

Inhaltsverzeichnis

I	Abbildungsverzeichnis	4
II	Tabellenverzeichnis	5
III	Abkürzungsverzeichnis	6
1	Einleitung und Zielsetzung	9
2	Grundlagen des Knochens	11
2.1	Knochenaufbau	11
2.2	Knochenzellen	13
2.3	Knochenumbau	14
2.4	Peak Bone Mass	16
3	Regulatoren des Knochenstoffwechsels	17
3.1	Calcium	17
3.2	Parathormon	18
3.3	Calcitriol	19
3.4	Calcitonin	20
3.5	Vitamin K	21
3.6	Osteocalcin	21
3.7	Östrogene	22
4	Postmenopausale Osteoporose	24
4.1	Definition und Einteilung	24
4.2	Epidemiologie und sozioökonomische Bedeutung	25
4.3	Diagnostisches Verfahren	27
5	Phytoöstrogene und die postmenopausalen Osteoporose	33
5.1	Darstellung der Phytoöstrogene	33
5.2	PubMed-Datenbankanalyse	36
5.3	Tabellarische Darstellung der Ergebnisse	40
5.4	Diskussion	47

5.4.1 Diskussion der Ergebnisse.....	47
5.4.2 Methodenkritik	58
6 Fazit	59
Zusammenfassung	61
Abstract.....	62
IV Literaturverzeichnis.....	63
V Eidesstattliche Erklärung	78
VI Anhangsverzeichnis.....	80

I Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Aufbau des Knochens.....	12
Abbildung 2: Phasen des Knochenumbaus	15
Abbildung 3: Altersabhängige und geschlechtsspezifische Knochenmasse	17
Abbildung 4: Modulation der Osteoklastenfunktionen	23
Abbildung 5: Prävalenz der Osteoporose	26
Abbildung 6: DXA-Messung der Lendenwirbelsäule	29
Abbildung 7: DXA-Messung der rechten Hüfte	29
Abbildung 8: Strukturformeln der Phytoöstrogene	34
Abbildung 9: Chemische Strukturen der Isoflavone	35
Abbildung 10: Erweiterte Filteroptionen bei PubMed	37
Abbildung 11 Ergebnisse der PubMed-Analyse	38
Abbildung 12 Interpretation der PubMed Analyse.....	38

II Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Einteilung der Osteoporose nach Schwergrad.....	24
Tabelle 2: Laborchemische Knochenformationsmarker.....	32
Tabelle 3: Laborchemische Knochenresorptionsmarker	33
Tabelle 4 Evidenzklassifizierung nach Chochrane und Grad der Empfehlung.....	39
Tabelle 5: Auswertung des Review I.....	41
Tabelle 6: Auswertung der Studie I.....	42
Tabelle 7: Auswertung der Studie II.....	43
Tabelle 8: Auswertung der Studie III	44
Tabelle 9: Auswertung der Studie IV	46
Tabelle 10: Auswertung des Review II	46

III Abkürzungsverzeichnis

AP	alkalische Phosphatase
BAP	Knochen spezifische alkalische Phosphatase
BMD	bone mineral density
BMP	bone morphogenic protein
BMU	basic multicellular unit
BSP	bone sialoprotein
BUA	Breitbandultraschallabschwächung
Ctx	C-terminales Telopeptid
DGE	Deutsche Gesellschaft für Ernährung
DHA	Docosahexaenoidsäure
DPD	Deoxypyridinolin
DVO	Dachverband Osteologie e.V.
DXA	Dual-Röntgen-Absorptiometrie
EPA	Eicosapentaenoidsäure
ER	Östrogenrezeptor
FS	Fettsäure
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
GBB	geniVida TM bone blend
HRT	Hormonersatztherapie
IU	Internationale Einheit
IGF	insulin-like growth factor

IL	Interleukin
LH	Luteinisierendes Hormon
Ntx	N-terminales Telopeptid
OC	Osteocalcin
OPG	Osteoprotegerin
PBM	Peak Bone Mass
PC	periosteal circumference
PMI	polar moment of inertia
PTH	Parathormon
pQCT	periphere quantitative Computertomographie
QUS	quantitative Ultrasonometrie
PYD	Pyridinolin
RANK	Receptor Activator of NF- κ B
RANK-L	Receptor Activator of NF- κ B-Ligand
RCT	randomisierte kontrollierte Studie
RR	relative Resorptionsrate
SD	Standardabweichung
SOS	Ultraschalleitungsgeschwindigkeit
SSI	polar strength-stain index
TGF	transforming growth factor
TNF	tumor necrosis factor
TRAP	tartrate-resistant acid phosphatase
ucOC	undercarboxylated osteocalcin

VDR

Vitamin D-Rezeptor

WHO

Weltgesundheitsorganisation

1 Einleitung und Zielsetzung

Osteoporose ist eine systematische Skeletterkrankung, die durch eine niedrige Knochenmasse und eine mikroarchitektonische Verschlechterung des Knochengewebes gekennzeichnet ist, mit einer konsekutiven Zunahme der Brüchigkeit und der Neigung zu Frakturen (Consensus Development Conference, 1993).

Die Osteoporose stellt ein weltweites Gesundheitsproblem dar, welches sozialpolitische und finanzielle Folgen mit sich bringt. Aufgrund des demografischen Wandels und einer mit dem Alter ansteigenden Inzidenz osteoporotischer Frakturen, wird sie in Zukunft weiter an Bedeutung gewinnen (Häussler et al., 2007, S. 77ff.).

Besonders betroffen sind klimakterische Frauen, deren abnehmender Östrogenspiegel mit einem beschleunigten Knochenabbau korreliert. 40% aller Frauen über 50 Jahren erleiden im Laufe ihres Lebens einen osteoporotischen Knochenbruch im Bereich der Wirbelsäule, der Hüfte oder der Unterarme (Doherty, 2001, S. 23). Das Auftreten von Frakturen bedeutet für die Betroffenen erheblichen Leidensdruck, Schmerzen, Immobilisierung, Einbußen an Lebensqualität und oft soziale Isolation (DVO, 2006, S. 16).

Jahrzehntlang galt die These, eine Behandlung mit Sexualhormonen (HRT) könne der postmenopausalen Osteoporose vorbeugen und diese therapieren. Fakten liefert die Studie der Women's Health Initiative in den USA (Rossouw et al., 2002, S. 321ff.), die wegen zu hoher Gesundheitsrisiken vorzeitig abgebrochen werden musste. Ein Jahr später erkrankten 9364 Frauen in Folge einer Behandlung mit HRT an Brustkrebs im Zuge der „Million Women Study“ in Großbritannien (Beral V, 2003, S. 419ff.).

Phytoöstrogene weisen analoge Strukturen zu den Östrogenen auf und rücken in den Blickpunkt der Forschung. Die sekundären Pflanzenstoffe binden an Östrogenrezeptoren an und imitieren die physiologische Wirkung endogener Sexualsteroiden. Eine wichtige Rolle scheint hierbei der Östrogenrezeptor- β zu spielen, der hauptsächlich im Knochengewebe, im Herzkreislaufsystem und im Dickdarm vorzufinden ist (Matthai et al., 2003, S. 1182). Ein protektiver Effekt von Phytoöstrogenen gegen Brustkrebs, Prostatakrebs, Darmkrebs, Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Osteoporose gewinnt immer mehr an Evidenz (Yildiz, 2006, S. 5).

Das Ziel dieser Bachelorarbeit ist es, die Wirkung extrahierter Phytoöstrogene hinsichtlich der postmenopausalen Osteoporose zu überprüfen, um daraus Handlungsempfehlungen für Frauen abzuleiten. Angesprochen sind besonders osteopenische und osteoporotische Frauen, die beim Abwägen des Nutzen-Risiko-Verhältnisses eine pharmakologische Behandlung ablehnen. In Anlehnung an die folgende Hypothese, soll die Eignung von Phytoöstrogenen zur Prävention und Therapie ausgearbeitet werden:

- *Phytoöstrogene können als natürliche Alternative zur medikamentösen Behandlung der postmenopausalen Osteoporose betrachtet werden*

Als Leitfaden dienen nachstehende Fragestellungen:

- *Können Nahrungsergänzungsmittel aus Phytoöstrogenen dem menopausalbedingten Knochenabbau vorbeugen?*
- *Sind Präparate aus extrahierten Phytoöstrogenen für die Therapie einer menopausalen Osteoporose geeignet?*
- *Welche Arten und Zusammensetzungen der Phytoöstrogene sind am wirksamsten?*
- *Gibt es Richtwerte für eine adäquate Phytoöstrogen-Dosierung?*
- *Welche Nebenwirkungen/ Langzeitwirkungen können bei einer Phytoöstrogen-Intervention auftreten?*

Der erste Teil der Bachelorarbeit beschreibt die Problematik, die zur Wahl des Themas geführt hat. Beginnend, wird das Ziel dieser Arbeit und die zu untersuchende Hypothese formuliert. Darauf folgen eine Skizzierung des Aufbaus und die Abgrenzung nicht behandelnder Aspekte. In den Kapiteln zwei und drei werden die Grundlagen des Knochens sowie die Regulatoren des Knochenstoffwechsels behandelt. Diese Sachverhalte sind für das Grundverständnis der Thesis notwendig und stehen in Bezug zur Osteoporose. Das Kapitel vier definiert und beschreibt die Besonderheiten der postmenopausalen Osteoporose. In diesem Kapitel liegt der Fokus auf den diagnostischen Parametern, die im nachfolgenden Kapitel zu Tragen kommen. Der Schwerpunkt dieser Thesis liegt auf Kapitel fünf. Es untersucht die Behandlungsmöglichkeiten der klimakterischen Osteoporose mit Hilfe von Phytoöstrogenen. Der Passus wird mit der Darstellung der Phytoöstrogene eingeleitet und beschreibt hiernach die Vorgehensweise bei der Literaturrecherche. Die erzielten Publikationen finden sich in einer tabellarischen Darstellung im Unterpunkt des fünften Kapitels

wieder. Die Ergebnisse dieser Studien werden diskutiert und miteinander verglichen. Zuletzt wird die Datenbankanalyse kritisch gewürdigt und im sechsten Kapitel das Fazit gezogen.

Der Sinnhaftigkeit halber wird im gesamten Text das generische Femininum verwendet, da der Gegenstand dieser Arbeit ausschließlich Frauen betrifft.

Die Grundlagen des Knochens und die Regulatoren des Knochenstoffwechsels werden nur so umfassend dargestellt, wie es für das Verständnis dieser Thematik notwendig ist. Auf eine detaillierte Anatomie und Physiologie des Skelettsystems wird aus Umfanggründen nicht eingegangen. Neben den in Kapitel zwei aufgezählten Regulatoren des Knochenstoffwechsels gibt es noch viele weitere Hormone und Peptide, die am Knochenumbau beteiligt sind (z.B. Schilddrüsenhormone, Glucocorticoide). Die ausgegrenzten Botenstoffe spielen bei der postmenopausalen Osteoporose nur eine untergeordnete Rolle und benötigen keine Präzisierung. Desweiteren wird die sekundäre Osteoporose, die als Folge von bestimmten Erkrankungen oder als Nebenwirkung einiger Medikamente entstehen kann, ausgeklammert. In Kapitel vier werden verschiedene Verfahren der Osteodensitometrie vorgestellt, dabei wird bewusst vermieden auf absolute Werte einzugehen, stattdessen erfolgen die Angaben als Standardabweichungen. Ähnliches gilt für die Laborbefunde, deren Absolutwerte irrelevant sind. Die Osteoporose ist eine multifaktorielle Krankheit, die neben der Menopause viele weitere beeinflussbare und nicht- beeinflussbare Ursachen beinhaltet. Das Kontingent dieser Arbeit reicht nicht aus um jene Faktoren mit in die Arbeit einfließen zu lassen. Das gleiche gilt für die generelle Osteoporose-Prophylaxe und konservative medikamentöse Therapie. Völlig außer Acht gelassen wird die Osteoporose bei Männern.

2 Grundlagen des Knochens

2.1 Knochenaufbau

Das ausgewachsene humane Skelett weist zwei Arten von Knochengewebe auf. Wie in Abbildung 1 dargestellt befindet sich unter der Knochenhaut (Periost) die Substantia Compacta, die auch als Kompakta oder Kortikalis bezeichnet wird und im Knocheninneren die Substantia Spongiosa. Die chemische Zusammensetzung beider Knochenformen ist iden-

tisch. Desweiteren sind die Bestandteile der Knochenmatrix anorganische Mineralien, die bis zu 77% der Knochensubstanz ausmachen und zu 90% aus Hydroxylapatit (Calciumphosphat) bestehen. 23% sind organische Materialien, bestehend aus 89% Kollagen Typ 1 und 5% anderer Proteinen (Adler, 2000, S. 6). Der Unterscheid dieser Knochenformen liegt in ihrem strukturellen Aufbau. Der spongiöse Knochen ist ein schwammartig vernetztes Gerüst aus Knochenbälkchen (Trabekeln) und macht 20% der Knochenmasse bei rund 80% des Knochenvolumens aus. In den Räumen zwischen den Trabekeln befindet sich das Knochenmark. Die poröse Spongiosa ist überwiegend in den Wirbelkörpern, aber auch in Becken- und Hüftknochen vorzufinden. Sie ist elastisch und hat eine hohe Stoffwechselaktivität und einen gesteigerten Knochenumbau („High-Turnover“). Die Kompakta umhüllt das Knocheninnere und bietet dem Skelett Schutz und Festigkeit. Sie ist dicht und kompakt und hat eine hohe Widerstandsfähigkeit gegenüber Biegungen und Torsionen. Etwa 80% der Knochenmasse umfasst die Kompakta (Hadjidakis, Androulakis, 2006, S. 386).

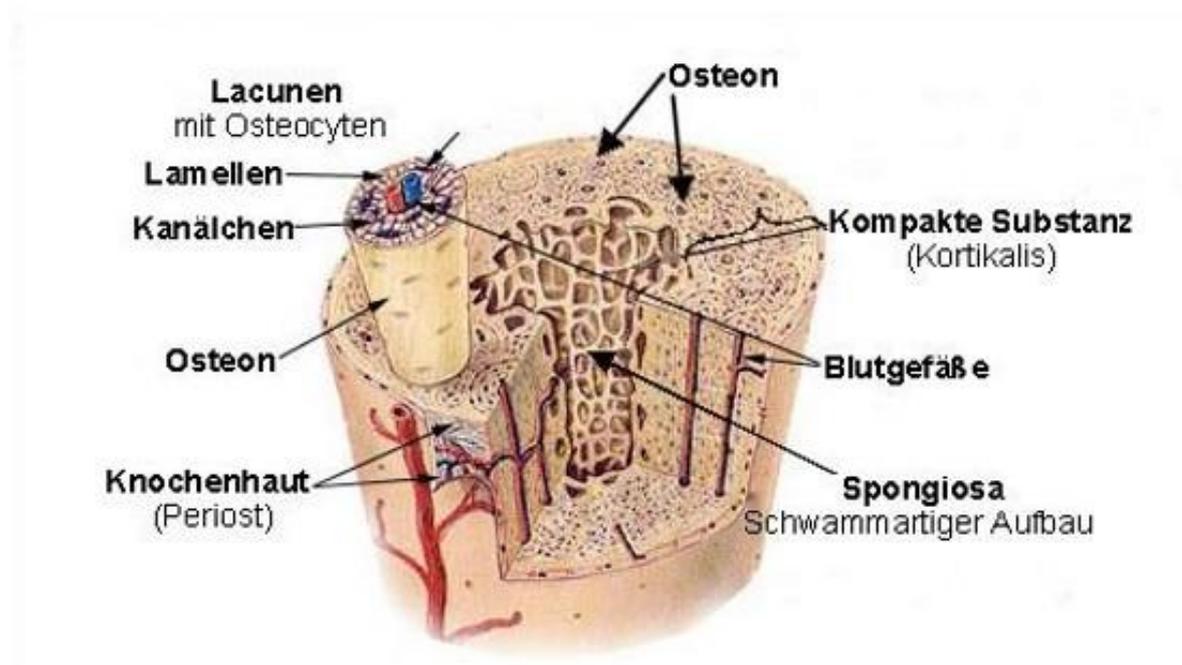


Abbildung 1: Aufbau des Knochens

Quelle: modifiziert nach National Cancer Institute, 2012

2.2 Knochenzellen

Im Knochen werden drei Zelltypen unterschieden. Osteoblasten sind knochenaufbauende Zellen. Sie produzieren Bestandteile der Knochenmatrix. Diese knochenaufbauenden Zellen sind nie einzeln vorzufinden. Stattdessen stehen sie stets mit ihren Nachbarzellen in Verbindung und bilden Netzwerke auf der Oberfläche der Knochenmatrix und stellen diese her. Sie entstehen aus multipotenten mesenchymalen Stammzellen. Diese haben die Fähigkeit sich in Osteoblasten, Adipozyten, Chondrozyten, Myoblasten und Fibroblasten umzuwandeln (Bianco et al., 2001, S. 188). Osteoblasten bilden eine Reihe von Wachstumsfaktoren unter einer Vielzahl von Stimuli, darunter IGF, TGF und BMP. Ihre Aktivität wird von einigen Hormonen gesteuert, deren Rezeptoren auf den Osteoblasten gefunden wurden u.a. Rezeptoren für Parathormon, Östrogene, Androgene und Vitamin D (Hadjidakis, Androulakis, 2006, S. 388).

Die Osteoblasten, die beim Aufbauprozess in der noch nicht mineralisierten Grundsubstanz des Knochengewebes (Osteoid) eingemauert sind, werden als Osteozyten bezeichnet. Insgesamt bauen sich 15% der reifen Osteoblasten als Osteozyten in die Knochenmatrix ein. Dort bilden sie ein weit vernetztes Kanalsystem (Lacunen) und stehen untereinander in Verbindung. Trotz der komplexen Organisation des osteozytischen Netzwerkes, bleibt die genaue Funktion der Zellen unklar. Vermutlich wirken Osteozyten an der Regulation des Knochenumbaus mit, indem sie Osteoklasten zu den Stellen einberufen an denen ein Knochenumbau erforderlich ist (Lanyon, 1993, S. 106).

Osteoklasten sind multinukleäre Riesenzellen mit einem Durchmesser von bis zu 100 µm. Sie entstammen der hämatopoetischen Reihe und entstehen durch die Fusion von monozytären Vorläuferzellen. Osteoklasten sind die einzigen Zellen des Körpers mit der Fähigkeit der Knochenresorption. Sie sind als isolierte Zellen auf der Knochenoberfläche in Howship'schen Lacunen vorzufinden (Teitelbaum, 2000, S. 1504ff.). Osteoklasten resorbieren den Knochen durch die Azidifizierung (pH-Wert-Senkung) und die Proteolyse (Proteinabbau) der Knochenmatrix. Im ersten Schritt der Resorption mobilisieren Osteoklasten Hydroxylapatit durch deren Lösung von den Kollagenfasern. Anschließend wird das Kollagen durch Cathepsine oder aktivierte Kollagenasen abgebaut. Die Osteoklastenfunktion wird reguliert von Hormonen. Rezeptoren für Calcitonin, Androgene, Schilddrüsenhormone, Insulin und Parathormon sind bereits entdeckt (Hadjidakis, Androulakis, 2006, S. 389).

2.3 Knochenumbau

Das Skelettsystem ist ein metabolisch aktives Organ, das einem lebenslangen dynamischen Umbauprozess unterliegt. Der Knochenumbau ergibt sich aus der Zusammenarbeit von Osteoklasten und Osteoblasten zur Reparatur feiner Mikrofrakturen und geschieht in Knochenumbaeinheiten (BMU). Im Idealfall herrscht ein Gleichgewicht zwischen Resorption und Formation, altes Knochengewebe wird kontinuierlich durch neues ersetzt und an die mechanische Belastung und Dehnung angepasst. Dieser Vorgang der 1990 von Frost als „bone remodeling“ definiert wurde (Frost, 1990, S. 414ff.), findet an den Oberflächen der Spongiosa und in Teilen der Kompakta statt. Da der spongiöse Knochenanteil eine deutlich höhere Oberfläche besitzt, ist die Aktivitätsfrequenz der BMU der Spongiosa dreimal so hoch wie die der Kompakta. (Schünke, 2000, S. 20)

Der Knochenumbau läuft in drei aufeinanderfolgenden Phasen ab. Nach einer Ruhephase beginnt ein Zyklus mit einer zweiwöchigen Resorptionsphase des osteoklastischen Knochenabbaus, bis zur Entstehung einer Resorptionslakune. Anschließend kommt es in einer Umschaltphase von vier bis fünf Wochen zur Apoptose der Osteoklasten, zur Bereitstellung der Osteoblastenvorläufer in der Resorptionslakune, zur Aktivierung der Osteoblasten und zur Synthetisierung der organische Grundsubstanz, des Kollagen Typ 1. In der Formationsphase wird die Osteoid-Mineralisation vollständig abgeschlossen. Es können vier Monate vergehen bis zur Bildung eines reifen Knochens. Sobald auch diese Phase abgeschlossen ist, werden die Osteoblasten in ruhende „bone lining cells“ umgewandelt um die Knochenoberfläche zu bedecken und zu schützen. Es folgt wieder eine Ruhephase bis der nächste Knochenumbau eingeleitet wird (Hadjidakis, Androulakis 2006, S. 390). Bartl et al. haben die Phasen des Knochenumbaus bildlich dargestellt (Abbildung 2).

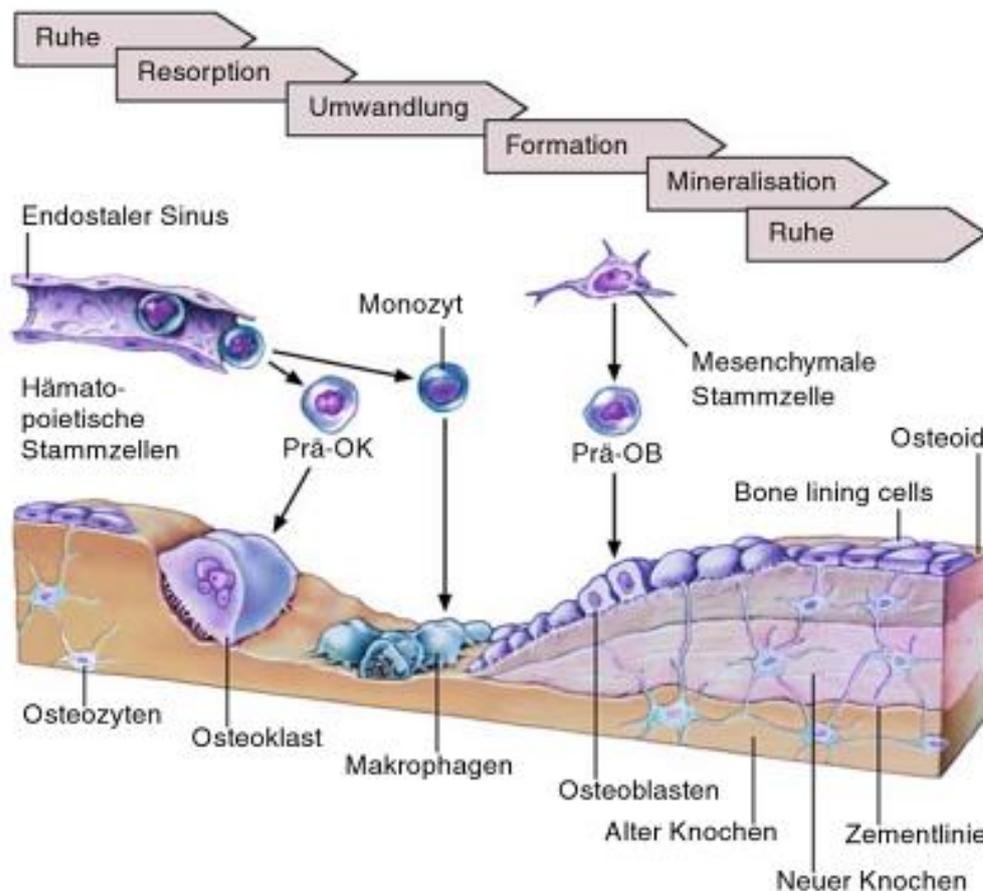


Abbildung 2: Phasen des Knochenbaus

Quelle: Bartl, Tresckow, Bartl, 2006, S. 19

Zwischen Knochenformation und Knochenresorption existiert ein Mechanismus namens „Coupling“, dessen genaue Steuerung seit 1999 bekannt ist. Der Knochenumbau wird eingeleitet durch Zellen aus der Osteoblasten-Reihe. Es ist bisweilen nicht definiert ob es sich dabei um Osteozyten, „bone lining cells“ oder Prä-Osteoblasten im Knochenmark handelt. Diese Zellen verändern ihre Form und scheiden Enzyme aus, die Proteine der Knochenoberfläche aufschließen. Daraus bildet sich ein Protein aus der Familie der Tumornekrosenfaktoren (TNF), genannt RANKL (Abkürzung für Receptor Activator of NF- κ B Ligand). RANKL steht in Wechselwirkung mit einem Rezeptor des Osteoklastenvorläufers RANK (Abkürzung für Receptor Activator of NF- κ B). Die RANK/RANKL Interaktion resultiert in einer Differenzierung der Osteoklasten. Des Weiteren unterdrückt RANK/RANKL den Zelltod der Osteoklasten, die Apoptose (Hsu, Lacey, Dustan, 1999, S. 3520ff.). Knochenformation und Knochenresorption sind über RANKL miteinander verkoppelt.

2.4 Peak Bone Mass

Die Entwicklung der Spitzenknochenmasse (Peak Bone Mass) erstreckt sich über einen Zeitraum von vielen Jahren und wird als Menge des Knochengewebes definiert, die am Ende einer Knochenreifung vorhanden ist (Bonjour et al., 1994, S. 7). Wie in Abbildung 3 zu sehen ist, wächst die Knochenmasse im Kindes- und Jugendalter zunächst linear und geschlechtshormonunabhängig. Das Wachstum verdoppelt sich erst ab der Adoleszenz unter Einwirkung von Sexualhormonen (Theintz et al., 1992, S. 1063). Bis zum Alter von 25- 30 Jahren vergrößert sich die Knochenmasse kontinuierlich und erlangt innerhalb dieser Zeit die individuelle Peak Bone Mass (Exton-Smith et al., 1969, S. 1154ff.). Frauen erreichen ihre maximale Knochenmasse im Durchschnitt zwei Jahre eher als Männer und haben in der Regel einen geringeren Ausgangswert (Theintz et al., 1992, S. 1063). Nach Erreichen der Peak Bone Mass folgt zunächst ein moderater Knochenabbau (low-turnover), der bei menopausalen Frauen, zwischen dem 40. und 50. Lebensjahr, wegen eines abrupten Östrogenabfalls, rapide steigt (high-turnover). Nach zehn Jahren gleicht sich die Geschwindigkeit des Verlustes an Knochenmasse wieder an die des Mannes an (Mosekilde, 1989, S. 425ff.). Dieser vorübergehende, beschleunigte Knochenverlust alternder Frauen, gekoppelt mit der geringeren Peak Bone Mass, unterwirft postmenopausale Frauen einer höheren Frakturgefährdung (O'Flaherty, 2000, S. 171).

Die Entwicklung der Knochenmasse ist von multiplen Faktoren abhängig. Dazu zählen die Calcium- und Vitamin D₃-Zufuhr (Sunyecz, 2008, S. 833), Bewegung (Stevson et al, 1989, S. 924ff.) sowie die Herkunft (Han et al., 1996, S. 1967ff.). Rizzolli et al. definieren die genetische Disposition und den Geschlechtshormonstatus, als die bisher bedeutendsten Einflussfaktoren auf die Knochenmasse (Rizzolli, Bonjour, Ferrari, 2001, S. 79ff.).

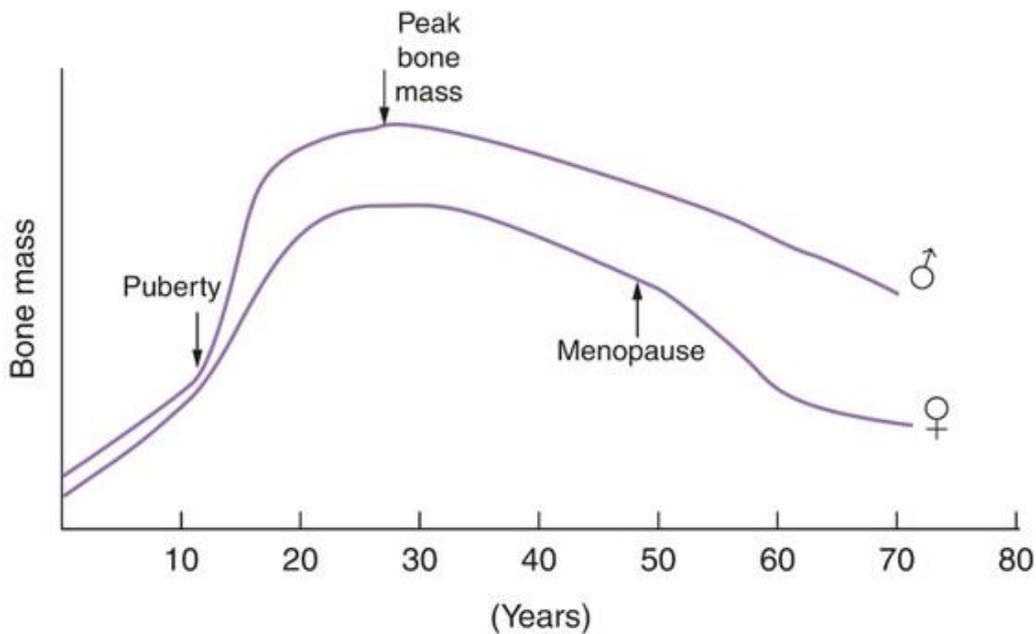


Abbildung 3: Altersabhängige und geschlechtsspezifische Knochenmasse
 Quelle: Reid, 2008, S. 334

3 Regulatoren des Knochenstoffwechsels

3.1 Calcium

Gemeinsam mit Phosphat ist Calcium der wichtigste Bestandteil der anorganischen Knochenmatrix. Über 99% des Körpercalciums ist in Form von Hydroxylapatit in Knochen eingebaut, welches dem Skelett Stabilität und Festigkeit verleiht. Gleichzeitig nutzt der Organismus den Knochen als großen körpereigenen Calciumspeicher, aus dem in kurzer Zeit Calcium mobilisiert und für überlebenswichtige Abläufe zu Verfügung gestellt wird (Schwegler, Lucius, 2011, S. 25).

