

David Ing Hoa Budiman  
Dr. med.

## **Tag-/Nacht-Rhythmik der Pyridinium-Crosslinks (Gesamt- und freies Pyridinolin und Gesamt- und freies Desoxypyridinolin) im Vergleich von Männern, prämenopausalen Frauen und postmenopausalen Frauen mit und ohne Hormonsubstitution**

Geboren am 14.09.1968 in Zweibrücken  
Reifeprüfung am 23.06.1987 in Bingen  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1989 bis WS 1995  
Physikum am 20.03.1991 an der Universität Heidelberg  
Klinisches Studium in Heidelberg  
Praktisches Jahr in Boston/Cambridge, U.S.A. und in Bad Mergentheim  
Staatsexamen am 14.11.1995 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Laboratoriumsmedizin  
Doktorvater: Prof. Dr. med. H. Schmidt-Gayk

Ziel dieser Studie war es, den für die klinische Analytik der im Urin ausgeschiedenen Pyridinium-Crosslinks günstigsten Entnahmezeitpunkt zu bestimmen, um postmenopausale Frauen in osteoporotischer Stoffwechsellage rechtzeitig zu erkennen. Pyridinolin (PYD) und Desoxy-Pyridinolin (DPD) gelten als spezifische Marker der Knochenresorption; dabei weist DPD eine höhere Spezifität als PYD auf. Neben Gesamt-Pyridinolin (tPYD) und Gesamt-Desoxypyridinolin (tDPD) wurden auch deren freien Anteile (fPYD bzw. fDPD) mithilfe der weithin anerkannten HPLC-Technik (modifizierte Methode nach Black) bei 36 prämenopausalen Frauen, 30 postmenopausalen Frauen ohne Hormonsubstitution und 11 postmenopausalen Frauen mit Hormonsubstitution untersucht. 13 Männer wurden mituntersucht, um ihre Eignung als Kontrollgruppe zu verifizieren. Die Einteilung in prä- und postmenopausal erfolgte nach dem Zeitpunkt der letzten Regelblutung. Zur Erstellung eines Ausscheidungstagesprofils wurden pro Proband zwei 24h-Sammelurine über jeweils 5 Einzelportionen gewonnen und die Einzelwerte pro Tageszeitpunkt gemittelt. Gesammelt wurde zu folgenden Tageszeiten: 10h, 13h, 17h, 22h und 7h am darauffolgenden Tag. Bekannte Confounding-Faktoren wie Nikotin, Medikamenteneinnahme, Sport und Body-Mass-Index wurden statistisch miterfasst, hatten aber wegen der geringen Anzahl der davon betroffenen Probanden keinen signifikanten Einfluß auf die Studienergebnisse.

Alle vier Gruppen hatten für alle untersuchten Pyridinium-Crosslink-Arten eine vergleichbare Ausscheidungstagesrhythmik mit einem Gipfel um 10.00 Uhr und einer Senke am frühen Abend. Das Verhältnis der freien Pyridinoline zu den Gesamt-Pyridinolen stimmte bei allen vier Gruppen gut überein. Die Gruppe der postmenopausalen Frauen ohne Hormonsubstitution wies bei allen vier Pyridinium-Crosslink-Arten deutlich höhere Werte auf als die anderen drei Gruppen. Demgegenüber hatte die Gruppe der prämenopausalen Frauen auch in der Höhe der Pyridinolinausscheidung vergleichbare Werte mit der Gruppe der postmenopausalen hormonsubstituierten Frauen. Die Gruppe der prämenopausalen Frauen unterschied sich von der Gruppe der Männer signifikant nur bei der tPYD- und fPYD-Ausscheidung des 1. und 2. Morgenurins; beim knochenstoffwechselrelevanteren tDPD und fDPD gab es dagegen keine signifikanten Unterschiede. Separate Referenzwerte für Männer und prämenopausale Frauen sind dennoch zu empfehlen, da die absolute Pyridinolinausscheidung und die Kreatininausscheidung der Gruppe der Männer sich signifikant von der Gruppe der prämenopausalen Frauen unterschied. Bei den freien Pyridinolen konnte ein signifikanter Unterschied

