

Diplomarbeit

Die Rolle von Osteoprotegerin und Receptor activator of nuclear factor- κ B Ligand bei Patienten mit operationswürdiger koronarer Herzerkrankung im Vergleich zu einer gesunden Population

OPG/RANKL Regulation bei KHK

eingereicht von

Petra Filzmaier

Geb.Dat.: 14. September 1984

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktorin der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Univ. Klinik für Chirurgie Graz

Klinische Abteilung für Herzchirurgie

unter der Anleitung von

PD Dr. Astrid Fahrleitner-Pammer

OA Dr. Daniela-Eugenia Malliga

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwende habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 12. April 2012

Petra Filzmaier

Vorwort

Die koronare Herzerkrankung ist eine der häufigsten Todesursachen in den westlichen Industrieländern. Dabei entwickeln sich durch Atherosklerose in den Gefäßwänden Plaques, diese können im weiteren Verlauf auch kalzifizieren. Mittlerweile wurde entdeckt, dass die Zytokine Osteoprotegerin, Receptor activator of nuclear factor- κ B Ligand und Receptor activator of nuclear factor- κ B bei diesem Vorgang eine wichtige Rolle spielen.

Das Osteoprotegerin wurde erst 1997 im Rahmen von Untersuchungen zum Knochenstoffwechsel entdeckt; auch der Gegenspieler Receptor activator of nuclear factor- κ B Ligand und dessen Rezeptor Receptor activator of nuclear factor- κ B wurden im selben Jahr erstbeschrieben. Diese drei Komponenten sind bei der Regulation des Knochenstoffwechsels involviert, insbesondere bei der Kalzifikation des Knochens. Im Zuge von Tierstudien entdeckte man auch deren Beteiligung bei der Kalzifizierung von Blutgefäßen.

Da sich Osteoprotegerin auch im Serum nachweisen lässt, besteht nun die Frage, ob eine vorliegende koronare Herzerkrankung durch erhöhte Osteoprotegerin Werte nachgewiesen werden kann. Einige Studien zu dieser Fragestellung wurden bereits veröffentlicht.

Nun wird an der Univ. Klinik für Chirurgie Graz auf der klinischen Abteilung für Herzchirurgie eine Studie mit dem Titel „Die Rolle von Osteoprotegerin und Receptor activator of nuclear factor- κ B Ligand bei Patienten mit operationswürdiger koronarer Herzerkrankung im Vergleich zu einer gesunden Population“ durchgeführt.

Die vorliegende Arbeit setzt sich deshalb mit der Ätiologie, Pathogenese, Klinik, Diagnostik und Therapie der koronaren Herzerkrankung sowie der Funktions- und Wirkungsweise von Osteoprotegerin, Receptor activator of nuclear factor- κ B Ligand und Receptor activator of nuclear factor- κ B und deren Zusammenspiel auseinander. Zudem wird ein Zwischenergebnis der Grazer Studie präsentiert.

Danksagungen

An dieser Stelle möchte ich mich bei all den Menschen bedanken, die mich während meines gesamten Studiums und beim Verfassen dieser Arbeit unterstützt und begleitet haben.

Bedanken möchte ich mich besonders bei meinen beiden Diplomarbeitbetreuerinnen, Frau PD Dr. Astrid Fahrleitner-Pammer und Frau OA Dr. Daniela-Eugenia Malliga, die mir beim Erstellen dieser Arbeit immer mit Rat und Tat zur Seite gestanden sind. Im Speziellen möchte ich mich bei Dir, liebe Daniela, für die raschen Hilfestellungen, Anregungen, Rückmeldungen und die ausgezeichnete Zusammenarbeit bedanken.

Ein großer Dank geht auch an meine Eltern und Familie. Ihr habt mich Zeit meines Lebens immer unterstützt, gefördert und seid mir auch in schwierigen Zeiten zur Seite gestanden. Insbesondere danke ich meiner Mutter, die auch noch mit mir zu recht kam, wenn ich schon nicht mehr ansprechbar war und die mir immer eine große Stütze war.

Meinen herzlichsten Dank möchte ich auch an meine Freunde und Studienkollegen aussprechen. Mit Euch hatte ich eine großartige Studienzeit, Ihr wart immer für mich da, bei Euch konnte ich neue Energie tanken und auch den Alltag vergessen. Ihr habt mich aufgemuntert, wenn ich nicht mehr weiter wusste. Besonders bedanken möchte ich mich auch bei Bets, die mir durch den Exceldschungel geholfen hat, und bei Hannes und Traudl, die immer vier offene Ohren und einen Kaffee für mich hatten.

Ohne Euch wäre diese Arbeit nicht zustande gekommen.

Danke!!!

Graz, April 2012

Inhaltsverzeichnis

| | |
|---|-------------|
| Vorwort | III |
| Danksagungen | IV |
| Inhaltsverzeichnis | V |
| Glossar und Abkürzungen | VII |
| Abbildungsverzeichnis | XI |
| Tabellenverzeichnis | XIII |
| Zusammenfassung | XIV |
| Abstract | XV |
| 1 Allgemeine Grundlagen | 1 |
| 1.1 <i>Koronare Herzerkrankung (KHK)</i> | 1 |
| 1.1.1 Definition | 1 |
| 1.1.2 Epidemiologie | 1 |
| 1.1.3 Ätiologie | 2 |
| 1.1.4 Pathogenese | 3 |
| 1.1.5 Gefäßversorgung | 5 |
| 1.1.6 Klinik | 7 |
| 1.1.7 Diagnostik | 10 |
| 1.1.8 Therapie | 14 |
| 1.2 <i>Osteoprotegerin (OPG)</i> | 18 |
| 1.2.1 Osteoprotegerin und seine Wirkung | 19 |
| 1.3 <i>Receptor activator of nuclear factor-κB Ligand (RANKL)</i> | 22 |
| 1.3.1 RANKL und seine Wirkung | 23 |
| 1.4 <i>Receptor activator of nuclear factor-κB (RANK)</i> | 26 |
| 1.4.1 RANK und seine Wirkung | 27 |
| 1.5 <i>Das OPG/RANKL/RANK System</i> | 30 |
| 1.6 <i>OPG/RANKL und das kardiovaskuläre System</i> | 32 |
| 1.6.1 OPG in Tierstudien | 32 |
| 1.6.2 OPG in Humanstudien | 35 |
| 2 Material und Methoden | 41 |
| 2.1 <i>Patientenkollektiv</i> | 41 |
| 2.1.1 Ein- und Ausschlusskriterien | 41 |
| 2.2 <i>Ziele der Studie</i> | 43 |

| | | |
|----------|---|-----------|
| 2.2.1 | Probengewinnung | 44 |
| 2.2.2 | Datenmanagement | 45 |
| 2.2.3 | Ethische Grundlagen | 45 |
| 3 | Ergebnisse | 47 |
| 3.1 | <i>Allgemeine Informationen zum Patientenkollektiv.....</i> | 47 |
| 3.2 | <i>Risikofaktoren des Patientenkollektivs.....</i> | 49 |
| 3.3 | <i>Gewichtssituation in den Patientengruppen.....</i> | 53 |
| 3.4 | <i>OPG Werte in den beiden Patientengruppen.....</i> | 58 |
| 3.4.1 | OPG Werte und der KHK Grad | 63 |
| 3.4.2 | OPG und die Gewichtsverteilung | 64 |
| 3.5 | <i>RANKL Werte in den beiden Patientengruppen.....</i> | 66 |
| 3.5.1 | RANKL und die Gewichtsverteilung | 68 |
| 4 | Diskussion | 70 |
| 4.1 | <i>Interpretation der Ergebnisse</i> | 70 |
| 4.1.1 | Risikofaktoren | 70 |
| 4.1.2 | Gewichtssituation der Patientengruppen | 71 |
| 4.1.3 | OPG..... | 71 |
| 4.1.4 | RANKL..... | 73 |
| 4.2 | <i>Schlussfolgerungen.....</i> | 74 |
| 5 | Literaturverzeichnis | 76 |

Glossar und Abkürzungen

| | |
|-------------------------|---|
| < | kleiner als, weniger |
| > | größer als, mehr |
| ≥ | größer-gleich |
| 1,25 Vit D ₃ | Calcitriol |
| 25(OH)Vit D | Vitamin D3, Cholecalciferol |
| A. | Arteria |
| ACE-Hemmer | Hemmer des Angiotensin-konvertierenden Enzyms |
| ACS | Akutes Koronarsyndrom |
| AP | Angina Pectoris |
| ASS | Acetylsalicylsäure |
| Bcl-X _L | B-cell lymphoma-extra large |
| bFGF | basic fibroblast growth factor |
| BMD | Knochenmassedichte |
| BMI | Body mass index |
| BMPs | knochenmorphogenetische Proteine |
| BWS | Brustwirbelsäule |
| bzw. | beziehungsweise |
| ca. | circa |
| cbfa1 | core binding factor Alpha 1, ein osteoblasterer Transkriptionsfaktor |
| CD40 | Cluster of differentiation 40 receptor, oberflächlich auf Immunzellen |
| cDNA | komplementäre Desoxyribonukleinsäure |
| c-fms | Rezeptor für Makrophagen-Kolonie-stimulierender Faktor |
| CK | Kreatinkinase |
| CK-MB | Kreatinkinase Myokardtyp |
| CRP | C-reaktives Protein |
| CSF-1 | Kolonie-stimulierender Faktor 1 |
| CT | Computertomographie |
| DDH | Death domain homologous |
| DM | Diabetes mellitus |
| DXA | Dual-Röntgen-Absorptiometrie |

| | |
|--------------------|--|
| EKG | Elektrokardiogramm |
| et al. | et alia, und andere |
| Fas-Ligand | Typ II Transmembranprotein, Tumornekrosefaktor |
| FDCR-1 | follicular dendritic cell-derived receptor-1 |
| GM-CSF | Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-stimulierender Faktor |
| HASMC | human aortic smooth muscle cell |
| HbA1c | Glykohämoglobin |
| HDL | High Density Lipoprotein |
| HL | Hyperlipidämie |
| HMVEC | human microvascular endothelial cells |
| HT | arterielle Hypertonie |
| IDDM | Insulin-abhängiger Diabetes Mellitus |
| IGF-1 | Insulin-like Growth Factor 1 |
| IL-3, 4, 6, 11, 18 | Interleukin 3, 4, 6, 11 und 18 |
| IL-1 α | Interleukin 1 Alpha |
| IL-1 β | Interleukin 1 Beta |
| ISDN | Isosorbiddinitrat |
| ISMN | Isosorbidmononitrat |
| kb | Kilobasen |
| kDa | Kilodalton |
| kg | Kilogramm |
| kg/m ² | Kilogramm pro Quadratmeter |
| KHK | Koronare Herzerkrankung |
| LAD | Ramus interventricularis anterior (left anterior descending) |
| LAD-D | diagonale Äste des Ramus interventricularis anterior |
| LCA | Arteria coronaria sinistra |
| LDH | Laktatdehydrogenase |
| LDL | Low Density Lipoprotein |
| LKH | Landeskrankenhaus |
| LWS | Lendenwirbelsäule |
| M | Männer |
| m | Meter |
| M-CSF | Makrophagen-Kolonie-stimulierender Faktor |
| MEDOCS | medical documentation and communication system |

| | |
|---|--|
| MI | Myokardinfarkt |
| mmHg | Millimeter-Quecksilbersäule |
| mRNA | Boten-Ribonukleinsäure |
| MRT | Magnetresonanztomographie |
| MS | Microsoft |
| NIDDM | nicht-insulinabhängiger Diabetes mellitus |
| NSTEMI | non-ST-elevation myocardial infarction |
| OA | Oberarzt |
| ODAR | Osteoclast differentiation and activation receptor |
| ODF | Osteoclast differentiation factor |
| ODFR | Osteoclast differentiation factor receptor |
| OPG | Osteoprotegerin |
| OPG ^{-/-} | Osteoprotegerin Knockout |
| OPG ^{-/-} .apoE ^{-/-} | Osteoprotegerin und Apolipoprotein E Knockout |
| OPGL | Osteoprotegerin Ligand |
| Pat.zahl | Patientenzahl |
| PAVK | periphere arterielle Verschlusskrankheit |
| PCR | Polymerase-Kettenreaktion |
| PDB | Paget-Krankheit (Paget disease of bone) |
| PET | Positronenemissionstomographie |
| pmol/l | Picomol pro Liter |
| PTCA | perkutane transluminale koronare Angioplastie |
| PTH | Parathormon |
| PTHrP | Parathormon-related protein |
| R. | Ramus |
| RANK | Receptor activator of nuclear factor-κB |
| RANK ^{-/-} | Receptor activator of nuclear factor-κB Knockout |
| RANK-Fc | lösliche extrazelluläre Domäne des Receptor activator of nuclear factor-κB |
| RANKL | Receptor activator of nuclear factor-κB Ligand |
| RANKL ^{-/-} | Receptor activator of nuclear factor-κB Ligand Knockout |
| RCA | Arteria coronaria dextra |
| RCA-AM | akut marginaler Ast der Arteria coronaria dextra |
| RCA-PD | posterior deszendierender Ast der Arteria coronaria dextra |

| | |
|--------------|---|
| RCA-PL | posterolateraler Ast der Arteria coronaria dextra |
| RCX | Ramus circumflexus |
| RCX-OM | stumpfwinkelige Marginaläste des Ramus circumflexus |
| RIVA | Ramus interventricularis anterior |
| RIVP | Ramus interventricularis posterior |
| RPLD | Ramus posterolateralis dexter |
| RPLS | Ramus posterolateralis sinister |
| s.c. | subcutan |
| SMC | smooth muscle cell |
| sog. | so genannt |
| STEMI | ST-elevation myocardial infarction |
| TACE | Tumornekrosefaktor-Alpha-converting-Enzym |
| TGF- β | transforming growth factor Beta |
| TNF | Tumornekrosefaktor |
| TNFR | Tumornekrosefaktorrezeptor |
| TNF α | Tumornekrosefaktor Alpha |
| TR-1 | Tumor necrosis factor receptor-related molecule-1 |
| TRAIL | Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing Ligand |
| TRAIL-R | Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing Ligand re- ceptor |
| TRANCE | Tumor necrosis factor-related activation-induced cytokine |
| TRAP | Tartrat-resistente saure Phosphatase |
| TRAP5b | Tartrate-resistant acid phosphatase 5b |
| Troponin-I | kardiales Troponin |
| Troponin-T | kardiales Troponin |
| u. a. | unter anderem |
| usw. | und so weiter |
| V. | Vena |
| VEGF | vascular endothelial growth factor |
| vs. | versus |
| VSMC | vascular smooth muscle cells |
| W | Frauen |
| z. B. | zum Beispiel |

Abbildungsverzeichnis

| | |
|--|----|
| Abbildung 1.1.1: Entwicklung der Atherosklerose (Abgeändert nach einer Vorlage von http://www.pflegeportal.ch/pflegeportal/Cholesterinsenkende_Ernaehrung.php) | 4 |
| Abbildung 1.1.2: Schematische Darstellung der Koronararterien (Entnommen von http://www.kardionet.com/Untersuchungen/Coro.html) | 7 |
| Abbildung 1.1.3: Koronarangiographie LCA | 12 |
| Abbildung 1.1.4 (links) und Abbildung 1.1.5 (rechts): Vergleich Koronarangiographie RCA | 13 |
| Abbildung 1.6.1: OPG Ausschüttung bei der Atherosklerose | 34 |
| Abbildung 3.1.1: Verteilung der Patienten in den einzelnen Altersklassen..... | 48 |
| Abbildung 3.1.2: Prozentuelle Verteilung der KHK Grade | 48 |
| Abbildung 3.2.1: Verteilung der Risikofaktoren in beiden Gruppen | 50 |
| Abbildung 3.3.1: Prozentuelle Aufteilung der Gewichtsklassen in den Patientengruppen | 53 |
| Abbildung 3.3.2: Boxplot des BMI in den Altersklassen der KHK Gruppe | 54 |
| Abbildung 3.3.3: Boxplot des BMI in den Altersklassen der Kontrollgruppe | 54 |
| Abbildung 3.3.4: Gewichtsverteilung der KHK Gruppe in Prozent..... | 56 |
| Abbildung 3.3.5: Gewichtsverteilung der Kontrollgruppe in Prozent..... | 57 |
| Abbildung 3.3.6: Prozentuale Gewichtsverteilung bei KHK Grad II und III und die Differenz der Prozentwerte zwischen den einzelnen Gewichtsklassen beider Krankheitsgrade | 57 |
| Abbildung 3.4.1: Vergleich der OPG Prozent Werte und die Differenz beider Gruppen | 58 |
| Abbildung 3.4.2: Verteilung OPG Werte in den Altersklassen der KHK Gruppe... .. | 59 |
| Abbildung 3.4.3: Boxplot OPG Werte der Altersklassen in der KHK Gruppe | 60 |
| Abbildung 3.4.4: Verteilung der OPG Werte in den Altersklassen der Kontrollgruppe | 60 |
| Abbildung 3.4.5: Boxplot OPG Werte der Altersklassen in der Kontrollgruppe..... | 61 |
| Abbildung 3.4.6: Mittelwerte OPG mit Standardabweichung in den einzelnen Altersklassen | 62 |

| | |
|---|----|
| Abbildung 3.4.7: Vergleich der OPG Werte bei KHK Grad II und III | 63 |
| Abbildung 3.4.8: OPG Mittelwerte mit Standardabweichung der Gewichtsklassen | 64 |
| Abbildung 3.4.9: Gewichtsverteilung bei den normalen und erhöhten OPG Werten in beiden Patientengruppen | 65 |
| Abbildung 3.5.1: Vergleich der RANKL Prozent Werte der beiden Gruppen und die Differenz zwischen ihnen..... | 66 |
| Abbildung 3.5.2: Verteilung der RANKL Werte in den Altersklassen der KHK Gruppe | 67 |
| Abbildung 3.5.3: Verteilung der RANKL Werte in den Altersklassen der Kontrollgruppe | 68 |
| Abbildung 3.5.4: Gewichtsverteilung für die erniedrigten und normalen RANKL Werte in den beiden Patientengruppen | 69 |

Tabellenverzeichnis

| | |
|--|----|
| Tabelle 1.6.1: Studien zum Thema OPG..... | 40 |
| Tabelle 3.2.1: Risikofaktoren in beiden Patientengruppen in Zahlen..... | 49 |
| Tabelle 3.2.2: Die Verteilung der Risikofaktoren in den Altersklassen der KHK und Kontrollgruppe..... | 51 |
| Tabelle 3.2.3: Prozentuelle Verteilung der Risikofaktoren auf die OPG Werte..... | 51 |
| Tabelle 3.2.4: Prozentuelle Verteilung der Risikofaktoren auf die RANKL Werte. | 52 |
| Tabelle 3.3.1: Statistische Werte des BMI für die Altersklassen beider Patientengruppen | 55 |
| Tabelle 3.4.1: Statistische Werte für OPG in den Altersklassen beider Patientengruppen | 63 |

Zusammenfassung

Einleitung: Die koronare Herzerkrankung gilt als die häufigste Todesursache in den westlichen Industrieländern. Bedingt durch Atherosklerose kommt es dabei zur Bildung von Plaques, welche kalzifizieren können. Die Zytokine Osteoprotegerin, Receptor activator of nuclear factor- κ B Ligand und Receptor activator of nuclear factor- κ B nehmen bei der Regulierung des Knochenumbaus eine essentielle Rolle ein. Inzwischen wurde erkannt, dass dieses Zytokinsystem auch bei der Kalzifizierung von atherosklerotischen Plaques beteiligt ist.

Methoden: Eine prospektive Kohortenstudie mit männlichen Patienten zwischen 40 und 90 Jahren, unterteilt in eine KHK Gruppe mit 65 und einer Kontrollgruppe mit 66 herzgesunden Patienten, wurde durchgeführt. Zudem wurden diese dem Alter nach in je fünf Altersklassen unterteilt. Bestimmt wurden u. a. Osteoprotegerin und Receptor activator of nuclear factor- κ B Ligand, Risikofaktoren (Hypertonie, Diabetes mellitus und Hyperlipidämie) sowie der Body mass index. Die Daten wurden mittels MS Excel und SPSS ausgewertet.

Ergebnisse: Bei der Auswertung der Daten zeigten sich in der jüngsten Altersklasse der KHK Gruppe höhere Osteoprotegerin Werte als in der folgenden oder altersgleichen Kontrollgruppe. Allerdings fand man in den restlichen Altersklassen einen Anstieg der Osteoprotegerin Werte im Alter, dieser war jedoch in der KHK Gruppe ausgeprägter; zudem gab es in der KHK Gruppe auch öfter einen erhöhten Osteoprotegerin Wert. Keinen Unterschied beim Osteoprotegerin sah man dahingegen zwischen Grad II und III der KHK.

Diskussion: Teilweise konnten Ergebnisse anderer Studien bestätigt werden, wie die positive Korrelation von Osteoprotegerin und Alter sowie, dass Osteoprotegerin und Receptor activator of nuclear factor- κ B Ligand nicht mit Risikofaktoren assoziiert sind. Es gab es auch widersprüchliche Beobachtungen z. B. gab es keinen Unterschied des Osteoprotegerin Levels zwischen den KHK Graden und eine leichte Korrelation der Werte zum Body mass index wurde festgestellt. Das erhöhte Osteoprotegerin in der jüngsten Altersgruppe der KHK Gruppe könnte einen Beleg für die KHK im Serum darstellen.

Abstract

Introduction: The coronary artery disease is the most common cause of death in western industrial countries. Caused by atherosclerosis, plaques are formed which can calcify. The cytokines Osteoprotegerin and Receptor activator of nuclear factor- κ B Ligand have an important role in the regulation of bone metabolism, especially calcification in the bone. In recent years it has been found that this cytokine system is also involved in calcification of atherosclerotic plaques.

Methods: The population of the prospective cohort study consisted of a coronary artery disease group of 65 men and a healthy coronary control group with 66 men, aged between 40 and 90 years and each divided into five age classes. In all patients, Osteoprotegerin, Receptor activator of nuclear factor- κ B Ligand and cardiovascular risk factors such as hypertension, diabetes mellitus, hyperlipidaemia and body mass index were measured. The data analysis was made with MS Excel and SPSS.

Results: Analysis of data showed higher Osteoprotegerin levels in the youngest age class of the coronary artery disease group than in the following age class or in age-matched control group. However there has been found a positive correlation between Osteoprotegerin levels and age in the remaining age classes of both groups, although this effect was more marked in the coronary artery disease group. Osteoprotegerin levels were also higher in this group. No differences in Osteoprotegerin levels were detected between three-vessel disease and two-vessel disease.

Discussion: On one hand the results of other studies have been confirmed, such as increasing Osteoprotegerin levels in age and that Osteoprotegerin and Receptor activator of nuclear factor- κ B Ligand are not correlated to risk factors. On the other hand the results are contradictory, for example, there was no difference found in Osteoprotegerin levels between three- and two-vessel diseases and a correlation between Osteoprotegerin and body mass index was determined. The increased Osteoprotegerin level in the youngest age class of the coronary artery disease group may be an evidence for the coronary artery disease in serum.

1 Allgemeine Grundlagen

1.1 Koronare Herzerkrankung (KHK)

1.1.1 Definition

Bei der koronaren Herzerkrankung handelt es sich um die Manifestation der Atherosklerose im Herzkranzarteriensystem; dabei entwickeln sich stenosierende Veränderungen im Lumen. Diese Veränderungen können oft jahrelang asymptomatisch bleiben. [1, 2]

Durch die zunehmende Stenosierung entsteht eine Flussminderung in den Koronararterien. Im Weiteren führt dies zu einem Missverhältnis zwischen Sauerstoffbedarf und Sauerstoffangebot im zu versorgendem Herzmuskelareal; die Koronararterien sind so nicht mehr in der Lage den Herzmuskel ausreichend zu versorgen und es kommt zur so genannten Koronarinsuffizienz. [2, 3] In weiterer Folge führt die Insuffizienz zur Myokardischämie und bei längerem Bestehen zur Nekrose des Myokards. [4]

Klinisch symptomatisch bemerkbar macht sich eine Lumenreduktion ab einem Stenosierungsgrad von ca. 50-75 %. Der zeitliche Verlauf und das Symptombild der KHK können dabei unterschiedlich ausgeprägt sein und reichen vom asymptomatischen Verlauf (stumme Ischämie) über stabile Angina pectoris (AP) bis zum akuten Koronarsyndrom (ACS) mit instabiler Angina pectoris, Myokardinfarkt (MI) oder dem plötzlichen Herztod. [2]

1.1.2 Epidemiologie

Die KHK gilt als die häufigste Todesursache in den westlichen Industrieländern, ca. 20 % aller Todesfälle sind durch KHK verursacht. Die Lebenszeitprävalenz beträgt für Männer 30 % und für Frauen 15 %, zudem steigt die Inzidenz im Alter an. [3] Bei Männern nimmt die Erkrankungshäufigkeit ab dem 45. Lebensjahr zu; zudem sind sie etwa dreimal häufiger betroffen als Frauen. Dahingegen steigt bei Frauen die Erkrankungshäufigkeit erst ab dem 50. Lebensjahr an, wobei eine überproportionale Zunahme nach der Menopause festgestellt werden kann. [2, 5]

Die Erstmanifestation der KHK erfolgt in 40 % durch eine Angina pectoris, in ebenfalls 40 % durch ein ACS wie instabile Angina pectoris oder Myokardinfarkt sowie in 20 % durch einen plötzlichen Herztod. [3] In 30 % der Fälle wird ein akuter Myokardinfarkt als Erstmanifestation nicht überlebt, ursächlich dafür sind zumeist auftretende tödliche Arrhythmien wie z. B. Kammerflimmern. [5]

1.1.3 Ätiologie

In mehr als 90 % der Fälle ist eine Atherosklerose der Koronaren ursächlich für die KHK. Bisweilen können aber auch Koronarspasmen (Prinzmetal-Angina), primäre und systemische Vaskulitiden, ausgeprägte Myokardhypertrophie, Herzklappenfehler, Dissektionen sowie verschleppte Embolien z. B. Endocarditis ulceropolyposa Ursache einer koronaren Minderperfusion sein. [6]

Eine Atherosklerose der Koronaren ist oft wesentlich stärker ausgeprägt als in anderen Organsystemen, eine gleichmäßig verteilte Atherosklerose besteht selten. Man kann daher nicht von der Koronaratherosklerose ausgehend auf den Schweregrad einer Aorten-, Zerebral- oder Beinarterienatherosklerose schließen, jedoch ist eine multifokale Verteilung anzunehmen. [6]

Da 90 % der KHK durch Atherosklerose bedingt sind, entsprechen die Risikofaktoren für die KHK, denen der Atherosklerose. [6] Dabei kann man die Risikofaktoren in beeinflussbare und nicht beeinflussbare Faktoren unterteilen. Die Risikofaktoren verstärken sich dabei gegenseitig und erhöhen das kardiovaskuläre Risiko somit anhaltend. [5]

Nicht beeinflussbare Risikofaktoren:

- ✓ Familiäre Disposition
- ✓ Männliches Geschlecht
- ✓ Alter
- ✓ Niedriger sozioökonomischer Status

Zu den beeinflussbaren Risikofaktoren zählen:

- ✓ Arterielle Hypertonie
- ✓ Rauchen
- ✓ Diabetes mellitus
- ✓ Übergewicht
- ✓ Erhöhtes Homozystein
- ✓ Erhöhte Triglyzeride
- ✓ Erhöhtes Blutcholesterin
- ✓ Bewegungsmangel
- ✓ Stress

Zur Einschätzung des kardiovaskulären Risikos werden verschiedenen Score-Systeme eingesetzt, die auf einzelne Risikofaktoren eingehen und so eine Bewertung des Risikos ermöglichen, z. B. der PROCAM Score. [5]

1.1.4 Pathogenese

Ursache der KHK ist meist eine Atherosklerose der großen Koronargefäße, die als herdförmiger Prozess hauptsächlich in der Intima stattfindet. Initial entsteht eine Endothelzellschädigung auf dem Boden der zum Teil im Kapitel 1.1.3 genannten Risikofaktoren und Noxen, z. B. mechanisch durch arteriellen Hypertonus oder Cholesterineinlagerungen. An diesen Intimaläsionen kommt es zu Thrombozytenanlagerungen und in weiterer Folge durch freigegebene Mediatorsubstanzen zu einem Einwandern und Proliferation von glatten Muskelzellen sowie Makrophagen. Durch die Phagozytose von oxidiertem LDL wandeln sich die Makrophagen in so genannte Schaumzellen um. Diese reichern sich mit der Zeit in der Läsion an und bilden dann, zusammen mit glatten Muskelzellen und T-Lymphozyten, atherosklerotische Frühläsionen. Diese Frühläsionen werden als „Fatty streaks“ bezeichnet und treten innerhalb der Intima auf. [2, 5]

Anschließend bildet sich durch weitere Einwanderung von Entzündungszellen, Proliferation von glatten Muskelzellen und fibrotische Umwandlung des Gewebes mit fettigen Degenerationen und Nekrosen ein fibrös-fettiger Plaque, auch Intermediärläsion genannt. Durch die zunehmend unregelmäßigere Oberfläche des

Plaques werden weitere Thrombozyten aktiviert und Thrombozytenanlagerungen entstehen. Schließlich entsteht, vermittelt durch die freigesetzten Wachstumsfaktoren aus den beteiligten Zellen, als eine komplexe Spätläsion der fibromuskuläre Plaque, der das Lumen einengen kann. [2, 5] In der Abbildung 1.1.1 ist ein Schema zur Entwicklung einer Atherosklerose dargestellt.

