

**INSTITUT FÜR ERNÄHRUNGSWISSENSCHAFT
PROF. DR. P. STEHLE**

**EINFLUSS ERNÄHRUNGSTHERAPEUTISCHER MASSNAHMEN
AUF DEN KNOCHENSTOFFWECHSEL
VON ANOREKTISCHEN JUGENDLICHEN**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Grades

Doktor der Ernährungs- und Haushaltswissenschaften

(Dr.oec.troph.)

der

Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität zu Bonn

vorgelegt am 08. April 2003

von

CLAUDIA MIKA

aus

Bergisch Gladbach

Referent: PD Dr. A. Zittermann

Korreferenten: Prof. Dr. R. Gerzer

Prof. Dr. H. Enbergs

Tag der mündlichen Prüfung: 29. Juli 2003

D 98

Zusammenfassung

Einfluss ernährungstherapeutischer Maßnahmen auf den Knochenstoffwechsel von anorektischen Jugendlichen

Anorexia Nervosa (AN) ist eine chronische Essstörung, die hauptsächlich bei weiblichen Jugendlichen und jungen Frauen auftritt. Das reduzierte Essverhalten ist bei fortschreitendem Verlauf mit erheblichen Stoffwechselproblemen verbunden. Eine der gravierendsten Komplikationen im Langzeitverlauf ist eine Abnahme der Knochendichte, durch die es bereits in jungen Jahren zu Spontanfrakturen kommen kann. Bisher gibt es keine effektiven Behandlungsmöglichkeiten, um diesem Knochenmasse- und -dichteverlust bei Magersucht entgegenzuwirken.

Das Ziel der vorliegenden Studie war es, zu überprüfen, ob eine Ernährungstherapie, die zu einer Gewichtszunahme führt, die Knochenstoffwechselaktivität von magersüchtigen Patientinnen im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe verbessern kann. Dazu untersuchten wir 19 Patientinnen mit AN (Alter $14,1 \pm 1,4$ Jahre, BMI $14,2 \pm 1,4$ kg/m²) sowie 19 gesunde Jugendliche (Alter $15,1 \pm 2,3$ Jahre, BMI $20,8 \pm 1,9$ kg/m²) über den Zeitraum von einem Jahr.

Innerhalb des Studienjahres wurden Blutabnahmen zu Beginn sowie zu acht weiteren definierten Zeitpunkten (fünfmal in der Kontrollgruppe) durchgeführt. Die Aktivität der Knochenformation wurde durch die Parameter knochenspezifische alkalische Phosphatase (bAP), C-terminales Prokollagen Propeptid (PICP) und Insulin-like Growth Factor (IGF-I) bestimmt. Die Knochenresorption wurde durch das C-terminale Telopeptid (CTX) nachgewiesen. Zusätzlich wurde das Blut auf Leptin, 17 β -Östradiol, Cortisol, DHEAS, PTH, 25-OH Vitamin D, Calcium, Phosphor und Kreatinin analysiert. Parallel zu den Blutabnahmen gab es an drei bis sieben aufeinanderfolgenden Tagen Urinsammlungen, um das Volumen und die Calciumexkretion zu bestimmen. Die Nährstoffaufnahme wurde anhand von Ernährungsprotokollen geschätzt. Die Berechnung der Calciumbilanzen erfolgte aus den entsprechenden Zufuhr- und Ausscheidungsdaten. Die Körperzusammensetzung wurde mit Hilfe der Bioelektrischen Impedanzanalyse bestimmt. Darüber hinaus fanden zu Beginn, nach vier und acht Monaten Knochendichtemessungen statt. Die statistische Auswertung erfolgte mittels ANOVA „repeated measure design“ (bereinigt um Alter und Menarchestatus).

Im Vergleich der beiden Gruppen zeigten sich zu Beginn der Studie Unterschiede in den Knochenformationsmarkern PICP ($p < 0,0001$), bAP ($p = 0,0004$) und IGF-I ($p < 0,0001$). Zusätzlich waren in der Patientinnengruppe der BMI ($p < 0,0001$), Leptin ($p < 0,0001$) und 17 β -Östradiol ($p = 0,0007$) vermindert. Für die Magermasse wurden ebenfalls reduzierte Werte bei den Magersüchtigen festgestellt ($p = 0,02$).

Nach einer 15-wöchigen Ernährungstherapie erhöhten sich die Konzentrationen der Knochenformationsmarker der Patientinnen und glichen sich an die der Kontrollgruppe an.

Zum Ende der Studie sanken die Werte von IGF-I und Leptin erneut ab ($p < 0,001$).

Im Vergleich zur Kontrollgruppe blieben die Fettmasse sowie die Körperzellmasse während des gesamten Studienzeitraums vermindert ($p < 0,001$). Keiner der beiden Gruppen zeigte zu den jeweiligen Messzeitpunkten Unterschiede in der Knochenresorptionsaktivität, bei DHEAS, Calcium und Phosphor im Serum oder in der Knochendichte.

Folgende Schlussfolgerungen leiten sich aus diesen Ergebnissen ab:

- Fasten führt bei jungen, anorektischen Patientinnen zu einer verminderten Knochenformationsaktivität.
- Eine Ernährungstherapie, die eine Gewichtszunahme zur Folge hat, kann die Knochenformation verbessern, während die Knochenresorption auf einem hohen, dem Alter entsprechenden Niveau bleibt.
- Patientinnen, die nach einer Ernährungstherapie rückfällig werden, reagieren tendenziell mit einer erneut verschlechterten Knochenformationsaktivität.
-

Eine Ernährungstherapie kann als eine erfolgsversprechende Gegenmaßnahme des magersuchsbedingten Knochenverlustes agieren. In Hinblick auf die zahlreichen Nebenwirkungen einer Hormon-Ersatztherapie, sollte eine Ernährungstherapie ein wichtiger Bestandteil in der Behandlung der Magersucht darstellen.

Abstract

Influence of a nutritional therapy on bone metabolism in young anorectic patients

Anorexia Nervosa (AN) is a common chronic eating disorder in female adolescents and young women. The restrictive eating pattern is associated with profound metabolic complications. One of the most important long-term somatic problems is the decrease in bone mineral density, which often leads to spontaneous fractures later in life. To date there is no effective treatment for this bone loss in Anorexia Nervosa.

The aim of the study was to investigate whether a nutritional therapy leading to a weight gain improved bone metabolism in patients with AN compared to a healthy control group.

We studied 19 female patients with AN (age 14.1 ± 1.4 years, BMI 14.2 ± 1.4 kg/m²) and 19 healthy adolescents (age 15.1 ± 2.3 years, BMI 20.8 ± 1.9 kg/m²) for one year.

Blood was drawn at baseline and at eight defined points of time (five times for the control group) in the following year. Bone formation activity was measured by the parameters bone alkaline phosphatase (bAP), C-terminal procollagen-I-propeptide (PICP) and insulin-like growth factor (IGF-I). Bone resorption was determined by the C-terminal telopeptide (CTX). In addition we analyzed blood for leptin, 17 β -estradiol, cortisol, DHEAS, PTH, 25-OH-vitamin D, calcium, phosphor and creatinine, respectively. In parallel urine was sampled on three to seven consecutive days around every blood draw to determine volume and calcium excretion. Nutrient intake was estimated from food protocols. Metabolic calcium balance was calculated from the respective intake and excretion data (urine and faeces). Body composition was estimated by means of bioelectrical impedance analysis. Measurements of bone density were taken at baseline, and after four and eight months.

Comparing the two groups with a repeated-measures-ANOVA adjusted for age and menarche status we found different baseline values for the bone formation markers PICP ($p < 0.0001$), bAP ($p = 0.0004$) and IGF-I ($p < 0.0001$), respectively. In addition BMI ($p < 0.0001$), leptin ($p < 0.0001$) and 17 β -estradiol ($p = 0.0007$) were significantly lower in the patient group. Lean body mass was also reduced in the patients ($p = 0.02$).

After 15 weeks of dietary treatment there was an adjustment of bone formation activity between both groups.

At the end of the study levels of IGF-I and leptin decreased again ($p < 0.001$).

In comparison to the healthy subjects, the patient group showed reduced values for fat mass and body cell mass during the whole study.

There were no distinctions between patients and controls in bone resorption activity, DHEAS, calcium, phosphor and bone density throughout the entire study.

The conclusions from these results are:

- Starvation leads to a reduced bone formation activity in young anorectic patients.
- A nutritional therapy which results in weight gain improves bone formation whereas bone resorption remains on a high, but for this age adequate level.
- Refusal of nutrient intake after a nutritional therapy tends to result in further loss of bone formation activity.

A nutritional therapy can act as a successful countermeasure against starvation related bone loss in Anorexia Nervosa. In view of the numerous side effects of hormone therapies a nutritional therapy is strongly advisable in the treatment of Anorexia Nervosa.

Abkürzungsverzeichnis

AN	Anorexia nervosa
ANIS	Anorexia nervosa – Inventar zur Selbstbeurteilung
ANO	Anorexia nervosa und Osteoporose-Studie
AP	Alkalische Phosphatase
AS	Aminosäure
ATP	Adenosintriphosphat
bAP	Knochenspezifische Alkalische Phosphatase
BDI	Beck Depression Inventar
BIA	Body Impedance Analysis
BMI	Body Mass Index
BP	Bisphosphonate
cAMP	Zyklisches Adenosinmonophosphat
CTX	Carboxy-terminales Telozeptid
DHEA(S)	Dehydroepiandrosteron (-sulfat)
DIKJ	Depressionsinterview für Kinder und Jugendliche
DPD	Desoxypyridinolin, Lysylpyridinolin
DSM	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
DXA	Dual Energy X-ray Absorptiometry
EEG	Elektroenzephalogramm
EKG	Elektrokardiogramm
ELISA	Enzym-linked Immunosorbent Assay
FSH	Follikel stimulierendes Hormon
Gla	Glutaminsäure
GnRH	Gonotropin Releasing Hormone
HOBIF	Hypothalamic Osteoblast Inhibiting Factor
ICD	International Classification of Disorders
IGF-I, -II	Insulin-like Growth Factor I und II
IRMA	Immunoradiometrischer Assay
LH	Luteinisierendes Hormon
NTX	Amino-terminales Telozeptid
Ocal	Osteocalcin
OCP	Orale Kontrazeptiva

PICP	C-terminales Typ I Prokollagen Propeptid
PINP	N-terminales Typ I Prokollagen Propeptid
PTH	Parathormon
PYD	Pyridinolin, Hydroxylysylpyridinolin
rhIGF-I	Rekombinantes humanes IGF-I
RIA	Radioimmunoassay
SIAB	Strukturiertes Interview zur Anorexia nervosa
TBW	Total Body Water
TGF- β	Transforming Growth Factor β
TRAP	Tartratresistente saure Phosphatase
VitD	25-Hydroxyvitamin D
WHO	World Health Organization

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Thematische Einführung	4
2.1	Knochenstoffwechsel	4
2.1.1	Parameter der Knochenformation	5
2.1.1.1	Typ I Prokollagen Propeptide (PICP, PINP)	5
2.1.1.2	Knochenspezifische alkalische Phosphatase (bAP)	6
2.1.1.3	Osteocalcin (Ocal)	7
2.1.2	Parameter der Knochenresorption	8
2.1.2.1	Calciumausscheidung im Urin	8
2.1.2.2	Tartratresistente saure Phosphatase (TRAP)	8
2.1.2.3	Pyridiniumcrosslinks Pyridinolin (PYD), Desoxypyridinolin (DPD)Telo peptide des Typ I Kollagens (NTX, CTX)	9
2.1.3	Parameter zur Bestimmung der Körperzusammensetzung	10
2.1.3.1	Bioelektrische Impedanz-Analyse (BIA, Body Impedance Analysis)	10
2.1.3.2	Bestimmung der Knochendichte mittels DXA (Dual Energy X-ray Absorptiometry)	12
2.1.4	Weitere Einflussgrößen des Knochenstoffwechsels	13
2.1.4.1	Insulin-like Growth Factor I (IGF-I)	13
2.1.4.2	Leptin	14
2.1.4.3	Dehydroepiandrosteron (DHEA) Dehydroepiandrosteron-Sulfat (DHEAS)	15
2.1.5	Regulation des Calciumstoffwechsels	16
2.1.5.1	Parathormon	16
2.1.5.2	Calcitriol	17
2.1.5.3	Calcitonin	18
2.2	Anorexia nervosa	18
2.3	Potentielle Therapieansätze	20
2.3.1	Östrogene	20
2.3.2	Bisphosphonate (BP)	20
2.3.3	Insulin-like Growth Factor I (IGF-I)	21
2.3.4	Nährstoffversorgung (Calcium, Vitamin D und Protein)	21
3	Material und Methoden	25
3.1	Versuchsdesign	25
3.1.1	Studienkollektiv	25
3.1.2	Experimentablauf	26
3.1.2.1	Stationärer Aufenthalt	27
3.1.2.2	Poststationäre Phase und Kontrollgruppe	28
3.1.3	Diät	28
3.1.3.1	Stationärer Aufenthalt	28
3.1.3.2	Poststationäre Phase und Kontrollgruppe	29
3.1.4	Blutabnahmen	30
3.1.5	Urinabgaben	30

3.1.6	Urinminutenvolumen – 24h-Urine	31
3.1.7	Calcium-Exkretion im Urin	31
3.1.8	Fäzesuntersuchungen	31
3.1.9	Calciumbilanzen	32
3.2	Parameter des Knochenstoffwechsels	33
3.2.1	Parameter des Knochenaufbaus	33
3.2.1.1	Carboxyterminales Propeptid des Typ I Prokollagens (PICP)	33
3.2.1.2	Knochenspezifische alkalische Phosphatase (bAP)	34
3.2.2	Parameter des Knochenabbaus	35
3.2.2.1	Carboxyterminales Telopeptid des Typ I Kollagens (CTX)	35
3.2.3	Weitere Einflussgrößen des Knochenstoffwechsels	35
3.2.3.1	Leptin	35
3.2.3.2	Insulin-like Growth Factor I (IGF-I)	36
3.2.3.3	Cortisol	37
3.2.3.4	Dehydroepiandrosteron-Sulfat (DHEAS)	38
3.2.3.5	17 β -Östradiol	38
3.2.4	Parameter des Calciumstoffwechsels	39
3.2.4.1	Calcium im Serum	39
3.2.4.2	Parathormon (PTH)	39
3.2.4.3	25-Hydroxyvitamin D	40
3.2.5	Phosphor im Serum	41
3.2.6	Kreatinin im Serum	41
3.3	Parameter zur Bestimmung der Körperzusammensetzung	41
3.3.1	Body Mass Index (BMI)	41
3.3.2	Bestimmung der Körperzusammensetzung mittels Bioelektrischer Impedanz-Analyse (BIA, Body Impedance Analysis)	41
3.4	Densitometrie mittels Dual Energy X-ray Absorptiometry (DXA)	42
3.5	Statistik	44
4	Ergebnisse	45
4.1	Demographische Daten - Basisdaten	45
4.2	Nährstoffversorgung	48
4.2.1	Calciumaufnahme	50
4.3	Calcium-Exkretion	51
4.4	Calcium-Bilanzen	51
4.5	Parameter des Knochenstoffwechsels	52
4.5.1	Parameter der Knochenformation	52
4.5.1.1	Carboxyterminales Propeptid des Typ I Prokollagens (PICP)	52
4.5.1.2	Knochenspezifische alkalische Phosphatase (bAP)	54
4.5.2	Parameter der Knochenresorption	55
4.5.2.1	Carboxyterminales Telopeptid des Typ I Kollagens (CTX)	55
4.5.3	Einflussgrößen des Knochenstoffwechsels	57
4.5.3.1	Leptin	57
4.5.3.2	Insulin-like Growth Factor I (IGF-I)	58
4.5.3.3	Cortisol im Serum	59
4.5.3.4	Dehydroepiandrosteron-Sulfat im Serum (DHEAS)	60
4.5.3.5	17 β -Östradiol	61

4.5.4	Parameter des Calciumstoffwechsels	62
4.5.5	Phosphor	64
4.5.6	Kreatinin	65
4.5.7	Gesamt-Protein	65
4.6	Bestimmung der Körperzusammensetzung mittels Bioelektrischer Impedanz-Analyse (BIA)	65
4.7	Densitometrie	68
4.7.1	Densitometrie der Lendenwirbelsäule (L2-L4)	69
4.7.2	Densitometrie des Femurs	70
4.7.3	Vergleich mit altersentsprechenden Referenzwerten	71
4.7.4	Z-Scores	73
4.7.5	Anpassung der Knochendichte an Körpergröße und –gewicht	73
5	Diskussion	76
6	Zusammenfassung	94
7	Literaturverzeichnis	96
8	Danksagung	110
9	Anhang	112

1 Einleitung

Anorexia nervosa (Magersucht) wird definiert als ein selbstverursachter, bedeutsamer Gewichtsverlust oder eine unzureichende altersentsprechende Gewichtszunahme, die mit einer tief verwurzelten Überzeugung einhergeht, trotz Untergewicht zu dick zu sein (Dilling *et al.*, 1991). Als Leitsymptom gilt ein Körpergewicht unterhalb 85 % des zu erwartenden Gewichtes (BMI < 10. Altersperzentile bzw. BMI < 17,5 kg/m² bei Mädchen in der Adoleszenz). Charakteristisch für diese Erkrankung ist, dass sie hauptsächlich in den Industrieländern auftritt und hier in den vergangenen Jahrzehnten zunehmend an Bedeutung gewonnen hat. Epidemiologische Schätzungen gehen davon aus, dass 0,5 bis 3,7 % der Jugendlichen und jungen Frauen im Alter zwischen 15 und 24 Jahren von dieser Krankheit betroffen sind (Lucas *et al.*, 1991; Walsh *et al.*, 1998; Walsh *et al.*, 2000). Nur etwa 10 % der Patienten sind männlich (Andersen *et al.*, 2000).

In Folge eines massiven Gewichtsverlustes können Störungen des Stoffwechsels auftreten, die sich sowohl auf einzelne Organe, wie z.B. die Nieren, als auch auf komplexe Systeme, z.B. die Hypophysen-Gonaden-Achse, auswirken (Herpertz-Dahlmann *et al.*, 1988). Im Langzeitverlauf kommt es vor allem zu einer Abnahme der Knochenmasse sowie der Knochendichte, die zu Spontanfrakturen führen kann. Dabei sind die Folgen umso gravierender, je früher die Erkrankung auftritt und je länger deren Dauer ist. Bei einem Beginn der Magersucht vor oder in der frühen Phase der Pubertät haben die Patientinnen die sog. „peak bone mass“, die maximale Knochenmasse, noch nicht erreicht. Diese kann nur dann aufgebaut werden, wenn ein optimales Zusammenspiel von genetischer Prädisposition, hormonellen Einflüssen, alimentären Faktoren und auch Bewegung gewährleistet ist (Matkovic, 1992; Ilich *et al.*, 1998; Matkovic, 1996). Bei der Anorexie ist dies nicht gegeben, falls die Patientinnen über einen langen Zeitraum fasten und es infolgedessen auch zu hormonellen Störungen kommt.

Die beschriebenen Auswirkungen der Magersucht auf den Knochenstoffwechsel waren die Grundlage diverser Untersuchungen, in denen versucht wurde, geeignete Therapiemaßnahmen zu entwickeln, um einem erhöhten Osteoporoserisiko entgegen zu wirken. Als Basis wurden dabei zum einen die Ergebnisse aus Studien bei postmenopausalen Frauen herangezogen und zum anderen auf die veränderten

Stoffwechselprozesse im anorektischen Körper eingegangen, die sowohl eine verminderte Knochenaufbauaktivität als auch eine erhöhte Knochenabbautätigkeit zur Folge haben können (Bruni *et al.*, 2000).

Die Gabe von Östrogenen, die bei der Behandlung der postmenopausalen Osteoporose Erfolge aufweisen, wird in der Literatur in Bezug auf Magersucht kontrovers diskutiert. Bei den Patientinnen zeigten sich bisher keine eindeutigen, positiven Ergebnisse, so dass bei diesem Kollektiv, besonders auch aufgrund der zahlreichen Nebenwirkungen, von einer Hormon-Ersatz-Therapie abgeraten wird (Munoz *et al.*, 2002; Grinspoon *et al.*, 2002; Klibanski *et al.*, 1995; Bruni *et al.*, 2000; Golden *et al.*, 2002). Ähnliches gilt für die Gabe von Bisphosphonaten, die über eine Einschränkung der Osteoklastentätigkeit auf die Knochenresorption Einfluss nehmen. Hier könnte es zu einer Reduktion der natürlicherweise im jugendlichen Alter auftretenden, erhöhten und auch gewünschten Osteoklastentätigkeit kommen. Die hauptsächlich von Grinspoon *et al.* (Grinspoon *et al.*, 1996a; Grinspoon *et al.*, 2002) durchgeführten Untersuchungen zur Auswirkung einer IGF-I-Gabe auf den Knochenstoffwechsel von anorektischen Patientinnen zeigten einen dosisabhängigen, positiven Einfluss auf die Formation und scheinen viel versprechend zu sein.

Gemeinsam ist all diesen Therapiemaßnahmen jedoch, dass es sich um einen massiven Eingriff in den Stoffwechsel von Jugendlichen und jungen Erwachsenen handelt, der zum Teil mit erheblichen Nebeneffekten verbunden sein kann. Wünschenswert wäre es daher, eine Therapie zu entwickeln, die keine oder nur sehr geringe Nebenwirkungen hervorruft und dennoch effizient einem erhöhten Osteoporoserisiko entgegen wirkt.

Die Knochenstoffwechsel-assoziierten Effekte, die während einer Ernährungstherapie in Form einer hyperkalorischen Ernährung in Kombination mit einer den Empfehlungen entsprechenden Nährstoffversorgung auftreten, wurden bisher für anorektische Patientinnen nicht beschrieben. Einige Autorengruppen berichten bei magersüchtigen Patientinnen über eine Zunahme der Knochendichte nach einer Gewichtszunahme (Bachrach *et al.*, 1990; Hotta *et al.*, 1998; Klibanski *et al.*, 1995). Bisher fehlen jedoch parallele Begleituntersuchungen während der Gewichtsrehabilitation.

Vermutet wird ein positiver Einfluss auf die Osteoblastentätigkeit und damit eine gesteigerte Ausschüttung der entsprechenden Biomarker, sowie im weiteren Verlauf eine Zunahme der Knochendichte. Des Weiteren könnte es gleichzeitig zu einer verminderten Knochenabbauaktivität kommen.

Ziel der vorliegenden Doktorarbeit war es daher, über ein Jahr den Einfluss einer individuell festgelegten Ernährungstherapie auf den Knochenstoffwechsel von jugendlichen, magersüchtigen Patientinnen zu untersuchen und die Ergebnisse mit denen eines gesunden, parallelisierten Kontrollkollektivs zu vergleichen.

2 Thematische Einführung

2.1 Knochenstoffwechsel

Der Knochen ist ein hochkomplexes, lebendes Gewebe. Durch seine mineralisierte extrazelluläre Matrix verleiht er dem Skelett eine enorme Festigkeit und Stabilität, und weist dennoch ein hohes Maß an Elastizität auf (Marks *et al.*, 2002).

Das Knochengewebe wird kontinuierlich durch zwei gegenläufige, aber gekoppelte Aktivitäten erneuert: zum einen durch die Resorptionsprozesse der Osteoklasten, zum anderen durch die Aktivität der Osteoblasten, die einen Knochenaufbau bewirken (Seibel *et al.*, 1993).

Bis zum Erwachsenenalter überwiegt die Tätigkeit der Osteoblasten. Man spricht vom sog. Prozess des „modeling“, einem vermehrten Knochenaufbau verbunden mit einem Längenwachstum und einer Zunahme der Knochendurchmesser. Ziel dieser Abläufe ist das Erreichen der sog. „peak bone mass“, der maximalen Knochenmasse. Diese kann dann erreicht werden, wenn das Zusammenspiel von genetischer Prädisposition, hormonellen Einflüssen, alimentären Faktoren und auch Bewegung optimal ist (Ilich *et al.*, 1998; Matkovic, 1992; Matkovic, 1996).

Zu welchem Zeitpunkt die maximale Knochendichte ausgeprägt ist, konnte bisher nicht eindeutig geklärt werden. Untersuchungen haben gezeigt, dass Mädchen dieses Stadium grundsätzlich früher erreichen als Jungen und dass verschiedene Knochen des Körpers unterschiedlich lange ausreifen (Matkovic, 1996). Die Spanne des Alters für das Erreichen wird in der Literatur zwischen 14 und etwa 30 Jahren angegeben (Bonjour, 1998; Jones *et al.*, 2000; Loro *et al.*, 2000; Matkovic, 1992; Matkovic, 1996).

Im Anschluss an die Phase des „modeling“ halten sich Resorptions- und Formationsaktivitäten die Waage; die Struktur und Dichte der Knochen wird aufrecht erhalten („remodeling“) (Schonau *et al.*, 1997; Seeman, 2002). Etwa ab einem Alter von 50 Jahren nimmt die Osteoklastentätigkeit in Relation zur Osteoblastenaktivität zu. Dies führt zu einem vermehrten Knochenabbau (Marks *et al.*, 2002).

Der Prozess des „(re-)modeling“ wird durch die Osteoklasten initiiert, indem sie an der zu erneuernden Stelle die mineralisierte Oberfläche „aushöhlen“ und dadurch einen durch ein saures Milieu gekennzeichneten, abgeschlossenen Raum schaffen. Calcifizierte Knochengrundsubstanz wird durch lysosomale Enzyme abgebaut.

Neben Calcium und Phosphat kommt es zur Freisetzung von verschiedenen Bruchstücken der Knochenmatrix ins Blut, wie z.B. den Telozeptiden oder den Pyridinium-Crosslinks. Diese können im Serum oder im Harn nachgewiesen werden und dienen daher als Maß für den Knochenabbau (Eriksen *et al.*, 1995).

Die durch die Tätigkeit der Osteoklasten entstandene Höhle wird am äußeren Rand durch Osteoblasten besiedelt. Sie bilden neue Knochenmatrix, das sog. Osteoid und füllen nach und nach die entstandenen Lücken wieder auf. Die Osteoidmatrix besteht zu ca. 90 % aus Kollagen, einigen kleineren Matrixproteinen sowie Proteoglykanen (Gundberg, 2000). Abhängig vom Stadium des Formations- bzw. Reifungsprozesses unterscheidet man drei Parameter, die im jeweiligen Stadium überwiegend ausgeschüttet oder freigesetzt werden. In der Phase der Knochenformation durch die Osteoblasten sind die Typ I Prokollagen Propeptide der vorherrschende Biomarker. Während der anschließenden Reifung produzieren die Osteoblasten die knochenspezifische alkalische Phosphatase, die ins Blut abgegeben wird und dort nachgewiesen werden kann. Am Mineralisationsprozess, der für die Stabilität der Knochen verantwortlich ist, ist das Osteocalcin wesentlich beteiligt (Eriksen *et al.*, 1995).

2.1.1 Parameter der Knochenformation

2.1.1.1 Typ I Prokollagen Propeptide (PICP, PINP)

Kollagen ist mit ca. 90 % das vorherrschende Protein in der organischen Matrix des Knochens (Cormier, 1995). 97 % dieses Kollagens besteht aus Typ I Kollagen. Es wird von den Osteoblasten als Typ I Prokollagen synthetisiert und in den Extrazellulärraum abgegeben, in dem sowohl das N- (PINP) als auch das C- (PICP) terminale Propeptid durch spezifische Endopeptidasen abgespalten wird (Abbildung 1).

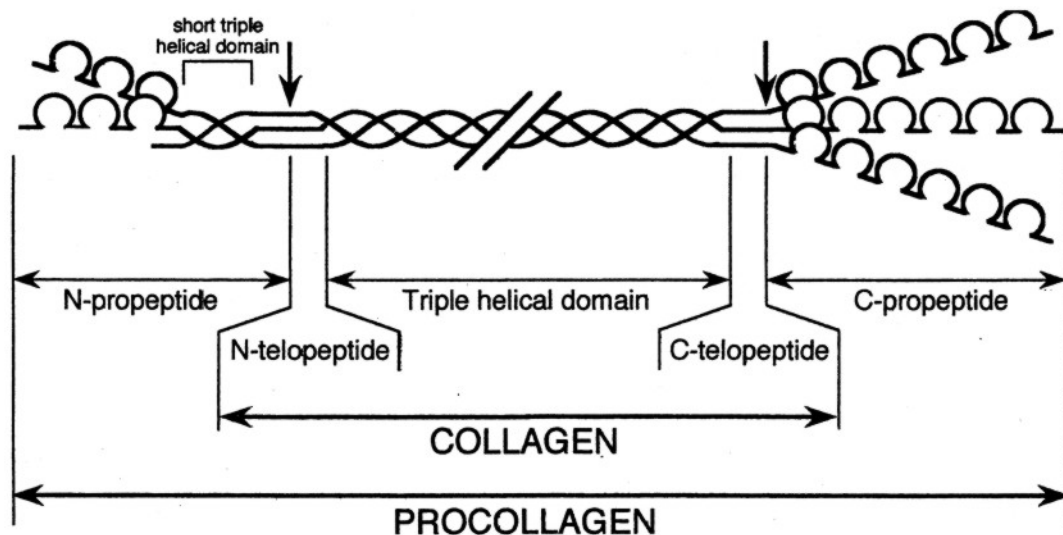


Abbildung 1: Schematische Darstellung des Typ I Kollagenmoleküls. Vertikale Pfeile zeigen die Spaltungsstellen zwischen dem reifen Kollagenmolekül, den N- und C-Telopeptiden (Rossert *et al.*, 2002).

Die freigesetzten Propeptide werden in einem stöchiometrischen Verhältnis von 1:1 in das zirkulierende Blut abgegeben und von dort aus schnell durch Aufnahme in die Leber durch den Mannose-6-Phosphat-Rezeptor endothelialer Zellen gereinigt (Pedersen *et al.*, 1995; Schonau *et al.*, 1997; Caillot-Augusseau *et al.*, 1998; Schmolke, 2001; Smedsrod *et al.*, 1990). Jedes Typ I Kollagen-Molekül besteht aus zwei $\alpha 1$ -Ketten und einer $\alpha 2$ -Kette, die zu einer Trippelhelix ineinander verschlungen sind (Rossert *et al.*, 2002). Das C-terminale Propeptid, ein trimäres globuläres Glykoprotein, wird durch Disulfid-Brücken stabilisiert und zirkuliert als einzelnes Molekül im Blut. Das N-terminale Propeptid dagegen weist sowohl helikale als auch globuläre Strukturen auf und zirkuliert hauptsächlich als trimerisches Molekül, aber auch als Monomer im Blut (Brandt *et al.*, 1999). Unmittelbar nach Abspaltung der Propeptide lagern sich die Kollagenmoleküle spontan zu Kollagenfibrillen zusammen und werden in die extrazelluläre Knochenmatrix eingebaut (Schmolke, 2001).

2.1.1.2 Knochenspezifische alkalische Phosphatase (bAP)

Die alkalische Phosphatase gehört mit ihren Isoenzymen in Leber, Knochen, Niere, Intestinum und Plazenta zu einer großen Gruppe von Proteinen die durch einen carboxyterminalen Glykanphosphatidylinositol-Anker an die extrazelluläre Oberfläche von Zellmembranen geheftet sind (Low *et al.*, 1988). Den AP-Isoenzymen der Leber

und des Knochens liegt das gleiche Gen zugrunde, sie unterscheiden sich lediglich in dem Grad der posttranslationalen Glykosylierung. Die knochenspezifische alkalische Phosphatase wird von den Osteoblasten während der Knochenneubildung in großen Mengen produziert und ist dort an der Plasmamembran lokalisiert. Durch die Phospholipase C und D wird das ursprünglich als Homotetramer vorliegende Glykoprotein gereinigt und als Dimer in den Blutkreislauf abgegeben. Das im Serum zirkulierende Dimer besitzt zwei aktive Seiten, wovon jede zwei Zink-Atome sowie ein Magnesium-Atom besitzt (Gundberg, 2000).

Die alkalische Phosphatase ist in der Lage, Monophosphatester zu spalten (Pfeilschifter, 1990). Die genauen Mechanismen für die Beteiligung der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase im Mineralisationsprozess sind bisher nicht bekannt. Es werden verschiedene Möglichkeiten der Wirkungsweise diskutiert, z.B. ein Anstieg der lokalen Konzentration von anorganischem Phosphat, die Zerstörung von lokalen Inhibitoren des Knochenkristallwachstums, der Transport von Phosphat, als Calcium-bindendes Protein, als Calcium/Magnesium-ATPase oder als Tyrosin-spezifische Phosphoproteinphosphatase (Whyte, 1994).

2.1.1.3 Osteocalcin (Ocal)

Osteocalcin, auch „bone gla protein“ genannt, ist ein kleines Protein (49 AS), das von Odontoblasten, hypertrophierenden Chondrozyten und reifen Osteoblasten während der Matrixmineralisationsphase synthetisiert wird (Caillot-Augusseau *et al.*, 1998; Gundberg, 2000). Es ist nach dem Typ I-Kollagen das quantitativ bedeutendste, nichtkollagene Protein der organischen Matrix (Garnero *et al.*, 1997; Schmolke, 2001; Vergnaud *et al.*, 1997). Charakteristisch sind zum einen die drei γ -Carboxy-Glutaminsäuren (Gla), die in der sog. „Gla-Helix“ eine kompakte, calciumabhängige alpha-helikale Konformation einnehmen. Zum anderen ist das sog. COOH-terminale „ β -Faltblatt“ für die chemotaktische Aktivität gegenüber Monozyten verantwortlich, den mutmaßlichen Vorläuferzellen der Osteoklasten (Gundberg, 2000; Hauschka, 1986). Vitamin K-abhängig kommt es im Knochen zu einer direkten Interaktion zwischen Hydroxylapatit und Gla-Resten des Osteocalcins. Somit verbleibt der Hauptanteil des synthetisierten Osteocalcins in der Knochenmatrix. Ein kleiner Teil wird in das Blut abgegeben, wo es als sensibler und spezifischer Parameter der Knochenformationsaktivität nachgewiesen werden kann

(Cormier, 1995). Das Protein unterliegt im Blut einer raschen proteolytischen Biodegradation, so dass hier neben dem erwünschten intakten Ocal auch noch mehrere Fragmente (N-terminal, mitregional, C-terminal) zirkulieren. Eine rasche Weiterverarbeitung des Serums nach der Blutentnahme ist daher unerlässlich (Schmolke, 2001).

2.1.2 Parameter der Knochenresorption

Zur Diagnostik der Knochenabbauvorgänge werden heute neben der Calciumausscheidung im Urin und der Tartratresistenten sauren Phosphatase als spezifisches Osteoklastenzym die knochenmatrixassoziierten Abbauparameter bestimmt. Hierzu gehören die Pyridinoline und Desoxypyridinoline, die Telopeptide mit den Quervernetzungselementen sowie das Hydroxyprolin. Letzteres besitzt nur unter bestimmten standardisierten Bedingungen eine Aussagekraft und findet daher kaum noch Anwendung (Garnero *et al.*, 1997; Weaver *et al.*, 1996).

2.1.2.1 Calciumausscheidung im Urin

Die Calciumexkretion im Urin gilt als Parameter für die Knochenresorption, weil bei einem erhöhten Abbau von Knochensubstanz Calcium aus dem Knochen freigesetzt wird. Da die Calciumexkretion im Urin ebenfalls durch alimentäre Einflüsse und die Einnahme bestimmter Medikamente beeinflusst werden kann, müssen diese berücksichtigt werden.

2.1.2.2 Tartratresistente saure Phosphatase (TRAP)

Die tartratresistente saure Phosphatase befindet sich in hoher Konzentration in den Osteoklasten und wird von diesen im Zuge der Knochenresorption gezielt in den Raum zwischen Knochenoberfläche und Osteoklastenmembran freigesetzt. Die im Blut messbare gesamte saure Phosphatase setzt sich aus vielen Isoenzymen zusammen, die überwiegend aus den Knochen, der Prostata, den Blutzellen sowie der Milz stammen. Die TRAP kommt in zwei Subisoformen vor, die mit 5a und 5b bezeichnet werden. Charakteristisch für Osteoklasten ist nur die Isoform 5b. Da die TRAP bei Raumtemperatur und alkalischem pH-Wert innerhalb kürzester Zeit

deutlich an Aktivität einbüßt, konnte sie sich lange Zeit in der Routinediagnostik nicht durchsetzen (Cormier, 1995; Garnero *et al.*, 1997; Nakasato *et al.*, 1999; Schmolke, 2001). Neuere Nachweisverfahren zeigen jedoch sehr viel versprechende Ergebnisse, so dass die TRAP mittlerweile als spezifischer Marker der Osteoklastentätigkeit eingesetzt wird (Halleen *et al.*, 2001).

2.1.2.3 Pyridiniumcrosslinks Pyridinolin (PYD), Desoxypyridinolin (DPD)Telo peptide des Typ I Kollagens (NTX, CTX)

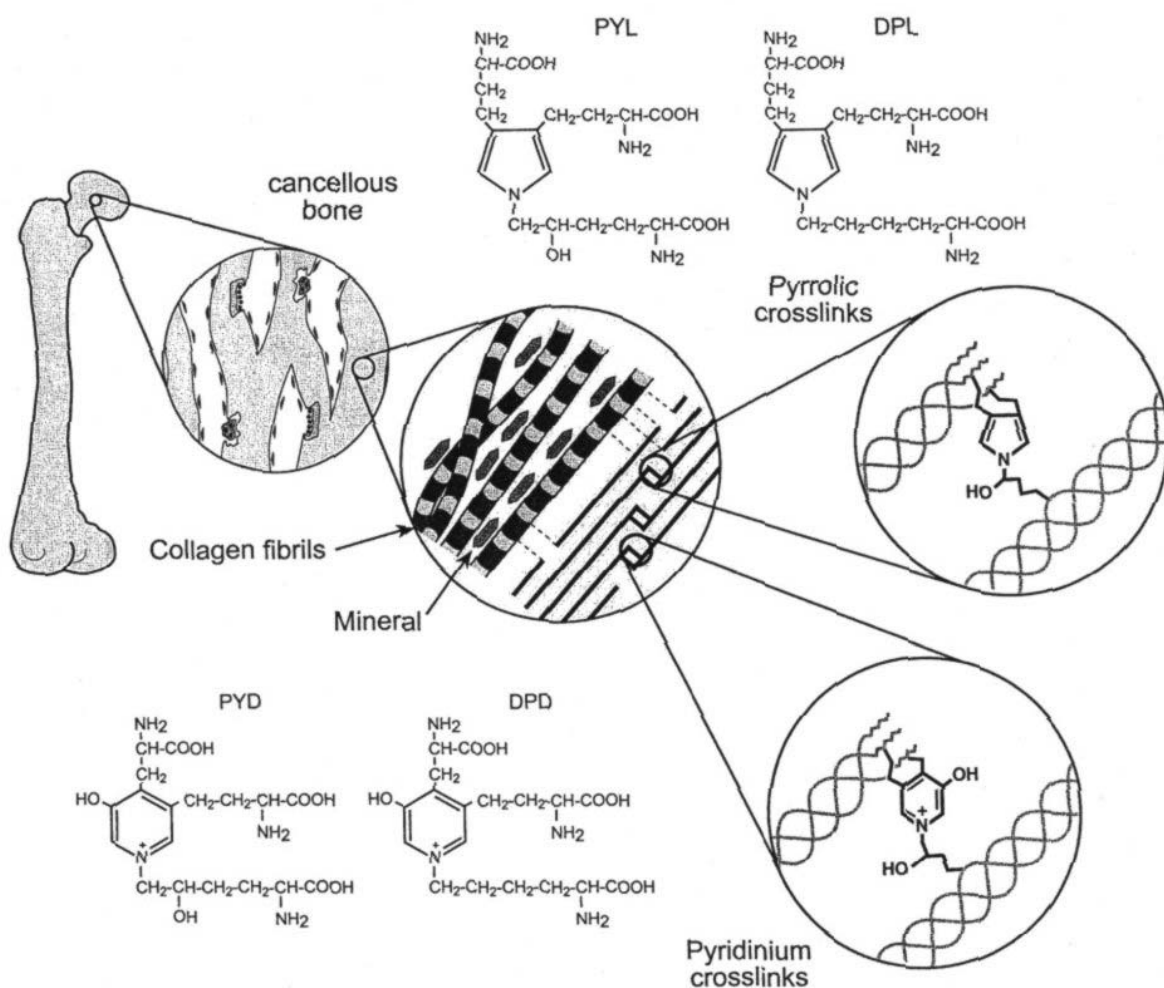


Abbildung 2: Darstellung der Quervernetzungen im Knochenkollagenmolekül, die während der Resorptionsprozesse freigesetzt werden (Robins *et al.*, 2002)

Pyridinolin (PYD, Hydroxylslylpyridinolin) und Desoxypyridinolin (DPD, Lslylpyridinolin) werden während der Reifung der Kollagenmatrix gebildet, indem die Lysinoxidase Lysin- oder Hydroxylslylreste benachbarter Kollagenmoleküle

kondensiert. Dadurch erhalten die Kollagenfibrillen ihre strukturelle Stabilität. Diese Quervernetzung findet zwischen den Aminosäuren der helikalen Region und den Resten der nichthelikalen amino- (N) und carboxy- (C) terminalen Regionen, Telopeptide genannt, statt (Kuehnel, 1995).

Während der osteoklastischen Resorptionsphase werden die Matrixkollagene proteolytisch abgebaut und die Quervernetzungsprodukte Pyridinolin und Desoxypyridinolin sowie die Telopeptide in die Blutzirkulation freigesetzt und unverändert im Urin ausgeschieden. Hier liegen etwa 60-70 % der PYD und DPD peptidgebunden vor (Garnero *et al.*, 1997, Akesson, 1995). Bei einem Knochenabbau werden die Telopeptide ebenso wie PYD und DPD freigesetzt und können im Urin respektive Blut nachgewiesen werden.

Während DPD praktisch ausschließlich im Typ I-Kollagen des Knochens vorkommt, wird PYD auch im Knorpel und in geringen Mengen in Bändern, Sehnen, Dentin und Aortengewebe gefunden (Garnero *et al.*, 1997; Kuehnel, 1995; Schmolke, 2001).

Die Bestimmung der Pyridiniumderivate und Telopeptide wird derzeit als beste Methode für die Erfassung der Knochenresorptionsaktivität angesehen. Sie werden weder weiter metabolisiert noch von der Nahrung beeinflusst (Robins, 1995). Eine maximale Aussagekraft kann dann erreicht werden, wenn die Blutabnahmen standardisiert zum gleichen Zeitpunkt erfolgen. Schwankungen, die sich durch die zirkadiane Rhythmik dieser Parameter ergeben, können dadurch minimiert werden (Russell, 1997; Schonau *et al.*, 1997).

