

Universitätsklinikum Ulm
Zentrum für Innere Medizin
Klinik für Inneren Medizin I
Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. Thomas Seufferlein

**Einfluss einer antiviralen Therapie auf
Knochendichte und Knochenstoffwechsel bei
Patienten mit chronischer Hepatitis C**

Dissertation zur
Erlangung des Doktorgrades der Zahnmedizin,
der Medizinischen Fakultät der Universität Ulm

Vorgelegt von
Oğuzhan Gülşahin, Kuchen

2013

Amtierender Dekan: Prof. Dr. Thomas Wirth

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Nektarios Dikopoulos

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Detlef Michel

Tag der Promotion: 23. Oktober 2014

Meinen Kindern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	III
1. Einleitung.....	1
1.1 Chronische Hepatitis C.....	1
1.1.1 Definition und Historie.....	1
1.1.2 Epidemiologie und Übertragungswege.....	1
1.1.3 Klinischer Verlauf.....	2
1.1.4 Diagnostik.....	3
1.1.5 Therapie.....	4
1.2. Osteoporose.....	6
1.2.1 Definition der Osteoporose.....	6
1.2.2 Diagnose der Osteoporose.....	6
1.2.3 Epidemiologie.....	8
1.2.4 Pathophysiologie der Osteoporose.....	8
1.3 Fragestellung.....	9
2. Material und Methodik.....	11
2.1 Studiendesign.....	11
2.2 Patienten.....	13
2.2.1 Ein- und Ausschlusskriterien.....	13
2.2.2 Aufklärung der Patienten.....	14
2.2.3 Begleittherapie.....	14
2.3 Laborbestimmungen.....	14
2.4 Datenerfassung.....	17
2.5 Statistik.....	18
3. Ergebnisse.....	19
3.1 Patienten.....	19
3.1.1 Patientenkollektiv.....	19
3.1.2 Patientencharakteristika.....	20
3.2 Knochendichte.....	21
3.2.1 Auswertung des T – Wertes an der LWS.....	21
3.2.2 Auswertung des T – Wertes an der Hüfte.....	25

Inhaltsverzeichnis

3.3 Knochenstoffwechselfparameter.....	26
3.4 Subgruppenanalyse.....	30
3.4.1 Subgruppenanalyse der Knochenmineraldichte.....	30
3.4.1.1 T-Wert für LWS.....	30
3.4.1.2 T-Wert für die Hüfte.....	32
3.4.2 Subgruppenanalyse der Knochenstoffwechselfparameter.....	34
4. Diskussion.....	39
4.1 Einfluss der antiviralen Therapie auf die Knochendichte.....	40
4.1.1 Einfluss von pegyliertem Interferon $\alpha 2A$ auf die Knochendichte.....	41
4.1.2 Einfluss von Ribavirin auf die Knochendichte.....	44
4.2 Einfluss der antiviralen Therapie auf die Knochenstoffwechselfparameter.....	45
4.3 Subgruppenanalyse.....	49
5. Zusammenfassung.....	51
6. Literaturverzeichnis.....	52
7. Danksagung.....	63
8. Curriculum vitae.....	64

Abkürzungsverzeichnis

ALT	Alanin-Aminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
AST	Aspartat-Aminotransferase
BL	Baseline
BMD	Bone mineral density
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
BWS	Brustwirbelsäule
CRP	C-reaktives Protein
CTx	C-terminales Telopeptid
DBA	Vitamin D binding protein
DEXA/DXA	Dual-Energy-X-ray-Absorptiometry
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DVO	Dachverband Osteologie
EASL	European association for the study of the liver
ECLIA	Electro Chemie Lumineszens
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
EOT	End of treatment
FU	Follow up
GGT	Gamma-Glutamyl-Transferase
HCC	Hepatozelluäres Karzinom
HCV	Hepatitis C Virus
HI-Virus	Humanes Immundefizienzvirus
ID-GC-MS	Isotope dilution gas chromatography-mass spectrometry
IFN	Interferon
IL	Interleukin
IU	International Unit
LWS	Lendenwirbelsäule
LZ	Lining Zellen
M-CSF	Macrophage colony-stimulating factor

Abkürzungsverzeichnis

MEIA	Mikropartikel-Enzym-Immuno-Assay
mmol	Millimol
NAT	Nukleinsäure-Amplifikations-Techniken
NR	Non responder
OB	Osteoblasten
OC	Osteocalcin
OD	Osteodensitometrie
OK	Osteoklasten
Ozy	Osteozyten
P1NP	Prokollagen Typ-1-Amino (N)-terminales Propeptid
PCR	Polymerase Chain Reaction
Peg-IFN α	Pegyliertes Interferon alpha
PEG	Polyethylenglykol
pQCT	Periphere quantitative Computertomographie
PR	Partial responder
PTH	Parathyroidhormon
QCT	Quantitative Computertomographie
QUS	Quantitative Ultraschallmessung
RANK	Receptor Activator of NF- κ B
RANKL	Receptor Activator of NF- κ B Ligand
RBV	Ribavirin
RGT	Response guided therapy
RNA	Ribonucleic acid (Ribonukleinsäure)
s.c.	Subkutan
SD	Standard deviation
SHBG	Sex hormone binding globuline
SOS	Speed of sound
SVR	Sustained viral response
TNF	Tumornekrosefaktor
TRANCE	TNF-related-activation-induced cytokine
TSH	Thyroideastimulierendes Hormon
UV	Ultraviolett

Abkürzungsverzeichnis

µg	Mikrogramm
Vit. D	Vitamin D
WHO	Weltgesundheitsorganisation

1. Einleitung

1.1 Chronische Hepatitis C

1.1.1 Definition und Historie

Eine chronische Hepatitis C ist eine über 6 Monate bestehende Entzündung der Leber, hervorgerufen durch eine Infektion mit dem Hepatitis C Virus (HCV). Die chronische Leberentzündung kann zu einer Erhöhung der Transaminasen (ALT, AST) im Serum und zu histologischen Veränderungen der Leber mit Ausbildung einer Leberfibrose und -zirrhose führen. Die chronische HCV-Infektion wird nachgewiesen durch die Bestimmung der anti-HCV-Antikörper und der HCV-RNA im Serum [87].

Bis zur Entdeckung des HCV 1989, wurde die chronische HCV-Infektion als Non-A- und Non-B-Hepatitis bezeichnet. Das aus Familie der Flaviviridae (Genus: Hepacivirus) stammende Virus ist ein Einzelstrang RNA-Virus, welches von einer Proteinhülle umgeben ist [38, 45,]. Das HCV ist ein hepatotropes Virus und repliziert überwiegend in den Hepatozyten, aber auch in mononukleären und lymphatischen Zellen [60].

1.1.2 Epidemiologie und Übertragungswege

Weltweit sind ca. 130-210 Millionen Menschen mit dem HCV infiziert, das entspricht etwa 3% der Weltbevölkerung [17]. Bezüglich der Seroprävalenz der HCV-Infektion bestehen erhebliche regionale Unterschiede. In Ägypten beträgt die Seroprävalenz bis zu 20%, in Nord-Amerika 1,6%, in Italien 1,15% und in Skandinavien etwa 0,23% [71]. Nach Angaben des Robert-Koch-Institutes liegt die Prävalenz der chronischen Hepatitis C in Deutschland bei 0,4-0,7% der Bevölkerung [63, 71, 87]. Abbildung 1 zeigt einen Überblick über die globale Prävalenz des HCV. Die Übertragung des HCV erfolgt parenteral durch Kontakt mit HCV-kontaminiertem Blut. Zur Risikogruppen gehören Menschen mit intravenösem Drogenabusus durch gemeinschaftliche Verwendung kontaminierten Infusionsbestecks, Empfänger von Blut- und Blutprodukten, medizinisches Personal insbesondere nach Nadelstichverletzungen, Dialysepatienten und Organtransplantatempfänger [16, 35, 52, 63, 81]. Eine weitere potentielle Infektionsquelle bilden medizinische Eingriffe mit unzureichend sterilisierten Geräten und Durchführung von Tätowierungen und Piercing [1, 28, 81]. Abhängig von der Viruslast, kann auch über andere

Körperflüssigkeiten wie Speichel, Tränen oder Sperma eine HCV-Übertragung erfolgen [63].

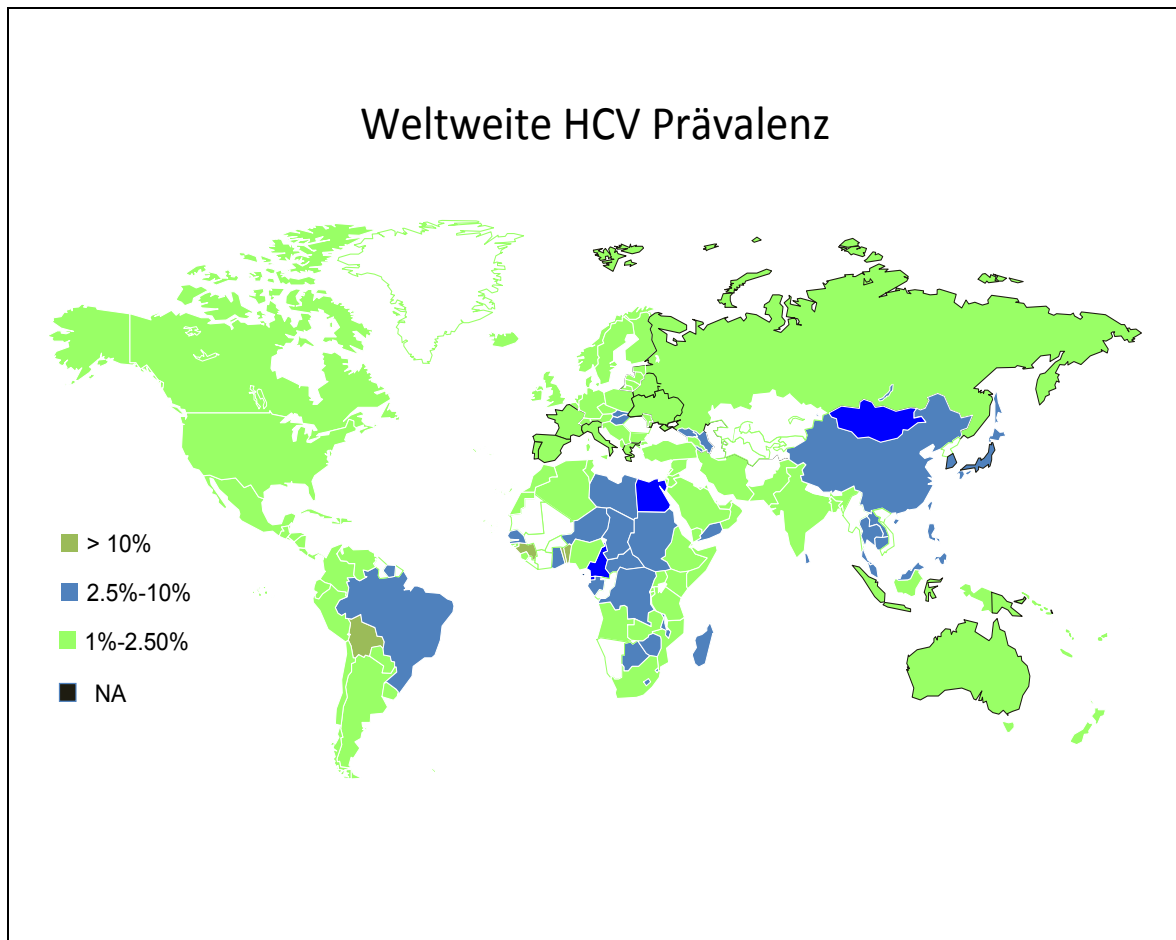


Abbildung 1: Globale Hepatitis-C-Virus Prävalenz. Anteil der Einwohner mit Nachweis von anti-Hepatitis C-Virus-Antikörpern an der Gesamtbevölkerung. Höhere Prävalenz in einigen afrikanischen, südamerikanischen und südostasiatischen Ländern als in Europa und Nordamerika (Weltweite Verteilung der Hepatitis C Infektion 2007, World Health Organization; 2007 [13.08.2013]; www.who.int/ith/maps/hepatitisc2007.jpeg).

1.1.3 Klinischer Verlauf

Die Mehrheit der Erstinfektionen mit dem HCV verläuft asymptomatisch oder nur mit milden uncharakteristischen Beschwerden. Bei etwa 25% der Infektionen kommt es zu einer akuten Hepatitis mit Ikterus, Anstieg der Leberwerte, grippalen Symptomen, Appetitlosigkeit und Oberbauchschmerzen. Bei etwa 80% der Infektionen kommt es zur Viruspersistenz und Ausbildung einer chronischen HCV-Infektion. Die allermeisten Patienten mit chronischer Hepatitis C haben im weiteren Verlauf unspezifische Beschwerden. Am häufigsten tritt eine anhaltende, teilweise ausgeprägte und den Alltag ein-

schränkende Müdigkeit auf. Begleitend dazu kommt es zu einer Einschränkung der allgemeinen Leistungsfähigkeit und zu Konzentrationsstörungen. Diese Beschwerden können mit einer depressiven Stimmungslage einhergehen und dadurch zu einer deutlichen Abnahme der allgemeinen Lebensqualität führen. Des Weiteren können rheumatische Beschwerden mit Gelenk- und Muskelschmerzen und auch arthritische Veränderungen auftreten. Weniger häufig berichten die Patienten über unspezifische Oberbauchbeschwerden, Übelkeit und Brechreiz. Im Langzeitverlauf entwickeln etwa 20-30% der Patienten mit chronischer Hepatitis C eine Leberzirrhose. Bei diesen Patienten liegt das Risiko, im weiteren Verlauf ein hepatozelluläres Karzinom (HCC) zu entwickeln, bei 20-25%. Zwischen Infektion und der Bildung des HCC können zwischen 10 bis 30 Jahre vergehen [63, 86, 92].

1.1.4 Diagnostik

Bei Verdacht auf eine HCV-Infektion wird in einem sehr sensitiven ELISA-Verfahren zunächst nach anti-HCV-Antikörper im Serum gesucht. Bei positivem anti-HCV-ELISA wird als Bestätigungstest ein Immunoblot zum Nachweis spezifischer Antikörper gegen definierte HCV-Proteine durchgeführt. Der Nachweis einer Virusreplikation und die Quantifizierung der Viruskonzentration im Serum (Viruslast) erfolgen durch eine hochspezifische real-time PCR-Untersuchung („TaqMan“). Es existieren sechs HCV-Genotypen, die sich in definierten Regionen ihrer Nukleinsäuresequenz unterscheiden. Der Genotyp 1 kommt in Mittel- und Nordeuropa am häufigsten vor, in Süd- und Südosteuropa sind es die Genotypen 2 und 3. Die Bestimmung des Genotyps erfolgt ebenfalls durch eine PCR-Untersuchung [17, 76, 87]. Die Beurteilung und Erfassung der Krankheitsaktivität erfolgt durch die Bestimmung der Transaminasen (ALT und AST) im Serum. Bei den meisten Patienten mit einer chronischen Hepatitis C ist die ALT nur mäßig um den Faktor 2-3 erhöht. Zur Beurteilung der entzündlichen Veränderungen in der Leber und des Ausmaßes einer Leberschädigung (Fibrose oder Zirrhose) ist eine Leberbiopsie notwendig. Die Einteilung der entzündlichen Aktivität („Grading“) und die Ausprägung der Leberfibrose („Staging“) erfolgt nach unterschiedlichen Scores [87]. Einer der gebräuchlichsten ist der Desmet-Score (siehe Tabelle 1) [12]. Dieser unterteilt die entzündliche Aktivität in 4 Grade. Mit Grad 1 ist die Entzündung minimal, mit 2 mild, bei Grad 3 mäßig und bei Grad 4 schwer. Das Ausmaß der Fibrose hat eine Einteilung von 0-4,

während bei 0 keine Fibrose vorhanden ist, ist das Ausmaß der Fibrose bei einem Score von 1 mild, bei 2 mäßig und bei 3 schwer. Bei einem Score von 4 ist bereits eine Zirrhose vorhanden [12, 69, 87].

Tabelle 1: Einteilung des Grades der Entzündung und Fibrose in der Leber nach dem histologischen Score von Desmet [12]. Auf Grundlage des histologischen Befundes erfolgt eine Gradeinteilung des Ausmaßes an Entzündung und der Ausprägung der Fibrose. Ein Fibrosegrad > 2 wird als fortgeschrittene Fibrose bezeichnet.

Grad	Entzündung	Score	Fibrose
		0	keine Fibrose
1	minimal	1	milde Fibrose
2	mild	2	mäßige Fibrose
3	mäßig	3	Schwere Fibrose
4	schwer	4	Zirrhose

1.1.5 Therapie

Die heutige Standardtherapie einer chronischen Hepatitis C ist die kombinierte Behandlung mit pegyliertem Interferon (Peg-IFN α) und Ribavirin (RBV) [86]. Interferon- α wird rekombinant hergestellt und gleicht dem natürlichen Interferon bis auf eine Aminosäure. Die Polyethylenglykole (PEG) verlängern die Halbwertszeit des Interferon α von 8 Stunden auf 60-80 Stunden. Somit ist die Injektion von Peg-IFN α einmal pro Woche subkutan ausreichend, da hierdurch ein gleichmäßiger Wirkspiegel erreicht wird. RBV, das als Tablette eingenommen wird, ist ein Guanosinanalogen das nach der Phosphorylierung in der Zelle eine virostatistische Wirkung gegen viele DNA- und RNA-Viren entfaltet [91]. Die Therapiedauer richtet sich nach dem Genotyp, der Höhe der Viruslast (HCV-RNA im Serum in IU/ml) und der Kinetik des Therapieansprechens (Abfall der HCV-RNA Serumkonzentration während der Therapie). Zur Steuerung und Überwachung der Therapie wird die HCV-RNA Serumkonzentration ("Viruslast") nach 4, 12, 24 und 48 Wochen Therapie bestimmt. Im Rahmen der sogenannten „response guided therapy“ (RGT) werden Patienten mit dem Genotyp 1 (wie auch bei Typ 4, 5 und 6) über 24-48 Wochen und Patienten mit dem Genotyp 2 und 3 über 16-24 Wochen behandelt [17].

Durch diese Kombinationstherapie soll ein anhaltender Therapieerfolg erzielt werden, welcher als "sustained viral response" (SVR) definiert ist. Eine SVR ist dann erreicht, wenn 24 Wochen nach Therapieende die HCV-RNA im Serum nicht mehr nachweisbar ist. Das Erreichen einer SVR bedeutet eine Ausheilung der chronischen Hepatitis C. [54, 87]. Ca. 50% der Patienten mit dem Genotyp 1 und ca. 70-80% der Patienten mit dem Genotyp 2 und 3 erreichen eine SVR [86]. Die Nebenwirkungen einer Therapie mit Peg-IFN α und Ribavirin sind nicht unerheblich. Am Anfang der Therapie treten meistens grippeähnliche Symptome wie Fieber, Schüttelfrost, Kopf-, Glieder-, Gelenk- sowie Muskelschmerzen auf, aber auch Müdigkeit, Abgeschlagenheit und Konzentrationsstörung gehören zu den vielfältigen Nebenwirkungen. Daneben können auch Depressionen, Krampfanfälle, Neutropenie und Thrombozytopenie auftreten [86].

Als Erweiterung der bisherigen Therapie wurden 2011 die Proteaseinhibitoren Telaprevir und Boceprevir zur Behandlung des HCV Genotyp 1 in Kombination mit Peg-IFN α und RBV zugelassen. Telaprevir und Boceprevir wirken über eine Hemmung der viralen NS3/NS4a Protease und verhindern damit die weitere Spaltung des HCV-Polyproteins innerhalb der infizierten Leberzellen. Somit wird die weitere intrazelluläre Virusvermehrung blockiert. Im Rahmen der Tripeltherapie des HCV Genotyp 1 zeigen Studien- daten eine signifikant höhere SVR im Vergleich zur bisherigen Standardtherapie bei erstbehandelten Patienten (38-44% vs. 63-75%) sowie bei Patienten mit einem Relapse (17-21% vs. 59-69%). Zusätzlich könnte bei Patienten mit raschem Therapieansprechen (HCV-RNA negativ nach 4 Wochen Therapie) die Behandlungsdauer auf 24 Wochen verkürzt werden [17, 67]. Patienten, bei denen 12 Wochen nach Therapiebeginn kein Rückgang des HCV RNA mit 2 log IU/ml oder nach mind. 24 Wochen Behandlung weiterhin HCV RNA nachweisbar ist, werden als Non-Responder bezeichnet [17]. Auch bei Non-Respondern auf eine Therapie mit Peg-IFN α und RBV führt eine erneute Behandlung mit einer Triple-Therapie (Peg-IFN α , RBV und Proteasiinhibitor) verglichen mit der bisherigen Standardtherapie zu einer höheren SVR (5-10% vs. 20-25%) [17, 67].