Die Plaques können im weiteren Verlauf auch kalzifizieren und exulzerieren. Häufig kommt es zur Plaqueinstabilität und in Folge auch zu Rupturen der Plaques, da die Gefäßwand an diesen Stellen eine geringere Elastizität aufweist. Durch solche Rupturen kann es zum partiellen oder kompletten Verschluss des Lumens kommen, entweder durch frei gewordenen thrombogenes Material, welches dann weiter distal das Lumen verschließt und so zu Mikroinfarkten führt, oder direkt am Einriss der Gefäßwand durch die nachfolgende Thrombenbildung, die zum Verschluss des Gefäßes führen kann. Klinisch kann sich dies als akutes Koronarsyndrom mit instabiler Angina pectoris oder Myokardinfarkt präsentieren. Zudem treten die erwähnten Mikroinfarkte häufig vor einem kompletten Gefäßverschluss auf und weisen so auf ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko hin. [1, 2, 5]

Anfänglich wächst das Gefäß im Frühstadium der Plaqueentstehung nach außen und das Lumen bleibt vorerst relativ konstant (Remodeling). Wird ein aufgelagerter Thrombus in der Folge organisiert, führt dies zu einem episodischen Wachstum des Plaques. Erst in den fortgeschrittenen Stadien beginnt der Plaque ins Lumen zu wachsen und stenostiert dieses zunehmend. [1]

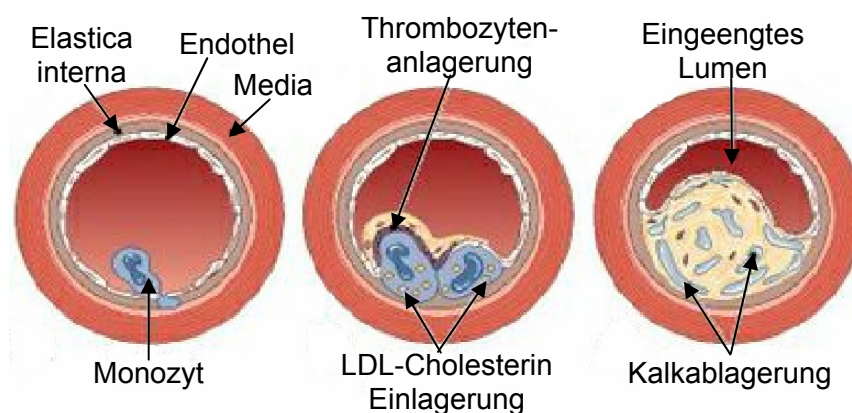


Abbildung 1.1.1: Entwicklung der Atherosklerose

(Abgeändert nach einer Vorlage von

http://www.pflegeportal.ch/pflegeportal/Cholesterinsenkende_Ernaehrung.php)

Normalerweise kann sich das Herz einem erhöhten Sauerstoffbedarf mittels Vasodilatation anpassen, so wird bei Bedarf die Koronarperfusion bis um das Vierfache gesteigert (Koronarreserve). Dieser Autoregulationsmechanismus funktioniert anfänglich auch in den geschädigten Bereichen. Jedoch wird dieser Mechanismus durch die zunehmende Schädigung des Endothels zusehends eingeschränkt, bis der Effekt umschlägt und es sogar zur Konstriktion und somit zu einer zusätzlichen Steigerung der Stenose kommt. [2, 7]

Nach der Morphologie und Angiologie kann man einen Plaque in drei Kategorien einteilen:

- ✓ *Stabiler Plaque*: Stenosegrad < 75 %
- ✓ *Kritischer Plaque*: Stenosegrad > 75 %
- ✓ *Instabiler oder vulnerabler Plaque*: Entweder führen Plaqueruptur, Plaqueeinblutung, Thrombose oder ein Mediaspasmus zu einer partiellen oder kompletten Stenose des Restlumens. Weiters ist ein vulnerabler Plaque gekennzeichnet durch hohe Lipidakkumulation, dünne Deckplatte, ausgeprägte Zellproliferation, hohe Konzentration von gewebständigen Gerinnungsfaktoren und gesteigerte zelluläre inflammatorische Aktivität z. B. von Makrophagen und T-Lymphozyten. [2, 6]

Beträgt eine Stenose 50 % der Gefäßquerschnittsfläche oder mehr, führt dies bei Belastung zu einer Minderperfusion des Myokards; liegt eine Stenose bei 75 % oder mehr vor, kann die Durchblutungsstörung bereits in Ruhe chronisch werden. Dadurch besteht die Möglichkeit, dass die Kontraktionsfähigkeit des Herzmuskels teilweise bis gänzlich abnimmt. Dieser Vorgang ist nach Wiederherstellung der Perfusion für gewöhnlich reversibel. [1, 5]

1.1.5 Gefäßversorgung

Das Herz wird von den drei großen Koronararterien und ihren Seitenästen versorgt, wobei die Versorgung sehr variabel ausfallen kann. Die KHK lässt sich daher je nach Lokalisation der stenosierenden Läsionen in die Ein-, Zwei-, Drei- oder, je nachdem ob man den Hauptast der linken Koronararterie hinzuzählt, auch

Viergefäßerkrankung unterteilen. [6] Eine Skizzierung der Koronargefäße ist in der Abbildung 1.1.2 dargestellt.

- ✓ *Rechte Koronararterie (RCA)* mit den akut marginalen (RCA-AM), posterior deszendierenden (RCA-PD) und posterolateralen (RCA-PL) Abzweigungen und den Endästen Ramus interventricularis posterior (RIVP) und R. posterolateralis dexter (RPLD).

Sie versorgen den Sinusknoten, Teile des rechten und linken Vorhofs, die Vorderwand des rechten Ventrikels, die diaphragmale Fläche des linken Ventrikels, den AV-Knoten und das hintere Drittel des Septums.

- ✓ Hauptast der *linken Koronararterie (LCA)*.

Die LCA teilt sich in den R. interventricularis anterior und den R. circumflexus.

- ✓ *R. interventricularis anterior (LAD oder RIVA)* und seine diagonale Äste (LAD-D).

Er versorgt die Vorderwand des rechten und linken Ventrikels mit dem vorderen Papillarmuskel der linken Kammer, die Seitenwand (Diagonaläste), $\frac{2}{3}$ des vorderen Septums (Septaläste) sowie das His-Bündel und die Tawara-Schenkel.

- ✓ *R. circumflexus (RCX)* und seine stumpfwinkligen Marginaläste (RCX-OM) sowie der Endast R. posterolateralis sinister (RPLS).

Er versorgt mit seinen Seiten- oder Marginalästen den linken Vorhof und die linke Kammer mit der posterioren Hinterwand. [1, 6, 8]

Von den großen Hauptästen RCA und LCA, die epikardial verlaufen, zweigen die Seitenäste zum Subendokard ab. Da das Herz schon in Ruhebedingungen nahezu den gesamten vom Blut zugeführten Sauerstoff benötigt, kann eine Verbesserung des Sauerstoffangebots nur mittels gesteigerter Koronarperfusion erreicht werden. [1]

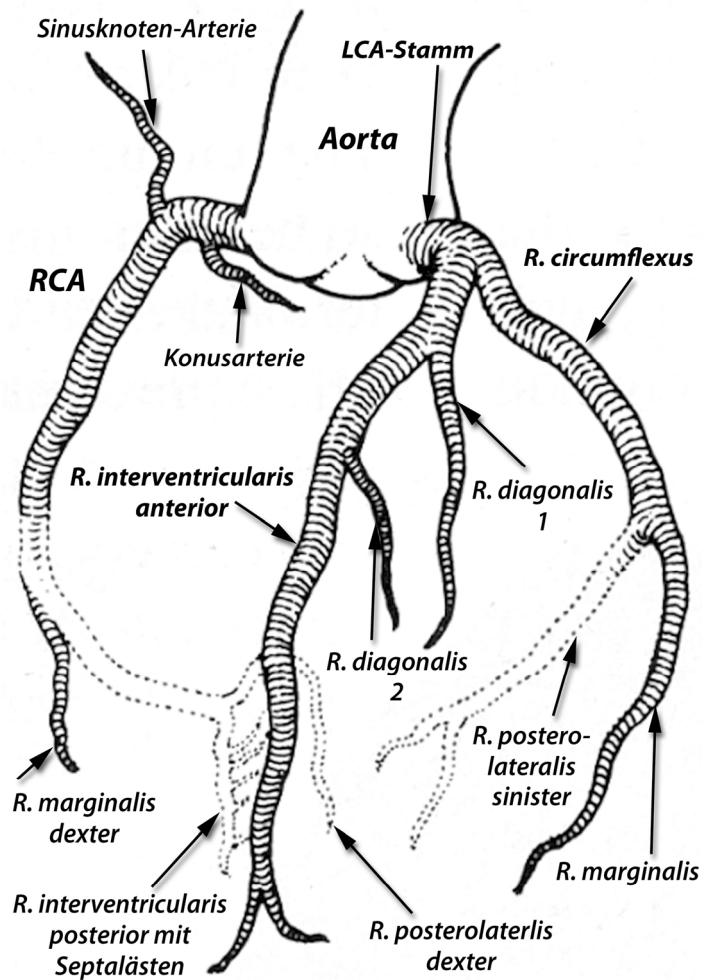


Abbildung 1.1.2: Schematische Darstellung der Koronararterien
 (Entnommen von <http://www.kardionet.com/Untersuchungen/Coro.html>)

1.1.6 Klinik

Anhand der Symptome, des EKGs und Laborparameter kann man die verschiedenen Erscheinungsformen der KHK unterscheiden; zu diesen gehören die Angina pectoris, die stumme Myokardischämie und die lebensbedrohlichen Erscheinungsformen des akuten Koronarsyndroms mit der instabilen Angina pectoris, dem akuten Myokardinfarkt und dem plötzlichen Herztod. Wichtig für die Prognose nach einem solchen Ereignis ist die schnellst mögliche Diagnose und Zuführung zur Therapie, denn „Zeit ist Muskel - 'Time is tissue'“. [1]

1.1.6.1 Angina pectoris

Die Angina pectoris ist eine Manifestation der Myokardischämie bzw. der myokardialen Dysfunktion, sie führt dabei für gewöhnlich nicht zu Nekrosen. Initial treten

dabei ein Enge-, dumpfes Druckgefühl, Schmerzen oder Brennen auf. Diese Symptome können thorakal bzw. linksthorakal, retro- oder substernal lokalisiert sein und je nach betroffenem Herzareal in den linken oder seltener rechten Arm, Schultern, Rücken, Epigastrium oder auch in den Unterkiefer und die Zähne ausstrahlen. Es sind jedoch auch atypische Symptome wie thorakale Stiche, Belastungsdyspnoe, Übelkeit, Leistungsknick oder Unwohlsein möglich, insbesondere bei Frauen und Patienten über 75 Jahre. In der Regel sind die auftretenden Schmerzen nicht atemabhängig und dauern für gewöhnlich nur kurze Zeit (wenige Minuten) an; in Ruhe oder nach Nitrogabe lassen die Beschwerden schnell nach. [1, 5, 7]

Ausgelöst werden die Symptome durch Situationen, die zu einem erhöhten Sauerstoffbedarf des Herzens führen, u. a. durch körperliche Belastung (z. B. Treppensteigen, bergauf gehen), Kälte, reichhaltige Speisen, Aufregung, Stress und psychische Belastung. Wird ein Anfall immer bei ähnlichen Belastungen ausgelöst (etwa in den 3. Stock gehen) und ist so immer wieder reproduzierbar, spricht man von einer stabilen oder fixierten Angina pectoris. Gelegentlich sprechen Patienten bei sehr starken Anfällen von massiven Ängsten, ähnlich wie bei einem Myokardinfarkt. [1, 5, 7]

1.1.6.2 Instabile Angina pectoris

Man bezeichnet eine Angina pectoris als instabil, wenn die pektanginösen Symptome wie in den folgenden Konstellationen auftreten:

- ✓ *Angina decubitus/nocturna*: Auch Ruheangina genannt, da sie in Ruhe z. B. im Schlaf, typischerweise in den Morgenstunden, auftritt. Sie spricht im Allgemeinen nur schlecht auf Nitrogabe an und birgt ein hohes Myokardinfarktrisiko.
- ✓ *Postinfarktangina*: Dabei kommt es zu einem neuerlichem Anfall innerhalb von sechs Wochen nach einem Myokardinfarkt.
- ✓ *De-novo-Angina*: Bezeichnet das erstmalige Auftreten (innerhalb der letzten zwei Monate) einer Angina pectoris bei einem bisher asymptomatischen Patienten.

- ✓ *Recent-onset-Angina*: Ist eine schnelle Steigerung der Anfallshäufigkeit innerhalb kürzester Zeit und dadurch Einschränkung im Alltag.
- ✓ *Crescendo-Angina*: Bezeichnet die Zunahme der Häufigkeit, der Dauer und der Intensität der Anfälle.
- ✓ *Kälteangina*: Auftreten eines Anginaanfalls durch Kälteexposition.
- ✓ *Prinzmetal-Angina*: Gilt als eine seltene Sonderform der instabilen Angina. Ursache ist ein Koronarspasmus, bedingt durch eine Hyperreaktivität der glatten Muskelzellen der Koronaren und betrifft meist gesunde oder nur gering veränderte Gefäße. Diese Anfälle treten für gewöhnlich in Ruhe, üblicherweise in den Morgenstunden, auf und dauern mehr als 15 Minuten an. Sie sind zudem mit einer vorübergehenden ST-Strecken-Hebung verbunden, jedoch lassen sich im Belastungs-EKG in der Regel keine Pathologien erkennen. [1, 5, 9]

1.1.6.3 Myokardinfarkt

Wie bei der Angina pectoris treten ein Enge-, dumpfes Druckgefühl, Schmerzen oder Brennen, das retro- bzw. substernal oder thorakal bzw. linksthorakal lokalisiert ist, auf. Auch das Muster die Schmerzausstrahlung gleicht dem, der Angina pectoris. Je nach Infarktareal strahlen die Schmerzen in den linken Arm (selten rechten Arm), Epigastrium (Hinterwandinfarkt), Rücken, Schulter oder Unterkiefer aus. Zudem treten oft vegetative Begleitsymptome auf, u. a. Übelkeit (eher bei Frauen), Blässe, starkes Schwitzen und Unruhe. Weiters empfinden die Patienten meist eine intensive Vernichtungs- und Todesangst. Anamnestisch lässt sich oft nicht sicher abgrenzen, ob es sich um eine instabile Angina pectoris oder einen Myokardinfarkt handelt. Dauern die Symptome länger als 30 Minuten und sprechen auf Nitrogabe nicht an, kann man von einem Infarktgeschehen ausgehen. [1]

Einen Myokardinfarkt kann man zudem in einen NSTEMI (non-ST-elevation myocardial infarction) oder einen STEMI (ST-elevation myocardial infarction) unterteilen. Hierbei ist im EKG beim STEMI die typische ST-Strecken-Hebung zu sehen, während beim NSTEMI diese fehlt. Die Verifizierung eines NSTEMI ist daher nur labordiagnostisch möglich. [1]

Allerdings kann ein Infarkt auch als so genannter stummer Myokardinfarkt ablaufen, dies geschieht meist bei Diabetikern. Durch die Polyneuropathie fehlen die typischen Schmerzsymptome der Angina pectoris oder des Infarkts, jedoch lässt sich das kardiale Ereignis im EKG, Labor, usw. nachweisen. Stumme Infarkte haben dabei eine ungünstigere Prognose. [1]

1.1.7 Diagnostik

Dabei ist das Unterscheiden zwischen stabiler, instabiler Angina pectoris, Myokardinfarkt und den Differentialdiagnosen am wichtigsten. Den größten Stellenwert hat die genaue Anamnese zum Bestimmen der Diagnose und Verlaufsbeobachtung der KHK; wichtig sind dabei die Symptomatik und die Risikofaktoren. Entscheidend ist es, den Patienten schnellst möglich einer Therapie zuzuführen.

1.1.7.1 Körperliche Untersuchung

Da die Atherosklerose systemisch auftritt und sich so als PAVK und Karotisstenosen manifestieren kann, sollte man auf eventuelle Gefäßgeräusche in den Carotiden und Femoralarterien achten. Entscheidend ist es weitere Symptome und Befunde zu erkennen, die Komplikationen in der Akutphase darstellen, wie etwa Zeichen einer Herzinsuffizienz. Dabei geben Tachypnoe, Dyspnoe oder Orthopnoe, feuchte Rasselgeräusche und 3. oder 4. Herzton Hinweise auf eine Linksherzinsuffizienz, ein Lungenödem oder einen beginnenden kardiogenen Schock. Eine Halsvenenstauung und ein positiver hepatojugulärer Reflux weisen auf eine Rechtsherzinsuffizienz hin oder treten sekundär bei schwerer Linksherzinsuffizienz auf. Des Weiteren ist auf Rhythmusstörungen und Herzgeräusche zu achten. [1, 2]

1.1.7.2 EKG

Ruhe-EKG

Das Ruhe-EKG kann bei KHK Patienten sehr variabel sein, etwa die Hälfte zeigen Veränderungen. Folgende pathologische Befunde können auftreten: Unspezifische Endstreckenveränderungen, Blockbilder, ventrikuläre oder supraventrikuläre Rhythmusstörungen, Zeichen eines vorangegangenen MI (R-Verlust, Q-Zacken), ST-Senkung bei nicht-transmuraler Ischämie, ST-Hebung bei transmuralem akuten MI, oder Prinzmetal-Angina und T-Negativierung. Mehr Aussagekraft hat das EKG beim MI (STEMI). [5, 9]

Belastungs-EKG

Die Hauptindikationen hierfür sind der Verdacht auf eine KHK, deren Therapiekontrolle und die Bestimmung der Belastbarkeit (vor Operationen); sie wird meist mit einem Fahrradergometer durchgeführt. Beurteilt werden dabei die allgemeine Leistungsfähigkeit, Frequenz- und Blutdruckregulation, auftretende Beschwerdesymptomatik und ST-Strecken-Veränderungen. Als Kontraindikationen gelten u. a. vorbestehende Ischämiezeichen im Ruhe-EKG, hochgradige koronare Hauptstammstenose, ACS, instabile Angina pectoris, akuter MI vor weniger als fünf Tagen, manifeste oder dekompensierte Herzinsuffizienz und symptomatische Aortenstenose. Zu den Abbruchskriterien gehören z. B.: Horizontale oder deszendierende ST-Senkung, neu aufgetretene ST-Hebung, AP-Anfall, Blutdruckabfall unter 10 mmHg vom Ausgangswert oder –anstieg über 250 mmHg, ventrikuläre Extrasystolen, Couplets, Bigeminus, Salven oder Tachykardien, neue Blockbilder und ausgeprägte Dyspnoe. [10]

1.1.7.3 Labor

Das Labor spielt bei der Diagnose der KHK nur eine untergeordnete Rolle, es dient vielmehr der Erhebung und Bewertung des Risikoprofils. Dabei wird die Bestimmung folgender Werte zur Orientierung empfohlen: Blutbild (Beurteilung einer Anämie, Leukozytose oder Thrombozytose), Blutzucker (möglicher Diabetes mellitus), Lipidwerte mit Gesamtcholesterin, LDL- und HDL-Cholesterin und Triglyzeride (etwaige Hyperlipidämie). Des Weiteren können auch Lipoprotein a, Natrium, Kalium, Kreatinin, BSG, und der Gerinnungsstatus bestimmt werden. [9]

Nur bei Zeichen einer instabilen Angina pectoris bzw. eines ACS sind spezifische Werte nötig und dienen zur Beurteilung einer akuten Ischämie, dazu gehören Troponin-T und -I, CK, CK-MB und LDH. [9]

1.1.7.4 Koronarangiographie

Bei der Diagnose der KHK gilt die Koronarangiographie als Goldstandard. Dabei wird über einen Katheter, der mittels perkutaner Punktion der Femoralarterie (seltener A. brachialis oder radialis) eingeführt wurde, Kontrastmittel in die Koronaren eingebracht. In der Röntgendurchleuchtung lassen sich hierbei die Lokalisation, Ausdehnung und Schwere einer Stenose, eines Verschlusses, Aneurysmas oder Anomalie der Koronaren und deren Kollateralgefäße nachweisen. Jedoch kann ei-

ne Ischämie des Myokards nicht direkt nachgewiesen werden. Indiziert ist diese Untersuchung zur Abklärung von AP, pathologischen Belastungs-EKG, ACS, komplexen Rhythmusstörungen, unklarer Verschlechterung der linksventrikulären Funktion und Abklärung der Koronaranatomie sowie zum Ausschluss einer KHK vor Klappenoperationen. [1, 5, 7, 9]

Einige Beispiele für Koronarangiographiebilder sind in den Abbildungen 1.1.3, 1.1.4 und 1.1.5 zu sehen. Diese Aufnahmen wurden im Rahmen der Voruntersuchung zur Bypassoperation bei Patienten der Studie durchgeführt.

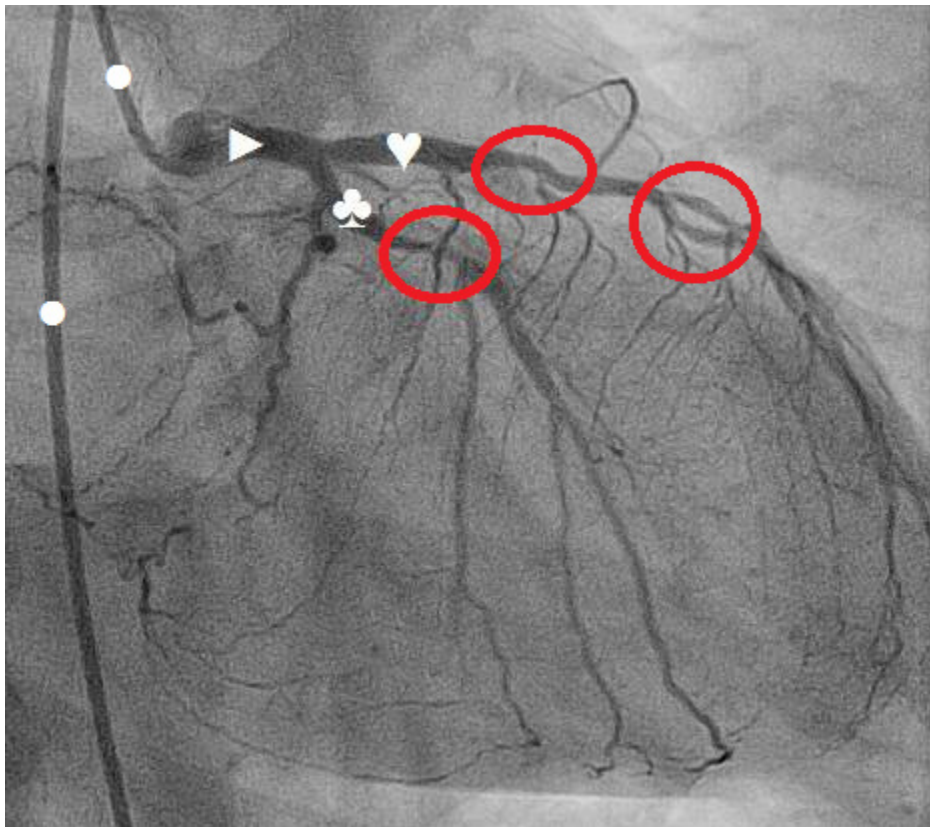


Abbildung 1.1.3: Koronarangiographie LCA

Aufnahme des Patienten L. K. Der Katheter (●), Hauptstamm der LCA (▶), RCX (♥), RIVA (♣) und die vielen Diagonaläste sind dabei gut zu erkennen. Die roten Markierungen kennzeichnen die relevanten Stenosen.

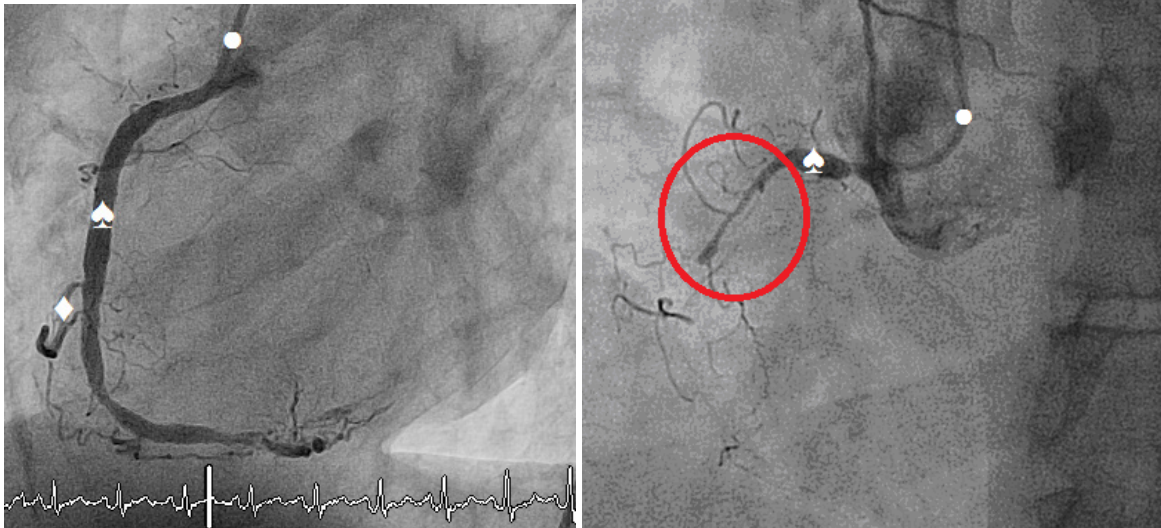


Abbildung 1.1.4 (links) und Abbildung 1.1.5 (rechts): Vergleich Koronarangiographie RCA
 Die Abbildung 1.1.4. zeigt die RCA von Patient L. K., Abbildung 1.1.5 stellt die RCA des Patienten H. M. dar. Die rote Markierung kennzeichnet die relevante Stenose und den Verschluss. Dabei ist, im Vergleich der beiden Gefäße, der Kontrastmittelabriss beim Verschluss deutlich zu erkennen.
 Legende: Katheter (●), RCA (♠), R. marginalis dexter (◆)

Die Koronarangiographie bietet allerdings nicht nur die Möglichkeit der Untersuchung, sondern auch der Behandlung der KHK. So kann durch den Herzkatheter eine Ballondilatation oder Stentimplantation (PTCA = percutane transluminale koronare Angioplastie) bei behandlungsdürftige Stenosen (> 75 %) bzw. Verschlüssen bei Herzinfarkt durchgeführt und so das Gefäß wieder durchgängig gemacht werden (Revaskularisierung). Als Komplikation des Herzkatheters können in 1-5 % der Fälle Probleme an der Punktionsstelle auftreten (Hämatom, Aneurysma spurium, arterio-venöse-Fisteln). [1, 9] Weitere Komplikationen können Herzinfarkt, Herzrhythmusstörungen, Dissektion, Perikardtamponade, arterielle Embolie oder auch Kontrastmittelallergie sein. Zu letalen Komplikationen kommt es jedoch nur in unter 0,1 % der Fälle. [5]

1.1.7.5 Weitere diagnostische Untersuchungen

Es existieren noch weitere Möglichkeiten das Herz auf das Vorhandensein einer KHK zu untersuchen, hier eine Aufzählung mit kurzer Erläuterung:

- ✓ *Echokardiographie*: Dient der Beurteilung der linksventrikulären Funktion und der Detektion von vergrößerten Herzkammern, lokalen Wandbewegungsstörungen (Hinweis auf stattgehabten MI), Klappenvitien, Insuffizienzen und Hypertrophie. [1, 5]

- ✓ *Stress-Echokardiographie*: Alternative zum Belastungs-EKG bei immobilen Patienten bei gleichen Kontraindikationen. Sie wird unter körperlicher oder medikamentöser (Dobutamin) Belastung durchgeführt; dabei kann man Wandbewegungsstörungen bei Hypokinesie lokalisieren. Die Ergebnisse hängen jedoch von den Fähigkeiten des Untersuchers ab. [1, 9]
- ✓ *Myokardszintigraphie*: Ermöglicht einen regionalen Ischämienachweis in Ruhe und Belastung durch Anzeigen von Speicherdefekten bei Minderdurchblutung des Myokards. Ist der Speicherdefekt auch in Ruhe vorhanden, liegt eine Infarktnarbe vor. [1, 9]
- ✓ *Magnetresonanztomographie (MRT)*: Erlaubt eine nicht-invasive Beurteilung von Myokardischämie, -vitalität und -funktion. Kann jedoch bei Patienten mit Schrittmachern und Defibrillatoren nicht angewendet werden. [1, 5]
- ✓ *Positronenemissionstomographie (PET)*: Goldstandard zur Evaluierung der Myokardvitalität; perfundiertes Gewebe kann dabei von nicht perfundierten, avitalem Gewebe differenziert werden. [1]
- ✓ *Herz-Computertomographie (CT)*: Zum Nachweisen von Verkalkungen, Stenosen sowie Plaques der Koronaren, gibt zudem Rückschluss auf den Umfang der Atherosklerose. Sie ist eine nicht-invasive Alternative zur Koronarangiographie. [1, 5]

1.1.8 Therapie

Die Therapie der KHK besteht aus mehreren Schwerpunkten: Die symptomatische Behandlung des AP-Anfalls, medikamentöse Langzeittherapie, Sekundärprophylaxe und die Revaskularisierung erkrankter Gefäße. [9]

1.1.8.1 Allgemeinmaßnahmen

Um ein Entstehen bzw. Fortschreiten einer KHK zu verhindern sind die Primär- und Sekundärprophylaxe essentiell. Wesentlich ist dabei die Reduktion der beeinflussbaren Risikofaktoren (siehe Kapitel 1.1.3 Ätiologie). Dazu gehören z. B. Raucherentwöhnung, Gewichtsreduktion und Einstellung der Lipidwerte, des Blutdrucks und des Diabetes. Des Weiteren wirken sich auch Ausdauersport, die Behandlung von auf die KHK negativ auswirkenden Begleiterkrankungen und Anwei-

sung für das Verhalten im Anfall bzw. wie ein solcher vermieden werden kann, positiv auf die KHK aus. [1]

1.1.8.2 Medikamentöse Therapie

Die beiden Säulen der medikamentösen Therapie sind die Akuttherapie im Anfall und die Langzeittherapie.