2.1.3 Parameter zur Bestimmung der Körperzusammensetzung

2.1.3.1 Bioelektrische Impedanz-Analyse (BIA, Body Impedance Analysis)

Bei der Bioelektrischen Impedanz-Analyse handelt es sich um ein Verfahren zur Bestimmung der Körperzusammensetzung auf der Grundlage der Drei-Kompartiment-Messung. Neben der Fettmasse kann eine Unterteilung der Magermasse in Körperzellmasse und extrazelluläre Masse gemacht werden. Die Methode basiert auf der Leitfähigkeit einer angelegten elektrischen Wechselspannung innerhalb des Organismus. Hoch leitfähige, fettfreie Gewebe, die große Mengen an Wasser und Elektrolyten enthalten, ergeben im Gegensatz zum Fettgewebe eine niedrige Impedanz. Zellmembranen dagegen verhalten sich wie

elektrische Kondensatoren und bauen damit einen kapazitiven Widerstand auf. Mit Hilfe einer speziellen Software können die verschiedenen Körperkompartimente (Körperwasser, Körperfett, fettfreier Masse, Körperzellmasse und extrazellulärer Masse) während oder nach der Messung berechnet werden (Fischer *et al.*, 1991; Leweling, 1995).

Anwendung findet das Verfahren vor allem für die Beurteilung des Ernährungszustandes bei Gesunden sowie bei Patienten mit verschiedenen Erkrankungen, wie z.B. Tumorpatienten oder Leberzirrhose (Angaben des Herstellers; Smith *et al.*, 2002). Neben der quantitativen Bestimmung des Körpergewichtes können BIA-Verlaufsmessungen dazu dienen, die Art der Gewichtszu- oder -abnahme zu spezifizieren.

Als Hauptkritikpunkt an der Methode wird die unzureichende Übereinstimmung zwischen den Daten der BIA und Referenzmethoden bei einzelnen Patientengruppen bzw. zwischen verschiedenen ethnischen Gruppen genannt (Snijder *et al.*, 1999; Birmingham *et al.*, 1996 ; Deurenberg *et al.*, 2002). Da jedoch auch andere Verfahren zur Bestimmung der Körperzusammensetzung untereinander nicht oder nur schwer vergleichbar sind (Treuth *et al.*, 2001; Ellis *et al.*, 1998), wurde in der vorliegenden Studie die Methode der BIA gewählt. Sie hat sich in der Vergangenheit als einfach und schnell durchzuführende, nichtinvasive Anwendung bewährt, ohne das die Probanden oder Patienten einer Strahlenbelastung ausgesetzt werden. Dies ist in Hinblick auf jugendliche Kollektive von besonderer Wichtigkeit. Durch die zusätzliche Widerstandsbestimmung bei niedrigen Frequenzen (1 oder 5 kHz) ist eine Unterteilung des Ganzkörperwassers in intra- und extrazelluläres Wasser möglich. Veränderungen des Hydratationsstatusses, wie sie z.B. bei Patienten mit Magersucht vorkommen, können somit erfasst werden. Polito *et al.* (Polito *et al.*, 1998) zeigten in einer Studie, dass die Wasserverteilung im anorektischen Körper unterhalb eines BMIs von 14 kg/m^2 abnormal ist. Oberhalb dieses Wertes soll die Wasserverteilung mit denen von gesunden Kollektiven vergleichbar sein. Die Formeln, die der computergestützten Berechnung der Körperzusammensetzung zugrunde liegen, finden somit auch bei magersüchtigen Patientinnen Anwendung.

2.1.3.2 Bestimmung der Knochendichte mittels DXA (Dual Energy X-ray Absorptiometry)

Die radiologische Diagnostik der Osteoporose stützt sich im Wesentlichen auf die Osteodensitometrie (Felsenberg *et al.*, 1996). Die Weltgesundheitsorganisation definierte die Erkrankungen der Osteopenie und Osteoporose vor einigen Jahren nach rein densitometrischen Kriterien (Kanis *et al.*, 1994). Die Bestimmung der Knochendichte mittels DXA ist heute die am weitesten verbreitete Methode. Das Verfahren beruht darauf, dass unterschiedliche Materialien Röntgenstrahlen energieabhängig unterschiedlich schwächen. Knochenapatit absorbiert bei niederenergetischer Strahlung deutlich mehr als Weichteilgewebe. Aus der Differenz der Schwächungswerte durch die zwei verschiedenen Strahlungsenergien kann auf die Materialzusammensetzung zurück geschlossen werden (Felsenberg *et al.*, 1999). Im Unterschied zu den sog. Schnittbildverfahren, (z.B. periphere quantitative Computertomographie) wird hier der Knochenmineralgehalt nicht pro Volumen (cm^3), sondern pro Fläche (cm^2) bestimmt (Felsenberg *et al.*, 1999). Der Knochen wird somit nicht dreidimensional sondern lediglich zweidimensional dargestellt (Kann, 2001; Seeman, 2002). Eine Trennung von kortikalem und trabekulärem Knochen ist nicht möglich, da bei diesem Verfahren die trabekulären Strukturen durch die kortikalen Anteile „verdeckt“ werden. Bei Knochen, die einen nahezu runden Querschnitt aufweisen, kann die DXA-Messung jedoch recht genau den Gesamtknochenmineralgehalt abschätzen (Rauch *et al.*, 2001). Das Risiko, aufgrund der zweidimensionalen Messung die dreidimensionale Struktur und Knochendichte falsch einzuschätzen, ist bei einem annähernd runden Querschnitt minimiert.

Bei der Beurteilung der Ergebnisse müssen einige Faktoren beachtet werden, damit eine Aussage über den Zustand des Knochens getroffen werden kann. Sollen die Referenzwerte des jeweiligen Geräteherstellers verwendet werden, muss berücksichtigt werden, dass sich die Referenzdaten auf eine meist „amerikanische Durchschnittspopulation“ beziehen. Messungen in anderen Kulturen oder bei kleineren oder größeren Menschen können zu Falscheinschätzungen führen (Gurlek *et al.*, 2000). Kleine Frauen z.B. werden aufgrund ihrer Knochendichtemessung häufig als osteoporotisch eingestuft, da sie kleinere Knochen und somit eine geringere „Dichte“ aufweisen. Bezieht man die Größe mit ein bzw. berechnet den

Knochenmineralgehalt bezogen auf das Knochenvolumen, ergeben sich Werte, die im Normalbereich liegen.

Sollen die Messungen bei Kindern durchgeführt werden, ist zusätzlich zu beachten, dass bei Jungen und Mädchen ein individuell unterschiedliches Längen- und Größenwachstum der Knochen stattfindet. Das heißt, dass geometrische Veränderungen im Knochen durch die Knochendichtemessung eventuell nicht erkannt werden (Seeman, 2002). Dennoch ermöglicht die DXA-Messung, gerade auch im Rahmen von Verlaufsmessungen, wichtige Aussagen über Knochenmineralmasseverlust oder –zuwachs (Bonjour, 1998). In der Praxis wird die Methode hauptsächlich an den Lendenwirbeln (L1-L4), dem proximalen Femur oder dem kompletten Skelett angewandt (Inoue *et al.*, 1997). Als Vorteil dieses Analyseverfahrens ist zu nennen, dass es sich um ein nichtinvasives Verfahren handelt, bei dem die Strahlenbelastung als gering und die Dauer der Messung als kurz einzustufen ist (Southard *et al.*, 1991).

2.1.4 Weitere Einflussgrößen des Knochenstoffwechsels

2.1.4.1 Insulin-like Growth Factor I (IGF-I)

IGF-I gehört wie IGF-II zu der Familie der insulin-ähnlichen Wachstumsfaktoren (auch als Somatomedine bezeichnet). Beide weisen eine Polypeptidstruktur auf, die eine strukturelle Homologie zum Pro-Insulin zeigt (Zapf *et al.*, 1986). Durch die *de novo*-Synthese in den Knochenzellen stellt das Skelett neben der Leber die Hauptquelle für IGF-I und –II dar. Daneben werden Somatomedine während der aktiven Knochenresorption durch die Knochenmatrix freigesetzt. Die Serumkonzentrationen werden im Wesentlichen durch das Wachstumshormon (GH) und durch die Nahrungsaufnahme reguliert. Des Weiteren spielen Parathormon, Östrogene, Prostaglandine, Glucocorticoide, weitere Wachstumsfaktoren, extrazelluläres Calcium, Cytokine, u.a. eine regulierende Rolle (Conover *et al.*, 2002). Neben der Proteinsynthese und dem Körperwachstum (Thissen *et al.*, 1994) agiert IGF-I durch eine Stimulation des Typ-II IGF-I Rezeptors und fördert somit die Kollagensynthese durch die Osteoblasten (Grinspoon *et al.*, 2002). IGF-I reagiert sensitiv auf veränderte Nährstoffzufuhr und wird daher als ein zuverlässiger Parameter zur Bestimmung des Ernährungszustandes insbesondere bei

Mangelernährung angesehen (Caregaro *et al.*, 2001; Hill *et al.*, 1993; Stoving *et al.*, 1999; Thissen *et al.*, 1994). Während einer Malnutrition entwickeln Patienten eine Resistenz gegenüber dem Wachstumshormon (GH), was zu einer Abnahme des IGF-I-Spiegels und somit zu einer verminderten Kollagenformation führt (Grinspoon *et al.*, 1996a; Hotta *et al.*, 2000; Stoving *et al.*, 1999). Auf der anderen Seite führt eine Erhöhung der Nahrungsaufnahme bei Patientinnen mit Anorexia nervosa zu einer Erhöhung der IGF-I-Konzentration im Serum und damit zu einer Zunahme der Kollagen- und Knochenbildung (Grinspoon *et al.*, 2002).

2.1.4.2 Leptin

Das körpereigene Hormon Leptin ist das Produkt des *ob*-Gens, das hauptsächlich in den Adipozyten des weißen Fettgewebes synthetisiert wird. Neben der Rolle in der Regulation des Energiestoffwechsels, der Reproduktion und der Hormone der Nebennierenrinde, wird in letzter Zeit auch ein Einfluss auf die Knochenregulation diskutiert (Whitfield, 2001; Felsenberg *et al.*, 1999; Thomas *et al.*, 2002).

Whitfield fasste die Untersuchungen verschiedener Arbeitsgruppen in einem Modell des „dualen Mechanismus“ zusammen, in dem ein direkter und indirekter Einfluss des Leptins auf die Zellen des Knochenstoffwechsels beschrieben wird (Abbildung 3, (Whitfield, 2001)). Danach wirkt Leptin zum einen nach Überschreiten der Blut-Hirn-Schranke, indem es nach Bindung an die Leptinrezeptoren des Hypothalamus die Freisetzung eines sog. Osteoblasten-inhibierenden Faktors (HOBIF: Hypothalamic Osteoblast Inhibiting Factor) stimuliert. Dieser Inhibitor HOBIF konnte bisher noch nicht näher beschrieben werden. Seine Funktion soll eine Hemmung der Osteoblastentätigkeit sein, was zu einer Einschränkung der Knochenformation führt (Amling *et al.*, 2000; Amling *et al.*, 2001b). Zum anderen wird dem Leptin eine direkte Stimulation der Osteoblasten zugeschrieben, in dem sich Leptin an osteoblastäre Leptinrezeptoren bindet und dort über die Kollagensynthese einen Knochenaufbau unterstützt (Thomas *et al.*, 1999).

Ein dritter Weg erschließt sich über den Einfluss von Leptin auf die GnRH- (Gonatotropin Releasing Hormone) Freisetzung über die Hypthalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse. Es kommt zu einer vermehrten Produktion von Östrogenen, die die Osteoklastentätigkeit beeinflussen.

Inwieweit die hauptsächlich im Maus- und Rattenmodell beschriebenen Ergebnisse auf den Menschen übertragbar sind, bleibt in weiteren Studien zu klären.

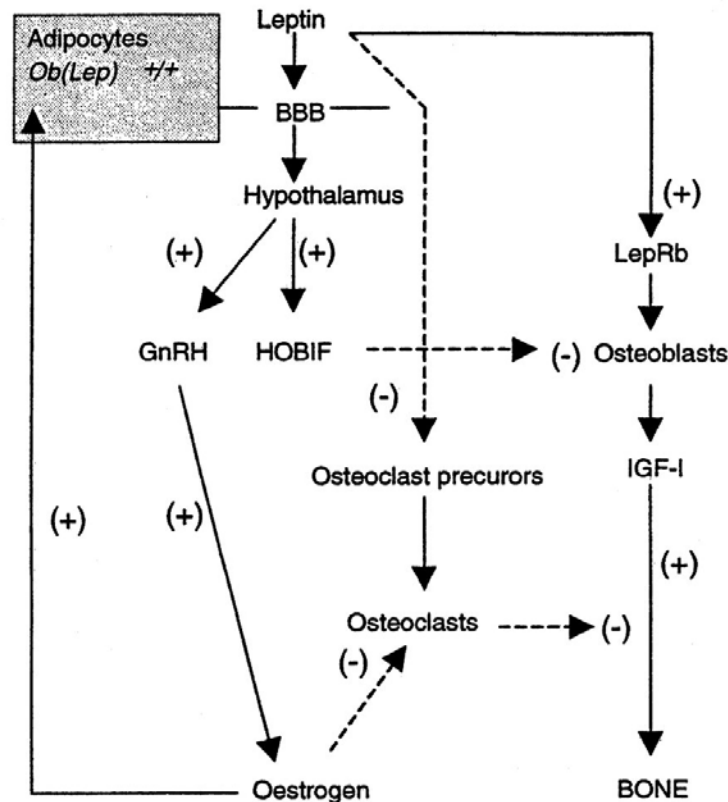


Abbildung 3: Modell des Dualen Mechanismus (Whitfield, 2001). BBB = Blut-Hirn-Schranke; HOBIF = Hypothalamischer Osteoblasten-hemmender Faktor

2.1.4.3 Dehydroepiandrosteron (DHEA) Dehydroepiandrosteron-Sulfat (DHEAS)

Dehydroepiandrosteron stellt eine Vorstufe der Androgene dar und wird im Körper aus Cholesterin über die Zwischenstufe Pregnenolon gebildet. An Sulfat gebunden zirkuliert es als DHEAS im Blut in bis zu 1.000-fach höherer Konzentration als DHEA. Als Steroidvorläufer kann es im peripheren Gewebe zu Östrogen aromatisiert werden. Bei normalem Wachstum steigt die Sekretion während der Adoleszenz parallel zur Knochenmasse bis zur 3. Dekade an und erreicht dann eine max. Konzentration. Patienten mit Anorexia nervosa weisen verminderte Spiegel an DHEAS auf, die vorpubertäre Werte nicht übersteigen (Gordon *et al.*, 1999).

In einigen Studien bei Erwachsenen wurde eine positive Korrelation zwischen der DHEA-Konzentration im Blut und der Knochendichte gefunden, so dass man davon ausgeht, dass es eine wichtige Rolle in der Knochenanlagerung spielen könnte (Steinberg *et al.*, 1989; Taelman *et al.*, 1989).

2.1.5 Regulation des Calciumstoffwechsels

Der Gesamt-Calciumgehalt des Körpers beträgt beim Menschen 1-1,5 kg. 99 % dieses Calciums sind im Skelett eingebunden, das verbleibende Calcium befindet sich im Interstitium und im Plasma. Die Konzentration an ionisiertem Calcium, die für viele Lebensprozesse von größter Bedeutung ist, liegt bei 1,3 mmol/L in der extrazellulären Flüssigkeit und etwa 10.000-mal niedriger in der intrazellulären Flüssigkeit. Geringe Veränderungen der Calcium-Konzentration haben daher eine große Signalwirkung und werden durch das Zusammenwirken von Niere, Interstitium und Knochen eng reguliert. Es findet ein dynamischer Austausch von Calcium statt, der hauptsächlich durch die sog. Calcium-regulierenden Hormone Parathormon (PTH) der Nebenschilddrüse, Calcitonin der C-Zellen der Schilddrüse und Calcitriol der Niere gewährleistet wird. Die Aufgabe dieser Hormone ist es somit einerseits, die Plasma-Calcium-Konzentration konstant zu halten und andererseits eine ausgeglichene Calcium-Phosphat-Bilanz zu gewährleisten, was eine wichtige Voraussetzung für die ausreichende Mineralisierung des Knochens darstellt. Akut hat die Konstanthaltung des Plasma-Calciumspiegels absolut Vorrang (Deetjen *et al.*, 1994).

2.1.5.1 Parathormon

Parathormon, ein Peptid mit 84 Aminosäuren, wird von der Nebenschilddrüse ausgeschüttet, wenn die Plasma-Calcium-Konzentration absinkt. Um die Konzentration an ionisiertem Calcium im Blut aufrecht zu erhalten, kommt es zu einer Mobilisierung von Calcium aus dem Knochen und einer Stimulation der Calciumresorption im distalen Tubulus der Niere. Gleichzeitig findet eine Hemmung der renalen Resorption von Phosphat und Bikarbonat statt, um ein Ausfällen von Calcium-Phosphat und eine metabolische Alkalose zu verhindern. Eine indirekte Wirkung des PTH ergibt sich aus der Stimulation der renalen Vitamin D-1-

Hydroxylase, die zu einer vermehrten Ausschüttung von 1,25(OH)₂Vitamin D₃ führt. Dadurch wird die Calciumabsorption aus dem Darm erhöht. (Deetjen *et al.*, 1994; Holick, 1996; Hodsman *et al.*, 2002). Zelluntersuchungen haben gezeigt, dass das aminoternale Drittel (1-34) des PTH-Moleküls in Bezug auf den Knochen die Hauptaktivität besitzt. Die in den Osteoblasten lokalisierten PTH-Rezeptoren erkennen die Anfangsstruktur des PTH-Moleküls und setzen damit eine über cAMP-Proteinkinase A vermittelte Wirkkaskade in Gang, an der u.a. die Somatomedine, deren Bindungsproteine sowie TGF-β (Transforming Growth Factor β) beteiligt sind. Es kommt zu einer vermehrten Synthese von IGF-I, IGF-II und TGF-β. Diese können an die Kollagenmatrix des Knochens binden und dort als eine Art Wachstumsfaktordepot dienen, das bei Bedarf abgerufen werden kann.

Bisher wurden keine PTH-Rezeptoren in Osteoklasten nachgewiesen. Daher wird vermutet, dass auch die von PTH stimulierte osteoklastäre Knochenresorption während des Knochen-„remodeling“-Zyklus über Osteoblasten vermittelt wird. Die genauen zellulären Mechanismen sind jedoch bisher nicht bekannt (Hodsman *et al.*, 2002).

2.1.5.2 Calcitriol

In der Haut kommt es durch Bestrahlung mit UVB-Photonen (290 – 315 nm) zu einer Umwandlung von 7-Dehydrocholesterol zu Prävitamin D₃. Im Anschluss daran erfolgt eine thermisch induzierte Isomerisation zu Vitamin D₃. Auf diese Weise gebildetes (zwischen 80 und 90 %) oder mit der Nahrung aufgenommenes Vitamin D (maximal 10 bis 20 %) wird in der Leber durch die 25-Hydroxylase zu 25-OH-Vitamin D metabolisiert. In den Nieren findet eine weitere Hydroxylierung durch die 25-OH-D-1α-Hydroxylase zur biologisch aktiven Form, dem 1,25 (OH)₂-Vitamin D statt. Eine Aufgabe des aktiven Vitamin D ist eine Aufrechterhaltung des Serum-Calciumspiegels in normalen physiologischen Grenzen, um neuromuskuläre und zelluläre Funktionen zu gewährleisten. Dies geschieht durch gezielte Erhöhung der intestinalen Calciumabsorption (Heaney *et al.*, 2000) sowie durch Mobilisation von Stammzellen, aus denen sich Osteoklasten entwickeln, die Calcium aus dem Knochen mobilisieren. Des Weiteren stimuliert Vitamin D die Synthese von nichtkollagenen Proteinen wie Osteocalcin, Osteopontin und Osteonectin, steigert die

Aktivität der alkalischen Phosphatase und mindert die Kollagensynthese (Holick, 1996).

Da 25-OH-D die prädominant zirkulierende Form von Vitamin D ist, gilt es als der verlässlichste Anzeiger des Vitamin D-Haushaltes. Eine Beurteilung des Vitamin D-Statuses erfolgt daher hauptsächlich über die Bestimmung des 25-OH-D.

2.1.5.3 Calcitonin

Calcitonin, ein Peptid aus 32 Aminosäuren, wird bei Anstieg der Plasma-Calcium-Konzentration von den C-Zellen der Schilddrüse ausgeschüttet und senkt die Plasmakonzentration von Calcium und Phosphat durch Hemmung der enteralen und renalen Resorption sowie durch Förderung der Knochenmineralisierung (Deetjen *et al.*, 1994).

2.2 Anorexia nervosa

Anorexia nervosa wird definiert als ein selbstverursachter bedeutsamer Gewichtsverlust oder eine unzureichende altersentsprechende Gewichtszunahme, die mit einer tief verwurzelten Überzeugung einhergeht, trotz Untergewichts zu dick zu sein (American Psychiatric Association, 1997; Dilling *et al.*, 1991).

Als Leitsymptom der Magersucht gilt ein Körpergewicht unterhalb von 85 % des zu erwartenden Gewichtes (BMI < 10. Altersperzentile bzw. BMI < 17,5 kg/m² bei Mädchen in der Adoleszenz). Es bestehen trotz eines akuten Untergewichtes große Ängste vor einer Gewichtszunahme oder davor, übergewichtig zu werden. Charakteristisch ist eine Störung in der Wahrnehmung der eigenen Figur und des Körpergewichtes. Der Gewichtsverlust wird selbst induziert durch Nahrungsverweigerung, Erbrechen, Einnahme von Laxantien bzw. Appetitzüglern oder übertriebene körperliche Aktivität (American Psychiatric Association, 1997; Dilling *et al.*, 1991).

In den USA ist die Magersucht nach Asthma und Übergewicht zur dritthäufigsten chronischen Erkrankung bei jugendlichen Mädchen geworden (Lucas *et al.*, 1991). Epidemiologische Schätzungen gehen davon aus, dass 0,5 bis 3,7 % der Jugendlichen und jungen Frauen im Alter zwischen 15 und 24 Jahren von dieser Krankheit betroffen sind (Andersen *et al.*, 2000; Lucas *et al.*, 1991; Walsh *et al.*, 1998;

Walsh *et al.*, 2000). Etwa 10 % der Patienten mit Magersucht sind männlich (Andersen *et al.*, 1997; Andersen *et al.*, 2000).

Eine der wichtigsten Folgen im Langzeitverlauf der Anorexie ist eine Abnahme der Knochenmineraldichte, die zu Spontanfrakturen führen kann. Die Ursachen und Mechanismen, die diesen Knochenverlust hervorrufen, konnten bisher nicht eindeutig geklärt werden, scheinen aber multifaktoriell zu sein (Lennkh *et al.*, 1999; Treasure *et al.*, 2001). Beschrieben werden folgende, den Knochenstoffwechsel beeinflussenden Beobachtungen:

- Reduzierte Östrogensynthese; primäre oder sekundäre Amenorrhoe
- Resistenz gegenüber Wachstumshormon (GH)
- Verminderte IGF-I-Produktion
- Erhöhte Plasma-Cortisolspiegel
- Verminderte Leptinkonzentration

Mehr als 50 % der weiblichen Patienten mit Magersucht leiden unter einer Osteopenie oder Osteoporose (Grinspoon *et al.*, 1996a). Dadurch erhöht sich das Frakturrisiko um das 2,9- bis 7-fache (Lucas *et al.*, 1999; Rigotti *et al.*, 1991).

Anorexia nervosa ist eine Erkrankung, die häufig im Jugendalter auftritt. Die Adoleszenzzeit ist für die Knochenentwicklung ein wichtiger Abschnitt, da in dieser Phase der Knochenaufbau erfolgt und die maximale Knochendichte, die sog. „peak bone mass“ erreicht wird. Dabei ist die „peak bone mass“ das Ergebnis einer Interaktion von endogenen (genetisch, endokrin) und exogenen (Ernährung, körperliche Aktivität) Faktoren (Matkovic, 1992). Innerhalb weniger Jahre kommt es während der Adoleszenzzeit (Tanner-Stadien 2 bis 5) zu einer Akkumulation von 37 % der Gesamtkörper-Knochenmasse (Matkovic *et al.*, 1994). Störungen dieser Prozesse beeinflussen die Knochendichte des ganzen späteren Lebens und sind meist irreversibel. Der Knochendichteverlust ist oft bereits nach kurzer Erkrankungsdauer beobachtbar und betrifft sowohl den kortikalen als auch den trabekulären Knochen (Bachrach *et al.*, 1990; Bruni *et al.*, 2000). Bei den Parametern des Knochenstoffwechsels wurde eine Zunahme der Knochenresorption und eine Abnahme der Formation und somit eine Entkopplung der Funktion von Osteoblasten und Osteoklasten aufgrund dieser Erkrankung festgestellt (Bruni *et al.*, 2000).

2.3 Potentielle Therapieansätze

2.3.1 Östrogene

Therapieansätze, wie z.B. die Gabe von Östrogenen, die bei der postmenopausalen Osteoporose Erfolge zeigen, werden in der Literatur kontrovers diskutiert. Östrogene wirken im Körper über viele verschiedene Wege. Im Knochen wird ein Einfluss sowohl auf Osteoklasten- als auch auf Osteoblastenebene beschrieben. Erhöhte Gabe von Östrogenen oder auch Eigensynthese führen in den Osteoklasten zu einer herabgesetzten Resorptionstätigkeit, einer verminderten Proliferation sowie zu vermehrtem Zelltod der Osteoklasten selber. Auf der anderen Seite wurde eine erhöhte Osteoblastenproliferation und -formation sowie eine erniedrigte Osteoblastenapoptosis festgestellt (Rickard *et al.*, 2002).

Robinson *et al.* fanden in einer Umfrage unter Ärzten heraus, die magersüchtige Patientinnen unter 18 Jahren behandeln, dass 77,6 % der Patientinnen eine Hormon-Ersatz-Therapie verschrieben wird (Robinson *et al.*, 2000). Bisherige Studien zeigen jedoch keine eindeutigen, positiven Ergebnisse, so dass bei dieser Patientinnengruppe von einer Hormon-Ersatz-Therapie, besonders auch aufgrund der zahlreichen Nebenwirkungen, abgeraten werden sollte (Bruni *et al.*, 2000; Golden *et al.*, 2002; Grinspoon *et al.*, 2002; Klibanski *et al.*, 1995; Munoz *et al.*, 2002).

2.3.2 Bisphosphonate (BP)

Eine weitere medikamentöse Behandlungsmöglichkeit ergibt sich durch die Gabe von Bisphosphonaten. Generell unterscheidet man zwei Arten von Bisphosphonaten. Zum einen die so genannten einfachen Bisphosphonate, zum anderen die Stickstoff enthaltenden Bisphosphonate. Obwohl die Wirkungsweisen der beiden Gruppen unterschiedlich sind, kommt es bei beiden zunächst zu einer Konzentration an den knochenresorbierenden Einheiten, wo sie in den Knochen eingebaut werden. Die einfachen Bisphosphonate werden von den Osteoklasten aufgenommen und führen durch mitochondriale Veränderungen und Synthese von toxischem ATP zum Osteoklastentod. Die N-enthaltenden Bisphosphonate verhindern die Protein-Prenylation in den Osteoklasten und sorgen damit für eine Einschränkung bzw. für

einen Verlust der Osteoklastenfunktion (Vortrag ASBMR 2002, M.J. Rogers: Molecular and cellular mechanisms of bisphosphonates).

Untersuchungen bei Magersüchtigen sind bisher nicht publiziert. In Bezug auf eine Behandlung von Magersüchtigen im Jugendalter sollte jedoch berücksichtigt werden, dass diese sich im Wachstum befinden. Generell ist die Wachstumsphase mit einem erhöhten Knochenumsatz verbunden, der eine hohe Knochenabbaurate einschließt. Wird diese durch die Gabe von Bisphosphonaten gehemmt, könnte sich das negativ auf die natürlicherweise stattfindenden Knochenumbauvorgänge auswirken. Der Knochen würde nicht in vollem Maße wachsen.

Die Effekte dieser Substanzen auf eine potentielle spätere Schwangerschaft sind bisher unbekannt. Diskutiert wird eine teratogene Wirkung. Bisphosphonate werden zunächst in den Knochen eingebaut, während einer Schwangerschaft aber möglicherweise in den Stoffwechsel freigesetzt, da für die Versorgung des Fetus Knochen resorbiert wird. Eine geringe Menge scheint die Plazenta zu erreichen und könnte somit dem Fetus schaden, indem es zu Skelettabnormalitäten kommen könnte. Prämenopausalen Frauen wird daher von einer Einnahme abgeraten (Treasure *et al.*, 2001; Fleisch *et al.*, 2002).

2.3.3 Insulin-like Growth Factor I (IGF-I)

Grinspoon *et al.* untersuchten die Auswirkungen einer rekombinanten humanen IGF-I-Gabe (30 oder 100 µg/kg Körpergewicht, Applikation zweimal täglich) auf den Knochenstoffwechsel von magersüchtigen Patientinnen über einen Zeitraum von 6 Tagen. Dosisabhängig stellten sie bei beiden Gaben eine Zunahme des Knochenaufbaumarkers PICP fest, während die Knochenresorption bei der geringeren Gabe von 30 µg/kg Körpergewicht unverändert blieb und bei 100 µg/kg Körpergewicht anstieg (Grinspoon *et al.*, 1996a).

2.3.4 Nährstoffversorgung (Calcium, Vitamin D und Protein)

Eine unzureichende Versorgung mit Calcium und Vitamin D führt bei Gesunden zu einer gesteigerten Knochenabbauaktivität und verhindert eine optimale Knochenformation (Heaney *et al.*, 2000; Matkovic *et al.*, 1990; Matkovic, 1992; Matkovic *et al.*, 1995). Hohe Calciumzufuhr und eine ausreichende Versorgung mit

Vitamin D während des Knochenwachstums führen zu einer größeren Knochenmasse als dies bei minderversorgten Kindern und Jugendlichen der Fall ist und sind somit für das Erreichen der genetisch determinierten „peak bone mass“ mit entscheidend (Bailey *et al.*, 2000; Bonjour *et al.*, 1997; Holick, 1996; Ilich *et al.*, 1997; Johnston, Jr. *et al.*, 1992; Lloyd *et al.*, 1993; Matkovic *et al.*, 1979; Matkovic, 1992; Matkovic *et al.*, 1995; Matkovic, 1996; McKenna *et al.*, 1997; Murray T.M, 1996; Sentipal *et al.*, 1991; Zamora *et al.*, 1999).

Bei dem Krankheitsbild der Magersucht kommt es im Zuge einer eingeschränkten Energiezufuhr auch zu einer verminderten Aufnahme aller anderen Nährstoffe. Ein Mangel an Nährstoffen könnte jedoch dazu führen, dass der anorektische Körper, sofern die Krankheit im Kindes- oder Jugendalter auftritt, die maximale Knochenmasse nicht aufbaut. Dies ist im Langzeitverlauf als sehr kritisch zu betrachten, da es vermehrt zu Knochenbrüchen kommen kann, die die Lebensqualität erheblich einschränken und für das Gesundheitssystem mit hohen Kosten verbunden sind. In Einzelfällen treten Knochenbrüche bereits ab einem Alter von Mitte 20 auf, so dass die Patientinnen kaum in der Lage sind, die Wohnung zu verlassen (persönliche Kommunikation mit einer behandelnden Ärztin).

Von essentieller Bedeutung sind für den Knochen vor allem die Proteine, das Calcium und Vitamin D. Letzteres auch deshalb, da es im Rahmen der Erkrankung immer wieder vorkommt, dass einzelne Patientinnen soziale Bindungen aufgeben, sich zurückziehen und infolgedessen kaum ans Tageslicht gelangen (persönliche Kommunikation mit Patientinnen). Als Folge kann es in diesen Fällen zu einer verminderten Eigensynthese an Vitamin D kommen.

Abrams *et al.* (Abrams *et al.*, 1993) zeigten in einer Studie mit jugendlichen Magersüchtigen, dass der Calciumstoffwechsel in der untersuchten Gruppe gestört war. Die Calciumabsorption lag bei einer Zufuhr von 1429 ± 197 mg/Tag unterhalb der des gesunden Kontrollkollektivs. Gleichzeitig wiesen die Patientinnen aufgrund einer erhöhten Freisetzung von Calcium aus dem Knochen eine vermehrte Calciumexkretionsrate auf. Die Gruppe schlussfolgerte aus ihren Ergebnissen, dass der Calciumbedarf von magersüchtigen Patientinnen erhöht ist. Eine gesteigerte Zufuhr von Calcium scheint notwendig, jedoch nicht auszureichend zu sein, um Verbesserungen in der Knochenmineralisation zu erreichen (Abrams *et al.*, 1993).

Die über einen längeren Zeitraum verminderte Proteinzufuhr bei magersüchtigen Patientinnen könnte ebenfalls einen negativen Einfluss auf den Knochen haben. Die Wirkung von Proteinen auf den Calcium- und Knochenstoffwechsel findet auf verschiedenen Ebenen statt. Neben der Bereitstellung von Substrat für die Knochenmatrix stimulieren Proteine die Produktion von IGF-I, welches wiederum die Osteoblasten-assoziierte Knochenformation unterstützt. Diese scheint bei anorektischen Patientinnen eingeschränkt zu sein. Zum anderen steigern Proteine die Calciumausscheidung über den Urin. Durch eine erhöhte Calciumzufuhr kann diese jedoch ausgeglichen werden (Dawson-Hughes, 2003).

Die Möglichkeit, durch eine kombinierte Ernährungstherapie auf den Knochenstoffwechsel bei Magersüchtigen einzuwirken, wird in der Literatur bisher kaum berücksichtigt. Einige Autoren beschreiben eine Zunahme der Knochendichte bei Patientinnen mit Anorexia nervosa nach Gewichtszunahme, wobei die genauen Mechanismen für diesen Prozess bisher unklar sind (Bachrach *et al.*, 1990; Caillot-Augusseau *et al.*, 2000; Hotta *et al.*, 1998; Klibanski *et al.*, 1995). Verlaufsmessungen, die während einer Gewichtsrehabilitation und im Anschluss daran die Entwicklung der Parameter des Knochenstoffwechsels beschreiben, wurden bisher nicht durchgeführt.

In Bezug auf die Verträglichkeit einer Ernährungstherapie sowie auf die Belastung der Gesundheitskassen durch die erwähnten Folgen sollte diese Option jedoch geprüft werden. Ziel der vorliegenden Studie war es daher, im Verlauf eines Jahres, die Auswirkungen einer Ernährungstherapie und der damit verbundenen Gewichtszunahme auf den Knochenstoffwechsel von magersüchtigen Patientinnen zu untersuchen. Um etwaige Effekte einer uneinheitlichen Calcium- und Vitamin D-Versorgung auszuschließen, nahmen alle Patientinnen und Probandinnen täglich Calcium und Ergocalciferol in Form zweier Supplemente zu sich. Dabei sollte die Calciumzufuhr bei mindestens 2000 mg Calcium/Tag liegen.

Im Einzelnen stand die Beantwortung folgender Fragen im Vordergrund:

- Welche Auswirkungen hat das Hungern von Patientinnen mit Anorexia nervosa auf die Biomarker des Knochenstoffwechsels im Vergleich zu gesunden Kontrollprobandinnen, zum Zeitpunkt der stationären Aufnahme?
- Welche Auswirkungen hat die o.g. Ernährungstherapie auf die Biomarker des Knochenstoffwechsels bei den Patientinnen im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe während des klinischen Verlaufs (Verlauf bis Woche 15) und im Langzeitverlauf bis zum Ende der Studie nach einem Jahr?
- Hat eine individuell festgelegte hyperkalorische Diät einen positiven Einfluss auf den Knochenstoffwechsel von magersüchtigen Jugendlichen im Verlauf eines Jahres?
- Lässt sich im Verlauf der Studie durch die o.g. Ernährungstherapie bei den Patientinnen eine Verbesserung der Knochendichte realisieren?

3 Material und Methoden

3.1 Versuchsdesign

Das Studienkollektiv umfasste 20 Patientinnen sowie eine gesunde Kontrollgruppe (n=20), die unter kontrollierten Bedingungen untersucht wurden.

Die Studie wurde von der Ethikkommission der RWTH Aachen begutachtet und als ethisch unbedenklich angesehen. Die Patientinnen und Probandinnen (= gesunde Kontrollgruppe) gaben ihr schriftliches Einverständnis. Bei Minderjährigen wurde zusätzlich eine Einverständniserklärung von den Erziehungsberechtigten abgegeben. Die Entscheidung zur Teilnahme an der Studie konnte, entsprechend der Deklaration von Helsinki, jederzeit rückgängig gemacht werden.

3.1.1 Studienkollektiv

Die Studie wurde in der Klinik für Kinder- und Jugendpsychiatrie und -psychotherapie der Rheinisch Westfälischen Technischen Hochschule Aachen durchgeführt.

An der Studie nahmen 20 Patientinnen mit der Diagnose Anorexia nervosa (ICD: F50.0, F50.1, DSM IV) sowie ebenso viele gesunde Probandinnen teil, die in Bezug auf Alter und Körpergröße dem Patientinnenkollektiv entsprachen (Alter Patientinnen: $14,1 \pm 1,3$ Jahre, Kontrollgruppe: $15,1 \pm 2,2$ Jahre; Größe Patientinnen: $1,65 \pm 0,08$ m, Kontrollgruppe: $1,64 \pm 0,06$ m). Dabei unterschieden sich die Patientinnen jedoch in Bezug auf Körpergewicht und körperlicher Reife (Tanner-Stadien) von der Kontrollgruppe.

Bei den Patientinnen handelte es sich um Jugendliche, die sich aufgrund ihrer schlechten körperlichen Verfassung durch die Krankheit einer stationären Behandlung unterziehen mussten. Sie wurden bei Aufnahme in die Klinik einer ausführlichen ärztlichen Untersuchung unterzogen. Diese umfasste neben einer körperlichen Untersuchung ein EKG, EEG sowie die Statuserhebung folgender Blutwerte:

Blutbild, LH, FSH, Östradiol, Progesteron, Schilddrüsenhormone, Lipase, Amylase, Leberwerte und Elektrolyte. Patientinnen, die neben einer Anorexia nervosa weitere Erkrankungen aufwiesen, die einen direkten oder indirekten Einfluss auf den Knochenstoffwechsel haben, wurden aus der Studie ausgeschlossen. Eine

Klassifizierung der Magersucht (binge eating/purging-Typ oder restricting-Typ) erfolgte durch strukturierte Interviews (SIAB: Strukturiertes Interview zur Anorexia nervosa; ANIS: Anorexia nervosa-Inventar zur Selbstbeurteilung; DIKJ: Depressionsinterview für Kinder und Jugendliche; BDI: Beck Depression Inventar). Hier wurde ebenfalls nach der Dauer der Essstörung vor Aufnahme in die Klinik, Medikamenteneinnahme und Zyklusverhalten gefragt. Im Verlauf der Studie wurden diese Interviews in regelmäßigen Abständen wiederholt.

Von den Patientinnen musste im Verlauf der Studie eine Patientin aufgrund von Drogenmissbrauch ausgeschlossen werden, so dass 19 Patientinnen die Studie beendeten.

Die Probandinnen der Kontrollgruppe wurden zu Beginn der Studie einer allgemeinen Anamnese in Form eines Fragebogens unterzogen. Die strukturierten Interviews wurden auch bei der gesunden Kontrollgruppe in jeder Phase durchgeführt. Aus der Kontrollgruppe musste eine Probandin im Verlauf aus der Studie ausgeschlossen werden, da ihr BMI unter $17,5 \text{ kg/m}^2$ gefallen war und somit eine Abgrenzung zum Patientinnenkollektiv nicht mehr eindeutig gewährleistet werden konnte. Alle anderen Probandinnen schlossen die Studie ab.

3.1.2 Experimentablauf

Die ANO-Studie wurde im Zeitraum von April 1999 bis Dezember 2001 in der Klinik für Kinder- und Jugendpsychiatrie und –psychotherapie der RWTH Aachen durchgeführt. In der Zeit von April 1999 bis Dezember 2000 wurden die Patientinnen sowie die Kontrollgruppe in die Studie aufgenommen. Anschließend wurde die Studie für alle Teilnehmerinnen über einen Zeitraum von einem Jahr durchgeführt. Dabei durchliefen die Patientinnen neun, die gesunden Probandinnen fünf Studienphasen. Eine Übersicht über die Studienphasen ist in Tabelle 1 dargestellt. Die Studie gliederte sich für die Patientinnen in zwei Teile, den stationären (= klinischer Verlauf) und poststationären (= Langzeitverlauf) Teil, während der Ablauf für die Kontrollgruppe in allen Phasen identisch war. In Tabelle 1 ist der Studienablauf für die Patientinnen in Woche 15 und 23 z.T. in Klammern dargestellt. Dies soll darauf hinweisen, dass sich zu diesem Zeitpunkt nicht mehr alle Patientinnen in der Klinik aufhielten, sondern als ambulante Patientinnen poststationär weiter betreut wurden. Sofern die Patientinnen sich noch in der Klinik aufhielten, entsprach der Ablauf den

vorherigen Phasen. Patientinnen, die bereits entlassen worden waren, wechselten in den poststationären Ablauf, in dem keine Urine und Fäzes mehr gesammelt wurden (s.u.). Hier wurde eine Nüchternblutabnahme sowie ein BIA-Messung (Body Impedance Analysis) durchgeführt.

Tabelle 1: Übersichtsplan der Studienphasen. Die in Klammern dargestellten Teile in Woche 15 und 23 sollen darauf hinweisen, dass die entsprechenden Untersuchungen lediglich bei den Patientinnen durchgeführt wurden, die sich zu diesem Zeitpunkt noch in klinischer Betreuung befanden. Die bereits entlassenen Patientinnen gingen in den poststationären Teil der Studie über, wie er ab Woche 32 für alle Patientinnen beschrieben ist. BIA: Body Impedance Analysis, DXA: Dual Energy X-ray Absorptiometry

Studienphase	Patientinnen (n=19)	Kontrolle (n=19)
Basal	Blutentnahme, 24h-Urine, Fäzes, Ernährungsprotokolle, DXA	Blutentnahme, BIA
Woche 3	Blutentnahme, 24h-Urine, Fäzes, Ernährungsprotokolle, BIA	
Woche 7	Blutentnahme, 24h-Urine, Fäzes, Ernährungsprotokolle, BIA	Blutentnahme, BIA
Woche 11	Blutentnahme, 24h-Urine, Fäzes, Ernährungsprotokolle, BIA	
Woche 15	Blutentnahme, (24h-Urine, Fäzes, Ernährungsprotokolle), BIA, DXA	Blutentnahme, BIA
Woche 23	Blutentnahme, (24h-Urine, Fäzes, Ernährungsprotokolle), BIA	
Woche 32	Blutentnahme, BIA	Blutentnahme, BIA
Woche 41	Blutentnahme, BIA, DXA	
Woche 50	Blutentnahme, BIA	Blutentnahme, BIA

3.1.2.1 Stationärer Aufenthalt

Nach einer Adaptationsphase von einigen Tagen an den Klinikaufenthalt wurden die Patientinnen nach einem ausführlichen Informationsgespräch und Unterzeichnung der Einverständniserklärung in die Studie aufgenommen (= Basaldaten). Während des stationären Teils fanden in regelmäßigen Abständen sog. Untersuchungswochen (siehe Tabelle 1) statt, in denen die Patientinnen über einen Zeitraum von drei bis sieben Tagen 24h-Urine sowie Fäzes abgaben und Ernährungsprotokolle führten. An einem Tag in dieser Woche wurden Nüchtern-Blutabnahmen sowie eine Multifrequenz-Impedanz-Analyse (BIA) durchgeführt.