1.2. Osteoporose

1.2.1 Definition der Osteoporose

Zu Beginn der 90er Jahre definierte die WHO die Osteoporose als eine systemische Skeletterkrankung, charakterisiert durch eine Verminderung der Knochenmasse, die über das altersentsprechende Maß hinausgeht (Knochenmasseverlust) und eine Verschlechterung der Mikroarchitektur des Knochengewebes mit reduzierter Festigkeit und erhöhter Frakturanfälligkeit. Die Definition (Diagnose) der Osteoporose basiert auf der Knochendichtemessung mittels der Dual-Energy-X-ray-Absorptiometry (DEXA). Als Referenz wurde der statistische Mittelwert von gesunden prämenopausalen Frauen verwendet. Die Einteilung der Knochendichte erfolgt über den T-Score. Ein T-Wert (T-Score) < -1 Standardabweichung (SD) und $> -2,5$ SD wird als Osteopenie bezeichnet. Beträgt der T-Wert $< -2,5$ SD, so liegt eine gemessene Osteoporose vor, wenn dazu noch mindestens eine Fraktur vorliegt, dann wird dies als manifeste Osteoporose definiert (siehe Tabelle 2) [88, 89].

Tabelle 2: Die Einteilung der Schwere des Knochendichteverlusts erfolgt anhand des T-Score. Eine Knochendichtemessung mit einer Standardabweichung (SD) zwischen -1 und -2,5 zum Normalbefund wird als Osteopenie bezeichnet, mit einer Standardabweichung von kleiner als -2,5 als Osteoporose.

T – Score > -1 SD	Normalbefund
T – Score < -1 SD aber $> -2,5$ SD	Osteopenie
T – Score $< -2,5$ SD	Osteoporose

1.2.2 Diagnose der Osteoporose

Eine Diagnostik der Osteoporose wird in der Regel erst nach dem Auftreten von Frakturen relevant [85]. Im Wesentlichen gliedert sich eine zeitgemäße Diagnostik der Osteoporose in die Bereiche Anamnese, körperliche Untersuchung, Röntgendiagnostik, laborchemische Diagnostik, apparative Knochendichtemessung und Knochenstrukturanalyse. Bei der Anamnese und der körperliche Untersuchung soll untersucht werden, ob eventuell vorhandene Rückenbeschwerden oder Frakturen mit einer Osteoporose zusammenhängen können, sowie Risikofaktoren ermittelt werden, die möglicherweise

vorhanden sind und eine Osteoporose begünstigen. Zudem sollte auch ein Sturzrisiko der Patienten abgeklärt werden. Erhärtet sich der Verdacht auf eine Fraktur, so schließt sich eine Röntgendiagnostik an der betroffenen Körperregion an. Für eine apparative Diagnostik der Knochendichte stehen mehrere Methoden zur Verfügung: Die quantitative Ultraschallmessung (Osteosonographie, QUS), die Osteodensitometrie (OD) mittels Dual-Energy-X-ray-Absorptiometry (DEXA) an Lendenwirbelsäule und Schenkelhals, die quantitative Computertomographie an der Lendenwirbelsäule (QCT) sowie die periphere Computertomographie am Unterarm (pQCT) stehen für die bekanntesten der zahlreichen Verfahren [4, 85, 89].

Die Osteosonographie ist in den niedergelassenen Praxen weit verbreitet, da sie eine kostengünstige Messmethode auf der Grundlage darstellt, die Geschwindigkeit des Ultraschalls durch periphere Knochen z.B. der Finger, Fersen- oder Schienbeine in Metern pro Sekunde (speed of sound, SOS) zu erfassen. Eine tatsächliche Knochendichtemessung findet hier jedoch nicht statt [9, 49, 90]. Über quantitative computertomographische Messung der Lendenwirbelsäule (QCT) sind eine volumetrische Beurteilung und die Unterscheidung von spongiosen und kompaktem Knochen möglich. Im Bereich der LWS kann sie frühzeitig auf einen Verlust an trabekulären Knochen hinweisen. Der Nachteil an diesem Verfahren ist jedoch eine erhöhte Strahlenbelastung (100-300 mREM) weshalb sie für häufigere Kontrolluntersuchungen weniger geeignet ist [4, 41]. Periphere computertomographische Messmethoden (pQCT) bieten ähnlich zur Ultraschallmessung eine beliebte Lösung zum ambulanten Screening in der Praxis und erlauben eine gute Aussage über das gemessene Areal. Bei achsenbetonten Osteoporosen stoßen sie definitionsbedingt an ihre Grenzen [10, 34, 41]. State of the art in der Diagnose der Osteoporose ist laut Definition des Dachverbandes Osteologie e.V. (DVO) die Osteodensitometrie (OD) mittels Dual-Energy-X-ray-Absorptiometry an Lendenwirbelsäule und Schenkelhals (DEXA). Sie ist in großer Anzahl verfügbar, zudem schnell durchführbar (5-10 min) und hat eine niedrigere Strahlenbelastung (13 mREM) [9, 33, 48].

Besteht bei Patienten ein mindestens 20%-prozentiges Risiko, in den nächsten zehn Jahren einen Wirbelkörper und/oder eine proximale Femurfraktur zu erleiden, wird von der DVO in ihrer „Leitlinie zur Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der Osteoporose

bei Erwachsenen“ eine Basisdiagnose empfohlen. Diese besteht aus einer spezifischen Anamnese, einem Befund sowie einer Osteodensitometrie mittels DXA. Des Weiteren wird die Durchführung eines Routine-Labors (Blutbild, BSG/CRP, Kalzium, Phosphat, Kreatinin, AP, GGT, TSH, Eiweiß-Elektrophorese) empfohlen sowie im Verdachtsfall die optionale Durchführung einer Frakturabklärung mittels konventioneller Röntgenaufnahmen der BWS und LWS in zwei Ebenen [9].

1.2.3 Epidemiologie

Die Osteoporose ist eine systemische Erkrankung des Skelettsystems mit einer verminderten Knochendichte und verschlechterte Mikroarchitektur des Knochengewebes, wodurch die Frakturanfälligkeit ansteigt [89]. Man unterscheidet zwischen einer primären- und einer sekundären Osteoporose. Die primäre Osteoporose wird eingeteilt in: die idiopathische Osteoporose, bei Jugendlichen und Kindern vorkommend, und die postmenopausale (Typ 1-) Osteoporose, welche die häufigste Form der Osteoporose ist und meistens bei Frauen ab dem 50. Lebensjahr vorkommt. Veränderungen des Hormonhaushaltes nach der Menopause, hier ist speziell das Östrogen zu nennen, werden hierfür als Ursache gesehen. Sowie die Involutions- und Alters (Typ 2-) Osteoporose. Diese tritt meistens nach dem 70. Lebensjahr auf. Die Ursachen für eine sekundäre Osteoporose können endokrine Störungen wie z.B. Hyperparathyreoidismus, Cushing-Syndrom, Hypothyreose, sowie Hypogonadismus sein oder aber auch medikamentöse Nebenwirkungen von Glukokortikoiden bei dauerhafter Einnahme sowie von Heparinen. Auch können onkologische Krankheitsbilder, Lebererkrankungen, Immobilisation sowie enterale und renale Störungen wie z.B. Niereninsuffizienz Auslöser einer sekundären Osteoporose sein [70, 73].

1.2.4 Pathophysiologie der Osteoporose

Der Knochen unterliegt permanent physiologischen Auf-, Um- und Abbauvorgängen, die als Knochenremodeling bezeichnet werden. Während des Knochenremodelings wird ältere Knochenmatrix durch Osteoklasten ab- und durch Osteoblasten wieder aufgebaut. In der Zeit zwischen der Pubertät und dem Ende der Gonadenfunktion wird die Knochenmasse über diesen Vorgang annähernd konstant gehalten. Das Remodeling unterliegt vier Phasen: In der ersten Phase werden die Osteoklasten aktiviert, wäh-

rend der zweiten Phase erfolgt die Resorption durch die Osteoklasten. Phase drei ist die Umschaltphase und in der vierten Phase erfolgt die Neuformation des Knochens durch die Osteoblasten [47, 58] (siehe Abb. 2).

Bei einer Osteoporose ist das Verhältnis zwischen Knochenabbau und Knochenaufbau zu Ungunsten der Osteoblasten gestört, wodurch ein Ungleichgewicht resultierend in einem vermehrten Abbau des Knochens entsteht. Die Ursache dafür kann zum einen eine gesteigerte Aktivität der Osteoklasten sein, oder aber die Osteoblastenaktivität ist vermindert [40]. Der damit vermehrte Abbau der Knochenmatrix führt somit zu einer verringerten Knochendichte mit der Folge, dass die Mikroarchitektur der Spongiosa, in einem fortgeschrittenen Stadium auch die Compacta, sich verschlechtert und dadurch die Stabilität der Knochen abnimmt, wodurch das Risiko für Frakturen ansteigt [42].

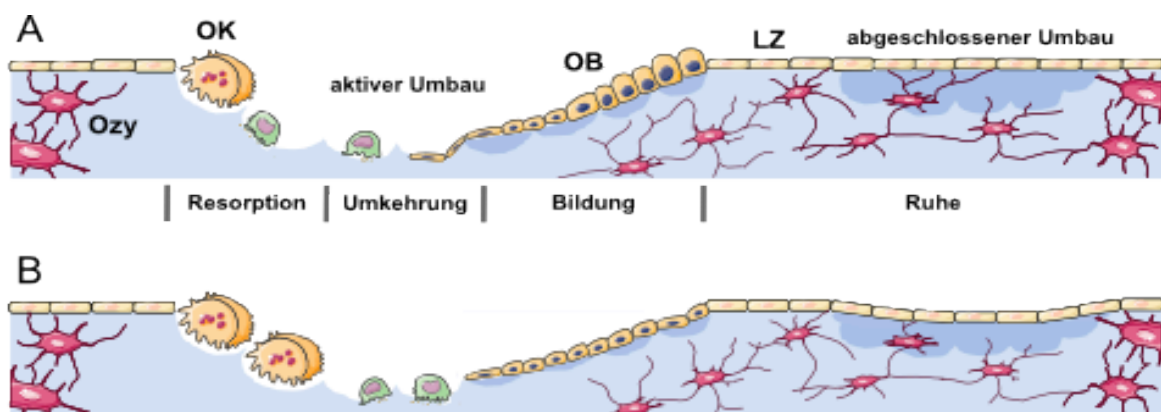


Abbildung 2: A: Knochenremodeling unter physiologischen Bedingungen. B: Knochenremodeling bei Osteoporose. Charakteristisch ist hierbei eine höhere Aktivität der Osteoklasten (OK), eine verringerte Anzahl sowie Aktivität der Osteoblasten (OB). Somit sind weniger Osteozyten (Ozy) im Knochenmatrix vorhanden und Qualität sowie Quantität der Lining-Zellen (LZ = ruhende OB) vermindert. [3]. Mit freundlicher Genehmigung des Autors.

1.3 Fragestellung

Peg-IFN α und RBV sind die Standardmedikamente zur Behandlung der chronischen Hepatitis C. Es gibt Hinweise, dass Peg-IFN α und RBV einen Einfluss auf die Knochendichte haben und die Ausbildung einer Osteoporose begünstigen [24, 27, 75]. In der vorliegenden Arbeit haben wir den Einfluss einer antiviralen Therapie mit Peg-IFN α und RBV auf Knochenmineraldichte und Knochenstoffwechsel bei Patienten mit chroni-

scher Hepatitis C untersucht. Hierzu erfassten wir prospektiv die Veränderung der Knochenmineraldichte und weiterer Parameter des Knochenstoffwechsels bei Patienten mit einer chronischen HCV Genotyp 1-Infektion. Wir verglichen eine Patientengruppe, die über 48 Wochen mit Peg-IFN α und RBV behandelt wurde (Behandlungsgruppe), mit einer Patientengruppe, die keine Therapie erhielt (Kontrollgruppe). Dieses Studiendesign erlaubt die Beantwortung der Frage, inwieweit eine 48-wöchige Kombinationstherapie mit Peg-IFN α und RBV die Knochenmineraldichte verändert und welche Einflüsse auf den Knochenwechsel bestehen.

2. Material und Methodik

2.1 Studiendesign

2.1.1 Studiendesign und zeitlicher Ablauf

In der vorliegenden Studie handelt es sich um eine prospektive, nicht randomisierte, kontrollierte Pilotstudie, die in der Leberambulanz der Klinik für Innere Medizin I der Universitätsklinik Ulm im Zeitraum zwischen 2003 und 2008 durchgeführt wurde.

Eingeschlossen wurden männliche Patienten mit einer chronischen HCV-Infektion mit dem Genotyp 1. Abbildung 3 gibt einen allgemeinen Überblick über die Studie im zeitlichen Verlauf. Die Gesamtstudiedauer betrug 96 Wochen. Die Gruppe A (Behandlungsgruppe) umfasst 21 Patienten mit erhöhten ALT-Werten, die über 48 Wochen mit einer Kombinationstherapie aus Peg-IFN alpha-2a 180µg s.c./Woche und RBV 1000-1200 mg täglich behandelt wurden. Es folgte eine 48 wöchige Nachbeobachtungszeit. 5 Patienten hatten normale ALT-Werte und wurden daher nicht behandelt. Sie bildeten die Gruppe B (Kontrollgruppe).

Nach schriftlicher Einwilligung zur Teilnahme an der Studie erfolgte in beiden Gruppen die Eingangsuntersuchung (Baseline/Tag 0). Diese umfasste eine Blutentnahme von ca. 50 ml zur Bestimmung der Laborparameter vor Therapiebeginn. An Tag 1 erfolgte in beiden Gruppen eine Knochendichtemessung (DEXA) und in Gruppe A begann die antivirale Kombinationstherapie mit Peg-IFN α und RBV für 48 Wochen. An Tag 2 der Studie, wurden noch einmal ca. 20-30 ml Blut entnommen worden, um die Knochenstoffwechselfparameter zu bestimmen. Weitere Termine zur erneuten Bestimmung der Laborwerte sowie zur Kontrolle des Therapieansprechens waren für den 7. Tag, sowie für die 2., 4., 12. und 24. Woche angesetzt. In der 48. Woche (End of Treatment, EOT) wurde die Kombinationstherapie für die Patienten der Gruppe A beendet und aus dem, zu diesem Zeitpunkt entnommenen Blut, wurden erneut die Parameter des Knochenstoffwechsels bestimmt. Bei EOT erfolgte auch eine erneute Messung der Knochendichte. Eine abschließende Untersuchung für beide Gruppen erfolgte nach Ende der Nachbeobachtungszeit in der 96. Woche (Follow up, FU). Hierbei wurden erneut die Laborwerte ermittelt, wie auch die Knochendichte gemessen. Zusätzlich fand noch eine körperliche Untersuchung statt. Die Daten, welche zu den Zeitpunkten Baseline

(BL), End of Treatment (EOT) sowie Follow up (FU) gewonnen wurden, wurden für die Auswertung verwendet.

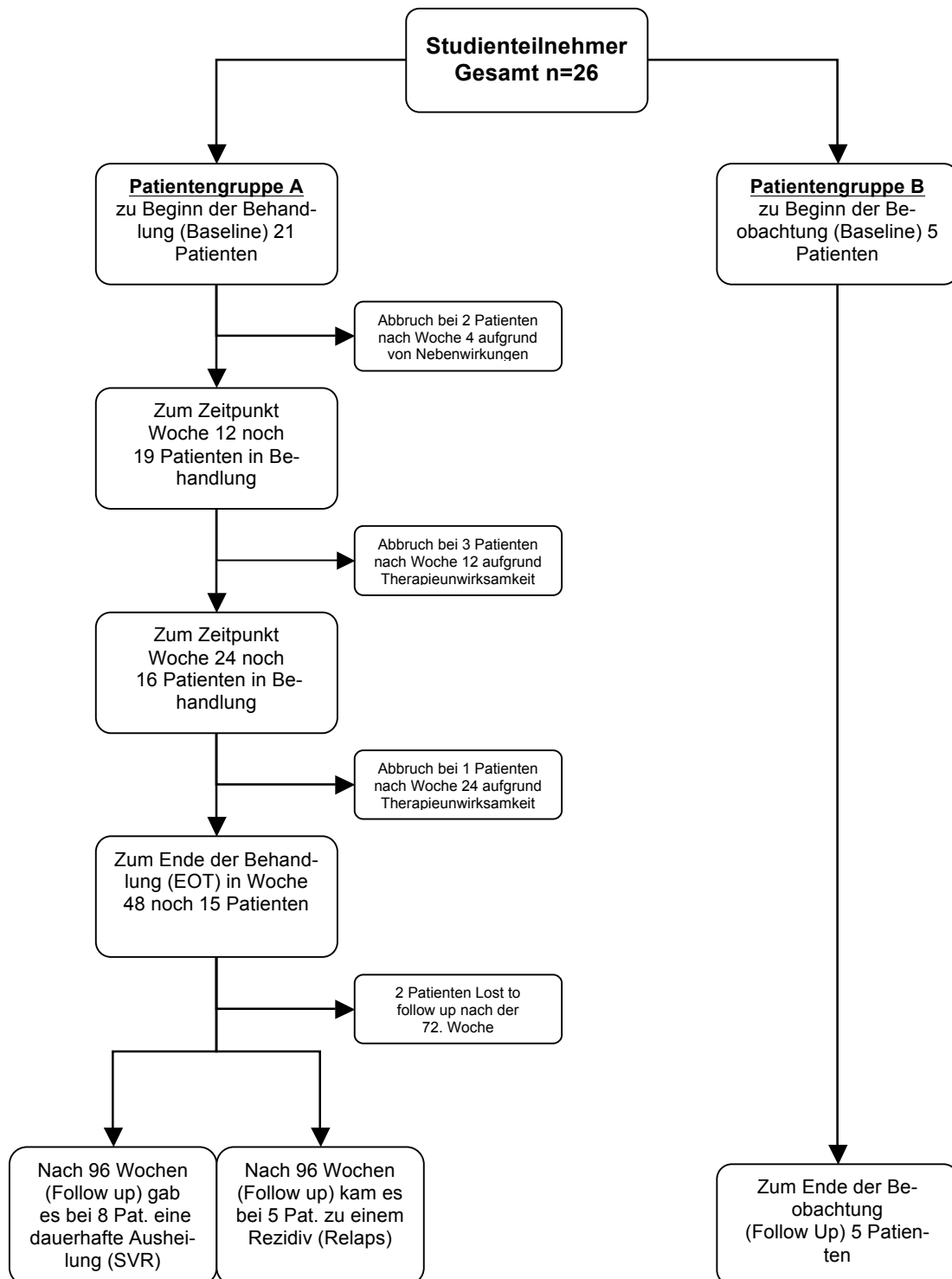


Abbildung 3: Darstellung der Studienteilnehmer über die gesamte Dauer der Studie. Einteilung in Gruppe A (Behandlungsgruppe) inklusive ausgeschiedener Patienten und deren Gründe, sowie in Gruppe B (Kontrollgruppe). Die Patienten der Behandlungsgruppe erhielten eine antivirale Kombinationstherapie mit Peg-IFN α und Ribavirin (RBV) über 48 Wochen, es erfolgte eine Nachbeobachtung über weitere 48 Wochen. Die Patienten der Kontrollgruppe wurden nicht behandelt.

2.1.2 Leberbiopsie zur Bestimmung des Grades an Entzündung und Fibrose

Bei einer Leberbiopsie wird zunächst per Sonographie die Punktionsstelle festgelegt. Anschließend erfolgen die Desinfektion des Hautareals, an der die Punktionsnadel eingeführt wird sowie eine örtliche Betäubung. Im Anschluss an die Leberbiopsie wird der Patient noch bis zu drei Stunden zur Nachbeobachtung in der Praxis behalten. Abschließend wird vor der Entlassung des Patienten eine Ultraschalluntersuchung durchgeführt, um Nachblutungen auszuschließen [55].

2.2 Patienten

2.2.1 Ein- und Ausschlusskriterien

Einschlusskriterien:

- Männliche Patienten im Alter zwischen 18 und 65 Jahren
- Histologisch gesicherte chronische Hepatitis C Infektion mit dem Genotyp 1
- Schriftliche Einwilligung nach erfolgter mündlicher wie schriftlicher Aufklärung
- Patienten mit Grading und Staging <2 nach Desmet-Score (vgl. Tab. 1)

Ausschlusskriterien:

- Klinisch manifester Hypogonadismus
- Serumkreatininspiegel > 400 µmol/L
- Serumcalcium > 2,6 oder < 1,8 mmol/L
- Medikamenten- oder Alkoholabhängigkeit
- Vorliegen von malignen Erkrankungen
- Primärer Hyperparathyreoidismus, Morbus Paget oder eine aktive Schilddrüsenerkrankung
- Patienten die an den letzten 30 Tagen vor Studienbeginn an einer anderen klinischen Prüfung teilgenommen hatten

Abbruchkriterien:

- Mangelnde Compliance
- Kein Abfall der HCV-RNA um mindestens 2 log gegenüber dem Ausgangswert nach 12 Wochen Therapie oder Nachweis der HCV-RNA nach 24 Wochen Therapie ("Non Response")
- Erneuter Nachweis HCV-RNA nach Therapieende ("Relapse")

2.2.2 Aufklärung der Patienten

Eine Aufklärung der Teilnehmer über die wissenschaftlichen Ziele dieser Studie erfolgte in mündlicher wie auch schriftlicher Form. Sie wurden über die Freiwilligkeit der Teilnahme an der Studie, die Strahlenbelastung durch die Röntgenuntersuchungen sowie die anonymisierte Nutzung der Patientendaten informiert. Eine entsprechende Einwilligungserklärung wurde von allen Studienteilnehmern unterschrieben.

2.2.3 Begleittherapie

Während des gesamten Studienverlaufes war den Teilnehmer die Einnahme von Medikamenten wie Testosteron (als Ausnahmefall gilt eine Substitutionsbehandlung), Calcium, Vitamin D, Bisphosphonate, Calcitonin, Fluoride (einschließlich der letzten 12 Monate) sowie Steroide nicht gestattet.