Calcium (Ca^{2+}) ist für viele Steuerungsprozesse und Zellfunktionen bedeutend. Intrazellulär ist Ca^{2+} an der Muskel- und Nervenkontraktion, am Glykogen-Stoffwechsel, an der Zellteilung, sowie an Hormon- und Enzymaktivitäten beteiligt. Extrazellulär spielt Calcium eine entscheidende Rolle bei der Blutgerinnung und Aufrechterhaltung der Zellmembranen. Im Blutplasma muss ständig eine Konzentration von 2,1-2,6 mmol/l Gesamtcalcium gegeben sein, davon liegt 47% als freies ionisiertes Calcium vor. Der Rest ist an Albumin, Globuline und anorganische Anionen gebunden. Entscheidend für die biologischen Funkti-

onen ist die Konzentration der aktiven Ca^{2+} -Ionen im Blut, deren Normalwert bei 1,1-1,4 mmol/L liegt. (Calvi, Bushinsky, 2008, S. 1257ff.).

Die Regulation der konstanten Calciumkonzentration im Blut erfolgt über drei Hormone Parathormon, Calcitriol und Calcitonin. Sie sind beteiligt an der Mobilisation von Calcium aus den Knochen, der Resorption von Calcium im Darm und der Ausscheidung von Calcium in der Niere (Gressner, Arndt, 2007, S. 232).

Hunt und Johnson errechnen eine durchschnittliche Zufuhr von 741 mg Calcium/ Tag, für eine ausgeglichene Calciumbilanz, unabhängig von Alter und Geschlecht, bei einer mittleren Absorption von 25% (Hunt, Johnson, 2007, S. 1054ff.). Die D-A-CH Gesellschaft hat unter Berücksichtigung der Variation des Bedarfs in der Bevölkerung den Referenzwert für die Calciumzufuhr, von Erwachsenen bis unter 65 Jahren, auf 1000 mg pro Tag festgelegt (DGE, 2013, S. 202). Eine adäquate Calciumzufuhr gilt als eine generelle Maßnahme zur Prophylaxe von Frakturen und wird als Basistherapie bei einer Osteoporose eingesetzt (DVO, 2009, S. 37.)

3.2 Parathormon

Wie aus der bioinformatischen Datenbank UniProt ersichtlich wird, ist Parathormon (PTH) ein Polypeptid mit 84 Aminosäuren (UniProt, 2013). Das Peptidhormon wird in den Epithelkörperchen der Nebenschilddrüse produziert und in Vesikeln gespeichert. Seine Sekretion erfolgt in Abhängigkeit von der extrazellulären Calciumkonzentration, sie steigt bei niedriger und sinkt bei hoher Anzahl an Ca^{2+} -Ionen im Blut. Parathormon hat eine niedrige Halbwertszeit und wird binnen Minuten in den Epithelkörperchen selbst, in der Leber und der Niere abgebaut. Es eignet sich demnach optimal zur akuten Regulation der Calciumkonzentration. Parathormon hat vier Wirkungsweisen, es mobilisiert Calcium und Phosphat aus dem Knochengewebe, steigert die Calciumrückresorption aus der Niere, hemmt die Phosphatrückresorption und wandelt inaktives Calcidiol in aktives Calcitriol in der Niere um (Püschel, 2011, S. 624).

Die Freisetzung von Calcium und Phosphat aus dem Knochen geschieht indirekt, indem die Osteoklasten über die Osteoblasten zum Knochenabbau angeregt werden. Bei einer Ausschüttung von Parathormon wird über seinen Rezeptor in den Osteoblasten die Produktion des RANK-L (Ligand)-Proteins stimuliert. RANK-L bindet sich an die unreife Os-

teoklasten Vorläuferzelle mit dem Rezeptor RANK, die Osteoklasten aktiviert. Diese bauen über eine Signalkette von Enzyme Hydroxylapatit zu Calcium und Phosphat ab, die dann ins Blut gelangen (Boyle, Simonet, Lacey, 2003, S. 337ff.).

Damit das freie Phosphat keine schwerlösliche Bindung mit dem Calcium eingeht, verhindert Parathormon die Phosphatrückresorption in die Nieren und führt zur verstärkten Ausscheidung von Phosphat (Phosphaturie). Gleichzeitig regt PTH die Calciumrückresorption an, welche die Calciumkonzentration im Blut weiter steigen lässt (Horn, 2012, S.390).

Weil das Parathormon langfristig zu einer Entmineralisierung des Knochens führen würde, wirkt es ebenfalls in der Niere auf die Bildung des Vitamin-D₃ Hormons (Calcitriol) ein. Calcitriol und Parathormon wirken bei der Erhöhung des Calcium-Spiegels synergetisch, denn Vitamin D steigert die Calcium-Absorption im Darm und fördert langfristig die Mineralisation des Knochens (Huppelsberg, Walter, 2009, S. 208).

3.3 Calcitriol

Calcitriol (1,25 Dihydroxy-Cholecalciferol) auch 1,25(OH)₂-D₃ genannt, weist eine strukturelle Ähnlichkeit zu Steroidhormonen auf und wird in mehreren Syntheseschritten gebildet. Die Vorstufe des Calcitriols ist Cholecalciferol (Vitamin D₃), welches in Form von Nahrung aufgenommen wird oder unter Einfluss von ultravioletter Lichteinstrahlung vom Körper selbst gebildet wird. In der Leber wird Cholecalciferol durch Hydroxylierung zu 25(OH)-D₃ umgesetzt und in der Niere durch 1- α -Hydroxylase und PTH zum Wirksamen 1,25(OH)₂-D₃ überführt (Huppelsberg, Walter, 2009, S.208-209). 1,25(OH)₂-D₃ ist wie andere Steroidhormone auch ein lipophiler Ligand, der im Zellkern an einen DNA-assoziierten Rezeptor (VDR) bindet (Haussler et al., 1988, S. 263ff.). Diese Rezeptoren liegen in den Zielorganen Darm, Niere und Knochen vor, mit der zentralen Bedeutung die Homöostase von Calcium und Phosphat aufrechtzuerhalten (Walters, 1992, S. 719ff.). Im Dünndarm fördert Calcitriol primär die Ca²⁺- und Phosphat-Resorption, trägt zu einer Erhöhung des Blutcalciumspiegels bei und füllt die Knochenspeicher. Diese Wirkung kommt zustande, weil Calcitriol die Synthese eines calciumbindenden Proteins (Calbindin) herleitet. Dieses Protein ist Teil eines aus mehreren Elementen bestehenden Transportsystems, das für den transzellulären Transport des Calciums in der Darmepithelzelle zuständig ist. Auch in der Niere wirkt Calcitriol, indem es die Wirkung des PTH auf die Rückresorption des Calciums unterstützt. Im Zielorgan Knochen wurden VDR in den Osteoblasten ent-

deckt, welche die Transkription der knochenaufbauenden Substanzen Kollagen Typ 1, Osteocalcin und alkalische Phosphatase initiieren (van Leeuwen et al., 2001, S. 199ff.). Allerdings ist Calcitriol nicht nur an der Calcifikation, sondern bei einem Überschuss des Hormons auch an der Mobilisierung des Calciums aus den Knochen beteiligt. Die Ursache dafür ist noch ungeklärt, jedoch wird eine stärkere Reifung von Osteoklasten aus Vorläuferzellen vermutet (Rehner, Daniel, 2010 S. 168).

Neben dem Darm, der Niere und dem Knochen besitzen auch andere Organe Vitamin D-Rezeptoren. Die Nebenschilddrüse ist eines davon (Walters, 1992, S719ff.). Durch die Bindung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ an den VDR im Zellkern der Nebenschilddrüse wird die PTH Transkription unterdrückt (Moe, Drüecke, 2003, S, 369ff.).

Eine $25(\text{OH})\text{-D}_3$ -Serumkonzentration von 50 nmol/L wird international als wünschenswert hinsichtlich der Knochengesundheit angesehen (Dawson-Hughes et al., 2005, S. 713ff.). Nach Ergebnissen von Cashmann et al. wird in den Wintermonaten bei einer Zufuhr von 20 µg Vitamin D_3 pro Tag (=800 IU¹) bei 90 -95% der Bevölkerung eine $25(\text{OH})\text{-D}_3$ Serumkonzentration von 50 nmol/L erreicht (Cashman et al., 2011, S. 555). Das entspricht dem Richtwerte der DGE für Jugendliche und Erwachsenen bis unter 65 Jahren (DGE, 2012, S. 88). In den Vereinigten Staaten liegt die aktuelle Vitamin D_3 Empfehlung (Recommended Dietary Allowances=RDA) bei 600 IU/ Tag für über 50 jährige Erwachsene (Ross et al, 2011, 75ff.). Eine adäquate Zufuhr gilt als eine generelle Maßnahme zur Prophylaxe von Frakturen und wird als Basistherapie bei einer Osteoporose zusammen mit Calcium eingesetzt (DVO, 2009, S. 37.).

3.4 Calcitonin

Calcitonin ein aus 32 Aminosäuren bestehendes Peptidhormon (UniProt, 2013), welches bei Menschen hauptsächlich in den C-Zellen der Schilddrüse produziert wird. Die Sekretion von Calcitonin wird durch eine hohe Serumcalciumkonzentration gesteuert und führt über eine direkte Hemmung der Osteoklastenaktivität zum Knochenaufbau und zu einer Verringerung der Serumcalciumkonzentration. Im Knochenmetabolismus wirkt Calcitonin in erster Linie antagonistisch zu Parathormon. In der Niere wirken beide Hormone synergistisch, Calcitonin steigert die Phosphaturie und verstärkt die Calciumresorption (Oberleithner, 2009, S. 409). Seine exakte physiologische Bedeutung ist noch weitestge-

¹ 1 µg = 40 Internationale Einheiten (IU); 1 IU = 0,025 µg

hend ungeklärt, doch sie spielt im Vergleich zu Vitamin D₃ und Parathormon eine untergeordnete Rolle.

3.5 Vitamin K

Vitamin K ist ein Sammelbegriff für die fettlöslichen Vitamine Phylochinon (K₁), Menachinon (K₂) und Menadion (K₃) und in erster Linie für die Synthese der Blutgerinnungsfaktoren zuständig. Das Vitamin ist ein Kofaktor des Enzyms γ -Glutamylcarboxylase, welches in verschiedenen Proteinen Glutaminsäurereste (Glu) zu γ -Carboxyglutaminsäureresten (Gla) umsetzt, Vitamin K₂ hat dabei die potenteste γ -Carboxylierungsaktivität (Ushiroyama, Ikeda, Ueki, 2002, S 211ff.).

Im Knochen handelt es sich um das Protein Osteocalcin, das in carboxylierter Form an Hydroxylapatit bindet und auf diese Weise an der Knochenformation beteiligt ist (Plaza, Lamson, 2005, S.25). Im Gegensatz zu den Proteinen der Blutgerinnung, wird eine wesentlich höhere Vitamin K Menge benötigt um eine vollständige Osteocalcin γ -Carboxylierung zu vollziehen (Booth, Suttie, 1998, S.785ff.). Ein hoher Wert an nicht-carboxyliertem Osteocalcin (ucOC) im Blutserum ist ein Indikator für einen Vitamin K Mangel, der mit einer reduzierten Knochenmineraldichte und einem erhöhtem Frakturrisiko einhergeht (Bitensky et al., 1988, S. 664). Mehrere Studien bestätigen die antiresorptive Wirkung von Vitamin K₂ auf den Knochen. Trotz dieser Erkenntnisse werden Vitamin K Supplemente bisher selten zur prophylaktischen und therapeutischen Behandlung der Osteoporose empfohlen (Plaza, Lamson, 2005, S. 32). Laut D-A-CH Referenzwerten liegt der tägliche Vitamin K Bedarf erwachsener Frauen, bis 51 Jahren, bei 60 μ g und ab 51 Jahren, bei 65 μ g (DGE, 2013).

3.6 Osteocalcin

Osteocalcin ist ein nicht-kollagenes Polypeptid der extrazellulären Knochenmatrix, bestehend aus 49 Aminosäuren (UniProt, 2013). Es wird ausschließlich im Knochen durch die Osteoblasten und im Zahn durch die Odontoblasten gebildet und ist das erste entdeckte Protein welches knochenspezifisch ist. Die Aminosäure hat drei Carboxyglutaminsäurereste die dem Protein erlauben an Hydroxylapatit zu binden, aus diesem Grund wird Osteocalcin auch als „bone gla protein“ oder „BGP“ bezeichnet

(Hauschka, Lian, Gallop, 1975, S. 3925ff.). Beim Menschen wird Osteocalcin durch ein Gen kodiert, dessen Transkription vom Runx2/Cbfa1-Faktor reguliert wird. Seine Synthese wird durch Vitamin D₃ eingeleitet. Obwohl die Datenlage bis heute kontrovers ist, kann dem Osteocalcin eine zweifache Bedeutung zugeschrieben werden: Zum einen reguliert OC die Knochenregulation; zum anderen die Osteoblasten- und Osteoklastenaktivität (Neve, Corrado, Cantatore, 2013, S. 1149). Osteocalcin im Blutserum ist ein Index für die Osteoblastenaktivität und Knochenformation (Brown et al., 1984, S. 1091ff.).

3.7 Östrogene

Neben ihren Aufgaben an den Reproduktionsorganen spielen Sexualsteroidhormone eine entscheidende Rolle im adulten Knochenmetabolismus. Das Knochenwachstum des Kindes entwickelt sich zunächst ohne den Einfluss von Geschlechtshormonen. Erst der adolescente Wachstumsschub und der Epiphysenfugenschluss, zum Aufbau der maximalen Knochenmasse, verlaufen sexualhormonabhängig (Silverthorn, 2009, S. 1089).

Die wichtigste Rolle spielen hierbei die Östrogene, die Rezeptoren auf den Osteoblasten, Osteoklasten und deren Vorläuferzellen besitzen (Eriksen et al., 1988, S. 84ff). 17 β -Estradiol ist das potenteste Östrogen natürlicher Abstammung. Es existieren zwei Varianten der DNA-bindenden Östrogenrezeptoren, ER α und ER β , die auf den Knochenzellen nicht geschlechterspezifisch verteilt, sondern in ähnlichen Niveaus bei Männern und Frauen vertreten sind (Braidman et al, 2000, S. 423ff). Der kürzlich entdeckte ER β hat eine höhere Bedeutung bei der Regulierung des Knochenstoffwechsels durch Östrogene, weil er zu Genüge im Knochen exprimiert wird (Arts et al., 1997, S. 5067ff.). Seine selektiven Wirkungen sind bisher noch unklar. Bekannt ist in erster Linie die Wirkung von ER α auf den Knochen (Seika et al. 2001, S. 2012).

Durch Anbindung von 17 β -Estradiol an ER α wird die Expression des Rezeptor-Antagonisten OPG, in den Osteoblasten, eingeleitet. Dadurch wird die Bindung von RANK-L, an seinen Rezeptor RANK, verhindert, über den die Osteoklastenreifung eingeleitet wird (Abbildung 4). Interessanterweise sind auch Phytoöstrogenen in der Lage die osteoblastische OPG Produktion und RANKL Suppression über ER abhängige Mechanismen zu steuern (Hofbauer, Kühne, Viereck, 2004, S. 269).



Abbildung 4: Modulation der Osteoklastenfunktionen durch den RANK/RANKL/OPG-Signalweg.
 Quelle: Hofbauer, Rachner, 2010, S. 118

Von gesicherter Bedeutung ist die Wirkung von Östrogenen auf die Lebensdauer reifer Knochenzellen, denn die Sexualsteroidhormone haben eine antiapoptotische Wirkung auf die Osteoblasten und Osteozyten (Kousteni et al., 2001, S. 1ff), sowie eine proapoptotische Wirkung auf die Osteoklasten (Hughes et al., 1998, S. 1132ff.). Östrogene führen indirekt zu einer Hemmung der Osteoklasten im Knochenmark, in den Vorläuferzellen und in den Osteoblasten. Sie hemmen die Bildung von Osteoklasten-aktivierenden-Faktoren in den Osteoblasten, wie IL-1, IL-6 und TNF- α (Manolagas, Kousteni, Jilka, 2002, S. 392). Zudem wird die Bildung Osteoklasten-inhibierender Faktoren, wie IGF-1, TGF- β und BMP-6 gesteigert (Hughes et al., 1998, S. 1132ff.).

Darüber hinaus wird zur Zeit eine neue Hypothese diskutiert, die besagt dass eine hohe Konzentration des FSH in der Postmenopause die Osteoklasten und somit die Knochenresorption über TNF- α stimuliert. Bisher gibt es keine aussagekräftigen Ergebnisse, die eine abschließende Bewertung ermöglichen (Prior, 2007, S. 1ff.).

Zusammengefasst legen diese Erkenntnisse nahe, dass ein Östrogenmangel den pathogenetischen Mechanismus beeinflusst, der für die postmenopausale Osteoporoseentwicklung verantwortlich ist. Der Verlust der Eierstockfunktion in der Menopause ist der Faktor, der am stärksten zur Morbidität und Mortalität bei alternden Frauen beiträgt (Manolagas, 2002, S. 386).

4 Postmenopausale Osteoporose

4.1 Definition und Einteilung

Die WHO hat 1994 Kriterien bestimmt, die den Schweregrad der Osteoporose in Messwerten definiert. Die Einteilung gründet sich auf der Dual-Röntgen Absorptiometrie (DXA), mit Hilfe derer die Knochendichte an Lendenwirbelsäule und proximalen Femur gemessen werden kann. Die Ergebnisse werden in Relation zu statistischen Durchschnittswerten der maximalen Knochenmasse (Peak Bone Mass) junger, gesunder gleichgeschlechtlicher Personen gesetzt (T-Score) und in Standardabweichungen (SD) angegeben. Eine Standardabweichung von 0 bis 1 unterhalb des Mittelwertes gilt als Normalbefund. Wie in Tabelle 1 dargestellt werden Abweichungen von 1 bis 2,5 unter dem Mittelwert (-1 bis -2,5 SD) als Osteopenie bezeichnet. Werte, die mehr als 2,5 Standardabweichungen unterhalb des Normalwertes liegen definieren eine Osteoporose. Treten zusätzlich noch eine oder mehrere Wirbelfrakturen bzw. Frakturen weiterer Skeletteile auf, wird von einer manifesten oder fortgeschrittenen Osteoporose gesprochen (Kanis, 2002, S. 1930). Der Messwert basiert auf der Absorption der Röntgenstrahlen und ist damit ein Maß für die Kalziummenge und aller anderen röntgenabsorbierenden Gewebe im Projektionsfeld. Über die eigentliche Knochendichte, also die Menge von Kalziumhydroxylapatit pro Volumen Knochen, kann diese Methode keine Aussage machen. das Messergebnis hat die Einheit Gramm pro Quadratcentimeter (Runge, 2008, S. 168).

Schwergrad	Einteilung	Kriterien
0	Osteopenie	verminderter Knochenmineralgehalt T-Score: BMD -1 bis -2,5 SD Keine Frakturen
1	Osteoporose	verminderter Knochenmineralgehalt T-Score: BMD <-2,5 SD keine Frakturen
2	Manifeste Osteoporose	verminderter Knochenmineralgehalt T-Score: BMD <-2,5 SD 1-3 Wirbelfrakturen
3	Fortgeschrittene Osteoporose	verminderter Knochenmineralgehalt T-Score: BMD <-2,5 SD multiple Wirbelfrakturen und Frakturen weiterer Skeletteile

Tabelle 1: Einteilung der Osteoporose nach Schwergrad

Quelle. Eigene Darstellung nach WHO, 1994

Osteoporose wird zudem in primäre und in sekundäre Formen unterteilt. Im Rahmen dieser Arbeit wird speziell auf die humane postmenopausale Osteoporose, die zu den primären (idiopathischen) Formen zählt, eingegangen. Als wesentliche Ursache des postmenopausalen Knochenverlustes gilt die Funktionseinstellung der Ovarialfunktion im Klimakterium (Lindsey, 1988, S. 114), die einen verstärkten Östrogenmangel mit sich bringt und einen trabekulären Knochenverlust zur Folge hat (Frederick, Kaplan, 1986, S. 108).

4.2 Epidemiologie und sozioökonomische Bedeutung

Osteoporose ist eine weitverbreitete Skeletterkrankung, welche durch die steigende Lebenserwartung ein noch größeres Ausmaß einer ernstzunehmenden Volkskrankheit annimmt. Folgen der abbauenden Knochenmasse und sich verschlechternden Knochenstruktur sind eine erhöhte Neigung zu Knochenbrüchen, die heute zu den bestimmenden Morbiditäts- und Mortalitätsursachen gehören und einen enormen Kostenaufwand erzeugen. Die direkten und indirekten Behandlungskosten von Osteoporose belaufen sich allein in Deutschland auf über 5 Milliarden Euro jährlich und haben auf Grund des demografischen Wandels eine steigende Tendenz (Häussler et al., 2007, S. 80). Europaweit werden die direkten Osteoporosekosten aktuell auf 31,7 Milliarden Euro geschätzt und sich laut aktuellen Trends im Jahr 2050 auf voraussichtlich 76,7 Milliarden Euro belaufen (Kanis, Johnell, 2005, S. 229). Die Weltgesundheitsorganisation hat die Osteoporose vor einigen Jahren in die Gruppe der zehn sozioökonomisch bedeutendsten Erkrankungen gereiht (Peters, 2009, S. 468).

Eine retrospektive Analyse einer deutschen gesetzlichen Krankenkasse ermittelt für den Zeitraum 2006 bis 2009 das Ausmaß dieser Krankheit, bestimmt die Osteoporose-Prävalenz und Inzidenz von 1,7 Mio. Versicherten und rechnet diese auf Deutschland hoch. Da Knochendichtewerte oder Röntgenuntersuchungen der Patienten nicht verfügbar sind, kann die Osteoporose Prävalenz nicht nach WHO-Definition bestimmt werden. Stattdessen werden die Versicherten mit Osteoporose ab dem 50. Lebensjahr durch ärztliche Osteoporose-Diagnosen, osteoporosebedingte Frakturen und ambulante Arzneimittelverordnungen (laut DVO-Richtlinie) identifiziert.

Die ermittelte Osteoporose-Prävalenz liegt für das Jahr 2009 bei 14 % bei über 50-jährigen Versicherten, mit einer höheren Prävalenz bei Frauen (24%) als bei Männern (6%), wie in Abbildung 5 zu sehen ist. Hochgerechnet auf Deutschland sind 6,3 Mio. Menschen über 50 Jahren im Jahr 2009 betroffen, davon sind 5,2 Mio. weiblich und 1,1 Mio. männlich. Das bedeutet, dass statistisch gesehen jede vierte Frau und jeder 17. Mann über 50 Jahren an Osteoporose erkrankt ist.

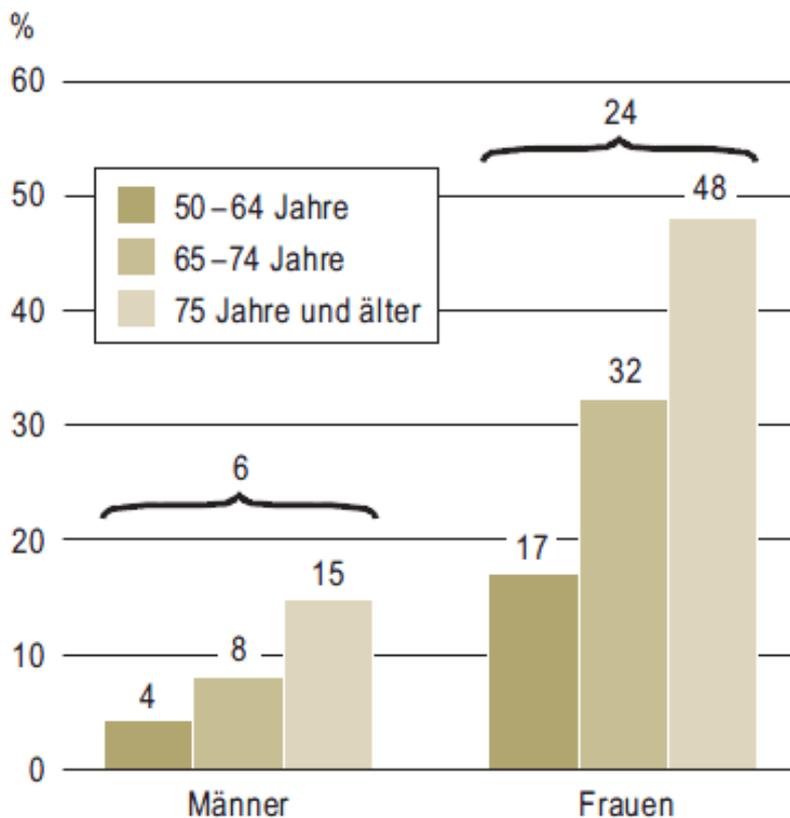


Abbildung 5: Prävalenz der Osteoporose innerhalb eines Jahres in % nach Alter und Geschlecht
 Quelle: Hadji et al., 2013, S. 54

Insgesamt haben 104 528 Versicherte in dem Jahr ein Osteoporose-Index-Ereignis, d.h. eine erste Arzneimittelverordnung oder Osteoporoseverordnung. Dies ergibt eine Inzidenz von 2,1% jährlich. Unter Frauen sind 3,6% betroffen und unter Männern 0,9% jährlich. Bei den 50- bis 54-Jährigen kommt es bei 2,1% der Frauen und 0,4% der Männer zu einer Osteoporose-Neuerkrankung. Bei den über 74-Jährigen sind es 5,8% der Frauen und 2,3% der Männer. Hochgerechnet auf die deutsche Bevölkerung, ergibt das geschätzte 885 000 Neuerkrankungen pro Jahr, zu der eine Dunkelziffer von unbehandelten und nicht diagnostizierten Fällen addiert werden muss. Die Frakturrate unter den identifizierten Osteoporose-

Patienten liegt innerhalb des Beobachtungszeitraums bei 52% (Frauen: 45%, Männer: 67%) und steigt mit zunehmenden Alter (Hadji et al., 2013, S. 52ff.).

Bisher ist es Forschern nicht gelungen eine globale Osteoporoseprävalenz und -inzidenz präzise zu bestimmen, da sich Osteoporose Definitionen und Diagnosen noch zu sehr voneinander unterscheiden. Cyrus Cooper, Professor der Rheumatologie und Leiter des Epidemiology Resource Centre an der Southampton Medical School schätzt die Osteoporoseprävalenz weltweit auf mehr als 200 Mio. Menschen, davon leben 44 Mio. in den Vereinigten Staaten (Cooper, 1999, S. 3). Im Jahr 2000 soll es weltweit zu 9 Mio. osteoporotischen Frakturen gekommen sein, darunter sollen 1,6 Mio. Hüftfrakturen, 1,7 Mio. Unterarmfrakturen und 1,4 Mio. Wirbelkörperfrakturen betreffen (Cooper et al. 2011, S. 1277). Die weltweit höchste Hüftfrakturrate weisen hellhäutige Europäerinnen (Kaukasierinnen) auf, gefolgt von mediterranen Europäerinnen und Asiatinnen, zuletzt sind Afrikanerinnen betroffen (WHO, 2013). Faktoren die Afro-Amerikaner vor Frakturen schützen könnten, sind ihre höhere Peak-Bone-Mass, mehr Muskelmasse, weniger Knochenumbau-einheiten und eine vorteilhafte Geometrie des Femur (Aloia, 2008, S. 5455).

4.3 Diagnostisches Verfahren

Anamnese und klinischer Befund

Die Anamnese bietet bereits wichtige Anhaltspunkte für die Ursache einer Osteoporose, die dem Arzt Auskunft über die genetische Disposition, die Exposition von Risikofaktoren geben. Um eine sekundäre Osteoporose auszuschließen, sind spezielle Grunderkrankungen und medikamentöse Behandlungen zu erfragen, die das osteoporotischen Frakturrisiko erhöhen. Ergänzend sind Sturz- und Frakturanamnese durchzuführen und die Lokalisation und Intensität der frakturbedingte Schmerzen zu erfassen. Zur Unterstützung dieser Erhebungen hat der DVO einen Patientenfragebogen entwickelt. Dieser ist vor der Erstkonsultation, in Vorbereitung auf das Anamnesegespräch, auszufüllen, was dem Patienten mehr Zeit zur Beantwortung lässt (Anlage A). Zur Vervollständigung dieser Daten sind die Ausgangsparameter Größe, Gewicht und Armspannweite (entspricht im Normalfall der tatsächlichen Körpergröße) zu vermessen. Abschließend sind Untersuchungen zur Beurteilung der Muskelkraft und Koordination durchzuführen. Der „Timed-up and go“ oder

„Chair rising“ Test in Kombination mit dem Tandemstand-Test (Anlage B) sind einfache Nachweise funktioneller Einschränkungen (DVO, 2009, S. 313).

Osteodensitometrie

Mit einer Knochendichtemessung lassen sich Aussagen über die Knochendichte und Knochenfestigkeit machen. Mögliche Frakturrisiken können dadurch gut abgeschätzt werden. Das empfohlene Standardverfahren ist die Osteodensitometrie mittels Dual-X-Ray-Absorptiometrie (DXA) an Lendenwirbel- und Hüftknochen. Dabei wird der Knochen mit zwei Energiestrahlen unterschiedlicher Intensität beleuchtet und die Knochenmineraldichte aus der Menge an transmittierter Strahlung, nach Abzug des weichteilbedingten Absorptionsanteils (Muskel- und Fettgewebe), errechnet (Bartl, 2004, S. 46). An der Lendenwirbelsäule wird der mittlere T-Wert von mindestens zwei Wirbelknochen von L1 bis L4 ermittelt (Abbildung 1) und am proximalen Femur sind die T-Werte der gesamten Femurregion (Total Hip) und die des Schenkelhalses geeignet (Abbildung 2). Wesentlich für die Interpretation der Werte ist, dass das DXA Verfahren in Wirklichkeit nicht die „Knochenmineraldichte“ darlegt, sondern die Dichte/ Fläche in g/cm^2 , die äquivalent zur Knochenmasse ist. Nachteil dieser Methode sind hohe Fehlerquoten von bis zu 50 Prozent, bedingt durch Körpergröße, Weichteilschichten, Gefäßverkalkungen und degenerativen Wirbelsäulenverformungen. Ein weiterer entscheidender Nachteil ist die mindere Reproduzierbarkeit, da sich Patienten bei einer wiederholten Messung nur schwer in die identische Position begeben können. Gewiss hat die DXA-Methode auch Vorteile, sie hat eine geringe Strahlenbelastung ($10 \mu\text{Sv}$), ist weit verbreitet, schnell durchführbar und preiswert (Runge, 2008, S. 169). In den neuen DVO- Leitlinien wird betont, dass die DXA Messung nur innerhalb einer Gesamtdiagnostik interpretiert werden kann (DVO, 2009, S. 314).