3.1.2.2 Poststationäre Phase und Kontrollgruppe

Nach Verlassen der Klinik sowie in der Kontrollgruppe wurden zu den jeweiligen Untersuchungszeitpunkten Nüchtern-Blutabnahmen sowie BIA-Messungen durchgeführt. Dazu wurden die Patientinnen und Probandinnen schriftlich eingeladen und kamen daraufhin für einen Vormittag in die Klinik für Kinder- und Jugendpsychiatrie, um an den Untersuchungen teilzunehmen.

Im Verlauf der Studie wurde bei den Patientinnen an drei Messzeitpunkten (Woche 1, Woche 15, Woche 32) eine Knochendichtemessung (DXA, Dual Energy X-ray Absorptiometry) durchgeführt.

3.1.3 Diät

3.1.3.1 Stationärer Aufenthalt

Alle Patientinnen erhielten eine individuelle, hyperkalorische Diät. Diese wurde von einer Diplom-Ökotrophologin in Absprache mit den Patientinnen unter Einbeziehung der Empfehlungen für die Nährstoffzufuhr der Deutschen Gesellschaft für Ernährung (Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2000) in Form von Tagesplänen kalkuliert. Ziel der Ernährungstherapie war das Erreichen eines individuell festgelegten Gewichts, dessen Grundlage die alters- und geschlechtsbezogene 25. Perzentile war, sowie das „Wiedererlernen“ eines Essverhaltens, das eine ausgewogene Nährstoff- und Energieversorgung gewährleistete. Waren die Probandinnen anfangs nicht in der Lage, die festgelegten Mengen eigenständig zu essen, wurden sie zunächst per Magensonde ernährt. Im Verlauf der Therapie wurden die sondierten Mahlzeiten durch „normale“ Nahrung ersetzt. Die Probandinnen erhielten eine Mischkost, deren Energiegehalt im Verlauf des stationären Aufenthaltes kontinuierlich erhöht wurde, bis die zugeführte Energiemenge ausreichte, um eine stetige Gewichtszunahme zu gewährleisten (= individuelle, hyperkalorische Ernährung). Obwohl die Empfehlungen zur Nährstoffzufuhr als Grundlage der Zusammenstellung der Tagespläne dienten, wurden die individuellen Wünsche der Patientinnen berücksichtigt. Dies hatte zur Folge, dass der Anteil des Fettes an der Gesamtenergiezufuhr gerade in der Anfangsphase des Klinikaufenthaltes z.T. sehr

niedrig war. Die Bereitschaft der Patientinnen, Fett zu sich zu nehmen, war sehr unterschiedlich. Ein Teil der Patientinnen war bereit, die festgelegte Energiemenge unter der Bedingung eines höheren Anteils an Kohlenhydraten zu essen. Dies wurde in der Anfangsphase toleriert. Später wurde der Anteil der Kohlenhydrate reduziert und wieder durch Fett ersetzt. Zusätzlich konnte das Volumen der Mahlzeiten durch den Ersatz von Kohlenhydraten gegen Fett reduziert werden. Dieses war im späteren Verlauf des stationären Aufenthaltes für einige Patientinnen eine Erleichterung. Aufgrund der besonderen Stoffwechsellage nach dem langen Fasten wurde eine erhöhte Proteinzufuhr als sinnvoll erachtet und in den Tagesplänen umgesetzt.

Gegen Ende des Klinikaufenthaltes wurde das „Planessen“ durch freie Mahlzeiten ersetzt. Die Patientinnen sollten zeigen, dass sie durch eigenständige Auswahl der Nahrungskomponenten in der Lage waren, ihr erreichtes Zielgewicht zu halten.

Während der Untersuchungsphasen wurden alle Menükomponenten vom Klinikpersonal abgewogen und die Lebensmittel sowie deren Menge von den Patientinnen in ein vorbereitetes Protokoll eingetragen. Die Eintragungen in die Ernährungsprotokolle wurden anschließend vom Personal kontrolliert und abgezeichnet. Es bestand freie Getränkewahl. Alle zugeführten Getränke wurden ebenfalls in einem Protokoll berücksichtigt. Die Calciumaufnahme sollte pro Tag 2000 mg nicht unterschreiten. Um dies zu gewährleisten, bekam jede Patientin täglich eine Brausetablette Calcium Sandoz forte® (1 Brausetablette enthält 2,94 g Calciumlactogluconat und 0,30 g Calciumcarbonat, entsprechend 500 mg Calciumionen). Des Weiteren erhielten die Magersüchtigen täglich eine Kapsel eines Multivitaminpräparates (Osspulvit® S forte), um eine konstante Vitamin D-Zufuhr zu erhalten (Zufuhr 400 IU Ergocalciferol).

Die Protokolle wurden anschließend mit Hilfe der Software EBISpro für Windows (Erhardt, 1999) in Bezug auf Calciumzufuhr, Energie-, Fett-, Protein- und Kohlenhydratzufuhr ausgewertet.

3.1.3.2 Poststationäre Phase und Kontrollgruppe

Nach Verlassen der Klinik sollten die Patientinnen die in der Klinik erlernten und ausgeführten Ernährungsgewohnheiten beibehalten. Eine Kontrolle erfolgte über das Körpergewicht, das in jeder Studienphase ermittelt wurde.

Den gesunden Probandinnen war die Energieaufnahme freigestellt, die Calciumzufuhr sollte wie bei den Patientinnen während der gesamten Studiendauer 2000 mg/Tag nicht unterschreiten. Calcium-Brausetabletten und das Multivitaminpräparat wurden sowohl den Patientinnen als auch den Probandinnen weiterhin zur Verfügung gestellt und sollten täglich eingenommen werden, wobei die Einnahme von Calcium über Brausetabletten bei Bedarf auf bis zu vier Tabletten täglich erhöht werden konnte.

An den Tagen der Blutabnahmen bekamen die Versuchsteilnehmerinnen im Anschluss an die Blutentnahme ein Standardfrühstück, bestehend aus zwei Scheiben Graubrot, 10 g Butter oder Margarine, 50 g Konfitüre und 400 ml Tee. Somit wurde für die anschließende BIA-Messung eine einheitliche Messgrundlage geschaffen.

3.1.4 Blutabnahmen

Alle Blutabnahmen erfolgten morgens zwischen 7:30 und 9:30 Uhr im nüchternen Zustand. Als Blutabnahmesystem wurde das Sarstedt-System® verwendet. Für die Bestimmung der verschiedenen Parameter wurden Serum-Monovetten verwendet. Ein Teil des Blutes wurde unmittelbar nach Abnahme in das Zentrallabor des Klinikums Aachen gebracht. Hier wurde aus dem Serum Gesamt-Calcium, Gesamt-Protein, Phosphor, Kreatinin, Östradiol, Dehydroepiandrosteronsulfat (DHEAS) und Cortisol (Cor) bestimmt. Für die Bestimmung der Knochenaufbaumarker Carboxyterminales Propeptid des Typ I Prokollagens (PICP) und knochenspezifische alkalische Phosphatase (bAP), für den Knochenabbauparameter C-terminales Telopeptid (CTX) sowie für Leptin, Insulin-like Growth Factor I (IGF-I), Parathormon (PTH) und 25-Hydroxyvitamin D (VitD) wurden weitere Serum-Monovetten abgenommen. Diese wurden ca. 30 Minuten nach der Abnahme zentrifugiert (15 min, 3500 rpm). Das Serum wurde in vorbereitete Eppendorfgefäße pipettiert und bei mind. -20 °C bis zur Analyse tiefgefroren.

3.1.5 Urinabgaben

Während des stationären Aufenthaltes wurden bei den Patientinnen in jeder Phase 24h-Urine gesammelt. Die Patientinnen verwendeten für jede Urinabgabe jeweils

eine Urinflasche. Die Zeit der Abgabe wurde dokumentiert und die Flasche bis zur Aliquotierung des Urins im Kühlschrank bei 4 °C zwischengelagert. Alle Einzelurine eines 24h-Urins wurden gewogen, protokolliert, anschließend in einem Sammelgefäß gepoolt und gemischt, bevor die Aliquots bis zur weiteren Analyse bei mind. –20 °C eingefroren wurden. Folgende Parameter wurden bestimmt: Urinminutenvolumen, Urinvolumen in 24h und Calcium-Exkretion.

3.1.6 Urinminutenvolumen – 24h-Urine

Das Urinminutenvolumen gibt die Harnausscheidung in ml pro Minute der zugehörigen Sammelperiode an und wird durch folgende Formel berechnet:

$$\text{Urinminutenvolumen} = \text{Urinvolumen (ml)} / \text{Zeit (min)}$$

Im Anschluss daran wurde das Urinminutenvolumen mit dem Faktor 1.440 (24h x 60 min) multipliziert, um exakte Werte für die 24h-Urine zu erhalten.

3.1.7 Calcium-Exkretion im Urin

Die Bestimmung der Calciumausscheidung im Urin erfolgte mittels eines vollselektiven, diskreten Mehrfachanalysensystems (Hitachi 704, Boehringer Mannheim). Calcium bildet in alkalischer Lösung durch die Zugabe von o-Kresolphthalein-Komplexon einen Calcium-o-kresolphthalein-Komplex. Die Farbintensität des gebildeten violetten Komplexes ist direkt proportional der Calciumkonzentration und wird photometrisch gemessen.

Das Ergebnis wurde anschließend auf das 24h-Urinvolumen bezogen und in der Einheit mg Calcium/24h dargestellt. Lücken in der Auswertung ergeben sich durch das Fehlen von Einzelurinen innerhalb der 24h-Urine.

3.1.8 Fäzesuntersuchungen

Alle Fäzesproben, die bei den stationären Patientinnen während der Studienphasen anfielen, wurden gesammelt, protokolliert und bis zur weiteren Verarbeitung bei

mind. $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ gelagert. Die Proben wurden quantitativ bei $600\text{ }^{\circ}\text{C}$ für 120 min im Brennofen verascht. Anschließend wurde die Asche homogenisiert, gewogen und abgefüllt. Zur Bestimmung des Calciumgehaltes der Fäzes wurde jeweils ein Gramm der Asche mit konzentrierter Salpetersäure (65 %ig) für mindestens 14 Stunden hydrolysiert, zweimal zentrifugiert und der Überstand in 50 ml Aqua bidest verdünnt. Anschließend wurden die Proben in Lithiumlösung verdünnt und im Flammenphotometer (FCM 6341, Eppendorf) auf ihren Calciumgehalt hin bestimmt. Die Kalkulation der Calciummenge in der Probe wurde durch folgende Formel berechnet:

$$\text{Calciumgehalt Fäzes (mg)} = S * C * V / 1000 * A / E * G$$

S = Salpetersäure-Volumen (ml)

C = gemessene Calcium-Konzentration in der Probe (mmol/L)

V = Verdünnungsfaktor (501)

A = Atomgewicht von Calcium (g/mol)

E = Einwaage Asche (g)

G = Aschegewicht der Probe (g)

3.1.9 Calciumbilanzen

Für die Zeit während des stationären Aufenthaltes in der Klinik wurden für die Patientinnen Calciumbilanzen berechnet.

Die Kalkulation erfolgte aus den Größen der Calciumzufuhr über die Nahrung, der Ausscheidung über den Urin und der Calciumausscheidung über die Fäzes.

$$\begin{aligned} \text{Calciumbilanz (mg)} &= \text{Calcium-Zufuhr in einem definierten Zeitraum} \\ &\quad - \text{Calciumausscheidung über den Urin in diesem Zeitraum} \\ &\quad - \text{Calciumausscheidung über die Fäzes in diesem Zeitraum} \end{aligned}$$

Nach Berechnung der Tagesbilanzen wurden im Anschluss Wochenbilanzen berechnet.

Die Calciumausscheidung über die Haut ist vom Schweißvolumen und dessen Calciumkonzentration abhängig. Bei untrainierten Personen steigt mit zunehmender Schweißproduktion auch die Calciumkonzentration im Schweiß. Da in der vorliegenden Studie sportliche Aktivitäten nicht erlaubt waren, die Patientinnen sehr schwach waren und aufgrund ihres geringen Körpergewichtes eher froren als schwitzten, wurde der Calciumverlust über die Haut als für alle Patientinnen konstant niedrig erachtet und daher vernachlässigt.

Die im Ergebnisteil dargestellten Bilanzen reduzieren sich auf wenige Patientinnen. Dies ergibt sich aus dem oft veränderten Stuhlverhalten (Obstipation und/oder Durchfall) einiger Patientinnen sowie dem Fehlen einzelner Urine, die eine Berechnung der entsprechenden 24h-Urine unmöglich machten. Das Fehlen einzelner Urine hatte unterschiedliche Ursachen. Zum einen besuchten einige der Patientinnen im Therapieverlauf eine externe Schule. Hier wurde auf ein Sammeln von Urinen verzichtet. Zum anderen berichteten die Patientinnen, im Verlauf des Tages das Benutzen der Urinflasche vergessen zu haben, so dass der Urin in die Toilette verworfen wurde.

3.2 Parameter des Knochenstoffwechsels

3.2.1 Parameter des Knochenaufbaus

3.2.1.1 Carboxyterminales Propeptid des Typ I Prokollagens (PICP)

Der Nachweis wurde mit Hilfe des Radioimmunoassays zur quantitativen Bestimmung der Konzentration von PICP der Firma Orion Diagnostica (Espoo, Finnland) durchgeführt.

Testprinzip:

Zugrunde liegt das Prinzip der kompetitiven Hemmung. Das in der Probe vorhandene PICP konkurriert mit einer definierten Menge an radioaktiv markiertem PICP um die Bindungsstellen des Antikörpers. Nach einer zweistündigen Inkubationszeit bei 37 °C wird das Trennreagenz hinzugefügt, die Proben für weitere 30 min inkubiert, anschließend zentrifugiert und der Überstand mit freiem Antigen abgesaugt. Danach

wird die Radioaktivität des Präzipitats für zwei min im γ -Counter gezählt. Dabei ist die Menge an PICP in der Probe umgekehrt proportional zur gemessenen Radioaktivität.

Zuverlässigkeitskriterien:

Der Nachweisbereich für den PICP-Assay lag zwischen 0 und 500 $\mu\text{g/L}$. Die Intraassay-Varianz lag bei 2,8 %, die Interassay-Varianz bei 5,2 %.

3.2.1.2 Knochenspezifische alkalische Phosphatase (bAP)

Die Bestimmung der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase erfolgte mit dem immunoradiometrischen Test (IRMA) „Tandem®-R Ostase®“ der Firma Hybritech Inc. (San Diego, USA).

Testprinzip:

Diesem IRMA liegt das Prinzip des Sandwichmodells zugrunde.

Die Knochen-AP-haltigen Proben werden mit Plastikugeln (Festphase), die mit einem monoklonalen Antikörper mit Spezifität für das Knochen-AP-Molekül beschichtet sind, zur Reaktion gebracht. Gleichzeitig lässt man das Knochen-AP-Molekül mit einem radioaktiv markierten monoklonaren Antikörper reagieren, dessen Spezifität sich gegen eine zweite, andere antigene Determinante des Knochen-AP-Moleküls richtet. Nach der Bildung des Immunkomplexes Festphase / bAP / markierter Antikörper (= Sandwich) wird die Kugel zur Entfernung des überschüssigen markierten Antikörpers gewaschen. Die Radioaktivität der Kugeln wird dann mit einem γ -Counter gemessen. Sie ist direkt proportional zur Konzentration von bAP in der Probe.

Zuverlässigkeitskriterien:

Der Nachweisbereich für bAP lag zwischen 0 und 120 $\mu\text{g/L}$. Die Intraassay-Varianz lag bei 4,9 %, die Interassay-Varianz bei 7,4 %.

3.2.2 Parameter des Knochenabbaus

3.2.2.1 Carboxyterminales Telopeptid des Typ I Kollagens (CTX)

Der Nachweis von CTX im Serum wurde mit Hilfe des „CrossLaps™ Serum ELISA der Firma Osteometer (Herlev, Dänemark) durchgeführt.

Testprinzip:

Bei diesem Enzymimmunoassay handelt es sich um einen ELISA, der auf der Sandwich-Technik basiert. Die Wells einer Mikrotiterplatte sind mit Streptavidin beschichtet. Die Proben werden in die beschichteten Wells gegeben und mit einem Gemisch aus einem biotinylierten Antikörper und einem Peroxidase-konjugierten Antikörper für zwei Stunden inkubiert. Der Peroxidase-Antikörper ist gegen ein anderes Epitop des Antigen-Moleküls gerichtet. Es wird ein Sandwich-Komplex gebildet.

Nicht gebundene Antikörper werden durch Waschen der Wells entfernt. Anschließend wird eine farbbildende Substrat-Lösung hinzu gegeben und die Farbentwicklung nach 15 min gestoppt. Die Intensität der Farbe ist proportional zur Antigen-Konzentration in den Proben. Die Extinktionen werden mit einem Mikrotiterplatten-Reader (MRX^{TC} Revelation, Dynex Technologies, Frankfurt, Deutschland) gemessen.

Zuverlässigkeitskriterien:

Der Nachweisbereich für den CTX-Assay lag zwischen 588 und 18668 pM/L. Die Intraassay-Varianz lag bei 4,4 %, die Interassay-Varianz bei 7,0 %.

3.2.3 Weitere Einflussgrößen des Knochenstoffwechsels

3.2.3.1 Leptin

Zur Bestimmung von Leptin wurde der Radioimmunoassay (RIA) „Human-Leptin-RIA, sensitiv“ der Firma Mediagnost (Reutlingen, Deutschland) verwendet.

Aufgrund des engen Messbereichs dieses RIAs (0–16 ng/ml) müssen die Proben im Vorfeld so verdünnt werden, dass der zu erwartende Messwert bei 2 ng/ml liegt.

Dazu werden die BMIs der Patientinnen und Probandinnen zum jeweiligen Blutabnahmezeitpunkt bestimmt. Weiter werden die Teilnehmerinnen je nach körperlicher Reife einem Tanner-Stadium zugeordnet. Durch diese beiden Angaben lässt sich die zu erwartende Leptinkonzentration in einer vom Hersteller mitgelieferten Grafik ablesen und eine entsprechende Verdünnung berechnen.

Testprinzip:

Den Proben wird nach entsprechender Vorverdünnung in einem ersten Schritt der erste Antikörper sowie radioaktiv markiertes Leptin zugegeben und für mindestens 15 Stunden inkubiert. In dieser Zeit konkurrieren das Leptin aus der Probe und das radioaktiv markierte Leptin um die Bindungsstellen des Antikörpers. Durch Zugabe eines zweiten Antikörpers kommt es zur Präzipitation, die nach einer Stunde durch Zugabe von eiskaltem Aqua bidest gestoppt wird. Anschließend werden die Proben zentrifugiert, der Überstand abgesaugt und die Präzipitate im γ -Counter gemessen.

Zuverlässigkeitskriterien:

Der Nachweisbereich für den Leptin-Assay lag zwischen 0 und 16 ng/ml. Die Intraassay-Varianz lag bei 5,0 %, die Interassay-Varianz bei 7,6 %.

3.2.3.2 Insulin-like Growth Factor I (IGF-I)

Zur Bestimmung des IGF-I-Anteils im Serum wurde ein IRMA der Firma Nichols Institute Diagnostics (Bad Nauheim, Deutschland) gewählt.

Testprinzip:

Der IGF-I-IRMA verwendet zwei affinitätsgereinigte polyklonale Antikörper, die regionspezifisch sind. Die Proben werden angesäuert, um IGF-I von den IGF-Bindungsproteinen zu trennen. Nachfolgend wird IGF-II im Überschuss zugegeben, um die Bindungsstellen der freien Bindungsproteine abzusättigen. Hierdurch wird die reversible Kopplung von IGF-I an die Bindungsproteine blockiert. Die angesäuerte Probe wird gleichzeitig mit einer Avidin-beschichteten Kugel, dem biotinylierten Fangantikörper und dem radioaktiv markierten Nachweisantikörper für vier Stunden inkubiert. Während der Inkubation bildet das IGF-I in der Probe einen Sandwich-Komplex zwischen Fangantikörper und den radioaktiv markierten Antikörpern. Der

Sandwich-Komplex wird spezifisch an die Avidin-beschichtete Kugel gebunden, der Rest wird durch Waschen der Kugeln entfernt. Die an die feste Phase gebundene Radioaktivität wird anschließend im γ -Counter gezählt. Die gemessene Radioaktivität ist direkt proportional zur IGF-I-Konzentration in der Probe.

Zuverlässigkeitskriterien:

Der Nachweisbereich für den IGF-I-Assay lag zwischen 0 und 1100 ng/ml. Die Intraassay-Varianz lag bei 4,0 %, die Interassay-Varianz bei 11,8 %.

3.2.3.3 Cortisol

Die Bestimmung von Cortisol erfolgte durch das Automatische Chemilumineszenz-System (ACS: Centaur™) der Firma Chiron Diagnostics (East Walpole, USA).

Testprinzip:

Der ACS: Centaur-Cortisol-Test ist ein kompetitiver Immunoassay unter Anwendung der direkten Chemilumineszenz-Technologie. Das in der Probe enthaltene Cortisol konkurriert mit dem im Lite-Reagenz enthaltenen, mit Acridiniumester markierten Cortisol um polyklonale Antikörper in der Solid Phase. Dieser polyklonale Antikörper wird an einen monoklonalen Antikörper gebunden, der seinerseits an paramagnetische Partikel (Solid Phase) gekoppelt ist. Die Chemilumineszenz-Reaktion wird anschließend durch Zugabe von zwei Reagenzien (Säure/Base) ausgelöst. Zwischen der Menge an Cortisol in der Probe und dem vom System gemessenen relativen Lichteinheiten besteht ein umgekehrt-proportionales Verhältnis.

Zuverlässigkeitskriterien:

Der Nachweisbereich für Cortisol lag zwischen 0,2 und 75 $\mu\text{g}/\text{dl}$. Die Intraassay-Varianz lag bei 3,3 %, die Interassay-Varianz bei 3,6 %.

3.2.3.4 Dehydroepiandrosteron-Sulfat (DHEAS)

Die Bestimmung von DHEAS erfolgte durch das vollautomatische Chemilumineszenz-Verfahren IMMULITE[®] der Firma DPC[®] (Bad Nauheim, Deutschland).

Testprinzip:

Der DHEA-S-IMMULITE[®]-Test ist ein Festphasen-Chemilumineszenz-Immunoassay. Als Festphase wird eine mit spezifischen Antikörpern beschichtete Polystyrolkugel verwendet. Diese Kugel ist Bestandteil des Teströhrchens. DHEAS aus der Patientenprobe und mit alkalischer Phosphatase markiertes DHEAS konkurrieren während der 30-minütigen Inkubation bei 37 °C um die limitierte Zahl der Bindungsstellen der Antikörper. Ungebundene Komponenten werden anschließend mittels einer speziellen Zentrifugal-Waschtechnik entfernt. Zugegebenes Chemilumineszenz-Substrat (PPD) wird vom gebundenen Enzym während einer zweiten, 10-minütigen Inkubation umgesetzt. Die dabei ausgelöste Lichtemission ist zur DHEAS-Konzentration in den Proben umgekehrt proportional.

Zuverlässigkeitskriterien:

Der Nachweisbereich für Dehydroepiandrosteron-Sulfat lag zwischen 30 und 1.000 µg/dl. Die Intraassay-Varianz lag bei 8,2 %, die Interassay-Varianz bei 12,0 %.

3.2.3.5 17β-Östradiol

Die Konzentration von 17β-Östradiol wurden mit Hilfe des ACS: Centaur[™] der Firma Chiron Diagnostics (Walpole, USA) bestimmt.

Testprinzip:

Der ACS: Centaur Östradiol-6-Test ist ein kompetitiver Immunoassay unter Anwendung der direkten Chemilumineszenz-Technologie. Durch die Kopplung des Östradiolimmunogens an die spezifitätserhöhende sechste Position ergibt sich die Produktion eines hochspezifischen Antikörpers.

Östradiol in der Probe konkurriert mit Östradiol, das mit Acridiniumester markiert ist, im Lite-Reagenz um eine begrenzt vorliegende Menge Antikörper im Antikörper-

Reagenz. Das vom Antikörper gebundene Östradiol wird an einen zweiten Antikörper gebunden, der wiederum an paramagnetische Partikel in der Solid Phase gebunden ist. Die Chemilumineszenz-Reaktion wird anschließend durch Zugabe von zwei Reagenzien (Säure/Base) ausgelöst. Zwischen der Menge an Östradiol in der Probe und den vom System gemessenen relativen Lichteinheiten besteht ein umgekehrt proportionales Verhältnis.

Zuverlässigkeitskriterien:

Der Nachweisbereich für 17β -Östradiol lag zwischen 10 und 1.000 pg/ml. Die Intraassay-Varianz lag bei 8,0 %, die Interassay-Varianz bei 8,4 %.

3.2.4 Parameter des Calciumstoffwechsels

3.2.4.1 Calcium im Serum

Die Bestimmung der Calciumkonzentration im Serum wurde mittels eines vollselektiven, diskreten Mehrfachanalysensystems (Hitachi, 704, Hitachi 747, Boehringer Mannheim) nach der ortho-Kresolphthalein-Methode durchgeführt. Calcium bildet in alkalischer Lösung durch die Zugabe von o-Kresolphthalein-Komplexon einen Calcium-o-Kresolphthalein-Komplex. Die Farbintensität des gebildeten violetten Komplexes ist direkt proportional der Calciumkonzentration und wird photometrisch gemessen.

3.2.4.2 Parathormon (PTH)

Zur Bestimmung der PTH-Konzentrationen wurde der IRMA der Firma Nichols Institute Diagnostic (Bad Nauheim, Deutschland) verwendet.

Testprinzip:

Das Intakt PTH-Immunoassay-System ist ein zweiseitiger IRMA zur Bestimmung des biologisch aktiven Teils des PTH, einer Kette mit 84 Aminosäuren. Zwei verschiedene polyklonale Antikörper binden sich an unterschiedliche Bereiche des PTH-Moleküls, wobei ein Antikörper an einer Plastikugel fixiert und der andere Antikörper radioaktiv markiert ist. Das in der Probe vorhandene PTH wird von beiden,

dem fixierten wie auch dem markierten Antikörper zu einem Sandwich-Komplex gebunden. Nach einer 22-stündigen Inkubation werden die nicht gebundenen Komponenten durch Waschen entfernt. Die auf der festen Phase gebundene Radioaktivität wird im γ -Counter gemessen. Dabei steht die Radioaktivität des an die Kugel gebundenen Komplexes in direktem Verhältnis zu der in der Probe vorhandenen Menge an intaktem PTH.

Zuverlässigkeitskriterien:

Der Nachweisbereich für den PTH-Assay lag zwischen 0 und 2.000 ng/ml. Die Intraassay-Varianz lag bei 2,6 %, die Interassay-Varianz bei 5,9 %.

3.2.4.3 25-Hydroxyvitamin D

Zur Bestimmung der 25-OH-Vitamin D-Konzentration im Serum wurde der RIA „25-Hydroxyvitamin D ^{125}I RIA Kit“ der Firma DiaSorin (Dietzenbach, Deutschland) verwendet.

Testprinzip:

In einem ersten Schritt werden 25-OH-D und andere hydroxylierte Metaboliten mit Hilfe von Azetonitril aus dem Serum extrahiert. Im zweiten Schritt konkurrieren das 25-OH-D aus der Probe und ^{125}I -markiertes 25-OH-D₃ um die Bindungsstellen des spezifischen Antikörpers. Nach einer 90-minütigen Inkubation bei Raumtemperatur erfolgt eine Phasentrennung durch die Zugabe eines zweiten, Antikörper ausfallenden Komplexes und anschließender Zentrifugation. Durch Dekantieren wird der Überstand entfernt. Anschließend werden die Röhrchen im Gammacounter gemessen. Dabei ist die gemessene Aktivität umgekehrt proportional zur 25-OH-Vitamin D- Konzentration in der Probe.

Zuverlässigkeitskriterien:

Der Nachweisbereich für den 25-OH-Vitamin D-Assay lag zwischen 2,5 und 100 ng/ml. Die Intraassay-Varianz lag bei 10,8 %, die Interassay-Varianz bei 9,4 %.

3.2.5 Phosphor im Serum

Die Bestimmung der Phosphorkonzentration im Serum wurde mittels eines vollselektiven, diskreten Mehrfachanalysensystems (Hitachi, 704, Hitachi 747, Boehringer Mannheim) nach der Endpunkt-Methode mit Probenleerwert durchgeführt. Anorganisches Phosphat bildet mit Ammoniummolybdat in schwefelsaurer Lösung einen Ammoniumphosphomolybdat-Komplex, der im ultravioletten Bereich (340 nm) photometrisch gemessen wird.

3.2.6 Kreatinin im Serum

Die Messung der Kreatininkonzentration im Serum erfolgte nach der Jaffé-Methode mit Hilfe eines kommerziell erhältlichen Kits (Creatinin, Boehringer Mannheim) im vollautomatischen Probenautomaten (Hitachi 704 und 747). Das Testprinzip beruht auf der Bildung und photometrischen Bestimmung eines Farbkomplexes zwischen Kreatinin und Pikrat in alkalischer Lösung.

3.3 Parameter zur Bestimmung der Körperzusammensetzung

3.3.1 Body Mass Index (BMI)

Der BMI wurde zu allen Messzeitpunkten durch folgende Gleichung berechnet:

$$\text{BMI (kg/m}^2\text{)} = \text{Gewicht (kg)} / \text{Körpergröße zum Quadrat (m}^2\text{)}$$

3.3.2 Bestimmung der Körperzusammensetzung mittels Bioelektrischer Impedanz-Analyse (BIA, Body Impedance Analysis)

Die Körperzusammensetzung wurde mit Hilfe der Bioelektrischen Impedanz-Analyse (BIA 2000, Data Input GmbH, Hofheim, Deutschland) berechnet.

Testprinzip:

BIA ist eine elektrische Widerstandsmessung in einem organischen Körper. Über je zwei Hautelektroden an Hand und Fuß wird ein homogenes elektrisches Wechselstromfeld mit konstanter Stromstärke in der Messperson erzeugt und der Gesamtwiderstand = Impedanz gemessen. Durch Anlegen von vier verschiedenen Frequenzen (1, 5, 50, 100 kHz) können die beiden Komponenten der Impedanz, die Resistanz und Reaktanz bestimmt werden. Dabei ist die Resistanz der reine Widerstand eines Leiters gegenüber Wechselstrom. Sie ist umgekehrt proportional zum Gesamtkörperwasser (TBW, Total Body Water).

Die Reaktanz, ein Maß für die Körperzellmasse, ist der Widerstand, den ein Kondensator dem Wechselstrom entgegensetzt. Jede Zellmembran des Körpers wirkt durch ihre Lipid-Protein-Schichten als Minikondensator und setzt dem Wechselstrom somit einen Widerstand entgegen.

Zur Unterscheidung dieser beiden Komponenten wird der so genannte Phasenwinkel herangezogen. Die unterschiedliche Zusammensetzung der Körperzellen führt zu unterschiedlichen Strom- und Spannungsmaxima und damit zu verschiedenen Phasenwinkeln.

Unter Verwendung der drei Parameter Resistanz, Reaktanz und Phasenwinkel sowie weiteren Daten der Messperson (Gewicht, Größe, Geschlecht und Alter) kann durch eine spezielle Software (Nutri4, Data Input GmbH) die Körperzusammensetzung errechnet werden. So wurde neben der Fettmasse, die Magermasse und die Körperzellmasse bestimmt.

3.4 Densitometrie mittels Dual Energy X-ray Absorptiometry (DXA)

Die Knochendichte der Lendenwirbelsäule (L1-L4) und des proximalen Femurs wurde mit Hilfe des Gerätes „Lunar DPX“ (Firma Lunar GmbH, Köln) in der radiologischen Abteilung des Klinikums Aachen bestimmt. Dabei handelt es sich um eine Zwei-Spektren Untersuchung.

Die Strahlenquelle fährt in festverbundener Anordnung mit einem Detektorsystem über das zu untersuchende Objekt hinweg und misst dabei die Schwächung einer definierten Strahlung. Die Patientinnen liegen dabei auf einer Liege. Zur Untersuchung müssen zum Ausgleich der Lendenwirbelsäulenlordose die Unterschenkel hoch gelagert werden, so dass Hüftgelenke und Kniegelenke

rechtwinklig gebeugt sind. Dadurch wird der Zwischenwirbelraum besser erkennbar und die Abgrenzung der einzelnen Wirbelkörper möglich.

Die Auswertung erfolgt durch ein automatisiertes Konturfindungsprogramm, dessen Ergebnis den Mineralgehalt pro Fläche (g/m^2) angibt.

Die mit diesem Verfahren berechnete Knochenmineraldichte ist eine Kalkulation des Knochenmineralgehaltes, der auf die projizierte Fläche bezogen wird. Die Dicke des Knochens, die auch von der Körpergröße abhängig ist, wird in die Kalkulation nicht einbezogen. Die Knochendichte von kleinen bzw. überdurchschnittlich großen Knochen könnte dadurch unter- bzw. überschätzt werden. Da sich die Patientinnen der ANO-Studie noch im Wachstum befanden und aufgrund ihres niedrigen Körpergewichtes behandelt wurden, wurden die Ergebnisse im Anschluss an die Auswertung der absoluten Daten zusätzlich auf die Körpergröße und das Körpergewicht korrigiert und dargestellt ($\text{BMD}:\text{Größe} = \text{g}/\text{cm}^2/\text{m}$ und $\text{BMD}:\text{Gewicht} = \text{g}/\text{cm}^2/\text{kg}$). Als Referenzwerte wurden die alters- und geschlechtsbezogenen Werte des Herstellers verwendet, deren Grundlage die Messergebnisse gesunder Amerikanerinnen sind. Diese wurden auch zur Bestimmung des Z-scores verwendet. Der Z-score setzt den Patientinnenwert in Beziehung zu einer alters- und geschlechtskorrelierten Population.

Z-score:

$$\frac{\text{Messwert BMD} - \text{Mittelwert BMD einer alters- und geschlechtskorrelierten Population}}{\text{SD einer alters- und geschlechtskorrelierten Population}}$$

BMD = Bone Mineral Density (g/m^2)

Nach der Definition der WHO wird von einer Osteoporose gesprochen, wenn die Dichtewerte $\geq 2,5$ Standardabweichungen unterhalb des Referenzwertes liegt. Eine Osteopenie wird angenommen, wenn die Messwerte zwischen 2,5 und 1,0 SD unterhalb der Normalpopulation liegen.

3.5 Statistik

Die beiden Gruppen wurden in Bezug auf den klinischen Verlauf bis Woche 15 sowie auf den Langzeitverlauf bis Woche 50 verglichen. Die Berechnungen erfolgten mit Hilfe des Statistikprogramms JMP 5.0 der Firma SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA, 1999-2001) sowie des Programms WinSTAT® für Microsoft® Excel, Version 2001.1.

Unterschiede hinsichtlich der Gruppenzugehörigkeit im Verlauf der Studie bis Woche 15 und weiter bis Woche 50 wurden mit Hilfe eines Repeated Measures Design (ANOVA) betrachtet. Dies wird im Ergebnisteil durch die Verwendung von *, ** und *** ($p \leq 0,05$, $p \leq 0,01$ und $p \leq 0,001$) symbolisiert.

Zeigten sich signifikante Unterschiede, wurden im Anschluss an die ANOVA die Unterschiede der Mittelwerte zwischen der Patientinnengruppe und der Kontrollgruppe zu den Messzeitpunkten Basal, Woche 15 und Woche 50 mittels T-Tests berechnet. Dies wird im Ergebnisteil durch die Verwendung von #, ## und ### ($p \leq 0,05$, $p \leq 0,01$ und $p \leq 0,001$) symbolisiert.

Als Maß für einen linearen Zusammenhang zwischen zwei Parametern innerhalb einer Gruppe zu den jeweiligen Messzeitpunkten wurde der Korrelationskoeffizient (R) nach Pearson berechnet.

Alle Tests wurden zu einem Signifikanzniveau von 5 % durchgeführt, somit ist ein p-Wert kleiner oder gleich 0,05 als statistisch signifikant zu bewerten. Aufgrund des klinisch-epidemiologischen Charakters der Studie wurde keine α -Adjustierung vorgenommen. Alle p-Werte sind somit rein deskriptiv zu bewerten.

Neben den Einzelwerten wurden alle Daten als Mittelwerte und Standardabweichung (SD) dargestellt.

4 Ergebnisse

4.1 Demographische Daten - Basisdaten

Die demographischen Daten der Patientinnen und Probandinnen bei Aufnahme in die Studie sind in Tabelle 2 dargestellt. Das Alter der Patientinnen lag zu Beginn der Studie bei $14,1 \pm 1,3$ Jahren, das Körpergewicht betrug $38,9 \pm 5,0$ kg. Der aus Gewicht und Größe berechnete Body Mass Index ergab bei Aufnahme $14,2 \pm 1,4$ kg/m². Sechs der Patientinnen waren zu Studienbeginn primär, 13 sekundär amenorrhöisch. Die Patientinnen litten bei Aufnahme im Mittel seit $11,5 \pm 6,8$ Monaten unter ihrer Erkrankung, wobei die Dauer der Erkrankung zwischen drei und 27 Monaten lag. Zwei der Patientinnen wurden nach ihrer Entlassung aus der Klinik orale Kontrazeptiva verschrieben, die sie jeweils für sechs bzw. sieben Monate einnahmen.

Die Probandinnen der Kontrollgruppe waren zum Zeitpunkt des Studienbeginns $15,1 \pm 2,2$ Jahre alt und wogen $56,3 \pm 7,7$ kg. Der Body Mass Index lag mit $20,8 \pm 1,9$ kg/m² im Normalbereich (19 – 25 kg/m²). Alle Probandinnen menstruierten regelmäßig, drei von ihnen nahmen während der gesamten Studienphase orale Kontrazeptiva ein.

Tabelle 2: Demographische Daten und Angaben zum Krankheitsverlauf für die Patientinnen und die gesunde Kontrollgruppe bei Aufnahme in die ANO-Studie.

		Patientinnen (n = 19)	Bereich	Kontrollgruppe (n = 19)	Bereich
Alter (Jahre)		$14,1 \pm 1,3$	11,5 – 17,4	$15,1 \pm 2,2$	13,0 – 19,6
Gewicht (kg)		$38,9 \pm 5,0$	32,0 – 47,3	$56,3 \pm 7,7$	44,5 – 68,5
Größe (m)		$1,65 \pm 0,08$	1,52 – 1,85	$1,64 \pm 0,06$	1,52 – 1,75
Body Mass Index (kg/m ²)		$14,2 \pm 1,4$	11,4 – 17,4	$20,8 \pm 1,9$	16,7 – 23,5
Amenorrhoe	Primär	6	-	-	-
	Sekundär	13	-	-	-
Dauer der Erkrankung		$11,5 \pm 6,8$	3,0 - 27,0	-	-
Subtyp Anorexia nervosa	Restriktiv	15	-	-	-
	“purging”	4	-	-	-
Östrogeneinnahme		2	-	3	-

Abbildung 4 zeigt den Verlauf des Körpergewichts, Abbildung 5 den des Body Mass Index für die Patientinnen und Probandinnen der Kontrollgruppe während der einjährigen Studie. Während sich die Verläufe der Kurven des Körpergewichts und des BMIs für die Kontrollgruppe nicht signifikant änderten, zeigten die Werte der Patientinnen einen deutlichen Anstieg ($p < 0,001$). Im Verlauf der klinischen Phase bis Woche 15 erreichte die Patientinnengruppe im Rahmen der hyperkalorischen Ernährung eine Gewichtszunahme (Abbildung 4), die sich in einer Erhöhung des BMI widerspiegelte (Abbildung 5). Zu Beginn der Studie lag der BMI bei $14,2 \pm 1,4 \text{ kg/m}^2$ und stieg auf $17,4 \pm 0,5 \text{ kg/m}^2$ in Woche 15 an (ANOVA, $p < 0,0001$, t-Test, $p < 0,0001$). Somit wurden das von der Klinik festgelegte Zielgewicht und der entsprechende BMI von nahezu allen Patientinnen erreicht. Im weiteren poststationären Verlauf bis Woche 50 zeigte sich keine weitere Erhöhung des Körpergewichts und des BMIs.

