Parameter Alkalische Phosphatase fanden sich Abweichungen von -146 U/l bis +191 U/l (Tabelle X).

Bei dem Korrelationsvergleich zwischen den Differenzen der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps und den weiteren Knochenstoffwechsel-Parametern fand sich für Calcium, wie auch bei der Betrachtung der Ergebnisse der Einzeluntersuchungen, eine nur sehr schwache Korrelation (r = -0,192, p = 0,017). Für die Änderung der Plasmakonzentrationen des Phosphats war diese Korrelation deutlicher und mit größerer Signifikanz ausgeprägt (r = 0,231, p = 0,005), geringer wiederum für das Calcium-Phosphat-Produkt (r = 0,183, p = 0,022) (Abbildung 13).

Die Analyse zwischen den Differenzen der Alkalischen Phosphatase und denen der β-CrossLaps zeigte eine deutlichere positive Korrelation (r = 0,250, p = 0,003) (Abbildung 14). Die größten Übereinstimmungen fanden sich wie bei den Einzeluntersuchungen auch für den Vergleich der Differenzen des intakten Parathormons (r = 0,476, p < 0,005) (Abbildung 15) und des Osteocalcins (r = 0,543, p < 0,005) (Abbildung 16) mit denen der β-CrossLaps.

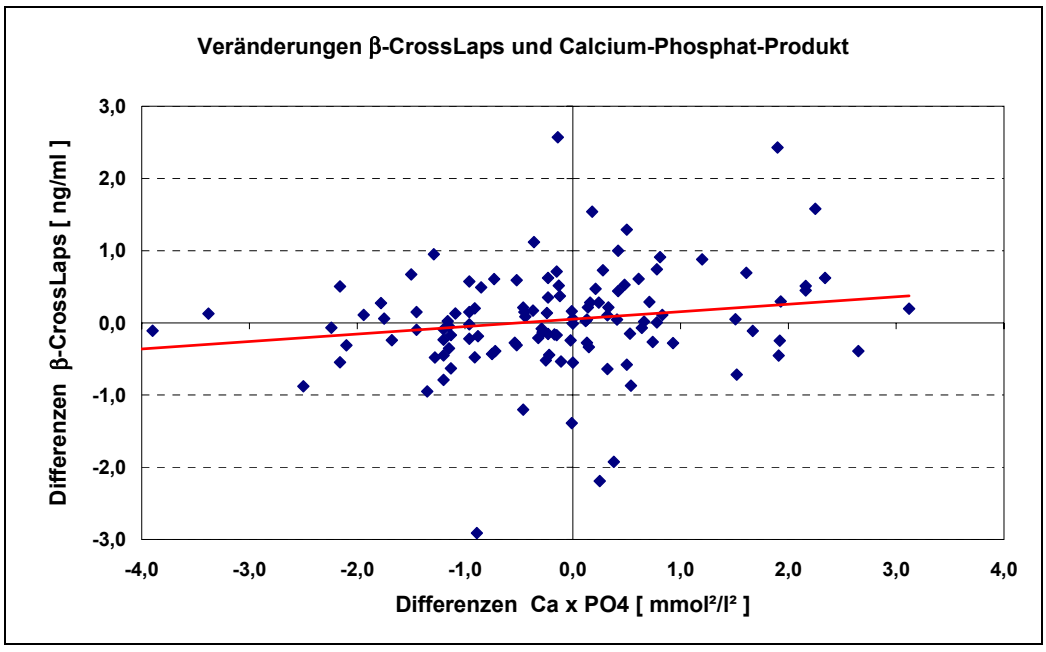

Abbildung 13: Änderungen des Calcium-Phosphat-Produktes: Korrelation mit den Differenzen der β-CrossLaps

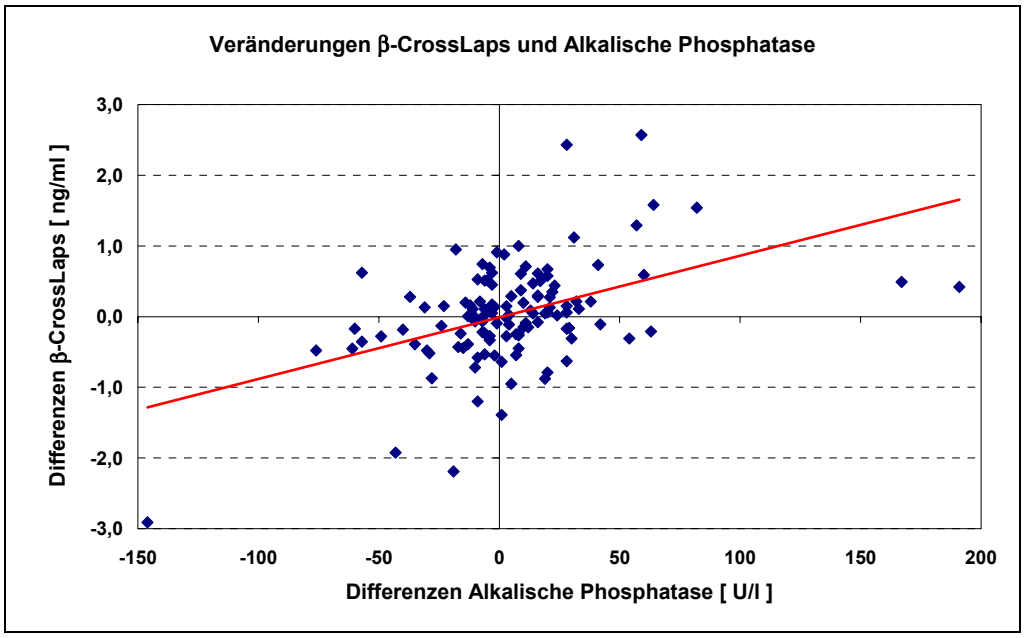

Abbildung 14: Änderungen der Plasmakonzentrationen der Alkalischen Phosphatase: Korrelation mit den Differenzen der β-CrossLaps

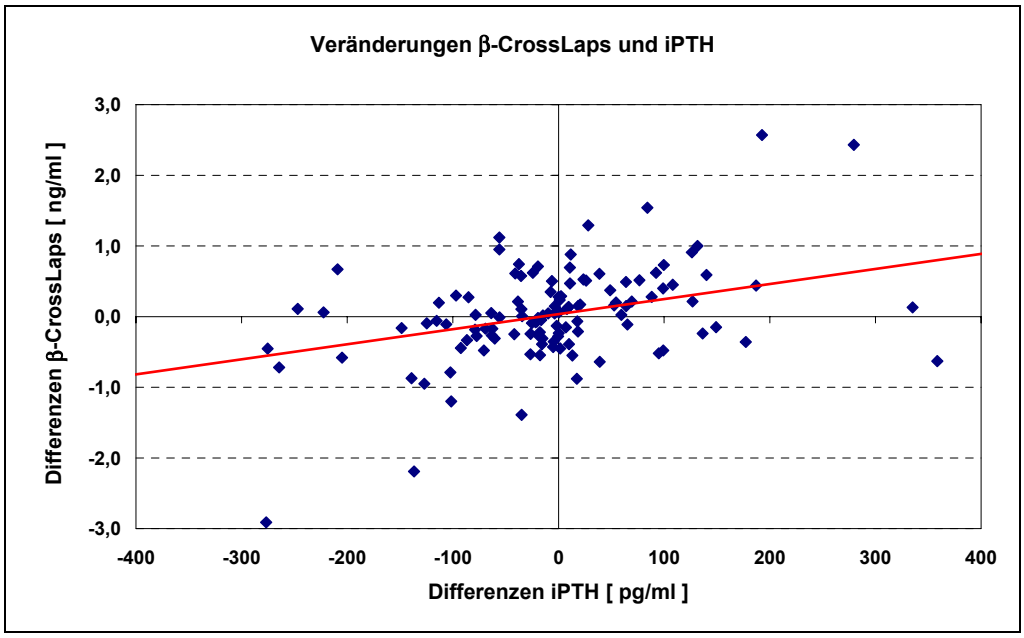

Abbildung 15: Änderungen der Plasmakonzentrationen des intakten Parathormons: Korrelation mit den Differenzen der β-CrossLaps

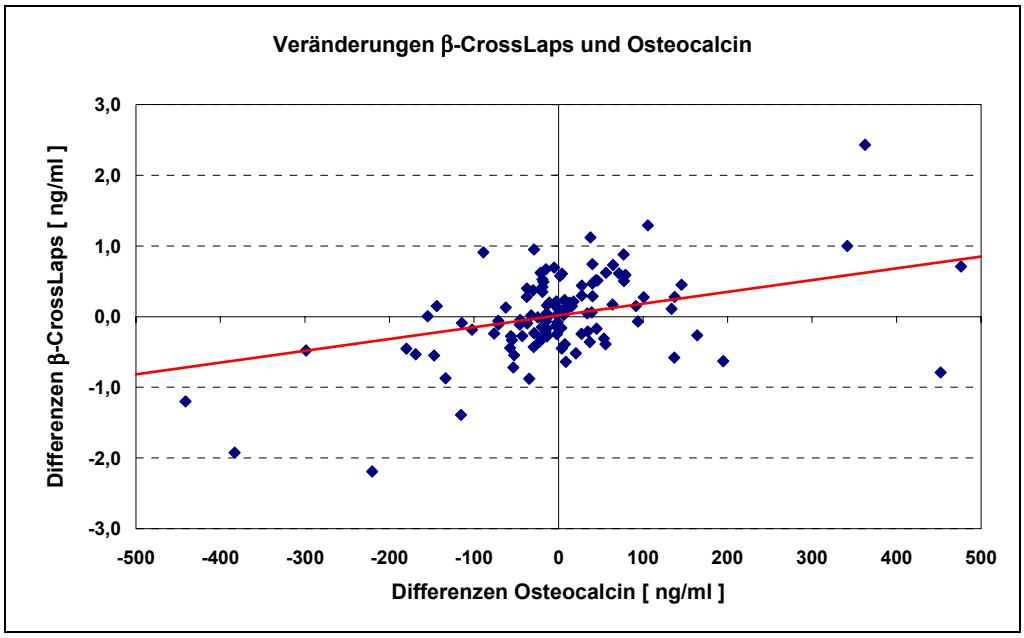

Abbildung 16: Änderungen der Plasmakonzentrationen des Osteocalcins: Korrelation mit den Differenzen der β-CrossLaps

3.1.5 Medikation mit Phosphatbindern und Vitamin-D-Präparaten

Berechnet wurde jeweils die kumulative Gesamtmenge der Phosphatbinder für die Dauer von sechs Monaten (zwischen erstem und zweitem Untersuchungstermin). Zur Vergleichbarkeit wurde bei Calcium-haltigen Phosphatbindern die jeweilige Calciummenge für die Berechnung zugrunde gelegt (verordnet wurden: Calciumacetat Prorenal ®, Calcium-Menge 127 mg/Tbl.; Calciumacetat Sertürner ®, 126 mg/Tbl.; Calcium-Carbonat Sertürner ®, 199 mg/Tbl.; Calciumacetat Nefro 500 ®, 127 mg/Tbl.; Calciumacetat Nefro 700 ®, 177 mg/Tbl.). Als Aluminium-haltiger Phosphatbinder kam allein anti-phosphat ® zum Einsatz, hier wurde die Gesamtmenge des Aluminiumhydroxid-Gels (600 mg/Tbl.) berechnet. Die verordneten Vitamin-D-Präparate waren Calcitriol (Rocaltrol ®) und α-Calcidol (Bondiol ®, Eins-Alpha ®) in Dosierungen von 0,25 bis 1,0 µg.