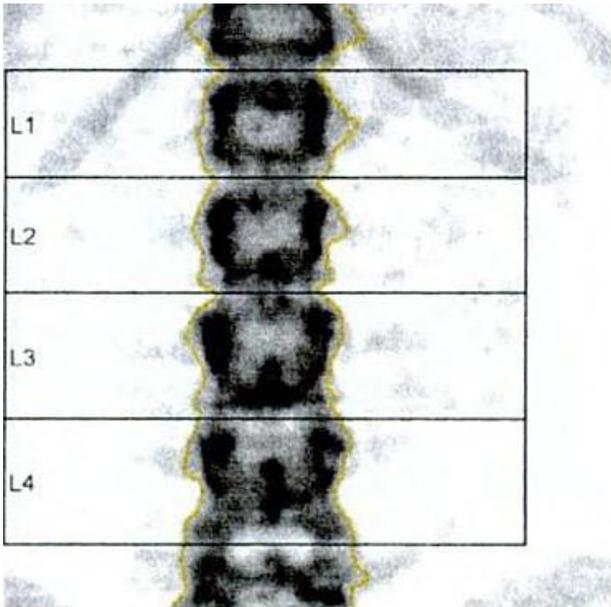


Abbildung 6: DXA-Messung der Lendenwirbelsäule (L1-L4)
Quelle: Bartl, 2004, S. 48

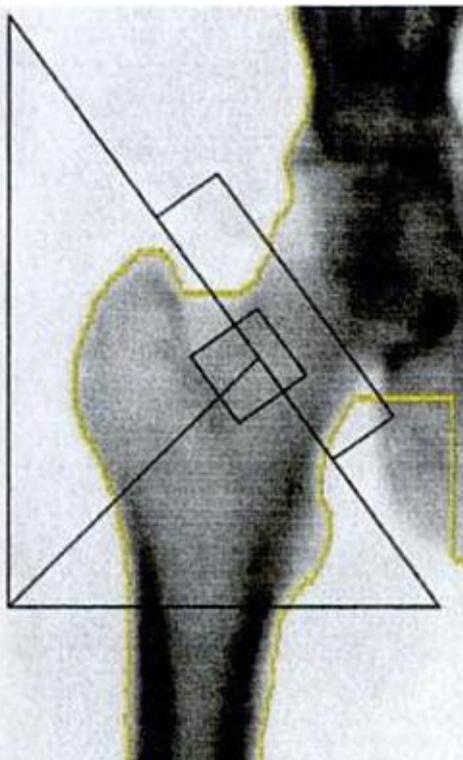


Abbildung 7: DXA-Messung der rechten Hüfte (Total Hip)
Quelle: Bartl, 2004, S. 49

Alternativ zum DXA Verfahren kommt eine quantitative Computertomographie (QCT) in Frage, die korrekte Daten zur Masse/Volumen in g/cm^3 liefert. Die DVO-Leitlinien empfehlen das Verfahren nur wenn die DXA-Messungen an beiden Hüften und der Lendenwirbelsäule nicht verwertbar sind (DVO, 2009, S. 314). Die Ergebnisse der QCT werden auch in T-Werten angegeben, die allerdings nicht auf die T-Werte der DXA-Messung übertragbar sind. Ein Nachteil dieser Methode ist die hohe Strahlenbelastung und die Lokalisation des Messfeldes im mittleren Wirbelbereich, in dem die Trabekelstruktur für gewöhnlich geringer ausgeprägt ist (Runge, 2008, S. 170).

Die periphere quantitative Computertomographie (pQCT) ist das kompakte und preisgünstige Pendant zur QCT. Die Messwerte werden in der Regel an Unterarm (Radius) und Unterschenkel (Tibia) ermittelt. Das computertomografische Verfahren kann präzise Daten der peripheren Knochendichte bestimmen, die kortikalen und spongiösen Knochenanteile ermitteln und den Knochenquerschnitt im Verhältnis zum Muskelquerschnitt erfassen. Aus diesen Kenngrößen können weitere Parameter zur Knochenfestigkeit und Biegefestigkeit berechnet werden, wie beispielsweise der SSI (Pang, Lau, 2012, S.2126). Vorteile dieses Verfahrens sind eine minimale Strahlenbelastung und exakte Reproduzierbarkeit. Außerdem kann eine Aussage darüber getroffen werden ob der Knochenabbau auf den Muskelabbau zurückzuführen ist. Runge empfiehlt die DXA Messungen an Hüfte und Lendenwirbelsäule mit pQCT Messungen an Unterarm und Unterschenkel zu kombinieren, weil bei gleichzeitiger Anwendung beider Methoden die Aussagen zum Knochenstatus an Prägnanz gewinnen (Runge, 2008, S. 170).

Ein weiteres Verfahren, das seit Mitte der achtziger Jahre an Bedeutung gewonnen hat, ist die quantitative Ultrasonometrie (QUS) des Knochens (Blake et al., 1997, S. 177). Bei dieser Methode werden Ultraschallwellen statt Röntgenstrahlen eingesetzt und die Parameter Schallgeschwindigkeit (SOS) und Breitbandultraschallabschwächung (BUA) bestimmt. Mittels einer Formel ($0.67 \times \text{BUA} + 0.28 \times \text{SOS}$) wird aus diesen Werten die Elastizität (Stiffness-Index) berechnet. Das Messgerät bestimmt die Parameter Amplituden-abhängige Schallgeschwindigkeit (AD-SOS) sowie die Knochentransmissionszeit, ausgedrückt in BTT (Atteritano et al., 2009, S. 1947). Die besten Geräte messen am Fersenbein (Calcaneus) und am Fingerknochen (Phalanges) und benutzen Wasser einer konstanten Temperatur oder Gel als Kopplungsmechanismus zwischen Knochen und Ultraschall (Wüster et al, 2000, S. 1604). Vorteile dieses Verfahrens sind neben der röntgenstrahlenfreien Messung die gute Präzision und Schnelligkeit. Außerdem ist die Akzeptanz in der

Bevölkerung mit positiv zu bewerten. Das Gerät ist leicht und mobil und ermöglicht den Einsatz im ambulanten Bereich, bei geringen Anschaffungskosten. QUS bestimmt im Gegensatz zu DXA nicht nur die Knochendichte, sondern berechnet ergänzend die Struktur und Elastizität des Knochens (Zhao et al., 1999, S.515ff.). Als nachteilig kann die fehlende Standardisierbarkeit und die bisher fehlenden internationalen Erfahrungen gewertet werden (Windhager, 2006, S. 19). Die Diagnose einer Osteoporose wird derzeit nicht mittels QUS gestellt, obwohl seine Nutzung die Beurteilung eines Frakturrisikos postmenopausaler Frauen unterstützt (Kanis, 2002, S. 1930).

Laborbefunde

Der Knochenstoffwechsel ist keine statische Größe, er unterliegt einem ständigen An- und Abbauprozess. Spezifische biochemische Serum- und Urinmarker sind, nicht-invasive, vergleichsweise preiswerte und bei richtiger Anwendung auch hilfreiche Werkzeuge zur Bestimmung des dynamischen Knochenstoffwechsels (Rizzoli, Bonjour, 1999, S. 247ff.). Die bekannten Knochenmarker können enzymatische und nicht-enzymatische Peptide, aus zellulären und nicht-zellulären Kompartimenten sein. Die häufigsten Marker der Knochenresorption basieren auf Abbauprodukten des Kollagen Typ 1 (z.B. Telopeptide, Hydroxyprolin), nicht-kollagenen Matrixproteinen (z.B. BSP) und spezifischen Enzymen in Osteoklasten (z.B. TRAP). Im Gegensatz dazu sind die Indizes der Knochenformation Nebenprodukte der Kollagen-Neusynthese (Propeptide des Kollagen Typ 1) oder mit Osteoblasten in Verbindung stehende Proteine, wie Osteocalcin und alkalische Phosphatase (Seibel, 2006, S. 97). Diese Unterscheidungen sind jedoch nicht so klar, wie es zunächst erscheint. Teilweise reflektieren einige dieser Indikatoren sowohl Knochenformation als auch Knochenresorption, dazu zählen Osteocalcin-Fragmente (ucOC) und Hydroxyprolin (Hyp). Ferner kommen die, als Knochenmarker geltenden, Moleküle auch in anderen Geweben als im Knochen vor und beeinflussen Blut- und Urinwerte. Deswegen sollten die laborchemische Untersuchungen im Rahmen einer Osteoporosedagnostik nicht als alleiniges Diagnosemittel eingesetzt werden, sondern nur im Zusammenhang mit der Anamnese, dem klinischen Befund und der Knochendichtemessung interpretiert werden (Balli, 2000, S.10). Die nachfolgende Tabelle 2 gibt einen Überblick über die Knochenformationsmarker und Tabelle 3 über die Knochenresorptionsmarker, die für klinische Zwecke unterschieden werden.

Knochenformationsmarker	Gewebeherkunft	Untersuchungsmaterial	Bemerkung
knochenspezifische alkaline Phosphatase (BAP)	Knochen	Serum	spezifisches Osteoblastenprodukt. Tests zeigen eine 20% Kreuzreaktivität mit Leber Isoenzymen
Osteocalcin (OC)	Thrombozyten, Knochen	Serum	spezifisches Osteoblastenprodukt. Viele immunreaktive Formen im Blut, wovon einige vom Knochenabbau abzuleiten sind
C-terminales Typ 1 Prokollagen Propeptid (PICP)	Knochen, Haut, Bindegewebe	Serum	Produkt proliferierender Osteoblasten- und Fibroblasten
N-terminales Typ 1 Prokollagen Propeptid (PINP)	Knochen, Haut, Bindegewebe	Serum	Produkt proliferierender Osteoblasten und Fibroblasten. Teilweise in der extrazellulären Knochenmatrix eingebaut

Tabelle 2: Laborchemische Knochenformationsmarker

Quelle: eigene Darstellung nach Seibel, 2006

Knochenresorptionsmarker	Gewebeherkunft	Untersuchungsmaterial	Bemerkung
Hydroxyprolin (Hyp)	Urin	Knochen, Knorpel, Bindegewebe, Haut	Freigesetzt aus reifem und neusynthetisiertem Kollagen, C1q und Elastin
Hydoxylysinglykoxide	Urin, Serum	Knochen, Bindegewebe, Haut, Blut	Freigesetzt aus Kollagenen, Glycosylgalactosylhydroxylysin in hohem Gehalt in Bindegewebe und C1q. Galakotsylhydroxylysin in hohem Gehalt in Knochenkollagen
Pyridinolin (PYD)	Urin, Serum	Knochen, Knorpel, Sehnen, Blutgefäße	Kollagen überwiegend aus Knochen und Knorpel, nicht aus der Haut, nur in reifen Kollagenfasern enthalten
Deoxypyridinolin (DPD)	Urin, Serum	Knochen, Dentin	In höchster Konzentration im Knochengewebe enthalten, nicht in Knorpel und Haut vorliegend, nur in reifen Kollagenfasern
C-terminales Telozeptid (Ctx)	Urin, Serum	Knochen, Dentin, Zähne, Knorpel, Sehnen, Bänder	Wahrscheinlich überwiegend aus Typ1 Knochen-Kollagen Kann aus neusynthetisiertem Kollagen freigesetzt werden.

N-terminales Telozeptid (Ntx)	Urin, Serum	Knochen, Haut, Dentin, Knorpel, Sehnen, Bänder	Wahrscheinlich überwiegend aus Typ1 Knochen-Kollagen
Knochensialoprotein (BSP)	Serum	Knochen, Dentin, kalzifizierender Knorpel	Eigentlich ein Osteoblastenprodukt, das sich in der extrazellulären Knochenmatrix ablagert Korreliert mit der Osteoklastenfunktion
Osteocalcin-Fragmente (ucOC, U-mid-OC, U-Long-OC)	Urin	Knochen	Modifizierte OC-Fragmente, die bei der Knochenresorption freigesetzt werden
Tatrat-resistente-saure Phosphatase (TRAcP)	Plasma, Serum	Knochen, Blut	Im humanen Gewebe vorkommendes Isoenzym, predominant in Knochen (Osteoklasten)
Cathepsin (K und L)	Plasma, Serum	K: in Osteoklasten L: in Makrophagen und Osteoklasten	Spielt eine Rolle beim Osteoklasten-bedingten Knochenabbau, durch spalten der Kollagenheilx und der Telozeptide

Tabelle 3: Laborchemische Knochenresorptionsmarker

Quelle: eigene Darstellung, nach Seibel, 2006

5 Phytoöstrogene und die postmenopausalen Osteoporose

5.1 Darstellung der Phytoöstrogene

Phytoöstrogene können drei Strukturklassen zugeordnet werden Isoflavonen, Coumestanen und Lignanen. Sie besitzen eine strukturelle Ähnlichkeit zu natürlichen und synthetischen Östrogenen und Antiöstrogenen (siehe Abbildung 8), was auch zur Namensgebung geführt hat (Kurzer, Xu, 1997, S. 354). Diese Strukturanalogie ermöglicht den sekundären Pflanzenstoffen eine Interaktion mit den Östrogenrezeptoren, wodurch die physiologische Wirkung des endogenen Östrogens nachgeahmt wird. Phytoöstrogene binden vorzugsweise an β -Östrogenrezeptoren, die hauptsächlich im Knochengewebe, im Herzkreislaufsystem und im Dickdarm zu finden sind (Matthai et al., 2003, S. 1182). Trotz dieser Bindungsaffinität ist die Wirkung von Phytoöstrogenen, verglichen mit 17β -Estradiol, 100 bis 10.000 fach geringer, kann aber auch in einer 100 bis 10.000 fach höheren Konzentration vorliegen. (Kulling, Watzl, 2003, S. 234).

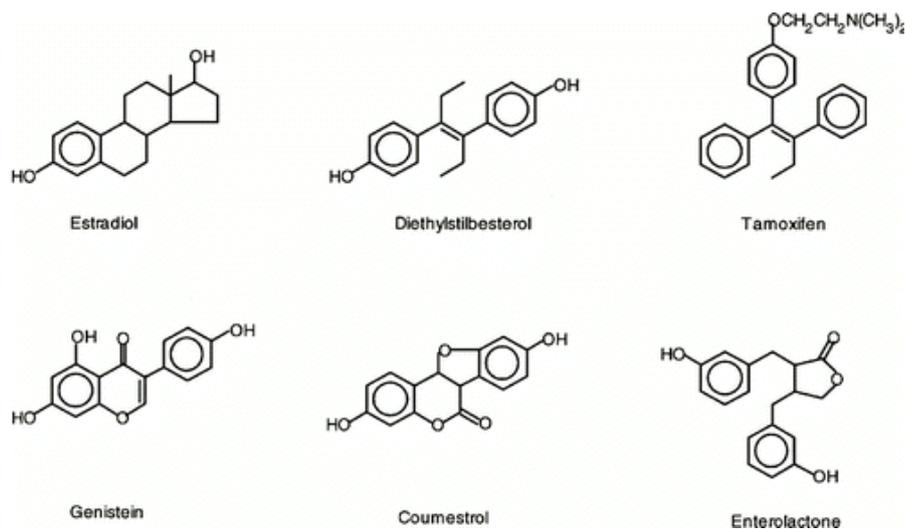


Abbildung 8: Strukturformeln der Phytoöstrogene Genistein (Isoflavon), Coumestrol (Coumestan) und Enterolacton (Ligan) im Vergleich zu Estradiol (natürliches Östrogen), Diethylstilbesterol (synthetisches Östrogen) und Tamoxifen (synthetisches Antiöstrogen).

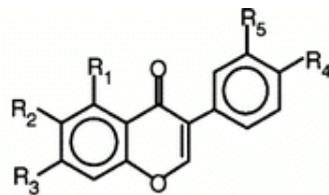
Quelle: Kurzer, Xu, 1997, S. 354

In den frühen 1930er Jahren wurde die strukturelle Ähnlichkeit zum ersten Mal entdeckt. Die biologische Aktivität blieb zunächst ungeklärt. Bis eine Beobachtung an weiblichen Schafen gemacht wurde, die bis dato von einer unerklärlichen Unfruchtbarkeit geplagt waren. Experten konnten nach ausführlichen Untersuchungen die Ursache erklären: die Schafe haben sich über Monate ausschließlich von *Trifolium subterraneum*, einer Pflanzenart aus der Gattung Klee, ernährt. Die Verbindungen Equol (ein Stoffwechselprodukt aus Daidzein) und Coumestrol im Klee, waren für die Reproduktionsschwierigkeiten verantwortlich (Barrett, 1996, S. 479).

Die wichtigste Nahrungsquelle für Phytoöstrogene ist die Sojabohne und daraus hergestellte Produkte (Sojamilch, Tofu, Tempeh), sie liefert die Isoflavone Genistein, Daidzein und Glycitein bzw. deren Glykoside Genistin, Daidzin und Glycitin (Kudou et al., 1991, S. 2227). In Abbildung 9 sind die Soja-Isoflavone sowie Formononetin und Biochanin A, in Klee enthaltene Methylether von Daidzein und Genistein (Bradbury, White, 1954, S.207ff.), dargestellt.

Unverarbeitet enthält die Sojabohne ungefähr 1,2-4,2 mg Isoflavone/ g Trockengewicht (Wang, Murphy, 1994, S. 1673). Die exakte Konzentration hängt von vielen Faktoren ab, wie Klima, Boden, Reifungsgrad und Verarbeitungsgrad. Generell gilt, je höher der Verarbeitungsgrad ist, desto weniger Isoflavone sind erhalten geblieben. Geringe Isoflavon-

Mengen sind auch in Kichererbsen und anderen Hülsenfrüchten, sowie in Rotklee und Alphasprossen enthalten (Price, Fenwick, 1985, S. 96). Auffällig ist die Differenz bei der täglichen Isoflavon-Zufuhr zwischen der westlichen und der östlichen Bevölkerung. Die durchschnittliche Aufnahme von Asiatinnen liegt bei 25-40 mg/ Tag, wobei die Aufnahme amerikanischer postmenopausaler Frauen bei weniger als 1 mg/ Tag liegt (Duncan et al, 2003, S. 260). Auf dieser Gegebenheit basiert die Hypothese, die geringe Inzidenz menopausaler Symptome bei asiatischen Frauen gehe aus ihrem hohen Sojakonsum hervor (Morton et al., 1997, S. 321).



Isoflavone	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
Daidzein	H	H	OH	OH	H
Genistein	OH	H	OH	OH	H
Glycitein	H	OCH ₃	OH	OH	H
Daidzin	H	H	O-glucoside	OH	H
Genistin	OH	H	O-glucoside	OH	H
Glycitin	H	OCH ₃	O-glucoside	OH	H
Formononetin	H	H	OH	OCH ₃	H
Biochanin A	OH	H	OH	OCH ₃	H

Abbildung 9: Chemische Strukturen der Isoflavone Genistein (Isoflavon), Coumestrol (Coumestan) und Enterolacton (Ligan) im Vergleich zu Estradiol (natürliches Östrogen), Diethylstilbestrol (synthetisches Östrogen) und Tamoxifen (synthetisches Antiöstrogen).

Quelle: Kurzer, Xu, 1997, S. 355

Lignane sind in pflanzlichen Lebensmitteln weit verbreitet, Vollkorn und Ölsaaten stellen die Hauptquellen dar. Die mit Abstand höchste Konzentration befindet sich in Leinsamen, bei einer Konzentration von 0,96-3,15 mmol Lignane/ g Trockengewicht. Die durch-

schnittliche Zufuhr an Lignan, postmenopausaler Amerikanerinnen, kaukasischer Abstammung, liegt bei 578 µg/ Tag (de Kleijn et al, 2001, S. 1826).

Coumestan kommen nur in wenigen pflanzlichen Nahrungsmitteln vor. Es ist in kleinen Mengen in Soja, Mungobohnen, weißen Bohnen, Leinsamen und in Kohl enthalten (Thomson et al, 2006, S. 190). Kleesprossen und Luzerne stellen die wichtigste Coumestan-Quelle dar, mit einem Gehalt von 5,6 mg und 0,7 mg/ g Trockengewicht (Franke et al., 1995, S. 18ff.).

5.2 PubMed-Datenbankanalyse

Zur Beantwortung der wissenschaftlichen Fragestellung und zur Erarbeitung des aktuellen Forschungsstandes im Themenfeld der Phytoöstrogene und deren Einwirkung auf die postmenopausale Osteoporose, ist eine systematische Literaturrecherche unerlässlich. Bei einer Vielzahl wissenschaftlicher Recherche-Datenbanken fiel die Wahl auf PubMed.

PubMed ist eine englischsprachige, textbasierte Datenbank mit medizinischen Artikeln, die vom nationalen Zentrum für biotechnologische Informationen (National Center of Biotechnology Information, NCBI) an der nationalen medizinischen Bibliothek (National Library of Medicine, NLM) der USA entwickelt wurde. PubMed umfasst mehr als 22 Millionen Zitate aus der biomedizinischen Literatur und bietet kostenlosen Zugang zu der Datenbank MEDLINE, Life Sciences Zeitschriften und Online- Büchern aus mehr als 70 Ländern. Außerdem ist das System mit Verlagssymbolen ausgestattet, welche direkt zum vollständigen Zeitschriftenartikel führen (Canese, Jentsch, Myers, 2003).

Die Suche nach aktuellen Artikeln über die „Wirkung von Phytoöstrogenen auf die postmenopausale Osteoporose“ erfolgt in mehreren Schritten. Nach starten des Webbrowsers und eingeben folgende Internetadresse www.pubmed.gov, wird auf „Sign in to NCBI“ geklickt um sich zu registrieren. Als Nächstes werden in die Suchzeile englische Schlagwörter eingegeben, ohne Trennung durch Satzzeichen. In diesem Fall wird „postmenopausal osteoporosis phytoestrogen“ in die Suchzeile eingegeben und mit „Search“ gestartet. Mit diesen Schlagwörtern werden 226 chronologisch sortierte Aufsätze aufgezeigt, die sich durch das Setzen von Filtern verfeinert lassen. Wie in Abbildung 10 stehen zehn Filteroptionen zur Verfügung.

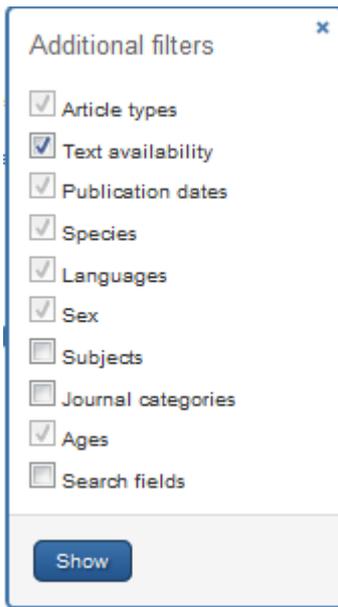


Abbildung 10: Erweiterte Filteroptionen bei PubMed

Quelle: PubMed, 2013

Um ein hochwertiges Suchergebnis zu bekommen, wird nach „Clinical Trial“ „Randomized Controlled Trail“ und „Review“ gesucht. Der Forschungsstand sollte aktuell sein, darum wird die „Publication date“ auf 5 Jahre beschränkt (30.08.2008-01.09.2013). Für die vorliegende Arbeit sind die Forschungsergebnisse an Frauen mittleren Alters von Bedeutung, deswegen wird unter „Species“ nach „Humans“, unter „Sex“ nach „Female“ und unter „Age“ nach „Middle Aged: 45+ years“ gefiltert. Die Artikel sollen außerdem in englischer Sprache vorliegen. Diese Kriterien erfüllen nur noch 10 Artikel.

Zur weiteren Selektion passender Artikel werden die bereits erfassten Publikationen auf ihre MeSH (Medical Subject Headings) Terms untersucht. Hierbei handelt es sich um ein normiertes Schlagwortvokabular, welches die Inhalte der Aufsätze näher beschreibt. MeSH Terms die mit dem Schriftzeichen Asterisk (*) versehen sind, kennzeichnen die Hauptaspekte des Artikels (MeSH-Major Topic). Um in die MeSH Terms einzusehen, sollte das Anzeigeformat unter „Display Settings“, auf „Abstract“ geändert und mit „Apply“ bestätigt werden. Dieses Anzeigeformat bietet die Einsicht in „Supplemental Informaions“: „Publication Types“, „MeSH Terms“ und „Substances“. Mit Hilfe von „Advanced“ können Aufsätze mit unpassenden Schlagwörtern erneut ausgesondert werden. Diese Funktion beinhaltet die „History“, die Liste bisheriger Suchanfragen und ermöglicht die Verwendung von Suchkombinationen unter Anwendung der Boole'schen Operatoren NOT, OR, AND. In diesem Fall wird die bekannte Suchanfrage mit dem Bool'schen Operator NOT und den Schlagwörtern „neoplasm“ und „hot flashes“, „pQCT“ verknüpft, es bleiben 6

adäquate Aufsätze (Abbildung 11). Unter der Funktion „See more...“ können die „Search Details“ gesichtet werden, um zu prüfen ob PubMed die Suche richtig interpretiert hat (Abbildung 12).

The screenshot shows the PubMed search results page. The search query is: `(((("osteoporosis, postmenopausal"[MeSH Terms] OR ("osteoporosis"[All Fields] AND "postmenopausal"[All Fields]) OR "postmenopausal osteoporosis"[All Fields] OR ("postmenopausal"[All Fields] AND "osteoporosis"[All Fields]))) AND ("phytoestrogens"[Pharmacological Action] OR "phytoestrogens"[MeSH Terms] OR "phytoestrogens"[All Fields] OR "phytoestrogen"[All Fields])) AND ((Clinical Trial[ptyp] OR Randomized Controlled Trial[ptyp] OR Review[ptyp]) AND "2008/09/01"[PDat] : "2013/08/30"[PDat] AND "humans"[MeSH Terms] AND English[lang] AND "female"[MeSH Terms] AND ("middle aged"[MeSH Terms] OR "aged"[MeSH Terms])) NOT ("hot flashes"[MeSH Terms] OR ("hot"[All Fields] AND "flashes"[All Fields]) OR "hot flashes"[All Fields])) NOT ("neoplasms"[MeSH Terms] OR "neoplasms"[All Fields] OR "neoplasm"[All Fields])) NOT pQCT[All Fields] AND ((Clinical Trial[ptyp] OR Randomized Controlled Trial[ptyp] OR Review[ptyp]) AND "2008/09/01"[PDat] : "2013/08/30"[PDat] AND "humans"[MeSH Terms] AND English[lang] AND "female"[MeSH Terms] AND ("middle aged"[MeSH Terms] OR "aged"[MeSH Terms]))`

Abbildung 11 Ergebnisse der PubMed-Analyse

Quelle: PubMed, 2013

The screenshot shows the search details page. It includes the following information:

- Result:** 6
- Database:** PubMed
- User query:** `(((("osteoporosis, postmenopausal"[MeSH Terms] OR ("osteoporosis"[All Fields] AND "postmenopausal"[All Fields]) OR "postmenopausal osteoporosis"[All Fields] OR ("postmenopausal"[All Fields] AND "osteoporosis"[All Fields]))) AND ("phytoestrogens"[Pharmacological Action] OR "phytoestrogens"[MeSH Terms] OR "phytoestrogens"[All Fields] OR "phytoestrogen"[All Fields])) AND ((Clinical Trial[ptyp] OR Randomized Controlled Trial[ptyp] OR Review[ptyp]) AND "2008/09/01"[PDat] : "2013/08/30"[PDat] AND "humans"[MeSH Terms] AND English[lang] AND "female"[MeSH Terms] AND ("middle aged"[MeSH Terms] OR "aged"[MeSH Terms])) NOT ("hot flashes"[MeSH Terms] OR ("hot"[All Fields] AND "flashes"[All Fields]) OR "hot flashes"[All Fields])) NOT ("neoplasms"[MeSH Terms] OR "neoplasms"[All Fields] OR "neoplasm"[All Fields])) NOT pQCT[All Fields] AND ((Clinical Trial[ptyp] OR Randomized Controlled Trial[ptyp] OR Review[ptyp]) AND "2008/09/01"[PDat] : "2013/08/30"[PDat] AND "humans"[MeSH Terms] AND English[lang] AND "female"[MeSH Terms] AND ("middle aged"[MeSH Terms] OR "aged"[MeSH Terms]))`

Abbildung 12 Interpretation der PubMed Analyse

Quelle: PubMed, 2013

Zur Auswertung der Artikel werden die Ergebnisse übersichtlich in Tabellenform dargestellt und zur Unterscheidung mit römischen Ziffern versehen. Nach den Kriterien Gegenstand, Methode, Ergebnisse, Fazit, Evidenzklasse und Grad der Empfehlung findet ein Vergleich der Artikel statt.

Für den „gewissenhafte[n], ausdrückliche[n] und umsichtige[n] Gebrauch der aktuell besten Beweise für Entscheidungen in der medizinischen Versorgung eines individuellen Patienten“ (Sackett et al., 1996, S. 72) erfolgt die Beurteilung der Evidenzkriterien nach der Klassifikation der Agency for Healthcare Research and Quality (AHRQ). Die Validitätskriterien sind, wie in Tabelle 2 dargestellt, hierarchisch geordnet. Auf der Basis der Evidenzklassen sind die Behandlungsempfehlungen, nach Empfehlungsgraden in drei Stufen eingeteilt (A, B, C).

