

*ERWIN-PAYR-LEHRSTUHL FÜR UNFALLCHIRURGIE*

*(UNIV.-PROF. DR. MED. A. EKKERNKAMP)*

*MEDIZINISCHE FAKULTÄT DER ERNST-MORITZ-ARNDT-UNIVERSITÄT  
GREIFSWALD*

**Untersuchung des Knochenstoffwechsels mittels  
biochemischer Formations- und Resorptionsmarker bei  
Sporttauchern  
- eine explorative Pilotstudie -**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des akademischen

Grades

Doktor der Medizin  
(Dr. med.)

der

Medizinischen Fakultät

der

Ernst-Moritz-Arndt-Universität

Greifswald

2006

vorgelegt von:

geb. am:

in:

Stefan Neßler

30.06.1969

Ansbach

Dekan: Prof. Dr. rer. nat. H. K. Kroemer

1. Gutachter: Prof. Dr. A. Ekkernkamp

2. Gutachter: Prof. Dr. H.-H. Dickhuth

Ort, Raum: Seminarraum Alte Bibliothek, Klinik für Innere Medizin,  
F. Loefflerstr. 23 a, 2 Etage

Datum der Disputation: 19 Dezember 2007

## Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
2	Knochenphysiologie .....	3
3	Dekompressionskrankheit (DCS) .....	8
3.1	Untersuchungen zur dysbaren Osteonekrose .....	9
3.2	Pathophysiologie der DCS .....	11
4	Biochemische Knochenmarker.....	17
4.1	Marker der Knochenformation .....	19
4.1.1	Alkalische Phosphatase (AP) und knochenspezifische AP (BAP).....	19
4.1.2	Osteocalcin (OC).....	20
4.1.3	Propeptide C1CP/P1CP und PINP .....	22
4.2	Marker der Knochenresorption .....	24
4.2.1	Hydroxyprolin .....	24
4.2.2	Pyridinolin (PYD) und Desoxypyridinolin (DPD) .....	24
4.2.3	Aminoterminales Telopeptid (NTx) und carboxyterminales Telopeptid (CTx) .....	27
4.2.4	Tartratresistente saure Phosphatase (TRAP).....	29
4.3	Noch nicht etablierte Marker des Knochenstoffwechsels .....	30
4.3.1	Bone Sialoprotein (OPN) .....	30
4.3.2	Osteonectin (ON).....	31
4.3.3	Helicales Peptid.....	31
4.3.4	RANKL (OPGL) .....	31
4.3.5	Osteoblast stimulating factor 1 (OSF-1) .....	32
5	Material und Methoden.....	33
5.1	Studiendesign.....	33
5.1.1	Fragestellungen.....	33
5.1.2	Versuchspersonen.....	33
5.1.3	Verwendete biochemische Knochenmarker .....	35
5.1.3.1	Knochenformationsmarker .....	35
5.1.3.2	Knochenresorptionsmarker .....	35
5.1.4	Auswahl der Serum- und Urinproben .....	36
5.2	Untersuchungsparameter .....	38
5.2.1	Berechnung der Unterwassere xpositionsgrößen.....	38

5.2.2	Laborchemische Datenerhebung .....	39
5.2.2.1	Funktionsprinzip des Serum Metra™ BAP Immunoassay.....	39
5.2.2.2	Funktionsprinzip des Serum Metra™ CICIP Immunoassay .....	40
5.2.2.3	Funktionsprinzip des Serum CrossLaps® ELISA (CTx) .....	40
5.2.2.4	Funktionsprinzip des Serum Metra™ PYD-Immunoassay .....	41
5.2.2.5	Funktionsprinzip des Urin CrossLaps® ELISA (CTx) .....	41
5.2.2.6	Funktionsprinzip des Urin Metra™ PYD-Immunoassay .....	42
5.2.2.7	Funktionsprinzip der Kreatininkonzentrationsbestimmung (Dimension®) .....	42
5.3	Darstellung der Laborwerte .....	43
5.4	Statistische Auswertung .....	48
6	Ergebnisse .....	49
6.1	Unterwasserexpositionsgrößen .....	49
6.2	Ergebnisse der laborchemischen Datenerhebung.....	50
6.2.1	Ergebnisse des BAP im Serum (sBAP).....	50
6.2.1.1	Darstellung der prozentualen Veränderungen der Verlaufsmesswerte des sBAP mit statistischer Auswertung .....	51
6.2.1.2	Darstellung der CV des Serum-BAP in Prozent des 24- Stundendurchschnittes mit prozentual adaptierten Messwerten .....	52
6.2.1.3	Ergebnisse des Anpassungstests beim sBAP.....	53
6.2.2	Ergebnisse des CICIP im Serum (sCICIP) .....	54
6.2.2.1	Darstellung der prozentualen Veränderungen der Verlaufsmesswerte des sCICIP mit statistischer Auswertung.....	55
6.2.2.2	Darstellung der CV des Serum-CICIP in Prozent des 24- Stundendurchschnittes mit prozentual adaptierten Messwerten .....	57
6.2.2.3	Darstellung der Ergebnisse des Anpassungstests beim sCICIP .....	58
6.2.3	Ergebnisse des CTX im Serum (sCTX).....	59
6.2.3.1	Darstellung der prozentualen Veränderungen der Verlaufsmesswerte des sCTX mit statistischer Auswertung.....	60
6.2.3.2	Darstellung der CV des Serum-CTX in Prozent des 24- Stundendurchschnittes mit prozentual adaptierten Messwerten .....	61
6.2.3.3	Darstellung der Ergebnisse des Anpassungstests beim sCTX.....	62
6.2.4	Ergebnisse des PYD im Serum (sPYD).....	63
6.2.4.1	Darstellung der prozentualen Veränderungen der Verlaufsmesswerte des sPYD mit statistischer Auswertung.....	64
6.2.4.2	Darstellung der CV des Serum-PYD in Prozent des 24- Stundendurchschnittes mit prozentual adaptierten Messwerten .....	66
6.2.4.3	Darstellung der Ergebnisse des Anpassungstests beim sPYD .....	68
6.2.5	Ergebnisse des CTx im Urin (uCTX) .....	69
6.2.5.1	Darstellung der prozentualen Veränderungen der Verlaufsmesswerte des uCTX mit statistischer Auswertung .....	71
6.2.5.2	Darstellung der CV des Urin-CTX in Prozent des 24- Stundendurchschnittes mit prozentual adaptierten Messwerten .....	73
6.2.5.3	Darstellung der Ergebnisse des Anpassungstests beim uCTX.....	74

6.2.6	Ergebnisse des PYD/DPD im Urin (uPYD/DPD) .....	75
6.2.6.1	Darstellung der prozentualen Veränderungen der Verlaufsmesswerte des uPYD/DPD mit statistischer Auswertung .....	77
6.2.6.2	Darstellung der CV des Urin-PYD/DPD in Prozent des 24-Stundendurchschnittes mit prozentual adaptierten Messwerten .....	78
6.2.6.3	Darstellung der Ergebnisse des Anpassungstests beim uPYD/DPD .....	80
7	Diskussion der Ergebnisse und Fragestellungen .....	81
7.1	Formationsmarker im Serum .....	81
7.1.1	BAP im Serum .....	81
7.1.2	CICP im Serum .....	83
7.1.3	Synopsis der Ergebnisse der beiden Formationsmarker im Serum .....	85
7.2	Resorptionsmarker im Serum .....	86
7.2.1	CTX im Serum .....	86
7.2.2	PYD im Serum .....	88
7.1.3	Synopsis der Ergebnisse der beiden Resorptionsmarker im Serum .....	89
7.3	Resorptionsmarker im Urin .....	90
7.3.1	CTx im Urin .....	90
7.3.2	PYD im Urin .....	93
7.3.3	Synopsis der Ergebnisse der beiden Resorptionsmarker im Urin .....	95
7.4	Fragestellungen .....	97
7.4.1	Zusammenhang zwischen NZT und dem Knochenstoffwechsel .....	97
7.4.2	Veränderungen des Knochenmetabolismus während der Kompressions- und Isopressionsphase eines Tauchganges .....	97
7.4.3	Einfluss unterschiedlicher Tauchbelastungen auf das Ausmaß der Veränderungen des Knochenstoffwechsels .....	97
7.4.4	Rückschlüsse auf mögliche Ursachen der DON .....	101
8	Schlussfolgerung .....	105
9	Zusammenfassung .....	106
10	Anhang .....	109
11	Literaturverzeichnis .....	118
	Abbildungsverzeichnis .....	126
	Tabellenverzeichnis .....	127
	Abkürzungen .....	129
	Eidesstattliche Erklärung .....	132

Lebenslauf.....	133
Danksagung .....	135

# 1 Einleitung

Tauchen ist seit Menschengedenken eine Methode, Tätigkeiten unterhalb der Wasseroberfläche nachzugehen. Überlieferte Taucheinsätze sind seit 400 v. Chr. belegt: Xerxes benötigte Kampfschwimmer für Reparaturen an Schiffen und zur Bergung von Gütern. Im Verlauf des 19. Jahrhunderts hat es der technische Fortschritt ermöglicht, die Zeitspanne, die ein Mensch unter Wasser verbringen kann, immer weiter auszudehnen (121). Der Durchbruch bei der Entwicklung arbeitstauglicher Tauchgeräte gelang den beiden Franzosen Rouquayrol und Denayrouse im Jahre 1865. Sie transportierten einen Metallkanister mit bis auf 40 bar komprimierter Luft auf ihrem Rücken. Die bahnbrechende Erfindung war ein Regulator, der es dem Taucher ermöglichte, den Druck der Einatemluft den Umgebungsdrücken in unterschiedlichen Wassertiefen anzupassen (121).

Darüber hinaus hat der im Verkehrstunnelbau verwendete Schildvortrieb im letzten Jahrhundert erheblich an Bedeutung gewonnen. Hierbei wird komprimierte Luft als wandstabilisierende Technik eingesetzt, um eindringende Wassermassen fernzuhalten (80).

Nach Aufenthalt unter hyperbaren Druckverhältnissen muss der Druck schrittweise reduziert werden, um das Auftreten einer Dekompressionskrankheit (DCS), mit gegebenenfalls tödlichem Ausgang, zu vermeiden. Die DCS ist eine mit hyperbarer Exposition assoziierte Störung und wird in zwei Typen eingeteilt (s. S. 8). Durch Einhaltung der aktuellen Empfehlungen kann normalerweise das Auftreten von akuten DCS-Symptomen vermieden werden, das Auftreten von Spätkomplikationen wird dadurch aber nicht ausgeschlossen. Die aseptische Knochennekrose ist, wenn andere Ursachen auszuschließen sind, eine Spätkomplikation von wiederholt fehlerhaften Dekompressionen (80) und wird in diesem Zusammenhang als dysbarische Osteonekrose (DON) bezeichnet (65). Die DON mit möglicher konsekutiver deformierender Arthrose ist bei entsprechenden Berufsgruppen als Berufskrankheit anerkannt (Berufskrankheitenliste Nr. 2201, Erkrankungen durch Arbeit in Druckluft, Hauptverband der gewerblichen Berufsgenossenschaften). Die Prädilektionsstellen der DON sind die langen Röhrenknochen. Insbesondere

betroffen sind der Humeruskopf, die proximale Tibia, der Femurkopf und der Femurschaft (29).

Für das Sportgerätetauchen ist das Nullzeittauchen (NZZ) von besonderem Belang. Dieses unterscheidet sich vom professionellen Arbeiten unter hyperbarer Exposition und Sättigungstauchen durch die Tatsache, dass nach den momentanen Vorstellungen eine Dekompressionsphase nicht notwendig zu sein scheint. Die Nullzeit ist also diejenige Zeit, die der Taucher in der Tiefe verbleiben kann, ohne mit einem Dekompressionsstopp während der Auftauchphase rechnen zu müssen (14).

In der Bundesrepublik Deutschland sind nach Angaben der Tauchgeräteindustrie (unveröffentlicht) bis zu 1 Millionen Sporttaucher aktiv. In den USA sind 8,5 Millionen lizenzierte Sporttaucher registriert (13). Diese Zahlen sind stetig im Steigen begriffen, da sich das Sporttauchen einer zunehmenden Beliebtheit erfreut. Der Zusammenhang zwischen dekompressionsbedingter intravasaler und interstitieller Gasblasenbildung, sowie der daraus resultierenden Pathologien, ist schon lange Gegenstand von tauch- und arbeitsmedizinischen Untersuchungen (15, 61, 104). Aber auch bei Sporttauchern wurde über das Auftreten von aseptischen Osteonekrosen berichtet, die nicht auf anderen pathophysiologischen Ursachen beruhen (81, 132). Diese Gruppe stellt somit eine neue Risikopopulation für das Auftreten von dysbaren Osteonekrosen dar.

Schon 1977 hat Weatherley durch intraarterielle Injektion von Glasmikrokugeln eine experimentelle Knochennekrose bei Kaninchen ausgelöst und nach einigen Tagen einen signifikanten Anstieg der Hydroxyprolinexkretion, einem Indikator des Knochenabbaus, im Urin gemessen (130).

Durch die Messungen des Knochenstoffwechsels mittels biochemischer Verfahren wird in dieser Pilotstudie die direkte Auswirkung von Nullzeittauchgängen (NZZG) auf den Knochenstoffwechsel untersucht. Ein besseres Verständnis für den Einfluss des Sportgerätetauchens auf den Knochenstoffwechsel könnte einen substantiellen Beitrag zur Vermeidung dieser mit hyperbaren Umgebungsdrücken assoziierten Störung leisten.



## 2 Knochenphysiologie

Ein charakteristischer Prozess des adulten Skelettes ist das kontinuierliche Stattfinden von Umbauvorgängen in Form von Knochenresorption und Knochenformation. Dieses sogenannte Knochen-Remodeling findet hauptsächlich in den Skelettabschnitten mit ausgeprägter trabekulärer Architektur statt, wie z.B. der Wirbelsäule, dem proximalen Femur, dem Calcaneus und dem distalen Radius (106). Der Knochenformation muss in der Regel eine Resorption vorausgehen. Diese Vorgänge ermöglichen es dem Skelettsystem, seine funktionelle und anatomische Funktion zu erhalten. Diese Fähigkeit wurde schon 1892 von dem deutschen Histologen Julius Wolff mit den Worten „die Form bestimmt die Funktion“ beschrieben (134).

Dieses eng miteinander verbundene Resorbieren und Formieren von Grundsubstanz wird als „Coupling“ bezeichnet. Auch unter physiologischen Bedingungen ist dieser Prozess aber nicht immer ausbalanciert. Ab dem 35. bis 40. Lebensjahr kommt es nach jedem Remodellierungszyklus zu einem Nettoverlust von Knochengewebe, welcher durch Östrogenmangel oder anderen Störungen des Remodellierungsprozesses (z.B. Schwerelosigkeit) verstärkt wird (129).

Der Knochen speichert 99% des gesamten Körperkalziums und unterliegt als Kalziumreservoir hormonellen Einflüssen. Die Regulation der Kalziumionenkonzentration in einem engen Bereich ist Grundvoraussetzung für das Funktionieren aller erregbaren Gewebe im Körper. Ein Hauptregulator dieses Systems ist das in der Nebenschilddrüse gebildete Parathyrin (PTH). Die aus den embryonalen Kiementaschen stammenden Zellen der Nebenschilddrüse (Epithelkörper) sezernieren PTH in Abhängigkeit von der Kalziumionenkonzentration im Plasma. PTH verfügt über unterschiedliche Möglichkeiten, die Kalziumionenkonzentration zu steigern. Ein weiterer wichtiger Regulator ist das Vitamin D, welches die intestinale Kalziumabsorption steigert und damit direkten Einfluss auf den Kalziumgehalt des Knochens hat. Haut, Leber und im letzten Schritt die Niere wandeln unter dem Einfluss von PTH Vitamin D in seine aktive Form, das 1,25-Dihydroxycholecalciferol, um. Das Hormon Calcitonin, welches von C-Zellen der Schilddrüse sezerniert wird, senkt eine erhöhte Kalziumionenkonzentration, indem es die Kalziumdeposition in

den Knochen steigert. Die quantitative Rolle dieses Hormons ist jedoch wesentlich geringer einzuschätzen als die seines Antagonisten (PTH) (111).

Aber auch mechanische sowie elektrische Energie haben entscheidenden Einfluss auf Knochenumbauprozesse. Es zeigte sich, dass der Osteoblast physikalische Einflüsse in chemische Signale umwandelt, welche die Knochenumbauvorgänge triggern (25, 49, 107).

Die Synthese, Freisetzung und die Mineralisation der kollagenen Matrix sind komplexe Prozesse, deren Voraussetzung eine geordnete Expression einer Vielzahl von Genen ist. Der Osteoblast als ein Synthesort des Typ-I-Kollagens ist der eigentliche Knochenbildner. Diese noch nicht mineralisierte Knochenmatrix formiert sich extrazellulär zu primären Kristallisationskernen (Osteoiden), welche im Verlauf von zehn Tagen mineralisieren (72). Im Laufe dieses Mineralisierungsprozesses werden die sezernierenden Osteoblasten, von dem sich bildenden Osteoid, in Knochenhöhlen (Lakunen) eingemauert und wandeln sich über die Stufe des Präosteozyten in einen Osteozyten um. Die Osteozyten haben im Vergleich zu den Osteoblasten, als Zeichen ihrer reduzierten synthetischen Aktivität, ein deutlich vermindertes raues endoplasmatisches Reticulum, zytoplasmatisches Volumen, sowie einen chromatinreichen kompakten Zellkern als prominentesten Bestandteil des Zellinhaltes. Sie machen rund 90% der Zellen im Knochen aus und stehen mit Gap junctions am Ende ihrer langen Zytoplasmafortsätze (72) untereinander, sowie mit benachbarten Osteoblasten, Knochenmarkszellen und Endothelzellen von Blutgefäßen im Stoff- und Informationsaustausch (33). Die Zytoplasmafortsätze verlaufen in kleinen radiär von den Lakunen abgehenden Knochenkanälchen (Canaliculi) (72) und regen auf mechanische Beanspruchung des Knochens periphere Zellen zu Umbauvorgängen an (112). Diese histologischen Grundlagen legen den Schluss nahe, dass die Osteozyten, durch ihre große Kontaktfläche mit dem mineralisierten Knochen, eine entscheidende Rolle bei der Deposition und Mobilisation von Kalzium spielen.

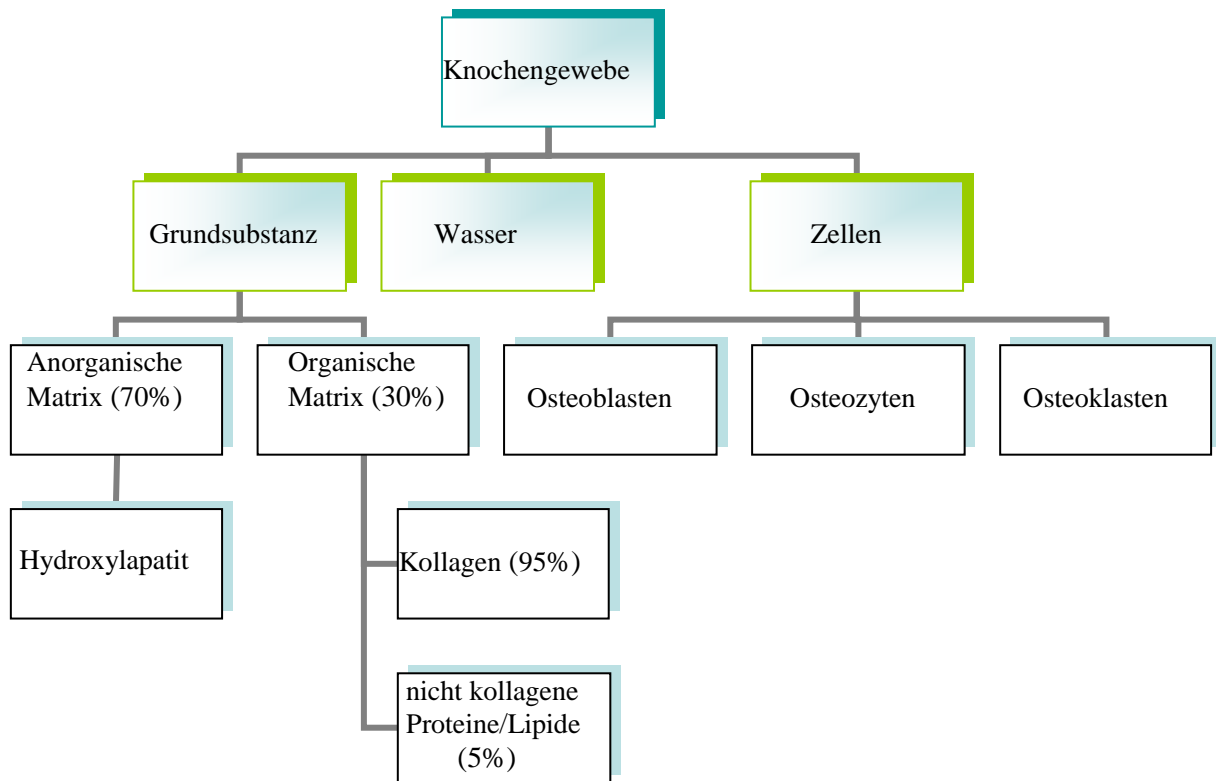
Im Rahmen der knöchernen Umbauprozesse ist der Osteoblast nicht nur bei der Knochenformation von entscheidender Bedeutung. Durch die indirekte Steuerung der Knochenresorption fällt ihm auch bei diesem Prozess eine entscheidende Rolle zu. So hängt die Entwicklung der Osteoklasten, den Gegenspielern der Osteoblasten,

entscheidend von osteoblastären Zytokinen ab, welche unter dem Einfluss von Sexualhormonen gebildet werden (87).

Die polynukleären Osteoklasten entstehen durch Fusion von hämatopoetischen Vorläuferzellen aus der mononukleären Phagozytenreihe (z.B. Monozyten) (57). Durch Ausbildung von integrinvermittelten Bindungszonen, mit der Oberfläche trabekulärer und kortikaler Knochen, induzieren sie den Knochenabbau (78). Zwischen apikaler Osteoklastenmembran und Knochenoberfläche liegt eine durch Mikrofilamente abgedichtete Resorptionslakune („clear zone“) (72). In diese werden hydrolytische Enzyme, welche die Fähigkeit zum Abbau von Proteinen, Lipiden und Nukleinsäuren haben, abgegeben. Über eine Protonenpumpe werden Protonen sezerniert, welche ein saures Milieu und damit ein optimales Funktionieren dieser Enzyme gewährleisten. Die Sezernierung dieser osteoklastären Enzyme wird durch hormonelle Bindung (PTH) an Rezeptoren der gegenüberliegenden Osteoklastenmembran initiiert (72). Aufgrund der ablaufenden Hydrolyse kommt es zu einem Anstieg von Kollagenabbauprodukten, Kalzium und Phosphat in den extrazellulären Flüssigkeiten.

Ungefähr 70% der extrazellulären Matrix bestehen aus anorganischem Material. Kalzium und Phosphat bilden in Form von Hydroxyapatitkristallen  $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$  den Hauptanteil. Zusätzlich findet man Anteile von Octokalziumphosphat  $[\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6(\text{H}_2\text{O})_5]$ , Brushit  $[\text{CaHPO}_4(\text{H}_2\text{O})_2]$  und Komplexen mit weiteren Anionen ( $\text{F}^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ) oder Kationen ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ) (111).

Der organische Matrixanteil des Knochens besteht zu 90-95% aus Kollagen Typ-I und wird vom Osteoblasten gebildet (72). Kollagenketten werden als  $\alpha$ -Ketten bezeichnet. Sich im Aufbau unterscheidende  $\alpha$ -Ketten werden  $\alpha$ -1,  $\alpha$ -2 usw. bezeichnet. Die Zusammensetzung der  $\alpha$ -Ketten determiniert die unterschiedlichen Kollagentypen, welche mit einer nachfolgenden römischen Ziffer bezeichnet werden. So ist z.B. Kollagen Typ-I aus zwei  $\alpha$ -1- und einer  $\alpha$ -2-Kette zusammengesetzt (59).



Organigramm: Zusammensetzung des Knochengewebes.

Am Beginn der Kollagensynthese bindet die von der DNA des Osteoblasten abgeschriebene Boten-(m-)RNA im Zytoplasma an bestimmte Abschnitte des rauen Endoplasmatischen Reticulum (rER). Transfer-(t-)RNA-Moleküle geben entsprechend der Kodierung der m-RNA ihre Aminosäuren ab. Die daraus entstehende Prä-Pro- $\alpha$ -Kette (ein Peptid mit ca. 333 Aminosäuren) enthält unter anderem Prolin und Lysin sowie eine  $\text{NH}_2$ -terminale Sequenz mit hydrophoben Aminosäuresequenzen (Signalpeptide) (59). In Zisternen des rER kommt es dann zur Abspaltung des Signalpeptids und zur Hydroxylierung von Prolin und Lysin. Anschließend erfolgt die Glykosylierung des Hydroxylysins (73). Die dadurch entstandene Primärstruktur wandert nun weiter zum Golgi-Apparat, welcher die Freisetzung der Kollagenketten ( $\alpha$ -Ketten) an die Zelloberfläche steuert. Entlang dieses Weges kommt es, über die Bildung der Sekundärstruktur (gefaltete  $\alpha$ -Ketten), zur Ausbildung eines aus drei Pro- $\alpha$ -Ketten ( $\alpha$ -Tripelhelix) bestehenden dreidimensionalen, fibrillären Prokollagenmoleküls. Entscheidenden Anteil an der Stabilität der Helixstruktur hat Hydroxyprolin. Die nicht verdrillten Extensionspeptide (auch Registerpeptide oder Propeptide genannt) beider Enden einer jeden  $\alpha$ -Kette sind für die Ausrichtung und die helikale Anordnung der Pro- $\alpha$ -Ketten verantwortlich (59). Sie verhindern aber auch eine vorzeitige Aggregation des Prokollagenmoleküls

und verhindern somit, eine intrazelluläre Ansammlung von unreifen Kollagenfibrillen (73). Extrazellulär vorhandene Prokollagenpeptidasen entfernen die COOH- und NH<sub>2</sub>- terminalen Extensionspeptide (91), welche als Formationsmarker (CICP/PICP und PINP) im Serum nachzuweisen sind. Diese Abspaltung ist Voraussetzung dafür, dass die dadurch entstehenden Tropokollagenmoleküle durch parallele Aggregation und kovalente Vernetzung komplexere Strukturen ausbilden können. Die Ausbildung dieser kovalenten Querbrücken zur Stabilisierung der Fibrillen untereinander, führt letztlich zur Ausbildung von Kollagenfasern und ist der abschließende Schritt dieses Prozesses (73). Die durchschnittlich 35nm breiten Spalten zwischen den Tropokollagenmolekülen innerhalb der Kollagenfaser stellen eine Art „Kernzone“ (Nucleation Site) dar, in welcher die Bindung und Ablagerung von Kalzium und Hydroxylapatit stattfindet. Dieser Ablagerungsprozess kommt zu einem Ende, wenn sich die einzelnen Kernzonen zur eigentlichen Knochenmatrix zusammengeschlossen haben (50).

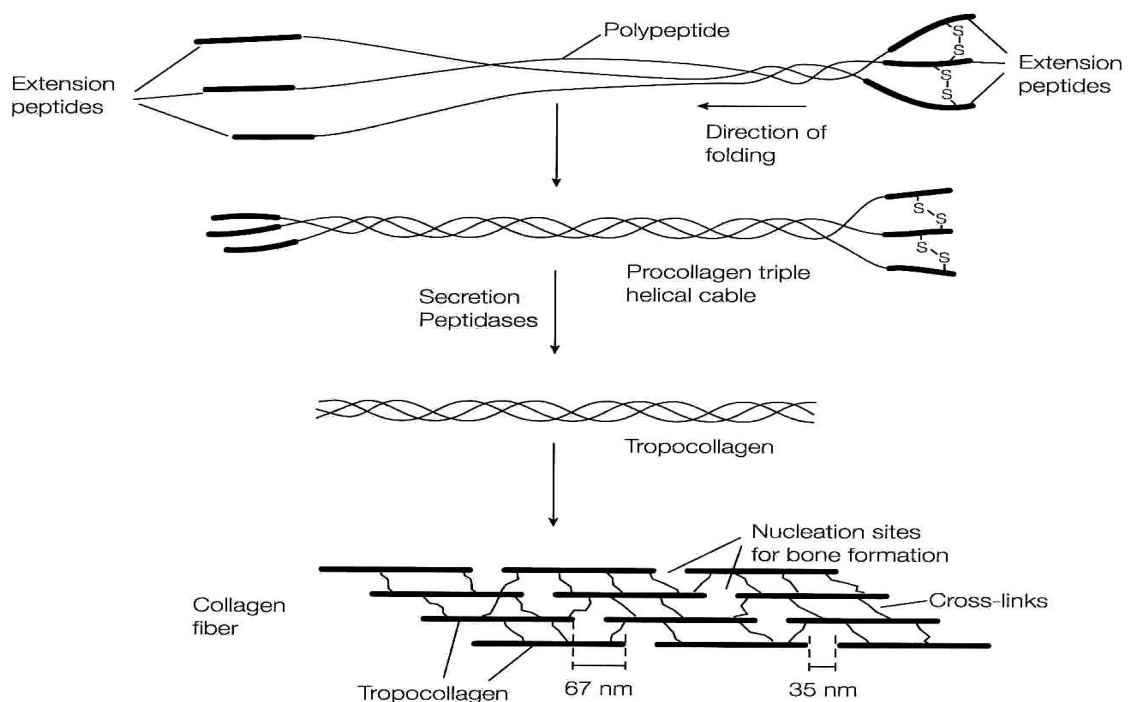


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Extensionspeptide und ihrer Rolle während des Faltungs- und Sekretionsprozesses, bis hin zu ihrer extrazellulären Entfernung und der daran anschließenden Aggregation und Quervernetzung zur Mikrofibrille (50).

Der restliche organische Anteil besteht überwiegend aus spezifischen Glykoproteinen (z.B.: Osteocalcin, Sialoprotein) und Proteoglykanen. Diese Moleküle dienen der Verknöcherung und fördern eine Verbindung zwischen den Mineralien des Knochens und dem Kollagen bzw. den Zellen und tragen somit entscheidend zur Härte und

Festigkeit des Knochens bei. Andere Kollagen Typ-I-Gewebe, denen diese spezifischen Proteine fehlen, verkalken unter physiologischen Umständen nicht (72).

### **3 Dekompressionskrankheit (DCS)**

Man spricht generell von Dekompressionskrankheit (DCS), wenn als Folge einer interstitiellen oder intravasalen Gasblasenbildung Symptome auftreten. Verursacht wird dies meist durch eine zu schnelle Druckreduktion während des Auftauchvorganges. Es kann zu einer zeitlichen Latenz von bis zu 24 Stunden zwischen dem Tauchgang und Auftreten von Symptomen kommen.

Die klinischen Manifestationen der DCS sind traditionell in geringfügige (Typ I) und schwere (Typ II) Symptome eingeteilt (14). Sie reichen von einer Marmorierung der Haut mit Juckreiz (Taucherflöhe), durch Mikroembolien im subkutanen Fettgewebe, bis hin zu neurologischen Beschwerden mit eventuell tödlichem Ausgang.

Von Gregg und Walter wird die dysbare Osteonekrose als eine chronische Manifestation der DCS beschrieben (43). Dies verdeutlicht nochmals den Zusammenhang zwischen fehlerhaften Dekompressionen und dem damit in Verbindung stehenden konsekutiven Auftreten der DON.

Zur Thematik der dysbaren Osteonekrose gibt es zahlreiche medizinische Untersuchungen, welche aber hinsichtlich der Prävalenz zu unterschiedlichen Einschätzungen kommen (1, 3, 11, 16, 53-55, 63-65, 75, 77, 88, 89, 98).

### 3.1 Untersuchungen zur dysbaren Osteonekrose

Schon im Jahr 332 v. Chr. berichtete Aristoteles von Skelettveränderungen, welche bei griechischen Schwammtauchern auftraten (79). Im Jahre 1660 beschrieb Boyle erstmalig den Dekompressionseffekt auf das Blut von Säugetieren. In dem Buch „Arbeitsmedizinische Berufskunde“ führt W. Scholz auf, dass im Jahre 1873 von Smith erstmalig die therapeutische Kompression nach Dekompressionsunfällen, welche er als Arzt bei Brückenbauarbeiten erlebt hat, geschildert wurde (113). Durch den industriellen Fortschritt nach dem Zweiten Weltkrieg nahm die Anzahl an Arbeitstätigkeiten unter hyperbaren Bedingungen enorm zu. Somit rückten auch die Langzeitfolgen der hyperbaren Exposition immer mehr in den tauch- und vor allem den arbeitsmedizinischen Fokus.

1966 wurde von McCallum et al. im Decompression Sickness Panel Report bei 37 von 223 (17%) Tunnelarbeitern eine DON bestätigt (89). Amako et al. konnte 1974 bei 59,5% von 450 Berufstauchern radiologisch eine aseptische Knochennekrose nachweisen (3). Andere Untersuchungen stützen diese Einschätzung (63, 75).

Zu einer anderen Bewertung, der mittels bildgebenden Verfahren diagnostizierten DON nach hyperbarer Exposition, kommen Hunter et al., welche 1978 bei nur 18 von 934 (2%) radiologisch untersuchten NAVY-Tauchern eine eindeutige DON diagnostizieren konnten (64).

Ebenso beschrieb Harrison 1971 bei nur 16 von 383 (4,2%) Royal Navy Tauchern eine DON, bei negativer Prävalenz in der Kontrollgruppe (54). In einer Studie aus dem Jahre 1981 zeigten ebenfalls nur 4,2% von 4980 untersuchten britischen Berufstauchern ein positives röntgenologisches Korrelat (1).

In einer aktuellen Studie aus Kiel von Bolte et al. (11) konnte bei insgesamt 32 Marinetauchern mit Hilfe der hoch sensitiven MRT-Methode bei 3,13% eine Osteonekrose nachgewiesen werden.

Die Ursache dieser stark voneinander abweichenden DON-Inzidenzen wird in der strikteren Einhaltung der weiterentwickelten Dekompressionsempfehlungen sowie der strengeren Selektion und besseren medizinischen Überwachung von Marinetauchern, im Vergleich zu Berufstauchern oder Tunnelarbeitern, gesehen.

Das erste radiologische Anzeichen einer aseptischen Knochennekrose ist ein schmales verdichtetes Areal, oft unmittelbar an Gelenkflächen, welches häufig nur

schwer von einer normalen Variation der subchondralen trabekulären Struktur zu unterscheiden ist (16).

So hat Amako 1974 vermutet, dass die erhöhte Anzahl an Enostosis-Herden bei Tauchern Osteonekrose repräsentiert (3). Wohingegen ein radiologischer Vergleich von 100 Navy-Tauchern mit einer Kontrollgruppe sowie sechs post-mortem Studien nach tödlichen Tauchunfällen keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich der Prävalenz von Enostosis-Herden in den Vergleichsgruppen ergab (30).

Von besonderem Wert ist eine Studie von Ota und Matsunaga, welche eine deutliche Prävalenz der DON dort aufzeigt, wo eine geringe oder fehlende Aufsicht über das Tauchverhalten herrscht. Untersucht wurden japanische Muscheltaucher, welche kontinuierlich in Tiefen von 60-70 Metern für jeweils vier Stunden am Morgen und Abend mit ungenügender Dekompression und Pausenzeit tauchten. Es lag eine hohe Inzidenz der DCS mit oft tödlichem Ausgang vor. Von den 301 untersuchten Tauchern zeigten über 50% eine eindeutige DON. Statistisch nahm die Inzidenz der Läsionen mit dem Alter und der Taucherfahrung (Expositionsdauer) zu (98). Verschiedene Untersuchungen bestätigen diese Zusammenhänge, und zeigen einen Anstieg der Inzidenzen mit zunehmender durchschnittlicher Tauchtiefe und Expositionsdauer (1, 3, 75, 132).

Pereira et al. sehen in der reduzierten Einwirkung der Schwerkraft unter Wasser eine mögliche Ursache für eine signifikant abnehmende Knochendichte im Bereich der Oberschenkelhälfte. Die Knochendichte des Schenkelhalses ist bei Berufstauchern durchschnittlich 4,6% geringer als in der Kontrollgruppe. Im Bereich des Os sacrum zeigten sich zwischen den Vergleichsgruppen keine signifikanten Unterschiede in der Knochendichte (100). Pereira bezog sich auf eine Untersuchung von Holick aus dem Jahre 2000, der unter dem Einfluss eines nahezu ausgeschalteten Schwerkrafteffektes, im Falle einer permanenten Bettlägerigkeit bei Rückenmarkstraumatisierten Patienten, eine Abnahme der BMD in ausgewählten Skelettbereichen um 1-2 % pro Monat beschreibt (60).



### 3.2 Pathophysiologie der DCS

Für ein besseres Verständnis der zugrunde liegenden Pathophysiologie der DCS ist ein Exkurs über die physikalischen Veränderungen während eines Tauchganges unerlässlich.

Der Tauchvorgang geht mit einer von der Tauchtiefe abhängigen linearen Erhöhung des Umgebungsdruckes einher. Dies ist auf die Tatsache zurückzuführen, dass eine Wassersäule von 10 Metern den gleichen Druck (100 kPa/1 bar) ausübt wie die Luftsäule in Meereshöhe. Daraus ergibt sich eine Erhöhung des Druckes um jeweils 100 kPa pro 10 Meter Tauchtiefe (39). Trotz dieser Linearität ist es wichtig, die relativen Druckveränderungen zu beachten, denn in 10 Meter Tauchtiefe hat bereits eine Verdoppelung des Umgebungsdruckes stattgefunden. Die nächste Verdoppelung findet erst wieder ab einer Tiefe von 30 Metern statt, die übernächste in 70 Metern und so fort.