Die Gesamtmenge der eingenommenen Calcium-Präparate betrug 297112 ± 20827 mg (MW ± SEM), die Gesamtmenge Aluminium-haltiger Phosphatbinder lag bei 241668 ± 28272 mg. Unter dieser Medikation lagen die Aluminiumkonzentrationen im Serum im Mittel bei 10,1 ± 0,7 µg/l (vor Entnahme der Blutproben für den Aluminium-

Spiegel wurde eine dreitägige Therapiepause eingehalten). Bei keinem Patienten ließen sich Serumkonzentrationen dokumentieren, die auf eine relevante Aluminium-Akkumulation schließen ließen. Der höchste Serum-Aluminiumspiegel lag bei 45 µg/l. Die Gesamtmenge verordneter Vitamin-D-Präparate betrug in der Gesamtpopulation 7,97 ± 1,57 µg.

Es fand sich kein Zusammenhang bei Betrachtung der Differenzen der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps mit der Höhe der verordneten Calcium-Menge (in Calcium-haltigen Phosphatbindern) (r = 0,033) und der Menge Aluminiumhydroxid-haltiger Phosphatbinder (r = -0,011). Ebenso bestand keine Korrelation mit der Höhe der Serum-Aluminiumspiegel (r = -0,067).

Die Analyse der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps zeigte eine schwache Korrelation mit der Höhe der Therapie mit Vitamin D (r = -0,165, p = 0,036) im Sinne eines deutlicheren Rückgangs der Plasmakonzentrationen unter höherer Vitamin D-Therapie (Abbildung 17: Subgruppe der Patienten mit Vitamin D-Therapie [n = 35]).

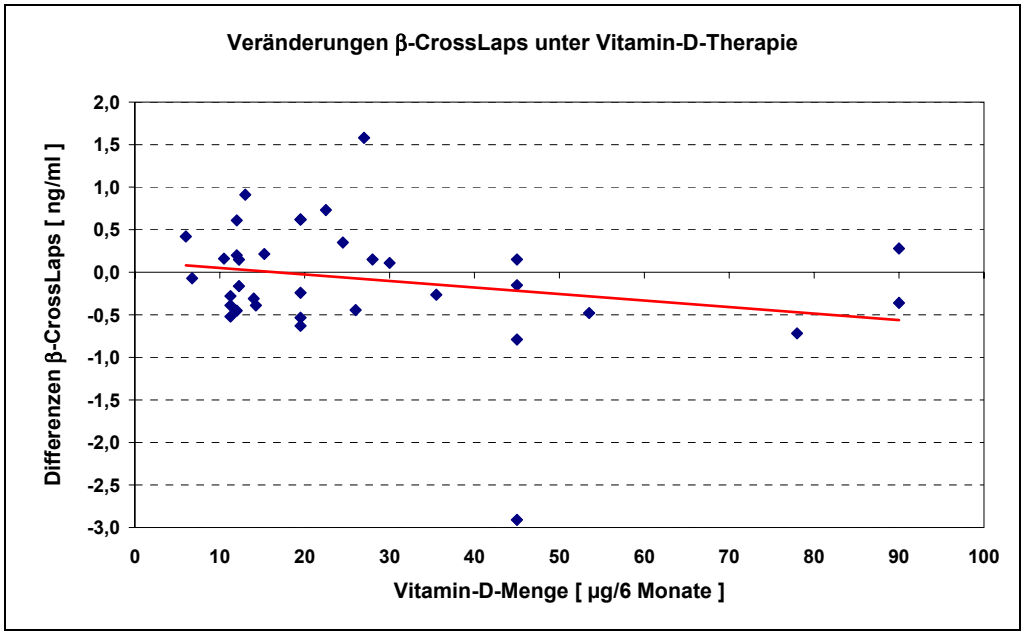

Abbildung 17: Änderungen der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps bei Patienten unter Therapie mit Vitamin D und Vitamin D-Analoga (n = 35)

3.2 Einfluss der Hämodialysebehandlung auf die Variabilität der β-CrossLaps

3.2.1 Patientenkollektiv

Ausgehend von den zum zweiten Untersuchungstermin gemessenen Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps wurde eine Gruppe von 39 Patienten ausgewählt (22 Männer, 17 Frauen, Alter 61,6 ± 13,7 Jahre, Hämodialysedauer 6,7 ± 5,1 Jahre [MW ± SD]), die sowohl bezüglich des Zeitpunkts des Dialysebeginns im Tagesverlauf (07:00h, 13:30h und 19:00h) als auch in Bezug auf die Höhe der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps (Gruppe I: < 1 ng/ml, Gruppe II: 1,0 - 2,0 ng/ml, Gruppe III: > 2 ng/ml) annähernd gleich verteilt waren (Tabelle XI). Es wurde die intradividuelle Variabilität an fünf aufeinander folgenden Dialysetagen geprüft. Für die Bestimmung der Reduktionsraten standen komplette Datensätze von 36 Patienten zur Verfügung.

Tabelle XI: Patientenpopulation, Aufteilung nach Zeitpunkt des Dialysebeginns und der Höhe der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps

β-CrossLaps		**< 1 ng/ml**	**> 1 - 2 ng/ml**	**> 2 ng/ml**		
					gesamt	
07:00h	m	**2**	**4**	**1**	7	
	w	**0**	**3**	**3**	6	13
13:30h	m	**3**	**2**	**3**	8	
	w	**4**	**1**	**3**	8	16
19:00h	m	**2**	**2**	**3**	7	
	w	**0**	**2**	**1**	3	10
	gesamt	**11**	**14**	**14**		39

Bei einer zweiten Gruppe von 17 Patienten, die mit dem Genius Therapie System behandelt wurden (11 Männer, 6 Frauen, Alter 72,2 ± 6,1 Jahre, Hämodialysedauer 6,0 ± 3,0 Jahre [MW ± SD]), erfolgte neben der Entnahme von Proben vor und nach der Dialysebehandlung zur Bestimmung der Reduktionsraten die Entnahme von Dialysatproben am Ende der Dialysebehandlung zur Berechnung der Eliminationsmenge.

3.2.2 Intraindividuelle Kurzzeitvariabilität der β-CrossLaps

Wie für das Gesamtkollektiv der Patienten, so ließen sich auch für die Subgruppe der 39 Hämodialysepatienten an allen 5 aufeinander folgenden Behandlungstagen deutlich

erhöhte Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps zeigen (2,79 ± 0,4 ng/ml, MW ± SEM, Gesamtmittelwert aller Proben). Die Höhe der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps schwankte zwischen zwei Dialysebehandlungen nur gering (bezogen auf die Gesamtgruppe, Tabelle XII) und die Länge des Dialyseintervalls hatte keinen Einfluss auf die Höhe der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps. Ebenso fanden sich für die Gesamtgruppe keine signifikanten Unterschiede bei Abnahme der Proben um 07:00h, 13:30h und 19:00h (Kruskal-Wallis-Test, $\chi^2 = 3{,}075$, $p = 0{,}215$).

Signifikant unterschiedliche Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps in Bezug auf das Geschlecht ließen sich hier, wie auch für das Gesamtkollektiv dokumentiert, nicht nachweisen (Tabelle XII).

Die Art des verwendeten Dialysators („low flux“ oder „high flux“ Dialysator) wirkte sich nicht auf die Höhe der prädialytischen Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps aus (s. 3.2.3), und die Auswahl des Dialysators hatte keinen Einfluss auf die intraindividuelle Variationsbreite zwischen den Dialysebehandlungen (Abbildung 18.a-c). Diese betrug im Mittel 12,7%, minimal 4,5% und maximal 29,4% (n = 38). Eine Patientin wurde mit Hämofiltration behandelt, hier lag die intraindividuelle Variationsbreite mit 32,4% am höchsten.

Der Beginn der Dialysebehandlung im tageszeitlichen Unterschied hatte keinen Einfluss auf die intraindividuelle Variationsbreite (11,6% für die Gruppe der Patienten mit einem Dialysebeginn um 07:00h, 12,2% bei einem Dialysebeginn um 13:30h und 14,8% bei einem Dialysebeginn um 19:00h) (Abbildung 18.a-c).

Tabelle XII: Variabilität der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps bei Untersuchung an fünf aufeinander folgenden Behandlungstagen

β-CrossLaps [ng/ml]	**Mittwoch**	**Freitag**	**Montag**	**Mittwoch**	**Freitag**
alle (n=39)	**3,00 ± 0,41**	**2,69 ± 0,36**	**2,74 ± 0,37**	**2,81 ± 0,47**	**2,79 ± 0,43**
07:00h (n=13)	**2,78 ± 0,56**	**2,63 ± 0,57**	**2,66 ± 0,55**	**2,34 ± 0,42**	**2,46 ± 0,58**
13:30h (n=16)	**2,39 ± 0,59**	**2,26 ± 0,55**	**2,36 ± 0,54**	**2,23 ± 0,51**	**2,39 ± 0,61**
19:00h (n=10)	**4,59 ± 1,34**	**3,46 ± 1,07**	**3,46 ± 1,19**	**4,34 ± 1,93**	**3,85 ± 1,49**
Männer (n=22)	**3,02 ± 0,75**	**2,70 ± 0,68**	**2,66 ± 0,64**	**2,46 ± 0,60**	**2,70 ± 0,73**
Frauen (n=17)	**3,32 ± 0,72**	**3,04 ± 0,69**	**3,37 ± 0,72**	**2,88 ± 0,58**	**3,36 ± 0,78**

(angegeben als MW ± SEM)

