

Aus der Orthopädischen Klinik der
Heinrich-Heine Universität Düsseldorf

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Rüdiger Krauspe

**Untersuchung des Labormarkers Deoxypyridinolin
im Rahmen der Diagnose, Therapie,
Verlaufskontrolle und Prognose
des Morbus Perthes**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät
der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Anna Eva Kalke
2010

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.: Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf
Dekan

Referent: Priv. Doz. Dr. med. B. Westhoff

Koreferent: Priv. Doz. Dr. med. J.-S. Krüssel

Meinen Eltern und Jens

I Inhaltsverzeichnis

I	Inhaltsverzeichnis	1
II	Abkürzungsverzeichnis	4
III	Abbildungsverzeichnis	6
IV	Tabellenverzeichnis	7
1	Einleitung	8
1.1	Morbus Perthes	8
1.1.1	Allgemeines	8
1.1.2	Historischer Überblick	8
1.1.3	Ätiologie	9
1.1.4	Pathogenese	10
1.1.5	Epidemiologie	11
1.1.6	Klinisches Erscheinungsbild	11
1.1.7	Diagnostik	12
1.1.8	Röntgenmorphologischer Verlauf und Klassifikation	13
1.1.8.1	Stadieneinteilung nach Waldenström	13
1.1.8.2	Einteilung nach Catterall	15
1.1.8.3	Vereinfachte Klassifikation von Salter und Thompson	16
1.1.8.4	Klassifikation nach Herring	16
1.1.8.5	Röntgenologische „Head-at-Risk-Signs“	17
1.1.9	Therapie	18
1.1.9.1	Konservative Therapie	18
1.1.9.2	Operative Therapie	19
1.1.10	Prognose	19
1.2	Knochenabbauprodukte	23
1.2.1	Allgemeine Einführung	23
1.2.2	Metabolische Vorgänge am Knochen	23
1.2.2.1	Aufbau des Knochens	23
1.2.2.1.1	Interzellulärsubstanz	23
1.2.2.1.2	Knochenzellen	25
1.2.2.2	Ossifikation	26
1.2.2.3	Basic Multicellular Units	26
1.2.3	Struktur, Synthese, Vorkommen und Funktion von Pyridinium Verbindungen	27
1.2.4	Freisetzung der Pyridinium-Verbindungen	29
1.2.5	Freie und peptidgebundene Crosslinks	29
1.2.6	Bestimmungsmethoden der Kollagencrosslinks	30

1.2.7	Crosslinks und indirekte Einflussfaktoren	31
1.2.7.1	Laborchemische Eigenschaften der Crosslinks	31
1.2.7.2	Werte bei Kindern und Unterschiede im Alter bzw. Geschlecht	32
1.2.7.3	Einfluss der Nahrung	33
1.2.7.4	Tageszeitliche Schwankungen	33
1.2.8	Abhängigkeit der Crosslinks von Nierenfunktion und Bezug der Messwerte auf Kreatinin	33
1.2.9	Crosslinks und andere Erkrankungen	34
2	Zielsetzung der Doktorarbeit und Hypothese	36
2.1	Zielsetzung	36
2.2	Hypothese	37
3	Material und Methoden	38
3.1	Material	38
3.1.1	Studienkollektiv	38
3.1.1.1	Patienten	38
3.1.1.2	Kontrollgruppe	39
3.1.2	Gewinnung, Sammlung und Asservierung der Proben	40
3.1.2.1	Urin der Patienten	40
3.1.2.2	Urin der Kontrollgruppe	40
3.2	Methoden	41
3.2.1	Bestimmung des freien Deoxypyridinolin	41
3.2.2	Bestimmung von Kreatinin	42
3.2.3	Röntgenologische Diagnostik	43
3.2.4	Statistische Analyse	44
3.2.5	Berechnung der Kosten der laborchemischen Untersuchungen	45
4	Ergebnisse	46
4.1	Patienten und Kontrollgruppe	46
4.2	Geschlechtsverteilung	46
4.2.1	Geschlechtsverteilung der Patienten	46
4.2.2	Geschlechtsverteilung der Kontrollgruppe	47
4.3	Altersverteilung	48
4.3.1	Altersverteilung der Patienten	48
4.3.2	Altersverteilung der Kontrollgruppe	49
4.4	Erkrankungsseite	49
4.5	Stadium der Erkrankung	50
4.5.1	Stadien nach Waldenström bei Erstvorstellung / Studieneintritt	50

4.5.2	Klassifikation nach Catterall bei Erstvorstellung / Studieneintritt	51
4.5.3	Klassifikation nach Herring bei Erstvorstellung / Studieneintritt	52
4.6	Dauer der Erkrankung	53
4.7	Analyse der Werteverteilung	54
4.8	Statistische Analyse der DPD/Krea Werte	55
4.8.1	DPD/Krea in Bezug auf Waldenström	55
4.8.1.1	Intra-individuelle Variabilität	57
4.8.1.2	Friedman-Test	57
4.8.1.3	Wilcoxon-Test	57
4.8.1.4	Mann-Whitney-Test	58
4.8.2	DPD/Krea in Bezug auf Catterall und Herring	59
4.8.3	Kostenrechnung für Laborbestimmungen	60
5	Diskussion	63
5.1	Einleitung	63
5.2	Physiologische DPD/Krea-Ausscheidung im Kindesalter im Vergleich zum Erwachsenenalter	64
5.3	DPD/Krea-Ausscheidung bei Kindern mit Morbus Perthes	65
5.3.1	Auswertung der Veränderung des Deoxypyridinolin im Urin in Abhängigkeit vom Krankheitsstadium	67
5.3.2	Veränderung des Deoxypyridinolin im Urin in Abhängigkeit vom Schweregrad des Morbus Perthes	68
5.4	Analyse der zusätzlichen Kosten bei routinemäßiger Durchführung der Deoxypyridinolin-Bestimmung im Urin im Rahmen des Morbus Perthes	70
5.5	Schlussfolgerung	72
6	Zusammenfassung	74
7	Literaturverzeichnis	76
8	Danksagung	83
9	Curriculum Vitae	84
10	Abstract	85

II Abkürzungsverzeichnis

a.p.	anterior-posterior
Abb.	Abbildung
BB	Blutbild
BSG	Blutsenkung
D	Dalton
dl	Deziliter
DPD	Deoxypyridinolin
DPD/Krea	Deoxypyridinolin im Urin bezogen auf Kreatinin
ED	Erstdiagnose
END	Endstadium
FR	Fragmentationsstadium
g	Schleuderziffer beim Zentrifugieren, x-fach der Erdbeschleunigung
GOÄ	Gebührenordnung für Ärzte
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IGF	Insulin-like Growth Faktor
IL-1,-6	Interleukin-1 und 6
IN	Initialstadium
k	Zahl der Testung
KO	Kondensationsstadium
Krea	Kreatinin
M.	Morbus
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mmol	Millimol
MRT	Magnetresonanztomographie
n	Anzahl
n/a	not applicable
nmol	Nanomol
nmol/l	Nanomol pro Liter
NO	Normalkollektiv bzw. Kontrollgruppe
PGE	Prostaglandin E
pmol	Pikomol
PPD	Chemilumineszenz-Substrat
p-Wert	Überschreitungswahrscheinlichkeit oder Irrtumswahrscheinlichkeit
PYD	Pyridinolin

r	Rangkorrelation
REP	Reparationsstadium
RF	Rheumafaktor
Std-Abweichung	Standardabweichung
STH	Somatotrophes Hormon
Tab.	Tabelle
TNF- α	Tumor-Nekrose-Faktor- α
UV	Ultraviolettstrahlung, ultraviolettes Licht
VDO	varisierende derotierende Umstellungsosteotomie des Femurs
γ -Strahlung	Gammastrahlung
$^{\circ}\text{C}$	Grad Celsius
μl	Mikroliter
$\mu\text{mol/l}$	Mikromol pro Liter

III Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Röntgenbild Initialstadium	13
Abb. 2:	Röntgenbild Kondensationsstadium	14
Abb. 3:	Röntgenbilder Fragmentationsstadium	14
Abb. 4:	Röntgenbild Reparationsstadium	15
Abb. 5:	Röntgenbilder Endstadium: Sphärische Kongruenz	21
Abb. 6:	Röntgenbild Endstadium: Asphärische Kongruenz	21
Abb. 7:	Röntgenbild Endstadium: Asphärische Inkongruenz	21
Abb. 8:	Deoxypyridinolin (DPD)	28
Abb. 9:	Pyridinolin (PYD)	28
Abb. 10:	Geschlechtsverteilung Patienten	46
Abb. 11:	Geschlechtsverteilung Kontrollgruppe	47
Abb. 12:	Altersverteilung Patienten	48
Abb. 13:	Altersverteilung Kontrollgruppe	49
Abb. 14:	Erkrankungsseite	49
Abb. 16:	Stadien nach Waldenström	50
Abb. 17:	Klassifikation nach Catterall	51
Abb. 18:	Klassifikation nach Herring	52
Abb. 19:	Dauer der Erkrankung von Erstvorstellung bis Endstadium	53
Abb. 21:	DPD/KREA (nmol/mmol) in Abhängigkeit von den röntgenologischen Stadien nach Waldenström im Vergleich zu Kontrollgruppenwerten.	56

IV Tabellenverzeichnis

Tab. 1:	Quotient DPD/Krea bei M. Perthes in Abhängigkeit vom Röntgen-Stadium nach Waldenström im Vergleich zum Normalkollektiv	55
Tab. 2:	DPD/Krea_Werte (nmol/mmol) im Verhältnis zum Ausmaß der Epiphysennekrose während des Fragmentationsstadiums nach der Catterall Klassifikation	59
Tab. 3:	DPD/Krea Werte (nmol/mmol) im Verhältnis zum Ausmaß der Epiphysennekrose während des Fragmentationsstadiums nach der Herring Klassifikation	60
Tab. 4:	Kostenübersicht nach GOÄ von aktuell zu bestimmenden Routineparameter zum Ausschluss anderer Erkrankungen bei ED des Morbus Perthes	61
Tab. 5:	Kostenübersicht nach GOÄ für Bestimmung des DPD/Krea im Urin	61
Tab. 6:	Kostenübersicht nach GOÄ für Bestimmung der Tumormarker als Verlaufskontrolle einiger Malignome	71

1 Einleitung

1.1 Morbus Perthes

1.1.1 Allgemeines

Der Morbus Perthes wird dem Formenkreis der aseptischen, ischämischen Osteonekrosen zugeordnet. In dieser Gruppe stellt er die häufigste Erkrankung dar. Der Morbus Perthes ist eine selbstlimitierende, im Wachstumsalter auftretende Erkrankung, die die proximale Femurepiphyse betrifft. [84].

1.1.2 Historischer Überblick

Es ist fast ein Jahrhundert her, dass das Krankheitsbild des Morbus Perthes erstmals beschrieben wurde. Mehrere Wissenschaftler aus verschiedenen Ländern veröffentlichten ihre Arbeiten unabhängig voneinander.

Der Schwede Henning Waldenström (1877-1972) beschrieb die kindliche Hüftkopfnekrose 1909 in der Zeitschrift für orthopädische Chirurgie als „oberen tuberkulösen Collumherd“ [129].

Der Amerikaner Arthur Thornton Legg (1874-1939) berichtete 1909 vor der Amerikanischen Orthopädischen Gesellschaft in Hartford über Erkrankungen des Hüftgelenks bei Kindern. 1910 veröffentlichte er ein auf dem Kongress vorgestelltes Krankheitsbild unklarer Genese unter dem Titel „An obscure affection of the hip joint“ [129].

Auch der Franzose Jacques Calvé (1875-1954) publizierte im Juli 1910 eine Arbeit über eine besondere Form der Pseudocoxalgie [129].

Schließlich im Oktober 1910 legte der Deutsche Georg Clemens Perthes (1869-1927) seine Arbeit mit dem Titel „Über die Arthritis deformans juvenilis“ vor [129].

Da die Beschreibungen der einzelnen Autoren unabhängig voneinander erschienen und auch ihre Nationalitäten verschieden waren, ist bis heute die Namensgebung für diese Erkrankung international nicht einheitlich. Im deutschsprachigen Raum wird der Name „Morbus Perthes“ verwendet, im französischen spricht man von „Maladie de Legg Perthes Calvé“, im angloamerikanischen „Legg-Calvé-Perthes-Disease“ (LCPD) und die Skandinavier verwenden Waldenströms Vorschlag „Coxa Plana“. Eine weitere Bezeichnung ist „Osteochondrosis deformans coxae juvenilis“.

Seit der Zeit der Erstbeschreibung gab es verschiedene historische Ansichten über die Ätiologie des Morbus Perthes.

Waldenström ging von einer Tuberkuloseform aus [154][155]. Er beschrieb als mögliche Ursache eine tuberkulöse Embolie und verweist somit bereits auf eine ischämische Pathogenese.

Legg hingegen ging von einem traumatischen Ereignis aus [90]. Eine durch das Trauma bedingte reaktive Hyperämie führt seiner Ansicht nach zur Verbreiterung des Schenkelhalses, wodurch die arterielle Versorgung der Femurepiphyse gestört wird.

Calvé diskutierte einen Zusammenhang mit Rachitis [23].

Perthes ging von einer bakteriellen Infektion im Säuglingsalter aus und sah darin die Ursache für die gestörte arterielle Versorgung [108].

1.1.3 Ätiologie

Seit fast einem Jahrhundert gibt es Bemühungen, die Ätiologie des Morbus Perthes zu klären. Obwohl die Ursachenforschung bis heute nicht abgeschlossen ist, wird eine Verminderung oder Unterbrechung der Blutversorgung mit nachfolgender Mangelnutrition des Femurkopfes als Ursache allgemein anerkannt.

Es gibt verschiedene Veröffentlichungen zur Klärung der Lokalisation der Gefäßstörung. Einige wesentliche Thesen sollen im Folgenden kurz angesprochen werden.

Besonders favorisiert wird die Theorie der „Minusvariante der Gefäßversorgung als primär hypoplastische Gefäßanlage“. Zusätzliche Faktoren wie z.B. regionäre Thrombosen führen zu einer manifesten Ischämie mit Unterbrechung der Blutzirkulation im epiphysären Anteil des Hüftkopfes [84].

Die experimentellen Arbeiten von Dustmann und Schulitz [43][128] führen zu der Ansicht, dass eine Gefäßschädigung auf der arteriellen Seite des Gefäßsystems vorliegen muss. Diesen Wissenschaftlern ist es nicht gelungen durch Unterbrechung des venösen Schenkels bei Schweinen in der Wachstumsphase eine Nekrose des Hüftkopfes herbeizuführen. Dadurch wird die venöse Pathogenese sehr unwahrscheinlich.

Im Gegensatz zu Schulitz und Dustmann, denen die Auslösung einer Nekrose durch venöse Stase nicht gelang, war Barta [7] durch intraartikuläre Drucksteigerung im Tierversuch mit Kaninchen erfolgreich. Auch Ferguson und Howorth [52] diskutierten die auf der intraartikulären Drucksteigerung basierenden und durch Kompression bedingten Gefäßverschlüsse.

Calvé [23] und Axhausen [4] diskutieren entzündliche Vorgänge. Axhausen zieht dabei auch die Theorie der mykotischen Embolie in Erwägung.

Legg [90][91], Zemansky [159], Bernbeck [12], Hipp [70] und Inoue [72][73] vermuten traumatische Ursachen. Die dabei einwirkenden Scherkräfte sollen zu einer Gefäßunterbrechung führen. Des Weiteren werden auch Überlastungs- oder auch Dauertraumen angesprochen. Der daraus resultierende Gefäßverschluss führt zum gleichen Ergebnis wie bei einem akuten Trauma.

Mau [93][94][95] beschreibt in seinen Publikationen eine Skelettretardierung als Ursache für die Stase in den zuführenden Gefäßen. Das Auftreten der Skelettretardierung beim Morbus Perthes führte zu der Annahme, dass eine

1 Morbus Perthes

allgemeine Skeletterkrankung Ursache sei. Diese „epiphysär-enchondrale Dysostose“ führt nach Mau zu einer chronischen Überbelastung des Hüftkopfes.

Batory [8] macht kongenitale Faktoren, wie Gefäßanomalien für die Entstehung von Morbus Perthes verantwortlich.

In der Literatur wird auch eine Gerinnungsstörung in Betracht gezogen. Chiari und Frank beschrieben 1953 eine Verkürzung der Prothrombinzeit bei den an Morbus Perthes erkrankten Kindern, Glueck et al. beschrieben 1996 einen Mangel an Antithrombosedefaktoren C oder S als mögliche Ursache des Morbus Perthes [59][129].

Eine weitere Überlegung Bernbecks [12] ist die genetische Disposition. Hierfür spricht das seltenere Vorkommen dieser Erkrankung bei Polynesiern, Indianern, Schwarzen, und Aborigines [71][19].

Im Gegensatz dazu misst Wynne-Davis [158] den sozialen Faktoren eine größere Bedeutung bei.

Da Hüftkopfnekrosen im Erwachsenenalter durch Fettstoffwechselstörungen ausgelöst werden können, wäre es möglich, dass sie auch zu Entstehung der Juvenilen Nekrose beitragen. Zu dieser These fehlen jedoch noch Studien [129].

Schließlich wurde auch der Zusammenhang zwischen Insulin-like Growth Faktor 1, dem Somatomedin C und Morbus Perthes untersucht. Erniedrigte Level des Somatomedin C bzw. IGF-1 während der Morbus Perthes Erkrankung beschreiben Neidel, Zander und Hackenbroich [102][103].

Es gibt Theorien, die sich nicht bestätigt haben.

Schulitz und Dustmann [129] schließen Ernährungsstörungen aus, da Länder mit Unterernährung keine erhöhte Rate bezüglich M. Perthes aufweisen.

Zusammenfassend darf lediglich die Ischämie des Hüftkopfes als gesichert angesehen werden.

1.1.4 Pathogenese

Zu Beginn der Erkrankung kommt es zu einer Ischämie mit unbekannter Ätiologie. Die der Ischämie zugrunde liegende Zirkulationsstörung führt initial zu einer Verlangsamung und dann zum Sistieren der enchondralen Ossifikation des Epiphysenkerns. Während dessen wird der Gelenkknorpel über die Synovialflüssigkeit per diffusionem ernährt und wächst weiter [84]. Durch solches überschießende Knorpelwachstum kann es zum Zentrierungsverlust des Hüftgelenkes kommen. Im weiteren Verlauf kommt es zur Nekrose des Epiphysenkerns und Ablegung von neugebildeten Faserknochen auf den nekrotischen Knochen trabekeln (Kondensation). Die darauf folgende Resorption der Knochenbälkchen führt zur Fragmentation des Epiphysenkerns. Gleichzeitig beginnt die Revaskularisation von peripher nach zentral. Unreifer Knochen, der

biomechanisch weniger belastbar ist, wird angelagert. Peripher entsteht eine kritische subchondrale Zone. Eine fakultative subchondrale Fraktur fällt mit dem Einsetzen der klinischen Beschwerden zusammen. In der Phase der Reparation überwiegt der verformbare Geflechtknochen. In dieser Zeit spricht man auch von „biologischer Plastizität des Hüftkopfes“ mit dem Risiko einer Deformierung aufgrund des auf den Hüftkopf einwirkenden Druckgradienten. Schenkelhals- und Beinverkürzungen können als Folge einer Wachstumsfugenbeteiligung auftreten [84].

1.1.5 Epidemiologie

Morbus Perthes ist die häufigste Erkrankung aus der Gruppe der aseptischen Osteonekrosen. Die Häufigkeitsangaben in verschiedenen Ländern der weißen Rasse deuten auf regionale Unterschiede hin [129]. Die Erkrankungshäufigkeit variiert und wird in der Literatur mit 0,08%-0,44% der Neugeburten angegeben [71][19].

Eine Rassenabhängigkeit erscheint nach den Untersuchungen von Goff als gegeben. Die Erkrankung tritt vermindert bei Polynesiern, Indianern, Schwarzen und den Ureinwohnern Australiens auf [61]. Als Ursache dafür nimmt Harrison et al. eine früher eintretende Skelettreife bei der schwarzen Rasse an [66], während für andere Autoren die Umwelteinflüsse eine größere Rolle spielen [157].

Von vielen Autoren wurde eine Überrepräsentation des männlichen Geschlechts beschrieben. Es erkranken ca. 1:3000 Jungen und 1:11000 Mädchen. Morbus Perthes tritt somit 4-mal häufiger bei Jungen auf. Zurückgeführt wird dies auf die zeitlichen Unterschiede in der Skelettreife beider Geschlechter und eine häufiger anzutreffende ungünstigere Gefäßversorgung der Epiphyse beim männlichen Geschlecht [84].

Das Alter bei Erkrankungsbeginn liegt zwischen dem 3. und 12. Lebensjahr, wobei der Gipfel um das 6. Lebensjahr gesehen wird.

Ein gehäuftes Auftreten auf einer Körperseite konnte nicht beobachtet werden. In 10-20% der Fälle kommt es zu einem beidseitigen Befall [13][71][32][88].

Die selbstlimitierende Erkrankung dauert in der Regel etwa 2-4 Jahre [129].

Catterall [25] erwähnt, dass bei Morbus Perthes eine Koinzidenz mit Hernien, nicht deszendierenden Hoden, Nierenerkrankungen und weiteren Fehlbildungen des Urogenitaltraktes bestehen könnte. Diese Vermutung wurde bis heute wissenschaftlich nicht belegt.

1.1.6 Klinisches Erscheinungsbild

Die Symptomatik der Erkrankung ist uncharakteristisch, meist ist der Beginn schleichend. Oft beschreiben die Eltern eine Schonhaltung des betroffenen Beines bei ihrem Kind. Dies kann sich als Hinken oder als „Laufunlust“ bemerkbar machen. Häufig klagen die Kinder über belastungsabhängige Schmerzen, die insbesondere in

der Oberschenkel- oder der Knieregion lokalisiert werden. Die Projektion des Schmerzes in diese Körperregionen entsteht aufgrund der anatomischen Nähe zum Nervus obturatorius.

Die klinische Untersuchung zeigt häufig eine Einschränkung der Beweglichkeit. Dies betrifft bevorzugt die Abduktion, Extension und Rotation. Charakteristisch ist das „Vierer- oder Patrickzeichen“ als kombinierter Bewegungstest. Das Bein wird im Knie- und Hüftgelenk gebeugt und mit der Gegenseite verschränkt. Dabei fällt im Seitenvergleich eine deutliche Verminderung der Abduktion auf.

Nach Schulitz und Dustmann eignet sich dieser Test zur differentialdiagnostischen Abgrenzung des Morbus Perthes gegenüber einer Coxitis fugax oder einer Epiphysiolyse [129]. Als Ausdruck einer muskulären Insuffizienz können sich sowohl Atrophien als auch ein Insuffizienzhinken vom Trendelenburg- oder Duchenne-Typ zeigen. Im späteren Stadium kann eine reelle Beinverkürzung auftreten, welche durch eine Abflachung des Hüftkopfes und eine Wachstumsstörung der Femurepiphyse bedingt wird.

Es gibt auch klinisch inapparente Verläufe der Erkrankung. Diese werden meist erst an Spätfolgen erkannt.

1.1.7 Diagnostik

Die Diagnose Morbus Perthes basiert im Allgemeinen auf der Anamnese, der klinischen Untersuchung und den röntgenologischen Befunden.

Dazu werden Röntgenaufnahmen des Hüftgelenks in zwei Ebenen - eine Beckenübersicht und eine Einstellung nach Lauenstein - durchgeführt. Die Lauensteinaufnahme wird im sagittalen Strahlengang bei 70°-Flexion und 50°-Abduktion im Hüftgelenk durchgeführt. Auch der Verlauf der Erkrankung wird mit Hilfe der Röntgenaufnahmen verfolgt. Früher hat die Knochenszintigraphie im Rahmen der Frühdiagnostik eine wichtige Rolle gespielt. Sie ist heute durch die Kernspintomographie weitgehend abgelöst [36][125].

Die Kernspintomographie erlaubt die Frühdiagnose, wenn röntgenologisch noch keine Veränderungen nachvollziehbar sind. In Zweifelsfällen gibt sie auch zusätzliche Informationen in Hinblick auf differentialdiagnostische Überlegungen.

Mittels der Sonographie kann ein Reizzustand des Hüftgelenks festgestellt werden. Diese ist auch im Verlauf schnell und einfach wiederholbar.

Differentialdiagnostisch müssen beim Verdacht auf Morbus Perthes spezifische und unspezifische Coxitiden, Epiphysiolysen, Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises, Luxations-Perthes und Tumore abgegrenzt werden.

Die laborchemische Untersuchung spielt bis heute lediglich eine sekundäre Rolle bei der Diagnostik. Es sind bislang keine Parameter bekannt, die regelmäßig bei Morbus

1 Morbus Perthes

Perthes alteriert sind. Die Laborparameter Blutsenkung (BSG), Blutbild (BB), und Rheumafaktoren (RF) werden zur Abgrenzung des Morbus Perthes gegen Coxitis fugax, Tumoren und rheumatischen Erkrankungen hinzugezogen.

1.1.8 Röntgenmorphologischer Verlauf und Klassifikation

Mit Hilfe von radiologischen Untersuchungen lassen sich differenzierte Aussagen über den Krankheitsverlauf des Morbus Perthes machen. Die Routineaufnahmen sind die Beckenübersicht im a.p.-Strahlengang und die Einstellung nach Lauenstein.

1.1.8.1 Stadieneinteilung nach Waldenström

Waldenström beschreibt den stadienhaften Verlauf des Morbus Perthes wie folgt [155]:

Initialstadium

Das Röntgenbild zeigt eine scheinbare Gelenkspaltverbreiterung und eventuell eine diskrete Abflachung der Hüftkopfepiphyse.

Dieses Stadium wird selten erfasst, da sich die Patienten durch verzögert einsetzende Beschwerden erst mit fortgeschrittener Erkrankung beim Arzt vorstellen.



Abb. 1: Röntgenbild Initialstadium

Kondensationsstadium

Die Abflachung der Hüftkopfepiphyse nimmt zu. Ein Knochenbälkchenumbau führt zu homogener Knochenverdichtung mit hyperdensem, pyknotischen Epiphysenkern und Gelenkspaltverbreiterung. Unter Umständen kommt es bereits zur Dezentrierung.