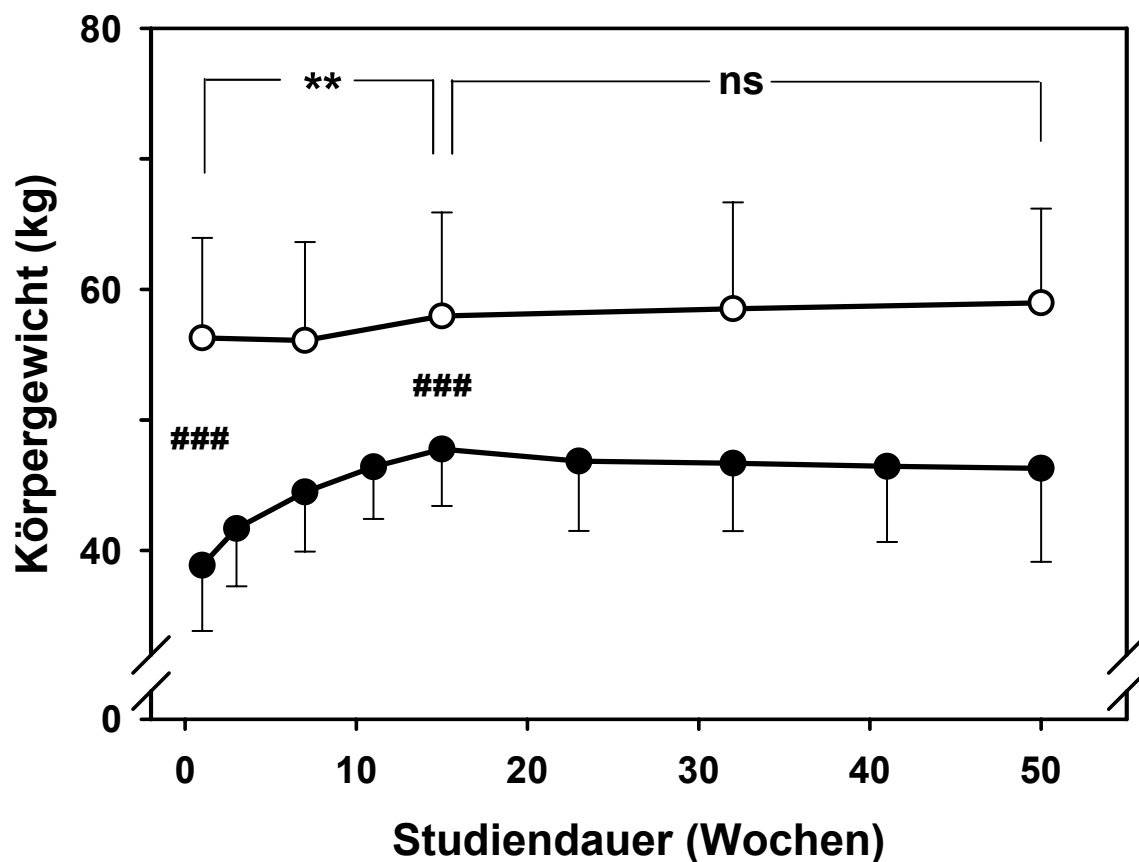


Abbildung 4: Körpergewichte für die Patientinnen und Kontrollprobandinnen der ANO-Studie im Verlauf eines Jahres. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm SD. Geschlossene Kreise geben die Patientinnengruppe, offene Kreise die Kontrollgruppe wieder. ###: t-Test, $p < 0,001$; **: ANOVA (zwischen beiden Gruppen), $p < 0,001$; ns = nicht signifikant

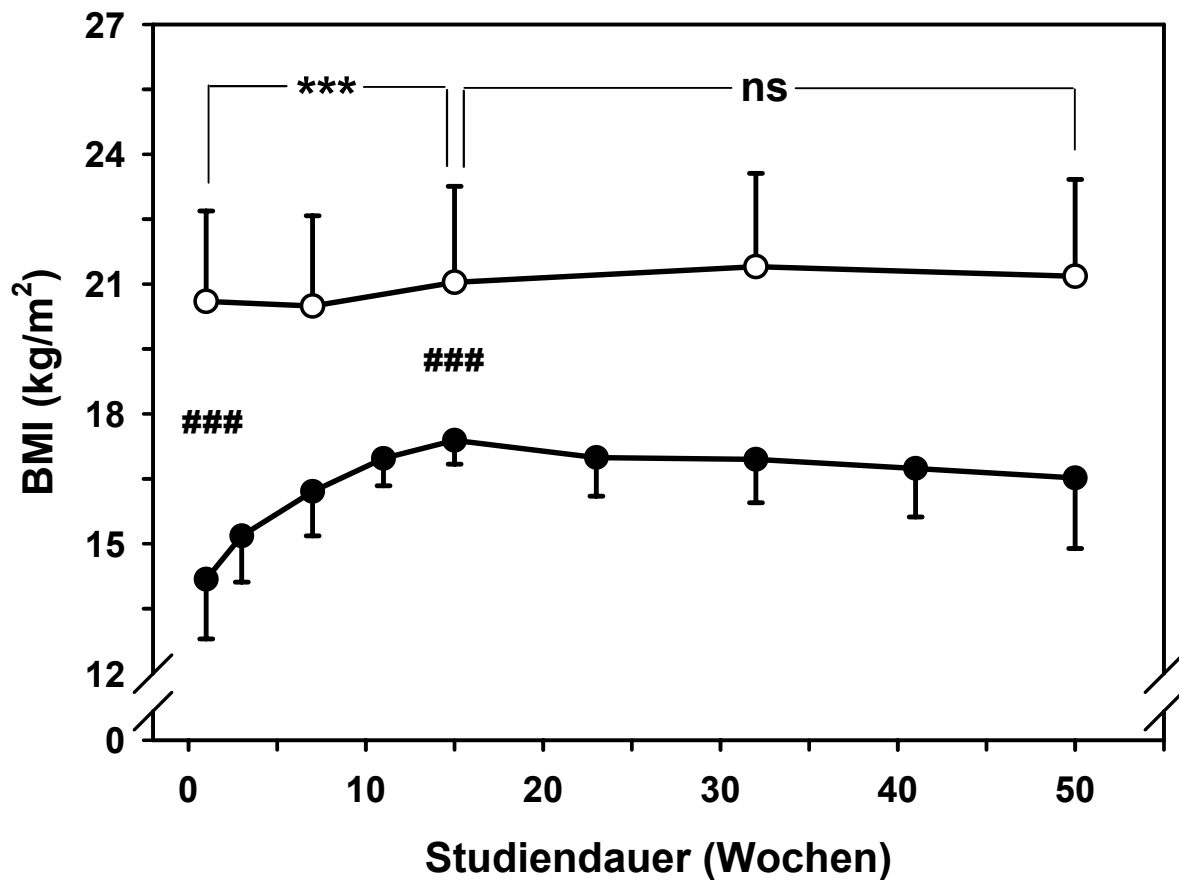


Abbildung 5: Body Mass Index für die Patientinnen und Kontrollprobandinnen der ANO-Studie im Verlauf eines Jahres. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm SD. Geschlossene Kreise geben die Patientinnengruppe, offene Kreise die Kontrollgruppe wieder. ###: t-Test, $p = 0,0004$; ***: ANOVA (zwischen beiden Gruppen), $p < 0,0001$; ns = nicht signifikant

Bei den Probandinnen der Kontrollgruppe korrelierte der Parameter Leptin zu allen Messzeitpunkten mit dem BMI (Ausnahme: Woche 1). Des Weiteren zeigte sich eine positive Korrelation zwischen dem BMI und der Fett-, Mager- und Körperzellmasse, während sich für die Patientinnen ein eher inhomogenes Bild ergab (Tabelle 3). Bei der Gruppe der Magersüchtigen zeigten die Werte (Ausnahme: Leptin, IGF-I und Fettmasse in Woche 1) erst nach Ende der stationären Therapie eine positive Korrelation zu IGF-I, Leptin und zur Fett-, Mager- und Körperzellmasse.

Tabelle 3: Korrelationskoeffizient (R) nach Pearson zwischen dem BMI und hormonellen Größen sowie der Körperzusammensetzung.

Variable		Woche 1	Woche 15	Woche 50
		R	R	R
Leptin	Patientinnen	0,381 p = 0,05	0,309 p = 0,10	0,755 p < 0,0001
	Kontrolle	0,367 p = 0,06	0,563 p = 0,006	0,408 p = 0,04
IGF-I	Patientinnen	0,389 p = 0,05	0,317 p = 0,09	0,538 p = 0,009
	Kontrolle	0,035 p = 0,44	0,121 p = 0,31	0,290 p = 0,11
Fettmasse	Patientinnen	0,709 p = 0,001	0,314 p = 0,11	0,852 p < 0,0001
	Kontrolle	0,833 p < 0,0001	0,834 p < 0,0001	0,893 p < 0,0001
Magermasse	Patientinnen	0,003 p = 0,50	-0,112 p = 0,33	0,588 p = 0,006
	Kontrolle	0,681 p = 0,0007	0,708 p = 0,0003	0,612 p = 0,003
Körperzellmasse	Patientinnen	0,266 p = 0,17	0,180 p = 0,24	0,728 p = 0,0005
	Kontrolle	0,748 p = 0,0001	0,698 p = 0,0004	0,491 p = 0,02

4.2 Nährstoffversorgung

Eine Patientin war bereit, im Rahmen der Studie Blut abzugeben. Das Führen der Ernährungsprotokolle, die die Grundlage dieser Auswertung darstellten, sowie das Sammeln von Urinen und Fäzes lehnte diese Patientin jedoch ab. Somit konnten die Daten für die Nährstoffversorgung, die im Folgenden dargestellt werden, für 18 der 19 Patientinnen ausgewertet werden. Lücken in der Auswertung in Woche 7 (Patientin M) und in Woche 11 (Patientin A, E, F, G, H, I, P und R) ergaben sich durch externe Schulbesuche der Patientinnen, die Bestandteil der Therapie waren. Hier wurde auf das Führen von Ernährungsprotokollen und das Sammeln von Urin und Fäzes aus Rücksicht auf die Patientinnen verzichtet.

In der folgenden Tabelle 4 sind die Energiezufuhrdaten in kcal pro Tag sowie die Zufuhrdaten für Protein, Fett und Kohlenhydrate für die Patientinnen der ANO-Studie in den einzelnen Untersuchungswochen der klinischen Phase dargestellt. Die Einzeldaten sind im Anhang aufgeführt.

Im Verlauf der stationären Phase ergab sich bei allen Patientinnen eine Steigerung der Energiezufuhr bis Woche 7 (Ausnahme: Patientin A und G), die jedoch statistisch

nicht signifikant war. Die Höhe der Energiezufuhr während dieser Zeit richtete sich nach der Energiezufuhr vor Aufnahme in die Klinik und nach Alter, Gewicht und Zielgewicht, das die Patientinnen erreichen sollten. Hatten die Patientinnen vor ihrem Klinikaufenthalt über einen längeren Zeitraum extrem gefastet, wurde die Energiezufuhr langsam gesteigert, beginnend mit 500 bis 1.000 kcal pro Tag. Zu Beginn der ANO-Studie, also nach einer Adaptation von ein bis zwei Wochen, lag die Energieaufnahme zwischen 1.250 und 2.614 kcal pro Tag. In der dritten Studienwoche nahmen die Patientinnen zwischen 1.725 und 2.701 kcal pro Tag zu sich, in Woche 7 lag die Zufuhr bei 2.128 bis 2.916 kcal pro Tag und in Woche 11 zwischen 1.876 und 3.243 kcal pro Tag. Die statistische Auswertung der Daten ergab eine Tendenz zur Steigerung der Energieaufnahme in dem Zeitraum von Woche 1 bis Woche 3, die jedoch nicht signifikant war.

Tabelle 4: Energie- und Nährstoffzufuhr der Patientinnen der ANO-Studie während der stationären Phase.

	Woche 1	Woche 3	Woche 7	Woche 11
Energie	kcal/Tag	kcal/Tag	kcal/Tag	kcal/Tag
Mittelwert	1.876,0 ± 352,3	2.179,3 ± 256,0	2.546,8 ± 224,6	2.598,8 ± 449,5
Protein	g/Tag	g/Tag	g/Tag	g/Tag
Mittelwert	69,9 ± 12,5	76,7 ± 11,7	83,6 ± 11,7	84,4 ± 14,5
Fett	g/Tag	g/Tag	g/Tag	g/Tag
Mittelwert	58,0 ± 23,4	69,4 ± 21,2	96,5 ± 15,7	103,0 ± 24,2
Kohlenhydrate	g/Tag	g/Tag	g/Tag	g/Tag
Mittelwert	262,4 ± 60,8	305,4 ± 49,4	328,2 ± 43,5	323,6 ± 49,5

In Tabelle 4 sind ebenfalls die Proteinzufuhrdaten (g/Tag) für die Patientinnen der ANO-Studie in jeder Studienwoche der stationären Phase wiedergegeben. Die Werte der Proteinzufuhr schwanken zwischen den einzelnen Studienphasen und zeigen nicht die bei der Fett- und Energiezufuhr dargestellte Zunahme im Verlauf der Studie. Die von der DGE empfohlenen Zufuhrmengen für diese Altersklasse (46 g pro Tag) wurden bereits in der ersten Phase von allen Patientinnen erreicht. Die Werte schwanken in den vier ausgewerteten Phasen zwischen 52 und 111 g pro Tag.

Die Höhe der Fettzufuhr war sehr unterschiedlich und lag zwischen 21,1 und 125,1 g pro Tag in Woche 1 und 71,4 bis 136,2 g pro Tag in Woche 11.

Im Gegensatz zur Energie- und Fettzufuhr zeigten die Kohlenhydratwerte unterschiedliche Verläufe von Phase zu Phase (Tabelle 4). Der Bereich der Kohlenhydratzufuhr lag in der ersten Woche zwischen 163 und 356 g pro Tag, in Woche 3 zwischen 231 und 408 g pro Tag, in Woche 7 zwischen 235 und 392 g und in Woche 11 zwischen 225 und 392 g pro Tag.

4.2.1 Calciumaufnahme

In Tabelle 5 sind die Calciumzufuhrdaten pro Tag für die jeweiligen Untersuchungswochen dargestellt. In der ersten Untersuchungswoche, in der noch kein Calcium und Vitamin D supplementiert wurde, erreichten 16 Patientinnen eine Calciumzufuhr zwischen 1.000 und 2.000 mg /Tag, bei zwei Patientinnen (A und C) konnte eine Calciumzufuhr von > 2.000 mg/Tag festgestellt werden.

Tabelle 5: Mittelwerte der Calciumzufuhrdaten (mg/Tag) für die Patientinnen der ANO-Studie.

	Woche 1	Woche 3	Woche 7	Woche 11
Mittelwert	1.565 ± 391	2.217 ± 370	2.397 ± 326	2.172 ± 344

In Woche 3 lag die Zufuhr bei vier Patientinnen (I, M, N und T) zwischen 1.500 und 2.000 mg Calcium/Tag, der Rest erreichte > 2.000 mg/Tag. In Woche 7 waren die Tagespläne einer Patientin nicht auswertbar, zwei Patientinnen (T und V) nahmen zwischen 1.700 und 2.000 mg Calcium/Tag auf. Die restlichen Magersüchtigen bekamen mehr als 2.000 mg Calcium/Tag. Von den zehn Patientinnen, deren Tagespläne in Woche 11 ausgewertet werden konnten, nahmen vier zwischen 1.700 und 2.000 mg Calcium/Tag auf, die verbleibenden sechs erhielten mehr als 2.000 mg Calcium/Tag. Somit kann ab Woche 3 von einer ausreichenden Calciumversorgung der Patientinnengruppe ausgegangen werden, da die empfohlene Calciumzufuhr von 1.200 mg für diese Altersgruppe (DACH: Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr, 1. Auflage) von allen Patientinnen erreicht wurde.

4.3 Calcium-Exkretion

Die folgende Tabelle 6 zeigt die Mittelwerte und Standardabweichungen der Calcium-Exkretionsraten (mg/24h) für 16 der 19 Patientinnen der ANO-Studie (Einzeldata sind im Anhang dargestellt). Die durchschnittliche Ausscheidungsrate schwankte in allen Untersuchungswochen zwischen 30,7 und 297,4 mg Calcium in 24 Stunden.

Tabelle 6: Calcium-Exkretionsraten (mg/24h) für die Patientinnen der ANO-Studie.

	Woche 1	Woche 3	Woche 7	Woche 11
Mittelwert	124,1 ± 64,8	158,1 ± 70,7	164,4 ± 68,9	131,5 ± 69,7

4.4 Calcium-Bilanzen

In Tabelle 7 sind die Tageswerte der Calciumbilanzen von zehn Patientinnen während ihres stationären Aufenthaltes dargestellt (Einzeldata sind im Anhang dargestellt). In Woche 1 zeigten drei (Patientin H, P und V) der zehn Patientinnen eine negative Wochenbilanz. In der dritten Studienwoche reduzierte sich die Zahl auf zwei Patientinnen (L und V), in Woche 7 auf eine Patientin (G). Nach 11 Wochen wurde für alle Patientinnen, bei denen eine Calciumbilanz berechnet werden konnte, eine positive Bilanz festgestellt.

Tabelle 7: Mittelwerte und Standardabweichungen der Calciumbilanzen (mg/Tag) der Patientinnen der ANO-Studie. Lücken ergeben sich durch fehlende Daten zur Urinsammlung, Fäzesabgabe und/oder Nährstoffzufuhr.

Patientin	Woche 1	Woche 3	Woche 7	Woche 11
C	361 ± 1.250	433 ± 856	553 ± 588	341 ± 581
E	87 ± 1.161	781 ± 966	382 ± 999	-
F	629 ± 586	-	-	-
G	724 ± 489	1.164 ± 729	-78 ± 787	-
H	-241 ± 976	40 ± 342	162 ± 614	-
I	-	657 ± 287	175 ± 488	-
L	-	-71 ± 1.812	209 ± 2.189	122 ± 977
O	177 ± 120	537 ± 318	445 ± 358	839 ± 925
P	-124 ± 743	18 ± 994	1.393 ± 1.299	-
V	-442 ± 0	-795 ± 2.445	339 ± 397	1.556 ± 142
Mittelwert	146 ± 412	307 ± 577	398 ± 417	714 ± 385

Die Mittelwerte zeigen im Verlauf des stationären Teils eine zunehmende Tendenz. Somit kann davon ausgegangen werden, dass die Calciumzufuhr der Patientinnen ausreichend war. Sichtbar ist jedoch, dass die Bilanzwerte sehr heterogen sind und große Schwankungen in positive wie auch negative Richtung aufweisen.

4.5 Parameter des Knochenstoffwechsels

4.5.1 Parameter der Knochenformation

4.5.1.1 Carboxyterminales Propeptid des Typ I Prokollagens (PICP)

In Abbildung 6 sind die Verläufe des Parameters PICP als Marker des Knochenaufbaus dargestellt. Zu Beginn der Studie zeigten die magersüchtigen Patientinnen um mehr als die Hälfte niedrigere Werte als die Probandinnen der Kontrollgruppe ($128,1 \pm 41,6 \mu\text{g/L}$ versus $268,7 \pm 135,7 \mu\text{g/L}$, $p < 0,0001$). Im klinischen Verlauf bis Woche 15 erhöhten sich die Serum-Konzentrationen der Patientinnen signifikant auf die Werte der Kontrollgruppe ($278,4 \pm 159,5 \mu\text{g/L}$ versus $257,3 \pm 123,1 \mu\text{g/L}$, ANOVA, $p = 0,002$). Bis zum Ende der Studie kam es zu keinen weiteren signifikanten Veränderungen, die Werte zeigten jedoch für beide Gruppen

eine abnehmende Tendenz (Magersüchtige: $155,4 \pm 55,4 \mu\text{g/L}$, Kontrollgruppe: $220,9 \pm 85,9 \mu\text{g/L}$). Die Werte schwankten in der Patientinnengruppe über den gesamten Studienzeitraum zwischen 63 und $703 \mu\text{g/L}$ und in der Kontrollgruppe zwischen 105 und $541 \mu\text{g/L}$.

Die Berechnung der Korrelationen ergab zu allen Messzeitpunkten einen positiven Zusammenhang zwischen den beiden Aufbaumarkern PICP und bAP ($R = 0,39$ bis $0,91$, $p < 0,05$). Auch zwischen dem Resorptionsmarker CTX im Serum und PICP wurde eine positive Beziehung gefunden ($R = 0,46$ bis $0,86$, $p < 0,03$), in der Patientinnengruppe jedoch nicht in den ersten 7 Wochen ihres stationären Aufenthaltes.

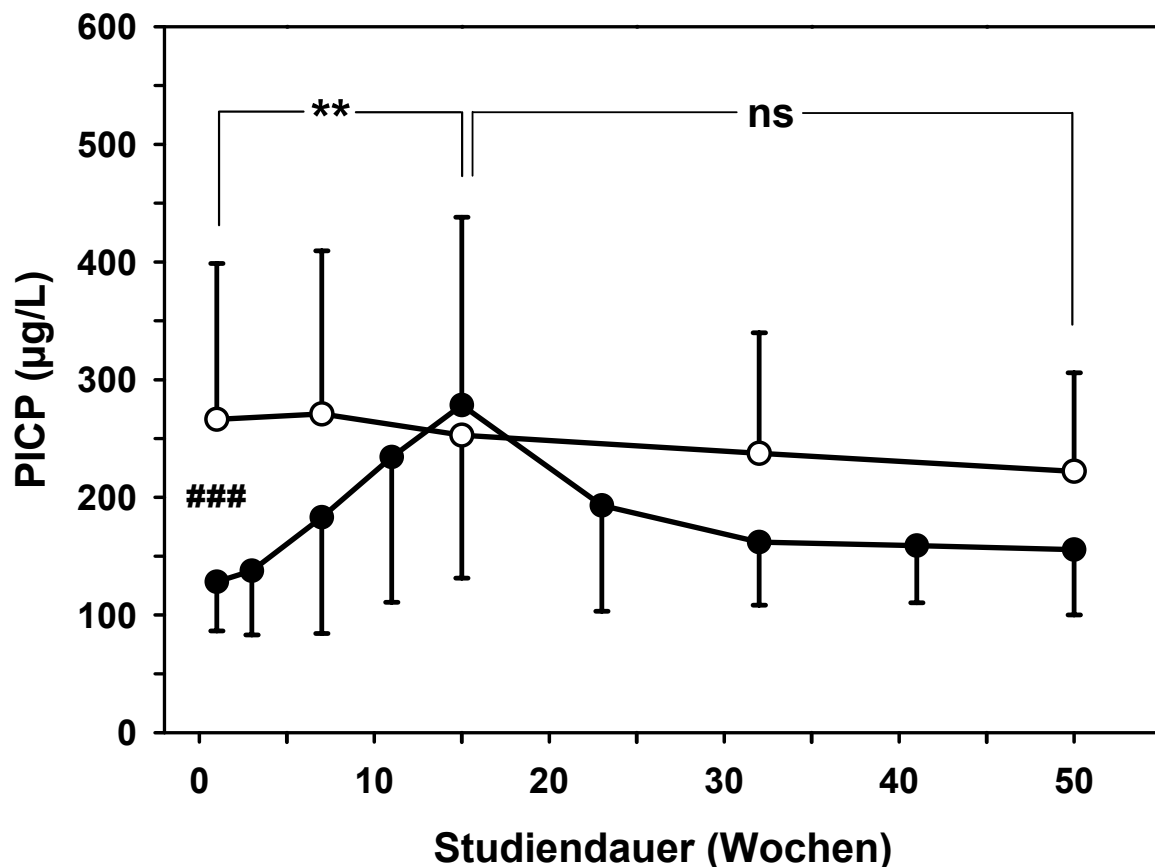


Abbildung 6: Serumkonzentrationen des Knochenaufbauparameters PICP für die Patientinnen und Kontrollprobandinnen der ANO-Studie im Verlauf eines Jahres. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm SD. Geschlossene Kreise geben die Patientinnengruppe, offene Kreise die Kontrollgruppe wieder. ###: t-Test, $p < 0,0001$; **: ANOVA (zwischen beiden Gruppen), $p = 0,002$; ns = nicht signifikant

4.5.1.2 Knochenspezifische alkalische Phosphatase (bAP)

Abbildung 7 gibt die Serumkonzentrationen von bAP, einem weiteren Biomarker der Knochenformation, für die Patientinnen und Probandinnen im Verlauf der ANO-Studie wieder. Dabei zeigen die Kurven einen ähnlichen Verlauf wie bei PICP. Auch hier waren die Anfangswerte der beiden Gruppen signifikant unterschiedlich. Die Konzentrationen der Patientinnen erreichten lediglich ca. 50 % der Kontrollgruppe ($15,7 \pm 9,4 \mu\text{g/L}$ versus $32,4 \pm 18,4 \mu\text{g/L}$, $p = 0,0004$). Im klinischen Verlauf der Diättherapie bis Woche 15 zeigte sich ein Anstieg in der Gruppe der Magersüchtigen mit Werten, die etwas über denen der Kontrollgruppe lagen ($28,9 \pm 18,9 \mu\text{g/L}$ versus $25,8 \pm 10,6 \mu\text{g/L}$, ANOVA, $p = 0,005$).

Zwischen Woche 15 und 50 kam es zu keinen weiteren Veränderungen der Kurvenverläufe zwischen den beiden Gruppen (Patientinnen: $22,0 \pm 9,3 \mu\text{g/L}$, Kontrolle: $28,2 \pm 13,6 \mu\text{g/L}$). Der Bereich der bAP-Konzentrationen lag während der gesamten Studie bei den Patientinnen zwischen 8 und 112 $\mu\text{g/L}$ und bei den Gesunden zwischen 8 und 75 $\mu\text{g/L}$.

Die Werte von bAP und CTX korrelierten in beiden Gruppen miteinander ($R = 0,50$ bis $0,87$, $p < 0,02$), bei den Patientinnen jedoch nur zwischen Woche 11 und 32. Während die Kontrollgruppe negative Korrelationen von bAP zur Fett-, Mager- und Körperzellmasse aufwies, konnte dies für die Patientinnen nicht nachgewiesen werden.

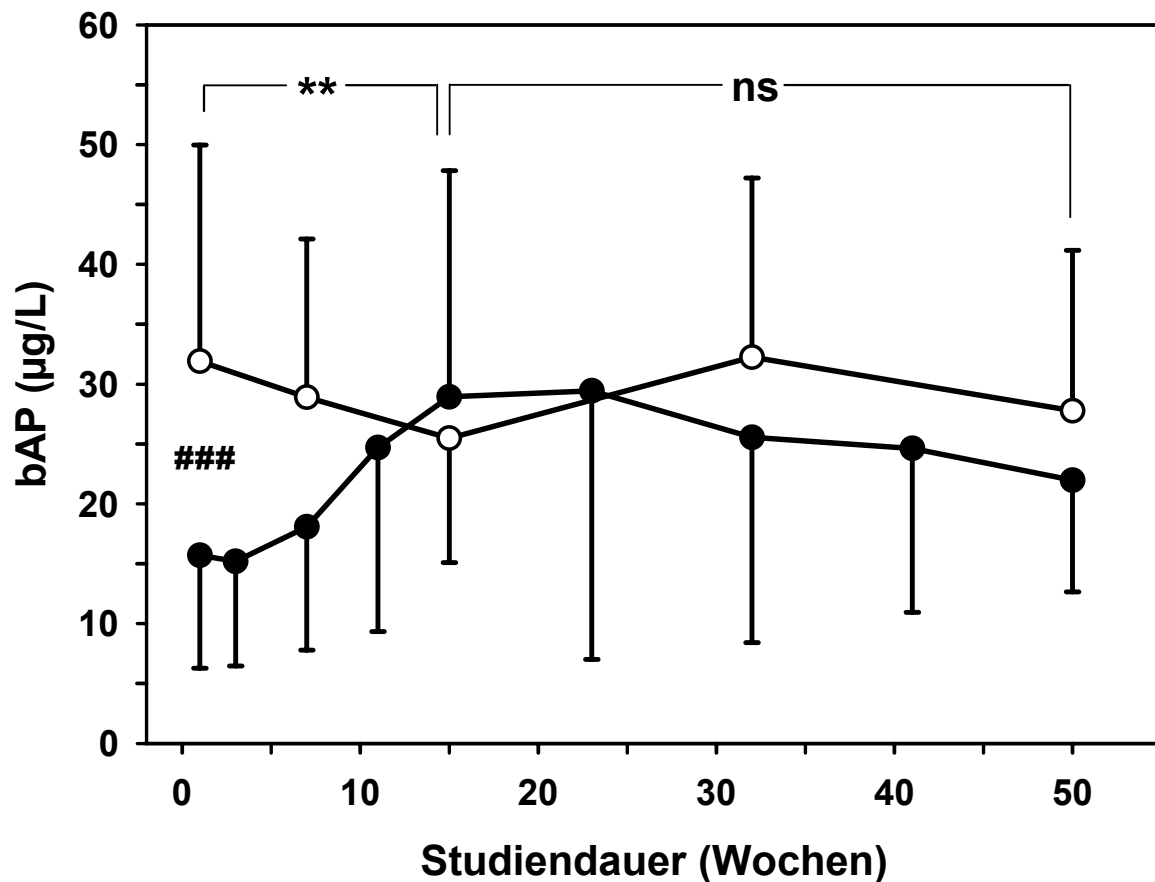


Abbildung 7: Serumkonzentrationen des Knochenaufbauparameters bAP für die Patientinnen und Kontrollprobandinnen der ANO-Studie im Verlauf eines Jahres. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm SD. Geschlossene Kreise geben die Patientinnengruppe, offene Kreise die Kontrollgruppe wieder. ###: t-Test, $p < 0,0001$; **: ANOVA (zwischen beiden Gruppen), $p = 0,005$; ns = nicht signifikant

4.5.2 Parameter der Knochenresorption

4.5.2.1 Carboxyterminales Telopeptid des Typ I Kollagens (CTX)

In Abbildung 8 sind die Serumkonzentrationen des Knochenabbaumarkers CTX als Mittelwerte für die Gruppe der Magersüchtigen und der Kontrolle im Verlauf eines Jahres dargestellt. Zu Anfang lagen die Werte für die Patientinnen bei 10.472 ± 4.243 pmol/L und für die Kontrollgruppe bei 10.237 ± 3.593 pmol/L. Im Verlauf der Studie bis zur 15. Woche kam es bei den Patientinnen zu einer tendenziellen Abnahme der Werte auf 9.056 ± 4.632 pmol/L. Eine ähnliche Tendenz

war bei der Gruppe der Kontrollprobandinnen zu beobachten (9.244 ± 2.725 pmol/L).

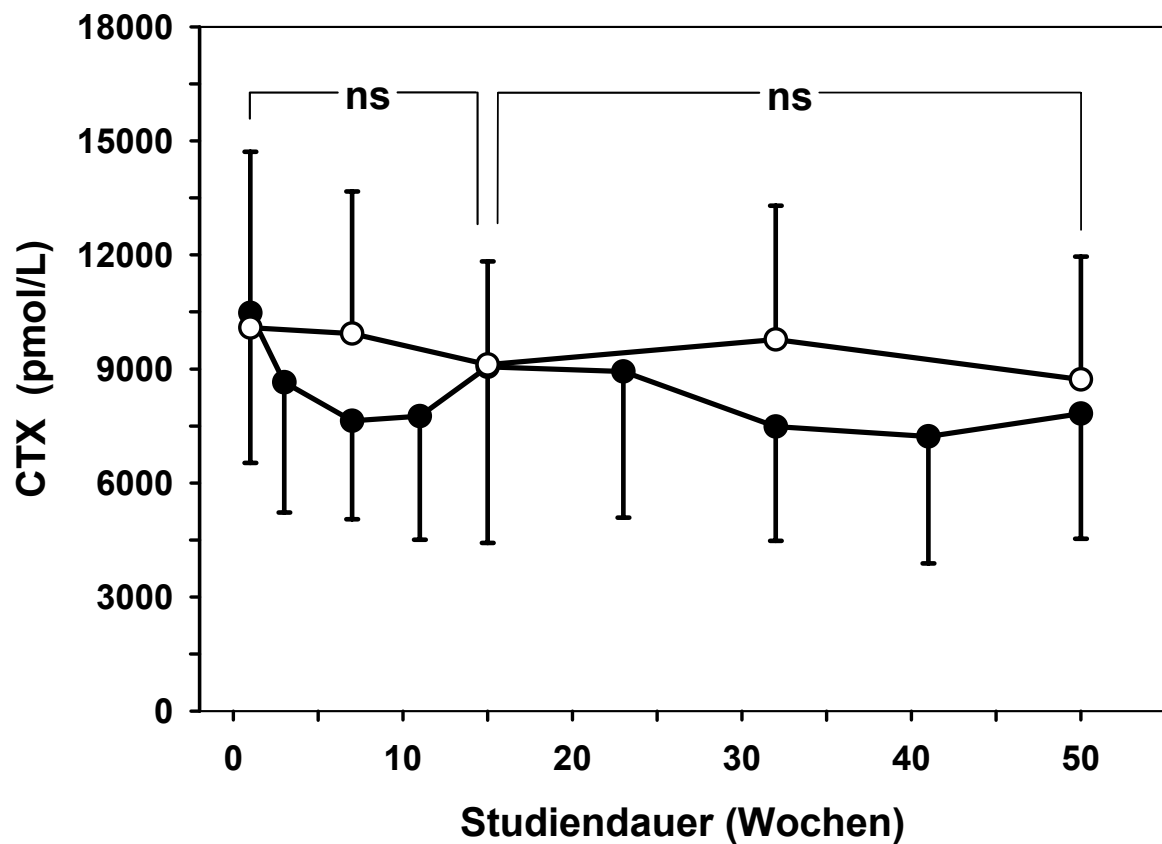


Abbildung 8: Serumkonzentrationen des Knochenabbauparameters CTX für die Patientinnen und Kontrollprobandinnen der ANO-Studie im Verlauf eines Jahres. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm SD. Geschlossene Kreise geben die Patientinnengruppe, offene Kreise die Kontrollgruppe wieder. ns = nicht signifikant

Nach 50 Studienwochen wiesen die Patientinnen 7.823 ± 3.291 pmol/L auf, die Probandinnen der Kontrollgruppe wiesen Werte von 8.783 ± 3.313 pmol/L auf. Es gab zu keinem Messzeitpunkt signifikante Unterschiede in den Kurvenverläufen zwischen den beiden Gruppen. Die Werte variierten in der Patientinnengruppe zwischen 3.418 und 21.706 pmol/L und in der Kontrollgruppe zwischen 1.910 und 19.514 pmol/L.

4.5.3 Einflussgrößen des Knochenstoffwechsels

4.5.3.1 Leptin

Abbildung 9 zeigt die Serumspiegel von Leptin für die Patientinnen und die Kontrollgruppe der ANO-Studie im Verlauf des Studienjahres.

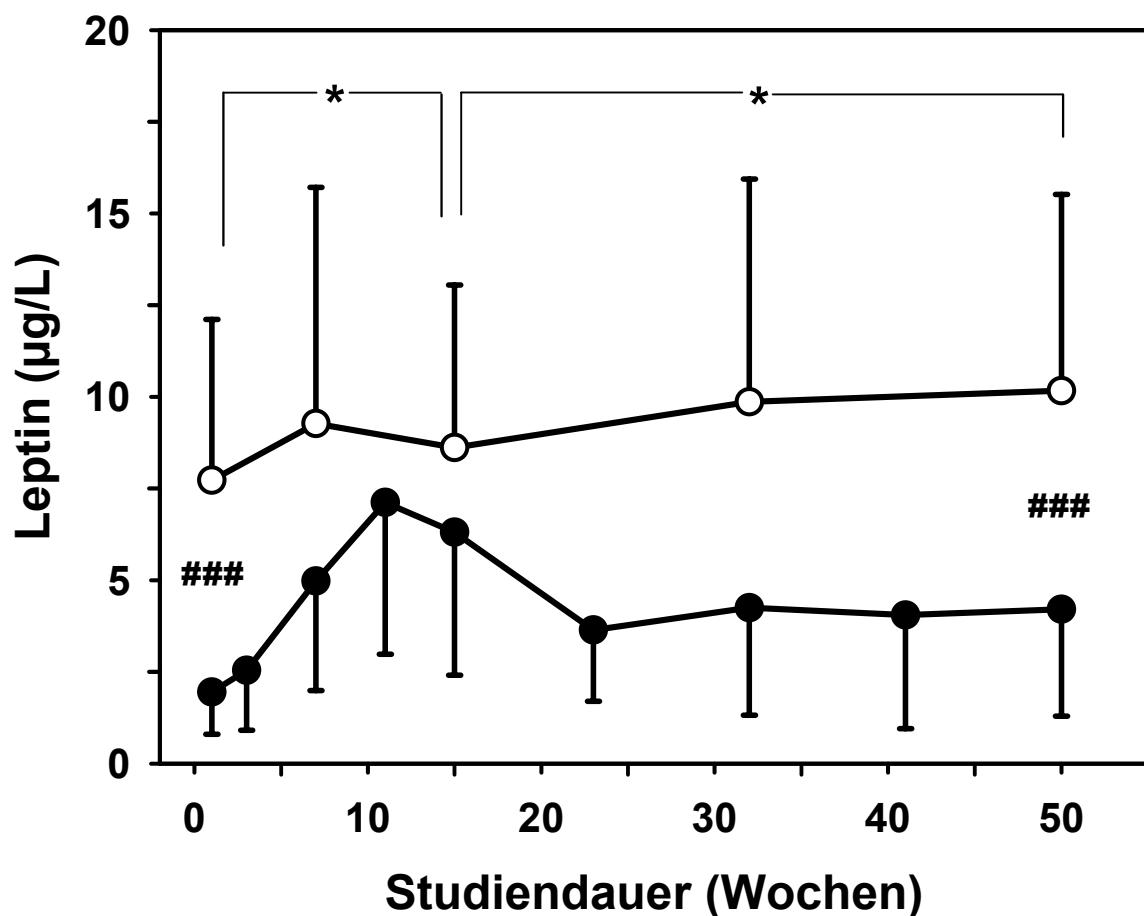


Abbildung 9: Serumkonzentrationen des Hormons Leptin für die Patientinnen und Kontrollprobandinnen der ANO-Studie im Verlauf eines Jahres. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm SD. Geschlossene Kreise geben die Patientinnengruppe, offene Kreise die Kontrollgruppe wieder. ###: t-Test, $p < 0,001$; *: ANOVA (zwischen beiden Gruppen), $p < 0,05$

Zu Beginn der Studie wiesen die Probandinnen der Kontrollgruppe im Mittel eine mehr als das vierfach höhere Leptinkonzentration auf als die Patientinnen ($7,9 \pm 4,4 \mu\text{g/L}$ versus $1,9 \pm 1,1 \mu\text{g/L}$, $p < 0,0001$). Sowohl im Verlauf der klinischen Phase bis Woche 15 als auch nachfolgend bis Woche 50 zeigten sich unterschiedliche Kurvenverläufe beider Gruppen (ANOVA, $p = 0,02$ bis Woche 15,

p = 0,04 bis Woche 50). Während die Werte in der Kontrollgruppe konstant blieben, stiegen sie in der Patientinnengruppe in der Anfangsphase bis Woche 15 auf $7,1 \pm 4,1 \mu\text{g/L}$ an. Bis zur Woche 50 fielen die Werte jedoch wieder auf $4,2 \pm 2,9 \mu\text{g/L}$ ab und zeigten einen signifikanten Unterschied zur Kontrolle (t-Test, p = 0,0006). Insgesamt lag die Schwankungsbreite bei den Magersüchtigen zwischen 0,5 und $14,1 \mu\text{g/L}$ und bei den Gesunden zwischen 1,9 und $27,6 \mu\text{g/L}$.

Mit Ausnahme der ersten beiden Studienphasen korrelierten die Werte von Leptin und IGF-I in der Gruppe der Magersüchtigen positiv miteinander (R = 0,41 bis 0,64, p < 0,04), wohingegen bei den Gesunden keine Beziehung festgestellt werden konnte. Zusätzlich korrelierte Leptin in beiden Gruppen mit der Fettmasse, bei den Patientinnen jedoch erst nach der stationären Phase ab Woche 15.

4.5.3.2 Insulin-like Growth Factor I (IGF-I)

Zu Beginn der Studie zeigten die Patientinnen signifikant niedrigere IGF-I-Konzentrationen als die gesunde Kontrollgruppe (Abbildung 10: $210,5 \pm 75,4 \mu\text{g/L}$ versus $335,6 \pm 58,4 \mu\text{g/L}$, p < 0,0001). Dies entspricht einem um 59 % höheren Wert für die Probandinnen der Kontrollgruppe. Im Rahmen der stationären Ernährungstherapie kam es für die Patientinnen innerhalb von 15 Wochen zu einem Anstieg der IGF-I-Werte, die nahezu das Niveau der Kontrollgruppe erreichten ($309,0 \pm 73,9 \mu\text{g/L}$ versus $342,8 \pm 89,6 \mu\text{g/L}$, ANOVA, p = 0,0012). Im Langzeitverlauf bis Woche 50 sanken die Werte der Patientinnen bis auf die Ausgangswerte ab, während die der Gesunden konstant blieben ($232,2 \pm 81,0 \mu\text{g/L}$ versus $341,2 \pm 101,1 \mu\text{g/L}$, ANOVA, p = 0,0042, t-Test, p = 0,0007). Die IGF-I-Konzentrationen schwankten in der Patientinnengruppe zwischen 73 und $523 \mu\text{g/L}$, für die Kontrollgruppe lag der Bereich bei 123 bis $584 \mu\text{g/L}$.

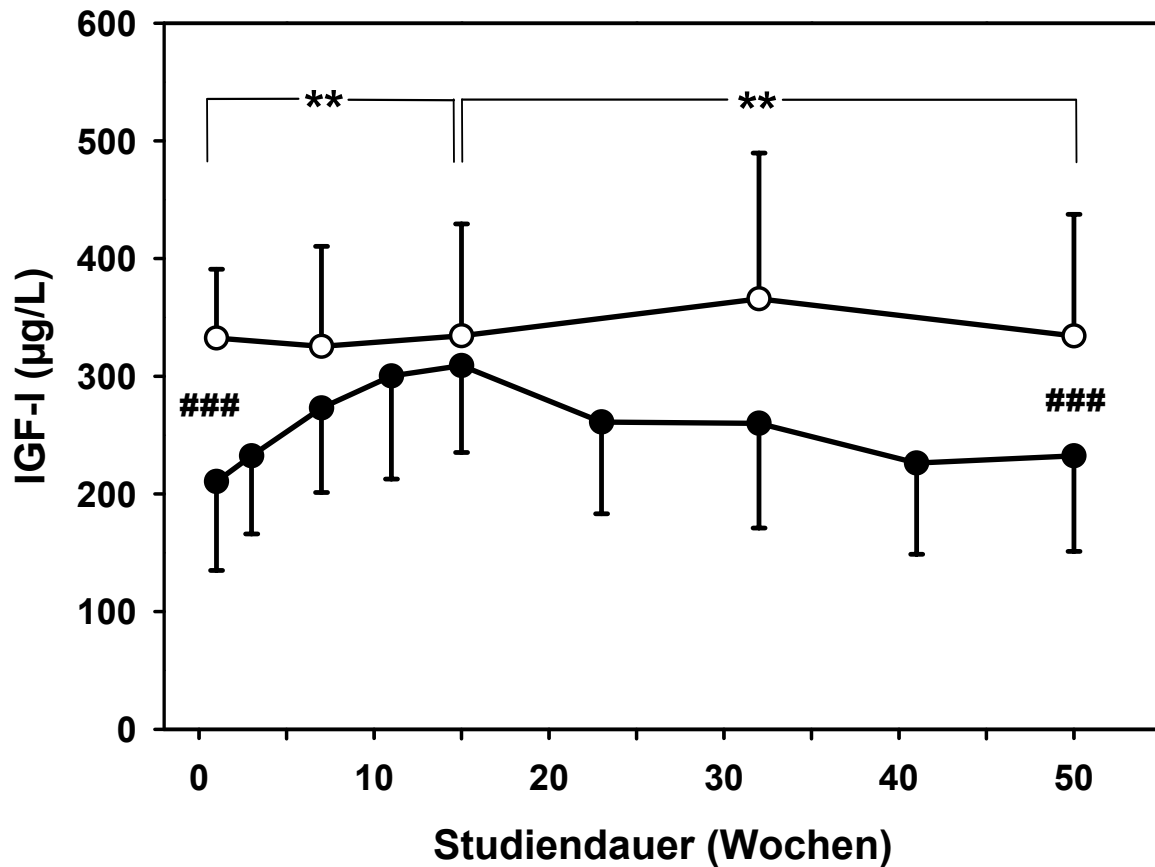


Abbildung 10: Serumkonzentrationen des IGF-I für die Patientinnen und Kontrollprobandinnen der ANO-Studie im Verlauf eines Jahres. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm SD. Geschlossene Kreise geben die Patientinnengruppe, offene Kreise die Kontrollgruppe wieder. ###: t-Test, $p < 0,001$; **: ANOVA (zwischen beiden Gruppen), $p < 0,01$

4.5.3.3 Cortisol im Serum

In der folgenden Abbildung 11 sind die Serum-Cortisolwerte für die beiden Gruppen der ANO-Studie dargestellt. Während die Kontrollgruppe kaum Schwankungen zeigte, waren die Werte der Patientinnen zu Anfang signifikant höher als in der Vergleichsgruppe ($23,5 \pm 9,6$ mg/L versus $17,6 \pm 5,2$ mg/L, $p = 0,03$) und lagen oberhalb der Normalbereichsgrenzen (für Kinder bis 16 Jahre 15,0 mg/L, für Erwachsene ab 16 Jahren bis 22,4 mg/L). In der Folgezeit zeigten sich keine weiteren Unterschiede zwischen den Gruppen. Die Werte der Patientinnen lagen in Woche 15 bei $18,1 \pm 5,5$ mg/L, die der Kontrollgruppe bei $17,1 \pm 6,7$ mg/L. Auch im weiteren Verlauf bis zum Ende der Studie blieben die Konzentrationen bei allen Studienteilnehmerinnen nahezu gleich.