Nach Boyle und Mariotte verhält sich ein Gasvolumen (V) indirekt proportional zu dem herrschenden Umgebungsdruck (p). Gleichung:

$$p * V = \text{konstant}$$

Praktisch bedeutet dies, dass sich ein Lungenvolumen von 5 Litern in 10 Meter Tauchtiefe beim Auftauchen an die Oberfläche in Meereshöhe bis auf 10 Liter ausdehnt. Kommt es durch expandierendes Luftvolumen zu einer Schädigung luftgefüllter Körperhöhlen, so wird dies in der Tauchmedizin als Barotrauma bezeichnet.

Nach dem Daltonschen Gesetz setzt sich der Gesamtdruck eines Gasgemisches aus dem unterschiedlichen Partialdrücken seiner Gase zusammen. Bei erhöhtem Umgebungsdruck resultiert hieraus bei Luftatmung ein gesteigerter Partialdruck für Sauerstoff und dem Inertgas Stickstoff (39). Als Inertgas bezeichnet man sehr reaktionsträge, sich an nur wenigen chemischen Reaktionen beteiligende Gase.

In den Lungen eines Tauchers herrscht somit ein höherer Partialdruck des Stickstoffes als in seinem Körpergewebe, welches entsprechend dem menschlichen

Lebensraum an Land mit 0,78 bar gesättigt ist. Während des Tauchens erfolgt nun ein Ausgleich dieser Partialdruckunterschiede, indem der Stickstoff sich im Blut löst und auf diesem Weg vermehrt in interstitielle und intrazelluläre Flüssigkeiten gelangt und diese, entsprechend ihres Lösungskoeffizienten, aufsättigt.

Dieser Sättigungsvorgang wird durch das Gesetz von Henry beschrieben, welches besagt, dass bei konstanter Temperatur die Menge eines in Flüssigkeit gelösten Gases in direktem Verhältnis zum Partialdruck des Gases und dessen Lösungskoeffizienten für die jeweilige Flüssigkeit (Gewebeart) steht (39). Beim Tauchen kommt es wie oben beschrieben mit zunehmender Tiefe zu einem Anstieg des Partialdruckes des gelösten Stickstoffes im Blut und somit zu einem erhöhten Diffusionsgradienten in Richtung der Gewebe. Bei diesem Vorgang spielt, neben der Tiefe und dem gewebespezifischen Löslichkeitskoeffizienten des Gases, die Dauer der erhöhten Druckexposition (Tauchzeit) und der Durchblutungsgrad der unterschiedlichen Gewebe eine entscheidende Rolle (39). Da Stickstoff einen hohen Lösungskoeffizienten für Fett besitzt (14), geht eine große Menge im fettreichen Mark der langen Röhrenknochen in Lösung.

Beim Auftauchen kehren sich die eben beschriebenen Bedingungen um, so dass der Stickstoffpartialdruck, nach Beendigung des Tauchganges, im Gewebe höher ist als in der Atemluft. Eine gefahrlose Entsättigung des Gewebes ist an die Einhaltung einer zulässigen Druckabfallgeschwindigkeit (Dekompressionsregel) gebunden. Bei einer zu schnellen Auftauchgeschwindigkeit würde im Körper ein ähnliches Phänomen ablaufen wie es sich beim Öffnen einer Seltersflasche beobachten lässt: Durch den plötzlichen Druckabfall perlt das bis dahin physikalisch gelöste Kohlendioxid bläschenförmig aus.

Bei einem langsamen und kontrollierten Auftauchvorgang diffundiert das im Gewebe aufgesättigte Inertgas durch den Konzentrationsabfall wieder ins Blut zurück und kann so, ohne Gasblasen zu bilden, über das venöse System zu den Lungen transportiert und dort abgeatmet werden. Die für die Entsättigung benötigte Zeit (Entsättigungszeit) hängt vom aktuellen Durchblutungsstatus des jeweiligen Gewebes ab. Weniger gut durchblutete Gelenkstrukturen wie Knorpel, Bänder und Knochen, mit einer Stickstoffhalbwertszeit von 5-10 Stunden, werden als „langsame“ Gewebe bezeichnet. Stark durchblutete Gewebe wie das ZNS, mit einer

Stickstoffhalbwertszeit von nur 10-20 Minuten, werden als „schnelles“ Gewebe bezeichnet (14). Als Halbwertszeit eines Gewebes bezeichnet man die Zeitdauer in Minuten, die dieses bis zur Hälfte der Sättigung bzw. Entsättigung benötigt.

Bühlmann beschreibt in seinem Buch „Tauchmedizin“, dass nach jedem Tauchgang, auch unter Einhaltung aller Vorgaben, insbesondere in der Haut, im Unterhautfettgewebe, in der Muskulatur sowie in den Knochen Mikrogasblasen entstehen, die in die Blutbahn eingeschwemmt werden und in die Lungenkapillaren gelangen, ohne dass im weiteren Verlauf Symptome einer ungenügenden Dekompression auftreten (14). Diese klinisch harmlose Gasembolie der Lunge wurde erst durch eine inzwischen in der Dekompressionsforschung etablierte Untersuchungstechnik mit Doppler-Ultraschall („bubble detection“) erkannt, als damit der Nachweis von venösen Mikrogasblasen gelang. Je nachdem, in welchem Ausmaß die vorgegebenen Auftauchzeiten vernachlässigt werden, entsteht eine unterschiedlich große Anzahl an Gasblasen.

Carturan et al. konnten mittels Doppler-Sonographie bei Tauchgängen mit unterschiedlicher Auftauchgeschwindigkeit (9 m/min versus 17 m/min), bei Tauchgängen mit der schnelleren Aufstiegsgeschwindigkeit eine signifikant höhere Gasblasenanzahl im venösen System nachweisen (18).

Die im venösen Kreislauf nachzuweisenden Blasen treten hauptsächlich am Ende eines Tauchganges und in den nachfolgenden 3-4 Stunden auf. Das Gasblasenmaximum ist ca. 30 - 40 min nach dem Tauchgang erreicht (14).

Die Lunge besitzt grundsätzlich gute Filtereigenschaften für Gasbläschen aus dem venösen Blut und kann deren Übertritt in das arterielle System unter physiologischen Bedingungen verhindern. Eine im Tiermodell künstlich herbeigeführte massive venöse Gasvolumenbelastung, oder eine geringere Volumenbelastung bei gleichzeitiger vasodilatativer Medikation, führen zu einer arteriellen Luftembolie (15). Ein ähnliches Phänomen wird bei den durch Dekompression entstandenen Gasblasen beschrieben. Sie führen mit zunehmender Anzahl in den Lungenkapillaren zu veränderten Perfusionsverhältnissen, wodurch es zu einer Zunahme des intrapulmonalen Rechts-links-Shunts und damit zu einer arteriellen Luftembolie kommt (14). Ein weiterer wesentlicher Shuntmechanismus ist ein funktionell offenes Foramen ovale, das bei rund 30% der Bevölkerung vorliegt (45).

Bei einer Umkehr der Druckverhältnisse in den Vorhöfen, wie es beim Druckausgleich (Valsalvamanöver) vorkommt, kann es dann insbesondere zu einem Übertritt von Gasblasen in den großen Körperkreislauf kommen (86).

Unabhängig von ihrem Entstehungsort obstruieren die Mikrogasblasen die arteriellen Kapillaren und beeinflussen den lokalen Gasaustausch. Die Diffusionswege für das Inertgas werden länger, wodurch sich der Entsättigungsvorgang verzögert und die Wahrscheinlichkeit einer zusätzlichen Blasenbildung im betroffenen Gewebe erhöht (14).

Durch die Gasembolie kommt es zu weiteren intravasalen und strukturellen Veränderungen. Es wird vermutet, dass die mechanische Irritation des Endothels zu einer Aktivierung des Gerinnungssystems mit Thrombozytenanlagerung und zu einer Leukozyten-Adhäsion führt (126). Zusätzlich kommt es an der Grenzschicht zwischen der als Fremdoberfläche wirkenden Gasblase und dem Blut zu einer Aktivierung von weiteren Plasmaproteinen, Immunglobulinen und des Komplementsystems, was zu einer zusätzlichen Schädigung des Gefäßendothels führt. Die durch diese Reaktion getriggerte Ablagerung von Fibrin hält die Störung der Perfusion aufrecht und es kommt, trotz erfolgter Auflösung der Gasblasen, nicht zu einer adäquaten Reperfusion des Gewebes (No reflow Phänomen) (61).

Des Weiteren kommt es durch die Gasblasenentstehung im Gewebe aufgrund von Verdrängung und mechanischer Irritation zu einer Kompression von Kapillargefäßen. Mikrozirkulationsstörungen mit konsekutivem Zelluntergang sind mögliche Folgen (65). Darauf ist wahrscheinlich eine der häufigsten geringfügigen Dekompressionserkrankungen, die akute Osteoarthralgie, zurückzuführen. Durch die Kumulation von Stickstoff kann es zu stechenden Schmerzen in den periartikulären Geweben der großen Gelenke des Körpers kommen (14). Dies führt zu einer durch die Schmerzen hervorgerufenen typischen gebückten Ganghaltung, welche auch „bends“ genannt wird.

Ein Zusammenhang zwischen der durch Überdruckexposition entstandenen Gasblasenmenge und der Häufigkeit respektive dem Ausprägungsgrad der DCS ist, wie vorher schon dargelegt, unstrittig (18, 19, 68).

Allgemein anerkannt ist außerdem der Einfluss der kumulierten Überdruckexpositionsdauer und der Expositionsgröße (Tauchtiefe). So findet man bei

Berufstauchern und Überdruckarbeitern eine statistisch signifikante positive Korrelation zwischen der Häufigkeit nachgewiesener dysbarischer Osteonekrosen und der Anzahl der vorher registrierten DCS-Symptomen (28, 64, 75).

Einige Autoren fanden keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Häufigkeit von DCS-Symptomen und dysbaren Osteonekrosen (24). Walder bemerkt hierzu, dass nur etwa 10% der Arbeiter mit einer abgelaufenen DCS eine DON entwickeln und dass bei ca. 25% von beschriebenen dysbarischen Osteonekrosen im Vorfeld nie DCS-Symptomatiken geschildert wurden (128).

Aus diesen Gründen liegt es nahe, dass es noch andere Faktoren gibt, welche das Entstehen einer dysbarischen Osteonekrose begünstigen. Natürlich kann hier die „symptomlose Gasblasenbildung“ als mögliche Ursache angeführt werden. Wenn aber Knochengewebe so empfindlich auf die entstandenen Gasblasen reagiert, müsste nach einer symptomatischen Gasblasenbildung die Inzidenz einer DON größer als 10% sein.

Von Gregg wurde hyperbarer Sauerstoff als ein möglicher „prädisponierender Faktor“ erachtet (43). Dem steht die Tatsache gegenüber, dass in den USA jährlich über 250 000 Therapien mit hyperbaren Sauerstoff durchgeführt werden und bis jetzt noch kein einziger Fall von aseptischer Knochennekrose beschrieben wurde (65).

Da aber Dekompression zwangsläufig mit einer Kompression verbunden ist und beide Vorgänge eine für den Körper abnormale Situation darstellen, wurde schon 1970 von Harrelson und Hills vorgeschlagen, dass eine langsamer erfolgende Kompression die Inzidenz von dysbarischen Osteonekrosen vermindern könnte (52). Nachfolgende Arbeiten von Chryssanthou et al. stützten die Hypothese, dass Kompression ein weiterer möglicher Risikofaktor der DON sein könnte (23, 24).

Wenn arterielles Blut in die erweiterten venösen Knochensinusoide gelangt, nimmt die Fließgeschwindigkeit deutlich ab (76). Eine sinkende Flussrate hat einen Anstieg der Blutviskosität zur Folge (62), was zu einer sinusidalen Stase mit Thromboseprädisposition führt (20). Durch intramedulläre Gasblasenbildung mit der oben genannten konsekutiven Aktivierung des Gerinnungssystems und zusätzlicher Zerstörung von Knochenmarksfettzellen, kann es zu einer Verstärkung dieser Vorgänge kommen (69, 70).

Wie eingangs schon erwähnt, zeigen neuere Untersuchungen, dass dysbare Osteonekrosen auch bei Sporttauchern nachweisbar sind (81, 132). Tauchtiefen von bis zu 50 Metern sind auch beim Sporttauchen keine Seltenheit. Die Tauchausbildung, die medizinische Betreuung und der körperliche Fitnesszustand der Hobbytaucher sind im Vergleich zu Berufs- oder Marinetauchern oft sehr schlecht. Das Freizeittauchen war, bis zu einem Boom in den 90er Jahren, meist auf junge, gesunde und gut trainierte Männer beschränkt. Heute tauchen ganze Familien, ältere Menschen und Behinderte, welche alle unterschiedlichste körperliche Voraussetzungen mitbringen (14). Das daraus resultierende individuell meist höhere Risikoprofil der Hobbytaucher kann die Entstehung einer DCS fördern und deren klinischen Verlauf negativ beeinflussen (17).

Zusätzlich zu den meist schlechteren physischen Voraussetzungen der Sporttaucher birgt das Nullzeittauchen selbst ein erhöhtes Risiko für einen intrapulmonalen Shunt. Selbst bei Tauchgängen innerhalb der so genannten Nullzeit, werden die „schnellen“ Kompartimente stark aufgesättigt. Diese liefern dann während der Auftauchphase viele Gasblasen pro Zeiteinheit und verstärken deren Übertritt in den großen Körperkreislauf.

Bei Tauchgängen mit langen Dekompressionszeiten, wie sie bei Berufstauchern üblich sind, werden diese Kompartimente bei noch relativ hohem Umgebungsdruck gut entsättigt. Dies bewirkt eine geringere Anzahl von Mikrogasblasen pro Zeiteinheit nach dem Tauchgang, was mit einem geringeren Shuntvolumen einhergeht (14). Besonders hoch wird der intrapulmonale Shunt bei dem im Urlaub oft praktizierten exzessiven Tauchen (Non-limit-Tauchen) mit ungenügend langen Oberflächenintervallen zwischen den Tauchgängen. Da sich das Gewebe noch nicht vollständig entsättigt hat, kumuliert der Stickstoff und die Anzahl der Gasblasen erhöht sich nach jedem Tauchgang und vermehrt damit das Shuntvolumen (14).

## 4 Biochemische Knochenmarker

Der Remodellierungsprozess des Knochens unterliegt einer Tagesrhythmik, mit nachts, oder in den frühen Morgenstunden, ansteigenden Knochenresorptions- und Knochenformationsparametern (56). Die Ätiologie der circadianen Rhythmik der Knochenformation ist von der circadianen Rhythmik des Serumcortisols abhängig (95). Wohingegen die Ursachen der knochenresorptiven Tagesrhythmik noch immer unklar sind und sich als unabhängig vom Alter, dem menopausalen Status, der Körperlage (110) und der Cortisolkonzentration (108) erwiesen. Die jahreszeitlichen Schwankungen der Werte von Knochenstoffwechselmarkern (133) sind bei entsprechend langfristig angelegten Studiendesign und bei Studien zur circadianen Variation von Belang.

Wichtige Einflussparameter auf den Absolutwert der Messergebnisse unterschiedlicher Probanden ergeben sich aus dem Alter, Geschlecht, menopausalen Status, Zustand nach frischer Fraktur, Schwangerschaft, Diät, der Einnahme von Medikamenten (z.B. Corticosteroiden), Immobilität, sportliche Betätigung sowie Erkrankungen der Schilddrüse, Niere oder Leber (51).

Die biochemischen Messungen des Knochenstoffwechsels reflektieren die Dynamik des Remodellierungsprozesses und erlauben eine quantitative Beurteilung (93). Hauptsächlich wird der Knochenumsatz der Spongiosa wiedergespiegelt, da die Knochen corticalis nur eine geringe Stoffwechselaktivität aufweist (21). Bei ausreichender Stabilität sind die Marker im Serum und/oder Urin nachweisbar. Man kann sie in drei Kategorien einteilen:

- (a) Enzyme und Proteine, welche von den am Remodellierungsprozess beteiligten Zellen freigesetzt werden.
- (b) Knochenabbauprodukte, welche durch die Resorption von alten Knochenarealen entstehen.
- (c) Stoffwechselnebenprodukte, welche im Rahmen der Synthese von neuer Knochenmatrix freigesetzt werden.

Aus funktionellen und klinischen Gründen hat man sie in Marker der Knochenformation bzw. –resorption unterteilt.

In einer Übersicht werden die in der aktuellen Forschung bzw. Diagnostik im Vordergrund stehenden Knochenmarker aufgezeigt.

<b><u>Knochenaufbau</u></b>	<b>Abkürzung</b>	<b>Hauptquelle</b>	<b>Nachweisbar in:</b>	<b>Spezifität</b>
Alkalische Phosphatase	AP	Knochen, Leber, Darm, Niere, (Plazenta)	Serum	gering; normal AP:BAP=1:1
Knochenspezifische Alkalische Phosphatase	BAP	Osteoblast	Serum	sehr gut; bei hoher Leber-AP gering.
Osteocalcin	OC, BGP	Osteoblast, Fibroblast, Thrombozyt, Endothel	Serum	sehr gut
Carboxyterminales Prokollagen Typ-I- Propeptid	CICP/PICP	Osteoblast, Haut und Bindegewebe	Serum	mäßig
Aminoterniales Prokollagen Typ-I- Propeptid	PINP	Osteoblast, Haut und Bindegewebe	Serum	mäßig
<b><u>Knochenabbau</u></b>				
<b><u>Knochenabbau</u></b>	<b>Abkürzung</b>	<b>Hauptquelle</b>	<b>Nachweisbar in:</b>	<b>Spezifität</b>
Tartrat-Resistente Saure Phosphatase	TRAP	Knochen, Knorpel, Thrombozyten, Dentin	Serum	gut
Pyridinoline (CrossLinks)	PYD	Knochen, Knorpel, Sehnen und Blutgefäße	Urin/Serum	mäßig
Desoxypyridinoline (CrossLinks)	DPD	Knochen und Dentin	Urin/Serum	sehr gut
Carboxyterminales quervernetztes Telopeptid (Crosslinks)	ICTP, CTX	Knochen und Haut	Urin/Serum	gut
Aminoterniales quervernetztes Telopeptid (CrossLinks)	INTP, NTX	Knochen und Haut	Urin/Serum	gut

Tabelle 1: Übersicht der zurzeit in der aktuellen Forschung bzw. Diagnostik im Vordergrund stehenden biochemischen Knochenstoffwechselfmarker.



## 4.1 Marker der Knochenformation

Die gebräuchlichsten Marker der Knochenformation bestehen aus einem Enzym (alkalischer Phosphatase) und drei Nebenprodukten der Knochenmatrixsynthese (Osteocalcin und Amino- und Carboxyterminale Kollagen Typ-I-Extensionspeptide).

### 4.1.1 Alkalische Phosphatase (AP) und knochenspezifische AP (BAP)

Seit über einem halben Jahrhundert wird die alkalische Phosphatase (AP = Gesamtalkalische Phosphatase) hinsichtlich ihrer Aussagekraft auf den Stoffwechsel des Knochens untersucht. Die heutigen Kenntnisse über den direkten Einfluss der AP auf die Mineralisation des neu gebildeten Osteoids basieren unter anderem auf dem schon im Jahre 1930 geführten Nachweis einer mit gesteigerter Osteoblastenaktivität assoziierter AP-Konzentrationserhöhung (105). Enzyme mit AP-Aktivität sind aus mehreren Proteinen zusammengesetzt, welche von drei Genen codiert werden. Ein Gen codiert für eine Plazenta-AP, ein Zweites für ein Intestinales-AP sowie ein Drittes für Knochen-, Leber- und Nieren-AP (114). Diese drei letzten Isoenzyme stellen posttranslationale Modifikationen des gleichen Genproduktes dar und lassen sich am Grad ihrer Glykosylierung unterscheiden (82).

Die knochenspezifische AP (BAP) ist ein zellmembranständiges Ektoenzym, welches durch einen carboxyterminalen Glycanphosphatidylinositol-Anker an die Plasmamembran der Osteoblasten geheftet ist (84, 115). Durch eine gesteigerte Syntheseaktivität der Osteoblasten während der Knochenneubildung kommt es zu einer verstärkten Translation der m-RNA, wodurch auch vermehrt BAP auf der Zellmembran verankert wird. Phospholipase C und D lösen die BAP teilweise von der Oberfläche ab und führen zu einer Erhöhung der BAP-Konzentration im Serum (44, 125). Die BAP kann somit im Serum der Abschätzung der Knochenneubildungsrate dienen. Die genauen Mechanismen für die Beteiligung der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase am Mineralisierungsprozess sind noch nicht geklärt (72).

Craciun et al. konnten bei jeweils sechs Männern und Frauen im Mittel einen leichten linearen Abfall der BAP in der Nacht und in den frühen Morgenstunden nachweisen (27). Eine tagesabhängige Varianz (day to day variation, DTDV) des BAP wird im

Mittel mit 8,8% beschrieben (122). Die Elimination der BAP und AP erfolgt vorwiegend durch die Leber.

Eine manifeste hepatobiliäre Erkrankung und unterschiedliche Medikamente können zu einem erhöhten Spiegel dieser Phosphatasen führen.

Das BAP ist im Serum ein sehr stabiler Marker. Eine Aktivitätsabnahme bei 4°C gelagerten Proben ist innerhalb einer Woche nicht nachweisbar. Bei Vorliegen einer Hämolyse und Lipämie wird eine zu geringe und bei einer erhöhten Fibroblastentätigkeit eine zu hohe Aktivität gemessen (125).

Eine circadiane Rhythmik des BAP im Serum mit einem Gipfel in den späten Vormittagsstunden wurde von Cracuin et al. beschrieben.

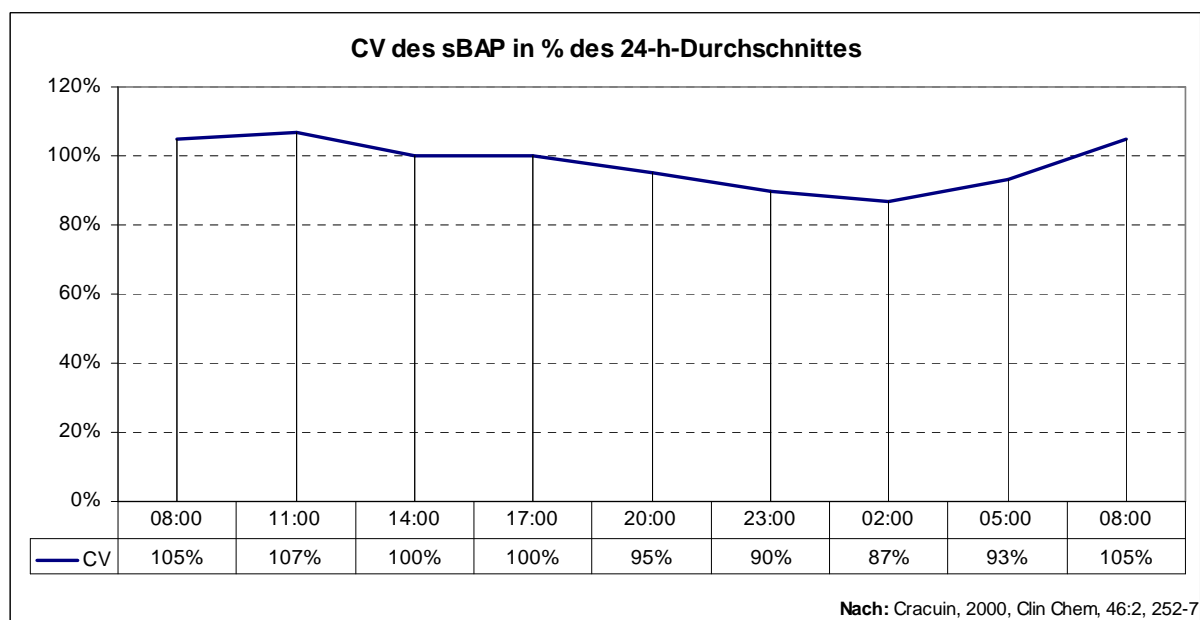


Abbildung 2: Circadiane Variation des Serum-BAP (sBAP) in Prozent des 24-Stunden-Durchschnittes (27).  
(CV = Tageszeitpunkt abhängige circadiane Variation)

#### 4.1.2 Osteocalcin (OC)

Das Osteocalcin (OC), auch als Bone- $\gamma$ -Carboxyglutaminsäure-Protein (BGP) bezeichnet, ist ein aus 46-50 Aminosäuren bestehendes, nicht kollagenes Knochenprotein, mit einem relativ kleinen Molekulargewicht von 5800 Dalton (101), welches in Osteoblasten und in ganz geringen Mengen in Odontoblasten synthetisiert wird. Die nicht-kollagenen Proteine des Knochens bestehen zu 10-20% aus BGP. Osteocalcin wird durch  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  stimuliert, wohingegen Parathormon

und einige Glukocorticoide die gesteigerte Synthese hemmen (125). Während des Verkalkungsprozesses dominiert die Expression von Osteocalcin (119) und es kommt zu einer Vitamin K abhängigen Interaktion zwischen Hydroxylapatit und Anteilen des Osteocalcin. Somit verbleiben ungefähr 80% des Osteocalcins in der Knochenmatrix, wo es fest an Hydroxylapatit bindet. Der Rest des OC gelangt in die Zirkulation, wo es eine Halbwertszeit von vier Minuten hat. Da die Elimination über die Niere erfolgt, steigt die Halbwertszeit bei Störungen der renalen Clearance stark an (125). Unter Therapie mit einem Vitamin-K-Antagonisten (Phenprocoumon, Warfarin) kommt es zu einer signifikant verminderten Carboxylierung des Osteocalcin. Dies führt zu einem deutlichen Funktionsverlust dieses Proteins (67). Osteocalcin gilt als spezifischer und sensitiver Marker der Knochenformation, solange das physiologische Coupling besteht (21). Liegt ein Uncoupling vor, ein Missverhältnis zwischen Formation und Resorption, so zeigt er den Grad des Knochenturnovers an (21). Aufgrund der schnellen Proteolyse ist eine rasche Weiterverarbeitung und Trennung des Serums von den Erythrozyten nach der Blutentnahme sowie ein umgehendes kontinuierliches Einfrieren unerlässlich (67). Ein circadianer Rhythmus des OC mit einem Gipfel am Abend und in der frühen Nacht wurde von Schlemmer et al. beschrieben (109). Ein Einfluss des Alters oder des Geschlechtes konnte bisher nicht nachgewiesen werden (96).

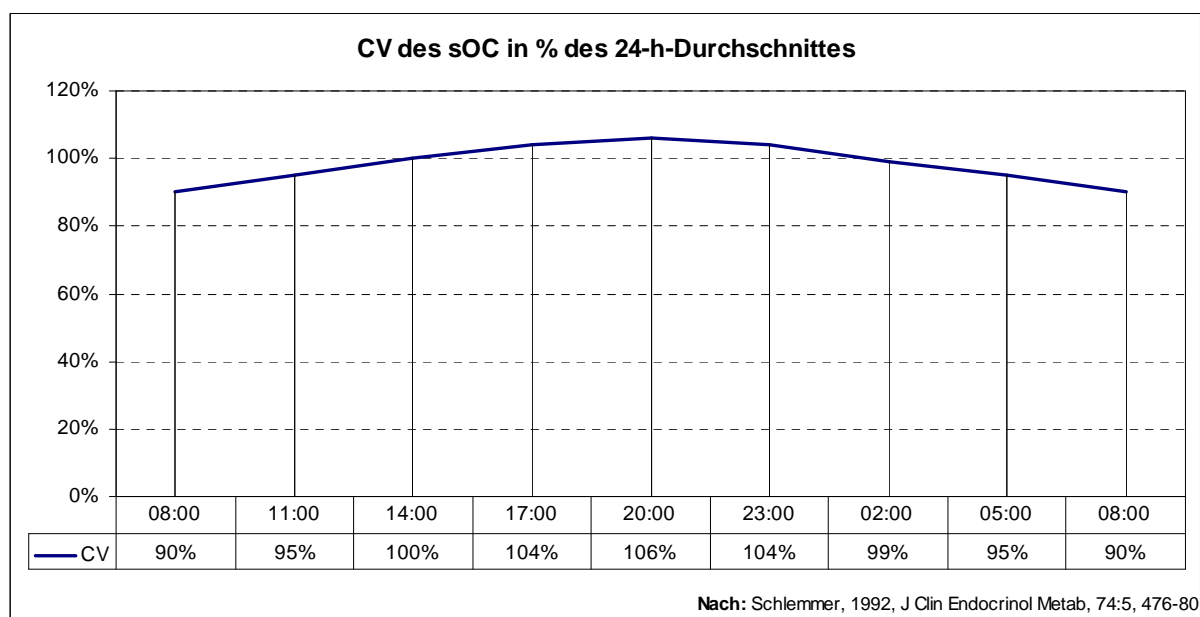


Abbildung 3: Circadiane Variation des Serum-OC (sOC) in Prozent des 24-Stunden-Durchschnittes (109).  
(CV = Tageszeitpunkt abhängige circadiane Variation)

### 4.1.3 Propeptide CICP/PICP und PINP

Aufgrund der Entfernung der COOH- und NH<sub>2</sub>-terminalen Extensionspeptide vom Prokollagenmolekül durch extrazelluläre Prokollagenpeptidasen (91) kommt es pro Mol freigesetzten Kollagenmolekülen zu einer äquimolaren Freisetzung der beiden unterschiedlichen Propeptide CICP/PICP (Carboxyterminales Prokollagen Typ-I-Propeptid, vom COOH-terminalen Ende) und PINP (Aminoternales Prokollagen Typ-I-Propeptid, vom NH<sub>2</sub>-terminalen Ende) ins Blut und in interstitielle Flüssigkeiten (37).

Die CICP-Konzentration in Gewebeflüssigkeiten korreliert mit der lokalen Syntheserate von Typ-I-Kollagen im Weichteilgewebe (66). Die CICP-Serumkonzentration spiegelt die aktuelle Knochenformationsrate wider und wurde als Marker zur Einschätzung des Knochenstoffwechsels anerkannt (92, 117). Sie stellt somit ein indirektes Maß der osteoblastären Aktivität dar, welches allerdings durch massive Fibroblastentätigkeit verfälscht werden kann (66, 125). Die Propeptide wirken darüber hinaus im Sinne eines negativen Feedbacks auf die Kollagensynthese und stellen somit einen einfachen, aber effektiven Kontrollmechanismus der Kollagenneubildung dar (59).

Die physiologischen Abbauege dieser Moleküle sind unterschiedlich. PINP wird über Scavenger-Rezeptoren in Endothelzellen der Leber (90) aufgenommen, wohingegen CICP an Mannose-Rezeptoren dieser Zellen bindet (118). PINP konnte sich im Vergleich zu CICP nicht durchsetzen und wird in der Praxis seltener eingesetzt (94).

Hassager et al. beschreiben bei gesunden prämenopausalen Frauen einen signifikanten circadianen Rhythmus mit 20% höheren Werten zwischen 2:00 und 5:00 Uhr im Vergleich zum Tiefpunkt gegen 14:00 Uhr (56). Diese Ergebnisse wurden bei postmenopausalen Frauen bestätigt (99).

Eine Hämolyse der Proben ist zu vermeiden. Die Propeptide sind im gelagerten Serum bei Raumtemperatur 48 h, bei 2-8°C über einen Zeitraum von 7 Tagen, bei -20 bis -80°C über einen Zeitraum von mindestens 6 Monaten stabil (83).

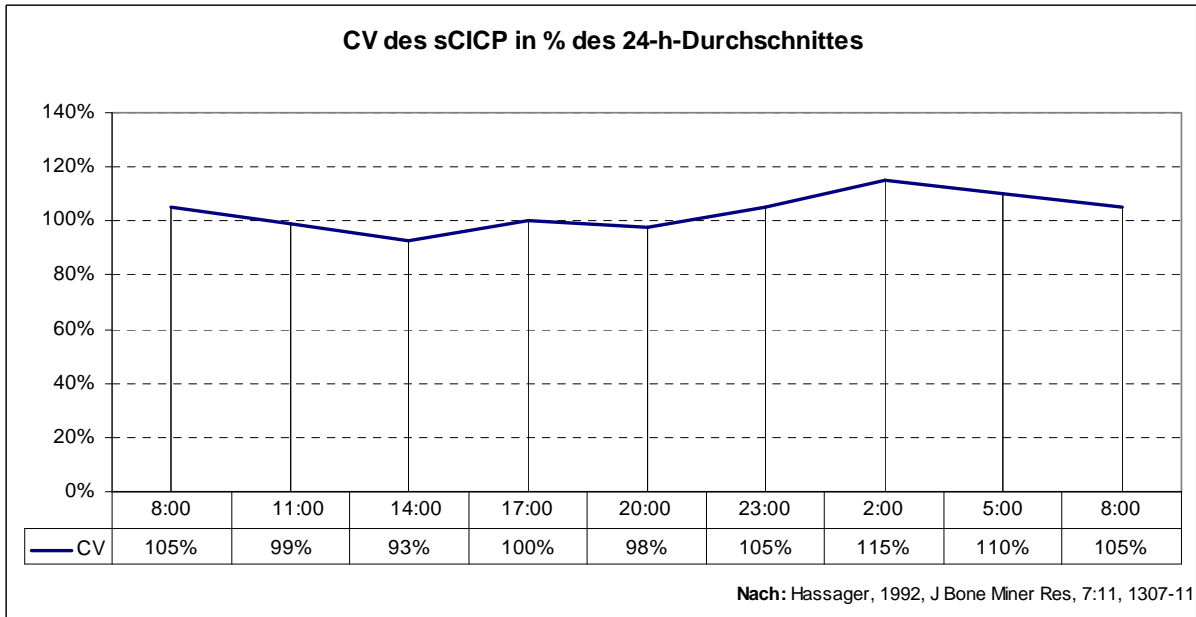


Abbildung 4: Circadiane Variation des Serum-CICP (sCICP) in Prozent des 24-h-Durchschnittes (56).  
(CV = Tageszeitpunkt abhängige circadiane Variation)

## **4.2 Marker der Knochenresorption**

Die Marker der Knochenresorption bestehen aus der tartratresistenten sauren Phosphatase (TRAP), einem spezifischen Osteoklastenenzym und Bestandteilen von Knochenabbauprodukten wie Kalzium, Hydroxyprolin, Pyridinoline, Desoxypyridinoline und Telopeptiden. Die KalziumExkretion im Urin wird diätetisch und medikamentös beeinflusst und ist somit nicht ausreichend spezifisch, um den Knochenstoffwechsel abzuschätzen.

### **4.2.1 Hydroxyprolin**

Hydroxyprolin ist ein Bestandteil der Kollagenpolypeptidketten, welches bei der Knochenresorption freigesetzt wird. Da jedoch nur ca. 10% über die Niere ausgeschieden werden und die Leber 90% oxidativ metabolisiert, spiegeln die im Urin gemessenen Werte nur einen kleinen Teil des tatsächlichen Kollagenabbaus wider und werden darüber hinaus durch Proteine aus der Nahrung beeinflusst. Die Aussagekraft der Hydroxyprolinkonzentration ist deshalb eher gering einzuschätzen und wird zur Knochenstoffwechselfdiagnostik nur noch selten herangezogen (94).

### **4.2.2 Pyridinolin (PYD) und Desoxypyridinolin (DPD)**

Während der extrazellulären Reifung der Kollagenmoleküle kommt es in der Tripelhelix durch Kondensation von Lysin- und Hydroxylysinresten zur Ausbildung gewebespezifischer kovalenter Brücken (Hydroxypyridiniumderivate) zwischen den einzelnen Kette, die als so genannte „Crosslinks“ das reife Kollagen festigen (94). Während der osteoklastischen Resorptionsphase werden die Matrixkollagene proteolytisch abgebaut und diese Pyridinium-Quervernetzungsprodukte in die Blutbahn abgegeben und im Urin unverändert ausgeschieden. Dort findet man die beiden wichtigsten Vertreter dieser Klasse: das Pyridinolin (PYD) und Desoxypyridinolin (DPD), welche in einem Verhältnis von etwa 3:1 auftreten (67). Sie kommen im Urin zu 60% in proteingebundener und der Rest in freier Form vor (74). Es gibt Hinweise dafür, dass ein großer Anteil der freien Form im Urin durch

Proteinabspaltung in der Niere entstanden ist (26). Aufgrund des hohen Kollagen-Turnover im Knochengewebe, welcher den der anderen extraossären Quellen bei weitem übersteigt, und aufgrund der unmöglichen alimentären Aufnahme der „Crosslinks“ können sie als hochspezifische Marker der Knochenresorption betrachtet werden (34). PYD kommt hauptsächlich im Kollagengerüst von Knochen, Knorpeln, Sehnen und perivaskulär vor, während DPD ausschließlich in Knochen und Dentin zu finden ist (31). Die Molare Ratio von PYD und DPD im Urin ist der im Knochen sehr ähnlich (6, 35). Dies wird als Indikator dafür gesehen, dass diese Bestandteile im wesentlichen aus dem Knochen stammen. Obwohl DPD als noch spezifischer für den Knochen gilt (67), erscheint es nur bei Patienten mit Knorpelerkrankungen und rheumatoider Arthritis, welche einen signifikanten PYD-Anstieg aus dem nichtknöchernen Gewebe verzeichnen, notwendig bei den Pyridinolen zu unterscheiden (116).