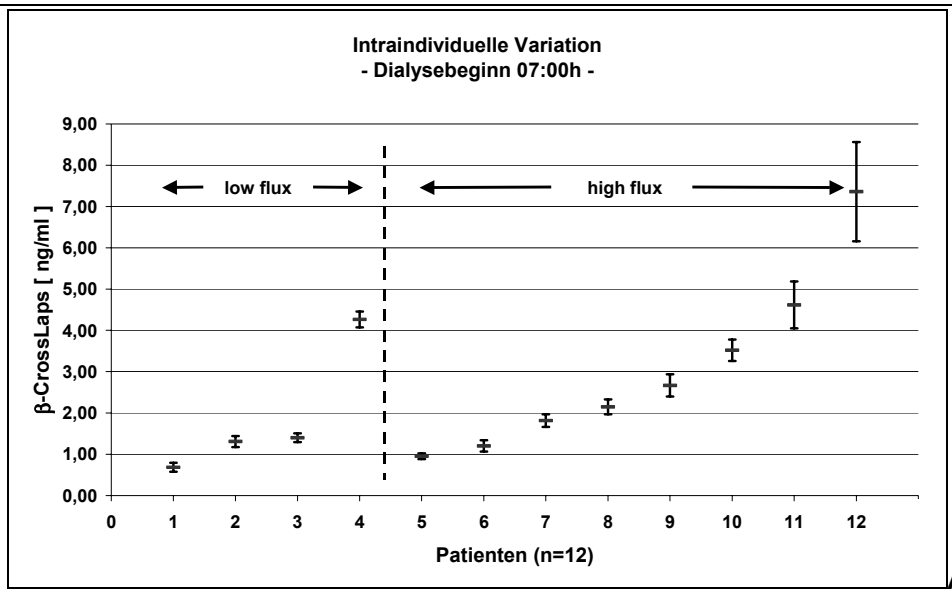

Abb. 18.a

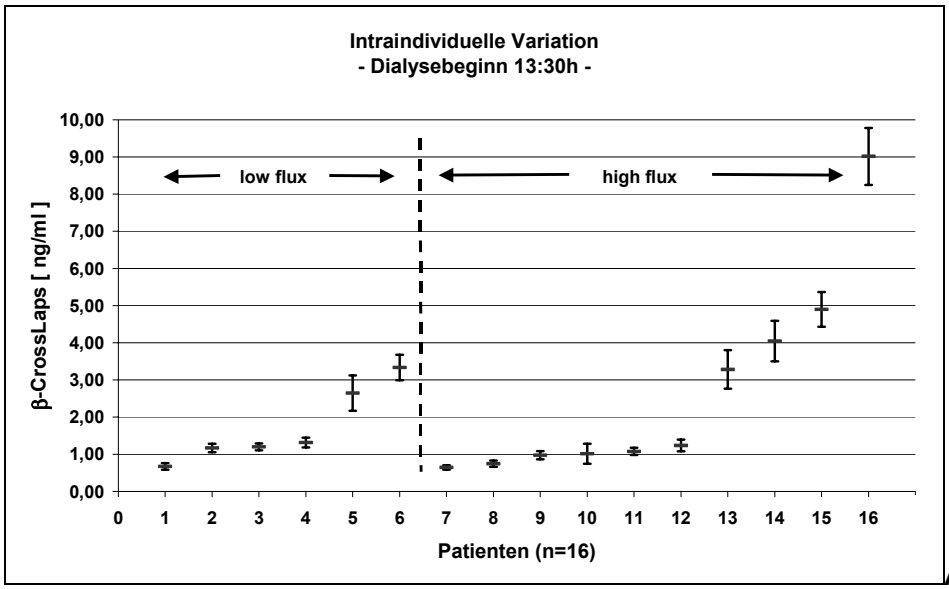

Abb.18.b

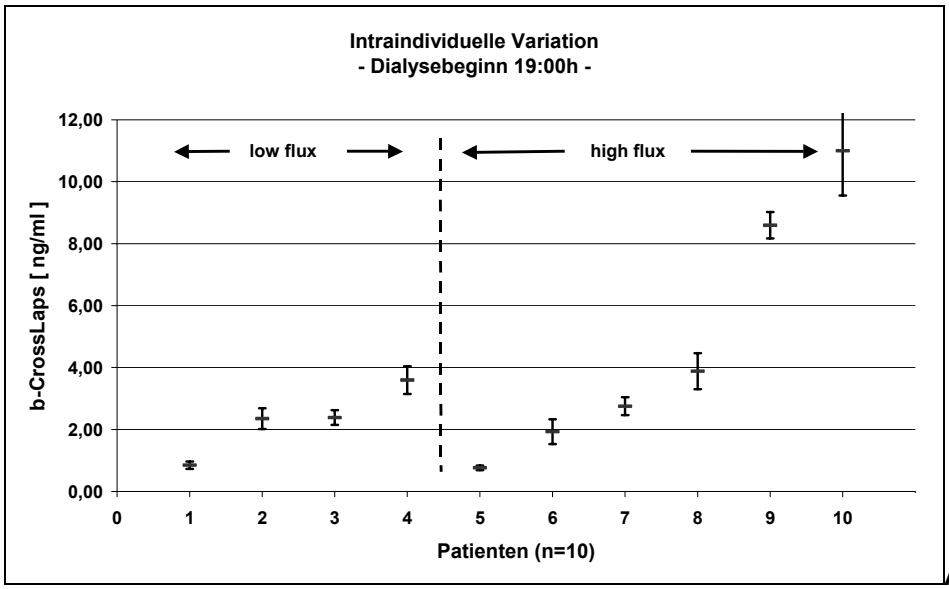

Abb. 18.c

Abbildung 18: Intraindividuelle Variation der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps Untersuchung bei 5 aufeinander folgenden Hämodialysebehandlungen (MW ± SD)

3.2.3 Reduktion und Elimination der β-CrossLaps durch die Hämodialysebehandlung

Für 53 Patienten (36 Patienten der Gruppe 1 und 17 Patienten der Gruppe 2, s. 3.2.1) lagen komplette Datensätze zur Berechnung der Reduktionsraten vor. Wegen Doppeluntersuchung wurden 3 Patienten der Gruppe 1 nicht in die Auswertung mit einbezogen.

Die Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps lagen vor Hämodialysebehandlung bei 2,49 ± 0,28 ng/ml (MW ± SEM, n = 50, Median 1,94 ng/ml). Sie betrugen bei mit „low flux“ Dialysatoren behandelten Patienten (n = 16) 1,97 ± 0,23 ng/ml (Median 1,81 ng/ml) und bei mit „high flux“ Dialysatoren behandelten Patienten (n = 34) 2,73 ± 0,40 ng/ml (Median 1,94 ng/ml) (Abbildung 19).

Nach der Hämodialysebehandlung lagen die Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps bei allen Patienten bei 1,47 ± 0,19 ng/ml (MW ± SEM; Median 1,05 ng/ml). In der Untergruppe der mit „low flux“ Dialysatoren behandelten Patienten lagen die Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps bei 1,50 ± 0,19 ng/ml (Median 1,27 ng/ml) und in der Untergruppe der mit „high flux“ Dialysatoren behandelten Patienten bei 1,45 ± 0,26 ng/ml (Median 0,90 ng/ml) (Abbildung 19).

Die mittlere Reduktionsrate (Berechnung s. 2.2.3) betrug 40% (alle Patienten). Sie unterschied sich signifikant bei der Verwendung von „low flux“ Dialysatoren (mittlere Reduktionsrate 22%, Schwankungsbreite von 0 – 45%) oder „high flux“ Dialysatoren (mittlere Reduktionsrate 49%, Schwankungsbreite von 29 – 78%).

Bei den mit dem Genius Therapie System behandelten Patienten (n = 17) wurde die Gesamtmenge der eliminierten β-CrossLaps berechnet (s. 2.2.3 und 2.3.1), sie betrug in der Gesamtgruppe 18,31 ± 2,80 µg (MW ± SEM). Bei Verwendung unterschiedlicher Dialysator-Typen fanden sich auch hier signifikante Differenzen, so betrug die Gesamtmenge bei mit „low flux“ Membranen behandelten Patienten (n = 4) 10,66 ± 1,70 µg (Median 10,33 µg). Dagegen liegt die Gesamtmenge der eliminierten β-CrossLaps bei mit „high flux“ Membranen behandelten Patienten (n = 13) mit 20,67 ± 3,38 µg (Median 15,61) deutlich höher (Abbildung 20).

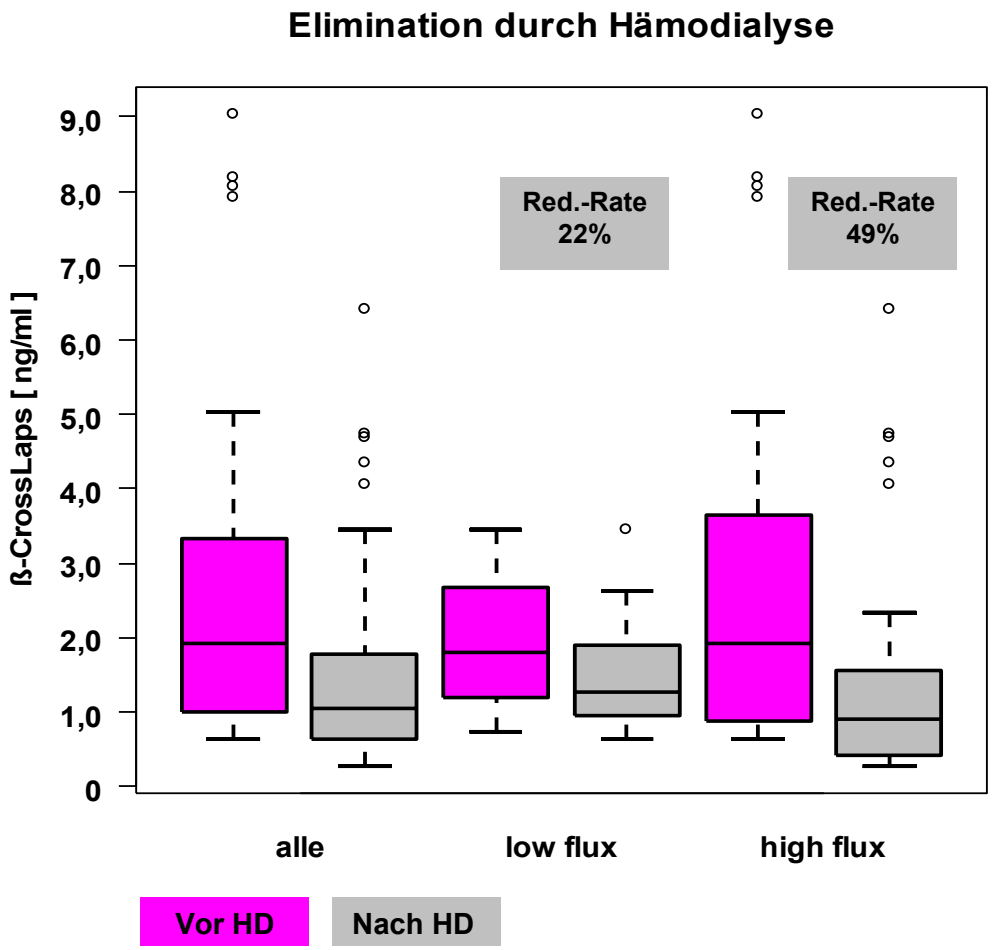

Abbildung 19: Elimination der β-CrossLaps durch Hämodialyse: Reduktionsraten

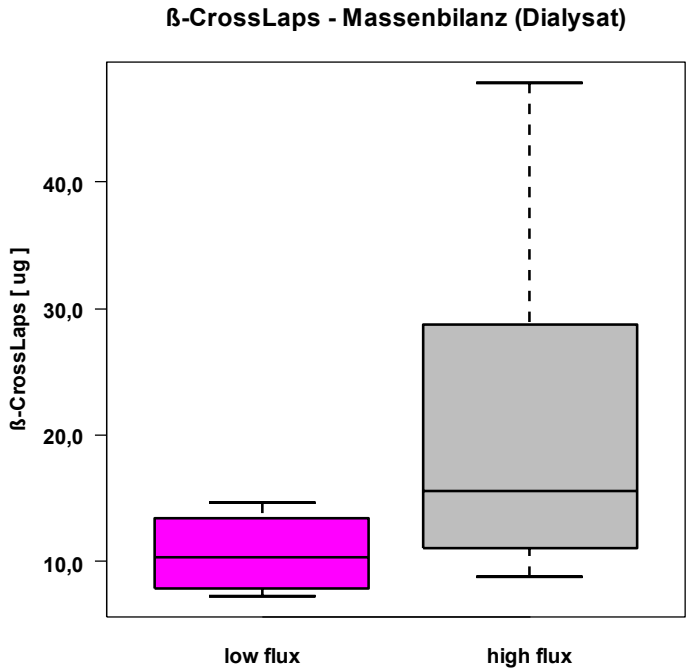

Abbildung 20: Elimination der β-CrossLaps durch Hämodialyse: Massenbilanz (Gesamtmenge im Dialysat [µg])