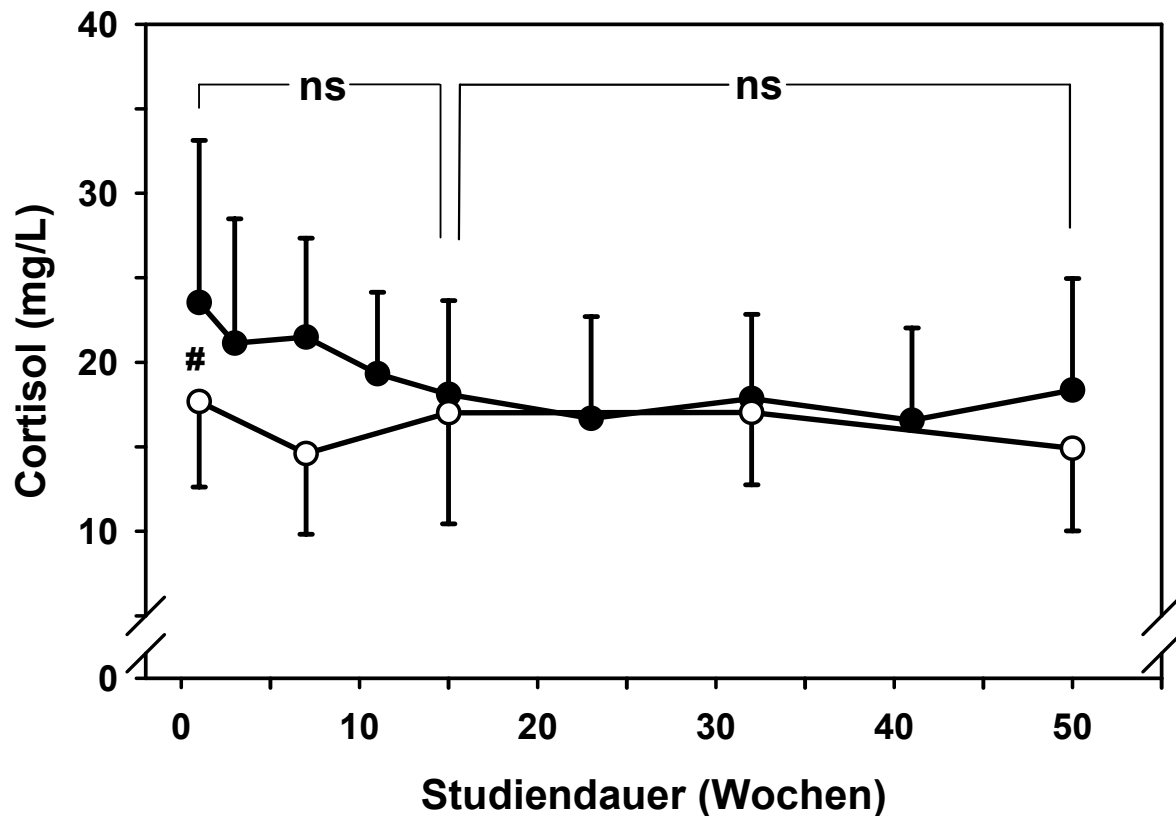


Abbildung 11: Serumkonzentrationen von Cortisol der Patientinnen und Kontrollprobandinnen der ANO-Studie im Verlauf eines Jahres. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm SD. Geschlossene Kreise geben die Patientinnengruppe, offene Kreise die Kontrollgruppe wieder. #: t-Test, $p = 0,03$; ns = nicht signifikant

4.5.3.4 Dehydroepiandrosteron-Sulfat im Serum (DHEAS)

Abbildung 12 zeigt die DHEAS-Konzentrationen im Serum für die Patientinnen und Probandinnen der ANO-Studie. Die Kurven beider Gruppen verlaufen nahezu identisch, es gab zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede. Der Mittelwert für Frauen wird vom Hersteller des Analyseverfahrens mit $4,6 \mu\text{mol/L}$ angegeben. Zu Beginn der Studie wiesen die Patientinnen Mittelwerte von $4,5 \pm 2,8 \mu\text{mol/L}$, die gesunden Jugendlichen $4,6 \pm 2,5 \mu\text{mol/L}$ auf. Nach einem Jahr lagen die Patientinnenwerte bei $4,4 \pm 2,8 \mu\text{mol/L}$, die Probandinnenwerte bei $4,7 \pm 2,1 \mu\text{mol/L}$. Somit waren die Werte beider Gruppen im Normalbereich, wobei es jedoch große individuelle Unterschiede gab.

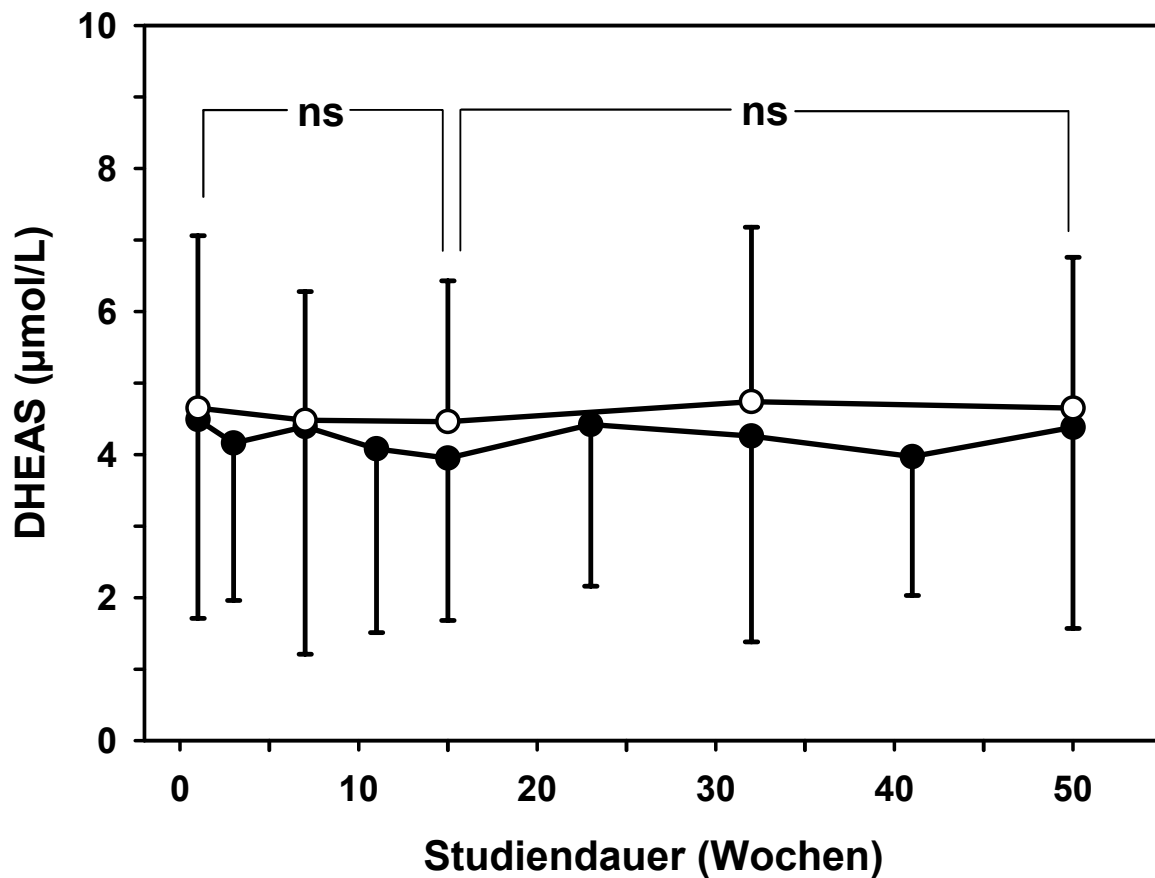


Abbildung 12: DHEAS-Serumkonzentrationen der Patientinnen und Kontrollprobandinnen der ANO-Studie im Verlauf eines Jahres. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm SD. Geschlossene Kreise geben die Patientinnengruppe, offene Kreise die Kontrollgruppe wieder. ns = nicht signifikant

4.5.3.5 17 β -Östradiol

Die 17 β -Östradiolwerte sind für beide Gruppen der Studie in der folgenden Abbildung 13 wiedergegeben. Während die Patientinnen zu Beginn sehr niedrige Werte aufwiesen ($52,6 \pm 32,4$ pmol/L), hatten die Probandinnen der Kontrollgruppe signifikant höhere Werte ($393,9 \pm 338,7$ pmol/L, $p = 0,0007$). In den nachfolgenden Messungen sanken die Ergebnisse der Kontrollgruppe ab, die der Patientinnen stiegen im gleichen Zeitraum bis Woche 15 an ($135,0 \pm 103,0$ pmol/L versus $219,4 \pm 187,2$ pmol/L, ANOVA, $p = 0,008$). Bis zur 50. Woche zeigten sich keine weiteren Unterschiede zwischen den beiden Gruppen ($196,4 \pm 200,1$ pmol/L versus $222,6 \pm 161,2$ pmol/L).

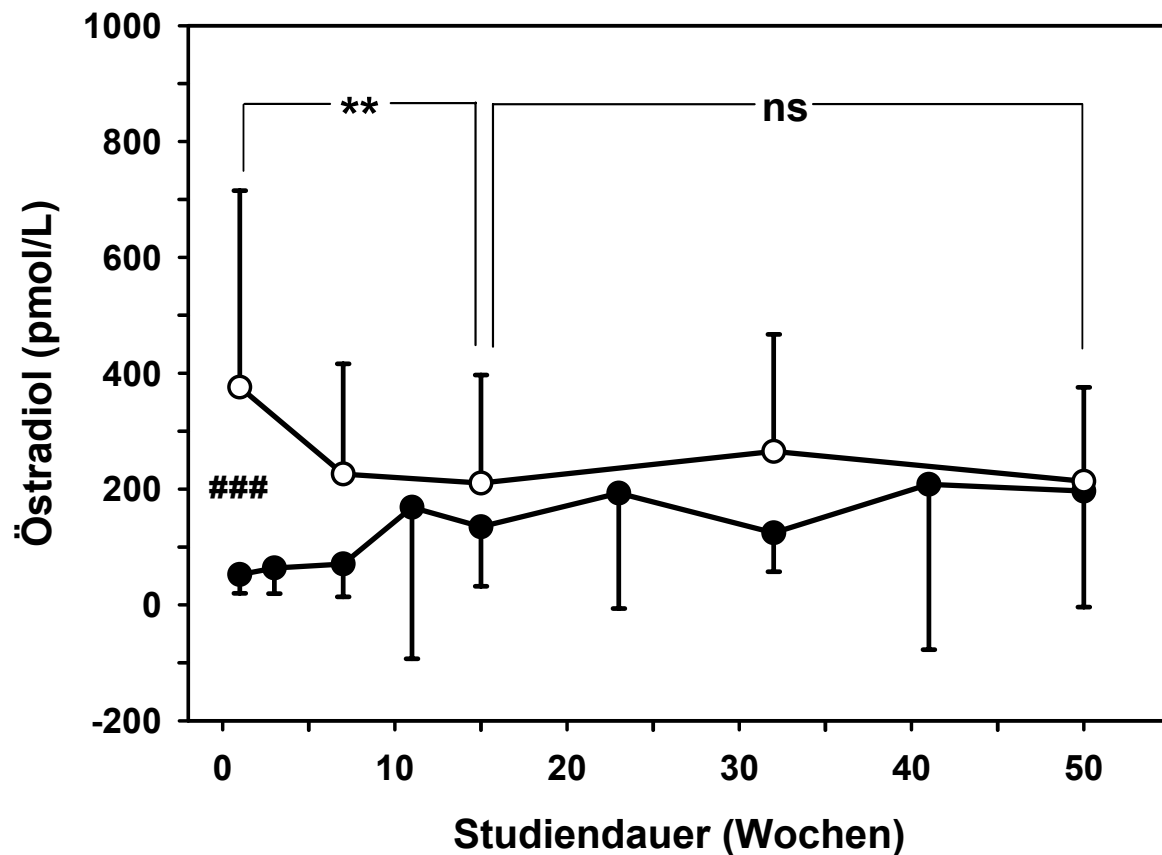


Abbildung 13: 17 β -Östradiol-Serumkonzentrationen der Patientinnen und Kontrollprobandinnen der ANO-Studie im Verlauf eines Jahres. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm SD. Geschlossene Kreise geben die Patientinnengruppe, offene Kreise die Kontrollgruppe wieder. ###: t-Test, $p = 0,0007$; **: ANOVA (zwischen beiden Gruppen), $p = 0,008$; ns = nicht signifikant

Mit Ausnahme der beiden Patientinnen, die orale Kontrazeptiva einnahmen, blieben alle Patientinnen während der Studie amenorrhöisch. Die Zyklusphasen der Kontrollgruppe konnten leider nicht bestimmt werden.

4.5.4 Parameter des Calciumstoffwechsels

Tabelle 8 zeigt die Mittelwerte der Parameter Serum-Calcium, PTH und 25-Hydroxyvitamin D für die Patientinnen der ANO-Studie sowie für die Kontrollgruppe.

Die Serum-Calciumwerte lagen bei allen Patientinnen und Probandinnen zu jedem Messzeitpunkt im Normalbereich (2,2 – 2,65 mmol/L). Es gab keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen.

Zu Beginn der Studie differierten die Werte des PTH zwischen den beiden Gruppen signifikant ($19,8 \pm 10,0$ ng/L versus $27,7 \pm 11,6$ ng/L, $p = 0,04$). Im Verlauf der Studie kam es zu einer Angleichung der Werte.

Tabelle 8: Daten der Serum-Parameter Gesamt-Calcium (mmol/L), PTH (ng/L) und 25-OH-Vitamin D ($\mu\text{g/L}$) für die Patientinnen und Probandinnen der ANO-Studie. ns = nicht signifikant

	Gesamt-Calcium (mmol/L)		PTH (ng/L)		25-OH-Vitamin D ($\mu\text{g/L}$)	
	Patientinnen	Kontrolle	Patientinnen	Kontrolle	Patientinnen	Kontrolle
Woche 1	$2,51 \pm 0,14$	$2,51 \pm 0,12$	$19,8 \pm 10,0$	$27,7 \pm 11,6$	$22,0 \pm 7,0$	$16,1 \pm 3,2$
p	ns		p = 0,04		p = 0,0002	
Woche 1	$2,51 \pm 0,14$	$2,51 \pm 0,12$	$19,8 \pm 10,0$	$27,7 \pm 11,6$	$22,0 \pm 7,0$	$16,1 \pm 3,2$
Woche 3	$2,48 \pm 0,11$		$18,8 \pm 7,4$			
Woche 7	$2,47 \pm 0,10$	$2,46 \pm 0,08$	$18,2 \pm 6,4$	$33,0 \pm 13,3$		
Woche 11	$2,44 \pm 0,10$		$27,2 \pm 13,2$			
Woche 15	$2,46 \pm 0,12$	$2,47 \pm 0,08$	$30,3 \pm 12,9$	$30,7 \pm 17,0$	$20,3 \pm 6,7$	$21,6 \pm 5,6$
p	ns		ns		p = 0,008	
Woche 15	$2,46 \pm 0,12$	$2,47 \pm 0,08$	$30,3 \pm 12,9$	$30,7 \pm 17,0$	$20,3 \pm 6,7$	$21,6 \pm 5,6$
Woche 23	$2,47 \pm 0,10$		$30,0 \pm 13,3$			
Woche 32	$2,48 \pm 0,12$	$2,48 \pm 0,09$	$30,3 \pm 14,8$	$36,6 \pm 22,4$		
Woche 41	$2,48 \pm 0,14$		$29,6 \pm 13,6$			
Woche 50	$2,46 \pm 0,09$	$2,44 \pm 0,07$	$31,3 \pm 17,0$	$33,0 \pm 16,0$	$22,7 \pm 10,7$	$15,6 \pm 4,3$
p	ns		ns		p = 0,01	

Bei 25-Hydroxyvitamin D wiesen beide Gruppen sowohl zu Beginn als auch im Verlauf der Studie unterschiedliche Werte auf. In Woche 1 zeigte die Patientinnengruppe signifikant höhere Werte als die Probandinnen der Kontrollgruppe ($22,7 \pm 7,0$ versus $16,1 \pm 3,2$ $\mu\text{g/L}$, $p = 0,0002$). Bis Woche 15 kam es zu einem Anstieg der Vitamin D-Werte für die Kontrollgruppe im Vergleich zu den Patientinnen ($21,6 \pm 5,6$ versus $20,3 \pm 6,7$ $\mu\text{g/L}$, ANOVA, $p = 0,008$). Im Langzeitverlauf der Studie sanken die Werte der Probandinnen wieder ab ($15,6 \pm 4,3$ versus $20,3 \pm 6,7$ $\mu\text{g/L}$, ANOVA, $p = 0,01$, t-Test, $p = 0,0037$). Sowohl die Magersüchtigen als auch die Gesunden lagen mit ihren Vitamin D-Werten zu allen Messzeitpunkten im Referenzbereich (Herstellerangaben), der mit 6 – 38 $\mu\text{g/L}$ angegeben wird. Es kann somit davon ausgegangen werden, dass die Versorgung

der beiden Gruppen über die Eigensynthese und das supplementierte Ergocalciferol ausreichend war.

4.5.5 Phosphor

Die in Tabelle 9 dargestellten Daten für den Parameter Serum-Phosphor zeigen für die Patientinnen zu Beginn der ANO-Studie signifikant niedrigere Werte ($1,32 \pm 0,17$ versus $1,47 \pm 0,19$ mmol/L, $p = 0,003$). Im Vergleich der beiden Gruppen im weiteren Verlauf der Ernährungstherapie gab es keinerlei Unterschiede. Die Werte aller Teilnehmerinnen lagen zu jedem Zeitpunkt im Normbereich (Normalwerte: $0,95 - 1,75$ mmol/L).

Tabelle 9: Daten der Serum-Parameter Phosphor, Kreatinin und Gesamt-Protein für die Patientinnen und Probandinnen der ANO-Studie. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm SD. ns: nicht signifikant

	Serum-Phosphor (mmol/L)		Kreatinin (mg/dL)		Gesamt-Protein (g/L)	
	Patientinnen	Kontrolle	Patientinnen	Kontrolle	Patientinnen	Kontrolle
Woche 1	$1,32 \pm 0,17$	$1,47 \pm 0,19$	$0,96 \pm 0,18$	$0,91 \pm 0,11$	$78,0 \pm 6,7$	$76,2 \pm 4,7$
p	0,003		P = 0,035		ns	
Woche 1	$1,32 \pm 0,17$	$1,47 \pm 0,19$	$0,96 \pm 0,18$	$0,91 \pm 0,11$	$78,0 \pm 6,7$	$76,2 \pm 4,7$
Woche 3	$1,36 \pm 0,15$		$0,91 \pm 0,15$		$75,5 \pm 4,7$	
Woche 7	$1,36 \pm 0,11$	$1,42 \pm 0,21$	$0,90 \pm 0,15$	$0,89 \pm 0,08$	$77,0 \pm 5,9$	$73,7 \pm 4,0$
Woche 11	$1,33 \pm 0,12$		$0,91 \pm 0,13$		$78,4 \pm 4,5$	
Woche 15	$1,39 \pm 0,14$	$1,46 \pm 0,19$	$0,85 \pm 0,14$	$0,90 \pm 0,08$	$77,0 \pm 6,4$	$75,0 \pm 3,6$
p	ns		P = 0,030		ns	
Woche 15	$1,39 \pm 0,14$	$1,46 \pm 0,19$	$0,85 \pm 0,14$	$0,90 \pm 0,08$	$77,0 \pm 6,4$	$75,0 \pm 3,6$
Woche 23	$1,35 \pm 0,14$		$0,90 \pm 0,09$		$79,6 \pm 4,5$	
Woche 32	$1,33 \pm 0,16$	$1,43 \pm 0,18$	$0,92 \pm 0,11$	$0,89 \pm 0,08$	$79,8 \pm 5,1$	$75,3 \pm 3,3$
Woche 41	$1,32 \pm 0,09$		$0,94 \pm 0,07$		$80,2 \pm 5,0$	
Woche 50	$1,36 \pm 0,16$	$1,40 \pm 0,17$	$0,88 \pm 0,11$	$0,88 \pm 0,09$	$79,0 \pm 5,2$	$73,4 \pm 3,0$
p	ns		ns		ns	

4.5.6 Kreatinin

In Tabelle 9 sind die Kreatininkonzentrationen im Serum für die Patientinnen und die parallelisierte Kontrollgruppe wiedergegeben. In Woche 1 zeigten die Patientinnen höhere Werte im Vergleich zur Kontrollgruppe ($0,96 \pm 0,18$ mg/dL versus $0,91 \pm 0,11$ mg/dL, $p = 0,035$). Im weiteren Verlauf der Studie bis Woche 15 sanken die Serumkonzentrationen der Magersüchtigen auf $0,85 \pm 0,14$ mg/dL ab ($p = 0,030$). Bis zum Ende der Studie glichen sich die Werte der beiden Gruppen an und erreichten $0,88 \pm 0,11$ mg/dL in der Patientinnengruppe und $0,88 \pm 0,09$ mg/dL in der Kontrollgruppe.

Trotz der z.T. signifikanten Unterschiede lagen die Kreatininkonzentrationen der beiden Kollektive zu allen Messzeitpunkten im Normbereich ($0,4 - 1,0$ mg/dL).

4.5.7 Gesamt-Protein

Die Serumkonzentrationen des Gesamt-Proteins waren in beiden Gruppen zu Beginn der Studie nahezu gleich (Tabelle 9, $78,0 \pm 6,7$ g/L versus $76,2 \pm 4,7$ g/L) und blieben während der gesamten Untersuchung auf gleichen Niveau. Signifikante Unterschiede wurden zu keinem Zeitpunkt festgestellt. Die Werte beider Gruppen befanden sich zu jedem Zeitpunkt im Referenzbereich ($60 - 80$ g/L).

4.6 Bestimmung der Körperzusammensetzung mittels Bioelektrischer Impedanz-Analyse (BIA)

Abbildung 14 bis Abbildung 16 geben die Daten der BIA-Messungen während der ANO-Studie wieder.

Abbildung 14 zeigt die Entwicklung der Magermasse. Die erste Messung ergab für die Patientinnengruppe $36,5 \pm 3,7$ kg, für die Kontrollgruppe $41,2 \pm 4,0$ kg ($p = 0,02$). Im Verlauf der Studie sowohl bis Woche 15 als auch im Folgenden bis Woche 50 verliefen die Kurven der beiden Gruppen, bei den Kontrollprobandinnen jedoch auf höherem Niveau, gleich. Es wurden keine weiteren signifikanten Veränderungen zwischen den Gruppen festgestellt.

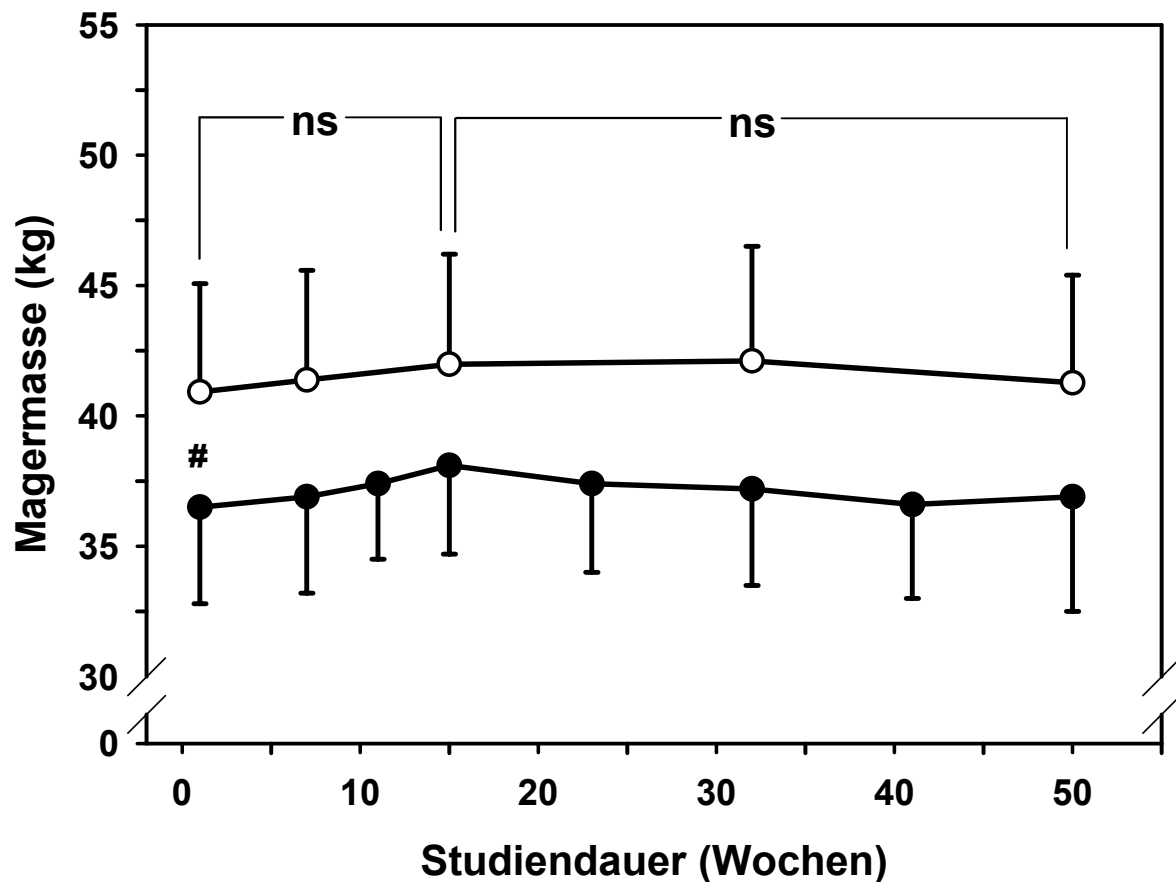


Abbildung 14: Magermasse der Patientinnen und Kontrollprobandinnen der ANO-Studie im Verlauf eines Jahres. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm SD. Geschlossene Kreise geben die Patientinnengruppe, offene Kreise die Kontrollgruppe wieder. #: t-Test, $p = 0,02$; ns: nicht signifikant

In der folgenden Abbildung 15 sind die Ergebnisse der Körperfettmasse für beide Gruppen dargestellt. Wie bei der Magermasse ergaben sich für die Patientinnen zu Anfang signifikant niedrigere Werte ($5,6 \pm 2,4$ kg versus $15,0 \pm 4,6$ kg, $p < 0,0001$). Bis Woche 15 zeigte die Patientinnengruppe eine Zunahme der Körperfettmasse auf $9,9 \pm 2,2$ kg, was nahezu einer Verdopplung gegenüber den Ausgangswerten entspricht. Verglichen mit den Werten der gesunden Probandinnen ($15,6 \pm 4,5$ kg) war die Fettmasse jedoch weiterhin signifikant vermindert ($p = 0,0013$). Bis zum Ende der Studie kam es bei den Patientinnen zu keinen weiteren Veränderungen während bei der Kontrollgruppe ein Anstieg zu verzeichnen war (ANOVA, $p = 0,015$, t-Test, $p < 0,0001$).

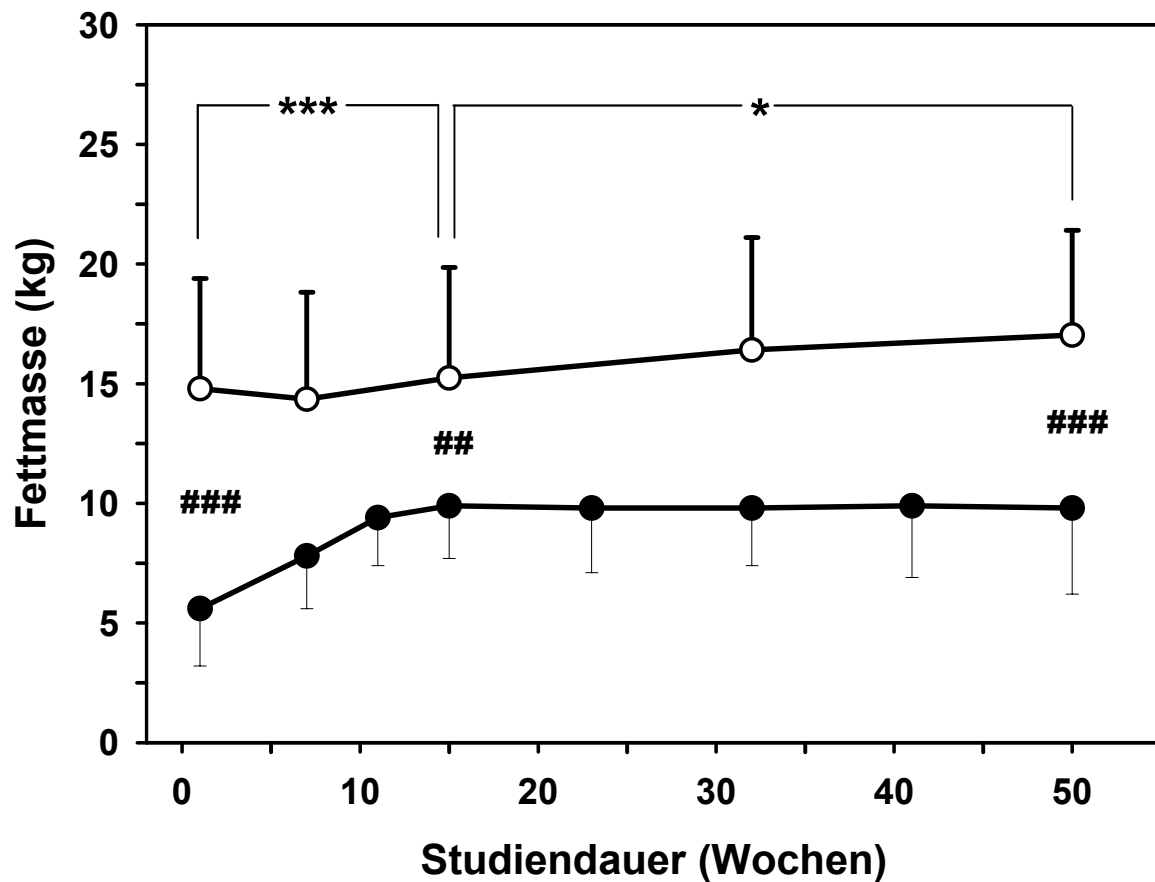


Abbildung 15: Körperfettmasse der Patientinnen und Kontrollprobandinnen der ANO-Studie im Verlauf eines Jahres. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm SD. Geschlossene Kreise geben die Patientinnengruppe, offene Kreise die Kontrollgruppe wieder. ##: t-test, $p = 0,0013$; ###: t-Test, $p < 0,0001$; *: ANOVA (zwischen beiden Gruppen), $p = 0,015$; **: ANOVA (zwischen beiden Gruppen), $p < 0,0001$

Die Entwicklung der Körperzellmasse wird in Abbildung 16 dargestellt. Die Anfangswerte der beiden Gruppen wiesen signifikante Unterschiede auf ($16,2 \pm 1,4$ kg versus $20,6 \pm 2,3$ kg, $p < 0,0001$). Während der Kurvenverlauf der Gesunden konstant blieb, kam es in der Patientinnengruppe während der Ernährungstherapie bis Woche 15 zu einem Anstieg um 2 kg auf $18,2 \pm 1,6$ kg (ANOVA, $p < 0,0001$; t-Test, $p = 0,005$). Bis zum Ende des Studienjahres sanken die Werte der Patientinnen auf $17,4 \pm 2,0$ kg ab, lagen damit aber noch um 1,2 kg höher als zu Beginn der Studie. Im Vergleich zur Kontrollgruppe war dieser Abfall signifikant (ANOVA, $p = 0,013$, t-Test, $p = 0,0002$).

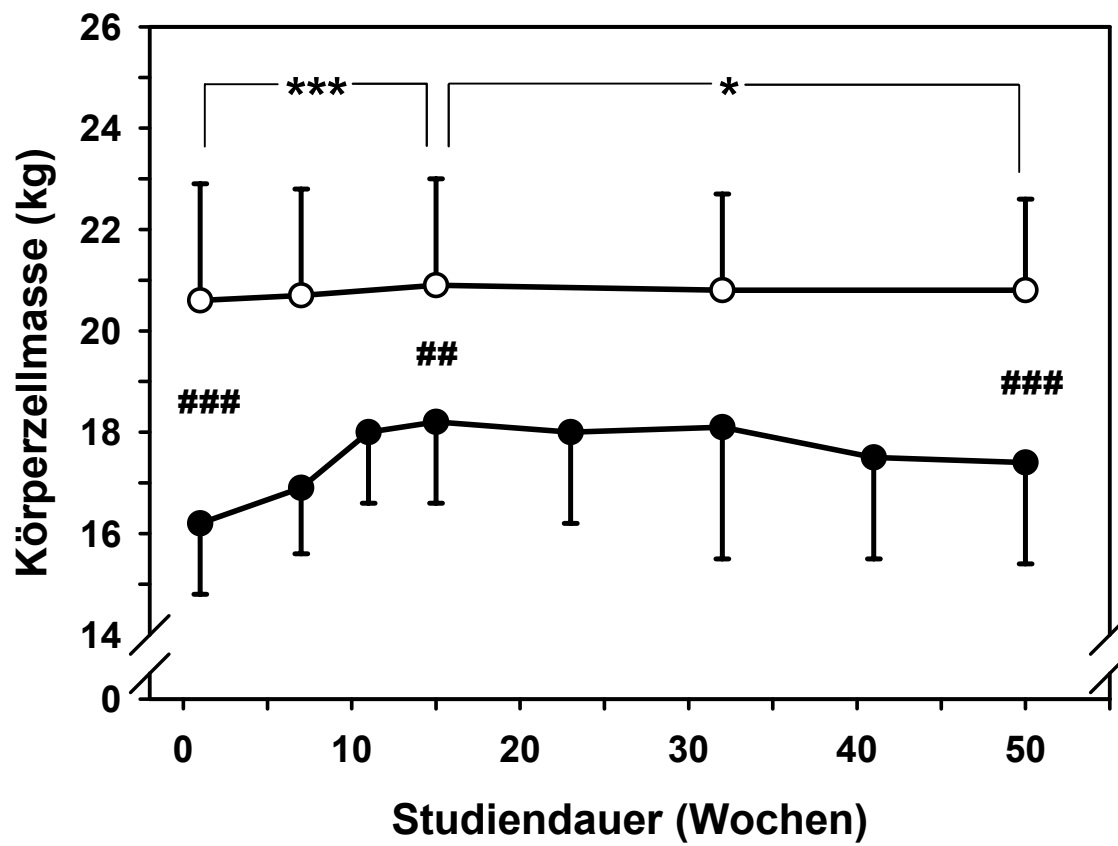


Abbildung 16: Körperzellmasse der Patientinnen und Kontrollprobandinnen der ANO-Studie im Verlauf eines Jahres. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm SD. Geschlossene Kreise geben die Patientinnengruppe, offene Kreise die Kontrollgruppe wieder. ##: t-test, $p = 0,005$; ###: t-Test, $p < 0,001$; *: ANOVA (zwischen beiden Gruppen), $p = 0,013$; ***: ANOVA (zwischen beiden Gruppen), $p < 0,001$

4.7 Densitometrie

Die im Folgenden dargestellten Ergebnisse der densitometrischen Messungen der Lendenwirbelsäule und des Femurs konnten bei 15 Patientinnen dreimal innerhalb des Studienjahres bestimmt werden, bei drei weiteren Patientinnen liegen jeweils zwei Messwerte vor. Bei einer Patientin sowie bei der gesunden Kontrollgruppe wurden keine Untersuchungsdaten erhoben. Als Referenzwerte dienten die Angaben des Geräteherstellers für die entsprechenden Altersklassen.

4.7.1 Densitometrie der Lendenwirbelsäule (L2-L4)

Abbildung 17 und Tabelle 10 zeigen die Messergebnisse der Densitometrie der Lendenwirbelsäule für die Patientinnen der ANO-Studie.

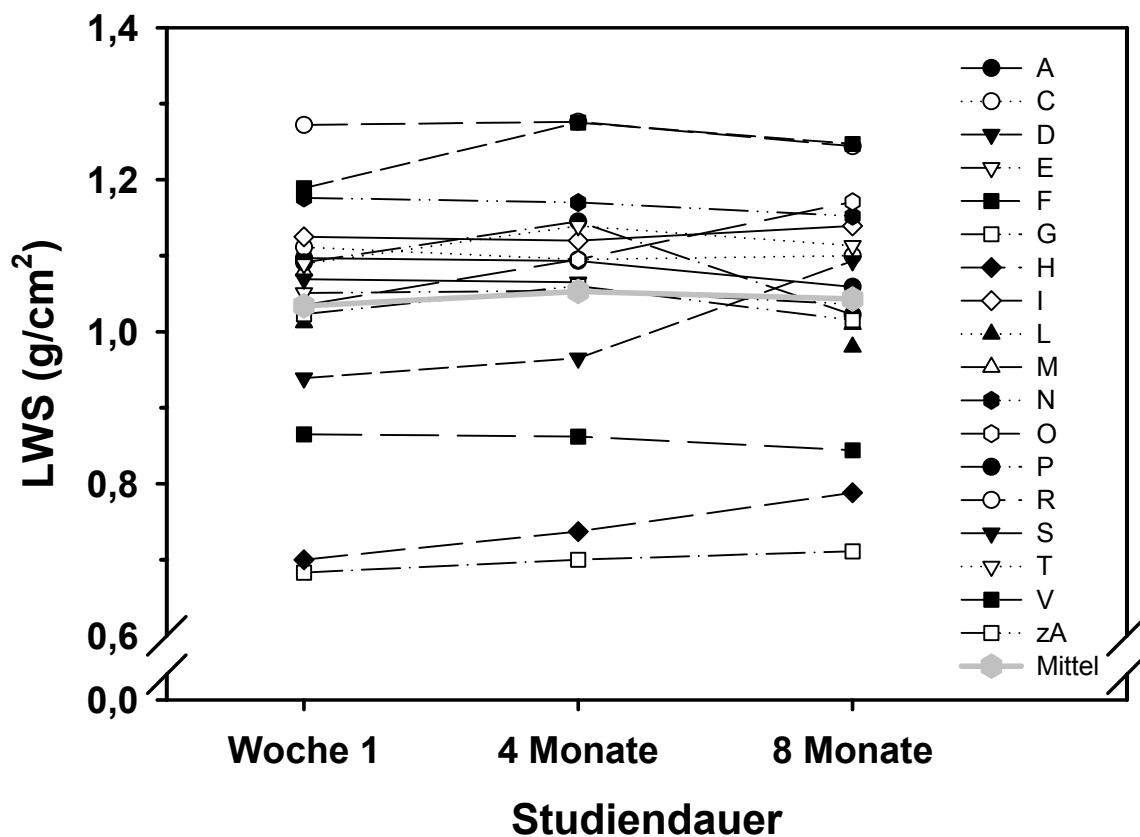


Abbildung 17: Einzeldaten der Knochendichte (g/cm^2) der Lendenwirbelsäule (L2-4) für die Patientinnen der ANO-Studie in Woche 1, nach 4 und 8 Monaten.

Im Vergleich der Messung nach vier Monaten mit den Werten der Basismessung in Woche 1 konnten zehn von 16 Patientinnen tendenziell an Knochendichte zulegen (+ 0,28 bis 7,23 %). Der Vergleich mit der Messung nach acht Monaten zeigt ein anderes Bild. Hier wiesen zehn von 17 Patientinnen eine Abnahme der Knochendichte gegenüber der Ausgangsmessung in Woche 1 auf. Die statistische Auswertung der LWS-Daten ergab keine signifikanten Veränderungen im Studienverlauf.

Tabelle 10: Mittelwerte der Densitometrie-Daten (LWS) für die Patientinnen der ANO-Studie als prozentuale und absolute Abweichung vom Ausgangswert in Woche 1. Die Einzeldaten sind im Anhang dargestellt.

	Woche 1	4 Monate			8 Monate		
	Absolut (g/cm ²)	Absolut (g/cm ²)	Differenz ggü. 1. Messung (g/cm ²)	Differenz ggü. 1. Messung (%)	Absolut (g/cm ²)	Differenz ggü. 1. Messung (g/cm ²)	Differenz ggü. 1. Messung (%)
Mittelwert	1,034	1,053	0,021	1,865	1,043	0,009	1,484
SD	0,154	0,165	0,030	3,199	0,148	0,064	6,763

4.7.2 Densitometrie des Femurs

Die in der folgenden Tabelle 11 und Abbildung 18 dargestellten Daten der Knochendichtemessung des Femurs bei den Patientinnen der ANO-Studie zeichnen ein im Vergleich zur Messung der LWS unterschiedliches Bild auf. Bei den nach vier Monaten erhobenen Werten zeigten sechs von 16 Patientinnen eine Zunahme der Knochendichte im Femurbereich (F, G, H, I, O, S). Im weiteren Verlauf bis zum Messzeitpunkt nach acht Monaten war bei ebenfalls sechs Patientinnen (F, G, H, L, M, R) eine Steigerung der Knochendichte im Vergleich zu Woche 1 zu sehen. Dabei handelte es sich jedoch nur bei drei Patientinnen (F, G und H) um eine tendenzielle Steigerung zu beiden Messzeitpunkten. Die Gesamtauswertung der Femurdaten ergab keine signifikanten Veränderungen im Verlauf der Studie.

Tabelle 11: Mittelwerte der Densitometrie-Daten (Femur) für die Patientinnen der ANO-Studie als prozentuale und absolute Abweichung vom Ausgangswert in Woche 1. Die Einzeldaten sind im Anhang dargestellt.