Schlemmer et al. beschreiben einen ausgeprägten circadianen Rhythmus der „Crosslinks“ PYD und DPD im Urin von prämenopausalen Frauen mit einem Spitzenwert zwischen 5:00 und 8:00 Uhr und einem Tiefpunkt zwischen 14:00 und 23:00 Uhr. (109). Diese Ergebnisse finden sich in anderen Untersuchungen zur circadianen Rhythmik des Urin-DPD in einer gemischten Population von 38 gesunden Probanden (71), sowie in einer Probandengruppe von 18 gesunden prämenopausalen Frauen bestätigt (10). Aufgrund dieser hohen Tagesverlaufsvariation in der Exkretion der Crosslinks wird von manchen Autoren ein 24-h-Sammelurin empfohlen (67). In anderen Arbeiten wird eine signifikante Korrelation zwischen den Ausscheidungswerten im 24-h-Sammelurin und dem morgendlichen Spontanurin beschrieben (2).

Über den circadianen Verlauf des PYD im Serum liegen keine Untersuchungen vor. Fraser et al. haben bei 10 jungen Männern das freie DPD des Serums im zeitlichen Verlauf bestimmt. Neben dem morgendlichen Tief fand sich ein Konzentrationsmaximum in den späten Abend- und frühen Morgenstunden (40).

Diese Kollagenbestandteile sind bei Raumtemperatur instabil und weisen nach 24 h einen bis zu 39% verminderten Wert auf. Bei 2-8°C sind sie eine Woche, bei -20 bis -80°C mindestens drei bis zwölf Monate stabil (83).

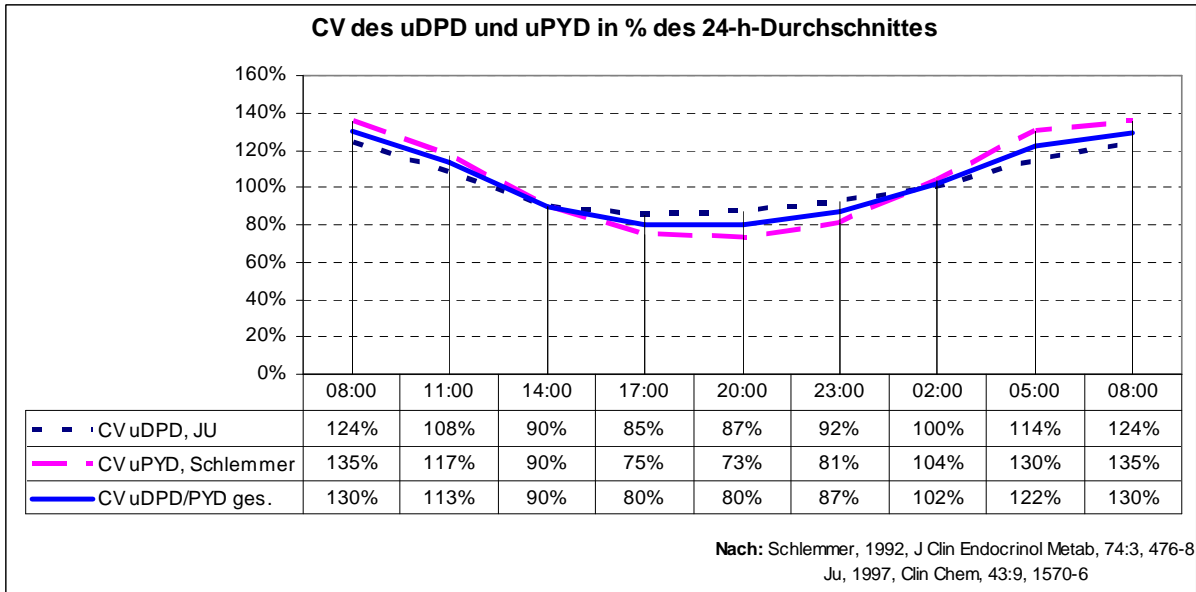


Abbildung 5: Circadiane Variation des Urin-DPD (uDPD) und Urin-PYD (uPYD) mit dem daraus resultierenden gemeinsamen Verlauf in Prozent des 24-h-Durchschnittes (71, 109). (CV = Tageszeitpunkt abhängige circadiane Variation)

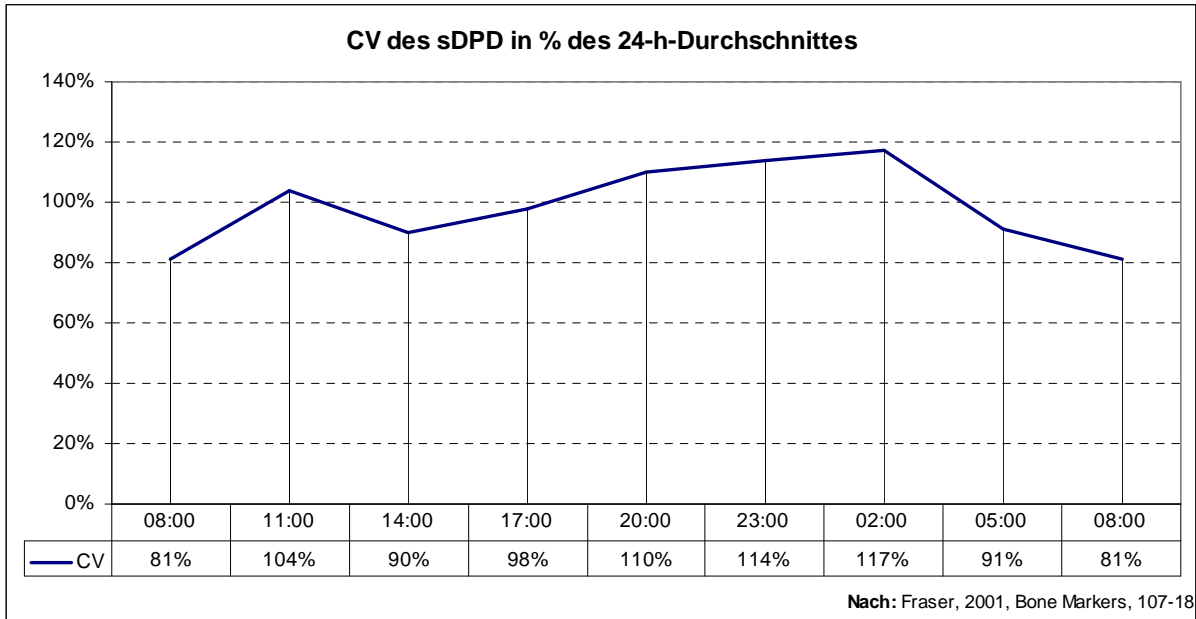


Abbildung 6: Circadiane Variation des Serum-DPD (sDPD) in Prozent des 24-h-Durchschnittes (40). (CV = Tageszeitpunkt abhängige circadiane Variation)



### 4.2.3 Aminoterminales Telopeptid (NTx) und carboxyterminales Telopeptid (CTx)

Wie bei den Propeptiden (CICP/PICP, PINP) erwähnt, lassen sich im Kollagenmolekül ein amino- (NH<sub>2</sub>-) und carboxyterminales (COOH-) Telopeptid (INTP und ICTP) nachweisen. Diese nicht trihelikal angeordneten Enden verknüpfen sich im Rahmen des physiologischen Ausreifungs- und Stabilisierungsprozesses mit helikalen Regionen einer benachbarten Kollagenfibrille. Während osteoklastischer Resorptionsphasen werden diese im peptidgebundenen Zustand mit den obigen genannten Quervernetzungsprodukten (DPD, PYD) proteolytisch abgebaut und in die Blutzirkulation freigesetzt. In vielen Studien konnte die hohe Sensitivität und Spezifität von im Urin nachgewiesenen Telopeptiden als Marker der Knochenresorption demonstriert werden. Neuentwickelte Serumassays werden als mindestens gleichwertig angesehen (9, 12, 22, 99).

Die zur Verfügung stehenden Labormethoden detektieren nur die Telopeptide und nicht die anhängenden Crosslinks, sie sind also von diesen unabhängig. Eine Möglichkeit ist die Messung des durch Metallproteasen freigesetzten carboxyterminalen Telopeptid des Typ-I-Kollagens (ICTP), (CTx-MMP), allerdings wird die Aussagekraft dieses ICTP eher als gering eingeschätzt (8). Eine weitere Variante ist die Messung des crosslinkvernetzten aminoterminalen Telopeptids des Typ-I-Kollagen (NTx;Osteomark®), oder ein immunologischer Nachweis der aus acht Aminosäuren (Octapeptid) bestehenden Antigen-Determinante auf dem carboxyterminalen Telopeptid des Typ-I-Kollagens (CTx;Crosslaps®) (112).

Die tageszeitlichen Schwankungen der CTx-Werte im Urin finden ihr Maximum zwischen 7:00 und 8:00 Uhr, um dann im Tagesverlauf bis zu ihrem Tiefpunkt um ca. 17:00 Uhr steil abzufallen (71).

Die Serumwerte von CTx zeigen bei gesunden Männern und prämenopausalen Frauen einen am frühen Abend beginnenden Anstieg mit einem Höchstwert gegen 5:00 Uhr am Morgen. Zwischen 8:00 und 11:00 Uhr fällt die Konzentration dann steil ab und erreicht zwischen 11:00 und 14:00 Uhr ihren Tiefpunkt (102). Die von dieser Arbeitsgruppe unter physiologischen Bedingungen ermittelten circadianen Variationen finden sich in einer Untersuchung von Wichers et al. an sechs jungen Männern bestätigt (131).

Teloptide sind in Körperflüssigkeiten bei Raumtemperatur für 48h, bei -20 bis -80°C mindestens für drei bis zwölf Monate stabil ( 83).

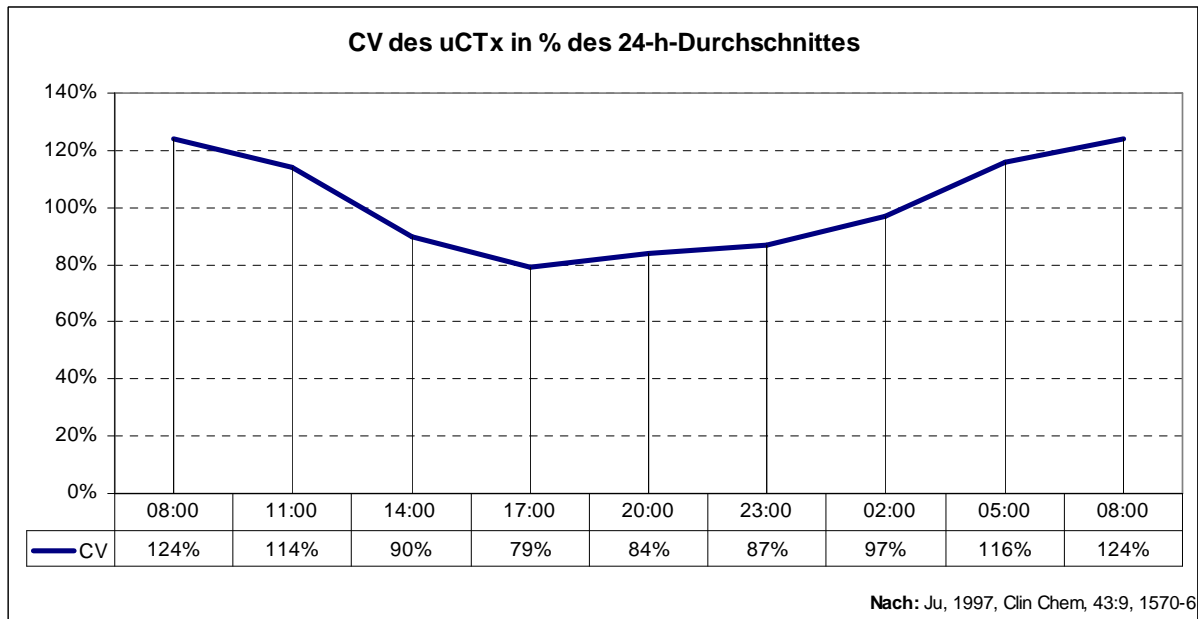


Abbildung 7: Circadiane Variation des Urin-CTx (uCTx) in Prozent des 24-h-Durchschnittes (71).  
(CV = Tageszeitpunkt abhängige circadiane Variation)

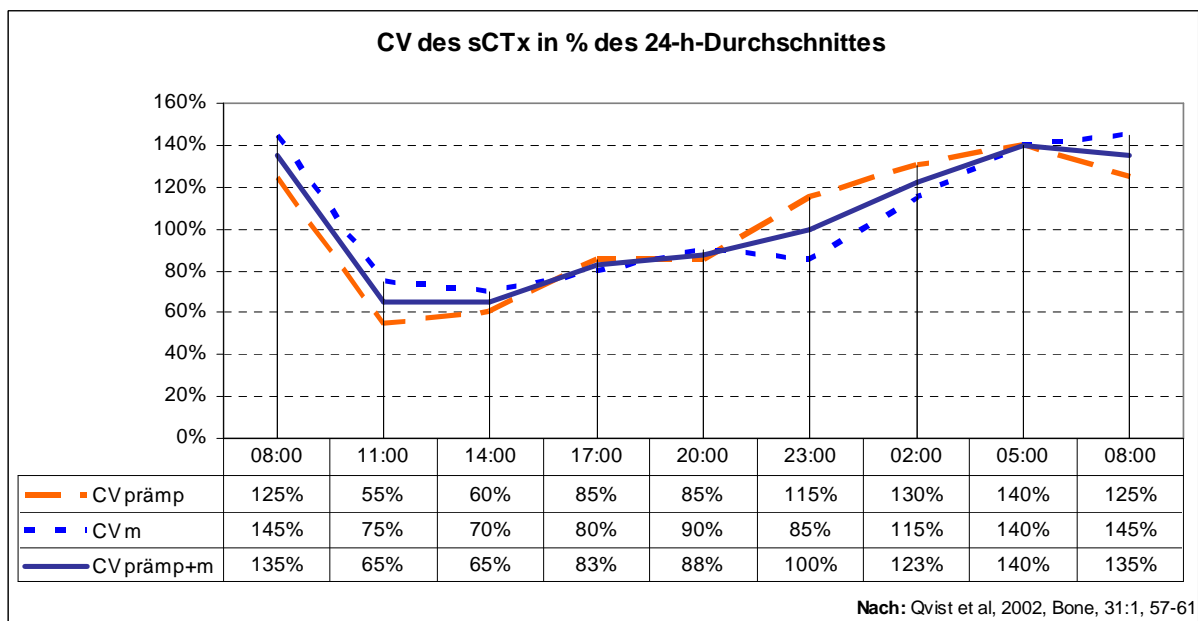


Abbildung 8: Circadiane Variation des Serum-CTx (sCTx) in Prozent des 24-h-Durchschnittes (102).  
(CV = Tageszeitpunkt abhängige circadiane Variation, MW = Mittelwert, prämp = prämenopausal, m = männlich)

#### **4.2.4 Tartratresistente saure Phosphatase (TRAP)**

Die im Blut messbare gesamte saure Phosphatase (SP) setzt sich aus vielen Isoenzymen zusammen, welche vorwiegend aus Thrombozyten, Erythrozyten, den Zellen des retikulo-endothelialen Systems (z.B. Alveolarmakrophagen) (136), Osteoklasten sowie der Prostata stammen (112). Der größte Teil der tartrathemmbar SP im Serum kommt von der Prostata und den Thrombozyten. Unter dem Begriff der tartratresistenten sauren Phosphatase (TRAP) werden alle Phosphatasen subsumiert, welche ihre maximale enzymatische Aktivität (Spaltung von Phosphatestern) im sauren Bereich (pH 5-6) haben (125). Die tartratresistente SP (TRAP) entstammt den Osteoklasten und aktivierten Makrophagen (48). Da die TRAP ebenfalls in Erythrozyten vorkommt, sind selbst bei gewissenhafter Venenpunktion die Serumwerte aufgrund der Erythrozyten-Aggregation immer höher als die Urinwerte (129).

Bei Raumtemperatur und alkalischen Verhältnissen verliert die TRAP binnen Stunden deutlich an Aktivität und konnte sich lange Zeit in der Routinediagnostik nicht durchsetzen (41, 112). Neue Erkenntnisse über die Subisoformen 5a und die für Osteoklasten charakteristische 5b der TRAP (47) könnten sich als ein wichtiger Fortschritt bei der Nutzung dieses Enzyms als spezifischer Marker der Osteoklastentätigkeit herausstellen (46).

### **4.3 Noch nicht etablierte Marker des Knochenstoffwechsels**

Schwerpunkte in der Erforschung anderer biochemischer Marker des Knochenmetabolismus liegen, mit Ausnahme des Helikalen Peptides (Proteinsequenz der helikalen Kollagenstruktur), bei den nichtkollagenen Proteinen. Diese sind auf unterschiedlichste Art und Weise bei der Ausreifung der knöchernen Matrix beteiligt. Da momentan noch zu wenige Untersuchungen hinsichtlich Wechselwirkungen mit Pathologien und anderen Einflüssen vorliegen, sind diese Marker augenblicklich noch ungeeignet, den Knochenstoffwechsel zuverlässig zu beschreiben.

#### **4.3.1 Bone Sialoprotein (OPN)**

Das Bone Sialoprotein (OPN) ist ein knochenspezifisches Phosphoprotein welches von Osteoklasten sowie von Osteoblasten synthetisiert wird (7). Da es überwiegend in Knochenmatrix lokalisiert ist, entstand die Hypothese, dass OPN an den dynamischen Umbauprozessen auf der Knochenoberfläche durch seine zellbindenden Eigenschaften beteiligt ist. Oldberg, Franzén und Heinegård schlugen deshalb schon 1986 die Bezeichnung Osteopontin vor, um der Fähigkeit des Proteins, Brücken (lat. Pons) zwischen Zellen und den Mineralien der Knochenmatrix zu schlagen, gerecht zu werden (97).

Es wurden noch weitere Zellen als Ort einer OPN-Synthese beschrieben, z.B. in den Trophoblasten-Zellen der Plazenta (7) sowie in pathologisch veränderten Nieren und in der Tumorgenese (103).

### **4.3.2 Osteonectin (ON)**

Das Osteonectin (ON) ist ein knochenspezifisches Protein, welches im Knochengewebe selektiv an Hydroxylapatit sowie an bestimmten Flächen von Kollagenfibrillen bindet. Dieses Protein ist alleiniger Bestandteil der Knochenmatrix, welche gerade den Prozess der Calcification durchläuft (120, 124). Stenner konnte bei Thrombozyten ebenfalls ON und dessen Sekretion nachweisen (120). Neuere tierexperimentelle Studien zeigen, dass ON für die Erhaltung der Knochenmasse und dem normalen Ablauf des Knochenremodeling unerlässlich ist (32). Aktuell werden Überlegungen angestellt, dieses Protein als Marker des Knochenstoffwechsels einzusetzen.

### **4.3.3 Helicales Peptid**

Das während des Kollagen Typ-I-Abbaus freigesetzte Helikale Peptid (helical peptide) besteht aus 14 Aminosäuren (Aminosäurenummern: 620-633) aus der helikalen Region der alpha-1-Kette und kann im Urin oder Serum nachgewiesen werden. Es wird im Vergleich mit etablierten Markern als ein sensibler Parameter der Knochenresorption eingeschätzt (42). Um aber genauere Aussagen treffen zu können, muss dieser Marker noch im Zusammenhang mit anderen Erkrankungen des Bindegewebes betrachtet werden (123).

### **4.3.4 RANKL (OPGL)**

RANKL (Receptor Activator of NF-kappa B Ligand, auch als Osteoprotegerin Ligand OPGL bekannt) wird von Zellen der osteoblasten Linie und aktivierten T-Lymphozyten produziert und aktiviert seinen spezifischen Rezeptor RANK über dessen Fängerrezeptor Osteoprotegerin (OPG). Er wurde als Schlüsselkomponente im körpereigenen Regelkreis des knöchernen Aufbaues identifiziert. Er aktiviert seinen spezifischen Rezeptor RANK, welcher sich auf Osteoklasten und dendritischen Zellen befindet. Als ein Mitglied der TNF-Familie (Tumor Necrosis Factor) ist er eine Hauptstimulanz für die Reifung von Osteoklasten

und ist für deren Überleben ausschlaggebend. In neuesten Studien wurde diese These durch Hemmung von RANKL und einer daraus resultierenden Hemmung der Osteoklasten Genese in einer Zellkultur bestätigt (127). Häusler et al. fanden, dass das von Osteoblasten sezernierte sFRP-1 (secreted frizzled related Protein-1), welches sich als hemmend auf die RANKL abhängige Osteoklastenformation erwies, ein weiteres Protein ist, welches in diesen komplexen Regelkreislauf modulierend einwirkt (58).

#### **4.3.5 Osteoblast stimulating factor 1 (OSF-1)**

Osteoblast stimulating factor 1 (OSF-1), auch als Pleiotrophin (PTN) bezeichnet, ist ein speziell mit mineralisierender extrazellulärer Matrix assoziiertes Protein. Es hat die Fähigkeit, die Migration, Adhäsion, Expansion und Differenzierung von Osteoprogenetoren, Zellen, welche die Differenzierung der Osteoblasten steuern, zu fördern (135).

## **5 Material und Methoden**

### **5.1 Studiendesign**

#### **5.1.1 Fragestellungen**

1. Gibt es einen direkten Zusammenhang zwischen Nullzeittauchen und einer Veränderung des Knochenstoffwechsels?
2. Kommt es zu einer Veränderung des Knochenmetabolismus während der Kompressions- und Isopressionsphase eines Tauchganges?
3. Haben unterschiedliche Tauchbelastungen, im Rahmen des Nullzeittauchens, Einfluss auf das Ausmaß und den zeitlichen Verlauf eventuell auftretender Veränderungen des Knochenstoffwechsels?
4. Lassen sich Rückschlüsse auf die möglichen Ursachen der DON ziehen?

#### **5.1.2 Versuchspersonen**

Im Rahmen der Tauchausbildung am Sportwissenschaftlichen Institut der Universität Konstanz und Basel wurden zehn Tauchgeräteeanfänger und fünf gerätetaucherfahrene Probanden rekrutiert. Als Teilnahmevoraussetzung wurde, neben einer tauchmedizinischen Eignung, von den Probanden gefordert, dass keiner der Teilnehmer an einer Knochenstoffwechselstörung, Arthritis, Osteomyelitis oder anderen degenerativen Gelenkerkrankungen leidet. Ferner wurde sichergestellt, dass von den Probanden, in der Woche vor der Untersuchung, kein intensives oder regelmäßiges sportliches Training absolviert wurde. Mit diesen Forderungen soll eine mögliche Fehlinterpretation der Knochenstoffwechselfparameter vermieden werden.

Die Probanden wurden über den Ablauf der geplanten Untersuchung von dem Projektverantwortlichen Herrn Dr. Gfrörer während einer Vorbesprechung ausführlich mündlich und schriftlich informiert und über ihre individuellen Risiken aufgeklärt (Aufklärungsblatt, s. Anlage). Sie waren bereit, freiwillig und unentgeltlich an der Studie teilzunehmen. Die folgenden anthropometrischen Daten wurden zwei Tage vor dem Abflug (d-2) zum Versuchsareal ermittelt.

Proband	weiblich / männlich	Größe [cm]	Gewicht [kg]	BMI [KG/Größe in m <sup>2</sup> ]	Alter
HeAl	w	170	52,4	18,13	35
NaKa	w	175	69	22,53	22
LiMo	w	160	56,1	21,91	21
RoLü	w	173	71	23,72	45
NIeI	w	160	53	20,70	21
CIso	w	171	58,8	20,11	22
<b>Mittelwert</b>	<b>w</b>	<b>168,17</b>	<b>60,05</b>	<b>21,19</b>	<b>27,67</b>
<b>Standartabweichung</b>	<b>w</b>	<b>6,55</b>	<b>8,07</b>	<b>1,97</b>	<b>10,07</b>
OIBo	m	192	77,9	21,13	22
WiGf	m	182	80,3	24,24	42
SaTh	m	191	81,3	22,29	22
ChRö	m	176	83	26,79	38
PaWy	m	190	80,1	22,19	24
ThDe	m	180	65,8	20,31	23
DiLü	m	187	84,9	24,28	48
YvB	m	180	71	21,91	21
AlFe	m	184	68,5	20,23	22
<b>Mittelwert</b>	<b>m</b>	<b>184,67</b>	<b>76,98</b>	<b>22,60</b>	<b>29,11</b>
<b>Standartabweichung</b>	<b>m</b>	<b>5,63</b>	<b>6,82</b>	<b>2,15</b>	<b>10,51</b>
<b>Mittelwert</b>	<b>ges.</b>	<b>178,07</b>	<b>70,21</b>	<b>22,03</b>	<b>28,53</b>
<b>Standartabweichung</b>	<b>ges.</b>	<b>10,17</b>	<b>11,11</b>	<b>2,13</b>	<b>9,99</b>

Tabelle 2: Anthropometrische Daten aller Probanden. (BMI = Body Mass Index, w = weiblich, m = männlich, KG = Kilogramm, ges. = gesamt, cm = Zentimeter)



### **5.1.3 Verwendete biochemische Knochenmarker**

Während des einwöchigen Tauchaufenthaltes in Marsa Alam, Ägypten, wurden binnen fünf aufeinander folgenden Tagen von allen Probanden durchschnittlich neun Nullzeittauchgänge absolviert. Es wurden bei den Tauchgängen alle aktuell für das Sporttauchen anerkannten Standards eingehalten. Um den Einfluss von Nullzeittauchgängen (NZTG) auf den Knochenstoffwechsel mittels biochemischer Knochenmarker zu untersuchen, ist es von besonderer Bedeutung, diese nach Kriterien zu wählen, welche den Bedingungen im Feldversuch entsprechen und eine ausreichende Stabilität bis zur Auswertung gewährleisten.

#### **5.1.3.1 Knochenformationsmarker**

Die BAP und CACP gelten im Serum als ausreichend stabile und etablierte Marker der Knochenformation (125) und werden deshalb für diese einwöchige Feldstudie als geeignet erachtet. In einer Studie von Lueken et al. erwies sich das nichtkollagene OC als der sensitivste Indikator zur Abschätzung der Knochenformation (85). Aufgrund der nur unter Laborbedingungen praktikablen Anwendung von OC (67) findet dieser Marker in vorliegender Studie keine Verwendung.

#### **5.1.3.2 Knochenresorptionsmarker**

Pyridinium Crosslinks und CrossLaps (CTX) sollen auftretende Veränderungen der Knochenresorption jeweils im Serum und Urin nachweisen.

In oben genannter Studie von Lueken et al. erwiesen sich die Pyridinium Crosslinks als gute Indikatoren zur Abschätzung der Knochenresorption in Serum und Urin (85). Die Stabilität dieser Marker wird als ausreichend eingeschätzt (83).

Eine ebenfalls hohe Spezifität und Sensivität sowie eine ausreichende Stabilität bietet das CTX im Serum und Urin (9, 12, 22, 83, 99).

#### 5.1.4 Auswahl der Serum- und Urinproben

Die Gewinnung der noch nicht durch das Tauchen beeinflussten Serumausgangswerte (SP1) resultierte aus einer zwei Tage vor dem Abflug um 18.00 Uhr (d-2;18:00) entnommenen Blutprobe. Die weitere Serumprobengewinnung (SP 2-4) erfolgte am fünften Tag um 10:00 Uhr, 12:30 Uhr und 14:30 Uhr (d5;10:00, d5;12:30, d5;14:30). Mit der Analyse dieser Proben werden eventuelle kumulative Faktoren der vorher absolvierten Tauchgänge sowie der Einfluss des letzten Tauchganges um 11:00 Uhr auf den Knochenstoffwechsel untersucht. Dieser Tauchgang wird im weiteren Verlauf als Referenztauchgang bezeichnet.

Die erste Morgenurinprobe (MUP1) wurde am Tag vor dem ersten geplanten Tauchgang gesammelt (d1;7:30). Die zweite Morgenurinprobe (MUP2) wurde am sechsten Tag, nach Abschluss aller geplanten Tauchgänge am Vortag gewonnen (d6;8:00). Mit dieser Messung werden ebenfalls alle eventuellen kumulativen Faktoren erfasst. Es wurde darauf geachtet, dass die Morgenuriningewinnung jeweils nüchtern zwischen 7:00 und 8:00 Uhr erfolgte. Durch den nahezu gleichen Entnahmezeitpunkt wird kein Einfluss der CV erwartet.

Des Weiteren wurden am fünften Tag die Urinproben vor dem Referenztauchgang (Urinprobe 1 = UP1) um 10:00 Uhr (d5;10:00) und unmittelbar nach dem Referenztauchgang (Urinprobe 2 = UP2) um 12:30 Uhr (d5;12:30) analysiert. Damit soll der mögliche Einfluss eines Nullzeittauchganges auf den Knochenstoffwechsel während der Kompressions- und Isopressionsphase ohne den Einfluss der Dekompression untersucht werden. In der unmittelbar nach dem Tauchen eingesammelten Urinprobe wird sich der mögliche Einfluss des Auftauchens (Dekompressionsphase) noch nicht widerspiegeln, wohingegen dieser, falls vorhanden, im Serum schon nachzuweisen wäre.

Untersuchungszeitraum	Uhrzeit	Serumprobeentnahmezeitpunkt	Urinprobekollektzeitpunkt
Tag -2	18:00	Serumprobe 1 (SP1)	
Tag -1			
Tag 0 (Anreise)			
Tag 1 TG	07:30		Morgenurinprobe 1 (MUP1)
Tag 2 TG			
Tag 3 TG			
Tag 4 TG			
Tag 5	10:00	SP2	Urinprobe 1 (UP1)
<b>Referenztauchgang (R-TG)</b>	11:00		
	12:30	SP3	Urinprobe 2 (UP2)
	14:30	SP4	
Tag 6	08:00		Morgenurinprobe 2 (MUP2)
Tag 7 (Abreise)			

Tabelle 3: Übersicht über den Studienablauf und die Entnahmezeitpunkte der untersuchten Proben.  
(TG = Tauchgang/ -gänge)

Das Serum wurde gleich nach der Blutentnahme abzentrifugiert und mit den Urinproben bei 2-4°C dunkel gelagert. Bei der Gewinnung der Proben wurde auf einen nahezu zeitgleichen Entnahmezeitpunkt geachtet.

Nach Ankunft in Greifswald wurden die Proben bei -20°C bis zum Zeitpunkt ihrer biochemischen Analyse gelagert.

Die Konzentration der Knochenmarker im Urin ist von der Clearance-Rate der Nieren abhängig. Deshalb müssen die ermittelten Messwerte durch den in derselben Probe ermittelten Kreatininwert korrigiert werden.

## 5.2 Untersuchungsparameter

### 5.2.1 Berechnung der Unterwasserexpositionsrößen

Jeder einzelne Tauchgang wurde anhand der vom Tauchcomputer gespeicherten Tauchzeit (Expositionsdauer) und Tauchtiefe (hydrostatischen Druck als Maß der Expositionsstärke) in einem Flächendiagramm graphisch dargestellt. Die Daten stammen aus den verwendeten Tauchcomputern der Firmen Suunto: Typ Moskito und Uwatec: Typ Aladin.

Um ein vergleichbares Maß der Unterwasserexpositionsrößen zu erhalten, wurde die „Area under the curve“ der jeweiligen Tauchgangsprofile berechnet.

Das sich daraus ergebende Flächenprodukt (A ges.) des jeweiligen Tauchganges in Meter \* Sekunden (m\*sec) dient als Absolutmaß, um näherungsweise die Vergleichbarkeit der einzelnen Tauchgänge zu ermöglichen. In der Summe resultiert hieraus die kumulierte Gesamtbelastung aller absolvierten Tauchgänge der einzelnen Probanden.

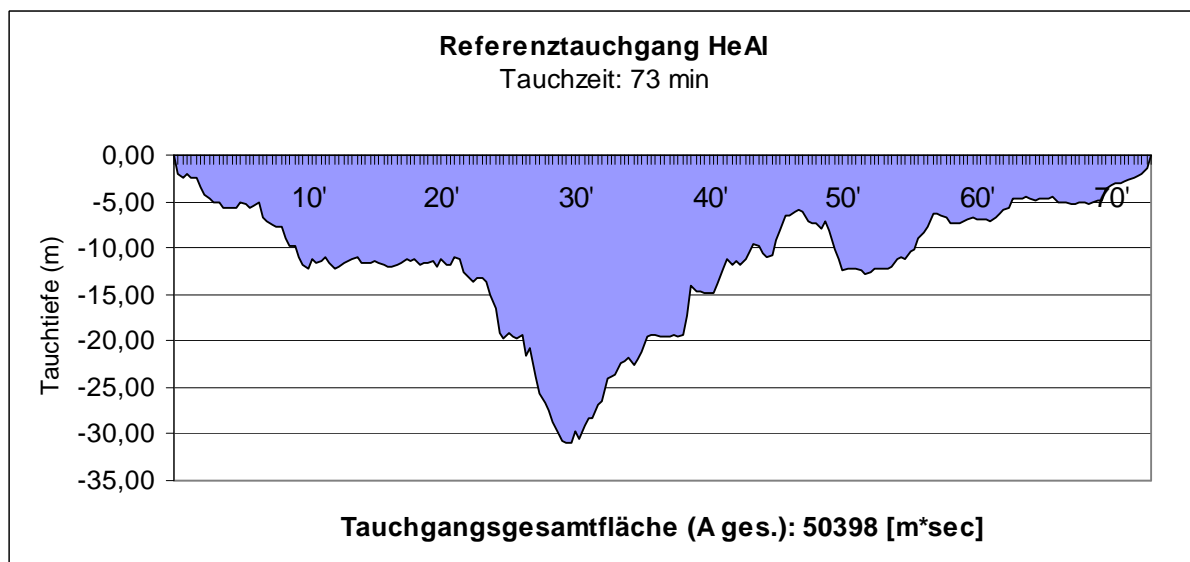


Abbildung 9: Beispielhafte graphische Darstellung des Referenztauchganges eines Probanden (TG 9 von HeAl). (min = Minuten, m = Meter, [m\*s] = Meter multipliziert mit Sekunden)

Die Tauchgangsgesamtflächen aller Probanden und aller Tauchgänge sind in Tabellenform mit den jeweiligen maximalen Tiefen, durchschnittlichen Tiefen und Tauchzeiten im Anhang dargestellt.

Aufgrund der Verwendung von teilweise nicht auslesbaren Tauchcomputern (Suunto Moskito) wurden den entsprechenden Probanden die Tauchdaten des jeweiligen Tauchpartners zugeordnet und für die Studiauswertung übernommen (s. Anhang). Da die Probanden angehalten waren als Tauchpartner so geschlossen als möglich zu tauchen (maximaler Tauchabstand eine Armlänge), ist die Berechnung der Unterwasserexpositionsrößen sicherlich bis auf geringe Abweichungen identisch mit denen der Tauchgangspartner. Diesen geringen individuellen Abweichungen bei den Tauchparametern wird kein nennenswerter Einfluss auf den Knochenstoffwechsel zuerkannt.

## **5.2.2 Laborchemische Datenerhebung**

Die laborchemische Bestimmung der Knochenstoffwechsellparameter erfolgte im Forschungslabor der Abteilung Neonatologie und pädiatrische Intensivmedizin der Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin der Universitätsklinik Greifswald (Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Christoph Fusch). Für die photometrische Bestimmung der Immunoassays wurde der ELISA-Reader SLT Spectra, Labinstruments Deutschland, verwendet. Die Bestimmung der Kreatininkonzentration im Urin erfolgte am Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin der Universitätsklinik Greifswald (Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Matthias Nauck). Die photometrische Bestimmung der Kreatininwerte erfolgte mit dem System Dimension®, Dada Behring, nach der Methode von Jaffé.

### **5.2.2.1 Funktionsprinzip des Serum Metra™ BAP Immunoassay**

Der Metra™ BAP ist ein auf Mikrotiterstreifen beruhender Immunoassay, bei dem die in der Probe vorliegende knochenspezifische alkalische Phosphatase (BAP) an einen mit monoklonalen Anti-BAP-IgG-Antikörper beschichteten Teststreifen gebunden wird. Standard, Kontrollen und Serumproben werden in die Vertiefungen der jeweiligen Teststreifen pipettiert. Nach Inkubation bei Raumtemperatur werden die ungebundenen Reaktionspartner ausgewaschen. Durch das zugesetzte chromogene Substrat pNPP (p-Nitrophenylphosphat) kommt es zu einer Enzymaktivität des gebundenen BAP. Nach Abstoppen der Farbreaktion mittels Natronlauge wurde die

optische Dichte des Endproduktes photometrisch bei 405 nm bestimmt. Die Aktivität der Phosphatase ist direkt proportional zur optischen Dichte. Normwerte für prämenopausale Frauen und Männer liegen bei 11,6-29,6 bzw. 15,0-41,3 U/L.

#### **5.2.2.2 Funktionsprinzip des Serum Metra™ CACP Immunoassay**

Die Mikrotiterplatte des Serum Metra™ CACP (Carboxyterminales Propeptid) Enzym-Immunoassay ist mit monoklonalen Anti-CACP-Antikörpern beschichtet und dient der quantitativen Bestimmung von CACP im Humanserum. Standard, Kontrollen und Serumproben wurden in die Vertiefungen der jeweiligen Teststreifen pipettiert. Nach Inkubation bei Raumtemperatur werden die ungebundenen Reaktionspartner ausgewaschen. Durch das zugesetzte chromogene Substrat pNPP (p-Nitrophenylphosphat) kommt es zu einer Enzymaktivität des gebundenen CACP. Nach Abstoppen der Farbreaktion mittels Natronlauge wurde die optische Dichte des Endproduktes photometrisch bei 405 nm bestimmt. Normwerte für prämenopausale Frauen und Männer liegen bei 69-147 bzw. 76-163 ng/ml.