Akuttherapie beim Angina pectoris Anfall

Hier helfen schnell wirksame Nitropräparate (Nitroglycerin) mit einem Wirkungseintritt innerhalb von zwei Minuten, als Zerbeißkapsel oder 1-2 Hübe als Spray sublingual. Sie bewirken eine Dilatation der peripheren und koronaren Gefäße und führen so zu einer Senkung der Vor- und Nachlast. Nitropräparate sollten allerdings nie in Verbindung mit 5-Phosphodiesterase-Hemmern eingenommen werden, dies kann zu lebensbedrohlichen Blutdruckabfällen führen. Als Nebenwirkung kann es zum sog. Nitratkopfschmerz kommen. [1, 9]

Langzeittherapie

Mit der medikamentösen Langzeittherapie sollen mehrere Ziele erreicht werden. Dazu gehören etwa eine verbesserte myokardiale Sauerstoffversorgung bzw. verminderten Sauerstoffbedarf. Dies kann einerseits durch Dilatation der Koronaren und Förderung von Kollateralarterien, Frequenzsenkung und Senkung der Vorlast erfolgen, sowie andererseits auch durch Senkung der Kontraktilität und Nachlast erreicht werden. Ebenfalls gehören die Risikoreduktion eines thrombotischen Verschlusses und die Senkung der Risikofaktoren (LDL-Cholesterin, arterielle Hypertonie) dazu. [9]

- ✓ *Nitrate*: Siehe Akuttherapie beim AP-Anfall. Bewirken eine Vor- und Nachlastsenkung sowie eine Koronardilatation. In der Langzeittherapie werden langwirksame Nitrate wie Isosorbidmononitrat (ISMN), Isosorbiddinitrat (ISDN) oder Molsidomin eingesetzt. Sie wirken nur symptomatisch.
- ✓ *Betablocker*: Wirken antiarrhythmisch, antiischämisch und verbessern die Symptomatik und Prognose. Sie senken die Herzfrequenz, was einen reduzierten Sauerstoffverbrauch des Herzens bewirkt. Daneben führen sie zu

einer Blutdruckabnahme und mindern die Kontraktilität des Myokards. Repräsentative Wirkstoffe sind Metoprolol, Bisoprolol und Carvedilol. Kontraindikationen sind Asthma bronchiale, Hypotension, AV-Blöcke und Bradyarrhythmien.

- ✓ *ACE-Hemmer und Sartane*: Bewirken eine Blutdruck- sowie Nachlastsenkung (sind antivasokonstriktiv, antihypertroph und harntreibend) und steigert die Myokardperfusion durch verbesserte Endothelfunktion. So helfen sie symptomatisch und prognostisch bei der KHK und senken zudem die KHK-Letalität. Typische Präparate sind Lisinopril, Enalapril, Candesartan und Valsartan.
- ✓ *Kalziumantagonisten*: Wirken symptomatisch und prognostisch, da sie die Nachlast senken, antiarrhythmisch, dilatativ (besonders bei Prinzmetal-Angina), negativ inotrop und zum Teil negativ chronotrop sind. Sie verringern daneben die Morbidität der KHK. Vertreter dieser Gruppe: Verapamil und Amlodipin.
- ✓ *Thrombozytenaggregationshemmer*: Senken die Thrombenbildung und so die Rate an ACS und verbessern die Prognose. Verringern die Mortalität bei KHK (insbesondere nach Infarkt als Sekundärprophylaxe) und werden lebenslang eingenommen. Verwendet werden dazu Acetylsalicylsäure (ASS) oder Clopidogrel in geringer Dosierung.
- ✓ *Lipidsenker*: Die Zielwerte werden meist nicht durch die Lebensführung erreicht, daher werden die Werte zusätzlich medikamentös gesenkt. Verwendet werden Statine, Fibrate und Ezetimibe. Sie wirken lipidsenkend, antiatherosklerotisch und verbessern zusätzlich die Endothelfunktion. [1, 5, 9]

1.1.8.3 Revaskularisation

Kann mittels einer Katheterintervention (siehe Kapitel 1.1.7.4) oder Bypass-Operation erfolgen.

Eine Bypass-Operation ist indiziert, wenn die KHK medikamentös oder durch PTCA nicht ausreichend therapierbar ist, oder eine Mehrgefäßerkrankung bzw. der Hauptast der LCA betroffen ist. Verwendet werden als Gefäßgraft u. a. die V. saphena magna und V. saphena parva (aortocoronarer-Venenbypass = ACVB)

oder die A. mammaria interna und die A. radialis. Die Operation muss an der Herz-Lungen-Maschine durchgeführt werden und hat eine Letalitätsrate von 1-2 %. Beschwerdefrei sind nach der Operation etwa 80 % der Betroffenen, wobei sich im ersten Jahr jedoch 10-20 % der Venenbypässe verschließen, dagegen haben arterielle Bypässe eine bessere Prognose. [1, 2, 9]

1.2 Osteoprotegerin (OPG)

Osteoprotegerin (OPG) wurde erstmals 1997 von drei verschiedenen Arbeitsgruppen beschrieben. Zum einen kommt es in membrangebundener Form im Immunsystem vor und wird andererseits auch in einer Vielzahl von Geweben gebildet und sezerniert. Überwiegend erscheint es jedoch in seiner löslichen Form. [11–13] Diese Ergebnisse wurden auch von anderen Forschungsgruppen unter der Namensgebung TNFR-related molecule-1 (TR-1) und follicular dendritic cell-derived receptor-1 (FDCR-1) bestätigt. [14, 15]

Das OPG gehört zur Superfamilie der Tumornekrosefaktorrezeptoren (TNFR) wie etwa TNFR-2 oder CD40 und wird als basisches Glykoprotein sezerniert. Bisher ist es das einzige Mitglied der TNFR, das sezerniert wird. Es existiert als 60 kDa großes Monomer oder, durch Bildung einer Disulfidbrücke, als Homodimer mit 120 kDa. Beide Formen wirken biologisch in gleicher Weise. [12, 16, 17]

OPG besteht aus 401 Aminosäuren und besitzt ein Signalpeptid mit 21 Aminosäuren sowie sieben strukturelle Domänen (D1-D7). Die cysteinreichen N-terminalen Domänen 1 bis 4 weisen das OPG als Mitglied der TNFR Familie aus, dabei besteht hier die größte Ähnlichkeit zu TNFR-2 und CD40. Sie haben die Aufgabe die Osteoklastogenese und verschiedenen Osteoklastenfunktionen zu hemmen. [11] Die Domänen 5 und 6 enthalten zwei „death domain homologous (DDH)“ Regionen, diese sind ebenfalls bereits von anderen TNF Mitgliedern bekannt (z. B. TNFR-1, TRAIL) und induzieren beim OPG die Osteoklastenapoptose. [12, 16] Die an der C-terminalen Region sitzende letzte Domäne 7 birgt einen Heparinbindenden Bereich und eine Cysteinverbindung (Cys-400), welche für die Homodimerisation benötigt wird. [12, 16] Bislang konnten keine Gensequenzen für eine transmembranäre Domäne isoliert werden, obwohl von einem zellgebundenen OPG berichtet wurde. [11, 15, 16]

Das humane OPG Gene konnte erstmals 1998 von *Hilton et al.* entschlüsselt und geklont werden. Es enthält fünf Exons, welche 29 Kilobasen (kb) des Chromosoms 8q23-q24 umfassen. [18] Die humane OPG mRNA wird in drei unterschied-

lich langen Formen exprimiert. Hauptsächlich wird die 2,9 kb lange Form gebildet; daneben gibt es noch die nicht so häufigeren Varianten mit 4,2 kb und 6,5 kb, diese entstehen durch partielle oder komplette Duplikation des Intron 2. [19, 20]

Bisher wurden eine Vielzahl von Organen bzw. Zelltypen gefunden, die OPG exprimieren und sezernieren; dazu zählen u. a. Knochen, Lunge, Herz, Niere, Plazenta, Schilddrüse, Rückenmark, Leber, Gastrointestinaltrakt, Thymus, Prostata, Ovar, Testis, lymphatisches Gewebe (Lymphknoten), osteoblastäre und hämatopoetische Zellen, Fibroblasten, osteogenetische Sarcoma Zelllinie, sowie die Wand großer Arterien (vascular smooth muscle cells = VSMC), venöse endotheliale Zellen und mikrovaskulären Endothelialzellen (human microvascular endothelial cells = HMVEC). [11, 12, 14, 15, 21] Daneben kann OPG auch noch in den Zellen verschiedener Malignome (zumeist bei Arten, die osteoblastische Metastasen bilden) wie etwa in Prostatakarzinomzellen, Mammakarzinomzellen sowie in Zelllinien des Hodgkinlymphoms nachgewiesen werden. [22–26]

Die Expression und Produktion des OPG wird durch verschiedenen Zytokine, Peptide, Hormone und Medikamente beeinflusst. Zytokine wie etwa IL-1 α , IL-1 β , TNF α , IL-18, TGF- β , knochenmorphogenetische Proteine (BMPs) und Steroidhormone wie 17 β -Estradiol erhöhen das OPG mRNA Niveau. [27–31] Wobei Östrogen nicht nur die mRNA Expression sondern auch die Proteinsekretion stimuliert. [31] Dagegen verringern Glucocorticoide, PTH, PTHrP, Prostaglandin E₂, bFGF und Cyclosporin A sowie eine Ovariectomie die Expression. [27, 29, 30]

Das *American Society for Bone and Mineral Research committee* legte im Jahr 2000 eine einheitliche Nomenklatur für das OPG/RANKL/RANK System fest. [32]

1.2.1 Osteoprotegerin und seine Wirkung

OPG arbeitet als sezernierter Fangrezeptor (Decoy Receptor) für Receptor activator of nuclear factor- κ B Ligand (RANKL), indem es kompetitiv an diesen bindet. Dadurch verhindert es dessen Bindung an Receptor activator of nuclear factor- κ B (RANK) und neutralisiert so alle biologischen Effekte von RANKL. [20, 33] Es ist somit ein endogener Rezeptorantagonist für alle Formen von RANKL. Darüber

hinaus wirkt OPG auch für TNF-related apoptosis-inducing Ligand (TRAIL) als schwacher Fangrezeptor und antagonisiert dessen biologische Wirkung. [34]

Osteoprotegerin spielt durch Blockierung der Osteoklastogenese im Knochenstoffwechsel eine große Rolle. Hier wird es von osteoblastären Zellen exprimiert. Es inhibiert die Proliferation, Differenzierung, Überleben und Fusion der Osteoklastenvorläuferzellen, als auch die Aktivierung der Osteoklasten und fördert ebenfalls deren Apoptose. [14, 20, 29, 33]

Eine erhöhte Expression von OPG bewirkt in Mäusen eine Zunahme der Knochenmasse (v.a. der Trabekel) und eine Abnahme der trabekulären Osteoklastenzahl, dies geht mit einer Verschmälerung der Kortikalis und Verkleinerung der Markräume einher; die Knochen sind jedoch normal geformt (Osteopetrose). Durch den Platzverlust des Knochenmarks kommt es zur extramedullären Hämatopoese in der Milz und teilweise auch in der Leber. Ursache der Osteopetrose ist die Inhibierung der Osteoklastogenese. Im Gegensatz zu anderen osteopetrotischen Mäusen wurden keine Schwierigkeiten beim Zahndurchbruch beobachtet. Auch die Größe und Form der Knochen war im Vergleich zur Kontrollgruppe nicht abweichend, es zeigten sich keine keulenförmigen Knochen wie sie ansonst bei anderen osteopetrotischen Mäusen auftraten. Damit sind Mäuse mit erhöhter OPG Expression das erste osteopetrotische Tiermodell ohne zusätzliche skelettalen Abnormalitäten. [11, 35]

Dagegen weisen OPG Knockout ($OPG^{-/-}$) Mäuse eine schwere early-onset Osteoporose, die sich im Alter noch verschlimmert, wie auch eine gesteigerte Inzidenz für Knochenbrüche auf. Mikroskopisch findet sich eine Abnahme der Trabekel und der Cortikalis. Diese Effekte treten jedoch erst nach der Geburt auf; man nimmt daher an, dass endogenes oder maternales OPG nicht notwendig ist für die embryonale Skelettentwicklung bzw. für die postnatale Entwicklung von Trabekel und Cortikalis. Es zeigt sich eine erhöhte Osteoklastenzahl, jedoch ohne Zunahme der Vorläuferzellen oder Steigerung der alkalischen Phosphatase. Die Mäuse wiesen auch Kalzifizierungen der Aorta und der Nierenarterien auf, diese waren hauptsächlich in der Media zu finden. Jedoch wurden keine Verkalkungen in den kleineren Arterien, Venen, Kapillaren oder atherosklerotische Plaques gefunden.

Es wurde zusätzlich eine milde bis moderate Proliferation der Intima und Media sowie teilweise partielle Aortendissektionen und Aneurysmen festgestellt. OPG ist somit ein physiologischer Regulator der osteoklastenvermittelten Knochenresorption beim postnatalen Knochenwachstum und dem Remodeling des Skeletts und spielt auch vaskulär eine Rolle. [35–37]

Bekker et al. erreichten durch eine einzelne s.c. Injektion von OPG bei postmenopausalen Frauen einen Rückgang der Marker für Knochenresorption und bestätigten damit den positiven Effekt von OPG auf den Knochenstoffwechsel beim Menschen. Die Injektion zeigte einen schnellen Effekt mit hochgradigem Rückgang des Knochenumbaus für einen längeren Zeitraum und wurde von den Patientinnen gut toleriert. Untersucht wurden dabei jedoch nur Knochenresorptionsmarker und nicht die Knochendichte. [38]

Mittlerweile weisen diverse Studien darauf hin, dass die Serum OPG Konzentration generell mit dem Alter ansteigt. (siehe Kapitel 1.6.2 OPG in Humanstudien). [39–42]

1.3 Receptor activator of nuclear factor- κ B Ligand (RANKL)

RANKL wurde ebenfalls wie OPG im Jahr 1997 entdeckt und zwar von zwei verschiedenen Arbeitsgruppen, die es als Receptor activator of nuclear factor- κ B Ligand (RANKL) bzw. TNF-related activation-induced cytokine (TRANCE) bezeichneten. Es ist ein Typ II Transmembranprotein und gehört zur TNF Superfamilie. [43, 44] Ein Jahr später wurden weitere Ergebnisse veröffentlicht, die dieses Zytokin als spezifischen Liganden für OPG identifizierten. Es wurde als Osteoprotegerin Ligand (OPGL) bzw. Osteoclast differentiation factor (ODF) bezeichnet. In der Genanalyse zeigte sich, dass es sich um das bereits 1997 identifizierte Zytokin RANKL handelte. [20, 33]

Das klassische membrangebundene RANKL-Protein besteht aus 317 Aminosäuren und sein Molekulargewicht beträgt 38 kDa; zudem besteht Ähnlichkeit mit anderen Vertretern der TNF Liganden Familie, am größten mit CD40-Ligand, aber auch mit TRAIL und Fas-Ligand. Es besitzt eine kurze N-terminale intrazelluläre Domäne, eine lange C-terminale extrazelluläre Domäne sowie eine transmembrane und cytoplasmatische Domäne. [33, 44–46] RANKL kann posttranslational durch eine TNF- α -converting-enzyme(TACE)-like protease in kürzere (lösliche) Ektodomänen gespalten werden, die ebenfalls funktionell aktiv sind. [47]

Neben dem klassischen RANKL (RANKL 1) sind auch zwei Isoformen (RANKL 2 und RANKL 3) in der Maus beschrieben worden. Alle drei Varianten besitzen eine extrazelluläre Domäne; produziert werden sie durch alternatives splicing desselben Gens. RANKL 2 besteht aus 287 Aminosäuren und besitzt eine transmembrane Domäne; die intrazelluläre Domäne ist jedoch kürzer als bei RANKL 1 und es wird hauptsächlich innerhalb des endoplasmatischen Retikulums und dem Golgi-Apparat gefunden. Die kürzeste Isoform mit 199 Aminosäuren ist RANKL 3, es besitzt keine transmembrane Domäne und ist löslich. [48]

In aktivierten T-Lymphozyten wurde neben dem membrangebundenen RANKL auch das primär sezernierte RANKL nachgewiesen. [49]

Der Genlocus für das humane RANKL konnte auf dem Chromosom 13q14 entdeckt werden. Die Länge der RANKL-mRNA beträgt, bedingt durch unterschiedliche Polyadenylierungssignale, zwischen 2,2 kb und 2,4 kb. [44, 45] Es wurden Bindungsstellen für Glucocorticoide, Vitamin D₃ und cbfa1 (core binding factor α 1), einem osteoblasteren Transkriptionsfaktor, im RANKL Gen dokumentiert. [50] Tierexperimentell wurden in der Maus fünf Exone, die sich über 40 kb erstrecken, für das RANKL identifiziert. [46]

RANKL wird von vielen Zellen und Organen exprimiert v.a. in Knochen und Knochenmark wie mesenchymale Stammzellen, Stromazellen, Osteoklasten, Osteoblasten, Chondrozyten und Periostzellen. Es wird ebenfalls in lymphatischem Gewebe wie Lymphknoten, schwach in Milz, Herz, Gehirn, Plazenta, Skelettmuskel, Magen, Schilddrüse, Thymus, Lunge, Leukozyten, T-Lymphozyten, osteogenetische Sarkom Zelllinien und mikrovaskulären Endothelzellen gebildet. [20, 21, 33, 44, 51] Auch in verschiedenen Malignomen kann eine RANKL Expression nachgewiesen werden, dabei handelt es sich meist um Arten, die osteolytische Metastasen bilden. So wurde RANKL u. a. bereits im multiplen Myelom, Prostatakarzinomzellen, bei der adulten T-Zell-Leukämie und in verschiedenen Zelllinien des Hodgkinlymphoms gefunden. [22, 26, 52–54]

Die Expression und Produktion von RANKL wird durch verschiedenen Zytokine, Peptide, Hormone und Medikamente beeinflusst. Erhöht wird RANKL unter anderem durch Zytokine wie IL-11, IL-1 β , TNF α und Hormone bzw. Steroidhormone wie PTH, Vitamin D₃, PTHrP, Glucocorticoide sowie auch durch Prostaglandin E₂. [20, 29, 55] Zu einer Minimierung von RANKL kommt es durch TGF- β . [27]

Im Jahr 2000 wurde dann der Ausdruck RANKL vom *American Society for Bone and Mineral Research committee* festgelegt. [32]

1.3.1 RANKL und seine Wirkung

RANKL bindet spezifisch an RANK und aktiviert dieses dadurch. Dagegen kann auch OPG kompetitiv an RANKL binden und neutralisiert so dessen biologischen Effekte wie die Aktivierung von RANK. [20, 33] Im Knochenstoffwechsel spielt

RANKL eine wichtige Rolle im Zell-zu-Zell Kontakt von Osteoblasten/Stromazellen und Osteoklastenvorläuferzellen und vermittelt dabei die Osteoklastogenese. [20, 33] Es induziert die Entwicklung der Osteoklasten aus den Vorläuferzellen durch Proliferation, Fusion sowie Differenzierung und bewirkt bei reifen Osteoklasten eine Aktivierung, fördert das Überleben und hemmt die Apoptose. Für die Osteoklastogenese benötigt es aber die Gegenwart von CSF-1. [20, 33, 56]

Bei RANKL Knockout Mäusen ($RANKL^{-/-}$) zeigt sich schon bei der Geburt eine schwere Osteopetrose, besonders der langen Röhrenknochen, Wirbelkörper und Rippen; zusätzlich sind die langen Röhrenknochen verkürzt und keulenförmig ausgeprägt. Die Knochendichte des trabekulären Knochens ist signifikant erhöht und so sind die Markräume verkleinert. Dadurch kommt es zur extramedullären Hämatopoese in der Milz (Splenomegalie) und auch teilweise in der Leber. Histologisch zeigt sich ein komplettes Fehlen von Osteoklasten und deren Vorläuferzellen, da die Osteoblasten ohne RANKL die Osteoklastogenese nicht unterstützen. Es erfolgt daher auch kein Zahndurchbruch, da es durch die fehlenden Osteoklasten zu keinem Knochenremodeling kommt; dies führt auch zu einem retardiertem Wachstum gegenüber den gesunden Artgenossen. Trotz der Osteopetrose sind Kalzium, Phosphor und alkalische Phosphatase im Serum nicht verändert, es zeigte sich jedoch eine milde makrozytäre hyperchrome Anämie. [57]

Im Gegensatz dazu führt die Gabe von rekombinantem RANKL zu einem Knochenabbau (Osteoporose) und zu einer daraus resultierenden Hyperkalzämie. [33]

Überraschenderweise treten bei RANKL Knockout Mäusen auch andere Effekte auf. Festzustellen war eine erniedrigte Zelldichte sowie Größe des Thymus; dabei ist die Entwicklung von $CD25^+CD44^-$ in $CD25^-CD44^-$ blockiert. Es zeigt sich also, dass RANKL ein Schlüsselfaktor bei der frühen Thymusentwicklung und ebenso bei der Weiterentwicklung von B-Zell Vorstufen ist. [57]

Bei einer anatomischen Analyse zeigen diese Mäuse außerdem einen Defekt der Lymphknotenorganogenese; ihnen fehlen die mesenterischen, cervicalen, mandibulären, inguinalen, axillären, paraaortalen und poplitealen Lymphknoten. Histologisch fehlen auch jegliche Gewebesanlagen dafür. Jedoch sind normal geformte Peyer Plaques, wenn auch in geringerer Größe, gefunden worden. RANKL ist somit auch unerlässlich für die Entwicklung und Bildung der Lymphknoten. [57]

Auf aktivierten T-Zellen kann eine oberflächliche RANKL Expression beobachtet werden, außerdem sezernieren sie auch lösliches RANKL. Diese Zellen sind somit in der Lage mit beiden RANKL Varianten die Osteoklastogenese zu triggern. So führt systemische Aktivierung von T-Zellen zu einem durch RANKL vermittelten generalisierten Knochenabbau. Übereinstimmend dazu zeigen mutierte Mäuse mit spontan aktivierten T-Zellen eine schwere Osteoporose. [49] Aufgrund lokaler Aktivierung der T-Zellen, wie durch synoviale Entzündungen bei der Arthritis, kommt es zur lokalen Destruktion des Gelenks und zu einer Abnahme der Knochendichte. Gleichermaßen zeigen lokale Entzündungsreaktionen am Knochen wie Metastasen, Infektionen oder Frakturen den gleichen Effekt. Bei Arthritis kann die Aktivierung der Osteoklastogenese und die daraus folgende Knorpel-/Gelenksdestruktion durch Behandlungen mit OPG verhindert werden, jedoch wird die Entzündung selbst nicht beeinflussen. [49]

RANKL wirkt zudem als Überlebensfaktor der dendritischen Zellen durch Erhöhung der Bcl-X_L Expression und vergrößert außerdem deren Fähigkeit, naive T-Zell Proliferation zu stimulieren, und steigert die Anzahl der lebensfähigen T-Zellen. [44, 57]

1.4 Receptor activator of nuclear factor- κ B (RANK)

RANK wurde erstmals 1997 von *Anderson et al.* zusammen mit seinem spezifischen Liganden RANKL beschrieben. Benannt wurde es nach einem seiner intrazellulären Transkriptionsfaktoren, dem Nuclear factor- κ B (NF- κ B). Das RANK ist ein Typ I Transmembranprotein und gehört ebenso wie OPG zur TNFR Superfamilie. [44] *Nakagawa et al.* untersuchten 1998 den Osteoclast differentiation factor receptor (ODFR), den Osteoklasten besitzen und der durch RANKL aktiviert wird und so die Osteoklastogenese vermittelt. Nach einer Analyse wurde ODFR als das bereits bekannte RANK identifiziert. [58] Eine weitere Arbeitsgruppe verwendete den Begriff Osteoclast differentiation and activation receptor (ODAR). [59]

Das RANK Protein ist membrangebunden, besteht aus 616 Aminosäuren und besitzt eine cysteinreiche N-terminale extrazelluläre Liganden-bindende Domäne mit 184 Aminosäuren. Diese zeichnet es als Mitglied der TNFR Familie aus und hat große Ähnlichkeit zu CD40. Zudem besitzt es ein Signalpeptid mit 29 Aminosäuren, eine Transmembranregion mit 21 Aminosäuren und eine lange C-terminale cytoplasmatische Domäne mit 383 Aminosäuren, die zur Signaltransduktion nötig ist. [44, 60]

Das RANK Gen ist auf Chromosom 18q22.1 zu finden. Die Hauptform der RANK mRNA ist 4,5 kb lang; daneben existieren aber auch Varianten mit 3,0 kb, 3,5 kb, und 5,5 kb, die durch alternative Polyadenylierungssignale entstehen. [44, 58]

Obwohl in vielen Geweben RANK mRNA zu finden ist, lässt sich nicht überall ein RANK Protein nachweisen; es wird daher angenommen, dass die oberflächliche RANK Expression posttranskriptional reguliert wird. Die stärkste Expression ist im Knochengewebe und im lymphatischen System zu finden, jedoch kommt die Expression von RANK ubiquitär vor. Das Protein ist überwiegend auf reifen Osteoklasten und Osteoklastenvorläuferzellen, dendritischen Zellen, B-Zellen, T-Zellen und Fibroblasten zu finden. Die RANK mRNA ist dagegen auch im Skelettmuskel, Thymus, Leber, Colon, Dünndarm, Nebenniere, Milz, Lunge, Gehirn, Chondrozyten sowie in der Niere nachweisbar. [44, 58, 59, 61] Ansonsten konnte RANK auch

auf glatten Muskelzellen der Aorta (human aortic smooth muscle cell = HASMC), Endothelzellen und einigen Epithelgeweben dokumentiert werden. [62–64] Zudem wurde RANK auch in verschiedenen Karzinomzellen entdeckt, u. a. bei Hodgkin- und Sternberg-Reed-Zellen, Osteosarkom-, Prostatakarzinom- und Mammakarzinomzellen sowie in Melanomzelllinien der Maus. [24, 26, 64, 65]

Mittlerweile wird RANK genauso wie TRAP, Cathepsin K, β_3 -Integrin, Kalzitoninrezeptor und c-fms (Rezeptor für M-CSF) als Marker zur Identifizierung von Osteoklasten eingesetzt. [49, 66]

RANK spielt auch bei Erkrankungen des Knochenstoffwechsels eine wichtige Rolle. So wurde etwa bei hereditären Osteopathien, wie der familiären expansilen Osteolyse und Osteodystrophia deformans (Paget-Krankheit, familial Paget disease of bone = PDB), zwei Insertionsmutationen im Exon 1 festgestellt, wodurch es zu einer erhöhten konstitutiven Signaltransduktion kommt. [67] Zudem wurden auch zwei Polymorphismen, RANK+34863G>A und RANK+35928insdelC, in den Introns des RANK Gens gefunden, die mit einer verminderten Knochendichte der Lendenwirbelsäule und des Femurs bei postmenopausalen Frauen einhergehen können und daher als mögliche genetische Faktoren bei geringerer Knochendichte angenommen werden. [68]

Die Expression von RANK wird durch M-CSF, IL-3 und GM-CSF induziert, wobei M-CSF den größten Effekt erreicht. [66] Der VEGF, IL-4 und TGF- β können die Expression von RANK ebenfalls induzieren. [44, 63]

Das *American Society for Bone and Mineral Research committee* legte im Jahr 2000 die Bezeichnung RANK fest, da anfänglich mehrere Begriffe für RANK (ODFR, ODAR) verwendet wurden. [32]

1.4.1 RANK und seine Wirkung

RANK wird durch die Bindung von RANKL aktiviert und ist dann in der Lage die Osteoklastogenese zu initiieren. [58, 59]

Bei RANK Knockout Mäusen ($RANK^{-/-}$) ist eine schwere Osteopetrose zu beobachten, ähnlich dem Erscheinungsbild von $RANKL^{-/-}$ Mäusen. Betroffen sind ebenfalls besonders die langen Röhrenknochen, wobei diese verkürzt sind und eine erhöhte Knochendichte des trabekulären Knochens aufweisen; ferner erfolgt bei $RANK^{-/-}$ Mäusen genauso wie bei $RANKL^{-/-}$ Mäusen kein Zahndurchbruch. Osteoklasten bzw. Osteoklastenvorläuferzellen können weder histologisch noch durch TRAP-Färbung nachgewiesen werden. [69, 70] Im Serum der Mäuse kann eine Hypokalzämie, Hypophosphatämie sowie ein sekundärer Hyperparathyreoidismus mit erhöhten PTH Werten, als eine physiologische Antwort auf die Hypokalzämie, gemessen werden. [69]

RANK spielt auch in anderen Bereichen eine Rolle, so zeigen $RANK^{-/-}$ Mäuse eine Beeinflussung der B-Zell-Entwicklung; dies äußert sich in einer Reduktion der reifen B-Zellen. Eine extramedulläre Hämatopoese in der Milz und eine regenerative Anämie sind ebenfalls beobachtet worden. Außerdem zeigt sich ein Defekt in der Lymphorganogenese; ihnen fehlen jegliche Lymphknoten. Es sind jedoch normal geformte und verkleinerte Peyer Plaques gefunden worden, ähnlich wie bei $RANKL^{-/-}$ Mäusen. [70]

Bei transgenetischen Mäusen, die die lösliche extrazelluläre Domäne von RANK (RANK-Fc) produzieren, ist eine schwere Osteopetrose festzustellen. Diese ähnelt dem Phänotypus von transgenetischen OPG Mäusen; sie zeigen nämlich ebenfalls eine erhöhte Knochendichte, normale Größe, normaler Zahndurchbruch, verkleinerte Markräume und eine kompensatorische Splenomegalie aufgrund der extramedullären Hämatopoese. Das lösliche RANK bindet an RANKL und blockiert damit seine Bindung zum membranständigen RANK der Osteoklasten. Das führt zu einer verminderten Stimulation der Osteoklastogenese bzw. Osteoklastendifferenzierung und -aktivierung und in weiterer Folge zur Reduktion und Verkleinerung der Osteoklasten. Auch nach s.c. Injektionen von löslichem rekombinantem RANK konnte bei den Mäusen eine Zunahme der Knochendichte beobachtet werden. [59]

Es ist allerdings auch möglich eine Osteoklastogenese zu initiieren; dies erreichten *Nakagawa et al.* in vitro bei Milzzellen mittels Zugabe von polyklonalen Anti-

körpern gegen die extrazelluläre Domäne von RANK. Es wird hierbei jedoch die Gegenwart von M-CSF benötigt. [58]

Li et al. gelang es im Jahr 2000 mit Hilfe eines rekombinanten Retrovirus, der die RANK cDNA trägt, RANK in die Milzzellen von RANK^{-/-} Mäusen einzuschleusen. Nach Reimplantation der Zellen konnte eine Knochenresorption durch Osteoklasten, mit einer signifikanten Reduktion der trabekulären Knochendichte, in den Tieren nachgewiesen werden. Zudem konnte diese Arbeitsgruppe die Annahme, dass RANK der einzige Osteoklastenrezeptor für RANKL ist, bestätigen; indem nach Gabe von rekombinantem RANKL bei RANK Knockout Mäusen keine Osteoklasten sowie keine Änderungen des Kalziumlevels nachgewiesen werden konnten. [69]