1 Morbus Perthes



Abb. 2: Röntgenbild Kondensationsstadium

Fragmentationsstadium

In diesem Zeitraum tritt ein Nebeneinander nekrotisierender und reparativer Vorgänge auf. Isolierte sklerotische Fragmente liegen im nekrotischen Areal und führen zur Höhenminderung und ggf. Dezentrierung des Hüftkopfes. Die Epiphyse erscheint verbreitert, ist fleckförmig aufgelockert und oft mottenfraßähnlich begrenzt.

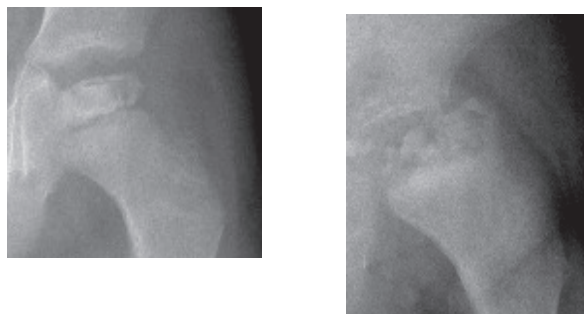


Abb. 3: Röntgenbilder Fragmentationsstadium

Reparationsstadium

In diesem Stadium vergrößern sich, die im Röntgenbild als wolkige Strukturen sichtbaren und auch histologisch nachweisbaren Revaskularisierungsareale mit Neubildung von Osteoid. Das nekrotische Material wird abgebaut und durch neue Knochensubstanz ersetzt. Es kommt zu einer Remodellierung des Hüftkopfs. Es ist die Phase der „biologischen Plastizität“ des Geflechtknochens, in der eine mögliche Deformierung des Hüftkopfes eintreten kann.



Abb. 4: Röntgenbild Reparatursstadium

Endstadium bzw. Ausheilungsstadium

Hier zeigt sich die endgültige Form des Hüftkopfes nach Abschluss der reparativen Vorgänge. Es resultiert entweder eine unterschiedlich stark ausgeprägte Deformierung bis hin zur Coxa plana oder eine Restitutio ad integrum. Die endgültige Form ist für die langfristige Prognose entscheidend (siehe Abb. 5-7)

1.1.8.2 Einteilung nach Catterall

Catterall beschrieb 1971 eine Klassifikation, die sich im Wesentlichen auf das Ausmaß der Nekrose stützt und durch die der Morbus Perthes in 4 Gruppen eingeteilt wird. Drei Kriterien spielen eine Rolle: Im Mittelpunkt steht das Ausmaß der Nekrose, weiterhin sind die Sequesterbildung und die metaphysäre Beteiligung von Bedeutung. Durch diese Einteilung wird eine Aussage über die Prognose der Erkrankung möglich [25][26].

Gruppe 1:

Betroffen ist in dieser Gruppe nur der anterolaterale Sektor der Femurepiphyse. Metaphysäre Veränderungen und Sequesterbildung sind nicht zu erkennen. Eine subchondrale Frakturlinie tritt, auch aufgrund des geringen Ausmaßes der Nekrose, nicht auf. Diese Gruppe wird als prognostisch günstig angesehen.

Gruppe 2:

Die Nekrosezone liegt auch hier vor allem im vorderen Anteil der Epiphyse, die bis zu 50% befallen sein kann. Im Verlauf der Erkrankung kommt es zum Einbruch des betroffenen Segmentes und es bilden sich Sequester aus. Eine ventral gelegene metaphysäre Beteiligung in Form von zystischen Veränderungen ist oft zu erkennen.

Gruppe 3:

Mehr als die Hälfte der Femurepiphyse ist betroffen und sequestriert. Besonders in der Lauensteinaufnahme ist zu sehen, dass lediglich dorsal ein kleiner Teil des Femurkopfes erhalten bleibt. Es zeigt sich das Bild des „head within a head“ als

1 Morbus Perthes

zentraler Sequester, der später kollabiert [84]. Metaphysäre Veränderungen sind in dieser Gruppe die Regel.

Gruppe 4:

Das Bild entspricht einer Totalnekrose der Epiphyse mit ausgedehnter Sequestrierung, was zu einer Abflachung des Hüftkopfes führt. Es kommt zu einer frühzeitigen Höhenminderung der Epiphyse. Die metaphysäre Beteiligung ist meist ausgeprägt. Die prognostischen Aussichten sind eher ungünstig.

1.1.8.3 Vereinfachte Klassifikation von Salter und Thompson

Die Differenzierung der Catterall-Gruppen ist besonders zu Beginn der Erkrankung problematisch. Die Zuordnung des Patienten in eine der 4 Gruppen ist oft erst im Fragmentationsstadium, wenn sich das Ausmaß der Nekrose nicht mehr ändert, möglich [25][26].

Deshalb griffen Salter und Thompson im Jahr 1984 [126] die schon im Jahre 1959 von O'Garra [104] vorgeschlagene Einteilung des Nekroseausmaßes in zwei Gruppen auf. Diese Einordnung orientiert sich an der Ausdehnung der subchondralen Frakturlinie, die mit dem Ausmaß der Nekrose korreliert [126].

Diese Klassifikation hat den Vorteil der Reduzierung auf nur zwei Gruppen und der Möglichkeit der frühzeitigen Gruppenzuordnung.

Gruppe A:

Hier werden die Gruppen 1 und 2 nach Catterall zusammengefasst. Die subchondrale Frakturlinie und die Nekrosezone betreffen weniger als die Hälfte der Epiphyse und erreichen nicht ihren dorsalen Teil.

Gruppe B:

Hier werden die Gruppen 3 und 4 nach Catterall zusammengefasst.

Die Epiphyse ist zu über 50% betroffen. Die subchondrale Frakturlinie reicht bis in die dorsale Hälfte des Hüftkopfes.

1.1.8.4 Klassifikation nach Herring

Auch die Drei-Gruppen Klassifikation nach Herring basiert auf röntgenologischen Kriterien. Diese Einteilung orientiert sich nach dem Ausmaß der Veränderung der lateralen Säule im Fragmentationsstadium. Daher kommt auch der Name „lateral pillar classification“ [68][69][114]. Der Hüftkopf wird in eine laterale, zentrale und mediale Säule eingeteilt. Die laterale Säule macht 15-30% der Hüftkopfbreite aus.

1 Morbus Perthes

Gruppe A:

Die laterale Säule bleibt erhalten und es zeigt sich radiologisch keine Höhenminderung. In der zentralen und medialen Säule können Fragmentationen und Nekrosen vorliegen.

Gruppe B:

Hier zeigen sich Veränderungen der lateralen Säule. Mindestens 50% der lateralen Höhe der Epiphyse ist erhalten.

Gruppe C:

Es zeigt sich eine ausgeprägte Veränderung der lateralen Säule. Die Höhenminderung beträgt mehr als 50% der ursprünglichen Höhe. Die Höhe der lateralen Säule ist geringer als die der zentralen Säule.

1.1.8.5 Röntgenologische „Head-at-Risk-Signs“

Catterall beschrieb zusätzliche klinische und radiologische Risikofaktoren, die unabhängig vom Ausmaß der Nekrose die Prognose beeinflussen. Zu den klinischen Risikofaktoren zählen Adipositas, reduzierte Gelenkbeweglichkeit, Geschlecht und Erkrankungsalter [26][27]. Die radiologischen Risikofaktoren, die so genannten „Head-at-Risk-Signs“ sind meist während des Fragmentationsstadiums zu erkennen, können aber zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Erkrankung einzeln oder kombiniert auftreten.

Röntgenologische „Head-at-Risk-Signs“:

Laterale Kalzifikation:

Verkalkungen erscheinen nach dem Kollaps der Epiphyse im lateralen Teil der knorpeligen Epiphyse.

Lateralisation:

In Folge einer Volumenzunahme des Gelenkknorpels kommt es zu einer Dezentrierung des Hüftkopfes mit Verschiebung nach lateral.

Metaphysäre Beteiligung:

Es ist eine diffuse Strukturauflockerung im Bereich der Metaphyse entlang der Epiphysenfuge zu beobachten.

Horizontalstellung der Epiphysenfuge:

Veränderte Krafteinwirkungen (Scherkräfte) auf das Hüftgelenk führen zu Horizontalstellung der Epiphysenfuge und unterstützen die Lateralisation.

Gage-sign:

V-förmiges kleines osteoporotisches Segment am lateralen proximalen Schenkelhals stellt sich im a.p.-Röntgenbild konvex dar. Gage bezeichnete dieses Frühzeichen als „convexity of the upper border of the neck“ [56].

1.1.9 Therapie

Da die Ursachen des Morbus Perthes nicht eindeutig geklärt sind, gibt es bislang keinen kausalthérapeutischen Ansatz.

Der Morbus Perthes hat eine gute Selbstheilungstendenz. Das primäre therapeutische Ziel ist es, präarthrotische Deformitäten, und damit eine sekundäre Coxarthrose, zu vermeiden [47]. Dabei sollte die symptomatische Therapie von Schmerz und Bewegungseinschränkung nicht außer Acht gelassen werden. Eine Physiotherapie sollte frühzeitig durchgeführt werden. Weitere therapeutische Interventionen können im Stadium der biologischen Plastizität während der Umbauprozesse im Fragmentations- und Reparationsstadium erfolgen. Mit diesem Behandlungsprinzip des Containments verspricht man sich durch frühzeitige Zentrierung des Hüftgelenkes eine sphärische Ausheilung.

Es gibt verschiedene konservative und operative Verfahren, die sowohl für sich selbst, als auch in Kombination angewandt werden [84][85].

1.1.9.1 Konservative Therapie

Diese Therapieform beruht auf einer langfristigen und konsequenten Entlastung und ggf. Ruhigstellung des erkrankten Hüftgelenkes. Aufgrund der Vorstellung, dass ein Kollaps der Epiphyse zur Deformierung führt, versucht man mit dem Prinzip der Entlastung des Hüftgelenkes die anatomische Form des Gelenkes zu erhalten.

Ein orthopädischer Entlastungsapparat, der Thomassplint, wurde schon 1887 von Thomas vorgestellt. Im Laufe der Zeit wurden verschiedene Schlingen, Bandagen oder Orthesen zur Entlastung entwickelt. Auch langfristige Bettruhe, Gipsruhigstellung und eine Entlastung durch Krücken wurden angewandt.

Heute wird die reine Gewichtsentlastung nicht mehr als ausreichend angesehen. Messungen des intraartikulären Druckes haben gezeigt, dass die alleinige Ruhigstellung und Gewichtsentlastung immer noch hohe intraartikuläre Drücke zulässt und damit der Deformierung des leicht verformbaren Hüftkopfes nicht ausreichend entgegenwirkt [75].

Das Prinzip der Zentrierung wird als wirksamstes Behandlungskonzept anerkannt. Die Zentrierung und damit ein gutes Containment, d.h. eine gute Einstellung des Hüftkopfes unter dem Acetabulum, wird dadurch erreicht, indem man die Hüfte abspreizt, beugt und innenrotiert. Jedoch ist auch bei solch einer Behandlung, z.B. mit einem Innenrotationsgips oder einer Atlanta-Schiene, der intraartikuläre Druck

relativ hoch [75]. Ein gutes Containment wird auch in Außenrotation, Abduktion und Flexion, z. B. mit der Würzburger Schiene, erreicht [85]. Wichtige Voraussetzung für ein gutes Remodelling ist die freie Gelenkbeweglichkeit. Diese soll mit einer konsequenten krankengymnastischen Übungstherapie erzielt werden.

Des Weiteren kann eine klinische Symptomatik mit daraus folgender Bewegungseinschränkung den Einsatz einer analgetisch-antiphlogistischen Medikation erforderlich machen.

1.1.9.2 Operative Therapie

Mit früher angewandten, operativen Verfahren, wie z.B. Kürretage, Anbohrung und Spickung der Epiphyse oder Nagelung mit Vortreiben des Nagels in den Nekroseherd, hoffte man, die Revaskularisierung und damit die Krankheitsdauer positiv zu beeinflussen. Es ließ sich jedoch mit keinem dieser Verfahren eine statistisch positive Beeinflussung der Entwicklung der Kopfform oder eine signifikante Verkürzung der Krankheitsdauer erreichen [13][19].

Heutzutage gilt das Prinzip des Containments als Methode der Wahl. Ist das Containment mit konservativen Methoden nicht zu erreichen, sind operative Maßnahmen indiziert. In Abhängigkeit vom klinischen und radiologischen Befund kommen unterschiedliche Techniken zum Einsatz. Dazu zählen die inter-subtrochantäre varisierende derotierende Umstellungsosteotomie des Femurs (VDO), die Beckenosteotomie nach Salter und die Triple-Osteotomie [127][150][129]. Ziel dieser Maßnahmen ist, eine verbesserte Kongruenz der Gelenkpartnerflächen des Hüftgelenks herzustellen.

Insbesondere bei älteren Kindern mit besonders schweren Verläufen können Femur- und Beckenosteotomie auch in Kombination angewendet werden. Hierdurch kann häufig auch bei sehr schwerer Deformation der Epiphyse ein Containment erreicht werden, ohne durch eine zu extreme Varisierung zur Schwächung der Abduktoren und Verkürzung der Beinlänge zu führen.

Salvage-Operationen wie beispielsweise Valgisationsosteotomie oder die Implantation einer Hüftgelenksendoprothese können beim unbefriedigenden Ausheilungsergebnis indiziert sein [129].

1.1.10 Prognose

Die Prognose des Morbus Perthes hängt von zahlreichen Faktoren ab und ist im Einzelfall schwer abschätzbar. In Abhängigkeit vom Ausheilungsergebnis ist im weiteren Verlauf unter Umständen eine frühzeitige Coxarthrose zu erwarten.

Folgende Faktoren wurden bezüglich des sekundären Arthrosrisikos als prognostisch relevant ermittelt:

Alter des Kindes zum Zeitpunkt der Erkrankung

Eine kritische Grenze wird um das 5. - 6. Lebensjahr gesehen. Nach Salter haben ältere Kinder deutlich schlechtere Chancen auf eine folgenlose Ausheilung als jüngere Patienten [127]. Jüngere Kinder haben ein höheres Wachstumspotential, welches den Wiederaufbau und das Remodelling günstig beeinflusst.

Ausmaß der Hüftkopfnekrose

Catterall gelang es erstmals mit seiner Einteilung in 4 Gruppen prognostisch verwertbare Aussagen zu machen. Nach dieser Klassifikation haben Erkrankungsfälle der Gruppe 1 und 2 eine sehr gute Chance auf ein folgenloses Ausheilen der Erkrankung. Kinder, die den Gruppen 3 und 4 zugeordnet sind, haben eine relativ schlechtere Prognose [26][27]. Obwohl sich bei verschiedenen Untersuchern Unsicherheiten in der Zuordnung zu den Catterall Gruppen zeigen, ist die prognostische Verwertbarkeit dieser Gruppeneinteilung nach Ausmaß des epiphysären Befalls weitgehend anerkannt [47][104][126].

Vorliegen eines oder mehrerer „Head-at-Risk-signs“

Als Ergänzung zu seiner Einteilung beschrieb Catterall radiologische Risikofaktoren, die so genannten „Head-at-Risk-Signs“, die als prognostisch ungünstig angesehen werden. Verschiedene Autoren sehen vor allem in der Lateralisation des Hüftkopfes und im Vorkommen von lateralen Kalzifikationen ein erhöhtes Risiko für das Auftreten einer sekundären Coxarthrose [129][47][84].

Deformität der Epiphyse nach Abschluss des Reparationsstadiums

Coopermann und Stulberg zeigten, dass die Kongruenz des Hüftgelenks und das Ausmaß der Deformität des Hüftkopfes im Endstadium entscheidend sind für die Entstehung einer sekundären Coxarthrose.

Dabei werden unterschieden Gelenke mit:

1. Sphärischer Kongruenz
2. Asphärischer Kongruenz
3. Asphärischer Inkongruenz

Bei einem sphärisch kongruenten Hüftgelenk ist mit keiner sekundären Coxarthrose zu rechnen, während das Risiko bei einer asphärischen Kongruenz erhöht ist. Bei Gelenken mit asphärischer Inkongruenz kommt es zu schweren Arthrosen meist schon im jungen Erwachsenenalter [31].

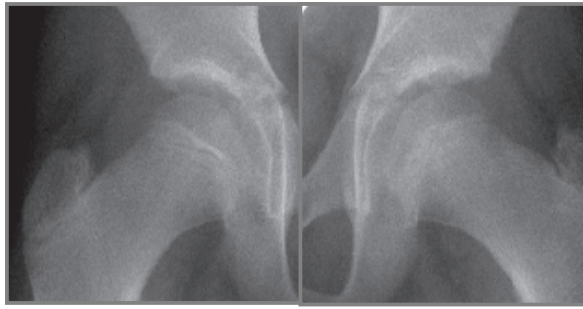


Abb. 5: Röntgenbilder Endstadium: Sphärische Kongruenz



Abb. 6: Röntgenbild Endstadium: Asphärische Kongruenz



Abb. 7: Röntgenbild Endstadium: Asphärische Inkongruenz

Klinische Risikofaktoren

Catterall beschreibt auch klinische Risikofaktoren, die prognostische Relevanz haben. Dazu gehören neben dem schon erwähnten Erkrankungsalter auch eine Adipositas, eine reduzierte Gelenkbeweglichkeit und das Geschlecht des Patienten [26][27]. Für Mädchen wird eine schlechtere Prognose beschrieben [41].

1 Morbus Perthes

Weitere Risikofaktoren

Zusätzlich zu den erwähnten Risikofaktoren werden gelegentlich weitere Parameter beschrieben. Die Qualität des Bindegewebes und der genetische und soziale Hintergrund sind dabei hervorzuheben [129].

1.2 Knochenabbauprodukte

1.2.1 Allgemeine Einführung

Bei zahlreichen Erkrankungen, die mit einem veränderten Knochenstoffwechsel einhergehen, wie z.B. der Osteoporose werden Metabolite des Knochenabbaus zur Diagnosestellung, zur Screening-Untersuchung und zur Verlaufskontrolle bestimmt [11][133]. Im Folgenden soll der Knochenmetabolismus, die Pyridinium-Verbindungen als mögliche Marker und deren Bestimmungsmethoden vorgestellt werden.

1.2.2 Metabolische Vorgänge am Knochen

Die Funktion des menschlichen Skeletts ist eine wichtige Voraussetzung für das Verständnis der physiologischen Mechanismen am Knochen. Strukturell fungiert der Knochen als Angriffspunkt der Muskulatur, dient als Schutz für das Knochenmark und muss fähig sein, sich den ändernden physikalischen Voraussetzungen anzupassen. Metabolisch dient der Knochen als Speicher für Calcium, Phosphat, Magnesium und Natrium [124].

Um diesen strukturellen und metabolischen Anforderungen gerecht zu werden, ist der Knochen kein statisches Gewebe. Das Knochenmaterial wird ständigen An- und Abbauvorgängen unterzogen, welche sich normalerweise im Gleichgewicht befinden. Neben dieser biologischen Plastizität ist der menschliche Knochen durch seine physikalische Härte charakterisiert und wird damit dem Stützgewebe zugeordnet [124].

Der Knochen ist somit so stabil wie nötig und so leicht wie möglich. Diese Stabilität beruht auf der Einlagerung von Kalksalzen und der Ausbildung einer charakteristischen Architektur.

1.2.2.1 Aufbau des Knochens

Der menschliche Knochen besteht aus Interzellulärsubstanz und Knochenzellen.

1.2.2.1.1 Interzellulärsubstanz

Die Grundsubstanz, die den weitaus größeren Teil des Knochens ausmacht, besteht aus organischen und anorganischen Bestandteilen.

Die anorganischen Bestandteile sind in die organische Knochensubstanz eingelagert und vor allem für die Druckfestigkeit des Knochens verantwortlich.

Die anorganische Substanz macht ungefähr 2/3 der extrazellulären Matrix aus und besteht hauptsächlich aus Calciumhydroxylapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) und weiteren Calciumphosphaten. Diese Mineralien, die in Kristallform eingelagert sind, verleihen

1 Einleitung Knochenabbauprodukte

dem Knochen eine hohe Kompressionsfähigkeit. Die schon erwähnte Speicherfunktion des Knochens findet darin Ausdruck, dass 99% des körpereigenen Calciums, 90% des Phosphats, 80% des Karbonats und Citrats, 60% des Magnesiums und 35% des Natriums im menschlichen Skelett gespeichert werden. All diese Ionen können bei Defiziten freigesetzt und bei Überschüssen aufgenommen werden. Weiterhin finden sich dort einige knochenaffine Elemente, wie z.B. Aluminium, Fluor und Blei [130].

Das restliche Drittel der extrazellulären Matrix besteht aus organischer Substanz. Zu 95% handelt es sich um Kollagenfasern, insbesondere Typ-I-Kollagen [74]. Allgemein werden in der Literatur mindestens vierzehn Kollagentypen beschrieben, die sich in Primärstruktur, Quervernetzung und posttranslationaler Modifikation unterscheiden. Ihr Grundaufbau, aus einer helikalen Domäne, einer Propeptiddomäne und einer Telozeptiddomäne, ist jedoch identisch. Intrazellulär wird Prokollagen gebildet, von dem nach der Exozytose in den Extrazellularraum die beiden Enden enzymatisch abgeschnitten werden. Das so entstandene Tropokollagen ist nicht mehr wasserlöslich und kann mit anderen Tropokollagenmolekülen zu Kollagenfibrillen aggregieren. Typ-I-Kollagen besteht aus zwei $\alpha 1$ - und einer $\alpha 2$ -Kette, die miteinander zu einer Trippelhelix verdreht sind [116]. Die Kollagenmoleküle werden durch kovalente intra- und intermolekulare Brückenmoleküle, die Crosslinks, verstärkt [34]. Diese stabilen Quervernetzungen mit den Nachbarmolekülen entstehen im Bereich der nicht spiralisierten Enden der Tropokollagenmoleküle, den Telozeptiden. Aufgrund dieses hohen Anteils an kollagenen Fasern ist die gute Zugfestigkeit des Knochens gegeben.

Die restlichen 5% der organischen Bestandteile des Knochens sind amorphe Interzellulärsubstanzen, vor allem Glykosaminoglykane und spezielle calciumbindende Proteine, z.B. Osteonektin und Osteokalzin [130].

Darüber hinaus enthält die extrazelluläre Matrix Induktorsubstanzen (Zytokine, Knochenwachstumsfaktoren), welche die Differenzierung und die Funktion von Zellen im Knochen kontrollieren [15].

Extrazelluläre Bestandteile werden primär von Osteoblasten, den osteoanabolen Zellen gebildet.

1.2.2.1.2 Knochenzellen

Die Knochenzellen werden in Osteozyten, Osteoblasten und Osteoklasten unterschieden.

Osteozyten

Osteozyten entstehen aus den Osteoblasten, nachdem diese ihre Matrixsynthese eingestellt haben. Osteozyten sind die zahlreichsten Knochenzellen. Es gibt im menschlichen Skelett zehnmal mehr Osteozyten als Osteoblasten [107].

Die Osteozyten liegen einzeln in kleinen Knochenzellhöhlen, Lacunae osseae, die von Interzellulärsubstanz umgeben sind. Ihre Fortsätze, die in Knochenkanälchen verlaufen, stehen miteinander durch gap junctions in Verbindung und stellen so den Stoffaustausch sicher [130][67].

Den Osteozyten wird eine zentrale Rolle in der Übersetzung mechanischer Stimuli in das Signal zur Knochenneubildung zugesprochen.

Es gibt Untersuchungen, die zeigen, dass mechanische Reize von den Osteozyten in eine osteoanabole Antwort umgesetzt werden können. Bei fehlender mechanischer Stimulation des Knochens sterben Osteoblasten und nicht Osteozyten ab [67].

Osteoblasten

Osteoblasten gehen aus Vorläuferzellen des Periosts oder des Knochenmarkstromas hervor. Die reifen Osteoblasten gehören zusammen mit den Osteozyten und den Bone Lining Cells, welche die Knochenoberfläche bedecken, zu einer gemeinsamen Zellfamilie. Die Zellen der Osteoblasten entstehen aus einer mesenchymalen Stammzelle, aus der sich auch andere Zellreihen, wie z.B. die Fibroblasten, Chondrozyten und Retikulozyten differenzieren [106].

Osteoblasten sind Zellen mit einer hohen Stoffwechselaktivität. Sie synthetisieren die Kollagenmatrix, indem sie Prokollagen und Proteoglykane sezernieren. Sie nehmen Calcium und Phosphat auf und geben es in Kristallform an die neu gebildete, noch nicht verkalkte Grundsubstanz, das Osteoid, ab. Das Osteoid wird in weiteren Stoffwechselschritten nach ca. 10 Tagen durch Hydroxylapatitkristallbildung mineralisiert.

Auch weitere Proteine wie Osteopontin und Osteonectin werden von den Osteoblasten sezerniert. Das Osteopontin kann aufgrund mehrerer calciumbindender Stellen Osteoklasten aktivieren [97]. Das Osteonectin fördert dagegen die Mineralisation durch Bindung von Calcium an Kollagen [101].

Nach Ablauf ihrer synthetischen Aktivität stirbt ein Großteil der Osteoblasten ab. Ein kleinerer Teil kann als Osteozyt in die Matrix eingebettet werden. Weitere Zellen bleiben an der Knochenoberfläche als bone lining cells und als ruhende Osteoblasten. Dieser kleine Anteil an Osteoblasten kann wieder aktiviert werden.

Osteoklasten

Osteoklasten entstammen der Monozyten-/Makrophagen-Zelllinie und entstehen durch Zusammenschluss ihrer Vorläufer zu mehrkernigen Riesenzellen. Normalerweise besitzen die Osteoklasten weniger als zehn Nuclei, sie können aber bis zu 100 Zellkerne in pathologischen Knochenstoffwechselsituationen aufweisen. Das osteoklastäre Zytoplasma beinhaltet viele Mitochondrien und Lysosomen und wenig raues endoplasmatisches Retikulum. Die Osteoklasten beinhalten heterophagische Vakuolen, in denen häufig Bruchstücke von aufgenommenen Kollagenfibrillen und Knochenkristallen vorkommen [130].

Die Funktion der Osteoklasten besteht im Knochenabbau.

Ein besonderes Kennzeichen dieser Zellen ist ihre gefaltete Zellmembran, Ruffled Border, auf der Seite der aktiven Resorption. Hier kommt es durch spezielle Matrixproteine zu einer engen Verbindung mit der Knochenoberfläche, so dass eine hohe Konzentration an Wasserstoffionen und lysosomalen Enzymen aufrechterhalten wird. Durch die Wasserstoffionen werden vor allem proteolytische Enzyme wie z.B. bestimmte Kollagenasen aktiviert [6].