Grad der Empfehlung	Klassifizierung	Evidenz-Typ
A	Ia	wenigstens ein systematischer Review auf der Basis methodisch hochwertiger kontrollierter, randomisierter Studien (RCTs)
	Ib	wenigstens ein ausreichend großer, methodisch hochwertiger RCT
B	IIa	wenigstens eine hochwertige Studie ohne Randomisierung
	IIb	wenigstens eine hochwertige Studie eines anderen Typs quasi-experimenteller Studien
	III	mehr als eine methodisch hochwertige nichtexperimentelle Studie
C	IV	Meinungen und Überzeugungen von angesehenen Autoritäten (aus klinischer Erfahrung); Expertenkommissionen; beschreibende Studien

Tabelle 4 Evidenzklassifizierung nach Chochrane und Grad der Empfehlung

Quelle: Eigene Darstellung nach AHCPR, 1992

5.3 Tabellarische Darstellung der Ergebnisse

Review I

Studie	Park, C.Y., Weaver, C.M. (2012). Vitamin D interactions with soy isoflavones on bone after menopause: a review, in: Nutrients No. 4, Issue 1, pp. 1610-1621.
Gegenstand	Wirkung von Sojaisoflavonen (Genistein+Daidzein), in Kombination mit Vitamin D, auf den Knochenstoffwechsel postmenopausaler Frauen
Methode	Systematische Übersichtsarbeit (Review)
Ergebnisse	<ul style="list-style-type: none"> -Isoflavone induzieren ERβ-Transkription und Expression -Daidzein und Genistein erhöht die Osteoblastenaktivität, synthetisiert OPG, hemmt RANKL und verhindert die Osteoklastenreifung und somit die Knochenresorption -54 mg Genistein/ Tag in 24 Monaten schützt vor einem Knochenverlust an Lendewirbelsäule und Schenkelhals, 90 mg/ Tag in 6 Monaten schützen postmenopausale Frauen vor dem Knochenverlust an der Lendenwirbelsäule -150-220 mg Isoflavone (Daidzin, Glycitin, Genistin)/Tag unterdrückt die Knochenresorption in 50 Tagen -135 mg Isoflavone Glucoside (Daidzin, Glycitin, Puerarin, Formononectin, or Biochanin A) zeigen keine Wirkung - Eine zweijährige 120 mg Isoflavon/ Tag-Intervention schützt gesunde postmenopausaler Frauen nicht vor Knochenabbau an Lendenwirbelsäule, Gesamthüfte und Oberschenkelhals -Die gleiche Intervention von gleicher Dauer zeigt weder bei Taiwanerinnen noch bei Amerikanerinnen eine Wirkung -Phytoöstrogene steigern die VDR-Produktion in den Knochenzellen -Ein Tierversuch an Ratten zeigt, dass Tiere, denen Isoflavone der Augenbohne und 17β-Estradiol zugeführt wird, einen höheren BMD und Vitamin D Status aufweisen, trotz geringer Vitamin D- und Calcium-Zufuhr. - Genistein induziert die VDR-Transkription und Expression -Genistein und Daidzein wirken auf Vitamin D-aktivierende und -deaktivierende Enzyme -BMD und Vitamin D-Status steigt bei Isoflavon Intervention, trotz geringer Calcium- und Vitamin D-Aufnahme -Eine zweijährige Soja-Isoflavon Intervention reduziert den Knochenverlust an der Wirbelsäule nur bei einer 25(OH)$_2$D$_3$-Serumkonzentration unter 50 nmol/L -17β Estradiol und Vitamin D Analoga steigern die Vitalität von Osteoblasten -HRT hat bessere Wirkung auf BMD in Kombination mit Vitamin-D -54 mg Genistein/ Tag wirkt bei normaler Vitamin D Zufuhr, dafür nicht bei zu hoher Einnahme <p>Mögliche Wirkungsmechanismen als Graphik dargestellt (Anlage C)</p>

Fazit	Mit großer Wahrscheinlichkeit gibt es eine positive Wechselwirkung von Vitamin D und Phytoöstrogenen. Der genaue Mechanismus bleibt ungeklärt. Ob sich Tierversuche auf den Menschen übertragen lassen ist nicht sicher. Weitere Forschungen sind notwendig
Evidenzklasse/ Grad der Empfehlung	Diese Studie entspricht der Evidenzklasse Ia und dem Empfehlungsgrad A

Tabelle 5: Auswertung des Review I

Quelle: eigene Darstellung

Studie I

Studie	Lappe, J., Kunz, I., Bendik, I., Prudence, K., Weber, P., Recker, R., Heaney, R.P. (2013). Effect of a combination of genistein, polyunsaturated fatty acids and vitamins D3 and K1 on bone mineral density in postmenopausal women: a randomized, placebo-controlled, double-blind pilot study, in: European Journal of Nutrition, Vol. 52, Issue 1, pp. 203-215.
Gegenstand	Einfluss von synthetischem Genistein, in Kombination mit mehrfach ungesättigten Fettsäuren und den Vitaminen K ₁ und D ₃ die Knochendichte postmenopausaler Frauen
Methode	Doppelblinde, randomisierte, Placebo- kontrollierte Pilotstudie 70 gesunde postmenopausale Frauen im Alter von 45 bis 55 Jahren (T-Score >-2,5) erhalten über 6 Monate ein Calciumpräparat (500 mg/Tag) mit Placebo (n=35) oder mit „geniVida™ bone blend (GBB)“ (n=35), bestehend aus Genistein (30 mg/Tag), Vitamin D ₃ (800 IU/Tag), Vitamin K ₁ (150 µg/Tag) und Mehrfachungesättigte Fettsäuren (1 g EPA/DHA, Verhältnis = ~2/1) -Bestimmung relevanter Parametern zur Baseline (Anlage D) Zur Baseline und im dritten und im sechsten Monat Bestimmung der: -Knochendichte mit DXA an Lendenwirbelsäule und Ward´schen Dreieck -Körperfettverteilung, BMI, drei Tages Ernährungs- und Bewegungsprotokoll -Knochenmarker: BAP, Ntx, OC, ucOC, DPD, OPG, RANKL -Blutserumkonzentration von: Genistein, Phyllochinon, 25(OH)D, EPA, DHA
Ergebnisse	Compliance: < 80% (Anlage E) Interventionsgruppe (n=30) hat gleichbleibende BMD im Oberschenkelhals, während sich die BMD der Placebo-Gruppe (n=28) signifikant verringert (p=0,007), signifikanter Anstieg der BMD an Lendenwirbelsäule (p<0,05) und an Ward´schen Dreieck (p < 0,05) zugunsten der Interventionsgruppe (Anlage F), signifikanter Konzentrationsanstieg von BAP (p=0,054) und Ntx (p=0,024) bei Verumgruppe, sonst keine Veränderungen der Knochenmarker (Anlage G), signifikante Steigung von Genistein, EPA

	(p=0,003), DHA (p<0,05) im Blutserum bei Fallgruppe gegenüber Kontrollgruppe (Anlage G), keine signifikanten Veränderungen der Vitamin K Werte (Anlage G), 25(OH)D Konzentration (p= 0,009) steigt im Verhältnis zu Placebo (Anlage H), PTH Konzentration (p=0,015) sinkt signifikant (Anlage H; Anlage I), Estradiol-Wert steigt in sechs Monaten im Verhältnis zur Baseline signifikant an (p=0,04), keine signifikanten Veränderungen des BMI, der Körperfettverteilung, des Ernährungsverhalten Nebenwirkungen (NW): kein signifikanter Unterschied zwischen Prüfgruppe und Placebo. Insgesamt 59 NW bei 35 Personen, 20 Personen aus Placebo-Gruppe und 15 aus GBB-Gruppe, keine schwerwiegende NW, 98% der NW haben keine Relation zu den Versuchs-Supplementen
Fazit	GBB kann zur Prävention von Osteoporose und zur Reduktion von Frakturen dienlich sein. Weitere Langzeitstudien sind erforderlich
Evidenzklasse/ Grad der Empfehlung	Diese Studie entspricht der Evidenzklasse Ib und dem Empfehlungsgrad A

Tabelle 6: Auswertung der Studie I

Quelle: Eigene Darstellung

Studie II

Studie	Tai, T.Y., Tsai, K.S., Tu, S.T., Wu, J.S., Chang, C.I., Chen, C.L., Shaw, N.S., Peng, H.Y., Wang, S.Y., Wu, C.H. (2012). The effect of soy isoflavone on bone mineral density in postmenopausal Taiwanese women with bone loss: a 2-year randomized double-blind placebo-controlled study, in: Osteoporosis Int., Vol. 23, Issue 5, pp. 1571-1580.
Gegenstand	Wirkung von Soja Isoflavonen auf den Knochenstoffwechsel postmenopausaler, taiwanesischer Frauen.
Methode	Doppelblinde, randomisierte, Placebo-kontrollierte, klinische Studie 431 gesunden postmenopausalen taiwanesischen Frauen, im Alter von 45 bis 65 Jahren (T-Score <-1), erhalten 2 Jahre lang täglich 300 mg Isoflavon (Aglycone ohne Soja Protein) aus 172,5 mg Genistein und 127,5 mg Daidzein (n=217) oder Placebo (n=214) Alle Teilnehmerinnen nehmen täglich 600 mg Calcium und 125 IU Vitamin D ₃ ein. Zur Baseline Bestimmung demographische Charakteristika beider Gruppen (Anlage J) Parameter zur Baseline, nach 48 und 96 Wochen: -Knochenmarker (BAP, Ntx), Serum Genistein und Daidzein -24h-Recall (Ernährungsprotokoll), Bewegungsprotokoll -DXA Messungen an Lendenwirbelsäule (L2-L4) und an der rechten Hüfte (proximale Femur). Mammographien und gynäkologischen Sonographien, Pap-Abstriche und Wirbelfrakturen zur Kontrolle. NW Befragung im 3-Monats Takt, nach Kodierungssystem klassifiziert

Ergebnisse	<p>Compliance: 88% (Anlage K)</p> <p>keine signifikanten Unterschiede der demographischen Charakteristika, zwischen den Gruppen (Anlage J), signifikant erhöhte Serum-Isoflavon Konzentration ($p < 0,001$) bei Prüfgruppe im Verhältnis zu Placebo (Anlage L), keine signifikanten Veränderungen der BMD zwischen den Gruppen, höchst signifikanter BMD-Verlust zwischen Baseline und 96 Wochen ($p < 0,001$) bei beiden Gruppen (Anlage M), keine statistisch signifikanten Veränderungen an den Knochenmarkern (Anlage N), keine signifikanten Unterschiede im Ernährungsprotokoll und Bewegungsprotokoll, innerhalb und zwischen den Gruppen, keine signifikant erhöhte Frakturrate bei Prüfgruppe (15 Fälle, davon eine Hüftfraktur) im Vergleich zur Kontrollgruppe (9 Fälle)</p> <p>NW: 1 Fall von Juckreiz bei Isoflavon-Gruppe, schwerwiegende NW nur ohne Bezug zu Isoflavone: Placebo-Gruppe weist 6 Fälle auf (Herzinfarkt, Hirnblutung, transitorische Ischämische Attacke, eine Kopfverletzung, zwei Fälle von Darmkrebs), Isoflavon-Gruppe 2 Fälle (Blutdruck-regulierende Maßnahme, Brustkrebs-OP)</p>
Fazit	Die tägliche Zufuhr von 300 mg Isoflavone über 2 Jahre verhindert den postmenopausalen Knochenabbau nicht
Evidenzklasse/ Grad der Empfehlung	Diese Studie entspricht der Evidenzklasse Ib und dem Empfehlungsgrad A

Tabelle 7: Auswertung der Studie II

Quelle: Eigene Darstellung

Studie III

Studie	Weaver, C.M., Martin, B.R., Jackson, G.S., McCabe, G.P., Nolan, J.R., McCabe, L.D., Barnes, S., Reinwald, S., Boris, M.E., Peacock, M. (2009). Antiresorptive effects of phytoestrogen supplements compared with estradiol or risedronate in postmenopausal women using ^{41}Ca methodology, in: The Journal of Clinical Endocrinology, Vol. 94, Issue 10, pp. 3798-3805
Gegenstand	Antiresorptive Wirkung von Phytoöstrogen-Supplementen im Vergleich zu Estradiol und Risedronat
Methode	Randomisierte kontrollierte Crossover-Studie Elf gesunde postmenopausale Frauen bekommen das Isotop $^{41}\text{Ca}^2$ injiziert. Zur Baseline nehmen die Probandinnen 1 mg Estradiol+2,5 mg Progesteron (n=4) oder 5 mg Risedronat (n=6), zur positiven Kontrolle, Gefolgt von 4 Isoflavon-Supplement Phasen (Soja-Kotyledon, Sojakeimling, Kudzu und Rotklee) à 50 Tage (Anlage O; Anlage P). Alle Probandinnen erhalten täglich Supplemente: 500 mg Calcium und 500 IU Vitamin D_3 .

² Die ^{41}Ca Methodik ist eine neuartige Screening Technik, die schnell auf wirksame Interventionen im Knochenstoffwechsel reagiert. Bestimmt die relative Resorptionsrate (RR).

	<p>Zur Baseline dokumentieren Durchschnittsparameter den Gesundheitszustand der Probandinnen (Anlage Q).</p> <p>Zur Baseline und zum Ende jeder Intervention Bestimmung laborchemische Knochenmarker (BAP, AP, Ntx, DPD, OC), Knochen-regulierender Parameter (PTH, 25(OH)D, 1,25(OH)D) und relativer Resorptionsrate (via ⁴¹Ca)</p>
Ergebnisse	<p>Studienabbruch: Eine Probandin lehnt positive Kontrolle ab und eine weitere erkrankt an Hämochromatose.</p> <p>Die biochemischen Knochenmarker blieben unverändert, nur Serum-AP ist während der Rotklee Intervention geringer als zur Baseline ($p < 0,04$), Knochen-Regulatoren PTH und 25(OH)D im Blutserum, Calcium und Phosphat im Harn sind unverändert, die Isoflavon Konzentration im Blutserum ist während der Supplementation höher, außer bei der Rotklee- Intervention, Genistein Konzentration ist während der Soja-Kotyledone Intervention am höchsten (Anlage R),</p> <p>Risedronat und Estradiol +Progesteron haben die höchste RR und unterdrücken die Knochenresorption um 22% und 24% im Vergleich zur Baseline ($p = 0,0001$), das wirksamste Isoflavon ist das Soja-Kotyledon mit einer anti-resorptiven Wirkung von 9% ($RR = 0,910$, $p < 0,001$), gefolgt von einer 5% Wirkung von Sojakeimlingen ($RR = 0,945$, $p < 0,05$)</p> <p>Weder Rotklee noch Kudzu Supplemente können die Knochenresorption, im Vergleich zur Baseline signifikant ($p > 0,05$) reduzieren (Anlage S; Anlage T)</p> <p>Unerwünschte Ereignisse: Blutsturz (Reaktion auf Soja), 2x gastrointestinale Beschwerden.</p>
Fazit	Genistein enthaltende Nahrungsergänzungsmittel, haben eine moderate antiresorptive Wirkung
Evidenzklasse/ Grad der Empfehlung	Diese Studie entspricht der Evidenzklasse Ib und dem Empfehlungsgrad A

Tabelle 8: Auswertung der Studie III

Quelle: eigene Darstellung

Studie IV

Studie	<p>Atteritano, M., Mazzaferro, S., Frisina, A., Cannata, M.L., Bitto, A., D'Anna, R., Squadrito, F., Macrì, I., Frisina, N., Buemi, M. (2009). Genistein effects on quantitative ultrasound parameters and bone mineral density in osteopenic postmenopausal women, in: Osteoporosis International, Vol. 20, Issue 11, pp. 1947-1954.</p>
Gegenstand	Wirkung von Genistein auf die Knochendichte osteopenischer postmenopausaler Frauen
Methode	Randomisierte kontrollierte Studie

	<p>138 gesunde, postmenopausale Frauen (49-67 Jahre), mit Osteopenie (T-Wert= -1 bis-2,5 SD) werden mit 54 mg Aglycon-Genistein (n=71) oder Placebo (n=67) behandelt, alle Teilnehmerinnen nehmen 500 mg Calciumcarbonat und 400 IU Vitamin D</p> <p>Zur Baseline sowie nach einjähriger und zweijähriger Behandlung Bestimmung von Parametern:</p> <ul style="list-style-type: none"> -DXA-Messungen zur Bestimmung der BMD am Schenkelhals und an der Lendenwirbelsäule -QUS-Messungen von SOS und BUA am Fersenbein und am mittleren Fingerknochen der nicht-dominanten Hand. Zur Bestimmung der Amplituden-abhängigen Schallgeschwindigkeit (AD-SOS; m/s), Knochentransmissionszeit (BTT; μs) und Stiffness-Index ($0.67 \times \text{BUA} + 0.28 \times \text{SOS}$) - Genistein-Serum-Level, Knochenmarker (PYD, DPD, BAP) <p>Diätverordnung: 30% der Gesamtenergie aus Fett, davon 10% aus gesättigten FS, Cholesterin: <300 mg/Tag, keine Sojaprodukte, Hülsenfrüchte und andere Supplemente</p>
Ergebnisse	<p>Zwischen den Ausgangsparametern der Probandinnen gibt es keine signifikanten Unterschiede (Anlage U)</p> <p>Genistein-Intervention im Verhältnis zur Baseline:</p> <p>Serum-Genistein-Werte steigen höchst signifikant an ($p=0,0001$), nach einem Jahr und nach zwei Jahren (Anlage V), BAP steigt nach einem Jahr (41%) und nach zwei Jahren (48%) signifikant an, PYD und DPD sinken signifikant um 9% und 12% nach einem Jahr und um 12% und 16% nach zwei Jahren. Nach einem und nach zwei Jahren steigt die BMD an Schenkelhals (2,32%; 4,54%; $p<0,001$) und Lendenwirbelsäule (2,68%; 5,25%; $p<0,001$) höchst signifikant an (Anlage W), signifikante Veränderungen am Fersenbein und Fingerknochen (Anlage X), Der Stiffness-Index steigt im ersten Jahr um 2,4% an ($p<0,001$) an und im zweiten Jahr um 5,3% an ($p<0,001$), signifikanter Anstieg der AD-SOS, im ersten Jahr um 2,4% ($p<0,001$) und im zweiten Jahr um 3,6% ($p<0,001$), BTT steigt im zweiten Jahr um 4,6 % ($p<0,001$) signifikant an (Anlage X)</p> <p>Placebo im Verhältnis zur Baseline:</p> <p>Keine Veränderung der Serum Genistein-Werte (Anlage V), BMD sinkt nach einem Jahr ($p<0,001$) und zwei Jahren ($p<0,001$) am Schenkelhals (-1,6%; 3,92%) und nach einem ($p<0,05$) und zwei Jahren ($p<0,001$) an der Lendenwirbelsäule (-2,12%; -3,74%) höchst signifikant (Anlage W), Stiffness-Index sinkt nach einem Jahr um 3% ($p<0,001$) und nach zwei Jahren um 6% ($p<0,001$) höchst signifikant, AD-SOS sinkt im ersten Jahr um 0,7% ($p<0,001$) und im zweiten Jahr um 1,2% ($p<0,001$), BTT sinkt im ersten Jahr um 3% ($p<0,001$) und im zweiten Jahr um 7% ($p<0,001$) höchst signifikant (Anlage X)</p> <p>Langzeitpräzision: BMD Lendenwirbelsäule 1,2%, BMD Hüfte 1,5%, Stiffness-Index 1,8%, AD-SOS 1,1%, BTT 0,9%</p> <p>Nebenwirkungen bei Genistein-Gruppe: sechs Frauen brechen die Studie wegen gastrointestinalen Beschwerden ab</p>

Fazit	Die Studie bestätigt, dass Genistein präventiv auf den Knochenverlust osteopenischer postmenopausaler Frauen wirkt und validiert die QUS Parameter
Evidenzklasse/ Grad der Empfehlung	Diese Studie entspricht der Evidenzklasse Ib und dem Empfehlungsgrad A

Tabelle 9: Auswertung der Studie IV

Quelle: Eigene Darstellung

Review II

Studie	Lewiecki, E.M. (2009). Phytoestrogens and their role in the management of postmenopausal osteoporosis, in: Southern Medical Journal, Vol. 112, No. 1, pp. 111-112.
Gegenstand	Die Wirkung von Phytoöstrogene auf die postmenopausalen Osteoporose
Methode	Systematische Übersichtsarbeit (Review).
Ergebnisse	<p>-54 mg/Tag Genistein die gleiche steigernde Wirkung auf BMD wie Östrogene</p> <p>-Ipraflavon, ein synthetisch hergestelltes Isoflavon-Derivat, hat keine präventive Wirkung auf Knochenverlust. Eine vierjährige RCT mit 474 postmenopausalen Frauen</p> <p>-Doppelblinde RCT von 359 postmenopausalen Frauen mit einer täglichen Dosis 54 mg Genistein oder Placebo, sowie 500 mg Calcium und 400 IU Vitamin D₃, über 24 Monate: Ergebnisse zeigen eine außergewöhnliche Steigerung des BMD an Schenkelhals und Lendenwirbelsäule bei Genistein-Gruppe, im Vergleich zu Placebo und Baseline, signifikante Senkung der Knochenresorptionsmarker PYD und DPD, signifikante Steigerung des Knochenformationsmarkers BAP</p> <p>- es herrschen noch Unklarheiten bezüglich des Mechanismus, der Dosis, des Frakturrisikos, der Langzeitwirkung, der Wechselwirkung mit anderen Medikamenten und Lebensmitteln und der Anforderungen an Qualitätskontrollen</p> <p>Genistein ist nicht auf andere Phytoöstrogene übertragbar und sagt nichts über die Wirkung kombinierter Phytoöstrogene aus</p>
Fazit	<p>Vermutlich hat Genistein eine anabolische und antiresorptive Wirkung auf den Knochen</p> <p>Die bisherigen Ergebnisse sind unzureichend, deswegen wird ein vorsichtiger Umgang mit Supplementen empfohlen.</p>
Evidenzklasse/ Grad der Empfehlung	Diese Studie entspricht der Evidenzklasse Ia und dem Empfehlungsgrad A.

Tabelle 10: Auswertung des Review II

Quelle: Eigene Darstellung

5.4 Diskussion

5.4.1 Diskussion der Ergebnisse

Review I

Park und Weaver untersuchen die Wechselwirkung von Vitamin D₃ und Phytoöstrogenen. Obwohl bei der PubMed Suche explizit nach humanen Experimenten an Frauen mittleren Alters gefiltert wird, beinhaltet dieses Review Tierversuche. Das ist ist der mangelnden Verschlagwortung der Publikation mit den MeSH Terms „Animal“, „Rat“ und „Piglet“ verschuldet. Tierversuche liefern eine gute Basis, um die Wirkungsweise und das Verhalten von Substanzen in einem biologischen in-vivo System besser abzuschätzen (Forschung für Leben, 2012). Dennoch sind Erkenntnisse an Tieren nur begrenzt auf Menschen übertragbar und müssen mit klinischen Studien belegt werden. Zur Hervorhebung werden diese im Text mit Aufzählungszeichen versehen.

Phytoöstrogene sind in der Lage sich an Östrogenrezeptoren (ER) zu binden, doch die hormonähnliche Wirkung variiert je nach Art der Phytoöstrogene. Dieses Review bündelt lediglich Ergebnisse zweier Soja-Derivate, Genistein und Daidzein. Isoflavone binden sich an beide Rezeptoren, ER α und ER β , vorzugsweise an den β -Rezeptor. Wenn ER β bei Ratten stillgelegt wird, schwindet die antiresorptive Wirkung einer Genistein-Behandlung (Li et al., 2012, S. 66ff.). ER β werden außerdem antiproliferative Wirkungen nachgesagt, die zusätzlich vor Brustkrebs schützen. Daidzein erhöht die ER β -Expression in den Knochenzellen von Minischweinen, während 17 β -Estradiol ER α umsetzt (De Wilde et al., 2004, S. 253ff.). Genistein steigert die ER β Transkription am Unterkieferknochen von Ratten (Li et al., 2012, S. 66ff.). Binden sich Phytoöstrogene an osteoblastische ER β in vitro, so wird eine OPG Produktion eingeleitet. OPG rivalisiert mit RANKL, verhindert die osteoklastische Reifung und hält die Knochenresorption auf (Simonet, 1997, S. 253ff.). Eine Studie an Minischweinen geht bei Daidzein, bezüglich der Osteoblastenreifung, der OPR und RANKL Produktion sowie der Knochenmineralisation, von einer höheren Potenz aus als bei der gleichen Dosis 17 β -Estradiol (De Wilde et al., 2004, S. 253ff.). Alle bisherigen Studien beruhen auf Tierversuchen an Minischweinen oder Ratten und auf einem in vitro-Versuch. Möglicherweise variieren die Wirkungen am Menschen. Park und Weaver ziehen eine weitere Studie an osteopenischen postmenopausalen Frauen in Betracht.

- In Folge einer Genistein-Supplementation von 1-2 Jahren steigen die OPR Werte und sinken die RANKL Werte im Blutserum (Marini et al., 2008, S. 715ff.)

Laut dieser Evidenz können Genistein und Daidzein die ER β Transkription und Bindung induzieren sowie die Osteoklastenreifung und Knochenresorption reduzieren.

Tierversuche an ovariectomierten Ratten zeigen oftmals, dass Genistein, Daidzein und Equol in der Lage sind den BMD zu erhöhen (Li et al, 2012, S. 66ff; Legette et al., 2011, S. 923ff; Mathey et al. 2007, S. 671ff.). Ein uterotrophischer Effekt von Equol wird zusätzlich beobachtet (Phrakonkham et al., 2007, S. 105ff.). Klinische Studien an osteopenischen postmenopausalen Frauen belegen die Wirkung isolierter Isoflavone:

- Genistein Supplementation von 54 mg/ Tag über 24 Monate schützt vor einem Knochenverlust der Lendenwirbelsäule und des Oberschenkelhalsknochens (Marini et al., 2007, S. 839ff.)
- Soja-Isoflavon Supplementation von 90 mg/ Tag über sechs Monate schützt vor einem Knochenverlust der Lendenwirbelsäule (Potter et al., 1998, S. 1375ff.)
- 150-220 mg Daidzin, Glycitin, Genistin-Supplement/ Tag über 50 Tage unterdrücken die Knochenresorption (Cotter, Jewell, Cashman, 2003, S. 755ff.)

Ähnlich aufgebaute Studien an postmenopausalen Frauen widerlegen:

- 135 mg Isoflavon/ Tag (Daidzin, Glycitin, Puerarin, Formononectin, Biochanin A zeigt keine positive Wirkung auf den Knochenumsatz, beurteilt durch die Harnausscheidung von ^{41}Ca , vormarkierter Probandinnen (Cotter, Cashman, 2004, S. 5ff.).
- Extrahiertes Soja-Isoflavon von 120 mg/ Tag schützt die Lendenwirbelsäule, den Oberschenkelhalsknochen und die gesamte Hüfte nicht vor einem Knochenverlust (Wong et al. 2009, S. 1433ff.).
- Weder Taiwanerinnen (Studie II) noch US-Amerikanerinnen (Levis et al., 2011, S. 1363ff.) profitierten von einer zweijährigen Isoflavon Supplementation.

Die unbeständigen Studien an Menschen können teilweise auf genetische Faktoren zurückgeführt werden, wie zum Beispiel auf die individuelle Fähigkeit Equol aus Daidzein herzustellen. Equol ist ein Daidzein-Metabolit, welcher unter dem Einfluss von Darmbakterien gebildet wird. Nagetiere sind im Vergleich zum Menschen sehr effiziente Equol-Bildner.

Lediglich 30% bis 50% der Menschen sind in der Lage Equol zu produzieren. Equol bindet sich deutlich effektiver an ER β als Genistein und Daidzein (Barnes, 2010).

Die Aussicht, dass Isoflavone und Vitamin D synergistisch auf den Calcium- und Knochenstoffwechsel wirken, wird an Tiermodellen und in vitro untersucht. In menschlichen Darmkrebszellen erhöht Genistein die VDR Transkription und Expression, wahrscheinlich über den ER und MAPK-Signalweg (Gilad, Tirosh, Schwartz, 2006, S. 387ff.). Zudem ist es möglich, dass Phytoöstrogene ebenso in vivo zur VDR Bildung in den Knochenzellen beitragen, sowie Östrogene in Osteoblasten-ähnlichen- Zellen die VDR Produktion stimulieren (Liel et al., 1992, S. 2597ff; Ishibe et al., 1995, S. 430ff.). In Darmkrebszellen wirken Genistein und Daidzein fördernd auf die CYP27B1-mRNA-Expression und hemmend auf die CYP24-mRNA-Expression, die 1,25(OH) $_2$ -D $_3$ aktivierenden und deaktivierenden Enzyme (Somjen et al., 2006, S. 139ff.)

Ratten denen Isoflavone der Augenbohne oder 17 β -Estradiol unabhängig voneinander verabreicht werden, entwickeln einen höheren BMD und Vitamin D Status, trotz Calcium- und Vitamin D- armer Kost (Chennaiah et al., 2010, S. 278ff.).

- Eine zweijährige Soja-Isoflavon Intervention reduziert den Knochenverlust an der Wirbelsäule nur bei einer 25(OH)-D $_3$ -Serumkonzentration unter 50 nmol/L (Levis et al., 2011, 1363ff.)

Obwohl eine 25(OH)-D $_3$ -Serumkonzentration von 50 nmol/L als wünschenswert für eine gute Knochengesundheit angesehen wird (Dawson-Hughes et al., 2005, S. 713ff.). Wahrscheinlich hat das Soja-Isoflavon die Produktion vom wirksamen 1,25(OH) $_2$ -D $_3$ stimuliert, trotz geringer 25(OH) $_2$ -D $_3$ Ausgangswerte. Weitere Studien sind notwendig, um diese Hypothese zu bestätigen.

Mutmaßlich leiten nicht nur die Phytoöstrogene die ER Transkription ein, sondern auch Vitamin D. Dieser Effekt wird durch Einsatz von Vitamin D Analoga an postmenopausalen Knochenzellen beobachtet (Somjen et al. 2006, S. 139ff). Vitamin D und 17 β Estradiol wirken synergistisch und steigern die Vitalität von Osteoblasten in vitro (Song, Zhang, Zhou, 2011, S. 273ff.).

- Frauen, die HRT mit geringen Mengen Vitamin D (300IU/ Tag) und Calcium (93mg/Tag) über 4 Jahre einnehmen haben einen höheren BMD als diejenigen, die nur HRT verabreicht bekommen oder Placebo (Tuppurainen et al. 1998, S. 32ff.)

Eine ähnliche Interaktion ist zwischen Vitamin D und Phytoöstrogenen möglich, bisher gibt es allerdings keine RCTs, die das bestätigen. Der genaue Mechanismus im Zusammenspiel von Vitamin D und Isoflavon ist bisweilen nicht bekannt. Es bedarf weiterer Studien in vivo und in vitro.

In Diskussion steht, ob es einen Schwellenwert gibt, der bis zu dem der synergistische Effekt von Vitamin D und Phytoöstrogenen wirkt. An ovariectomierten Ratten begünstigt 54 mg Genistein/ Tag des Knochenstatus nur bei einer adäquaten Calcium und Vitamin D Zufuhr, jedoch nicht bei höheren Dosen (Bitto et al., 2011, S. 879ff.). Diese Hypothese wird nicht durch klinische Daten belegt.

Studie I

Lappe et al. verabreichen geniVidaTM bone blend (GBB), bestehend aus 30 mg Genistein, 800 IU Vitamin D₃/ Tag, 150 µg Vitamin K₁ /Tag und 1 g Mehrfachungesättigter Fettsäuren (EPA/DHA, Verhältnis = ~2/1). Das Produkt wird ergänzt mit einer täglichen Dosis 500 mg Calcium. GBB reduziert in der Pilotstudie den Knochenabbau postmenopausaler Frauen nach sechs Monaten. In der Placebo-Gruppe sinkt während der Interventionszeit die BMD um 1,2% an der Lendenwirbelsäule und um 1,1% am Ward'schen Dreieck, während die BMD bei der GBB-Gruppe an denselben Stellen um 0,1% und 2,3% steigt (Anlage F). Besonders kleine Veränderungen sind an der Lendenwirbelsäule der GBB-Gruppe feststellbar. Die geringe Dosierung von Genistein im Vergleich zur Studie V (30 mg vs. 54 mg Genistein/ Tag), könnte ein Argument für die minimale Steigung sein. Die T-Score Ausgangswerte der Lendenwirbelsäule (SD -0,53 ±1,20) und des Ward'schen Dreieck (SD 0,52 ±0,84) definieren bei keiner der Probandinnen eine Osteopenie oder Osteoporose, was allenfalls einen geringen Anstieg begründet.