1.5 Das OPG/RANKL/RANK System

Das Zytokinsystem besteht aus Receptor activator of nuclear factor- κ B Ligand (RANKL), dem dazugehörigen Receptor Receptor activator of nuclear factor- κ B (RANK) und dem löslichen Rezeptorantagonisten Osteoprotegerin (OPG). [11, 12, 20, 44, 49]

Durch die spezifische Bindung von RANKL an seinen Rezeptor RANK kommt es zu dessen Aktivierung und eine Vielzahl von biologischen Prozessen wird somit in Gang gesetzt. [20, 33] Die RANKL/RANK Verbindung spielt u. a. im Knochenstoffwechsel eine wichtige Rolle; sie vermittelt die Osteoklastogenese, aktiviert reife Osteoklasten und fördert deren Überleben. [20, 33] Daneben ist RANKL auch essentiell für die frühe Thymusentwicklung, Weiterentwicklung von B-Zell Vorstufen, Lymphknotenorganogenese und gilt als Überlebensfaktor für dendritische Zellen. [44, 57]

Bei der Aktivierung von RANK kommt es mittels der Osteoklastogenese zu einer Initiierung des Knochenumbaus. Ist die Knochenresorption durch eine vermehrte Aktivität der RANKL/RANK Achse gesteigert, resultiert dies in einer Abnahme der Knochendichte und im weiteren in einer Osteoporose. So führt z. B. eine parenterale Applikation von RANKL zu einer schweren Osteoporose, wohingegen es beim Fehlen von RANKL zu einer Osteopetrose sowie zum Auftreten von unterschiedlichen immunologischen Defekten kommt. [33, 49]

Wird RANKL jedoch von seinem Fangrezeptor OPG mittels kompetitiver Bindung abgefangen, kommt es zur Neutralisierung sämtlicher biologischer Wirkung; den selben Effekt hat OPG auch auf TRAIL. [20, 33, 34] So blockiert OPG die Osteoklastogenese, inhibiert die Proliferation, Differenzierung und Überleben der Osteoklasten und fördert daneben deren Apoptose. [14, 20, 29, 33] Dadurch kommt es zu einer Abnahme der Knochenresorption. Wird die Resorption durch OPG übermäßig gedrosselt, sammelt sich Knochenmaterial an; daraus resultiert eine Zunahme der Knochendichte und in weiterer Folge entsteht eine Osteopetrose. [11, 35] Dementsprechend führt die parenterale Applikation von OPG zu einer Osteo-

petrose, während sich beim Fehlen von OPG eine Osteoporose entwickelt. [11, 36, 37]

OPG hat jedoch auch einen Effekt auf die Blutgefäße, so weisen OPG^{-/-} Mäuse Verkalkungen in der Aorta und den Nierenarterien auf. [36, 37] Zum einen wurde bei einigen Studien von einem protektiven Effekt von OPG auf Blutgefäße ausgegangen, [35, 71–73] zum anderen wurde OPG auch als Risikofaktor für die Gefäßverkalkung diskutiert. [74]

So zeigt sich, dass dieses Zytokinsystem bei einer Vielzahl von biologischen Prozessen beteiligt ist wie der Knochenzellbiologie, Knochenhomöostase, Regulation von Immunfunktionen und Regulation von vaskulären Verkalkungen. [13, 21, 44, 45, 49, 59, 69, 75]

1.6 OPG/RANKL und das kardiovaskuläre System

1.6.1 OPG in Tierstudien

Der potentielle Einfluss des OPG/RANKL/RANK Systems auf das vaskuläre System wurde bereits bei OPG Knockout Mäusen von *Bucay et al.* erkannt. Diese Mäuse zeigen im Vergleich zu ihren gesunden Artgenossen massive Kalzifikationen in den großen Arterien (Aorta, Nierenarterien) und eine erhöhte Inzidenz für Aneurysmen; jedoch wiesen sie keine atherosklerotischen Plaques auf (siehe Kapitel 1.2.1 Osteoprotegerin und seine Wirkung). [36] Da bei normalen Mäusen in den Muskelzellen der Media großen Arterien eine endogene OPG Expression festgestellt wurde [11], führte dies zur Schlussfolgerung, dass OPG zusätzlich zur Funktion in der Knochenhomöostase auch eine wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung der normalen Strukturen in den großen Arterien spielen könnte. [36]

Eine Verknüpfung zwischen Osteoporose und Atherosklerose wurde schon länger diskutiert, da diese zwei Erkrankungen häufig miteinander assoziiert auftreten. [36, 76] Möglicherweise tritt eine Verlagerung des Kalziums vom Skelett in die Arterienwand auf. [76] Demzufolge könnte OPG dabei das potentielle Bindeglied zwischen diesen beiden Erkrankungen sein, da sich bei dessen Mangel in Mäusen sowohl Osteoporose als auch Atherosklerose manifestieren. [36, 76]

Es liegt also nahe, dass das OPG/RANKL/RANK System als Regulator im Knochenremodeling und in der vaskulären Physiologie fungiert und somit die Ratio von OPG und RANKL unter Umständen ein Indikator für die Krankheitsaktivität in diesen beiden Systemen ist. [76]

Um die Zusammenhänge des OPG besser zu verstehen unternahmen *Min et al.* Versuche mit OPG^{-/-} Mäusen und transgenetischen OPG Mäusen, die OPG überexprimierten. Sie zeigten, dass mit intravenösen Injektionen von rekombinantem OPG sowie bei transgenetischer Überexpression von OPG in OPG^{-/-} Mäusen eine Verbesserung der Osteoporose mit Abnahme der Osteoklastenzahl und folglich eine Zunahme der Knochendichte erreicht werden kann. Dies zeigt, dass systemisches OPG, gleich ob durch Injektion oder endogen produziert, die onset Osteo-

porose positiv beeinflussen kann. Rekombinantes OPG, vier Wochen alten Mäusen verabreicht, kann die bereits vorhandenen arteriellen Kalzifikationen weder aufheben noch verkleinern. Im Gegensatz dazu ist die Bildung von arteriellen Kalzifikationen in OPG^{-/-} Mäusen durch transgenetisches OPG verhindert worden. Eine protektive Rolle in den großen Arterien hat OPG allerdings nur, wenn es von Anfang an systemisch vorhanden ist; spätere OPG Applikation kann den Kalzifizierungsprozess nicht umkehren. Somit hat zirkulierendes OPG offenbar zwar einen protektiven Effekt, ist jedoch nicht in der Lage bereits vorhandene Kalzifikationen abzubauen. [35]

Price et al. untersuchten 2001 die Hypothese, dass eine gesteigerte arterielle Kalzifikation mit einer gesteigerten Knochenresorption assoziiert ist und eine selektive Hemmung der Knochenresorption durch OPG gleichzeitig die arterielle Kalzifikation hemmen kann. Dazu wurde bei Mäusen eine Mediakalzifikation induziert; in einer Gruppe durch die Gabe von Warfarin, in der anderen Gruppe durch die hochdosierte Gabe von Vitamin D. Einem Teil dieser Mäuse wurde gleichzeitig täglich eine Dosis OPG s.c. verabreicht, zudem gab es noch eine Kontrollgruppe. Bei den Mäusen mit der zusätzlichen OPG Dosis zeigt sich eine signifikante Reduktion der Verkalkungen der Arterien und anderer Organe (Trachea, Lunge, Nieren). Im Vergleich zur reinen Warfarin Gruppe kam es dabei zu einer 90%igen Reduktion der Kalzium- und Phosphatwerte im Aortagewebe, jedoch bleiben die Werte über denen der gesunden Kontrollgruppe. In der Vitamin D Gruppe sanken die Kalzium- und Phosphatwerte in den Geweben teilweise sogar bis auf das Level der Kontrollgruppe. Im Serum der Vitamin D bzw. Vitamin D/OPG Gruppe kam es zu erhöhten Kalziumwerten (+37 %) bei normalen Phosphatwerten, während in der Warfarin, Warfarin/OPG und Kontrollgruppe die Werte normal waren. [71]

Da daraufhin angenommen wurde, dass OPG die Kalzifikation bei Atherosklerose hemmen kann und dass das Serum OPG Level das Risiko der Atherosklerose nicht erhöht, führten *Morony et al.* einen Versuch mit atherosklerotischen Mäusen (Ildlr^{-/-} Mäuse mit atherogener Diät) durch. Es ist bei den Mäusen unter der atherogenen Diät eine signifikante Zunahme des Plasma OPG und im Gegensatz dazu eine Abnahme des Plasma RANKL festgestellt worden. Dabei zeigt sich bei den mit rekombinanten OPG behandelten Mäusen eine Reduzierung der vaskulären

Verkalkungen, jedoch keine Veränderung der atherosklerotischen Läsionen in Größe oder Zahl. Dieses Resultat führte zur Annahme, dass OPG als Inhibitor von vaskulären Kalzifikationen auftritt und eine kompensatorische Antwort zur Atherosklerose ist. [72]

Um die Rolle von OPG bei der Kalzifikation von atherosklerotischen Läsionen besser zu verstehen, verglichen *Bennett et al.* OPG^{-/-}.apoE^{-/-} und OPG^{+/+}.apoE^{-/-} Mäuse. Dabei entwickeln apoE^{-/-} Mäuse kalzifizierte Läsionen in den Arterien, die hauptsächlich in der Intima lokalisiert sind. Bei OPG^{-/-}.apoE^{-/-} Mäuse führt das Fehlen des OPG zu schnelleren, größeren und ausgeprägteren kalzifizierten Läsionen in der Intima sowie Media. In der Aorta dieser Mäuse ist im Vergleich zur Kontrollgruppe eine höhere Menge eingelagertes Kalzium gefunden worden. OPG wirkt auch als Überlebensfaktor für aortale SMC (smooth muscle cells), indem es deren Zelltod hemmen kann. Interessanterweise sind die Plasma RANKL Werte in den OPG^{-/-}.apoE^{-/-} Mäusen 4-fach höher als in der OPG^{+/+}.apoE^{-/-} Kontrollgruppe. Diese Ergebnisse zeigen, dass OPG eine protektive Funktion in der Progression und Kalzifikation von fortgeschrittenen atherosklerotischen Läsionen bei apoE^{-/-} Mäusen hat. [73]

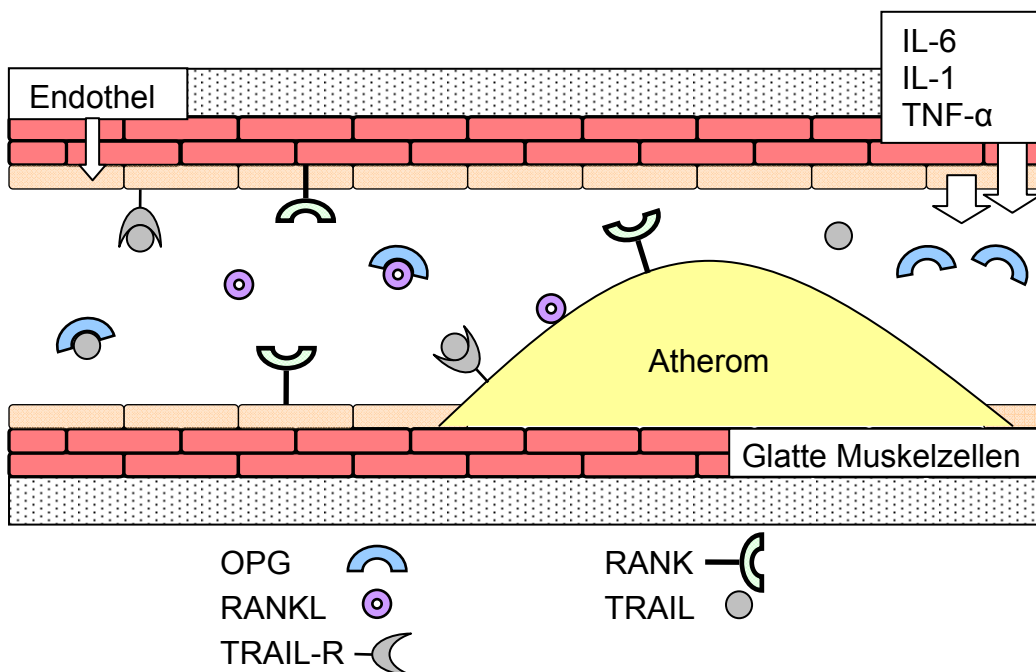


Abbildung 1.6.1: OPG Ausschüttung bei der Atherosklerose

OPG wird durch Stimulation vom Endothel und der glatten Muskulatur ausgeschüttet. Es bindet an RANKL sowie TRAIL und verhindert so die Bindung an deren Rezeptor RANK bzw. TRAIL-R. (Gezeichnet nach einer Vorlage von Crisafulli et al. [77])

Somit zeigt sich, dass das OPG/RANKL/RANK System nicht nur bei der Osteoklastogenese eine wichtige Stellung hat, sondern auch bei der Entstehung der Atherosklerose eine bedeutsame Rolle einnimmt (Abbildung 1.6.1).

1.6.2 OPG in Humanstudien

OPG wurde auch in Zusammenhang mit den klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren und der koronaren Herzerkrankung untersucht. Ein direkter Bezug zwischen erhöhtem Serum OPG und dem Schweregrad der KHK konnte dabei nachgewiesen werden. Je ausgeprägter dabei die KHK war (Ein-, Zwei- oder Dreifäßerkrankung), desto höher waren auch die gemessenen Serum OPG Werte. [42, 78, 79] Daneben zeigen sich höhere Serum OPG Werten im fortschreitenden Alter und bei Patienten mit Diabetes mellitus. Keine Verbindung konnte dahingegen zwischen Serum OPG und anderen kardiovaskulären Risikofaktoren wie BMI, Taillenumfang, systolischem oder diastolischem Blutdruck, Gesamtcholesterin, LDL Cholesterin sowie IGF-1 festgestellt werden. [78–80]

Zudem zeigt sich auch eine positive Verbindung mit HDL Cholesterin und Adiponectin Werten. Eine negative Korrelation besteht bei OPG mit Triglyzerid Werten, freiem Androgen und Nüchtern glukose. [80] Auch *Schoppet et al.* berichteten von einer negativen Korrelation zu Triglyzerid. [79]

Eine positive Verbindung zur linksventrikulären Muskelmasse wurde ebenfalls beschrieben, die jedoch nach Anpassung des Alters nicht mehr so ausgeprägt war. Ferner korreliert das Serum CRP, auch nach der Altersanpassung, signifikant positiv mit dem Serum OPG. Dies könnte auf eine mögliche Beteiligung von OPG bei atherosklerotisch-entzündlichen Prozessen hinweisen. Zwischen OPG Werten und Aortenkalzifikation konnte dahingegen keine relevante Verbindung festgestellt werden. [42]

Bereits 1999 beschrieben *Yano et al.* eine mit dem Alter ansteigende Serum OPG Konzentration bei beiden Geschlechtern. Zusätzlich beobachteten sie, dass postmenopausale Frauen mit Osteoporose höhere Werte hatten als die altersgleiche Kontrollgruppe. Zudem waren innerhalb der Osteoporose Gruppe die Serum

OPG Werte umso höher, je niedriger die Knochendichte war. Dies legt den Schluss nahe, dass ein erhöhtes Serum OPG eine kompensatorische Antwort auf den erhöhten Knochenabbau und den daraus resultierenden Verlust der Knochenmasse ist und so den erhöhten Knochenumbau widerspiegelt. [39]

Khosla et al. konnten 2001 einen Zusammenhang von OPG Werten und zunehmendem Alter sowie Sexualhormonen feststellen. Dabei hatten premenopausale Frauen unter 50 Jahren, verglichen mit gleichaltrigen Männern, durchgehend höhere Serum OPG Werte. Bei Männern unter dem 50. Lebensjahr konnte eine indirekte Verbindung zu freiem Testosteron nachgewiesen werden, jedoch zeigt sich kein Zusammenhang zwischen Serum OPG Werten und Östrogen- oder Testosteronwerten bei Frauen der gleichen Altersgruppe. In der Männergruppe wurde auch eine positive Verbindung des OPG Levels zu den Markern des Knochenabbaus und eine umgekehrte Assoziation zur Knochendichte festgestellt. Generell stiegen die Werte ab dem 50. Lebensjahr und die Ergebnisse beider Geschlechter glichen sich einander an, sodass kein spezifischer Unterschied in den Werten gefunden wurde. [40] Insgesamt konnte in dieser Studie, genauso wie bei *Yano et al.*, eine altersbezogene Zunahme des Serum OPG bei Männern sowie Frauen bewiesen werden. [39, 40] Daneben wurde die Vermutung aufgestellt, dass Steroidhormone die OPG Expression beeinflussen können. [40]

Szulc et al. berichteten von einer schwach positiven Assoziation zwischen OPG, freiem Testosteron und freiem Östrogen Index bei Männern. [41] Die unterschiedlichen Ergebnisse dieser zwei Studien könnten auf die Verwendung von verschiedenen OPG Assays zurückzuführen sein. [40] Übereinstimmend zeigt sich in allen vier Studien von *Yano*, *Khosla*, *Szulc* und *Rhee* die Zunahme der OPG Konzentration im Alter. [39–42]

In der Studie von *Kiechl et al.* wurde eine starke Assoziation von Serum OPG mit einer Vielzahl vaskulärer Risikofaktoren wie Alter, Diabetes, systemische Entzündungsmarker, chronische Infektion und Rauchen festgestellt. In der Analyse war Osteoprotegerin signifikant mit der Schwere und der 10-Jahres Progression der Karotisatherosklerose verbunden. Darüber hinaus wurden hohe Werte des OPG

als unabhängiger Risikofaktor für die Progression der Atherosklerose, folgender Herz-Kreislauf-Erkrankung und vaskuläre Mortalität identifiziert. [74]

Im Jahr 2005 untersuchten *Crisafulli et al.* die OPG und RANKL Werte von akuten Myokardinfarktpatienten, asymptomatischer bekannter KHK und einer Kontrollgruppe. Dabei maßen sie bereits eine Stunde nach dem Infarktgeschehen erhöhte OPG Werte. Diese Werte fielen in den nächsten ein bis vier Wochen auf ein Basisniveau ab, welches aber immer noch höher war, als die OPG Werte der KHK Gruppe. So waren die OPG Werte der Infarktgruppe durchwegs höher, als die der KHK Gruppe und die Werte der KHK Gruppe waren durchschnittlich höher, als die der Kontrollgruppe. Bei den RANKL Werten verhielt sich das Ganze spiegelbildlich. Die KHK Gruppe hatte niedrigere Werte als die Kontrollgruppe und die Infarktgruppe hatte niedrigere Werte als die KHK Gruppe. Sie stellten daraufhin die Hypothese auf, dass die erhöhten OPG Basiswerte der Myokardinfarktpatienten von Rupturen oder Einrissen der Plaques her resultieren könnten. [77]

Ausgehend von der bisher angenommenen protektiven Rolle eines höheren Serum OPG Spiegels, zeigen humane Studien bislang widersprüchliche Einflüsse. Eine Auflistung und Kurzbeschreibung zu einigen Studien, die sich mit dieser Thematik befassen, ist der Tabelle 1.6.1 zu entnehmen.

| Autor, Jahr | Pat. zahl | Studien- design | Kohorten Charakteristik | Wichtigste Messgröße | Ergebnis |
|---------------------|-----------|-----------------|-------------------------|-----------------------------------|--|
| Kiechl, 2004 [74] | 915 | Prospektiv | Gesamtbevölkerung | Vorkommen einer KHK | OPG ist ein unabhängiger Risikofaktor für die Progression der Atherosklerose, folgender Herzkreislauferkrankung und vaskuläre Mortalität |
| Clancy, 2006 [81] | 109 | Prospektiv | PAVK | Kalzifizierung der A. abdominalis | Signifikanz zwischen OPG Spiegel und Verkalkung |
| Gogo, 2006 [82] | 100 | Prospektiv | PTCA | OPG vor und 24 h nach der PTCA | OPG Spiegel sind nicht mit angiographischen Verkalkungen der Plaques assoziiert |
| Sandberg, 2006 [83] | 100 | Querschnitt | AP-Symptomatik | Stabile vs. instabile AP | OPG bei instabiler erhöht, aber nicht bei stabiler AP |

| Autor, Jahr | Pat. zahl | Studien- design | Kohorten Charakteristik | Wichtigste Messgröße | Ergebnis |
|------------------------|-----------|-----------------|-------------------------|---|--|
| Shin, 2006 [84] | 104 | Quer- schnitt | NIDDM | Endothelzellen Funktion bei flow mediated arterial dilation | Signifikante Assoziation von OPG mit endothelialer Dysfunktion gemessen durch erniedrigte flow mediated arterial dilation |
| Rasmus- sen, 2006 [85] | 291 | Quer- schnitt | IDDM | KHK | Signifikante Assoziation von OPG, Herz-Kreislauf-erkrankung, schlechter Nierenfunktion, systolischer Blutdruck, Nephropathie und glykämischer Status |
| Xiang, 2006 [86] | 50 | Prospektiv | NIDDM, IDDM | Endothelzellen Funktion bei flow mediated artery dilation | 6 Monate nach Insulintherapie sinkt der OPG Spiegel signifikant |
| Anand, 2006 [87] | 510 | Prospektiv | NIDDM | Verbindung von Plasma OPG, Entzündungsbio- markern, IL-6, koronarer Kalzifikation und kardio- vaskulärer Events | OPG konnte eine subklinische Erkrankung und kardiovaskuläre Events vorhersagen, dahingegen zeigten Entzündungsmarkern oder IL-6 keine Verbindung zur Erkrankung oder Events. |
| Avignon, 2007 [88] | 465 | Quer- schnitt | NIDDM, IDDM | Stumme myokardiale Ischämie bei Stressechokardiographie | Kein Zusammenhang zwischen OPG und stumme Myokardischämie bei asymptomatischen Diabetikern |
| Xiang, 2007 [89] | 86 | Prospektiv | NIDDM, IDDM | Endotheliale Funktion gemessen mit flow mediated arterial dilation vor und nach Insulinbehandlung | 6 Monate nach Insulintherapie war die flow mediated arterial dilation signifikant erhöht, wobei Serum OPG signifikant erniedrigt war |

| Autor, Jahr | Pat. zahl | Studien- design | Kohorten Charakteristik | Wichtigste Messgröße | Ergebnis |
|---------------------|-----------|-----------------|--------------------------|---|--|
| Anand, 2007 [90] | 398 | Prospektiv | NIDDM | Kardiovaskuläre Risikofaktoren, ausgewählte Biomarker, OPG und Progression einer koronaren Kalzifizierung | OPG Messungen verbunden mit koronarer Verkalkung ähnlich zur Vergleichskontrolle |
| Asanuma, 2007 [91] | 244 | Querschnitt | Rheumatische Arthritis | Koronargefäßverkalkung | Keine signifikante Assoziation zwischen OPG und Koronararterienverkalkung |
| Abedin, 2007 [92] | 3386 | Querschnitt | Unselektierte Population | Koronararterienkalzifikation und Aortenplaque | Unabhängige Assoziation von OPG mit Koronararterienkalzifikation und Aortenplaque |
| Helske, 2007 [93] | 131 | Querschnitt | Aortenstenose | Herzversagen | Unabhängige Assoziation von OPG mit Herzversagen |
| Omland, 2007 [94] | 2715 | Querschnitt | Gesamtbevölkerung | Linksventrikuläre Struktur und systolische Funktion | Unabhängige Assoziation von OPG mit verminderter linksventrikulärer Funktion (M + W) und linksventrikulärer Hypertrophie (M) |
| Kiechl, 2007 [95] | 909 | Prospektiv | Gesamtbevölkerung | KHK und Carotisplaquebildung im follow-up | RANKL spielt eine wichtige Rolle bei der Plaqueruptur und Instabilität |
| Omland, 2008 [96] | 897 | Prospektiv | ACS | Mortalität, Myokardinfarkt, Herzinsuffizienz und Schlaganfall | OPG ist ein starker Prädiktor der langfristigen Mortalität und Entwicklung von Herzversagen |
| Kadoglou, 2008 [97] | 164 | Querschnitt | Carotisstenose > 50 % | Carotisplaque Vulnerabilität gemessen mit Ultraschalltechnik | OPG ist unabhängig mit Carotisplaque Vulnerabilität assoziiert |
| Siepi, 2008 [98] | 195 | Querschnitt | Postmenopausale Frauen | flow mediated arterial dilation und Dicke der Carotisintima und -media | Signifikante Assoziation von OPG und Carotisintima und -media Dicke und verminderter flow mediated arterial dilation |

| Autor, Jahr | Pat. zahl | Studien- design | Kohorten Charakteristik | Wichtigste Messgröße | Ergebnis |
|------------------------|-----------|-----------------|-------------------------|---|--|
| Golledge, 2008 [99] | 60 | Quer- schnitt | PAVK | Endotheliale Funktion mit flow mediated arterial dilatation gemessen | Signifikante Assoziation von OPG und verminderter flow mediated arterial dilatation |
| Semb, 2009 [100] | 25663 | Quer- schnitt | Normale Population | Vorkommen einer KHK | OPG assoziiert mit Risiko zukünftiger KHK in offenbar gesunden Männern und Frauen, unabhängig vom bekannten kardiovaskulärem Risiko |
| Lieb, 2010 [101] | 3250 | Prospektiv | Normale Population | Vaskuläres Remodeling und kardiovaskuläre Erkrankung | OPG ist ein Marker für die Entwicklung einer kardiovaskulären Erkrankung, sowie ein Prädiktor für kardiovaskuläre Erkrankung und Mortalität. |
| O'Sullivan, 2010 [102] | 120 | Prospektiv | NIDDM | Glucose, HbA1c, OPG, RANKL, TRAIL, Lipidprofil, Elektrolyte, Kalzium, IL-6, BMD | Höheres OPG in Probanden ohne vaskuläre Erkrankung weist darauf hin, dass diese Biomarker getrennte pathophysiologische Prozesse in den Gefäßen widerspiegeln. |

Tabelle 1.6.1: Studien zum Thema OPG

2 Material und Methoden

2.1 Patientenkollektiv

Die vorliegende Diplomarbeit ist ein Zwischenbericht der Studie; in der fertigen Studie sollen sich 75 Patienten pro Gruppe befinden. Die folgenden Patientenzahlen gelten daher nur für die Diplomarbeit.

Diese prospektive Kohortenstudie umfasste 131 männliche Patienten, die sich in die operationswürdige KHK Gruppe mit 65 Patienten und die herzgesunde Kontrollgruppe mit 66 Patienten unterteilten. Zusätzlich wurden beide Gruppen dem Alter entsprechend ihrer Lebensdekade von 40 bis 90 Jahre in fünf Gruppen unterteilt. Die Daten der Patienten wurden zwischen Juli 2010 und Februar 2012 in der Zeit des stationären Aufenthaltes erhoben. Die Auswahl erfolgte anhand der Einschluss- bzw. Ausschlusskriterien.

2.1.1 Ein- und Ausschlusskriterien

Im Rahmen dieser Studie wurden nur männliche Patienten ab dem 40. Lebensjahr eingeschlossen, da der Knochenstoffwechsel mit dem 40. Lebensjahr abgeschlossen ist, Männer geringeren hormonellen Schwankungen unterliegen und der Zusammenhang von KHK und Knochenstoffwechsel unter Berücksichtigung des OPG Spiegels untersucht werden sollte.

Einschlusskriterien

- ✓ KHK Gruppe: Männliche Patienten mit einer manifesten symptomatischen KHK, für die eine operative Sanierung geplant ist.
- ✓ Kontrollgruppe: Altersgleiche männliche Patienten ohne Vorliegen einer koronaren Herzerkrankung, bei denen ein elektiver plastischer oder allgemeinchirurgische Eingriff durchgeführt wird.
- ✓ Mündige Patienten ab dem 40. Lebensjahr

Ausschlusskriterien

- ✓ Das gleichzeitige Vorliegen einer zweiten operationswürdigen Herzerkrankung.
- ✓ Patienten mit einer chronischen Niereninsuffizienz mit einer glomerulären Filtrationsrate < 30.
- ✓ Patienten mit Karzinomanamnese innerhalb der letzten fünf Jahre.
- ✓ Unmündige Patienten
- ✓ Patienten mit osteoprotektiver Therapie (Bisphosphonate).

2.2 Ziele der Studie

Das Ziel der Studie war es die Rolle von Serum OPG und RANKL als spezifischen Marker für die Diagnose und den Verlauf für die manifeste und bereits operationswürdige KHK zu untersuchen.

Primäre Studienziele

1. Die Bestimmung von OPG und RANKL, sowie Osteokalzin und Tartratresistente saure Phosphatase (TRAP5b) im Serum bei Patienten mit einer manifesten KHK, sowie als Vergleich dazu die Werte in einem herzgesunden Patientennormalkollektiv. Ebenfalls erfolgte eine Bestimmung der mRNA Expression von OPG, RANKL, TRAP5b und Osteokalzin im Knochen (Sternumspan) und in der Gefäßwand (Aorta, Vena saphena magna). Ferner sind die angeführten Marker im Serum mit den Expressionswerten in dem Gefäß und Knochen in Korrelation zu setzen.
2. Determination potentieller Unterschiede der einzelnen Marker im Serum, Knochen oder Gefäß im Vergleich zur herzgesunden Kontrollgruppe.

Sekundäre Studienziele

1. Erfassen potentieller Zusammenhänge zwischen Osteoporose und KHK.
2. Detektieren des sensitivsten Serummarkers für die Diagnose der KHK mit nachfolgender Infarktprophylaxe.
3. Erkennen einer bestehenden Osteoporose und Einleiten einer adäquaten Therapie durch Frakturprävention.

Nullhypothese

Als Nullhypothese wurde angenommen, dass Patienten mit einer KHK im Vergleich zum Normalkollektiv deutlich höhere OPG Werte haben.

Alternativhypothese

1. Der Serum OPG Spiegel ist bei Patienten mit KHK höher als bei Patienten ohne KHK.

2. Der Serum OPG Spiegel ist bei Patienten mit KHK niedriger als bei Patienten ohne KHK.

In der Studie wurde primär eine explorative Analyse der OPG, RANKL, Osteokalzin und TRAP Konzentration in den verschiedenen Geweben durchgeführt.

2.2.1 Probengewinnung

Von den Patienten wurde nach ausführlicher Information über den Zweck und Inhalt der Studie präoperativ eine schriftliche Einwilligung eingeholt. Das Blut zur Bestimmung der Werte wurde aus der bereits liegenden Leitung mittels zweier 6 ml Serumröhrchens entnommen, wobei ein Röhrchen eingefroren wurde.