Osteoklasten liegen oft in kleinen Einbuchtungen des abzubauenden Knochens, den so genannten Howship-Lakunen [130].

1.2.2.2 Ossifikation

Es werden zwei Formen der Knochenentwicklung unterschieden: desmale Ossifikation und chondrale Ossifikation. Als desmale Ossifikation bezeichnet man die häufige direkte Knochenbildung, bei der Knochen direkt im Mesenchym entsteht. Als chondrale Ossifikation wird die indirekte Knochenbildung bezeichnet, bei der ein Vorläufer des Knochens aus hyalinem Knorpel schrittweise abgebaut und durch Knochen ersetzt wird.

In beiden Fällen wird zunächst Geflechtknochen gebildet, der meist während der weiteren Entwicklung durch Lamellenknochen ersetzt wird [130].

1.2.2.3 Basic Multicellular Units

Im Knochen finden ständig An- und Abbauvorgängen statt, welche sich im Gesundheitszustand im Gleichgewicht befinden. Der Knochenresorption folgt die Knochenformation, welche den resorbierten Knochen ersetzt. Diese beiden Vorgänge laufen nebeneinander ab und sind so ausbalanciert, dass am Knochen weder Gewebeverlust noch -zunahme entsteht. Dieser ständige Umbau geschieht in so genannten Basic Multicellular Units, von denen Menschen 2,5 bis 3 Millionen aufweisen. Diese Umbau-Einheit hat eine mittlere Lebensdauer von 160-200 Tagen. Beim unreifen Skelett kommen die Aufgaben des Längen- und Breitenwachstums, und auch in bestimmten Skelettabschnitten die der Änderung von Gestalt und Drehung, hinzu.

Die Umbauprozesse am Knochen werden durch Zytokine, wie z.B. Prostaglandin E (PGE), Interleukin-1 und 6 (IL-1,-6), Tumor-Nekrose-Faktor- α (TNF- α) und weitere verwandte Moleküle reguliert [107].

1.2.3 Struktur, Synthese, Vorkommen und Funktion von Pyridinium Verbindungen

Die Knochenproteinmatrix wird zu 90% aus Kollagen Typ I gebildet [74].

Die mechanische Stabilität des Knochengewebes beruht neben der Ausbildung hydrophober und elektrostatischer Kräfte, die zwischen einzelnen Molekülen bestehen, auf Quervernetzungen des Kollagens durch so genannte Crosslinks, die man auch als kovalente, spezifische intra- und intermolekulare Brückenmoleküle beschreiben kann [34]. Das intrazellulär gebildete Prokollagen stellt eine Tripelhelix aus drei Polypeptid- α Ketten dar, von dem nach der Exozytose in den Extrazellularraum die beiden Enden enzymatisch abgeschnitten werden. Das so entstandene Tropokollagen ist nicht mehr wasserlöslich und kann mit anderen Tropokollagenmolekülen einander überlappend zu Kollagenfibrillen aggregieren. Im Bereich der nicht spiralisierten Enden der Tropokollagenmoleküle, den Telozeptiden, kommt es zu den stabilen Quervernetzungen mit den Nachbarmolekülen durch die Pyridinium-Crosslinks [136]. Die Ausbildung von Crosslink-Verbindungen zwischen benachbarten Kollagenketten ist abhängig von dem katalytischen Einfluss des Enzyms Lysyloxidase während der extrazellulären Reifung der Kollagenfibrillen. Die Quervernetzung ist ein zeitabhängiger Prozess, der einige Tage bis Wochen andauert. Im ersten Schritt wird ein Hydroxylysinrest bzw. ein Lysinrest im Telozeptidbereich eines Kollagenmoleküls von dem Enzym Lysyloxidase zu einem Aldehyd oxydiert. Danach katalysiert das gleiche Enzym die Verbindung mit einem zweiten Hydroxylysinrest und im letzten Schritt mit einem dritten Hydroxylysin. Die Anzahl der Hydroxylierungen determiniert die Form der Crosslink Verbindung. Das Pyridinolin besteht aus 3 Hydroxylysyl-Seitenketten und das Deoxypyridinolin (DPD) aus 2 Hydroxylysyl-Seitenketten und einer Lysylseitenkette [7][136][137].

Pyridinolin (PYD) wurde 1978 durch Fujimoto et al. nachgewiesen [54] und 1982 beschrieben Barber et al. die Struktur von DPD [7].

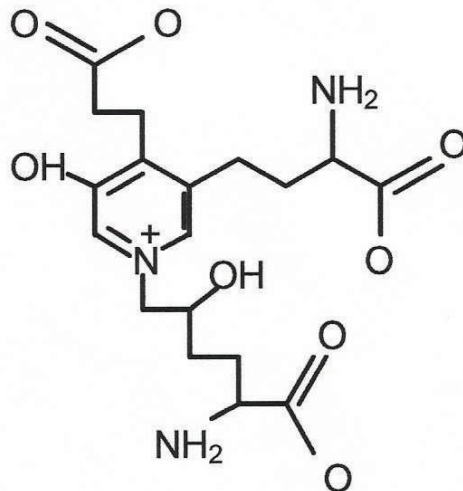


Abb. 8: Deoxypyridinolin (DPD)

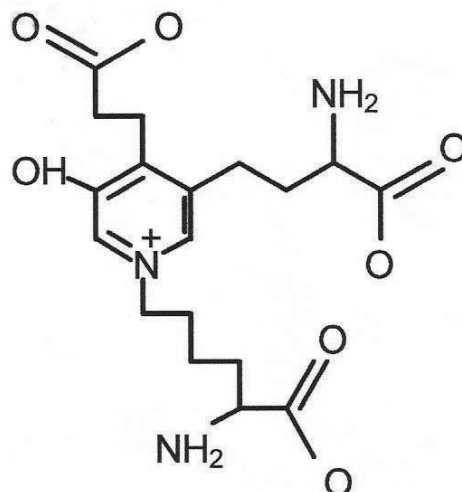


Abb. 9: Pyridinolin (PYD)

Welche der Substanzen, das Pyridinolin oder das Deoxypyridinolin entstehen, hängt vom Grad der Hydroxylierung der Lysinreste im Telopeptidbereich ab, der gewebespezifisch deutlich variiert. Für diese Unterschiede sind die jeweiligen kollagenproduzierenden Zelltypen verantwortlich. So findet sich im Typ-II-Kollagen, dem Hauptkollagen des Knorpels fast ausschließlich Pyridinolin, während im Knochenkollagen (Typ-I-Kollagen) beide Pyridinium-Crosslinks in einem Verhältnis (PYD/DPD) von ungefähr 3:1 bis 4:1 vorkommen [137][145][40]. Deoxypyridinolin kommt vor allem im Knochen und Dentin vor. Pyridinolin ist außer im Knochen und Knorpel auch in Sehnen, Bändern, Gefäßen, Muskeln, Faszien und der Leber zu finden [49][63].

1 Einleitung Knochenabbauprodukte

Da DPD fast nur im Knochenkollagen auftritt, gilt diese Substanz als spezifischer Knochenresorptionsmarker [138][117][119][54][37]. Die Mengen an DPD, die von anderen Geweben beigesteuert werden, sind wegen des langsameren Stoffwechsels bzw. der geringeren Masse von untergeordneter Bedeutung [137].

Das von Fibroblasten stammende Typ-I-Kollagen der Haut enthält im Gegensatz zum Knochenkollagen keine hydroxylierten Lysinreste, so dass es dort bei der Quervernetzung zu Histidin-Crosslinks kommt und demzufolge keine Pyridinium-Crosslinks nachgewiesen werden können [117].

Beide Crosslinks werden bei der enzymatischen Kollagendegradation im Knochen freigesetzt und wegen ihrer geringen relativen Molekülmasse in den Urin ausgeschieden.

1.2.4 Freisetzung der Pyridinium-Verbindungen

Während der Kollagenolyse von Knochen durch Osteoklasten wird die kollagene Matrix enzymatisch degradiert. Dabei werden die bestehenden Quervernetzungsstrukturen aufgelöst und beide Crosslinks freigesetzt. Da die Synthese der Crosslinks erst nach der Bildung von Kollagenfibrillen aus Tropokollagenmolekülen einsetzt, können diese nur im reifen, im Gewebeverband integrierten Kollagen, vorkommen. Damit sind freiwerdende Crosslinks immer Abbauprodukte reifen Kollagens und zeigen Degradations- bzw. Resorptionsprozesse kollagenhaltiger Gewebe im Körper an [74][117] [118][119].

Die Crosslink-Ausscheidung basiert beim gesunden Menschen zum überwiegenden Teil auf der Kollagendegradation im Knochen, da im Rahmen des normalen Remodelling im Binde- und Stützgewebe Kollagenabbauvorgänge auftreten. Der Knochenstoffwechsel steht dabei, aufgrund des wesentlich langsameren Umsatzes der anderen Bindegewebe (z.B. Knorpel) und auch der im Verhältnis zum Knochen deutlich geringeren Gesamtmasse (z.B. Dentin), im Vordergrund [109].

In der Wachstumsperiode kommt es zum ständigen Knochenumbau als Anpassungsleistung des Körpers an veränderte statische und dynamische Belastungen. Dies zeigt sich auch in einer höheren und mit dem Wachstumstempo korrelierenden Crosslink-Ausscheidung [111].

Aufgrund Ihrer komplexen Struktur werden die Pyridinium-Verbindungen vom Organismus nicht weiter metabolisiert, sondern gelangen nach ihrem Abbau in die Blutbahn und werden anschließend in freier, glykolisierter oder peptidgebundener Fraktion mit dem Urin ausgeschieden [45][55][9].

1.2.5 Freie und peptidgebundene Crosslinks

Die Kollagenmoleküle werden von proteolytischen Enzymen gespalten, wodurch crosslinkvernetzte Peptide freigesetzt werden. Diese werden im weiteren Verlauf zum

1 Einleitung Knochenabbauprodukte

Teil noch weiter abgebaut, so dass ein gewisser Anteil in freier Form vorliegt. Außer der teilweisen Freisetzung aus der Peptidbindung ist keine weitere Metabolisierung oder Wiederverwertung der Pyridiniumverbindungen im Körper bekannt [3].

Die Pyridiniumderivate selbst liegen also endogen in zwei verschiedenen Varianten vor:

1. als an Peptidreste gebundene Crosslinks mit daraus folgendem unterschiedlichen Molekulargewicht aufgrund der unterschiedlichen Zusammensetzung der Aminosäuren im Peptid. In der Literatur wird der Anteil am Gesamtpool der an Peptidrest gebundenen Pyridiniumderivaten mit ca. 55%-65% angegeben [143][35][74][117]. Die peptidgebundene Fraktion enthält vor allem Peptide von sehr niedrigem Molekulargewicht [16][35].
2. als freie Crosslinks: niedrigmolekular, nicht peptidgebunden und proteinfrei. Diese Form macht ca. 35%-45% des Gesamtpools aus [143][35][74][117].

Das Verhältnis von freier zu peptidgebundener Fraktion und das Verhältnis von freier Fraktion zur Gesamtfraktion gelten als konstant. Die Fraktionen korrelieren sowohl im Normalkollektiv als auch in einem Kollektiv, das z.B. aufgrund einer metabolischen Knochenerkrankung erhöhte Spiegel aufweist [46][1][117].

Die Crosslinks werden sowohl in gebundener als auch in freier Form vollständig renal ausgeschieden [96].

Für diagnostische und epidemiologische Ziele wird vor allem die freie Fraktion bestimmt, da die freien Crosslinks ohne vorangegangene Hydrolyse im Urin bestimmt werden können, während die totalen Crosslinks erst nach Hydrolyse erhoben werden können [117].

1.2.6 Bestimmungsmethoden der Kollagencrosslinks

Die quantitative Bestimmung der Pyridinium-Crosslinks erfolgt heute entweder mit dem chromatographischen Verfahren, der High Performance Liquid Chromatography (HPLC) oder mit Immunoassays. Mittels dieser Methoden können die Crosslinks sowohl im Serum wie auch im Urin bestimmt werden. Bei Verwendung von Urin wird in der Regel Morgenurin oder der 24h-Urin untersucht, bei Verwendung von Serum das morgendliche Blut. Die Probeentnahmen erfolgen morgens, da der Crosslink-Spiegel im Tagesverlauf erheblichen Schwankungen unterliegt [131][96].

Die beiden Bestimmungsmethoden arbeiten mit den unterschiedlichen charakteristischen Eigenschaften der Pyridinium-Verbindungen. Das gemeinsame Ziel ist die quantitative Messung der Crosslinks.

Vielfältige Untersuchungen älteren und jüngeren Datums haben signifikante Korrelationen zwischen dem Immunoassay und der HPLC aufzeigen können [74][122][139].

High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Die von Black et al. 1988 erstmals beschriebene Methode der HPLC zur Crosslinkbestimmung nutzt zur Detektion die natürliche Fluoreszenz der Pyridiniumderivate [17]. Sie wird als „gold standard“ bezeichnet, weil durch ihre hohe Sensitivität Messungen im pmol-Bereich möglich sind [138][17].

PYD und DPD sind durch diese Methode über einen einzigen Lauf getrennt bestimmbar, da die Crosslink-Fraktion durch eine vorgeschaltete Partitions-Chromatographie aufgetrennt wird. Die Messung erfolgt fluorimetrisch. Die Pyridinium-Verbindungen können nach ihren eigenen Fluoreszenzpeaks erfasst werden. Die Bestimmungsmethode kann mit oder ohne eine ihr vorgeschaltete Säurehydrolyse durchgeführt werden. Ohne die vorgeschaltete Säurehydrolyse werden ausschließlich Crosslinks der peptid-ungebundenen Fraktion erfasst. Mit der Durchführung der Säurehydrolyse erfolgt die Umwandlung der peptidgebundenen Fraktion in freie und somit auch fluoreszierende Derivate, die auch erfasst werden [17].

Die HPLC-Methode weist auch Nachteile auf. Ihre Durchführbarkeit ist zeitaufwendig, teuer und arbeitsintensiv und deshalb vor allem nur großen Laboratorien vorbehalten [9][74][50][135][137]. Der hohe technische Aufwand und eine große Störanfälligkeit gelten als potenzielle Fehlerquellen. In der Literatur gibt es Hinweise auf mögliche Zerstörung der peptidgebundenen Crosslinks durch die vorangehende Säurehydrolyse [120][9][50]. Auch können eventuelle Interferenzen zwischen dem PYD- und DPD-Peak zu einer Überhöhung der Resultate führen [121].

Immunoassays

Die immunologischen Assays messen, ohne Vorschaltung einer Säurehydrolyse, die freie Fraktion der Pyridinium-Verbindungen im Urin. Die zurzeit verfügbaren Assays messen entweder freie PYD- und DPD-Verbindungen oder nur die freien DPD-Verbindungen. Des Weiteren können auch sehr kleine Peptide (Molekulargewicht < 1000 D) miterfasst werden [122].

Das Messprinzip basiert insgesamt auf der Verwendung von Antikörpern, die gegen den Pyridinium-Ring gerichtet sind [139][143].

Nach dieser Bestimmungsmethode arbeitet auch das Festphasen-Chemilumineszenz-Enzymimmunoassay der Firma DPC Biermann, das Immulite-System (Pyrilinks-D-Immulite). Dieses Verfahren wurde in den vorliegenden Untersuchungen verwendet [42].

1.2.7 Crosslinks und indirekte Einflussfaktoren

1.2.7.1 Laborchemische Eigenschaften der Crosslinks

Die Stabilität der Pyridiniumverbindungen ist mehrfach experimentell überprüft worden. Allgemein wird bei -20°C eine Stabilität der Verbindung in Proben für einen

Zeitraum von mehreren Monaten bis Jahren angegeben [123][10][57]. Gerrits et al. geben nach eingehenden Untersuchungen, die sich mit der labortechnischen Praktikabilität der Crosslinks beschäftigen, eine Lagerungsstabilität der Verbindungen in Proben bei -20°C für 10-20 Jahre an. Für freie Crosslinks soll der Zeitraum sogar bis maximal 25 Jahre betragen [57].

Die Konzentration der Derivate bleibt ebenfalls nach der Untersuchung Gerrits et al. trotz bis zu zehnmaliger Einfrier- und Auftauzyklen unverändert [57]. Andere Autoren empfehlen wiederum, wiederholte Einfrier- und Auftauvorgänge zu vermeiden [156][74].

Die Crosslinks stellen auch bei Raumtemperatur stabile Verbindungen dar [78][28]. Experimentell konnte gezeigt werden, dass die Exposition mit normalem Tageslicht und Kontamination durch Säuren zu keinem signifikanten Abfall der nachzuweisenden Menge führt. Eine hohe UV-Licht Einwirkung bzw. γ -Strahlung verursachen die Zerstörung der Pyridiniumderivate [29][78][156].

Diese Stabilität der Pyridiniumderivate unter verschiedenen physikalischen Bedingungen lässt auf einen hohen Aussagewert der ermittelten Crosslink-Konzentration schließen.

Aufgrund ihrer anwenderfreundlichen laborchemischen Eigenschaften und des geringen Bestimmungsaufwandes bieten sich die Crosslinks als Marker in der klinischen Routine an.

1.2.7.2 Werte bei Kindern und Unterschiede im Alter bzw. Geschlecht

Der Einfluss von Alter und Geschlecht auf die Crosslinks wurde wiederholt untersucht.

Die Ausscheidung der Crosslinks weist im Vergleich zu Erwachsenen bei Kindern überdurchschnittlich höhere Werte auf. In der Zeit des aktiven Wachstumsschubes wurden zehn- bis fünfzehnfach höhere Konzentrationen der Marker im Serum bzw. Urin beobachtet. Die Ausscheidung ist beim Kleinkind am höchsten, fällt kontinuierlich bis zum 17. Lebensjahr ab und stabilisiert sich dann anschließend auf einem bestimmten Niveau [10][20][44][55][122].

Diese Beobachtung wird auch mit der im Alter abnehmenden Lysylhydroxylierung erklärt. Dies wurde aus der Tatsache abgeleitet, dass nicht nur die Einzelparameter PYD und DPD im Alter reduziert sind, sondern auch der aus dem Verhältnis PYD und DPD gebildete Quotient erniedrigt ist. Der Quotient verändert sich einerseits, da PYD einen höheren Anteil an Hydroxylisinresten aufweist, andererseits da ein sich mit dem höheren Alter verändernder Stoffwechsel der Bindegewebe nicht ausgeschlossen werden kann [51][2].

Die geschlechtsabhängigen Unterschiede in der Crosslinks-Ausscheidung wurden vor allem in Verbindung zur Menopause im höheren Alter bei Frauen beschrieben. In

1 Einleitung Knochenabbauprodukte

mehreren Studien wurde ein rapider Anstieg in der Ausscheidung bei postmenopausalen Frauen beobachtet [149][139][140].

Auch in der Schwangerschaft konnten steigende Werte für DPD und PYD nachgewiesen werden [83].

Für prämenopausale Frauen und das männliche Geschlecht beobachteten Uebelhart et al. ähnlich hohe Werte [153].

1.2.7.3 Einfluss der Nahrung

Untersuchungen zeigen, dass die Ausscheidung von DPD und PYD von inhaltlichen Bestandteilen der täglichen Nahrung weitgehend unabhängig ist.

Colwell konnte nachweisen, dass die Pyridinium-Crosslinks nicht über den Darm resorbiert werden. Die Einhaltung einer kollagenfreien Diät ist somit nicht notwendig.

Im Vergleich zur Normalkost wurden keine Unterschiede nach Aufnahme gelatinhaltiger Nahrung beobachtet. Auch der Proteingehalt beeinflusst die Crosslink Werte nicht [28][30][123][55][10].

Eine Diät spielt demnach für die Messung der Crosslinks keine Rolle.

1.2.7.4 Tageszeitliche Schwankungen

Die Crosslink-Ausscheidung unterliegt deutlichen tageszeitlichen Schwankungen. In multiplen Studien konnte nachgewiesen werden, dass die höchsten Werte für die Ausscheidung in der Nacht und in den frühen Morgenstunden erreicht werden. Im Laufe des Vormittags und des weiteren Tages kommt es zu einem kontinuierlichen Abfall, so dass gegen 17.00 Uhr die niedrigsten Werte gemessen werden [137].

In Untersuchungen sollten die Proben zu jeweils gleichem Tageszeitpunkt gewonnen werden, um vergleichbare Werte zu erhalten. Die Untersuchung des Morgenurins ist zur Bestimmung der Crosslinks üblich [96][132].

1.2.8 Abhängigkeit der Crosslinks von Nierenfunktion und Bezug der Messwerte auf Kreatinin

Die Crosslinks werden in gebundener und freier Form vollständig renal ausgeschieden. Dies geschieht bis zu einem gewissen Grad unabhängig von der renalen Funktion. Bei chronischer Niereninsuffizienz kommt es zur Retention der Crosslinks mit stark erhöhten Urin- und Serumspiegeln. Bedingt durch eine unterschiedliche Molekülgröße der Crosslinks und damit vorliegende unterschiedliche Elimination über die glomeruläre Basalmembran finden sich auch im Serum stark erhöhte Crosslink-Werte [96][99][100].

Die meisten Studien beziehen die Messwerte der Crosslinks auf Kreatinin um den Einfluss einer unterschiedlichen Diurese zu reduzieren. Dem gegenüber stehen

Untersuchungen, die diesen Bezug als kritisch beurteilen. Die Autoren geben zu bedenken, dass die Möglichkeit einer fehlerhaften Angabe der tatsächlichen Crosslink Menge bestehe, da auch die Kreatinin-Messung nicht immer unter standardisierten Bedingungen erfolgte [113][117][119].

Delmas et al. sprechen sich für einen Bezug von Crosslinks auf Kreatinin aus, obwohl sie auch auf die Möglichkeit erhöhter Werte bei geringer Muskelmasse und damit erniedrigter Kreatininwerte hinweisen [38].

Der Bezug auf Kreatinin scheint somit sinnvoll zu sein und wird heute routinemäßig durchgeführt, um mögliche Einflüsse auf die Messergebnisse zu verringern, wie z.B. den aus dem Ausscheidungsvolumen resultierenden Verdünnungsfaktor. [82][148].

1.2.9 Crosslinks und andere Erkrankungen

Erkrankungen bzw. Situationen, die mit gesteigerten Knochenresorptionsraten einhergehen, führen zu einem Anstieg der Pyridinoline im Urin und stellen eine Indikation zur Messung der Crosslinks dar. Im Gegensatz dazu führt eine Therapie mit Oestrogenen bzw. Bisphosphonaten oder der Zustand nach Parathyreoidektomie zur Absenkung der Ausscheidungsraten der Crosslinks [82][14][151][123] [152].

Da auch bei gesunden Personen ständig Auf- und Abbauprozesse am Knochen und Knorpel stattfinden, scheiden auch gesunde Menschen über den Urin Pyridiniumcrosslinks aus.

Eine Immobilisation führt bei gesunden Personen zu einem signifikanten Anstieg der Crosslinks im Urin [148][138].

Es gilt als gesichert, dass die Bestimmung der Crosslinks im Urin, einzeln oder gemeinsam im Verbund mit anderen diagnostischen Parametern einen wichtigen Beitrag in der Verlaufskontrolle der Osteoporose erbringt. Bei osteoporotischen Frauen zeigten sich signifikant erhöhte Ausscheidungswerte der knochenspezifischen Crosslinks [39][152][133][134][117].

Auch bei nichtosteoporotischen Frauen werden mit Beginn der Menopause, Crosslinks in erhöhter Konzentration, mit Anstieg der Ausscheidungsrate um 50-80% gegenüber jüngeren Personen, im Urin ausgeschieden. Eine Oophorektomie bringt ähnliche Veränderungen mit sich. Durch den Einsatz von Östrogenen bei sich in der Menopause befindlichen Frauen kommt es zu einer Abnahme der im Urin nachweisbaren Pyridinoline bis auf prämenopausale Werte und damit sehr wahrscheinlich zu Normalisierung des Knochenstoffwechsels [151][152][149].

Bei Patienten mit asymptomatischem primärem Hyperparathyreoidismus ist die Ausscheidung der Pyridinium-Crosslinks signifikant gesteigert. In ca. 60% der Fälle konnten pathologische Urinkonzentrationen nachgewiesen werden. Nach erfolgter operativer Versorgung mittels Parathyrektomie sinken beide Werte dauerhaft und rasch ab [14].

1 Einleitung Knochenabbauprodukte

Tumorpatienten mit Knochenmetastasen zeigen in 80-95% der Fälle eine signifikant erhöhte Ausscheidung von Pyridinium-Crosslinks [141]. Bei röntgenologisch noch nicht nachgewiesener Metastasierung konnten zum Teil erhöhte Urinkonzentrationen von Deoxypyridinolin nachgewiesen werden, was bereits für eine diffuse Knochenmetastasierung sprechen kann [142].

Bei Osteoarthritis, Rheumatoider Arthritis und weiteren arthrotischen Veränderungen konnte ebenfalls eine signifikant gesteigerte Ausscheidung der Crosslinks nachgewiesen werden. Als weitere Erkrankung, die mit einem Anstieg der Crosslinks einhergeht wird Morbus Paget beschrieben.

Eine reduzierte DPD-Ausscheidung wird bei Kindern mit Wachstumshormonmangel beschrieben. Unter Therapie mit Wachstumshormonen steigt die DPD-Ausscheidung wieder an. [145][146] [38].

2 Zielsetzung der Doktorarbeit und Hypothese

2.1 Zielsetzung

Da für immer mehr Erkrankungen mit einem veränderten Knochenstoffwechsel eine labortechnische Bestimmung der Crosslinks in der alltäglichen Klinikroutine Verwendung findet, soll der Zusammenhang zwischen der DPD-Ausscheidung und Morbus Perthes geprüft und die Anwendbarkeit dieser Labormethodik auch in Bezug auf den Morbus Perthes in der folgenden Arbeit vorgestellt und diskutiert werden.

Obwohl die Erkrankung Morbus Perthes mit einem zumindest lokal veränderten Knochenstoffwechsel einhergeht, werden bisher sowohl das Ausmaß des Knochenabbaus, als auch der Verlauf der Erkrankung ausschließlich radiologisch bestimmt. Routinelaborparameter wie BSG, CRP und Rheumafaktoren werden lediglich zum Ausschluss anderer Erkrankungen herangezogen [84].