Die Parameter der Knochenmarker sind unbeständig. Während bei der Interventionsgruppe BAP und Ntx ansteigen, bleiben Veränderungen bei der Placebo-Gruppe aus (Anlage G). Auffällig ist, dass BAP nach drei Monaten positiv ist, da der Knochenformationsmarker üblicherweise nur bei intermittierenden Langzeittherapien anschlägt (Cosman et al., 2009, S. 3775). Das N-terminale Telopeptid (Ntx) ist ein Abbauprodukt des Kollagen Typ I und ein spezifischer Knochenresorptionsmarker. Nach einer sechsmonatigen GBB Intervention steigt Ntx im Blutserumspiegel der Probandinnen an. Dieses Ergebnis ist gerechtfertigt, da eine Knochenformation an die Reaktion einer Knochenresorption gekoppelt ist (Coupling).

Weitere spezifische Knochenformations- und Knochenresorptionsmarker (OC, ucOC, DPD, OPG und RANKL) bleiben unverändert. Die Steigung von BAP und Ntx ist vermutlich auf die Wirkung von Genistein zurückzuführen.

Die Aufnahme von 150 µg Vitamin K₁/ Tag hat keine messbare Wirkung auf die Pyllochin Konzentration im Blutserum. Außerdem liefern ucOC und OC negative Blutwerte, was beides gegen die Mitwirkung von Vitamin K beim BMD-Aufbau argumentiert.

Es ist bekannt, dass die Kombination aus Calcium und Vitamin D das Frakturrisiko effektiver senkt als ein Wirkstoff alleine (Bergmann et al., 2010, S. 1193). Zur Baseline sind die 25(OH)₂D₃ Plasmawerte aller Probandinnen im Normbereich und steigen wie erwartet nur bei einer GBB Verabreichung an. Trotz einer kleinen Stichprobengröße ist eine inverse Relation zwischen Plasma Vitamin D und Parathormon erkennbar und bestätigt die suppressive Wirkung von Vitamin D auf Parathormon (Anlage H). Beide Gruppen nehmen ein Calcium-Supplement von 500 mg/ Tag ein. Zusammen mit der Calciumaufnahme durch die Nahrung erreichen die Probandinnen ein Gesamt-Calcium von 1.200 mg/ Tag, die etwas über den Empfehlungen der DGE liegt. Omega-3-Fettsäuren ziehen eine Förderung des Skelettwachstums in Erwägung (Salari et al., 2008, S. 37). Die Fettsäuren DHA und EPA sind im Supplement enthalten und äußern sich nach sechs Monaten, wie erwartet, im Blutbild. Weil das Präparat GBB aus mehreren Inhaltsstoffen besteht, kann die Wirkung einzelner Komponenten nicht determiniert werden.

GBB wird sehr gut von den Probandinnen toleriert. Es entstehen keine ernstzunehmenden Nebenwirkungen. Die Östrogenwerte sind bei der Interventionsgruppe nach sechs Monaten angestiegen, bleiben aber im normalen Bereich. Das spricht für die subtile Wirkung von Genistein auf den Hormonstatus.

Die Ergebnisse der Pilotstudie deuten darauf hin, dass Genistein in Kombination mit EPA und DHA, Vitamin D₃ und Vitamin K₁ zur Prävention einer postmenopausalen Osteoporose geeignet sind und das Frakturrisiko der Hüfte senken können. Das Präparat scheint keine Nebenwirkungen mit sich zu bringen. Allerdings sollten die Resultate wegen der kleinen Stichprobengröße kritisch gesehen und nur als Trend gedeutet werden. Um die Auswirkung von GBB zu bestätigen ist eine Follow-up-Langzeitstudie mit deutlich mehr Probandinnen erforderlich.

Studie II

Tai et al. verabreichen 300 mg Isoflavon aus Daidzein und Genistein in Kombination mit 600 mg Calcium und 125 IU Vitamin D₃ (3,125 µg). Der zu beobachtende Trend, dieser randomisierten Placebo-kontrollierten Studie, ist ein signifikanter BMD-Abbau um etwa 1,5% an der Lendenwirbelsäule und etwa 1% an der Hüfte nach 24 Monaten, in beiden Gruppen. Zu keinem Zeitpunkt ist die Veränderung der BMD zwischen den Gruppen signifikant (Anlage M), obwohl die Messungen nach internationalen Richtlinien durchgeführt werden. Der durchschnittliche Blutwert des laborchemischen Knochenformationsmarkers BAP sinkt in beiden Gruppen, jedoch in der Placebogruppe etwas deutlicher. Die durchschnittliche Konzentration des Knochenresorptionsmarkers Ntx steigt in beiden Gruppen, bei der Interventionsgruppe etwas prägnanter (Anlage N). Im Gegensatz zu Studie I, hat die tägliche Aufnahme von 300 mg/ Isoflavon (Aglycon Äquivalente) über zwei Jahre, keinen Einfluss auf den postmenopausalen Knochenverlust an der Lendenwirbelsäule und Hüfte. Diese Kontroverse kann das Ergebnis heterogener Stichprobengrößen (70 versus 431 Probandinnen), Observationszeiten (6 Monate versus 24 Monate), Isoflavon-Dosen (30 mg versus 300 mg Isoflavon), Isoflavon-Formen (Genistein versus Genistein+ Daidzein), ethnischer Ernährungsgewohnheiten und anderer Faktoren sein (Weaver, Cheong, 2005, S. 1243ff.).

Das verabreichte Aglycon Äquivalent bestehend aus 57,5% Genistein und 42,5% Daidzein ist frei von Soja-Proteinen, weil Sojaweiß hoch allergen ist. Die Isoflavon-Dosis dieser Studie ist relativ hoch. Die negativen Ergebnisse weisen auf eine abwegiges Produkt oder eine abwegige Dosierung hin. Gegebenenfalls wirken Isoflavone nur bis zu einem gewissen Schwellenwert. Spekulativ kann aber auch die Absenz von Soja-Proteinen den Effekt der Isoflavone beeinträchtigen (Potter et al., 1998, S. 1378). Einige Aufsätze berichten von synergistischen und antagonistischen Wirkungen verschiedener Isoflavone. Die Probandinnen bekommen eine Kombination aus Genistein und Daidzein. Möglicherweise ist die Diskrepanz der Ergebnisse auf die antagonistischen Aktivitäten beider Isoflavone zurückzuführen ist (Weaver, Cheong, 2005, S. 1243). Die Genistein und Daidzein Blutserumwerte der Isoflavongruppe sind im Vergleich zur Placebogruppe signifikant erhöht (Anlage L). Das spricht für eine gute Bioverfügbarkeit freier Isoflavone (Aglykon). Auffällig ist die suboptimale Vitamin D Supplementierung (125 IU Vitamin D₃ /Tag) dieser wissenschaftlichen Studie. Das Plasma 25(OH)₂D₃ wird nicht gemessen, um einen Vitamin D₃ Mangel

auszuschließen. Ein synergistischer Effekt zwischen Isoflavone und Vitamin D ist möglich, wie bereits in Review I erwähnt. Das könnte, im Fall dieser Studie, die Wirkung der Isoflavone auf den Knochenstoffwechsel negativ beeinflussen. Allerdings ist ein Vitamin D₃ Mangel bei thaiwanischen oder chinesischen Frauen eher selten der Fall (Tsai et al., 1997, S. 374). Wahrscheinlich ist Vitamin D₃ Mangel also kein auslösender Faktor für die Wirkungslosigkeit der Isoflavone.

Die Stichprobe besteht zur Baseline ausschließlich aus osteopenischen oder osteoporotischen Frauen (T-Score <-1). Das begründet die überdurchschnittliche Frakturrate in der Isoflavongruppe. Schlussfolgernd ist trotz hoher Dosen, großer Stichprobe und guter Compliance, keine präventive oder therapeutische Wirkung von Isoflavonen erkennbar.

Studie III

Weaver et al. untersuchen die antiresorptive Wirkung pflanzlicher Nahrungsergänzungsmittel in einer randomisierten-kontrollierten Cross-Over-Studie. Supplemente aus Soja-Kotyledon und Soja-Keimling unterdrücken die Knochenresorption postmenopausaler Frauen signifikant. Verglichen mit Hormonersatztherapien und Risedronat ist das Ausmaß der Wirkung moderat. Nahrungsergänzungsmittel aus Rotklee und Kudzu reduzieren die Knochenresorption nicht signifikant. Vorteil einer Cross-Over-Studie ist, dass sie den Vergleich verschiedener Isoflavon-Präparaten mit nur einer homogenen Kohorte erlaubt.

Um zu bestimmen ob Isoflavone der Knochenresorption vorbeugen, wird die Ausscheidung von ⁴¹Ca im Harn eines vormarkierten Skeletts gemessen. ⁴¹Ca ist ein Isotop mit einer Halbwertszeit von 105 Jahren, welches in den Körper injiziert wird und sich im Knochen ablagert. Das Ergebnis ist ein künstlicher Knochenresorptionsmarker, der leicht im Urin nachzuweisen ist und spezifischer reagiert als traditionelle Knochenmarker. Die ⁴¹Ca Methode erlaubt multiple Interventionen an einer Stichprobe, ist erschwinglich und leicht anzuwenden.

Die Isoflavon-Dosen der verwendeten Präparate sind verhältnismäßig hoch (Anlage P), verglichen mit den anderen Studien dieser Arbeit und der durchschnittlichen Aufnahme von Asiatinnen. Dafür sind die Interventionsperioden von 50 Tagen sehr kurz, im Kontrast zu den anderen Studien dieser Arbeit. Trotz dieser Differenzen wirken die Soja- Isoflavon-Supplemente dieser Studie präventiv auf die postmenopausale Knochenresorption. Die Effektivität folgender Präparate unterscheidet sich deutlich.

Sojakeimling-Supplemente haben eine erheblichere antiresorptive Wirkung, im Vergleich zu Soja-Kotyledon-Supplementen. Das Präparat aus Sojakeimling ist halb so effektiv wie das aus Soja-Kotyledon (5% versus 9%). Der Unterschied erschließt sich aus einer höheren Isoflavon Dosis (220 mg versus 153 mg/Tag) und einer andern Zusammensetzung des Soja-Kotyledon-Produktes (Anlage P). Soja-Kotyledon- und Sojakeimling-Supplement ähneln sich in ihrer chemischen Grundstruktur. Beide liegen überwiegend als konjugierte Glykoside vor. Dafür unterscheiden sich ihre Isoflavon-Gruppen. Das Soja-Kotyledon Präparat enthält viel mehr Genistin und Gensitein (73,3%), dafür weniger Daidzin und Daidzein (26,7%). Das Soja-Keimling Produkt wird bestimmt von Glycitin und Glycitein (48%), Daidzin und Daidzein (40%), dafür weniger Genistin und Genistein (12%). Das spiegelt sich auch in den Blutwerten wieder. Der Genistein-Wert im Blutserum steigt um ein vierfaches während der Soja-Kotyledon-Intervention, im Verhältnis zur Sojakeimling-Intervention an. Obwohl das Gesamt-Isoflavon im Blutserum während der Sojakeimling-Intervention am höchsten ist (Anlage R). So scheint Genistein das effizientere Isoflavon zu sein, wie bereits die Ergebnisse aus Studie I und Review I reflektieren. Die Bioverfügbarkeit glukolisierter Isoflavone scheint höher zu sein im Vergleich zu freien Isoflavonen (Aglykone), das erschließt sich aus der hohen Relativen Resorptionsrate (RR) von Soja-Kotyledon und Soja-Keimlingen im Vergleich zu Rotklee und Kuzdu (Anlage S; Anlage T)

Das erste dominante Isoflavon in Rotklee ist Formononetin (78%) und das zweite Biochanin A (16%). Diese Isoflavon-Gruppen kommen nicht in Soja vor. Die Knochenresorption ist nach der Intervention mit einem Rotklee-Präparat nicht signifikant gesunken ($p=0,09$). Möglicherweise lässt sich die dürftige Wirkung der verhältnismäßig geringen Isoflavon-Dosis zuschreiben (40 mg versus 220 mg Isoflavon/ Tag). Das wiederum wirkt sich nachteilig auf das nachweisbare Gesamt- Isoflavon im Blut aus (Anlage R). Davon ausgehend, dass Genistein das potenteste Isoflavon ist, müsste der Gehalt von Genistein deutlich höher als 1,4% sein um antiresorptiv zu wirken. Dennoch resultiert aus einer sechsmonatigen Therapie, mit einer täglichen Zufuhr von 57 mg und 80 mg Rotklee-Supplement, eine 4% bzw. 3% größere BMD im Unterarm (Clifton-Bligh, 2001, 259ff.).

Kuzdu besteht zu 85% aus dem Isoflavon Puerarin und zu 15% aus konjugierten Daidzein Glykosiden. Puerarin, auch bekannt als 8-C-Glucosid von Daidzein, reduziert die Knochenresorption nicht signifikant ($p=0,3$). Der Gesamt-Isoflavon Blutwert (Anlage R) ist während der Kuzdu-Intervention vergleichbar mit dem Wert nach einer Soja-Kotyledon

Behandlung (8529 nmol/L versus 8333 nmol/L). Die Bioverfügbarkeit des Produkts ist damit gewährleistet. Den Unterschied macht der Blutserumwert von Genistein (101 nmol/L versus 3489 nmol/L). Bei Asiatinnen mit einer traditionellen Ernährung (bei regelmäßigen Sojaverzehr) wurde eine Gesamt- Isoflavonkonzentration im Plasma (Genistein, Daidzein und Equol) von durchschnittlich 870 nmol/L gemessen. Die natürliche Konzentration ist im Vergleich zu den Interventionswerten etwa 100fach geringer (Morton et al., 2002, S.3168ff.).

Die Serumkonzentration von Equol steigt primär während der Kudzu-Intervention an. Allerdings sind nur fünf von elf Probandinnen in der Lage Equol zu metabolisieren. Der Equol Serumwert scheint nicht mit der resorptionshemmenden Wirkung von Isoflavonen im Verhältnis zu stehen. Das antiresorptive Potenzial aller Supplemente lässt sich am Genistein Blutwert zur Zeit der Intervention ablesen.

In der kleinen Kohorte dieser Studie sind keine signifikanten Veränderungen der traditionellen laborchemischen Knochenmarker erkennbar (Anlage R). Urinproben, zur Bestimmung der Knochenmarker, werden allerdings nur einmal zum Ende jeder Intervention entnommen, während ⁴¹Ca-Analysen fünf Mal pro Intervention vorgenommen werden. Wie bereits aus Studie I und II bekannt ist, sind laborchemische Knochenmarker keine verlässlichen Parameter um den Knochenstatus zu bestimmen.

Ein Teil der Phytoöstrogene unterdrückt die Knochenresorption postmenopausaler Frauen wirksam. Insbesondere das Isoflavon Genistein scheint zur Prävention der postmenopausalen Osteoporose geeignet zu sein. Dennoch ist die Isoflavone Wirkung im Vergleich zu Östrogen- oder Risedronat-Therapien gering (Anlage S). Zudem bleibt ungeklärt welche Dosis am wirksamsten ist und welche Zusammensetzung das Supplement haben sollte. Angaben zur Langzeitwirkungen oder Nebenwirkungen bleiben aus. Weitere Forschungen sind notwendig um zu prüfen welche Risiken Phytoöstrogen-Supplemente mit sich bringen. Weiter gilt es zu untersuchen, wann Isoflavone am bioaktivsten und wirksamsten sind ob isoliert oder kombiniert, ob als Glykosid oder Aglykon.

Studie IV

Atteritano et al. überprüfen die Wirkung von 54 mg Genistein. Die Studie bedient sich zweier osteodensitometrischer Verfahren, der klassischen Dual X-Ray-Absorptiometrie (DXA) und der quantitativen Ultrasonometrie. QUS ist preiswert, portabel und bewertet das Frakturrisiko großer Populationen präzise. Die klinische Anwendung von QUS wurde bisher nicht vom DVO bestätigt. Sie ersetzt die DXA Messung nur in Ausnahmesituationen z.B. bei vorliegender Wirbelfraktur (DVO, 2009, S.31).

Die klinische Studie, an der 138 postmenopausale Frauen teilnehmen, bestätigt die Wirkung von Genistein auf den Knochen. Die Knochendichte steigt im zweiten Jahr um 4,45% am Femur und um 5,25% an der Lendenwirbelsäule, im Verhältnis zur Baseline an (Anlage W). Im zweiten Jahr steigt bei der Genistein-Gruppe, der Siffness-Index um 5,3%, der AD-SOS um 3,4% und der BTT um 4,6 % im Verhältnis zur Baseline an. BMD Messungen und QUS Parameter haben ein ähnliches Reaktionsmuster in Bezug auf den Knochen Gewinn bei der Genistein-Gruppe und auf den Knochenverlust bei der Placebo-Gruppe (Anlage W; Anlage X).

Der laborchemische Knochenformationsmarker BAP steigt im Verhältnis zur Baseline, im ersten Jahr um 41% an und im zweiten Jahr um 48%. PYD und DPD sinken, im Verhältnis zur Baseline, entsprechend um 9% und 12% im ersten Jahr und um 12% und 16% im zweiten Jahr. Wie zu erwarten steigt der Genistein-Gehalt im Blutserum der Interventionsgruppe deutlich an, während die Werte der Placebo-Gruppe keine Veränderungen aufweisen (Anlage V).

Alle Ergebnisse werden als Korrelationswert im Verhältnis zu QUS nach zwei Jahren dargestellt. Demnach korrelieren am Ende der Studie die prozentualen Veränderungen der QUS Parameter signifikant mit denen der BMD, den Knochenmarkern und mit den Serum-Genistein Werte (Anlage Z). Das bestätigt, dass die quantitative Ultrasonometrie durchaus Potenzial als Knochendichte-Parameter hat.

In erster Linie evaluiert diese Studie das diagnostische Verfahren. Die Eignung von Phytoöstrogenen ist dabei nur zweitrangig.

Die Studie ist in der Stichprobengröße mit 138 Probandinnen und in der Observationszeit von zwei Jahren beschränkt. Die knochenformende Wirkung von 54 mg Genistein /Tag wird bei osteopenischen postmenopausalen Frauen bestätigt, obwohl die Supplementierung

mit Calcium und Vitamin D gering ausfällt. Ob die Wirkung bei höheren oder geringeren Isoflavon-Mengen gleich ist, lässt sich nicht beantworten. Bei sechs Probandinnen kommt es zu gastrointestinalen Beschwerden, die mit Genistein in Verbindung gebracht werden. Langzeitwirkungen sind nicht bekannt.

Review II

Lewiecki kategorisiert Phytoöstrogene als natürliche selektive Estrogenrezeptormodulatoren (SERM's), deren Potenzial im Vergleich zu 17 β -Estradiol gering ist. Trotzdem kann die Wirkung der Phytoöstrogene bei ausreichend hohen Dosen signifikant sein. Wie aus Studie II bekannt ist, beinhaltet eine Pflanze mehrere Arten von Phytoöstrogenen. Jede einzelne Art steigert oder hemmt die Wirkung des Anderen. Der Herausgeber dieser systematischen Übersichtsarbeit untersucht elf randomisierten kontrollierten Studien auf die Wirkung von Phytoöstrogenen auf das Skelettsystem. Lediglich drei Studien berichten von eindeutig positiven Effekten auf den Knochen.

Eine dieser klinischen Studien nimmt Gebrauch von 54 mg Isoflavon/ Tag (Morabito et al., 2002, S. 1904ff.). Die BMD der Interventionsgruppe erhöht sich ähnlich effizient, wie nach einer Östrogenbehandlung. Es ist ungewiss ob die Variabilität der Untersuchung durch die Heterogenität des Studiendesigns, der Dosierung, der Präparate, der Vitamin D- und Calcium-Aufnahme, oder durch andere Faktoren zustande kommt.

Ipraflavon, ein Isoflavon-Derivat, schützt nicht vor einem Knochenverlust und begünstigt eine Lymphozytose. Das ergibt eine randomisierte kontrollierte Studie an 474 postmenopausalen Frauen (Alexandersen et al., 2001, 1482ff.).

Marini et al. untersuchen an 389 postmenopausale Frauen erneut die Wirkung von Genistein auf die Knochendichte. Die Frauen werden in einem Zeitraum von 24 Monaten in Gruppen mit 54 mg Isoflavon/ Tag oder Placebo randomisiert. Alle Probandinnen nehmen täglich Supplemente, bestehend aus 500 mg Calciumcarbonat und 400 IU Vitamin D (10 μ g). Zur Baseline haben alle Probandinnen einen T-Score unter -1 SD, Indiz einer beginnenden Osteoporose. Die Genistein-Gruppe erfährt nach 24 Monaten einen außergewöhnlich BMD-Anstieg um durchschnittlich 12,1% an der Lendenwirbelsäule und um 10,7% am Schenkelhals im Vergleich zum Placebo sowie 5,8% und 5,2% im Vergleich zur Baseline. Zudem sinken die Knochenresorptionsmarker PYD und DPD signifikant und der Knochenformationsmarker BAP steigt. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass Genistein

eine anti-resorptive und anabole Wirkung auf den Knochenstoffwechsel hat. Die Wirkung von Genistein ist nicht auf andere Phytoöstrogene und auf kombinierte Formen übertragbar. Einzige Nebenwirkungen innerhalb der Genistein-Gruppe sind, wie auch in Studie IV aufgezeigt, gastrointestinale Beschwerden (8%). (Marini et al., 2007, S. 839ff.).

Die Studie gibt Anstoß zu weiteren Untersuchungen, die das Potenzial von Genistein und anderen Phytoöstrogenen validieren. Es gilt den genauen Wirkmechanismus zu erforschen, die Dosis-Wirkungs-Kurve zu begründen, die Langzeitwirkung zu bestimmen sowie die Interaktion mit anderen Medikamenten, Supplementen und Lebensmitteln zu ermitteln. Desweiteren müssen Qualitätskontrollen, Anfertigungs- und Kennzeichnungskriterien festgelegt werden, bevor das Produkt vermarktet werden kann. Noch reichen die aktuellen Studien nicht aus um Handlungsempfehlungen zu geben.

5.4.2 Methodenkritik

Um den aktuellen Forschungsstand zur Wirkung von Phytoöstrogenen im postmenopausalen Knochenstoffwechsel zu ermitteln, ist eine systematische Literaturrecherche ein unentbehrliches Instrument. PubMed bietet weltweit Zugang zu den wichtigsten Ressourcen, ist kostenfrei und online zugänglich. Die Literaturrecherche mit PubMed erweist sich als effektiv, da die Datenbank leicht in der Bedienung ist und bei Erklärungsbedarf Zugriff auf Hilfetexte und Tutorials in englischer Sprache bereitstellt.

Kritisch zu betrachten ist, dass die Publikationen ausschließlich einer medizinischen Datenbank entstammen. Eine kombinierte Literatursuche mit MedPilot, OvidSP und PubMed könnte unter Umständen zu umfangreicheren Ergebnissen führen.

Darüber hinaus ist der Umgang mit den ergänzenden Filtern auf der PubMed Seite differenziert zu sehen. Denn die gewünschte Selektion wird nicht immer erzielt. Beispielsweise geht Review I oftmals auf Tierversuche ein, obwohl ausdrücklich nach klinischen Studien an Frauen gefiltert wird. Die Einsicht in die Publication Types, MeSH Terms und Substances bestätigt, dass Hinweise auf Tierversuche fehlen.

Erstaunlicherweise liefert die PubMed Analyse keine Artikel zu Liganen oder Coumestanen, stattdessen beziehen sich die Studien der letzten fünf Jahre einheitlich auf Isoflavone. Wird explizit nach „postmenopausal osteoporosis lignans“ gesucht, führt das

durchaus zu Ergebnissen. Die Absenz von Lignan bei der Hauptsuche ist mit der fehlenden Verknüpfung zum Schlagwort „phytoestrogen“ zu begründen. Eventuell sind auf solche Weise weitere Artikel ausgesondert worden, die für diese Arbeit Relevanz hätten. Zu Coumestanen gibt es wiederum keine Publikationen in den letzten fünf Jahren sowie im Zusammenhang mit der postmenopausalen Osteoporose.

Als problematisch erweist sich die Filterung nach Studien, die eine Dual-X-Ray Absorptiometrie als Messverfahren einsetzen. Das Kriterium ist erwünscht, um eine Homogenität der Vergleichsparameter zu erhalten. Weder „BMD“, „DXA“, „Dual-X-Ray“ noch „absorptiometry“ in Kombination mit „postmenopausal osteoporosis phytoestrogen“ liefern passende Ergebnisse. Schließlich wird das Ziel durch Verknüpfung der bekannten Suchanfrage mit dem Bool'schen Operator NOT und „pQCT“, erreicht.

6 Fazit

Phytoöstrogene, in Form von Supplementen, haben das Potenzial das klinische Bild der postmenopausalen Osteoporose zu verbessern. Fest steht, dass sich die sekundären Pflanzenstoffe an die Östrogenrezeptoren binden und die Wirkung der endogenen Östrogene imitieren. Jedes Isoflavon hat eine andere chemische Zusammensetzung, die Struktur diktiert seine Bindungsaffinität zu Östrogenrezeptoren und bestimmt seine Potenz. Besonders wirksam scheinen Genistein und Daidzein. Die Soja-Derivate binden sich in den Knochenzellen an ER β und reduzieren die Osteoklastogenese durch den RANK/RANKL/OPG-Signalweg. Ob sie im Zusammenspiel oder einzeln effektiver sind, ist noch Gegenstand weiterer Untersuchungen. Vermutet werden sowohl synergistische als auch antagonistische Wechselwirkungen. Inwieweit sich die Effektivität und Bioverfügbarkeit zwischen freien (Aglykone) bzw. konjugierter-Formen (Glykoside) unterscheidet geht aus den Studien nicht hervor.

Die Angaben zur Dosierung sind kontrovers zu betrachten. Die isolierten Isoflavone wirken bereits geringfügig bei Dosen ab 30 mg/ Tag und höher. Das liegt im oberen Bereich des durchschnittlichen Verzehrs in asiatischen Ländern. Bereits 54 mg Genistein/ Tag sollen einen BMD-Anstieg von 10%, innerhalb weniger Monate bewirken. Gleichzeitig zeigen identische und höhere Dosen anderer Versuche keinen Effekt. Wahrscheinlich spielen

dabei individuelle Faktoren beim Menschen eine Rolle, wie z.B. die Genetik, der Hormonstatus und die Fähigkeit Equol aus Daidzein zu bilden. Vermutlich sind noch viele unergründete Co-Faktoren involviert, die eine Wirkung herbeiführen oder hemmen und unter Umständen Gesundheitsrisiken mit sich bringen.

Es ist wichtig zu unterscheiden, ob es sich um Phytoöstrogene aus der Nahrung handelt, wie es bei der asiatischen Bevölkerung der Fall ist, oder um synthetische Isoflavon-Präparate, wie in den meisten klinischen Studien. Wegen der mangelhaften Definition der Ergänzungsmittel ist ein Vergleich innerhalb der Studien nur beschränkt möglich.

Zwar sind die berichteten Kurzzeitbeschwerden in den seltensten Fällen signifikant und schwerwiegend, jedoch werden sie zu selten dokumentiert um daraus allgemein geltende Gesundheitsrisiken abzuleiten. Ausserdem fehlen sämtliche Sicherheitsdaten über die Langzeitwirkungen.

Ziel dieser Arbeit ist es Handlungsempfehlung für Frauen zu erstellen, die nach einer Alternative zur Hormonersatztherapie suchen. Die Empfehlungen sollten für präventive und therapeutische Zwecke geltend gemacht werden. Das Ziel dieser Arbeit wird nicht erreicht, da der gegenwärtige Kenntnisstand über die Wirkung von Phytoöstrogenen bei weitem nicht ausreicht, um Zufuhrempfehlungen geben zu können. Die Hypothese

- *Phytoöstrogene können als natürliche Alternative zur medikamentösen Behandlung der postmenopausalen Osteoporose betrachtet werden*

ist somit widerlegt.

Zudem sind extrahierte Isoflavone nicht ohne Risiken, wie das Bundesinstitut für Risikobewertung 2007 öffentlich erklären ließ. Neben akuten Beschwerden wie Übelkeit, Verstopfungen und Juckreiz soll es insbesondere bei hohen Dosen isolierter Isoflavone langfristig zu Beeinträchtigungen der Schilddrüse, Gebärmutter und Veränderungen im Brustgewebe kommen als besonders hoch eingestuft gilt das Risiko bei Frauen in der postmenopausalen Phase (BfR, 2007, S. 1ff.).

Zusammenfassung

Hintergrund: Die Osteoporose ist eine Skeletterkrankung die mit dem demographischen Wandel und einer zunehmenden Inzidenz ein globales Gesundheitsproblem darstellt. Besonders betroffen sind klimakterische Frauen, deren abnehmende Ovarialfunktion mit einer beschleunigten Knochenresorption und erhöhtem Frakturrisiko einhergeht. Hormonersatztherapien beugen dem Knochenabbau vor und fördern den Knochenaufbau, jedoch nicht ohne Nebenwirkungen. Viele Frauen wünschen sich eine natürliche Alternative zu Pharmazeutika, die vor einer Osteoporose schützt und diese behandelt. Phytoöstrogene ähneln in ihrer chemischen Struktur dem endogenen Sexualhormon 17 β -Estradiol und können daher auch hormonähnlich wirken. Diese Arbeit prüft, ob sich Phytoöstrogene zur Prävention und Therapie der postmenopausalen Osteoporose eignen.

Methode: Mit Hilfe der Datenbank PubMed erfolgt die Suche nach aktueller Fachliteratur zur Wirkung von Phytoöstrogenen auf den Knochenstoffwechsel. Von Interesse sind systematische Übersichtsarbeiten sowie randomisierte kontrollierte Studien mit Bezug zur Postmenopause, Osteoporose und zu Phytoöstrogenen. Sechs Publikationen innerhalb eines Zeitfensters von fünf Jahren (30.08.2008-01.09.2013) werden tabellarisch dargestellt und verglichen.

Ergebnisse: In einigen klinische Studien führt die Phytoöstrogen-Supplementation (besonders Genistein und Daidzein) zu einem signifikanten Knochenaufbau im Bereich der Lendenwirbelsäule und Hüfte. Ähnlich positive Wirkungen gelten für laborchemische Knochenmarker. Insgesamt sind die Ergebnisse verschiedener klinischer Studien als kontrovers anzusehen.

Fazit: Positive Ergebnisse geben einen Anstoß zu weiteren Forschungen, die das Potenzial von Phytoöstrogenen validieren. Es gilt den genauen Wirkmechanismus, die adäquate Dosis und die Langzeitwirkungen zu erforschen. Das Bundesinstitut für Risikobewertung hat isoflavonhaltige Nahrungsergänzungsmittel gesundheitlich bewertet und es zeigte sich, dass diese nicht ohne Risiko sind.