zwischen prämenopausalen Frauen und postmenopausalen Frauen ohne Hormonsubstitution ebenso nachgewiesen werden wie dies für die Gesamt-Pyridinoline schon lange bekannt ist. Dennoch schnitten die freien (HPLC)-Pyridinoline wegen der niedrigeren Konzentrationen und dem dadurch bedingten höheren Meßfehler durchweg schlechter ab als die Gesamt-Pyridinoline und sind daher nicht für die Routineanalytik zu empfehlen. Die eigenen Gruppen der prämenopausalen Frauen und der postmenopausalen unsubstiierten Frauen waren den entsprechenden Gruppen aus der Knörzer-Studie nicht nur in der Tagesrhythmik, sondern auch in der Ausscheidungshöhe von tPYD und tDPD vergleichbar. Dies war aufgrund nahezu identischer Versuchsbedingungen zu erwarten. Geringfügige Unterschiede in der Ausscheidung von tPYD und tDPD konnten auf Altersunterschiede zurückgeführt werden.

Für den Altersgruppenvergleich wurden 73 prämenopausale Frauen und 67 postmenopausale unsubstiierte Frauen auf jeweils drei 10-Jahreskohorten verteilt. Dabei wurden die Einzeldaten von 41 prämenopausalen Frauen und 40 postmenopausalen Frauen ohne Hormonsubstitution aus der Dissertation von Thomas Knörzer, Universität Heidelberg, 1998, mitverwendet. Bei der Analyse der Altersgruppen zeigte sich, daß es signifikante Unterschiede in der Ausscheidungshöhe von tPYD und tDPD innerhalb der 10-Jahreskohorten der postmenopausalen unsubstiierten Frauen gab. Im Mittel stiegen die tPYD-Werte um 10 % und die tDPD-Werte um 7 % von einer 10-Jahreskohorte zur nächsthöheren an. Darüber hinaus zeigten signifikante Unterschiede in der tPYD- und zum Teil auch in der tDPD-Ausscheidung innerhalb der 10-Jahreskohorten der prämenopausalen Frauen, daß eine Altersanpassung selbst der prämenopausalen Kontrollgruppen bei künftigen Studien von Vorteil ist. Insbesondere ein hoher Anteil von unter 30jährigen Frauen in der Kontrollgruppe könnte wegen deren jugendlicher hoher Knochenstoffwechselaktivität einen Nachweis einer osteoporotischen Stoffwechsellaage bei frühpostmenopausalen Frauen unmöglich machen. Bei der Gegenüberstellung der für einen Vergleich von prämenopausalen Frauen und postmenopausalen, nicht hormonsubstituierten Frauen günstigsten Altersgruppen – dies waren die Gruppe der 40-49jährigen prämenopausalen Frauen und die Gruppe der 70-79jährigen postmenopausalen Frauen ohne Hormonsubstitution - stellte sich heraus, daß sich die höchsten statistischen Unterschiede, d.h. die größten z-Werte und die kleinsten p-Werte, beim 17.00 Uhr- und 22.00 Uhr-Urin auf der einen, beim 1. Morgenurin auf der anderen Seite feststellen ließen. Ein gesteigerter Knochenabbau zeigt sich also am besten in der Endphase des Knochenstoffwechsels: Der 17.00 Uhr- und 22.00 Uhr-Urin enthält den tageszeitlichen Tiefpunkt der Knochenresorption, der 1. Morgenurin den nächtlichen Höhepunkt der Knochenresorption. In der Änderungsphase werden die z- und p-Werte schlechter. Da aber die Pyridinolin-Konzentrationen beim 17.00- und 22.00 Uhr-Urin niedriger liegen und somit der Meßfehler in Form von höheren Varianzen größer ist, ist der 1. Morgenurin für die klinische Analytik zu bevorzugen.