Folgende Werte wurden aus dem Serum bestimmt:

- ✓ OPG
- ✓ RANKL
- ✓ Osteokalzin
- ✓ TRAP
- ✓ 25(OH)VitD
- ✓ 1,25 Vit D₃
- ✓ PTH
- ✓ Cholesterol
- ✓ LDL
- ✓ HDL
- ✓ Triglyzerid

Intraoperativ wurde, nach der routinemäßig durchgeführten Sternotomie, die Sternumdicke mittels einem sterilen Lineal gemessen; ebenfalls wurde ein 1 mm dicker und 5 mm langer Knochenspan des Sternums zur Bestimmung der quantitativen mRNA Expression von OPG, RANKL, Osteokalzin und TRAP5b entnommen. Die intraoperativ gewonnenen Aortenstücke, die routinemäßig nach der Ausstanzung als Vorbereitung der zentralen Anastomosen verworfen werden, und das optionale Stück der Vena saphena magna wurden in ein steriles Versandgefäß mit

mRNA-later eingebracht und mit dem Knochenstück zur weiteren Bestimmung der angeführten Parameter direkt ins Labor transportiert.

Aus den Gefäß- und dem Knochenstück wurde nach Gewebemogenisierung mittels quantitativer (Realtime PCR) sowie semiquantitativer (Northern Blot) mRNA Bestimmung die OPG und RANKL Expression in den Geweben gemessen und mit der gemessenen Serumkonzentration verglichen.

Da die KHK häufig mit einer Osteoporose assoziiert auftritt, wurde präoperativ neben einer Frakturanamnese auch ein standardisiertes BWS und LWS Röntgen, sowie eine Knochendichtemessung mittels DXA an der Hüfte und der Lendenwirbelsäule durchgeführt.

2.2.2 Datenmanagement

Die patientenbezogenen Daten wurden durch das OpenMEDOCS System des LKH Graz (OP-Berichte, postoperative Kontrollen) und das elektronische Archiv des Institutes für Pathologie (histopathologische Befunde) erfasst und durch eine Codierung anonymisiert. Sämtliche Daten wurden in einer MS Excel Tabelle festgehalten. Nach Abschluss der Studie wurden die Daten mittels MS Excel und dem Statistikprogramm SPSS ausgewertet und grafisch dargestellt.

2.2.3 Ethische Grundlagen

Zur Durchführung der Studie wurde eine schriftliche Zustimmung der Ethikkommission der medizinischen Universität Graz eingeholt. Jeder Patient wurde vor der Aufnahme in die Studie über Wesen und Ziele der Studie ausführlich informiert, insbesondere darüber, dass ihm bei einer Nichtteilnahme keine Nachteile entstehen. Die Patienten mussten eine schriftliche Einwilligung unterschreiben, nachdem sie ausreichend Bedenkzeit und Gelegenheit hatten, alle offenen Fragen zu klären. Die Einwilligung schloss auch die Erfassung und Verarbeitung der Daten mit ein. Eine Kopie der unterschriebenen Einwilligungserklärung verblieb beim Patienten, das Original bei der Studienleiterin (OA Dr. Daniela-Eugenia Malliga).

Alle an der Untersuchung teilnehmenden Personen erhielten, abgesehen von den routinemäßig erhobenen Daten, auch eine umfassende Exploration ihrer Knochendichte und ihres Knochenstoffwechsels, wodurch Risikopatienten mit osteologischen Erkrankungen frühzeitig erkannt und einer Therapie zugeführt werden konnten.

3 Ergebnisse

Da die Ergebnisse und die Interpretation aller Werte, die in der Studie bestimmt worden sind, den Rahmen der vorliegenden Diplomarbeit sprengen würden, befasst sich diese nur mit den Werten von OPG und RANKL im Serum, dem Alter, der Gewichtsklasse und den Risikofaktoren wie arterieller Hypertonus, Diabetes mellitus, Hyperlipidämie und deren Korrelation zueinander. Zusätzlich sind diese Werte zwischen der Gruppe der KHK Patienten und der Kontrollgruppe verglichen worden. Zudem sind die hier dargebrachten Ergebnisse nur ein Zwischenbericht, da die Studie noch nicht beendet ist.

3.1 Allgemeine Informationen zum Patientenkollektiv

Die insgesamt 131 Patienten sind bis zum Zeitpunkt dieser Arbeit, wie bereits in Kapitel 2.1 Patientenkollektiv beschrieben, in eine KHK Gruppe mit 65 Patienten und eine Kontrollgruppe mit 66 Patienten unterteilt worden. Entsprechend ihrem Alter bei der Blutabnahme für die Studie sind sie in je fünf Altersklassen eingeteilt worden.

Die Einteilung der Altersklassen:

- ✓ Klasse 1: 40-49 Jahre
- ✓ Klasse 2: 50-59 Jahre
- ✓ Klasse 3: 60-69 Jahre
- ✓ Klasse 4: 70-79 Jahre
- ✓ Klasse 5: 80-90 Jahre

Die Aufteilung beider Gruppen in die verschiedenen Altersklassen ist in Abbildung 3.1.1 ersichtlich. Ziel der Studie ist es, in jeder Altersklasse 15 Patienten einzuschließen und so insgesamt 75 Patienten pro Gruppe zu haben; zum Zeitpunkt dieser Arbeit fehlen jedoch in einzelnen Klassen noch Probanden. In der KHK Gruppe sind in der Klasse 1 nur 12, in der Klasse 4 14 Patienten und in der Klasse 5 nur sieben Patienten eingeschlossen. In der Kontrollgruppe finden sich in der Altersklasse 5 nur fünf Patienten.

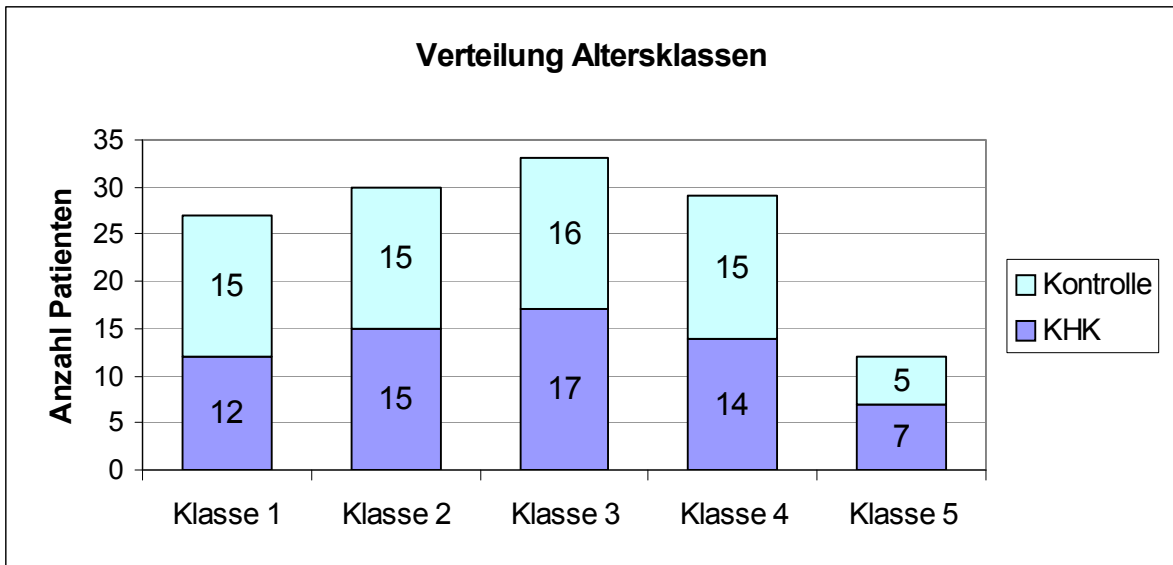


Abbildung 3.1.1: Verteilung der Patienten in den einzelnen Altersklassen

In der KHK Gruppe ist anfangs der Schweregrad der KHK erhoben worden. Dabei zeigt sich, wie in Abbildung 3.1.2 zu erkennen ist, dass keiner der Patienten an einer KHK Grad I leidet, dahingegen weisen 13 Patienten eine KHK Grad II auf (dies entspricht 20 %) und 52 Patienten haben eine KHK Grad III, das sind 80 % des Patientenkollektivs.

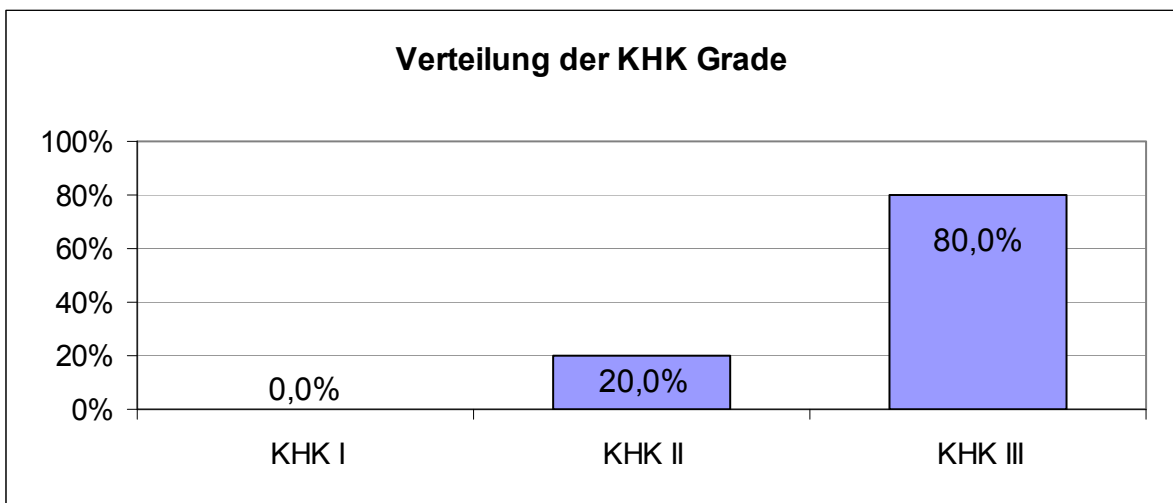


Abbildung 3.1.2: Prozentuelle Verteilung der KHK Grade

3.2 Risikofaktoren des Patientenkollektivs

Da die Risikofaktoren bei der Entstehung der Atherosklerose bzw. der KHK eine bedeutende Rolle spielen, sind bei den Patienten im Rahmen der Studie folgende Faktoren erhoben worden:

- ✓ Arterieller Hypertonus (HT)
- ✓ Diabetes mellitus (DM)
- ✓ Hyperlipidämie (HL)

In Tabelle 3.2.1 ist die Anzahl der einzelnen Risikofaktoren und deren Kombinationen in beiden Patientengruppen aufgezählt; die Abbildung 3.2.1. zeigt, zum besseren Vergleich, die entsprechende prozentuelle Verteilung dieser Faktoren in den Gruppen.

| | KHK Gruppe | Kontrollgruppe |
|----------------|------------|----------------|
| Keine Faktoren | 17 | 30 |
| HT | 15 | 13 |
| DM | 5 | 1 |
| HL | 1 | 5 |
| HT+DM | 0 | 4 |
| HT+HL | 19 | 5 |
| DM+HL | 1 | 1 |
| HT+DM+HL | 7 | 7 |

Tabelle 3.2.1: Risikofaktoren in beiden Patientengruppen in Zahlen

Wie in Kapitel 1.1.3 Ätiologie erläutert, fördert das Vorhandensein von Risikofaktoren die Pathogenese der KHK. Es ist jedoch bei etwa einem Viertel (17 Patienten = 26,2 %) der KHK Patienten keiner der erhobenen Risikofaktoren festgestellt worden, wohingegen in der Kontrollgruppe beinahe die Hälfte (30 Patienten = 45,5 %) der Probanden keinerlei Faktoren aufweisen. In der KHK Gruppe tritt ein isolierter arterieller Hypertonus häufiger auf (23,1 %) als in der Kontrollgruppe (19,7 %), dies gilt gleichermaßen für den isolierten Diabetes mellitus. Die Kombination von Hypertonie mit Hyperlipidämie tritt bei der KHK Gruppe, mit einem Plus von 21,7 %, deutlich häufiger auf als in der Vergleichsgruppe. Interessanterweise

ist eine isolierte Hyperlipidämie in der Kontrollgruppe häufiger vorhanden, obwohl diese Erkrankung zu einem der Hauptrisikofaktoren der KHK zählt. Außerdem ist die Kombination von Hypertonie mit Diabetes mellitus in der Kontrollgruppe vertreten, während diese Kombination in der KHK Gruppe gar nicht auftritt.

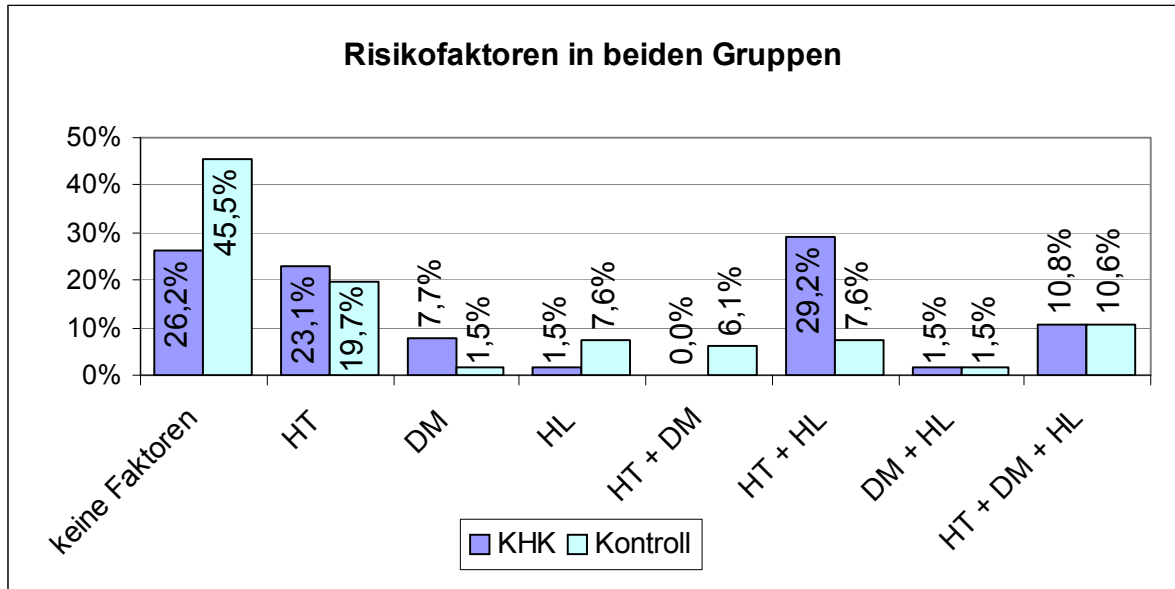


Abbildung 3.2.1: Verteilung der Risikofaktoren in beiden Gruppen
HT = arterieller Hypertonus, DM = Diabetes mellitus, HL = Hyperlipidämie

Danach sind die Risikofaktoren und die Altersklassen zueinander in Verbindung gebracht worden. In der Tabelle 3.2.2 ist die Verteilung der Risikofaktoren in den Altersklassen der KHK und Kontrollgruppe festgehalten. Dabei fällt auf, dass in der KHK Gruppe die Patienten ohne Risikofaktor nahezu gleichmäßig in allen Altersklassen verteilt sind; dahingegen sind es in der Kontrollgruppe eher jüngere Patienten (Klasse 1, 2 und 3), die keinerlei Risikofaktor aufweisen. Ansonsten sind die Risikofaktoren relativ gleichmäßig in den Altersklassen verteilt; es lässt sich so kein Trend heraus lesen, dass die Risikofaktoren erst im höheren Alter auftreten würden.

| Altersklassen | KHK Gruppe | | | | |
|---------------|------------|----------|----------|----------|----------|
| | Klasse 1 | Klasse 2 | Klasse 3 | Klasse 4 | Klasse 5 |
| Kein Faktor | 3 | 3 | 4 | 4 | 3 |
| HT | 2 | 2 | 4 | 4 | 3 |
| DM | 1 | 1 | 2 | 1 | - |
| HL | - | 1 | - | - | - |

| | | | | | |
|---------------|----------------|----------|----------|----------|----------|
| HT+DM | - | - | - | - | - |
| HT+HL | 4 | 8 | 3 | 4 | - |
| DM+HL | 1 | - | - | - | - |
| HT+DM+HL | 1 | - | 4 | 1 | 1 |
| | Kontrollgruppe | | | | |
| Altersklassen | Klasse 1 | Klasse 2 | Klasse 3 | Klasse 4 | Klasse 5 |
| Kein Faktor | 9 | 9 | 4 | 8 | - |
| HT | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 |
| DM | 1 | - | - | - | - |
| HL | 1 | 1 | 2 | 1 | - |
| HT+DM | - | - | 2 | 2 | - |
| HT+HL | 1 | 1 | 1 | - | 2 |
| DM+HL | - | - | 1 | - | - |
| HT+DM+HL | - | 1 | 3 | 2 | 1 |

Tabelle 3.2.2: Die Verteilung der Risikofaktoren in den Altersklassen der KHK und Kontrollgruppe

Enthält die absoluten Patientenzahlen.

Zudem wurde prozentuell errechnet wie häufig die Risikofaktoren in den beiden Patientengruppen mit einem erniedrigten, normalen und erhöhten OPG bzw. RANKL kombiniert waren. Die dazugehörige tabellarische Auswertung für OPG ist in Tabelle 3.2.3 und die für RANKL in Tabelle 3.2.4 zu finden.

| OPG | KHK Gruppe | | | Kontrollgruppe | | |
|-------------|------------|--------|--------|----------------|--------|--------|
| | Erniedrigt | Normal | Erhöht | Erniedrigt | Normal | Erhöht |
| Kein Faktor | - | 20,0% | 6,2% | - | 34,8% | 10,6% |
| HT | - | 10,8% | 12,3% | - | 16,7% | 3,0% |
| DM | - | 4,6% | 3,1% | - | 1,5% | - |
| HL | - | 1,5% | - | - | 7,6% | - |
| HT+DM | - | - | - | - | 3,0% | 3,0% |
| HT+HL | 1,5% | 20,0% | 7,7% | - | 4,5% | 3,0% |
| DM+HL | - | 1,5% | - | - | - | 1,5% |
| HT+DM+HL | - | 9,2% | 1,5% | - | 6,1% | 4,5% |

Tabelle 3.2.3: Prozentuelle Verteilung der Risikofaktoren auf die OPG Werte

Die Prozentwerte beziehen sich auf die jeweilige gesamte Patientengruppe.

Bei der KHK Gruppe zeigt sich, dass erhöhte OPG Werte am häufigsten zusammen mit der arteriellen Hypertonie und der Kombination von Hypertonie mit Hyperlipidämie auftreten. Bei normalen OPG Werten ist am häufigsten entweder kein

Risikofaktor vorhanden (20 %) oder die Kombination von Hypertonus mit Hyperlipidämie (ebenfalls 20 %). In der Kontrollgruppe weisen die meisten erhöhten Werte keine Korrelation zu einem Risikofaktor auf. Bei den normalen Werten ist auch ca. einem Drittel mit keinem Risikofaktor assoziiert, jedoch treten immerhin 16,7 % der OPG Werte im Zusammenhang mit einer arteriellen Hypertonie auf.

| RANKL | KHK Gruppe | | | Kontrollgruppe | | |
|-------------|------------|--------|--------|----------------|--------|--------|
| | Erniedrigt | Normal | Erhöht | Erniedrigt | Normal | Erhöht |
| Kein Faktor | 15,4% | 10,8% | - | 31,8% | 10,6% | 3,0% |
| HT | 10,8% | 10,8% | 1,5% | 7,6% | 12,1% | - |
| DM | 7,7% | - | - | 1,5% | - | - |
| HL | 1,5% | - | - | 4,5% | 3,0% | - |
| HT+DM | - | - | - | 4,5% | 1,5% | - |
| HT+HL | 16,9% | 12,3% | - | 6,1% | 1,5% | - |
| DM+HL | - | 1,5% | - | - | - | 1,5% |
| HT+DM+HL | 4,6% | 6,2% | - | 6,1% | 4,5% | - |

Tabelle 3.2.4: Prozentuelle Verteilung der Risikofaktoren auf die RANKL Werte

Die Prozentwerte beziehen sich auf die jeweilige gesamte Patientengruppe.

In der KHK Gruppe weisen die meisten erniedrigten RANKL Werte eine Hypertonie mit Hyperlipidämie (16,9 %), keine Verbindung zu einem Risikofaktor (15,4 %) oder eine isolierte arterielle Hypertonie (10,8 %) auf. Die Normalwerte treten ebenfalls zumeist in Zusammenhang mit der isolierten Hypertonie, Hypertonie mit Hyperlipidämie oder ohne Risikofaktor auf. In der Kontrollgruppe sind beinahe ein Drittel der RANKL Werte erniedrigt (31,8 %) und treten ohne Assoziation zu jeglichen Risikofaktoren auf; bei den normalen Werten ist am häufigsten die isolierte Hypertonie und keine Verbindung zu Risikofaktoren vorhanden.

3.3 Gewichtssituation in den Patientengruppen

Zunächst wurde der BMI (Body mass index, in kg/m^2) der Patienten errechnet. Die Bestimmung des BMI erfolgte dabei mit der Formel Körpergewicht (in kg)/Körpergröße² (in m). Die Einteilung in die einzelnen Gewichtsklassen anhand des BMI Werts sieht wie folgt aus:

- ✓ Untergewicht: $< 18,5 \text{ kg}/\text{m}^2$
- ✓ Normalgewicht: $18,5\text{-}24,99 \text{ kg}/\text{m}^2$
- ✓ Präadipositas: $25\text{-}29,99 \text{ kg}/\text{m}^2$
- ✓ Adipositas Grad I: $30\text{-}34,99 \text{ kg}/\text{m}^2$
- ✓ Adipositas Grad II: $35\text{-}39,99 \text{ kg}/\text{m}^2$
- ✓ Adipositas Grad III: $\geq 40 \text{ kg}/\text{m}^2$ [103]

Anfangs ist der Anteil der einzelnen Gewichtsklassen beider Gruppen und im gesamten Patientenkollektiv ermittelt worden. Die Abbildung 3.3.1 zeigt dabei die grafische Ausarbeitung der errechneten Verteilung in Prozent.

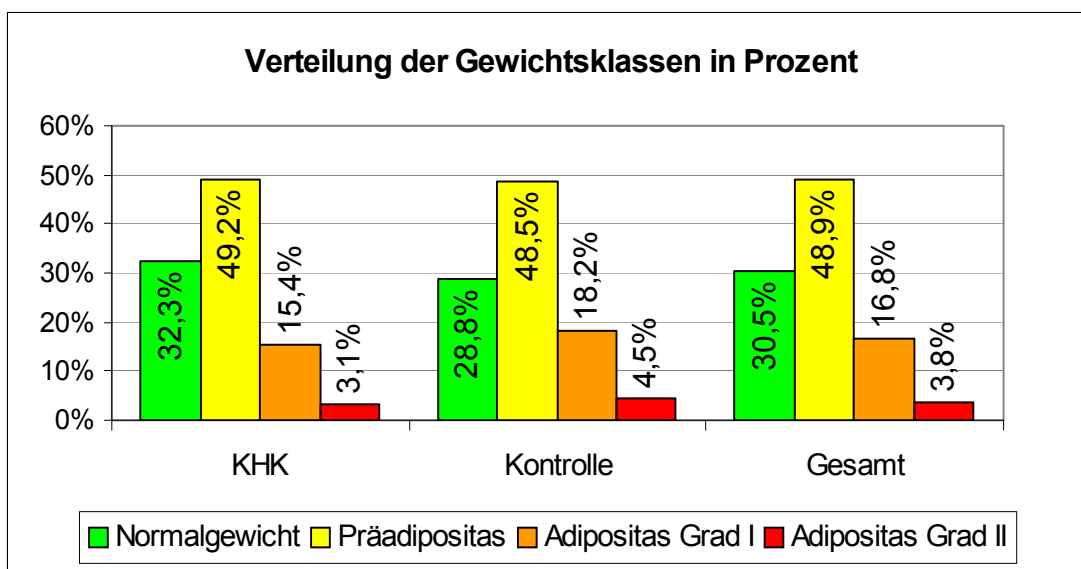


Abbildung 3.3.1: Prozentuelle Aufteilung der Gewichtsklassen in den Patientengruppen

Kein Patient ist untergewichtig oder leidet an einer Adipositas Grad III. Bedenklich ist jedoch, dass nahezu die Hälfte der Probanden (48,9 %) präadipös sind; dabei zeigt sich in dieser Gewichtsklasse nur ein minimaler Unterschied zwischen den beiden Gruppen (49,2 % in der KHK und 48,5 % in der Kontrollgruppe). Die zweit-

größte Gruppe machen mit ca. einem Drittel die Normalgewichtigen aus, wobei überraschenderweise ihr prozentueller Anteil in der KHK Gruppe am größten ist. Generell sind keine signifikanten Unterschiede in der Verteilung der einzelnen Gewichtsklassen zwischen den beiden Patientengruppen zu erkennen.

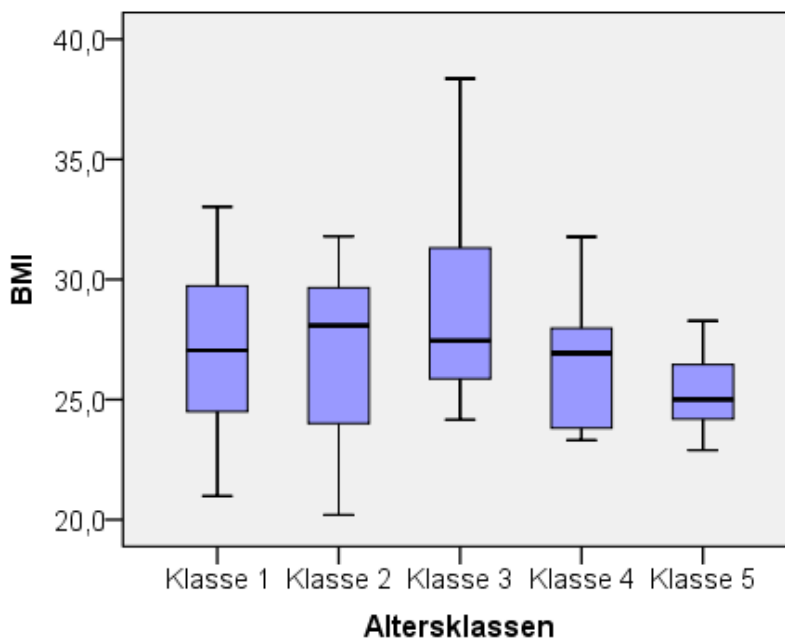


Abbildung 3.3.2: Boxplot des BMI in den Altersklassen der KHK Gruppe

Danach ist die Verteilung der BMI Werte in den Altersklassen der beiden Patientengruppen mit einem Boxplot Diagramm untersucht worden. Die Abbildung 3.3.2 zeigt die Werte der KHK Gruppe, die Abbildung 3.3.3 die der Kontrollgruppe.

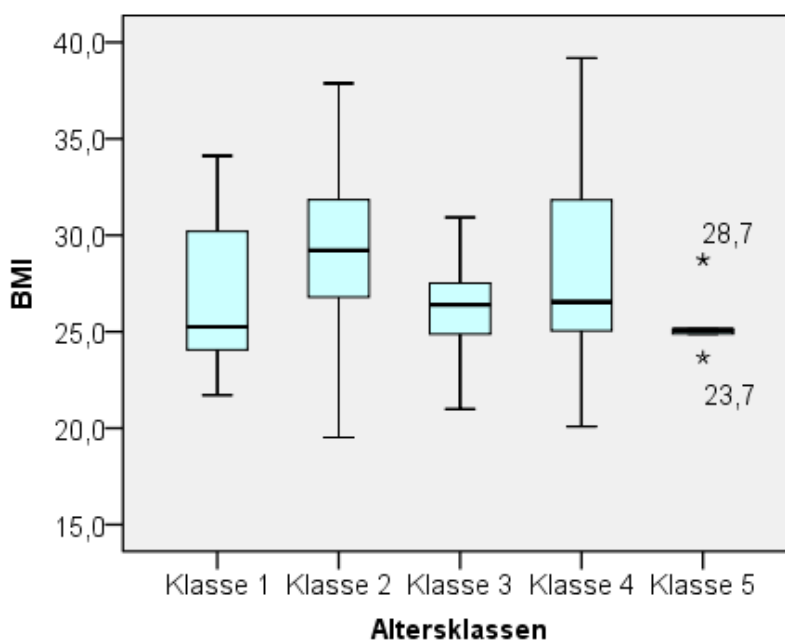


Abbildung 3.3.3: Boxplot des BMI in den Altersklassen der Kontrollgruppe

Die dazugehörigen Werte der beiden Boxplots wie Minimalwert, 25 % Perzentile, Median, 75 % Perzentile, Maximalwert sowie zusätzlich die Mittelwerte und Standardabweichungen sind in der Tabelle 3.3.1 aufgelistet. Der Mittelwert für das gesamte Patientenkollektiv beträgt 27,30 kg/m².

| KHK Gruppe | Klasse 1 | Klasse 2 | Klasse 3 | Klasse 4 | Klasse 5 |
|--------------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| Mittelwert | 26,99 | 27,03 | 29,12 | 26,56 | 26,99 |
| Standardabweichung | 3,55 | 3,38 | 4,37 | 2,57 | 3,55 |
| Minimalwert | 20,99 | 20,20 | 24,16 | 23,31 | 20,99 |
| 25 % Perzentile | 24,50 | 24,01 | 25,86 | 24,08 | 24,50 |
| Median | 27,05 | 28,08 | 27,46 | 26,94 | 27,05 |
| 75 % Perzentile | 29,53 | 29,65 | 31,31 | 27,92 | 29,53 |
| Maximalwert | 33,02 | 31,79 | 38,37 | 31,77 | 33,02 |
| Kontrollgruppe | | | | | |
| Mittelwert | 26,96 | 29,20 | 25,98 | 27,82 | 25,50 |
| Standardabweichung | 4,04 | 4,81 | 2,62 | 5,17 | 1,90 |
| Minimalwert | 21,72 | 19,52 | 20,98 | 20,09 | 23,67 |
| 25 % Perzentile | 24,06 | 26,79 | 25,05 | 25,05 | 24,90 |
| Median | 25,25 | 29,22 | 26,40 | 26,54 | 25,10 |
| 75 % Perzentile | 30,21 | 31,84 | 27,49 | 31,82 | 25,13 |
| Maximalwert | 34,11 | 37,87 | 30,93 | 39,18 | 28,73 |

Tabelle 3.3.1: Statistische Werte des BMI in den Altersklassen beider Patientengruppen

Dabei zeigt sich, dass in allen Altersklassen der Patientengruppen der Median im präadipösen Bereich liegt und von der 3. zur 5. Klasse sinkt. Jedoch ist die Bandbreite der Minimal- und Maximalwerte innerhalb der Klassen relativ groß, es lässt sich so keine ordnungsmäßige Tendenz ableiten.