Abstract

Background: Osteoporosis is a skeletal disease demographic changes and increasing incidence have turned into a global health problem. It affects mostly menopausal women whose declining ovarian function increases bone resorption and the risk of fracturing. Hormone replacement therapies protect from bone loss and increase bone mass in postmenopausal women, but not without side effects. Many postmenopausal women prefer non-pharmaceutical alternatives to hormone therapy for protection from and treatment of osteoporosis. Plant-derived phytoestrogens have a chemical structure similar to the endogenous sex hormone 17 β -Estradiol, so that they can act like hormones. This work investigates the effectiveness of phytoestrogens on bone health promotion.

Methods: The PubMed Database will be used to source recent literature on the effects of phytoestrogen in bone metabolism, Of interest to this paper are systematic reviews and randomized controlled trials addressing postmenopausal osteoporosis and phytoestrogens. Six publications within a time frame of five years (30.08.2008-01.09.2013) are tabulated and compared.

Results: In some randomized controlled trials phytoestrogen supplements (mostly genistein and daidzein) significantly increased bone mineral density in the femur and lumbar spine. A similar beneficial effect on biochemical bone markers was observed. Overall, results of various clinical trials are controversial.

Conclusion: Positive findings incen further research to validate the beneficial potentials of phytoestrogens. Much is still to be learned about the precise effect mechanism, appropriate dosage and long term effects. The German Federal Institute for Risk Assessment found some evidence to relate isoflavones to health risk.

IV Literaturverzeichnis

Adler, C.P. (2000). Bone Diseases. New York: Springer-Verlag.

Alexandersen, P., Toussaint, A., Christiansen C., Devogelaer, J.P., Roux, C., Fechtenbaum J., Gennari, C., Reginster, J.Y. (2001). Ipriflavone Multicenter European Fracture Study. Ipriflavone in the treatment of postmenopausal osteoporosis: a randomized controlled trial, in: Journal of the American Medical Association, Vol. 285, No. 11, pp. 1482–1488.

Aloia, J.F. (2008). African Americans, 25-hydroxyvitamin D, and osteoporosis: a paradox, in: The American Journal of Clinical Nutrition, Vol. 88, No. 2, pp. 5455-5505.

Arts, J., Kuiper, G.G., Janssen, J.M., Gustafsson, J.A., Lowik, C.W., Pols, H.A., van Leeuwen, J.P. (1997). Differential expression of estrogen receptors α and β mRNA during differentiation of human osteoblast SV-HFO cells, in: Endocrinology Vol. 138, pp.5067–5070.

Atteritano, M., Mazzaferro, S., Frisina, A., Cannata, M.L., Bitto A, D'Anna R, Squadrito F, Macrì I, Frisina N, Buemi M. (2009). Genistein effects on quantitative ultrasound parameters and bone mineral density in osteopenic postmenopausal women, in: Osteoporosis International, Vol. 20, Issue 11, pp. 1947-1954.

Balli, M. (2000). Steroide, biochemische Knochenmarker, Knochendichte und Histomorphometrie bei männlichen Osteoporosepatienten. Dissertation. Justus-Liebig-Universität Gießen.

Barnes, S. (2010). Brief introduction to equol. 9th International Symposium on the Role of Soy in Health Promotion and Chronic Disease Prevention and Treatment, Washington DC, 16.-19. Oktober.

Barrett, J. (1996). Phytoestrogens. Friends or foes?, in: Environmental Health Perspectives, Vol. 104, Issue 5, pp. 478-482.

Bartl, R. (2004). Osteoporose: Prävention- Diagnostik-Therapie, Stuttgart: Thieme Verlag.

Bartl, R., von Tresckow, E., Bartl, C. (2006). Biphosphonat- Manual. Berlin, Heidelberg, New York: Springer.

- Beral V (2003). Million Women Study Collaborators. Breast cancer and hormone replacement therapy in the Million Women Study, in: *The Lancet*, Vol. 362, Issue 9382, pp- 419–427.
- Bergmann, G.J., Fan, T., McFertidge, J.T., Sen, S.S. (2010). Efficacy of vitamin D3 supplementation in preventing fractures in elderly women: a meta-analysis, in: *Current Medical Research & Opinion*, Vol. 26, No. 5, pp. 1193-1201.
- Bianco, P., Riminucci, M., Gronthos, S., Gehron Robey, P. (2001). Bone marrow stromal stem cells: nature, biology, and potential applications, in: *Stem Cells*, Vol. 19, Issue 3, pp. 180–192.
- Bitensky, L., Hart, J.P., Catterall, A., Hodges, S.J., Pilkington, M.J., Chayen, J. (1988). Circulating vitamin K levels in patients with fractures, in: *Journal of Bone and Joint Surgery*, Vol. 70-B, No. 4, pp. 663-664.
- Bitto, A., Marini, H., Burnett, B.P., Polito, F., Levy, R.M., Irrera, N., Minutoli, L., Adamo, E.B., Squadrito, F., Altavilla, D. (2011). Genistein aglycone effect on bone loss is not enhanced by supplemental calcium and vitamin D3: A dose ranging experimental study, in: *Phytomedicine*, Vol. 18, Issue 10, pp. 879–886.
- Blake, G.M., Glüer, C.C., Fogelman, I. (1970). Bone densitometry: current status and future prospects, in: *British Journal of Radiology* 1997 No. 70, pp. 177-186.
- Bonjour, J.P., Theintz, G., Law, F., Slosman, D., Rizzoli, R. (1994). Peak Bone Mass, in: *Osteoporosis International*, Suppl. 1, pp.1-7.
- Booth, S.L., Suttie, J.W. (1998) Dietary intake and adequacy of vitamin K. *Journal of Nutrition* Vol. 128, pp. 785-788.
- Boyle, W.J., Simonet, W.S., Lacey, D.L. (2003). Osteoclast differentiation and activation, in: *Nature* No. 423, pp. 337-342.
- Braidman, I., Baris, C., Wood, L., Selby, P., Adams, J., Freemont, A., Hoyland, J. (2000). Preliminary evidence for impaired estrogen receptor-alpha protein expression in osteoblasts and osteocytes from men with idiopathic osteoporosis, in: *Bone*, No. 26, pp. 423–427.

Bradbury, R.B., White, D.E. (1954). Estrogens and Related Substances in Plants, in: Vitamins & Hormones, Volume 12, pp. 207-233.

Brown, J.P., Delmas, P.D., Malaval, L., Edouard, C., Chapuy, M.C., Meunier, P.J. (1984). Serum bone Gla-protein: a specific marker for bone formation in postmenopausal osteoporosis. *Lancet* No. 1, pp. 1091–1093.

Bundesinstitut für Risikobewältigung (2007). Isolierte Isoflavone sind nicht ohne Risiko. Aktualisierte Stellungnahme Nr. 039/2007. Bundesinstitut für Risikobewältigung. http://www.bfr.bund.de/cm/343/isolierte_isoflavone_sind_nicht_ohne_risiko.pdf Stand: 03.09.2013.

Canese, K., Jentsch, J., Myers, C. (2003). PubMed The Bibliographic Database. National Center of Biotechnology Information. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21094/>. Stand: 31.07.2013.

Calvi, L.M., Bushinsky, D.A. (2008). When is It Appropriate to Order an Ionized Calcium? in: *Journal of American Society of Nephrology*, Vol. 19, Nr. 7, pp. 1257-1260.

Cashman, K.D., Fitz Gerald, A.P., Viljakainen, H.T., Jakobsen, J., Michaelsen, K.F., Lamberg-Allardt, C., Mølgaard, C. (2011). Estimation of dietary requirement for vitamin D in healthy adolescent white girls, in: *American Journal of Clinical Nutrition*. No. 93, pp. 549-555.

Chapuy, M.C., Arlot, M.E., Duboeuf, F., Brun, J., Crouzet, B., Arnaud, S., Delmas, P.D., Meunier, P.J. (1992). Vitamin D₃ and Calcium to prevent Hip Fractures in Elderly Women, in: *New England Journal of Medicine*, Vol. 372, No. 23, pp. 1637-1642.

Chennaiah, S., Vijayalakshmi, V., Suresh, C. (2010). Effect of the supplementation of dietary rich phytoestrogens in altering the vitamin D levels in diet induced osteoporotic rat model, in: *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* Vol. 121, Issue 1-2, pp. 268–272.

Clifton-Bligh, P.B., Baber, R.J., Fulcher, G.R., Nery, M.L., Moreton, T. (2001). The effect of isoflavones extracted from red clover (Rimostel) on lipid and bone metabolism, in: *Menopause*, Vol. 8, Issue 4, pp. 259–265.

Cochrane Collaboration (2013). Von der Evidenz zur Empfehlung (Klassifikationssysteme). Das Deutsche Cochrane Zentrum. <http://www.cochrane.de/de/evidenz-empfehlung>. Stand 25.07.2013.

Consensus Development Conference (1993). Diagnosis, Prophylaxis and treatment of Osteoporosis, in: American Journal of Medicine, Vol. 94, No. 6, pp. 646-650.

Cooper, C. (1999). Epidemiology of osteoporosis, in: Osteoporosis International, Vol. 9, Issue 2, pp. 2-8.

Cooper, C. Cole, Z.A., Holroyd, C.R., Earl, S.C., Harvey, N.C., Dennison, E.M., Melton, L.J., Cummings, G.R., Kanis, J.A. (2011). Secular trends in the incidence of hip and other osteoporotic fractures, in: Osteoporosis international, Vol. 22, Issue 5, pp. 1277-1288.

Cosman, F., Wermers, R.A., Recknor, C., Mauck, K.F., Xie, L., Glass, E.V., Krege, J.H., (2009). Effects of Teriparatide in Postmenopausal Women with Osteoporosis on Prior Alendronate or Raloxifene: Differences between Stopping and Continuing the Antiresorptive Agent, in: The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, Vol. 94, No. 10.

Cotter, A.A., Jewell, C., Cashman, K.D. (2003). The effect of oestrogen and dietary phytoestrogens on transepithelial calcium transport in human intestinal-like Caco-2 cells, in: British Journal of Nutrition Vol. 89, Issue 6, pp. 755–765.

Cotter, A.A., Cashman, K.D. (2004). Lack of dose-responsive effect of dietary phytoestrogens on transepithelial calcium transport in human intestinal-like Caco-2 cells, in: British Journal of Nutrition, Vol. 91, Issue 1, pp. 5–9.

Dachverband Osteologie e.V. (2009). DVO-Leitlinie 2009 zur Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der Osteoporose bei Erwachsenen (Langfassung), in: Osteologie, Vol. 18, Heft 4, S. 304-328.

de Kleijn, M.J., van der Schouw, Y.T., Wilson, P.W., Adlercreutz, H., Mazur, W., Grobbee, D.E., Jacques, P.F. (2001). Intake of dietary phytoestrogens is low in postmenopausal women in the United States: the Framingham study, in: Journal of Nutrition, Vol. 131, No. 6, pp. 1826–1832.

Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V. (2012). Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr, Bonn: Neuer Umschau Buchverlag.

Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V. (2013). Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr, Bonn: Neuer Umschau Buchverlag.

Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V. (2013). Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr. Vitamin K. Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V.

<http://www.dge.de/modules.php?name=Content&pa=showpage&pid=4&page=14> Stand: 19.08.2013.

De Wilde, A., Lieberherr, M., Colin, C., Pointillart, A. (2004). A low dose of daidzein acts as an ERbeta-selective agonist in trabecular osteoblasts of young female piglets, in: Journal of Cellular Physiol., Vol. 200, Issue 2, pp. 253–262.

Doherty, D.A., Sanders, K.M., Kotowicz, M.A., Prince, R.L. (2001) Lifetime and five-year age-specific risks of first and subsequent osteoporotic fractures in postmenopausal women, in Osteoporosis International No. 12, pp. 16–23.

Duncan, A.M., Phillips, W.R., Kurzer, M.S. (2003). Phyto-oestrogens, in: Best Practice & Research: Clinical Endocrinology & Metabolism No. 17, pp. 253-271.

Eriksen, E.F, Colvard, D.S., Berg, N.J., Graham, M.L., Mann, K.G., Spelsberg, T.C., Riggs, B.L. (1988). Evidence of estrogen receptors in normal human osteoblast-like cells, in: Science, Vol. 241, pp. 84–86.

Forschung für Leben (2012). Tierversuche aus der Sicht der Biowissenschaften: Tierversuche-Menschenversuche. Verein Forschung für Leben.

<http://www.forschung-leben.ch/standpunkte/tierversuche/#menschenversuche> Stand: 25.08.2013.

Franke, A.A., Custer, L.J., Cerna, C.M., Narala, K.N. (1995). Rapid HPLC analysis of dietary phytoestrogens from legumes and from human urine, in: Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine, Vol. 208, Issue 1, pp. 18–26.

Frederick, S., Kaplan, M.D. (1986). Osteoporosis, in: Women & Health, Vol. 10, Issue 2-3, p. 108.

Frost, H. (1990). Skeletal structural adaptations to mechanical usage: 2. Redefining Wolff's Law: The remodeling problem, in: *The Anatomical Record*, Vol. 226, Issue 4, pp. 414-422.

Exton-Smith, A. N., Millard, P. H., Payne, P. R., Wheeler, E. F. (1969). Pattern of development and loss of bone with age, in: *The Lancet*, No. 2, pp. 1154–1157.

Ganten, D., Ruckpaul, K. (2001). *Molekularmedizinische Grundlagen von Endokrinopathien*, Berlin, Heidelberg: Springer.

Gilad, L.A., Tirosh, O., Schwartz, B. (2006). Phytoestrogens regulate transcription and translation of vitamin D receptor in colon cancer cells, in: *Journal of Endocrinology*, Vol. 191, pp. 387-398.

Gressner, A., Arndt, T. (2007). *Lexikon der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik*, Heidelberg: Springer Medizin Verlag.

Hadji, P., Klein, S., Gothe, H., Häussler, B., Kless, T., Schmidt, T., Steinle T., Verheyen, F., Linder, R. (2013). Epidemiologie der Osteoporose – Bone Evaluation Study: Eine Analyse von Krankenkassen-Routinedaten in: *Deutsches Ärzteblatt International*, 110. Jg., Heft 4, S. 52-57.

Hadjidakis, D. J., Androulakis, I. I. (2006). Women's Health and Disease: Gynecologic, Endocrine and Reproductive Issues, in: *Annals of the New York Academy of Sciences*, No. 1092, pp. 385–396.

Han, Z.H., Palnitkar, S., Rao, D.S., Nelson, D., Parfitt, A.M. (1996). Effects of ethnicity and age or menopause on the structure and geometry of iliac bone, in: *Journal of Bone and Mineral Research*, No. 11, pp. 1967–1975.

Hauschka, P.V., Lian, J.B., Gallop, P.M. (1975). Direct identification of the calcium-binding amino acid, gamma-carboxyglutamate, in mineralized tissue, in: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* No. 72, pp. 3925–3929.

Häussler, M.R., Mangelsdorf, D.J., Komm, B.S., Terpening, C.M., Yamaoka, K., Allegretto, E.A., Baker, A.R., Shine, J., McDonnell, D.P., Hughes, M., Weigel, N.L., O'Malley, B.W., Piker, J.W. (1988) Molecular biology of the vitamin D hormone, in: *Recent Progress in Hormone Research*, No. 44, pp. 263-305.

Häussler, B., Gothe, H., Göl, D., Glaeske, G., Pientka, L., Felsenberg, D. (2007). Epidemiology, treatment and costs of osteoporosis in Germany--the BoneEVA Study, in: *Osteoporosis Int*, Vol. 8, Issue 1, pp. 77-84.

Hofbauer, L.C., Khosla, S., Dunstan, C.R., Lacey, D.L., Boyle, W.J., Riggs, B.L. (2000). The roles of osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand in the paracrine regulation of bone resorption, in: *Journal of Bone and Mineral Research*, No. 15, pp. 2–12.

Hofbauer, L.C., Kühne, C.A., Viereck, V. (2004). The OPG/RANKL/RANK system in metabolic bone diseases, in: *Journal of musculoskeletal & neuronal interactions*, Vol. 4, Issue 3, pp. 268-275.

Hofbauer, L.C., Rachner, T. (2010). Die Rolle des RANK/RANKL/OPG-Signalwegs, in: Peters, K.M., König, D.P. (Hrsg.), *Fortbildung Osteologie Vol. 3*, Berlin, Heidelberg: Springer. S. 118.

Horn, F. (2012). *Biochemie des Menschen*. Stuttgart: Thieme.

Hsu, H., Lacey, D.L., Dunstan, C.R. (1999). Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand. *Proceeding of the National Academy of Science of the USA*, No. 96, pp. 3540–3545.

Hughes, D.E., Dai, A., Tiffée, J.C., Li, H.H., Mundy, G.R., Boyce, B.F. (1996) Estrogen promotes apoptosis of murine osteoclasts mediated by TGF- β , in: *Nature Medicine*, No. 2, pp.1132–1136.

Huppelsberg, J., Walter, K.(2009). *Kurzlehrbuch Physiologie*, Stuttgart: Thieme.

Ishibe, M., Nojima, T., Ishibashi, T., Koda, T., Kaneda, K., Rosier, R.N., Puzas, J.E. (1995). 17 beta-estradiol increases the receptor number and modulates the action of 1,25-dihydroxyvitamin D3 in human osteosarcoma-derived osteoblast-like cells, in: *Calcified Tissue International*, Vol. 57. Issue 6, pp. 430–435.

Kanis, J.A. (2002). Diagnosis of osteoporosis and assessment of fracture risk, in: *The Lancet* Vol. 359, pp. 1929-1935.

Kanis, J.A., Johnell, O. (2005). Requirements for DXA for the Management of Osteoporosis in Europe, in: *Osteoporosis Int.*, No. 16, p. 229-238.

Kousteni, S., Bellido, T., Plotkin, L.I, O'Brien, C., Bodenner, D.L., Han, L., Han, K., DiGregorio, G.B., Katzenellenbogen, J.A., Katzenellenbogen, B.S., Roberson, P.K., Weinstein, R.S., Jilka, R.L., Manolagas, S.C. (2001). Nongenotropic, sex-nonspecific signaling through the estrogen or androgen receptors: dissociation from transcriptional activity, in: *Cell*, Nr. 104, pp. 1-20.

Kudou, F., Fleury, Y., Welti, D., Magnolato, D., Uchida, T., Kitamura, K., Okubo, K. (1991). Malonyl Isoflavone, Glucosides in Soybean Seeds, in: *Agricultural Biology and Chemistry*, No. 55, Issue 9, pp. 2227-2233.

Kulling, S.E., Watzl, B. (2003). Phytoöstrogene, in: *Ernährungs-Umschau*, Nr. 50, Heft 6, S. 234-239.

Kurzer, M.S., Xu, X. (1997). Dietary Phytoestrogens, in: *Annual Review of Nutrition* Vol. 17, pp. 358-381.

Lanyon, L.E. (1993). Osteocytes, strain detection, bone modeling and remodeling, in: *Calcified Tissue International*, Vol. 53, Issue 1, pp. 102-107.

Leder, B.Z., LeBlanc, K.M., Schoenfeld, D.A., Eastell, R., Finkelstein, J.S. (2003). Differential effects of androgens and estrogens on bone turnover in normal men, in: *Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, No. 88, pp. 204-210.

Legette, L.L., Lee, W.H., Martin, B.R., Story, J.A., Arabshahi, A., Barnes, S., Weaver, C.M. (2011). Genistein, a phytoestrogen, improves total cholesterol, and Synergy, a prebiotic, improves calcium utilization, but there were no synergistic effects, in: *Menopause*, Vol. 18, Issue 8, pp. 923–931.

Levis, S., Strickman-Stein, N., Ganjei-Azar, P., Xu, P., Doerge, D.R., Krischer, J. (2011). Soy isoflavones in the prevention of menopausal bone loss and menopausal symptoms: A randomized, double-blind trial, in: *Archives of Internal Medicine*, Vol. 171, No. 15, pp. 1363–1369.

Li, Y.Q., Xing, X.H., Wang, H., Weng, X.L., Yu, S.B., Dong, G.Y. (2012). Dose-dependent effects of genistein on bone homeostasis in rats' mandibular subchondral bone, in: *Acta pharmacologica Sinica*, Vol. 33, Issue 1, pp.66–74.

Liel, Y., Kraus, S., Levy, J., Shany, S. (1992). Evidence that estrogens modulate activity and increase the number of 1,25-dihydroxyvitamin D receptors in osteoblast-like cells (ROS 17/2.8), in: *Endocrinology*, Vol. 130, No. 5, pp. 2597–2601.

Lindsey, R. (1988). Management of Osteoporosis, in: *Baillière's clinical endocrinology and metabolism*, No. 2. pp. 103-124.

Manolagas, S.C., Kousteni, S., Jilka, R.L. (2002). Sex Steroid and Bone, in: *Recent Progress in Hormone Research*, Vol. 57, Issue 1, pp. 385-409.

Marini, H., Minutoli, L., Polito, F., Bitto, A., Altavilla, D., Atteritano, M., Gaudio, A., Mazzaferro, S., Frisina, A., Frisina, N., Lubrano, C., Bonaiuto, M., D'Anna, R., Cannata, M.L., Corrado, F., Adamo, E.B., Wilson, S., Squadrito, F. (2007). Effects of the phytoestrogen genistein on bone metabolism in osteopenic postmenopausal women: A randomized trial, in: *Annals of Internal Medicine*, Vol. 146, No. 12, pp. 839–847.

Marini, H., Minutoli, L., Polito, F., Bitto, A., Altavilla, D., Atteritano, M., Gaudio, A., Mazzaferro, S., Frisina, A., Frisina, N., Lubrano, C, Bonaiuto, M., D'Anna, R., Cannata, M.L., Corrado, F., Cancellieri, F., Faraci, M., Marini, R., Adamo, E.B., Wilson, S., Squadrito, F. (2008). OPG and sRANKL serum concentrations in osteopenic, postmenopausal women after 2-year genistein administration, in: *Journal of Bone Mineral Research*, Vol. 23, Issue 5, pp. 715–720.

Mathey, J., Mardon, J., Fokialakis, N., Puel, C., Kati-Coulibaly, S., Mitakou, S., Bennetau-Pelissero, C., Lamothe, V., Davicco, M.J., Lebecque, P., Horcajada, M.N., Coxam, V. (2007). Modulation of soy isoflavones bioavailability and subsequent effects on bone health in ovariectomized rats: The case for equol, in: *Osteoporosis International* Vol. 18, Issue 5, pp. 671–679.

Matthai C., Rohr, M., Metka, M., Huber, J.C., Imhof, M. (2003). Östrogenrezeptor-Modulation durch Pflanzenhormone, in: *Frauenarzt*, Vol. 44, Nr. 11, S. 1180-1186.

Melton, L.J., Chrischilles, E.A., Cooper, C., Lane, A.W., Riggs, B.L. (1992). Perspective: how many women have osteoporosis? *Journal of Bone and Mineral Research* No. 7, pp. 1005–10.

Moe, S.M. and Drüeke, T.B. (2003). Management of secondary hyperparathyroidism: the importance and the challenge of controlling PTH levels without elevating Ca^{2+} , P and Ca/P product. *American Journal of Nephrology*, No. 23, pp. 369-379.

Mosekilde, L. (1989). Sex differences in age-related loss of vertebral trabecular bone mass and structure—biomechanical consequences, in: *Bone*, Vol. 10, Issue 6, pp. 425-432.

Morabito, N., Crisafulli, A., Vergara, C., Gaudio, A., Lasco, A., Frisina, N., D'Anna, R., Corrado, F., Pizzoleo, M.A., Cincotta, M., Altavilla, D., Ientile, R., Squadrito, F. (2002). Effects of genistein and hormone-replacement therapy on bone loss in early postmenopausal women: a randomized double-blind placebocontrolled study, in: *Journal of Bone Mineral Research*, Vol. 17, Issue 10, pp. 1904-1912.

Morton, M.S., Harding, C., Howell, A., Griffiths, K., Bundred, N. (1997). Dietary Phyto-Estrogens and the Menopause, in: *Medical Sciences Symposia Series*, Vol. 11, pp. 321-325.

Morton, M.S., Arisaka, O., Miyake, N., Morgan, L.D., Evans, B.A.J. (2002). Phytoestrogen Concentrations in Serum from Japanese Men and Women over Forty Years of Age, in: *Journal of Nutrition*, Vol. 132, No. 10, pp. 3168-3171.

National Cancer Institute (2012). Structure of Bone Tissue. National Cancer Institute. <http://training.seer.cancer.gov/anatomy/skeletal/tissue.html>. Stand 31.07.2013

Neve, A., Corrado, A., Cantatore, F.P. (2013). Osteocalcin: skeletal and extra-skeletal effects, in: *Journal of Cellular Physiology*, Vol. 228, Issue 6, pp. 1149-1153.

Oberleithner, H. (2009). Salz- und Wasserhaushalt in: Kurtz, in: Pape, H.C., Klinke R., Silbernagl, S. (Hrsg.). *Physiologie*, Stuttgart: Thieme, S. 409.

O'Flathery, E. (2000). Modeling Normal Aging Bone Loss, with Consideration of Bone Loss in Osteoporosis, in: *Toxicological Sciences*, No. 55, pp. 171-188.

Osteoporosezentrum-Hamburg (2006). Leitlinien zur Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der Osteoporose nach der Menopause und im Alter, Dachverband Osteologie e.V.

<http://www.osteoporosezentrum-hamburg.de/formular/osteo-leitlinien-lang.pdf> Stand:
21.08.2013.

Pang, M.Y.C, Lau, R.W.K. (2012). Altered Bone Geometry of the Radius and Tibia Among Stroke Survivors, in: Preedy, V.R. (Hrsg.). Handbook of Anthropometry Vol. 1, New York: Springer, p. 2126.

Peters, K.M. (2009). Osteoporose, in: Bischoff, H.P., Heisel, J., Locher, H. (Hrsg.), Praxis der konservativen Orthopädie, Stuttgart: Thieme, S. 468.

Phrakonkham, P., Chevalier, J., Desmetz, C., Pinnert, M.F., Bergès, R., Jover, E., Davicco, M.J., Bennetau-Pelissero, C., Coxam, V., Artur, Y., Canivenc-Lavier, M.C. (2007). Isoflavonoid-based bone-sparing treatments exert a low activity on reproductive organs and on hepatic metabolism of estradiol in ovariectomized rats, in: Toxicology and Applied Pharmacology, Vol. 224, Issue 2, pp. 105–115.

Plaza, S.M., Lamson, D.W. (2005). Vitamin K₂ in Bone Metabolism and Osteoporosis, in: Alternative Medicine Review, Vol. 10, No. 1, pp. 24-35.

Potter, S.M., Baum, J.A., Teng, H., Stillman, R.J., Shay, N.F., Erdman, J.W. (1998). Soy protein and isoflavones: their effects on blood lipids and bone density in postmenopausal women. American Journal of Clinical Nutrition, Vol. 68, No. 6, pp. 1375S–1379.

Prior, J.C. (2007). FSH and bone-important physiology or not? in: Trends in Molecular Medicine, Vol. 13, Issue 1, pp. 1-3.

Püschel G. (2011). Hormonsystem, in: Püschel, G., Kühn, H., Kietzmann, T., Höhne, W., Christ, B., Doenecke, D., Koolmann, J. (Hrsg.), Taschenlehrbuch Biochemie, Stuttgart: Thieme, S. 624.

Price, K.R., Fenwick, G.R. (1985). Naturally occurring oestrogens in foods—a review, in: Food Additives & Contaminants No. 2, pp. 73–106.

Rehner G., Daniel, H. (2010). Biochemie der Ernährung. Heidelberg: Spektrum.

Reid, R. (2008). The Locomotor System, in: Levison, D.A., Reid, R., Burt, A.D., Harrison, D.J, Fleming, S. (Hrsg.), Muir's Textbook of Pathology 14th Edition, London: BookPower, S. 334.

Riggs, B.L., Melton, L.J. (1995). The worldwide problem of osteoporosis: insights afforded by epidemiology. *Bone* No. 17, Suppl 5, pp. 505–11.

Rizzoli, R., Bonjour J.P. (1999). Physiology of calcium and phosphate homeostasis, in: Seibel, M.J., Robins, S.P., Bilezikian, J.P. (Hrsg.), *Dynamics of bone and cartilage metabolism*, San Diego: Academic Press, pp. 247–60.

Rizzoli, R., Bonjour, J.P., Ferrari, S.L. (2001). Osteoporosis, genetics and hormones, in: *Journal of molecular endocrinology*, No. 2, pp. 79-89.

Ross, A.C., Taylor, C.L., Yaktine, A.L., del Valle, H.B. (2011.). *Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D*. in: The National Academies Press, pp. 75-124.

Rossouw, J.E., Anderson, G.L., Prentice, R.L., LaCroix, A.Z., Kooperberg, C., Stefanick, M.L., Jackson, R.D., Beresford, S.A., Howard, B.V., Johnson, K.C., Kotchen, J.M. (2002). Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial, in: *Journal of the American Medical Association*, Vol. 288, No. 3, pp. 321–333.

Runge, M. (2008). Diagnostik der Osteoporose- Knochendichtemessung und mehr, in: *Arthritis und Rheuma*, Vol. 28, Heft 3, S. 166-171.

Sackett, D.L., Rosenberg, W.M.C., Gray, J.A.M., Haynes, R.B., Richardson, W.S. (1996). Evidence-based Medicine: What It Is and what It Isn't, in: *British Medical Journal* No. 312, pp. 71-72.

Salari, P., Rezaie, A., Larijani, B., Abdollahi, M. (2008). A systematic review of the impact of n-3 fatty acids in bone health and osteoporosis, in: *Medical Science Monitor*, Vol. 14, No. 3, pp. 37-44.

Schünke, M. (2000). *Funktionelle Anatomie-Topographie und Funktion des Bewegungssystems*, Stuttgart: Thieme.

Schwegler, J., Lucius, R. (2011). *Der Mensch: Anatomie und Physiologie*, Stuttgart: Thieme.

Seibel, M.J. (2006). Biochemical Markers of Bone Turnover Part I: Biochemistry and Variability, in: *Clinical Biochemical Review*, Vol. 26, Nr. 4, pp.97-122.

Saika, M., Inoue, D., Kido, S., Matsumoto, T. (2001). 17β -Estradiol Stimulates Expression of Osteoprotegerin by a Mouse Stromal Cell Line, ST-2, via Estrogen Receptor- α^1 , in: *Endocrinology*, Vol. 142, No. 6, pp. 2205-2212.

Silverthron, D.U. (2009). *Die Hormonelle Kontrolle von Stoffwechsel und Wachstum in: Physiologie*, München: Pearson Studium.

Simonet, W.S., Lacey, D.L., Dunstan, C.R., Kelley, M., Chang, M.-S., Lothy, R., Nguyen, H.Q., Wooden, S., Bennett, L., Boone, T., Shimamoto, G., DeRose, M., Elliott, R., Colombero, A., Tan, H.L., Trail, G., Sullivan, J., Davy, E., Bucay, N., Renshaw-Gegg, L., Hughes, T.M., Hill, D., Pattison, W., Campbell, P., Sander, S., Van, G., Tarpley, J., Derby, P., Lee, R., Boyle, W.J. (1997). Osteoprotegerin: A novel secreted protein involved in the regulation of bone density, in: *Cell*, Vol. 89, Issue 2, pp. 309–319.