#### **5.2.2.3 Funktionsprinzip des Serum CrossLaps® ELISA (CTX)**

Das Serum CrossLaps® ELISA (CTX) der Firma Nordic Bioscience Diagnostics basiert auf zwei hochspezifischen monoklonalen Antikörpern gegen die Aminosäuresequenz eines Octapeptides (EKAHD-β-GGR) auf dem carboxyterminalen Telpeptid des Typ-I-Kollagens. Um ein spezifisches Signal mit dem Serum CrossLaps® ELISA messen zu können, müssen zwei Ketten dieser Antigen-Determinanten miteinander verknüpft (cross-linked) werden. Standard-, Kontroll- und Serumproben werden in die entsprechenden Vertiefungen pipettiert, die mit Streptavidin beschichtet sind. Anschließend erfolgt die Zugabe eines Gemisches von biotinyliertem Antikörper und einem peroxidase-konjugierten Antikörper. Der sich bildende Komplex zwischen CrossLaps® Antigen, biotinyliertem Antikörper und peroxidase-konjugierten Antikörper bindet sich an die Streptavidinoberfläche über einen biotinyliertem Antikörper. Nach der Inkubation bei Raumtemperatur werden die ungebundenen Reaktionspartner ausgewaschen. Durch das zugesetzte chromogene Substrat Tetramethylbenzidin (TMB) kommt es zu einer Enzymaktivität der gebundenen Komplexe. Nach Abstoppen der Farbreaktion mittels Schwefelsäure

wurde die optische Dichte des Endproduktes photometrisch bei 405 nm bestimmt. Normwerte für prämenopausale Frauen und Männer liegen bei 0,321 bzw. 0,332 ng/ml.

#### **5.2.2.4 Funktionsprinzip des Serum Metra™ PYD-Immunoassay**

Das Serum Metra™ PYD-Assay (Pyridinoline) basiert auf einer kompetitiven Bindung von aus Hasenserum gewonnenen polyklonalen Anti-PYD-Antikörper, an entweder löslichem PYD-Antigen im Serum, oder an PYD-Antigen beschichteten Mikrotiter-Platten. Standard, Kontrollen und Serumproben werden in die Vertiefungen der jeweiligen Teststreifen pipettiert. Nach der Inkubation bei Raumtemperatur werden die Vertiefungen geleert und die ungebundenen Reaktionspartner ausgewaschen. Gebundene Anti-PYD-Antikörper werden durch an alkalischer Phosphatase gebundenen Anti-Hasen-Antikörper ermittelt. Dann wird die Enzymaktivität des gebundenen PYD mit Hilfe des chromogenen Substrates pNPP (p-Nitrophenylphosphat) bestimmt. Nach Abstoppen der Farbreaktion mittels Natronlauge wurde die optische Dichte des Endproduktes photometrisch bei 405 nm bestimmt. Normwerte für prämenopausale Frauen und Männer liegen bei 1,55 bzw. 1,59 nmol/l.

#### **5.2.2.5 Funktionsprinzip des Urin CrossLaps® ELISA (CTx)**

Der Urin CrossLaps® ELISA (CTx) der Firma Nordic Bioscience Diagnostics basiert auf einer kompetitiven Bindung der Anti-CrossLaps®-Antikörper an entweder löslichem CrossLaps®-Antigen oder an CrossLaps®-Antigen beschichteten Teststreifen. Standard-, Kontroll- und Serumproben werden in die entsprechenden Vertiefungen pipettiert. Danach erfolgt die Zugabe der Anti-CrossLaps®-Antikörper mit einer sich anschließenden einstündigen Inkubation bei 18-22°C. Nach der Inkubation werden die Vertiefungen geleert und die ungebundenen Reaktionspartner ausgewaschen. Danach erfolgt die Zugabe von peroxidase-konjugierten Anti-Kaninchen-Immunglobulinen. Nach der sich anschließenden einstündigen Inkubationszeit bei 18-22°C werden die ungebundenen Reaktionspartner ausgewaschen und das chromogene Substrat Tetramethylbenzidin (TMB) zugefügt. Nach einer weiteren Inkubationszeit von 15 min wird die Farbreaktion mit

Schwefelsäure gestoppt. Danach wird die Extinktion photometrisch bei 405 nm gemessen. Die mit dem Urin CrossLaps® ELISA erhaltenen Ergebnisse sind mit der jeweiligen Kreatininurinkonzentrationen zu korrigieren. Normwerte für prämenopausale Frauen und Männer liegen bei 220 bzw. 207 µg/mmol Kreatinin.

#### **5.2.2.6 Funktionsprinzip des Urin Metra™ PYD-Immunoassay**

Der Urin Metra™ PYD-Assay ist ein auf Mikrotiterstreifen beruhender kompetitiver Enzym-Immunoassay, bei dem PYD und DPD in Urin mit einem monoklonalen Antikörper gegen Pyridinium-Crosslinks bestimmt werden. Standard-, Kontroll- und Serumproben werden in die entsprechenden Vertiefungen pipettiert und ein monoklonaler Antikörper gegen Pyridinium Crosslinks zugegeben. Es erfolgt dann eine dreistündige Inkubationszeit bei 2-8°. Das in der Probe vorliegende PYD und DPD konkurriert mit der PYD-Beschichtung auf dem Teststreifen um die Antikörper. Nach Auswaschung der ungebundenen Reaktionspartner wird das chromogene Substrat pNPP (p-Nitrophenylphosphat) zugesetzt und bei Raumtemperatur inkubiert. Nach 60 Minuten wird die Farbreaktion mit Natronlauge gestoppt und die Extinktion photometrisch bei 405 nm gemessen. Die mit dem Metra-PYD-Assay erhaltenen Ergebnisse sind mit der jeweiligen Kreatinin-Urinkonzentrationen zu korrigieren. Normwerte für prämenopausale Frauen und Männer liegen bei 25,5 bzw. 18,5 nmol/mmol Kreatinin.

#### **5.2.2.7 Funktionsprinzip der Kreatininkonzentrationsbestimmung (Dimension®)**

In Gegenwart starker Basen wie NaOH reagiert Pikrat mit Kreatinin unter Bildung eines roten Farbstoffes. Die Geschwindigkeit der Zunahme der Extinktion bei 510 nm, hervorgerufen durch die Bildung dieses Farbstoffes, ist direkt proportional zur Kreatininkonzentration in der Probe. Die Extinktion wird bichromatisch als kinetische Reaktion bei 510 nm und 600 nm gemessen. Bilirubin-Interferenzen werden durch Kaliumferricyanid im Testansatz ausgeschlossen.



### 5.3 Darstellung der Laborwerte

Im Folgenden werden die Ergebnisse der jeweiligen untersuchten biochemischen Marker des Knochenstoffwechsels in Tabellenform dargestellt. Da sich die Anzahl der möglichen Probeanalysen bei den von uns verwendeten Knochenmarker-Assays unterscheidet, ergeben sich teilweise voneinander abweichende Messschemata sowie Unterschiede bei Einfach- und Doppelbestimmungen.

Neben den Messergebnissen finden sich bei doppelt bestimmten Messwerten die zugehörigen Variabilitätskoeffizienten (VK = Abweichung zweier Messergebnisse bei derselben Probe in Prozent). Messwerte mit einem  $VK > 15\%$  sollten als qualitativ fraglich erachtet werden. Diese VK-Werte sind in der folgenden Ergebnisübersicht fett hervorgehoben. Der Variabilitätskoeffizient bezieht sich immer auf die gemessenen Konzentrationen. Das heißt, dass der VK bei den Urinmarkern nicht auf den dort angegebenen Kreatinin korrigierten Messwerten beruht, sondern sich von den gemessenen, noch nicht korrigierten, Markerkonzentrationen im Urin herleitet (s. Anhang).

Angegeben werden des Weiteren die geschlechtsspezifischen Mittelwerte der Messergebnisse, der Gesamtmittelwert der Messergebnisse, die zugehörigen Standardabweichungen sowie Datum und Uhrzeit. Die Normwerte wurden von den Herstellerangaben übernommen.

Der Knochenstoffwechsel unterliegt im Laufe der unterschiedlichen Lebensabschnitte starken Schwankungen der Höchstwerte. Um bei einer Probandengruppe, welche bei der Altersvariable eine Varianzbreite von 21–48 Jahren aufweist, den Einfluss des Nullzeittauchens (NZZ) untersuchen zu können, ist besonders die prozentuale Veränderung der Absolutwerte im jeweiligen Vergleichspaar interessant. Bei jungen Männern in der dritten Lebensdekade sind die PINP- und NTx-Werte fast doppelt so hoch wie die der sich in der fünften Lebensdekade befindenden Vergleichsgruppe (36).

Aus diesem Grund ist eine isolierte Betrachtung der gemessenen Absolutwerte nur bedingt aussagekräftig. Um einen Vergleich der unterschiedlich großen, teils inhomogenen Probandengruppe im Mittel zu ermöglichen, wurden in einer weiteren Tabelle die zu den unterschiedlichen Zeiten gewonnenen Absolutwerte in

Vergleichspaare zusammengefasst und hinsichtlich ihrer prozentualen Veränderungen untersucht. Diese Veränderungen wurden hinsichtlich ihrer statistischen Signifikanz mit dem nicht-parametrischen Wilcoxon-Test getestet.

Um die aus dieser Untersuchung gewonnenen Veränderungen richtig einschätzen zu können, muss man sie mit dem physiologischen circadianen Verlauf des jeweiligen Markers in Relation setzen. Deshalb wird dann in einer folgenden Abbildung die jeweilige circadiane Variation (CV) des entsprechenden Markers in Prozent des 24-Stunden-Durchschnittes dargestellt. Die Grundlage dieser markerspezifischen tageszeitabhängigen Rhythmik bilden unterschiedliche Untersuchungen, welche den unbeeinflussten circadianen Verlauf der Markerkonzentrationen darstellen. Eine Übersicht der diesbezüglich in dieser Studie verwendeten Publikationen zeigt die nachfolgende Tabelle.

Marker/CV	Autor	Journal	Jahr	Vol., Issue, S.	n-w	n-m	Alter	Technik
uDPD/Crea in %	Schlemmer et al.	J Clin Endocrinol Metab	1992	73, 3, 476-80	12	-	32+/- 5	HPLC
uPYD/Crea in %	Schlemmer et al.	J Clin Endocrinol Metab	1992	73, 3, 476-80	12	-	32+/- 5	HPLC
uDPD/Crea in %	Blumsohn et al.	J Clin Endocrinol Metab	1994	79, 3, 730-5	18	-	Ø 36	HPLC
uDPD/Crea in %	Ju et al.	Clin Chem	1997	43, 9, 1570-6	17	21	Ø 34	Immunoassay
uCTx/Crea in %	Ju et al.	Clin Chem	1997	43: 9, 1570-6	17	21	Ø 34	Immunoassay
sCTx in %	Qvist et al.	Bone	2002	31:1; 57-61	ges. 100		Ø 20-60	Immunoassay
sCTx in %	Wichers et al.	Clin Chem	1999	45, 9, 1858-60	-	6	24 - 27	Immunoassay
sfDPD	Fraser et al.	Bone Markers	2001	S. 107-18	-	10	23-31	Immunoassay
spICP in %	Hassager, C.	J Bone Miner Res	1992	7:11; 1307-11	12	-	32+/- 5	Immunoassay
B-ALP	Craciun et al.	Clin Chem	2000	46: 2, 252-7	6	6	19-27	Immunoassay

Tabelle 4: Übersicht der ausgewerteten Untersuchungen, welche die Grundlage für die Darstellungen der tageszeitabhängigen circadianen Variation in dieser Arbeit bilden (10, 27, 56, 71, 102, 109, 131). (CV = tageszeitabhängige circadiane Variation, Vol. = Band, S. = Seite, n-w = weibliche Probandenanzahl, n-m = männliche Probandenanzahl, ges. = gesamt, HPLC = High Performance Liquid Chromatography, Crea in % = Creatinin in Prozent, Ø= durchschnittlich)

In diesen Veröffentlichungen findet sich keine Mitteilung über die gemessenen Absolutwerte. Die Darstellung der physiologischen circadianen Rhythmik im 24-Stunden-Verlauf basiert bei diesen zitierten Publikationen (s. Tab. 5) auf dem beim jeweiligen Marker errechneten Mittelwert aller Messungen. Dieser Wert bildet die 100% Grenze. Die jeweiligen Mittelwerte der Messergebnisse zu den gegebenen Messzeitpunkten wurden dann entsprechend ihres Prozentanteiles dargestellt. Aus den unterschiedlichen circadianen Niveaus zu den gegebenen Messzeitpunkten resultiert die physiologische circadiane Tagesverlaufskurve.

Analog zu diesen Verfahren wurden in dieser Pilotstudie die Mittelwerte der jeweiligen Ausgangsmesswerte im Serum und Urin (d-2,18:00 oder d1,7:30) mit dem zu diesen Zeitpunkten vorherrschenden prozentualen CV-Niveau des jeweiligen Markers gleichgesetzt. Die jeweiligen Einzelausgangsmesswerte wurden entsprechend ihres individuellen prozentualen Anteiles am Mittelwert in die Graphik eingesetzt (s. Abb. 12-18). Alle nachfolgenden Messwerte, welche durch die Tauchgänge als potentiell verändert gelten, wurden dann ebenfalls entsprechend ihres prozentualen Anteils zu dem Ausgangsmittelwert in der Graphik dargestellt. Die resultierenden Unterschiede zwischen dem zu erwartenden circadianen und dem in dieser Studie ermittelten Niveau wurden mit dem Wilcoxon-Einstichprobentest (Anpassungstest) hinsichtlich ihrer Signifikanz untersucht. Diese Untersuchung findet sich in der abschließenden Tabelle in der Ergebnis Darstellung des jeweiligen Markers.

Die prozentuale Adaptation der Messwerte, welche durch die Tauchgänge als potentiell verändert gelten, gestaltet sich wie folgt:

z.B.: **Ausgangsmittelwert (d-2;18:00) = 26 U/L**

Das physiologische prozentuale CV-Niveau um 18:00 Uhr beträgt 100%.

**Einzelmesswert (d5;10:00) = 23,5 U/L**

Der Einzelmesswert entspricht 90% des Ausgangsmittelwertes.

Das physiologische prozentuale CV-Niveau um 10:00 Uhr beträgt 107%.

**Der resultierende Unterschied zwischen dem erwarteten CV-Niveau und dem gemessenen CV-Niveau dieses Einzelwertes beträgt 17%.**

Dieses Verfahren setzt ein möglichst identisches Verhalten der zu Grunde liegenden Studienpopulationen voraus. Diese Voraussetzung ist aber nicht bei jedem Marker im gleichen Ausmaß gegeben, da sich die Vergleichspopulationen von Marker zu Marker unterschiedlich stark von der Population in der vorliegenden Studie unterscheiden (s. Tab. 5).

Des Weiteren zeigen die Ergebnisse der unterschiedlichen Studien zu gegebenen Zeitpunkten oft deutliche Differenzen. So wird von Schlemmer et al. ein Kreatinin korrigierter Prozentanteil des uDPD um 7:30 Uhr von 145% beschrieben (109).

Blumsohn et al. hingegen haben bei einer vergleichbaren Probandengruppe mit der gleichen Messtechnik einen prozentualen Anteil zu diesem Zeitpunkt von 120% angegeben (10). Eine mögliche Ursache dieser Diskrepanz könnte in den von der Jahreszeit abhängigen Konzentrationsschwankungen der Knochenmarker liegen. Woitge et al. untersuchten mehrere Formations- und Resorptionsmarker hinsichtlich dieser biologischen Variabilität im Jahresverlauf (133) (siehe Abb. 10).

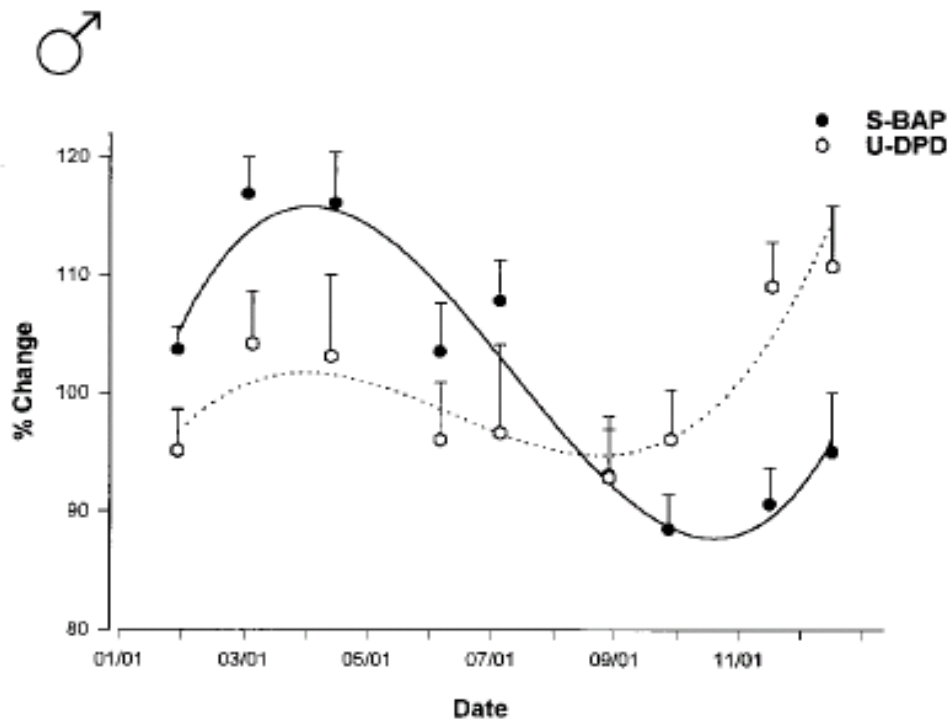


Abbildung 10: Darstellung der jahreszeitlichen Variation des Serum-BAP (sBAP) und des Urin-DPD (uDPD) in Prozent bei Männern (133).

Auch sind einzelne Marker, wie das PYD im Serum, hinsichtlich ihrer circadianen Variation im 24-Stundenverlauf noch nicht untersucht.

Beim Messwertevergleich unterschiedlicher Tage muss die so genannte tagesabhängige Variation, oder „day to day variation“ (DTDV), berücksichtigt werden. Beim uCTx beträgt diese in einer gemischten Population im Mittel zwischen 18% und 23% (71, 122). Eine Übersicht der in dieser Studie verwendeten Publikationen über die DTDV zeigt Tabelle 5.

Marker/DTDV	Autor	Journal	Jahr	Vol., Issue, S.	n-w	n-m	Alter	Technik
uPYD/Crea in %	Takhashi et al.	Endocr Res	2002	28, 3, 257-64	10	-	26 - 41	Immunoassay
uDPD/Crea in %	Takhashi et al.	Endocr Res	2002	28, 3, 257-64	10	-	26 - 41	HPLC
uCTx/Crea in %	Takhashi et al.	Endocr Res	2002	28, 3, 257-64	10	-	26 - 41	HPLC
uDPD/Crea in %	Ju et al.	Clin Chem	1997	43, 9, 1570-6	17	21	~34	Immunoassay
uCTx/Crea in %	Ju et al.	Clin Chem	1997	43: 9, 1570-6	17	21	~34	Immunoassay
sCTx in %	Takhashi et al.	Endocr Res	2002	28, 3, 257-64	10	-	26 - 41	Immunoassay
B-ALP in %	Takhashi et al.	Endocr Res	2002	28, 3, 257-64	10	-	26 - 41	HPLC
sPICP in %	Fink et al.	Osteoporos Int	2000	11, 4, 295-303	9	-	26 - 39	Immunoassay

Tabelle 5: Übersicht der ausgewerteten Untersuchungen, welche die Daten für die tagesabhängige circadiane Variation liefern (38, 71, 122). (DTDV = tagesabhängige circadiane Variation, Vol. = Band, S. = Seite, n-w = weibliche Probandenanzahl, n-m = männliche Probandenanzahl, HPLC = High Performance Liquid Chromatography, Crea in % = Creatinin in Prozent)

## 5.4 Statistische Auswertung

Die im Folgenden aufgeführte statistische Aufarbeitung dieser Arbeit wurde in Zusammenarbeit mit dem Institutsdirektor Herrn Prof. Dr. rer. nat. habil. Karl-Ernst Biebler und Herrn Dr. Wodny vom Institut für Medizinische Biometrie der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald durchgeführt. Alle Ergebnisse wurden mit dem Statistiksystem SAS ermittelt.

Zur Analyse dieser Pilotstudie stand jeweils ein Messkit pro Knochenmarker zur Verfügung. Die Aufteilung der Messproben erfolgte nach zu analysierender Körperflüssigkeit und Marker in Vergleichsgruppen mit unterschiedlich großer Probandenanzahl ( $n = \text{Probandenanzahl}$ ).

Für die statistische Auswertung verbundener Stichproben wurde der nicht-parametrische Wilcoxon-Test angewendet. Die Messwerte dieser Vergleichspaare werden im weiteren Ablauf als Verlaufsmesswerte bezeichnet.

Für die Berechnung des Einstichprobenproblems, bei welchem getestet wird, ob gemessene Daten mit den Ergebnissen aus anderen Untersuchungen übereinstimmen, wird der Wilcoxon-Einstichprobentest angewandt (Anpassungstest).

In der vorliegenden Studie werden die Vergleichspaare dieser beiden Untersuchungen hinsichtlich ihrer prozentualen Veränderung und deren statistischer Signifikanz untersucht.

Im Ergebnisteil werden der Test, die Nullhypothese, der p-Wert (Überschreitungswahrscheinlichkeit) und die Testentscheidung genannt. Testentscheidungen mit p-Werten unterhalb des verwendeten Signifikanzniveaus von 0,05 ( $\alpha = 0,05$ ) werden als signifikant bezeichnet. Für  $n$  ( $n = \text{Probandenanzahl}$ )  $< 6$  ist eine statistische Berechnung nicht möglich.

## 6 Ergebnisse

### 6.1 Unterwasserexpositionsgrößen

		TG	kumulierte maximale Tiefen in Meter	kumulierte durchschnittliche Tiefen in Meter	Gesamtunterwasserzeit in min	A ges.(m*sec)
HeAl	w	9	356,6	96,9	561' 20"	466394
NaKa	w	9	153,8	72,7	388' 40"	216686
LiMo	w	8	146,7	73,1	315' 00"	181466
RoLü	w	9	173,7	85,5	526' 40"	251890
NiEi	w	8	158,9	76,3	356' 00"	214738
CiSo	w	8	157,2	73,8	358' 00"	207090
OIBo	m	8	158,8	73,1	345' 40"	193530
WiGf	m	9	355,8	95,6	563' 20"	463771
SaTh	m	8	157,8	76,1	355' 00"	204322
ChRö	m	9	180,5	86,0	432' 00"	248760
PaWy	m	9	145,6	69,7	339' 20"	187570
MaDe	m	8	154,7	73,9	349' 00"	200782
DiLü	m	12	222,4	105,1	589' 40"	310984
YvBr	m	7	135,7	62,9	270' 20"	158360
AlFe	m	8	148,8	72,2	357' 40"	199027
<b>MW</b>	<b>ges.</b>	<b>8,6</b>	<b>187,1</b>	<b>79,5</b>	<b>407' 00"</b>	<b>247025</b>

Tabelle 6: Kumulierte Gesamtübersicht der mittels Tauchcomputer ermittelten Daten sowie die berechneten Unterwasserexpositionsgrößen aller Tauchgänge eines jeden Probanden. (Tg = Tauchgänge, min = Minuten, w = weiblich, m = männlich, ges. = gesamt, MW = Mittelwert, A ges. = Addierte Flächen über der Kurve als Ausdruck der Unterwasserexpositionsgröße aller Tauchgänge, m\*sec = Meter multipliziert mit Sekunden)

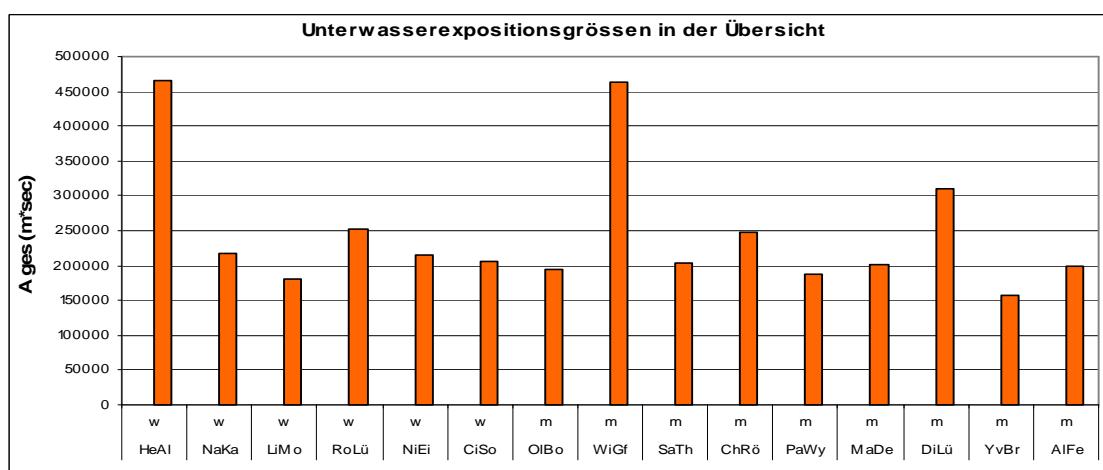


Abbildung 11: Addierte Unterwasserexpositionsgrößen (A ges.) aller Tauchgänge eines jeden Probanden in der graphischen Übersicht.

Die taucherfahrenen Probanden zeigen aufgrund mehrerer und/oder tieferer Tauchgänge zum Teil erheblich größere Belastungen.

## 6.2 Ergebnisse der laborchemischen Datenerhebung

### 6.2.1 Ergebnisse des BAP im Serum (sBAP)

Die Messergebnisse liegen, außer bei einer Messung (OIBo; d-2), alle im Bereich der zu erwartenden Normwerte. Die Qualität ist bei nur zwei Messungen mit einem VK von 18% bzw. 21% nicht zu beanstanden.

VK>15%		sBAP	VK	sBAP	VK	sBAP	VK	sBAP	VK
<b>Tag</b>		-2		5		5		5	
<b>Zeit</b>		18:00		10:00		12:30		14:30	
<b>prämp NW</b>		11,6 -29,9 U/L		11,6 -29,9 U/L		11,6 -29,9 U/L		11,6 -29,9 U/L	
<b>HeAl</b>	w	18,5	3,03%	20,6	0,00%	21,3	1,32%	22,0	10,24%
<b>NaKa</b>	w	21,3	9,71%	22,1	5,10%	23,5	<b>21,23%</b>	21,9	9,87%
<b>LiMo</b>	w	26,0	<b>17,76%</b>	22,9	5,75%	21,4	9,21%	23,2	0,41%
<b>RoLü</b>	w	12,1	6,94%	9,5	5,94%	10,0	3,74%	9,9	1,89%
<b>NiEi</b>	w	19,1						15,1	
<b>CiSo</b>	w	27,3						25,0	
<b>MW</b>	<b>w</b>	<b>20,7</b>						<b>19,5</b>	
<b>S.A.</b>	w	5,5						5,8	
<b>MW</b>	<b>w</b>	<b>19,5</b>		<b>18,8</b>		<b>19,1</b>		<b>19,2</b>	
<b>S.A.</b>	w	5,8		6,3		6,1		6,2	
<b>m(&gt; 24 J.) NW</b>		15,0-41,3 U/L		15,0-41,3 U/L		15,0-41,3 U/L		15,0-41,3 U/L	
<b>OIBo</b>	m	48,4	4,44%	38,7	8,43%	38,4	14,26%	40,0	10,09%
<b>WiGf</b>	m	17,7	1,06%	18,4	4,58%	18,5	11,11%	20,4	2,76%
<b>SaTh</b>	m	31,6	8,17%	31,1	7,33%	30,6	11,16%	31,9	12,82%
<b>ChRö</b>	m	20,0	8,90%					21,8	6,02%
<b>PaWy</b>	m	39,9	1,21%					40,2	6,70%
<b>ThDe</b>	m	28,5	11,63%					30,8	7,69%
<b>DiLü</b>	m	19,3	12,11%					19,3	0,48%
<b>YvBr</b>	m	30,3						28,5	
<b>AlFe</b>	m	30,1						34,9	
<b>MW</b>	<b>m</b>	<b>29,5</b>						<b>29,8</b>	
<b>S.A.</b>	m	10,0						8,0	
<b>MW</b>	<b>m</b>	<b>32,6</b>		<b>29,4</b>		<b>29,2</b>		<b>30,8</b>	
<b>S.A.</b>	m	15,4		10,3		10,0		9,9	
<b>MW</b>	<b>ges.</b>	<b>26,0</b>						<b>25,7</b>	
<b>S.A.</b>	ges.	9,4						8,7	
<b>MW</b>	<b>ges.</b>	<b>25,1</b>		<b>23,3</b>		<b>23,4</b>		<b>24,2</b>	
<b>S.A.</b>	ges.	12,0		9,3		9,0		9,5	

Tabelle 7: Übersicht der Messergebnisse des Serum-BAP (sBAP). (VK = Variabilitätskoeffizient, S.A. = Standardabweichung, U/L = Units pro Liter, m = männlich, w = weiblich, ges. = gesamt, prämp. = prämenopausal, NW = Normwerte, MW = Mittelwert, >24 J. = Älter als 24 Jahre)



### 6.2.1.1 Darstellung der prozentualen Veränderungen der Verlaufsmesswerte des sBAP mit statistischer Auswertung

Beim vierten Vergleichspaar (d5,10:00 vs. d5,14:30) zeigt sich eine statistisch signifikante Erhöhung des sBAP Gesamtmittelwertes (von 23,3 +/- 9,3 auf 24,2 +/- 9,5 U/L) um 3,86% (p-Wert = 0,031).

		Vgl. Paar 1			Vgl. Paar 2			Vgl. Paar 3			Vgl. Paar 4		
		sBAP in U/L	sBAP in U/L	% Ver.	sBAP in U/L	sBAP in U/L	% Ver.	sBAP in U/L	sBAP in U/L	% Ver.	sBAP in U/L	sBAP in U/L	% Ver.
Tag	Zeit	-2 18:00	5 14:30		-2 18:00	5 10:00		5 10:00	5 12:30		5 10:00	5 14:30	
HeAl	w	18,5	22,0	18,71%	18,5	20,6	11,12%	20,6	21,3	3,41%	20,6	22,0	6,83%
NaKa	w	21,3	21,9	2,87%	21,3	22,1	3,97%	22,1	23,5	6,18%	22,1	21,9	-1,06%
LiMo	w	26,0	23,2	-10,87%	26,0	22,9	-12,13%	22,9	21,4	-6,36%	22,9	23,2	1,44%
RoLü	w	12,1	9,9	-18,12%	12,1	9,5	-21,98%	9,5	10,0	5,94%	9,5	9,9	4,95%
NiEi	w	19,1	15,1	-21,05%									
CiSo	w	27,3	25,0	-8,29%									
<b>MW</b>	<b>w</b>	<b>20,7</b>	<b>19,5</b>	<b>-5,82%</b>	<b>19,5</b>	<b>18,8</b>	<b>-3,74%</b>	<b>18,8</b>	<b>19,1</b>	<b>1,57%</b>	<b>18,8</b>	<b>19,2</b>	<b>2,63%</b>
OIBo	m	48,4	40,0	-17,22%	48,4	38,7	-20,01%	38,7	38,4	-0,86%	38,7	40,0	3,48%
WiGf	m	17,7	20,4	15,35%	17,7	18,4	3,97%	18,4	18,5	0,77%	18,4	20,4	10,95%
SaTh	m	31,6	31,9	0,91%	31,6	31,1	-1,65%	31,1	30,6	-1,52%	31,1	31,9	2,60%
ChR	m	20,0	21,8	9,14%									
PaWy	m	39,9	40,2	0,85%									
MaDe	m	28,5	30,8	8,32%									
DiLü	m	19,3	19,3	-0,01%									
YvB	m	30,3	28,5	-5,94%									
AlFe	m	30,1	34,9	15,79%									
<b>MW</b>	<b>m</b>	<b>29,5</b>	<b>29,8</b>	<b>0,81%</b>	<b>32,6</b>	<b>29,4</b>	<b>-9,73%</b>	<b>29,4</b>	<b>29,2</b>	<b>-0,75%</b>	<b>29,4</b>	<b>30,8</b>	<b>4,80%</b>
<b>MW</b>	<b>ges.</b>	<b>26,0</b>	<b>25,7</b>	<b>-1,15%</b>	<b>25,1</b>	<b>23,3</b>	<b>-7,17%</b>	<b>23,3</b>	<b>23,4</b>	<b>0,43%</b>	<b>23,3</b>	<b>24,2</b>	<b>3,86%</b>

**Vorzeichenrangtest nach Wilcoxon für die Differenz der jeweiligen Vergleichspaare**

**H0: Tauchen hat keinen Einfluss auf die Serumkonzentration von BAP**

n = 15 ; $\alpha = 0,05$ p-Wert = 0,92497 nicht signifikant ! => H0 = bestätigt !	n = 7 ; $\alpha = 0,05$ p-Wert = 0,46875 nicht signifikant ! => H0 = bestätigt !	n = 7 ; $\alpha = 0,05$ p-Wert = 0,8125 nicht signifikant ! => H0 = bestätigt !	n = 7 ; $\alpha = 0,05$ p-Wert = 0,03125 <b>signifikant ! =&gt;</b> <b>H0 = ungültig !</b>
--	---	--	---

Tabelle 8: Prozentuale Veränderung der jeweiligen Vergleichspaare (Vgl. Paar 1-4) des Serum-BAP (sBAP) mit jeweils zugehöriger statistischer Auswertung. (% Ver. = Veränderung in Prozent, m = männlich, w = weiblich, ges. = gesamt, MW = Mittelwert, H0 = Nullhypothese, n = Anzahl der Probanden,  $\alpha$  = Signifikanzniveau, p-Wert = Überschreitungswahrscheinlichkeit)

### 6.2.1.2 Darstellung der CV des Serum-BAP in Prozent des 24-Stundendurchschnittes mit prozentual adaptierten Messwerten

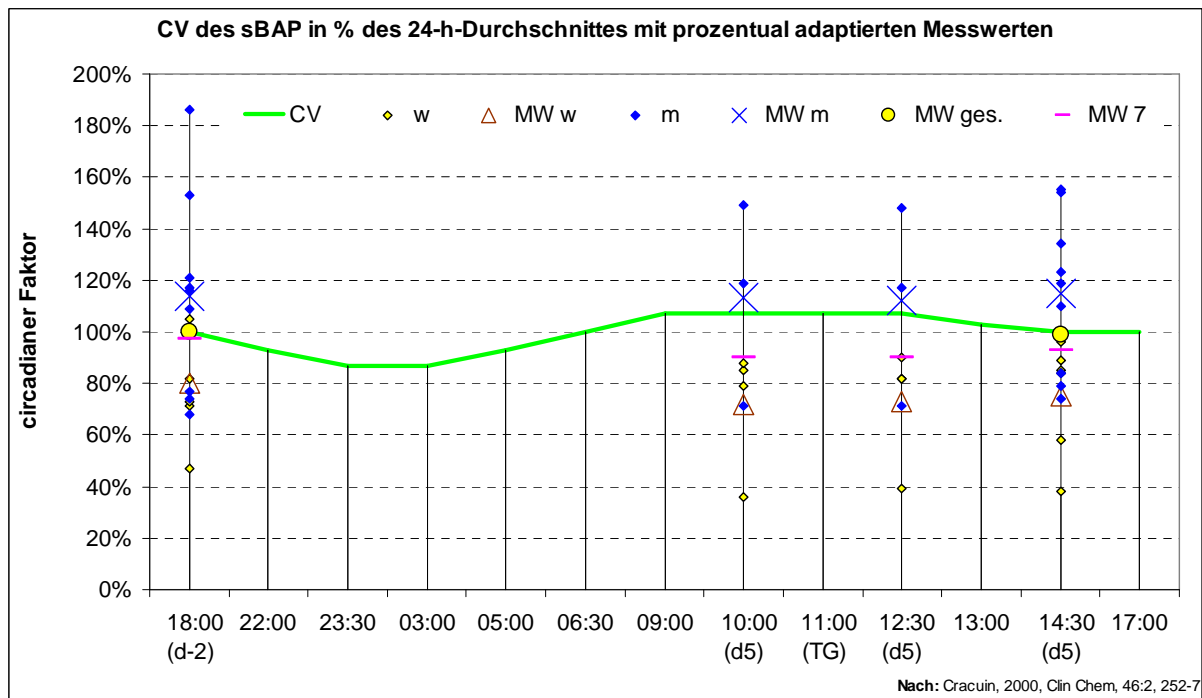


Abbildung 12: Circadiane Variation des Serum-BAP (sBAP) in Prozent des 24-h-Durchschnittes mit an den Ausgangsmittelwert entsprechend des circadianen Verlaufes adaptierten Messwerten (27). (CV = Tageszeitpunkt abhängige Circadiane Variation, w = weiblich, m = männlich, ges. = gesamt, MW = Mittelwert, MW 7 = Mittelwert der sieben zu allen Messzeitpunkten untersuchten Probanden, TG = Tauchgang, d = Tag)

### 6.2.1.3 Ergebnisse des Anpassungstests beim sBAP

Die statistische Auswertung der prozentual adaptierten Messdaten mit dem jeweilig zu erwartenden Mittelwert ergibt zu allen drei Zeitpunkten (10:00, 12:30 und 14:30 Uhr) keine signifikante prozentuale Veränderung.