4 Diskussion

4.1 β-CrossLaps als Marker der Knochenresorption bei chronischer Niereninsuffizienz und renaler Osteopathie

Der β-CrossLaps Immunoassay detektiert Spaltprodukte des C-terminalen Telopeptids des Typ I Kollagens und hier insbesondere Abbauprodukte des aus dem Knochen stammenden Typ I Kollagens [117]. Die Analyse der β-CrossLaps erlaubt die Erfassung eines „physiologischen" Knochenumbauprozesses, wie es im Fall der renalen Osteopathie zu postulieren ist. Durch die ausschließliche Erfassung von Spaltprodukten, die über ein „cross-link" verbunden sind, ist die Erfassung unreifer, nicht in den Knochen inkorporierter Kollagenmoleküle weitestgehend ausgeschlossen. Die Detektion allein von Telopeptiden, in denen zeitabhängig die β-Isomerisierung der Aminosäure Aspartat vorliegt [114], bestätigt die Herkunft aus „langlebigem" Kollagen, wie dem Kollagen des Knochens [48;87]. Hieraus ergibt sich die Frage, ob dieser selektive Marker des Knochenabbaus auch im Falle der renalen Osteopathie als sinnvolles Diagnostikum einsetzbar ist.

Problematisch für die potentielle klinische Relevanz dieses Parameters im Falle der renalen Osteopathie ist die Tatsache, dass β-CrossLaps, wie auch die Pyridinoline, als Moleküle mit relativ niedrigem Molekulargewicht (um 2900 Da) [114] renal eliminiert werden (neben der Bestimmung im Serum oder Plasma ist die Bestimmung im Urin mit einem polyklonalen Antiserum möglich [11]). Somit besteht die Möglichkeit der Akkumulation bei progredienter Niereninsuffizienz unabhängig vom Ausmaß der renalen Knochenerkrankung. Bei Patienten mit kompensierter chronischer Niereninsuffizienz fand sich eine positive Korrelation der β-CrossLaps zur Höhe des Serum-Kreatinins und der Dauer der Erkrankung und es zeigte sich ein signifikanter Rückgang der β-CrossLaps nach Beginn einer Therapie mit calciumhaltigen Phosphatbindern und α-Calcidol [107]. Darüber hinaus ist bei dialysepflichtigen Patienten ein Einfluss des Nierenersatzverfahrens denkbar oder möglich. Bislang existieren bei Dialysepatienten keine Daten zu diesem Parameter.

In den vorliegenden Untersuchungen wurde erstmals eine größere Gruppe von Hämodialysepatienten systematisch bezüglich der Höhe der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps und ihres Verhaltens nach einem längeren Beobachtungszeitraum

(Wiederholung der Untersuchung nach sechs Monaten) evaluiert sowie im Vergleich mit anderen etablierten Parametern des Knochenstoffwechsels analysiert. In weiteren Untersuchungsreihen wurde bei ausgewählten Patientenkollektiven darüber hinaus der Einfluss des Hämodialyseverfahrens auf das Verhalten der β-CrossLaps überprüft.

4.2 β-CrossLaps bei Hämodialysepatienten und Variabilität im Langzeitverlauf

Für das Gesamtkollektiv der Hämodialysepatienten konnte gezeigt werden, dass die Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps im Mittel deutlich über die alters- und geschlechtsbezogen differierenden Normwerte hinaus erhöht waren (Termin I: 1,56 ± 0,11 ng/ml). Die für Männer (Normwert: 0,30 ± 0,20 ng/ml) im Vergleich zu postmenopausalen Frauen (Normwert: 0,56 ± 0,23 ng/ml) beschriebenen niedrigeren Plasmakonzentrationen ließen sich in der Gruppe der Dialysepatienten in dieser Form nicht nachvollziehen, hier konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden (Männer 1,58 ± 0,14 ng/ml; Frauen 1,55 ± 0,16 ng/ml). Auf Grund der Altersstruktur befanden sich nur wenige prämenopausale Frauen in der Untersuchungsgruppe, so dass eine diesbezügliche Unterteilung nicht sinnvoll durchführbar war.

Bei Wiederholung der Untersuchung nach Ablauf von 6 Monaten wies das Gesamtkollektiv nur minimale Veränderungen in der Höhe der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps auf (Termin II: 1,60 ± 0,11 ng/ml). Ebenso ließ sich bei der vergleichenden Analyse eine analoge Verteilung (Abbildung 5) dokumentieren, die sich zu beiden Untersuchungsterminen über den gesamten Messbereich des Testes erstreckte.

Trotz des relativ niedrigen Molekulargewichtes ließ sich kein Einfluss einer noch vorhandenen Restdiurese auf die Höhe der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps im Gesamtkollektiv der untersuchten Patienten nachweisen. Ebenso fanden sich im Gesamtkollektiv keine signifikanten Unterschiede für die Gruppen der mit „low flux“ oder „high flux“ Dialysatoren behandelten Patienten.

Bei der Analyse weiterer Parameter des Knochenstoffwechsels mit der Höhe der β-CrossLaps zeigten sich zum Teil divergierende Befunde. Calcium als wesentlicher Bestandteil der anorganischen Knochenmatrix zeigte keine bedeutsame Korrelation (Termin I: r = 0,122) der Plasmakonzentrationen mit der Höhe der β-CrossLaps. Dies ist erklärt durch die fortlaufende Intervention im Rahmen der Dialysebehandlung mit

dem Ziel, den Serum-Calcium-Spiegel unabhängig von den Einflüssen der Knochenstoffwechselprozesse in engen Grenzen stabil zu halten. Im Gegensatz dazu zeigten Phosphat (Termin I: r = 0,328) und konsekutiv auch das Calcium-Phosphat-Produkt (Termin I: r = 0,360) eine wenn auch schwache Korrelation mit der Höhe der β-CrossLaps. Durch die unzureichende Elimination von Phosphat im Rahmen der Dialysebehandlung wirken sich die Knochenstoffwechselprozesse und Parathormon stärker auf die Höhe der Serum-Phosphat-Spiegel aus. Wegen zusätzlicher Faktoren, die den Serum-Phosphat-Spiegel ebenfalls erheblich beeinflussen können (insbesondere Nahrungsgewohnheiten) ist die nur geringe Übereinstimmung mit den Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps verständlich.

Von wesentlich größerer Bedeutung für die Frage, ob β-CrossLaps sich als Marker der Knochenresorption bei Dialysepatienten eignen, ist der Vergleich mit dem (intakten) Parathormon und weiteren bekannten Parametern des Knochenumbaus. In den vorliegenden Untersuchungen wurden als Marker der Knochenformation die (Gesamt-) Alkalische Phosphatase und Osteocalcin überprüft, da bei der renalen Osteopathie die physiologische Kopplung zwischen Knochenaufbau und –abbau weitgehend erhalten ist und somit Höhe und Änderungen dieser Parameter in gleichem Ausmaß auftreten sollten.

Für das Gesamtkollektiv ließen sich zu beiden Untersuchungszeitpunkten vergleichbar hoch-signifikante Korrelationen zwischen den Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps und denen des intakten Parathormons (Termin I: r = 0,717) nachweisen. Auch für den Parameter Osteocalcin wurde diese Korrelation zu beiden Untersuchungsterminen analog dokumentiert (Termin I: r = 0,746) und dieser Befund war ebenso konstant bei der Gegenüberstellung von Osteocalcin und intaktem Parathormon (Termin I: r = 0,707). Es kann postuliert werden, dass die zwar ebenso nachweisbare, aber schwächere Korrelation mit der Alkalischen Phosphatase (Termin I: r = 0,449) auf der geringeren Aussagekraft dieses Parameters im Vergleich zu der Knochen-spezifischen Alkalischen Phosphatase beruht, was durch die auch in den vorliegenden Ergebnissen nur sehr schwache Korrelation zwischen Alkalischer Phosphatase und Parathormon (Termin I: r = 0,281) zusätzlich untermauert wird.

Um die intraindividuelle Variationsbreite der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps zu überprüfen, erfolgte der Vergleich zwischen den beiden im Abstand von 6 Monaten gewonnenen Ergebnissen. Hier fand sich überwiegend eine geringe Variabilität, zum Teil wurden jedoch auch große Differenzen in der Höhe der Plasmakonzentrationen

verifiziert (Spanne der Abweichungen von -2,91 ng/ml bis +2,57 ng/ml, prozentuale Abweichungen von -83,3% bis +66,8%).

Die auch hier durchgeführte Analyse mit den Differenzen der darüber hinaus untersuchten Parameter des Knochenstoffwechsels bestätigte wiederum eine fehlende Korrelation bei vergleichender Betrachtung der Plasmakonzentrationen des Calciums und nur eine schwache Korrelation für den Parameter Phosphat und das Calcium-Phosphat-Produkt.

Signifikante positive Korrelationen sowohl für positive als auch für negative Veränderungen fanden sich für das intakte Parathormon (r = 0,476) und schwächer der Alkalischen Phosphatase (r = 0,250). Wie auch in den Einzelbeobachtungen war die Korrelation der Differenzen der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps mit Osteocalcin als direktem Parameter des Knochenstoffwechsels am deutlichsten (r = 0,543).

Die zum Zeitpunkt der ersten Evaluation bereits bestehende Medikation mit Phosphatbindern und Vitamin-D-Präparaten wurde auch im Intervall bis zur zweiten Untersuchung nicht systematisch verändert. Änderungen wurden allenfalls entsprechend den Erfordernissen zwischenzeitlicher Laborergebnisse durchgeführt, die Ergebnisse der hier diskutierten (und ergänzend analysierten) Parameter (β-CrossLaps und Osteocalcin) wurden hierzu jedoch nicht herangezogen. Ebenso erfolgten keine systematischen Interventionen im Bereich des Dialyseregimes oder der Dialysedauer.

Ein bedeutsamer Zusammenhang zwischen der Höhe der Medikation mit den verschiedenen Phosphatbindern fand sich nicht. Bei Betrachtung der Untergruppe der Patienten, die eine Therapie mit Vitamin-D-Präparaten erhielten, fand sich eine schwach Korrelation für einen stärkeren Rückgang der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps unter höherer Vitamin-D-Dosierung. Dieser nur sehr schwache Trend beruht möglicherweise auf der Tatsache, dass die Vitamin-D-Therapie oft (z.B. aufgrund der Limitation durch interkurrente Hyperphosphatämien) nur zeitweise und nur niedrig dosiert erfolgte.