2.3 Laborbestimmungen

Es wurden folgende Laborwerte aus dem entnommenem Blut untersucht: ALT, HCV-RNA, Testosteron, TSH (Thyreoidea-stimulierendes Hormon), Calcium, Phosphat, Parathormon, 25-Vitamin D, 1,25-Vitamin D, β -Crosslaps, Osteocalcin, und Prokollagen-Typ-1-AT-Peptid. Leberwerte konnten über den ALT-Wert bestimmt werden. Das Serum wurde durch das chemische Analyse System Dimension RxL der Firma Siemens durch photometrische Messung bestimmt. Durch die Analyse der ALT-Werte wurde die Diagnose einer Hepatitis C Infektion erstellt; zudem wurde es zur Verlaufskontrolle während der Studie herangezogen. Referenzwerte für ALT sind 35 U/l bei weiblichen und 45 U/l bei männlichen Patienten.

2.3.1 Untersuchungsparameter:

Um die Auswirkungen der antiviralen Kombinationstherapie mit Peg-IFNa und RBV auf den Knochenstoffwechsel zu erfassen, wurden folgende Parameter untersucht:

Analysen nach der ECLIA-Methode (Electro Chemie Lumineszens Immuno Assay) am Roche Immunoassay Analyseautomaten Modular Analytics E170 (Elecsys Modul)

- **Osteocalcin** wird als Aufbauprodukt im Knochenstoffwechsel von Osteoblasten produziert. Je nach Alter und Geschlecht sind verschiedene Referenzbereiche gültig. Für erwachsene Frauen, älter als 20 Jahre, liegen die Werte prämenopausal bei 11-43 µg/l und postmenopausal bei 15-46 µg/l. Für Männer gelten im Alter von 18-30 Jahren 11-70 µg/l, von 30-50 Jahren 14-52 µg/l und von 50-70 Jahren Osteocalcinwerte von 14-46 µg/l.
- **Prokollagen Typ 1 Amino- Terminales Peptid** ist ein Abspaltprodukt bei der Bildung von Typ-1-Kollagen aus Prokollagen und somit ein Stoffwechselprodukt des Knochenaufbaus. Referenzwerte liegen nur für weibliche Patienten vor und sind altersabhängig. Für Frauen, die im prämenopausalem Zustand sind, liegen die Werte bei 15-59 µg/l und im postmenopausalen Zustand bei 20-76 µg/l.
- **β-Crosslaps** ist ein Abbauprodukt im Knochenstoffwechsel. Die Referenzwerte für β-Crosslaps liegen bei Frauen, die älter als 20 Jahre und im prämenopausalen Zustand sind, bei < 0,573 µg/l, bei Frauen im postmenopausalen Zustand < 1,008 µg/l. Für Männer im Alter zwischen 30-50 Jahren < 0,584 µg/l, 50-70 Jahren < 0,704 µg/l und älter als 70 Jahren bei < 0,854 µg/l.

Analysen durch photometrische Messung am Dimension RxL Molibdatkomplex

- Die Normwerte der **Phosphatkonzentration** im Plasma sind altersabhängig und liegen für Erwachsene im Bereich 0,84-1,45 mmol/l.
- Für die **Calciumkonzentration** im Plasma gelten für Erwachsene Normwerte von 2,2-2,65 mmol/l.

- Die Werte für das **Parathormon** im Blut wurden am DPC Biermann Immunoassay Analyseautomaten Immulite 2500 durch eine festphasengebundene Chemilumineszenz-Sandwich Assay bestimmt. (Intaktes PTH der Firma DPC , Kreuzreaktivität zu PTH 7-84 ca. 44%). Die Proben wurden bei der Entnahme mit EDTA vermischt. Als Referenz gelten Werte zwischen 16-87 pg/ml, dabei entspricht 1 pg/ml=0,1053 pmol/l.

Virologische Diagnostik

- Im Rahmen der virologischen Diagnostik erfolgte mit dem MEIA-Verfahren (**Mikropartikel- EnzymImmunoAssay**) am IMx System der Firma Abbott die Bestimmung von Antikörpern gegen HCV, HBcAg und HIV. Im Weiteren wurde eine Messung der Konzentration der HCV-RNA im Serum ("Viruslast") mittels einer quantitativen "real-time" PCR (**COBAS® TaqMan® HCV Test**) und eine Bestimmung des HCV-Genotyps mittels einer PCR-Diagnostik durchgeführt.

Analysen nach der ECLIA-Methode (Electro Chemie Lumineszens Immuno Assay) am Roche Immunoassay Analyseautomaten Modular Analytics E170 (Elecsys Modul)

- Der Test der **Testosteronwerte** wurde gegen ID-GC-MS (Isotope Dilution Gas Chromatography Mass Spectrometry) standardisiert.
- Eine Standardisierung der **TSH** Analyse erfolgte am 2. IRP WHO-Referenzstandard 80/558.

2.3.2 Knochendichtemessung

Die Knochendichtemessung (Osteodensitometrie) an den Patienten erfolgte in der Klinik für diagnostische und interventionelle Radiologie am Universitätsklinikum Ulm.

Die Verwendung der DEXA-Methode (Dual-Energy X-ray Absorptiometry) für die Knochendichtemessung gilt als Standardverfahren und ist weit verbreitet, da bei der Messung des Femurs und der Wirbelkörper die Strahlenbelastung relativ gering ist und die Messergebnisse eine hohe Genauigkeit aufweisen.

Die Messung der Knochenmineraldichte erfolgte am Hologic QDR-1000™ Röntgen-Knochendensitometer (von Siemens). Es erfolgten standardisierte Aufnahmen von drei

Wirbelkörpern der LWS und vom Trochanter. Die Strahlenbelastung durch die Röntgenaufnahmen an den Wirbelkörpern lag **bei 0,5 μSv** , am Trochanter bei **0,1 μSv** , womit die gesamte Strahlenbelastung von **0,6 μSv** um ein vielfaches unterhalb der natürlichen Strahlenbelastung von 2,4 μSv in Deutschland liegt.

Für die Abbildung und Messung des Knochenmineralgehaltes an den zu bestimmenden Körperregionen werden am Hologic QDR-1000TM Röntgen-Knochendensitometer Röntgenstrahlen mit zwei unterschiedlichen Energiestufen verwendet. Als radioaktive Energiequelle dient ein Gd-153, das Photonen mit zwei verschiedenen Energiestärken emittiert. Da der Knochen einen größeren Teil der Photonen absorbiert als das Weichgewebe, kann über die Differenz der Mineralgehalt des Knochen unabhängig vom Weichgewebe gemessen und berechnet werden.

Für die Knochendichtemessung waren keine speziellen Vorbereitungen notwendig. Die Aufnahmen wurden zum Zeitpunkt Baseline in der 48. (EOT) und der 96. Woche (FU), an beiden Patientenkollektiven durchgeführt.

2.4 Datenerfassung

Die Dokumentation der gewonnenen Daten, erfolgte in Microsoft Office Excel 2003 Tabellen. Für die statistische Auswertung wurden diese in das Statistikprogramm SPSS 16.0 (Statistical Package for the Social Science, SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA), übertragen.

2.5 Statistik

Die Daten wurden deskriptiv statistisch ausgewertet. Dazu wurde für quantitative Merkmale Mittelwert, Standardabweichung, sowie Median mit Minimum und Maximum berechnet. Die graphische Darstellung der erhobenen Merkmale erfolgte mithilfe von Einzelpunktdarstellungen mit Median, der Vergleich zwischen den Gruppen für die Hauptzielgröße T-Wert Veränderung für LWS mit dem Mann-Whitney-Test. Alle weiteren Nebenzielgrößen wurden explorativ ausgewertet.

Für die Subgruppenanalyse wurden für die statistische Auswertung innerhalb der Teilgruppen gepaarte Tests nach Wilcoxon und im Vergleich beider Teilgruppen gegeneinander ungepaarte Tests nach Mann-Whitney durchgeführt.

Das Signifikanzniveau lag bei allen Tests bei $p < 0,05$.

3. Ergebnisse

3.1 Patienten

3.1.1 Patientenkollektiv

Insgesamt wurden 26 Patienten mit einer chronischen Hepatitis C-Infektion mit dem HCV-Genotyp 1 in die Studie aufgenommen. Von diesen hatten 21 Patienten erhöhte Transaminasen, weshalb sie der Gruppe A (Behandlungsgruppe) zugeordnet und mit Peg-IFNa und RBV für 48 Wochen behandelt wurden. 5 Patienten, die keine erhöhten Transaminasen aufwiesen, wurden in die Gruppe B (Kontrollgruppe) aufgenommen und über den Verlauf der Studie beobachtet (siehe Tabelle 3).

Tabelle 3: Patientencharakteristika. Eingeschlossen wurden männliche Patienten mit einer chronischen Hepatitis C-Virusinfektion mit dem Genotyp 1 und einem Entzündungs- und Fibrosegrad < 2 nach dem Desmet-Score.

	Gruppe A (Behandlungsgruppe) n=21 Mittelwert ±SD / Median (Minimum - Maximum)	Gruppe B (Kontrollgruppe) n=5 Mittelwert ±SD / Median (Minimum - Maximum)
Alter [a]	37,4 ±8,90 / 38 (22-53)	41,6 ±8,70 / 42 (32-52)
BMI [kg/m²]	25,0 ±6,0 / 25,6 (21,3-33,1) n=20	24,5 ±1,70 / 24,1 (22,5-26,8)
ALT [U/L]	107,8 ±86,0 / 88 (39-447)	66,0 ±18,8 / 63 (45-96)
Testosteron [µg/l]	7,43 ±2,50 / 6,3 (4,47-13,33) n=14	5,69 ±0,90 / 5,69 (5,02-6,35) n=2
TSH [mIU/l]	1,80 ±1,70 / 1,33 (0,22-7,06)	1,46 ±0,50 / 1,64 (0,62-1,89)
Viruslast [kIU/ml]	823 ±1194 / 630 (0-4950) n=20	1477 ±1645 / 1477 (314-2640) n=2
Krankheitsdauer [Monaten]	50,5 ±50,4 / 30 (3-156)	56,2 ±114,0 / 4 (2-260)

Neben der Eingangsuntersuchung an Baseline (Tag 0) erfolgte bei beiden Patientenkollektiven eine Leberbiopsie zur Bestimmung des Entzündungsgrades und der Leberschädigung (Fibrose oder Zirrhose). Zur Einteilung des Ausmaßes wurde der Desmet-Score verwendet (Tabelle 4).

Tabelle 4 Grad der Entzündung und Fibrose der Patienten aus der Gruppe A und B vor Therapiebeginn (Baseline) mit Mittelwert, \pm SD, Median sowie Minimum und Maximum, eingeteilt nach dem Desmet-Score

	Entzündung Mittelwert \pmSD /Median (Minimum – Maximum)	Fibrose Mittelwert \pmSD /Median (Minimum – Maximum)
Gruppe A (n=21)	1,65 \pm 0,587 / 2 (0 – 2)	1,5 \pm 1,000 / 2 (0 – 3)
Gruppe B (n=5)	1,20 \pm 0,837 / 1 (0 – 2)	0,6 \pm 0,894 / 0 (0 – 2)

Von ursprünglich 21 Patienten aus der Gruppe A konnten 15 Patienten die gesamte Studiendauer von 96 Wochen durchlaufen. Bei 10 dieser Patienten wurde eine SVR (Sustained virologic response) erzielt, dagegen kam es bei 5 Patienten zu einem „Relapse“ (erneuter Nachweis der HCV-RNA im Serum nach Abschluss der antiviralen Therapie). Von 6 Patienten, welche die Therapie abbrechen mussten, waren 4 Patienten „Nonresponder“. Das sind Patienten, bei denen die HCV-RNA im Serum nach 12 Wochen Therapie nicht um mindestens 2 log-Stufen gegenüber dem Ausgangswert vor Therapie abfällt. Bei den beiden übrigen Patienten musste die Therapie aufgrund von Nebenwirkungen abgebrochen werden.

Allerdings findet sich bei einem geringen Teil der gewonnenen Daten eine kleine Anzahl von nicht verwendeten Proben, da diese nicht ausgewertet werden konnten. Zudem sind 2 Patienten zur Follow up Untersuchung nicht mehr erschienen und konnten auch nach längerer Recherche nicht mehr aufgefunden werden. Bei der späteren Analyse wurden die fehlenden Proben/ Daten ausgeschlossen. Somit variiert die Anzahl der verwendbaren Patientendaten bei der Auswertung.

3.1.2 Patientencharakteristika

Das durchschnittliche Alter der gesamten Patienten (n=26) betrug zu Beginn der Studie 38,2 Jahre. In der Gruppe A (n=21) lag der Altersdurchschnitt bei 37,4 Jahren, in der Gruppe B (n=5) lag dieser bei 41,6 Jahren. Der jüngste Studienteilnehmer war 21 Jahre, der älteste 52 Jahre alt (Tabelle 3). Der Altersmedian der gesamten Patienten lag bei 39,5 Jahren (siehe Abb. 4). Die Patientencharakteristika weisen einige Unterschiede auf.

der LWS (Abb. 6). Zusätzlich wurden die Messzeitpunkte Baseline und Follow up zwischen beiden Gruppen verglichen. Bei der BMD vor Beginn der Therapie und nach Abschluss der Nachbeobachtung gab es zwischen beiden Gruppen keinen signifikanten Unterschied. Die Differenz der BMD-Werte zwischen BL und FU ergibt für die Gruppe A mit $-0,142 (\pm 0,27, n=13)$ eine Abnahme und für die Gruppe B mit $0,452 (\pm 0,422, n=5)$ ein Zunahme der Knochenmineraldichte (Abb. 7). Im Vergleich dieser Werte zwischen beiden Gruppen zeigt sich ein signifikanter Unterschied der Knochendichte ($p < 0,014$).

Tabelle 5: Knochendichtemessung der LWS. Bei der Gruppe A: Zeitpunkte Baseline (BL), End of treatment (EOT) sowie Follow up (FU) und der Gruppe B an Baseline (BL) sowie Follow up (FU); jeweils mit Patientenzahl, Mittelwerte des T-Werts einzelner Messzeitpunkte mit Standardabweichung (SD), Median sowie Minimum und Maximum. T-Wert Vergleich jeweils innerhalb der beiden Gruppen; für die Gruppe A: * ein signifikanter Unterschied der Knochendichte zwischen BL und EOT ($p=0,001$), □ ein signifikanter Unterschied der Knochendichte zwischen EOT und FU ($p=0,002$); ° ein signifikanter Unterschied der Knochendichte zwischen Baseline und Follow up ($p=0,028$), in der Gruppe B gab es keinen bedeutsamen Unterschied der Knochendichte zwischen Baseline und Follow up

T-Wert LWS	Gruppe A n: BL=15, EOT=15, FU=13 Mittelwert \pm SD / Median (Minimum - Maximum)	Gruppe B n=5 Mittelwert \pm SD / Median (Minimum - Maximum)
Baseline	$-0,263 \pm 1,47 / -0,550 (-2,34 - 2,95)$	$-1,100 \pm 0,803 / -1,00 (-1,93 - -0,06)$
EOT	$0,182 \pm 1,49^* / -0,130 (-2,08 - 3,38)$	
Follow up	$-0,526 \pm 1,53 \square^\circ / -1,080 (-2,46 - 2,47)$	$-0,644 \pm 1,06 / -0,65 (-2,06 - 0,41)$
Diff. Baseline-Follow up	$-0,142 \pm 0,27 / -0,200 (-0,48 - 0,66), n=13$	$0,452 \pm 0,422 / 0,420 (-0,13 - 1,04)$

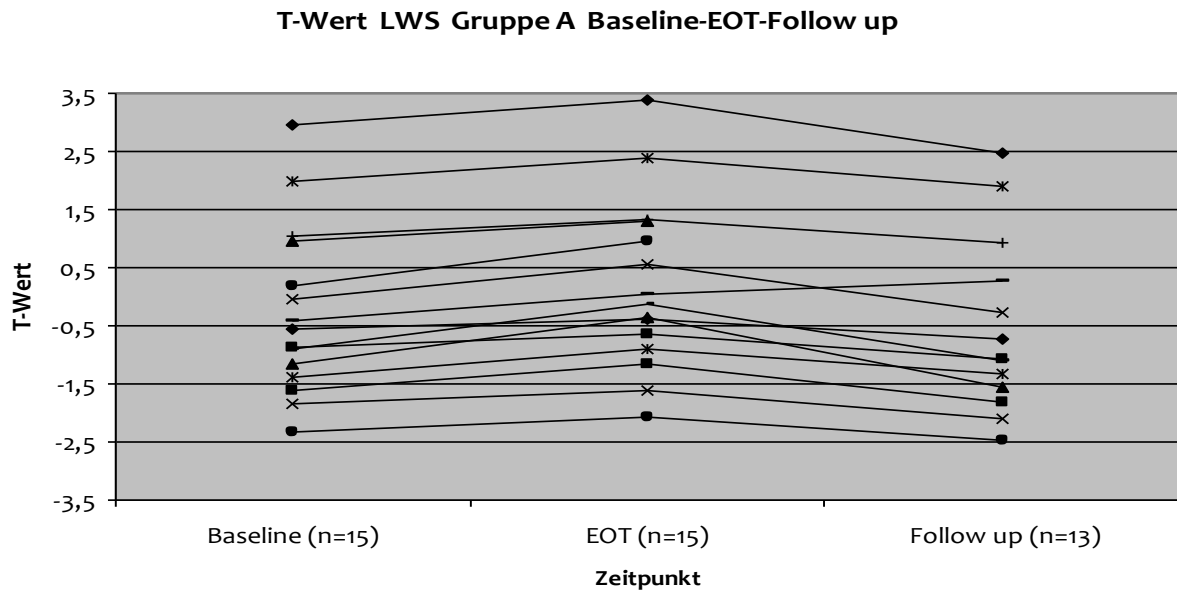


Abbildung 5 : Veränderung des T-Wertes der LWS bei Patienten der Gruppe A. Zum Zeitpunkt End of treatment (EOT/Woche 48), zeigt sich eine signifikant höhere Knochendichte als zum Zeitpunkt Baseline (Tag 0) und zum Zeitpunkt Follow up (Woche 96) ist die Knochendichte signifikant niedriger als zu End of treatment (EOT/Woche 48) sowie auch zu Baseline (Tag 0).

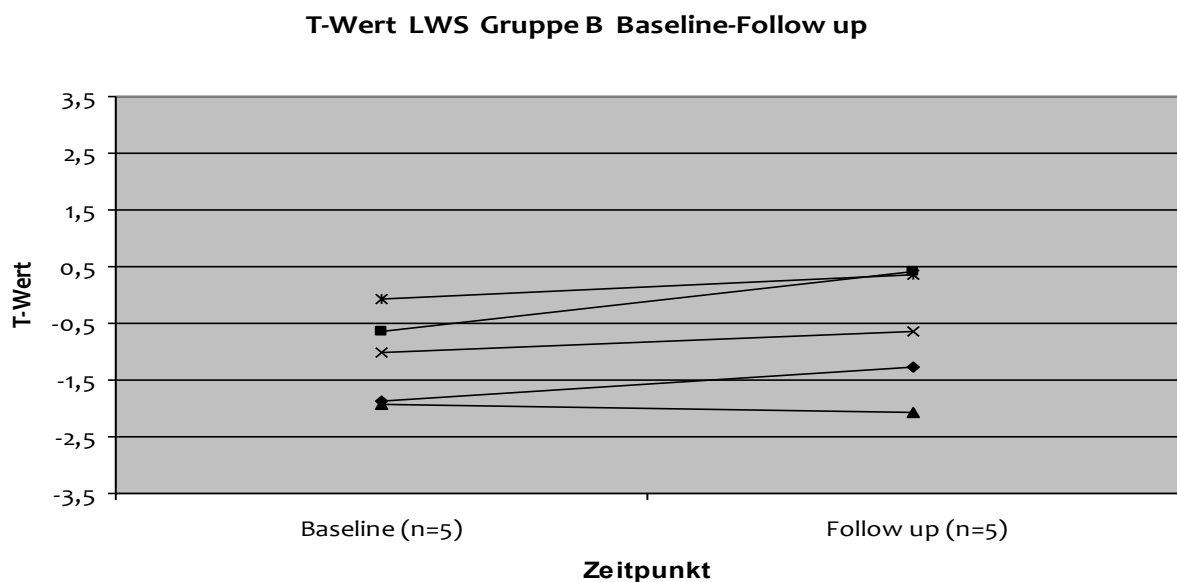


Abbildung 6: Veränderung des T-Wertes der LWS bei Patienten der Gruppe B. In vier Fällen kam es zu einer Verbesserung der Knochendichte im Vergleich der Zeitpunkte Baseline (Tag 0) und Follow up (Woche 96). Lediglich ein Patient zeigte eine Verschlechterung.