Zeit		10:00 Uhr	10:00 Uhr	% Ver.	12:30 Uhr	12:30 Uhr	% Ver.	14:30 Uhr	14:30 Uhr	% Ver.
		sBAP erw. in %	sBAP gem. in %		sBAP erw. in %	sBAP gem. in %		sBAP erw. in %	sBAP gem. in %	
HeAl	w	107	79	-26%	107	82	-23%	100	85	-15%
NaKa	w	107	85	-21%	107	90	-16%	100	84	-16%
LiMo	w	107	88	-18%	107	82	-23%	100	89	-11%
RoLü	w	107	36	-66%	107	39	-64%	100	38	-62%
NiEi	w							100	58	-42%
CiSo	w							100	96	-4%
OiBo	m	107	149	39%	107	148	38%	100	154	54%
WiGf	m	107	71	-34%	107	71	-34%	100	79	-21%
SaTh	m	107	119	11%	107	118	10%	100	123	23%
ChR	m							100	84	-16%
PaWy	m							100	155	55%
MaDe	m							100	119	19%
DiLü	m							100	74	-26%
YvB	m							100	110	10%
AlFe	m							100	134	34%
<b>MW</b>	<b>ges.</b>	<b>107</b>	<b>90</b>	<b>-16%</b>	<b>107</b>	<b>90</b>	<b>-16%</b>	<b>100</b>	<b>99</b>	<b>-1%</b>
<p><b>Vorzeichenrangtest nach Wilcoxon für ein Einstichprobenproblem (Anpassungstest)</b></p> <p><b>H0: Tauchen hat keinen Einfluss auf die Serumkonzentration von BAP</b></p>										
<p>n = 7 ; <math>\alpha = 0,05</math></p> <p>p-Wert = 0,29688 nicht signifikant ! =&gt; H0 = bestätigt !</p>				<p>n = 7 ; <math>\alpha = 0,05</math></p> <p>p-Wert = 0,29688 nicht signifikant ! =&gt; H0 = bestätigt !</p>				<p>n = 15 ; <math>\alpha = 0,05</math></p> <p>p-Wert = 0,84692 nicht signifikant ! =&gt; H0 = bestätigt !</p>		

Tabelle 9: Prozentuale Veränderung und statistische Berechnung der prozentual adaptierten Messdaten des Serum-BAP (sBAP) mit dem zum jeweiligen Zeitpunkt zu erwartenden Mittelwert. (erw. = erwartet, gem. = gemessen, % Ver. = prozentuale Veränderung, m = männlich, w = weiblich, MW = Mittelwert, ges. = gesamt, H0 = Nullhypothese, n = Anzahl der Probanden, p-Wert = Überschreitungswahrscheinlichkeit,  $\alpha$  = Signifikanzniveau)

## 6.2.2 Ergebnisse des CICP im Serum (sCICP)

Nur drei Messungen weisen Variabilitätskoeffizienten von über 15% bis maximal 20% auf, deshalb werden die Messergebnisse ohne Einschränkung interpretiert. Auffällig sind zwei Probanden mit über zwei- bis dreifach erhöhten Ausgangswerten (CiSo; PaWy). Die Messwerte von PaWy wurden doppelt bestimmt und bestätigen durch den niedrigen VK eine qualitativ gute Messung.

VK>15%		sCICP	VK	sCICP	VK	sCICP	VK	sCICP	VK
Tag		-2		5		5		5	
Zeit		18:00		10:00		12:30		14:30	
prämp NW		69-147 ng/ml		69-147 ng/ml		69-147 ng/ml		69-147 ng/ml	
HeAl	w	215	3,96%	211	3,24%	212	9,96%	216	0,99%
NaKa	w	129	2,58%	85	<b>20,00%</b>	112	2,79%	103	1,46%
LiMo	w	109	<b>19,81%</b>	106	8,98%	93	5,04%	99	<b>17,98%</b>
RoLü	w	101	11,06%	75	2,02%	79	12,84%	60	0,51%
NiEi	w	129						73	
CiSo	w	495						361	
<b>MW</b>	<b>w</b>	<b>196</b>						<b>152</b>	
S.A.	w	152						116	
<b>MW</b>	<b>w</b>	<b>138</b>		<b>119</b>		<b>124</b>		<b>120</b>	
S.A.	w	52		63		60		67	
<b>m(25-55 J.) NW</b>		76-163 ng/ml		76-163 ng/ml		76-163 ng/ml		76-163 ng/ml	
OIBo	m	221	13,17%	166	1,69%	161	7,43%	159	2,02%
WiGf	m	130	2,57%	134	5,99%	147	13,78%	131	2,24%
SaTh	m	190	5,25%	169	10,88%	174	1,10%	151	8,87%
ChR	m	70	1,38%					79	2,99%
PaWy	m	337	4,66%					343	9,26%
ThDe	m	131	2,55%					140	3,39%
DiLü	m	91	1,18%					83	4,57%
YvB	m	133						151	
AlFe	m	216						173	
<b>MW</b>	<b>m</b>	<b>169</b>						<b>156</b>	
S.A.	m	82						77	
<b>MW</b>	<b>m</b>	<b>180</b>		<b>156</b>		<b>161</b>		<b>147</b>	
S.A.	m	46		20		14		14	
<b>MW</b>	<b>ges.</b>	<b>180</b>						<b>155</b>	
S.A.	ges.	111						91	
<b>MW</b>	<b>ges.</b>	<b>156</b>		<b>135</b>		<b>140</b>		<b>131</b>	
S.A.	ges.	51		50		48		51	

Tabelle 10: Übersicht der Messergebnisse des Serum-CICP (sCICP). (VK = Variabilitätskoeffizient, S.A. = Standardabweichung, m = männlich, w = weiblich, J = Jahre, ges. = gesamt, prämp = prämenopausal, NW = Normwerte, MW = Mittelwert)

### **6.2.2.1 Darstellung der prozentualen Veränderungen der Verlaufsmesswerte des sCICP mit statistischer Auswertung**

Beim ersten Vergleichspaar (d-2,18:00 vs. d5,14:30) zeigt sich eine statistisch signifikante Erhöhung des sCICP Gesamtmittelwertes (von 180 +/- 111 auf 155 +/- 91 ng/ml) um 13,89% (p-Wert = 0,048).

Nach Ausschluss der zwei Probanden mit über zwei- bis dreifach erhöhten Ausgangswerten bestätigt die erneute statistische Berechnung die Nullhypothese (p-Wert = 0,068).

		Vgl. Paar 1			Vgl. Paar 2			Vgl. Paar 3			Vgl. Paar 4		
		sCICP in ng/ml	sCICP in ng/ml	% Ver.	sCICP in ng/ml	sCICP in ng/ml	% Ver.	sCICP in ng/ml	sCICP in ng/ml	% Ver.	sCICP in ng/ml	sCICP in ng/ml	% Ver.
Tag	Zeit	-2	5		-2	5		5	5		5	5	
		18:00	14:30		18:00	10:00		10:00	12:30		10:00	14:30	
HeAl	w	215	216	0,73%	215	211	-1,60%	211	212	0,18%	211	216	2,38%
NaKa	w	129	103	-19,99%	129	85	-33,78%	85	112	31,18%	85	103	20,84%
LiMo	w	109	99	-9,41%	109	106	-2,46%	106	93	-12,26%	106	99	-7,13%
RoLü	w	101	60	-40,64%	101	75	-25,94%	75	79	4,75%	75	60	-19,86%
NiEi	w	129	73	-43,41%									
CiSo	w	495	361	-27,12%									
<b>MW</b>	<b>w</b>	<b>196</b>	<b>152</b>	<b>-22,57%</b>	<b>138</b>	<b>119</b>	<b>-13,70%</b>	<b>119</b>	<b>124</b>	<b>3,66%</b>	<b>119</b>	<b>120</b>	<b>0,06%</b>
OIBo	m	221	159	-28,13%	221	166	-24,68%	166	161	-3,06%	166	159	-4,58%
WiGf	m	130	131	0,80%	130	134	3,09%	134	147	9,93%	134	131	-2,21%
SaTh	m	190	151	-20,60%	190	169	-11,30%	169	174	3,44%	169	151	-10,49%
ChR	m	70	79	13,21%									
PaWy	m	337	343	1,78%									
ThDe	m	131	140	6,64%									
DiLü	m	91	83	-8,50%									
YvB	m	133	151	13,35%									
AlFe	m	216	173	-20,27%									
<b>MW</b>	<b>m</b>	<b>169</b>	<b>156</b>	<b>-7,25%</b>	<b>180</b>	<b>156</b>	<b>-13,31%</b>	<b>156</b>	<b>161</b>	<b>2,99%</b>	<b>156</b>	<b>147</b>	<b>-6,03%</b>
<b>MW</b>	<b>ges.</b>	<b>180</b>	<b>155</b>	<b>-13,89%</b>	<b>156</b>	<b>135</b>	<b>-13,46%</b>	<b>135</b>	<b>140</b>	<b>3,70%</b>	<b>135</b>	<b>131</b>	<b>-3,13%</b>
<b>MW</b>	<b>kor.</b>	<b>143</b>	<b>124</b>	<b>-12%</b>									

**Vorzeichenrangtest nach Wilcoxon für die Differenz der jeweiligen Vergleichspaare**

**H0: Tauchen hat keinen Einfluss auf die Serumkonzentration von CICP**

<p>n = 15 ; <math>\alpha = 0,05</math></p> <p>p-Wert = 0,047913 <b>signifikant ! =&gt;</b> <b>H0 = ungültig !</b></p>	<p>n = 7 ; <math>\alpha = 0,05</math></p> <p>p-Wert = 0,078125 nicht signifikant ! =&gt; H0 = bestätigt !</p>	<p>n = 7 ; <math>\alpha = 0,05</math></p> <p>p-Wert = 0,375 nicht signifikant ! =&gt; H0 = bestätigt !</p>	<p>n = 7 ; <math>\alpha = 0,05</math></p> <p>p-Wert = 0,46875 nicht signifikant ! =&gt; H0 = bestätigt !</p>
<p>n = 13 , <math>\alpha = 0,05</math></p> <p>p-Wert = 0,068115 nicht signifikant ! =&gt; H0 = bestätigt !</p>			

Tabelle 11: Prozentuale Veränderung der jeweiligen Vergleichspaare (Vgl. Paar 1-4) des Serum-CICP (sCICP) mit jeweils zugehöriger statistischer Auswertung. (% Ver. = Veränderung in Prozent, m = männlich, w = weiblich, ges. = gesamt, kor. = korrigiert, MW = Mittelwert, H0 = Nullhypothese, n = Anzahl der Probanden,  $\alpha$  = Signifikanzniveau, p-Wert = Überschreitungswahrscheinlichkeit)

### 6.2.2.2 Darstellung der CV des Serum-CICP in Prozent des 24-Stundendurchschnittes mit prozentual adaptierten Messwerten

Alle Messwerte, also auch die zwei- bis dreifach erhöhten, kommen in dieser Abbildung zur Darstellung, deshalb zeigt sich eine deutlichen Abweichung des Ausgangsmittelwertes der sieben durchgehend untersuchten Probanden von dem Ausgangsgesamtmittelwert. So liegt der Ausgangswert der sieben durchgehend untersuchten Probanden 13% niedriger als der Gesamtmittelwert. Dies muss bei der Diskussion der Ergebnisse beachtet werden.

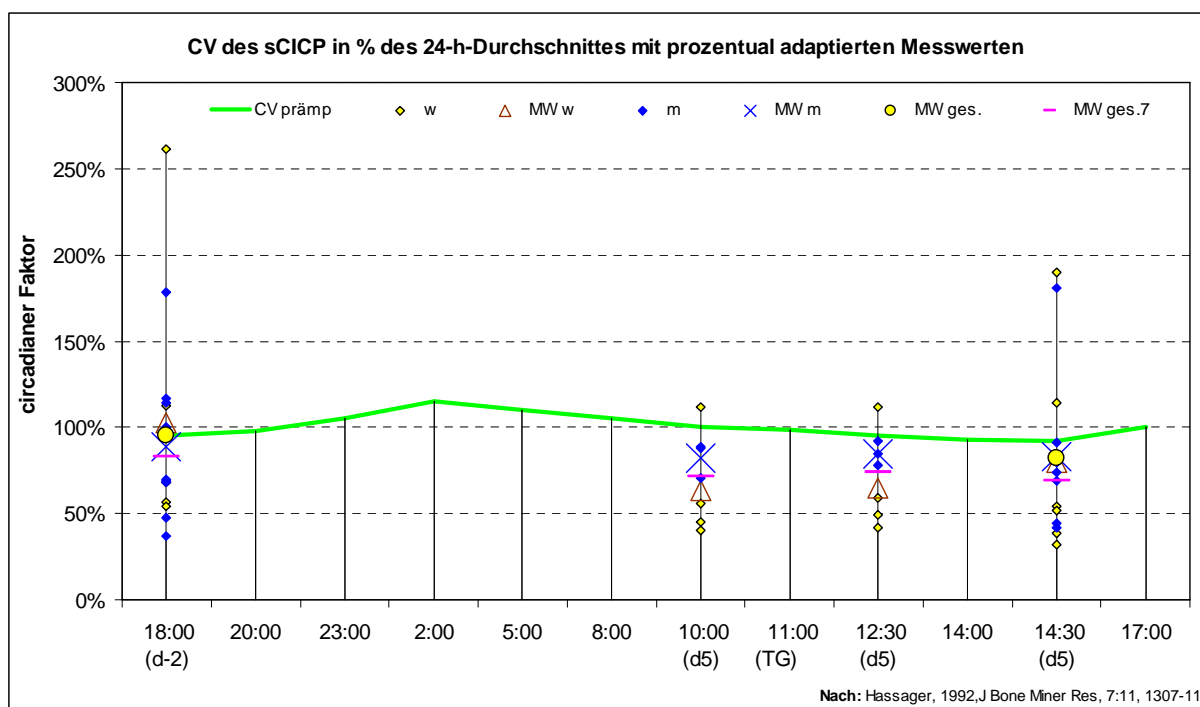


Abbildung 13: Circadiane Variation des Serum-CICP (sCICP) in Prozent des 24-h-Durchschnittes mit an den Ausgangswert entsprechend des circadianen Verlaufes adaptierten Messwerten (56). (CV = Tageszeitpunkt abhängige Circadiane Variation, prämp = prämenopausal, w = weiblich, m = männlich, ges. = gesamt, MW = Mittelwert, MW 7 = Mittelwert der sieben zu allen Messzeitpunkten untersuchten Probanden, TG = Tauchgang, d = Tag)

### 6.2.2.3 Darstellung der Ergebnisse des Anpassungstests beim sCICP

Das errechnete prozentuale CV-Niveau der ermittelten Messdaten um 10:00 Uhr zeigt bei dem Vergleich mit dem zu erwartenden prozentualen CV-Niveau zu diesem Zeitpunkt eine signifikante Erniedrigung um 29% (p-Wert von 0,047).

Zeit		10:00 Uhr			12:30 Uhr			14:30 Uhr		
		sCICP erw. in %	sCICP gem. in %	% Ver.	sCICP erw. in %	sCICP gem. in %	% Ver.	sCICP erw. in %	sCICP gem. in %	% Ver.
HeAl	w	100	112	11,57%	95	112	17,66%	92	114	24,16%
NaKa	w	100	45	-55,08%	95	59	-37,97%	92	54	-41,00%
LiMo	w	100	56	-44,00%	95	49	-48,28%	92	52	-43,47%
RoLü	w	100	40	-60,36%	95	42	-56,29%	92	32	-65,47%
NiEi	w							92	39	-58,14%
CiSo	w							92	190	106,92%
OIBo	m	100	88	-12,16%	95	85	-10,60%	92	84	-8,90%
WiGf	m	100	71	-29,39%	95	78	-18,29%	92	69	-24,95%
SaTh	m	100	89	-10,98%	95	92	-3,07%	92	80	-13,39%
ChR	m							92	42	-54,61%
PaWy	m							92	181	96,59%
MaDe	m							92	74	-19,84%
DiLü	m							92	44	-52,46%
YvB	m							92	80	-13,43%
AlFe	m							92	91	-1,01%
<b>MW</b>	<b>7</b>	<b>100</b>	<b>71</b>	<b>-29,00%</b>	<b>95</b>	<b>74</b>	<b>-22,11%</b>	<b>92</b>	<b>69</b>	<b>-24,72%</b>
<b>MW</b>	<b>ges.</b>							<b>92</b>	<b>82</b>	<b>-11,27%</b>
<p><b>Vorzeichenrangtest nach Wilcoxon für ein Einstichprobenproblem (Anpassungstest)</b></p> <p><b>H0: Tauchen hat keinen Einfluss auf die Serumkonzentration von CICP</b></p>										
<p>n = 7 ; <math>\alpha = 0,05</math></p> <p>p-Wert = 0,046875  <b>signifikant ! =&gt;</b>  <b>H0 = ungültig !</b></p>				<p>n = 7 ; <math>\alpha = 0,05</math></p> <p>p-Wert = 0,078125  nicht signifikant ! =&gt;  H0 = bestätigt !</p>				<p>n = 15 ; <math>\alpha = 0,05</math></p> <p>p-Wert = 0,16882  nicht signifikant ! =&gt;  H0 = bestätigt !</p>		

Tabelle 12: Prozentuale Veränderung und statistische Berechnung der prozentual adaptierten Messdaten des sCICP (sCICP) mit dem zum jeweiligen Zeitpunkt zu erwartenden Mittelwert. (erw. = erwartet, gem. = gemessen, % Ver. = prozentuale Veränderung, m = männlich, w = weiblich, MW = Mittelwert, ges. = gesamt, 7 = sieben durchgehend untersuchte Probanden, H0 = Nullhypothese, n = Anzahl der Probanden, p-Wert = Überschreitungswahrscheinlichkeit,  $\alpha$  = Signifikanzniveau)



### 6.2.3 Ergebnisse des CTX im Serum (sCTX)

Das sCTX-Assay lieferte, bei nur zwei Messungen mit einem VK von 18,2% bzw. 21,5%, die qualitativ besten Ergebnisse aller Resorptionsmarker, welche somit alle uneingeschränkt interpretiert werden können. Die Ausgangswerte liegen im angegebenen Normalbereich. Lediglich Proband PaWy weist, bei einer qualitativ sehr guten Messung, einen fast doppelt so hohen Ausgangswert auf. Proband OIBo weist als einziger Proband bei durchgehend gutem Variabilitätskoeffizienten seinen höchsten Messwert schon am fünften Tag um 10:00 Uhr auf.

VK>15%		sCTX	VK	sCTX	VK	sCTX	VK	sCTX	VK
<b>Tag</b>		-2		5		5		5	
<b>Zeit</b>		18:00		10:00		12:30		14:30	
<b>prämp NW im Mittel</b>		0,321 ng/ml 0,155 (S.A.)		0,321 ng/ml 0,155 (S.A.)		0,321 ng/ml 0,155 (S.A.)		0,321 ng/ml 0,155 (S.A.)	
<b>HeAl</b>	w	0,369	3,5%	0,208	1,3%	0,277	3,7%	0,387	3,8%
<b>NaKa</b>	w	0,275	3,7%	0,229	10,3%	0,257	6,1%	0,321	0,0%
<b>LiMo</b>	w	0,434	<b>21,5%</b>	0,412	12,9%	0,554	2,9%	0,637	5,6%
<b>RoLü</b>	w	0,212	7,5%					0,397	3,7%
<b>NiEi</b>	w	0,282	3,6%					0,370	5,3%
<b>CiSo</b>	w	0,199	8,0%					0,523	8,0%
<b>MW</b>	<b>w</b>	<b>0,295</b>						<b>0,439</b>	
S.A.	w	0,091						0,118	
<b>MW</b>	<b>w</b>	<b>0,359</b>		<b>0,283</b>		<b>0,363</b>		<b>0,448</b>	
S.A.	w	0,080		0,112		0,166		0,167	
<b>m NW im Mittel</b>		0,332 ng/ml 0,190 (S.A.)		0,332 ng/ml 0,190 (S.A.)		0,332 ng/ml 0,190 (S.A.)		0,332 ng/ml 0,190 (S.A.)	
<b>OIBo</b>	m	0,419	0,0%	0,638	2,4%	0,565	4,9%	0,632	2,8%
<b>WiGf</b>	m	0,204	<b>18,2%</b>	0,232	10,2%	0,323	0,0%	0,343	5,8%
<b>SaTh</b>	m	0,442	1,6%					0,978	4,4%
<b>ChRö</b>	m	0,291	4,4%					0,375	<b>19,7%</b>
<b>PaWy</b>	m	0,701	1,2%					0,996	11,2%
<b>ThDe</b>	m	0,444	0,5%					0,691	4,8%
<b>DiLü</b>	m	0,116	7,2%					0,279	4,6%
<b>YvBr</b>	m	0,333	4,5%					0,554	5,4%
<b>AlFe</b>	m	0,317	0,8%					0,771	5,8%
<b>MW</b>	<b>m</b>	<b>0,363</b>						<b>0,624</b>	
S.A.	m	0,168						0,263	
<b>MW</b>	<b>m</b>	<b>0,312</b>		<b>0,435</b>		<b>0,444</b>		<b>0,488</b>	
S.A.	m	0,152		0,287		0,171		0,204	
<b>MW</b>	<b>ges.</b>	<b>0,336</b>						<b>0,550</b>	
S.A.	ges.	0,142						0,231	
<b>MW</b>	<b>ges.</b>	<b>0,340</b>		<b>0,344</b>		<b>0,395</b>		<b>0,464</b>	
S.A.	ges.	0,098		0,184		0,152		0,157	

Tabelle 13: Übersicht der Messergebnisse des Serum-CTX (sCTX). (VK = Variabilitätskoeffizient, S.A. = Standardabweichung, m = männlich, w = weiblich, ges. = gesamt, prämp. = prämenopausal, NW = Normwerte, MW = Mittelwert)

### 6.2.3.1 Darstellung der prozentualen Veränderungen der Verlaufsmesswerte des sCTx mit statistischer Auswertung

Hinsichtlich der statistischen Signifikanz konnte bei den Verlaufspaaren, bedingt durch die Anzahl der ausgewerteten Proben, lediglich das bei der Studienplanung als entscheidend erachtete erste Vergleichspaar (d-2;18:00 vs. d5;14:30) untersucht werden. Die Veränderung des Gesamtmittelwertes ist signifikant ( $p$ -Wert = 0,00006).

		Vgl. Paar 1			Vgl. Paar 2			Vgl. Paar 3			Vgl. Paar 4		
		sCTX in ng/ml	sCTX in ng/ml	Veränd. in %	sCTX in ng/ml	sCTX in ng/ml	Veränd. in %	sCTX in ng/ml	sCTX in ng/ml	Veränd. in %	sCTX in ng/ml	sCTX in ng/ml	Veränd. in %
Tag	Zeit	-2 18:00	5 14:30		-2 18:00	5 10:00		5 10:00	5 12:30		5 10:00	5 14:30	
HeAl	w	0,369	0,387	4,88%	0,369	0,208	-43,63%	0,208	0,277	33,17%	0,208	0,387	86,06%
NaKa	w	0,275	0,321	16,73%	0,275	0,229	-16,73%	0,229	0,257	12,23%	0,229	0,321	40,17%
LiMo	w	0,434	0,637	46,77%	0,434	0,412	-5,07%	0,412	0,554	34,47%	0,412	0,637	54,61%
RoLü	w	0,212	0,397	87,26%									
NiEi	w	0,282	0,370	31,21%									
CiSo	w	0,199	0,523	162,81%									
<b>MW</b>	<b>w</b>	<b>0,295</b>	<b>0,439</b>	<b>48,79%</b>	<b>0,359</b>	<b>0,283</b>	<b>-21,24%</b>	<b>0,283</b>	<b>0,363</b>	<b>28,15%</b>	<b>0,283</b>	<b>0,448</b>	<b>58,42%</b>
OiBo	m	0,419	0,632	50,84%	0,419	0,638	52,27%	0,638	0,565	-11,44%	0,638	0,632	-0,94%
WiGf	m	0,204	0,343	68,14%	0,204	0,232	13,73%	0,232	0,323	39,22%	0,232	0,343	47,84%
SaTh	m	0,442	0,978	121,27%									
ChRö	m	0,291	0,375	28,87%									
PaWy	m	0,701	0,996	42,08%									
ThDe	m	0,444	0,691	55,63%									
DiLü	m	0,116	0,279	140,52%									
YvBr	m	0,333	0,554	66,37%									
AlFe	m	0,317	0,771	143,22%									
<b>MW</b>	<b>m</b>	<b>0,363</b>	<b>0,624</b>	<b>71,99%</b>	<b>0,312</b>	<b>0,435</b>	<b>39,65%</b>	<b>0,435</b>	<b>0,444</b>	<b>2,07%</b>	<b>0,435</b>	<b>0,488</b>	<b>12,07%</b>
<b>MW</b>	<b>ges.</b>	<b>0,336</b>	<b>0,550</b>	<b>63,69%</b>	<b>0,340</b>	<b>0,344</b>	<b>1,12%</b>	<b>0,344</b>	<b>0,395</b>	<b>14,83%</b>	<b>0,344</b>	<b>0,464</b>	<b>34,88%</b>

**Vorzeichenrangtest nach Wilcoxon für die Differenz der jeweiligen Vergleichspaare**

**H0: Tauchen hat keinen Einfluss auf die Serumkonzentration von CTX**

n = 15 ; $\alpha = 0,05$ p-Wert = 0,00006 <b>signifikant ! =&gt;</b> <b>H0 = ungültig !</b>	n = 5; $\alpha = 0,05$ Kein Annahmebereich für H0!	n = 5; $\alpha = 0,05$ Kein Annahmebereich für H0!	n = 5; $\alpha = 0,05$ Kein Annahmebereich für H0!
--	--	--	--

Tabelle 14: Prozentuale Veränderung der jeweiligen Vergleichspaare (Vgl. Paar 1-4) des Serum-CTx (sCTX) mit jeweils zugehöriger statistischer Auswertung. (% Ver. = Veränderung in Prozent, m = männlich, w = weiblich, ges. = gesamt, MW = Mittelwert, H0 = Nullhypothese, n = Anzahl der Probanden,  $\alpha$  = Signifikanzniveau, p-Wert = Überschreitungswahrscheinlichkeit)

### 6.2.3.2 Darstellung der CV des Serum-CTx in Prozent des 24-Stundendurchschnittes mit prozentual adaptierten Messwerten

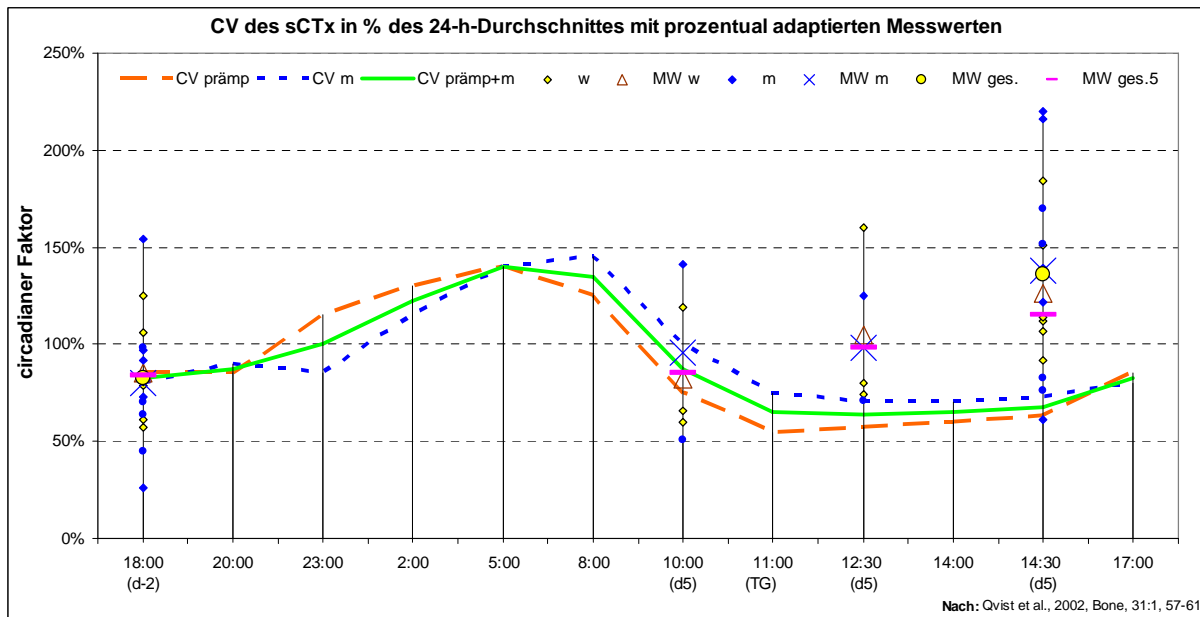


Abbildung 14: Circadiane Variation des Serum-CTx (sCTx) in Prozent des 24-h-Durchschnittes mit an den Ausgangswert entsprechend des circadianen Verlaufes adaptierten Messwerten (102). (CV = Tageszeitpunkt abhängige circadiane Variation, w = weiblich, m = männlich, ges. = gesamt, MW = Mittelwert, MW 5 = Mittelwert der fünf zu allen Messzeitpunkten untersuchten Probanden, TG = Tauchgang, d = Tag)

### 6.2.3.3 Darstellung der Ergebnisse des Anpassungstests beim sCTx

Das rechnerisch ermittelte circadiane Niveau der gemessenen Daten um 14:30 Uhr ist im Mittel doppelt so hoch, als das zu diesem Zeitpunkt erwartete CV-Niveau.

Diese Veränderung ist signifikant (p-Wert von 0,0001).

Zeit		14:30 Uhr	14:30 Uhr	% Ver.
		sCTx erw. in %	sCTx gem. in %	
HeAl	w	68	112	63,98%
NaKa	w	68	92	36,02%
LiMo	w	68	184	169,92%
RoLü	w	68	114	68,22%
NIeI	w	68	107	56,78%
CiSo	w	68	151	121,61%
OIBo	m	68	139	104,83%
WiGf	m	68	76	11,17%
SaTh	m	68	216	216,97%
ChR	m	68	83	21,54%
PaWy	m	68	220	222,80%
MaDe	m	68	152	123,95%
DiLü	m	68	61	-9,58%
YvB	m	68	122	79,55%
AlFe	m	68	170	149,88%
<b>MW</b>	<b>ges.</b>	<b>68</b>	<b>136</b>	<b>100%</b>
<b>Vorzeichenrangtest nach Wilcoxon für ein Einstichprobenproblem (Anpassungstest)</b>				
<b>H0: Tauchen hat keinen Einfluss auf die Serumkonzentration von CTX</b>				
n = 15 ; $\alpha = 0,05$				
p-Wert = 0,000122				
<b>signifikant ! =&gt;</b>				
<b>H0 = ungültig !</b>				

Tabelle 15: Prozentuale Veränderung und statistische Berechnung der prozentual adaptierten Messdaten des Serum-CTx (sCTx) mit dem um 14:30 Uhr zu erwartenden Mittelwert. (erw. = erwartet, gem. = gemessen, % Ver. = prozentuale Veränderung, , m = männlich, w = weiblich, MW = Mittelwert, H0 = Nullhypothese, ges. = gesamt, n = Anzahl der Probanden, p-Wert = Überschreitungswahrscheinlichkeit,  $\alpha$  = Signifikanzniveau)

## 6.2.4 Ergebnisse des PYD im Serum (sPYD)

Die Bestimmung der Ergebnisse mit dem Serum-PyD-Assay lieferte bei insgesamt neun Messungen mit Variabilitätskoeffizienten zwischen 19% und 56% die qualitativ schlechtesten Ergebnisse. Deshalb wurde ein korrigierter Gesamtmittelwert für die erste und letzte Messreihe angegeben, bei welchem die Ergebnisse mit mindestens einem VK > 15% im jeweiligen Vergleichspaar ausgeklammert wurden.

VK > 15%		sPYD	VK	sPYD	VK	sPYD	VK	sPYD	VK
<b>Tag</b>		-2		5		5		5	
<b>Zeit</b>		18:00		10:00		12:30		14:30	
<b>prämp NW im Mittel</b>		1,55 nmol/l 0,26 (S.A.)		1,55 nmol/l 0,26 (S.A.)		1,55 nmol/l 0,26 (S.A.)		1,55 nmol/l 0,26 (S.A.)	
<b>HeAl</b>	w	1,39	2.52%	1,59	<b>52.02%</b>	0,99	11.92%	1,40	13.33%
<b>NaKa</b>	w	1,88	<b>47.03%</b>	1,42	4.50%	1,75	<b>42.81%</b>	2,15	<b>27.38%</b>
<b>LiMo</b>	w	1,80	2.72%	1,65	3.98%	1,38	2.03%	1,55	<b>18.98%</b>
RoLü	w	1,62	4.71%					1,84	0.23%
NiEi	w	1,86	1.86%					1,86	13.21%
CiSo	w	2,10	12.29%					2,53	<b>21.27%</b>
<b>MW</b>	<b>w</b>	<b>1,77</b>						<b>1,89</b>	
S.A.	w	0,24						0,41	
<b>MW</b>	<b>w</b>	<b>1,69</b>		<b>1,55</b>		<b>1,37</b>		<b>1,70</b>	
S.A.	w	0,26		0,12		0,38		0,40	
<b>m(25-55) NW im Mittel</b>		1,59 nmol/l 0,38 (S.A.)		1,59 nmol/l 0,38 (S.A.)		1,59 nmol/l 0,38 (S.A.)		1,59 nmol/l 0,38 (S.A.)	
<b>OIBo</b>	m	0,91	0.96%	1,06	14.02%	1,14	6.17%	1,26	<b>21.99%</b>
<b>WiGf</b>	m	1,04	12.83%	1,24	<b>19.49%</b>	1,11	7.37%	1,44	13.90%
SaTh	m	2,05	<b>56.36%</b>					1,48	1.72%
ChRö	m	1,54	5.79%					1,43	7.21%
PaWy	m	1,34	13.86%					1,65	7.49%
ThDe	m	1,34	8.75%					1,51	10.44%
DiLü	m	1,50	4.39%					1,59	4.99%
YvBr	m	1,66	4.90%					2,32	11.15%
AlFe	m	2,00	14.00%					2,27	5.92%
<b>MW</b>	<b>m</b>	<b>1,49</b>						<b>1,66</b>	
S.A.	m	0,39						0,38	
<b>MW</b>	<b>m</b>	<b>0,97</b>		<b>1,15</b>		<b>1,12</b>		<b>1,35</b>	
S.A.	m	0,09		0,13		0,02		0,13	
<b>MW</b>	<b>ges.</b>	<b>1,60</b>						<b>1,75</b>	
S.A.	ges.	0,36						0,39	
<b>MW</b>	<b>ges.</b>	<b>1,40</b>		<b>1,39</b>		<b>1,27</b>		<b>1,56</b>	
S.A.	ges.	0,43		0,24		0,30		0,34	
<b>MW kor.</b>	<b>ges.</b>	<b>1,53</b>						<b>1,73</b>	
S.A.	ges.	0,24						0,30	

Tabelle 16: Übersicht der Messergebnisse des Serum-PYD (sPYD). (VK = Variabilitätskoeffizient, S.A. = Standardabweichung, m = männlich, w = weiblich, ges. = gesamt, prämp = prämenopausal, NW = Normwerte, MW = Mittelwert, kor. = korrigiert)

#### **6.2.4.1 Darstellung der prozentualen Veränderungen der Verlaufsmesswerte des sPYD mit statistischer Auswertung**

Wie beim sCTx konnte auch beim sPYD aufgrund der zu geringen Probandenanzahl in den Vergleichspaaren zwei bis vier nur die Veränderungen beim ersten Vergleichspaar hinsichtlich ihrer statistischen Signifikanz untersucht werden.

Dies wurde nach Ausschluss derjenigen Probanden wiederholt, welche einen VK > 15% in einem der beiden Messwerte im entsprechendem Vergleichspaar aufweisen.