Somit lässt sich feststellen, dass β-CrossLaps aufgrund ihrer guten Übereinstimmung mit den Parametern Parathormon und Osteocalcin und in geringerem Maße mit der Alkalischen Phosphatase das Ausmaß und Änderungen in der Höhe des Knochen-Umsatzes bei Dialysepatienten in ähnlicher Weise reflektieren können. Dies gilt sowohl

für die Einzelbeobachtung als auch für den Longitudinalverlauf. Ob β-CrossLaps mit ihrer nachgewiesenen hohen Spezifität als Abbauprodukt des Knochenkollagens auch bei renaler Osteopathie mit einer hohen Wahrscheinlichkeit den Grad der Knochenresorption dokumentieren können, wie dies für den Parameter TRAcP 5b bereits in Ansätzen gezeigt werden konnte [21], muss dem Vergleich mit histomorphometrischen Untersuchungen vorbehalten bleiben. Der Einfluss der verminderten Nierenfunktion [107] muss bei der Beurteilung der absoluten Höhe der Plasmakonzentrationen (insbesondere im Vergleich zu einem Normalkollektiv) berücksichtigt werden. Auch vor dem Hintergrund des Einsatzes neuer, differenzierter Therapiestrategien ist die weitere Analyse dieses Knochenstoffwechselparameters sinnvoll, da direkte Auswirkungen der Therapie auf den Knochenstoffwechsel möglicherweise schneller erfasst werden können als durch das bislang hierzu verwandte intakte Parathormon.

4.3 Einfluss der Hämodialysebehandlung auf die Variabilität der β-CrossLaps

Ein weiterer Aspekt, der bei der Beurteilung von β-CrossLaps bei Hämodialysepatienten beachtet werden muss, ist die Beeinflussung durch die Hämodialysebehandlung selbst. Auf Grund des relativ niedrigen mittleren Molekulargewichtes (ca. 2900 Da) [114] ist von einer Elimination im Rahmen der Dialysebehandlung auszugehen.

Im Falle der Pyridinoline wurde die Reduktion der Serumkonzentrationen durch die Dialyse beschrieben und auch der Nachweis im Dialysat erbracht [74]. Die Höhe prädialytischer Serumkonzentrationen der Pyridinoline war unabhängig von der Art der verwendeten Dialysatoren („high flux“ oder Standard-Zellulose-Membranen) [129].

Die vorliegenden Ergebnisse können für die β-CrossLaps ebenfalls eine Beeinflussung der prädialytischen Plasmakonzentrationen durch die Art der verwendeten Dialysatoren weitgehend ausschließen: die Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps vor Beginn der Hämodialysebehandlung bei mit „low flux“ Dialysatoren behandelten Patienten unterschieden sich im Gesamtkollektiv nicht signifikant von jenen bei mit „high flux“ Dialysatoren behandelten Patienten. Zusätzlich ließ sich in einem Teilkollektiv von 39 Patienten eine geringe intraindividuelle Variationsbreite bei Wiederholung der Untersuchungen an 5 aufeinander folgenden Behandlungstagen dokumentieren (mittlere intraindividuelle Variationsbreite 12,7 %). Der Tageszeitpunkt der Entnahme

der β-CrossLaps hatte keinen Einfluss auf die intraindividuelle Variationsbreite (11,6%, 12,2% und 14,8% bei einem Dialysebeginn um 07:00h, 13:30h und 19:00h). Es zeigte sich jedoch, wie dies auch für andere Parameter des Knochenstoffwechsels bekannt ist, dass bei Patienten mit hohen und sehr hohen Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps diese Variationsbreite tendenziell größer ausgeprägt ist. Außerdem bestätigte sich, dass die Länge des Dialyseintervalls sich ebenfalls nicht auf die Höhe der prädialytischen Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps auswirkt.

Abhängig von der Art des verwendeten Dialysators zeigten sich deutliche Unterschiede in der Reduktion der postdialytischen Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps. Die Reduktionsraten lagen bei Verwendung von „low flux“ Dialysatoren deutlich niedriger (22%) als bei Einsatz von „high flux“ Dialysatoren (49%). Dies spiegelte sich auch in den differierenden Mengen der im Dialysat nachgewiesenen β-CrossLaps wider (Gesamtmenge eliminierter β-CrossLaps 10,66 µg bei Verwendung von „low flux“ Membranen und 20,67 µg bei Einsatz von „high flux“ Membranen); unter Berücksichtigung der geringen Gruppengröße bedarf es hier vor einer allgemeinen Annahme weiterer überprüfender Untersuchungen.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass eine relevante Elimination der β-CrossLaps bei der Hämodialysebehandlung erfolgt, dies wirkt sich jedoch nicht auf die Höhe der prädialytischen Plasmakonzentrationen aus. Diese weisen bei kurzfristigen Wiederholungsuntersuchungen im Gegenteil nur eine geringe Variationsbreite auf. Um reproduzierbare und vergleichbare Ergebnisse zu erhalten, sollte die Probenentnahme jeweils vor Beginn der Dialysebehandlung angestrebt werden.

5 Zusammenfassung

Die diagnostische und therapeutische Kontrolle des Knochenstoffwechsels bei chronischen Hämodialysepatienten beruht nach wie vor im Wesentlichen auf der Kontrolle der Parameter Calcium, Phosphat sowie des intakten Parathormons. Der exakte Typ der im Einzelfall bestehenden Form der renalen Osteopathie bleibt oftmals unsicher. Die Gewinnung einer Knochenhistologie, die unverändert den Goldstandard der Diagnostik darstellt, wird nur in Einzelfällen angestrebt.

Physiologische und pathologische Knochenumbauprozesse wurden in den letzten Jahren intensiv untersucht. Es wurde eine Vielzahl direkter Marker des Knochen-Umsatzes beschrieben. Bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz und endgültigem Nierenversagen haben sich die Knochen-spezifische Alkalische Phosphatase und Osteocalcin als valide in der Beurteilung des Ausmaßes der Knochenformation erwiesen. Die Tartrat-resistente saure Phosphatase des Knochens reflektiert bei Dialysepatienten das Ausmaß der osteoklastären Aktivität und der Knochenresorption.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Wertigkeit der β-CrossLaps, eines neuen Markers der Knochenresorption, bei chronischen Hämodialysepatienten zu untersuchen. In einem großen Patientenkollektiv wurden die Konzentrationen der β-CrossLaps bei Hämodialysepatienten und ihr Verlauf über einen längeren Beobachtungszeitraum dargestellt. Darüber hinaus wurde die Korrelation mit Standardparametern des Knochenstoffwechsels überprüft. Weiterhin wurde der Einfluss der Hämodialysebehandlung auf die Höhe der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps untersucht.

β-CrossLaps sind Degradationsprodukte des Typ I Kollagens, das den größten Anteil der organischen Knochenmatrix darstellt. Die Antikörper detektieren ein Spaltprodukt des C-terminalen Telopeptids des Typ I Kollagens, das nach Spaltung durch die Kollagenase Kathepsin K entsteht. Das aus acht Aminosäuren bestehende Spaltprodukt ist in den α1-Ketten des Kollagens zweimal nachweisbar und durch ein „cross-link“ verbunden. Diese Eigenschaften weisen das Molekül als spezifisches Abbauprodukt des Knochenkollagens im Sinne eines Knochenresorptionsmarkers aus. Der Test basiert auf einem ElektroChemiLumineszenz Immunoassay und kann mit geringem zeitlichen und methodischen Aufwand erfolgen.

In den hier durchgeführten Untersuchungen fanden sich die β-CrossLaps bei einem großen Kollektiv (n = 123) von Hämodialysepatienten deutlich über die alters- und geschlechtsbezogen definierten Normwerte erhöht (Termin I: 1,56 ± 0,11 ng/ml). Bei Wiederholung der Untersuchungen nach 6 Monaten konnten die Ergebnisse in gleicher Weise reproduziert werden (Termin II: 1,60 ± 0,11 ng/ml). Zwischen Männern und Frauen fanden sich keine Unterschiede in der Höhe der β-CrossLaps. Es zeigten sich signifikante Korrelationen zum intakten Parathormon (r = 0,717) und zu Osteocalcin (r = 0,746), weniger deutlich zu der (Gesamt-) Alkalischen Phosphatase (r = 0,449).

Die individuelle Variationsbreite der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps war in dem Beobachtungszeitraum überwiegend gering ausgeprägt, reichte jedoch im Gesamtkollektiv von -83,7 bis +66,8%. Es erfolgte auch hier eine Korrelationsanalyse mit den Differenzen der anderen Knochenstoffwechselparameter. Diese waren ebenfalls positiv signifikant für intaktes Parathormon (r = 0,467) und Osteocalcin (r = 0,543) und wiederum schwächer für die alkalische Phosphatase (r = 0,250).

β-CrossLaps werden durch die Hämodialysebehandlung mit mittleren Reduktionsraten von 40% eliminiert. Durch „high flux“ Dialysatoren (Reduktionsrate 49%, Nachweis im Dialysat als Massenbilanz 20,67 µg) kann eine relativ und absolut höhere Elimination erzielt werden als mit „low flux“ Dialysatoren (Reduktionsrate 22%, Nachweis im Dialysat 10,66 µg). Bei Wiederholungsuntersuchungen zeigte sich an aufeinander folgenden Dialysetagen eine geringe intraindividuelle Variabilität in der Höhe der prädialytischen Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps (12,7%), dies war auch unabhängig vom Beginn der Dialysebehandlung im tageszeitlichen Unterschied. Die unterschiedliche Länge des Dialyseintervalls hatte keinen Einfluss auf die Höhe der prädialytischen Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps.

Aufgrund der vorliegenden Untersuchungen sind β-CrossLaps auch bei Hämodialysepatienten als Marker des Knochenumsatzes sinnvoll einsetzbar. Weiterführende Untersuchungen und insbesondere ein Vergleich mit histomorphometrischen Befunden müssen ihren Wert als Marker der Knochenresorption in der Abgrenzung der verschiedenen Formen der renalen Osteopathie weiter sichern. Bei der Beurteilung der Plasmakonzentrationen der β-CrossLaps sollte bei Hämodialysepatienten standardmäßig die Bestimmung prädialytischer Proben erfolgen, um vergleichbare Ergebnisse erzielen zu können.