Bei zahlreichen Erkrankungen, die mit einem veränderten Knochenstoffwechsel einhergehen, wie z.B. der Osteoporose werden bereits routinemäßig Metabolite des Knochenabbaus zur Diagnosestellung, zur Screening-Untersuchung und zur Verlaufskontrolle bestimmt [11][133].

Somit ist die Suche nach einem effektiven, leicht bestimmbaren Laborverfahren zur Bestimmung des Knochenabbaus bei Morbus Perthes von großer Bedeutung.

Ob ein neuer Marker in der klinischen Praxis Verwendung finden kann und sich durchsetzt, hängt im Wesentlichen von folgenden Kriterien ab:

- Nachgewiesener Zusammenhang zwischen der Erkrankung und dem Marker.
- Einfacher und reproduzierbarer labortechnischer Nachweis
- Überlegenheit gegenüber bzw. sinnvolle Ergänzung zu bisher routineangewandten diagnostischen Methoden
- Sozio-ökonomische Überlegungen z.B. Kosten-Nutzen Rechnung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es festzustellen, ob sich die knöchernen Umbauprozesse bei Morbus Perthes mittels Bestimmung von Deoxypyridinolin im Urin nachweisen lassen und ob gegebenenfalls der stadienhafte Verlauf der Erkrankung anhand der DPD-Ausscheidung nachvollziehbar ist.

Des Weiteren sollte die Eignung dieses Laborparameters im klinischen Alltag für die Diagnostik des Morbus Perthes überprüft werden.

Mit der Untersuchung sollten im Einzelnen folgende Fragen beantwortet werden:

1. Liegen Unterschiede im Vergleich der Crosslinkspiegel im Urin zwischen Morbus Perthes Patienten und Gesunden vor?
2. Gibt es Korrelationen zwischen Röntgenstadium, Ausprägung und Schweregrad der Morbus Perthes Erkrankung einerseits und den Crosslinkspiegeln im Urin andererseits?
3. Sollte die Messung der DPD Crosslinks als fester, ergänzender Parameter im Rahmen der Diagnosestellung des Morbus Perthes einbezogen werden?
4. Welche zusätzlichen Kosten pro Patient müssten durch die Routinebestimmung der Crosslinks vom Gesundheitssystem getragen werden?

2.2 Hypothese

Bei zahlreichen Erkrankungen mit einem veränderten Knochenstoffwechsel wird eine labortechnische Bestimmung der Crosslinks routinemäßig angewendet.

Die Höhe der gemessenen Crosslinks korreliert bei Erkrankungen mit einem erhöhten Knochenstoffwechsel mit dem Grad des Knochenabbaus und steigt damit bei erhöhtem Knochenabbau.

Da auch beim Morbus Perthes im floriden Stadium Knochenabbau und -umbauprozesse stattfinden, ist hypothetisch anzunehmen, dass in den Stadien der Erkrankung mit erhöhtem Knochenabbau (Kondensationsstadium und Fragmentationsstadium) gesteigerte DPD Werte im Urin messbar sein sollten. Im Endstadium sollten dann wieder physiologische Werte zu erwarten sein.

Weiterhin ist anzunehmen, dass der Schweregrad der Erkrankung mit dem DPD Wert im Urin korreliert. Unter der Annahme, dass mit der Herring- und Catterall-Klassifikation der Schweregrad der Erkrankung erfasst wird, wurden bei ausgeprägter Nekrose (Catterall III und IV bzw. Herring C) höhere Ausscheidungsraten von DPD im Urin erwartet, als bei Patienten mit einem geringeren Befall (Catterall I und II bzw. Herring A oder B).

3 Material und Methoden

3.1 Material

3.1.1 Studienkollektiv

Das Studienkollektiv umfasste 39 an Morbus Perthes erkrankte Patienten und eine Kontrollgruppe bestehend aus 44 gesunden Kindern. Da sowohl die Patienten als auch die gesunden Kontrollgruppenkinder zum Zeitpunkt der Probenentnahmen minderjährig waren, wurden die Erziehungsberechtigten im Vorhinein über die Teilnahme an der Studie informiert und gaben in allen Fällen ihr Einverständnis. Die Studie wurde durchgeführt gemäß den Anforderungen der Deutschen Bundesärztekammer für Verwendung von menschlichen Körpermaterialien für Zwecke medizinischer Forschung [21].

3.1.1.1 Patienten

An der Untersuchung haben 39 an Morbus Perthes erkrankte Kinder teilgenommen. Alle an dieser Studie teilnehmenden Erkrankten waren Patienten der Orthopädischen Klinik der Heinrich-Heine-Universität in Düsseldorf. Die Untersuchungsdauer dieser Studie umfasste den Zeitraum vom 01.06.1998 bis zum 30.04.2003.

Von den 39 Patienten waren 22 Jungen und 17 waren Mädchen. Die Patientengruppe befand sich im Alter von 3 bis 11 Jahren. Das Durchschnittsalter der Patienten betrug 6,68 Jahre mit einer Standardabweichung von 1,8.

Als Einschlusskriterium galt die Diagnose des Morbus Perthes im Initial-, Kondensations- oder Fragmentationsstadium. Ein beidseits erkranktes Kind wurde nur dann in die Studie aufgenommen, wenn eine Seite radiologisch bereits das spätere Reparations- oder Endstadium erreicht hat. Als Ausschlusskriterium galt ein beidseits florider Morbus Perthes, das Vorliegen anderer, den Knochenstoffwechsel beeinträchtigende Grunderkrankungen, sowie die Einnahme von Medikamenten mit bekannten Auswirkungen auf den Knochenstoffwechsel.

Im Rahmen der regelmäßigen Vorstellung der Patienten in der orthopädischen Ambulanz wurden Anamnesegespräche, alle Routineuntersuchungen und Bewegungsprüfungen durchgeführt.

Bei den untersuchten Kindern wurden sowohl zu Beginn als auch im Verlauf des Morbus Perthes keine weiteren, nicht mit Morbus Perthes in Zusammenhang stehenden, Erkrankungen des Skelettsystems diagnostiziert.

3 Material und Methoden

Alle Angaben zur Anamnese, Diagnose und Therapie sind den Akten der orthopädischen Ambulanz entnommen. Die Röntgenbilder wurden, wie schon oben erwähnt, unabhängig von den Angaben in der Patientenakte in einer gesonderten Kontrolle wiederholt betrachtet und nach Catterall und Herring klassifiziert.

Die meisten der erkrankten Kinder konnten von Diagnosestellung an bis zur Abheilung der Erkrankung im Rahmen der regelmäßigen ambulanten Untersuchungen in der Studie verfolgt werden. Einzelne Patienten sind aus unterschiedlichen Gründen (z.B. Abbrechen der Behandlung, Arztwechsel, Incompliance) vor dem Erreichen des Endstadiums der Erkrankung aus der Studie ausgeschieden.

3.1.1.2 Kontrollgruppe

Die Kontrollgruppe (=gesunde Probanden) bestand aus 44 Kindern.

Für die Studie wurden ausschließlich gesunde Kinder eingeschlossen. Als Ausschlusskriterium galten das Vorliegen von Erkrankungen des Skelettsystems oder andere den Knochenstoffwechsel beeinflussende Erkrankungen, sowie die Einnahme von Medikamenten mit bekannten Auswirkungen auf den Knochenstoffwechsel. Auch Kinder, die vor kurzem Unfälle bzw. Verletzungen im Bereich der Knochen mit ggf. vollständiger bzw. teilweiser Immobilisation hatten, wurden in diese Arbeit nicht eingeschlossen.

Im Rahmen der Studieneinschlussphase erfolgte eine anamnestische Befragung sowohl der Probanden als auch der Erziehungsberechtigten. Der Anamnesebogen beinhaltete Angaben zu Person (Alter, Geschlecht, etc.), Fragen nach angeborenen bzw. erworbenen Krankheiten sowie explizite Fragen nach Erkrankungen des Skelettsystems und der Nieren. Des Weiteren gab es Angabemöglichkeiten für akut aufgetretene Erkrankungen wie Infekte, allergische Reaktionen und Unfälle mit möglichen Verletzungen. Falls solche akuten Vorfälle im Verlauf der Studie aufgetreten sind, wurde individuell entschieden, ob ein Ausschluss aus dem Studienkollektiv notwendig war.

Die Entscheidung zur Aufnahme in die Studie erfolgte nach einer körperlichen Untersuchung mit Beurteilung der Beweglichkeit der Gelenke.

Die Kontrollgruppenkinder wurden nach dem Hauptkriterien Alter (+/- 1 Jahr) und Geschlecht der Kinder ausgewählt. Es wurde ein gesundes mit einem erkrankten Kind zum Zeitpunkt der Diagnosestellung und/oder zum Zeitpunkt der Erstvorstellung in der orthopädischen Ambulanz verglichen. Als Nebenkriterium wurde die

Konstitution der Kinder herangezogen, allerdings wurde das genaue Gewicht der einzelnen Kinder nicht berücksichtigt.

3.1.2 Gewinnung, Sammlung und Asservierung der Proben

3.1.2.1 Urin der Patienten

Die für die Durchführung dieser Studie notwendigen Urinproben wurden regelmäßig alle 3 Monate mit Hilfe der Eltern bzw. Erziehungsberechtigten gesammelt. Eine röntgenologische Kontrolle erfolgte alle 3-6 Monate in Abhängigkeit vom Krankheitsstadium im Rahmen der üblichen regelmäßigen Vorstellung in der Ambulanz der Klinik. Diese Röntgenaufnahmen wurden in Hinblick auf die Ausdehnung der Nekrose anhand der Catterall- [25][26] und Herring-Klassifikation [68][69] ausgewertet sowie das radiologische Stadium nach Waldenström festgelegt [155].

Die Urinproben wurden in einem Zeitraum vom 01.06.1998 bis zum 30.04.2003 gesammelt. Aufgrund der langen Studiendauer konnten viele, der an Morbus Perthes erkrankten Kinder, von der Diagnosestellung bis zum Endstadium der Erkrankung untersucht und verfolgt werden. Ein Teil der Patienten konnten nur in bestimmten Stadien der Erkrankung erfasst werden.

Die Patienten waren aufgefordert, eine Urinprobe ihres Morgenurins abzugeben. Es wurde der erste Morgenurin verwendet, um Einflüsse einer diurnalen Variation zu vermeiden.

Die Proberöhrchen beinhalteten nach Gewinnung ca. 5-10 ml Urin. Die Proben wurden nach der Beschriftung mit Patientendaten und dem Abnahmedatum, ohne Zusatz von Konservierungsmitteln oder anderer Additiva, bei -20°C eingefroren. Das gesamte Probenmaterial blieb bis zur Durchführung der Analysen bei -20°C eingelagert. Aufgrund der Lichtempfindlichkeit des zu messenden Abbauproduktes DPD wurden alle Proben abgedunkelt abgegeben und gelagert.

Es erfolgte die Aufnahme in die Studie in unterschiedlichen Krankheitsstadien, was zu einer ungleichen Anzahl von gewonnenen Fallproben pro Patient führte. Die Unterschiede in den Fallzahlen wurden in die Datenanalyse einbezogen und beeinflussen die Gesamtinterpretation daher nicht.

3.1.2.2 Urin der Kontrollgruppe

Die Kinder der Kontrollgruppe wurden nach einem Anamnesegegespräch, der körperlicher Untersuchung und der Einweisung der Eltern bzw. Erziehungsberechtigten gebeten, vier Urinproben zu sammeln.

Es wurden Proben aus dem Mittelstrahl des ersten Morgenurins jeweils am gleichen Wochentag in vier aufeinander folgenden Wochen gesammelt.

3 Material und Methoden

Zur Gewinnung des Materials wurden die gleichen Röhrchen wie bei der Patientengruppe verwendet. Mit ca. 5-10 ml Urin gefüllt wurden die Proben sowohl abgedunkelt transportiert und gekühlt aufbewahrt. Die Proben wurden vor dem anschließenden Einfrieren maximal 7 Tage gekühlt aufbewahrt.

Im Anschluss wurden die Proben ohne Zusatz von Konservierungsmitteln oder anderer Additiva abgedunkelt bei -20 °C eingefroren. Das Probenmaterial blieb bis zum Zeitpunkt der Analysen bei -20 °C gelagert.

3.2 Methoden

3.2.1 Bestimmung des freien Deoxyypyridinolin

Vor der eigentlichen Bestimmung des Abbauproduktes Deoxyypyridinolin (DPD) wurden die Proben aufgetaut, durchmischt und zentrifugiert.

Die Bestimmung des freien Deoxyypyridinolin im Urin erfolgte mit einem ELISA Prinzip (Enzyme-linked Immunosorbent Assay). Es wurde der Pylilinks-D-IMMULITE® verwendet, welches von Metra Biosystems Inc., Palo Alto, CA, USA entwickelt wurde und durch DPC Biermann GmbH, Bad Nauheim, Deutschland vertrieben wird.

Der Pylilinks-D-IMMULITE® Test ist ein Festphasen-Chemilumineszenz-Immunoassay. Als Festphase wird eine, mit spezifischen monoklonalen DPD-Antikörpern von der Maus beschichtete Polystyrolkugel verwendet. Diese Kugel ist in ein Teströhrchen eingelagert.

Freies DPD aus einer Patientenurinprobe und ein mit alkalischer Phosphatase markiertes DPD konkurrieren während der 30-minütigen Inkubation bei 37°C um die limitierte Anzahl der Bindungsstellen der enthaltenen Antikörper. Ungebundene Komponenten werden anschließend mittels einer speziellen Zentrifugal-Waschtechnik entfernt. Zugegebenes Chemilumineszenz-Substrat (PPD) wird vom gebundenen Enzym während der folgenden 10-minütigen Inkubation umgesetzt. Die dabei ausgelöste Lichtemission ist der DPD-Konzentration in den Proben indirekt proportional [42]

Vor jeder Bestimmung wurde mit den im Testkit für den Pylilinks-D-IMMULITE® enthaltenen Kalibratoren eine Anpassung der Standardkurve durchgeführt. Proben der Patienten und der Kontrollgruppe und die Kitreagenzien wurden jeweils für die Bestimmungen vorbereitet. Nach Rückführung der Urine auf eine Raumtemperatur von 20°C wurde jede Probe mit einem Vibrator gemischt und anschließend zehn Minuten bei 3300g zentrifugiert. Das Untersuchungsmaterial wurde dem Überstand entnommen. Alle Urinproben wurden für den ersten Durchlauf unverdünnt verwendet.

Die Assays wurden dann wie folgt durchgeführt:

3 Material und Methoden

Das Reagenzmodul wurde in das Reagenzienkarussell gestellt, welches wiederum in das Gerät eingesetzt wurde. Anschließend wurden die barcodierten Reagenziendaten eingelesen.

Die Patientenproben wurden in die Probenröhrchen überführt. Dabei wurde von den vorher zentrifugierten Urinen mindestens 100µl Probenüberschuss entnommen. Die Probenträger mit den Probenröhrchen wurden in die Ladestation gestellt.

Die Ergebnisse der Messung wurden in nmol/l angegeben. Alle Werte wurden zum besseren Vergleich auf Kreatinin bezogen.

In manchen Fällen war eine Modifikation der Durchführung des Assays notwendig. Im ersten Durchlauf wurde der Urin unverdünnt eingesetzt. Lediglich bei Ergebnissen $DPD > 300$ nmol/l war eine Verdünnung von 1:5 notwendig, da der Messbereich des Gerätes nur bis 300 nmol/l reicht. Nach der Verdünnung ermittelte Werte wurden für die weitere Berechnung mit dem Faktor fünf multipliziert.

3.2.2 Bestimmung von Kreatinin

Die Ergebnisse der oben beschriebenen Messung des freien Deoxypyridinolin wurden zum besseren Vergleich auf Kreatinin bezogen.

Kreatinin (Krea) entsteht endogen im Muskelstoffwechsel aus Kreatin und Kreatinphosphat. Es wird bei normaler Nierenfunktion durch glomeruläre Filtration ausgeschieden. Kreatininbestimmungen werden zur Diagnose und Verlaufskontrolle von Nierenerkrankungen durchgeführt. Des Weiteren wird die Kreatininkonzentration im Urin, wie in dem Fall der vorliegenden Studie, als Bezugsgröße für die Ausscheidung eines Analyten, z.B. Deoxypyridinolin verwendet.

Die Kreatininbestimmung für diese Studie wurde unter Verwendung des Gerätes Crea plus der Firma Roche/Hitachi durchgeführt.

Die Kreatininmessung erfolgte mittels der enzymatischen Bestimmung, durch einen enzymatischen Farbstest, über die Messung des Ammoniaks nach Spaltung des Kreatinins mit der Kreatinin-Iminohydrolase. Diese enzymatische Bestimmung beruht auf der bewährten Ermittlung von Sarcosin nach Umwandlung des Kreatinins mit Hilfe der Kreatininase, Kreatinase und Sarcosinoxidase und der anschließenden Messung des gebildeten Wasserstoffperoxides über eine modifizierte Trinderreaktion.

Die Ergebnisse dieser Methode stimmen laut Hersteller mit der HPLC Methode überein.

Der Hersteller gibt eine Sensitivität (analytische Nachweisgrenze) im Urin von 0,3 mg/dl bzw. 27 µmol/l an. Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren

Kreatininkonzentration, die von Null unterschieden werden kann. Sie ist berechnet als der Wert, der drei Standardabweichungen oberhalb des niedrigsten Standards liegt (Masterkalibrator, Stand. $1 + 3 \text{ SD}$, Präzision in der Serie, $n=21$).

Der Messbereich wurde mit 0,3-400 mg/dl bzw. 27-35360 $\mu\text{mol/l}$ angegeben. Proben mit höheren Konzentrationen wurden über eine Rerun-Funktion bestimmt [33].

3.2.3 Röntgenologische Diagnostik

Die an Morbus Perthes erkrankten Kinder wurden regelmäßig in der Ambulanz der Orthopädischen Klinik der Heinrich-Heine-Universität untersucht. Teilweise war ein stationärer Aufenthalt notwendig.

Im Rahmen der Erstdiagnose bzw. der Kontrolluntersuchungen wurde regelmäßig röntgenologische Diagnostik zur Kontrolle des Verlaufs der Erkrankung eingesetzt. In frühen Krankheitsstadien alle 3 Monate und im Spätstadium alle 6 Monate wurden eine Beckenübersicht im a.p.-Strahlengang und die Einstellung nach Lauenstein erstellt.

Die Röntgenbilder wurden in Hinblick auf das Krankheitsstadium nach Waldenström und in Hinblick auf den Schweregrad nach Catterall und Herring beurteilt.

Zur Stadienzuordnung wurden die folgenden Schemata der Klassifikationen verwendet:

Stadieneinteilung nach Waldenström [155]:

- | | |
|--------------------------|---|
| • Initialstadium: | Abflachung des Hüftkopfes, Verbreiterung des Gelenkspaltes, Verbreiterung des Schenkelhalses |
| • Kondensationsstadium: | Weitere Abflachung der Hüftkopfeiphyse, homogene Knochenverdichtung, Gelenkspaltverbreiterung |
| • Fragmentationsstadium: | Nebeneinander von nekrotischen und reparativen Vorgängen |
| • Reparationsstadium | Abbau des nekrotischen Materials und Ersatz durch neue Knochensubstanz |
| • Endstadium | Endgültige Form des Hüftkopfes nach Abschluss der reparativen Vorgänge |

Klassifikationssystem nach Catterall [25][26]:

- I Nur der antero-laterale Teil der Epiphyse ist betroffen
- II Bis zu 50% der Epiphyse nekrotisch, die Höhe der Epiphyse bleibt erhalten
- III Zwischen 50% und 75% der Epiphyse sind betroffen
- IV Totalnekrose mit ausgedehnter Sequestrierung

Klassifikation nach Herring et al. [68][69]:

- A Laterale Säule bleibt erhalten, keine Höhenminderung
- B Höhenminderung der lateralen Säule um weniger als 50%
- C Höhenminderung der lateralen Säule um mehr als 50%

3.2.4 Statistische Analyse

Die Erfassung in der Studie erhobener Daten erfolgte mit dem Programm Excel 2003. Die statistische Auswertung wurde mit SPSS 12.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) und SAS 9.1.3 Software (SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA) durchgeführt.

Alle Werte aus den Urinproben der Patientengruppe wurden dem entsprechenden radiologischen Stadium zugeordnet. In den Fällen, in denen es mehrere Urinproben zu einem radiologischen Stadium eines Patienten gab, wurde der Mittelwert der DPD/Krea Ratio ermittelt. Dieser Mittelwert wurde in weiteren Berechnungen verwendet.

In der Kontrollgruppe wurde jeweils ein Mittelwert aus 4 erhobenen DPD/Krea Werten errechnet. Die 44 Mittelwerte, den 44 Kindern der Kontrollgruppe entsprechend, wurden wiederum in weiteren Analysen verwendet.

Im Rahmen der diversen Analysen wurden unterschiedliche Tests angewendet.

Um zu überprüfen, ob die DPD/Krea-Werte normalverteilt sind, wurde für die Patienten- und Kontrollgruppe der Kolmogorov-Smirnov-Test durchgeführt. Das Signifikanzniveau lag hier bei $p < 0,001$.

Da die Werte für DPD/Krea, die für jedes radiologische Stadium errechnet wurden, nicht unabhängig voneinander waren, wurde der Friedman Test als nicht-parametrischer Test für mehr als zwei abhängige Stichproben zum Vergleich der einzelnen, in der Patientengruppe errechneten Mediane verwendet. Für den Fall, dass der Friedman Test für die durch die radiologischen Stadien gegebenen Gruppen global signifikante Unterschiede zwischen den Medianen der DPD/Krea-Werte anzeigte, wurde weiterhin der Wilcoxon-Test zum paarweisen Vergleich der Mediane der DPD/Krea-Werte der aufeinanderfolgenden Stadien verwendet. Diese Berechnung erfolgte, um zu prüfen, zwischen welchen aufeinanderfolgenden Stadien genau die Unterschiede bestehen. Hier wurden im Paarvergleich die Werte im

Kondensationsstadium mit den Werten des Fragmentationsstadiums, die Werte des Fragmentationsstadiums mit den Werten im Reparationsstadium und die Werte im Reparationsstadium mit denen des Endstadiums verglichen.

Der Mann-Whitney-Test konnte aufgrund der Unabhängigkeit dieser Paare für den Vergleich der DPD/Krea-Ratio der Kontrollgruppe mit den DPD/Krea-Ratios in den einzelnen radiologischen Stadien der Patientengruppe angewendet werden. Das Signifikanzniveau wurde auf 5% gesetzt ($p < 0,05$).

Um mögliche falsch signifikante Ergebnisse durch multiples Testen zu vermeiden, wurde eine Korrektur des α -Fehlers nach Bonferoni vorgenommen.

Die Vertrauensgrenzen der Perzentile basierten auf den Rangwerten wie bei Hahn und Meeker beschrieben [65].

3.2.5 Berechnung der Kosten der laborchemischen Untersuchungen

Zur Kostendarstellung und Festlegung der Mehrkosten pro Patient im Falle der zukünftig durchgeführten DPD/Krea Bestimmung im Urin wurden die Preise der GOÄ nach dem Einzelsatz entnommen. Zusätzlich wurde eine Internetrecherche durchgeführt, um festzustellen ob die Angaben der GOÄ den Preisen in den durchführenden Labors entsprechen [60][87][89].

Alle Kosten wurden in der Währung Euro angegeben.

Zunächst wurden die Kosten für die Routineuntersuchungen im Rahmen des Morbus Perthes, zum Ausschluss anderer entzündlicher oder tumoröser Prozesse, aufgelistet und addiert.

Im zweiten Schritt wurden die Kosten für die Einzelbestimmung des DPD im Urin und Bestimmung des Kreatinins im Urin betrachtet.

Danach erfolgte eine Aufaddierung der Einzelkosten für die DPD/Krea-Bestimmung zu Gesamtkosten pro Patient, bezogen auf die Dauer der Morbus Perthes Erkrankung, wie sie in der vorliegenden Studie ermittelt wurde.

Personalkosten für die Blutentnahme, Materialkosten und Transportkosten wurden bei der Berechnung und Angabe sowohl bei den Routineparametern, als auch bei der DPD-Bestimmung nicht berücksichtigt.

4 Ergebnisse

4.1 Patienten und Kontrollgruppe

Im Rahmen der Morbus Perthes Behandlung haben 39 Kinder (Patienten) an der Studie zur Crosslink-Bestimmung aus dem ersten Morgenurin teilgenommen. Zusätzlich zu den erkrankten Kindern wurden 44 gesunde Kinder (Kontrollgruppe) in die Studie einbezogen. Die Daten wurden im Zeitraum von Juni 1998 bis April 2003 erfasst.

4.2 Geschlechtsverteilung

4.2.1 Geschlechtsverteilung der Patienten

Im Patientengut von insgesamt 39 an Morbus Perthes erkrankten Kindern waren 22 Jungen und 17 Mädchen vertreten. Hieraus ergibt sich eine Geschlechtsverteilung von 56% zu 44%.

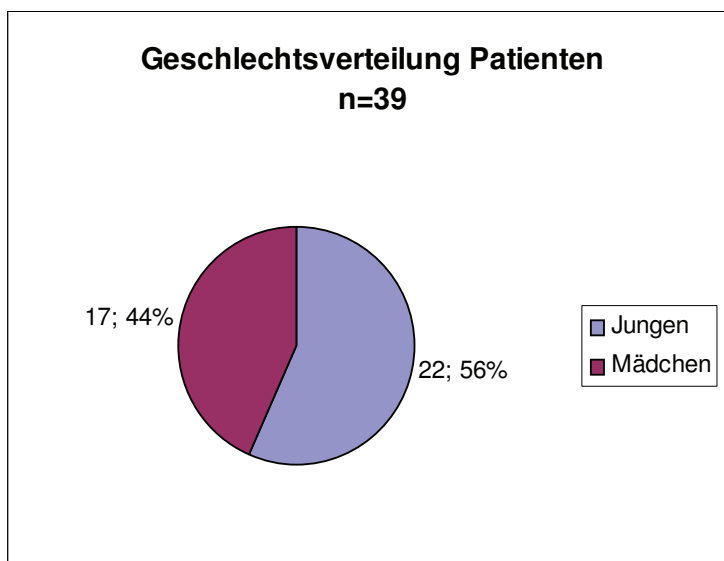


Abb. 10: Geschlechtsverteilung Patienten

4.2.2 Geschlechtsverteilung der Kontrollgruppe

Die Kontrollgruppe bestand aus 44 gesunden Kindern mit 25 Jungen und 19 Mädchen. Hieraus ergibt sich eine Geschlechtsverteilung von 57% zu 43%.