		Vgl. Paar 1			Vgl. Paar 2			Vgl. Paar 3			Vgl. Paar 4		
VK > 15%		sPYD in nmol/l	sPYD in nmol/l	% Ver.	sPYD in nmol/l	sPYD in nmol/l	% Ver.	sPYD in nmol/l	sPYD in nmol/l	% Ver.	sPYD in nmol/l	sPYD in nmol/l	% Ver.
Tag Zeit		-2 18:00	5 14:30		-2 18:00	5 10:00		5 10:00	5 12:30		5 10:00	5 14:30	
HeAl	w	1,39	1,40	0,72%	1,39	<b>1,59</b>	14,48%	<b>1,59</b>	0,99	-38,01%	<b>1,59</b>	1,40	-12,02%
NaKa	w	<b>1,88</b>	<b>2,15</b>	14,26%	1,88	1,42	-24,43%	1,42	<b>1,75</b>	23,38%	1,42	2,15	51,20%
LiMo	w	1,80	<b>1,55</b>	-13,98%	1,80	1,65	-8,30%	1,65	1,38	-16,15%	1,65	<b>1,55</b>	-6,19%
RoLü	w	1,62	1,84	13,63%									
NiEi	w	1,86	1,86	0,00%									
CiSo	w	2,10	<b>2,53</b>	20,56%									
<b>MW</b>	<b>w</b>	<b>1,77</b>	<b>1,89</b>	<b>6,33%</b>	<b>1,69</b>	<b>1,55</b>	<b>-8,04%</b>	<b>1,55</b>	<b>1,37</b>	<b>-11,55%</b>	<b>1,55</b>	<b>1,70</b>	<b>9,32%</b>
OIBo	m	0,91	<b>1,26</b>	38,01%	0,91	1,06	16,10%	1,06	1,14	7,26%	1,06	1,26	18,87%
WiGf	m	1,04	1,44	38,90%	1,04	<b>1,24</b>	19,88%	<b>1,24</b>	1,11	-10,71%	<b>1,24</b>	1,44	15,86%
SaTh	m	<b>2,05</b>	1,48	-28,08%									
ChR	m	1,54	1,43	-6,77%									
PaWy	m	1,34	1,65	22,74%									
MaDe	m	1,34	1,51	12,95%									
DiLü	m	1,50	1,59	6,09%									
YvB	m	1,66	2,32	39,33%									
AlFe	m	2,00	2,27	13,82%									
<b>MW</b>	<b>m</b>	<b>1,49</b>	<b>1,66</b>	<b>11,74%</b>	<b>0,97</b>	<b>1,15</b>	<b>18,11%</b>	<b>1,15</b>	<b>1,12</b>	<b>-2,43%</b>	<b>1,15</b>	<b>1,35</b>	<b>17,25%</b>
<b>MW</b>	<b>ges.</b>	<b>1,60</b>	<b>1,75</b>	<b>10,00%</b>	<b>1,40</b>	<b>1,39</b>	<b>-0,71%</b>	<b>1,39</b>	<b>1,27</b>	<b>-8,63%</b>	<b>1,39</b>	<b>1,56</b>	<b>12,09%</b>
<b>MW kor.</b>	<b>w</b>	<b>1,62</b>	<b>1,70</b>	<b>4,64%</b>									
<b>MW kor.</b>	<b>m</b>	<b>1,49</b>	<b>1,74</b>	<b>17,28%</b>									
<b>MW kor.</b>	<b>ges.</b>	<b>1,53</b>	<b>1,73</b>	<b>13,25%</b>									

Vorzeichenrangtest nach Wilcoxon für die Differenz der jeweiligen Vergleichspaare

H0: Tauchen hat keinen Einfluss auf die Serumkonzentration von PYD

n = 15 ;  $\alpha = 0,05$

p-Wert = 0,055359  
nicht signifikant ! =>  
H0 = bestätigt !

n = 10 ;  $\alpha = 0,05$

p-Wert = 0,019531  
signifikant ! =>  
H0 = ungültig !

n = 5 ;  $\alpha = 0,05$

K.A. für H0 !

n = 5 ;  $\alpha = 0,05$

K.A. für H0 !

n = 5 ;  $\alpha = 0,05$

K.A. für H0 !

Tabelle 17: Prozentuale Veränderung der jeweiligen Vergleichspaare (Vgl. Paar 1-4) des Serum-PYD (sPYD) mit jeweils zugehöriger statistischer Auswertung. (% Ver. = Veränderung in Prozent, m = männlich, w = weiblich, ges. = gesamt, MW = Mittelwert, H0 = Nullhypothese, K.A. = Kein Annahmehereich, n = Anzahl der Probanden,  $\alpha$  = Signifikanzniveau, p-Wert = Überschreitungswahrscheinlichkeit, fett hervorgehoben sind diejenigen Messwerte, welche einen VK >15% aufweisen)

#### **6.2.4.2 Darstellung der CV des Serum-PYD in Prozent des 24-Stundendurchschnittes mit prozentual adaptierten Messwerten**

Über einen circadianen Rhythmus des sPYD liegen keine Untersuchungen vor. Auch nach persönlicher Rücksprache mit dem Hersteller des Serum-PYD-Assays in San Diego konnten keine Angaben über einen circadianen Verlauf dieses Markers in Erfahrung gebracht werden.

Eine Untersuchung über die circadiane Rhythmik des freien Serum-DPD wurde von Fraser et al. an zehn jungen Männern ermittelt (40).

Aufgrund des Mangels an Untersuchungen zur circadianen Rhythmik beim sPYD werden im Folgenden die PYD-Messwerte unter Annahme eines DPD äquivalenten CV-Verhaltens diskutiert und dargestellt.

Die Probanden NaKa und SaTh wurden aufgrund ihrer Ausgangswerte mit einem VK von ca. 50% nicht in die Graphik übernommen. Dadurch wird vermieden, dass sich die für den ganzen Verlauf der Werte entscheidende Mittelwertberechnung, durch offensichtlich qualitativ sehr schlechte Messergebnisse, zu sehr verfälscht. Aus diesem Grund kommen in dieser Abbildung insgesamt nur 13 Probanden zur Darstellung, wodurch sich auch die Anzahl der in allen Messreihen untersuchten Probanden auf vier reduziert.



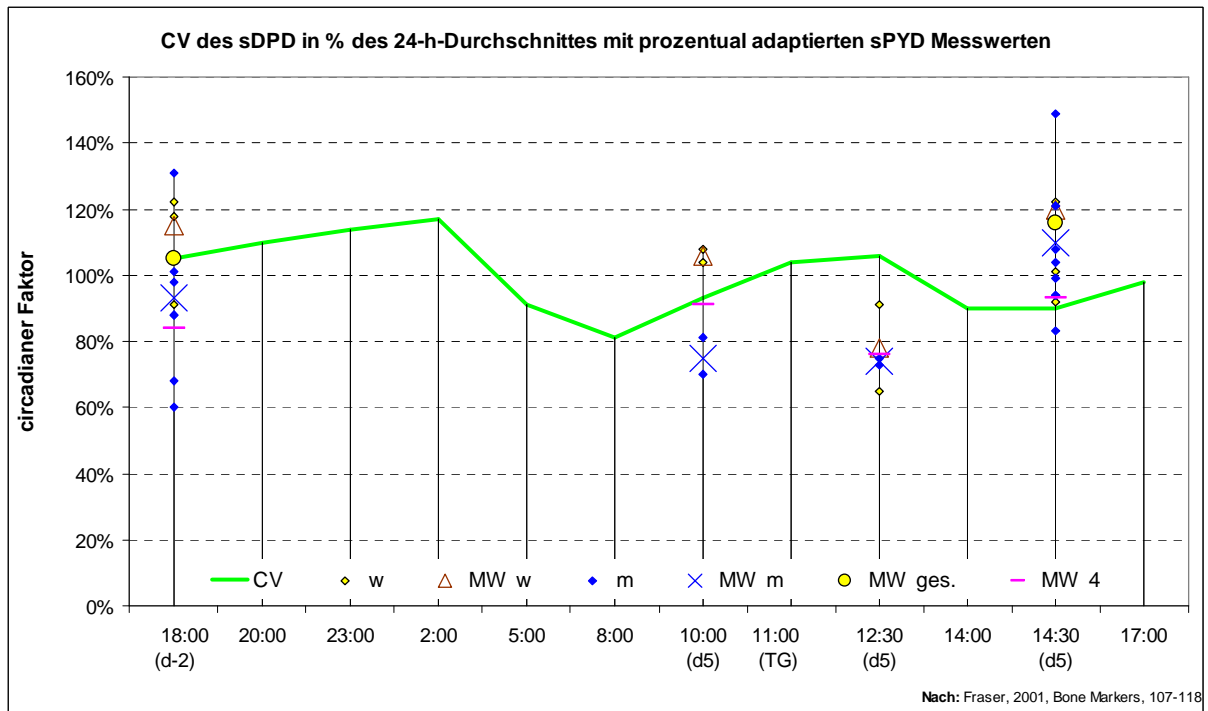


Abbildung 15: Circadiane Variation des freien Serum-DPD (sDPD) in Prozent des 24-h-Durchschnittes mit an den Ausgangswert entsprechend des circadianen Verlaufes adaptierten Serum-PYD (sPYD) Messwerten im Verlauf (40). Die Probanden NaKa und SaTh wurden aufgrund ihrer Ausgangswerte mit einem VK von um die 50% ausgeschlossen. (w = weiblich, m = männlich, ges. = gesamt, MW = Mittelwert, MW 4 = Mittelwert der vier zu allen Messzeitpunkten untersuchten Probanden mit einem VK<15% zu den gegebenen Messzeitpunkten, TG = Tauchgang, d = Tag)

### 6.2.4.3 Darstellung der Ergebnisse des Anpassungstests beim sPYD

Der Anpassungstest, welcher analog zur circadianen Darstellung mit nur 13 Probanden erfolgte, zeigt um 14:30 Uhr eine um 27% über den zu erwartenden circadianen Niveau liegende signifikante Erhöhung ( $p$ -Wert = 0,002).

Zeit		14:30 Uhr sDPD erw. in %	14:30 Uhr sPYD gem. in %	% Ver.
HeAl	w	90	92	2,08%
LiMo	w	90	101	12,66%
RoLü	w	90	121	34,39%
NiEi	w	90	122	35,48%
CiSo	w	90	166	84,26%
OIBo	m	90	83	-8,13%
WiGf	m	90	94	4,93%
ChR	m	90	94	4,42%
PaWy	m	90	108	20,02%
MaDe	m	90	99	10,03%
DiLü	m	90	104	15,65%
YvB	m	90	152	68,95%
AlFe	m	90	149	65,74%
<b>MW</b>	<b>ges.</b>	<b>90</b>	<b>114</b>	<b>26,96%</b>
<b>Vorzeichenrangtest nach Wilcoxon für ein Einstichprobenproblem (Anpassungstest)</b>				
<b>H0: Tauchen hat keinen Einfluss auf die Serumkonzentration von PYD</b>				
n = 13 ; $\alpha$ = 0,05				
p-Wert = 0,001709				
<b>signifikant ! =&gt;</b>				
<b>H0 = ungültig !</b>				

Tabelle 18: Prozentuale Veränderung und statistische Berechnung der prozentual adaptierten Messdaten des Serum-Pyd (sPYD) mit dem um 14:30 Uhr zu erwartenden Mittelwert. (erw. = erwartet, gem. = gemessen, % Ver. = prozentuale Veränderung, m = männlich, w = weiblich, MW = Mittelwert, ges. = gesamt, H0 = Nullhypothese, n = Anzahl der Probanden,  $\alpha$  = Signifikanzniveau, p-Wert = Überschreitungswahrscheinlichkeit)

### 6.2.5 Ergebnisse des CTx im Urin (uCTx)

Die Messungen des CTx im Urin ergaben bei insgesamt sechs doppeltbestimmten Messungen mit einem Variabilitätskoeffizienten von über 15% ebenfalls nur unbefriedigende Ergebnisse. Allerdings haben sich die schlechtesten Messungen auf zwei Probanden verteilt, so dass insgesamt dennoch eine auswertbare Messreihe vorliegt.

Bei Proband WiGf ist die gesamte Messreihe nicht interpretierbar. Bei Probandin NaKa ist die dritte und vierte Messung des fünften Tages mit Variabilitätskoeffizienten von 30% bzw. 20% nur bedingt interpretierbar.

Außer bei dem Probanden PaWy sind alle Ausgangswerte im angegebenen Normbereich.

Die Untersuchungen der Urinproben unmittelbar nach dem Tauchen (ca. 12:30 Uhr) sollen Hinweis darauf geben, ob während der Kompressions- oder Isopressionsphase Veränderungen im Knochenstoffwechsel aufgetreten sind. Um eine möglichst genaue Messung gewährleisten zu können, wurden die Mittelwerte der 10:00-Uhr- und 12:30-Uhr-Messungen zusätzlich korrigiert, indem Ergebnisse mit einem VK zwischen 30% und 60% ausgeklammert wurden.

Bei Messreihen am ersten Tag um 7:30 Uhr und am sechsten Tag um 8:00 Uhr wird bei nur drei Variabilitätskoeffizienten über 15% und einem Maximum von 20% auf eine Korrektur verzichtet.

VK>15%		uCTX	VK	uCTX	VK	uCTX	VK	uCTX	VK
Tag:		Tag 1		Tag 5		Tag 5		Tag 6	
Uhrzeit:		7:30		10:00		12:30		8:00	
prämp NW im Mittel Kreatinin kor.		220 µg CTX/ mmol Kreatinin 160 (S.A.)		220 µg CTX/ mmol Kreatinin 160 (S.A.)		220 µg CTX/ mmol Kreatinin 160 (S.A.)		220 µg CTX/ mmol Kreatinin 160 (S.A.)	
HeAl	w	290	0,59%	328	14,12%	202	14,08%	285	4,47%
NaKa	w	215	1,84%	274	6,10%	167	<b>29,17%</b>	319	<b>20,14%</b>
LiMo	w	387	<b>15,46%</b>	286	10,31%	286	7,15%	519	5,25%
RoLü	w	187	1,06%	125	1,24%	146	12,19%	202	3,10%
NIei	w	288						341	
CiSo	w	316						383	
<b>MW</b>	<b>w</b>	<b>281</b>						<b>342</b>	
S.A.	w	72						106	
<b>MW</b>	<b>w</b>	<b>270</b>		<b>253</b>		<b>200</b>		<b>331</b>	
S.A.	w	89		89		62		134	
<b>MW kor.</b>	<b>w</b>					<b>211</b>			
S.A.	w					70			
<b>m(25-55) NW</b>		207 µg/mmol		207 µg/mmol		207 µg/mmol		207 µg/mmol	
		128 (S.A.)		128 (S.A.)		128 (S.A.)		128 (S.A.)	
OiBo	m	535	4,03%	442	8,92%	324	6,08%	542	5,33%
WiGf	m	193	<b>18,09%</b>	346	<b>60,77%</b>	351	<b>63,16%</b>	225	14,66%
SaTh	m	557	14,64%	330	3,24%	447	9,28%	647	4,15%
ChRö	m	167	4,91%					202	2,64%
PaWy	m	630	6,39%					611	0,52%
ThDe	m	408	6,13%					426	6,13%
DiLü	m	127	14,01%					139	4,20%
YvBr	m	180						359	
AlFe	m	447						472	
<b>MW</b>	<b>m</b>	<b>360</b>						<b>403</b>	
S.A.	m	195						184	
<b>MW</b>	<b>m</b>	<b>428</b>		<b>373</b>		<b>374</b>		<b>471</b>	
S.A.	m	204		96		109		220	
<b>MW kor.</b>	<b>m</b>			<b>386</b>		<b>386</b>			
S.A.	m			79		87			
<b>MW</b>	<b>ges.</b>	<b>328</b>						<b>378</b>	
S.A.	ges.	159						156	
<b>MW</b>	<b>ges.</b>	<b>338</b>		<b>304</b>		<b>275</b>		<b>391</b>	
S.A.	ges.	158		96		109		175	
<b>MW kor.</b>	<b>ges.</b>			<b>298</b>		<b>281</b>			
S.A.	ges.			103		116			

Tabelle 19: Übersicht der Messergebnisse des Urin-CTx (uCTx). (VK = Variabilitätskoeffizient, m = männlich, w = weiblich, ges. = gesamt, prämp. = prämenopausal, NW = Normwerte, S.A. = Standardabweichung (die Standardabweichung der Messwerte bezieht sich auf die Mittelwerte aller gemessenen weiblichen und/oder männlichen Probanden), MW = Mittelwert, kor. = korrigiert)

### **6.2.5.1 Darstellung der prozentualen Veränderungen der Verlaufsmesswerte des uCTx mit statistischer Auswertung**

Auch nach Ausschluss derjenigen Messpaare, welche mindestens einen Messwert mit einem VK größer 15% aufweisen, zeigen die so korrigierten Messergebnisse und die daraus resultierenden prozentualen Veränderungen beim ersten Vergleichspaar ebenfalls eine signifikante Erhöhung.

VK>15%	Tag Zeit	Vgl. Paar 1			Vgl. Paar 2			Vgl. Paar 3			
		uCTX in mmol Kreat.	uCTX in mmol Kreat.	% Ver.	uCTX in mmol Kreat.	uCTX in mmol Kreat.	% Ver.	uCTX in mmol Kreat.	uCTX in mmol Kreat.	% Ver.	
		1 7:30	6 8:00		1 7:30	5 10:00		5 10:00	5 12:30		
	HeAl	w	290	285	-1,72%	290	328	13,10%	328	202	-38,41%
	NaKa	w	215	<b>319</b>	48,37%	215	274	27,44%	274	<b>167</b>	-39,05%
	LiMo	w	<b>387</b>	519	34,11%	<b>387</b>	286	-26,10%	286	286	0,00%
	RoLü	w	187	202	8,02%	187	125	-33,16%	125	146	16,80%
	NiEi	w	288	341	18,40%						
	CiSo	w	316	383	21,20%						
	<b>MW</b>	<b>w</b>	<b>281</b>	<b>342</b>	<b>21,75%</b>	<b>270</b>	<b>253</b>	<b>-6,12%</b>	<b>253</b>	<b>200</b>	<b>-20,93%</b>
	<b>MW kor.</b>	<b>w</b>	<b>270</b>	<b>303</b>	<b>12,03%</b>	<b>231</b>	<b>242</b>	<b>5,06%</b>	<b>246</b>	<b>211</b>	<b>-14,21%</b>
	OlBo	m	535	542	1,31%	535	442	-17,38%	442	324	-26,70%
	WiGf	m	<b>193</b>	225	16,58%	<b>193</b>	<b>346</b>	79,27%	<b>346</b>	<b>351</b>	1,45%
	SaTh	m	557	647	16,16%	557	330	-40,75%	330	447	35,45%
	ChRö	m	167	202	20,96%						
	PaWy	m	630	611	-3,02%						
	ThDe	m	408	426	4,41%						
	DiLü	m	127	139	9,45%						
	YvBr	m	180	359	99,44%						
	AlFe	m	447	472	5,59%						
	<b>MW</b>	<b>m</b>	<b>360</b>	<b>403</b>	<b>11,68%</b>	<b>428</b>	<b>373</b>	<b>-13,00%</b>	<b>373</b>	<b>374</b>	<b>0,36%</b>
	<b>MW kor.</b>	<b>m</b>	<b>381</b>	<b>425</b>	<b>11,37%</b>	<b>546</b>	<b>386</b>	<b>-29,30%</b>	<b>386</b>	<b>386</b>	<b>-0,13%</b>
	<b>MW</b>	<b>ges.</b>	<b>328</b>	<b>378</b>	<b>15,24%</b>	<b>338</b>	<b>304</b>	<b>-10,06%</b>	<b>304</b>	<b>275</b>	<b>-9,54%</b>
	<b>MW kor.</b>	<b>ges.</b>	<b>332</b>	<b>370</b>	<b>11,39%</b>	<b>336</b>	<b>300</b>	<b>-10,71%</b>	<b>302</b>	<b>281</b>	<b>-7,02%</b>

**Vorzeichenrangtest nach Wilcoxon für die Differenz verbundener Stichproben**

**H0: Tauchen hat keinen Einfluss auf die Urinkonzentration von CTX**

n = 15 ;  $\alpha = 0,05$   
p-Wert = 0,001159  
**signifikant ! =>**  
**H0 = ungültig !**

n = 12 ;  $\alpha = 0,05$   
p-Wert = 0,009277344  
**signifikant ! =>**  
**H0 = ungültig !**

n = 7 ;  $\alpha = 0,05$   
p-Wert = 0,46875  
nicht signifikant ! =>  
H0 = bestätigt !

n = 7 ;  $\alpha = 0,05$   
p-Wert = 0,5625  
nicht signifikant ! =>  
H0 = bestätigt !

Tabelle 20: Prozentuale Veränderung der jeweiligen Vergleichspaare (Vgl. Paar 1-3) des Urin-CTx (uCTx) mit jeweils zugehöriger statistischer Auswertung. (VK = Variabilitätskoeffizient, % Ver. = Veränderung in Prozent, m = männlich, w = weiblich, ges. = gesamt, MW = Mittelwert, H0 = Nullhypothese, n = Anzahl der Probanden,  $\alpha$  = Signifikanzniveau, p-Wert = Überschreitungswahrscheinlichkeit, fett hervorgehoben sind diejenigen Messwerte, welche einen VK > 15% aufweisen)

### 6.2.5.2 Darstellung der CV des Urin-CTx in Prozent des 24-Stundendurchschnittes mit prozentual adaptierten Messwerten

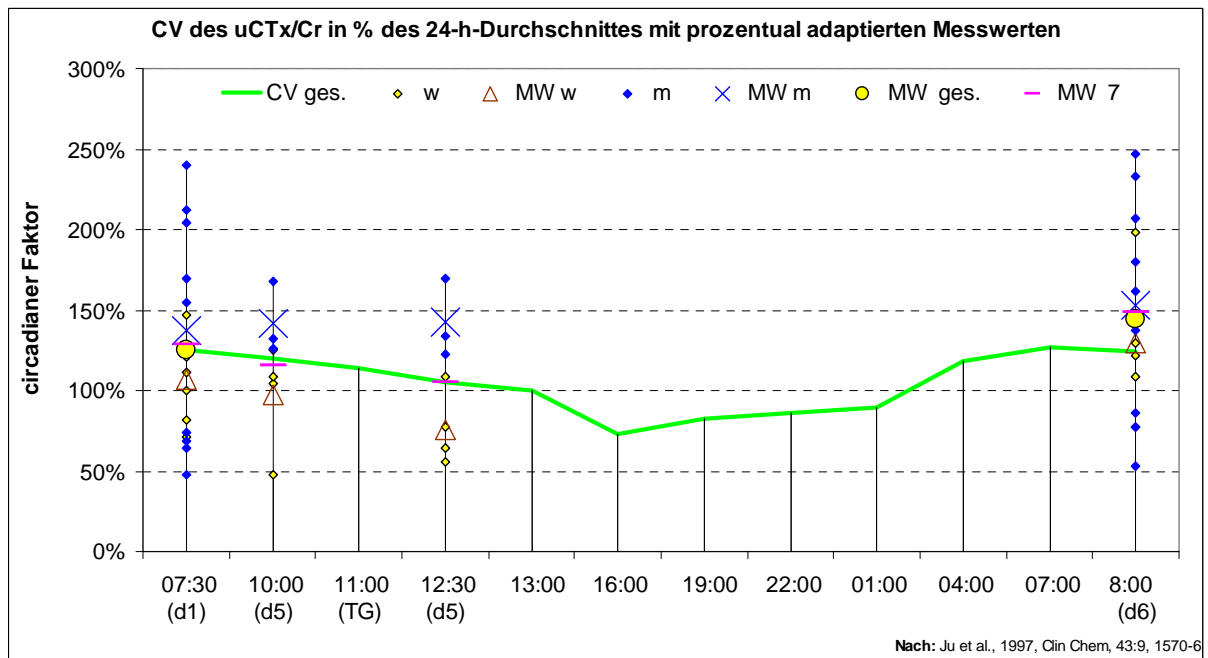


Abbildung 16: Circadiane Variation des Urin-CTx (uCTx) in Prozent des 24-h-Durchschnittes mit an den mittleren Ausgangswert, entsprechend des circadianen Verlaufes, adaptierten Messwerten (71). (CV = Tageszeitpunkt abhängige circadiane Variation, w = weiblich, m = männlich, ges. = gesamt, MW = Mittelwert, MW 7 = Mittelwert der sieben zu allen Messzeitpunkten untersuchten Probanden, TG = Tauchgang, d = Tag)

### 6.2.5.3 Darstellung der Ergebnisse des Anpassungstests beim uCTx

Die Auswertung des Anpassungstests lässt zu keinem der drei Zeitpunkte eine signifikante Veränderung des circadianen Niveaus erkennen.

Zeit		10:00 Uhr	10:00 Uhr	% Ver.	12:30 Uhr	12:30 Uhr	% Ver.	8:00 Uhr	8:00 Uhr	% Ver.
		uCTx erw. in %	uCTx gem. in %		uCTx erw. in %	uCTx gem. in %		uCTx erw. in %	uCTx gem. in %	
HeAl	w	120	125	4,17%	105	77	-26,68%	124	109	-12,41%
NaKa	w	120	104	-12,98%	105	64	-39,39%	124	122	-1,96%
LiMo	w	120	109	-9,17%	105	109	3,80%	124	198	59,51%
RoLü	w	120	48	-60,30%	105	56	-47,01%	124	77	-37,92%
NiEi	w							124	130	4,80%
CiSo	w							124	146	17,71%
OiBo	m	120	168	40,37%	105	123	17,60%	124	207	66,58%
WiGf	m	120	132	9,88%	105	134	27,40%	124	86	-30,85%
SaTh	m	120	126	4,80%	105	170	62,24%	124	247	98,85%
ChR	m							124	77	-37,92%
PaWy	m							124	233	87,78%
MaDe	m							124	162	30,93%
DiLü	m							124	53	-57,28%
YvB	m							124	137	10,33%
AlFe	m							124	180	45,06%
<b>MW</b>	<b>ges.</b>	<b>120</b>	<b>116</b>	<b>-3,32%</b>	<b>105</b>	<b>105</b>	<b>0,00%</b>	<b>124</b>	<b>144</b>	<b>16,21%</b>
<p><b>Vorzeichenrangtest nach Wilcoxon für ein Einstichprobenproblem (Anpassungstest)</b></p> <p><b>H0: Tauchen hat keinen Einfluss auf die Urinkonzentration von CTX</b></p>										
<p>n = 7 ; <math>\alpha = 0,05</math></p> <p>p-Wert = 0,9375 nicht signifikant ! =&gt; H0 = bestätigt !</p>				<p>n = 7 ; <math>\alpha = 0,05</math></p> <p>p-Wert=1 nicht signifikant ! =&gt; H0 = bestätigt !</p>				<p>n = 15 ; <math>\alpha = 0,05</math></p> <p>p-Wert = 0,24652 nicht signifikant ! =&gt; H0 = bestätigt !</p>		

Tabelle 21: Prozentuale Veränderung und statistische Berechnung der prozentual adaptierten Messdaten des Urin-Ctx (uCTx) mit dem zum jeweiligen Zeitpunkt zu erwartenden Mittelwert. (erw. = erwartet, gem. = gemessen, % Ver. = prozentuale Veränderung, m = männlich, w = weiblich, ges. = gesamt, MW = Mittelwert, H0 = Nullhypothese, n = Anzahl der Probanden,  $\alpha$  = Signifikanzniveau, p-Wert = Überschreitungswahrscheinlichkeit)



### **6.2.6 Ergebnisse des PYD/DPD im Urin (uPYD/DPD)**

Vier Messungen mit Variabilitätskoeffizienten um die 30% müssen als fragwürdig erachtet werden. Die Mittelwerte der weiblichen Probanden am fünften Tag um 10:00 Uhr sind deshalb möglicherweise falsch hoch ausgefallen, da zwei der insgesamt vier Messungen in dieser Gruppe davon betroffen sind. Auch der Gesamtmittelwert um 10:00 Uhr am fünften Tag stellt sich nach Ausschluss der möglicherweise fehlerhaften Messergebnisse mit 28,8 nmol/mmol deutlich geringer dar.

Auch führt der Ausschluss der Messung von Proband WiGf am fünften Tag um 12:30 Uhr zu einer geringen Korrektur des Mittelwertes der männlichen Probanden sowie des Gesamtmittelwertes nach unten.

Die restlichen Messungen sind durchgehend als qualitativ hochwertig einzustufen. Auf eine Korrektur der Messwerte am ersten und am sechsten Tag wird bei insgesamt einem VK mit 28% verzichtet.

VK>15%		uPYD/DPD	VK	uPYD/DPD	VK	uPYD/DPD	VK	uPYD/DPD	VK
Tag		1		5		5		6	
Zeit		7:30		10:00		12:30		8:00	
prämp NW im Mittel Kreatinin kor.		25,5 nmol PYD+DPD/ mmol Kreatinin 7,5 nmol (S.A.)		25,5 nmol/ mmol Kreatinin 7,5 nmol (S.A.)		25,5 nmol/ mmol Kreatinin 7,5 nmol (S.A.)		25,5 nmol/ mmol Kreatinin 7,5 nmol (S.A.)	
HeAl	w	31,5	6,73%	41,0	<b>33,78%</b>	30,0	3,94%	28,0	9,21%
NaKa	w	29,0	5,57%	53,5	<b>24,83%</b>	40,0	5,44%	44,0	6,44%
LiMo	w	31,0	10,31%	31,0	3,32%	25,0	2,45%	32,0	12,50%
RoLü	w	26,0	0,64%	30,0	12,05%	21,0	1,21%	21,0	1,01%
NiEi	w	54,0						39,0	
CiSo	w	36,0						34,0	
<b>MW</b>	<b>w</b>	<b>34,6</b>						<b>33,0</b>	
S.A.	w	10,1						8,1	
<b>MW</b>	<b>w</b>	<b>29,4</b>		<b>38,9</b>		<b>29,0</b>		<b>31,3</b>	
S.A.	w	2,5		10,9		8,2		9,6	
<b>MW kor.</b>	<b>w</b>			<b>30,5</b>					
S.A.	w			0,7					
<b>m(25-55) NW im Mittel Kreatinin kor.</b>		18,5 nmol PYD+DPD/ mmol Kreatinin 4,4 nmol (S.A.)		18,5 nmol/ mmol Kreatinin 4,4 nmol (S.A.)		18,5 nmol/ mmol Kreatinin 4,4 nmol (S.A.)		18,5 nmol/ mmol Kreatinin 4,4 nmol (S.A.)	
OiBo	m	30,0	2,42%	30,0	11,42%	26,0	2,05%	34,0	0,84%
WiGf	m	21,0	1,69%	19,0	6,97%	33,0	<b>36,23%</b>	19,0	9,15%
SaTh	m	32,0	2,78%	34,0	7,41%	25,0	6,69%	32,0	3,06%
ChRö	m	23,0	5,56%					26,0	1,51%
PaWy	m	41,0	<b>27,80%</b>					33,0	8,21%
ThDe	m	25,0	2,46%					27,0	3,89%
DiLü	m	25,0	1,12%					19,0	0,50%
YvBr	m	20,0						32,0	
AlFe	m	23,0						26,0	
<b>MW</b>	<b>m</b>	<b>26,7</b>						<b>27,6</b>	
S.A.	m	6,7						5,7	
<b>MW</b>	<b>m</b>	<b>27,7</b>		<b>27,7</b>		<b>28,0</b>		<b>28,3</b>	
S.A.	m	5,9		7,8		4,4		8,1	
<b>MW kor.</b>	<b>m</b>					<b>25,5</b>			
S.A.	m					0,7			
<b>MW</b>	<b>ges.</b>	<b>29,8</b>						<b>29,7</b>	
S.A.	ges.	8,8						7,1	
<b>MW</b>	<b>ges.</b>	<b>28,6</b>		<b>34,1</b>		<b>28,6</b>		<b>30,0</b>	
S.A.	ges.	3,9		10,8		6,3		8,4	
<b>MW kor.</b>	<b>ges.</b>	<b>28,0</b>		<b>31,3</b>		<b>24,3</b>			
S.A.	ges.	4,5		1,9		2,2			

Tabelle 22: Übersicht der Messergebnisse des Urin-PYD/DPD (uPYD/DPD). (VK = Variabilitätskoeffizient, m = männlich, w = weiblich, ges. = gesamt, S.A. = Standardabweichung (die Standardabweichung der Messwerte bezieht sich auf die Mittelwerte aller gemessenen weiblichen und/oder männlichen Probanden), prämp = prämenopausal, NW = Normwerte, MW = Mittelwert, kor. = korrigiert)

### 6.2.6.1 Darstellung der prozentualen Veränderungen der Verlaufsmesswerte des uPYD/DPD mit statistischer Auswertung

Bei einem qualitativ fraglichen Messergebnis wird beim ersten Vergleichspaar auf eine Korrektur verzichtet.

VK>15%	Tag Zeit	Vgl. Paar 1			Vgl. Paar 2			Vgl. Paar 3						
		uPYD/DPD in mmol Kreat.	uPYD/DPD in mmol Kreat.	% Ver.	uPYD/DPD in mmol Kreat.	uPYD/DPD in mmol Kreat.	% Ver.	uPYD/DPD in mmol Kreat.	uPYD/DPD in mmol Kreat.	% Ver.				
		1 7:30	6 8:00		1 7:30	5 10:00		5 10:00	5 12:30					
	HeAl	w	31,5	28,0	-11,11%	31,5	<b>41,0</b>	30,16%	<b>41,0</b>	30,0	-26,83%			
	NaKa	w	29,0	44,0	51,72%	29,0	<b>53,5</b>	84,48%	<b>53,5</b>	40,0	-25,23%			
	LiMo	w	26,0	21,0	-19,23%	26,0	30,0	15,38%	30,0	21,0	-30,00%			
	RoLü	w	31,0	32,0	3,23%	31,0	31,0	0,00%	31,0	25,0	-19,35%			
	NiEi	w	54,0	39,0	-27,78%									
	CiSo	w	36,0	34,0	-5,56%									
	<b>MW</b>	<b>w</b>	<b>34,6</b>	<b>33,0</b>	<b>-4,58%</b>	<b>29,4</b>	<b>38,9</b>	<b>32,34%</b>	<b>38,9</b>	<b>29,0</b>	<b>-25,40%</b>			
	<b>MW kor.</b>	<b>w</b>				<b>28,5</b>	<b>30,5</b>	<b>7,02%</b>	<b>30,5</b>	<b>23,0</b>	<b>-24,59%</b>			
	OiBo	m	30,0	34,0	13,33%	30,0	30,0	0,00%	30,0	26,0	-13,33%			
	WiGf	m	21,0	19,0	-9,52%	21,0	19,0	-9,52%	19,0	<b>33,0</b>	73,68%			
	SaTh	m	32,0	32,0	0,00%	32,0	34,0	6,25%	34,0	25,0	-26,47%			
	ChRö	m	23,0	26,0	13,04%									
	PaWy	m	<b>41,0</b>	33,0	-19,51%									
	ThDe	m	25,0	27,0	8,00%									
	DiLü	m	25,0	19,0	-24,00%									
	YvBr	m	20,0	32,0	60,00%									
	AlFe	m	23,0	26,0	13,04%									
	<b>MW</b>	<b>m</b>	<b>26,7</b>	<b>27,6</b>	<b>3,33%</b>	<b>27,7</b>	<b>27,7</b>	<b>0,00%</b>	<b>27,7</b>	<b>28,0</b>	<b>1,20%</b>			
	<b>MW kor.</b>	<b>m</b>							<b>32,0</b>	<b>25,5</b>	<b>-20,31%</b>			
	<b>MW</b>	<b>ges.</b>	<b>29,8</b>	<b>29,7</b>	<b>-0,34%</b>	<b>28,6</b>	<b>34,1</b>	<b>18,95%</b>	<b>34,1</b>	<b>28,6</b>	<b>-16,14%</b>			
	<b>MW kor.</b>	<b>ges.</b>				<b>28,0</b>	<b>28,8</b>	<b>2,86%</b>	<b>31,3</b>	<b>24,3</b>	<b>-22,40%</b>			
<p><b>Vorzeichenrangtest nach Wilcoxon für die Differenz der jeweiligen Vergleichspaare</b></p> <p><b>H0: Tauchen hat keinen Einfluss auf die Urinkonzentration von PYD/DPD</b></p>														
<p>n = 15 ; <math>\alpha = 0,05</math></p> <p>p-Wert = 0,81897 nicht signifikant ! =&gt; H0 = bestätigt !</p>					<p>n = 7 ; <math>\alpha = 0,05</math></p> <p>p-Wert = 0,1875 nicht signifikant ! =&gt; H0 = bestätigt !</p>					<p>n = 7 ; <math>\alpha = 0,05</math></p> <p>p-Wert = 0,29688 nicht signifikant ! =&gt; H0 = bestätigt !</p>				

Tabelle 23: Prozentuale Veränderung der jeweiligen Vergleichspaare (Vgl. Paar 1-3) des Urin-PYD/DPD (uPYD/DPD) mit jeweils zugehöriger statistischer Auswertung. Messwerte mit einem VK zwischen 25% und 36% sind fett markiert. (% Ver. = Veränderung in Prozent, m = männlich, w = weiblich, ges. = gesamt, MW = Mittelwert, H0 = Nullhypothese, n = Anzahl der Probanden,  $\alpha$  = Signifikanzniveau, p-Wert = Überschreitungswahrscheinlichkeit)

### 6.2.6.2 Darstellung der CV des Urin-PYD/DPD in Prozent des 24-Stundendurchschnittes mit prozentual adaptierten Messwerten

Die Messergebnisse wurden mit einem aus zwei verschiedenen Untersuchungen gemittelten circadianen Tagesprofil des uDPD und des uPYD (s. auch Abb. 5) in Relation gesetzt.

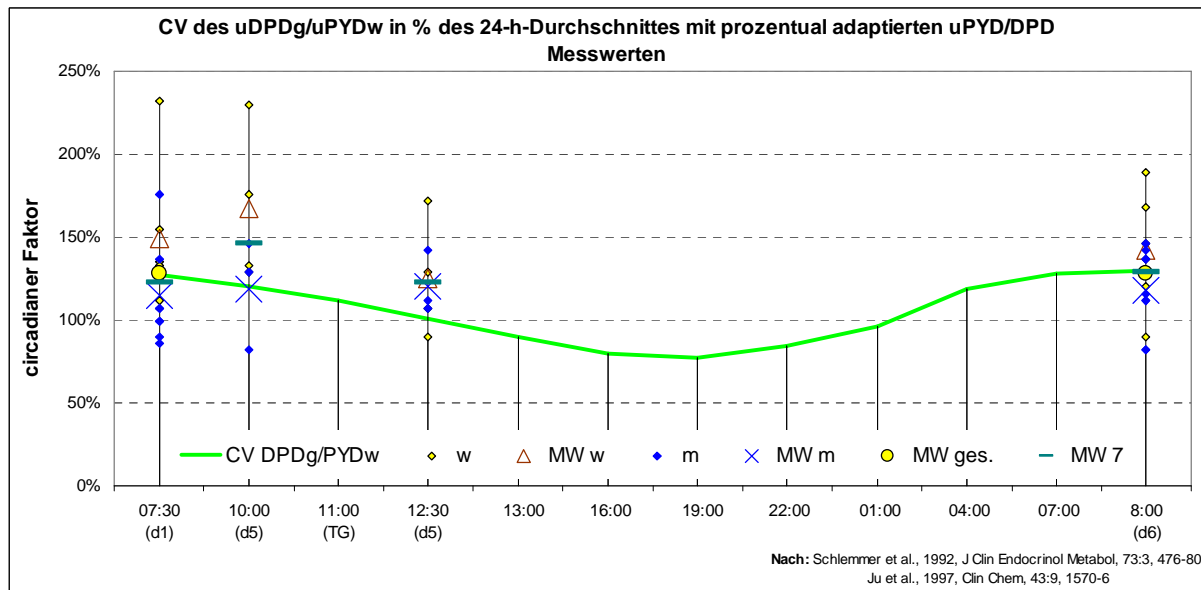


Abbildung 17: Circadiane Variation des Urin-PYD/DPD (uPYD/DPD) in Prozent des 24-h-Durchschnittes mit an den mittleren Ausgangswert, entsprechend des circadianen Verlaufes, adaptierten Messwerten. In dieser Abbildung wird die CV von uDPD, ermittelt von Ju et al. (gemischte Population) (71), sowie die CV von uPYD, ermittelt von Schlemmer et al. (weibliche Population) (109) gemittelt und als ein gemeinsamer CV-Verlauf dargestellt. (CV = Tageszeitpunkt abhängige circadiane Variation, w = weiblich, m = männlich, g = gemischte Population, MW = Mittelwert, MW 7 = Mittelwert der sieben zu allen Messzeitpunkten untersuchten Probanden, TG = Tauchgang, d = Tag)

Aufgrund der durch die qualitativ schlechten Messungen resultierenden Mittelwertsveränderungen wurde eine korrigierte graphische Darstellung der prozentual adaptierten Messwerte, in welcher die vier Messungen mit einem Variabilitätskoeffizienten zwischen 25% und 36% ausgeschlossen wurden, angefertigt.