	Woche 1	4 Monate			8 Monate		
	Absolut (g/cm ²)	Absolut (g/cm ²)	Differenz ggü. 1. Messung (g/cm ²)	Differenz ggü. 1. Messung (%)	Absolut (g/cm ²)	Differenz ggü. 1. Messung (g/cm ²)	Differenz ggü. 1. Messung (%)
Mittelwert	0,947	0,932	-0,021	-1,576	0,931	-0,017	-1,084
SD	0,140	0,119	0,045	4,616	0,114	0,072	7,702

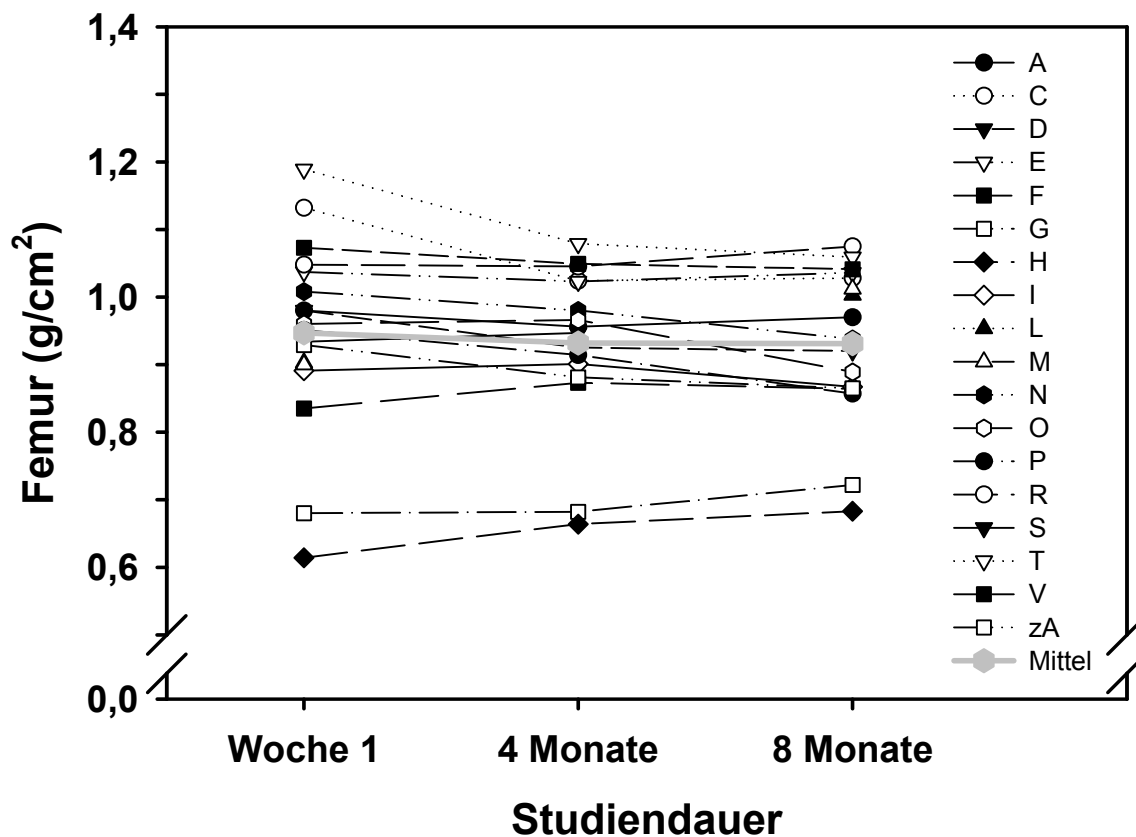


Abbildung 18: Einzeldaten der Knochendichte (g/cm^2) des Femurs für die Patientinnen der ANO-Studie in Woche 1, nach 4 und 8 Monaten.

Die Daten zeigen eine deutliche Inhomogenität. Zum einen gibt es sowohl positive als auch negative Zuwächse der Knochendichte. Zum anderen reagierten Lendenwirbelsäule und Femur in unterschiedlicher Weise auf die Ernährungstherapie. Die Schwankungsbreite war im Bereich des Femur - 10,93 bis + 12,44 % und im Bereich der LWS - 6,48 bis + 16,40 %.

4.7.3 Vergleich mit altersentsprechenden Referenzwerten

In der folgenden Abbildung 19 sind die individuellen Abweichungen der Knochendichte der Patientinnen vom altersentsprechenden Referenzwert sowohl für den Lendenwirbelbereich (L2-L4) als auch für den Femur dargestellt. Die linke Spalte gibt die Werte in Woche 1, nach 4 und 8 Monaten für den LWS-Bereich wieder, die rechte Spalte zeigt die entsprechenden Ergebnisse für die Oberschenkelregion.

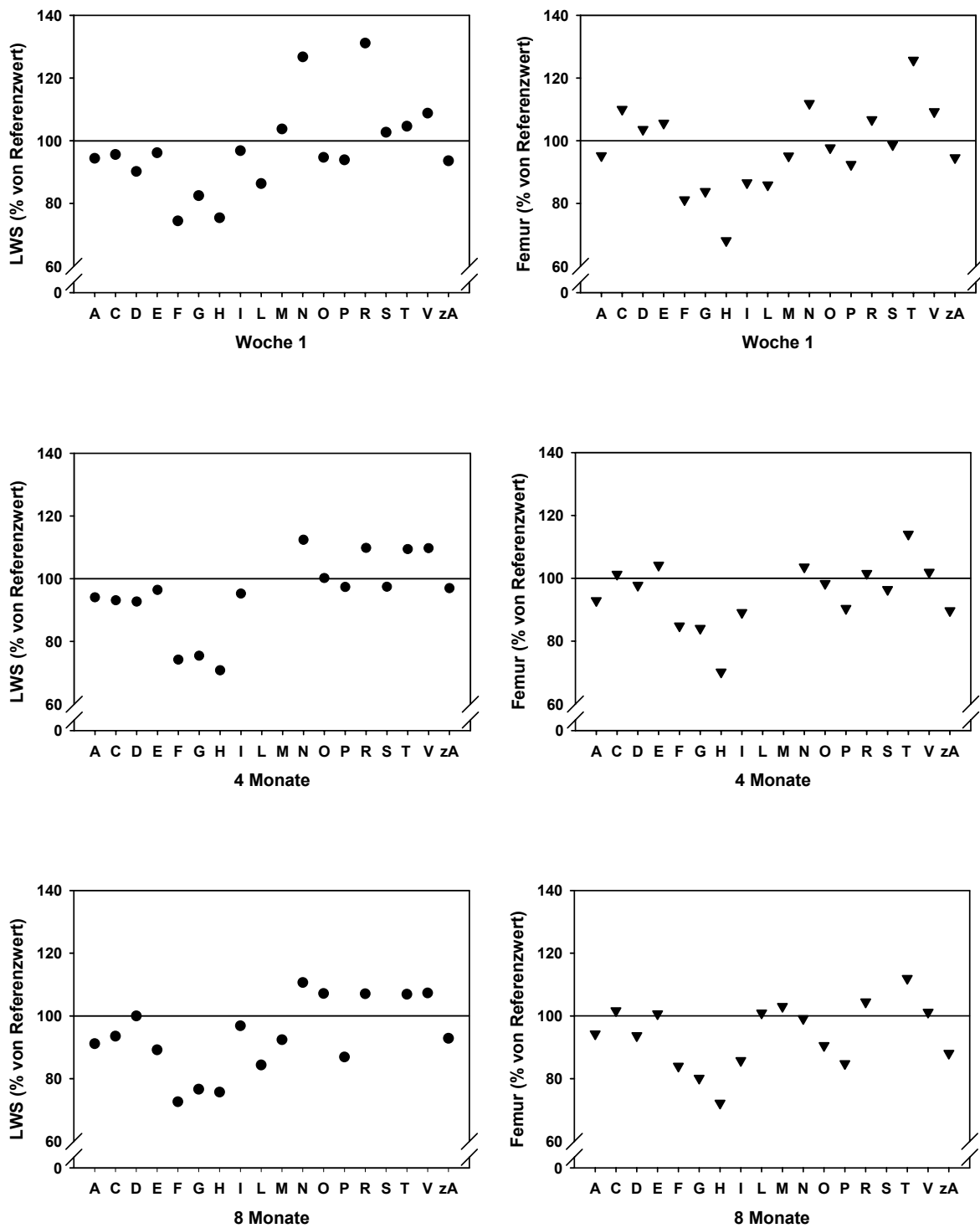


Abbildung 19: Mittlere prozentuale Abweichung der Lendenwirbel- und Femur-Knochendichte vom altersentsprechenden Referenzwert in Woche 1, nach 4 und 8 Monaten für die Patientinnen der ANO-Studie.

4.7.4 Z-Scores

Der z-Score betrug zu Beginn der ANO-Studie im Bereich der LWS (L2-L4) $-0,38 \pm 1,33$. Vier Patientinnen (= 22,2 %) wiesen einen Wert < 1 auf und hatten somit laut WHO-Definition eine Osteopenie. Für eine Patientin wurde ein Wert von $-2,97$ berechnet, was auf eine Osteoporose hindeutet.

Im weiteren Verlauf der Studie kam es zu einer tendenziellen Verschlechterung mit Werten von $-0,705 \pm 1,296$. Nach acht Monaten zeigten 29,4 % eine Osteopenie und 11,8 % eine Osteoporose. Ähnliche Daten wurden für den Bereich des Femurs nachgewiesen. Während die Werte in der Anfangsphase bei $-0,255 \pm 1,280$ lagen (22,2 % Osteopenie, 5,5 % Osteoporose), kam es zu einer tendenziellen Verschlechterung bis zur Messung nach acht Monaten mit einem z-Score von $-0,570 \pm 0,999$, wobei 29,4 % eine Osteopenie und 5,9 % eine Osteoporose hatten.

4.7.5 Anpassung der Knochendichte an Körpergröße und -gewicht

Abbildung 20 zeigt die an die Körpergröße angepassten Knochendichtewerte für die Lendenwirbelsäule und den Femur. Im Verlauf der Studie konnte für keine der beiden Regionen eine Veränderung festgestellt werden.

Im Bereich der LWS wurde nach vier Monaten, bezogen auf die Körpergröße, ein Mittelwert von $0,636 \pm 0,088 \text{ g/cm}^2/\text{m}$ berechnet (Basiswert: $0,622 \pm 0,086 \text{ g/cm}^2/\text{m}$). Nach acht Monaten lag der Wert bei $0,625 \pm 0,081 \text{ g/cm}^2/\text{m}$. Die Anpassung der Femurdaten ergab nach vier Monaten $0,563 \pm 0,059 \text{ g/cm}^2/\text{m}$ (Basiswert: $0,569 \pm 0,076 \text{ g/cm}^2/\text{m}$) und nach acht Monaten $0,558 \pm 0,058 \text{ g/cm}^2/\text{m}$.

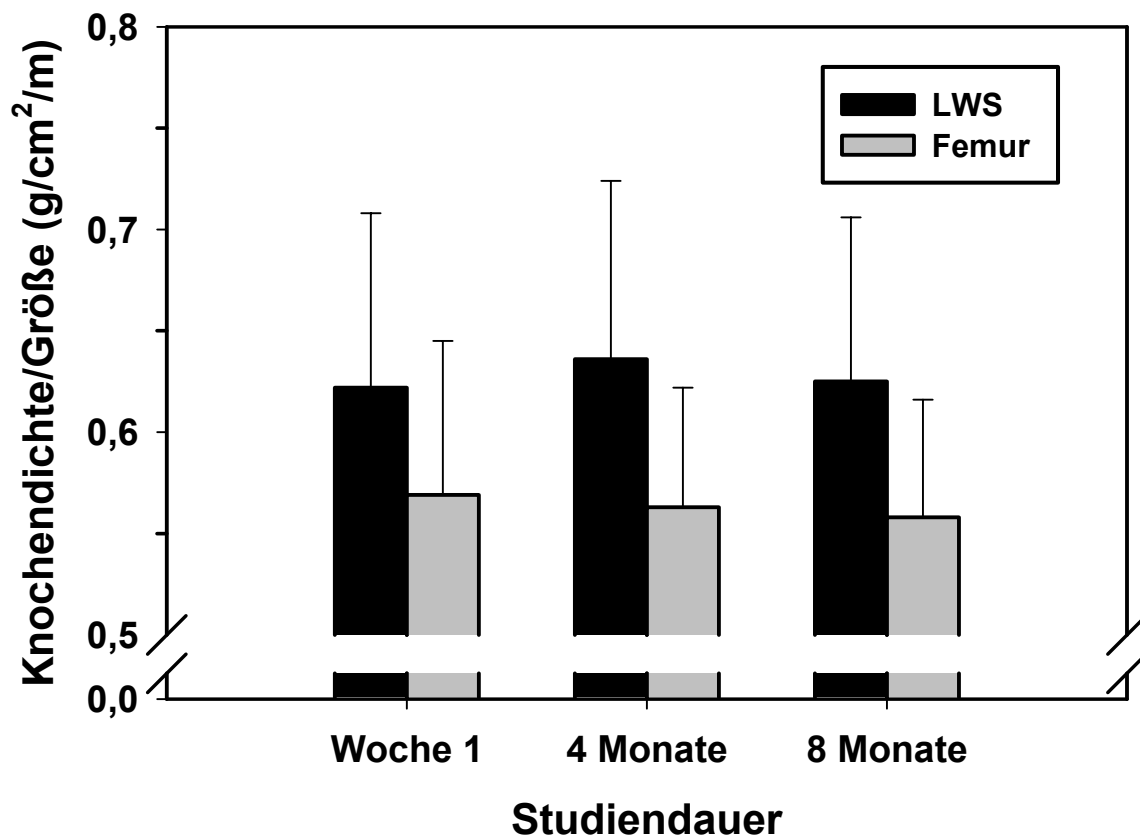


Abbildung 20: Mittelwerte der an die Körpergröße angepassten Knochendichte ($\text{g/cm}^2/\text{m}$) im Bereich der LWS und des Femurs für die Patientinnen der ANO-Studie in Woche 1, nach 4 und 8 Monaten. Es wurden keine signifikanten Veränderungen festgestellt.

Die an das Körpergewicht angepassten Knochendichtewerte sind in Abbildung 21 dargestellt. Sowohl im Bereich der Wirbelsäule als auch des Femurs nahmen die Werte im Vergleich zur Woche 1 tendenziell, jedoch nicht signifikant, ab und blieben dann auf exakt dem gleichen Niveau (LWS: $0,026 \pm 0,003 \text{ g/cm}^2/\text{kg}$ in Woche 1; $0,022 \pm 0,003 \text{ g/cm}^2/\text{kg}$ nach vier und acht Monaten; Femur: $0,024 \pm 0,003 \text{ g/cm}^2/\text{kg}$ in Woche 1; $0,020 \pm 0,002 \text{ g/cm}^2/\text{kg}$ nach vier und acht Monaten).

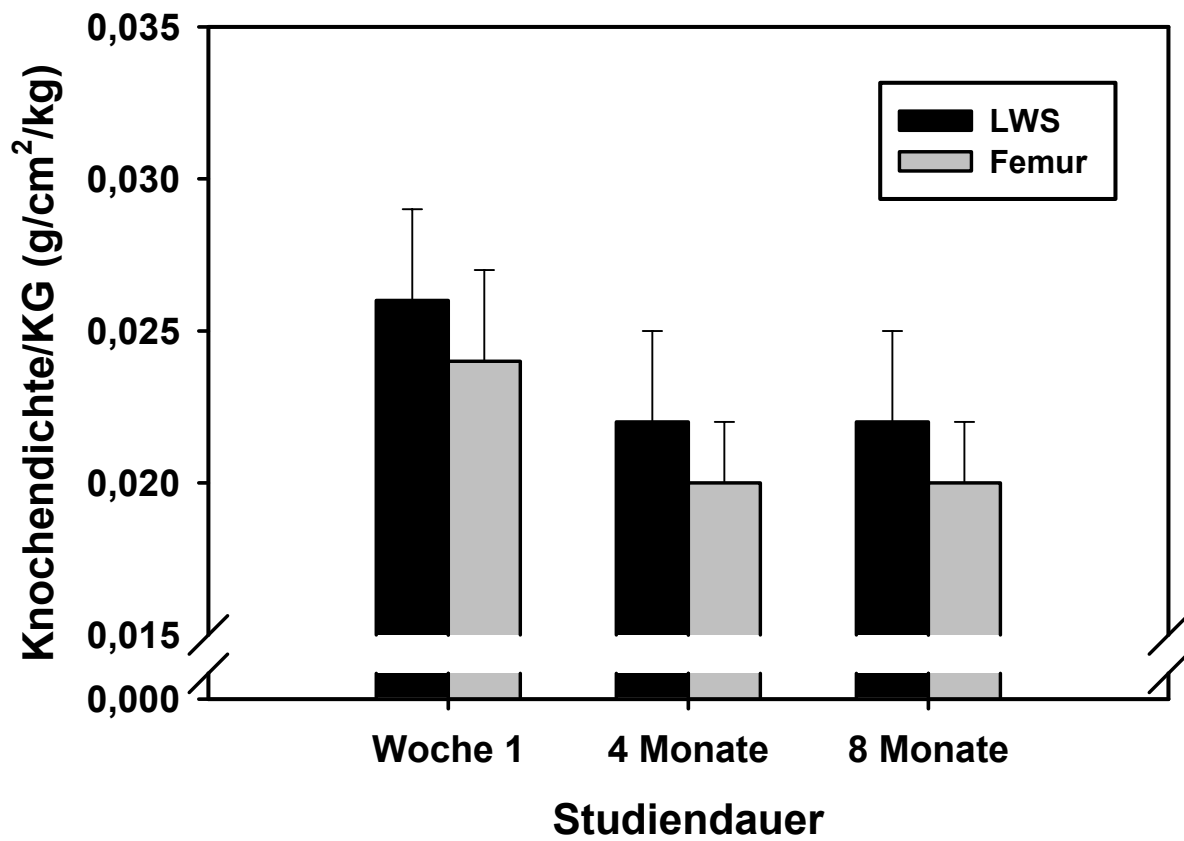


Abbildung 21: Mittelwerte der an das Körpergewicht angepassten Knochendichte ($\text{g/cm}^2/\text{kg}$) im Bereich der LWS und des Femurs für die Patientinnen der ANO-Studie in Woche 1, nach 4 und 8 Monaten. Es wurden keine signifikanten Veränderungen festgestellt.

5 Diskussion

In der vorliegenden Dissertation wurde zum ersten Mal über einen Zeitraum von einem Jahr der Einfluss einer Ernährungstherapie auf den Knochenstoffwechsel von magersüchtigen Jugendlichen untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass durch diätetische Maßnahmen ein Anstieg der Knochenformation erreicht werden kann, während die Knochenabbauaktivität auf einem konstanten Niveau bleibt.

Im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe zeigten sich bei den magersüchtigen Patientinnen zu Beginn der Studie verminderte Werte für das Körpergewicht, den Body Mass Index, bei den Biomarkern der Knochenformation PICP und bAP, bei den Hormonen Leptin, IGF-I, Östradiol, PTH sowie bei Phosphor im Serum. Erhöhte Spiegel wurden für 25-OH-Vitamin D, Cortisol sowie Kreatinin festgestellt. In der Körperzusammensetzung unterschieden sich die beiden Gruppen durch reduzierte Werte bei den anorektischen Patientinnen sowohl in der Fettmasse als auch in der Mager- und Körperzellmasse.

Keine Abweichungen zwischen den beiden Gruppen ergaben sich in der Knochenabbauaktivität (CTX im Serum), bei DHEAS, Gesamt-Calcium und -Protein sowie bei den Werten der Knochendichte.

Zu Beginn der Studie zeigte der Vergleich der beiden Gruppen in Bezug auf die Knochenformation eine verminderte Osteoblastenaktivität bei den magersüchtigen Patientinnen. Dies wurde durch die analysierten Parameter des Knochenaufbaus (bAP, PICP) sowie IGF-I nachgewiesen.

Im klinischen Verlauf der Studie bis Woche 15 wurde für die Patientinnengruppe ein signifikant positiver Effekt der Ernährungstherapie auf die Knochenformation festgestellt. Innerhalb dieses Zeitraums erreichten die Magersüchtigen die gleiche Knochenaufbauaktivität wie die parallelisierte Kontrollgruppe, deren Werte über den gesamten Studienzeitraum unverändert blieben.

Im weiteren, poststationären Verlauf zeigte sich ein uneinheitliches Bild für die Knochenformation. Während für die beiden Parameter bAP und PICP keine weiteren Veränderungen nachgewiesen werden konnten, kam es im Vergleich zu den Gesunden wieder zu einer Abnahme der IGF-I-Konzentration, die zum Teil das

Ausgangsniveau zu Beginn der Studie erreichte. Im Unterschied zur stationären Phase der Studie, in der die Patientinnen energetisch sehr gut versorgt waren, wurden 13 der 19 Patientinnen (68 %) nach ihrer Entlassung rückfällig. Dies war mit einer erneuten Einschränkung der Energiezufuhr und einer im Einzelfall massiven Gewichtsabnahme verbunden, die sich unmittelbar auf die IGF-I-Produktion ausgewirkt hat.

Die Knochenresorption, gemessen durch den Parameter Serum-CTX, blieb in beiden Gruppen über den gesamten Studienzeitraum unverändert hoch.

Die hohe Osteoklastentätigkeit war bei den Patientinnen zu Beginn der Studie, also vor der Diättherapie, mit einer verminderten Knochenformation verbunden. Dies deutet darauf hin, dass es im Verlauf der Magersucht zu einer Entkopplung des Knochenstoffwechsels gekommen ist, die auch von anderen Autoren beschrieben wurde (Caillot-Augusseau *et al.*, 2000; Stefanis *et al.*, 1998). Diese Entkopplung von Auf- und Abbau konnte durch die kombinierte Ernährungstherapie während des stationären Aufenthaltes wieder ausgeglichen werden. Es kam erneut zu einer für das Knochenwachstum im Jugendalter typisch hohen Knochenauf- und -abbau-tätigkeit. Bestätigt wird dies nicht nur durch die Parameter selber, sondern auch durch die Beziehung der Biomarker zueinander. Einen Hinweis gibt die positive, also gleichgerichtete Korrelation von PICP und bAP zu CTX, die erstmals ab Woche 7 bzw. 11, also im Laufe der Diättherapie festgestellt wurde.

Der Anstieg der Knochenformationsmarker in der stationären Phase verlief bei den Patientinnen parallel zu einer Zunahme des Körpergewichtes und dem daraus errechneten Body Mass Index. Der Anfangs-BMI lag bei $14,2 \pm 1,4 \text{ kg/m}^2$. Nach 15 Wochen Ernährungstherapie erreichten die Patientinnen einen BMI von $17,4 \pm 0,5 \text{ kg/m}^2$. Innerhalb dieses Zeitraumes konnten die Patientinnen ihre Knochenformation so steigern, dass sie die Werte der gesunden Kontrollgruppe erreichten.

Eine ähnliche Entwicklung fanden auch Caillot-Augusseau *et al.* (Caillot-Augusseau *et al.*, 2000) in einer Studie mit 9 jungen, magersüchtigen Frauen im Alter von 21 Jahren vor und nach einer Gewichtszunahme. Der BMI lag hier zu Beginn der Studie bei $13,6 \pm 1,6 \text{ kg/m}^2$ und damit geringfügig unter den Werten, wie wir sie in unserer

Studie berechnet haben. Im Verlauf einer Gewichtstherapie, deren Dauer $8 \pm 5,3$ Monate betrug, kam es zu einem Anstieg des BMI auf $17,5 \pm 2,3$ kg/m². Am Ende dieser Gewichtstherapie zeigte sich eine Erhöhung der Knochenformationsaktivität, gemessen durch den Parameter Osteocalcin, so dass die Werte mit denen einer gesunden Kontrollgruppe übereinstimmten. Somit führte eine Gewichtszunahme in dieser Studie zu einer gesteigerten Formationsaktivität.

Ebenfalls zu einer gesteigerten Formationsaktivität, jedoch zu etwas anderen Ergebnissen kamen Stefanis et al. in einer Querschnittsstudie mit 43 Magersüchtigen im Alter von 22 ± 9 Jahren (Stefanis *et al.*, 1998). 28 Patientinnen befanden sich in ambulanter psychotherapeutischer Behandlung, während die anderen 15 Patientinnen einer stationären Therapie folgten, die eine Gewichtszunahme einschloss. Als Kontrollgruppe diente eine Gruppe junger Frauen gleichen Alters. Nach Abschluss der Therapie wiesen die behandelten Patientinnen einen BMI von $17,4$ kg/m² und die unbehandelten Patientinnen einen BMI von $13,3$ kg/m² auf. Während die unbehandelten Patientinnen und die Kontrollgruppe vergleichbare Knochenaufbauwerte zeigten, war die PICP-Konzentration bei den behandelten Magersüchtigen um 48 % höher als in den beiden anderen Gruppen. Somit führte die Therapie auch hier zu einer Steigerung der Formationsaktivität. Vergleicht man die Absolutwerte der PICP-Konzentrationen in der ANO-Studie und der Untersuchung von Stefanis et al. miteinander, so ist ersichtlich, dass die Werte der ANO-Patientinnen zu Beginn der Studie in etwa auf dem gleichen Niveau lagen, wie die der drei Gruppen in der Studie von Stefanis et al. (Stefanis *et al.*, 1998), während die ANO-Kontrolle wesentlich höhere Werte zeigte. Dies lässt vermuten, dass sich die Kollektive in den beiden Studien in unterschiedlichen Phasen des Knochenstoffwechsels befanden. Aufgrund des Alters der Patientinnen in der Studie von Stefanis et al. (Stefanis *et al.*, 1998) kann man davon ausgehen, dass die Frauen das Knochenwachstum bereits abgeschlossen hatten, als sie in die Studie aufgenommen wurden. Der Stimulus der Gewichtszunahme führte daher zunächst zu einer erhöhten Formation. Im Fall der ANO-Patientinnen war das Knochenwachstum, das sog. „modeling“, noch nicht abgeschlossen. Diese Phase ist dadurch gekennzeichnet, dass sowohl eine hohe Knochenresorption als auch eine hohe Knochenformation stattfindet, die in der Netto-Bilanz zu einer Knochenanlagerung führt, bis die sog. „peak bone mass“ erreicht wird. Die Erkrankung führte vor Aufnahme in die Klinik zu einer verminderten Knochenaufbauaktivität, die durch die

Ernährungstherapie wieder auf ein normales, im Gegensatz zu Erwachsenen jedoch höheres Niveau, gebracht werden konnte.

Aufgrund der hohen Rückfallquote wäre eine Abnahme der Konzentrationen von PICP und bAP im poststationären Verlauf der Studie zu erwarten gewesen. Diese Tendenz ist erkennbar, war jedoch, wahrscheinlich durch die extrem großen Unterschiede in den Einzeldaten (PICP: 63 bis 703 µg/L, bAP: 8 bis 112 µg/L) statistisch nicht nachweisbar.

Die Frage nach der Höhe der Gewichtszunahme, die notwendig zu sein scheint, um die Osteoblastenaktivität zu steigern, versuchten Hotta et al. in einer Studie mit erwachsenen, magersüchtigen Japanerinnen zu klären (Hotta *et al.*, 1998). Sie beobachteten 51 Patientinnen, die mit dem Ziel einer Erhöhung des Körpergewichtes an einer ambulanten Therapie teilnahmen, über einen Zeitraum von bis zu 46 Monaten. Einer Gewichtszunahme, die zu einem BMI über 16,4 führte, folgten eine erhöhte Formationsaktivität, gemessen durch Osteocalcin, und ein Anstieg der Knochendichte der Wirbelsäule. Bei den Patientinnen der ANO-Studie konnte im klinischen Verlauf zu fünf Zeitpunkten Blut abgenommen werden. Zwischen der dritten und siebten Studienwoche (BMI: $15,2 \pm 1,1$ und $16,2 \pm 1,0$ kg/m²) wurde in der jugendlichen Patientinnengruppe die größte Zunahme für die Parameter der Knochenformation festgestellt. Dies lässt vermuten, dass bei jugendlichen Patientinnen eine Stimulation der Formationsaktivität bereits bei einem geringeren BMI beginnt.

Die CTX-Basiswerte unserer Studie sind, genauso wie die bereits beschriebenen Konzentrationen der Knochenformation, ebenfalls vergleichbar mit denen von Caillot-Augusseau et al. festgestellten Werten (Caillot-Augusseau *et al.*, 2000). Während die Patientinnen der ANO-Studie zu Beginn eine Serumkonzentration von 10.472 ± 4.243 pmol/L zeigten, lagen die Werte der Magersüchtigen bei Caillot-Augusseau et al., bestimmt durch den gleichen Assay wie in unserer Untersuchung, bei 10.587 ± 2.510 pmol/L. In der von Caillot-Augusseau et al. durchgeführten Studie kam es im Verlauf der Studie jedoch zu einer signifikanten Abnahme der CTX-Konzentration um ca. 50 % auf die Werte der Kontrollgruppe, während bei unserem Kollektiv die Werte auf erhöhtem Niveau blieben. Auch unsere Kontrollgruppe zeigte im Vergleich zu der vom Hersteller für junge Frauen zwischen 18 und 50 Jahren

angegebenen Spanne von 788 bis 4.454 pmol/L erhöhte Werte. Ein Grund dafür könnte sein, dass unser Kollektiv mit 14,1 (Patientinnen) und 15,1 Jahren (Kontrollgruppe) erheblich jünger war als die von Caillot-Augusseau et al. untersuchte Gruppe und sich somit noch in der bereits oben beschriebenen „modeling“-Phase des Skelettstoffwechsels befand. Hohe Werte von Aufbau und Abbau, wie wir sie in unserer Kontrollgruppe festgestellt haben, würden dies bestätigen.

Auf der anderen Seite beschränkt der Körper seine Aktivitäten im Zustand der Mangelernährung auf das minimal Nötigste. Das scheint dazu zu führen, dass u.a. die Knochenformation stark herabgesetzt wird, während die Resorptionsaktivität erhöht ist. Gründe für die gesteigerte Osteoklastentätigkeit sind die Aufrechterhaltung des Plasma-Calciumspiegels und anderer lebenswichtiger Funktionen. Stefanis et al. (Stefanis *et al.*, 1998) mutmaßten, dass eine erhöhte Knochenresorption bei Magersucht auch dadurch zustande kommt, dass vermehrt Knochenkollagen als Aminosäurenquelle für die Energieproduktion zur Versorgung des Herzmuskels und der glatten Muskulatur abgebaut wird. Die von uns in der Anfangsphase festgestellte, signifikant erhöhte Kreatinin-Serumkonzentration der Patientinnen gegenüber der Kontrollgruppe unterstützt diese Vermutung ($0,96 \pm 0,18$ versus $0,91 \pm 0,11$ mg/dL, $p = 0,035$). Kreatinin wird als Abbauprodukt im Muskelstoffwechsel freigesetzt. Eine erhöhte Freisetzung von Kreatinin bei leichter körperlicher Tätigkeit könnte darauf hindeuten, dass ein vermehrter Muskelabbau zur Energiegewinnung stattgefunden hat. Dieser katabole Zustand ändert sich durch die Zufuhr von ausreichend hohen Energiemengen. Die zur Verfügung stehende Energie kann infolgedessen für alle Stoffwechselfvorgänge eingesetzt werden, Muskelmasse wird wieder aufgebaut. In der vorliegenden Studie sanken die Kreatininwerte bis zum Ende der klinischen Phase signifikant ab und unterstützen daher die o.g. Hypothese.

Somit würde sich für den gleichen Verlauf des Parameters CTX in beiden Gruppen eine unterschiedliche Deutung ergeben. Zum einen der durch das normale Knochenwachstum begründete hohe Abbau in der Kontrollgruppe, der mit einer hohen Aufbauaktivität verbunden ist, zum anderen eine erhöhte Abbauaktivität durch Mangelzustände im Körper der Magersüchtigen, die mit einer verminderten Formation verbunden ist und im Verlauf der Gewichtszunahme zunehmend in die „normal-hohe“ Osteoklastenaktivität für dieses Alter übergeht.

Dass unsere Ergebnisse diesbezüglich nicht mit denen anderer Autoren (Hotta *et al.*, 1998, Zipfel *et al.*, 2001, Grinspoon *et al.*, 1996a) übereinstimmen, die eine Abnahme der Osteoklastentätigkeit nach Gewichtszunahme bei Erwachsenen festgestellt haben, ließe sich dadurch ebenfalls erklären. Denn bei Erwachsenen ist das Knochenwachstum weitestgehend abgeschlossen, die Osteoklastenaktivität findet unter gesunden Bedingungen auf einem niedrigeren Niveau als bei Kindern und Jugendlichen statt. Durch eine Gewichtszunahme und die damit verbundene bessere Nährstoffversorgung stellt der erwachsene Körper auf normale „remodeling“-Vorgänge um, die mit einer verminderten Osteoklastentätigkeit verbunden sind und somit zu einer, im Vergleich zur Krankheitsphase, verminderten Ausschüttung von Resorptionsmarkern führt.

Anorexia nervosa ist gekennzeichnet durch eine Veränderung der Körperzusammensetzung (Kerruish *et al.*, 2002; Scalfi *et al.*, 2002; Polito *et al.*, 1998). Nach einer anfänglichen Wasserreduktion kommt es im weiteren Verlauf der Energiemangelversorgung zu einer Abnahme der Fett- und Magermasse. Dabei kann die Abnahme der Magermasse bis zu 45 % betragen und sich auch auf verschiedene Organe wie Leber oder Milz auswirken (Polito *et al.*, 1998).

Während das Gesamt-Körpergewicht der Magersüchtigen zu Beginn der ANO-Studie lediglich 69,1 % des Gewichts der Kontrollgruppe betrug, hatten die Patientinnen zu diesem Zeitpunkt eine um 11,4 % signifikant niedrigere Magermasse. Der Anteil der Fettmasse war, verglichen mit dem der gesunden Probandinnen, zu Beginn der Studie um 62,7 % vermindert. Bis zum Ende der stationären Phase nahmen die Patientinnen im Mittel 4,4 kg an Fettmasse und 1,6 kg an Magermasse zu.

Ähnliche Ergebnisse, eine hauptsächliche Fettzunahme bei wenig Magermassenzuwachs im Verlauf einer Gewichtstherapie, wurden auch von anderen Autoren beschrieben (Scalfi *et al.*, 2002; Polito *et al.*, 1998; Kerruish *et al.*, 2002; Kooh *et al.*, 1996; Karlsson *et al.*, 2000; Probst *et al.*, 2001). Dies ist insofern von großer Bedeutung, als dass die Magermasse im Körper die stoffwechselaktive Masse darstellt. Eine Abnahme an Magermasse ist immer auch mit einer Abnahme der Muskelmasse verbunden. Dieser Abbau kann über eine reduzierte Muskelkraft eine verminderte mechanische Belastung des Knochens zur Folge haben. Die mechanische Belastung fungiert jedoch als Reiz und stimuliert die

Knochenstoffwechselaktivität. Eine niedrige mechanische Belastung führt somit zu einer verminderten Aktivität in den Knochen (Frost *et al.*, 2000). Dies wird auch unter dem Begriff „Knochen-Muskel-Einheit“ zusammengefasst, der im Rahmen des sog. „Utah-Paradigma“ in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung gewonnen hat (Frost *et al.*, 2000; Schoenau *et al.*, 2002).

Dass die mechanische Belastung auch im Knochenstoffwechsel von magersüchtigen Patientinnen einen wichtigen Stellenwert einnimmt, wurde von vielen Autoren beschrieben (Rigotti *et al.*, 1984; Brooks *et al.*, 1999; van Marken *et al.*, 1997; Seeman *et al.*, 1992). Inwieweit eine mechanische Belastung in Form von körperlicher Aktivität oder auch einer Gewichtszunahme die hier gefundenen Ergebnisse beeinflusst hat, kann nicht endgültig geklärt werden. Die Patientinnen wurden angehalten, lediglich leichter körperlicher Aktivität nachzugehen. Dies wurde jedoch nicht durch Aktivitätsmessungen oder –protokolle untersucht. Die zunehmenden Hinweise aus der Literatur, die einen positiven Einfluss einer mechanischen Belastung auf den Knochen beschreiben (van Marken *et al.*, 1997; Rigotti *et al.*, 1984; Seeman *et al.*, 1992; LaBan *et al.*, 1995; Joyce *et al.*, 1990) sollten jedoch unter Berücksichtigung der negativen Folgen einer Hyperaktivität (Milos *et al.*, 2001; Joyce *et al.*, 1990) in zukünftigen Studien mit magersüchtigen Patientinnen auf jeden Fall bedacht werden.

Ein zweiter Aspekt der Einflussnahme durch die Magermasse auf den Knochen erschließt sich durch die Körperzellmasse (BCM). Die Körperzellmasse ist als Teil der Magermasse definiert als die Summe der Sauerstoff konsumierenden, kaliumreichen, Glukose oxidierenden und Arbeit leistenden Zellen. Die Struktur- und Funktionsproteine sind vollständig Teil der Körperzellmasse (Moore *et al.*, 1963). Die BCM wird auch als ernährungsabhängiges Maß der Gesamt-Protein-Synthesekapazität des Organismus angesehen und ist somit eng mit der Kollagensynthese und dem Knochenstoffwechsel verbunden. Bis zum Ende der klinischen Phase zeigte sich bei den Patientinnen der ANO-Studie eine Zunahme der Körperzellmasse. Danach war auch hier eine leichte, aber signifikante Abnahme zu erkennen, während die Werte bei der Kontrollgruppe zu allen Messzeitpunkten unverändert, jedoch auf höherem Niveau blieben. Diese Daten lassen vermuten, dass die gesteigerte Formationsaktivität, wie sie bei unseren magersüchtigen Patientinnen während der Ernährungstherapie beobachtet wurden, nicht nur das

Ergebnis einer vermehrten Aktivität der Osteoblasten darstellt, sondern auch durch eine erhöhte Anzahl dieser Zellen zustande gekommen ist.

Diese Aussage wird ebenfalls unterstützt durch den Verlauf der IGF-I- Konzentration. IGF-I stellt einen sensitiven, biochemischen Marker verschiedener anabolischer Prozesse dar, wobei der Ernährungszustand als Hauptregulator der zirkulierenden und gewebespezifischen IGFs fungiert (Caregaro *et al.*, 2001). Es spielt eine essentielle Rolle für das Längenwachstum der Knochen und ist für die Synthese von Kollagen und anderen Matrixproteinen durch die Osteoblasten mit verantwortlich (McCarthy *et al.*, 2001). Niedrige Konzentrationen von IGF-I spiegeln somit eine verminderte Formationsaktivität wider.

Zu Beginn der Studie wiesen die Patientinnen der ANO-Studie im Vergleich zu ihrer gesunden Kontrollgruppe um 59 % geringere IGF-I-Spiegel auf. Im Rahmen der stationären Ernährungstherapie kam es innerhalb von 15 Wochen zu einem signifikanten Anstieg der IGF-I-Werte auf das Niveau der Kontrollgruppe, deren Werte über den gesamten Zeitraum der Studie keinerlei Veränderungen zeigten. Somit unterstützen diese Daten den bereits beschriebenen Einfluss der Gewichtszunahme auf die Knochenformation. Im weiteren Verlauf bis zur 50. Woche sanken die Werte parallel zum Körpergewicht kontinuierlich ab, während die beiden Formationsmarker tendenziell, aber nicht signifikant abnahmen. Diese Ergebnisse bestätigen die Daten von anderen Autoren, die eine verminderte IGF-I-Konzentration und Knochenformationsaktivität bei magersüchtigen Patientinnen festgestellt haben (Grinspoon *et al.*, 1996a; Gianotti *et al.*, 2000; Grinspoon *et al.*, 2002; Gordon *et al.*, 1999; Herpertz-Dahlmann *et al.*, 1996; Hill *et al.*, 1993).

Einer der Hauptstimuli der IGF-I-Synthese durch die Osteoblasten stellt neben der Nahrungszufuhr und dem Prostaglandin E₂ das Parathormon dar (McCarthy *et al.*, 2001). In der vorliegenden Studie differierten die PTH-Konzentrationen zu Beginn der Untersuchung zwischen beiden Gruppen signifikant, wobei die Patientinnengruppe geringere Werte zeigte. Bis zum Ende der stationären Phase glichen sich die Werte an und blieben bis zum Ende der Studie auf gleichem Niveau. Der parallel verlaufende Anstieg von PTH und IGF-I während der stationären Phase spricht somit für den Einfluss des PTHs auf die IGF-I stimulierte Formation. Im weiteren Verlauf der Studie sanken die Werte jedoch nicht ab, wie dies beim IGF-I der Fall war,

sondern blieben auf einem normalen physiologischen Niveau. Dies deutet auf eine Entkopplung von PTH und IGF-I im poststationären Teil hin.

Eine der gravierendsten somatischen Folgen der Magersucht ist ein verminderter Östrogenspiegel und Störungen im Bereich der Hypothalamus-Hypophysen-Gonaden-Achse, verbunden mit einer primären oder sekundären Amenorrhoe (Grinspoon *et al.*, 2002; Grinspoon *et al.*, 1996a; Biller *et al.*, 1989; Grinspoon *et al.*, 1996b; Stefanis *et al.*, 1998; Zipfel *et al.*, 2001; Hotta *et al.*, 1998; Caillot-Augusseau *et al.*, 2000; Gordon *et al.*, 1999; Golden *et al.*, 2002; Klibanski *et al.*, 1995; Seidenfeld *et al.*, 2001; Munoz *et al.*, 2002; Hergenroeder *et al.*, 1997; Robinson *et al.*, 2000; Karlsson *et al.*, 2000; Munoz *et al.*, 2002a; Audi *et al.*, 2002; Heer *et al.*, 2002).

Die meisten Untersucherguppen, die sich in den vergangenen Jahren mit dem Einfluss einer Östrogentherapie auf den Knochenstoffwechsel von Magersüchtigen beschäftigt haben (Klibanski *et al.*, 1995; Golden *et al.*, 2002; Munoz *et al.*, 2002; Hergenroeder *et al.*, 1997; Karlsson *et al.*, 2000), konnten jedoch keinen positiven, statistisch signifikanten Effekt auf den Knochenaufbau aufzeigen.

In unserer Studie zeigten die Patientinnen erwartungsgemäß sehr niedrige Östradiolkonzentrationen. Die Gewichtszunahme reichte bei keiner der Patientinnen aus, um ein Einsetzen der Menstruation zu erzielen. Lediglich die beiden Patientinnen, die orale Kontrazeptiva einnahmen, menstruierten regelmäßig. Da die Blutentnahmen in der vorliegenden Studie an den entsprechenden Studienablaufplan, jedoch nicht an die Zyklusphasen angepasst waren, sind die Daten leider wenig aussagekräftig.

Die von uns während der ANO-Studie ermittelten Konzentrationen an DHEAS lagen sowohl bei den Patientinnen als auch bei der Kontrollgruppe zu jedem Messzeitpunkt im Normalbereich und zeigten keine Veränderungen. Zu dem gleichen Ergebnis kamen auch Audi *et al.* und Passloff *et al.* in ihren Studien mit magersüchtigen Patientinnen (Audi *et al.*, 2002; Passloff *et al.*, 1992). Eine kombinierte Ernährungstherapie hat somit keinen nachweisbaren Einfluss auf die DHEAS-Konzentration gehabt. Daneben konnten wir, im Gegensatz zu Gordon *et al.* (Gordon *et al.*, 1999; Gordon *et al.*, 2002), weder in der Patientinnengruppe, noch bei den

gesunden Jugendlichen einen Zusammenhang zwischen der DHEAS-Konzentration und den Östradiolwerten feststellen. Dies wäre vorstellbar gewesen, da DHEAS u.a. als Reservoir für Steroidhormone dient und somit einen Einfluss auf die Verfügbarkeit von freien, aktiven Steroidhormonen hat (Schmidt *et al.*, 2002). Weiterhin konnten wir keine Beziehung zwischen den DHEAS-Werten und dem Knochenstoffwechsel finden. Über die genauen Wirkungsweisen und den Einfluss von DHEA und DHEAS auf den Knochenstoffwechsel, besonders auch bei magersüchtigen Patientinnen, herrscht daher in Zukunft sicherlich weiterer Forschungsbedarf.