6 Literaturverzeichnis

1. Aman S, Paimela L, Leirisalo-Repo M, Risteli J, Kautiainen H, Helve T, Hakala M: Prediction of disease progression in early rheumatoid arthritis by ICTP, RF and CRP. A comparative 3-year follow-up study. Rheumatology (Oxford) 39:1009-1013, 2000
2. Amann K, Gross ML, London GM, Ritz E: Hyperphosphataemia--a silent killer of patients with renal failure? Nephrol Dial Transplant 14:2085-2087, 1999
3. Andress DL, Maloney NA, Endres DB, Sherrard DJ: Aluminum-associated bone disease in chronic renal failure: high prevalence in a long-term dialysis population. J Bone Miner Res 1:391-398, 1986
4. Anonymus: Zauberwort ECL: Die Reaktion: ElektroChemiLumineszenz. Die Tests: Elecsys Immunoassays. Diagnostica Dialog 10-15, 1996
5. Arnaud CD: Hyperparathyroidism and renal failure. Kidney Int 4:89-95, 1973
6. Aubin JE: Bone stem cells. J Cell Biochem Suppl 30-31:73-82, 1998
7. 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
8. Block GA: Prevalence and clinical consequences of elevated Ca x P product in hemodialysis patients. Clin Nephrol 54:318-324, 2000
9. 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 31:607-617, 1998
10. Block GA, Port FK: Re-evaluation of risks associated with hyperphosphatemia and hyperparathyroidism in dialysis patients: recommendations for a change in management. Am J Kidney Dis 35:1226-1237, 2000
11. Bonde M, Qvist P, Fledelius C, Riis BJ, Christiansen C: Immunoassay for quantifying type I collagen degradation products in urine evaluated. Clin Chem 40:2022-2025, 1994
12. Brancaccio D, Cozzolino M, Gorio A, Di Giulio AM, Gallieni M: Bone disease in uremic patients: advances in PTH suppression. J Nephrol 15 Suppl 6:S86-S93, 2002

13. Braun J, Oldendorf M, Moshage W, Heidler R, Zeitler E, Luft FC: Electron beam computed tomography in the evaluation of cardiac calcification in chronic dialysis patients. Am J Kidney Dis 27:394-401, 1996
14. Brossard JH, Yamamoto LN, D'Amour P: Parathyroid hormone metabolites in renal failure: bioactivity and clinical implications. Semin Dial 15:196-201, 2002
15. Bushinsky DA: The contribution of acidosis to renal osteodystrophy. Kidney Int 47:1816-1832, 1995
16. Capeller B, Caffier H, Sutterlin MW, Dietl J: Evaluation of tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) 5b as serum marker of bone metastases in human breast cancer. Anticancer Res 23:1011-1015, 2003
17. Christgau S: Circadian variation in serum CrossLaps concentration is reduced in fasting individuals. Clin Chem 46:431, 2000
18. Christgau S, Bitsch-Jensen O, Hanover BN, Gamwell HE, Qvist P, Alexandersen P, Bang HD: Serum CrossLaps for monitoring the response in individuals undergoing antiresorptive therapy. Bone 26:505-511, 2000
19. Christgau S, Rosenquist C, Alexandersen P, Bjarnason NH, Ravn P, Fledelius C, Herling C, Qvist P, Christiansen C: Clinical evaluation of the Serum CrossLaps One Step ELISA, a new assay measuring the serum concentration of bone-derived degradation products of type I collagen C-telopeptides. Clin Chem 44:2290-2300, 1998
20. Chu P, Chao TY, Lin YF, Janckila AJ, Yam LT: Correlation between histomorphometric parameters of bone resorption and serum type 5b tartrate-resistant acid phosphatase in uremic patients on maintenance hemodialysis. Am J Kidney Dis 41:1052-1059, 2003
21. Chu P, Chao TY, Lin YF, Janckila AJ, Yam LT: Correlation between histomorphometric parameters of bone resorption and serum type 5b tartrate-resistant acid phosphatase in uremic patients on maintenance hemodialysis. Am J Kidney Dis 41:1052-1059, 2003
22. Coen G, Ballanti P, Balducci A, Calabria S, Fischer MS, Jankovic L, Manni M, Morosetti M, Moscaritolo E, Sardella D, Bonucci E: Serum osteoprotegerin and renal osteodystrophy. Nephrol Dial Transplant 17:233-238, 2002
23. 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 13:2294-2302, 1998

24. Coen G, Ballanti P, Mazzaferro S, Pasquali M, Bonucci E: Procollagen type 1 C-terminal extension peptide, PTH and 1,25 (OH) 2D3 in chronic renal failure. Bone 14:415-420, 1993
25. Coen G, Mazzaferro S, Ballanti P, Bonucci E: PTH and bone markers of renal osteodystrophy in predialysis chronic renal failure. J Endocrinol Invest 15:129-133, 1992
26. Coen G, Mazzaferro S, Ballanti P, Bonucci E, Bondatti F, Manni M, Pasquali M, Perruzza I, Sardella D, Spurio A: Procollagen type I C-terminal extension peptide in predialysis chronic renal failure. Am J Nephrol 12:246-251, 1992
27. Couttenye MM, D'Haese PC, Deng JT, Van Hoof VO, Verpooten GA, De Broe ME: High prevalence of adynamic bone disease diagnosed by biochemical markers in a wide sample of the European CAPD population. Nephrol Dial Transplant 12:2144-2150, 1997
28. Couttenye MM, D'Haese PC, Verschoren WJ, Behets GJ, Schrooten I, De Broe ME: Low bone turnover in patients with renal failure. Kidney Int Suppl 73:S70-S76, 1999
29. De Vernejoul MC: [Origin of bone cells (author's transl)]. Nouv Presse Med 11:197-200, 1982
30. Delling G: Morphologie der renalen Osteopathie. Dialyse 10:16-18, 1985
31. Delmas PD, Eastell R, Garnero P, Seibel MJ, Stepan J: The use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis. Committee of Scientific Advisors of the International Osteoporosis Foundation. Osteoporos Int 11 Suppl 6:S2-17, 2000
32. Descamps-Latscha B, Herbelin A, Nguyen AT, Roux-Lombard P, Zingraff J, Moynot A, Verger C, Dahmane D, de Groote D, Jungers P, .: Balance between IL-1 beta, TNF-alpha, and their specific inhibitors in chronic renal failure and maintenance dialysis. Relationships with activation markers of T cells, B cells, and monocytes. J Immunol 154:882-892, 1995
33. Drueke TB: The pathogenesis of parathyroid gland hyperplasia in chronic renal failure. Kidney Int 48:259-272, 1995
34. Drueke TB: Renal osteodystrophy: management of hyperphosphataemia. Nephrol Dial Transplant 15: Suppl 5:32-33, 2000
35. Eastwood JB, Bordier PJ, de Wardener HE: Some biochemical, histological, radiological and clinical features of renal osteodystrophy. Kidney Int 4:128-140, 1973

36. Ebeling PR, Peterson JM, Riggs BL: Utility of type I procollagen propeptide assays for assessing abnormalities in metabolic bone diseases. J Bone Miner Res 7:1243-1250, 1992
37. Eknoyan G, Levin A, Levin NW: Bone metabolism and disease in chronic kidney disease. Am J Kidney Dis 42: Suppl 3: 1-201, 2003
38. Elomaa I, Virkkunen P, Risteli L, Risteli J: Serum concentration of the cross-linked carboxyterminal telopeptide of type I collagen (ICTP) is a useful prognostic indicator in multiple myeloma. Br J Cancer 66:337-341, 1992
39. Epstein S, Traberg H, Raja R, Poser J: Serum and dialysate osteocalcin levels in hemodialysis and peritoneal dialysis patients and after renal transplantation. J Clin Endocrinol Metab 60:1253-1256, 1985
40. Eyre D: Collagen cross-linking amino acids. Methods Enzymol 144:115-139, 1987
41. Eyre DR: Collagen: molecular diversity in the body's protein scaffold. Science 207:1315-1322, 1980
42. Eyre DR, Koob TJ, Van Ness KP: Quantitation of hydroxypyridinium crosslinks in collagen by high-performance liquid chromatography. Anal Biochem 137:380-388, 1984
43. Eyre DR, Paz MA, Gallop PM: Cross-linking in collagen and elastin. Annu Rev Biochem 53:717-748, 1984
44. Fassbinder W: Renaissance of the batch method? Nephrol Dial Transplant 13:3010-3012, 1998
45. Fassbinder W: Experience with the GENIUS hemodialysis system. Kidney Blood Press Res 26:96-99, 2003
46. Ferreira A: Biochemical markers of bone turnover in the diagnosis of renal osteodystrophy: what do we have, what do we need? Nephrol Dial Transplant 13 Suppl 3:29-32, 1998
47. Ferreira A, Simon P, Drueke TB, Deschamps-Latscha B: Potential role of cytokines in renal osteodystrophy. Nephrol Dial Transplant 11:399-400, 1996
48. Fledelius C, Johnsen AH, Cloos PA, Bonde M, Qvist P: Characterization of urinary degradation products derived from type I collagen. Identification of a beta-isomerized Asp-Gly sequence within the C-terminal telopeptide (alpha1) region. J Biol Chem 272:9755-9763, 1997
49. Frei, U. and Schober-Halstenberg, H. J. Nierenersatztherapie in Deutschland. QuaSi-Niere Jahresbericht 2000, Berlin, Deutschland. 1-12-2001.
50. Frei, U. and Schober-Halstenberg, H. J. Nierenersatztherapie in Deutschland. QuaSi-Niere Jahresbericht 2001/2002, Berlin, Deutschland. 1-12-2002.

51. Frei, U. and Schober-Halstenberg, H. J. Nierenersatztherapie in Deutschland. QuaSi-Niere Jahresbericht 2002/2003, Berlin, Deutschland. 1-12-2003.
52. Garnero P, Delmas PD: Bone markers. Baillieres Clin Rheumatol 11:517-537, 1997
53. Garnero P, Delmas PD: Biochemical markers of bone turnover. Applications for osteoporosis. Endocrinol Metab Clin North Am 27:303-323, 1998
54. Garnero P, Sornay-Rendu E, DuBoeuf F, Delmas PD: Markers of bone turnover predict postmenopausal forearm bone loss over 4 years: the OFELY study. J Bone Miner Res 14:1614-1621, 1999
55. Gonzalez EA: The role of cytokines in skeletal remodelling: possible consequences for renal osteodystrophy. Nephrol Dial Transplant 15:945-950, 2000
56. Goodman WG, Goldin J, Kuizon BD, Yoon C, Gales B, Sider D, Wang Y, Chung J, Emerick A, Greaser L, Elashoff RM, Salusky IB: Coronary-artery calcification in young adults with end-stage renal disease who are undergoing dialysis. N Engl J Med 342:1478-1483, 2000
57. Haas M, Leko-Mohr Z, Roschger P, Kletzmayr J, Schwarz C, Domenig C, Zsontsich T, Klaushofer K, Delling G, Oberbauer R: Osteoprotegerin and parathyroid hormone as markers of high-turnover osteodystrophy and decreased bone mineralization in hemodialysis patients. Am J Kidney Dis 39:580-586, 2002
58. Hakala M, Risteli L, Manelius J, Nieminen P, Risteli J: Increased type I collagen degradation correlates with disease severity in rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 52:866-869, 1993
59. Halleen J, Hentunen TA, Hellman J, Vaananen HK: Tartrate-resistant acid phosphatase from human bone: purification and development of an immunoassay. J Bone Miner Res 11:1444-1452, 1996
60. Halleen JM, Alatalo SL, Janckila AJ, Woitge HW, Seibel MJ, Vaananen HK: Serum tartrate-resistant acid phosphatase 5b is a specific and sensitive marker of bone resorption. Clin Chem 47:597-600, 2001
61. Halleen JM, Alatalo SL, Suominen H, Cheng S, Janckila AJ, Vaananen HK: Tartrate-resistant acid phosphatase 5b: a novel serum marker of bone resorption. J Bone Miner Res 15:1337-1345, 2000
62. Halleen JM, Raisanen S, Salo JJ, Reddy SV, Roodman GD, Hentunen TA, Lehenkari PP, Kaija H, Vihko P, Vaananen HK: Intracellular fragmentation of bone resorption products by reactive oxygen species generated by osteoclastic tartrate-resistant acid phosphatase. J Biol Chem 274:22907-22910, 1999