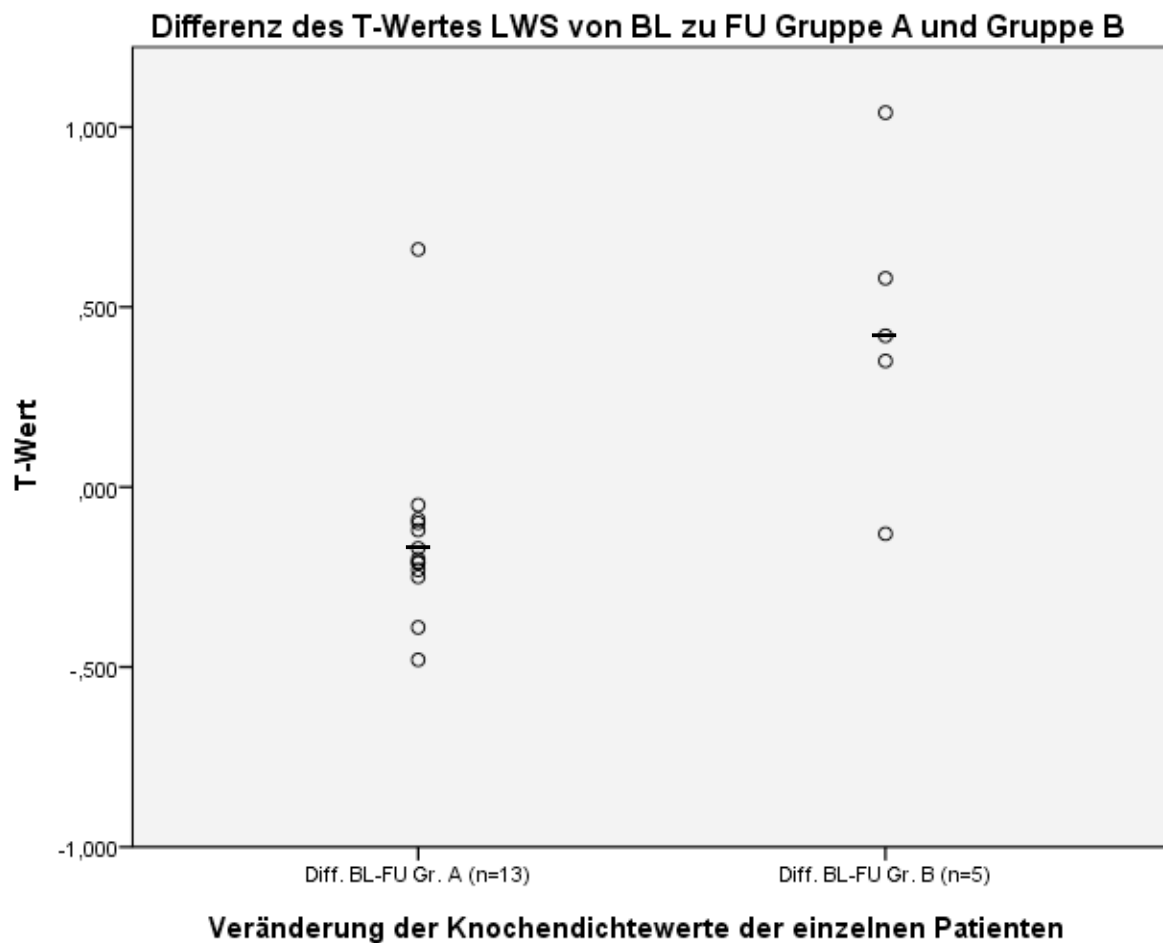


Abbildung 7: Eine der Hauptaussagen ist, dass in der Gruppe A (Behandelte Gruppe) am Ende der Nachbeobachtungszeit (Follow up (FU)/Woche 96) eine niedrigere Knochendichte vorliegt als zu Baseline (BL/Tag 0) und somit insgesamt ein Verlust der Knochendichte stattfand, während in der Gruppe B (Kontrollgruppe) bei allen bis auf einen Patienten eine Zunahme des T-Wertes stattfand. ←= jeweils der Median Wert innerhalb beider Gruppen.

3.2.2 Auswertung des T-Wertes an der Hüfte

Neben der LWS wurde auch im Bereich der Hüfte eine Untersuchung der Knochenmineraldichte durchgeführt. In Tabelle 6 sind die Ergebnisse der ermittelten T-Werte bei der Gruppen für die Knochenmineraldichte der Hüfte als arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen, Median sowie Minimum- und Maximum-Werte aufgeführt. Hier zeigte sich für die Gruppe A innerhalb der medikamentösen Therapie eine wesentliche Erhöhung der Knochendichte zum Zeitpunkt Baseline von $-0,578 (\pm 1,36, n=15)$ auf $-0,369 (\pm 1,42, n=15)$ nach Ende der Therapie (EOT) ($p < 0,011$). Der weitere Vergleich des BMD an EOT mit dem Zeitpunkt zum Ende der Nachbeobachtungszeit FU zeigte eine Abnahme der Knochendichte von $-0,369 (\pm 1,42, n=15)$ bis $-0,566 (\pm 1,42, n=13)$. Eine nennenswerte Veränderung der BMD, im Vergleich der Zeitpunkte BL und FU ergab

sich nicht (Abb. 8). Bei Betrachtung der Knochendichte der Hüfte an Patienten der Gruppe B zum Zeitpunkt BL (n=5) und FU (n=5) traten keine nennenswerten Veränderungen auf (Abb. 9). Der Vergleich der Knochendichte beider Patientengruppen gegeneinander im Bereich der Hüfte einmal für den Zeitpunkt Baseline (Gr. A n=15, Gr. B n=5) und einmal für Follow up (Gr. A n=13, Gr. B n=5) konnte zu keinem der beiden Zeitpunkte eine wesentliche Veränderung festgestellt werden. Die Differenz des T-Wertes der Hüfte zwischen Baseline und Follow up zeigt bei beiden Gruppen einen leichten Anstieg, im Vergleich beider Gruppen ist jedoch kein bedeutender Unterschied erkennbar.

Tabelle 6: Knochendichtemessung der Hüfte. Bei der Gruppe A: Zeitpunkte Baseline (BL), End of treatment (EOT) sowie Follow up (FU) und der Gruppe B an Baseline (BL) sowie Follow up (FU); jeweils mit Patientenzahl, Mittelwerte des T-Werts einzelner Messzeitpunkte mit Standardabweichung (SD), Median sowie Minimum und Maximum. T-Wert Vergleich jeweils innerhalb der beiden Gruppen. * markiert einen signifikanten Unterschied der Knochendichte zwischen Baseline und EOT der Gruppe A (p=0,011).

T-Wert Hüfte	Gruppe A N: BL=15, EOT=15, FU=13 Mittelwert \pm SD / Median (Minimum - Maximum)	Gruppe B n=5 Mittelwert \pm SD / Median (Minimum - Maximum)
Baseline	-0,578 \pm 1,36 / -0,6200(-2,93 - 2,55)	-1,34 \pm 1,11 / -1,53 (-2,51 - 0,49)
EOT	-0,369 \pm 1,42* / -0,2800(-2,60 - 2,63)	
Follow up	-0,566 \pm 1,42 / -0,7300 (-2,62 - 2,90)	-1,22 \pm 1,06 / -1,31 (-2,42 - 0,45)
Diff. Baseline-Follow up	0,172 \pm 0,418 / 0,220 (-0,55 - 0,79), n=13	0,116 \pm 0,249 / 0,09 (-0,16 - 0,49)

3.3 Knochenstoffwechsellparameter

Eine Übersicht über die Veränderungen der Knochenstoffwechsellparameter findet sich in Tabelle 7.

Das Prokollagen zeigte im Vergleich der Zeitpunkte BL und EOT in der Gruppe A eine deutliche Abnahme von 40,6 µg/l ($\pm 8,48$, n=12) auf 18,8 µg/l ($\pm 6,49$, n=13) ($p < 0,003$). Die Auswertung zwischen EOT und FU ergab dann wieder einen Anstieg von 18,8 µg/l ($\pm 6,49$, n=13) (EOT) auf 52,2 µg/l ($\pm 18,34$, n=14) (FU) ($p < 0,003$). Zwischen BL und EOT gab es keinen nennenswerten Unterschied. Die Werte des Prokollagens der Gruppe B (n=5) zeigten zu keinem Zeitpunkt bedeutsame Veränderungen. Im zusätzlichen Vergleich der Werte zu den Zeitpunkten Baseline (Gr. A n=12, Gr. B n=5) und Follow up (Gr. A n=14, Gr. B n=5) zwischen den Gruppen A und B war kein nennenswerter Unterschied vorhanden. Für das Phosphat ist sowohl in der Gruppe A (BL n=7, EOT n=15, FU n=12) als auch in der Gruppe B (BL n=5, FU n=4) an keinem Zeitpunkt eine wesentliche Veränderung eingetreten. Ebenso ergab der Vergleich beider Gruppen zueinander an den Zeitpunkten Baseline (Gr. A n=7, Gr. B n=5) und Follow up (Gr. A n=12, Gr. B n=4) keinen wesentlichen Unterschied. Der Parathormonspiegel hingegen zeigte in der Gruppe A im Vergleich zwischen BL und EOT einen nennenswerten Anstieg von 24,4 pg/ml ($\pm 9,84$, n=14) an BL auf 41,7 pg/ml ($\pm 26,12$, n=15) an EOT ($p < 0,003$). Ein geringfügiger Anstieg zeigte sich noch zwischen EOT (n=15) bis FU (n=12). Bei der Betrachtung der Werte von Baseline und Follow up konnte für das Hormon ein deutlicher Anstieg von 24,4 pg/ml ($\pm 9,84$, n=5) zum Zeitpunkt Baseline bis auf 46,4 pg/ml ($\pm 26,11$, n=4) zum Zeitpunkt Follow up festgestellt werden ($p < 0,006$). Patienten der Gruppe B zeigten für PTH keine nennenswerten Veränderungen. Der Vergleich der Gruppe A mit der Gruppe B an den Zeitpunkten Baseline (Gr. A n=14, Gr. B n=5) und Follow up (Gr. A n=12, Gr. B n=4) brachte keine wesentlichen Unterschiede hervor.

Tabelle 7: Die Ergebnisse des Verlaufs zu den Zeitpunkten Baseline, EOT (nur bei Pat der Gruppe A) sowie Follow up der Knochenstoffwechselfparameter Prokollagen Typ 1, Phosphat, Parathormon, 1,25-Vitamin D, Osteocalcin, 25 Vitamin D, Calcium und β -Crosslaps der Gruppe A und Gruppe B, jeweils mit Patientenanzahl (N), den Mittelwerten mit Standardabweichungen (SD), Median sowie Minimum und Maximum. Werte mit signifikanten Veränderungen sind fett hervorgehoben.

Parameter	Zeitpunkte	Gruppe A n; Mittelwert \pm SD / Median (Minimum - Maximum)	Gruppe B n; Mittelwert \pm SD / Median (Minimum - Maximum)
Prokollagen Typ 1 [μ g/l]	Baseline	n=12; 40,6 \pm 8,48 / 37,65 (31,90 – 54,78)	n=5; 42,5 \pm 14,61 / 41,15 (23,13 – 61,99)
	EOT	n=13; 18,8 \pm 6,49 / 18,66 (9,73 – 30,54)	
	Follow up	n=14; 52,2 \pm 18,34 / 55,69 (14,34 – 83,79)	n=5; 40,6 \pm 15,75 / (16,07 – 58,43)
Phosphat [mmol/l]	Baseline	n=7; 0,99 \pm 0,08 / 0,98 (0,87 – 1,10)	n=5; 1,02 \pm 0,15 / 1,09 (0,80 – 1,16)
	EOT	n=15; 0,94 \pm 0,14 / 0,93 (0,70 – 1,16)	
	Follow up	n=12; 1,01 \pm 0,17 / 1,06 (0,65 – 1,26)	n=4; 0,97 \pm 0,11 / 0,95 (0,88 – 1,12)
Parathormon [pg/ml]	Baseline	n=14; 24,4 \pm 9,84 / 24,4 (10,40 – 42,40)	n=5; 26,2 \pm 15,3 / 28,90 (2,19 – 43,40)
	EOT	n=15; 41,7 \pm 26,12 / 35,2 (11,80 – 104,00)	
	Follow up	n=12; 46,4 \pm 26,11 / 43,90 (16,90 – 113,00)	n=4; 30,18 \pm 10,25 / 32,30 (16,50 – 39,60)
1,25 Vitamin D [pg/ml]	Baseline	n=14; 46,6 \pm 17,03 / 46,00 (13,00 – 81,00)	n=5; 52,2 \pm 24,34 / 48,0 (24,0 – 91,0)
	EOT	n=14; 34,0 \pm 16,27 / 31,00 (14,00 – 61,00)	
	Follow up	n=12; 30,5 \pm 13,95 / 26,00 (16,00 – 62,00)	n=5; 30,3 \pm 27,6 / 33,0 (13,0 – 42,0)
Osteocalcin [μ g/l]	Baseline	n=12; 15,3 \pm 5,44 / 14,5 (7,1 – 26,7)	n=5; 17,6 \pm 6,1 / 16,5 (9,0 – 25,1)
	EOT	n=13; 8,0 \pm 2,60 / 7,8 (4,4 – 13,0)	
	Follow up	n=14; 18,5 \pm 6,63 / 17,2 (4,3 – 28,6)	n=5; 16,1 \pm 7,9 / 15,5 (6,2 – 27,6)
25 Vitamin D [ng/ml]	Baseline	n=14; 21,1 \pm 11,7 / 17,5 (9,0 – 46,0)	n=5; 23,2 \pm 10,4 / 27,0 (10,0 – 35,0)
	EOT	n=14; 22,0 \pm 12,0 / 18,5 (7,0 – 47,0)	
	Follow up	n=12; 22,6 \pm 11,1 / 18,0 (9,0 – 48,0)	n=4; 27,3 \pm 9,7 / 27,5 (17,0 – 37,0)
Calcium [mmol/l]	Baseline	n=7; 2,33 \pm 0,06 / 2,32 (2,27 – 2,43)	n=5; 2,37 \pm 0,06 / 2,36 (2,28 – 2,44)
	EOT	n=15; 2,25 \pm 0,07 / 2,25 (2,12 – 2,40)	
	Follow up	n=13; 2,32 \pm 0,06 / 2,31 (2,25 – 2,46)	n=4; 2,30 \pm 0,13 / 2,30 (2,16 – 2,45)
β -Crosslaps [μ g/l]	Baseline	n=11; 0,235 \pm 0,109 / 0,216 (0,130 – 0,476)	n=4; 0,296 \pm 0,120 / 0,318 (0,132 – 0,416)
	EOT	n=4; 0,155 \pm 0,055 / 0,135 (0,116 – 0,235)	
	Follow up	n=13; 0,271 \pm 0,081 / 0,259 (0,152 – 0,418)	n=4; 0,376 \pm 0,078 / 0,383 (0,279 – 0,459)

Das Hormon 1,25-Vitamin D zeigte in der Behandeltengruppe lediglich initial einen nennenswerten Abfall der Plasmakonzentration von 46,6 pg/ml (\pm 17,0, n=14) bis auf 34,0 pg/ml (\pm 16,3, n=14) zu den Zeitpunkten BL und EOT ($p < 0,025$). Der Vergleich der Proben zwischen EOT (n=14) und FU (n=12) wie auch zwischen BL (n=14) und FU (n=12) zeigte auffällige Veränderungen des 1,25-Vitamin D Hormons. Bei Patienten der Gruppe B (n=5) gab es ebenso keine wesentlichen Unterschiede des Hormons. Im Gruppenvergleich der Zeitpunkte Baseline (Gr. A n=14, Gr. B n=5) sowie Follow up (Gr. A n=12, Gr. B n=5) wurden keine bedeutsame Unterschiede festgestellt. Der Vergleich zwischen BL und EOT zeigte für die Osteocalcinkonzentration der Gruppe A im Blut eine wesentliche Abnahme von 15,3 μ g/l (\pm 5,44, n=12) bis auf 8,0 μ g/l (\pm 2,60, n=13) ($p < 0,003$), zwischen EOT und FU wieder einen nennenswerten Anstieg bis auf 18,5 μ g/l (\pm 6,63, n=14) zum Zeitpunkt FU ($p < 0,003$). Zu den Zeitpunkten BL (n=12) und FU (n=14), ergab die Auswertung keine bedeutsame Veränderung des Hormons. In der Gruppe B ergab der Ver-

gleich von BL (n=5) mit FU (n=5) keine große Veränderung des Osteocalcin. Der Vergleich des Osteocalcingehalts im Plasma zwischen Patienten der Gruppe A (BL n=12, EOT n=13, FU n=14) und der Gruppe B (BL n=5, EOT n=5) lieferte zu keinem Messzeitpunkt nennenswerte Unterschiede. Bei 25-Vitamin D zeigte der Verlauf zu keinem Zeitpunkt der Studie wesentliche Veränderungen des Parameters in der Gruppe A (BL n=14, EOT n=14, FU n=12) wie auch bei den Patienten der Gruppe B (BL n=5, EOT n=4). Der Vergleich des 25-Vitamin D zwischen beiden Kollektiven ließ weder für Baseline (Gr. A n=14, Gr. B n=5) noch für Follow up (Gr. A n=12, Gr. B n=4) einen bedeutsamen Unterschied erkennen. Bei Calcium zeigte sich für die Patienten der Gruppe A bei der Untersuchung des Zeitpunktes Baseline mit EOT ein wesentlicher Abfall von 2,33 mmol/l ($\pm 0,06$, n=7) bis auf 2,25 mmol/l ($\pm 0,07$, n=15) ($p < 0,033$), um dann im Vergleich zwischen EOT mit FU wieder nennenswert von 2,25 mmol/l ($\pm 0,07$, n=13), auf 2,32 mmol/l ($\pm 0,06$, n=13) und somit fast auf den Ausgangswert anzusteigen ($p < 0,022$). Der Vergleich des Calciumgehalts im Serum zum Zeitpunkt Baseline (n=7) mit Follow up (n=13) zeigte keinen wesentlichen Unterschied. Für Patienten der Gruppe B gab es keine besonderen Unterschiede der Calciumkonzentration im Plasma im Vergleich Baseline (n=5) mit Follow up (n=4). Die Patienten der Gruppe A wiesen im Vergleich mit den Patienten der Gruppe B weder am Anfang (Baseline Gr. A n=7, Gr. B n=5) noch am Ende (Follow up Gr. A n=13, Gr. B n=4) der Studie eine bedeutend unterschiedliche Konzentration des Hormons auf. Bei β -Crosslaps wurde bei der Gruppe A in der Analyse von Baseline (n=11) mit EOT (n=4) keine wesentliche Veränderung festgestellt; ebenso im Vergleich der Zeitpunkte EOT (n=4) mit FU (n=13) und BL (n=11) mit FU (n=13). In der Gruppe B war kein nennenswertes Verhältnis zwischen Baseline (n=4) und Follow up (n=4) zu erfassen. Zum Zeitpunkt Baseline zwischen Gruppe A (n=11) und Gruppe B (n=4) war kein wesentlicher Unterschied vorhanden, ebenso verhielt es sich zum Zeitpunkt Follow up (Gr. A n=13, Gr. B n=4).

3.4 Subgruppenanalyse

Zusätzlich zu den Auswertungen der Patientendaten aus den Gruppen A und B wurde für eine differenzierte Betrachtung der Patientendaten noch eine Subgruppenanalyse in der Gruppe A für den BMD und die Knochenstoffwechselfparameter durchgeführt.

3.4.1 Subgruppenanalyse der Knochenmineraldichte

3.4.1.1 T-Wert für LWS

Die ermittelten T-Werte der Subgruppenanalyse für die LWS sind als arithmetische Mittelwerte in Tabelle 8 aufgeführt. In der Subgruppenanalyse für die Auswertung des T-Werts für die Lendenwirbelsäule gab es für Patienten, bei denen ein SVR eintrat, im Vergleich der Zeitpunkte Baseline mit EOT eine deutliche Steigerung von $-0,371 (\pm 1,48, n=10)$ auf $0,093 (\pm 1,51, n=10)$ ($p < 0,005$). Bei der Betrachtung der Zeitpunkte EOT und FU sank der Wert dann deutlich auf $-0,749 (\pm 1,53, n=8)$ ($p < 0,017$). Die Zeitpunkte Baseline ($n=10$) und Follow up ($n=8$) zeigten im Vergleich miteinander keine nennenswerte Veränderung des T-Werts (Abb. 10). Bei Relaps-Patienten zeigte der T-Wert einen nennenswerten Anstieg innerhalb von Baseline und EOT von $-0,046 (\pm 1,61, n=5)$ auf $0,360 (\pm 1,62, n=5)$ ($p < 0,043$), um dann an Follow up nennenswert auf $-0,170 (\pm 1,63, n=5)$ ($p < 0,043$) abzusinken. Innerhalb der Zeitpunkte Baseline ($n=5$) und Follow up ($n=5$) gab es keine Veränderung, die als bedeutsam zu bezeichnen wäre (Abb. 11). Der Vergleich zwischen SVR- und Relaps-Patienten zu den Zeitpunkten Baseline (SVR $n=10$, Relaps $n=5$), EOT (SVR $n=10$, Relaps $n=5$) und Follow up (SVR $n=10$, Relaps $n=5$) ergab keine wesentlichen Unterschiede. Die Differenzwerte von BL (SVR $n=8$, Relaps $n=5$) und FU (SVR $n=8$, Relaps $n=5$) der Knochendichte der LWS beider Teilgruppengruppen zeigen für beide einen Abfall und im Vergleich der Werte gegeneinander keinen nennenswerten Unterschied.