Daraufhin ist die genaue Gewichtsverteilung innerhalb der einzelnen Altersklassen beider Gruppen in Prozent bestimmt worden. Die Verteilung der KHK Gruppe ist der Abbildung 3.3.4 zu entnehmen.

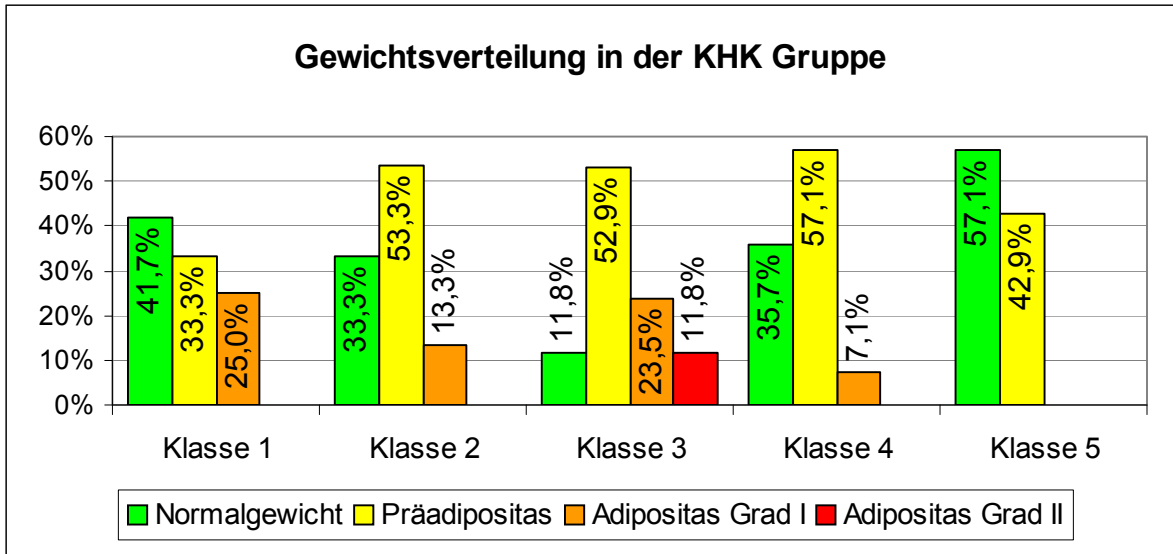


Abbildung 3.3.4: Gewichtsverteilung der KHK Gruppe in Prozent

In der KHK Gruppe nehmen die Normalgewichtigen lediglich in der jüngsten und der ältesten Altersklasse mit 41,7 % und 57,1 % den größten Anteil ein. In der Altersklasse 3 machen die Normalgewichtigen dagegen nur 11,8 % aus; in dieser Klasse sind auch die einzigen Adipösen Grad II der KHK Gruppe zu finden, sie bilden dabei ebenfalls 11,8 %. In den Altersklassen 2, 3 und 4 bilden die Präadipösen mit jeweils über 50 % die größte Gewichtsgruppe.

Dieselbe Berechnung ist auch für die Kontrollgruppe durchgeführt worden. In Abbildung 3.3.5 sind diese Daten grafisch verarbeitet. Nur in der jüngsten Altersklasse bilden die Normalgewichtigen die größte Gruppe, in den Klassen 2 und 4 machen sie lediglich 20 % der Patienten aus. Die Präadipösen bilden in jeder Altersklasse, außer in der jüngsten, die Mehrheit; in der Klasse 3 machen sie sogar 68,8 % aus, das sind über $\frac{2}{3}$ der Patienten. Jedoch gibt es in dieser Klasse keine Adipositas Grad II und der Anteil der Adipositas Grad I ist hier mit 6,3 % der niedrigste in der gesamten Kontrollgruppe. Adipositas Grad II ist nur in den Klassen 2 und 4 zu finden.

Interessanterweise ist in der Altersklasse 5 weder in der KHK Gruppe noch in der Kontrollgruppe Adipositas Grad I oder II zu finden. Ein möglicher Grund für diese Beobachtung könnte die höhere Multimorbidität von Patienten mit Adipositas Grad I und II und die damit verbundene frühzeitige Mortalität sein. Das Verhältnis

von Normalgewicht zu Präadipositas in der ältesten Klasse verhält sich in der KHK zur Kontrollgruppe nahezu spiegelbildlich.

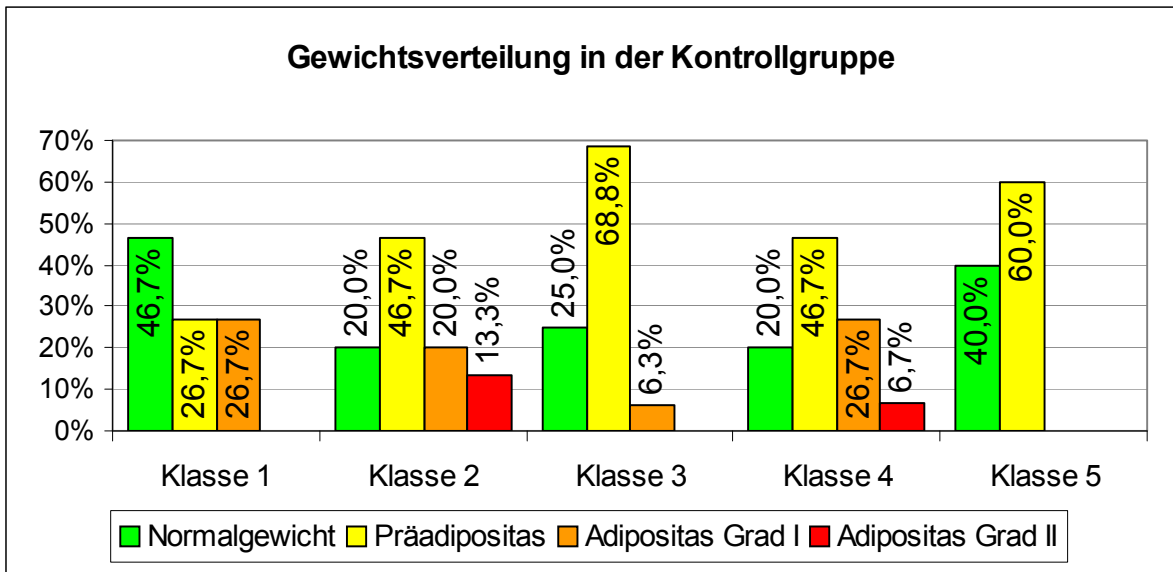


Abbildung 3.3.5: Gewichtsverteilung der Kontrollgruppe in Prozent

Als nächstes ist die Gewichtsverteilung mit dem Grad der KHK verglichen worden. Abbildung 3.3.6 zeigt, dass die Normalgewichtigen annähernd ein Drittel bei der KHK II und III ausmachen (bei der KHK III um 1,9 % mehr als bei der KHK II). Dagegen beträgt der Anteil der Präadipositas beim Grad II der KHK 61,5 % und beim Grad III nur 46,2 % (entspricht einem Plus von 15,4 % bei der KHK II). Eine Adipositas Grad II findet sich mit 3,8 % nur bei der KHK Grad III.

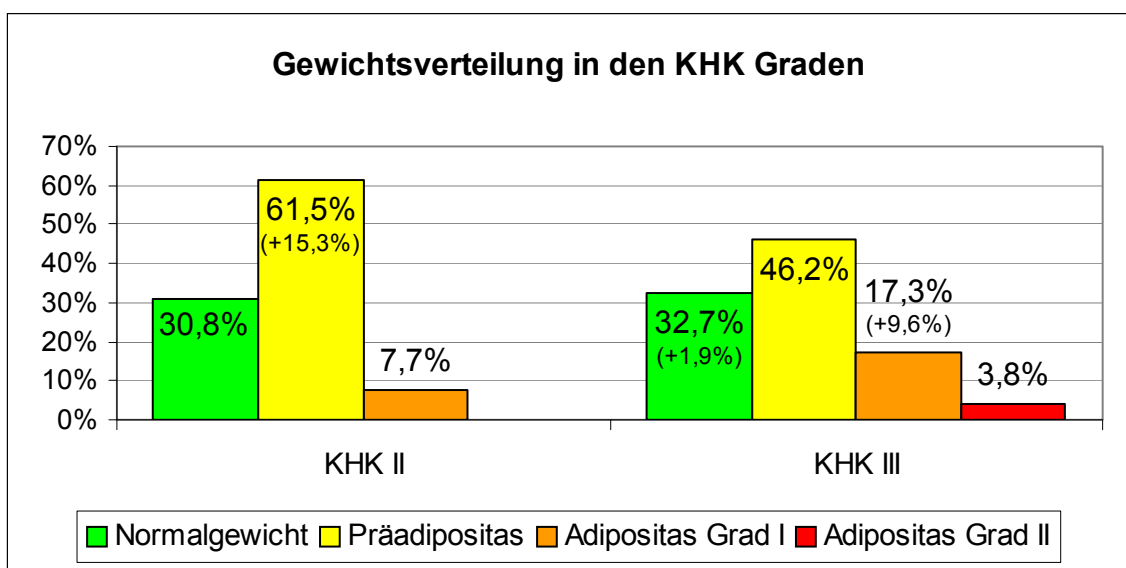


Abbildung 3.3.6: Prozentuale Gewichtsverteilung bei KHK Grad II und III und die Differenz der Prozentwerte zwischen den einzelnen Gewichtsklassen beider Krankheitsgrade

3.4 OPG Werte in den beiden Patientengruppen

Als nächstes wurden die OPG Werte beider Gruppen ausgewertet und verglichen.

- ✓ Referenzbereich für OPG: 0,7-4,2 pmol/l

Dabei zeigt sich, dass in der KHK Gruppe 44 Patienten innerhalb des Referenzbereichs liegen, dies entspricht mit 67,7 % ca. $\frac{2}{3}$ der Werte. Lediglich ein einziger Wert ist erniedrigt, das sind 1,5 % der gesamten Gruppe. Einen erhöhten OPG Wert weisen insgesamt 20 Patienten (30,8 %) auf.

In der Kontrollgruppe haben 49 Patienten normale OPG Werte, das sind 74,2 %. Etwa ein Viertel der Werte (24,8 %) sind in dieser Gruppe erhöht, dies trifft bei 17 Patienten zu. Kein einziger Wert liegt jedoch unterhalb des Referenzbereichs.

Im Vergleich der beiden Gruppen zeigt sich, dass in der Kontrollgruppe mehr Patienten einen normalen OPG Wert haben (Plus 6,5 %). Dahingegen stellt die KHK Gruppe den größeren Prozentanteil bei den erhöhten OPG Werten dar (Plus 5,0 %). Eine grafische Gegenüberstellung der beiden Gruppen mit Bezug auf einen erniedrigten, normalen oder erhöhten OPG Wert in Prozent zeigt Abbildung 3.4.1.

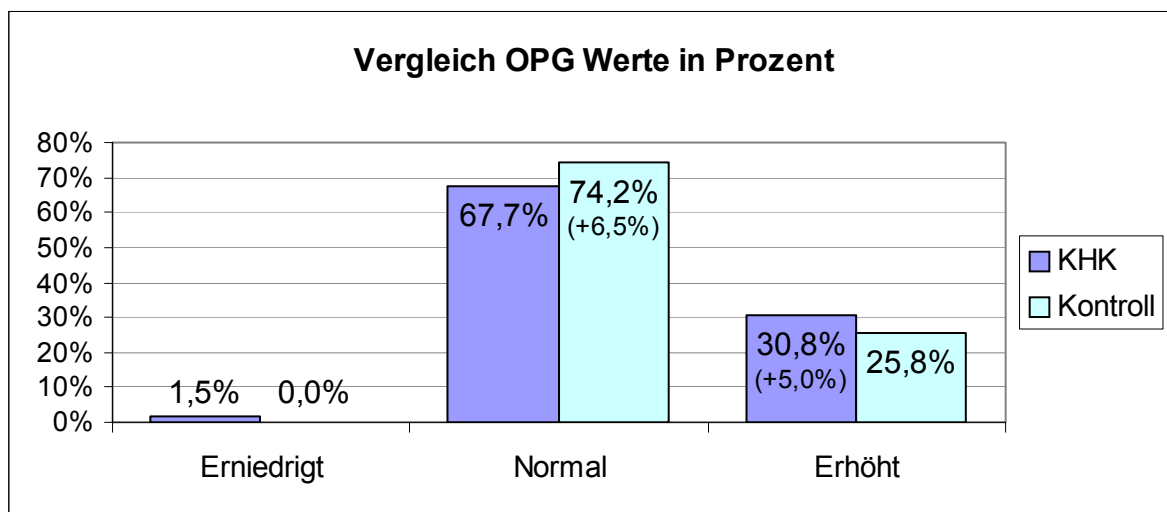


Abbildung 3.4.1: Vergleich der OPG Prozent Werte und die Differenz beider Gruppen

In weiterer Folge ist die Verteilung der OPG Werte in den einzelnen Altersklassen betrachtet worden. Dabei zeigt sich in der KHK Gruppe ab der Altersklasse 2 ein

genereller Anstieg der OPG Werte, was den Beobachtungen anderer Studien entspricht (siehe Kapitel 1.6.2 OPG in Humanstudien). Ebenfalls ist in der Altersklasse 2 mit 7 pmol/l eine größere Abweichung von den Normwerten lokalisiert. In Abbildung 3.4.2 sind die Werte der KHK Gruppe abgebildet, die roten Linien begrenzen dabei den grünen Referenzbereich.

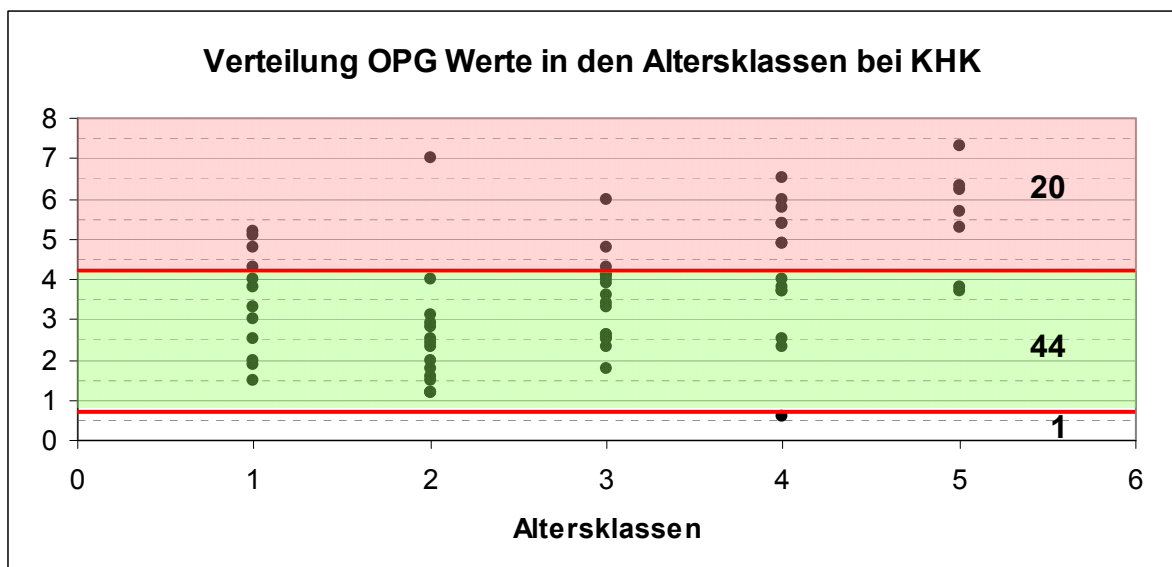


Abbildung 3.4.2: Verteilung OPG Werte in den Altersklassen der KHK Gruppe
Auf der rechten Seite ist die Summe der Werte im entsprechenden Bereich angegeben.

In der Abbildung 3.4.3 sind die OPG Werte der Altersklassen der KHK Gruppe als Boxplots dargestellt. Die roten Linien markieren den Referenzbereich. In der Altersklasse 2 und 4 sind zwei Ausreißer mit 7,0 bzw. 0,6 pmol/l verzeichnet. Interessanterweise hat die Altersklasse 1 höhere OPG Werte als die nachfolgende Klasse 2.

Eine Auswertung für die Verteilung der OPG Werte in den Altersklassen ist auch für die Kontrollgruppe durchgeführt worden. Da in dieser Gruppe keine Werte unterhalb des Referenzbereichs gemessen worden sind, zeigt die Abbildung 3.4.4 die Werte erst ab dem Beginn des Normbereichs an. Wiederum begrenzt die rote Linie den grünen Referenzbereich.

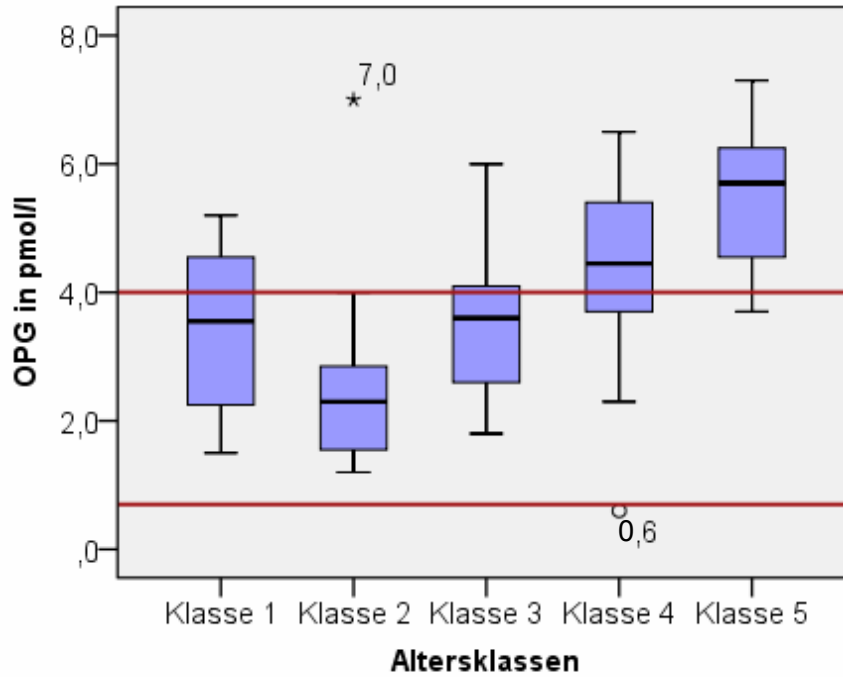


Abbildung 3.4.3: Boxplot OPG Werte der Altersklassen in der KHK Gruppe

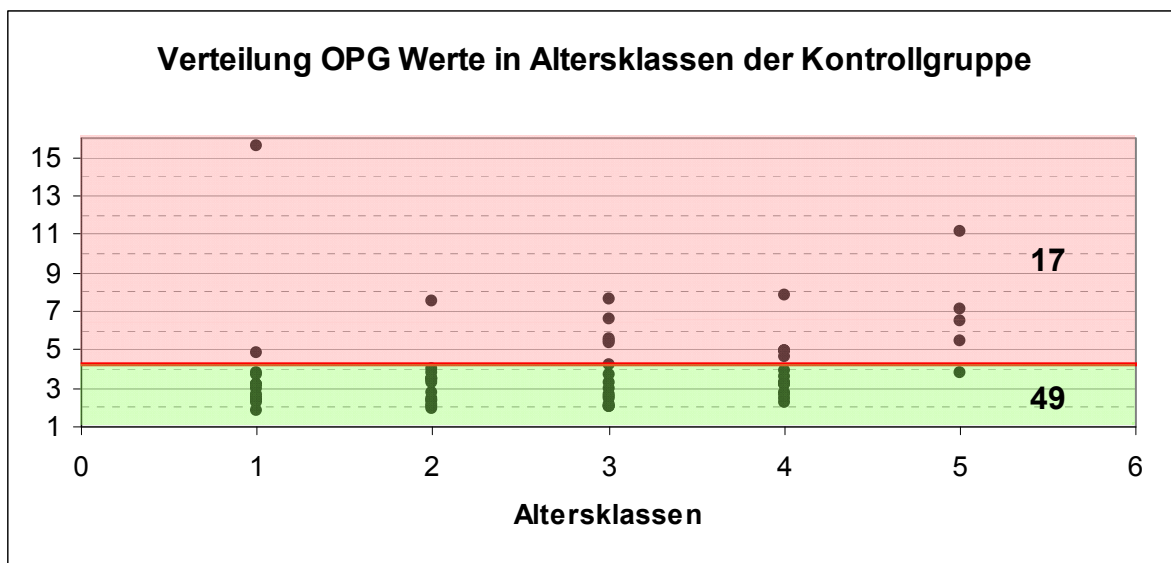


Abbildung 3.4.4: Verteilung der OPG Werte in den Altersklassen der Kontrollgruppe
Die Anzahl der Werte im entsprechenden Bereich stehen seitlich.

Ebenso wie in der KHK Gruppe, lässt sich auch in der Kontrollgruppe ein tendenzieller Anstieg der OPG Werte im Alter erkennen, auch wenn dieser nicht so ausgeprägt erscheint wie in der anderen Patientengruppe. Zudem gibt es Werte, die stark vom Normbereich abweichen, zum einen in der Altersklasse 1 einen Wert mit 15,60 pmol/l und zum anderen in der Klasse 2 einen Wert mit 7,5 pmol/l.

Auch für die Kontrollgruppe ist zusätzlich noch ein Boxplot Diagramm der OPG Werte in den Altersklassen angefertigt worden. In Abbildung 3.4.5 erkennt man einen geringeren Anstieg der Werte im Alter, dabei sind die Mediane in den Klassen 1 bis 4 einander sehr ähnlich; zudem sind die Ausreißer mit den Werten 15,6; 7,5; 7,8 und 11,1 pmol/l dargestellt.

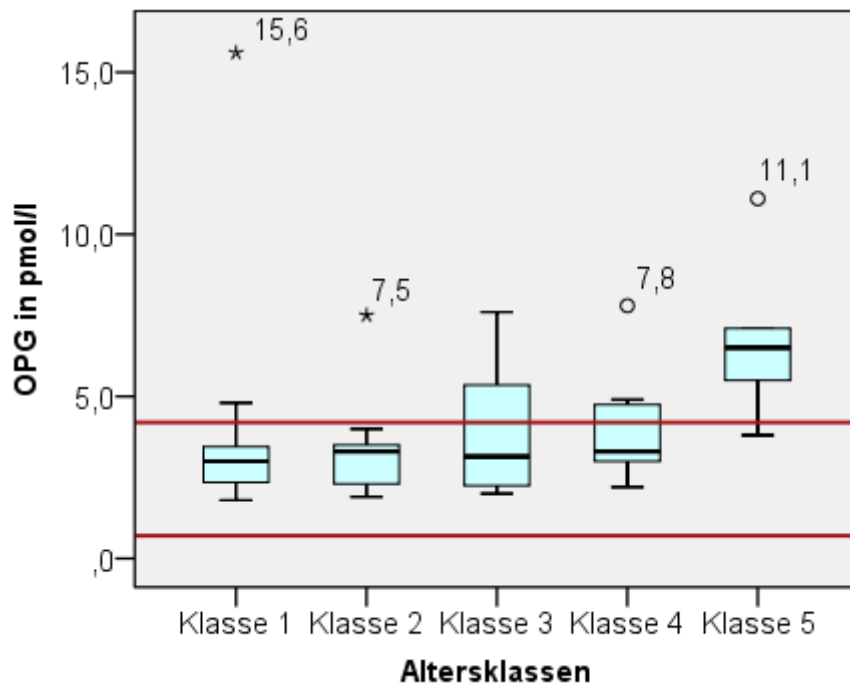


Abbildung 3.4.5: Boxplot OPG Werte der Altersklassen in der Kontrollgruppe
Die roten Linien begrenzen den Normbereich.

Zusätzlich ist der Mittelwert in jeder Altersklasse mit der dazugehörigen Standardabweichung errechnet worden. Hier zeigt sich bei der KHK Gruppe ebenfalls eine ausgeprägtere Tendenz zur OPG Zunahme im Alter als bei der Kontrollgruppe. Eine grafische Gegenüberstellung der OPG Mittelwerte von KHK und Kontrollgruppe ist in Abbildung 3.4.6 zu sehen

Der Mittelwert, Standardabweichung, Minimalwert, 25 % Perzentile, Median, 75 % Perzentile und der Maximalwert der einzelnen Altersklassen beider Gruppen sind in Tabelle 3.4.1 aufgezählt.

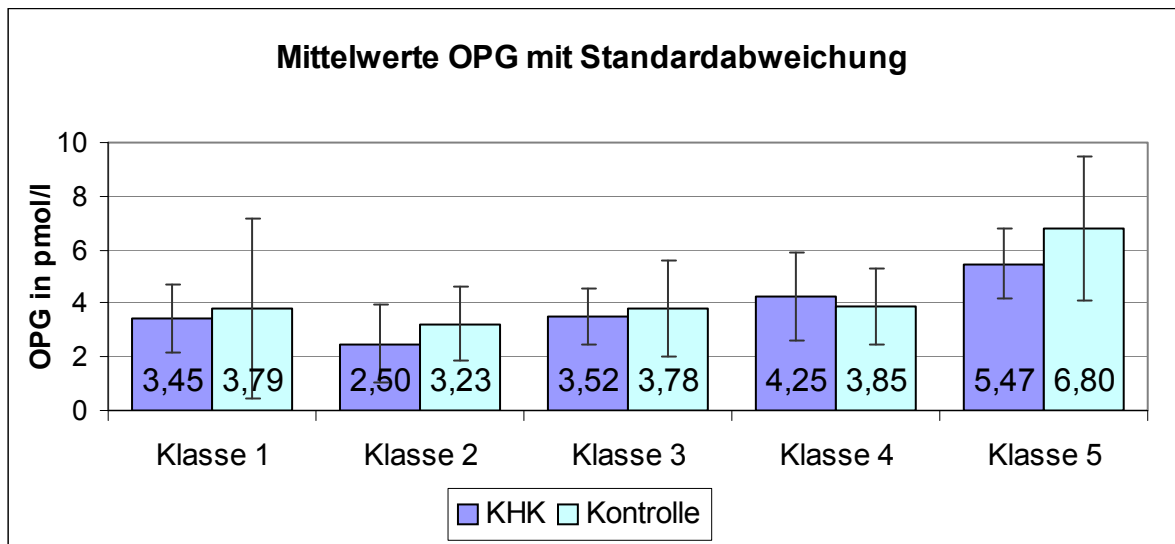


Abbildung 3.4.6: Mittelwerte OPG mit Standardabweichung in den einzelnen Altersklassen

Dabei bewegt sich die Standardabweichung der OPG Werte in den Altersklassen der KHK Gruppe zwischen 1,06 und 1,64. Bei der Kontrollgruppe errechnet sich in der Altersklasse 1 durch den Ausreißer mit 15,60 pmol/l eine vergrößerte Standardabweichung von 3,36; auch in der Klasse 5 liegt eine erhöhte Standardabweichung mit 2,71 vor. In den Klassen 2 bis 4 liegen die Werte aber zwischen 1,37 und 1,80. Jedoch zeigt sich in der grafischen und tabellarischen Auswertung, dass in der Kontrollgruppe die Mittelwerte der Klassen 1, 2, 3 und 5 über denen der KHK Gruppe liegen. Lediglich in der Altersklasse 4 hat die KHK Gruppe einen höheren Mittelwert. Im Gegensatz dazu ist in der KHK Gruppe der Median in den Klassen 1, 3 und 4 höher als jener der entsprechenden Kontrollgruppe.

| KHK Gruppe | Klasse 1 | Klasse 2 | Klasse 3 | Klasse 4 | Klasse 5 |
|--------------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| Mittelwert | 3,45 | 2,50 | 3,52 | 4,25 | 5,47 |
| Standardabweichung | 1,29 | 1,48 | 1,06 | 1,64 | 1,33 |
| Minimalwert | 1,50 | 1,20 | 1,80 | 0,60 | 3,70 |
| 25 % Perzentile | 2,38 | 1,55 | 2,60 | 3,70 | 4,55 |
| Median | 3,55 | 2,30 | 3,60 | 4,45 | 5,70 |
| 75 % Perzentile | 4,43 | 2,85 | 4,10 | 5,40 | 6,25 |
| Maximalwert | 5,20 | 7,00 | 6,00 | 6,50 | 7,30 |
| Kontrollgruppe | | | | | |
| Mittelwert | 3,79 | 3,23 | 3,78 | 3,85 | 6,80 |
| Standardabweichung | 3,36 | 1,37 | 1,80 | 1,42 | 2,71 |

| | | | | | |
|-----------------|-------|------|------|------|-------|
| Minimalwert | 1,80 | 1,90 | 2,00 | 2,20 | 3,80 |
| 25 % Perzentile | 2,35 | 2,30 | 2,33 | 3,00 | 5,50 |
| Median | 3,00 | 3,30 | 3,15 | 3,30 | 6,50 |
| 75 % Perzentile | 3,45 | 3,50 | 5,33 | 4,75 | 7,10 |
| Maximalwert | 15,60 | 7,50 | 7,60 | 7,80 | 11,10 |

Tabelle 3.4.1: Statistische Werte für OPG in den Altersklassen beider Patientengruppen
Mittelwert, Standardabweichung, Minimalwert, 25 % Perzentile, Median, 75 % Perzentile
und Maximalwert der OPG Werte in den Altersklassen beider Patientengruppen.
Die gelb unterlegten Felder entsprechen Ausreißern.