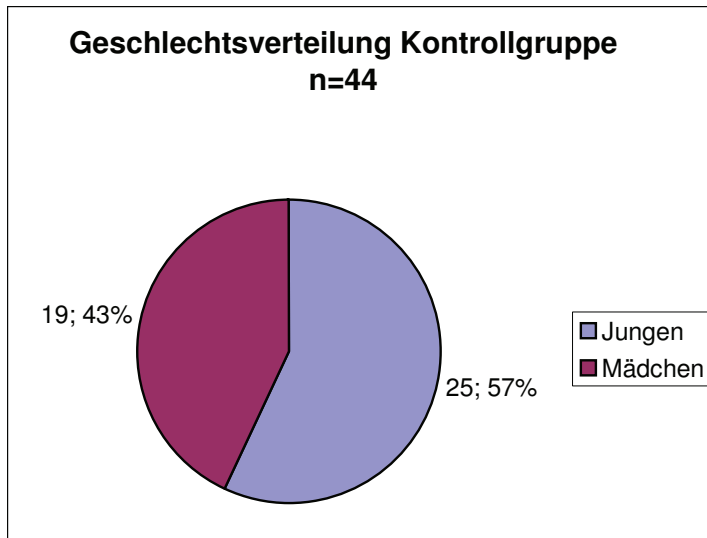


Abb. 11: Geschlechtsverteilung Kontrollgruppe

4.3 Altersverteilung

4.3.1 Altersverteilung der Patienten

Als Erkrankungsbeginn des Morbus Perthes wurde der Zeitpunkt des Auftretens der ersten Symptome und / oder der Erstvorstellung in der Klinik definiert. Der jüngste Patient der Studie war bei Beginn der Erkrankung 3 Jahre alt, der älteste Patient war bereits 11 Jahre alt. Der Altersdurchschnitt betrug 6,68 Jahre.

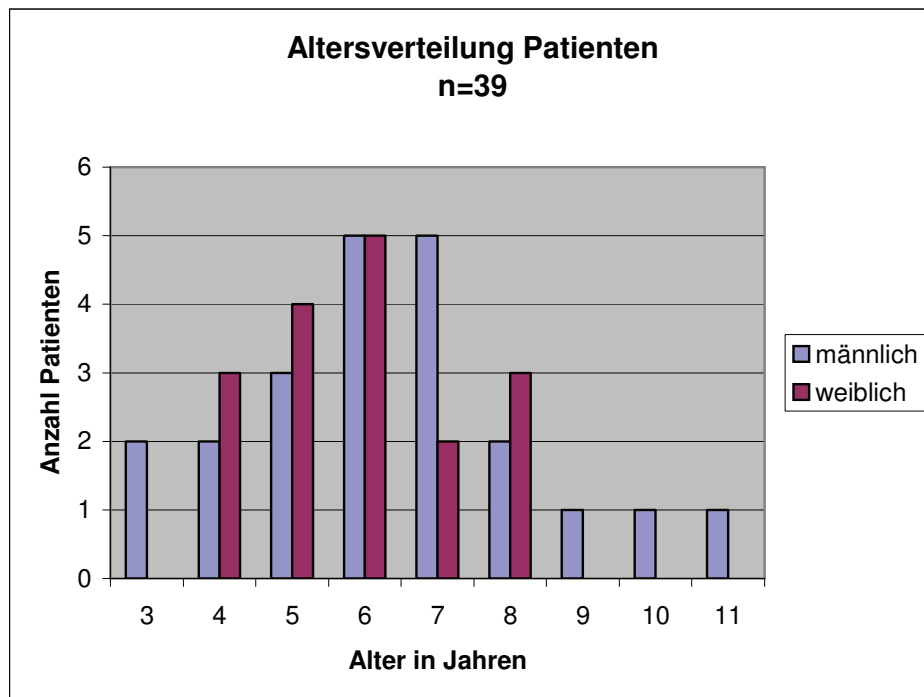


Abb. 12: Altersverteilung Patienten

4.3.2 Altersverteilung der Kontrollgruppe

Die Kinder der Kontrollgruppe waren durchschnittlich 6,73 Jahre alt. Die jüngsten Kontrollgruppenkinder waren 3 Jahre alt, das älteste Kontrollgruppenkind war 11 Jahre alt.

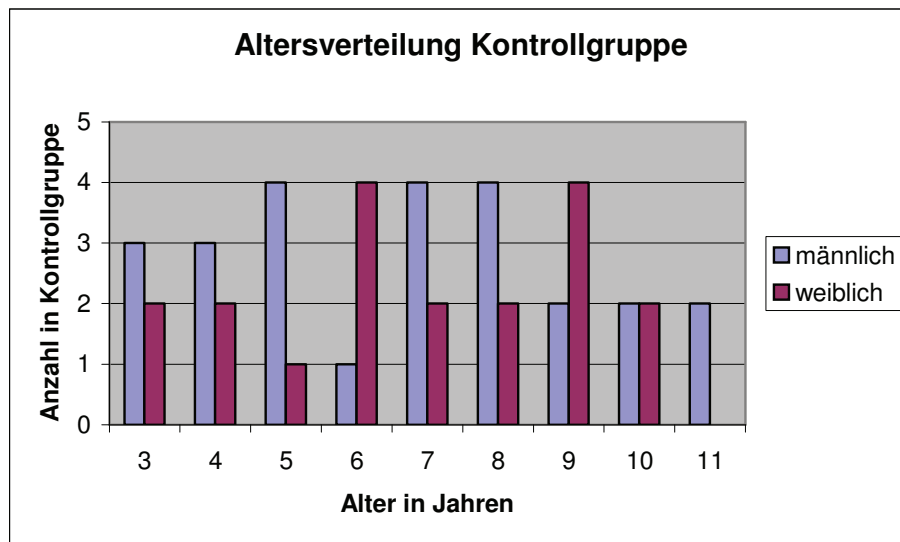


Abb. 13: Altersverteilung Kontrollgruppe

4.4 Erkrankungsseite

Die Perthespatienten zeigten in 20 Fällen einen Befall der linken Seite und in 19 Fällen einen Befall der rechten Seite.

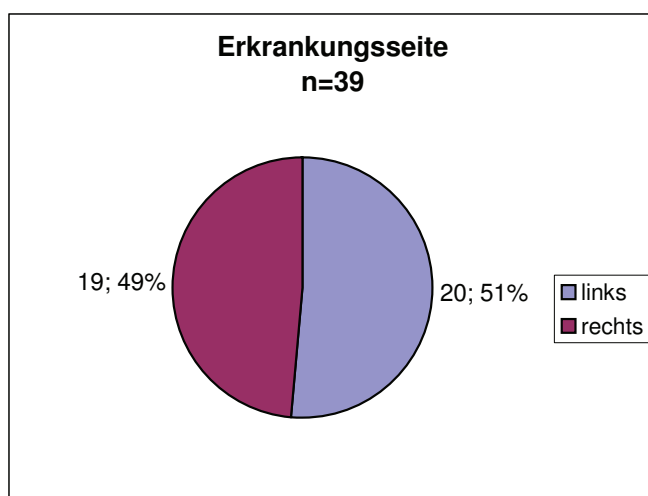


Abb. 14: Erkrankungsseite

4.5 Stadium der Erkrankung

Im Rahmen der Erstvorstellung und der zur diesem Zeitpunkt durchgeführten bildgebenden Diagnostik, wurde die Erkrankung jeweils individuell einem radiologischen Stadium nach Waldenström zugeordnet bzw. nach Catterall und Herring klassifiziert.

4.5.1 Stadien nach Waldenström bei Erstvorstellung / Studieneintritt

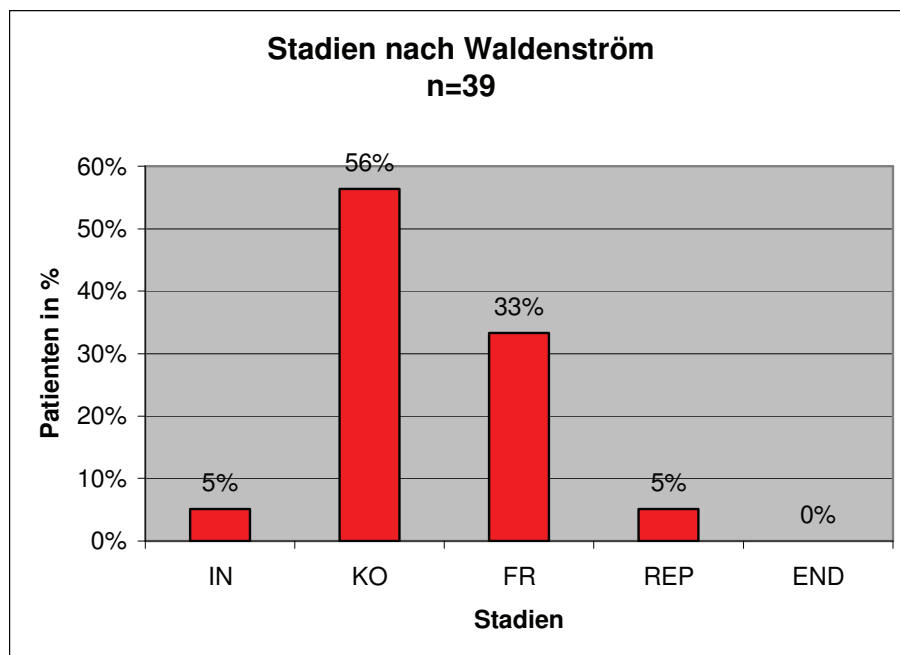


Abb. 15: Stadien nach Waldenström

Im Rahmen der Erstvorstellung in der Klinik bzw. beim Studieneintritt wurden von den 39 erkrankten und in der Studie untersuchten Kindern lediglich 2 (5%) im Initialstadium erfasst. 22 Kinder (56%) wurden im Kondensationsstadium erstmals untersucht. Bei 13 Kindern (33%) fand die Aufnahme in die Studie im Fragmentationsstadium und bei 2 Patienten (5%) im Reparationsstadium statt. Eine Erstvorstellung im Endstadium ist nicht erfolgt.

4.5.2 Klassifikation nach Catterall bei Erstvorstellung / Studieneintritt

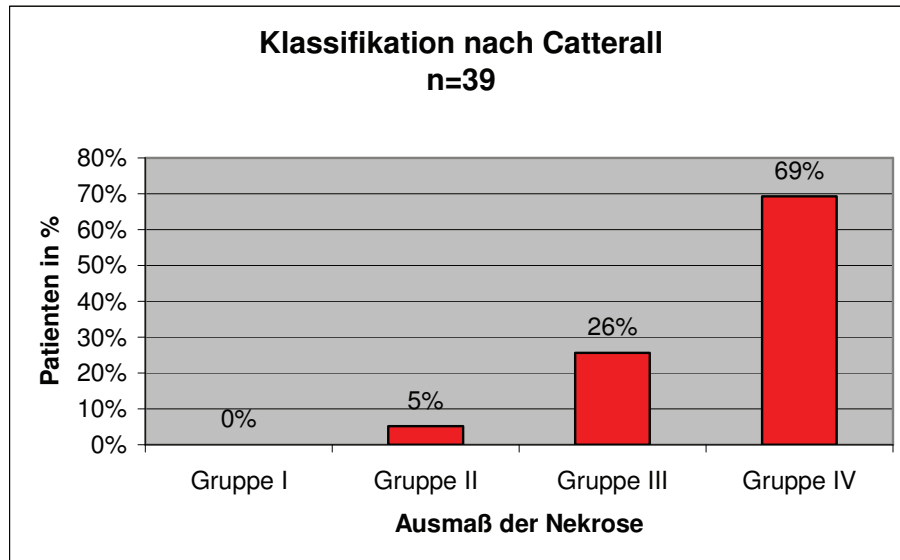


Abb. 16: Klassifikation nach Catterall

Nach Catterall wurden von den 39 in der Studie teilnehmenden Patienten zwei (5%) der Gruppe II bei Erstvorstellung in der Klinik zugeordnet. Der Gruppe III wurden 10 Kinder (26%) und der Gruppe IV 27 Kinder (69%) zugeordnet.

Im radiologischen Stadium, entsprechend der Gruppe I, wurde kein Kind beim Studieneintritt erfasst.

4.5.3 Klassifikation nach Herring bei Erstvorstellung / Studieneintritt

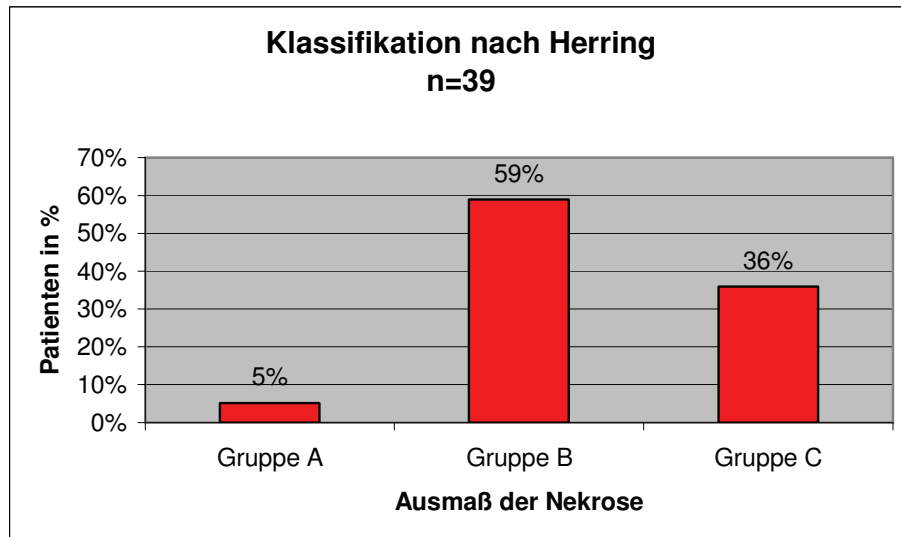


Abb. 17: Klassifikation nach Herring

Nach Herring wurden bei der ersten Untersuchung bzw. beim Studieneintritt von den 39 erkrankten Studienkindern 2 Kinder der Gruppe A (5%), 23 Kinder der Gruppe B (59%) und 14 Patienten der Gruppe C (36%) zugeordnet.

4.6 Dauer der Erkrankung

Um die Dauer der Erkrankung anzugeben, wurden Patienten betrachtet, die sich bei Erstvorstellung in der Klinik entweder im Kondensationsstadium oder im Fragmentationsstadium befanden und bis zum Endstadium erfasst wurden. Patienten, die im späteren Stadium in die Studie eingeschlossen wurden oder die die Untersuchung vor dem Erreichen des Endstadiums abgebrochen haben wurden nicht berücksichtigt. Im Initialstadium wurden nur zwei Patienten erstdiagnostiziert, so dass dieses Stadium in die statistische Auswertung nicht einbezogen wurde.

Hieraus ergaben sich 22 erkrankte Kinder, die erfasst wurden.

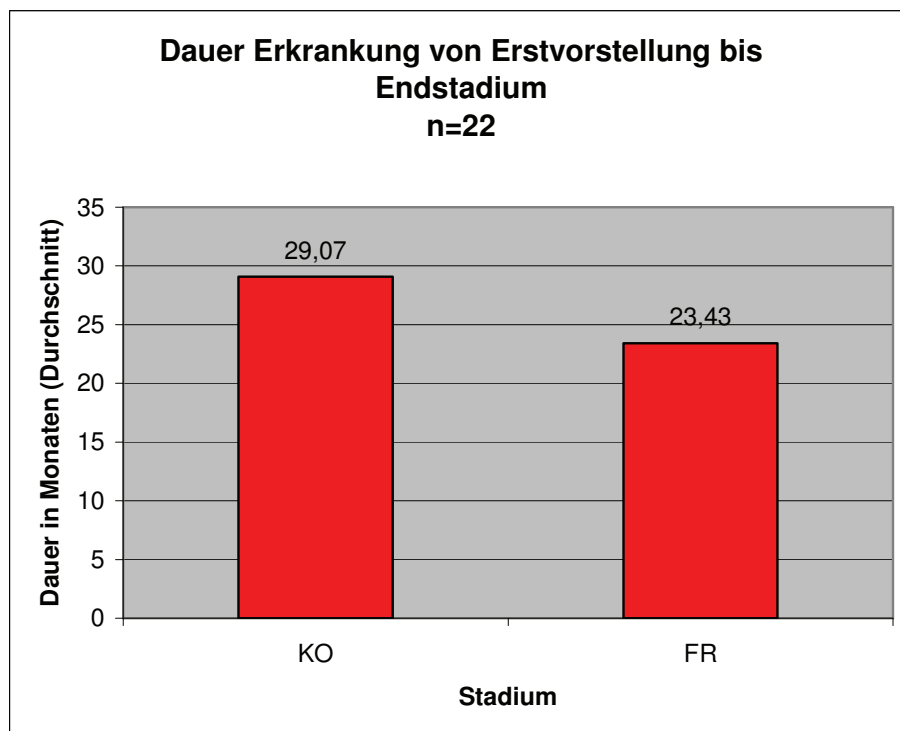


Abb. 18: Dauer der Erkrankung von Erstvorstellung bis Endstadium

Von den 22 erkrankten Kindern, die von der Erstvorstellung bis zum Endstadium verfolgt werden konnten, dauerte die Erkrankung durchschnittlich:

- Bei Einschluss in die Studie im Kondensationsstadium 29,07 Monate (Minimum 10 Monate, Maximum 37 Monate, Std.abweichung 4,50).
- Bei Einschluss in die Studie im Fragmentationsstadium 23,43 Monate (Minimum 10 Monate, Maximum 27 Monate, Std.abweichung 6,00).

4.7 Analyse der Werteverteilung

Bei der Auswertung der erhobenen Daten wurde zuerst der Kolmogorov-Smirnov-Test zur Überprüfung der Normalverteilung der DPD/Krea-Werte durchgeführt. Hiermit konnte gezeigt werden, dass die Werte für DPD/Krea sowohl in der Patientengruppe ($p=0,076$) als auch in der Kontrollgruppe ($p=5,59E-06$) signifikant von der Normalverteilung abweichen ($p<0,001$).

Da von einer Normalverteilung der DPD/Krea-Werte nicht ausgegangen werden konnte, wurden für die weiteren Auswertungen nicht-parametrische Tests herangezogen.

4.8 Statistische Analyse der DPD/Krea Werte

4.8.1 DPD/Krea in Bezug auf Waldenström

Zunächst erfolgte der Vergleich der Werte für DPD/Krea der erkrankten Kinder in unterschiedlichen Stadien nach Waldenström mit den Werten für DPD/Krea der Kontrollgruppe.

	IN	KO	FR	REP	END	NO
N	2	25	26	30	24	44
Mittelwert	N/A	14,5	19,3	25,4	34,5	32,0
Std.abweichung	N/A	8,4	6,5	4,8	8,2	11,8
Konfidenz-intervall	N/A	8,0 – 16,5	16,8 – 22,0	22,9 – 26,9	30,6 – 39,2	27,2 – 31,9
Minimum	34,9	5,4	7,3	18,3	19,2	17,7
Maximum	36,9	24,8	32,8	35,2	54,0	64,6
Median	N/A	12,4	19,6	25,6	33,4	29,1
p – Wert	N/A	< 0,0001	< 0,0001	0,003	0,04	N/A

IN Initialstadium, KO Kondensationsstadium, FR Fragmentationsstadium, REP Reparationsstadium, END Endstadium, NO Normalkollektiv, N/A not applicable

Tab. 1: Quotient DPD/Krea bei M. Perthes in Abhängigkeit vom Röntgen-Stadium nach Waldenström im Vergleich zum Normalkollektiv

Der Median der DPD/Krea-Werte beträgt in der Kontrollgruppe 29,1 nmol/mmol. In der Patientengruppe betragen die Mediane der DPD/Krea Ratios im Kondensationsstadium 12,4 nmol/mmol, im Fragmentationsstadium 19,6 nmol/mmol, im Reparationsstadium 25,6 nmol/mmol und im Endstadium 33,4 nmol/mmol. Im Initialstadium wurden nur 2 Werte erhoben, so dass dieses Stadium in die Analyse nicht einbezogen wurde.

Die oben beschriebene Verteilung der Werte lässt sich mit der Boxplot Darstellung gut veranschaulichen.

4 Ergebnisse

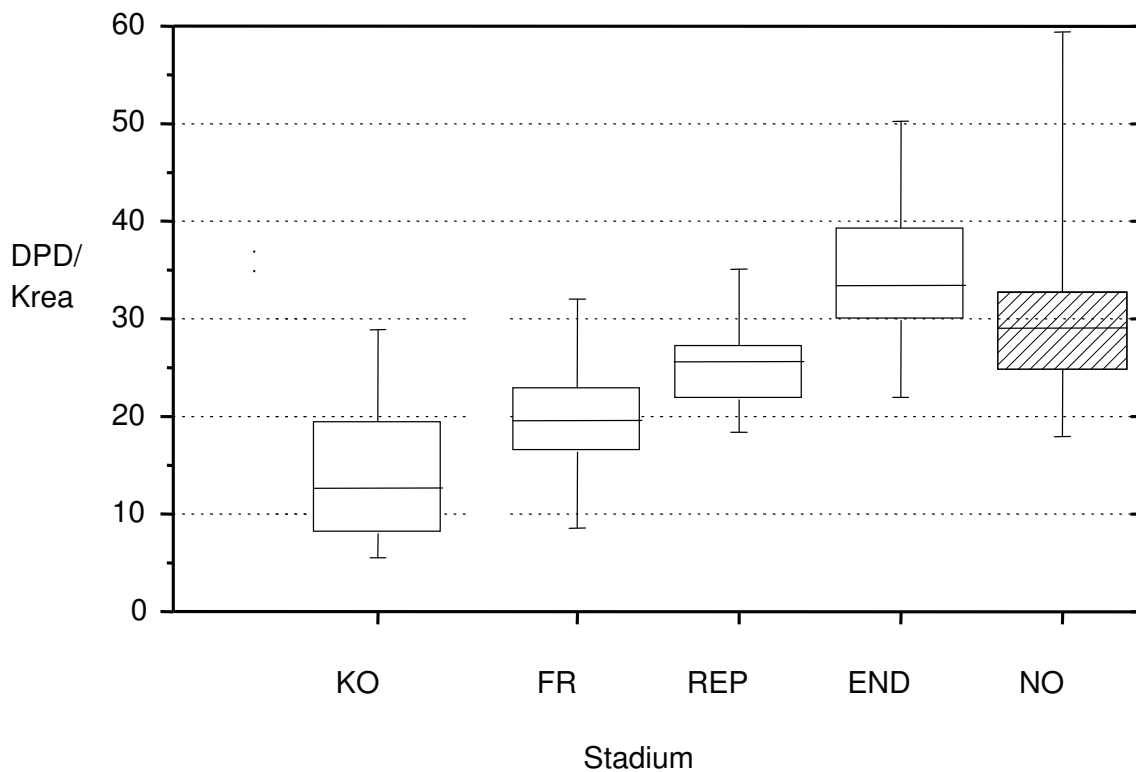


Abb. 19: DPD/KREA (nmol/mmol) in Abhängigkeit von den röntgenologischen Stadien nach Waldenström im Vergleich zu Kontrollgruppenwerten.

Der Vergleich zeigt signifikante Unterschiede in den Median-Werten der erkrankten Gruppe im Kondensationsstadium, Fragmentationsstadium und Reparationsstadium gegenüber der Kontrollgruppe. Im Kondensationsstadium sind die DPD/Krea Werte am niedrigsten und steigen kontinuierlich im Verlauf der Folgestadien der Erkrankung. Bis zum Reparationsstadium sind die Werte für DPD/Krea gegenüber der Kontrollgruppe erniedrigt. Erst im Endstadium normalisiert sich die Ausscheidung.

4.8.1.1 Intra-individuelle Variabilität

Die Berechnung der intra-individuellen Variabilität im Rahmen der Qualitätskontrolle der durchgeführten Messungen erfolgte zur Überprüfung der Variabilität innerhalb der erhobenen Messwerte eines Kindes. Die Berechnung der intra-individuellen Variabilität bei Messungen einer Zielgröße unter gleichen Bedingungen bei einem Probanden ergab in der Wurzel der mittleren quadratischen Abweichung 5,0 im Kondensationsstadium, 3,6 im Fragmentationsstadium, 5,4 im Reparationsstadium und 10,5 im Endstadium. Die intra-individuelle Variabilität der Kontrollgruppe ergab 11,5.

Mit dieser Berechnung konnte gezeigt werden, dass in der vorliegenden Studie die Streuung der Messwerte im Endstadium der Erkrankung und bei der Kontrollgruppe höher war als in den vorangehenden Stadien der Erkrankung (Kondensationsstadium, Fragmentationsstadium, Reparationsstadium).

4.8.1.2 Friedman-Test

Um die Nullhypothese, dass keine Unterschiede zwischen den einzelnen Krankheitsstadien bestehen, zu überprüfen, wurde in der Berechnung ein nicht-parametrischer Test für mehr als zwei abhängige Stichproben, der Friedman-Test, angewendet. Dieser Test konnte nur für die Studienfälle gerechnet werden, für die Daten für alle vier Krankheitsstadien, d.h. Kondensationsstadium, Fragmentationsstadium, Reparationsstadium und Endstadium vorlagen. Das Initialstadium wurde aus Mangel an Daten insgesamt nicht berücksichtigt. Bei 7 Patienten wurden die Daten für alle 4 Krankheitsstadien erhoben und für diese Fälle wurde der Friedman Test berechnet. Hier ergab sich der p-Wert von $p = 0,0003$, so dass die Hypothese, dass keine Unterschiede zwischen den Stadien bestehen, zurückgewiesen werden konnte.

4.8.1.3 Wilcoxon-Test

Zur Prüfung, zwischen welchen aufeinander folgenden Krankheitsstadien genau die berechneten Unterschiede bestehen, wurde der Wilcoxon-Test für Paarvergleiche abhängiger Stichproben durchgeführt. Für diesen Test konnten nur die Fälle herangezogen werden, bei denen für beide jeweils betrachteten Stadien Mediane der DPD/Krea Werte vorlagen.