Tabelle 8: Knochendichtemessung an der LWS der SVR- (Patienten mit Ausheilung der chronischen Hepatitis C) sowie Relaps-Patienten (Patienten mit Wiederauftreten des Hepatitis C-Virus) zu den Zeitpunkten vor Therapiebeginn (Baseline), am Ende der Behandlung (End of treatment/EOT) sowie am Ende der Nachbeobachtungszeit (Follow up/FU) jeweils mit Patientenanzahl, Mittelwerte für den T-Wert der LWS einzelner Messzeitpunkte mit Standardabweichung (SD), Median sowie Minimum und Maximum. Vergleich des T-Werts jeweils innerhalb der beiden Subgruppen: Am Ende der 46-wöchigen Therapie (EOT) zeigt sich sowohl für SVR- wie auch für Relaps-Patienten eine höhere Knochendichte als zu Baseline ($p=0,005$), während am Ende der Nachbeobachtungszeit (Follow up) wieder eine niedrigere Knochendichte vorliegt und somit insgesamt ein Verlust an Knochendichte stattgefunden hat

T-Wert LWS Gruppe A	SVR-Patienten n= BL:10, EOT:10, FU:8 Mittelwert \pm SD / Median (Minimum - Maximum)	Relaps-Patienten n=5 Mittelwert \pm SD / Median (Minimum - Maximum)
Baseline	$-0,371 \pm 1,48 / -,715$ (-2,34 - 2,95)	$-0,046 \pm 1,61 / -,0300$ (-1,85 - 2,00)
EOT	$0,093 \pm 1,51 / -,250$ (-2,08 - 3,38)	$0,360 \pm 1,62 / ,560$ (-1,60 - 2,40)
Follow up	$-0,749 \pm 1,53 / -1,090$ (-2,46 - 2,47)	$-0,170 \pm 1,63 / -,260$ (-2,10 - 1,90)
Diff. Baseline-Follow up	$-0,140 \pm 0,34 / -,205$ (-0,48 - 0,66), n=8	$-0,124 \pm 0,122 / -0,100$ (-0,25 - 0,05)

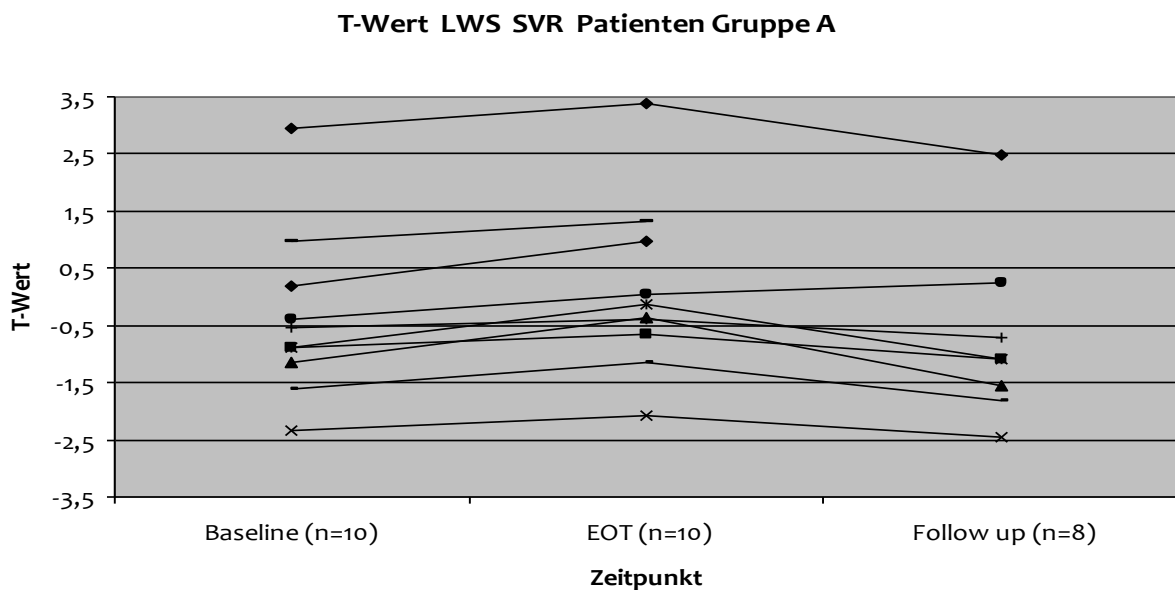


Abbildung 10: Veränderung des T-Werts der LWS bei Patienten mit einer SVR (Patienten mit einer Ausheilung der chronischen Hepatitis C) aus der Gruppe A. Zum Zeitpunkt End of treatment (EOT/Woche 48) zeigt sich bei allen Patienten eine höhere Knochendichte als zu Baseline (Tag 0). Zu Follow up (Woche 96) ist die Knochendichte bei sieben Patienten niedriger als zu den Zeitpunkten EOT sowie auch Baseline; ein Patient zeigt eine weitere Verbesserung der Knochendichte.

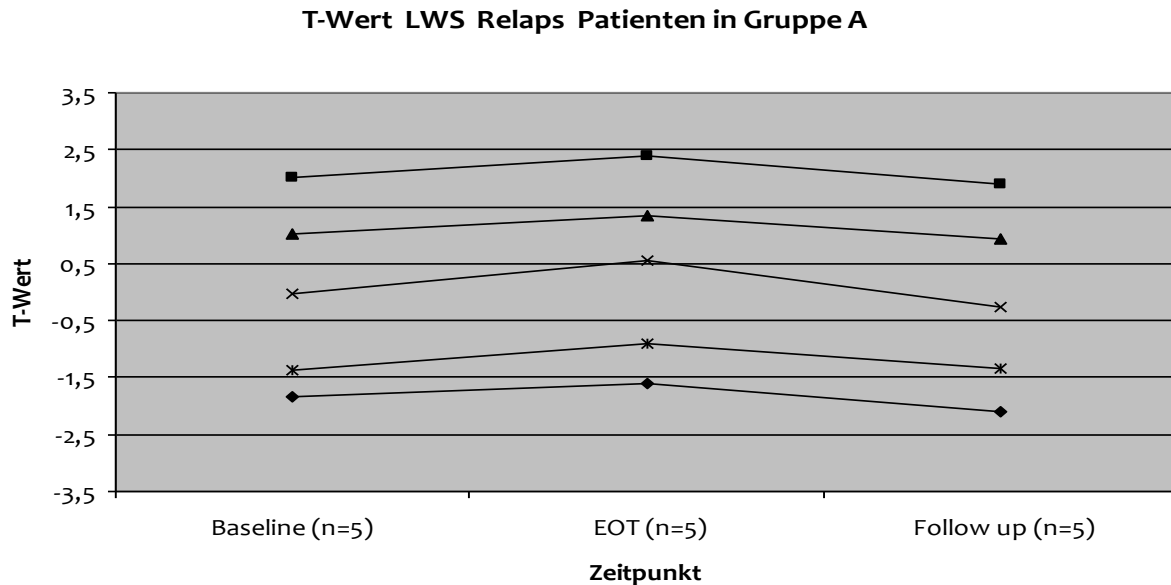


Abbildung 11: Veränderung des T-Werts der LWS bei Relaps-Patienten (erneutes Auftreten der Hepatitis C Virus) aus der Gruppe A. Zum Zeitpunkt End of treatment (EOT/Woche 48) zeigt sich bei allen Patienten eine höhere Knochendichte als zu Baseline (Tag 0). Zu Follow up (Woche 96) ist die Knochendichte niedriger als zu EOT sowie, bis auf einen Patienten, zu Baseline.

3.4.1.2 T-Wert für die Hüfte

Die ermittelten T-Werte der Subgruppenanalyse für die Hüfte sind als arithmetische Mittelwerte in Tabelle 9 aufgeführt. Abbildung 12 und Abbildung 13 zeigen die Veränderung des T-Werts der Hüfte und bei SVR- sowie Relaps-Patienten. Bei der Auswertung des T-Werts für die Hüfte zeigte sich an SVR-Patienten, dass für die Vergleiche der Zeitpunkte Baseline (n=10) mit EOT (n=10) sowie EOT (n=10) mit Follow up (n=8) keine nennenswerten Veränderungen eintraten. Ebenso gab es zwischen Baseline (n=10) und Follow up (n=8) keine wesentlichen Veränderungen des T-Werts (Diagramm 7). Bei den Relaps-Patienten zeigte der Vergleich der Zeitpunkte Baseline (n=5) und EOT (n=5) keine deutliche Veränderung des T-Werts. Das gilt auch für die Auswertung der Zeitpunkte EOT (n=5) mit Follow up (n=5) sowie auch Baseline (n=5) mit Follow up (n=5) (Diagramm 8). Der Vergleich zwischen den SVR- und Relaps-Patienten zeigte weder für den Messzeitpunkt Baseline (SVR n=10, Relaps n=5) noch für die Zeitpunkte EOT (SVR n=10, Relaps n=5) und Follow up (SVR n=8, Relaps n=5) eine wesentliche Veränderung des T-Werts. Der Vergleich der Differenzwerte des T-Werts der BMD der Hüfte für die Zeitpunkten BL (SVR n=8, Relaps n=5) und FU (SVR n=8, Relaps n=5) zeigte für beide Teil-

gruppen einen Anstieg, im Vergleich der Werte gegeneinander war der Unterschied jedoch nicht bedeutsam.

Tabelle 9: Knochendichtemessung an der Hüfte der SVR- (Patienten mit Ausheilung der chronischen Hepatitis C) sowie Relaps-Patienten (Patienten mit Wiederauftreten des Hepatitis C-Virus) zu den Zeitpunkten vor Therapiebeginn (Baseline), am Ende der Behandlung (EOT) sowie am Ende der Nachbeobachtungszeit (Follow up) jeweils mit Patientenanzahl, Mittelwerte für den T-Wert der Hüfte einzelner Messzeitpunkte mit Standardabweichung (SD), Median sowie Minimum und Maximum. Vergleich des T-Werts jeweils innerhalb der beiden Subgruppen ergab bei beiden Subgruppen keine nennenswerten Veränderungen.

T-Wert Hüfte Gruppe A	SVR-Patienten n= BL:10, EOT:10, FU:8 Mittelwert \pm SD / Median (Minimum - Maximum)	Relaps-Patienten n=5 Mittelwert \pm SD / Median (Minimum - Maximum)
Baseline	-0,546 \pm 1,41 / -1,195 (-2,21 - 2,55)	-0,642 \pm 1,40 / -,350 (-2,93 - 0,89)
EOT	-0,356 \pm 1,54 / -1,015 (-2,15 - 2,63)	-0,396 \pm 1,31 / -,100 (-2,60 - 0,88)
Follow up	-0,664 \pm 1,50 / -1,075 (-1,82 - 2,90)	-0,410 \pm 1,43 / -,170 (-2,62 - 1,24)
Diff. Baseline-Follow up	0,134 \pm 0,475 / 0,150 (-0,55 - 0,79), n=8	0,232 \pm 0,347 / 0,350 (-0,38 - 0,45)

T-Wert Hüfte SVR Patienten Gruppe A

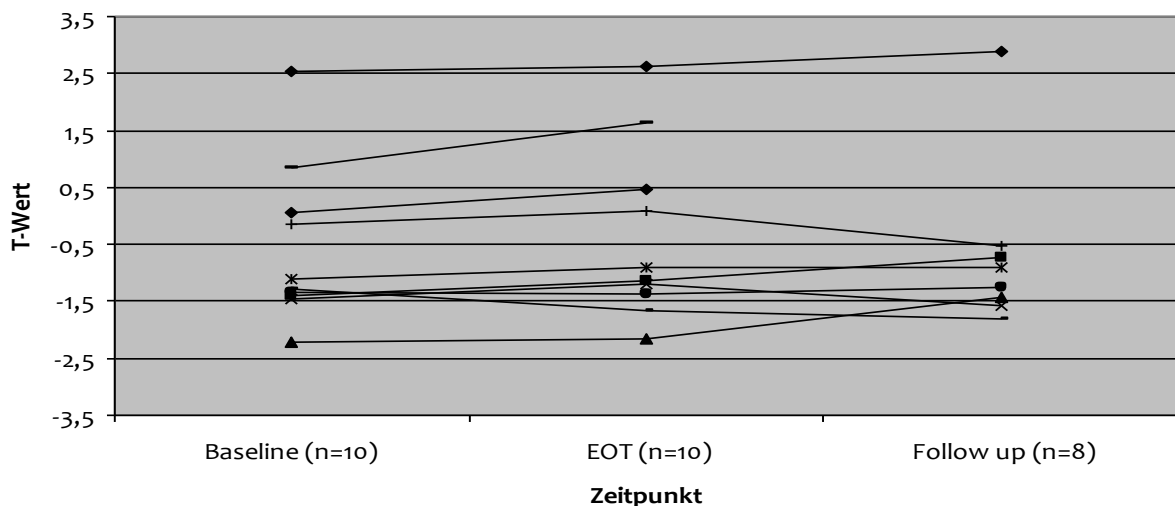


Abbildung 12: Veränderung des T-Werts der Hüfte bei Patienten mit einer SVR (Patienten mit einer Ausheilung der chronischen Hepatitis C) aus der Gruppe A. Im Vergleich der Zeitpunkte Baseline (Tag 0), EOT (Woche 48) sowie Follow up (Woche 96) zeigt sich ein uneinheitlicher Verlauf bei der Zu- und Abnahme der Knochendichte.

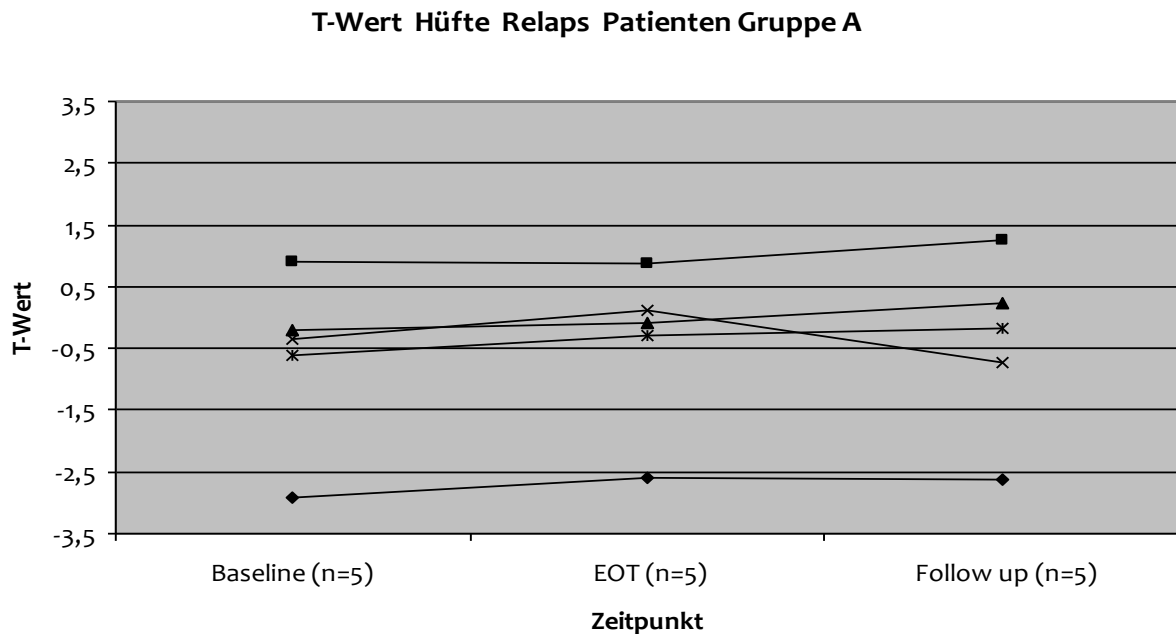


Abbildung 13: Veränderung des T-Werts der Hüfte bei Relaps-Patienten (erneutes Auftreten der Hepatitis C Virus) aus der Gruppe A. Am Ende der 48-wöchigen Therapie (End of treatment/EOT) zeigt sich bei vier Patienten eine höhere, bei einem Patienten eine niedrigere Knochendichte als zu Beginn der Therapie (Baseline/Tag 0), während sich am Ende der Nachbeobachtungszeit bei zwei Patienten die Knochendichte erneut verschlechtert, bei drei Patienten jedoch weiter verbessert.

3.4.2 Subgruppenanalyse der Knochenstoffwechselfparameter

Eine Übersicht der Knochenstoffwechselfparameter der beiden Subgruppen zeigt Tabelle 10.

Bei der Analyse der Knochenstoffwechselfparameter an SVR-Patienten konnte für das Hormon Prokollagen ein wesentlicher Abfall im Vergleich der Zeitpunkte zwischen Baseline und EOT von $43,5 \mu\text{g/l}$ ($\pm 8,29$, $n=7$) auf $20,7 \mu\text{g/l}$ ($\pm 7,23$, $n=8$) ($p < 0,028$) festgestellt werden. Beim weiteren Vergleich zwischen EOT und Follow up kam es dann zu einem nennenswerten Anstieg auf $56,8 \mu\text{g/l}$ ($\pm 10,90$, $n=8$) ($p < 0,028$) noch über den Ausgangswert. Bei der Auswertung für die Zeitpunkte Baseline ($n=7$) und Follow up ($n=8$) trat keine bedeutende Veränderung ein. Bei Relaps-Patienten kam es nur im Vergleich der Zeitpunkte BL mit EOT zu einer nennenswerten Abnahme des Hormons von $48,4 \mu\text{g/l}$ ($\pm 27,4$, $n=5$) an BL auf $15,8 \mu\text{g/l}$ ($\pm 4,06$, $n=5$) an EOT ($p < 0,043$), die anschließende Zunahme des Prokollagens zwischen EOT ($n=5$) und Follow up ($n=5$) sowie der Vergleich zwischen Baseline ($n=5$) und Follow up ($n=5$) waren nicht nennenswert. Im

Vergleich der SVR-Patienten (BL n=7, EOT n=8, FU n=8) mit den Relaps-Patienten (BL, EOT, FU n=5) zeigten sich keine Unterschiede (siehe Tabelle 10).

Der Verlauf der Phosphatkonzentration zeigte bei SVR-Patienten im Vergleich von BL (n=5) mit EOT (n=10) wie auch von EOT (n=10) mit FU (n=8) keine wesentlichen Veränderungen. Auch die Auswertung der Zeitpunkte Baseline (n=5) und Follow up (n=8) wiesen für den Phosphatgehalt im Vergleich zueinander nahezu keine Veränderung auf. Die Auswertung der Werte der Relaps-Patienten (BL n=2, EOT n=5, FU n=4) ergab ebenso zu keinem Messzeitpunkt erhebliche Unterschiede. Im Vergleich beider Patiententeilgruppen gab es zu keinem Messzeitpunkt Unterschiede, die als wesentliche Unterschiede zu bezeichnen wären.

Das Parathormon zeigte bei den Patienten, die eine SVR erreichten, im Vergleich BL mit EOT einen nennenswerten Anstieg von 27,4 pg/ml ($\pm 9,90$, n=9) zum Zeitpunkt BL auf 47,6 pg/ml ($\pm 30,19$, n=10) zum Zeitpunkt EOT ($p < 0,028$), der dann in der Auswertung zwischen EOT (n=10) und Follow up (n=8) unwesentlich weiter anstieg. Im Vergleich Baseline mit Follow up war die Zunahme des Parathormons wiederum von 27,4 pg/ml ($\pm 9,90$, n=9) (Baseline) auf 51,2 pg/ml ($\pm 30,70$, n=8) (Follow up) deutlich ($p < 0,043$). Relaps-Patienten zeigten nur beim Vergleich BL mit EOT einen nennenswerten Anstieg des Hormons von 19,0 pg/ml ($\pm 7,84$, n=5) zum Zeitpunkt Baseline auf 30,0 pg/ml ($\pm 8,99$, n=5) ($p < 0,043$) an EOT. Der Vergleich der Zeitpunkte EOT (n=5) mit Follow up (n=4) und Baseline (n=5) mit Follow up (n=4) ergab keine bedeutsame Veränderung. Bei der Analyse der SVR-Patienten gegen die Relaps-Patienten wurde weder zum Zeitpunkt Baseline (SVR n=9, Relaps n=5) noch zu den Zeitpunkten EOT (SVR n=10, Relaps n=5) und Follow up (SVR n=8, Relaps n=4) ein wesentlicher Unterschied festgestellt.

Bei SVR-Patienten gab es bei der Untersuchung des 1,25-Vitamin D nur im Vergleich zwischen Baseline und Follow up eine nennenswerte Abnahme von 47,9 pg/ml ($\pm 16,5$, n=9) an Baseline auf 37,1 pg/ml ($\pm 15,3$, n=8) an Follow up ($p < 0,018$). Beim Vergleich der anderen Zeitpunkte Baseline (n=9) mit EOT (n=9) sowie EOT (n=9) mit Follow up (n=8) war die Abnahme des Hormons nicht bedeutsam. Die Patienten mit einem Relaps (BL n=5, EOT n=5, FU n=4) wiesen im Verlauf der Studie keine wesentliche Veränderung auf. Und auch der Vergleich SVR-Patienten (BL n=9, EOT n=9, FU n=8) gegen Relaps-

Patienten (BL n=5, EOT n=5, FU n=4) untereinander ergab in der Analyse der beiden Teilgruppen keinen bedeutsamen Unterschied.