Im Rahmen der Regulation von Hunger und Sättigung und in neueren Veröffentlichungen auch in Bezug auf die Regulation des Knochenstoffwechsels scheinen das Hormon Leptin und seine Rezeptoren eine große Rolle zu spielen.

In Zell- und Tieruntersuchungen wurde dem Leptin im Knochenstoffwechsel ein dualer Mechanismus zugeschrieben. Dosisabhängig und wirkungsspezifisch scheint Leptin sowohl die Osteoblasten zu stimulieren, hemmt deren Tätigkeit jedoch auf Hypothalamusebene durch Freisetzung eines inhibierenden Faktors, der bisher nicht eindeutig identifiziert werden konnte (Thomas *et al.*, 2002; Whitfield, 2001; Amling *et al.*, 2000; Amling *et al.*, 2001b; Reseland *et al.*, 2001; Thomas *et al.*, 1999; Ducy *et al.*, 2000; Amling *et al.*, 2001a; Holloway *et al.*, 2002). Obwohl die genauen Mechanismen noch unklar sind, vermutet man den Zusammenhang zwischen dem in den Adipozyten gebildeten Leptin und Osteoblasten auf peripherer Ebene in ihrem gemeinsamen Ursprung, den Stammzellen und auf zentral gesteuerter Ebene im Hypothalamus (Mundy, 2000; Munoz *et al.*, 2002b).

Zu Beginn der Studie waren die Leptinwerte der Kontrollgruppe um ein vierfaches höher als in der Patientinnengruppe. Dies entspricht der Größenordnung, wie sie auch von anderen Untersuchungsgruppen festgestellt wurde (Grinspoon *et al.*, 1996b; Balligand *et al.*, 1998; Hebebrand *et al.*, 1999; Di Carlo *et al.*, 2002; Baranowska *et al.*, 2001; Monteleone *et al.*, 2000). Erwartungsgemäß kam es im Rahmen der Ernährungstherapie im Folgenden zu einer signifikanten Zunahme. Diese Zunahme erfolgte parallel zum Fettmassenzuwachs und zu den Anstiegen von IGF-I und den Biomarkern der Knochenformation. Welchen Einfluss Leptin auf diese Parameter oder welchen Einfluss diese Parameter umgekehrt auf die Leptinsekretion haben, darüber kann zum jetzigen Zeitpunkt nur spekuliert werden. Untersuchungen

bei anorektischen Patientinnen haben gezeigt, dass Leptin mit einigen, für den Knochenstoffwechsel relevanten Parametern korreliert. Dazu gehört das Körpergewicht, der Anteil der Fettmasse, die IGF-I-Konzentration (Grinspoon *et al.*, 1996b; Audi *et al.*, 1998), der Östradiolspiegel (Audi *et al.*, 1998) und der BMI (Mehler *et al.*, 1999; Balligand *et al.*, 1998; Kopp *et al.*, 1998; Haluzik *et al.*, 1999; Baranowska *et al.*, 2001). Auf der anderen Seite konnten die Autoren einer kürzlich veröffentlichten Studie mit Kindern, die unter Proteinmangelernährung litten, keine Korrelation zwischen Leptin und IGF-I feststellen, während gesunde und genesene Kinder eine Korrelation zeigten (Palacio *et al.*, 2002). In der von uns durchgeführten Verlaufsmessung konnten wir für die Kontrollgruppe zu jedem Messzeitpunkt eine positive Korrelation zwischen Leptin und dem BMI nachweisen, während dies für die Patientinnen lediglich in Woche 1 und ab Woche 23 zutraf. Wir vermuten (Holtkamp *et al.*, in Druck), dass dies bei magersüchtigen Patientinnen durch eine Entkopplung des Leptins vom BMI zu erklären ist. Während einer kontinuierlichen Gewichtszunahme scheint der Leptinspiegel eher von der Veränderung des BMIs (deltaBMI) als vom BMI selber abzuhängen und würde somit auf die Veränderung der Energiezufuhr reagieren, bevor Fettmasse und BMI ansteigen. Demnach kam es in der poststationären Phase, in der 13 der Patientinnen rückfällig wurden und die übrigen ihr Gewicht halten konnten, zu einer erneuten Kopplung der Leptinspiegel an den BMI. Ähnliche Ergebnisse wurden auch von Haluzik *et al.* beschrieben. Sie fanden ebenfalls eine Entkopplung von Leptinspiegel und BMI im Rahmen der Genesung (Haluzik *et al.*, 1999). Inwieweit hier auch andere Faktoren wie etwa der Insulin- und Glukosespiegel oder Cytokine eine Rolle spielen (Kopp *et al.*, 1998; Haluzik *et al.*, 1999), sollte Inhalt weiterer Studien sein.

Die Diskussion unserer Ergebnisse sowie die anderer Gruppen macht deutlich, dass Leptin eine wichtige Funktion im Energiestoffwechsel von magersüchtigen Patientinnen zu haben scheint. Die bisher publizierten Daten zum Knochenstoffwechsel lassen vermuten, dass Leptin auch hier einen Einfluss ausübt. Inwiefern Leptin bei dem Krankheitsbild der Anorexia nervosa in den Knochenstoffwechsel involviert ist, lässt sich jedoch zum jetzigen Zeitpunkt nicht eindeutig klären.

Die Calciumversorgung der Patientinnen der ANO-Studie wurde anhand von Ernährungsprotokollen ausgewertet. Alle Patientinnen nahmen ab Woche 3 täglich mehr als 1.500 mg Calcium zu sich. Damit wurde die empfohlene Calciumzufuhr von 1.200 mg/Tag für diese Altersgruppe von allen Patientinnen erreicht (Deutsche Gesellschaft fuer Ernährung, 2000).

Für die Calcium-Exkretionsraten wurde ein sehr inhomogenes Bild festgestellt. Die durchschnittliche Ausscheidungsrate über den Urin schwankte in der Patientinnengruppe in allen Untersuchungswochen zwischen 30,7 und 297,4 mg Calcium in 24 Stunden. Als Referenzwerte werden 80 – 250 mg in 24 Stunden angegeben (Oliveri *et al.*, 1999). Als Ursache für die zum Teil sehr niedrige Calciumexkretion in der vorliegenden Studie könnten verschiedene Gründe eine Rolle spielen. Die Patientinnen wurden gebeten, alle anfallenden Urine während der jeweiligen Studienwoche zu sammeln. Es kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, dass einzelne Patientinnen nicht gesammelte Urine nicht protokolliert haben und die Berechnungen dadurch unvollständig sind. Des Weiteren befanden sich die Patientinnen bei Aufnahme in die Klinik in einem manifesten Mangelzustand. Die verminderte Energiezufuhr war sicherlich auch mit einer verminderten Zufuhr von Calcium verbunden. Je nach Dauer und Schweregrad der Erkrankung ist eine Adaptation des Körpers in Form einer verminderten Calciumausscheidung vorstellbar. Normalerweise ist eine inadäquate, alimentäre Calciumzufuhr mit einer erhöhten PTH-Ausschüttung sowie einem Anstieg an Vitamin D verbunden, um diesem Mangel regulierend durch vermehrte Absorption und verminderte Exkretion von Calcium entgegen zu wirken. Dies konnten wir für unsere Patientinnengruppe nicht nachweisen.

Rigotti *et al.* fanden in einer Studie mit magersüchtigen Patientinnen, die täglich weniger als 300 mg Calcium mit der Nahrung aufnahmen, eine verminderte Calciumexkretion in Höhe von 44 bis 124 mg/d (Rigotti *et al.*, 1984). Wie auch in unserer Studie war dies nicht mit Veränderungen im PTH-Vitamin D-Stoffwechsel verbunden. Die Arbeitsgruppe schloss daraus, dass der anorektische Körper in der Lage sein muss, im Skelett zwischen Calciumaufnahme und -freisetzung wechseln zu können, ohne die Ebene Parathormon-Vitamin D einzubeziehen (Rigotti *et al.*, 1984). Welche Faktoren dabei eine entscheidende Rolle spielen, ist bisher noch unklar.

Neben einer verminderten Calciumexkretion gab es in der ANO-Studie auch Patientinnen, die normale oder erhöhte Ausscheidungsraten aufwiesen. Glukokortikoide führen zu einer Erhöhung der renalen Calciumexkretion. Dies geschieht zum einen auf direktem Weg über die tubulären Zellen der Niere und zum anderen durch die Erhöhung der renalen Sensitivität in Bezug auf PTH, die zu einer verminderten Calciumabsorption führt (Carmichael *et al.*, 1995). In der von uns durchgeführten Studie wurden anfangs erhöhte Cortisol-Konzentrationen festgestellt ($23,5 \pm 9,6$ mg/L), die im Verlauf der Studie auf ein normales Niveau abfielen. Möglicherweise waren hier also erhöhte Cortisolspiegel der Grund für eine gesteigerte Calciumexkretion.

Da die Calciumabsorption bei den Patientinnen der ANO-Studie nicht bestimmt wurde, kann an dieser Stelle über den Einfluss des Cortisols oder auch anderer Faktoren, wie zum Beispiel der Schweregrad der Erkrankung und der damit verbundene Grad der Auszehrung bei Aufnahme in die Studie, nur spekuliert werden. Parathormon und Vitamin D scheinen jedoch nicht der hauptregulative Faktor gewesen zu sein.

Die Auswertung der Ernährungsprotokolle ergab, dass die Patientinnen während ihres stationären Aufenthaltes eine über den Empfehlungen liegende Proteinaufnahme hatten. Diese korrelierte jedoch zu keinem Zeitpunkt mit der Calciumexkretion. Eine vermehrte Ausscheidung von Calcium durch die Zufuhr von Eiweiß in Mengen, die über der Empfehlung liegen, (Itoh *et al.*, 1998) oder eine reduzierte Calciumexkretion bei verminderter Proteinzufuhr (5 % der Energiezufuhr) (Orwoll *et al.*, 1992), konnte in der vorliegenden Studie nicht gefunden werden. Ein weiterer ernährungsbedingter Einflussfaktor, eine sehr hohe Zufuhr von Ballaststoffen, die die Absorption von Calcium vermindert, kann ebenfalls ausgeschlossen werden (Deutsche Gesellschaft fuer Ernaehrung, 2000). Die Patientinnen bekamen eine kontrollierte, ausgewogene Diät, die zwar reich an Ballaststoffen war, diese wurden jedoch nicht in überhöhten Mengen aufgenommen.

Zusätzlich zur Calciumaufnahme und der Calciumexkretion haben wir in der vorliegenden Studie bei einigen Patientinnen Calciumbilanzen berechnen können. Auch hier wurden große Schwankungen festgestellt. Im stationären Studienverlauf bis Woche 11 reduzierte sich die Anzahl der Patientinnen, die eine negative

Calciumbilanz aufwies, auf Null. Eine positive Bilanz würde dem anorektischen Körper die Möglichkeit geben, Calcium während des Formationsprozesses in den Knochen einzubauen. Der parallele Anstieg der Knochenformationsmarker während dieses Zeitraumes könnte ein Indiz dafür sein. In der Literatur liegen keine Vergleichswerte zur Calciumausscheidung in den Fäzes und entsprechende Calciumbilanzen für jugendliche Patientinnen mit Magersucht vor. Bei gesunden Kindern und Jugendlichen werden für Mädchen Bilanzwerte in Höhe von $169,2 \pm 93,9$ mg/Tag beschrieben (Abrams *et al.*, 1997). Im Vergleich dazu betrug der Mittelwert für unsere Patientinnen in der 1. Woche 146 ± 412 mg. Im weiteren Verlauf bis Woche 11 erhöhte sich die Calciumbilanz auf 714 ± 385 mg wöchentlich. Möglicherweise konnte in diesem Zeitraum bei gleich bleibender Calciumzufuhr die Absorptionsrate erhöht werden, denn die unverändert hohe Osteoklastenaktivität spricht gegen eine verminderte Freisetzung von Calcium aus dem Knochen.

In diesem Zusammenhang muss jedoch berücksichtigt werden, dass wie beim Sammeln der Urine auch, Stuhlabgaben stattgefunden haben könnten, die nicht gesammelt, aber auch nicht dokumentiert wurden. Die Patientinnen wurden zwar gebeten, solche Fälle zu dokumentieren, ob dies jedoch immer der Fall war, konnte nicht hundertprozentig geklärt werden.

In der vorliegenden Studie wurde die Knochendichte im Bereich der Lendenwirbelsäule und des Femurs mittels DXA bestimmt. Die Auswertung der Daten ergab zu keinem Zeitpunkt signifikante Veränderungen, obwohl sich die Parameter des Knochenstoffwechsels im Verlauf der Ernährungstherapie änderten. Sicherlich muss hier berücksichtigt werden, dass die im Blut und Urin nachweisbaren Biomarker die momentane Situation des Knochenstoffwechsels widerspiegeln, während eine Veränderung der Knochendichte das Resultat von mehreren Monaten Auf- und Abbautätigkeit darstellt. Insofern könnte die Messdauer von 8 Monaten zu gering gewählt sein, um Veränderungen sichtbar zu machen.

Des Weiteren muss bei der Interpretation der Daten bedacht werden, dass die ermittelte sog. Knochendichte die auf eine Fläche bezogene, mineralisierte Knochenmasse wiedergibt. Daher spielen bei der Beurteilung der Werte auch das Alter, die Körpergröße sowie das Gewicht eine große Rolle, um die Daten nicht zu über- oder unterschätzen. Dies wurde in der ANO-Studie berücksichtigt, indem die

Daten auf das individuelle Gewicht und die Größe bezogen wurden. Durch diese Berechnungen ergaben sich Tendenzen, die jedoch statistisch nicht signifikant waren.

Betrachtet man die Einzeldaten, so ist auffallend, dass es im Verlauf der Studie große Schwankungen sowohl individuell als auch interindividuell gab. Dafür könnten verschiedene Gründe eine Rolle spielen. Zum einen war der Schweregrad der Erkrankung bei den Patientinnen sehr unterschiedlich. Die Dauer der Erkrankung sowie das Eintrittsalter differierten stark. Zum anderen ist es durchaus möglich, dass die Patientinnen sehr unterschiedlich auf die Ernährungstherapie reagierten bzw. im weiteren, poststationären Teil der Studie sicherlich auch aufgrund der hohen Rückfallquote unterschiedliche Entwicklungen der DXA-Daten zeigten.

Viele Arbeitsgruppen haben sich bisher mit Thema Knochendichte bei magersüchtigen Patientinnen beschäftigt (Soyka *et al.*, 1999; Poet *et al.*, 1993; Rigotti *et al.*, 1991; Grinspoon *et al.*, 2000; Herzog *et al.*, 1993; Treasure *et al.*, 1987; Bachrach *et al.*, 1990; Brooks *et al.*, 1998; Resch *et al.*, 2000; Hay *et al.*, 1992; Seeman *et al.*, 2000; Jagielska *et al.*, 2002; Gross *et al.*, 2000; Baker *et al.*, 2000; Newman *et al.*, 1989; Goebel *et al.*, 1999; Andersen *et al.*, 1995; Poet *et al.*, 1993; Castro *et al.*, 2000; Castro *et al.*, 2000; Ruegsegger *et al.*, 1988). Die publizierten Daten sind jedoch uneinheitlich.

Die Frage, welche Bereiche des Skelettsystems am besten geeignet sind, um Veränderungen anzuzeigen, wurde u.a. von Castro *et al.* bearbeitet (Castro *et al.*, 2000). Sie verglichen in einer Studie die Ergebnisse der Wirbelsäule und des Femurs miteinander. Aufgrund des hohen trabekulären Anteils in der Wirbelsäule (ca. 50 % gegenüber 25 % im Femur) und der dadurch höheren metabolischen Aktivität schloss die Arbeitsgruppe, dass die Wirbelsäule die beste Stelle zu sein scheint, an der Veränderungen der Knochendichte im Kurzzeitverlauf dargestellt werden können. Dies wurde von anderen Autoren bestätigt (Baker *et al.*, 2000; Jagielska *et al.*, 2002). Einen anderen Ansatzpunkt ihrer Untersuchungen wählten Seeman *et al.* (Seeman *et al.*, 2000). Sie fanden heraus, dass das Alter zu Beginn der Anorexie dafür verantwortlich ist, inwieweit und an welcher Stelle Defizite des Knochens lokalisiert werden können. Ein Krankheitsbeginn vor dem 15. Lebensjahr führte zu Defiziten in der Breite der Wirbelkörper und des Oberschenkelhalses. Ein späterer Beginn war verbunden mit größeren Defiziten in den Wirbelkörpern als im Femur und im

Erwachsenenalter wirkte sich die Magersucht noch mäßig auf die Wirbelkörper, nicht aber auf die Breite des Oberschenkelhalses aus (Seeman *et al.*, 2000).

Karlsson *et al.* zeigten (Karlsson *et al.*, 2000), dass Malnutrition für eine reduzierte Knochengröße und Östrogendefizite für eine verminderte volumetrische Knochendichte verantwortlich sind. Diese Ergebnisse können durch die vorliegende Studie nicht bestätigt werden. In der ANO-Studie wurden sowohl der Bereich der LWS als auch des Femurs bestimmt. In beiden Fällen kam es jedoch zu keinerlei Abweichungen vom Ausgangswert. Insofern scheint die kombinierte Ernährungstherapie, wie wir sie durchgeführt haben, auf keine der beiden Skelettregionen einen signifikanten Einfluss gehabt zu haben.

Neben einer deskriptiven Betrachtung der Knochendichtedaten wurde und wird nach wie vor nach den Ursachen für Veränderungen der Knochendichte bei diesem Krankheitsbild geforscht. Castro *et al.* (Castro *et al.*, 2000) untersuchten in einer Studie mit 170 anorektischen Patientinnen im Alter von 15,2 Jahren (10 bis 17 Jahre) und einem BMI von $15,7 \text{ kg/m}^2$ die Variablen, die mit einer signifikanten Reduktion der Knochendichte einhergingen. Sie fanden, dass ein Body Mass Index von $< 15 \text{ kg/m}^2$, eine Calciumaufnahme von $< 600 \text{ mg}$ täglich, sportliche Aktivität von weniger als 3 Stunden in der Woche, Amenorrhoe über einen Zeitraum von mehr als 6 Monaten und eine Erkrankungsdauer von mehr als 12 Monaten mit einer Osteopenie verbunden waren. Diese klinischen Charakteristika klassifizierten an der Wirbelsäule einen z-Score von < -1 . Des Weiteren stellten sie fest, dass 44,1 % der Patienten eine Osteopenie im Bereich der Wirbelsäule, aber nur 24,7 % im Bereich des Oberschenkelhalses zeigten. Das von Castro *et al.* untersuchte Kollektiv ist in Bezug auf das Alter, BMI, Dauer der Amenorrhoe und Erkrankungsdauer mit dem der ANO-Studie vergleichbar. Dennoch ergaben sich Unterschiede in Bezug auf die Knochendichte. Zu Beginn der Studie wiesen 22,2 % der ANO-Patientinnen sowohl im Bereich der LWS als auch des Femurs einen z-Score < 1 auf. Damit liegt der Anteil an osteopenischen Patientinnen im Bereich der LWS nur etwa halb so hoch wie bei den Patientinnen, die an der Studie von Castro *et al.* teilgenommen haben. Weitere Studien, die sich mit magersüchtige Patientinnen im gleichen Alter wie in unserer Studie beschäftigten, kamen zu ähnlichen Ergebnissen wie wir. Wong *et al.* (Wong *et al.*, 2001) untersuchten in einer Studie 24 magersüchtige Patientinnen im Alter von 8 bis 16 Jahren innerhalb der ersten 12 Monate nach Ausbruch der

Anorexie. Es fanden sich, wie in der von uns durchgeführten Studie, keine Unterschiede in der Knochendichte und dem Knochenmineralgehalt zwischen der Gruppe der Patientinnen und der Kontrolle.

In anderen, zum Teil an älteren Kollektiven durchgeführten Studien, wurden weit ungünstigere Vorhersagen für den Knochen bei Magersucht aufgestellt. Grinspoon et al. (Grinspoon *et al.*, 2000) zeigten in ihrer Untersuchung, dass im Bereich der LWS bei 50 % ihrer magersüchtigen Patientinnen eine Osteopenie und bei 13 % eine Osteoporose vorlag. 92 % der Patientinnen zeigten an mindestens einer Stelle des Skeletts einen t-Score < 1. Das Kollektiv dieser Studie war mit einem Durchschnittsalter von 24,4 Jahren erheblich älter als in der vorliegenden ANO-Studie. Bedingt dadurch waren die Länge der Erkrankung sowie die Zeit seit der letzten Menstruation entsprechend länger (Grinspoon *et al.*, 2000). Insofern scheint sich die Prognose für den Knochen mit zunehmender Erkrankungsdauer zu verschlechtern.

Die vielen Untersuchungsergebnisse machen deutlich, dass die Entwicklung der Knochendichte bei magersüchtigen Patientinnen durch vielfältige Faktoren beeinflusst zu sein scheint. Nicht zuletzt auch die Wahl des Gerätes, das zur jeweiligen Messung der Knochendichte verwendet wird, ist von Bedeutung. Dies erschwert zum einen den direkten Vergleich der verschiedenen Studienergebnisse, zum anderen lassen sich daraus nur bedingt Therapiemaßnahmen ableiten.

Neuere Untersuchungen an 2149 magersüchtigen Patientinnen zeigen ein um den Faktor 1,98 erhöhtes Frakturrisiko (Vestergaard *et al.*, 2002). Dieser Wert liegt damit wesentlich niedriger als der in früheren Jahren von Lucas et al. bzw. Rigotti et al. beschriebene in Höhe eines Faktors 2,9 bzw. 7 (Lucas *et al.*, 1999; Rigotti *et al.*, 1991). Dennoch besteht weiterhin die Notwendigkeit, geeignete Gegenmaßnahmen zu finden, um dem Knochendichteverlust entgegen zu wirken oder ihn zumindest reversibel zu machen. Ob dies möglich ist, wird seit langer Zeit kontrovers diskutiert. Während einige Autoren auch noch viele Jahre nach einer Genesung verminderte Knochendichtewerte feststellten (Rigotti *et al.*, 1991; Herzog *et al.*, 1993; Hartman *et al.*, 2000; Bachrach *et al.*, 1991; Kooh *et al.*, 1996; Gross *et al.*, 2000), zeigten andere Gruppen, dass zwischen ehemals Magersüchtigen und Gesunden keinerlei Unterschied mehr bestand (Valla *et al.*, 2000; Treasure *et al.*, 1987; Karlsson *et al.*,

2000; Castro *et al.*, 2001). Insofern wäre es sicherlich interessant, die Patientinnen der ANO-Studie über einen längeren Zeitraum in der Zukunft weiter zu beobachten.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse dieser Studie, dass das Hungern von magersüchtigen, jugendlichen Patientinnen im Vergleich zu einem parallelisierten Kontrollkollektiv zu einer verminderten Knochenformationsaktivität bei gleichzeitig hoher Abbaurate führt.

Eine Ernährungstherapie, die eine ausreichende Energie- und Nährstoffversorgung gewährleistet, bewirkte bei den anorektischen Patientinnen eine Steigerung der Formationsaktivität bei unveränderter Osteoklastentätigkeit. Dies wurde zum einen durch die Biomarker des Knochenstoffwechsels deutlich, zum anderen zeigten die Messungen der Körperzusammensetzung eine Erhöhung der stoffwechselaktiven Körperzellmasse, die sich auch auf den Knochen ausgewirkt zu haben scheint.

In der poststationären Phase ging eine Reduktion der Energiezufuhr durch erneutes Fasten bei den Patientinnen unmittelbar mit einer tendenziell verminderten Formationsaktivität einher. Dies zeigt, wie schnell der Körper, im speziellen der Knochen, auf eine veränderte Zufuhr reagiert.

In der Behandlung der Magersucht sollte eine Ernährungstherapie eine wichtige Rolle spielen. Mit der Hilfe von ausgebildetem Personal sollten die Patientinnen lernen, sich dauerhaft ausreichend und ausgewogen zu ernähren. Eine solche Betreuung ist sowohl während eines stationären Aufenthaltes als auch auf poststationärer oder ambulanter Ebene durchführbar.

Als Gegenmaßnahme eines erhöhten Osteoporoserisikos scheint eine Ernährungstherapie sowie die damit verbundene Gewichtszunahme und Nährstoffversorgung nach dem heutigen Stand der Forschung die sinnvollste und effektivste Form der Behandlung zu sein. Auf eine medikamentöse Therapie sollte in Bezug auf den Knochenstoffwechsel aufgrund der potentiellen Nebeneffekte sowie der nicht erwiesenen positiven Wirkung bei anorektischen Jugendlichen verzichtet werden.

6 Zusammenfassung

Anorexia nervosa (AN) ist eine chronische Essstörung, die hauptsächlich bei weiblichen Jugendlichen und jungen Frauen auftritt. Das reduzierte Essverhalten ist bei fortschreitendem Verlauf mit erheblichen Stoffwechselproblemen verbunden. Eine der gravierendsten Komplikationen im Langzeitverlauf ist eine Abnahme der Knochendichte, durch die es bereits in jungen Jahren zu Spontanfrakturen kommen kann. Bisher gibt es keine effektiven Behandlungsmöglichkeiten, um diesem Knochenmasse- und -dichteverlust bei Magersucht entgegenzuwirken.

Das Ziel der vorliegenden Studie war es, zu überprüfen, ob eine Ernährungstherapie, die zu einer Gewichtszunahme führt, die Knochenstoffwechselaktivität von magersüchtigen Patientinnen im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe, verbessern kann. Dazu untersuchten wir 19 Patientinnen mit AN (Alter $14,1 \pm 1,4$ Jahre, BMI $14,2 \pm 1,4$ kg/m²) sowie 19 gesunde Jugendliche (Alter $15,1 \pm 2,3$ Jahre, BMI $20,8 \pm 1,9$ kg/m²) über den Zeitraum von einem Jahr.

Innerhalb des Studienjahres wurden Blutabnahmen zu Beginn sowie zu acht weiteren definierten Zeitpunkten (fünfmal in der Kontrollgruppe) durchgeführt. Die Aktivität der Knochenformation wurde durch die Parameter knochenspezifische alkalische Phosphatase (bAP), C-terminales Prokollagen Propeptid (PICP) und Insulin-like Growth Factor (IGF-I) bestimmt. Die Knochenresorption wurde durch das C-terminale Telopeptid (CTX) nachgewiesen. Zusätzlich wurde das Blut auf Leptin, 17 β -Östradiol, Cortisol, DHEAS, PTH, 25-OH Vitamin D, Calcium, Phosphor und Kreatinin analysiert. Parallel zu den Blutabnahmen gab es an drei bis sieben aufeinanderfolgenden Tagen Urinsammlungen, um das Volumen und die Calciumexkretion zu bestimmen. Die Nährstoffaufnahme wurde anhand von Ernährungsprotokollen geschätzt. Die Berechnung der Calciumbilanzen erfolgte aus den entsprechenden Zufuhr- und Ausscheidungsdaten. Die Körperzusammensetzung wurde mit Hilfe der Bioelektrischen Impedanzanalyse bestimmt. Darüber hinaus fanden zu Beginn, nach vier und acht Monaten Knochendichtemessungen statt. Die statistische Auswertung erfolgte mittels ANOVA „repeated measure design“ (bereinigt um Alter und Menarchestatus).

Im Vergleich der beiden Gruppen zeigten sich zu Beginn der Studie Unterschiede in den Knochenformationsmarkern PICP ($p < 0,0001$), bAP ($p = 0,0004$) und IGF-I ($p < 0,0001$). Zusätzlich waren in der Patientinnengruppe der BMI ($p < 0,0001$), Leptin ($p < 0,0001$) und 17β -Östradiol ($p = 0,0007$) vermindert. Für die Magermasse wurden ebenfalls reduzierte Werte bei den Magersüchtigen festgestellt ($p = 0,02$).

Nach einer 15-wöchigen Ernährungstherapie erhöhten sich die Konzentrationen der Knochenformationsmarker der Patientinnen und glichen sich an die der Kontrollgruppe an.

Zum Ende der Studie sanken die Werte von IGF-I und Leptin erneut ab ($p < 0,001$).

Im Vergleich zur Kontrollgruppe blieben die Fettmasse sowie die Körperzellmasse während des gesamten Studienzeitraums vermindert ($p < 0,001$). Keiner der beiden Gruppen zeigte zu den jeweiligen Messzeitpunkten Unterschiede in der Knochenresorptionsaktivität, bei DHEAS, Calcium und Phosphor im Serum oder in der Knochendichte.

Folgende Schlussfolgerungen leiten sich aus diesen Ergebnissen ab:

- Fasten führt bei jungen, anorektischen Patientinnen zu einer verminderten Knochenformationsaktivität.
- Eine Ernährungstherapie, die eine Gewichtszunahme zur Folge hat, kann die Knochenformation verbessern, während die Knochenresorption auf einem hohen, dem Alter entsprechenden Niveau bleibt.
- Patientinnen, die nach einer Ernährungstherapie rückfällig werden, reagieren tendenziell mit einer erneut verschlechterten Knochenformationsaktivität.

Eine Ernährungstherapie kann als eine erfolgsversprechende Gegenmaßnahme des magersuchtsbedingten Knochenverlustes agieren. In Hinblick auf die zahlreichen Nebenwirkungen einer Hormon-Ersatztherapie sollte eine Ernährungstherapie ein wichtiger Bestandteil in der Behandlung der Magersucht darstellen.

7 Literaturverzeichnis

Abrams, S.A., Grusak, M.A., Stuff, J., and O'Brien, K.O. (1997): Calcium and magnesium balance in 9-14-y-old children. *Am J Clin Nutr* 66, 1172-1177

Abrams, S.A., Silber, T.J., Esteban, N.V., Vieira, N.E., Stuff, J.E., Meyers, R., Majd, M., and Yergey, A.L. (1993): Mineral balance and bone turnover in adolescents with anorexia nervosa. *J Pediatr* 123, 326-331

Akesson, K. (1995): Biochemical markers of bone turnover. A review. *Acta Orthop Scand* 66, 376-386

American Psychiatric Association (1997): Diagnostic and statistical manual of mental disorders. DSM IV. American Psychiatric Association, Washington D.C

Amling, M., Pogoda, P., Beil, F.T., Schilling, A.F., Holzmann, T., Priemel, M., Blicharski, D., Catala-Lehnen, P., Rueger, J.M., Ducy, P., and Karsenty, G. (2001a): Central control of bone mass: brainstorming of the skeleton. *Adv Exp Med Biol* 496, 85-94

Amling, M., Schilling, A.F., Haberland, M., and Rueger, J.M. (2001b): Leptin: factor in the central nervous system regulation of bone mass. Development of a new understanding of bone remodeling, skeletal reconstruction, skeletal preservation and skeletal repair. *Orthopade* 30, 418-424

Amling, M., Takeda, S., and Karsenty, G. (2000): A neuro (endo)crine regulation of bone remodeling. *Bioessays* 22, 970-975

Andersen, A.E., and Holman, J.E. (1997): Males with eating disorders: challenges for treatment and research. *Psychopharmacol Bull* 33, 391-397

Andersen, A.E., Watson, T., and Schlechte, J. (2000): Osteoporosis and osteopenia in men with eating disorders. *Lancet* 355, 1967-1968

Andersen, A.E., Woodward, P.J., and LaFrance, N. (1995): Bone mineral density of eating disorder subgroups. *Int J Eat Disord* 18, 335-342

Audi, L., Mantzoros, C.S., Vidal-Puig, A., Vargas, D., Gussinye, M., and Carrascosa, A. (1998): Leptin in relation to resumption of menses in women with anorexia nervosa. *Mol Psychiatry* 3, 544-547

Audi, L., Vargas, D.M., Gussinye, M., Yeste, D., Marti, G., and Carrascosa, A. (2002): Clinical and biochemical determinants of bone metabolism and bone mass in adolescent female patients with anorexia nervosa. *Pediatr Res* 51, 497-504

Bachrach, L.K., Guido, D., Katzman, D., Litt, I.F., and Marcus, R. (1990): Decreased bone density in adolescent girls with anorexia nervosa. *Pediatrics* 86, 440-447

Bachrach, L.K., Katzman, D.K., Litt, I.F., Guido, D., and Marcus, R. (1991): Recovery from osteopenia in adolescent girls with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 72, 602-606

- Bailey, D.A., Martin, A.D., McKay, H.A., Whiting, S., and Mirwald, R. (2000): Calcium accretion in girls and boys during puberty: a longitudinal analysis. *J Bone Miner Res* 15, 2245-2250
- Baker, D., Roberts, R., and Towell, T. (2000): Factors predictive of bone mineral density in eating-disordered women: a longitudinal study. *Int J Eat Disord* 27, 29-35
- Balligand, J.L., Brichard, S.M., Brichard, V., Desager, J.P., and Lambert, M. (1998): Hypoleptinemia in patients with anorexia nervosa: loss of circadian rhythm and unresponsiveness to short-term refeeding. *Eur J Endocrinol* 138, 415-420
- Baranowska, B., Wolinska-Witort, E., Wasilewska-Dziubinska, E., Roguski, K., and Chmielowska, M. (2001): Plasma leptin, neuropeptide Y (NPY) and galanin concentrations in bulimia nervosa and in anorexia nervosa. *Neuroendocrinol Lett* 22, 356-358
- Biller, B.M., Saxe, V., Herzog, D.B., Rosenthal, D.I., Holzman, S., and Klibanski, A. (1989): Mechanisms of osteoporosis in adult and adolescent women with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 68, 548-554
- Birmingham, C.L., Jones, P.J., Orphanidou, C., Bakan, R., Cleator, I.G., Goldner, E.M., and Phang, P.T. (1996): The reliability of bioelectrical impedance analysis for measuring changes in the body composition of patients with anorexia nervosa. *Int J Eat Disord* 19, 311-315
- Bonjour, J.P. (1998): Delayed puberty and peak bone mass. *Eur J Endocrinol* 139, 257-259
- Bonjour, J.P., Carrie, A.L., Ferrari, S., Clavien, H., Slosman, D., Theintz, G., and Rizzoli, R. (1997): Calcium-enriched foods and bone mass growth in prepubertal girls: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Clin Invest* 99, 1287-1294
- Brandt, J., Krogh, T.N., Jensen, C.H., Frederiksen, J.K., and Teisner, B. (1999): Thermal instability of the trimeric structure of the N-terminal propeptide of human procollagen type I in relation to assay technology. *Clin Chem* 45, 47-53
- Brooks, E.R., Howat, P.M., and Cavalier, D.S. (1999): Calcium supplementation and exercise increase appendicular bone density in anorexia: a case study. *J Am Diet Assoc* 99, 591-593
- Brooks, E.R., Ogden, B.W., and Cavalier, D.S. (1998): Compromised bone density 11.4 years after diagnosis of anorexia nervosa. *J Womens Health* 7, 567-574
- Bruni, V., Dei, M., Vicini, I., Beninato, L., and Magnani, L. (2000): Estrogen replacement therapy in the management of osteopenia related to eating disorders. *Ann N Y Acad Sci* 900, 416-421
- Caillot-Augusseau, A., Lafage-Proust, M.H., Margailan, P., Vergely, N., Faure, S., Paillet, S., Lang, F., Alexandre, C., and Estour, B. (2000): Weight gain reverses bone turnover and restores circadian variation of bone resorption in anorexic patients. *Clin Endocrinol (Oxf.)* 52, 113-121

- Caillot-Augusseau, A., Lafage-Proust, M.H., Soler, C., Dubois, F., and Alexandre, C. (1998): Bone formation and resorption biological markers in cosmonauts during and after a 180-day spaceflight (Euromir 95). *Clin Chem* 44, 578-585
- Caregaro, L., Favaro, A., Santonastaso, P., Alberino, F., Di Pascoli, L., Nardi, M., Favaro, S., and Gatta, A. (2001): Insulin-like growth factor 1 (IGF-1), a nutritional marker in patients with eating disorders. *Clin Nutr* 20, 251-257
- Carmichael, K.A., and Carmichael, D.H. (1995): Bone metabolism and osteopenia in eating disorders. *Medicine (Baltimore.)* 74, 254-267
- Castro, J., Lazaro, L., Pons, F., Halperin, I., and Toro, J. (2000): Predictors of bone mineral density reduction in adolescents with anorexia nervosa. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 39, 1365-1370
- Castro, J., Lazaro, L., Pons, F., Halperin, I., and Toro, J. (2001): Adolescent anorexia nervosa: the catch-up effect in bone mineral density after recovery. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry* 40, 1215-1221
- Conover, C.A., and Rosen, C. (2002): The Role of Insulin-like Growth Factors and Binding Proteins in Bone Cell Biology. In *Principles of Bone Biology*, 801-824. Academic Press
- Cormier, C. (1995): Markers of bone metabolism. *Curr Opin Rheumatol* 7, 243-248
- Dawson-Hughes, B. (2003): Interaction of dietary calcium and protein in bone health in humans. *J Nutr* 3, 852S-854S
- Deetjen, P., and Speckmann, E.J. (1994): *Physiologie*. Verlag Urban und Schwarzenberg
- Deurenberg, P., Deurenberg-Yap, M., and Schoute, F.J. (2002): Validity of total and segmental impedance measurements for prediction of body composition across ethnic population groups. *Eur J Clin Nutr* 56, 214-220
- Deutsche Gesellschaft für Ernährung (2000): *Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr*. Verlag Umschau Braus GmbH
- Di Carlo, C., Tommaselli, G.A., De Filippo, E., Pisano, G., Nasti, A., Bifulco, G., Contaldo, F., and Nappi, C. (2002): Menstrual status and serum leptin levels in anorectic and in menstruating women with low body mass indexes. *Fertil Steril* 78, 376-382
- Dilling, H., Mombour, W., and Schmidt, M.H. (1991): *Internationale Klassifikation psychischer Störungen (ICD-10)*. Verlag Hans Huber
- Ducy, P., Amling, M., Takeda, S., Priemel, M., Schilling, A.F., Beil, F.T., Shen, J., Vinson, C., Rueger, J.M., and Karsenty, G. (2000): Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass. *Cell* 100, 197-207
- Ellis, K.J., Abrams, S.A., and Wong, W.W. (1998): Body composition reference data for a young multiethnic female population. *Appl Radiat Isot* 49, 587-588

Erhardt, J. EBIS Pro für Windows 95/98 und NT. 1999. Universität Hohenheim

Eriksen, E.F., Brixen, K., and Charles, P. (1995): New markers of bone metabolism: clinical use in metabolic bone disease. *Eur J Endocrinol* 132, 251-263

Felsenberg, D., and Gowin, W. (1999): Bone densitometry by dual energy methods. *Radiologe* 39, 186-193

Felsenberg, D., Gowin, W., and Wolf, K.J. (1996): Systematics of osteodensitometric methods and acronyms. *Rofo Fortschr Geb Rontgenstr Neuen Bildgeb Verfahr* 165, 398-402

Fischer, H., and Lembcke, B. (1991): Die Anwendung der bioelektrischen Impedanzanalyse (BIA) zur Beurteilung der Körperzusammensetzung und des Ernährungszustandes. *Innere Medizin* 18, 13-17

Fleisch, H., Reszka, A., Rodan, G., and Rogers, M. (2002): Bisphosphonates, Mechanisms of Action. In *Principles of Bone Biology*, 1361-1385. Academic Press

Frost, H.M., and Schonau, E. (2000): The "muscle-bone unit" in children and adolescents: a 2000 overview. *J Pediatr Endocrinol Metab* 13, 571-590

Garnero, P., and Delmas, P.D. (1997): Bone markers. *Baillieres Clin Rheumatol* 11, 517-537

Gianotti, L., Pincelli, A.I., Scacchi, M., Rolla, M., Bellitti, D., Arvat, E., Lanfranco, F., Torsello, A., Ghigo, E., Cavagnini, F., and Muller, E.E. (2000): Effects of recombinant human insulin-like growth factor I administration on spontaneous and growth hormone (GH)-releasing hormone-stimulated GH secretion in anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 85, 2805-2809

Goebel, G., Schweiger, U., Kruger, R., and Fichter, M.M. (1999): Predictors of bone mineral density in patients with eating disorders. *Int J Eat Disord* 25, 143-150

Golden, N.H., Lanzkowsky, L., Schebendach, J., Palestro, C.J., Jacobson, M.S., and Shenker, I.R. (2002): The effect of estrogen-progestin treatment on bone mineral density in anorexia nervosa. *J Pediatr Adolesc Gynecol* 15, 135-143

Gordon, C.M., Grace, E., Emans, S.J., Feldman, H.A., Goodman, E., Becker, K.A., Rosen, C.J., Gundberg, C.M., and Leboff, M.S. (2002): Effects of oral dehydroepiandrosterone on bone density in young women with anorexia nervosa: a randomized trial. *J Clin Endocrinol Metab* 87, 4935-4941

Gordon, C.M., Grace, E., Jean, E., Goodman, E., Crawford, M.H., and Leboff, M.S. (1999): Changes in bone turnover markers and menstrual function after short-term oral DHEA in young women with anorexia nervosa. *J Bone Miner Res* 14, 136-145

Grinspoon, S., Baum, H., Lee, K., Anderson, E., Herzog, D., and Klibanski, A. (1996a): Effects of short-term recombinant human insulin-like growth factor I administration on bone turnover in osteopenic women with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 81, 3864-3870

- Grinspoon, S., Gulick, T., Askari, H., Landt, M., Lee, K., Anderson, E., Ma, Z., Vignati, L., Bowsher, R., Herzog, D., and Klibanski, A. (1996b): Serum leptin levels in women with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 81, 3861-3863
- Grinspoon, S., Thomas, E., Pitts, S., Gross, E., Mickley, D., Miller, K., Herzog, D., and Klibanski, A. (2000): Prevalence and Predictive Factors for Regional Osteopenia in Women with Anorexia Nervosa. *Ann Intern Med* 133, 790-794
- Grinspoon, S., Thomas, L., Miller, K., Herzog, D., and Klibanski, A. (2002): Effects of Recombinant Human IGF-I and Oral Contraceptive Administration on Bone Density in Anorexia Nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 87, 2883-2891
- Gross, G., Russell, J.D., Beumont, P.J., Touyz, S.W., Roach, P., Aslani, A., Hansen, R.D., and Allen, B.J. (2000): Longitudinal study of patients with anorexia nervosa 6 to 10 years after treatment. Impact of adequate weight restoration on outcome. *Ann N Y Acad Sci* 904, 614-616
- Gundberg, C.M. (2000): Biochemical markers of bone formation. *Clin Lab Med* 20, 489-501
- Gurlek, A., Bayraktar, M., and Ariyurek, M. (2000): Inappropriate reference range for peak bone mineral density in dual-energy X-ray absorptiometry: implications for the interpretation of T-scores. *Osteoporos Int* 11, 809-813
- Halleen, J.M., Alatalo, S.L., Janckila, A.J., Woitge, H.W., Seibel, M.J., and Vaananen, H.K. (2001): Serum tartrate-resistant acid phosphatase 5b is a specific and sensitive marker of bone resorption. *Clin Chem* 47, 597-600
- Haluzik, M., Papezova, M., Nedvidkova, J., and Kabrt, J. (1999): Serum leptin levels in patients with anorexia nervosa before and after partial refeeding, relationships to serum lipids and biochemical nutritional parameters. *Physiol Res* 48, 197-202
- Hartman, D., Crisp, A., Rooney, B., Rackow, C., Atkinson, R., and Patel, S. (2000): Bone density of women who have recovered from anorexia nervosa. *Int J Eat Disord* 28, 107-112
- Hauschka, P.V. (1986): Osteocalcin: the vitamin K-dependent Ca²⁺-binding protein of bone matrix. *Haemostasis* 16, 258-272
- Hay, P.J., Delahunt, J.W., Hall, A., Mitchell, A.W., Harper, G., and Salmond, C. (1992): Predictors of osteopenia in premenopausal women with anorexia nervosa. *Calcif Tissue Int* 50, 498-501
- Heaney, R.P., Abrams, S., Dawson-Hughes, B., Looker, A., Marcus, R., Matkovic, V., and Weaver, C. (2000): Peak bone mass. *Osteoporos Int* 11, 985-1009
- Hebebrand, J., Ballauff, A., Hinney, A., Herpertz, S., Kopp, W., Wewetzer, C., Ziegler, A., Blum, W.F., and Remschmidt, H. (1999): Body weight regulation in anorexia nervosa with special attention to leptin secretion. *Nervenarzt* 70, 31-40
- Heer, M., Mika, C., Grzella, I., Drummer, C., and Herpertz-Dahlmann, B. (2002): Changes in bone turnover in patients with anorexia nervosa during eleven weeks of inpatient dietary treatment. *Clin Chem* 48, 754-760