Untereinander verglichen wurden die Stadien:

- Kondensationsstadium (KO) mit Fragmentationsstadium (FR)
- Fragmentationsstadium (FR) mit Reparationsstadium (REP)
- Reparationsstadium (REP) mit Endstadium (END)

4 Ergebnisse

Zur Berechnung musste eine Adjustierung für mehrfaches Testen vorgenommen werden. Hierzu wurde die Bonferroni-Korrektur durchgeführt. Dabei wurde das ursprüngliche $\alpha=0,05$ durch die Zahl der Tests ($k=3$) dividiert, so dass man ein korrigiertes $\alpha=0,016$ erhielt. Eine statistische Signifikanz ist gegeben, wenn die errechneten p-Werte kleiner als 0,016 sind.

Für die drei Vergleiche ergaben sich folgende Ergebnisse:

- Vergleich KO und FR: $n=13$, $p=0,001$
- Vergleich FR und REP: $n=21$, $p<0,0001$
- Vergleich REP und END: $n=24$, $p<0,0001$

Für alle drei Vergleiche konnte hiermit eine statistische Signifikanz belegt werden.

4.8.1.4 Mann-Whitney-Test

Zum Vergleich der jeweiligen DPD/Krea Werte in den einzelnen radiologischen Stadien mit den DPD/Krea Werten der Kontrollgruppe wurde der Mann-Whitney-Test durchgeführt. Dieser Test wurde aufgrund der Unabhängigkeit dieser Paare gewählt. Auch in diesem Fall wurde die Bonferroni-Korrektur zur Adjustierung für mehrfaches Testen vorgenommen. Nach Bonferroni-Korrektur mit $k=4$ war das korrigierte α mit 0,0125 angegeben. Damit ergab sich, dass die statistische Signifikanz bei $p<0,0125$ für die Mediane der DPD/Krea Werte liegt.

Der Median der DPD/Krea Werte im Kondensationsstadium ist signifikant niedriger als der Median der DPD/Krea Werte der Kontrollgruppe ($p<0,0001$). Auch im Fragmentationsstadium zeigen die Mediane der DPD/Krea Werte verglichen mit der Kontrollgruppe eine hohe statistische Signifikanz ($p<0,0001$). Im Reparationsstadium ist $p=0,003$ signifikant. Lediglich der Median der DPD/Krea Werte im Endstadium unterscheidet sich nicht signifikant von den Werten der Kontrollgruppe ($p=0,05$).

4.8.2 DPD/Krea in Bezug auf Catterall und Herring

Im Folgenden erfolgte die Analyse der DPD/Krea Ausscheidung im Urin verglichen mit dem radiologisch bestimmten Ausmaß der Nekrose der Epiphyse im Bezug auf die Einteilung nach Catterall und Herring im Fragmentationsstadium.

Das Fragmentationsstadium ist gewählt worden, weil in diesem Stadium die Klassifikation als besonders zuverlässig gilt [25][26].

Hier zeigte sich ein Kollektiv von 26 Patienten, die im Fragmentationsstadium erfasst wurden. Von diesen 26 Kindern wiesen alle einen ausgedehnten Befall der Epiphyse auf (Catterall 3 und 4).

Nach Catterall war das Studienkollektiv wie folgt aufgeteilt:

	Catterall 3	Catterall 4
n	4	22
Mittelwert	13,2	20,3
Std.abweichung	6,2	6,0
Median	12,4	19,8
95%- Konfidenzintervall	7,3-20,4	18,1-23,0
Minimum	7,3	11,2
Maximum	20,4	32,8

Tab. 2: : DPD/Krea-Werte (nmol/mmol) im Verhältnis zum Ausmaß der Epiphysennekrose während des Fragmentationsstadiums nach der Catterall Klassifikation

Dies entsprach der Stadieneinteilung nach Catterall: n=4 in Gruppe III und n=22 in Gruppe IV.

Im Catterall Stadium III wurden nur 4 Patienten erfasst. Daher wurde kein statistischer Test zur Analyse der Differenz der DPD/Krea-Ausscheidung in den beiden Stadien Catterall III und IV durchgeführt.

4 Ergebnisse

Nach Herring war das Studienkollektiv folgendermaßen aufgeteilt:

	Herring B	Herring C
n	14	12
Mittelwert	21,8	16,4
Std.abweichung	6,9	4,7
Median	21,7	18,1
95%- Konfidenzintervall	18,2-29,5	11,4-19,9
Minimum	8,9	7,3
Maximum	32,8	22,0

Tab. 3: : DPD/Krea-Werte (nmol/mmol) im Verhältnis zum Ausmaß der Epiphysennekrose während des Fragmentationsstadiums nach der Herring Klassifikation

Nach Herring waren 14 Kinder der Gruppe B und 12 Patienten der Gruppe C zugeordnet.

Die Berechnung der Differenz zwischen den Stadien erfolgte für die Herring Klassifikation. Der Median für die DPD/Krea Ausscheidung im Urin zeigte signifikant niedrigere Werte bei Patienten mit Herring C als bei Patienten mit Herring B ($p = 0,03$). Damit zeigten Kinder mit ausgeprägter Nekrose der Epiphyse eine niedrigere mediane DPD/Krea Ausscheidung als Patienten mit einem weniger schweren Befall des Hüftkopfes.

4.8.3 Kostenrechnung für Laborbestimmungen

Im Rahmen der Erstdiagnose zum Ausschluss entzündlicher und tumoröser Prozesse erfolgen routinemäßig mindestens folgende serologische Bestimmungen BB, CRP, RF, BSG.

Die Kosten werden nach der GOÄ (Einfachsatz) folgendermaßen angegeben [60][87][89].

4 Ergebnisse

Art der Untersuchung	GOÄ-Nr.	Preis
BB (klein):	3550	3,50 €
CRP:	3741	11,66 €
RF:	3886	10,49 €
BSG:	3501	3,50 €
Gesamtkosten		29,15 €

Tab. 4: Kostenübersicht nach GOÄ von aktuell zu bestimmenden Routineparameter zum Ausschluss anderer Erkrankungen bei ED des Morbus Perthes

Nach dieser Berechnung ergeben sich die Mindestkosten, die vom Gesundheitswesen bei der Diagnose des Morbus Perthes getragen werden von ca. 30 €.

Weitere im Laufe der Morbus Perthes Erkrankung für labortechnische Bestimmungen anfallende Kosten, speziell in der perioperativen Phase, werden hier, da sie kein Einfluss auf die Gesamtdarstellung haben, nicht angegeben.

Der Laborparameter DPD/Krea im Urin wurde in der durchgeführten Untersuchung alle 3 Monate bestimmt. Dieser Zeitabstand wurde gewählt, um die Veränderung dieses Parameters im Verlauf der Erkrankung zu verfolgen.

Die durchschnittliche Dauer der Morbus Perthes Erkrankung, die durch die vorliegende Arbeit ermittelt wurde, wird je nach Zeitpunkt der Erstvorstellung in der Klinik mit folgender Länge angegeben.

- Bei Einschluss in die Studie im Kondensationsstadium 29,07 Monate.
- Bei Einschluss in die Studie im Fragmentationsstadium 23,43 Monate.

Aus dieser Zeitspanne resultieren bei 3 monatlichen Urinuntersuchungen insgesamt 7 bis 9 Bestimmungen des DPD/Krea-Wertes im Urin. In der Literatur wird die Dauer mit 2-4 Jahren angegeben. Hieraus ergeben sich maximal 16 Bestimmungen.

Die Angaben für die Kosten nach GOÄ für diese Labormethode sind wie folgend:

Art der Untersuchung	GOÄ-Nr.	Preis
DPD im Urin	4078	33,20 €
Kreatininbestimmung im Urin	3585	2,68 €
Gesamtkosten		35,88 €

Tab. 5: Kostenübersicht nach GOÄ für Bestimmung des DPD/Krea im Urin

4 Ergebnisse

Aus diesen Preisangaben ergeben sich Gesamtlaborkosten für jede einzelne DPD/Krea Bestimmung im Urin von 35,88 €. Die Kosten pro Patient für die Dauer der Erkrankung bei sieben bis neun Bestimmungen bis zum Endstadium belaufen sich auf ca. 250 €-320 €, bei maximal 16 Bestimmungen belaufen sich die Kosten auf ca. 575 €.

5 Diskussion

5.1 Einleitung

Seit Jahrzehnten wurden unzählige Studien zur Diagnostik und Therapie des Morbus Perthes durchgeführt. Bislang konnte dabei kein klinisch-chemischer Parameter entdeckt werden, der zur Diagnostik dieser Erkrankung oder zur Beurteilung der Dauer bzw. Prognose verwendet werden kann.

Die radiologische Diagnostik wird heutzutage als Mittel der ersten Wahl angesehen. Hierbei werden vor allem das konventionelle Röntgenbild der Hüfte in zwei Ebenen und in Einzelfällen die Magnetresonanztomographie eingesetzt.

Auch Aussagen über Prognose und Dauer der Erkrankung werden auf Basis der röntgenologischen Untersuchungen gemacht.

Routinelaborparameter wie BSG, Blutbild, CRP und Rheumafaktoren werden hauptsächlich zum Ausschluss entzündlicher und tumoröser Erkrankungen genutzt.

Auf der Suche nach einer geeigneten laborchemischen Diagnostik wurden in dieser Arbeit der Zusammenhang zwischen dem Morbus Perthes und den Crosslinks als Parameter für den Knochenstoffwechsel sowie eine mögliche Einsatzfähigkeit in der klinischen Routine untersucht.

Die Crosslinks Bestimmung im Urin oder auch im Blut gilt heutzutage als eine gängige und angesehene Methode zur Beurteilung des Ausmaßes des Knochenabbaus. Während der Knochenresorption beobachtet man einen Anstieg dieser Crosslinks als Vertreter der Kollagenabbauprodukte im Urin bzw. im Blut.

Von diesen Abbauprodukten ist besonders das Deoxypyridinolin als spezifisch für das Kollagen Typ I anzusehen, welches vor allem in Knochen und Dentin vorkommt[57][9][81][115].

Für viele Erkrankungen, wie z.B. die Osteoporose, wurde der Anstieg von DPD im Urin wiederholt beschrieben, und die Bestimmung des Parameters findet eine einfache und häufige Routineanwendbarkeit im klinischen Alltag [11][133]. Auch andere Erkrankungen gehen mit einer erhöhten DPD Ausscheidung im Urin einher (z.B. Knochenmetastasen, Hyperparathyreodismus und Morbus Paget) [18][135].

Ausgehend von der Kenntnis, dass während der Erkrankung des Morbus Perthes ischämische Prozesse im Knochen zum Anhalten der Ossifikation und zur Nekrose führen, wurde hypothetisch angenommen, dass vermehrt Knochenabbauprodukte in der Resorptionsphase dieser Erkrankung im Urin nachweisbar sein müssten.

5 Diskussion

Ziel der Studie war es im ersten Schritt die DPD-Ausscheidung von an Morbus Perthes erkrankten Kindern mit der Crosslink-Ausscheidung eines Normalkollektivs zu vergleichen.

Des Weiteren sollte die Beziehung zwischen den einzelnen Stadien der Morbus Perthes Erkrankung und der DPD-Ausscheidung im Urin untersucht werden.

Im Weiteren sollte die Crosslink Bestimmung als eine neue mögliche Labormethode zur Vereinfachung bzw. Ergänzung der Routine im Rahmen der Morbus Perthes Diagnostik erarbeitet und vorgestellt werden.

Hierfür wurde eine Studie in der orthopädischen Klinik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf mit 39 an Morbus Perthes erkrankten Kindern und einer Kontrollgruppe von 44 gesunden Kindern durchgeführt. Im Rahmen dieser Untersuchung wurde die Beziehung der DPD-Ausscheidung im Urin mit der Morbus Perthes Erkrankung in ihren einzelnen röntgenologischen Stadien untersucht.

Bei der Auswahl der Kontrollgruppenkinder wurden sowohl das Alter wie auch das Geschlecht berücksichtigt. Jedem erkrankten Kind konnte mindestens ein gesundes Kind des gleichen Geschlechts und vergleichbaren Alters (± 1 Jahr) zugeordnet werden. Mögliche das Ergebnis der Untersuchung beeinflussende Erkrankungen der gesunden Kinder wurden anamnestisch im Voraus ausgeschlossen.

Es wurde zu Beginn der Untersuchung hypothetisch angenommen, dass die Höhe des Deoxypyridinolin im Urin entsprechend des röntgenologischen stadientypischen Verlaufes der Erkrankung im Kondensationsstadium bzw. im Fragmentationsstadium am stärksten ansteigt und in der Reparationsphase und dem folgenden Endstadium, in denen keine erkrankungsbedingte Knochenresorption zu erwarten ist, bis auf den Normwert abfällt.

Ein Zusammenhang zwischen dem DPD/Krea-Wert im Urin und der Morbus Perthes Erkrankung konnte mit der vorliegenden Arbeit nachgewiesen werden, aber nicht entsprechend der im Vorhinein aufgestellten Hypothese.

5.2 Physiologische DPD/Krea-Ausscheidung im Kindesalter im Vergleich zum Erwachsenenalter

Die Normwerte für den DPD/Krea-Wert, für die der Studiengruppe entsprechende Altersgruppe gibt Shaw et al. mit 31 nmol/mmol als geometrischen Mittelwert an.

In der während der Studie untersuchten Kontrollgruppe war der Median der Werte für DPD/Krea 29,1 nmol/mmol und der geometrische Mittelwert lag bei 30,2 nmol/mmol, was mit den Ergebnissen von Shaw et al. gut vergleichbar ist [144].

Die physiologischen Normwerte für DPD/Krea im Urin für Säuglinge und Kinder sind allgemein höher als die Werte, die nach der Pubertät bei gesunden Erwachsenen ermittelt werden. Der Mittelwert für Erwachsene wird in der Literatur für prämenopausale Frauen (25 bis 44 Jahre) mit 5,0 nmol/mmol, für Männer (25 bis 55 Jahre) mit 3,8 nmol/mol angegeben [105].

Die verhältnismäßig hohe DPD/Krea-Ausscheidung im Kindesalter ist durch den wachstumsbedingt erhöhten Knochenstoffwechsel im Kindesalter zu erklären. Wachstumsbedingt finden am Knochen wiederholt Umbauprozesse statt, so dass vermehrt das Abbauprodukt DPD im Urin ausgeschieden wird. Nach der Pubertät sistiert das Wachstum, was zur Reduktion der DPD-Ausscheidung führt [144].

5.3 DPD/Krea-Ausscheidung bei Kindern mit Morbus Perthes

Der Anstieg der Deoxypyridinolin Ausscheidung korreliert nicht, wie hypothetisch angenommen, mit dem Stadium der höchsten Knochenresorption.

Stattdessen wurden im Kondensationsstadium, also zum Zeitpunkt des Knochenabbaus, die niedrigsten Werte für DPD/Krea im Urin beobachtet. In der folgenden Phase, in der sich der Knochen erneut aufbaut und remodelliert kommt es zu einem Anstieg der DPD-Werte.

Im Endstadium wurden sogar leicht erhöhte Werte im Vergleich zum Normalkollektiv gemessen.

Auf Basis dieser Untersuchung kann geschlossen werden, dass der lokal erhöhte Knochenabbau in der Femurepiphyse mit folgender Kollagendegradation und Crosslinkausscheidung irrelevant ist gegenüber einer offensichtlich vorliegenden - entgegen der Hypothese - allgemein veränderten Stoffwechsellage.

Somit führen wohl die lokal in der Femurepiphyse stattfindenden Abbauprozesse wahrscheinlich regional limitiert zur vermehrten Freisetzung von Knochenabbauprodukten. Diese wird aber von einer allgemeinen Verlangsamung des Knochenstoffwechsels mit resultierender erniedrigter Ausscheidung der Crosslinks im Urin überdeckt. Deshalb ergeben sich, im Vergleich mit der Kontrollgruppe, erniedrigte DPD/Krea-Werte im Urin bei an Morbus Perthes erkrankten Kindern.

Ähnlich erniedrigte DPD/Krea-Werte wurden bei Kindern mit Wachstumshormonmangel beschrieben[54][92][110].

Wiederholt wurden bei an Morbus Perthes erkrankten Kindern zeitlich begrenzte Wachstumsretardierungen beobachtet und beschrieben. Vor allem zu Beginn der Erkrankung und besonders bei jüngeren erkrankten Kindern wurde in verschiedenen Publikationen über eine Wachstumsretardierung berichtet. Dieser Wachstumsrückstand scheint sich zum Ende der Erkrankung wieder zu normalisieren. Die erkrankten Kinder holen das Wachstum auf, so dass nach Ablauf der Erkrankung keine Retardierung mehr zu beobachten ist [24][48][86][62][58][53].

In diversen Untersuchungen wurde die Ursache der Wachstumsretardierung bei Morbus Perthes erforscht.

Von besonderer Bedeutung sind Studien, die sich mit den Messungen des Wachstumshormons STH, des Insulin like growth Faktors (IGF I und II) bzw. Somatomedin beschäftigt haben.

Gewöhnlich werden in der Literatur die Somatomedine in Somatomedin A und Somatomedin C unterschieden. Durch Klapper wurde 1983 bewiesen, dass Somatomedin C identisch mit IGF I ist. Somatomedin A soll auch weitestgehend mit IGF I übereinstimmen, aber womöglich auch IGF II beinhalten [80].

Die Auswirkungen anderer endokrinologischer Störungen, die Einfluss auf den Knochenstoffwechsel und/oder das Wachstum haben könnten, konnte bei Morbus Perthes Erkrankten bislang nicht festgestellt werden. Rayner et al. konnten eine Störung des Schilddrüsenhormonstoffwechsels bei an Morbus Perthes erkrankten Kindern ausschließen [112], und auch der Stoffwechsel, der in der Nebennierenrinde produzierten Kortikosteroide, scheint nicht im Zusammenhang mit dieser Erkrankung zu stehen [76].

Studien, die sich mit dem Stoffwechsel der Somatomedine bei Morbus Perthes Erkrankten beschäftigt haben, kommen zu verschiedenen Ergebnissen.

Erhöhte Werte für Somatomedine bei an Morbus Perthes erkrankten Kindern beschrieben Burwell et al. und Rayner et al. [112][22]. Sie fanden erhöhte Werte vor allem bei jüngeren Jungen im Alter von drei bis fünf Jahren. Die in diesen Studien verwendeten Methoden basieren auf Bioassays. Kitsugi et al. konnten in ihren Untersuchungen keine veränderten Somatomedin C/IGF I Werte der erkrankten Kinder feststellen. In dieser Studie wurden Radioimmunoassays verwendet. [79]. Tanaka et al. nutzten Radioreceptorassays und fanden erniedrigte Plasmaspiegel des Somatomedin A bei Perthes Erkrankten [147]. Motokawa und Neidel beschrieben erniedrigte Somatomedin C Spiegel [98][102].

Da in den oben genannten Studien jeweils verschiedene Labormethoden zur Bestimmung des Wachstumshormonspiegels bzw. seines Mediators Somatomedin

verwendet wurden und dadurch intervenierende Wechselwirkungen mit weiteren Proteinen nicht ausgeschlossen werden können, muss deren Validität und Aussagekraft kritisch beurteilt werden.

Lediglich Neidel wendete in seinen Studien eine Methode basierend auf einer Säure-Ethanol-Extraktion an, die bewiesenermaßen eine reduzierte Wechselwirkung von IGF mit weiteren Proteinen mit sich führt [102].

Somit ist bisher eine einheitliche Aussage über den Stoffwechsel der Somatomedine bei Kindern, die an Morbus Perthes erkrankt sind, nicht gegeben.

Darüber hinaus wird in den oben erwähnten Studien, im Gegensatz zu der vorliegenden Untersuchung, der typische Stadienverlauf des Morbus Perthes nicht berücksichtigt.

Zusammenfassend kann somit festgestellt werden, dass der Verlauf der DPD/Krea-Ausscheidung im Urin nicht den lokalen Prozess des Knochenabbaus und -wiederaufbaus im Hüftkopf widerspiegelt.

Vielmehr könnte der Verlauf (niedrige DPD/Krea-Ausscheidung zu Beginn der Erkrankung, gesteigerte Werte im Verlauf) einen systemischen Prozess widerspiegeln mit Skelettretardierung zur Beginn der Erkrankung und einem Aufholprozess zu Ende der Erkrankung. Dieser Verlauf entspricht der Dynamik des Wachstumsverhaltens, wie er bei Perthes-Kindern beobachtet wurde.

Weitere Untersuchungen zum Wachstumshormon-Stoffwechsel sollten dazu Aufschluss geben.

Warum die Manifestation des Morbus Perthes, der dann als eine Systemerkrankung angesehen werden kann, lediglich und häufig nur einseitig an der proximalen Femurepiphyse stattfindet, konnte bisher nicht geklärt werden.

Eine Erklärung könnte sein, dass die Somatomedin-Rezeptoren am Erfolgsorgan entweder zahlenmäßig erniedrigt oder in ihrer Sensibilität vorübergehend reduziert bzw. gestört sind [22].

5.3.1 Auswertung der Veränderung des Deoxypyridinolin im Urin in Abhängigkeit vom Krankheitsstadium

Im Gegensatz zu den oben erwähnten Untersuchungen, wurde in der vorliegenden Studie eine Analyse des Stoffwechselfparameters DPD im ersten Morgenurin in Abhängigkeit vom röntgenologischen Stadium nach Waldenström des Morbus Perthes durchgeführt.

Eine Untersuchung der Beziehung zwischen der Ausscheidung der Crosslinks und den Stadien nach Waldenström ist erfolgt.

Dabei konnte ein deutlicher Abfall des DPD/Krea-Wertes im Urin im Anfangsstadium der Erkrankung (Kondensationsstadium) beobachtet werden. Im weiteren Verlauf zeigte sich ein allmählicher Anstieg des Urin-DPD/Krea-Wertes. Dieser erreichte im Endstadium, im Vergleich mit den Kontrollgruppenwerten, das Normalwertniveau.

Besonders Exner, aber auch Cannon, Grasemann und Kristmundsdottir beschreiben ein Wachstumsmuster bei an Morbus Pertheserkrankten Kindern, welches sowohl mit der DPD/Krea-Ausscheidung im Urin in Abhängigkeit der radiologischen Stadien nach Waldenström, als auch mit den Untersuchungsergebnissen dieser Studie übereinstimmt. [48][24][62][86]. Es zeigt sich bei den erkrankten Kindern zu Beginn der Erkrankung ein Sistieren des Wachstums mit einer daraus resultierenden Wachstumsretardierung. Zum Ende der Erkrankung und damit mit Normalisierung der DPD/Krea Werte kommt es zur Normalisierung des Wachstums und Aufholung der Wachstumsretardierung.

Für dieses Wachstumsmuster lieferten Neidel et al., wie schon im vorherigen Kapitel diskutiert, eine mögliche Erklärung: Der durch ihn beobachtete Abfall des Somatomedin C im Anfangsstadium der Erkrankung kann seiner Ansicht nach zur Wachstumsretardierung führen. Damit ließe sich der in dieser Studie beobachtete DPD/Krea-Abfall mit fehlendem Knochenumsatz im Kondensationsstadium des Morbus Perthes begründen. Die Normalisierung des Somatomedin C und somit das Aufholen des Wachstums der erkrankten Kinder im Endstadium stimmen auch überein mit dem Anstieg der DPD/Krea Ausscheidung auf Normniveau in dieser Untersuchung [102].

Eine weitere mögliche Erklärung für eine erniedrigte DPD/Krea-Ausscheidung aufgrund eines reduzierten Knochenstoffwechsels liefern Burwell et al. Sie beschreiben eine mögliche Reduktion der Bindungsaffinität des Somatomedinrezeptors in Chondrozyten bei Morbus Perthes erkrankten Kindern [22].

5.3.2 Veränderung des Deoxypyridinolin im Urin in Abhängigkeit vom Schweregrad des Morbus Perthes

Die Auswertung der DPD/Krea-Ausscheidung in Abhängigkeit vom Nekroseausmass und damit dem Schweregrad der Erkrankung erfolgte im Fragmentationsstadium und ergab signifikante Unterschiede für die Herring-Klassifikation.

Annehmend, dass die Einteilung nach Herring [68] eine Aussage über die Schwere der Erkrankung ermöglicht, wurden bei Erkrankten der Gruppe C (schwere Erkrankung) signifikant niedrigere DPD/Krea-Werte im Urin beobachtet, als bei Kranken, die der Gruppe B (weniger schwere Erkrankung) zugeordnet waren ($p=0,03$).

Diese Ergebnisse können so interpretiert werden, dass ein geringerer Befall der Femurepiphyse, wie in Herring Gruppe B, mit einem allgemein weniger veränderten Stoffwechsel und geringerer Auswirkung auf das Wachstum des erkrankten Kindes einhergeht. Dagegen liegt bei Kindern der Herring Gruppe C eine signifikant erniedrigte DPD/Krea-Ausscheidung vor (Herring B: Median DPD/Krea: 21,7 nmol/mmol; Herring C: Median DPD/Krea: 18,1 nmol/mmol; $p=0,03$). Daraus kann geschlossen werden, dass der allgemeine Knochenstoffwechsel bei diesen Patienten stärker beeinträchtigt ist, und die Erkrankung hier mit einer schwerwiegenden systemischen Veränderung des Knochenstoffwechsels einhergeht.

Aufgrund der niedrigen Patientenzahl ($n=26$), die im Fragmentationsstadium in dieser Studie erfasst wurde und nach Herring klassifiziert werden konnte, kann kein absoluter Wert für DPD/Krea festgelegt werden, der als Grenzwert zwischen einer leicht oder schwer verlaufenden Erkrankung unterscheidet.

Hier sind Studien mit weitaus größeren Patientenzahlen erforderlich, um genaue Werte bzw. Grenzwerte für die einzelnen Gruppen nach Herring im Fragmentationsstadium angeben zu können.

Falls solch ein Grenzwert bekannt wäre, könnte er eine erhebliche Hilfe im Rahmen der Diagnose und des Monitoring des Morbus Perthes darstellen. Den Patienten wäre, außer einer Zuordnung zu einer Gruppe nach Herring oder Catterall, eine einfache, durch Grenzwerte beschränkte Festlegung des Schweregrades ihrer Krankheit möglich.

Da die Ergebnisse dieser Studie signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen nach Herring zeigen konnten, ist hiermit sicherlich ein erster Schritt zur Etablierung der DPD/Krea Bestimmung als Routinelaborparameter zur Ermittlung der Schwere der systemischen Beteiligung während der Morbus Perthes Erkrankung erfolgt.

Weitere Studien könnten nicht nur die Korrelation der DPD/Krea-Werte mit der Schwere der Erkrankung untersuchen, sondern auch den Zusammenhang dieser Werte mit den Endergebnissen der Therapie und der Prognose überprüfen.