An Patienten, bei denen eine Heilung eintrat (SVR), zeigte sich in der Analyse der Zeitpunkte BL mit EOT ein wesentlich stärkerer Rückgang des Osteocalcins von 20,7 µg/l ($\pm 5,43$, n=7) an BL bis auf 8,86 µg/l ($\pm 2,75$, n=8) an EOT ($p < 0,028$), so dass es dann im Vergleich der Zeitpunkte EOT und Follow up wieder nennenswert bis auf 17,8 µg/l ($\pm 4,89$, n=9) ($p < 0,018$) an Follow up anstieg. Die Auswertung von Baseline (n=7) im Vergleich mit Follow up (n=9) ergab keine bedeutende Veränderung. Bei Betrachtung der Relaps-Patienten zeigte sich zwischen den Zeitpunkten Baseline mit EOT eine wesentliche Abnahme des Hormons von 11,8 µg/l ($\pm 4,37$, n=5) (Baseline) bis auf 6,62 ($\pm 1,77$, n=5) (Follow up) ($p < 0,043$). Im Vergleich der Zeitpunkte EOT (n=5) mit Follow up (n=5) sowie Baseline (n=5) mit Follow up (n=5) waren die Veränderungen des Osteocalcins nicht nennenswert. Der Vergleich der Werte von SVR-Patienten und Relaps-Patienten für die einzelnen Messzeitpunkte ergab nur für Baseline (SVR n=7, Relaps n=5) einen nennenswerten Unterschied ($p < 0,030$); für EOT (SVR n=8, Relaps n=5), wie auch für Follow up (SVR n=9, Relaps n=5) trat kein bedeutsamer Unterschied auf.

Für 25-Vitamin D trat bei SVR-Patienten beim Vergleich der Zeitpunkte Baseline (n=9) und EOT (n=9) keine nennenswerte Veränderung ein. In der Auswertung des Vergleichs EOT (n=9) mit Follow up (n=8) sowie Baseline (n=9) mit Follow up (n=8) waren die Veränderungen ebenfalls nicht bedeutend. Für Relaps-Patienten (BL n=5, EOT n=5, FU n=4) zeigte sich an allen drei Messzeitpunkten jeweils eine Zunahme des 25-Vitamin D, jedoch war diese im Vergleich der Zeitpunkte zueinander unwesentlich. Die Analyse der Messzeitpunkte Baseline (SVR n=9, Relaps n=5), EOT (SVR n=9, Relaps n=5) sowie Follow up (SVR n=8, Relaps n=4) zeigten im Vergleich SVR- zu Relaps-Patienten keine nennenswerte Veränderung.

Der Calciumgehalt im Blutserum der SVR-Patienten wies im Vergleich der Zeitpunkte Baseline (n=5) und EOT (n=10) keine großen Veränderungen auf. Im Vergleich der Zeitpunktes EOT (n=10) mit Follow up (n=8) stieg die Hormonkonzentration nur geringfügig an. Der Vergleich zwischen Baseline (n=5) und Follow up (n=8) ergab nur eine geringe Zunahme des Calciums. Bei Relaps-Patienten kam es nur zu einer geringen Ab-

nahme des Calciums im Vergleich von Baseline (n=2) und EOT (n=5). Die Zeitpunkte EOT (n=5) und Follow up (n=5) zeigten im Vergleich zueinander eine fast unmerkliche Zunahme des Calciumgehalt im Blut. Der Vergleich der Werte zwischen Baseline (n=2) und Follow up (n=5) ergab eine unbedeutende Abnahme des Calciums. Die Analyse der Werte von SVR-Patienten im Vergleich mit denen der Relaps-Patienten liesen für die Zeitpunkte Baseline (SVR n=5, Relaps n=2) und für EOT (SVR n=10, Relaps n=5) keinen wesentlichen Unterschied erkennen. Im Vergleich des Zeitpunktes Follow up (SVR n=8, Relaps n=5) zwischen beiden Patientenuntergruppen trat ein wesentlicher Unterschied auf ($p < 0,030$).

β -Crosslaps zeigten weder im Vergleich Baseline (n=7) mit EOT (n=2) noch im Vergleich EOT (n=2) mit Follow up (n=9) eine nennenswerte Zunahme. Auch bei der Auswertung des Vergleichs der Zeitpunkte Baseline (n=7) und Follow up (n=9) ließ sich keine bedeutsame Veränderung feststellen. Relaps-Patienten wiesen beim Vergleich der Zeitpunkte Baseline (n=4) mit EOT (n=2) keine wesentliche Abnahme des β -Crosslaps auf. Für die Auswertung Baseline (n=4) mit Follow up (n=2) zeigte sich ebenso eine unwesentliche Hormonzunahme. Der Vergleich zwischen SVR- und Relaps-Patienten für die Zeitpunkte Baseline (SVR n=7, Relaps n=4), EOT (SVR n=2, Relaps n=2), und Follow up (SVR n=9, Relaps n=4) ergab keine nennenswerten Unterschiede.

Tabelle 10: Die Ergebnisse des Verlaufs der Knochenstoffwechselfparameter Prokollagen Typ 1, Phosphat, Parathormon, 1,25-Vitamin D, Osteocalcin, 25 Vitamin D, Calcium und β -Crosslaps der sustained viral response (SVR) und Relaps Patienten zu den Zeitpunkten Baseline, EOT sowie Follow up, jeweils mit Patientenanzahl (N), den Mittelwerten mit Standardabweichungen (SD). Werte mit signifikanten Veränderungen sind fett hervorgehoben.

Parameter	Zeitpunkte	Gruppe A n; Mittelwert \pm SD / Median (Minimum - Maximum)	Gruppe B n; Mittelwert \pm SD / Median (Minimum - Maximum)
Prokollagen Typ 1 [μ g/l]	Baseline	n=7; 43,5 \pm 8,29 / 43,14 (32,83 - 54,78)	n=5; 36,5 \pm 7,72 / 32,34 (31,90 - 49,92)
	EOT	n=8; 20,7 \pm 7,23 / 20,80 (9,73 - 30,54)	n=5; 15,8 \pm 4,06 / 17,14 (9,99 - 19,77)
	Follow up	n=8; 56,8 \pm 10,90 / 57,17 (40,27 - 70,82)	n=5; 48,4 \pm 27,4 / 43,65 (14,34 - 83,79)
Phosphat [mmol/l]	Baseline	n=5; 1,024 \pm 0,071 / 1,040 (0,94 - 1,10)	n=2; 0,925 \pm 0,078 / 0,925 (0,87 - 0,98)
	EOT	n=10; 0,940 \pm 0,152 / 0,910 (0,73 - 1,16)	n=5; 0,928 \pm 0,137 / 0,940 (0,70 - 1,04)
	Follow up	n=8; 1,049 \pm 0,158 / 1,080 (0,74 - 1,26)	n=4; 0,935 \pm 0,195 / 1,000 (0,65 - 1,09)
Parathormon [pg/ml]	Baseline	n=9; 27,4 \pm 9,90 / 24,4 (12,5 - 42,40)	n=5; 19,0 \pm 7,84 / 22,60 (10,40 - 26,20)
	EOT	n=10; 47,6 \pm 30,19 / 37,75 (11,80 - 104,0)	n=5; 30,0 \pm 8,99 / 30,00 (18,00 - 43,20)
	Follow up	n=8; 51,2 \pm 30,70 / 45,95 (16,90 - 113,0)	n=4; 36,8 \pm 10,7 / 36,35 (26,80 - 47,60)
1,25 Vitamin D [pg/ml]	Baseline	n=9; 47,9 \pm 16,5 / 48,00 (30,00 - 81,00)	n=5; 44,2 \pm 19,7 / 44,00 (13,00 - 63,00)
	EOT	n=9; 37,1 \pm 15,3 / 33,00 (18,00 - 61,00)	n=5; 28,4 \pm 18,3 / 21,00 (14,00 - 59,00)
	Follow up	n=8; 26,9 \pm 10,1 / 23,5 (16,00 - 45,00)	n=4; 37,8 \pm 19,2 / 36,50 (16,00 - 62,00)
Osteocalcin [μ g/l]	Baseline	n=7; 17,8 \pm 4,89 / 15,4 (13,20 - 26,70)	n=5; 11,8 \pm 4,37 / 12,10 (7,10 - 18,50)
	EOT	n=8; 8,86 \pm 2,75 / 9,05 (5,20 - 13,00)	n=5; 6,62 \pm 1,77 / 6,70 (4,40 - 8,80)
	Follow up	n=9; 20,7 \pm 5,43 / 17,20 (15,40 - 28,60)	n=5; 14,6 \pm 7,38 / 17,10 (4,30 - 21,40)
25 Vitamin D [ng/ml]	Baseline	n=9; 24,8 \pm 13,2 / 18,00 (11,00 - 46,00)	n=5; 14,6 \pm 3,78 / 14,00 (9,00 - 19,00)
	EOT	n=9; 25,0 \pm 13,6 / 23,00 (7,00 - 47,00)	n=5; 16,6 \pm 6,77 / 18,00 (10,00 - 26,00)
	Follow up	n=8; 23,3 \pm 12,5 / 18,00 (9,00 - 48,00)	n=4; 21,3 \pm 9,29 / 19,50 (12,00 - 34,00)
Calcium [mmol/l]	Baseline	n=5; 2,33 \pm 0,063 / 2,32 (2,27 - 2,43)	n=2; 2,31 \pm 0,057 / 2,31 (2,27 - 2,35)
	EOT	n=10; 2,26 \pm 0,078 / 2,28 (2,12 - 2,40)	n=5; 2,24 \pm 0,065 / 2,25 (2,16 - 2,33)
	Follow up	n=8; 2,35 \pm 0,063 / 2,35 (2,26 - 2,46)	n=5; 2,28 \pm 0,030 / 2,27 (2,25 - 2,31)
β -Crosslaps [μ g/l]	Baseline	n=7; 0,275 \pm 0,116 / 0,226 (0,15 - 0,48)	n=4; 0,164 \pm 0,049 / 0,146 (0,13 - 0,24)
	EOT	n=2; 0,176 \pm 0,084 / 0,176 (0,12 - 0,24)	n=2; 0,135 \pm 0,016 / 0,135 (0,12 - 0,15)
	Follow up	n=9; 0,277 \pm 0,074 / 0,303 (0,15 - 0,36)	n=4; 0,259 \pm 0,107 / 0,214 (0,19 - 0,42)

4. Diskussion

In der vorliegenden Promotionsarbeit wurde der Einfluss einer antiviralen Therapie einer chronischen Hepatitis C mit Peg-IFN α und Ribavirin auf die Knochendichte sowie den Knochenstoffwechsel prospektiv untersucht. Hierzu verglichen wir zwei Gruppen an Patienten mit einer chronischen Hepatitis C Genotyp 1 Infektion mit und ohne antivirale Therapie (Peg-IFN α und RBV) über einen Gesamtzeitraum von 96 Wochen. Das Patientenkollektiv umfasste nur Männer ohne fortgeschrittene Leberfibrose oder Leberzirrhose. Dadurch sollte ein negativer Einfluss einer höhergradigen Leberfibrose (Desmet Grad 3) oder einer Leberzirrhose (Desmet Grad 4) auf die Knochenstoffwechselfparameter ausgeschlossen werden [19]. Bei Männern im höheren Alter ist das Risiko, an Osteoporose zu erkranken, erhöht. Pietschmann beschreibt in einer eigenen Untersuchung an älteren Männern mit einer primären/idiopatischen Osteoporose, dass bei diesen weniger freies Testosteron für den Umbau in Östradiol zur Verfügung steht. Er stellte die Hypothese auf, dass durch das „sex hormone binding globuline“ (SHBG) weniger freies Testosteron verfügbar und dadurch der Umbau von Testosteron zu Östradiol vermindert ist. Da aber Östradiol bei der Inhibierung der Osteoklastenbildung beteiligt ist, führt eine verminderte Verfügbarkeit des Östradiols zu einer erhöhten Osteoklastenbildung und somit zu einer vermehrten Abnahme der Knochenmineraldichte [56]. Bei Patienten mit einer chronischen Hepatitis C und einer Leberfibrose oder Leberzirrhose besteht in 28,1% der Fälle eine Osteoporose und in 36,8% eine Osteopenie [5, 19, 21, 24, 74]. Zu Beginn unserer Studie hatten 7 von 15 Patienten in der Gruppe A (Behandlungsgruppe) eine Osteopenie und ein Patient eine Osteoporose. In der Gruppe B (Kontrollgruppe) hatten zu Beginn der Studie 3 der 5 Patienten (60%) eine Osteopenie und 1 Patient (20%) eine Osteoporose. Dieses Ergebnis wird auch belegt durch die Arbeit von Schiefke et al., in der über Patienten mit einer Hepatitis B oder C Infektion berichtet wird, die ohne fibrotische Veränderungen der Leber dennoch einen Verlust der Knochendichte aufwiesen, und lässt vermuten, dass bereits eine chronische Virushepatitis mit entzündlicher Aktivität in der Leber auch ohne fortgeschrittene Fibrose die Entwicklung einer Osteopenie oder Osteoporose begünstigen kann [68].

4.1 Einfluss der antiviralen Therapie auf die Knochendichte

In mehreren Studien wurde gezeigt, dass es bei Patienten mit chronischer Hepatitis C sowohl zu einer Abnahme [75] wie auch zu einer Zunahme [26] der Knochendichte in Folge einer antiviralen Therapie mit Interferon- α und Ribavirin kommt.

Die Knochenmineraldichte (gemessen an der LWS) der Patienten in der Gruppe A (Behandlungsgruppe) war am Ende der Therapie (EOT) signifikant höher als vor Therapiebeginn (BL), zum Ende der Nachbeobachtungsphase (FU) war die Knochenmineraldichte dann sogar niedriger als zu Therapiebeginn (BL). Die Knochendichtemessung der Hüfte derselben Gruppe zeigte an EOT eine geringfügig höhere Knochendichte als an BL, an FU war die Knochenmineraldichte allerdings wieder vergleichbar wie an BL. Auffällig ist eine stärkere Zu- und Abnahme der Knochendichte an der Lendenwirbelsäule im Vergleich zur Hüfte. Dies lässt sich dadurch erklären, dass die Wirbelkörper überwiegend aus Knochenmark und gefäßreicher Spongiosa bestehen und der Anteil der Compacta dagegen nur gering ist. Im Gegensatz dazu ist im Knochen der Hüfte der Anteil der Compacta viel größer, weshalb dann aufgrund der besseren Durchblutung der Spongiosa die Umbauprozesse in den Wirbelkörper viel ausgeprägter sind als in der Hüfte. Im Vergleich dazu ergab bei Patienten aus der Kontrollgruppe B die Knochendichtemessung an der LWS am Ende der Studie (FU) eine höhere Knochendichte als zu Beginn der Studie (BL). An der Hüfte kam es dagegen während der gesamten 96 Wochen der Studie nur zu einer nicht nennenswerten Verbesserung der Knochendichte. Die signifikante Abnahme der Knochendichte an der LWS zum Ende der Nachbeobachtungszeit gegenüber dem Ausgangswert in der behandelten Gruppe (Gruppe A) sowie die Verbesserung der Knochendichte in der Kontrollgruppe (Gruppe B) zeigen offensichtlich einen Einfluss der Kombinationstherapie mit Peg-IFN α plus Ribavirin auf die Knochendichte.

Eine gewisse Schwankung ist aufgrund der dynamischen Prozesse während des Knochenmetabolismus bei Betrachtung der Werte über einen längeren Zeitraum bei allen Patienten zu berücksichtigen. Das Knochenremodeling ist durch den Aufbau an Knochen durch Osteoblasten und einen Abbau durch Osteoklasten gekennzeichnet [58, 77, 79]. Das bedeutet, dass eine Zunahme der Knochendichte zum einen durch die Aktivierung von Osteoblasten und zum anderen aber durch die Hemmung der Osteoklasten

begründet sein kann. Eine Abnahme der Knochendichte wiederum ist auf eine Hemmung der Osteoblasten oder aber eine Aktivierung der Osteoklasten zurückzuführen. Unsere Ergebnisse gehen einher mit den Befunden einer Studie von Hofmann et al., bei der es ebenfalls zu einer Zunahme der Knochendichte während der Therapie mit pegyliertem Interferon- α 2a und RBV kam[26]. Hier stellt sich nun die Frage, ob die Veränderung der Knochendichte durch das pegylierte Interferon- α 2A oder das Ribavirin zu begründen ist oder ob auch andere Faktoren eine Rolle spielen.

4.1.1 Einfluss von pegyliertem Interferon α 2a auf die Knochendichte

Über die Wirkung des Interferon- α auf den Knochenmetabolismus ist nur wenig bekannt. Es kann von einem positiven Effekt des Interferon- α auf die Knochendichte ausgegangen werden, wie eine Untersuchung an Hepatitis-B infizierten Kindern zeigt. Die Kinder wurden in einer Monotherapie mit Interferon- α behandelt bzw. erhielten eine Kombinationstherapie mit Interferon- α plus Lamivudin. Am Ende der Therapie zeigten sie dann im Vergleich mit gesunden Kindern aus der Kontrollgruppe eine höhere Knochendichte am Femurhals sowie am Trochanter [24]. Zudem konnte in einem Versuch an Ratten gezeigt werden, dass nach einer Interferon- α Therapie keine Abnahme der Knochendichte auftritt [19]. Der Einfluss von Interferon- β und Interferon- γ auf die Osteoklasten über das RANKL/RANK ist dagegen aus verschiedenen Untersuchungen schon bekannt [44, 77, 78]. Einen Hinweis auf die Wirkungsweise des Interferon- α auf die Knochendichte könnte eine in vitro Studie von Leomil-Coelho et al. geben, in der die Wirkung der Typ-1 Interferone auf die Osteoklastogenese aufgezeigt werden konnte. Ihre Untersuchung ergab, dass sowohl Interferon- α 2 wie auch Interferon- β indirekt die Differenzierung der Osteoklasten aus Monozyten inhibieren, indem sie das Cytokin CXCL11 heraufregulieren, welches eigentlich für die Inhibition verantwortlich ist. Die Hemmung durch das Interferon- α 2 war im Vergleich zum Interferon- β jedoch viel geringer, dessen Wirkung um den Faktor 100 höher als die des Interferon- α war [44]. Daraus könnte man ableiten, dass dies der Grund ist, weshalb in unserer Studie die Knochenmineraldichte der Patienten am Ende der Therapie mit Peg-IFN α und Ribavirin höher ist als vor Therapiebeginn. Es besteht die Möglichkeit, dass auch hier während der Gabe des Interferon- α 2A über den Zeitraum von 48 Wochen die vermehrte Bildung des

Cytokins CXCL11 stattfand hat und so die Osteoklastogenese gehemmt wurde, und somit als Konsequenz darauf eine Disbalance im Remodeling des Knochens entstanden ist, in Richtung Knochenaufbau durch die Osteoblasten. In der Arbeit von Takayanagi et al. wird beschrieben, wie bei Mäusen mit einem fehlendem Interferon alpha receptor Typ 1 (IFNAR1) eine Abnahme des trabekulären Knochenvolumens eintritt und gleichzeitig die Anzahl der Osteoklasten steigt. An diesem Rezeptor binden IFN- α wie auch IFN- β . Über das RANKL/RANK System wird c-Fos aktiviert, welches die Osteoklastogenese mit induziert; zudem bewirkt das c-Fos auch die IFN- β Bildung. Über eine negative Rückkopplung hemmt dann IFN- β wiederum die Aktivität des c-Fos. Dadurch wird die Osteoklastogenese wieder inhibiert. Für das Interferon- α ist jedoch kein Einfluss auf die Osteoklasten über diesen Weg beschrieben [79]. In Anbetracht der genannten Arbeiten ist demnach von einem Einfluss des Interferon- α in Form einer Verbesserung der Knochendichte während der Therapie auszugehen; ebenso konnte auch die Bedeutung des IFN- α/β -Systems in Verbindung mit dem IFNAR1 auf die Regulierung des Knochenumbaus aufgezeigt werden. Weitergehende Untersuchungen sind in diesem Zusammenhang allerdings notwendig. Ein Bericht darüber, ob und evtl. wie IFN- α die Osteoblasten beeinflusst, konnte in der Literatur nicht ausfindig gemacht werden.