63. Halleen JM, Ranta R: Tartrate-resistant acid phosphatase as a serum marker of bone resorption. Am Clin Lab 20:29-30, 2001
64. Halleen JM, Ylipahkala H, Alatalo SL, Janckila AJ, Heikkinen JE, Suominen H, Cheng S, Vaananen HK: Serum tartrate-resistant acid phosphatase 5b, but not 5a, correlates with other markers of bone turnover and bone mineral density. Calcif Tissue Int 71:20-25, 2002
65. Hamdy NA, Kanis JA, Beneton MN, Brown CB, Juttmann JR, Jordans JG, Josse S, Meyrier A, Lins RL, Fairey IT: Effect of alfacalcidol on natural course of renal bone disease in mild to moderate renal failure. BMJ 310:358-363, 1995
66. Hamdy NA, Risteli J, Risteli L, Harris S, Beneton MN, Brown CB, Kanis JA: Serum type I procollagen peptide: a non-invasive index of bone formation in patients on haemodialysis? Nephrol Dial Transplant 9:511-516, 1994
67. Hassager C, Jensen LT, Podenphant J, Thomsen K, Christiansen C: The carboxy-terminal pyridinoline cross-linked telopeptide of type I collagen in serum as a marker of bone resorption: the effect of nandrolone decanoate and hormone replacement therapy. Calcif Tissue Int 54:30-33, 1994
68. Herbelin A, Nguyen AT, Zingraff J, Urena P, Descamps-Latscha B: Influence of uremia and hemodialysis on circulating interleukin-1 and tumor necrosis factor alpha. Kidney Int 37:116-125, 1990
69. Herbelin A, Urena P, Nguyen AT, Zingraff J, Descamps-Latscha B: Elevated circulating levels of interleukin-6 in patients with chronic renal failure. Kidney Int 39:954-960, 1991
70. Hofbauer LC: Osteoprotegerin ligand and osteoprotegerin: novel implications for osteoclast biology and bone metabolism. Eur J Endocrinol 141:195-210, 1999
71. Hruska K: New concepts in renal osteodystrophy. Nephrol Dial Transplant 13:2755-2760, 1998
72. Hruska KA, Teitelbaum SL: Renal osteodystrophy. N Engl J Med 333:166-174, 1995
73. Hutchison 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. Kidney Int 44:1071-1077, 1993
74. Ibrahim S, Mojiminiyi S, Barron JL: Pyridinium crosslinks in patients on haemodialysis and continuous ambulatory peritoneal dialysis. Nephrol Dial Transplant 10:2290-2294, 1995

75. Janckila AJ, Takahashi K, Sun SZ, Yam LT: Tartrate-resistant acid phosphatase isoform 5b as serum marker for osteoclastic activity. Clin Chem 47:74-80, 2001
76. Kazama JJ, Shigematsu T, Yano K, Tsuda E, Miura M, Iwasaki Y, Kawaguchi Y, Gejyo F, Kurokawa K, Fukagawa M: Increased circulating levels of osteoclastogenesis inhibitory factor (osteoprotegerin) in patients with chronic renal failure. Am J Kidney Dis 39:525-532, 2002
77. Kruse-Jarres J: Kapitel 11.2: Aluminium. in Thomas L (ed): Labor und Diagnose, Frankfurt/M.: TH-Books, 1998, pp 363-364
78. Lee SH, Huang TS, Hsieh SJ: Changes of bone markers during long-term intravenous calcitriol therapy in maintenance dialysis patients. Miner Electrolyte Metab 22:219-223, 1996
79. Lein M, Jung K, Stephan C, Schnorr D, Loening SA: Osteoprotegerin (OPG) und Isoform der Tartrat-resistenten sauren Phosphatase (TRAP) im Serum als neue Marker für eine Knochenmetastasierung beim Prostatakarzinom. Anticancer Res 22:510, 2002
80. Llach F, Velasquez FF: Secondary hyperparathyroidism in chronic renal failure: pathogenic and clinical aspects. Am J Kidney Dis 38:S20-S33, 2001
81. Locatelli F, Cannata-Andia JB, Drueke TB, Horl WH, Fouque D, Heimburger O, Ritz E: Management of disturbances of calcium and phosphate metabolism in chronic renal insufficiency, with emphasis on the control of hyperphosphataemia. Nephrol Dial Transplant 17:723-731, 2002
82. Malluche HH, Faugere MC, Fanti P, Price PA: Plasma levels of bone Gla-protein reflect bone formation in patients on chronic maintenance dialysis. Kidney Int 26:869-874, 1984
83. Malluche HH, Langub MC, Monier-Faugere MC: The role of bone biopsy in clinical practice and research. Kidney Int Suppl 73:S20-S25, 1999
84. Malluche HH, Monier-Faugere MC: Risk of adynamic bone disease in dialyzed patients. Kidney Int Suppl 38:S62-S67, 1992
85. Malluche HH, Monier-Faugere MC: The role of bone biopsy in the management of patients with renal osteodystrophy. J Am Soc Nephrol 4:1631-1642, 1994
86. Malluche HH, Sawaya P: Renale Knochenerkrankung, in Franz HE, Hörl WH (eds): Blutreinigungsverfahren: Technik und Klinik, chap 23. Stuttgart, New York, 1997, pp 272-302
87. Manolagas SC, Jilka RL: Bone marrow, cytokines, and bone remodeling. Emerging insights into the pathophysiology of osteoporosis. N Engl J Med 332:305-311, 1995

88. Mazzaferro S, Pasquali M, Ballanti P, Bonucci E, Costantini S, Chicca S, De Meo S, Perruzza I, Sardella D, Taggi F, .: Diagnostic value of serum peptides of collagen synthesis and degradation in dialysis renal osteodystrophy. Nephrol Dial Transplant 10:52-58, 1995
89. Messa P, Mioni G, Maio GD, Ferrando C, Lamperi D, Famularo A, Paoletti E, Cannella G: Derangement of acid-base balance in uremia and under hemodialysis. J Nephrol 14 Suppl 4:S12-S21, 2001
90. National Institutes of Health. US Renal Data System. USRDS 1998 Annual Data Report, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. Bethesda, MD. 1998.
91. National Institutes of Health. US Renal Data System. USRDS 2000 Annual Data Report, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. Bethesda, MD. 2000.
92. National Kidney Foundation: NKF-DOQI clinical practice guidelines for hemodialysis adequacy. National Kidney Foundation. Am J Kidney Dis 30:S15-S66, 1997
93. National Kidney Foundation: K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. Kidney Disease Outcome Quality Initiative. Am J Kidney Dis 39:S1-246, 2002
94. Okabe R, Nakatsuka K, Inaba M, Miki T, Naka H, Masaki H, Moriguchi A, Nishizawa Y: Clinical evaluation of the Elecsys beta-CrossLaps serum assay, a new assay for degradation products of type I collagen C-tlopeptides. Clin Chem 47:1410-1414, 2001
95. Parfitt AM: The physiological and clinical significanceof bone histomorphometric data, in Recker R (ed): Bone Histomorphometry. Techniques and Interpretations, Boca Raton, Florida, 1983, pp 143-223
96. Parfitt AM, Simon LS, Villanueva AR, Krane SM: Procollagen type I carboxy-terminal extension peptide in serum as a marker of collagen biosynthesis in bone. Correlation with Iliac bone formation rates and comparison with total alkaline phosphatase. J Bone Miner Res 2:427-436, 1987
97. Pecherstorfer M, Seibel MJ, Woitge HW, Horn E, Schuster J, Neuda J, Sagaster P, Kohn H, Bayer P, Thiebaud D, Ludwig H: Bone resorption in multiple myeloma and in monoclonal gammopathy of undetermined significance: quantification by urinary pyridinium cross-links of collagen. Blood 90:3743-3750, 1997

98. Pei Y, Hercz G, Greenwood C, Segre G, Manuel A, Saiphoo C, Fenton S, Sherrard D: Risk factors for renal osteodystrophy: a multivariant analysis. J Bone Miner Res 10:149-156, 1995
99. Pereira BJ, Shapiro L, King AJ, Falagas ME, Strom JA, Dinarello CA: Plasma levels of IL-1 beta, TNF alpha and their specific inhibitors in undialyzed chronic renal failure, CAPD and hemodialysis patients. Kidney Int 45:890-896, 1994
100. Pertosa G, Grandaliano G, Gesualdo L, Schena FP: Clinical relevance of cytokine production in hemodialysis. Kidney Int Suppl 76:S104-S111, 2000
101. Pierce AM, Lindskog S, Hammarstrom L: Osteoclasts: structure and function. Electron Microsc Rev 4:1-45, 1991
102. Pinka J, Zavodna R: BoneTrap - An Immunoassay for the Detection of Bone Metastases. Anticancer Res 22:522, 2002
103. Pitts TO, Piraino BH, Mitro R, Chen TC, Segre GV, Greenberg A, Puschett JB: Hyperparathyroidism and 1,25-dihydroxyvitamin D deficiency in mild, moderate, and severe renal failure. J Clin Endocrinol Metab 67:876-881, 1988
104. Prockop DJ: The synthesis of type I collagen fibers and potential inhibitors of the process. Prog Clin Biol Res 154:81-88, 1984
105. Prockop DJ, Kivirikko KI, Tuderman L, Guzman NA: The biosynthesis of collagen and its disorders (first of two parts). N Engl J Med 301:13-23, 1979
106. Prockop DJ, Kivirikko KI, Tuderman L, Guzman NA: The biosynthesis of collagen and its disorders (second of two parts). N Engl J Med 301:77-85, 1979
107. Przedlacki J, Trebicka J, Bijak K, Matuszkiewicz-Rowinska J, Bogdanska-Straszynska B, Malecka G, Ostrowski K: Cross-linked C-terminal telopeptide of type I collagen in serum before and after treatment with alfacalcidol and calcium carbonate in early and moderate chronic renal failure. Nephron 92:304-308, 2002
108. Qi Q, Monier-Faugere MC, Geng Z, Malluche HH: Predictive value of serum parathyroid hormone levels for bone turnover in patients on chronic maintenance dialysis. Am J Kidney Dis 26:622-631, 1995
109. Reichel H, Deibert B, Schmidt-Gayk H, Ritz E: Calcium metabolism in early chronic renal failure: implications for the pathogenesis of hyperparathyroidism. Nephrol Dial Transplant 6:162-169, 1991
110. Reiss E, Canterbury JM, Egdahl RH: Experience with a radioimmunoassay of parathyroid hormone in human sera. Trans Assoc Am Physicians 81:104-115, 1968