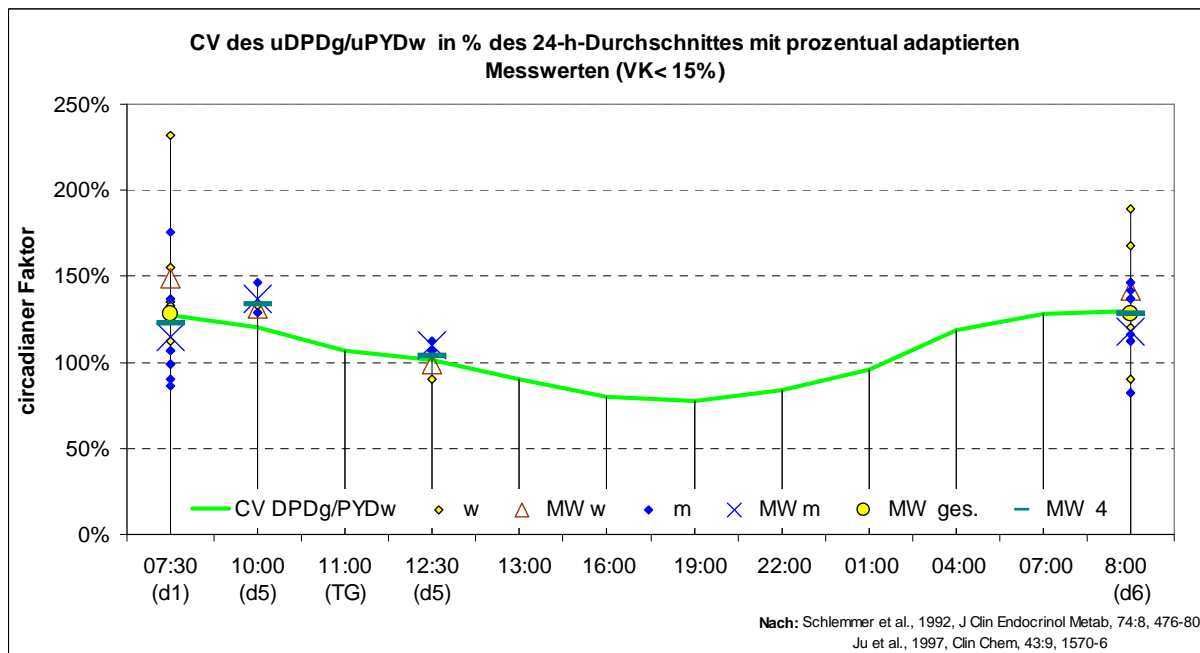


Abbildung 18 Circadiane Variation des Urin-PYD/DPD (uPYD/DPD) in Prozent des 24-h-Durchschnittes mit an den mittleren Ausgangswert, entsprechend des circadianen Verlaufes, adaptierten Messwerten, welche einen Variabilitätskoeffizienten von unter 15% aufweisen. In dieser Abbildung wird die CV von uDPD, ermittelt von Ju et al. (71), sowie die CV von uPYD, ermittelt von Schlemmer et al. (109) gemittelt und als ein gemeinsamer CV-Verlauf dargestellt. (CV = Tageszeitpunkt abhängige circadiane Variation, VK = Variabilitätskoeffizient, w = weiblich, m = männlich, g = gemischte Population, MW = Mittelwert, MW 4 = Mittelwert der vier zu allen Messzeitpunkten untersuchten Probanden, TG = Tauchgang, d = Tag)

### 6.2.6.3 Darstellung der Ergebnisse des Anpassungstests beim uPYD/DPD

Es zeigt sich zu keinem der drei Zeitpunkte eine signifikante Veränderung der Messwerte im Verlauf.

Zeit		10:00 Uhr			12:30 Uhr			8:00 Uhr			
		uPYD/DPD erw. in %	uPYD/DPD gem. in %	% Ver.	uPYD/DPD erw. in %	uPYD/DPD gem. in %	% Ver.	uPYD/DPD erw. in %	uPYD/DPD gem. in %	% Ver.	
HeAl	w	120	176	46,76%	101	129	27,58%	130	120	-7,49%	
NaKa	w	120	230	91,50%	101	172	70,11%	130	189	45,38%	
LiMo	w	120	129	7,38%	101	90	-10,69%	130	90	-30,61%	
RoLü	w	120	133	10,96%	101	107	6,32%	130	137	5,73%	
NiEi	w							130	168	28,86%	
CiSo	w							130	146	12,34%	
OiBo	m	120	129	7,38%	101	112	10,57%	130	146	12,34%	
WiGf	m	120	82	-31,99%	101	142	40,34%	130	82	-37,22%	
SaTh	m	120	146	21,70%	101	107	6,32%	130	137	5,73%	
ChR	m							130	112	-14,09%	
PaWy	m							130	142	9,03%	
MaDe	m							130	116	-10,79%	
DiLü	m							130	82	-37,22%	
YvB	m							130	137	5,73%	
AlFe	m							130	112	-14,09%	
<b>MW ges.</b>		<b>120</b>	<b>146</b>	<b>21,96%</b>	<b>101</b>	<b>123</b>	<b>21,51%</b>	<b>130</b>	<b>128</b>	<b>-1,54%</b>	
<b>Vorzeichenrangtest nach Wilcoxon für ein Einstichprobenproblem (Anpassungstest)</b>											
<b>H0: Tauchen hat keinen Einfluss auf die Urinkonzentration von PYD/DPD</b>											
n = 7 ; $\alpha = 0,05$				n = 7 ; $\alpha = 0,05$				n = 15 ; $\alpha = 0,05$			
p-Wert = 0,14063				p-Wert = 0,09375				p-Wert = 0,66907			
nicht signifikant ! =>				nicht signifikant ! =>				nicht signifikant ! =>			
H0 = bestätigt !				H0 = bestätigt !				H0 = bestätigt !			

Tabelle 24: Prozentuale Veränderung und statistische Berechnung der prozentual adaptierten Messdaten des Urin-PYD/DPD (uPYD/DPD) mit dem zum jeweiligen Zeitpunkt zu erwartenden Mittelwert. (erw. = erwartet, gem. = gemessen, % Ver. = prozentuale Veränderung, m = männlich, w = weiblich, ges. = gesamt, MW = Mittelwert, H0 = Nullhypothese, n = Anzahl der Probanden,  $\alpha$  = Signifikanzniveau, p-Wert = Überschreitungswahrscheinlichkeit)

## 7 Diskussion der Ergebnisse und Fragestellungen

### 7.1 Formationsmarker im Serum

#### 7.1.1 BAP im Serum

Die prozentuale Veränderung der Verlaufsmesswerte (s. Tab. 8) fallen im Mittel beim ersten Vergleichspaar (d-2;18:00 vs. d5;14:30) mit einem Absinken von 1,15% relativ gering aus (von  $26,0 \pm 9,4$  auf  $25,7 \pm 8,7$  U/L). Wie in Abb. 12 ersichtlich wird, ist das circadiane Niveau zwischen diesen beiden Zeitpunkten identisch. Somit weist der prozentual adaptierte Mittelwert aller Probanden um 14:30 Uhr eine dem circadianem Niveau entsprechende Position auf. Dies wird im Anpassungstest (s. Tab. 9) mit einem nur um 1% unter dem erwarteten circadianen Niveau liegenden Gesamtmittel nochmals verdeutlicht (p-Wert = 0,85). Ein kumulierter Einfluss aller Tauchgänge auf die Knochenformation lässt sich bei diesem Marker nicht erkennen.

Beim zweiten Vergleichspaar der Verlaufsmesswerte (d-2;18:00 vs. d5;10:00) zeigt sich mit 7,17% ein deutlicher, wenn auch nicht signifikanter (p-Wert = 0,47) prozentualer Abfall (von  $25,1 \pm 12,0$  auf  $23,3 \pm 9,3$  U/L). Dem circadianen Verlauf entsprechend hätte man einen Anstieg um 7% erwartet. Im Anpassungstest verdeutlicht sich dies mit einem um 16% unter dem erwarteten CV-Niveau liegendem Mittelwert (p-Wert = 0,3).

Beim dritten Vergleichspaar (d5;10:00 vs. d5;12:30) kommt es im Mittel mit 0,43% zu einer nur geringen prozentualen Veränderung (von  $23,3 \pm 9,3$  auf  $23,4 \pm 9,0$  U/L), was dem circadianen Verlauf entspricht. Daraus ergibt sich im Anpassungstest, bei einem gleich bleibenden circadianen Niveau zu diesen Zeitpunkten, mit 16% eine deutliche, aber ebenfalls nicht signifikant niedrigere (p-Wert = 0,3) circadiane Niveauposition. Ein direkter Einfluss des TG von 11:00 Uhr lässt sich hier nicht erkennen.

Die prozentual adaptierten Messwerte (s. Abb. 12) liegen um 10:00 und 12:30 Uhr im Mittel 16% unterhalb des zu erwartenden circadianem Prozentniveaus von 107%. Dieser Unterschied kann mit einer beschriebenen DTDV des sBAP von 8,8 bis 11,7% (27, 122) nur zum Teil erklärt werden. Trotz fehlender signifikanter Datenlage im

Anpassungstest gibt es, aufgrund der prozentual ausgeprägten Veränderungen, einen berechtigten Hinweis auf eine verminderte Knochenformation zu diesen beiden Zeitpunkten. Ursächlich für die niedrigere Knochenneubildungsrate könnten die Tauchgänge der ersten vier Tage (d1 – d4) sein.

Die prozentuale Veränderung der Verlaufsmesswerte beim vierten Vergleichspaar zwischen 10:00 und 14:30 Uhr ergibt einen signifikanten Anstieg ( $p$ -Wert = 0,03) um 3,86% (von  $23,3 \pm 9,3$  auf  $24,2 \pm 9,5$  U/L). Dieser Anstieg verläuft entgegen dem von Cracuin et al. postuliertem circadianem Verlauf.

Eine mögliche Erklärung hierfür wäre eine um 14:30 Uhr gemessene signifikante circadiane Normalisierung des um 10:00 und 12:30 Uhr unterhalb des physiologischen circadianen Niveaus liegenden Knochenstoffwechsels.

Dieser Anstieg der Knochenformation könnte aber auch durch den Nullzeittauchgang um 11:00 Uhr ausgelöst worden sein.

Diese beiden Hypothesen würden die dem circadianen Verlaufsniveau nahe Position der prozentual adaptierten Gesamtmesswerte um 14:30 Uhr (siehe Abb. 12) sowie den prozentualen Anstieg der Verlaufsmesswerte beim vierten Vergleichspaar erklären, der entgegen einem circadianem Absinken verläuft.



### 7.1.2 CICP im Serum

Dieser Marker der Knochenformation ist kein exklusives Osteoblastenprodukt. Deshalb könnten die zwei- bis dreifach erhöhten Ausgangswerte der Probanden CiSo und PaWy (s. Tab. 10) durch eine gesteigerte Fibroblastentätigkeit verfälscht worden sein (66, 125).

Interessant ist, dass die Probandin CiSo in der Frauengruppe ebenfalls den höchsten BAP-Wert aufweist (s. Tab. 7). Allerdings liegt er dort im hochnormalen Bereich für prämenopausale Frauen.

Proband PaWy zeigt in der Männergruppe des sBAP ebenfalls einen hochnormalen Wert. Diese Ergebnisse stehen also nicht im Widerspruch mit dem obigen Argument der gesteigerten Fibroblastentätigkeit. Eine stark erhöhte Fibroblastentätigkeit wird somit als ursächlich für die erhöhte Ausgangskonzentration des sCICP bei den zwei oben genannten Probanden erachtet.

Deshalb wird beim statistischen Vergleich der Messwertveränderungen bei dem ersten Vergleichspaar (d-2;18:00 vs. d5;14:30) (s. Tab. 11), der zweiten korrigierten statistischen Berechnung, bei welcher die beiden möglicherweise falsch hohen Messwerte ausgeschlossen wurden, eine höhere Präzision zugesprochen. Diese statistische Auswertung bestätigt bei einem Absinken um 12% (von  $143 \pm 51$  auf  $124 \pm 46$  ng/ml) die Nullhypothese ( $p$ -Wert = 0,07).

Allerdings kann ein Absinken um 12% im Mittel nur zum geringen Teil im circadianen Verlauf des sCICP begründet sein, welcher um 14:30 Uhr im Mittel nur etwa 3% unterhalb des Niveaus von 18:00 Uhr liegt (s. Abb. 13). Diese circadiane Rhythmik wurde von Hassager et al. an insgesamt 12 prämenopausalen Probanden ermittelt (56). Im Anpassungstest (s. Tab. 12) zeigt sich um 14:30 Uhr im Gesamtmittel ein um 11,27% unterhalb des zu erwarteten circadianen Niveaus liegende Position ( $p$ -Wert = 0,17). Da diese Berechnung ebenfalls die möglicherweise falsch hohen Messwerte beinhaltet, wurde hier zusätzlich das prozentual adaptierte circadiane Niveau der sieben durchgehend untersuchten Patienten analysiert. Bei den sieben Probanden zeigt sich eine um 24,72% deutliche, aber ebenfalls nicht signifikant niedrigere circadiane Position ( $p$ -Wert = 0,06).

Fink et al. beschreiben eine tagesabhängige Variation (DTDV) des sCICP von im Mittel 14,4% (38). Deshalb könnte ein niedrigeres DTDV-Niveau des sCICP am fünften Tag für die prozentual ausgeprägte Erniedrigung beim ersten Vergleichspaar verantwortlich sein. Die Erniedrigung des prozentualen circadianen Niveaus der sieben durchgehend untersuchten Probanden um 14:30 Uhr lässt sich damit aber nicht erklären.

Insgesamt gesehen lässt sich die kumulative Auswirkung aller TG bei diesem Marker der Knochenformation in dieser Untersuchung nicht eindeutig beantworten.

Beim zweiten Vergleichspaar (d-2;18:00 vs. d5;10:00) findet sich im Mittel eine deutliche prozentuale Verringerung um 13,46% (von 156 +/- 51 auf 135 +/- 50 ng/ml) (p-Wert = 0,08). Dem CV-Verlauf entsprechend wäre ein 5%iger Anstieg erwartet worden (s. Abb. 13). Im Anpassungstest (s. Tab. 12) fällt diese um 29% unterhalb des zu erwarteten circadianen Niveaus liegende Veränderung signifikant aus (p-Wert = 0,047). Die oben genannte DTDV kann ein um 29% signifikant niedrigeres circadianes Niveau im Gesamtmittel nur schwer erklären.

Beim dritten Vergleichspaar (d5;10:00 vs. d5;12:30) zeigt sich mit 3,7% eine nur geringe Erhöhung (p-Wert = 0,38). Dies ergibt, trotz eines leichten Absinkens des circadianen Verlaufes zwischen diesen beiden Zeitpunkten, eine dem physiologischen CV-Verlauf nahe Position. Dementsprechend findet sich beim Anpassungstest mit 22,11% eine ebenfalls deutlich unter dem erwarteten CV-Niveau liegende Position (p-Wert = 0,08). Auch hier lässt sich kein direkter Einfluss des TG um 11:00 Uhr erkennen.

Die um 10:00 und 12:30 Uhr des fünften Tages im Mittel um 29% bzw. 22% unterhalb des zu erwartendem CV-Niveaus liegenden circadianen Prozentwerte der sieben in allen Messreihen untersuchten Probanden lassen also eine deutliche und teils signifikante Verringerung der Knochenformation erkennen.

Beim vierten Vergleichspaar (d5;10:00 vs. d5;14:30) zeigt sich bei den sieben durchgehend untersuchten Probanden mit 3,13% (p-Wert = 0,47) ein dem circadianen Verlauf entsprechendes Absinken (s. Abb. 13). Die mit 24,72% deutlich niedrigere CV-Position dieser Probanden um 14:30 Uhr (s. Tab. 12) wird durch die

Tatsache relativiert, dass deren Ausgangsposition um 18:00 Uhr 12% unterhalb des Gesamtniveaus liegt (s. Abb. 13). Dies wird durch die im circadianen Gesamtmittel enthaltenen, möglicherweise falsch hohen Messwerte begründet.

Einen Anstieg der Knochenformation, ausgelöst durch den TG um 11:00 Uhr, lässt sich hier nicht erkennen.

### **7.1.3 Synopsis der Ergebnisse der beiden Formationsmarker im Serum**

Die Werte der beiden Formationsmarker CACP und BAP liegen am letzten Untersuchungstag, eine Stunde vor (10:00 Uhr) bzw. ca. eine halbe Stunde nach dem letzten Tauchgang (12:30 Uhr), im Mittel deutlich unter ihrem zu erwartenden circadianem Prozentniveau (BAP jeweils 16%, CACP 29 bzw. 22%).

Die Erniedrigung um 29% beim sCACP wurde im Anpassungstest als signifikant bestätigt (p-Wert = 0,047).

Die bei dem vierten Vergleichspaar (d5,10:00 vs. d5,14:30) des sBAP gefundene signifikante Zunahme (p-Wert = 0,031) der Knochenformation (von  $23,4 \pm 9,0$  auf  $24,2 \pm 9,5$  U/L) nach einem Tauchgang kann durch die Ergebnisse des sCACP, welche eine Konzentrationsabnahme (von  $135 \pm 50$  auf  $130 \pm 51$  ng/ml) um 3,13% im Mittel aufweisen, nicht bestätigt werden.

Wenn man die Ergebnisse der beiden Formationsparameter sBAP und sCACP zusammenfasst, zeigt sich eine deutliche und teils signifikante Datenlage, die auf eine Verminderung der Knochenformation nach tags zuvor durchgeführten Tauchgängen hinweist.

## 7.2 Resorptionsmarker im Serum

### 7.2.1 CTX im Serum

Für den vorzeitigen maximalen Messwert bei dem Probanden OIBo könnte eine deutlich stärkere Tauchbelastung am Vortag, oder den Vortagen, im Vergleich zu den anderen Teilnehmern verantwortlich sein. Mit einer kumulierten Unterwasserexpositionsgröße von 193530 m\*sec liegt der Proband OIBo deutlich unter dem summierten Mittelwert (246587 m\*sec) aller Probanden (s. S. 49).

Der siebte Tauchgänge (TG 7) am vierten Tag (letzter TG vor der 10:00 Uhr-Messung am fünften Tag) bei Proband OIBo weist die größte Tauchgangsfläche (A = 32542 m\*sec) all seiner Tauchgänge auf. Diese mögliche Ursache für den vorzeitigen Messwertanstieg bestätigt sich bei den anderen Probanden nicht. So weisen die Probanden HeAl (TG 8, A = 46429), WiGf (TG 8, A = 45096) und NaKa (TG 7, A = 28100), bei höheren oder vergleichbaren Tauchbelastungen, kein vorzeitiges Messwertmaximum auf (s. S. 109-111). Es wird somit angenommen, dass die Ursache des vorzeitigen maximalen Messwertmaximums bei Proband OIBo nicht im Tauchverhalten zu finden ist.

OIBo	max. Tiefe in m	Ø Tiefe in m	Tauchzeit in min	A ges.(m*sec)
TG 1	17,0	7,6	27' 40"	12736
TG 2	16,0	7,1	33' 20"	14350
TG 3	15,3	9,5	38' 20"	21976
TG 4	20,4	10,4	46' 40"	29382
TG 5	22,8	10,7	50' 00"	32344
TG 6	25,1	9,4	39' 00"	22100
TG 7	28,1	10,8	50' 00"	32542
R-TG 8	14,1	7,7	60' 40"	28100
Σ	<b>158,8</b>	<b>73,1</b>	<b>345' 40"</b>	<b>193530</b>

Tabelle 25: Gesamtübersicht aller Tauchgänge des Probanden OIBo. ( max. = maximale, m = Meter, Ø = durchschnittliche, min = Minuten, A ges. = Tauchgangsgesamtfläche, sec = Sekunden, TG = Tauchgang, R-TG = Referenztauchgang, Σ = Summe)

Ein infektiöser Prozess oder andere mögliche Ursachen für diese Erhöhung konnten nicht verifiziert werden.

Die prozentuale Veränderung aller Messwerte beim ersten Vergleichspaar (von  $0,336 \pm 0,142$  auf  $0,550 \pm 0,231$  ng/ml) lassen mit 64% einen deutlichen und signifikanten Anstieg (p-Wert = 0,00006) der Knochenresorption aller Probanden

erkennen (s. Tab. 15). Im Anpassungstest (s. Tab. 15) zeigen die prozentual adaptierten Messwerte im Gesamtmittel um 14:30 Uhr mit 136% ein doppelt so hohes CV-Niveau als physiologisch zu erwarten wäre (p-Wert = 0,0001).

Die durchschnittliche prozentuale Veränderung der Messwerte im Verlauf (s. Tab. 14) beim zweiten Vergleichspaar (d-2; 18:00 vs. d5;10:00) fällt mit 1,12% sehr gering aus. Da das circadiane Niveau um 10:00 Uhr in etwa dem um 18:00 Uhr entspricht, zeigt sich auch bei den prozentual an den CV-Verlauf adaptierten Messwerten am fünften Tag um 10:00 Uhr (s. Abb. 14) keine Abweichung vom circadianen Niveau.

Da also am fünften Tag um 10:00 Uhr kein Anstieg der Knochenresorption mehr nachweisbar ist, wird angenommen, dass sich ein Einfluss von Tauchgängen auf die Knochenresorption am Morgen des Folgetages im Serum nicht mehr nachweisen lässt.

Zwischen 10:00 und 12:30 Uhr wird dem circadianen Verlauf entsprechend (s. Abb. 14) ein Absinken der Messwerte um etwa 20% erwartet. Dem gegenüber steht der um 12:30 Uhr um 34% über dem zu erwartenden circadianen Niveau liegende prozentual adaptierte Mittelwert. Der im dritten Vergleichspaar (d5;10:00 vs. d5;12:30) bei fünf Probanden errechnete prozentuale Anstieg von durchschnittlich knapp 15% (von  $0,344 \pm 0,184$  auf  $0,395 \pm 0,152$  ng/ml) im direkten Verlauf fügt sich schlüssig in diese Datenlage (s. Tab. 14). Für diesen Anstieg der Knochenresorption wird der um 11:00 Uhr absolvierte TG als ursächlich erachtet.

Der beim vierten Vergleichspaar der Verlaufsmesswerte (d5;10:00 vs. d5;14:30) registrierte prozentuale Anstieg um knapp 35% (s. Tab. 14) fällt bei einem zu erwartenden circadianen Absinken um 20% zwischen diesen beiden Zeitpunkten (s. Abb. 14) in Wirklichkeit deutlich höher aus. So zeigen die fünf zu allen Zeitpunkten untersuchten Probanden um 14:30 Uhr einen um 47% über dem zu erwartenden circadianen Niveau liegenden prozentual adaptierten Mittelwert (s. Abb. 14).

Die DTDV, welche von Takahashi et al. im Falle des sCTx mit 11,4% beschrieben wird (122), kann für diese enorme und statistisch signifikante Veränderung der Messwerte im Verlauf und im Anpassungstest nicht verantwortlich sein.

Da die physiologische circadiane Variation des sCTx an großen und vielschichtigen Populationen untersucht wurde (102), wird hier postuliert, dass eine ausreichende Vergleichbarkeit der Studienpopulationen gegeben ist. Die statistische Berechnung der gemessenen und der zu erwartenden Messwerte kann ohne Einschränkung interpretiert werden.

Der signifikante Anstieg der Messdaten im Verlauf beim ersten Vergleichspaar (d-2;18:00 vs. d5;14:30) kann aufgrund der gewählten Entnahmezeitpunkte keinesfalls falsch hoch ausgefallen sein, da im circadianen Verlauf zwischen diesen beiden Zeitpunkten ein Absinken um 20% erwartet wird.

Mit diesem Knochenresorptionsmarker wird ein signifikanter Zusammenhang zwischen Nullzeittauchen und einer unmittelbar auf den Tauchgang folgenden Zunahme der Knochenresorption bewiesen.

### **7.2.2 PYD im Serum**

Bei der Betrachtung der Messwerte im Verlauf (s. Tab. 17) zeigt sich beim ersten Vergleichspaar (d-2;18:00 vs. d5;14:30) ein nicht signifikanter ( $p$ -Wert = 0,06) 10%iger Anstieg (von  $1,60 \pm 0,36$  auf  $1,76 \pm 0,39$  nmol/l). Wenn man allerdings die fünf Probanden mit mindestens einem Variabilitätskoeffizienten von über 15% im jeweiligen Vergleichspaar ausklammert, ergibt die erneute statistische Berechnung einen signifikanten Anstieg (von  $1,53 \pm 0,24$  auf  $1,73 \pm 0,30$  nmol/l) um 13,25% ( $p$ -Wert = 0,02). Der circadiane Verlauf des sDPD (s. Abb. 15) weist um 14:30 Uhr einen rund 15% niedrigeren Wert auf als um 18:00 Uhr (90% zu 105%). Es wird hier postuliert, dass der signifikante Anstieg bei diesem Vergleichspaar nicht durch eine circadiane Rhythmik bedingt ist.

Die prozentual adaptierten Messwerte um 14:30 Uhr liegen 27% oberhalb des zu erwarteten CV-Niveaus des sDPD. Im Anpassungstest (s. Tab. 18) wird dieser Anstieg signifikant bestätigt ( $p$ -Wert = 0,002).

Bei den restlichen Vergleichsgruppen wird, durch jeweils zwei oder drei qualitativ schlechte Messungen, bei insgesamt fünf Probanden die Auswertung möglicherweise so weit verfälscht, dass ihr keine Aussagekraft zugeschrieben wird.

Da keine markerspezifische Untersuchung zur circadianen Rhythmik des sPYD vorliegt und die noch nicht deoxigenierten Pyridinoline in Relation zum circadianen Verlauf der deoxigenierten Pyridinoline gesetzt werden, kann das Modell der sich identisch verhaltenden Populationen bei diesem Marker in Zweifel gezogen werden. Da die hier durchgeführte Darstellung dem tatsächlichen Verhalten des sPYD am nahesten kommt, stützt dieser Marker der Knochenformation die Ergebnisse des sCTx.

### **7.1.3 Synopsis der Ergebnisse der beiden Resorptionsmarker im Serum**

Die beim sCTx ermittelten signifikanten Ergebnisse und Schlussfolgerungen werden von den Ergebnissen des sPYD bei den Messwertveränderungen im Verlauf (Vgl. Paar 1) und im entsprechenden Anpassungstest gestützt.

## 7.3 Resorptionsmarker im Urin

### 7.3.1 CTx im Urin

Der im Mittel 15%ige Anstieg der uCTx-Konzentration (s. Tab. 20) beim Vergleich der Ausgangswerte mit den Messwerten um 8:00 Uhr (von  $328 \pm 195$  auf  $378 \pm 184$   $\mu\text{g}/\text{mmol}$ ) des sechsten Tages beim ersten Vergleichspaar (d1;7:30 vs. d6;8:00) ist statistisch signifikant (p-Wert = 0,001). Diese Signifikanz bleibt auch nach Ausschluss derjenigen Vergleichspaare mit einem Variabilitätskoeffizienten von über 15% in einer der beiden verbundenen Stichproben bestehen (p-Wert = 0,009).

In Relation zur circadianen Rhythmik liegt der Mittelwert aller Probanden am sechsten Tag um 8:00 Uhr 20% über dem zu erwartenden CV-Niveau. Aufgrund des identischen Entnahmezeitpunktes ist dieser Anstieg nicht auf eine circadiane Schwankung zurückzuführen.

Allerdings lässt die statistische Auswertung des Anpassungstests (s. Tab. 21) zu keinem der drei Zeitpunkte eine signifikante Erhöhung erkennen. Der Vergleich der gemessenen mit den zu erwartenden circadianen Prozentanteilen um 8:00 Uhr des sechsten Tages zeigt eine Erhöhung um 16% (p-Wert = 0,24). Somit kann dieses Ergebnis die signifikante Erhöhung der Messwerte im Verlauf nur hinsichtlich eines deutlichen prozentualen Anstieges stützen.

Takahashi und Ju beschreiben eine DTDV des uCTx von im Mittel 18,1% (prämenopausale Population) (122) und von 22,8% (gemischte Population) (71). Die signifikante Konzentrationszunahme der Messwerte im Verlauf beim ersten Vergleichspaar (d1;7:30 vs. d6;8:00) um 15,24% im Gesamtmittel sowie der 20% über dem CV-Niveau liegende Mittelwert aller Probanden um 8:00 Uhr am sechsten Tag könnten im möglichen tagesabhängigen Varianzbereich der Markerkonzentration liegen.

Beim zweiten Vergleichspaar (d1;7:30 vs. d5;10:00) kommt es zu einem nicht signifikanten (p-Wert = 0,46) 10%igen Absinken der Messwerte (von  $338 \pm 158$  auf  $304 \pm 96$   $\mu\text{g}/\text{mmol}$ ).



Beim dritten Vergleichspaar (d5;10:00 vs. d5;12:30) zeigt sich ein 9,5%iger, ebenfalls nicht signifikanter Abfall (p-Wert = 0,56) im Gesamtmittel (von  $304 \pm 96$  auf  $275 \pm 109 \mu\text{g}/\text{mmol}$ ).

Die prozentual adaptierten Messwerte um 10:00 und 12:30 Uhr am fünften Tag stimmen mit der zu erwartenden circadianen Rhythmik im Mittel gut überein und lassen keinen Einfluss der DTDV erkennen.

Das Absinken der uCTx-Konzentration um etwa 10% beim dritten Vergleichspaar der Verlaufsmessung (d5;10:00 vs. d5;12:30) dürfte durch die circadiane Rhythmik begründet sein, da zwischen diesen beiden Zeitpunkten ein Absinken des circadianen Niveaus um etwa 15% erwartet wird.

Wie schon bei der Analyse der Verlaufparameter in Relation zur circadianen Rhythmik beschrieben, zeigen die geringen prozentualen Veränderungen um 10:00 und 12:30 Uhr mit einem p-Wert von 0,94 bzw. 1 in der statistischen Auswertung des Anpassungstests (s. Tab. 21) ihre CV-Niveau nahe Position.

Für einen Anstieg des uCTx während der Kompressions- und Isopressionsphase des NZTG finden sich keine Hinweise.

Auch lässt sich an dieser Stelle kein messbarer Einfluss der bis zu diesem Zeitpunkt absolvierten Tauchgänge erkennen.

Eine mögliche Ursache für die Erhöhung dieses Knochenresorptionsparameters am Morgen des sechsten Tages beim uCTx könnte, wenn man von dem möglichen Einfluss einer ausgeprägten DTDV absieht, eine extrem hohe Tauchbelastung am fünften Tag sein.

Bei der Betrachtung der Tauchbelastungsparameter fällt jedoch auf, dass am fünften Tag im Bereich der Gesamtfläche, als Ausdruck der Expositionsgröße, eine deutlich geringere Tagesbelastung als am vierten Tag vorlag (s. Tab. 26). Aufgrund eines zweiten Tauchganges am vierten Tag fällt das Ausmaß der Tauchbelastung durchschnittlich doppelt so hoch aus wie am fünften Tag. Diese hohe Tauchbelastung hatte zu keiner erhöhten Exkretion um 10:00 Uhr des fünften Tages geführt. Der CTx Anstieg im Urin folgt dem Serumanstieg um zwei bis drei Stunden versetzt (71, 102). Deshalb wird ein noch messbarer Einfluss des Tauchganges um

11:00 Uhr am fünften Tag in der Morgenurinprobe am sechsten Tag als fraglich erachtet.

Es handelt sich allerdings bei der 10:00-Uhr-Probe des fünften Tages um keine Morgenurinprobe. Dies muss beim Vergleich der Proben vom fünften Tag um 10:00 Uhr mit den Proben vom sechsten Tag um 8:00 Uhr, trotz Kreatininkorrektur bedacht werden.

Proband		Tag (d)	Tauchgänge (TG)	max. Tiefe in m	Ø Tiefe in m	Tauchzeit in min	A ges.(m <sup>2</sup> sec)
HeAl	w	4	TG 7	49,2	17,7	57' 40"	61455
		4	TG 8	38,1	12,7	60' 40"	46429
			<b>Σ A ges..</b>				<b>107885</b>
		5	<b>TG 9</b>	31,0	11,5	73' 00"	<b>50398</b>
NaKa	w	4	TG 6	31,0	10,9	47' 60"	31672
		4	TG 7	19,1	8,2	57' 20"	28408
			<b>Σ A ges..</b>				<b>60080</b>
		5	<b>TG 8</b>	19,1	9,5	54' 20"	<b>27944</b>
LiMo	w	4	TG 6	22,8	11,0	48' 40"	32308
		4	TG 7	25,1	9,4	39' 00"	22100
			<b>Σ A ges..</b>				<b>54408</b>
		5	<b>TG 8</b>	19,0	10,8	47' 40"	<b>31148</b>
RoLü	w	4	TG 9	17,3	9,8	55' 00"	32594
		4	TG 10	19,2	8,4	55' 20"	27994
			<b>Σ A ges..</b>				<b>60588</b>
		5	<b>TG 11</b>	15,0	7,3	61' 40"	<b>26953</b>
OIBo	m	4	TG 6	25,1	9,4	39' 00"	22100
		4	TG 7	28,1	10,8	50' 00"	32542
			<b>Σ A ges..</b>				<b>54642</b>
		5	<b>TG 8</b>	14,1	7,7	60' 40"	<b>28100</b>
WiGf	m	4	TG 7	49,1	16,8	59' 20"	60183
		4	TG 8	37,5	12,3	61' 00"	45096
			<b>Σ A ges..</b>				<b>105280</b>
		5	<b>TG 9</b>	30,5	11,5	73' 00"	<b>50380</b>
SaTh	m	4	TG 6	21,3	9,6	50' 20"	29200
		4	TG 7	24,2	10,5	43' 00"	27376
			<b>Σ A ges..</b>				<b>56576</b>
		5	<b>TG 8</b>	20,3	9,8	55' 00"	<b>29180</b>

Tabelle 26: Übersicht der unterschiedlichen Tauchbelastungsparameter (A. ges) am vierten und am fünften Tag.  
(w = weiblich, m = männlich, A ges. = Gesamtfläche, Ø = durchschnittliche, d = Tag, TG = Tauchgang)

### 7.3.2 PYD im Urin

Der Vergleich der Ausgangsdaten mit den Messergebnissen des sechsten Tages beim ersten Vergleichspaar (d1;7:30 vs. d6;8:00) (s. Tab. 23) zeigt ein geringfügiges nicht signifikantes Absinken im Mittel um 0,34% (p-Wert = 0,82).

Wie schon durch die geringe prozentuale Veränderung der Verlaufsmesswerte beim ersten Vergleichspaar (d1;7:30 vs. d6;8:00) ersichtlich wird, entsprechen der Gesamtmittelwert und der Mittelwert der sieben durchgehend untersuchten Probanden am sechsten Tag um 8 Uhr dem circadianen Niveau (s. Abb. 17).

Dementsprechend zeigt sich bei der statistischen Berechnung der 8:00-Uhr-Werte im Anpassungstest (s. Tab. 24) ein nicht signifikantes prozentuales Absinken um lediglich 1,54% (p-Wert = 0,67).

Bei identischen Probesammelzeitpunkten wird kein Einfluss der CV erwartet.

Dieses Ergebnis lässt vermuten, dass Nullzeittauchgänge am Morgen des folgenden Tages zu keinen noch messbaren Veränderungen des Knochenstoffwechsels im Urin führen. Damit steht dieses Ergebnis im Gegensatz zu der signifikanten Veränderung beim identischen Vergleichspaar des uCTx.

Beim zweiten Vergleichspaar (d1;7:30 vs. d5;10:00) kommt es zu einem fast 19%igen nicht signifikanten (p-Wert = 0,19) Anstieg (von  $28,6 \pm 3,9$  auf  $34,1 \pm 10,8$  nmol/mmol).

Nach Ausschluss der Messpaare mit mindestens einer qualitativ schlechten Messung ergibt sich bei diesem Vergleichspaar lediglich ein Anstieg von 2,86% im Gesamtmittel (von  $28 \pm 4,5$  auf  $28,8 \pm 5,7$  nmol/mmol).