Ein Einfluss auf die Knochendichte ist aber auch durch Zytokine wie dem Macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) sowie durch Interleukin-1 (IL-1), Interleukin-6 (IL-6) und Tumor Nekrose Faktor (TNF) beschrieben [16, 62, 65]. Daher könnte über die Interaktion des Interferon- α und diesen Cytokinen ein Einfluss auf die Knochendichte ausgeübt werden. Das M-CSF ist mitverantwortlich für die Formation der Osteoklasten. Mäuse mit einer Mutation des M-CSF-Genes bildeten kein M-CSF, waren an Osteopetrose erkrankt und wiesen zudem eine stark verminderte Menge an Osteoklasten auf. Nach einer Therapie der Mäuse durch Injektionen mit rekombinanten menschlichen M-CSF (rhM-CSF) stieg die Anzahl der Osteoklasten an und auch die Osteopetrose konnte dadurch geheilt werden [37]. Somit konnte dem M-CSF bei der Regulierung der Knochendichte über die Osteoklasten eine Rolle nachgewiesen werden. Jedoch ist es nicht beschrieben, ob und auf welchem Weg IFN- α einen direkten Einfluss auf das M-CSF nimmt. Ein weiteres Cytokin, das IL-1, kommt als IL-1 α und IL-1 β vor. Die Bedeutung des IL-1 im Knochenstoffwechsel liegt in der direkten und von Osteoblasten unabhängigen

Aktivierung der Knochenresorption durch die Osteoklasten. Es ist in der Lage, sowohl die Differenzierung der Osteoklasten zu aktivieren, als auch deren Aktivität, Knochen abzubauen, zu erhöhen. Zudem verlängert IL-1 das Überleben der Osteoklasten [31, 35]. Dem TNF- α kommt neben dem IL-1 auch eine wichtige Rolle im Knochenumbau zu: Es ist in der Lage, in der Anwesenheit von M-CSF die Osteoklastogenese zu beeinflussen [2]. Kishihara et al. untersuchten in einer Studie den Einfluss von IFN- α auf die Cytokine IL-1 β und TNF- α während einer 24 Wochen andauernden Behandlung von Patienten mit chronischer Hepatitis C. Zwei Wochen nach Beginn der Behandlung mit IFN sank der IL-1 β Spiegel im Serum ab, Patienten die auf eine IFN Therapie nur begrenzt (partiell responder) oder nicht ansprachen (non responder), erreichten am Ende der Behandlung wieder den Ausgangswert wie vor Therapie. In der Gruppe der Patienten, die auf IFN ein komplettes virologisches Ansprechen aufwiesen (complete responder), blieb der IL-1 β Spiegel auf dem niedrigen Niveau, wobei der Unterschied der Werte zwischen Beginn und Ende der Behandlung nicht signifikant war. Das TNF- α verhielt sich identisch wie das IL-1 β mit dem Unterschied, dass bei allen Gruppen der Spiegel wieder auf die Ausgangswerte anstieg [36]. Das IL-6 vermittelt die Osteoklasten Differenzierung durch IL-1 und TNF- α . Dies konnte in einer Studie von Devlin R.D. et al. nachgewiesen werden. Es wurde festgestellt, dass in Kulturen, bei denen ein Antikörper gegen das IL-6 hinzugefügt wurde, die Auswirkungen von IL-1 sowie TNF- α auf die Osteoklasten ausblieben [13].

Insgesamt legen unserer Ergebnisse im Einklang mit Vorarbeiten anderer den Schluss nahe, dass die Zunahme der Knochendichte während der Kombinationstherapie mit Peg-IFN α und Ribavirin aufgrund der Interaktion des Peg-IFN α mit IL-1 β , dem TNF- α , dem IL-6 sowie dem M-CSF eine Differenzierung der Osteoklasten aus deren Vorläuferzellen gehemmt wurde. Dafür spricht auch die Abnahme der Knochendichte nach der Therapie, was den Schluss nahe legt, dass durch das Absetzen des IFN- α die Hemmung der Osteoklasten aufgehoben wurde und somit wieder mehr Knochenabbau stattfand. Inwieweit und auf welche Weise Interferon- α auch auf die Osteoblasten einwirkt und dadurch dann zusätzlich eine Knochendichtezunahme gefördert wird, beziehungsweise ob dieser Vorgang dann evtl. allein für die Erhöhung der Knochendichte verantwortlich ist, konnte aus der Literatur nicht entnommen werden.

4.1.2 Einfluss von Ribavirin auf die Knochendichte

Neben dem Peg-IFN α könnte auch das Nukleosidanalogen Ribavirin während der Therapie über 48 Wochen einen Einfluss auf die Knochendichte haben. Solis-Herruzo et al., fanden in einer Untersuchung an 32 männlichen Patienten mit einer Hepatitis C Infektion heraus, dass diese nach einer Interferon- α /Ribavirin Therapie im Vergleich zu Patienten, die eine Interferon- α Monotherapie erhielten eine geringere Knochendichte aufwiesen [75]. Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu unseren Befunden, die einen Anstieg der Knochendichte am Ende der antiviralen Kombinationstherapie zeigen. In der Studie von Solis-Herruzo et al. ist jedoch auch zu beachten, dass vergleichbare Ausgangsdaten der Knochendichte und der Knochenstoffwechselmarker vom Zeitpunkt des Beginns der Therapie fehlen, womit nicht eindeutig gesagt werden kann, ob nicht schon vorher bei den mit Interferon- α /Ribavirin behandelten Patienten eine Osteoporose bzw. Osteopenie vorlag. Auch Lee et al. beschreiben eine indirekt erhöhte Osteoklastenbildung durch Hochregulation des TRANCE/RANKL durch Osteoblasten durch Ribavirin in vitro [43]. Im Gegensatz dazu wurde in einer Pilot-Studie an 12 erwachsenen Patienten (10 männliche und 2 weibliche Patienten) die sich einer orthotopen Lebertransplantation unterzogen hatten, kein Effekt des Ribavirins auf die Knochendichte beschrieben. Die Patienten bekamen zu Beginn der Studie eine 12-wöchige Monotherapie mit Ribavirin, im Anschluss daran eine kombinierte Interferon- α /Ribavirin Therapie über 48 Wochen. Die Knochendichte an der Lendenwirbelsäule und am Femur wurde vor und nach der Behandlung gemessen. Unabhängig vom Genotyp des Hepatitis C Virus (Unter den Studienteilnehmer waren Patienten mit dem Genotyp 1, 2, 3, und 4) kam es zu keiner Verschlechterung der Knochendichte, obwohl einige der Patienten zu Beginn der Studie pathologische Merkmale wie Osteoporose aufwiesen und auch Steroide einnahmen. In der Lendenwirbelsäule kam es sogar zu einem signifikanten Anstieg der Knochendichte[83]. Ebenso zeigten Urganci N. et al. in ihrer Studie mit Hepatitis C infizierten Kindern, dass Ribavirin keinen Einfluss auf den Knochenstoffwechsel hatte [84]. Eine Gruppe der Kinder wurde durch eine Kombinationstherapie mit Interferon- α 2b plus Ribavirin behandelt, eine zweite Gruppe mit einer Interferon- α 2b Monotherapie. Beim Vergleich der Ergebnisse der Knochendichte sowie der Knochenstoffwechselmarker zwischen beiden Gruppen wurde kein Unterschied festgestellt. Es wurde aber darauf hingewiesen, dass die Kinder sich noch in der Wachs-

tums- und Entwicklungsphase befanden. Daher besteht die Möglichkeit, dass auch aufgrund dieses Zustandes der Kinder eine mögliche durch das Ribavirin induzierte Veränderung der Knochendichte ausgeblieben sein könnte. In Anbetracht unserer Ergebnisse und der zitierten Vorarbeiten erscheint ein Einfluss von Ribavirin auf den Knochenmetabolismus unwahrscheinlich. Um diese Erkenntnisse zu untermauern, sollten weitere Untersuchungen an Patienten durchgeführt werden, die ausschließlich darauf abzielen, den direkten Einfluss des Ribavirins auf die Knochenmineraldichte nachzuweisen bzw. auszuschließen.

4.2 Einfluss der antiviralen Therapie auf die Knochenstoffwechselfparameter

Im Rahmen des Knochenstoffwechsels wird von Osteoblasten und Osteoklasten eine Reihe von Substanzen freigesetzt, deren Messung im Serum eine Aussage über Umbauvorgänge des Knochens ermöglicht [20]. Hierzu gehören Prokollagen und Osteocalcin (OC) als Marker des Knochenaufbaus sowie Parathormon (PTH) und β -Crosslaps als Marker des Knochenabbaus, zudem auch die Steroidhormone 1,25-Vitamin-D, 25-Vitamin-D sowie die Mineralstoffe Calcium und Phosphat, [20, 46, 52].

Die Regulation der Calciumkonzentration im Serum erfolgt über das PTH. Eine niedrige Calciumkonzentration löst eine vermehrte Sekretion des Parathormons aus der Nebenschilddrüse aus und mobilisiert die Freisetzung von Calcium und Phosphat aus dem Knochen [11]. Bei der Mineralisation des Knochens werden Calcium und Phosphat in die Knochenmatrix eingelagert und bilden zusammen das Hydroxylapatit, wodurch der Knochen seine Stabilität erhält [7]. Die erhöhte Knochenmineraldichte am Ende der Therapie trotz erniedrigter Konzentrationen an Calcium und Phosphat im Serum weist auf einen vermehrten Einbau dieser Mineralien in die Knochenmatrix. Durch den somit entstandenen niedrigen Calcium- und Phosphatspiegel im Serum findet dann möglicherweise eine Gegenregulation statt, indem das PTH vermehrt in der Nebenschilddrüse produziert und freigesetzt wird, um die Calciumwerte wieder auf ihren Normbereich

einzustellen (bei Gesunden zwischen 2,1 – 2,6 mmol/l). Diese Maßnahme des Organismus greift bei den Patienten aus der Gruppe A nach der 12. Woche, was durch einen Anstieg des Calciums, des Phosphates und einem stabilen PTH Gehalt nach diesem Zeitpunkt gekennzeichnet ist. So ließe sich auch die Abnahme der Knochendichte innerhalb der Nachbeobachtungszeit erklären, da in diesem Zeitraum das PTH nochmals ansteigt und sich parallel dazu die Calcium-Konzentration stärker erhöht, was bedeuten würde, dass vermehrt Calcium aus dem Knochen mobilisiert wurde.

Zudem spielt das Vitamin D bei der Regulation des Calciums sowie auch des Knochenmetabolismus eine ebenso wichtige Rolle. Um das 1,25-Vitamin-D zu bilden, benötigt der Organismus kurzwelliges ultraviolettes Licht (UVB-Licht). Mit dem UVB-Licht wird in der Haut aus 7-Dehydrocholesterol über das Provitamin-D₃ dann das Vitamin-D₃ gebildet [14, 27, 28]. Gebunden an das Vitamin D binding Protein (DBP) wird das Vitamin-D₃ zur Leber transportiert, wo es dann durch das Enzym Vitamin-D-25-Hydroxylase zu 25(OH)Vitamin-D (25-Hydroxyvitamin-D, Calcidiol) hydroxyliert wird. Die Synthese der aktivierten Form des Vitamin D findet hauptsächlich in der Niere statt, indem aus der inaktiven Form 25(OH)Vitamin-D durch das Enzym 1 α -Hydroxylase das 1,25-Dehydroxycoleciferol hydroxyliert wird [27]. Das Absinken des 1,25-Vitamin-D könnte zusätzlich eine Rolle bei der Absenkung des Calciums im Serum innerhalb der ersten 12 Wochen spielen, da bei einer geringeren Konzentration des 1,25-Vitamin-D auch eine geringere Calciumaufnahme über den Darm zugrunde liegen würde. Eine dadurch hervorgerufene Hypocalcämie würde dann ebenso die vermehrte Ausschüttung des PTH aus der Nebenschilddrüse induzieren, infolgedessen dann Calcium aus den Knochen herausgelöst würde, um den Blutcalciumspiegel wieder zu normalisieren, wie dies nach der 12. Woche auch eingetreten ist. Die Studie von Dusso A.S. et al. zeigt auch, dass das Calcitriol die PTH Bildung in den Nebenschilddrüsen zu steigern vermag [14]. Die Erhöhung der Calciumkonzentration im Serum, wie sie dann nach der 12. Woche eintritt, könnte wiederum ebenso auf eine vermehrte Resorption aus dem Darm zurückgeführt werden, was aber aufgrund einer absinkenden 1,25-Vitamin-D-Konzentration ausgeschlossen werden kann.

Für den Abfall des 1,25-Vitamin-D könnte eine geringe Tageslichtexposition verantwortlich sein, da für deren Bildung aus dem 25(OH)-Vitamin-D hauptsächlich kurzwelliges UVB-Licht notwendig ist. Daneben sind aber auch die Jahreszeit [28, 51], der Hauttyp,

Lebensgewohnheiten, der Einfluss von Sonnencreme, das Alter, der Aufenthalt in bestimmten Regionen mit unterschiedlich starker Sonneneinstrahlung und Ernährungsgewohnheiten (vor allem der Verzehr von fettreichem Fisch) entscheidende Faktoren zur Bildung von Vitamin-D [28]. Die Studienteilnehmer in unserer Untersuchung stammen zwar aus verschiedenen Nationen mit ähnlichem Hauttyp, hatten jedoch ihren Lebensraum in der Region um Ulm. Es kann bei allen Teilnehmern von gleichen bzw. sehr ähnlichen Lebensumständen ausgegangen werden, wodurch eine Beeinflussung aufgrund der oben genannten Faktoren vernachlässigbar ist. Da sich aber die Ergebnisse des 1,25-Vitamin-D im Vergleich beider Patientenkollektive zueinander unterscheiden, ist ein Einfluss der Peg-IFN α und Ribavirin Therapie wahrscheinlich. Es konnte jedoch keine Studie gefunden werden, welche einen direkten oder indirekten Einfluss auf das Peg-IFN α oder das Ribavirin belegt.

Prokollagen, ein Marker für Knochenaufbauprozesse, wird von Osteoblasten während der Typ-1 Kollagen Bildung abgespalten und freigesetzt [20, 64, 72]. Von diesem Prokollagen wird das N-terminale Ende abgespalten und ist somit im Serum messbar. Das Prokollagen Typ-I-Amino-Terminales-Propeptid (P1NP) wird daher als Maß für die Neubildung von Kollagen genutzt [20]. Das Ergebnis für das Prokollagen Typ-I-Amino-Terminales-Propeptid suggeriert, dass innerhalb des Zeitraumes der Behandlung mit Peg-IFN α und Ribavirin weniger P1NP abgespalten, dann durch die Osteoblasten auch weniger Knochen aufgebaut wurde und im Anschluss bis Follow up vermehrt Knochenbildung stattgefunden hat. Demgegenüber zeigen unsere Ergebnisse der Knochendichtemessungen mit der DEXA-Methode ein umgekehrtes Bild mit einer Verbesserung der Knochendichte während der Therapie und einer Abnahme der Knochendichte während der Nachbeobachtungszeit. Betrachtet man jedoch die Werte für das P1NP über den Verlauf der 48-wöchigen Behandlung, so zeigt sich zunächst ein Anstieg des Prokollagens nur bis zur 4. Woche nach Therapiebeginn, was die Ergebnisse der Röntgenaufnahme bestätigt, und im Anschluss daran ein Abfall bis zum Zeitpunkt Follow up. Das deutet auf eine Auswirkung der Medikamente auf den Prokollagenstoffwechsel und somit auch auf den Knochenstoffwechsel hin, wodurch sich der Rückschluss ergibt, dass zu Beginn der Therapie ein verstärkter Knochenaufbau durch die Osteoblasten stattfindet, welcher sich dann im Laufe der Zeit wieder verringert, um

dann während der Nachbeobachtungszeit erneut anzusteigen. Welche Mechanismen und biochemische Vorgänge dabei eine tragende Rolle spielen, ist in der Literatur nicht zu finden.

Das Osteocalcin wird während des Aufbaus der Knochenmatrix von Osteoblasten gebildet [60] und von diesen in den Knochen eingebaut. Es ist ein weiterer Marker des Knochenaufbaus. Jedoch gelangt nur ein geringer Teil davon in die Blutzirkulation, welcher dann gemessen werden kann. Dabei muss die tagesrhythmische Schwankung beachtet werden und die Blutabnahmen zu bestimmten festgelegten Zeitpunkten erfolgen. Die Halbwertszeit beträgt 4 min und die Ausscheidung erfolgt über die Niere [61]. In Anbetracht dessen, dass Osteocalcin bei der Knochensynthese in die Knochenmatrix eingebaut wird [60] und die *in vitro* Studie von Kaisa K.I. et al. eine Freisetzung des Osteocalcin bei einer Knochenresorption durch Osteoklasten nachweisen konnte [32], ließe sich so der erhöhte Gehalt des OC im Blut von postmenopausalen Frauen erklären [15]. Eine andere Studie zeigte bei Patienten, die eine Vitamin D + Calcium Therapie erhielten, einen niedrigeren Osteocalcin-Gehalt und eine Verbesserung der Knochendichte im Vergleich zu mit Placebo-Medikamenten behandelten Patienten [25]. Spekulativ könnte man davon ausgehen, dass der niedrige Gehalt des OC mit dessen Einbau in die Knochenmatrix während der Knochenbildung erklärt werden kann. Bezogen auf unsere Studie könnte dies auch der Grund für das Absinken des Osteocalcin bei den Patienten der Gruppe A aus unserer Studie sein, welche 48 Wochen lang behandelt wurden.

Ein weiteres Kennzeichen für die Veränderung des Knochenstoffwechsels ist das β -Crosslaps, das ebenfalls als Marker für den Knochenabbau verwendet wird. Beim Abbau des Hauptbestandteils des Knochens, dem Kollagen Typ-1, durch die Osteoklasten entstehen C-terminale Telopeptide (CTx), welche α -Asparaginsäure enthalten, die sich dann in β -Asparaginsäure umwandelt. Diese enthält zweimal das β -CTx-Antigen (β -Crosslaps), das dann durch ein spezifisches Immunoassay im Serum nachgewiesen wird [6, 66]. Die Zunahme des β -Crosslaps deutet somit auf einen erhöhten Kollagenabbau durch die Osteoklasten und eine niedrige Konzentration auf eine geringere Aktivität der Osteoklasten mit geringerem Kollagenabbau hin. Allerdings unterliegt das β -Crosslaps einem gewissen zirkadianen Rhythmus im Organismus, weshalb die Proben am besten an nüchternen Patienten morgens entnommen werden sollten, um einheit-

liche Ergebnisse zu erhalten. Daher kann eine Probeentnahme zu unterschiedlichen Zeitpunkten zu fehlerhaften Ergebnissen führen und somit auch verantwortlich für eine Schwankung während der Studie sein. Anfänglich scheint es zu einer Zunahme der Osteoklastenaktivität zu kommen, da β -Crosslaps bis zur 4. Woche anstieg. Nach dem anschließenden Absinken bis zur 12. Woche kam es erneut zu einer Zunahme des β -Crosslaps Gehaltes bis zur 24. Woche. Bis zur 48. Woche der Studie sank es dann, wie schon oben beschrieben, wieder ab.

In Anbetracht unserer Ergebnisse scheint eine negative Beeinflussung der Knochendichte während der Kombinationstherapie Peg-IFN α und Ribavirin nicht stattzufinden. Es ist daher davon auszugehen, dass durch die bei einer Hepatitis C Infektion durch das Immunsystem ausgeschütteten Cytokine wie IL-1 β und TNF- α [36] die Knochendichteabnahme gefördert wird [13].

4.3 Subgruppenanalyse

Eine verminderte Knochendichte kommt bei Patienten mit chronischen Lebererkrankungen häufiger vor [19, 21]. Um den Einfluss von HCV auf die Knochenmineraldichte zu untersuchen, wurde die Gruppe A in zwei Subgruppen unterteilt: eine Subgruppe mit 8 Patienten, die eine dauerhafte Ausheilung nach Therapie erreichten (Sustained Viral Response (SVR)), und eine zweite Subgruppe mit 5 Patienten, die einen Relapse (Wiederauftreten des HCV) nach der Therapie hatten.

Hofmann et al. postulierten in ihrer Studie Unterschiede in der Knochendichte zwischen diesen beiden Subgruppen [26]. Das konnte in unserer Studie nicht bestätigt werden. Die Daten unserer Auswertung ergaben keinen signifikanten Unterschied der Knochendichte, weder für die LWS noch für die Hüfte. Aus diesem Grund darf davon ausgegangen werden, dass der Unterschied trotz gleichem Verlauf einer anderen Ursache als der Viruserkrankung geschuldet ist. Dies wird auch durch den Abgleich der Daten zwischen der Subgruppe A und B bestätigt, der weder für das 1,25-Vitamin-D noch für das 25-Vit.-D, das Prokollagen, dem Osteocalcin sowie dem β -Crosslaps Unterschied zwischen beiden Subgruppen aufzeigt. Die unterschiedliche Konzentration des 1,25-Vitamin-D bei den Patienten mit einer SVR und denen mit einem Relaps könnten z.B.

verschiedene Sonnenexpositionszeiten der Patienten sein. Im Gesamten betrachtet ist aus unseren Daten zu erkennen, dass sowohl bei den SVR-Patienten wie auch bei den Patienten mit einem Relaps die Knochenmarker einen ähnlichen Verlauf aufzeigen und auch im direkten Vergleich keine Unterschiede zu erkennen sind. Ausgehend von diesen Auswertungen kann angenommen werden, dass das HC-Virus selbst keinen direkten Einfluss auf den Knochenmetabolismus hat. Es sollte jedoch beachtet werden, dass die Nachbeobachtungszeit zu kurz gewesen sein kann, so dass hier über die Nachbeobachtungszeit hinaus weitere Veränderungen aufgetreten sein könnten. Diese sind von uns nicht erfasst worden. Zudem war auch die Anzahl der Patienten in der Subgruppenanalyse sehr klein, so dass nur eine eingeschränkte Aussage darüber möglich ist. Um die Frage zu beantworten, ob das HC-Virus selbst für eine verminderte Knochendicht verantwortlich ist, muss nach meiner Einschätzung eine weitere Studie mit einer größeren Patientenzahl und einer längeren Nachbeobachtungszeit durchgeführt werden.

5. Zusammenfassung

Die chronische Virushepatitis C ist eine der häufigsten chronischen Lebererkrankungen in den westlichen Industrieländern. Die Osteoporose ist eine mögliche Komplikation bei Patienten mit chronischen Lebererkrankungen. Die Therapie der chronischen Hepatitis C erfolgt mit pegyliertem Interferon- α und Ribavirin. Das Ziel der vorliegenden Promotionsarbeit war es, den Einfluss einer Therapie mit pegyliertem Interferon alpha und Ribavirin auf die Knochendichte und den Knochenstoffwechsel zu untersuchen.

26 Patienten mit einer chronischen Hepatitis C, Genotyp 1 wurden in zwei Gruppen randomisiert und prospektiv über einen Gesamtzeitraum von 96 Wochen untersucht.