Somjen, D., Katzburg, S., Kohen, F., Gayer, B., Sharon, O., Hendel, D., Posner, G.H., Kaye, A.M. (2006). Responsiveness to phytoestrogens in primary human osteoblasts is modulated differentially by a “less-calcemic” analog of 1,25 dihydroxyvitamin D₃: JK 1624F₂-2 (JKF), in: *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 98, Issue 2-3, pp. 139–146.

Song, L., Zhang, X., Zhou, Y. (2011). A synergetic role of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in 17β -estradiol induced-proliferation and differentiation of osteoblastic MC3T3-E1 cells, in: *European Journal of Pharmacology*, Vol. 659, Issue 2-3, pp. 273–280.

Stein, J. , Jauch, K.-W. (2003). *Praxishandbuch klinische Ernährung und Infusionstherapie*, Berlin, Heidelberg, New York: Springer.

Stevenson, J.C., Lees, B., Devenport, M., Cust, M. P., Ganger, K. F. (1989). Determinants of bone density in normal women: Risk factors for future osteoporosis? in: *British Medical Journal*, No. 298, pp. 924–928.

Sunyesz, J.A. (2008). The use of calcium and vitamin D in the Management of osteoporosis, in: *Therapeutics and Clinical Risk Management*, Nr. 4, Issue 4, pp. 827-836.

Teitelbaum, S.L. (2000). Bone Resorption by Osteoclasts, in: *Science*, Vol. 289, Nr. 5484, pp. 1504-1508.

- Theintz, G., Buchs, B., Rizzoli, R., Slosman, D., Clavien, H., Sizonenko, P.C., Bonjour, J.P. (1992). Longitudinal monitoring of bone mass accumulation in healthy adolescents: evidence for a marked reduction after 16 years of age at the levels of lumbar spine and femoral neck in female subjects. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, No. 75, pp. 1060 – 1065.
- Thompson, L.U., Boucher, B.A., Liu, Z., Cotterchio, M., Kreiger, N. (2006). Phytoestrogen content of foods consumed in Canada, including isoflavones, lignans, and coumestrol. *Nutrition and Cancer* Vol. 54, Issue 2, pp. 184–201.
- Tsai, K.S., Hsu, S.H., Cheng, J.P., Yang, R.S. (1997). Vitamin D stores of urban women in Taipei: effect on bone density and bone turnover, and seasonal variation, in: *Bone*, Vol. 20, Issue 4, pp. 371–374.
- Tuppurainen, M.T., Komulainen, M., Kröger H., Honkanen, R., Jurvelin, J., Puntilla, E., Heikkinen, A.M., Alhava, E., Saarikoski, S (1998). Does vitamin D strengthen the increase in femoral neck BMD in osteoporotic women treated with estrogen?, in: *Osteoporosis International*, Vol. 8, Issue 1, pp. 32–38.
- UniProt Consortium (2013). Protein Knowledgebase. UniProt Consortium. <http://www.uniprot.org/uniprot/P01270>. Stand 26.06.2013.
- UniProt Consortium (2013). Protein Knowledgebase. UniProt Consortium. <http://www.uniprot.org/uniprot/P01258> Stand 30.07.2013.
- UniProt Consortium (2013). Protein Knowledgebase. UniProt Consortium. <http://www.uniprot.org/uniprot/P02818> Stand: 17.08.2013.
- Ushiroyama, T., Ikeda, A., Ueki, M. (2002) Effect of continuous combined therapy with vitamin K(2) and vitamin D(3) on bone mineral density and coagulofibrinolysis function in postmenopausal women, in: *Maturitas* No. 41, pp. 211-221.
- Van Leeuwen, J.P., van Driel, M., van den Bemd, G.J., Pols, H.A. (2001). Vitamin D control of osteoblast function and bone extracellular matrix mineralization, in: *Critical reviews in eukaryotic gene expression*, Vol. 11, Issue 1-3, pp. 199–226.

- Wang, H.J., Murphy, P.A. (1994). Isoflavone content in commercial soybean foods, in: *Journal Agricultural and Food Chemistry* No. 42, pp. 1666–1673.
- Walters, M.R. (1992). Newly identified actions of the vitamin D endocrine system, in: *Endocrine Reviews*, Vol. 13, No. 4, pp. 719-64.
- Weaver, C.M., Cheong, J.M. (2005). Soy isoflavones and bone health: the relationship is still unclear. *Journal of Nutrition*, Vol. 135, No. 5, pp. 1243–1247.
- WHO (2013). Recommendation for preventing osteoporosis. World Health Organisation. http://www.who.int/nutrition/topics/5_population_nutrient/en/index25.html. Stand 19.07.2013.
- Windhager, N. (2006). Osteoporosescreeing mit quantitativer Ultrasonometrie bei Krankenhauspatienten, Dissertation, Ludwig-Maximilians Universität zu München, 2006.
- Wong, W.W., Lewis, R.D., Steinberg, F.M., Murray, M.J., Cramer, M.A., Amato, P., Young, R.L., Barnes, S., Ellis, K.J., Shypailo, R.J., Fraley, J.K., Konzelmann, K.L., Fischer, J.G., Smith, E.O. (2009). Soy isoflavone supplementation and bone mineral density in menopausal women: a 2-y multicenter clinical trial, in: *The American Journal of Clinical Nutrition*, Vol. 90, No. 5, pp. 1433-1439.
- Wüster, C., Albanese, C., de Aloysio, D., Duboeuf, F., Gambacciani, M., Gonnelli, S., Glüer, C.C., Hans, D., Joly J, Reginster JY, de Terlizzi F, Cadossi R. (2000). Phalangeal Osteosonogrammetry Study: Age-related Changes, Diagnostic Sensitivity and Discrimination Power, in: *Bone and Mineral* No. 15, pp. 1603-1614.
- Yildiz, F. (2006). *Phytoestrogens in Functional Food*, Boca Raton: Taylor&Francis.
- Zhao, J., Jiang, Y., Hans, D., Augat, P., Genant, H.K. (1998). pQCT, DXA, and ultrasound measurements in the distal radius in: *Osteoporosis International* No. 8, p. 515.

V Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere, dass ich vorliegende Arbeit ohne fremde Hilfe selbständig verfasst und nur die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe. Wörtlich oder dem Sinn nach aus anderen Werken entnommene Stellen sind unter Angabe der Quelle kenntlich gemacht.

Hamburg, 05.09.2013

Dorota Lazarski

VI Anhangsverzeichnis

A. Anamnesefragebogen zur Beurteilung des Osteoporoserisikos	1
B. Tests zur Beurteilung der Muskelkraft und Koordination (DVO, 2009).....	3
C. Review I: Mögliche Wechselwirkung zwischen Soja-Isoflavon und Vitamin D im Knochenstoffwechsel.....	4
D. Studie I: Ausgangswerte der Probandinnen.....	4
E. Studie I: Randomisierung und Compliance	5
F. Studie I: Ergebnisse der Knochendichtemessungen beider Gruppen.....	5
G. Studie I: Ergebnisse der Laborwerte bei determinierten Visiten	6
H. Studie I: 25(OH)2D3 Konzentration von Placebo und GBB und in Korrelation zu PTH	6
I. Studie I: Ergebnisse der Blutanalysen beider Gruppen bei determinierten Visiten	7
J. Studie II: Ausgangswerte der Probandinnen.....	8
K. Studie II: Randomisierung, Compliance, Abbruchrate.....	9
L. Studie II: Durchschnittswerte (SD) von Serum Genistein und Daidzein bei determinierten Visiten	9
M. Studie II: Durchschnittlicher prozentuale Veränderung (SD) der BMD im Vergleich zur Baseline	10
N. Studie II: Durchschnittliche prozentuale Veränderungen (SD) der Knochenmarker im Vergleich zur Baseline.....	10
O. Studie III: Studienverlauf.....	11
P. Studie III: Zusammensetzung der Isoflavon-Supplemente und tägliche Zufuhr.....	11
Q. Studie III: Ausgangswerte der Probandinnen	12
R. Studie III: Biochemischen Knochenmarker und weitere knochenregulierende Hormone zu Beginn und zum Ende der Intervention	12
S. Studie III: Relative Resorption (RR) eingesetzter Pharmazeutika und Isoflavone	13
T. Studie III: Graphische Darstellung der Relativen Resorption (RR) eingesetzter Pharmazeutika und Isoflavone.....	13
U. Studie IV: Ausgangsparameter der Probandinnen.....	14

V. Studie IV: Serum-Genistein-Werte zur Baseline, nach einem Jahr und nach zwei Jahren	14
W. Studie IV: Prozentuale Veränderung der BMD am Schenkelhals (FN) und an der Lendenwirbelsäule (LS) behandelt mit Genistein oder Placebo	15
X. Studie IV: Prozentuale Veränderungen des Stiffness-Index, der Amplituden-abhängigen Schallgeschwindigkeit (AD-SOS) und der Knochentransmissionszeit (BTT).....	16
Y. Studie IV: Prozentuale Wirkung nach zwei Jahren, definiert als Differenz zwischen Genistein und Placebo	17
Z. Korrelation zwischen den Veränderungen der QUS Parameter, BMD Messungen, laborchemischen Knochenmarkern und Serum-Genistein-Werten	17

A. Anamnesefragebogen zur Beurteilung des Osteoporoserisikos

Osteoporose - Risikofragebogen für Patienten (Seite 1)

Sehr geehrte Patientin ! Sehr geehrter Patient !

Der folgende Fragebogen soll helfen, Ihre Knochen-Gesundheit zu ermitteln. Bitte beantworten Sie deshalb die folgenden Fragen, die zur Beurteilung Ihres Osteoporose-Risikos dienen. Alle Informationen unterliegen der ärztlichen Schweigepflicht.

Name: _____ Vorname: _____
Geboren am: ____ 19____ Alter ____ Jahre Geschlecht: männlich weiblich

Ist bei Ihnen eine Osteoporose bekannt ? Ja Nein
Wenn ja: seit ____ Jahren

Regelblutung bei Frauen

- Wie alt waren Sie bei der 1. Regel ? _____ Jahre
- Wie alt waren Sie bei der letzten Regelblutung? _____ Jahre

Gibt es Osteoporose in Ihrer Familie? Ja Nein unbekannt
Hat bzw.hatte Ihre Großmutter / Mutter / Schwester / Bruder eine Osteoporose, einen krummen Rücken / einen Unterarm-, Wirbel- oder Schenkelhalsbruch? (Bitte zutreffendes unterstreichen)

Leiden Sie an einer der folgenden Erkrankungen:

- an einer Schilddrüsenerkrankung, wegen der Sie Tabletten einnehmen ? Ja Nein
- an chronischem Durchfall ? Ja Nein
- an einem entzündlichem Gelenksrheumatismus? Ja Nein
- an einem Anfallsleiden (Epilepsie) / nehmen Sie deswegen Tabletten? Ja Nein

Einnahme von Kortisonpräparaten?

- Nehmen oder nahmen Sie häufig Cortison - Präparate ein? Ja Nein unbekannt
z.B. wegen Allergie, Rheuma, Asthma, wegen einer Transplantation

Nehmen Sie blutgerinnungshemmende Medikamente ein? Ja Nein

Milchprodukte in Ihrer Ernährung

- Trinken Sie täglich ca. ½ Liter Milch oder Joghurt ? Ja Nein
- Essen Sie täglich ca. 2 Scheiben Käse? Ja Nein

Regelmäßiger Alkoholkonsum?

- Trinken Sie täglich mehr als 2 Gläser eines alkoholischen Getränkes Ja Nein

Regelmäßiger Tabakkonsum?

- Rauchen Sie täglich 20 Zigaretten oder mehr? Ja Nein

Haben Sie Rückenschmerzen?

- beim Tragen oder Heben, beim längeren Stehen, Sitzen oder Laufen ? Ja Nein
- Sind diese Rückenschmerzen neu / haben sich akut verschlechtert? Ja Nein

Ihre Körpergröße

- Was war Ihre maximale Körpergröße? ____ , ____ m
- Sind Sie in den letzten Jahren kleiner geworden ? Ja Nein
wenn ja: um ____cm

Modifiziert nach DVO – REKO – Osteoporose – Risikofragebogen für Patienten

Osteoporose - Risikofragebogen für Patienten (Seite 2 von Pat. _____)

Ihr Körpergewicht

- Was war Ihr höchstes Gewicht? im Alter von _____ Jahren _____ kg
- Haben Sie in den letzten 2 Jahren an Gewicht abgenommen? Ja Nein
wenn ja: um wie viele kg _____ ?

Wie aktiv sind Sie körperlich ?

- verlassen Sie (fast) täglich länger als 1 Stunde Ihre Wohnung zum Einkaufen oder Wandern, Radfahren, Gartenarbeit u.a. Ja Nein
Machen Sie Gymnastik, Sport u.a.m.? Ja Nein
Wenn ja: wie oft pro Woche: _____

Ist Ihre Beweglichkeit eingeschränkt?

- Sind Sie gehbehindert? Ja Nein
- Benutzen Sie eine Gehhilfe? Ja Nein
- Haben Sie Probleme mit Ihren Füßen? Ja Nein

Fragen zu Ihrem Sturzrisiko:

- Sind Sie innerhalb des letzten Jahres gestürzt ? Ja Nein
- Leiden Sie an Schwindel? Ja Nein
- Hatten Sie einen Schlaganfall ? Ja Nein
- Nehmen Sie Schlaf- oder Beruhigungsmittel ein? Ja Nein
- Sehen Sie schlecht? (z.B. sehr starke Brille, Stabsehen, einäugig) Ja Nein

Fragen zu Ihren Knochenbrüchen

- Hatten Sie seit dem 50. Lebensjahr einen Knochenbruch? Ja Nein

Wenn „Ja“, welchen und wann:

- Wirbelkörper mit _____ Jahren
Rippe..... mit _____ Jahren
Schenkelhals mit _____ Jahren
Unterschenkel..... mit _____ Jahren
Oberarm..... mit _____ Jahren
Unterarm mit _____ Jahren
anderer Knochen: _____ mit _____ Jahren

Wodurch kam es zu diesem Knochenbruch (bzw. Knochenbrüchen)?

- ohne besondere Ursache, im Alltagsleben (z.B. beim Heben, Tragen, Laufen, Ausrutschen, Stolpern u.ä.)
durch schweren Sturz, z.B. durch Sturz von der Leiter, vom Stuhl, auf der Treppe, vom Baum..
durch einen Unfall, z.B. Verkehrsunfall

- Nehmen Sie derzeit Medikamente ein? Ja Nein

Wenn ja: welche?

Mit der Erfassung dieser Daten in der Praxisdokumentation bin ich einverstanden

Datum: _____ Unterschrift: _____

Modifiziert nach DVO – REKO – Osteoporose – Risikofragebogen für Patienten

B. Tests zur Beurteilung der Muskelkraft und Koordination (DVO, 2009)

Durchführung des „Timed up & go“-Tests

Ausrüstung: Stuhl (mit Armlehne), Streckenmarkierung (auf dem Fußboden) 3,0 m, Stoppuhr.

Die Versuchsperson sitzt aufrecht auf einem Stuhl mit Armlehne. Die Aufforderung ist: „Stehen Sie bitte aus diesem Stuhl auf, gehen bis zu dieser Markierung (3 Meter), drehen sich um und setzen sich wieder genauso hin! (Üblicherweise im Alltag verwendete Gehhilfen dürfen benutzt werden.) Ich werde die Zeit messen, die Sie dafür brauchen.“

Auswertung:

- Messung ≤ 10 Sekunden: keine Mobilitätsstörung anzunehmen,
- Messung 11 bis 29 Sekunden: Interpretation nur in der Zusammenschau mit anderen Parametern möglich,
- Messung ≥ 30 Sekunden: Mobilitätsstörung und Sturzgefährdung anzunehmen.

Durchführung des „Tandemstand“-Tests

Ausrüstung: evtl. gerade Linie (auf dem Fußboden) 0,5 m, Stoppuhr.

Die Versuchsperson steht aufrecht. Die Aufforderung ist: „Setzen Sie beide Füße genau hintereinander auf eine (gedachte) Linie, die Ferse des vorderen Fußes genau vor die Fußspitze des hinteren. Fühlen Sie sich dabei unsicher, so suchen Sie bitte stabilen seitlichen Halt z. B. in einer Zimmerecke oder an einem Tisch. Ich werde die Zeit messen, wie lange Sie so stehen können.“

Auswertung:

- Messung ≥ 10 Sekunden: keine Gleichgewichtsstörung anzunehmen,
- Messung < 10 Sekunden: Gleichgewichtsstörung und Sturzgefährdung anzunehmen.

Ggf. sollte sich ein umfangreicheres geriatrisches Assessment anschließen.

Durchführung des „Chair-rising“-Tests

Dieser Test prüft vor allem die Kraft der unteren Extremität.

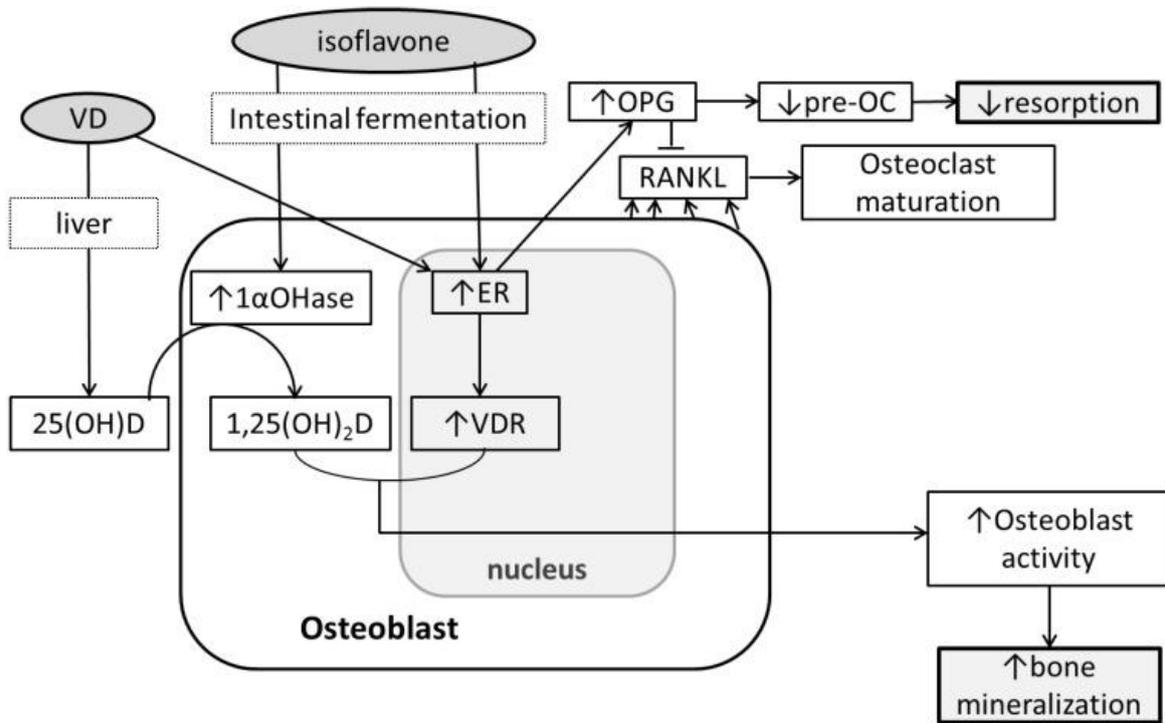
Ausrüstung: Stuhl (ohne Armlehne), Stoppuhr.

Die Versuchsperson sitzt aufrecht auf einem Stuhl ohne Armlehne. Die Aufforderung ist: „Stehen Sie bitte fünfmal hintereinander so schnell Sie können ganz auf, die Beine sollen gestreckt sein! Sie sollen die Arme nicht zu Hilfe nehmen! (wenn aus Sicherheitsgründen vertretbar: Bitte kreuzen Sie die Arme vor der Brust!) Ich werde die Zeit messen, die Sie dafür brauchen.“

Auswertung:

- Messung ≤ 10 Sekunden: keine kraftbedingte Gangunsicherheit anzunehmen,
- Messung ≥ 11 Sekunden: Gangunsicherheit (hauptsächlich wegen Muskelschwäche) anzunehmen.

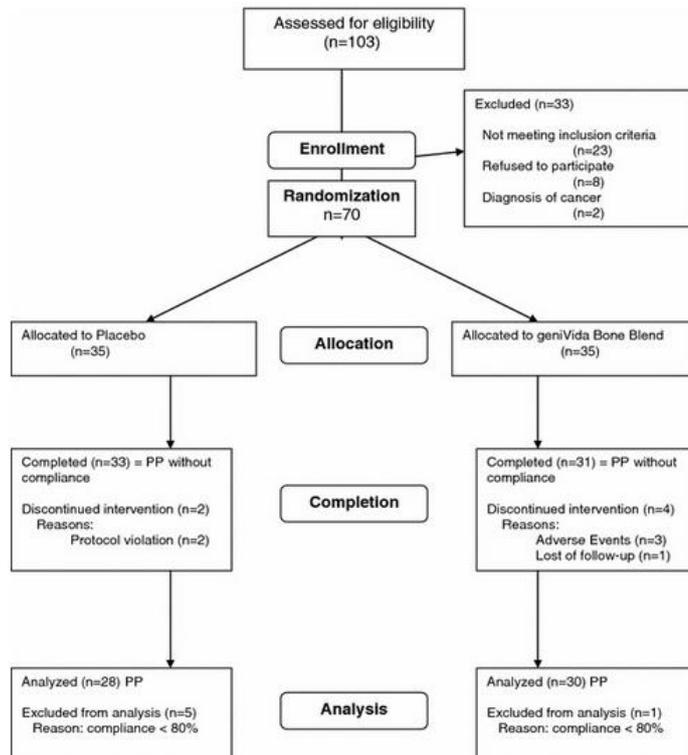
C. Review I: Mögliche Wechselwirkung zwischen Soja-Isoflavon und Vitamin D im Knochenstoffwechsel



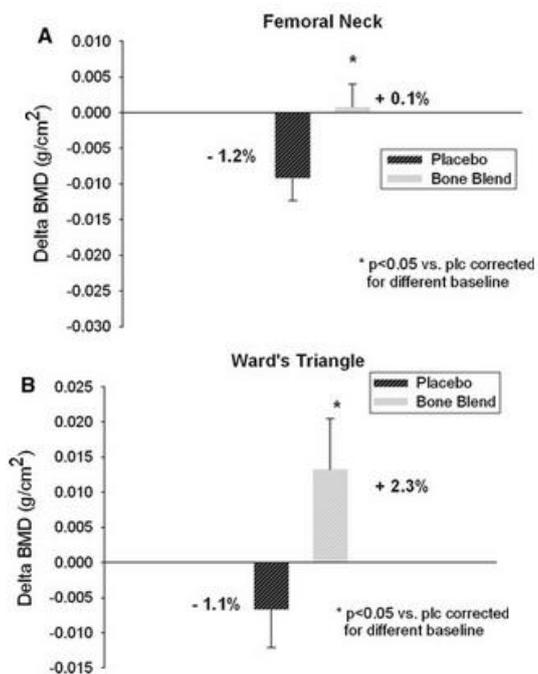
D. Studie I: Ausgangswerte der Probandinnen

Parameter	geniVida™ bone blend n = 31	Placebo n = 33	All + n = 64
Age (years)	54.8 ± 2.5	54.7 ± 2.3	54.7 ± 2.4
Body weight (kg)	68.0 ± 9.2	71.1 ± 9.0	69.6 ± 9.2
BMI (kg/m ²)	24.9 ± 2.8	25.9 ± 2.8	25.4 ± 2.9
Fat mass (%)*	38.0 ± 6.0	36.8 ± 6.1	37.5 ± 6.1
Years since menopause (Y)	2.2 ± 0.8 (n = 30)	2.1 ± 0.8 (n = 32)	2.1 ± 0.8 (n = 62)
Hot flashes	24/31	27/33	51/64
Hot flashes since (Y)	5.4 ± 5.8 (n = 24)	8.1 ± 10.3 (n = 27)	6.8 ± 8.5 (n = 51)
T-score (lumbar spine)	-0.58 ± 1.06	-0.48 ± 1.33	-0.53 ± 1.20
T-score (hip)	-0.52 ± 0.86	-0.53 ± 0.84	-0.52 ± 0.84
Previous fractures more than 1 year before inclusion	0/31	0/33	0/64
Intake of concomitant medication	24/31	26/33	50/64
Intake of multivitamins ^b	15/31	14/33	29/64
Smokers	1/31 (max 10 cigarettes/day)	0/33	1/64
Systolic BP (mmHg)	114 ± 13	115 ± 11	114 ± 12
Diastolic BP (mmHg)	72 ± 9	73 ± 8	73 ± 9
Heart rate (bpm)	68 ± 7	67 ± 8	67 ± 7
Total cholesterol(mg/mL)	223.0 ± 35.4*	205.5 ± 29.0	214.0 ± 33.2
Estradiol (pg/mL)	10.2 ± 2.1	10.4 ± 3.3	10.3 ± 2.8
Follicle-stimulating hormone (mIU/mL)	109.9 ± 47.4	104.8 ± 33.7	107.3 ± 40.7

E. Studie I: Randomisierung und Compliance



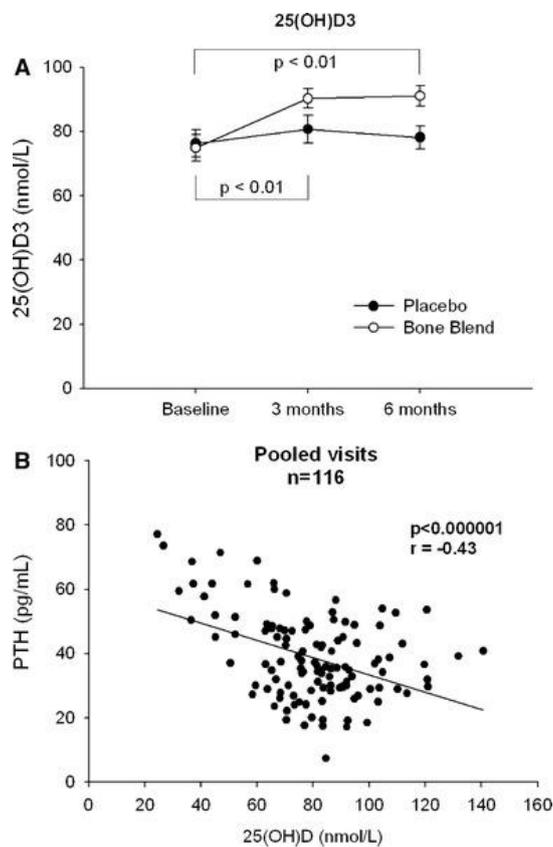
F. Studie I: Ergebnisse der Knochendichtemessungen beider Gruppen



G. Studie I: Ergebnisse der Laborwerte bei determinierten Visiten

Parameter	geniVida bone blend (n = 30)			Placebo (n = 28)			p = GBB versus Plc	
	BSL	3 months (V2)	6 months (V3)	BSL	3 months (V2)	6 months (V3)	BSL/V2	BSL/V3
BAP (µg/L)	14.68 (4.64)	15.17 (4.38)	15.06 (4.87)	15.94 (3.96)	14.52 (3.03)	14.71 (3.93)	0.002	0.054
Nbx/crt (nM/mM crt)	40.73 (11.75)	41.33 (12.15)	45.23 (14.17)	44.46 (13.01)	44.04 (12.54)	41.46 (12.01)	ns	0.024
Genistein tot (ng/mL)	2.1 (9.7)	96.1 (88.1)	129.8 (179.7)	4.8 (14.5)	1.5 (4.4)	2.6 (5.6)	<0.001	<0.0001
25(OH)D (nM/L)	74.9 (23.0)	90.2 (16.5)	91.1 (17.8)	76.3 (22.2)	80.7 (23.1)	78.1 (18.8)	0.009	0.009
Phylloquinone (nmol/L)	2.2 (3.1)	2.6 (2.9)	2.1 (2.1)	1.5 (2.2)	1.6 (1.3)	1.2 (0.9)	0.07	ns
EPA (µg/100µL)	2.87 (1.06)	Not determined	7.16 (2.86)**	4.17 (4.28)	Not determined	4.09 (4.05)	na	0.003*
DHA (µg/100µL)	7.29 (2.71)	Not determined	11.17 (4.16)**	9.35 (5.20)	Not determined	8.34 (5.59)	na	<0.05*

H. Studie I: 25(OH)2D3 Konzentration von Placebo und GBB und in Korrelation zu PTH



I. Studie I: Ergebnisse der Blutanalysen beider Gruppen bei determinierten Visiten

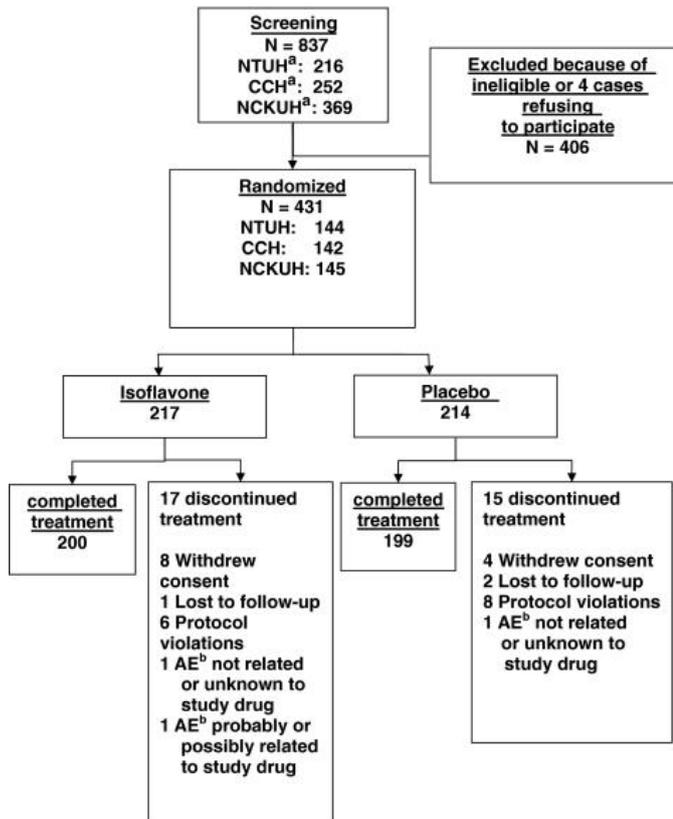
Parameter	geniVida bone blend (n = 31) p = V3 versus scr ^a			Placebo (n = 33) p = V3 versus scr ^a			scr p = GBB versus Plc ^b	V3 p = GBB versus Plc ^b
	Screening	6 months (V3)		Screening	6 months (V3)			
TC (mg/mL)	223.0 (35.4)	207.8 (28.5)	p = 0.014	205.5 (29.0)	195.9 (25.7)	p = 0.002	p = 0.033	ns
LDL-C (mg/mL)	130.3 (33.0)	122.4 (31.7)	ns	118.0 (26.7)	115.1 (24.2)	ns	ns	ns
HDL (mg/mL)	72.3 (15.9)	67.7 (16.1)	p = 0.014	68.8 (16.3)	62.1 (13.4)	<0.0001	ns	ns
Estradiol (pg/mL)	10.2 (2.1)	11.5 (3.9)	p = 0.044	10.4 (3.3)	10.7 (2.3)	ns	ns	ns
PTH (pg/mL)	42.4 (13.8)	38.0 (11.4)	p = 0.015	37.8 (13.3)	37.8 (14.5)	ns	ns	ns