3.4.1 OPG Werte und der KHK Grad

Wie erwähnt gibt es 13 Patienten mit KHK Grad II und 52 Patienten KHK Grad III. Obwohl die Gruppenanzahl hier soweit auseinander liegt, ist ein Zusammenhang vom KHK Grad mit dem OPG Werten untersucht worden. Hierbei ist bei den Patienten mit Grad II und Grad III die prozentuelle Verteilung erhoben worden, wie viele OPG Werte innerhalb des Normbereichs liegen und wie viele darüber bzw. darunter. Interessanterweise haben beide Gruppen annähernd den gleichen prozentuellen Anteil bei normalen Werten; bei erhöhten OPG Werten ist der Anteil sogar exakt gleich groß. Eine gegenüberstellende Grafik ist in Abbildung 3.4.7 zu sehen. Zudem sind bei beiden KHK Graden die Mittelwerte bei den erhöhten OPG Werten mit 5,6 pmol/l identisch; der Median für Grad II liegt bei 5,8 pmol/l, der für Grad III bei 5,4 pmol/l. Bei den normalen OPG Werten beträgt der Mittelwert und Median für Grad II 2,7 bzw. 2,5 pmol/l und für Grad III 2,9 und 3,0 pmol/l; damit sind die Werte der KHK III zwar im Normbereich, aber dennoch höher als beim Grad II.

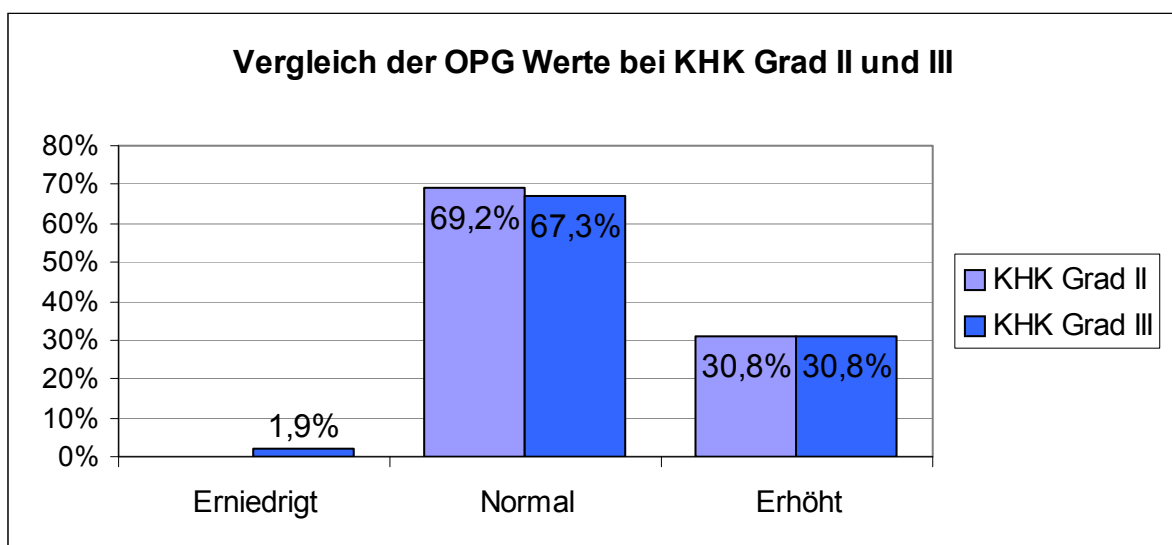


Abbildung 3.4.7: Vergleich der OPG Werte bei KHK Grad II und III

Damit widerspricht diese Beobachtung den Ergebnissen anderer Studien, die einhergehend mit einem höheren Grad der KHK auch einen höheren OPG Wert maßen. [42, 78, 79] Lediglich innerhalb der Normwerte zeigen sich die Werte der KHK Grad III geringfügig höher. Dieses Ergebnis könnte aber auch durch die unterschiedliche Gruppengröße beeinflusst sein. Daher ist diese Beobachtung mit Vorbehalt zu betrachten.

3.4.2 OPG und die Gewichtsverteilung

Zusätzlich ist überprüft worden, ob eine Korrelation der OPG Werte mit dem BMI besteht. Dazu sind die Mittelwerte der einzelnen Gewichtsklassen mit der dazugehörigen Standardabweichung errechnet worden. Mit Ausnahme des Mittelwerts der Adipositas Grad I in der Kontrollgruppe und des Mittelwert der Adipositas Grad II in der KHK Gruppe (je 4,4 pmol/l) sind alle Werte innerhalb des Referenzbereichs. Die teilweise größere Standardabweichung lässt sich durch einzelne Ausreißer der OPG Werte erklären. In der Abbildung 3.4.8 sind diese Mittelwerte grafisch aufbereitet.

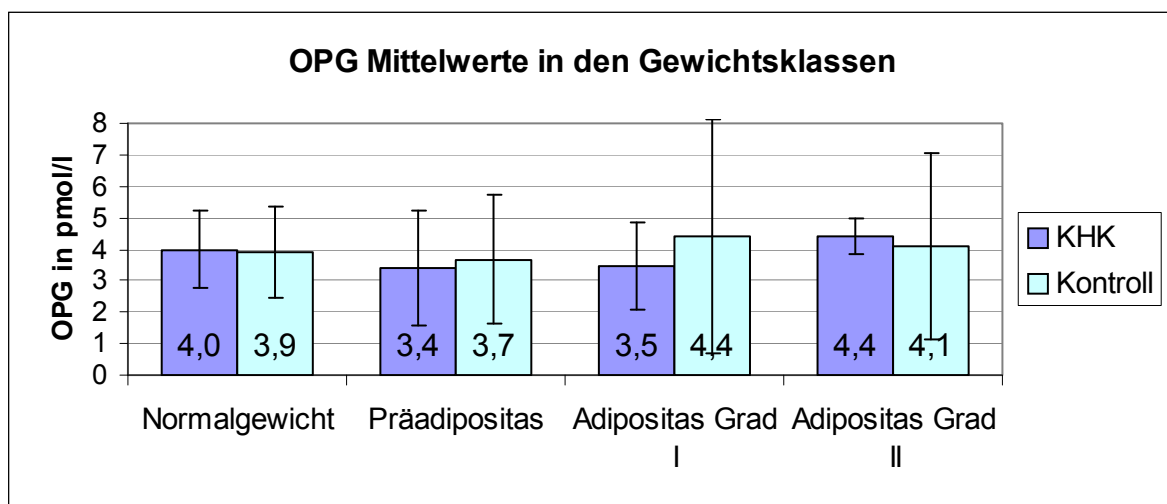


Abbildung 3.4.8: OPG Mittelwerte mit Standardabweichung der Gewichtsklassen

Zudem ist die Gewichtsverteilung bei den normalen und erhöhten OPG Werten genauer betrachtet worden. Dabei zeigt sich, dass die normalen Werte in beiden Gruppen zur ca. der Hälfte auf Präadipositas und etwa ein Viertel auf Normalgewichtige aufgeteilt sind. Die dazugehörige Grafik, in der die normalen und die erhöhten Werte beider Patientengruppen gegenübergestellt sind, ist in Abbildung 3.4.9 enthalten. Zudem verteilen sich die erhöhten OPG Werte zu jeweils etwa

40 % in beiden Patientengruppen auf die Normalgewichtigen und die Präadipösen. Auch hier entfallen auf die Adipositas Grad II die wenigsten erhöhten Werte (jeweils ca. 5 %).

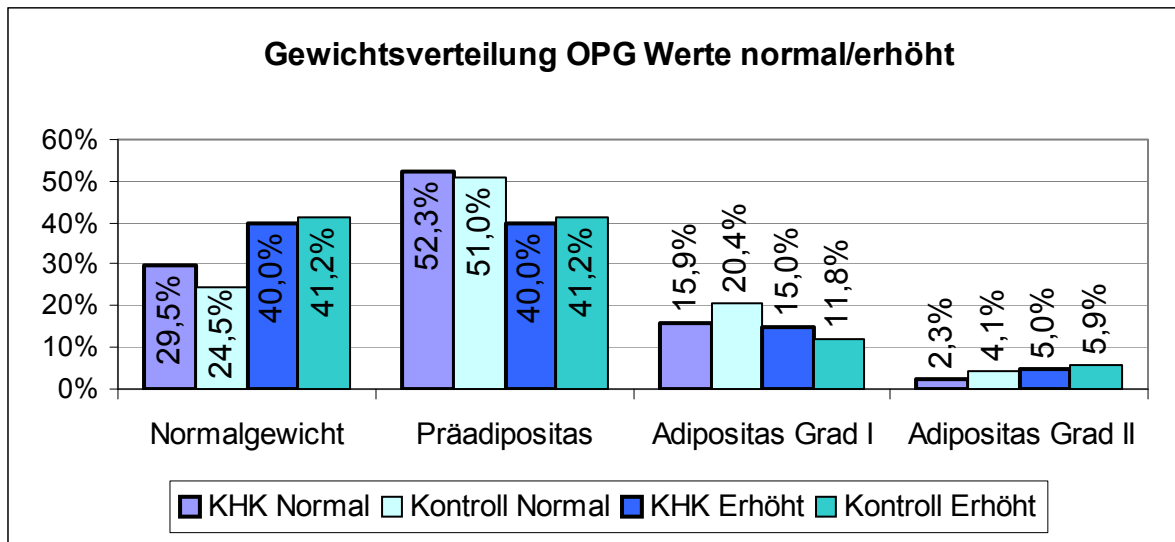


Abbildung 3.4.9: Gewichtsverteilung bei den normalen und erhöhten OPG Werten in beiden Patientengruppen

Vergleicht man diese Prozentzahlen mit der allgemeinen Gewichtsverteilung (Abbildung 3.3.1) beider Gruppen, erkennt man bei den normalen Werten eine Abnahme beim Normalgewicht und eine größere Zunahme der Werte bei der Präadipositas, in der Kontrollgruppe auch eine geringe Zunahme bei der Adipositas Grad I. Bei den erhöhten OPG Werten beider Gruppen sieht man bei der Gegenüberstellung, dass mehr Werte auf das Normalgewicht, geringfügig mehr auf die Adipositas Grad II und weniger Werte auf die Präadipositas sowie die Adipositas Grad I entfallen.

Bei Betrachtung all dieser Resultate erkennt man bei den normalen OPG Werten einen Shift zur Präadipositas hin, bei der erhöhten Werten dahingegen eine Umverteilung von der Präadipositas hauptsächlich zum Normalgewicht. Diese Werte weisen auf eine positive Korrelation von normalen OPG Werten mit Präadipositas hin, während bei erniedrigten Werten eine positive Korrelation mit dem Normalgewicht besteht. Damit unterschieden sich diese Ergebnisse von den Beobachtungen anderer Studien (siehe Kapitel 1.6.2), die keine Verbindung zwischen OPG und dem BMI nachweisen konnten.

3.5 RANKL Werte in den beiden Patientengruppen

Die RANKL Werte der KHK und Kontrollgruppe sind ebenfalls ausgewertet und miteinander verglichen worden.

- ✓ Referenzbereich für RANKL: 0,10-0,85 pmol/l

Da vom Labor des LKH Graz die Werte unterhalb des Referenzbereichs nur mit $< 0,10$ pmol/l ausgegeben werden, konnte für RANKL nur die Anzahl der Werte, die im bzw. über und unter dem Normbereich liegen, ermittelt werden. Mittelwert, Median oder Standardabweichung können so für RANKL leider nicht errechnet werden.

In der KHK Gruppe sind knapp über die Hälfte der Werte erniedrigt (56,9 %), das sind 37 der 65 Patienten; die Werte von 27 Patienten liegen innerhalb des Referenzbereichs (das sind 41,5 %) und nur ein einziger Wert ist erhöht (1,5 %). Insgesamt sind in der Kontrollgruppe die Werte von 41 Patienten erniedrigt (das sind 62,1 %); bei einem Drittel sind die Werte innerhalb des Referenzbereichs (22 Patienten, dies entspricht 33,3 %) und lediglich bei drei Patienten liegen die Werte über dem Normbereich (4,5 %). Diese Werte sind grafisch in Abbildung 3.5.1 dargestellt.

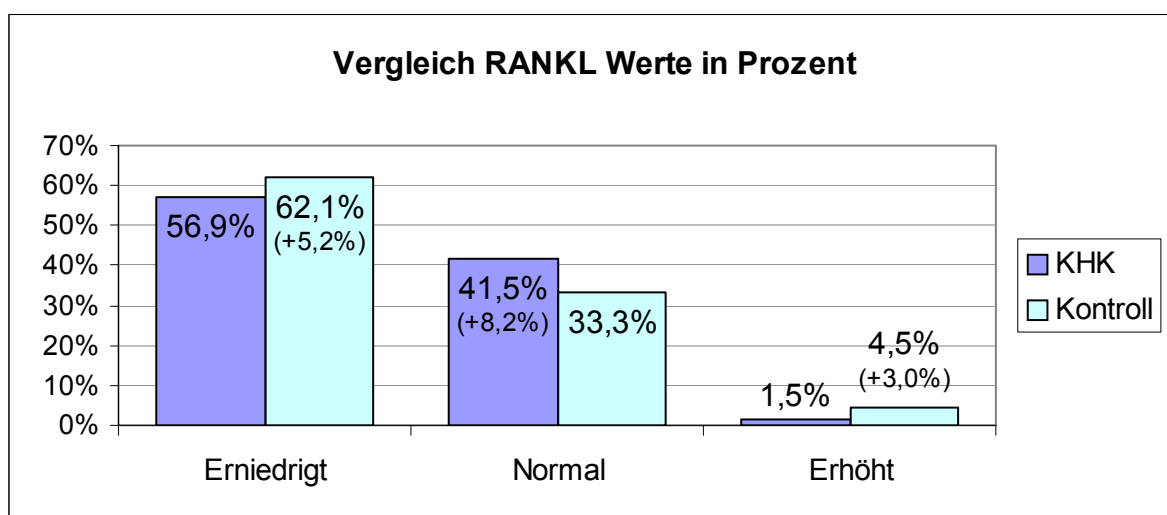


Abbildung 3.5.1: Vergleich der RANKL Prozent Werte der beiden Gruppen und die Differenz zwischen ihnen

Im Vergleich der beiden Gruppen zeigt sich somit, dass in der Kontrollgruppe mehr Werte erniedrigt (entspricht einem Plus von 5,2 %) und auch mehr erhöht sind (ein Plus von 3,0 %). Lediglich bei den Werten innerhalb des Referenzbereichs ist der Prozentsatz der KHK Gruppe höher, als der der Kontrollgruppe (ein Plus von 8,2 %).

Da vom Labor keine absoluten Werte unterhalb des Referenzbereichs ausgegeben worden sind, wurde nur die Verteilung der normalen und erhöhten RANKL Werte in den einzelnen Altersklassen beider Patientengruppen untersucht. Die Abbildung 3.5.2 zeigt die Verteilung der RANKL Werte in den Altersklassen der KHK; hierbei liegen 37 Werte unter, 27 Werte innerhalb und als starke Abweichung ein einziger Wert außerhalb des Referenzbereichs. Bei den Normwerten lässt sich ein leichter Gipfel in den 3. Altersklasse feststellen, ansonsten sind die Werte in den einzelnen Klassen relativ gleichmäßig verteilt.

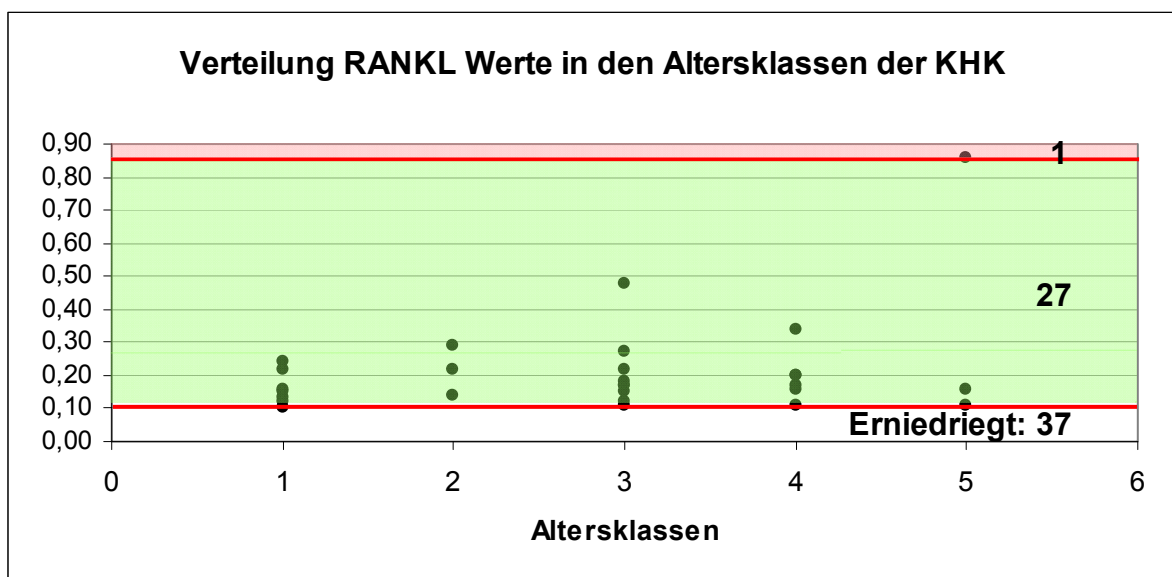


Abbildung 3.5.2: Verteilung der RANKL Werte in den Altersklassen der KHK Gruppe
Dabei begrenzen die roten Linien den grünen Referenzbereich nach oben und unten.

Bei der Kontrollgruppe sind insgesamt 41 Werte unter dem Normbereich, 22 innerhalb und nur drei Werte liegen darüber. Die drei Werte, die über dem Referenzbereich liegen, sind in der Altersklasse 1, 3 und 4 lokalisiert. Ansonsten ist die Verteilung der normalen Werte innerhalb der Altersklassen ausgeglichen. Die grafische Ausarbeitung dieser Daten ist in Abbildung 3.5.3 enthalten.

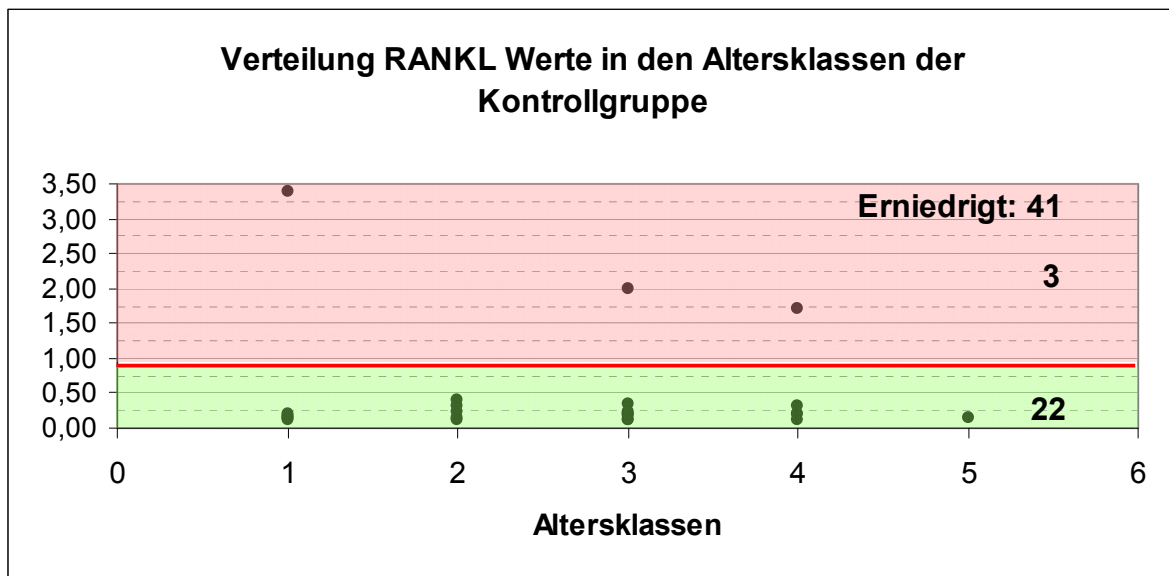


Abbildung 3.5.3: Verteilung der RANKL Werte in den Altersklassen der Kontrollgruppe
Die rote Linie markiert den grün unterlegten Normbereich nach oben.

3.5.1 RANKL und die Gewichtsverteilung

Die RANKL Werte sind, ebenso wie die OPG Werte, auf Korrelation mit dem BMI überprüft worden. Wenn man die erniedrigten Werte beider Gruppen in Zusammenhang mit den Gewichtsklassen stellt, erkennt man, dass über die Hälfte (51,4 % und 61,0 %) der Werte auf präadipöse Patienten entfallen. Die nächst größere Gruppe sind die Normalgewichtigen, mit 32,4 % in der KHK und 26,8 % in der Kontrollgruppe. Die Adipositas Grad I ist weniger vertreten (mit 13,5 % bzw. 12,2 %) und auf die Adipositas Grad II entfallen in KHK Gruppe lediglich 2,7 %; in der Kontrollgruppe existiert hier sogar kein einziger Wert. Vergleicht man die Aufteilung mit der allgemeinen Gewichtsverteilung beider Gruppen, fällt auf, dass sich diese zwar dabei widerspiegelt, aber mehr erniedrigte RANKL Werte auf präadipöse Patienten entfallen.

Es zeigt sich jedoch ein leicht verändertes Bild dieser Verteilung bei den normalen RANKL Werten. Zwar ist die Reihenfolge (Präadipositas, Normalgewicht, Adipositas Grad I und II) die gleiche, aber im Vergleich mit den Normalwerten sind weniger Patienten der Gruppen präadipös (KHK Gruppe 44,4 % und Kontrollgruppe 31,8 %) und mehr Patienten normalgewichtig (33,3 % und 36,4 %). Es verteilen sich ebenfalls mehr Werte auf die Adipositas Grad I (18,5 % und 22,7 %) und auch beim Grad II sind geringfügig mehr Werte vorhanden. Eine genaue grafische Aufarbeitung dieser Daten findet sich in Abbildung 3.5.4. Vergleicht man diese Werte

nun mit der Gewichtsverteilung der Gruppe, zeigt sich, dass bei den normalen RANKL Werten der KHK Gruppe geringfügig weniger Werte auf die Präadipositas entfallen und diese offenbar zur Adipositas Grad I umverteilt sind. Bei der Kontrollgruppe zeigt sich dahingegen eine Umverteilung von der Präadipositas zu den anderen drei Gewichtsgruppen.

Da nur insgesamt vier Werte (davon drei in der Kontrollgruppe) über dem Referenzbereich liegen, ist eine Auswertung der Verteilung des RANKL hierfür nicht sonderlich repräsentativ. In der Kontrollgruppe entfielen dabei zwei Werte auf die Adipositas Grad I (66,6 %) und ein Wert auf Grad II (33,3 %). Der einzige erhöhte Wert der KHK Gruppe gehört zur Präadipositas.

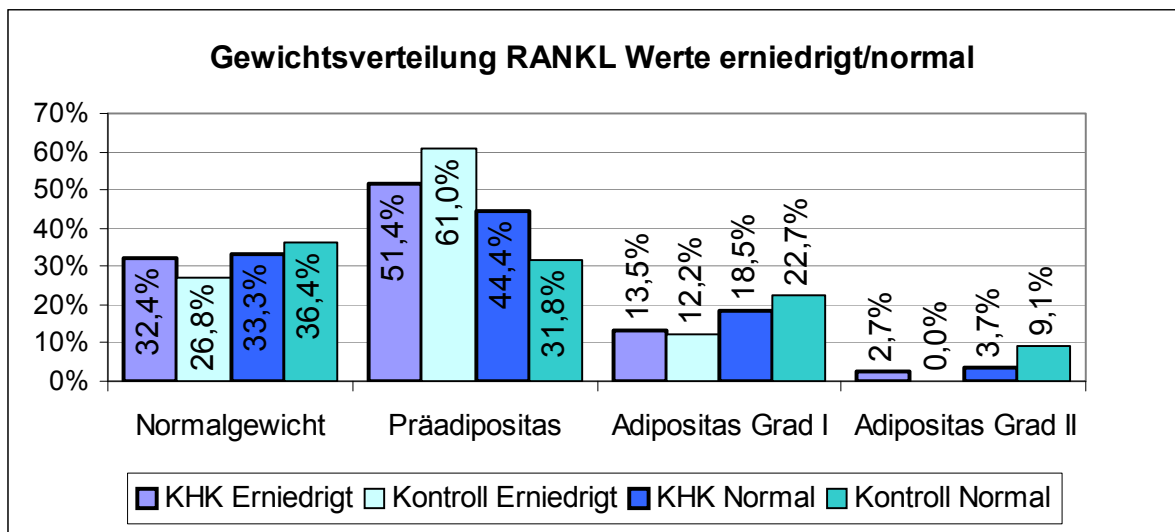


Abbildung 3.5.4: Gewichtsverteilung für die erniedrigten und normalen RANKL Werte in den beiden Patientengruppen

4 Diskussion

4.1 Interpretation der Ergebnisse

4.1.1 Risikofaktoren

Generell weist die Kontrollgruppe beinahe doppelt so viele Patienten ohne Risikofaktoren auf als die KHK Gruppe. Jedoch ist die Patientenanzahl bei einigen Risikofaktoren nahezu identisch (DM mit HL sowie bei allen drei Faktoren gemeinsam), wohingegen bei anderen Faktoren die Kontrollgruppe mehr Patienten hatte (HL, HT mit DM) und auch umgekehrt. Am signifikantesten ist der Unterschied bei Hypertonie mit Hyperlipidämie; hier hat die KHK Gruppe 14 Patienten mehr. Obwohl die Hyperlipidämie zu den Hauptrisikofaktoren der KHK zählt, sind in der Kontrollgruppe geringfügig mehr Patienten vorhanden (um drei mehr).

So sind, außer bei der kombinierten Hyperlipidämie mit Hypertonus und dem Vorkommen von keinerlei Risikofaktoren, keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zu erkennen.

Bemerkenswert ist auch der Umstand, dass in der KHK Gruppe die Patienten ohne Risikofaktoren an keine bestimmte Altersklasse gebunden sind, erwartet wurde eine Häufung in den jüngeren Altersklassen. Bei der Kombination von Hyperlipidämie mit Hypertonie zeigt sich in der KHK Gruppe eine Häufung in der Klasse 3. Ansonsten sind die Risikofaktoren in der KHK Gruppe überraschenderweise relativ gleichmäßig in den Altersklassen verteilt. Bei der Kontrollgruppe fällt auf, dass vermehrt in den jüngeren Altersklassen keine Risikofaktoren auftreten; bei den restlichen Faktoren ist aber ebenfalls eine relativ gleichmäßige Altersverteilung zu erkennen.

Im Zusammenhang mit den OPG Werten zeigen sich 10,6 % der Werte der Kontrollgruppe ohne Risikofaktoren erhöht. Von der Annahme ausgehend, dass ein erhöhtes OPG ein Indikator für eine KHK sein kann, könnten diese Patienten ein erhöhtes Risiko aufweisen, später eine manifeste KHK zu entwickeln.

Ein erniedrigter oder normaler RANKL Wert tritt am häufigsten ohne Assoziation zu Risikofaktoren, Hypertonie und bei der Kombination von Hypertonie mit Hyperlipidämie auf.

In Summe gesehen zeigt sich so, dass sowohl OPG als auch RANKL am häufigsten ohne Verbindung zu einem Risikofaktor auftreten. Darin spiegelt sich wohl aber auch die Risikoverteilung in den Gruppen wieder, da 26,2 % der KHK Patienten und 45,5 % der Kontrollgruppe keinerlei Risikofaktoren aufweisen. In diesem Licht gesehen, lässt sich daher kein kausaler Zusammenhang von Risikofaktoren und OPG sowie RANKL Werten herstellen. Dies deckt sich zum Teil auch mit den Ergebnissen von *Jono*, *Schoppet* und *Gannagé-Yared*. Anders als bei diesen Studien kann jedoch kein kausaler Zusammenhang von Diabetes mellitus und erhöhten OPG Werten festgestellt werden. [78–80]

4.1.2 Gewichtssituation der Patientengruppen

Nahezu die Hälfte der Patienten ist präadipös und lediglich etwa ein Drittel ist normalgewichtig; dabei gibt es zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede. Beim Vergleich mit den Altersklassen zeigt sich in beiden Patientengruppen eine leicht abfallende Tendenz der BMI Werte. Dies könnte in der höheren Morbidität und Mortalität von adipösen Patienten begründet sein, so dass weniger adipöse Patienten ein höheres Lebensalter erreichen. Nur in der jüngsten Altersklasse bilden die Normalgewichtigen die Mehrheit, in den Klassen 2 bis 4 sind dabei zumeist präadipösen und adipösen Patienten zu finden. Im Zusammenhang mit dem Grad der KHK sind bei der KHK III mehr Patienten adipös als bei der KHK II. Diese Beobachtung dürfte auf den Umstand zurückzuführen sein, dass ein erhöhter BMI ein Risikofaktor für die KHK darstellt.

4.1.3 OPG

In der KHK Gruppe ist öfter ein erhöhter Wert gemessen worden als in der Kontrollgruppe (um drei Patienten bzw. 5 % mehr). Zudem ist in der KHK Gruppe ein deutlicher Anstieg der OPG Werte mit dem Alter zu erkennen. Diese Beobachtung findet sich in leicht abgeschwächter Form auch in der Kontrollgruppe. Damit werden die Ergebnisse anderer Studien bestätigt. [39–42]

Interessanterweise zeigt die Altersklasse 1 der KHK Gruppe generell höhere OPG Werte an, als die Klasse 2 oder auch die gleiche Altersklasse der Kontrollgruppe. Diese höheren Werte bei den 40-49 Jährigen könnten der Beleg dafür sein, dass höhere OPG Werte in dieser Altersklasse auf eine KHK hinweisen.

Der Median in der KHK Gruppe ist jedoch nur in insgesamt drei Altersklassen größer als der, der Kontrollgruppe. In Summe gesehen kann daraus noch kein eindeutiger Trend zu generell höheren OPG Werten bei KHK Patienten abgeleitet werden. So können die Ergebnisse von *Crisafulli et al.*, dass KHK Patienten höhere OPG Level aufweisen, nicht sicher bestätigt werden. [77] Um eine gesicherte Aussage treffen zu können, muss das Ende der Studie abgewartet werden; mit je 75 Patienten in den Gruppen lässt sich eine eindeutigere Aussage treffen.