In der Gruppe A (Behandlungsgruppe) kam es während der 48 wöchigen Therapie mit pegyliertem Interferon- α und Ribavirin zu einer signifikanten Zunahme der Knochendichte, die nach Ende des 48-wöchigen Nachbeobachtungszeitraums wieder auf das Ausgangsniveau rückläufig war.

Für die Gruppe B (Kontrollgruppe) konnte keine signifikante Veränderung der Knochendichte festgestellt werden. Die Serumkonzentration der Knochenumbau-marker in der Gruppe A nahm während der Therapiedauer ab und erreichte nach Ende der Nachbeobachtungszeit wieder das Ausgangsniveau erreicht.

Parathormon und 25-Vitamin-D stiegen über die gesamte Studiendauer kontinuierlich an. 1,25-Vitamin-D zeigte während des gesamten Studienzeitraums eine Abnahme. Die Gruppe B wies keinerlei signifikante Veränderungen der Knochenumbau-marker auf.

Eine antivirale Therapie mit pegyliertem Interferon- α und Ribavirin führt in der vorliegenden prospektiven kontrollierten Studie nicht zu einer signifikanten Verschlechterung der Knochendichte und ist daher als Nebenwirkung während einer antiviralen Therapie nicht zu befürchten. Wohingegen nach Ende der Therapie bei entsprechender Prädisposition eine Verschlechterung der Knochendichte auftreten kann. Eine Verlaufskontrolle dieser Patienten ist daher empfehlenswert.

6. Literaturverzeichnis

1. Alter MJ: Healthcare should not be a vehicle for transmission of hepatitis C virus. *Journal of Hepatology* 48:2-4 (2008)
2. Azuma Y, Keisuke K, Katogi R, Takeshita S, Kudo A: Tumor necrosis factor- α induces differentiation of and bone resorption by osteoclasts. *J Biol Chem* 275:4858-4864 (2000)
3. Baron R, Hesse E: Update on bone anabolics in osteoporosis treatment: rational, current status, and perspectives. *J Clin Endocrinol Metab* 97:311-325 (2012)
4. Bartl R, Bartl C; Mutschler W: Diagnostik und Therapie der Osteoporose. *Der Unfallchirurg* 106:526-541 (2003)
5. Carey EJ, Balan V, Kremers WK, Hay E: Osteopenia and osteoporosis in patients with endstage liver disease caused by hepatitis C and alcoholic liver disease: not just a cholestatic problem. *Liver Transpl* 9:1166-1173 (2003)
6. Christgau S, Rosenquist C, Alexandersen P, Bjarnson NH, Ravn P, Fledelius C, Herling C, Qvist P, Christiansen C: Clinical evaluation of the serum crosslaps one step ELISA, a new assay measuring the serum concentration of bone-derived degradation products of typ 1 collagen C-telopeptides. *Clin Chem* 44:2290–2300 (1998)
7. Clarke B: Normal bone anatomy and physiology. *Clin J Am Soc Nephrol* 3:131–139 (2008)
8. Collier J: Bone disorders in chronic liver disease. *Hepatology* 46:1271-1278 (2007)
9. Dachverband Osteologie (DVO): DVO-Leitlinie 2009 zur Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der Osteoporose bei Erwachsenen. *Osteologie* 18: 304–328 (2009)

10. Damilakis J, Papadokostakis G, Perisinakis K, Hadjipavlou A, Gourtsoyiannis N: Can radial bone mineral density and quantitative ultrasound measurements reduce the number of women who need axial density skeletal assessment? *Osteoporos Int* 14:688-693 (2003)
11. Demiralp B, Chen HL, Koh AJ, Keller ET, McCauley LK: Anabolic action of parathyroid hormone during bone growth are dependent on c-fos. *Endocrinology* 143:4038-4047 (2002)
12. Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, Manns M, Scheuer PJ: Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 19:1513-1520 (1994)
13. Devlin RD, Reddy SV, Savino R, Ciliberto G, Roodman GD: IL-6 mediates the effects of IL-1 or TNF, but not PTHrP or 1,25(OH)₂D₃, on osteoclast-like cell formation in normal human bone marrow cultures. *J Bone Miner Res* 13:393-399 (1998)
14. Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E: Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol* 289:8-28 (2005).
15. Eastell R, Robins SP, Collwell T, Assiri AMA, Riggs BL, Russell RGG: Evaluation of bone turnover in type 1 osteoporosis using biochemical markers specific for both bone formation and bone resorption. *Osteoporosis int* 3:255-260 (1993).
16. Ershler WB, Harman SM, Keller ET: Immunologic aspects of osteoporosis. *Dev Comp Immunol* 21:487-499 (1997)
17. European association for the study of the liver (EASL): EASL clinical practice guidelines: Management of hepatitis C. *J Hepatol* 55:245-264 (2011)
18. Fabrizi F, Lunghi G, Ganeshan SV, Martin P, Messa P: Hepatitis C Virus infection and the dialysis patient. *Seminars in dialysis* 20:416-422 (2007)

19. Gallego-Rojo FJ, Gonzales-Calvin JL, Torres-Munoz M, Mundi JL, Fernandez-Perez R, Rodrigo-Moreno D: Bone mineral density, serum insulin-like growth factor 1, and bone turnover markers in viral cirrhosis. *Hepatology* 28:695-699 (1998)
20. Gasser RW: Anwendung und klinische Relevanz der Bestimmung von Knochenumbaumarkern bei Osteoporose: ein Überblick. *Journal für Mineralstoffwechsel* 8:15-19 (2001)
21. Georg J, Ganesh HK, Acharya S, Bandgar TR, Shivane V, Karvat A, Bhatia SJ, Shah S, Menon PS, Shah N: Bone mineral density and disorders of mineral metabolism in chronic liver diseases. *World J Gastroenterol* 15:3516-3522 (2009)
22. Goodman GR, Dissanayake IR, Gorodetsky E, Zhou H, Ma YF, Jee WSS, Epstein S: Interferon- α , unlike interferon- γ , does not cause bone loss in the rat. *Bone* 25:459-463 (1999)
23. Goral V, Simsek M, Mete N: Hepatic osteodystrophy and liver cirrhosis. *World J Gastroenterol* 16:1639-1643 (2010)
24. Gur A, Dikici B, Nas K, Bosnak M, Haspolat K, Sarac AJ: Bone mineral density and cytokine levels during interferon therapy in children with chronic hepatitis B: does interferon therapy prevent from osteoporosis? *BMC Gastroenterol* 5:30-38 (2005)
25. Hitz MF, Jensen JEB, Eskildsen PC: Bone mineral density and bone markers in patients with a recent low-energy fracture: effect of 1 y of treatment with calcium and vitamin D. *Am J Clin Nutr* 86:251-259 (2007)
26. Hofmann WP, Kronenberger B, Bojunga J, Stamm B, Hermann E, Bücken A, Mihm U, Wagner von M, Zeuzem S, Sarrazin C: Prospective study of bone mineral density and metabolism in patients with chronic hepatitis C during pegylated interferon α and Ribavirin therapy. *J Viral Hepat* 15:790-796 (2008)

-
27. Holick MF: Environmental factors that influence the cutaneous production of vitamin D. *Am J Clin Nutr* 61:638-645 (1995)
 28. Hollis BW: Circulating 25-hydroxyvitamin D levels indicative of vitamin D sufficiency: Implications for establishing a new effective dietary intake recommendation for vitamin D. *The J of Nutrition* 135:317-322 (2005)
 29. Humpe A, Heermann KH, Köhler M: Infektionen mit Hepatitis-C-Virus durch Quarantäne-Plasma. *Dt. Ärztebl* 96:A-2749-2753 (1999)
 30. Jafari S, Copes R, Baharlou S, Etminan M, Buxton J: Tattooing and the risk of transmission of hepatitis C: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Infectious Diseases* 14:928-940 (2010)
 31. Jimi E, Nakamura I, Duong LT, Ikebe T, Takahashi N, Rodan GA, Suda T: Interleukin 1 induces multinucleation and bone-resorbing activity of osteoclasts in the absence of osteoblasts/stromal cells. *Experimental Cell Research* 247:84-93 (1999)
 32. Kaisa KI, Hentunen AT, Vääräniemi J, Ylipahkala H, Pettersson K, Väänänen HK: Release of intact and fragmented osteocalcin molecules from bone matrix during bone resorption in vitro. *The Journal of Biological Chemistry* 279:18361-18369; (2004)
 33. Kanis JA, Delmas P, Burckhardt P, Cooper C, Torgerson D: Guidelines for diagnosis and management of osteoporosis. *Osteoporos Int* 7:390-406 (1997)
 34. Kanis JA: Diagnosis of osteoporosis and assessment of fracture risk. *The Lancet* 359:1929-1936 (2002)
 35. Kim JH, Jin HM, Kim K, Song I, Youn BU, Matsuo K, Kim N: The Mechanism of Osteoclast differentiation Induced by IL-1. *The Journal of Immunology* 183:1862-1870 (2009).

-
36. Kishihara Y, Hayashi J, Yoshimura E, Yamaji K, Nakashima K, Kashiwagi S: IL-1 β and TNF- α produced by peripheral blood mononuclear cells before and during interferon therapie in patients with chronic hepatitis C. *Dig Dis Sc* 41:315-321 (1996)
37. Kodama H, Yamasaki A, Nose M, Niida S, Ohgame Y, Abe M, Kumegawa M, Suda T: Congenital osteoclast deficiency in osteopetrotic (op/op) mice is cured by injections of macrophage colony-stimulating factor. *J Exp Med* 173:269-272 (1991)
38. Krekulova L, Rehak V, Riley LW: Structure and functions of hepatitis C virus proteins: 15 years after. *Folia Microbiol* 51:665-680 (2006)
39. Kubitscke A, Bahr MJ, Aslan N, Bader C, Tillmann HL, Sarrazin C, Greten T, Wiegand J, Manns MP, Wedemeyer H: Induction of hepatitis c virus (HCV)-specific T cells by needle stick injury in the absence of HCV-viraemia. *European Journal of Clinical Investigation* 37:54-64 (2007)
40. Lane JM, Vigorita VJ: Osteoporosis. *J of Bone Joint Surg Am* 65:274-278 (1983)
41. Lang TF, Li J, Harris ST, Genant HK: Assessment of vertebral bone mineral density using volumetric quantitative CT. *J Comput Assist Tomogr* 23:130-137 (1999)
42. Lawrence GR: Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts and prospects. *J Clin Invest* 115:3318-3325 (2005)
43. Lee J, Kim JH, Kim K, Jin HM, Lee KB, Chung DJ, Kim N: Ribavirin enhances osteoclast formation through osteoblasts via up-regulation of TRANCE/RANKL. *Mol Cell Biochem* 296:17-24 (2007)
44. Leomil Coelho LFL, Almeida GMdF, Mennechet FJD, Blangy A, Uzé G: Interferon- α and - β differentially regulate osteoclastogenesis: Role of differential induction of chemokine CXCL11 expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 102:11917-11922 (2005)

-
45. Lindenbach BD, Rice CM: Unravelling hepatitis C virus replication from genome to function. *Nature* 436:933-938 (2005)
 46. Looker AC, Bauer DC, Chesnut III CH, Gundberg CM, Hochberg MC, Klee G, Kleerekoper, Watts NB, Bell NH: Clinical use of biochemical markers of bone remodeling: Current status and future directions. *Osteoporos Int* 11:467-480 (2000)
 47. Manolagas SC, Jilka RL: Bone marrow, cytokines, and bone remodeling. *Mechanism of Disease* 332:305-311 (1995)
 48. Minne HW, Pfeifer M, Begerow B, Pollähne W: Osteoporose. *Der Orthopäde* 31:681-699 (2002)
 49. Nguyen TV, Center JR, Eisman JA: Bone mineral density-independent association of quantitative ultrasound measurements and fracture risk in women. *Osteoporos Int* 15:942-947 (2004)
 50. Nickolas TL, Leonard MB, Shane E: Chronic kidney disease and bone fracture: a growing concern. *Kidney International* 74:721-731 (2008)
 51. Normann AW: Sunlight, season, skin pigmentation, vitamin D, and 25-hydroxyvitamin D: integral components of the vitamin D endocrine system. *The Am J Clin Nutr* 67:1108-1110 (1998)
 52. Obermayer-Pietsch B: Die Bedeutung des Knochenstoffwechsel-Biomarker in der Osteologie 2012. *Journal für Mineralstoffwechsel* 19:102-107 (2012)
 53. Parés A, Guanabens N: Treatment of bone disorders in liver disease. *J Hepatol* 45:445-453 (2006)

-
54. Pearlman BL, Traub N: Sustained Virologic Response to Antiviral Therapy for Chronic Hepatitis C Virus Infection: A Cure and So Much More. *Clin Infect Dis* 52:889–900 (2011)
55. Piccinio F, Sagnelli E, Pasquale G, Giusti G: Complications following percutaneous liver biopsy: *J Hepatol* 2:165-173 (1986)
56. Pietschmann P, Kudlacek S: Pathogenese und Therapie der Osteoporose beim Mann. *Journal für Mineralstoffwechsel* 11:12-14 (2004)
57. van der Poel, CL: Hepatitis C and blood transfusion: past and present risks. *Journal of Hepatology* 31:101-106 (1999)
58. Priemel M, Münch C, Beil FT, Ritzel H, Amling M: Pathophysiologie und Pathomorphologie der Osteoporose. *Der Radiologe* 46:831–838 (2006)
59. Qian C, Camps J, Maluenda MD, Civeira MP, Prieto J: Replication of hepatitis C virus in peripheral blood mononuclear cells effect of alpha-interferon therapy *J Hepatol* 16:380-383 (1992)
60. Rammelt S, Neumann M, Hanisch U, Reinstorf A, Pompe W, Zwip H, Biewener A: Osteocalcin enhances bone remodeling around hydroxyapatite/collagen composites. *J Biomed Mater Res* 73A:284-294 (2005)
61. Resch Heinrich Prim. Dr.: Parameter für Knochenneubildung und Knochenabbau. *Rheuma Plus* 4/2004, www.aerztewoche.at/viewArticleDetails.do?articleId=2787
62. Rifas L: Bone and cytokines: Beyond IL-1, IL-6 and TNF- α . *Calcif Tissue Int* 64:1-7 (1999)

-
63. Robert Koch Institut: Aktuelle Daten und Informationen zu Infektionskrankheiten und Public Health. Zur Situation bei wichtigen Infektionskrankheiten in Deutschland; Virushepatitis B, C und D im Jahr 2010. *Epidemiologisches Bulletin* 29:261-274 (2011)
64. Roche Diagnostics: Knochenstoffwechsel-Marker in der Osteoporose (2010)
65. Roodman GD: Role of cytokines in the regulation of bone resorption. *Calcif Tissue Int* 53:94-98 (1993)
66. Rosen HN, Moses AC, Garber J, Hoputaife ID, Ross DS, Lee SL, Greenspan SL: Serum ctx: A new marker of bone resorption that shows treatment effect more often than other markers because of low coefficient of variability and large changes with bisphosphonate therapy. *Calcif Tissue Int* 66:100-103 (2000)
67. Sarrazin C, Berg T, Cornberg M, Dollinger M, Ferend P, Hinrichsen H, Klinker H, Kraus M, Manns M, Mauss S, Peck-Radosavljevic M, Schmid H, Spengler U, Wedemeyer H, Wirth S, Zeuzem S: Expertenempfehlungen zur Triple-Therapie der HCV_Infektion mit Boceprevir und Telaprevir. *Z Gastroenterol* 50:57-72 (2012)
68. Schiefke I, Fach A, Wiedmann M, Aretin AV, Schenker E, Borte G, Wiese M, Moessner J: Reduced bone mineral density and altered bone turnover markers in patients with non-cirrhotic chronic hepatitis B or C infection *World J Gastroenterol* 11:1843-1847 (2005)
69. Schirmacher P, Fleig WE, Dienes HP: Bioptische Diagnostik der chronischen Hepatitis-Ergebnisse einer evidenzbasierten Konsensuskonferenz der Deutschen Gesellschaft für Pathologie (DGP), der Deutschen Gesellschaft für Verdauungs- und Stoffwechselkrankheiten (DGVS) und des Kompetenznetzes Hepatitis (HepNet). *Z Gastroenterol* 42:175-185 (2004)
70. Schmolke B: Labordiagnostik der Osteoporose. *Orthopäde* 30:425-436 (2001)

-
71. Schreier E, Höhne M: Hepatitis C – Epidemiologie und Prävention. Bundesgesundheitsbl - Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz 44:554–561 (2001)
 72. Schreier E, Radun D, Neuhauser H und Stark K: Gesundheitsberichterstattung des Bundes - Hepatitis C. Robert-Koch-Institut 15:8-10 (2003)
 73. Smita N, Olkin I, Llu H, Grabe M, Gould MK, Allen E, Owens DK, Bravata DM: Meta-analysis: accuracy of quantitative ultrasound for identifying patients with osteoporosis. *Ann Intern Med* 144:832-841 (2006)
 74. Sokhi RP, Anantharaju A, Kondaveeti R, Creech SD, Islam KK, Van Thiel DH: Bone mineral density among cirrhotic patients awaiting liver transplantation. *Liver Transpl* 10:648-653 (2004)
 75. Solis-Herruzo JA, Castellano G, Fernandez I, Munoz R, Hawkins F: Decreased bone mineral density after therapy with alpha interferon in combination with ribavirin for chronic hepatitis C. *J Hepatol* 33:812-817 (2000)
 76. Strader DB, Wright T, Thomas DL, Seeff LB: Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C. *Hepatology* 39:1147-1171 (2004)
 77. Takaoka A, Taniguchi T: New aspects of INF α/β signalling in immunity, oncogenesis and bone metabolism. *Cancer Sci* 94:405-411 (2003)
 78. Takayanagi H, Kim S, Matsuo K, Suzuki H, Suzuki T, Sato K, Yokochi T, Oda H, Nakamura K, Ida N, Wagner EF, Taniguchi T: RANKL maintains bone homeostasis through c-Fos-dependent induction of interferon- β . *Nature* 416:744-749 (2002)
 79. Takayanagi H, Sato K, Takaoka A, Taniguchi T: Interplay between interferon and other cytokine systems. *Immunol Rev* 208:181–193 (2006)

-
80. Thiel S, Schölmerich J: Gastrointestinale Erkrankung und Osteomalazie. *Internist* 49:1197-1205 (2008)
81. Tobler LH, Busch MP: History of posttransfusion hepatitis. *Clin Chem* 43:1487-1493 (1997)
82. Tohme RA, Holmberg SD: Transmission of hepatitis C virus infection through tattooing and piercing: a critical review. *Clinical Infectious Diseases* 54:1167-1178 (2012)
83. Trombetti A, Giostra E, Mentha G, Negro F, Rizzoli R: Lack of evidence for Ribavirin-induced bone loss. *J. Hepatology* 36:255-257 (2002)
84. Urganci N, Gulec SG, Arapoglu M, Vural S, Nuhog A: The effect of ribavirin on bone density in patients with chronic hepatitis C treated with interferon-ribavirin therapy. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 41:650-652 (2005)
85. Vogel T, Kampmann P, Bartl R, Pfeifer KJ: Osteoporose – Diagnostik und Therapie. *OP-Journal* 21:154-159 (2005)
86. Weich V, Berg T: Hinweis, Diagnostik, Therapieoptionen. *Der Hausarzt* 9:1-5 (2006)
87. Wiegand J, Kaiser T, Tillmann HL: Diagnostik und Therapie der chronischen Hepatitis B und C-State of die Art. *Kompodium Gastroenterologie* 2:2-6 (2006)
88. World Health Organization: Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of a WHO Study Group. *World Health Organ Tech Rep Ser* 843:1-9 (1994)
89. World Health Organization: Prevention and management of osteoporosis. *World Health Organ Tech Rep Ser* 921:1-164 (2003)

-
90. Wu C, Hans D, He Y, Fan B, Njeh CF, Augat P, Richards J, Genant HK: Prediction of bone strength of distal forearm using radius bone mineral density and phalangeal speed of sound. *Bone* 26:529-533 (2000)
91. Zeuzem S: Standardtherapie der akuten und chronischen Hepatitis C. *Z Gastroenterol* 42:714-719 (2004)
92. Zoulim F, Chevallier M, Maynard M, Trepo C: Clinical consequences of hepatitis C infection. *Rev Med Virol* 13:57-68 (2003)

7. Danksagung

Ganz herzlich bedanken möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Nektarios Dikopoulos für die Überlassung des interessanten Themas, seine sehr zuverlässige und wissenschaftliche Betreuung und vor allem für die sehr hilfreiche Unterstützung bei der Fertigstellung dieser Arbeit.

Weiterhin bedanke ich mich bei Herrn Dr. Dietmar Klass für seinen fachlichen Rat und die Unterstützung bei der Auswertung der Patientenseren im Labor.

Ebenso möchte ich mich bei Frau Kristin Haugg für die hilfreiche Unterstützung im Labor bedanken.

Ganz besonders möchte ich mich bei Jana Ellena Koch für das Durchlesen und Überarbeiten der Arbeit bedanken.

Ganz herzlich bedanken möchte ich mich bei meiner lieben Frau Julia die mir immer zur Seite stand und mir während des Studiums sowie bei der Erstellung dieser Arbeit ein liebevoller Rückhalt war.

8 Curriculum vitae

Der Lebenslauf wurde aus Gründen des Datenschutzes entfernt