Dann, falls ein solcher Zusammenhang nachgewiesen wird, könnte die Bestimmung des Deoxypyridinolin im Urin zukünftig als zusätzlicher Parameter im Rahmen der Verlaufskontrolle angewendet werden.

Bezüglich der nach Catterall klassifizierten Perthes-Fälle konnten keine Unterschiede eruiert werden, da in dem Kollektiv hauptsächlich Kinder mit einem schweren Befall vorlagen, so dass eine statistische Analyse nicht sinnvoll war.

5.4 Analyse der zusätzlichen Kosten bei routinemäßiger Durchführung der Deoxypyridinolin-Bestimmung im Urin im Rahmen des Morbus Perthes

Im Rahmen der Untersuchung, ob die Bestimmung des DPD/Krea im Urin eine sinnvolle Ergänzung der Routinediagnostik des Morbus Perthes ausmacht, wurde auch die Frage der zusätzlichen Kosten, die vom Gesundheitssystem getragen werden müssten, analysiert.

Für den Kostenaspekt wurden Preise nach dem Einzelsatz der GOÄ betrachtet. Im zweiten Schritt wurden stichprobenartig zwei medizinische Labore überprüft, ob deren Preisangaben mit dem Einzelsatz der GOÄ übereinstimmen^{[60][87][89]}.

Nach diesen Berechnungen ergaben sich Kosten von 35,88 € für eine Bestimmung von DPD/Krea im Urin.

Bei der Analyse wurden Material und Transportkosten außer Acht gelassen.

Da Morbus Perthes eine selbstlimitierende Erkrankung ist, kann die notwendige DPD/Krea Bestimmung auf den Zeitraum der Erkrankung beschränkt werden. Aufgrund dieses Aspektes ist eine recht genaue Vorhersage über die anfallenden Kosten möglich.

Der Laborparameter DPD/Krea im Urin wurde in der vorliegenden Untersuchung alle 3 Monate bestimmt. Dieser Zeitabstand wurde gewählt, um die Veränderung dieses Parameters im Verlauf der Erkrankung zu verfolgen.

In der Literatur wird die durchschnittliche Dauer des Morbus Perthes mit 2-4 Jahren angegeben ^[129]. In der vorliegenden Studie konnte die Dauer der Erkrankung bei den untersuchten Patienten bei Erstvorstellung in der Klinik im Kondensationsstadium mit ca. 29 Monaten und bei Erstvorstellung im Fragmentationsstadium mit ca. 23,5 Monaten berechnet werden. Damit ergeben sich die Gesamtkosten für die Dauer der Morbus Perthes Erkrankung im Falle der Studienpatienten Patienten von ca. 250 €-320 €. Im Falle einer 4 Jahre dauernden Erkrankung steigen die Kosten auf 575 €.

Bisher belaufen sich die Kosten nach dem Einzelsatz der GOÄ für Laborparameter wie BB, CRP, RF und BSG, zum Ausschluss entzündlicher Erkrankungen und tumoröser Prozesse auf mindestens 30 €. Die Bestimmung dieser Parameter ist im Rahmen der Differentialdiagnose notwendig, sie geben jedoch keinerlei Auskunft über den Verlauf des Morbus Perthes.

5 Diskussion

Der Einzelpreis für die Bestimmung des DPD/Krea liegt nur gering über dem Preis für die bereits gut etablierte und in der Routine regelmäßig durchgeführte Bestimmung von Tumormarkern im Falle einiger maligner Erkrankungen. Im Folgenden sind einige Preisbeispiele nach GOÄ für die Tumormarkerbestimmung aufgeführt:

Tumormarker	GOÄ-Nr.	Preis
CA 125	3900	17,49 €
CA 15-3	3901	26,23 €
CA 19-9	3902	17,49 €
CA 50	3903	26,23 €
CA 549	A4062	27,98 €
CA 72-4	3904	26,23 €

Tab. 6: Kostenübersicht nach GOÄ für Bestimmung der Tumormarker als Verlaufskontrolle einiger Malignome

Diese Marker können nicht nur dem Arzt sondern vor allem dem Patienten einfach verständliche Hinweise zum Verlauf seiner Erkrankung geben.

Auch im Falle der Bestimmung des Deoxypyridinolin im Urin bei Morbus Perthes können sich jetzt schon hilfreiche Hinweise auf das Stadium, die Schwere und den Verlauf der Erkrankung sowohl für den Arzt als auch für den Patienten ergeben. Weitere Studien sollten aber zur Bestätigung erfolgen.

Aufgrund der relativ kurzen Erkrankungsdauer der an Morbus Perthes leidenden Kinder im Vergleich zu an einem Malignom Erkrankten sind die Gesamtkosten für die Bestimmung des DPD/Krea im Urin niedriger als die Kosten für die Bestimmung der Tumormarker als Verlaufskontrolle einer Krebserkrankung. Bei Morbus Perthes muss die Bestimmung durchschnittlich 2 und maximal 4 Jahre erfolgen, bei der Malignomnachsorge sind es mindestens 5, aber oft 10 Jahre in denen die Tumormarker bestimmt werden.

Des Weiteren sollte bedacht werden, dass bei einer routinemäßigen Bestimmung der Crosslinks im Urin im Rahmen des Morbus Perthes eine höhere Sicherheit in der Verwendung dieses Laborparameters entstehen könnte und womöglich die zurzeit sehr häufig durchgeführte radiologische Diagnostik zukünftig reduziert würde. Als positive Folge wären dann Kosteneinsparungen durch seltenere bildgebende Diagnostik und reduzierte Strahlenbelastung der Patienten anzuführen. Trotzdem werden bildgebende Verfahren als Mittel der ersten Wahl für Diagnose und Verlaufskontrolle des Morbus Perthes unumgänglich sein.

5.5 Schlussfolgerung

Insgesamt konnte durch diese Studie belegt werden, dass die medianen DPD/Krea-Werte bei an Morbus Perthes erkrankten Kindern signifikant erniedrigt sind im Vergleich mit der Kontrollgruppe. Die niedrigsten Werte für die DPD Ausscheidung zeigen sich im Kondensationsstadium und weisen auf eine reduzierten allgemeinen Knochenstoffwechsel hin.

Zusammenfassend kann man sagen, dass Denkansätze wie z.B. Burwells Hypothese und Neidels Untersuchungen sowie die in dieser Studie präsentierten Ergebnisse die These unterstützen, dass der Morbus Perthes als eine systemische Erkrankung angesehen werden sollte.

Bei dieser Krankheit handelt es sich nicht nur um einen lokal begrenzten Abbau der Femurepiphyse, sondern um systemisch wirkende und noch weitestgehend nicht erforschte Faktoren, die letztendlich zur Nekrose des Hüftkopfes führen.

Ob der Anstieg des DPD/Krea-Wertes im Verlauf der Erkrankung ein Hinweis auf die allgemeine Knochenstoffwechselregeneration ist, bedarf es weiterer Untersuchungen.

In weiteren Studien sollte der Zusammenhang überprüft werden, ob bei Patienten mit stärker erniedrigten DPD/Krea-Werten eine schlechtere Prognose der Erkrankung zu erwarten ist.

Es sollte auch berechnet werden, ab welchem prozentualen Anstiegswert des Urin-DPD/Krea die Knochenstoffwechselregeneration zu erwarten ist.

Falls man diesen Wert angeben könnte, wäre eine Prognose möglich, wann es zur Normalisierung des Urin DPD und damit Abschluss der Erkrankung kommt.

Es sollten Studien mit einem größeren Patientenkollektiv, als in der vorliegenden Untersuchung gegeben, folgen, die außer des bereits belegten Zusammenhanges zwischen der Deoxypyridinolin-Ausscheidung im Urin, auch Schwellen- und Grenzwerte, bestmöglich für jedes einzelne der röntgenologischen Stadien nach Waldenström, ermitteln.

Es sollten des Weiteren noch Studien folgen, die eine stadienabhängige Beziehung von DPD/Krea-Ausscheidung und dem Wachstumshormonstoffwechsel untersuchen, um in der Routinediagnostik den Stellenwert des Deoxypyridinolin zu bestärken und ggf. DPD/Krea als einen neuen Diagnose-, Verlaufs- und Prognoseparameter einzuführen.

Mit der hier durchgeführten Studie ist also ein möglicher, in der Routineuntersuchung einfach anzuwendender und bei der Diagnostik des Morbus Perthes noch vollkommen neuer Laborparameter, vorgestellt worden. Dabei scheint die Kenntnis

5 Diskussion

des Urin DPD/Krea-Wertes nicht nur diagnostisch eine große Hilfe zu sein, sondern auch in Bezug auf die Prognose könnte der Crosslink Wert im Urin nach Durchführung weiterer Studien eine Rolle spielen.

Im klinischen Alltag ist sicherlich auch zum Ende der Erkrankung die Bestimmung der Crosslinks von großem Interesse, da der Wert im Endstadium sich normalisiert.

Für die Patienten könnte die Bestimmung der DPD/Krea-Konzentration als Therapie- bzw. Krankheitskontrollparameter fungieren und unter anderem eine positive Auswirkung auf die Psyche sowohl der erkrankten Kinder wie auch der Eltern mit sich bringen.

Damit wäre den Patienten ein Kontrollparameter geboten, mit dem man die Aussage treffen könnte, ob die Zeit der Erkrankung überstanden ist. Langsam steigende Werte könnten beruhigend wirken, und einen Optimismus in der Phase der Erkrankungen mit sich führen. Es wäre für den Patienten ein Labormarker der ankündigt, dass es im Körper nach einer Zeit der Krankheit wieder zur Normalisierung des Stoffwechsels kommt.

6 Zusammenfassung

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es zunächst festzustellen, ob ein Zusammenhang zwischen der DPD Ausscheidung im Urin und dem Morbus Perthes besteht. Des Weiteren sollte überprüft werden, ob eine Korrelation zwischen der DPD Ausscheidung im Urin und den einzelnen radiologischen Stadien vorhanden ist. Aufgrund der signifikanten Ergebnisse erfolgte im Weiteren die Überlegung, ob der Laborparameter Deoxypyridinolin im Urin als möglicher Parameter in der Diagnostik sowie im Rahmen der Verlaufsuntersuchungen des Morbus Perthes Anwendung finden sollte.

Dabei wurde zunächst die Beziehung zwischen der Ausscheidung des DPD, als Marker für die Knochenresorption, und der Morbus Perthes Erkrankung analysiert. Im Weiteren wurden die Crosslinks auf ihre Verwendbarkeit als mögliche neue Laborparameter im Rahmen der Diagnostik, Therapie, Verlaufskontrolle und Prognose der Morbus Perthes Erkrankung unter der Berücksichtigung der Kosten-Nutzen-Rechnung überprüft.

An der Studie nahmen insgesamt 83 Kinder teil. 39 der Kinder waren an Morbus Perthes im floriden Stadium erkrankt und 44 Kinder waren gesund und bildeten die Kontrollgruppe.

Die an Morbus Perthes erkrankten Kinder sammelten jeweils alle drei Monate Proben von ihrem ersten Morgenurin. In diesen Proben wurde die DPD Ausscheidung durch ein chemiluminescence Immunoassay Verfahren bestimmt und zur besseren Vergleichbarkeit auf Kreatinin bezogen. Diese Werte wurden sowohl mit den radiologischen Stadien nach Waldenström als auch mit dem Ausmaß der epiphysären Beteiligung, entsprechend der Klassifikation nach Catterall und Herring, verglichen.

Die gesunden Kinder wurden gebeten, einmal pro Woche, jeweils am gleichen Wochentag, in vier aufeinanderfolgenden Wochen eine Probe mit ihrem Morgenurin abzugeben. Die Bestimmung der DPD Werte der gesunden Kinder erfolgte nach dem gleichen Verfahren wie es bei den erkrankten Kindern angewendet wurde. Die hier erhaltenen Werte wurden als Kontrolle benutzt.

Die in der Studie erhobenen Normwerte der Kontrollgruppe stimmen mit Literaturangaben für DPD/Krea für diese Altersklasse überein.

Es konnte gezeigt werden, dass der mediane DPD/Krea-Wert der erkrankten Kindern im Kondensationsstadium signifikant reduziert ist gegenüber der Kontrollgruppe ($p < 0,0001$). Im weiteren Verlauf der Erkrankung stieg der Wert bis auf Normalwerte im Endstadium an ($p = 0,05$).

Im Bezug auf das Ausmaß der epiphysären Beteiligung im Fragmentationsstadium konnten bei Patienten der Herring Gruppe C signifikant niedrigere mediane DPD/Krea-Werte festgestellt werden, als bei Patienten, die der Herring Gruppe B zugeordnet waren ($p=0,03$).

Im letzten Schritt wurden die Kosten berechnet, die sich bei regelmäßiger Bestimmung des DPD/Krea im Urin als Parameter im Rahmen der Diagnose und Verlaufskontrolle ergeben würden. Aufgrund der Tatsache, dass es sich bei Morbus Perthes um eine selbstlimitierende Erkrankung handelt, und dessen Dauer durchschnittlich 2-4 Jahre beträgt, lassen sich die Kosten relativ genau angeben.

Die signifikant reduzierten medianen DPD/Krea-Werte im frühen Stadium des Morbus Perthes weisen auf einen reduzierten allgemeinen Knochenstoffwechsel in dieser Phase hin und unterstützen die Theorie einer systemischen Ätiologie und einer systemischen Beteiligung dieser Erkrankung.

Auch ein Hinweis auf die Schwere der Erkrankung kann auf Basis der DPD/Krea Bestimmung abgeleitet werden.

Weitere Studien sind notwendig, um die Aussagekraft dieses Parameters vor allem hinsichtlich Schweregrad, Stadium und Prognose zu beurteilen. Es ist durchaus vorstellbar, dass die Erhebung des DPD/Krea-Wertes künftig im Rahmen der Diagnose und Verlaufskontrolle des Morbus Perthes als ergänzender Parameter sinnvoll und hilfreich sein könnte.

Die durchschnittlichen Gesamtmehrkosten pro Patient wurden mit ca. 300€ im Laufe der gesamten Erkrankung ermittelt. Sie sind durchaus vertretbar, wenn man mit diesem Parameter zukünftig die Häufigkeit der bildgebenden Diagnostik und damit die Kosten für radiologische Verfahren und auch die Höhe der Strahlenbelastung reduzieren könnte.

7 Literaturverzeichnis

- 1 **Abbiati, G., Bartucci, F., Longoni, A., Fincato, G., Galimberti, S., Rigoldi, M., Castiglioni, C.**: Monitoring of free and total urinary pyridinoline and deoxypyridinoline in healthy volunteers : sample relationships between 24-h and fasting early morning urine concentrations. *Bone Miner.* 21 (1) :9-19, 1993.
- 2 **Acil, Y., Brinckmann, J., Notbohm, H., Muller, P.K., Batge, B.**: Changes with age in the urinary excretion of hydroxylispyridinoline (HP) and lysylpyridinoline (LP). *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 56(3) :275-283, 1996.
- 3 **Apone, S., Lee, M.Y., Eyre, D.R.**: Osteoclasts generate cross-linked collagen N-telopeptides (NTx) but not free pyridinolines when cultured on human bone. *Bone* 21 (2) : S 129-136, 1997.
- 4 **Axhausen, G., Bergmann, E.**: Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie. Bd. IX/3 Springer 1937.
- 5 **Barta, O., Szepesi J., Molnár, L.**: Experimentelle Erzeugung einer aseptischen Hüftkopfnekrose an Kaninchen, durch Steigerung des intraartikulären Drucks. *Beitr. Orthop. Und Traumatol.* 25, H. 4 (1978).
- 6 **Baron, A., Vignery, A., Horowitz, M.**: Lymphocytes, macrophages and the regulation of bone remodeling. In: Peck WA, ed. *Bone and Mineral Research. Annual 2* (Elsevier: Amsterdam), 1983; 175-242.
- 7 **Barber, M., Bordoli, R.S., Elliott, G.J., Fujimoto, D., Scott, J.E.**: The structure(s) of pyridinoline(s). *Biochem Biophys Res Commun* 109 (3): 1041-1046, 1982.
- 8 **Batory, I.**: Tierexperimentelle Grundlage der latenten ischämischen Phase als ätiologischer Faktor des Morbus Legg-Calvé-Perthes. *Z. Orthop.* 120, 48-52 (1982).
- 9 **Bettica, P., Baylink, D.J., Moro, L.**: Galactosyl hydroxylisine and deoxypyridinoline: a methodological comparison. *Eur j Clin Chem Clin Biochem* 1993;31(7):459-465.
- 10 **Beardsworth, L.J., Eyre, D.R., Dickson, I.R.**: Changes with age in the urinary excretion of lysyl- and hydroxylispyridinoline, two new markers of bone collagen turnover. *J. Bone Miner. Res* 5(7): 671-676, 1990.
- 11 **Behre, A., Janott, J., Pfohl M., Schatz H., Pfeiffer, A.**: Sind Crosslinks klinisch aussagekräftige Osteoporosemarker? *Med Klein* 2001; 96:378-382.
- 12 **Bernbeck, R.**: Zur Pathogenese der jugendlichen Hüftkopfnekrose. *Arch. Orthop. Unfall-Chir.* 44, 164, (1950).
- 13 **Bette, H.**: Beobachtungen und Ergebnisse bei der konservativen und operativen Behandlung des M.Perthes. *Z. Orthop.* 92, 74 ff. (1960).
- 14 **Bilezikian, J.P., Silverberg, S.J., Shane, E., Parisien, M., Dempster, D.W.**: Characterisation and evaluation of asymptomatic primary hyperparathyroidism. *J Bone Miner Res* 6 Suppl. 2 S:85-89 discussion S: 121-124, 1991.
- 15 **Bingmann, D.**: Motorisches System. In: Deetjen P. *Physiologie.* (Urban & Schwarzenberg, München), 1994; 145.
- 16 **Black, D., Farquharson, C., Robins, S.P.**: Excretion of pyridinium cross-links of collagen in ovariectomized rats as urinary markers for increased bone resorption. *Calcif. Tissue Int.* 44(5): 343-347, 1989.
- 17 **Black, D., Duncan, A., Robins, S.P.**: Quantitativ analysis of the pyridinium crosslinks of collagen in urine using ion-paired reversed-phase high performance liquid chromatography. *Anal Biochem.* 1988; 169: 197-203.
- 18 **Body, J.J., Delmas P.D.**: Urinary pyridinium cross-links as markers of bone resorption in tumor associated hypercalcemia. *J.Clin Endocrinol Metab* 1992; 74:471-475.
- 19 **Bohr, H. H.**: On the Development and Course of Legg-Calvé-Perthes-Disease. *Clin. Orthop.* 150, 30 ff.(1980).
- 20 **Bollen, A.M., Eyre, D.R.**: Urinary pyridinoline excretion as a measure of bone growth in children. *Connect. Tissue Res.* 27:186, 1991.
- 21 **Bundesärztekammer**: Die (Weiter-) verwendung von medizinischen Körpermaterialien für Zwecke medizinischer Ordnung. *Deutsches Ärzteblatt* 2003; 100: 1632.

7 Literaturverzeichnis

- 22 Burwell, R.G., Vernon, C.L., Dangerfield, P.H., Kristmundsdottir, F.: Raised somatomedin activity in the serum of young boys with Perthes`disease revealed by bioassay. A disease of growth transition? Clin Orthop 1986;209:129-138.
- 23 Calvé, J.: Sur une forme particulière de Pseudo-Coxalgie greffée sur des déformations caractéristiques de l`extrémité supérieure du fémur. Rev. de Chir. 30, 54 ff. (1910).
- 24 Cannon, S.R., Pozo, J.L., Catterall, A.: Elevated growth velocity in children with Perthes`disease. J Pediatr Orthop 1989 ;9 :285-292.
- 25 Catterall, A.: Legg-Calvé-Perthes Syndrome. Clinic Orthop. 158, 41 ff. (1981).
- 26 Catterall, A.: The natural history of perthes Disease. J. Bone and Joint Surg. 53 B, 37 ff. (1971).
- 27 Catterall, A.: Natural history, classification and x-ray signs in L-C-P disease. Acta. Orthop Belg 46/4 : 346-351.
- 28 Colwell, A., Russell, R.G., Eastell, R.: Factors affecting the assay of urinary 3-hydroxy pyridinium crosslinks of collagen as markers of bone resorption. Eur. J. Clin. Invest. 23(6) :341-349, 1993.
- 29 Colwell, A., Hamer, A., Blumsohn, A., Eastell, R.: To determine the effects of ultraviolet light, natural light, ionizing radiation of pyridinium cross-links in bone and urine using high-performance liquid chromatography. Eur. J. Clin. Invest. 26(12) : 1107-1114, 1996.
- 30 Colwell, A., Eastell, R., Assiri, A.M., Russell, R.G.: Effect of diet on deoxypyridinoline excretion. Osteoporos. Int. :590-591, 1990.
- 31 Cooperman, D.R. ; Stulberg, S.D.: Ambulatory containment treatment in Perthes` disease. Clin. Orthop. 203 : 289-300.
- 32 Cotta, Horst: Orthopädie 4. Auflage, S.85 ff. Thieme Verlag Stuttgart, New York (1984).
- 33 Roche Diagnostics GmbH: CREA plus, Roche/Hitachi Gerät, Produktinformation. Roche Diagnostics GmbH, 68298 Mannheim, Deutschland.
- 34 Daele van, P.L., Birkenhager, J.C., Pols, H.A.: Biochemical markers of bone turnover : an update. Neth. J. Med. 44(2) : 65-72, 1994.
- 35 Daniloff, Y.N., Harris, D., Shepard, K., Seyedin, S.: Appearance of hydroxypyridine crosslinks in urine. Connect. Tissue Res. 27:187, 1991.
- 36 Danigelis, JA, Fisher, RL, Ozonoff, MB, Sziklas, JJ: 99m-to-polyphosphate bone imaging in Legg-Perthes disease. Radiology 1975 May ; 115(2):407-13.
- 37 Delmas, P.D.: Biochemical markers of bone turnover. Acta Orthop. Scand. Suppl. 266 : 176-182, 1995.
- 38 Delmas, P.D., Gineyts, E., Bertholin, A., Garnerio, P., Marchand, F.: Immunoassay of pyridinoline crosslink excretion in normal adults and in Paget`s disease. J. Bone Miner. Res. 8(5): 643-648, 1993.
- 39 Delmas, P.D., Schlemmer, A., Gineyts, E., Riis, B., Christiansen, C.: Urinary excretion of pyridinoline crosslinks correlates with bone turnover measured on iliac crest biopsy in patients with vertebral osteoporosis. J. Bone Miner. Res 6(6): 639-644, 1991.
- 40 Demers, L.M.: New biochemical marker for bone disease : is it a breakthrough ? [editorial]. Clin.Chem. 38 (11) : 2169-2170, 1992.
- 41 Dickens, D.R.V. ; Menelaus, M.B.: The assessment of prognosis in Perthes disease. J. Bone and Joint Surg. [Br] 60, 189-194 (1978).
- 42 DPC Biermann GmbH: Pyrilinks-D-IMMULITE®. Produktinformation, DPC Biermann GmbH, 61231 Bad Nauheim, Deutschland..
- 43 Dustmann, H.-O. : Ätiopathogenese des M. Perthes. Orthop. Praxis 12/81, 975 ff. (1981).
- 44 Eastell, R., Simmons, P.S., Colwell, A., Assiri, A.M., Burritt, M.F., Russell, R.G., Riggs, B.L.: Nyctohemeral changes in bone turnover assessed by serum bone Gla-protein concentration and urinary deoxypyridinoline excretion : effects of growth and ageing. Clin. Sci.Colch. 83(3) : 375-382, 1992.

7 Literaturverzeichnis

- 45 Engler, H., Thürlimann, B., Riesen, W.F.: Biochemical markers of bone remodelling. *Onkologie* (19) : 126-131, 1996.
- 46 Engler, H., Riesen, W.: Pyridinium-Crosslinks : Sind die Resultate der freien PYD-, DPD-Bestimmung als Knochen-Resorptionmarker vergleichbar zu denjenigen der Gesamt-PYD-, -DPD-Konzentration ? *Klin. Lab.* 41 (11) : 893-895, 1995.
- 47 Engelhardt, P.: Das Risiko der sekundären Coxarthrose nach Hüftluxation, Morbus Perthes und Epiphysiolysis capitis femoris. Thieme (1988).
- 48 Exner, g., Schreiber, A.: Wachstumsretardierung und Aufholwachstum bei Morbus Perthes. *Z Orthop* 1986 ;124 :192-195.
- 49 Eyre, D.R. : The specificity of collagen cross-links as markers of bone and connective tissue degradation. *Acta Orthop. Scand. Suppl.* 266:166-170, 1995.
- 50 Eyre, D.: New biomarkers of bone resorption [editorial]. *J. clin. Endocrinol. Metab.* 74 (3):470A-470C, 1992.
- 51 Eyre, D.R., Dickson, I.R., Van Ness, K.: Collagen cross-linking in human bone and articular cartilage. Age-related changes in the content of mature hydroxypyridinium residues. *Biochem. J.* 252(2):495-500, 1988.
- 52 Ferguson, A.B., Howorth, M.B.: *J.Americ. med. Ass.* 104 (1935), 808.
- 53 Fisher, R.L.: An epidemiological study of Legg-Perthes disease. *J Bone Joint Surg (AM)* 1972; 54-A:769-78.
- 54 Fujimoto, D., Moriguchi, T., Ishida, T., Hayashi, H.: The structure of pyridinoline, a collagen crosslink. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 84 (1): 52-57, 1978.
- 55 Fujimoto, D., Suzuki, M., Uchiyama, A., Miyamoto, S., Inoue, T.: Analysis of pyridinoline, a crosslinking compound of collagen fibers, in human urine. *J. Biochem. Tokyo.* 94(4):1133-1136, 1983.
- 56 Gage, H.C.: A possible early sign of Perthes disease. *Br. J. Radiol.* 6, 295 -297, 1933.
- 57 Gerrits, M.I., Thijssen, J.H.H., van Rijn, J.M.: Determination of pyridinoline and deoxypyridinoline in urine, with special attention to retaining their stability. *Clin Chem* 1995; 41:571-574.
- 58 Girdany, B.R., Osman, M.Z.: Longitudinal growth and skeletal maturation in Perthes' disease. *Radiol Cillin North Am.* 1968; 6: 245-51.
- 59 Glueck, C.J., Crawford, A., Roy, D., Freiberg, R., Glueck, H., Stroop, D.: Association of Antithrombotic Factor Deficiencies and Hypofibrinolysis with Legg-Perthes Disease. *J Bone Joint surg* 78: 3-13 (1996).
- 60 GOÄ: Gebührenordnung für Ärzte..
- 61 Goff, Charles C.: Legg-Calvé-Perthes Syndrome. Springfield Ill, (1954).
- 62 Grasemann, H., Nicolai, R.D. HBP., Reinhardt, W., Nicolai, H. HM.: Skeletal immaturity, IGF-I and IGFBP-3 serum concentrations in Legg-Calvé-Perthes disease. *Klin Pädiatr* 1996;208:339-343.
- 63 Grenard, P., Blanquier, B., Ricard Blum S.: Urinary excretion of the collagen cross-linkpyridinoline increases during liver fibrogenesis. *J. Hepatol.* 26 (6): 1356-1362, 1997.
- 64 Grimm, J., Haist, J., Higer, H.P.: Zur Diagnostik des M. Perthes durch Magnetresonanztomographie. *Z. Orthop.* 129 (1991), 151 ff..
- 65 Hahn GJ, Meeker WQ: Statistical intervals: a guide for practitioners. New York: John Wiley & Sons Inc., 1991.
- 66 Harrison, M.H.M., Turner, M.H., Jacobs, P.: Skeletal immaturity in Perthes disease. *J Bone Joint Surg (Br)* 58: 37.
- 67 Heino, T. J., Hentunen, T.A., H. K. Väänänen: Osteocytes inhibit osteoclastic bone resorption through transforming growth factors-β: Enhancement by estrogen. *J Cell Biochem* 2002 85(1): 185-97.
- 68 Herring JA, Neustadt JB, Williams JJ, Early JS, Browne RH: The lateral pillar classification of Legg-Calvé-Perthes disease. *J. Pediatr.Orthop* 12:143 (1992).
- 69 Herring JA, Williams JJ, Neustadt JB, Early JS: Evolution of femoral head deformity during the healing phase of Legg-Calvé-Perthes disease. *J. Pediatr.Orthop* 13:41 (1993).