Die Gegenüberstellung der KHK Grade mit den jeweiligen Anteilen von normalen und erhöhten OPG Werten zeigt, dass in beiden Gruppen das Verhältnis von erhöhten und normalen OPG Werten annähernd gleich ist. Lediglich innerhalb der Normwerte sind die Werte der KHK III minimal höher als die der KHK II Patienten. Somit können die Resultate anderer Studien, wonach ein höherer KHK Grad mit erhöhten OPG Werten korreliert, nicht bestätigt werden. [42, 78, 79] Jedoch könnte die unterschiedliche Gruppengröße das Ergebnis beeinflusst haben; um diese These zu überprüfen, müssten beide Gruppen gleich groß sein.

Beim Vergleich von OPG und der Gewichtsverteilung der Patienten zeigt sich eine Umverteilung von normalen OPG Werten vermehrt zur Präadipositas hin, diese Kombination tritt so häufiger auf. Dies könnte auf eine positive Korrelation von normalen OPG Werten und der Präadipositas hinweisen. Dahingegen sieht man bei den erhöhten OPG Werten einen Shift von der Präadipositas vorwiegend zum Normalgewicht und geringer zur Adipositas Grad II hin. So weist die Präadipositas und das Normalgewicht in beiden Gruppen annähernd die gleiche Prozentzahl auf (je ca. 40 %). Damit widersprechen sich diese Beobachtungen mit den Ergebnissen anderer Studien, die keinen Zusammenhang von OPG und dem BMI detektieren konnten. [78–80]

4.1.4 RANKL

Generell sind in der Kontrollgruppe mehr RANKL Werte erniedrigt als in der KHK Gruppe; wobei in beiden Gruppen jeweils über die Hälfte der Werte erniedrigt sind. Dabei sind die Werte innerhalb des Normbereichs in den verschiedenen Altersklassen gleichmäßig verteilt. Somit gibt es keine Korrelation von normalem bzw. erhöhtem RANKL und dem Alter.

Bei der Gegenüberstellung von RANKL zu BMI und dem anschließendem Vergleich mit der allgemeinen Gewichtsverteilung, fällt auf dem ersten Blick zwar eine ähnliche Verteilung auf, aber bei genauerem Hinsehen, zeigt sich bei den erniedrigten Werten eine höhere Rate von Präadipösen.

Vergleicht man die normalen Werte der KHK Gruppe mit deren Gewichtsverteilung, entfallen geringfügig weniger Werte auf die Präadipositas und mehr auf die Adipositas Grad I. Führt man den selben Vergleich mit der Kontrollgruppe durch, zeigt sich eine Verschiebung der Präadipositas hin zu den anderen Gewichtsklassen.

Folglich zeigt sich eine positive Korrelation zwischen erniedrigten RANKL Werten und Präadipositas. Dies gilt gleichermaßen für beide Gruppen; wobei dieser Effekt in der Kontrollgruppe stärker ausgeprägt ist. Bei den normalen RANKL Werten kann dahingegen bei der KHK Gruppe eine Umverteilung von der Präadipositas zur Adipositas Grad I beobachtet werden, während bei der Kontrollgruppe der Prozentsatz der Präadipositas auf alle anderen Gewichtsklassen umverteilt ist.

4.2 Schlussfolgerungen

Da dies nur ein Zwischenbericht der Studie ist, sollte man das Ende der Studie abwarten um endgültige Schlussfolgerungen ziehen zu können. Daher sind die nachfolgenden Punkte nur ein vorläufiges Fazit.

- ✓ Patienten ohne Risikofaktor mit KHK sind an keine bestimmte Altersklasse gebunden.
- ✓ Risikofaktoren in der KHK Gruppe sind relativ gleichmäßig auf die verschiedenen Altersklassen verteilt.
- ✓ In der Kontrollgruppe haben vermehrt jüngere Patienten keine Risikofaktoren, die mit Risikofaktoren sind relativ gleichmäßig in den Altersklassen verteilt.
- ✓ Es ist kein Zusammenhang von vorhanden Risikofaktoren und erhöhten OPG Werten gefunden worden.
- ✓ Bei Patienten ohne Risikofaktoren, aber mit erhöhtem OPG Wert, könnte dies auf ein erhöhtes Risiko zur Entwicklung einer KHK hinweisen.
- ✓ Es ist kein signifikanter Unterschied bei der Verteilung des BMI in den beiden Patientengruppen festgestellt worden.
- ✓ In der KHK Gruppe sind mehr erhöhte OPG Werte gemessen worden; ob dies einen signifikante Beobachtung hat, kann erst nach Ende der Studie eindeutig festgestellt werden.
- ✓ Sowohl in der KHK als auch in der Kontrollgruppe kann eine Zunahme der OPG Werte im Alter nachgewiesen werden.
- ✓ In der Altersklasse 1 - der 40-49 Jährigen - der KHK Gruppe finden sich generell höhere OPG Werte als in der entsprechenden Kontrollgruppe oder der Altersklasse 2 – 50-59 Jährigen - der KHK Gruppe. Höhere OPG Werte in dieser Altersklasse könnten so Hinweise auf eine KHK geben.
- ✓ Beim Verhältnis von normalen zu erhöhten OPG Werten bei der KHK II und III zeigt sich kein Unterschied; lediglich der Mittelwert und Median der KHK III sind minimal höher als bei der KHK II.

- ✓ Normale OPG Werte korrelieren häufiger mit Präadipositas als mit den anderen Gewichtsklassen.
- ✓ Erhöhte OPG Werte zeigen eine Umverteilung von Präadipositas zum Normalgewicht hin, so dass beide Gewichtsklassen annähernd gleich groß sind.
- ✓ Die Anzahl der erniedrigten RANKL Werte ist in der Kontrollgruppe höher als in der KHK Gruppe.
- ✓ Die Verteilung der normalen RANKL Werte ist in den Altersklassen beider Gruppen gleichmäßig.
- ✓ Erniedrigte RANKL Werte korrelierten offenbar häufiger mit der Präadipositas; dieser Fakt ist in der Kontrollgruppe stärker ausgeprägt.
- ✓ Normale RANKL Werte verteilen sich anscheinend von der Präadipositas zu den anderen Gewichtsklassen um.

5 Literaturverzeichnis

- [1] Classen M. Innere Medizin: 1200 Tabellen, 200 Kasuistiken, 450 Zusammenfassungen, 180 Praxisfragen. 6., komplett überarb. München: Elsevier, Urban & Fischer; 2009.
- [2] Amling M. Innere Medizin: 395 Tabellen/Übersichten. 13., vollst. überarb. u. erw. Stuttgart [u.a.]: Thieme; 2010.
- [3] Herold G, Hrsg. Innere Medizin: Eine vorlesungsorientierte Darstellung. Köln; 2009.
- [4] Dornblüth O, Pschyrembel W. Pschyrembel Klinisches Wörterbuch: [... enthält ... 330 Tabellen]. 260th ed. Berlin [u.a.]: De Gruyter; 2004.
- [5] Arastéh K, Baenkler H. Innere Medizin: 643 Tabellen. 2., vollst. überarb. und erw. Stuttgart: Thieme; 2009.
- [6] Böcker W, Denk H, Heitz PU, Aguzzi A. Pathologie: Mit 164 Tabellen ; [Online-Zugang + interaktive Extras]. 3., völlig überarb. München [u.a.]: Elsevier, Urban und Fischer; 2006.
- [7] Dietel M, Harrison TR. Harrisons Innere Medizin. Deutsche Ausg. [der] 16. Aufl. in Zusammenarbeit mit der Charité. Berlin: ABW Wissenschaftsverlag; op. 2005.
- [8] Fanghänel J, Waldeyer AJ. Anatomie des Menschen. 17th ed. Berlin [u.a.]: De Gruyter; 2003.
- [9] Renz-Polster H, Krautzig S. Basislehrbuch Innere Medizin: Urban & Fischer bei Elsev; 2008.
- [10] Hamm CW, Willems S, Lutomsky B. Checkliste EKG. 3., vollst. überarb. Stuttgart: Thieme; 2007.
- [11] Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Lüthy R et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. Cell 1997; 89(2):309–19.
- [12] Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Mochizuki SI, Yano K, Fujise N et al. Identity of osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF) and osteoprotegerin

(OPG): a mechanism by which OPG/OCIF inhibits osteoclastogenesis in vitro. *Endocrinology* 1998; 139(3):1329–37.

- [13] Tsuda E, Goto M, Mochizuki S, Yano K, Kobayashi F, Morinaga T et al. Isolation of a novel cytokine from human fibroblasts that specifically inhibits osteoclastogenesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun* 1997; 234(1):137–42.
- [14] Kwon BS, Wang S, Udagawa N, Haridas V, Lee ZH, Kim KK et al. TR1, a new member of the tumor necrosis factor receptor superfamily, induces fibroblast proliferation and inhibits osteoclastogenesis and bone resorption. *FASEB J* 1998; 12(10):845–54.
- [15] Yun TJ, Chaudhary PM, Shu GL, Frazer JK, Ewings MK, Schwartz SM et al. OPG/FDCR-1, a TNF receptor family member, is expressed in lymphoid cells and is up-regulated by ligating CD40. *J. Immunol* 1998; 161(11):6113–21.
- [16] Yamaguchi K, Kinoshita M, Goto M, Kobayashi F, Tsuda E, Morinaga T et al. Characterization of structural domains of human osteoclastogenesis inhibitory factor. *J Biol Chem* 1998; 273(9):5117–23.
- [17] Tomoyasu A, Goto M, Fujise N, Mochizuki S, Yasuda H, Morinaga T et al. Characterization of monomeric and homodimeric forms of osteoclastogenesis inhibitory factor. *Biochem. Biophys. Res. Commun* 1998; 245(2):382–7.
- [18] Hilton MJ, Gutierrez L, Zhang L, Moreno PA, Reddy M, Brown N et al. An integrated physical map of 8q22-q24: use in positional cloning and deletion analysis of Langer-Giedion syndrome. *Genomics* 2001; 71(2):192–9.
- [19] Morinaga T, Nakagawa N, Yasuda H, Tsuda E, Higashio K. Cloning and characterization of the gene encoding human osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor. *Eur. J. Biochem* 1998; 254(3):685–91.
- [20] Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinoshita M, Mochizuki S et al. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 1998; 95(7):3597–602.
- [21] Collin-Osdoby P, Rothe L, Anderson F, Nelson M, Maloney W, Osdoby P. Receptor activator of NF-kappa B and osteoprotegerin expression by human

microvascular endothelial cells, regulation by inflammatory cytokines, and role in human osteoclastogenesis. *J. Biol. Chem* 2001; 276(23):20659–72.

- [22] Keck A. Knochenstoffwechsel bei malignen Erkrankungen. *Journal für Mineralstoffwechsel* 2003; 10(2):6–11.
- [23] Holen I, Croucher PI, Hamdy FC, Eaton CL. Osteoprotegerin (OPG) is a survival factor for human prostate cancer cells. *Cancer Res* 2002; 62(6):1619–23.
- [24] Mori K, Le Goff B, Charrier C, Battaglia S, Heymann D, Rédini F. DU145 human prostate cancer cells express functional receptor activator of NFkappaB: new insights in the prostate cancer bone metastasis process. *Bone* 2007; 40(4):981–90.
- [25] Holen I, Cross S, Neville-Webbe H, Cross N, Balasubramanian S, Croucher P et al. Osteoprotegerin (OPG) expression by breast cancer cells in vitro and breast tumours in vivo--a role in tumour cell survival? *Breast Cancer Res Treat* 2005; 92(3):207–15.
- [26] Fiumara P, Snell V, Li Y, Mukhopadhyay A, Younes M, Gillenwater AM et al. Functional expression of receptor activator of nuclear factor kappaB in Hodgkin disease cell lines. *Blood* 2001; 98(9):2784–90.
- [27] Takai H, Kanematsu M, Yano K, Tsuda E, Higashio K, Ikeda K et al. Transforming growth factor-beta stimulates the production of osteoprotegerin/osteoclastogenesis inhibitory factor by bone marrow stromal cells. *J. Biol. Chem* 1998; 273(42):27091–6.
- [28] Vidal ON, Sjögren K, Eriksson BI, Ljunggren O, Ohlsson C. Osteoprotegerin mRNA is increased by interleukin-1 alpha in the human osteosarcoma cell line MG-63 and in human osteoblast-like cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun* 1998; 248(3):696–700.
- [29] Hofbauer LC, Neubauer A, Heufelder AE. Receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and osteoprotegerin: potential implications for the pathogenesis and treatment of malignant bone diseases. *Cancer* 2001; 92(3):460–70.

- [30] Brändström H, Björkman T, Ljunggren O. Regulation of osteoprotegerin secretion from primary cultures of human bone marrow stromal cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun* 2001; 280(3):831–5.
- [31] Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, Lacey DL, Spelsberg TC, Riggs BL. Estrogen stimulates gene expression and protein production of osteoprotegerin in human osteoblastic cells. *Endocrinology* 1999; 140(9):4367–70.
- [32] Proposed standard nomenclature for new tumor necrosis factor family members involved in the regulation of bone resorption. The American Society for Bone and Mineral Research President's Committee on Nomenclature. *J Bone Miner Res* 2000; 15(12):2293–6.
- [33] Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 1998; 93(2):165–76.
- [34] Emery JG, McDonnell P, Burke MB, Deen KC, Lyn S, Silverman C et al. Osteoprotegerin is a receptor for the cytotoxic ligand TRAIL. *J. Biol. Chem* 1998; 273(23):14363–7.
- [35] Min H, Morony S, Sarosi I, Dunstan CR, Capparelli C, Scully S et al. Osteoprotegerin reverses osteoporosis by inhibiting endosteal osteoclasts and prevents vascular calcification by blocking a process resembling osteoclastogenesis. *J. Exp. Med* 2000; 192(4):463–74.
- [36] Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, Morony S, Tarpley J, Capparelli C et al. osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev* 1998; 12(9):1260–8.
- [37] Mizuno A, Amizuka N, Irie K, Murakami A, Fujise N, Kanno T et al. Severe osteoporosis in mice lacking osteoclastogenesis inhibitory factor/osteoprotegerin. *Biochem. Biophys. Res. Commun* 1998; 247(3):610–5.
- [38] Bekker PJ, Holloway D, Nakanishi A, Arrighi M, Leese PT, Dunstan CR. The effect of a single dose of osteoprotegerin in postmenopausal women. *J. Bone Miner. Res* 2001; 16(2):348–60.
- [39] Yano K, Tsuda E, Washida N, Kobayashi F, Goto M, Harada A et al. Immunological characterization of circulating osteoprotegerin/osteoclastogenesis

inhibitory factor: increased serum concentrations in postmenopausal women with osteoporosis. *J. Bone Miner. Res* 1999; 14(4):518–27.

- [40] Khosla S, Arrighi HM, Melton LJ, Atkinson EJ, O'Fallon WM, Dunstan C et al. Correlates of osteoprotegerin levels in women and men. *Osteoporos Int* 2002; 13(5):394–9.
- [41] Szulc P, Hofbauer LC, Heufelder AE, Roth S, Delmas PD. Osteoprotegerin serum levels in men: correlation with age, estrogen, and testosterone status. *J. Clin. Endocrinol. Metab* 2001; 86(7):3162–5.
- [42] Rhee E, Lee W, Kim S, Kim B, Sung K, Kim B et al. Relationship of serum osteoprotegerin levels with coronary artery disease severity, left ventricular hypertrophy and C-reactive protein. *Clin. Sci* 2005; 108(3):237–43.
- [43] Wong BR, Rho J, Arron J, Robinson E, Orlinick J, Chao M et al. TRANCE is a novel ligand of the tumor necrosis factor receptor family that activates c-Jun N-terminal kinase in T cells. *J. Biol. Chem* 1997; 272(40):25190–4.
- [44] Anderson DM, Maraskovsky E, Billingsley WL, Dougall WC, Tometsko ME, Roux ER et al. A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function. *Nature* 1997; 390(6656):175–9.
- [45] Wong BR, Josien R, Lee SY, Sauter B, Li HL, Steinman RM et al. TRANCE (tumor necrosis factor [TNF]-related activation-induced cytokine), a new TNF family member predominantly expressed in T cells, is a dendritic cell-specific survival factor. *J. Exp. Med* 1997; 186(12):2075–80.
- [46] Kodaira K, Mizuno A, Yasuda H, Shima N, Murakami A, Ueda M et al. Cloning and characterization of the gene encoding mouse osteoclast differentiation factor. *Gene* 1999; 230(1):121–7.
- [47] Lum L, Wong BR, Josien R, Becherer JD, Erdjument-Bromage H, Schlöndorff J et al. Evidence for a role of a tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha)-converting enzyme-like protease in shedding of TRANCE, a TNF family member involved in osteoclastogenesis and dendritic cell survival. *J. Biol. Chem* 1999; 274(19):13613–8.

- [48] Ikeda T, Kasai M, Utsuyama M, Hirokawa K. Determination of three isoforms of the receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and their differential expression in bone and thymus. *Endocrinology* 2001; 142(4):1419–26.
- [49] Kong YY, Feige U, Sarosi I, Bolon B, Tafuri A, Morony S et al. Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand. *Nature* 1999; 402(6759):304–9.
- [50] Kitazawa R, Kitazawa S, Maeda S. Promoter structure of mouse RANKL/TRANCE/OPGL/ODF gene. *Biochim. Biophys. Acta* 1999; 1445(1):134–41.
- [51] Kartsogiannis V, Zhou H, Horwood NJ, Thomas RJ, Hards DK, Quinn JM et al. Localization of RANKL (receptor activator of NF kappa B ligand) mRNA and protein in skeletal and extraskeletal tissues. *Bone* 1999; 25(5):525–34.
- [52] Croucher PI, Shipman CM, Lippitt J, Perry M, Asosingh K, Hijzen A et al. Osteoprotegerin inhibits the development of osteolytic bone disease in multiple myeloma. *Blood* 2001; 98(13):3534–40.
- [53] Zhang J, Dai J, Qi Y, Lin DL, Smith P, Strayhorn C et al. Osteoprotegerin inhibits prostate cancer-induced osteoclastogenesis and prevents prostate tumor growth in the bone. *J Clin Invest* 2001; 107(10):1235–44.
- [54] Nosaka K, Miyamoto T, Sakai T, Mitsuya H, Suda T, Matsuoka M. Mechanism of hypercalcemia in adult T-cell leukemia: overexpression of receptor activator of nuclear factor kappaB ligand on adult T-cell leukemia cells. *Blood* 2002; 99(2):634–40.
- [55] Hofbauer LC, Lacey DL, Dunstan CR, Spelsberg TC, Riggs BL, Khosla S. Interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha, but not interleukin-6, stimulate osteoprotegerin ligand gene expression in human osteoblastic cells. *Bone* 1999; 25(3):255–9.
- [56] Fuller K, Wong B, Fox S, Choi Y, Chambers TJ. TRANCE is necessary and sufficient for osteoblast-mediated activation of bone resorption in osteoclasts. *J. Exp. Med* 1998; 188(5):997–1001.

- [57] Kong YY, Yoshida H, Sarosi I, Tan HL, Timms E, Capparelli C et al. OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature* 1999; 397(6717):315–23.
- [58] Nakagawa N, Kinosaki M, Yamaguchi K, Shima N, Yasuda H, Yano K et al. RANK is the essential signaling receptor for osteoclast differentiation factor in osteoclastogenesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun* 1998; 253(2):395–400.
- [59] Hsu H, Lacey DL, Dunstan CR, Solovyev I, Colombero A, Timms E et al. Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 1999; 96(7):3540–5.
- [60] Tumor necrosis factor receptor superfamily member 11A precursor - Homo sapiens (Human); 25.01. [cited 20.02.]. Available from: URL:<http://www.uniprot.org/uniprot/Q9Y6Q6>.
- [61] Myers DE, Collier FM, Minkin C, Wang H, Holloway WR, Malakellis M et al. Expression of functional RANK on mature rat and human osteoclasts. *FEBS Lett* 1999; 463(3):295–300.
- [62] Zhang J, Fu M, Myles D, Zhu X, Du J, Cao X et al. PDGF induces osteoprotegerin expression in vascular smooth muscle cells by multiple signal pathways. *FEBS Lett* 2002; 521(1-3):180–4.
- [63] Min J, Kim Y, Kim Y, Kim E, Gho YS, Kang I et al. Vascular endothelial growth factor up-regulates expression of receptor activator of NF-kappa B (RANK) in endothelial cells. Concomitant increase of angiogenic responses to RANK ligand. *J. Biol. Chem* 2003; 278(41):39548–57.
- [64] Jones D, Nakashima T, Sanchez O, Kozieradzki I, Komarova S, Sarosi I et al. Regulation of cancer cell migration and bone metastasis by RANKL. *Nature* 2006; 440(7084):692–6.
- [65] Wittrant Y, Lamoureux F, Mori K, Riet A, Kamijo A, Heymann D et al. RANKL directly induces bone morphogenetic protein-2 expression in RANK-expressing POS-1 osteosarcoma cells. *Int J Oncol* 2006; 28(1):261–9.

- [66] Arai F, Miyamoto T, Ohneda O, Inada T, Sudo T, Brasel K et al. Commitment and differentiation of osteoclast precursor cells by the sequential expression of c-Fms and receptor activator of nuclear factor kappaB (RANK) receptors. *J. Exp. Med* 1999; 190(12):1741–54.
- [67] Hughes AE, Ralston SH, Marken J, Bell C, MacPherson H, Wallace RG et al. Mutations in TNFRSF11A, affecting the signal peptide of RANK, cause familial expansile osteolysis. *Nat. Genet* 2000; 24(1):45–8.
- [68] Koh J, Park BL, Kim DJ, Kim GS, Cheong HS, Kim T et al. Identification of novel RANK polymorphisms and their putative association with low BMD among postmenopausal women. *Osteoporos Int* 2007; 18(3):323–31.
- [69] Li J, Sarosi I, Yan XQ, Morony S, Capparelli C, Tan HL et al. RANK is the intrinsic hematopoietic cell surface receptor that controls osteoclastogenesis and regulation of bone mass and calcium metabolism. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* 2000; 97(4):1566–71.
- [70] Dougall WC, Glaccum M, Charrier K, Rohrbach K, Brasel K, Smedt T de et al. RANK is essential for osteoclast and lymph node development. *Genes Dev* 1999; 13(18):2412–24.
- [71] Price PA, June HH, Buckley JR, Williamson MK. Osteoprotegerin inhibits artery calcification induced by warfarin and by vitamin D. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol* 2001; 21(10):1610–6.
- [72] Morony S, Tintut Y, Zhang Z, Cattley RC, Van G, Dwyer D et al. Osteoprotegerin inhibits vascular calcification without affecting atherosclerosis in *ldlr*^{-/-} mice. *Circulation* 2008; 117(3):411–20.
- [73] Bennett BJ, Scatena M, Kirk EA, Rattazzi M, Varon RM, Averill M et al. Osteoprotegerin inactivation accelerates advanced atherosclerotic lesion progression and calcification in older *ApoE*^{-/-} mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol* 2006; 26(9):2117–24.
- [74] Kiechl S, Schett G, Wenning G, Redlich K, Oberhollenzer M, Mayr A et al. Osteoprotegerin is a risk factor for progressive atherosclerosis and cardiovascular disease. *Circulation* 2004; 109(18):2175–80.

- [75] Schoppet M, Preissner KT, Hofbauer LC. RANK ligand and osteoprotegerin: paracrine regulators of bone metabolism and vascular function. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol* 2002; 22(4):549–53.
- [76] Hofbauer LC, Schoppet M. Osteoprotegerin: a link between osteoporosis and arterial calcification? *Lancet* 2001; 358(9278):257–9.
- [77] Crisafulli A, Micari A, Altavilla D, Saporito F, Sardella A, Passaniti M et al. Serum levels of osteoprotegerin and RANKL in patients with ST elevation acute myocardial infarction. *Clin. Sci* 2005; 109(4):389–95.
- [78] Jono S, Ikari Y, Shioi A, Mori K, Miki T, Hara K et al. Serum osteoprotegerin levels are associated with the presence and severity of coronary artery disease. *Circulation* 2002; 106(10):1192–4.
- [79] Schoppet M, Sattler AM, Schaefer JR, Herzum M, Maisch B, Hofbauer LC. Increased osteoprotegerin serum levels in men with coronary artery disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab* 2003; 88(3):1024–8.
- [80] Gannagé-Yared M, Fares F, Semaan M, Khalife S, Jambart S. Circulating osteoprotegerin is correlated with lipid profile, insulin sensitivity, adiponectin and sex steroids in an ageing male population. *Clin. Endocrinol. (Oxf)* 2006; 64(6):652–8.
- [81] Clancy P, Oliver L, Jayalath R, Buttner P, Golledge J. Assessment of a serum assay for quantification of abdominal aortic calcification. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol* 2006; 26(11):2574–6.
- [82] Gogo P, Schneider D, Terrien E, Sobel B, Dauerman H. Osteoprotegerin is not associated with angiographic coronary calcification. *J Thromb Thrombolysis* 2006; 22(3):177–83.
- [83] Sandberg WJ, Yndestad A, Øie E, Smith C, Ueland T, Ovchinnikova O et al. Enhanced T-cell expression of RANK ligand in acute coronary syndrome: possible role in plaque destabilization. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol* 2006; 26(4):857–63.
- [84] Shin JY, Shin YG, Chung CH. Elevated serum osteoprotegerin levels are associated with vascular endothelial dysfunction in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2006; 29(7):1664–6.

- [85] Rasmussen LM, Tarnow L, Hansen TK, Parving H, Flyvbjerg A. Plasma osteoprotegerin levels are associated with glycaemic status, systolic blood pressure, kidney function and cardiovascular morbidity in type 1 diabetic patients. *Eur. J. Endocrinol* 2006; 154(1):75–81.
- [86] Xiang G, Xu L, Zhao L, Yue L, Hou J. The relationship between plasma osteoprotegerin and endothelium-dependent arterial dilation in type 2 diabetes. *Diabetes* 2006; 55(7):2126–31.
- [87] Anand DV, Lahiri A, Lim E, Hopkins D, Corder R. The relationship between plasma osteoprotegerin levels and coronary artery calcification in uncomplicated type 2 diabetic subjects. *J. Am. Coll. Cardiol* 2006; 47(9):1850–7.
- [88] Avignon A, Sultan A, Piot C, Mariano-Goulart D, Thuan Dit Dieudonné J, Cristol JP et al. Osteoprotegerin: a novel independent marker for silent myocardial ischemia in asymptomatic diabetic patients. *Diabetes Care* 2007; 30(11):2934–9.
- [89] Xiang G, Sun H, Zhao L. Changes of osteoprotegerin before and after insulin therapy in type 1 diabetic patients. *Diabetes Res. Clin. Pract* 2007; 76(2):199–206.
- [90] Anand DV, Lim E, Darko D, Bassett P, Hopkins D, Lipkin D et al. Determinants of progression of coronary artery calcification in type 2 diabetes role of glycemic control and inflammatory/vascular calcification markers. *J. Am. Coll. Cardiol* 2007; 50(23):2218–25.
- [91] Asanuma Y, Chung CP, Oeser A, Solus JF, Avalos I, Gebretsadik T et al. Serum osteoprotegerin is increased and independently associated with coronary-artery atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis. *Atherosclerosis* 2007; 195(2):e135-41.
- [92] Abedin M, Omland T, Ueland T, Khera A, Aukrust P, Murphy SA et al. Relation of osteoprotegerin to coronary calcium and aortic plaque (from the Dallas Heart Study). *Am. J. Cardiol* 2007; 99(4):513–8.
- [93] Helske S, Kovanen PT, Lindstedt KA, Salmela K, Lommi J, Turto H et al. Increased circulating concentrations and augmented myocardial extraction of

- osteoprotegerin in heart failure due to left ventricular pressure overload. *Eur. J. Heart Fail* 2007; 9(4):357–63.
- [94] Omland T, Drazner MH, Ueland T, Abedin M, Murphy SA, Aukrust P et al. Plasma osteoprotegerin levels in the general population: relation to indices of left ventricular structure and function. *Hypertension* 2007; 49(6):1392–8.
- [95] Kiechl S, Schett G, Schwaiger J, Seppi K, Eder P, Egger G et al. Soluble receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand and risk for cardiovascular disease. *Circulation* 2007; 116(4):385–91.
- [96] Omland T, Ueland T, Jansson AM, Persson A, Karlsson T, Smith C et al. Circulating Osteoprotegerin Levels and Long-Term Prognosis in Patients With Acute Coronary Syndromes. *Journal of the American College of Cardiology* 2008; 51(6):627–33.
- [97] Kadoglou NPE, Gerasimidis T, Golemati S, Kapelouzou A, Karayannacos PE, Liapis CD. The relationship between serum levels of vascular calcification inhibitors and carotid plaque vulnerability. *J. Vasc. Surg* 2008; 47(1):55–62.
- [98] Siepi D, Marchesi S, Vaudo G, Lupattelli G, Bagaglia F, Pirro M et al. Pre-clinical vascular damage in white postmenopausal women: the relevance of osteoprotegerin. *Metab. Clin. Exp* 2008; 57(3):321–5.
- [99] Golledge J, Leicht AS, Crowther RG, Glanville S, Clancy P, Sangla KS et al. Determinants of endothelial function in a cohort of patients with peripheral artery disease. *Cardiology* 2008; 111(1):51–6.
- [100] Semb AG, Ueland T, Aukrust P, Wareham NJ, Luben R, Gullestad L et al. Osteoprotegerin and soluble receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and risk for coronary events: a nested case-control approach in the prospective EPIC-Norfolk population study 1993-2003. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol* 2009; 29(6):975–80.
- [101] Lieb W, Gona P, Larson MG, Massaro JM, Lipinska I, Keaney JF et al. Biomarkers of the osteoprotegerin pathway: clinical correlates, subclinical disease, incident cardiovascular disease, and mortality. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol* 2010; 30(9):1849–54.

- [102] O'Sullivan EP, Ashley DT, Davenport C, Devlin N, Crowley R, Agha A et al. Osteoprotegerin and biomarkers of vascular inflammation in type 2 diabetes. *Diabetes Metab. Res. Rev* 2010; 26(6):496–502.
- [103] WHO :: Global Database on Body Mass Index [cited 20.03.]. Available from: URL:http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html.