Scr screening, V3: 6-month visit, Reference ranges: TC: <200 mg/mL; LDL-C: <100 mg/mL; HDL: 40–59 mg/mL; Estradiol: <20 pg/mL; PTH: 12–88 pg/mL, ns nonsignificant, TC total cholesterol, PTH parathyroid hormone

J. Studie II: Ausgangswerte der Probandinnen

	Isoflavone (N=217) Mean (SD) or number (%)	Placebo (N=214) Mean (SD) or number (%)	<i>p</i> value ^a
Age (years)	55.8 (3.6)	55.9 (4.0)	0.16
Weight (kg)	54.9 (5.9)	54.5 (7.2)	0.51
Body mass index (kg/m ²)	23.0 (2.4)	22.8 (2.8)	0.42
Menopausal duration (years)	5.0 (2.7)	5.1 (2.6)	0.59
History of hysterectomy			
Yes	28 (13%)	24 (11%)	0.59
Cigarette smoking			
Past	1	0	
Habitual alcohol consumption			
Yes	6 (3%)	7 (3%)	0.88
History of diabetes			
Yes	17 (8%)	16 (7%)	0.89
History of hypertension			
Yes	35 (16%)	38 (18%)	0.65
History of hyperlipidemia			
Yes	108 (50%)	96 (45%)	0.31
Lumbar spine BMD (g/cm ²)			
NTUH	0.808 (0.081)	0.815 (0.095)	0.63
CCH	0.860 (0.082)	0.865 (0.077)	0.74
NCKUH	0.920 (0.081)	0.918 (0.072)	0.92
Total proximal femur BMD ^b (g/cm ²)			
CCH	0.795 (0.084)	0.772 (0.089)	0.12
NCKUH	0.832 (0.082)	0.827 (0.105)	0.71
Bone alkaline phosphatase (µg/L)	15.96 (5.58)	16.41 (5.83)	0.42
Urinary N-telopeptide of type 1 collagen/creatinine (nM BCE/mM)	62.12 (29.10)	67.29 (45.25)	0.17
Daily physical activity (total METs/week)	4,364 (2,287)	4,320 (2,268)	0.85
Daily isoflavone intake (mg)	23 (21)	25 (28)	0.37
Daily energy intake (kcal)	1,535 (502)	1,547 (512)	0.82
Daily calcium intake (mg)	538 (340)	508 (367)	0.11

K. Studie II: Randomisierung, Compliance, Abbruchrate



L. Studie II: Durchschnittswerte (SD) von Serum Genistein und Daidzein bei determinierten Visiten

Variable and group	Baseline (N)	4 weeks (N)	48 weeks (N)	96 weeks (N)
Genistein (µ mol/L)				
Isoflavone	0.34 (1.26) (212)	6.85 (5.05) (210)	4.10 (4.34) (204)	3.30 (3.18) (200)
Placebo	0.23 (0.74) (211)	0.19 (0.71) (210)	0.20 (0.67) (203)	0.24 (0.80) (198)
Difference (95% CI)	0.11 (-0.08, 0.31)	6.66 (5.96, 7.35)	3.91 (3.30, 4.51)	3.05 (2.60, 3.51)
p value	0.80	<0.001	<0.001	<0.001
Daidzein (µ mol/L)				
Isoflavone	0.09 (0.36) (212)	1.44 (1.35) (212)	1.12 (1.16) (204)	0.73 (0.92) (200)
Placebo	0.05 (0.20) (211)	0.07 (0.35) (211)	0.10 (0.48) (203)	0.04 (0.23) (199)
Difference (95% CI)	0.05 (-0.01, 0.10)	1.38 (1.19, 1.56)	1.02 (0.85, 1.19)	0.69 (0.56, 0.82)
p value	0.34	<0.001	<0.001	<0.001

p value indicates difference between the isoflavone and placebo groups assessed by two-sample t test

M. Studie II: Durchschnittlicher prozentuale Veränderung (SD) der BMD im Vergleich zur Baseline

Measurement	Follow-up (weeks)	Isoflavone Mean percentage change (SD) (N)	Placebo Mean percentage change (SD) (N)	Difference Mean (95% CI)	<i>p</i> value ^a	<i>p</i> value ^b	<i>p</i> value for time trend ^c
Lumbar spine	24	0.24 (3.25) (205)	-0.04 (3.14) (205)	0.27 (-0.35, 0.89)	0.38	0.42	<0.001
	48	-0.29 (3.12) (202)	-0.55 (3.52) (199)	0.26 (-0.39, 0.91)	0.43		
	72	-1.14 (3.58) (200)	-0.92 (3.96) (199)	-0.23 (-0.97, 0.52)	0.55		
	96	-1.09 (3.95) (200)	-1.72 (4.12) (199)	0.63 (-0.17, 1.42)	0.12		
Total proximal femur	24	-0.02 (2.63) (136)	-0.13 (2.43) (136)	0.11 (-0.49, 0.71)	0.72	0.39	<0.001
	48	-0.0004 (2.93) (133)	-0.40 (2.72) (133)	0.40 (-0.28, 1.08)	0.25		
	72	-0.13 (3.31) (129)	-0.12 (3.85) (130)	-0.004 (-0.88, 0.88)	0.99		
	96	-0.81 (3.59) (133)	-1.35 (2.67) (132)	0.54 (-0.23, 1.30)	0.17		

^a*p* value denotes the comparison of mean percentage changes from respective baseline between the isoflavone and placebo groups by two-sample *t* test

^b*p* value indicates the comparison of mean percentage change from respective baseline between the isoflavone and placebo groups using the generalized estimating equation (GEE) methods to control for time effect in the repeated measurement

^c*p* value for time trend denotes the repeated measurement of time trend in the GEE model

BMD bone mineral density

N. Studie II: Durchschnittliche prozentuale Veränderungen (SD) der Knochenmarker im Vergleich zur Baseline

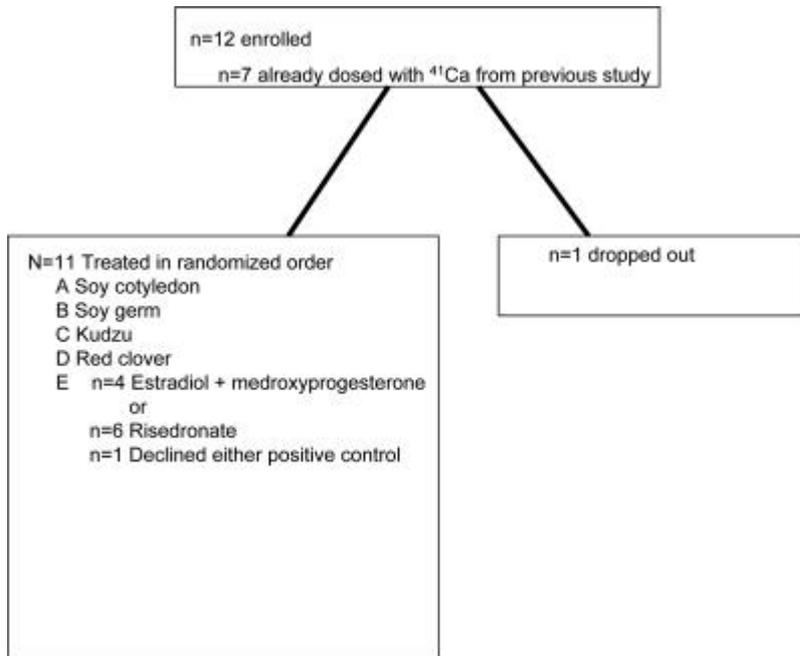
Measurement	Follow-up (weeks)	Isoflavone	Placebo	Difference Mean (95% CI)	<i>p</i> value ^a	<i>p</i> value ^b
		Mean percentage change (SD) (N)	Mean percentage change (SD) (N)			
Serum bone alkaline phosphatase (BAP, µg/L)	48	-4.42 (29.13) (201)	-3.64 (39.10) (200)	-0.78 (-7.55, 5.99)	0.82	0.78
	96	-1.98 (28.56) (199)	-4.23 (28.82) (199)	2.24 (-3.41, 7.90)	0.44	
Urinary N-telopeptide/creatinine (NTx/Cr, nM BCE/mM)	48	12.80 (47.04) (201)	10.53 (58.71) (199)	2.26 (-8.19, 12.72)	0.67	0.43
	96	9.01 (50.08) (198)	3.23 (66.22) (198)	5.77 (-5.82, 17.37)	0.33	

^a*p* value denotes the comparison of changes from respective baseline between the isoflavone and placebo groups by two-sample *t* test

^b*p* value indicates the comparison of mean change from respective baseline between the isoflavone and placebo groups using the generalized estimating equation (GEE) methods to control for time effect in the repeated measurement

BAP bone-specific alkaline phosphatase, NTx/Cr N-telopeptide/creatinine

O. Studie III: Studienverlauf



P. Studie III: Zusammensetzung der Isoflavon-Supplemente und tägliche Zufuhr

Plant source brand (manufacturer)	Soy cotyledon Prevastein (Cognis)	Soy germ SoyLife EXTRA (Acatris)	Red clover Rimostil (Novagen)	Kudzu Kudzu (Nature's Plus)
No. capsules or tablets/d	7	7	2	3
Composition, mg (aglycones)/daily dose				
Daidzin	55.37	49.42	0	21.60
Glycitin	0	70.35	0	0
Genistin	158.55	17.15	0	0.96
Daidzein	3.08	11.83	1.75	2.04
Glycitein	0	2.77	0.102	0.68
Genistein	2.67	1.23	0.562	0
Puerarin	0	0	0	143
Formononetin	0	0	31.10	0
Biochanin A	0	0	6.40	0
Total	220	153	40	168

Q. Studie III: Ausgangswerte der Probandinnen

Characteristics	Mean ± SD (minimum, maximum) (n = 11)
Age, yr	59.8 ± 4.7 (52, 65)
Height, m	1.61 ± 0.05 (1.5, 1.7)
Weight, kg	79.2 ± 8.5 (65.1, 88.0)
Body mass index, kg/m ²	30.6 ± 3.6 (24.5, 35.4)
Time after menopause, yr	11.25 ± 0.5 (6, 24)
Total body bone mineral density, g/cm ²	1.13 ± 0.10 (0.98, 1.28)
Total body bone mineral content, g	2560 ± 468 (2037, 3489)
Dietary calcium, mg/d	718 ± 232 (347, 992)
Dietary phosphorus, mg/d	1032 ± 260 (260, 624)
Dietary magnesium, mg/d	240 ± 62 (154, 346)
Serum FSH, mIU/ml	50.9 ± 22.0 (27.4, 92.0)
Serum SHBG, nmol/liter	170.5 ± 33.4 (130.7, 236)
Serum estrone, pg/ml	31.4 ± 8.7 (18.3, 46.9)
Serum estrone sulfate, ng/ml	0.38 ± 0.12 (0.2, 0.5)
Serum estradiol, pg/ml	11.9 ± 2.8 (7.8, 17.5)
Fractional calcium absorption	0.32 ± 0.22 (0.082, 0.62)

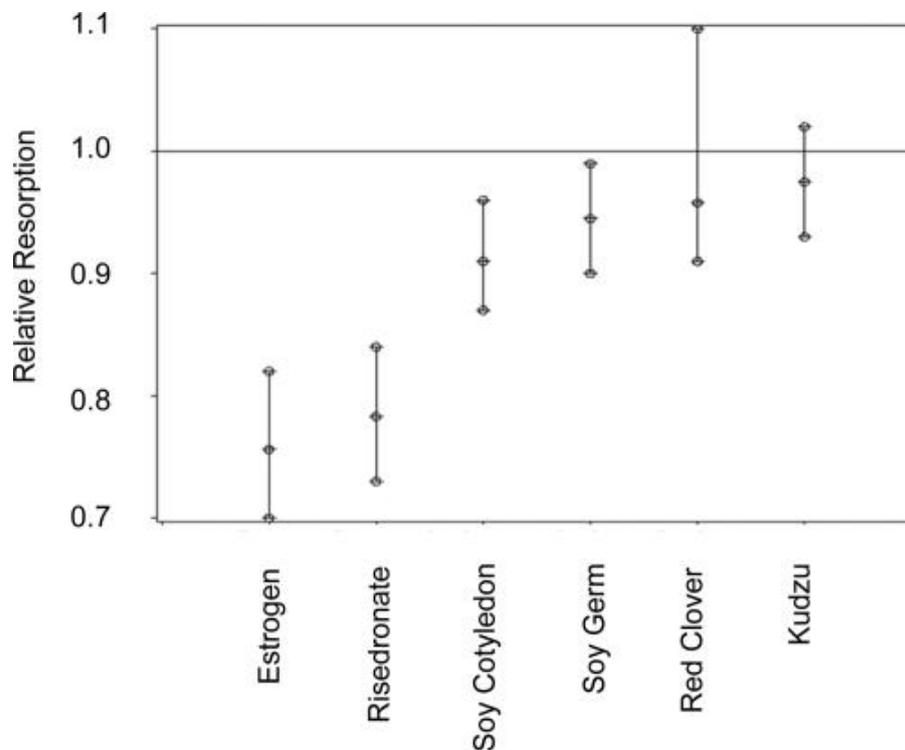
R. Studie III: Biochemischen Knochenmarker und weitere knochenregulierende Hormone zu Beginn und zum Ende der Intervention

Variable	Intervention, mean ± SD (minimum, maximum)						P value
	Baseline	Estradiol/risedronate	Soy cotyledon	Soy germ	Red clover	Kudzu	
Serum BAP, ng/ml	15.8 ± 5.0 (9.6, 25.0)	12.6 ± 5.9 (0.3, 23.3)	14.6 ± 4.2 (9.1, 21.5)	13.3 ± 7.3 (0.3, 23.0)	12.6 ± 5.5 (0.3, 21.4)	15.2 ± 6.9 (0.3, 25.5)	n.s.
Serum Alk Phos, U/liter	82.4 ± 23.2 ^a (42, 125)	73.1 ± 22.8 (42, 115)	78.9 ± 26.4 (43, 133)	69.2 ± 27.5 (1, 94)	59.1 ± 31.5 ^b (3, 112)	82.9 ± 24.7 (39, 127)	0.0352
Urinary NTx/Cr, nmol BCE/mmol creatinine							
Fasting	27.9 ± 14.8 (9.1, 54.4)	20.5 ± 13.0 (5.6, 44.3)	18.7 ± 10.4 (1.3, 34.1)	28.4 ± 12.6 (6.7, 46.2)	23.3 ± 9.2 (8.4, 33.7)	30.7 ± 16.2 (9.0, 68.5)	n.s.
24 h	17.2 ± 9.9 (5.3, 39.5)	13.5 ± 6.8 (2.9, 21.6)	15.3 ± 7.2 (6.9, 30.0)	17.4 ± 7.2 (4.9, 27.1)	16.2 ± 6.5 (8.4, 31.3)	20.6 ± 8.5 (4.9, 33.0)	n.s.
Urinary fDPP/Cr, nmol/mmol							
Fasting	6.1 ± 1.5 (4.1, 8.5)	6.6 ± 2.6 (3.9, 12.5)	5.3 ± 2.2 (0.6, 8.9)	6.1 ± 1.8 (4.2, 10.0)	5.9 ± 1.3 (4.5, 8.4)	6.0 ± 1.6 (3.9, 9.5)	n.s.
24 h	4.7 ± 1.5 (2.8, 7.1)	4.6 ± 1.2 (2.7, 7.0)	4.4 ± 1.0 (3.3, 6.6)	4.7 ± 1.3 (2.8, 7.2)	5.2 ± 1.7 (2.5, 8.0)	4.9 ± 0.9 (3.7, 6.7)	n.s.
Urinary calcium, mmol/24 h	7.4 ± 3.1 (2.9, 14.3)	8.1 ± 7.1 (2.1, 25.4)	9.1 ± 7.9 (2.0, 26.3)	8.9 ± 5.9 (1.3, 22.6)	8.6 ± 4.6 (2.1, 14.7)	9.7 ± 8.0 (3.5, 28.7)	n.s.
Urinary phosphorous, mmol/24 h	40.2 ± 12.9 (23.0, 68.9)	43.0 ± 28.1 (15.8, 114.2)	55.3 ± 27.1 (30.0, 101.7)	43.4 ± 19.5 (22.0, 71.1)	41.8 ± 15.8 (22.7, 74.6)	48.5 ± 27.2 (14.9, 99.2)	n.s.
Serum PTH, pg/ml	40.0 ± 23.7 (15.8, 95.8)	45.6 ± 17.5 (28.5, 78.5)	41.5 ± 26.7 (10.7, 104.2)	40.5 ± 20.6 (14.9, 82.4)	43.9 ± 28.3 (11.5, 114.6)	35.3 ± 26.2 (11.2, 102.4)	n.s.
Serum 25 (OH)D, ng/ml	22.9 ± 6.5 (8.9, 31.9)	24.4 ± 4.9 (18.5, 33.8)	26.7 ± 4.4 (20, 32.7)	24.2 ± 5.1 (17.6, 33.0)	24.3 ± 5.0 (17.3, 35.2)	25.9 ± 6.0 (19.3, 37.3)	n.s.
Serum equol n = 11	20.0 ± 43.5 (0.4, 142.5)	4.6 ± 5.7 ^c (0.2, 17.4)	6.44 ± 135.8 (0, 444.5)	1933 ± 3151 ^b (0, 7845)	1703 ± 2601 ^b (1, 7605)	5278 ± 12750 ^b (0, 42100)	0.0002
Equol producers n = 5	38.2 ± 69.6 (2.1, 142.5)	5.0 ± 7.4 (1, 17.4)	1415 ± 1802 (7, 4445)	2869 ± 3280 (341, 7585)	3722 ± 2752 (915, 7605)	11604 ± 17739 (619, 42100)	n.s.
Equol non producers n = 6	7.9 ± 8.2 (0, 20.7)	4.2 ± 4.3 (1, 11.5)	2 ± 1 (0, 4)	1309 ± 3202 (0, 7845)	21 ± 37 (1, 96)	6 ± 5 (0, 15)	n.s.
Serum daidzein, nmol/liter	65.6 ± 112.7 ^c (0, 383)	197.0 ± 577.4 ^c (0, 1840)	2425 ± 1990 ^b (7, 5010)	5663 ± 4489 ^b (80, 13350)	1066 ± 1178 ^b (59, 3395)	1809 ± 2091 ^b (0, 6560)	<0.0001
Serum DHD, nmol/liter	45.5 ± 99.2 ^c (0, 321)	5.0 ± 6.8 ^c (0, 21)	776 ± 733 ^b (4, 2190)	1263 ± 970 ^b (50, 2600)	762 ± 903 ^b (25, 2410)	975 ± 1400 ^b (0, 4570)	<0.0001
Serum O-DMA, nmol/liter	5.2 ± 8.6 ^c (0, 26.5)	2.2 ± 6.2 ^c (0.19, 6)	999 ± 1009 ^b (0, 2385)	572 ± 535 ^b (42, 1590)	282 ± 382 (0, 1165)	366 ± 555 (0, 1765)	0.0004
Serum genistein, nmol/liter	74 ± 52 ^c (17, 185)	126 ± 203 ^c (15, 665)	3489 ± 3172 ^b (24.5, 10350)	835 ± 694 ^b (41, 2100)	138 ± 214 ^c (9, 761)	101 ± 109 ^c (19, 391)	<0.0001
Serum total (aglycones) isoflavones, nmol/liter	210 ± 294 ^c (39, 1033)	335 ± 573 ^c (16, 1859)	8333 ± 5740 ^b (38, 16400)	10266 ± 7930 ^b (261, 25445)	3951 ± 2802 ^b (396, 8554)	8529 ± 13510 ^b (26, 45547)	<0.0001

S. Studie III: Relative Resorption (RR) eingesetzter Pharmazeutika und Isoflavone

Intervention	RR	95% Confidence interval	P value
Estrogen	0.756	0.70–0.82	<0.0001
Risedronate	0.783	0.73–0.84	<0.0001
Soy cotyledon	0.910	0.87–0.96	0.0002
Soy germ	0.945	0.90–0.99	0.0312
Red clover	0.958	0.91–1.10	0.0928
Kudzu	0.975	0.93–1.02	0.3100

T. Studie III: Graphische Darstellung der Relativen Resorption (RR) eingesetzter Pharmazeutika und Isoflavone



Die Linie RR= 1,0 steht für keine Suppression der Knochenresorption

U. Studie IV: Ausgangsparameter der Probandinnen

Characteristics	Placebo (N=67)	Genistein (N=71)
Age (years)	53.00±2.00	52.00±2.00
BMI (kg/m ²)	25.00±4.00	24.00±3.00
Menopausal age (years)	50.00±1.00	50.00±2.00
Years since menopause	5.00±3.00	4.00±2.00
BMD lumbar spine (g/cm ²)	0.84±0.11	0.85±0.08
T score (SD)	-1.90±0.40	-1.90±0.40
BMD femoral neck (g/cm ²)	0.67±0.06	0.66±0.05
T score (SD)	-1.80±0.30	-1.80±0.40
B-ALP (µg/L)	10.34±1.88	10.18±1.90
Pyr (pmol/µmol of urinary creatinine)	82.96±32.99	86.85±24.10
D-Pyr (pmol/µmol of urinary creatinine)	20.50±6.30	22.00±7.60
Stiffness index (SI; %)	81.30±6.10	80.80±7.10
Amplitude-dependent speed of sound (AD-SOS; m/s)	1,915.00±37.70	1,915.88±39.46
Bone transmission time (BTT; µs)	1.16±0.10	1.14±0.10

V. Studie IV: Serum-Genistein-Werte zur Baseline, nach einem Jahr und nach zwei Jahren

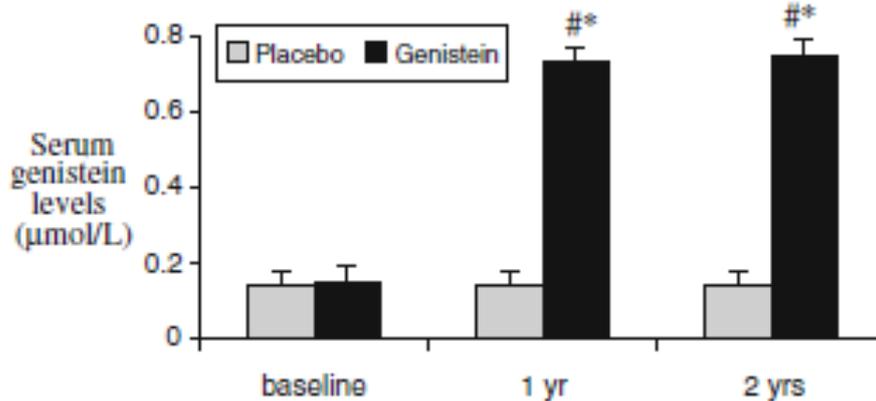


Fig. 1 Serum genistein levels (µmol/L) in two randomized groups at baseline, after 1-year, and after 2-years treatment. * $p < 0.0001$ versus baseline; # $p < 0.0001$ between group

W. Studie IV: Prozentuale Veränderung der BMD am Schenkelhals (FN) und an der Lendenwirbelsäule (LS) behandelt mit Genistein oder Placebo

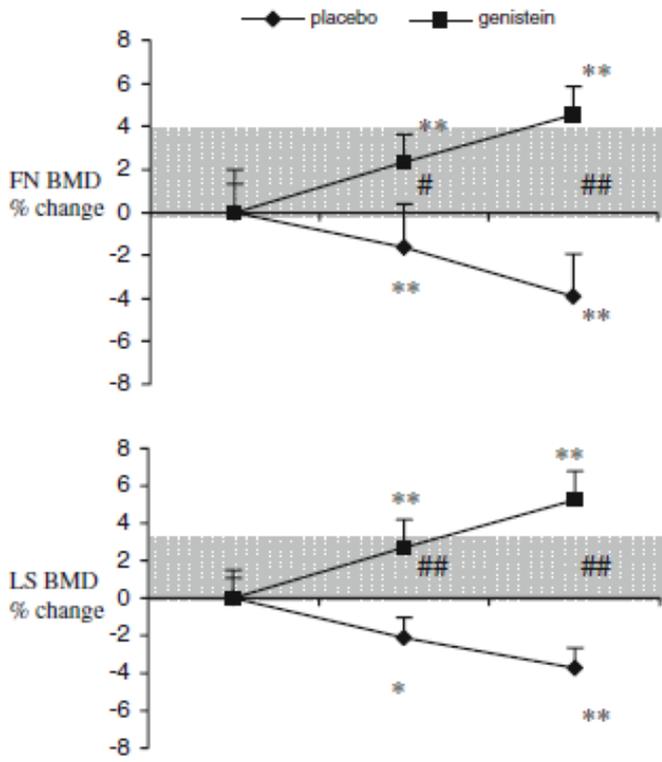


Fig. 2 Percent changes (mean±SE) in lumbar spine and femoral neck mineral density (BMD) in osteopenic postmenopausal women treated with genistein or placebo. In each graph, the LSC is shown as a shaded area. * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$ versus baseline; # $p < 0.05$, ## $p < 0.001$ between group

LSC= least significant change

X. Studie IV: Prozentuale Veränderungen des Stiffness-Index, der Amplituden-abhängigen Schallgeschwindigkeit (AD-SOS) und der Knochentransmissionszeit (BTT)

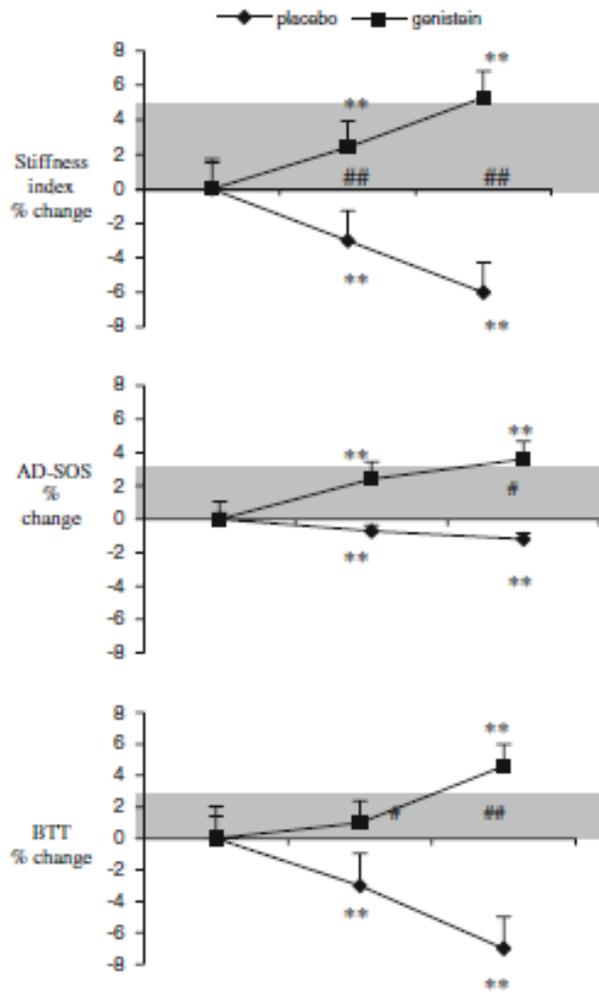


Fig. 3 Percent changes (mean+SE) in the stiffness index, amplitude speed of sound (AD-SOS), and bone transmission time (BTT) in postmenopausal women treated with genistein or placebo. In each graph, the LSC is shown as a shaded area. * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$ versus baseline; # $p < 0.05$, ## $p < 0.001$ between group

LSC=least significant change

Y. Studie IV: Prozentuale Wirkung nach zwei Jahren, definiert als Differenz zwischen Genistein und Placebo

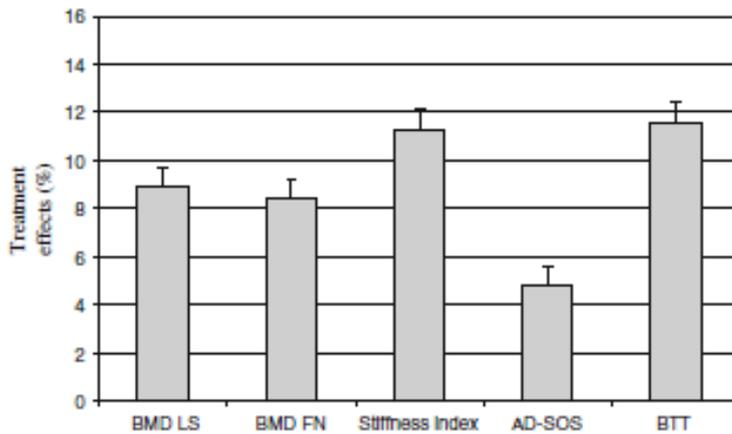


Fig. 4 Differences of lumbar spine BMD (*LS-BMD*), femoral neck BMD (*FN BMD*), and QUS at the heel and fingers in postmenopausal women treated with genistein or with placebo

Z. Korrelation zwischen den Veränderungen der QUS Parameter, BMD Messungen, laborchemischen Knochenmarkern und Serum-Genistein-Werten

Table 2 Correlation (*r*) between changes in QUS parameters, BMD measurements, bone turnover markers, and serum genistein levels at end of the study

^a *p* < 0.001

^b *p* < 0.005

^c *p* < 0.05

	QUS		
	SI	AD-SOS	BTT
BMD lumbar spine (g/cm ²)	0.44 ^a	0.58 ^a	0.44 ^a
BMD Femoral neck (g/cm ²)	0.33 ^b	0.31 ^b	0.31 ^c
B-ALP (µg/L)	0.30 ^c	0.26 ^c	0.32 ^c
Pyr (pmol/µmol of urinary creatinine)	-0.32 ^c	-0.28 ^c	-0.26 ^c
D-Pyr (pmol/µmol of urinary creatinine)	-0.47 ^a	-0.32 ^a	-0.27 ^a
Genistein (µmol/L)	0.84 ^a	0.73 ^a	0.72 ^a