7 Literaturverzeichnis

- 70 Hipp, E.: Calvé-Legg-Perthes-Erkrankung. Fortschr. Med. 84. Jg. Nr. 17 (1966).
- 71 Idelberger, K.: Lehrbuch der Orthopädie, 3. Aufl. Springer Verlag. Berlin, Heidelberg, New York (1978).
- 72 Inoue, A.: The Pathogenesis of Perthes Disease, J. Bone and Joint Surg. 58 B, 453 ff. (1976).
- 73 Inoue, A.: A comparative Study of Histology. Internat. Orthop. 4, 39 ff. (1980).
- 74 James, I.T., Walne, A.J., Perret, D.: The measurement of pyridinium crosslinks: a methodological overview. Ann. Clin. Biochem. 33(Pt 5):397-420, 1996.
- 75 Kalliö, P.; Ryöppy, S.: Hyperpressure in juvenile hip disease. Acta Orthop. Scand. 56/3: 211-214.
- 76 Kealey, W., David C. MD, Lappin, Kieran J. FRCS, Leslie, Hilary MSc+, Sheridan, Brian MSc+, Cosgrove, Aidan P. MD: Endocrine profile and physical stature of children with Perthes disease. Journal of Pediatric Orthopaedics. 24(2): 161-166, March/April 2004.
- 77 Keck, E. (b): Therapie der Osteoporose. Extracta Orthopaedica 2001;11: 16-22.
- 78 Kent, G.N.: Standardization of marker assays-pyridinoline/deoxypyridinoline. Scand. J. Clin. Lab. Invest. Suppl. 227 (Zaehlung), 1997.
- 79 Kitsugi, T., Kasahara, Y., Seto, Y., Komai, S.: Normal somatomedin-C activity measured by radioimmunoassay in Perthes` disease. Clin Orthop 1989; 244:217-221.
- 80 Klapper, D.C., Svoboda, M.E., van Wyk, J.J.: Sequence analysis of somatomedin C: confirmation of identity with insulin-like growth factor I. Endocrinology 1983;112:2215-2217.
- 81 Knott, L., Bailey, A.J.: Collagen cross-links in mineralizing tissues: a review of their chemistry, function and clinical relevance. Bone 1998;22:181-187.
- 82 Kollerup, G.: Urinary excretion of collagen crosslinks: Pyridinoline and Deoxypyridinoline, biochemical markers of bone resorption. Dan. Med.Bull. 43(2), 1996.
- 83 Kovacs, C.S.: Calcium and bone metabolism in pregnancy and lactation. J. Clin. Endocrinol. Metab. 86(6): 2344-2348, 2001.
- 84 Krauspe, R., Raab, P.: Morbus Perthes. Orthopäde (1997) 26:289-302.
- 85 Krauspe, R.: Schienenbehandlung bei Morbus Perthes. Z. Orthop. 128: 411-414.
- 86 Kristmundsdottir, F., Burwell, R.G., Harrison, M.H.: Delayed skeletal maturation in Perthes` disease. Acta Orthop Scand 1987;58:277-279.
- 87 www.labormed24.de: www.labormed24.de/preisliste.html, Labormed, Karl-Bosch-Str. 2, 65203 Wiesbaden..
- 88 Lauritzen, J.: Legg-Calvé-Perthes Disease. Acta Orthop. Scand. Suppl. 159 (1975).
- 89 www.labor-duesseldorf.de: http://www.labor-duesseldorf.de/?p=16, Medizinische Laboratorien Düsseldorf.
- 90 Legg, A.: An obscure affection of the hip joint. Boston Med. Surg. 162, 202-204 (1910).
- 91 Legg, A.: Endresults of coxa plana. J. Bone Joint Surg. 9, 26 (1927).
- 92 Marowska, J., Kobylinska, M., Lukaszewicz, J., Talajko, A., Rymkiewicz-kluczynska, B., Iorenc, R.S.: Pyridinium crosslinks of collagen as a marker of bone resorption rates in children and adolescents: normal values and clinical application. Bone 1996;19:669-677).
- 93 Mau, H., Schmidt, H. W.: Der konstitutionell-dysostotische Perthes. Z. Orthop. 93, 515 ff. (1960).
- 94 Mau, H.: Neuere Erkenntnisse auf dem Gebiet der aseptischen Knochennekrose. Med. Klinik 60, 1561 ff. (1965).
- 95 Mau, H.: M. Perthes, symptomatisch-atypische juvenile Hüftkopfosteochondrosen und Skelettreifungshemmung. Z. Orthop 119, 366 ff. (1981).
- 96 McLaren, A.M., Isdale, A.H., Whiting, P.H., Bird, H.A., Robins, S.P.: Physiological variations in the urinary excretion of pyridinium crosslinks of collagen. Br. J. Rheumatol 32(4): S. 307-312, 1993.

7 Literaturverzeichnis

- 97 Miyauchi, A., Alvarez, J., Greenfield, E.M. et al.:** Recognition of osteopontin and related peptides by an $\alpha v\beta 3$ integrin stimulates immediate cell signals in osteoclasts. *J Biol Chem.* 1991; 266(30): 20369-74.
- 98 Motokawa, S.:** The effect of serum factors on skeletal growth in Perthes disease. *Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi* 1990;64:790-797.
- 99 Müller, A., Stein, G., Lehmann, G., Hein, G.:** Investigations of bone turnover in renal osteopathy. *Eur J Med Res* 4 (2): S. 78-84, 1999.
- 100 Müller, A., Hein, G., Franke, S., Herrmann, D., Henzgen, S., Roth, A., Stein, G.:** Quantitative analysis of pyridinium crosslinks of collagen in the synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis using high-performance liquid chromatography. *Rheumatol Int* 16 (1): 23-28, 1996.
- 101 Mundy, G.R.:** Osteoblasts, bone formation and mineralization. In Mundy GR. *Bone remodelling and its disorders.* (Dunitz, London); 1999; 30-44.
- 102 Neidel, J., Zander, D., Hackenbroch, M.H.:** Low plasma levels of insulin-like growth factor I in Perthes disease. A controlled study of 59 consecutive children. *Acta Orthop Scand* 1992; 63:393-398.
- 103 Neidel, J., Zander, D., Hackenbroch, M.H.:** No physiologic age-related increase of circulation somatomedin-C during early stage of Perthes' disease: a longitudinal study in 21 boys. *Arch Orthop Trauma Surg* 1992; 111:171-3.
- 104 O'Garra, J. A.:** The radiographic changes in Perthes disease. *J. Bone Joint Surg. [Br]* 41/83: 465-476.
- 105 Osteomedical Group:** Katalog No. 8007, Quidel, www.osteomedical.com.
- 106 Owen, M.:** Lineage of osteogenic cells and their relationship to the stromal system. In: Peck WA, ed, *Bone and Mineral Research, Annual 3* (Elsevier: Amsterdam): 1-26.
- 107 Parfitt, A. M.:** The cellular basis of bone turnover and bone loss. *Clin orthop.* 1977; 127: 236-47.
- 108 Perthes, G.:** Über Arthritis deformans juvenilis. *dt. Z. f. Chir. Bd.* 107, 112 ff. (1910).
- 109 Pyridinium:** crosslinks as markers of bone resorption [(editorial)]. *Lancet* 340 (8814): S. 278-279, 1992.
- 110 Rauch, F., Georg, M., Stabrey, A., et al.:** Collagen markers deoxypyridinoline and hydroxylysine glycosides: pediatric reference data and use for growth hormone-deficient children. *Clin Chem* 2002;48:315-322.
- 111 Rauch, F., Rauch R., Woitge, H.W. Seibel, M.J., Schonau, E.:** Urinary immunoreactive deoxypyridinoline in children and adolescents: variation with age, sex, growth velocity. *Scand J Clin Lab Invest* 56 (8): S. 715-719, 1996.
- 112 Rayner, P.H.W., Schwalbe, S.L., Hall, D.J.:** An assessment of endocrine function in boys with Perthes disease. *Clin Orthop* 1986;209:124-128.
- 113 Risteli, L., Risteli, J., Moniz, C.:** Measuring collagen degradation. *Eur. J. Clin. Invest.* 23(6): 339-340, 1993.
- 114 Ritterbusch JF, Shantharam SS, Gelinas C.:** Comparison of the lateral pillar classification and Catterall classification of Legg-Calvé-Perthes disease. *J. Pediatr. Orthop* 13:200.
- 115 Robins, S.P., Seibel, M.J.:** Biochemical markers of bone metabolism: a critical evaluation. *Clin Lab*;26:191-198.
- 116 Robins, S.P., Duncan, A.:** Cross-linking of collagen. Location of pyridinoline in bovine articular cartilage at two sites of the molecule. *Biochem. J.* 215(1): 175-182, 1983.
- 117 Robins, S.P., Duncan, A., Riggs, B.L.:** Direct measurement of free hydroxyl-pyridinium crosslinks of collagen in urine as new markers of bone resorption in osteoporosis. Christiansen, C. and Overgaard, K., *Osteoporosis 1990*, Copenhagen: Osteopress, 465-468 (Osteoporosis 1990). 465-468, 1990.
- 118 Robins, S.P., Stewart, P., Astbury, C., Bird, H.A.:** Measurement of the cross linking compound, pyridinoline, in urine as an index of collagen degradation in joint disease. *Ann. Rheum. Dis.* 45 (12): 969-973, 1986.
- 119 Robins, S.P.:** Cross-linking of collagen. Isolation, structural characterisation and glycolysation of pyridinoline. *Biochem. J.* 215 (1): 167-173, 183.

7 Literaturverzeichnis

- 120 Robins, S.P., Stead, D.A., Duncan, A.: Precautions in using an internal standard to measure pyridinoline and deoxypyridinoline in urine [letter; comment]. *Clin. Chem.* 40(12):2322-2323, 1994.
- 121 Robins, S.P.: Collagen crosslinks in metabolic bone disease. *Acta Orthop. Scand. Suppl.* 266:171-175, 1995.
- 122 Robins, S.P., Woitge, H., Hesley, R., Ju, J., Seyedin, S., Seibel, M.J.: Direct, enzyme-linked immunoassay for urinary deoxypyridinoline as a specific marker for measuring bone resorption. *J. Bone Miner. Res.* 9(10):1643-1649, 1994.
- 123 Robins, S.P., Black, D., Peterson, C.R., Reid, D.M., Duncan, A., Seibel, M.J.: Evaluation of urinary hydroxypyridinium crosslink measurement as resorption markers in metabolic bone disease. *Eur.J.Clin.Invest.* 21(3): 310-315, 1991.
- 124 Rodan, G.A.: Bone homeostasis. *Proc Natl Acad Sci USA (United States)*, Nov 10 1998, 95 (23) p 13361-2.
- 125 Rosenthal, L., Kaye, M.: Technetium-99m-pyrophosphate kinetics and imaging in metabolic bone disease. *J Nucl Med.* 1975 Jan; 16(1):33-9.
- 126 Salter, R. B., Thompson, G. H.: Legg-Calvé-Perthes disease. The prognostic significance of the subchondral fracture and two-group classification of the femoral head involvement. *J. Bone Joint Surg.* 1984 [Am] 66/4: 479-489.
- 127 Salter, R. B.: Current concepts Review: The present status of surgical treatment for Legg-Perthes-Disease. *J. Bone Joint Surg* 1984 [Am] 66/6 961-966.
- 128 Schulitz, K.-P., Dustmann, H.-O., Sinn, H.: Gibt es einen M. Perthes durch venöse Stase? *Z. Orthop.* 115 (1977) 299-304.
- 129 Schulitz, K.-P., Dustmann, H.-O.: Morbus Perthes, Ätiopathogenese, Differentialdiagnose, Therapie und Prognose. Springer Verlag Berlin Heidelberg 1998.
- 130 Schiebler, T.H., Schmidt, W., Zilles, K.: Anatomie. 5. Auflage 1995 Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York.
- 131 Schlemmer, A., Hassager, C., Pedersen, B., et al.: Posture age, menopause and osteopenia do not influence the circadian variation in the urinary excretion of pyridinium crosslinks. *J. Bone Miner. Res.* 1994; 9: 1883-1889.
- 132 Schlemmer, A., Hassager, C., Jensen, S.B., Christiansen, C.: Marked diurnal variation in urinary excretion of pyridinium cross-links in premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 74 (3): S. 476-480, 1992.
- 133 Seibel M.J., Woitge H., Scheidt-Nave, C., et al.: Urinary Hydroxypyridinium crosslinks of collagen in population-based screening for overt vertebral osteoporosis: result of a pilot study. *J. Bone Miner Res* 1994;9:1433-1440.
- 134 Seibel, M.J., Raue, F.: Biochemische Marker des Knochenstoffwechsels und ihre Bedeutung bei der Osteoporose-Diagnostik. *Klein Lab.* 39: 341-345, 1993.
- 135 Seibel, M.J., Gartenberg, F., Silverberg S.J., Ratcliffe A., Robins S.P., Bilezikian J.P.: Urinary hydroxypyridinium cross-links of collagen in primary hyperparathyroidism. *J. Clin Endocrinol Metab* 1992; 74:481-486.
- 136 Seibel, M.J.: Hydroxy-pyridinium "Crosslinks" im Urin als spezifische Marker der Knochenresorption bei metabolischen Knochenkrankungen. *Klin. Lab.* 38: 642-643, 1992.
- 137 Seibel, M.J., Robins S.P., Bilezikian J.P.: Urinary Pyridinium Crosslinks of Collagen; Specific Markers of Bone Resorption in Metabolic Bone Disease. *Trends Endocrinol Metab (TEM)* 3(7): 263-270, 1992.
- 138 Seibel, M.J., Zipf, A., Ziegler, R.: Pyridinium cross-links in the urine. Specific markers of bone resorption. *Dtsch. Med. Wochensh.* 1994 Jun 24; 119: 25-26, 1994.
- 139 Seibel M.J., Woitge H., Scheidt-Nave, C., Zipf, A., Duncan, A., Nicol, P., Ziegler, R., Robins, S.P.: Population screening for bone resorption using pyridinium crosslinks of collagen: comparison of direct ELISA with HPLC assays. *Calcif. Tissue Int.* 52 Suppl.1:S6, 1993.
- 140 Seibel M.J., Duncan, A., Robins, S.P.: Urinary hydroxyl-pyridinium crosslinks provide indices of cartilage and bone involvement in arthritic diseases. *J. Rheumatol.* 16(7): 964-970, 1989.

7 Literaturverzeichnis

- 141 Seibel, M.J., Pecherstorfer, M., Schilling, T., Ziegler, R.:** Pyridinim Crosslinks im Urin bei Tumorassoziierter Hyperkalzämie: Beziehung zur Serum-PTHrP und Bisphosphonattherapie. *Med Klinik.* 88 (S2):PB 146, 1993.
- 142 Seibel, M.J.:** Molecular markers of bone turnover: biochemical, technical and analytical aspects. *Osteoporos Int.*, 11 Suppl. 6: S 18-29, 2000.
- 143 Seyedin, S.M., Kung, V.T., Daniloff, Y.N., Hesley, R.P., Gomez, B., Nielsen, L.A., Rosen, H.N., Zuk, R.F.:** Immunoassay for urinary pyridinoline: the new marker of bone resorption. *J. Bone Miner. Res.* 8 (5): 635-641, 1993.
- 144 Shaw N.J., Dutton J., Fraser w.D., Smith C.S.:** Urinary pyridinoline and deoxypyridinoline excretion in children. *Clin Endocrinol* 1995;42:607-612.
- 145 Takahashi, M., Kushida, K., Hoshino, H., Suzuki, M., Sano, M., Miyamoto, S., Inoue, T.:** Concentrations of pyridinoline and deoxypyridinoline in joint tissues from patients with osteoarthritis or rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 55 (5): 324-327, 1996.
- 146 Takahashi, M., Kushida, K., Ohishi, T., Kawana, K., Hoshino, H., Uchiyama, A., Inoue, T.:** Quantitative analysis of crosslinks pyridinoline and pentosidine in articular cartilage of patients with bone and joint disorders. *Arthritis Rheum* 37 (5): 724-728, 1994.
- 147 Tanaka, H., Tamura, K., Takano, K., Inoue, N., Yoshioka, H., Odera, K., Takaya, Y., Ono, T., Ando, H., Taguchi, Y...:** Serum somatomedin A in Perthes' disease. *Acta Orthop Scand.* 1984 Apr;55(2):135-40..
- 148 Taylor, A.K., Lueken, S.A., Libanati, C., Baylink, D. J.:** Biochemical markers of bone turnover for the clinical assessment of bone metabolism. *Rheum. Dis. Clin. North. Am.*20(3):589-607,1994.
- 149 Thijssen, J.H., Vecht-Hart, C.M., Gerrits, M.I., van Rijn, H.J.:** Presymptomatic excretion of pyridinium crosslinks in osteoporotic and non-osteoporotic women. *Martin S.M., and Halloran, S.P. Anonymous London: Proceedings of the XVI International Congress of Clinical Chemistry 1996, The Association of clinical Biochemists*, 206: 206, 1996.
- 150 Thompson, GH; Saltefr R.B.:** Legg-Calvé-Perthes Disease. *Current Concepts and Controversies. Orthop. Clin. Of North Am.* 1987 18/4: 617-635.
- 151 Tomita, A., Negoro, Y., Watanabe, K.:** Urinary pyridinoline crosslinks and bone mineral density in oophorectomized woman and patients with postmenopausal osteoporosis. *Christiansen C., Riis B. Aalborg (162) A 601.*
- 152 Uebelhart, D., Schlemmer, A., Johansen, J.S., Gineyts, E., Christiansen, C., Delmas, P.D.:** Effect of menopause and hormone replacement therapy on the urinary excretion of pyridinium cross-links. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* 72(2):367-373, 1991.
- 153 Uebelhart, D., Gineyts, E., Chapuy, M.C., Delmas, P.D.:** Urinary excretion of pyridinium. crosslinks: a new marker of bone rersorption in metabolic bone disease. *Bone Miner.* 8(1): 87-96, 1990.
- 154 Waldenström, H. :** Der obere tuberculöse Collumherd. *Z. Orthop Chir. Bd.* 24 (1909), S.427 ff..
- 155 Waldenström, H. :** The definite Form of the Coxa Plana. *Acta Radiologica Vol. I* 384 ff. (1922) .
- 156 Walne, A.J., James, I.T., Perett, D.:** The stability of pyridinium crosslinks in urine and serum [letter]. *Clin. Chem. Acta* 1995 Aug;31; 240:1 95-7,1995.
- 157 Wynne-Davies, R., Gormley, J.:** The aetiology of Perthes disease. Genetic, epidemiological and growth factors in 310 Edinburgh and Glasgow patients. *J Bone Joint surg* 60: 6-14 (1978).
- 158 Wynne-Davies, R.:** Some Eteologic Factors in Perthes Disease. *Clin Orthop.* 150, 12 ff. (1980).
- 159 Zemansky, A.Philip:** The Pathology and Pathogenesis of Legg-Calvé-Perthes-Disease. *Amer. J. Surg.* 4, 169 (1928).

8 Danksagung

Ich danke Herrn Professor Dr. med. R. Krauspe und Frau Priv-Doz. Dr. med. B. Westhoff für die Überlassung des Themas.

Ich möchte besonders Frau Priv-Doz. Dr. med. B. Westhoff für Ihre stets gewährte freundliche Hilfe, fachliche Unterstützung und Ihr Verständnis während der Fertigstellung dieser Arbeit danken.

Mein Dank gilt auch Herrn Dr. rer.nat. B. Kowall für seine fachliche Unterstützung bei der Erstellung der medizinischen Statistik.

Herrn Dr. med. D. Hermsen und den Mitarbeitern des Zentralinstituts für Klinische Chemie danke ich für Möglichkeit, die Räumlichkeiten und Geräte des Labors zu nutzen und für Ihre fachliche Hilfe im Rahmen der Bestimmungen des Laborparameters DPD im Urin.

Sämtlichen Probanden, ihren Eltern und Erziehungsberechtigten, die zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben, gilt ebenfalls mein Dank.

Auch Franziska Bahadir möchte ich für das wiederholte Korrekturlesen meiner Dissertationsarbeit herzlich danken.

Meinen lieben Eltern und meiner Oma Ela danke ich aus ganzem Herzen einfach für alles.

Meinem Ehemann Jens, der mir immer während der Fertigstellung meiner Arbeit mit Rat und Tat, Geduld und seiner Liebe zur Seite stand, möchte ich für seine Unterstützung meinen Dank und meine tiefempfundene Liebe aussprechen.

9 Curriculum Vitae

Persönliche Daten

Name	Anna Eva Kalke, geb. Koczwara
Geburtsdatum	13. April 1975
Geburtsort	Beuthen
Staatsangehörigkeit	Deutsch

Schulbildung

1981 - 1995	schulische Laufbahn
Juni 1995	Abitur

Hochschulbildung

1995 – 1997	Studium der Zahnmedizin an der Heinrich-Heine- Universität Düsseldorf
1997 – 1999	Studium der Humanmedizin an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
1999 – 2003	Studium der Humanmedizin an der Heinrich- Heine-Universität Düsseldorf
Dezember 2003	3. Staatsexamen

Ärztliche Tätigkeit

2004	Ärztin im Praktikum in der Hautklinik der Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf
2005	Assistenzärztin, Hautärztliche Belegabteilung St. Bernhard-Hospital, Kamp-Lintfort
2006 – 2007	Assistenzärztin, Hautklinik, St. Elisabeth Krankenhaus, Oberhausen
seit 2008	Mutterschutz

10 Abstract

Untersuchung des Labormarkers Deoxypyridinolin im Rahmen der Diagnose, Therapie, Verlaufskontrolle und Prognose des Morbus Perthes

Dokotorantin: Anna Eva Kalke

Das Ziel der Arbeit war es festzustellen, ob ein Zusammenhang zwischen der Deoxypyridinolin (DPD)-Ausscheidung im Urin und der Morbus Perthes Erkrankung besteht. Des Weiteren sollte überprüft werden, ob eine Korrelation zwischen der DPD-Ausscheidung im Urin und den einzelnen radiologischen Stadien der Erkrankung vorhanden ist.

An der Studie nahmen insgesamt 83 Kinder teil. 39 der Kinder waren an Morbus Perthes im floriden Stadium erkrankt und 44 Kinder waren gesund und bildeten die Kontrollgruppe.

Zunächst konnte gezeigt werden, dass ein Zusammenhang zwischen der Ausscheidung des Deoxypyridinolin im Urin, als Marker der Knochenresorption und des Morbus Perthes besteht.

Die an Morbus Perthes erkrankten Kinder sammelten jeweils alle drei Monate Proben mit ihrem ersten Morgenurin. In diesen Proben wurde die DPD-Ausscheidung durch ein chemiluminescence Immunoassay Verfahren bestimmt und zur besseren Vergleichbarkeit auf Kreatinin (Krea) bezogen. Diese Werte wurden mit den radiologischen Stadien nach Waldenström und dem Ausmaß der epiphysären Beteiligung, entsprechend der Klassifikation nach Catterall und Herring, verglichen.

Es konnte belegt werden, dass der mediane DPD/Krea-Wert der erkrankten Kindern im Kondensationsstadium signifikant reduziert ist gegenüber der Kontrollgruppe ($p < 0,0001$). Im Endstadium zeigte sich ein Anstieg der DPD/Krea-Werte bis auf Werte, die knapp über dem Normalwert der Kontrollgruppe lagen ($p = 0,05$).

Im Bezug auf das Ausmaß der epiphysären Beteiligung konnten bei Patienten der Herring Gruppe C signifikant niedrigere mediane DPD/Krea-Werte festgestellt werden, als bei Patienten, die der Herring Gruppe B zugeordnet waren ($p = 0,03$).

Schließlich wurden die Kosten berechnet, die sich bei Bestimmung des DPD/Krea im Urin als Routineparameter im Rahmen der Diagnose und Verlaufskontrolle ergeben. Aufgrund der Tatsache, dass es sich bei Morbus Perthes um eine selbstlimitierende Erkrankung handelt, und dessen Dauer durchschnittlich 2-4 Jahre beträgt lassen sich die Kosten relativ genau angeben.

Die Untersuchung dieses Parameters ergab, dass eine Beziehung zwischen der DPD-Ausscheidung im Urin und der Morbus Perthes Erkrankung bewiesen werden konnte, so dass dieser Labormarker, routinemäßig erhoben, im Rahmen der Morbus Perthes Diagnostik und Verlaufskontrolle eine wichtige Rolle zukünftig spielen könnte. Weitere Studien können zur mehr Erfahrung mit diesem Parameter führen.