- Hergenroeder, A.C., Smith, E.O., Shypailo, R., Jones, L.A., Klish, W.J., and Ellis, K. (1997): Bone mineral changes in young women with hypothalamic amenorrhea treated with oral contraceptives, medroxyprogesterone, or placebo over 12 months. *Am J Obstet Gynecol* 176, 1017-1025
- Herpertz-Dahlmann, B., and Remschmidt, H. (1988): Somatic disturbances in anorexia nervosa. *Monatsschr Kinderheilkd* 136, 732-738
- Herpertz-Dahlmann, B.M., Wewetzer, C., Schulz, E., and Remschmidt, H. (1996): Course and outcome in adolescent anorexia nervosa. *Int J Eat Disord* 19, 335-345
- Herzog, W., Minne, H., Deter, C., Leidig, G., Schellberg, D., Wuster, C., Gronwald, R., Sarembe, E., Kroger, F., and Bergmann, G. (1993): Outcome of bone mineral density in anorexia nervosa patients 11.7 years after first admission. *J Bone Miner Res* 8, 597-605
- Hill, K.K., Hill, D.B., McClain, M.P., Humphries, L.L., and McClain, C.J. (1993): Serum insulin-like growth factor-I concentrations in the recovery of patients with anorexia nervosa. *J Am Coll Nutr* 12, 475-478
- Hodsman, A.B., Hanley, D.A., Watson, P.H., and Fraher, L.J. (2002): Parathyroid Hormone. In *Principles of Bone Biology*, 1305-1324. Academic Press
- Holick, M.F. (1996): Vitamin D and bone health. *J Nutr* 126, 1159S-1164S
- Holloway, W.R., Collier, F.M., Aitken, C.J., Myers, D.E., Hodge, J.M., Malakellis, M., Gough, T.J., Collier, G.R., and Nicholson, G.C. (2002): Leptin inhibits osteoclast generation. *J Bone Miner Res* 17, 200-209
- Hotta, M., Fukuda, I., Sato, K., Hizuka, N., Shibasaki, T., and Takano, K. (2000): The relationship between bone turnover and body weight, serum insulin-like growth factor (IGF) I, and serum IGF-binding protein levels in patients with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 85, 200-206
- Hotta, M., Shibasaki, T., Sato, K., and Demura, H. (1998): The importance of body weight history in the occurrence and recovery of osteoporosis in patients with anorexia nervosa: evaluation by dual X-ray absorptiometry and bone metabolic markers. *Eur J Endocrinol* 139, 276-283
- Ilich, J.Z., Badenhop, N.E., Jelic, T., Clairmont, A.C., Nagode, L.A., and Matkovic, V. (1997): Calcitriol and bone mass accumulation in females during puberty. *Calcif Tissue Int* 61, 104-109
- Ilich, J.Z., Skugor, M., Hangartner, T., Baoshe, A., and Matkovic, V. (1998): Relation of nutrition, body composition and physical activity to skeletal development: a cross-sectional study in preadolescent females. *J Am Coll Nutr* 17, 136-147
- Inoue, T., Yamazaki, K., and Kushida, K. (1997): Utility of dual X-ray absorptiometry and single X-ray absorptiometry as diagnostic tools for involutional osteoporosis. *Osteoporos Int* 7 Suppl 3, S117-S119

- Itoh, R., Nishiyama, N., and Suyama, Y. (1998): Dietary protein intake and urinary excretion of calcium: a cross-sectional study in a healthy Japanese population. *Am J Clin Nutr* 67, 438-444
- Jagielska, G., Wolanczyk, T., Komender, J., Tomaszewicz-Libudzik, C., Przedlacki, J., and Ostrowski, K. (2002): Bone mineral density in adolescent girls with anorexia nervosa--a cross-sectional study. *Eur Child Adolesc Psychiatry* 11, 57-62
- Johnston, C.C., Jr., Miller, J.Z., Slemenda, C.W., Reister, T.K., Hui, S., Christian, J.C., and Peacock, M. (1992): Calcium supplementation and increases in bone mineral density in children. *N Engl J Med* 327, 82-87
- Jones, G., and Nguyen, T.V. (2000): Associations between maternal peak bone mass and bone mass in prepubertal male and female children. *J Bone Miner Res* 15, 1998-2004
- Joyce, J.M., Warren, D.L., Humphries, L.L., Smith, A.J., and Coon, J.S. (1990): Osteoporosis in women with eating disorders: comparison of physical parameters, exercise, and menstrual status with SPA and DPA evaluation. *J Nucl Med* 31, 325-331
- Kanis, J.A., and WHO Group (1994): Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis: a synopsis of a WHO report. *Osteoporos Int* 4, 368-381
- Kann, P.H. (2001): Bone densitometry and ultrasound studies of the bone: methods, indications and efficacy. *Orthopade* 30, 437-443
- Karlsson, M.K., Weigall, S.J., Duan, Y., and Seeman, E. (2000): Bone size and volumetric density in women with anorexia nervosa receiving estrogen replacement therapy and in women recovered from anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 85, 3177-3182
- Kerruish, K.P., O'Connor, J., Humphries, I.R., Kohn, M.R., Clarke, S.D., Briody, J.N., Thomson, E.J., Wright, K.A., Gaskin, K.J., and Baur, L.A. (2002): Body composition in adolescents with anorexia nervosa. *Am J Clin Nutr* 75, 31-37
- Klibanski, A., Biller, B.M., Schoenfeld, D.A., Herzog, D.B., and Saxe, V.C. (1995): The effects of estrogen administration on trabecular bone loss in young women with anorexia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 80, 898-904
- Kooh, S.W., Noriega, E., Leslie, K., Muller, C., and Harrison, J.E. (1996): Bone mass and soft tissue composition in adolescents with anorexia nervosa. *Bone* 19, 181-188
- Kopp, W., Blum, W.F., Ziegler, A., Mathiak, K., Lubbert, H., Herpertz, S., Deter, H.C., and Hebebrand, J. (1998): Serum leptin and body weight in females with anorexia and bulimia nervosa. *Horm Metab Res* 30, 272-275
- Kuehnel, W. (1995): Diagnostic of bone metabolism. Comparison of Pyridinium Crosslinks and Telo peptides. DPC Biermann GmbH

- LaBan, M.M., Wilkins, J.C., Sackeyfio, A.H., and Taylor, R.S. (1995): Osteoporotic stress fractures in anorexia nervosa: etiology, diagnosis, and review of four cases. *Arch Phys Med Rehabil* 76, 884-887
- Lennkh, C., de Zwaan, M., Bailer, U., Strnad, A., Nagy, C., El Giamal, N., and Kasper, S. (1999): Osteoporose bei Anorexia Nervosa. *Nervenarzt* 70, 823-829
- Leweling, H. (1995): Zusammensetzung des Körpers. In *Ernährungsmedizin*, 3-9. Georg Thieme Verlag
- Lloyd, T., Andon, M.B., Rollings, N., Martel, J.K., Demers, L.M., Eggli, D.F., Kieselhorst, K., and Kulin, H.E. (1993): Calcium supplementation and bone mineral density in adolescent girls. *JAMA* 270, 841-844
- Loro, M.L., Sayre, J., Roe, T.F., Goran, M.I., Kaufman, F.R., and Gilsanz, V. (2000): Early identification of children predisposed to low peak bone mass and osteoporosis later in life. *J Clin Endocrinol Metab* 85, 3908-3918
- Low, M.G., and Saltiel, A.R. (1988): Structural and functional roles of glycosyl-phosphatidylinositol in membranes. *Science* 239, 268-275
- Lucas, A.R., Beard, C.M., O'Fallon, W.M., and Kurland, L.T. (1991): 50-year trends in the incidence of anorexia nervosa in Rochester, Minn.: a population-based study. *Am J Psychiatry* 148, 917-922
- Lucas, A.R., Melton, L.J., Crowson, C.S., and O'Fallon, W.M. (1999): Long-term fracture risk among women with anorexia nervosa: a population-based cohort study. *Mayo Clin Proc* 74, 972-977
- Marks, S.C., and Odgren, P.R. (2002): Structure and Development of the Skeleton. In *Principles of Bone Biology*, 3-15. Academic Press
- Matkovic, V. (1992): Calcium and peak bone mass. *J Intern Med* 231, 151-160
- Matkovic, V. (1996): Nutrition, genetics and skeletal development. *J Am Coll Nutr* 15, 556-569
- Matkovic, V., Fontana, D., Tominac, C., Goel, P., and Chesnut, C.H. (1990): Factors that influence peak bone mass formation: a study of calcium balance and the inheritance of bone mass in adolescent females. *Am J Clin Nutr* 52, 878-888
- Matkovic, V., Ilich, J.Z., Andon, M.B., Hsieh, L.C., Tzagournis, M.A., Lagger, B.J., and Goel, P.K. (1995): Urinary calcium, sodium, and bone mass of young females [see comments]. *Am J Clin Nutr* 62, 417-425
- Matkovic, V., Jelic, T., Wardlaw, G.M., Ilich, J.Z., Goel, P.K., Wright, J.K., Andon, M.B., Smith, K.T., and Heaney, R.P. (1994): Timing of peak bone mass in Caucasian females and its implication for the prevention of osteoporosis. Inference from a cross-sectional model. *J Clin Invest* 93, 799-808
- Matkovic, V., Kostial, K., Simonovic, I., Buzina, R., Brodarec, A., and Nordin, B.E. (1979): Bone status and fracture rates in two regions of Yugoslavia. *Am J Clin Nutr* 32, 540-549

- McCarthy, T.L., and Centrella, M. (2001): Local IGF-I expression and bone formation. *Growth Horm IGF Res* 11, 213-219
- McKenna, A.A., Ilich, J.Z., Andon, M.B., Wang, C., and Matkovic, V. (1997): Zinc balance in adolescent females consuming a low- or high-calcium diet. *Am J Clin Nutr* 65, 1460-1464
- Mehler, P.S., Eckel, R.H., and Donahoo, W.T. (1999): Leptin levels in restricting and purging anorectics. *Int J Eat Disord* 26, 189-194
- Milos, G., Willi, J., and Hauselmann, H. (2001): Bilateral osteonecrosis of the talus and "standing obsession" in a patient with anorexia nervosa. *Int J Eat Disord* 29, 363-369
- Monteleone, P., Di Lieto, A., Tortorella, A., Longobardi, N., and Maj, M. (2000): Circulating leptin in patients with anorexia nervosa, bulimia nervosa or binge-eating disorder: relationship to body weight, eating patterns, psychopathology and endocrine changes. *Psychiatry Res* 94, 121-129
- Moore, F.D., Olesen, K.H., and McMurray, J.D. (1963): The body-cell mass and its supporting environment. In *Body composition in health and disease*, 23. W.B. Saunders Co.
- Mundy, G.R. (2000): Secondary Osteoporosis: The Potential Relevance of Leptin and Low Body Weight. *Ann Intern Med* 133, 828-830
- Munoz, M.T., and Argente, J. (2002a): Anorexia nervosa in female adolescents: endocrine and bone mineral density disturbances. *Eur J Endocrinol* 147, 275-286
- Munoz, M.T., and Argente, J. (2002b): Anorexia nervosa: Hypogonadotropic Hypogonadism and Bone Mineral Density. *Horm Res* 57 Suppl 2, 57-62
- Munoz, M.T., Morande, G., Garcia-Centenera, J.A., Hervas, F., Pozo, J., and Argente, J. (2002): The effects of estrogen administration on bone mineral density in adolescents with anorexia nervosa. *Eur J Endocrinol* 146, 45-50
- Murray, T.M (1996): Calcium nutrition and osteoporosis. *Can Med Assoc J* 155, 935-939
- Nakasato, Y.R., Janckila, A.J., Halleen, J.M., Vaananen, H.K., Walton, S.P., and Yam, L.T. (1999): Clinical significance of immunoassays for type-5 tartrate-resistant acid phosphatase. *Clin Chem* 45, 2150-2157
- Newman, M.M., and Halmi, K.A. (1989): Relationship of bone density to estradiol and cortisol in anorexia nervosa and bulimia. *Psychiatry Res* 29, 105-112
- Nutri4. Software zur Auswertung der BIA-Daten. Data Input GmbH, Deutschland
- Oliveri, B., Gomez, A., and Mautalen, C. (1999): Osteomalacia in a patient with severe anorexia nervosa. *Rev Rhum Engl Ed* 66, 505-508

- Orwoll, E., Ware, M., Stribrska, L., Bikle, D., Sanchez, T., Andon, M., and Li, H. (1992): Effects of dietary protein deficiency on mineral metabolism and bone mineral density. *Am J Clin Nutr* 56, 314-319
- Palacio, A.C., Perez-Bravo, F., Santos, J.L., Schlesinger, L., and Monckeberg, F. (2002): Leptin levels and IgF-binding proteins in malnourished children: effect of weight gain. *Nutrition* 18, 17-19
- Passloff, E.S., Slap, G.B., Pertschuk, M.J., Attie, M.F., and Kaplan, F.S. (1992): A longitudinal study of metacarpal bone morphometry in anorexia nervosa. *Clin Orthop* 217-225
- Pedersen, B.J., Schlemmer, A., Hassager, C., and Christiansen, C. (1995): Changes in the carboxyl-terminal propeptide of type I procollagen and other markers of bone formation upon five days of bed rest. *Bone* 17, 91-95
- Pfeilschifter, J. (1990): Bone metabolism and the parameters of its activity. *Internist* 31, 727-736
- Poet, J.L., Galinier, P., Tonolli, S., Conte, D., and Roux, H. (1993): Lumbar bone mineral density in anorexia nervosa. *Clin Rheumatol* 12, 236-239
- Polito, A., Cuzzolaro, M., Raguzzini, A., Censi, L., and Ferro-Luzzi, A. (1998): Body composition changes in anorexia nervosa. *Eur J Clin Nutr* 52, 655-662
- Probst, M., Goris, M., Vandereycken, W., and Van Coppenolle, H. (2001): Body composition of anorexia nervosa patients assessed by underwater weighing and skinfold-thickness measurements before and after weight gain. *Am J Clin Nutr* 73, 190-197
- Rauch, F., and Schoenau, E. (2001): Changes in bone density during childhood and adolescence: an approach based on bone's biological organization. *J Bone Miner Res* 16, 597-604
- Resch, H., Newrkla, S., Grampp, S., Resch, A., Zapf, S., Piringer, S., Hockl, A., and Weiss, P. (2000): Ultrasound and X-ray-based bone densitometry in patients with anorexia nervosa. *Calcif Tissue Int* 66, 338-341
- Reseland, J.E., Syversen, U., Bakke, I., Qvigstad, G., Eide, L.G., Hjertner, O., Gordeladze, J.O., and Drevon, C.A. (2001): Leptin is expressed in and secreted from primary cultures of human osteoblasts and promotes bone mineralization. *J Bone Miner Res* 16, 1426-1433
- Rickard, D., Harris, S.A., Turner, R., Khosla, S., Spelsberg, T.C. (2002): Estrogens and Progestins. In *Principles of Bone Biology*, 655-675. Academic Press
- Rigotti, N.A., Neer, R.M., Skates, S.J., Herzog, D.B., and Nussbaum, S.R. (1991): The clinical course of osteoporosis in anorexia nervosa. A longitudinal study of cortical bone mass. *JAMA* 265, 1133-1138
- Rigotti, N.A., Nussbaum, S.R., Herzog, D.B., and Neer, R.M. (1984): Osteoporosis in women with anorexia nervosa. *N Engl J Med* 311, 1601-1606

- Robins, S.P., and Brady, J.D. (2002): Collagen Cross-Linking and Metabolism. In *Principles of Bone Biology*, 211-223. Academic Press
- Robins, S.P. (1995): Collagen crosslinks in metabolic bone disease. *Acta Orthop Scand Suppl* 266, 171-175
- Robinson, E., Bachrach, L.K., and Katzman, D.K. (2000): Use of hormone replacement therapy to reduce the risk of osteopenia in adolescent girls with anorexia nervosa. *J Adolesc Health* 26, 343-348
- Rossert, J., and de Crombrughe, B. (2002): Type I Collagen. In *Principles of Bone Biology*, 189-210. Academic Press
- Rueggsegger, P., Muller, A., Dambacher, M.A., Ittner, J., Willi, J., and Kopp, H.G. (1988): Bone loss in female patients with anorexia nervosa. *Schweiz Med Wochenschr* 118, 233-238
- Russell, R.G. (1997): The assessment of bone metabolism in vivo using biochemical approaches. *Horm Metab Res* 29, 138-144
- Scalfi, L., Polito, A., Bianchi, L., Marra, M., Caldara, A., Nicolai, E., and Contaldo, F. (2002): Body composition changes in patients with anorexia nervosa after complete weight recovery. *Eur J Clin Nutr* 56, 15-20
- Schmidt, A., Shun-ichi, H., and Rodan, G.A. (2002): Anabolic Steroid Effects on Bone in Women. In *Principles of Bone Biology*, 1455-1466. Academic Press
- Schmolke, B. (2001): Laboratory diagnosis of osteoporosis. *Orthopade* 30, 425-436
- Schoenau, E., Neu, C.M., Beck, B., Manz, F., and Rauch, F. (2002): Bone mineral content per muscle cross-sectional area as an index of the functional muscle-bone unit. *J Bone Miner Res* 17, 1095-1101
- Schonau, E., and Rauch, F. (1997): Markers of bone and collagen metabolism-problems and perspectives in paediatrics. *Horm Res* 48, Suppl 5, 50-59
- Seeman, E. (2002): Pathogenesis of bone fragility in women and men. *Lancet* 359, 1841-1850
- Seeman, E., Karlsson, M.K., and Duan, Y. (2000): On exposure to anorexia nervosa, the temporal variation in axial and appendicular skeletal development predisposes to site-specific deficits in bone size and density: a cross-sectional study. *J Bone Miner Res* 15, 2259-2265
- Seeman, E., Szmukler, G.I., Formica, C., Tsalamandris, C., and Mestrovic, R. (1992): Osteoporosis in anorexia nervosa: the influence of peak bone density, bone loss, oral contraceptive use, and exercise. *J Bone Miner Res* 7, 1467-1474
- Seibel, M.J., Woitge, H.W., and Ziegler, R. (1993): Chemische Marker des Knochenstoffwechsels: Grundlagen. *Klinisches Labor* 39, 717-727
- Seidenfeld, M.E., and Rickert, V.I. (2001): Impact of anorexia, bulimia and obesity on the gynecologic health of adolescents. *Am Fam Physician* 64, 445-450

- Sentipal, J.M., Wardlaw, G.M., Mahan, J., and Matkovic, V. (1991): Influence of calcium intake and growth indexes on vertebral bone mineral density in young females. *Am J Clin Nutr* 54, 425-428
- Smedsrod, B., Melkko, J., Risteli, L., and Risteli, J. (1990): Circulating C-terminal propeptide of type I procollagen is cleared mainly via the mannose receptor in liver endothelial cells. *Biochem J* 271, 345-350
- Smith, M.R., Fuchs, V., Anderson, E.J., Fallon, M.A., and Manola, J. (2002): Measurement of body fat by dual-energy X-ray absorptiometry and bioimpedance analysis in men with prostate cancer. *Nutrition* 18, 574-577
- Snijder, M.B., Kuyf, B.E., and Deurenberg, P. (1999): Effect of body build on the validity of predicted body fat from body mass index and bioelectrical impedance. *Ann Nutr Metab* 43, 277-285
- Southard, R.N., Morris, J.D., Mahan, J.D., Hayes, J.R., Torch, M.A., Sommer, A., and Zipf, W.B. (1991): Bone mass in healthy children: measurement with quantitative DXA. *Radiology* 179, 735-738
- Soyka, L.A., Grinspoon, S., Levitsky, L.L., Herzog, D.B., and Klibanski, A. (1999): The effects of anorexia nervosa on bone metabolism in female adolescents. *J Clin Endocrinol Metab* 84, 4489-4496
- Statistik JMP [5.0]. 2001. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA.
- Stefanis, N., Mackintosh, C., Abraha, H.D., Treasure, J., and Moniz, C. (1998): Dissociation of bone turnover in anorexia nervosa. *Ann Clin Biochem* 35, 709-716
- Steinberg, K.K., Freni-Titulaer, L.W., DePuey, E.G., Miller, D.T., Sgoutas, D.S., Coralli, C.H., Phillips, D.L., Rogers, T.N., and Clark, R.V. (1989): Sex steroids and bone density in premenopausal and perimenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 69, 533-539
- Stoving, R.K., Flyvbjerg, A., Frystyk, J., Fisker, S., Hangaard, J., Hansen-Nord, M., and Hagen, C. (1999): Low serum levels of free and total insulin-like growth factor I (IGF-I) in patients with anorexia nervosa are not associated with increased IGF-binding protein-3 proteolysis. *J Clin Endocrinol Metab* 84, 1346-1350
- Taelman, P., Kaufman, J.M., Janssens, X., and Vermeulen, A. (1989): Persistence of increased bone resorption and possible role of dehydroepiandrosterone as a bone metabolism determinant in osteoporotic women in late post-menopause. *Maturitas* 11, 65-73
- Thissen, J.P., Ketelslegers, J.M., and Underwood, L.E. (1994): Nutritional regulation of the insulin-like growth factors. *Endocr Rev* 15, 80-101
- Thomas, T., and Burguera, B. (2002): Is leptin the link between fat and bone mass? *J Bone Miner Res* 17, 1563-1569

- Thomas, T., Gori, F., Khosla, S., Jensen, M.D., Burguera, B., and Riggs, B.L. (1999): Leptin acts on human marrow stromal cells to enhance differentiation to osteoblasts and to inhibit differentiation to adipocytes. *Endocrinology* 140, 1630-1638
- Treasure, J., and Serpell, L. (2001): Osteoporosis in young people. Research and treatment in eating disorders. *Psychiatr Clin North Am* 24, 359-370
- Treasure, J.L., Russell, G.F., Fogelman, I., and Murby, B. (1987): Reversible bone loss in anorexia nervosa. *Br Med J (Clin.Res.Ed)* 295, 474-475
- Treuth, M.S., Butte, N.F., Wong, W.W., and Ellis, K.J. (2001): Body composition in prepubertal girls: comparison of six methods. *Int J Obes Relat Metab Disord* 25, 1352-1359
- Valla, A., Groenning, I.L., Syversen, U., and Høise, A. (2000): Anorexia nervosa: slow regain of bone mass. *Osteoporos Int* 11, 141-145
- van Marken, L., Heidendal, G.A., and Westerterp, K.R. (1997): Energy expenditure and physical activity in relation to bone mineral density in women with anorexia nervosa. *Eur J Clin Nutr* 51, 826-830
- Vergnaud, P., Garnero, P., Meunier, P.J., Breart, G., Kamihagi, K., and Delmas, P.D. (1997): Undercarboxylated osteocalcin measured with a specific immunoassay predicts hip fracture in elderly women: the EPIDOS Study. *J Clin Endocrinol Metab* 82, 719-724
- Vestergaard, P., Emborg, C., Stoving, R.K., Hagen, C., Mosekilde, L., and Brixen, K. (2002): Fractures in patients with anorexia nervosa, bulimia nervosa, and other eating disorders-A nationwide register study. *Int J Eat Disord* 32, 301-308
- Walsh, B.T., and Devlin, M.J. (1998): Eating disorders: progress and problems. *Science* 280, 1387-1390
- Walsh, J.M., Wheat, M.E., and Freund, K. (2000): Detection, evaluation, and treatment of eating disorders the role of the primary care physician. *J Gen Intern Med* 15, 577-590
- Weaver, C.M., Heaney, R.P., Teegarden, D., and Henders, S.M. (1996): Wheat bran abolishes the inverse relationship between calcium load size and absorption fraction in women. *J Nutr* 126, 303-307
- Whitfield, J.F. (2001): Leptin: brains and bones. *Expert Opin Investig Drugs* 10, 1617-1622
- Whyte, M.P. (1994): Hypophosphatasia and the role of alkaline phosphatase in skeletal mineralization. *Endocr Rev* 15, 439-461
- WinSTAT für Microsoft Excel. 2001. Microsoft.
- Wong, J.C., Lewindon, P., Mortimer, R., and Shepherd, R. (2001): Bone mineral density in adolescent females with recently diagnosed anorexia nervosa. *Int J Eat Disord* 29, 11-16

Zamora, S.A., Rizzoli, R., Belli, D.C., Slosman, D.O., and Bonjour, J.P. (1999): Vitamin D supplementation during infancy is associated with higher bone mineral mass in prepubertal girls. *J Clin Endocrinol Metab* 84, 4541-4544

Zapf, J., and Froesch, E.R. (1986): Insulin-like growth factors/somatomedins: structure, secretion, biological actions and physiological role. *Horm Res* 24, 121-130

Zipfel, S., Seibel, M.J., Lowe, B., Beumont, P.J., Kasperk, C., and Herzog, W. (2001): Osteoporosis in eating disorders: a follow-up study of patients with anorexia and bulimia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 86, 5227-5233

8 Danksagung

Die Durchführung einer Studie kann nur dann gelingen, wenn viele Menschen „vor und hinter den Kulissen“ zusammenarbeiten. Mir hat die Arbeit sehr viel Spaß gemacht und ich möchte mich an dieser Stelle bei einigen Personen besonders bedanken, die mich auf unterschiedliche Weise unterstützt haben.

Herrn PD Dr. Zittermann möchte ich für die Überlassung des Themas sowie die fachliche Diskussion und die ständige Bereitschaft, mich zu unterstützen, herzlich danken.

Bei Frau Prof. Herpertz-Dahlmann und Herrn Prof. Gerzer möchte ich mich für die Möglichkeit bedanken, im Rahmen der Kooperation zwischen der Klinik für Kinder- und Jugendpsychiatrie und –psychotherapie und dem Deutschen Zentrum für Luft- und Raumfahrt meine Dissertation anfertigen zu können. Sie haben mir die finanziellen und räumlichen Voraussetzungen für die Durchführung der Studie geschaffen.

Ganz besonders herzlich möchte ich mich bei Frau Dr. Martina Heer bedanken, die mich während der gesamten Zeit betreut hat. Ihr Interesse an der vorliegenden Arbeit und ihre Erfahrungen, die sie in den gemeinsamen Diskussionen weitergab sowie ihr geduldiges Verständnis und die seelische Unterstützung waren mir eine wertvolle Hilfe.

Ein herzliches Dankeschön möchte ich den Patientinnen und Probandinnen der ANO-Studie aussprechen. Sie haben die Untersuchungen über diesen langen Zeitraum unterstützt. Ich weiß, dass es einigen nicht immer leicht gefallen ist, diejenige Klinik wieder zu betreten, mit der sie viele Erinnerungen assoziieren, die mit ihrer zurückliegenden Erkrankung in Verbindung stehen. Ich habe mich daher sehr gefreut, sie zu den jeweiligen Untersuchungszeitpunkten immer wieder zu sehen und zwischenzeitlich durch Briefe und Telefonate von ihnen zu hören.

Ein kollektiver Dank gilt allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Klinik für Kinder- und Jugendpsychiatrie und –psychotherapie: Frau Dr. Ina Grzella (OÄ), die mir bei

allen organisatorischen Dingen zur Seite stand, Frau Carla Wallraff und Frau Ulla Sabrowski, die ich mit Fragen löchern konnte, Dr. Kristian Holtkamp für die Diskussion der Daten und natürlich die Stationen, auf denen die Patientinnen betreut wurden. Diese Studie stellte für das Personal der Stationen eine nicht unerhebliche zusätzliche Arbeitsbelastung dar. Es war keinesfalls selbstverständlich, eine solche Unterstützung zu bekommen. Vielen Dank dafür!

Frau Heussen von Institut für Biometrie der RWTH Aachen möchte ich für die Hilfe bei der statistischen Auswertung der Daten herzlich danken. Mit viel Geduld hat sie mir die Statistik erläutert und auch für Fragen jederzeit ein offenes Ohr gehabt.

Mein besonderer Dank gilt auch den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Abteilung Weltraumphysiologie des DLR für die freundliche Arbeitsatmosphäre, für aufmunternde Worte und die Unterstützung im Labor durch Gaby Kraus und Jette Hjorth-Müller. Natalie Bäcker und Mareike Fenner möchte ich für die zahlreichen Gespräche und Diskussionen während unserer gemeinsamen Zeit „in einem Boot“ danken.

Vielen lieben Dank sagen möchte ich allen Freunden, speziell Katja und Michael Hartlieb, die diese Arbeit Korrektur gelesen haben, meiner Familie und besonders meinem Mann Jörg. Sie haben mich ermutigt, mir geholfen, unvermeidliche Durststrecken zu überwinden und sich mit mir gemeinsam über Erfolge gefreut.

9 Anhang

Tabelle A: Einzeldaten der Energiezufuhr in kcal/Tag für die Patientinnen der ANO-Studie.
n.a.: nicht auswertbar

Patientin	Woche 1	Woche 3	Woche 7	Woche 11
A	2.613,8	2.701,0	2.446,0	n.a.
C	1.607,5	2.128,2	2.453,7	2.132,8
D	2.166,7	2.217,4	2.750,6	2.377,1
E	2.129,1	2.510,9	2.575,8	n.a.
F	1.718,6	1.989,3	2.130,3	n.a.
G	2.094,6	1.970,8	2.418,3	n.a.
H	2.218,0	2.300,3	2.788,5	n.a.
I	1.747,6	1.973,8	2.563,7	n.a.
L	1.251,3	2.162,4	2.916,4	3.096,9
M	1.869,1	2.217,3	n.a.	3.068,8
N	1.929,7	2.232,3	2.788,0	2.403,4
O	1.610,7	2.210,9	2.482,4	3.242,9
P	1.423,0	1.725,3	2.687,2	n.a.
R	1.872,1	1.904,0	2.128,6	n.a.
S	1.822,8	2.365,5	2.560,9	1.876,4
T	1.399,4	1.822,0	2.321,8	2.394,8
V	2.363,6	2.549,0	2.510,1	2.543,9
zA	1.931,1	2.247,8	2.773,5	2.850,6
Mittelwert ± SD	1.876 ± 352,3	2.179,3 ± 256,0	2.546,8 ± 224,6	2.598,8 ± 449,5

Tabelle B: Einzeldaten der Proteinzufuhr (g/Tag) für die Patientinnen der ANO-Studie.
n.a.: nicht auswertbar

Patientin	Woche 1	Woche 3	Woche 7	Woche 11
A	99,3	105,8	97,0	n.a.
C	63,6	84,0	96,1	83,1
D	84,0	79,9	74,0	65,1
E	74,6	80,8	75,5	n.a.
F	64,8	65,9	69,2	n.a.
G	79,2	68,9	84,7	n.a.
H	88,1	81,0	111,1	n.a.
I	66,5	68,0	81,8	n.a.
L	52,2	79,5	87,9	97,7
M	55,6	65,0	n.a.	97,5
N	72,2	84,4	83,1	78,4
O	64,2	86,6	83,2	110,4
P	56,9	56,6	96,4	n.a.
R	63,9	66,2	74,5	n.a.
S	63,8	69,7	75,4	69,7
T	55,4	67,1	64,1	71,3
V	76,4	81,0	79,8	80,2
zA	76,8	89,4	87,4	91,0
Mittelwert ± SD	69,9 ± 12,5	76,7 ± 11,7	83,6 ± 11,7	84,4 ± 14,5

Tabelle C: Einzeldaten der Fettzufuhr (g/Tag) für die Patientinnen der ANO-Studie.
n.a.: nicht auswertbar

Patientin	Woche 1	Woche 3	Woche 7	Woche 11
A	125,1	127,4	121,5	n.a.
C	53,9	71,4	81,8	71,4
D	72,5	72,3	101,0	92,1
E	69,1	76,8	108,4	n.a.
F	56,4	63,0	88,2	n.a.
G	69,5	62,1	83,6	n.a.
H	74,3	82,6	120,5	n.a.
I	47,6	44,9	82,7	n.a.
L	41,4	69,0	115,9	124,5
M	38,0	50,8	n.a.	136,2
N	21,1	36,2	94,5	100,9
O	53,9	74,3	76,1	132,6
P	47,6	55,9	114,3	n.a.
R	74,1	76,7	79,8	n.a.
S	23,8	46,3	87,1	74,5
T	46,9	58,8	79,0	85,5
V	55,2	95,2	99,2	89,5
zA	74,2	86,4	107,8	123,0
Mittelwert ± SD	58,0 ± 23,4	69,4 ± 21,2	96,5 ± 15,7	103,0 ± 24,2

Tabelle D: Einzeldaten der Kohlenhydratzufuhr (g/Tag) für die Patientinnen der ANO-Studie.
n.a.: nicht auswertbar

Patientin	Woche 1	Woche 3	Woche 7	Woche 11
A	266,9	276,8	235,2	n.a.
C	211,9	280,6	325,4	282,3
D	287,1	301,5	377,0	314,9
E	294,7	363,7	316,4	n.a.
F	232,1	282,0	258,7	n.a.
G	280,7	275,8	323,8	n.a.
H	292,0	300,5	306,4	n.a.
I	257,1	316,5	364,1	n.a.
L	163,3	315,6	372,6	386,2
M	319,0	366,8	n.a.	332,8
N	356,3	384,8	392,8	289,6
O	211,8	292,0	357,2	391,7
P	187,0	242,3	311,3	n.a.
R	230,1	231,0	272,5	n.a.
S	332,1	408,5	360,9	225,3
T	184,4	249,8	330,8	328,7
V	379,8	332,6	315,8	346,8
zA	237,8	276,9	357,9	338,1
Mittelwert ± SD	262,4 ± 60,8	305,4 ± 49,4	328,2 ± 43,5	323,6 ± 49,5

Tabelle E: Einzeldaten der Calcium-Exkretionsraten (mg/24h) für die Patientinnen der ANO-Studie.
n.a.: nicht auswertbar

Patientin	Woche 1	Woche 3	Woche 7	Woche 11
C	253,2	227,1	172,6	204,3
D	120,4	126,3	96,9	86,3
E	136,3	130,6	112,7	n.a.
F	64,8	n.a.	n.a.	n.a.
G	158,3	176,8	191,7	n.a.
H	203,3	212,9	262,0	n.a.
I	73,0	81,3	121,0	n.a.
L	113,1	173,7	179,5	204,6
M	42,8	37,9	n.a.	n.a.
N	50,3	104,9	79,3	49,2
O	187,4	297,4	277,5	207,9
P	84,8	152,9	99,1	n.a.
R	177,3	202,3	213,3	n.a.
S	179,7	221,8	204,2	122,3
T	110,3	173,4	227,1	138,2
V	30,7	52,7	64,8	38,9
Mittelwert ± SD	124,1 ± 64,8	158,1 ± 70,7	164,4 ± 68,9	131,5 ± 69,7

Tabelle F: Calciumbilanzen (mg/Tag) der Patientinnen der ANO-Studie. Lücken ergeben sich durch fehlende Daten zur Urinsammlung, Fäzesabgabe und/oder Nährstoffzufuhr. Wo: Woche

	C	E	F	G	H	I	L	O	P	V
Wo 1, Tag 1		644	121	521	40			22		-442
Wo 1, Tag 2	1.226	703	87	921	299			22	313	
Wo 1, Tag 3	988	656	335	23	-150			257	296	
Wo 1, Tag 4	1.451	-	951	1.339	-			263	-983	
Wo 1, Tag 5	-		664	818	436			246		
Wo 1, Tag 6	-383		1.617		835			255		
Wo 1, Tag 7					-					
Summe	1.808	349	3.777	3.624	-			1.067	-373	-442
Wo 3, Tag 1	125	94		1.295	15	354		655	858	-
Wo 3, Tag 2	723	1.074		785	-287	927		720	740	1.795
Wo 3, Tag 3	1.635	1.573		1.975	651	689	-196	903	76	-
Wo 3, Tag 4	-921	82		1.889	-248		1.262	229	-	
Wo 3, Tag 5	209	2.146		1.477	-45		1.238	176	46	
Wo 3, Tag 6	827	-282		-117	155		-			
Wo 3, Tag 7				843						
Summe	2.598	4.689		8.148	240	1.971	-286	2.685	88	-
Wo 7, Tag 1	-77	1.332		365	-207		-	-65	-551	
Wo 7, Tag 2	997	-876		-1	713	376	2.188	205	1.951	-90
Wo 7, Tag 3	1.040	950		-	-888	-152	1.102	677	2.043	412
Wo 7, Tag 4	-100	-346		-609	451	866	1.080	759	2.129	693
Wo 7, Tag 5	904	-259		857	236	-398	164	648		
Wo 7, Tag 6		1.493		269	664	184				
Wo 7, Tag 7										
Summe	2.763	2.295		-469	970	876	1.044	2.224	5.573	1.015
Wo 11, Tag 1	-323						-	1.119		1.687
Wo 11, Tag 2	594						1.167	1.453		1.354
Wo 11, Tag 3	751						-	1.316		1.590
Wo 11, Tag 4							514	-533		1.593
Wo 11, Tag 5							323			
Wo 11, Tag 6							-355			
Wo 11, Tag 7							1.317			
Summe	1022						851	3.356		6.225

Tabelle G: Einzelwerte der Densitometrie-Daten (LWS) für die Patientinnen der ANO-Studie als prozentuale und absolute Abweichung vom Ausgangswert in Woche 1.

Patientin	Woche 1	4 Monate			8 Monate		
	Absolut (g/cm ²)	Absolut (g/cm ²)	Differenz ggü. 1. Messung (g/cm ²)	Differenz ggü. 1. Messung (%)	Absolut (g/cm ²)	Differenz ggü. 1. Messung (g/cm ²)	Differenz ggü. 1. Messung (%)
A	1,097	1,093	- 0,004	- 0,37	1,059	- 0,038	- 3,46
C	1,111	1,095	- 0,016	- 1,44	1,100	- 0,011	- 0,99
D	0,939	0,965	+ 0,026	+ 2,77	1,093	+ 0,154	+ 16,40
E	1,051	1,054	+ 0,003	+ 0,28	1,036	- 0,015	- 1,43
F	0,865	0,862	- 0,003	- 0,35	0,844	- 0,021	- 2,43
G	0,683	0,700	+ 0,017	+ 2,49	0,711	+ 0,011	+ 4,10
H	0,700	0,737	+ 0,037	+ 5,29	0,788	+ 0,088	+ 12,57
I	1,125	1,120	- 0,005	- 4,45	1,139	+ 0,014	+1,24
L	1,012	k.D.	-	-	0,980	- 0,032	- 3,16
M	1,080	k.D.	-	-	1,010	- 0,070	- 6,48
N	1,176	1,170	- 0,006	- 0,51	1,152	- 0,024	- 2,04
O	1,035	1,095	+ 0,060	+ 5,80	1,171	+ 0,136	+ 13,14
P	1,091	1,145	+ 0,054	+ 4,95	1,022	- 0,069	- 6,33
R	1,272	1,276	+ 0,004	+ 0,31	1,244	- 0,028	- 2,20
S	1,069	1,065	- 0,004	- 0,37	k.D.	-	-
T	1,089	1,139	+ 0,050	+ 4,59	1,113	+ 0,024	+ 2,20
V	1,189	1,275	+ 0,086	+ 7,23	1,247	+ 0,048	+ 4,88
zA	1,023	1,060	+ 0,037	+ 3,62	1,015	- 0,008	- 0,78
Mittelwert	1,034	1,053	0,021	1,865	1,043	0,009	1,484
SD	0,154	0,165	0,030	3,199	0,148	0,064	6,763

Tabelle H: Einzelwerte der Densitometrie-Daten (Femur) für die Patientinnen der ANO-Studie als prozentuale und absolute Abweichung vom Ausgangswert in Woche 1.

Patientin	Woche 1	4 Monate			8 Monate		
	Absolut (g/cm ²)	Absolut (g/cm ²)	Differenz ggü. 1. Messung (g/cm ²)	Differenz ggü. 1. Messung (%)	Absolut (g/cm ²)	Differenz ggü. 1. Messung (g/cm ²)	Differenz ggü. 1. Messung (%)
A	0,980	0,956	- 0,024	- 2,45	0,970	- 0,010	- 1,02
C	1,132	1,024	- 0,108	- 9,54	1,028	- 0,104	- 9,19
D	0,980	0,925	- 0,055	- 5,61	0,920	- 0,060	- 6,12
E	1,037	1,023	- 0,014	- 0,10	1,036	- 0,001	- 1,35
F	0,835	0,873	+ 0,038	+ 4,55	0,864	+ 0,029	+ 3,47
G	0,680	0,682	+ 0,002	+ 0,29	0,722	+ 0,042	+ 6,18
H	0,614	0,664	+ 0,050	+ 8,14	0,683	+ 0,069	+ 11,24
I	0,891	0,901	+ 0,010	+ 1,12	0,867	- 0,024	- 2,69
L	0,903	k.D.	-	-	1,003	+ 0,100	+ 11,07
M	0,900	k.D.	-	-	1,012	+ 0,112	+ 12,44
N	1,008	0,980	- 0,028	- 2,78	0,938	- 0,070	- 6,94
O	0,960	0,966	+ 0,006	+ 0,62	0,889	- 0,071	- 7,40
P	0,951	0,914	- 0,037	- 3,89	0,857	- 0,094	- 9,89
R	1,048	1,045	- 0,003	- 0,29	1,075	+ 0,027	+ 2,58
S	0,934	0,947	+ 0,013	+ 1,39	k.D.	-	-
T	1,189	1,079	- 0,110	- 9,25	1,059	- 0,130	- 10,93
V	1,073	1,049	- 0,024	- 2,24	1,041	- 0,032	- 2,98
zA	0,929	0,881	- 0,048	- 5,17	0,865	- 0,064	- 6,89
Mittelwert	0,947	0,932	-0,021	-1,576	0,931	-0,017	-1,084
SD	0,140	0,119	0,045	4,616	0,114	0,072	7,702