111. Risteli J, Elomaa I, Niemi S, Novamo A, Risteli L: Radioimmunoassay for the pyridinoline cross-linked carboxy-terminal telopeptide of type I collagen: a new serum marker of bone collagen degradation. Clin Chem 39:635-640, 1993
112. Roodman GD: Advances in bone biology: the osteoclast. Endocr Rev 17:308-332, 1996
113. Rosenbrock H, Seifert-Klauss V, Kaspar S, Busch R, Luppa PB: Changes of biochemical bone markers during the menopausal transition. Clin Chem Lab Med 40:143-151, 2002
114. Rosenquist C, Fledelius C, Christgau S, Pedersen BJ, Bonde M, Qvist P, Christiansen C: Serum CrossLaps One Step ELISA. First application of monoclonal antibodies for measurement in serum of bone-related degradation products from C-terminal telopeptides of type I collagen. Clin Chem 44:2281-2289, 1998
115. Roth HJ, Albert C, Schmidt-Gayk H: New assays for intact parathyroid hormone and their clinical relevance for the diagnosis of hyperparathyroidism. Clin Lab 48:589-593, 2002
116. Salusky IB, Ramirez JA, Oppenheim W, Gales B, Segre GV, Goodman WG: Biochemical markers of renal osteodystrophy in pediatric patients undergoing CAPD/CCPD. Kidney Int 45:253-258, 1994
117. Sassi, M. L. Carboxyterminal degradation products of type I collagen. Thesis, Department of Clinical Chemistry, University of Oulu, Oulu, Finland. 3-8-2001.
118. Sassi ML, Aman S, Hakala M, Luukkainen R, Risteli J: Assay for cross-linked carboxyterminal telopeptide of type I collagen (ICTP) unlike CrossLaps assay reflects increased pathological degradation of type I collagen in rheumatoid arthritis. Clin Chem Lab Med 41:1038-1044, 2003
119. Scarnecchia L, Minisola S, Pacitti MT, Carnevale V, Romagnoli E, Rosso R, Mazzuoli GF: Clinical usefulness of serum tartrate-resistant acid phosphatase activity determination to evaluate bone turnover. Scand J Clin Lab Invest 51:517-524, 1991
120. Sherrard D, Baylink D, Wergedal J: Bone disease in uremia. Trans Am Soc Artif Intern Organs 18:412-5, 421, 1972
121. 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 43:436-442, 1993
122. Slatopolsky E, Brown A, Dusso A: Pathogenesis of secondary hyperparathyroidism. Kidney Int Suppl 73:S14-S19, 1999

123. Slatopolsky E, Brown A, Dusso A: Role of phosphorus in the pathogenesis of secondary hyperparathyroidism. Am J Kidney Dis 37:S54-S57, 2001
124. Slatopolsky E, Finch J, Clay P, Martin D, Sicard G, Singer G, Gao P, Cantor T, Dusso A: A novel mechanism for skeletal resistance in uremia. Kidney Int 58:753-761, 2000
125. Terpos E, de la FJ, Szydlo R, Hatjiharissi E, Viniou N, Meletis J, Yataganas X, Goldman JM, Rahemtulla A: Tartrate-resistant acid phosphatase isoform 5b: a novel serum marker for monitoring bone disease in multiple myeloma. Int J Cancer 106:455-457, 2003
126. Tersteegen, B and Roy, Th. Ein Single-Pass-Batchsystem für die akute und chronische Hämodialysebehandlung. Informationsschrift Genius Dialyse Therapie System, Fresenius Medical Care, Bad Homburg.
127. Torres A, Lorenzo V, Hernandez D, Rodriguez JC, Concepcion MT, Rodriguez AP, Hernandez A, De Bonis E, Darias E, Gonzalez-Posada JM, .: Bone disease in predialysis, hemodialysis, and CAPD patients: evidence of a better bone response to PTH. Kidney Int 47:1434-1442, 1995
128. Urena P, De Vernejoul MC: Circulating biochemical markers of bone remodeling in uremic patients. Kidney Int 55:2141-2156, 1999
129. Urena P, Ferreira A, Kung VT, Morieux C, Simon P, Ang KS, Souberbielle JC, Segre GV, Drueke TB, De Vernejoul MC: Serum pyridinoline as a specific marker of collagen breakdown and bone metabolism in hemodialysis patients. J Bone Miner Res 10:932-939, 1995
130. Urena P, Hruby M, Ferreira A, Ang KS, De Vernejoul MC: Plasma total versus bone alkaline phosphatase as markers of bone turnover in hemodialysis patients. J Am Soc Nephrol 7:506-512, 1996
131. Vaes G: Cellular biology and biochemical mechanism of bone resorption. A review of recent developments on the formation, activation, and mode of action of osteoclasts. Clin Orthop239-271, 1988
132. Wichers M, Schmidt E, Bidlingmaier F, Klingmuller D: Diurnal rhythm of CrossLaps in human serum. Clin Chem 45:1858-1860, 1999
133. Woitge HW, Oberwittler H, Heichel S, Grauer A, Ziegler R, Seibel MJ: Short- and long-term effects of ibandronate treatment on bone turnover in Paget disease of bone. Clin Chem 46:684-690, 2000
134. Woitge HW, Seibel MJ: Biochemical markers to survey bone turnover. Rheum Dis Clin North Am 27:49-80, 2001

Lebenslauf

Name:	Stephanie Graf
geb.:	30.05.1964
in:	Aachen

Schulbesuch

07.09.1970 – 24.07.1974	Gemeinschaftsgrundschule Linden-Neusen
09.09.1974 – 18.06.1980	Gymnasium Würselen
03.08.1980 – 13.06.1983	Gymnasium Herzogenrath (Allgemeine Hochschulreife)

Universität

19.09.1983 – 30.09.1988	Medizinstudium an der Rheinisch Westfälischen Technischen Hochschule (RWTH) Aachen
01.10.1988 – 31.10.1989	Fortführung des Medizinstudiums an der Johann Wolfgang Goethe Universität Frankfurt/Main
31.10.1989	Ärztliche Prüfung

Berufliche Tätigkeit

01.12.1989 – 01.12.2000	Klinikum (zuvor Städtische Kliniken) Offenbach Medizinische Klinik III (Innere Medizin, Nephrologie)
01.12.1989 – 31.05.1991	Ärztin im Praktikum
01.06.1991	Approbation
01.06.1991 – 28.02.1999	Assistenzärztin
seit 01.03.1999	Funktionsoberärztin
11.02.1998	Fachärztin für Innere Medizin
22.03.2000	Erwerb der Schwerpunktbezeichnung Nephrologie
01.12.2000 – 31.05.2001	Stellvertretende Ärztliche Leiterin KfH Dialysezentrum Bernkastel-Kues
seit 01.06.2001	Ärztin am KfH Nierenzentrum in Fulda

Meine akademischen Lehrer waren

Prof. Dr. med. J. Ammon
Institut für Radiologie, Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. M. Bauer
Chefarzt der Psychiatrischen Klinik, Klinikum Offenbach

Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. H. M. Beier
Institut für Anatomie und Reproduktionsbiologie, Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. A. Böcking
Institut für Pathologie, Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. rer. nat. G. Buse
Institut für Physiologische Chemie, Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. rer. nat. F. Dallacker
Institut für Anorg. Chemie, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. H. Dancygier
Chefarzt der Medizinischen Klinik II, Klinikum Offenbach

Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. H. W. Denker
Institut für Anatomie, Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. W. Fassbinder
Ärztlicher Direktor, Medizinische Klinik III, Klinikum Fulda

Prof. Dr. med. G. Gillissen
Institut für Mikrobiologie, Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. H. Greiling
Klinisch Chemisches Zentrallaboratorium, Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. J. Greven
Institut für Pharmakologie und Toxikologie, Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. M. Habedank
Institut für Humangenetik, Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. P. Hanrath
Medizinische Klinik I, Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. rer. nat. A. Hausmann
I. Physikalisches Institut, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. G. Heimann
Abteilung für Kinderheilkunde, Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. H. Hörnchen
Abteilung für Neonatologie, Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. H. Jung
Abteilung Gynäkologie und Geburtshilfe, Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. H. Kammermeier
Institut für Physiologie, Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. P. Kaufmann
Institut für Anatomie, Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. D. Graf von Keyserlingk
Institut für Anatomie, Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. W. Klages
Klinik für Psychiatrie und Psychotherapie, Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. H. Klepzig
Chefarzt der Medizinischen Klinik I, Klinikum Offenbach

Prof. Dr. med. W. Kruse
Lehrgebiet Allgemeinmedizin, Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. W. Lutzeyer
Abteilung für Urologie, Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. Dipl.-Biochem. S. Matern
Medizinische Klinik III, Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. Chr. Mittermayer
Institut für Pathologie, Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. A. H. Murken
Institut für Geschichte in der Medizin, Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. H. Nier
Chefarzt der Chirurgischen Klinik, Klinikum Offenbach

Prof. Dr. med. J. Ohnsorge
Abteilung Orthopädie der Medizinischen Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. Dipl. Psych. A. Ploeger
Institut für Medizinische Psychologie, Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. K. Poeck
Abteilung für Neurologie, Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Dr. med. F. Praetorius
Chefarzt der Medizinischen Klinik I, Klinikum Offenbach

Prof. Dr. med. H. Reim
Abteilung für Augenheilkunde, Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. Dipl.-Math. R. Repges
Institut für Biomathematik und Medizinische Statistik, Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. E.B. Ringelstein
Abteilung für Neurologie, Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. rer. nat. Sander
I. Physikalisches Institut, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. G. E. Schäfer
Chefarzt der Medizinischen Klinik III, Klinikum Offenbach

Prof. Dr. med. Schlöndorff
Abteilung für Hals-Nasen- und Ohren-Krankheiten, Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. A. Schmidt
Chefarzt der Unfallchirurgischen Klinik, Klinikum Offenbach

Prof. Dr. rer. nat. P. Schmidt
Institut für Biologie, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. H. Schmid-Schönbein
Institut für Physiologie, Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. J. M. Schröder
Institut für Pathologie (Neuropathologie), Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. V. Schumpelick
Abteilung für Chirurgie, Medizinische Fakutät, RWTH Aachen

Prof. Dr. med. H. G. Sieberth
Medizinische Klinik II, Medizinische Fakultät, RWTH Aachen

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde an der Medizinischen Klinik III des Klinikums Fulda unter der Leitung von Prof. Dr. med. W. Fassbinder in den Jahren 2001 – 2004 durchgeführt. Herrn Prof. Dr. Fassbinder gilt mein Dank für die Bereitstellung des Themas und die umfassende Betreuung, die vielfältigen Anregungen bei der Entwicklung der Fragestellungen und wertvollen Diskussionen und Hinweise bei der Gestaltung der Arbeit.

Mein besonderer Dank geht an Herrn Priv.-Doz. Dr. Dr. Wahl, der mich in allen Belangen der Arbeit, von der Konzeption der Untersuchungen bis hin zu ihrer Auswertung kompetent und zuverlässig beraten hat. Ich konnte jederzeit vielfältige und umfassende Unterstützung erfahren, durch die mir die Erstellung der Arbeit erst möglich wurde.

Den medizinisch technischen Assistentinnen Frau Reith, Frau Geis und Frau Metzler danke ich für Ihre wertvolle Unterstützung bei der Auswertung der umfangreichen Laborproben.

Dem Pflegepersonal des KfH Nierenzentrums Fulda gilt mein Dank für ihre Hilfe bei den Probenentnahmen im Rahmen der Dialysebehandlungen.

Frau Dr. Heinzel-Gutenbrunner danke ich für die wertvolle Hilfe bei den ergänzenden statistischen Auswertungen.

Mein ganz besonderer Dank gilt meiner Familie und insbesondere meinen Eltern, die mich in all den Jahren seit Beendigung meines Studiums immer wieder dazu ermutigt haben, diese Arbeit zu beginnen und zum Abschluss zu bringen. Auch in schwierigen Zeiten habe ich durch sie immer Unterstützung erfahren und sie waren meine wertvollsten Ratgeber.