Das dritte Vergleichspaar (d5;10:00 vs. d5;12:30) zeigt ein deutliches, wenn auch nicht signifikantes (p-Wert = 0,3) prozentuales Absinken der Messwerte im Mittel um 16,14% (von  $34,1 \pm 10,8$  auf  $28,6,1 \pm 6,3$  nmol/mmol). Nach Ausschluss der qualitativ schlechten Messungen fällt dieser Abfall mit 22% (von  $31,3 \pm 1,9$  auf  $24,3 \pm 2,2$  nmol/mmol) noch deutlicher aus. Dieser Unterschied würde prozentual gesehen dem circadianen Verlauf entsprechen, welcher bei den zugrunde liegenden Publikationen etwa 20% beträgt (71, 109).

Ein Anstieg der Knochenresorption während der Kompressions- und Isopressionsphase des Tauchganges um 11:00 Uhr lässt sich, bei insgesamt sieben untersuchten Probanden, nicht erkennen.

Bei der Betrachtung der prozentual an den circadianen Verlauf adaptierten Messwerte (s. Abb. 17) liegen die Mittelwerte der sieben durchgehend untersuchten Probanden um 10:00 Uhr um 27% und um 12:30 Uhr um 22% über dem zu erwartenden circadianen Niveau.

Die statistische Auswertung des Anpassungstests (s. Tab. 24) um 10:00 bzw. 12:30 Uhr zeigt bei allen sieben durchgehend untersuchten Probanden eine deutliche prozentuale Zunahme von jeweils knapp 22%. Allerdings handelt es sich hierbei um keine signifikanten Erhöhungen ( $p$ -Wert = 0,14 bzw. 0,094).

In die statistische Berechnung wurden alle Messwerte, unabhängig vom jeweiligen Variabilitätskoeffizienten, mit einbezogen. Somit entspricht diese Berechnung der Darstellung in Abbildung 17 und erklärt die ausgeprägte prozentuale Abweichung.

Bei einer weiblichen Population beschreibt Takahashi eine DTDV beim uDPD von 8,3% und beim uPYD von 7,6% im Mittel (122). Ju et al. ermittelten in einer gemischten Population eine mittlere DTDV des uDPD von 16,3% (71). Diese tagesabhängigen Abweichungen können die oben genannten Anweichungen von über 20% alleine nicht erklären.

Die korrigierte Darstellung der prozentual adaptierten Messwerte im Verlauf (s. Abb. 18) zeigt, dass nur die Messung um 10:00 Uhr am fünften Tag um 14% von dem durch Schlemmer und Ju ermittelten circadianen Verlauf des uPYD bzw. uDPD nach oben abweicht. Die prozentual adaptierten Messungen um 12:30 Uhr liegen im Mittel nur leicht über dem circadianen Niveau. Diese, nach der Korrektur, geringer ausgefallenen Abweichungen um 10:00 und 12:30 Uhr am fünften Tag liegen im Bereich der oben genannte DTDV.

Es findet sich auch in der korrigierten Darstellung kein Hinweis auf eine Veränderung der Knochenresorption während der Kompressions- und Isopressionsphase.

Insgesamt lässt die Datenlage beim uPYD/DPD keinen Einfluss des NZT erkennen.

### 7.3.3 Synopsis der Ergebnisse der beiden Resorptionsmarker im Urin

Die Ergebnisse beider Urinresorptionsmarker CTx und PYD/DPD weisen hinsichtlich eines Anstieges der Konzentration am Morgen des sechsten Tages widersprüchliche Ergebnisse auf.

Beim CTx kommt es bei der statistischen Berechnung der Messwerte im Verlauf beim ersten Vergleichspaar (d1;7:30 vs. d6;8:00) zu einer 15%igen signifikanten Zunahme (p-Wert = 0,001) der Konzentration dieses Knochenresorptionsparameters im Urin (von  $328 \pm 159$  auf  $378 \pm 156$   $\mu\text{g}/\text{mmol}$ ). Dieser signifikante Anstieg liegt aber im Bereich von beschriebenen tagesabhängigen Variationen zwischen 18% und 23% (71, 122).

Beim PYD/DPD hingegen lässt sich beim identischen Vergleichspaar ein geringfügiges Absinken (p-Wert = 0,818) des Gesamtmittelwertes um 0,34% (von  $29,8 \pm 8,8$  auf  $29,7 \pm 7,1$   $\text{nmol}/\text{mmol}$ ) feststellen.

Nochmals muss hier der deutliche Unterschied in der Tauchbelastung zwischen dem vierten und fünften Tag genannt werden (s. Tab. 26). So scheint es unwahrscheinlich, dass eine durchschnittlich fast doppelt so hohe Tauchbelastung am vierten Tag, beim uCTx um 10:00 Uhr des Folgetages, zu keiner nachweislichen Erhöhung der Knochenresorption geführt hat, die geringere Tauchbelastung des fünften Tages hingegen zu einer signifikanten Erhöhung in der Morgenurinprobe des sechsten Tages.

Bei der Untersuchung unterschiedlicher Urinmarkerassays von Ju et al., fällt die relativ hohe Streubreite der Einzelwerte beim uCTx auf. Die Einzelwerte beim uDPD weisen zu gegebenen Zeitpunkten eine deutlich geringere Streubreite auf (s. Abb. 19) (71). Deshalb wird postuliert, dass der in der vorliegenden Studie verwendete uPYD/DPD Urinmarker eine höhere Präzision bei der prozentualen Adaptation der gemessenen Werte an den circadianen Verlauf aufweist. Dem Ergebnis des uDPD/PYD-Assays wird folglich eine höhere Aussagekraft zuerkannt.

Es wird also vermutet, dass trotz einer vorliegenden Diskrepanz bei den Resorptionsmarkern im Urin die Knochenresorption am Tag nach einem NZTG dem circadianen Niveau entspricht. Ein kumulativer Einfluss aller Tauchgänge ist somit bei den Resorptionsmarkern im Urin nicht ersichtlich.

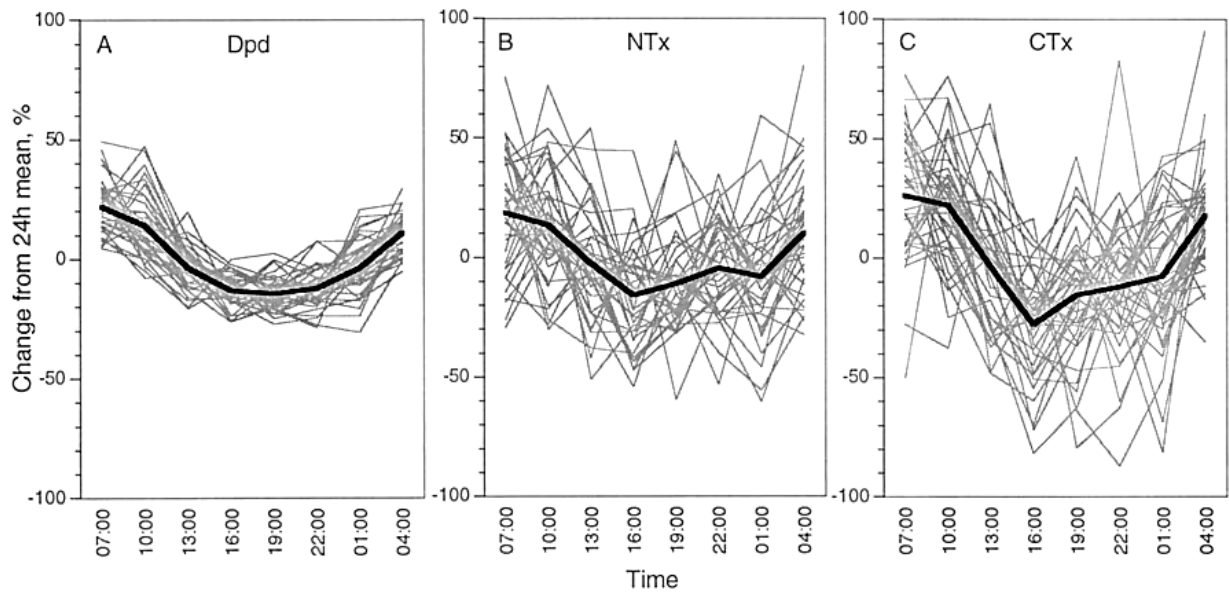


Abbildung 19: Tageszeitabhängige circadiane Variation der Kreatinin korrigierten Messungen von DPD, NTx und CTx im Urin (71).

## **7.4 Fragestellungen**

Die Fragestellungen in dieser Pilotstudie lassen sich nach Analyse der Ergebnisse wie folgt beantworten.

### **7.4.1 Zusammenhang zwischen NZT und dem Knochenstoffwechsel**

Beim CTx im Serum wurde ein eindeutiger und signifikanter Zusammenhang zwischen einem Nullzeittauchgang und einem sich daran unmittelbar anschließenden ausgeprägten Anstieg der Knochenresorption bewiesen.

Ein kumulativer Einfluss aller Tauchgänge auf den Knochenstoffwechsel konnte bei keinem der Probanden, welche zum Teil erheblich unterschiedliche kumulative Unterwasserexpositionsrößen (s. Abb. 11, S. 49) und Tauchgangsanzahlen aufweisen, nachgewiesen werden.

### **7.4.2 Veränderungen des Knochenmetabolismus während der Kompressions- und Isopressionsphase eines Tauchganges**

Die Ergebnissauswertung der Knochenresorptionsmarker im Urin erbrachte keinen Hinweis auf eine Veränderung des Knochenmetabolismus während der Kompressions- und Isopressionsphase eines Tauchganges.

### **7.4.3 Einfluss unterschiedlicher Tauchbelastungen auf das Ausmaß der Veränderungen des Knochenstoffwechsels**

Da kein summatorischer Effekt aller Tauchgänge auf den Knochenstoffwechsel nachgewiesen werden konnte, wird deshalb in nachfolgender Tabelle der Einfluss einer einzelnen Tauchgangsbelastung (Referenz-TG um 11:00 Uhr) auf die prozentuale Veränderung der CTx-Konzentration im Serum dargestellt. Die Veränderungen zu den beiden Messzeitpunkten um 12:30 und 14:30 Uhr beziehen sich auf die Messwerte, die um 10:00 Uhr unmittelbar vor dem Referenztauchgang gewonnen wurden.

Im Vergleich zum circadianen Niveau um 10:00 Uhr wird zu den beiden nachfolgenden Messzeitpunkten ein 24% bzw. 20% niedrigeres CV-Niveau erwartet. Somit liegen auch die einzig bei Proband OIBo registrierten rückläufigen Werte um 11% bzw. 1%, deutlich über dem zu erwarteten circadianen Niveau zu diesen Zeitpunkten.

	R-TG	max. Tiefe in m	Ø Tiefe in m	Tauchzeit in min	A ges.(m*sec)	% Ver. des sCTX (10:00 vs. 12:30 Uhr)	% Ver. des sCTX (10:00 vs. 14:30 Uhr)
HeAl	w TG 9	31,0	11,5	73' 00"	50398	33,17%	86,06%
NaKa	w TG 8	14,1	9,5	60' 40"	28100	12,23%	40,17%
LiMo	w TG 8	19,0	10,8	47' 40"	31148	34,47%	54,61%
OIBo	m TG 8	14,6	7,7	60' 40"	28232	-11,44%	-0,94%
WiGf	m TG 9	30,5	11,5	73' 00"	50380	39,22%	47,84%

Tabelle 27: Übersicht über die mittels Tauchcomputer ermittelten Daten und den berechneten Tauchbelastungsparameter (A ges. = Gesamtläche) der Referenz-Tauchgänge (R-TG) am fünften Tag (d5), mit den sich anschließenden prozentualen Veränderungen des CTx im Serum. (TG = Tauchgang, w = weiblich, m = männlich oder Meter, Ø = durchschnittliche, vs. = versus, min = Minuten, % Ver. = Prozentuale Veränderung)

Die Probandin HeAl zeigt nach dem Referenztauchgang um 11:00 Uhr die größte prozentuale Gesamtveränderung um 14:30 Uhr bei gleichzeitig größter Tauchgangsgesamtläche (Parameter der Tauchbelastung).

Dieser mögliche Zusammenhang lässt sich bei den anderen Probanden nicht verifizieren. So weist Proband WiGf bei einer nur geringfügig kleineren Tauchgangsgesamtläche einen 40% niedrigeren Anstieg der Knochenresorption auf. Des Weiteren zeigt Probandin NaKa im Vergleich zu Proband WiGf einen nur geringfügig kleineren Konzentrationsanstieg des sCTx um 14:30 Uhr, obwohl ihre Tauchbelastung nur halb so groß ausfiel.

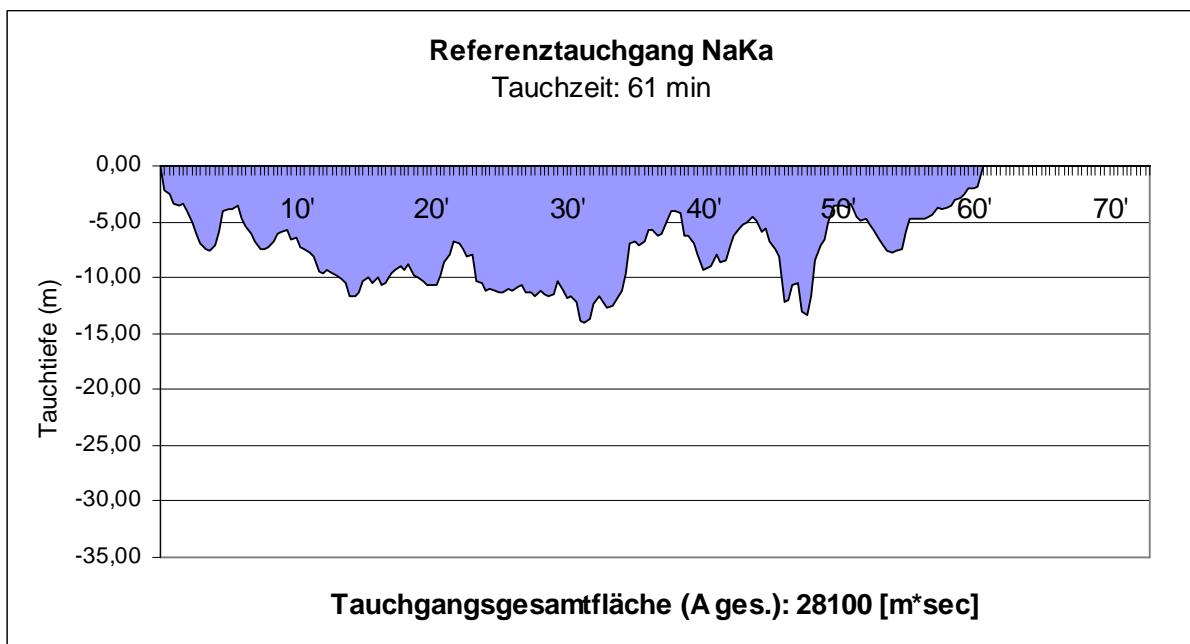
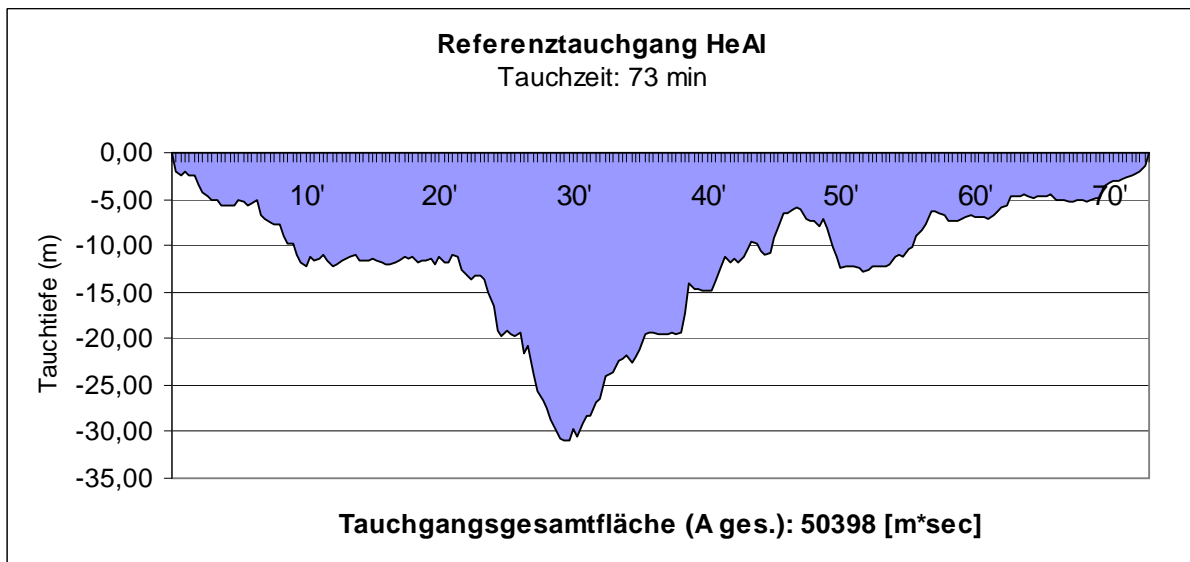
Eine mögliche Erklärung für diese Diskrepanzen böten ausgeprägte Unterschiede in den Ab- bzw. Auftauchgeschwindigkeiten. Diese lassen sich jedoch bei der Betrachtung der jeweiligen graphisch dargestellten Tauchprofile dieser Probanden nicht erkennen (s. Abb. 20). Auch lässt sich hinsichtlich des Ausmaßes des prozentualen Anstiegs kein Zusammenhang mit den Belastungsparametern herstellen. HeAl und LiMo weisen bei fast identischer prozentualer Veränderung um 12:30 Uhr eine sehr unterschiedliche Tauchgangsgesamtläche (Ausdruck der Tauchbelastung) auf (s. Tab. 27).

Ebenso lässt die maximale Tauchtiefe keinen Rückschluss auf das Ausmaß der Knochenresorption zu, denn bei einer um 10 Meter geringeren maximalen Tauchtiefe



weist Probandin LiMo im Vergleich mit Proband WiGf einen höheren prozentualen Anstieg um 14:30 Uhr auf. Entsprechend verhält es sich mit der durchschnittlichen Tauchtiefe bei diesen beiden Probanden.

Des Weiteren erkennt man anhand der prozentualen Veränderungen bei allen der fünf durchgehend untersuchten Probanden (s. Tab. 27), dass es zwischen 12:30 und 14:30 Uhr zu einer Erhöhung dieses Resorptionsparameters des Knochenstoffwechsels kommt. Damit kann in dieser Pilotstudie postuliert werden, dass der vermeintliche Umkehrpunkt der sCTx-Konzentration entweder zeitlich relativ nah am letzten Messzeitpunkt liegt oder noch höhere Konzentrationen im weiteren Verlauf zu erwarten sind.



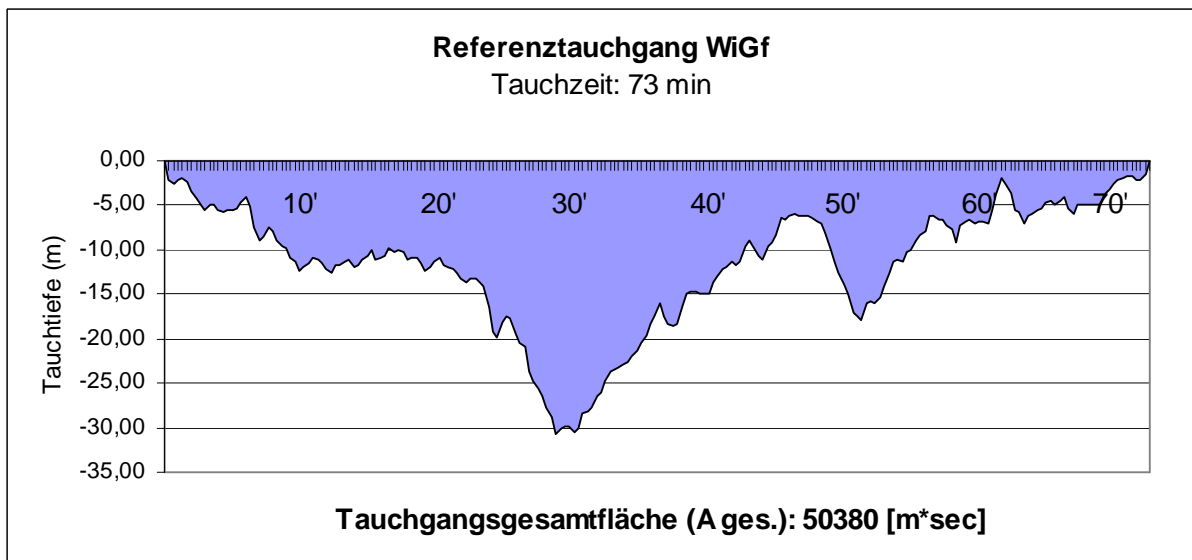
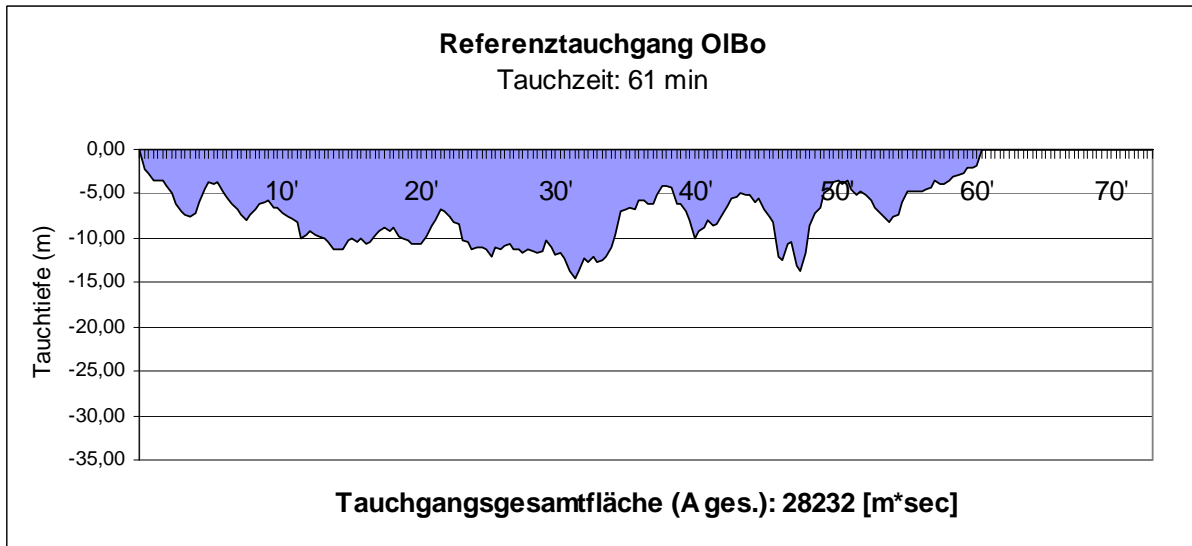
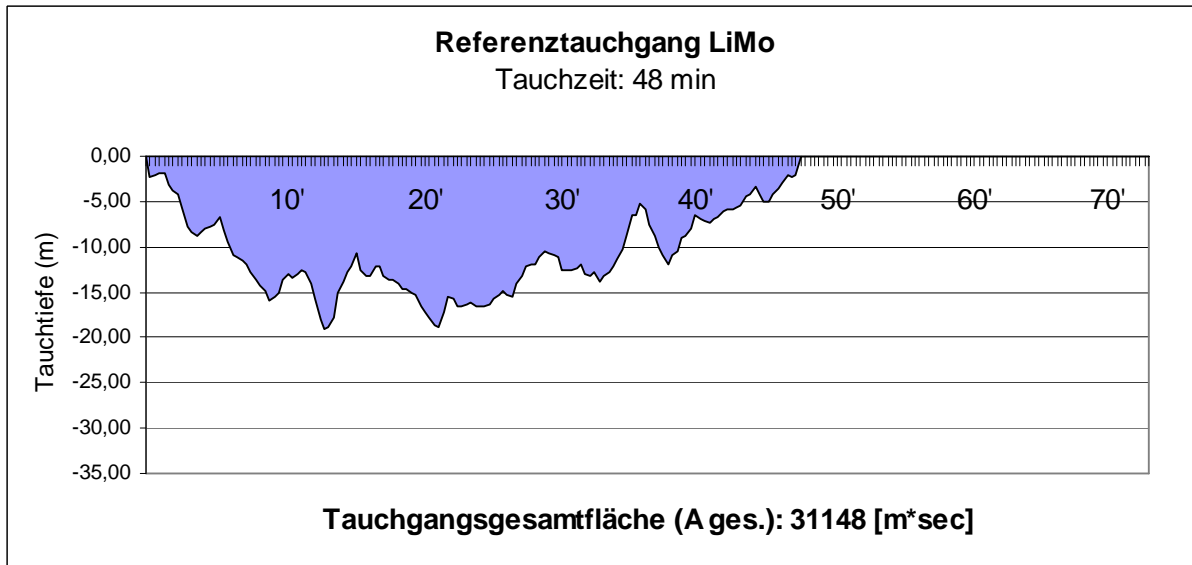


Abbildung 20: Tauchgangsgesamtflächen des Referenztauchganges der fünf vor und nach diesem TG untersuchten Probanden. (min = Minuten, m = Meter, sec = Sekunde)

Das vorliegende Datenmaterial erlaubt es also nicht, Rückschlüsse von den unterschiedlichen Tauchbelastungsparametern auf das Ausmaß der Knochenresorption zu ziehen.

Aufgrund der geringen Probandenanzahl kann diese Fragestellung in dieser Studie nicht abschließend bewertet werden.

#### **7.4.4 Rückschlüsse auf mögliche Ursachen der DON**

Die in dieser Studie gewonnene Datenlage lässt folgende Schlüsse hinsichtlich der unter dem Gliederungspunkt 3.2 diskutierten möglichen Ursachen der dysbarischen Osteonekrose zu.

Die Gasblasenbildung während der Dekompressionsphase ist ein wesentlicher und allgemein anerkannter Faktor bei der Entstehung der DON (18, 19, 68). Das Maximum der nach einem NZTG entstehenden Gasblasenmenge wird 30-40 Minuten nach dem Auftauchen erreicht (14). Diese Phase liegt bei dem in dieser Studie diesbezüglich untersuchten TG (Referenztauchgang um 11:00 Uhr, Tauchzeit zwischen 39 und 73 Minuten) zwischen 12:30 und 13:00 Uhr. Da es eine zeitliche Latenz zwischen dem Auftreten der Gasblasen und dem Erscheinen von Knochenabbauprodukten im Serum gibt, deckt sich dies mit den Messergebnissen der Serumresorptionsparameter, welche beide einen deutlichen Anstieg der Konzentration zwischen 12:30 und 14:30 Uhr aufweisen.

Dass die stark reduzierte Schwerkraftwirkung unter Wasser als Ursache der erhöhten Knochenresorption in der vorliegenden Studie eine entscheidende Rolle einnimmt, ist nur schwer vorstellbar. Die verminderte Knochendichte im Bereich des Oberschenkelhalses bei Berufstauchern wird von Pereira et al. auf diesen Entstehungsmechanismus zurückgeführt (100).

In einer Studie von Baecker et al. (5) wurde mit einem sCTX Immunoassay der Einfluss der Lokomotionslosigkeit auf den Knochenstoffwechsel mittels einer „Bed-Rest-Studie“ untersucht. In den Vergleichsgruppen kam es bei den ununterbrochen liegenden Probanden ab dem zweiten Tag der Intervention zu einer konstanten Erhöhung der Konzentration des sCTX, welche über die Interventionsdauer hinaus

andauerte. Die Serumkonzentration der Resorptionsmarker bei den fünf durchgehend untersuchten Probanden weisen hingegen zyklische Veränderungen auf. Wenn im Rahmen dieser Pilotstudie die verminderte Schwerkraftwirkung einen substantiellen Beitrag zur Erhöhung der Knochenresorption geleistet hätte, wäre eine konstante Erhöhung der Resorptionsparameter zu erwarten gewesen.

Die Unterwasserverweildauer der Probanden in der vorliegenden Studie liegt im Durchschnitt bei 390 Minuten (s. Tab. 6). Dies ergibt eine Wochenbelastung von 6,5 Stunden, welche offensichtlich nicht ausreicht, um substantiell zu einer Erhöhung der Osteoklastentätigkeit beizutragen.

Es ist daher eher denkbar, dass der Einfluss der Gasblasenbildung eine mögliche Ursache der von Pereira et al. beschriebenen signifikanten Knochendichteabnahme darstellt. Die durch Gasblasenbildung initiierte aseptische Knochennekrose tritt überwiegend in den gelenksnahen Bereichen der Röhrenknochen auf (16). Dies würde erklären, warum die Arbeitsgruppe um Pereira lediglich im Bereich des Oberschenkelhalses, nicht jedoch im Bereich des Os Sacrum, eine signifikante Reduktion der Knochendichte nachweisen konnte.

Weiterhin wird durch die oft schweren Tauchgerätschaften bei Berufstauchern eine enorme Arbeitsleistung erbracht, die sich auf das Skelettsystem überträgt und zu einer gesteigerten Formation beitragen müsste. Auch das Sporttauchen erfordert im Rahmen des Gehens mit einer 30-40kg schweren Ausrüstung oder unter Bedingungen wie z.B. starken Strömungen ein hohes Maß an körperlicher Anstrengung. Dies würde dem beim BAP im Serum gefundenen signifikanten Hinweis auf eine unmittelbare Zunahme der Formationsparameter nach dem R-TG entsprechen.

Bei der Analyse der Daten des sCTx beim ersten Vergleichspaar (d-2,18:00 vs. d5,14:30) fällt auf, dass vier Probanden (CiSo, SaTh, DiLü und AlFe) eine zwischen 121% und 163% liegende prozentuale Erhöhung der sCTx-Werte aufweisen und sich damit deutlich von den prozentualen Erhöhungen der restlichen Probanden unterscheiden (s. Tab 14, S.60). Bei der Betrachtung der durchschnittlich addierten Unterwasserexpositionsgrößen aller Probanden (MW A ges. = 247025 m\*sec), zeigt lediglich Proband DiLü (A ges. = 310984 m\*sec) eine überdurchschnittlich hohe

Unterwasserexpositionsgröße (s. S. 49). Auch zeigen die Tauchgangsgesamtflächen (A ges.) der entsprechenden Referenztauchgänge (R-TG) dieser Probanden mit Werten zw. 28622 und 30719 m\*sec im Vergleich restlichen Probanden keine überdurchschnittliche Belastung (s. S.109-111).

Laut Hagen et al. besteht bei ca. 30% der Bevölkerung ein persistierendes Foramen ovale (45). Bei einer Probandenanzahl von 15 entsprechen vier Probanden diesem statistischen Anteil. Diese anatomische Anomalie führt zu einem vergrößerten Shuntvolumen, welches durch eine konsekutive Luftembolie der arteriellen Endgefäße zu einer Unterversorgung des Knochengewebes führen kann. Somit würde ein persistierendes Foramen ovale die durch das Tauchen initiierte Schädigung des Knochengewebes deutlich verstärken und könnte diese Auffälligkeit erklären.

Bei den qualitativ schlechten sPYD Ergebnissen findet diese Beobachtung allerdings keine Bestätigung. Da aber die Amplituden der circadianen Schwankungen der CTx-Konzentration deutlich größer als bei NTx und den Pyridinolinen sind (4, 71), wird vermutet, dass das CTx auch Unterschiede im Resorptionsausmaß besser erfassen kann.

Um das Messergebnis der Knochenmarker in einer Urinprobe mit der renalen Clearance-Funktion in Relation setzen zu können, muss dieses mittels des in der gleichen Probe ermittelten Kreatininwertes korrigiert werden.

In diesen zusätzlichen Messungen liegt, selbst bei einem durch das Tauchen nicht beeinflussten Kreatininwert, eine weitere mögliche messbedingte Fehlerquelle. Dies könnte eine Erklärung für die widersprüchlichen Ergebnisse bei den verwendeten Resorptionsmarkern im Urin sein, obwohl die in der vorliegenden Studie verwendete Methode zur Kreatininbestimmung im hohen Masse valide und etabliert ist.

Um der Fragestellung des Einflusses der Kompression und Isopression während des Tauchens nachzugehen, wäre eine Versuchsanordnung mit Serumprobengewinnung in einer Druckkammer effizienter.

In diesem Zusammenhang wäre ein Vergleich der Auswirkungen unterschiedlicher Kompressionsanstiege (Abtauchgeschwindigkeiten) von Interesse. Dadurch ließe sich der eventuelle Einfluss einer möglichen stärker ausgeprägten venösen Stase bei

schnellen Abtauchgeschwindigkeiten auf den Knochenstoffwechsel darstellen. Neue Erkenntnisse in diesem Bereich könnten auch Auswirkungen auf die Arbeit unter hyperbaren Bedingungen haben.

Die Datenlage zu den biologischen Variationen der Messwerte ist insgesamt sehr unterschiedlich. Es zeigt sich allerdings im Rahmen dieser Studie, dass hinsichtlich ihrer CV gut untersuchte Knochenmarker, wie z.B. das sCTX, als Grundlage für die statistische Berechnung von auftretenden Veränderungen oder der Interpretation von Verlaufsmessungen gut geeignet sind. Ihrer CV entsprechend weniger gut oder gar nicht untersuchte Knochenmarker, wie zum Beispiel das PYD im Serum, bieten dagegen eine nur eingeschränkte Grundlage für Interpretationen oder statistische Berechnungen. Deshalb wäre es wünschenswert, wenn in diesem Bereich die Forschungsarbeit intensiviert werden würde, um wissenschaftlichen Fragestellungen zu dieser Thematik eine adäquate Arbeitsgrundlage zu bieten.

Des Weiteren könnte man das individuelle circadiane Verhalten der verwendeten Knochenmarker bei den einzelnen Probanden im Vorfeld mehrfach bestimmen. Somit lässt sich eine individuelle CV und DTDV ermitteln, die eine qualitativ hochwertige Auswertung der Daten in Relation zur individuellen circadianen Rhythmik ermöglicht. Dies ist aus statistischer Sicht eine legitime und probate Methode.

Darüber hinaus wird bei Untersuchungen mit ähnlicher Fragestellung empfohlen, den Konzentrationsverlauf des Markers nach dem zu untersuchenden TG 16- bis 20-mal in Abständen von 20 Minuten zu untersuchen. Damit wäre es vermutlich gewährleistet, den Umkehrpunkt des Konzentrationsverlaufes der Resorptionsparameter im Serum zu erfassen oder aber zumindest deren progredienten Verlauf detaillierter zu dokumentieren.

Durch diesen erstmals mittels biochemischer Marker nachgewiesenen Einfluss von NZTG auf den Knochenstoffwechsel ergeben sich interessante Möglichkeiten, diese Vorgänge unter den verschiedensten Aspekten zu untersuchen. Wie in obiger Diskussion dargelegt, wird für eine genauere Analyse der Vorgänge und einer sich anschließenden, auf individuellen Daten für CV und DTDV beruhenden, statistischen

Berechnung eine umfangreiche Anzahl an Messungen notwendig. Daher ist es von Bedeutung, auf Marker und/oder Messtechniken zurückzugreifen, die eine ausreichende Anzahl an Messungen in einem ökonomisch verträglichen Rahmen zulassen.

## **8 Schlussfolgerung**

Aufgrund der gewonnenen Daten ist auch bei moderatem Nullzeitsporttauchen unter Einhaltung aller gängigen Tauchempfehlungen und bewusst langsamen Aufstiegsgeschwindigkeiten mit einem gesteigerten Knochenabbau und einer Reduktion des Knochenaufbaus zu rechnen.

Mögliche Ursachen dieser Veränderungen sind auf physikalischen und physiologischen Gesetzmäßigkeiten beruhende Anpassungsreaktionen des Körpers an die sich während der Ab- und Auftauchphase ändernden Umgebungsdrücke.

Um das natürliche osteogene Potential zu fördern und damit einem durch das Tauchen ausgelösten Knochenmasseverlust entgegen zu wirken, wird für Tauchsportler und Berufsgruppen, die einem erhöhtem Umgebungsdruck ausgesetzt sind, ein regelmäßiges Krafttraining empfohlen.

Auch erscheint der Trend, Kinder und heranwachsende Jugendliche mit dem Sporttauchen in Kontakt zu bringen, fragwürdig, da ein Einfluss auf die Knochenwachstumsfugen nicht auszuschließen ist.

Zur weitergehenden Klärung dieser Fragen ist die Durchführung weiterer Forschungsarbeit unumgänglich.

## 9 Zusammenfassung

Bei Berufstauchern und anderen in Überdruckatmosphäre arbeitenden Berufsgruppen ist die aseptische Knochennekrose eine anerkannte Berufskrankheit. Dieses Krankheitsbild beruht nach der allgemeinen Vorstellung auf einer dekompressionsbedingten Embolie und wird in diesem Zusammenhang als dysbarische Osteonekrose bezeichnet. Es finden sich inzwischen Untersuchungen, die belegen, dass es auch innerhalb der Gruppe der Sporttaucher zum Auftreten von aseptischen Knochennekrosen kommt.

Untersucht wurde in dieser Pilotstudie, ob moderates Gerätesporttauchen im Nullzeitbereich einen Einfluss auf den Knochenstoffwechsel hat. Dazu wurde bei 15 Probanden der Knochenstoffwechsel vor, nach und während fünf aufeinander folgenden Tagen, mit durchschnittlich 8,7 Sporttauchgängen, mittels biochemischer Knochenmarker analysiert. Ziel war es, die eventuell durch einen Tauchgang oder innerhalb dieser Testperiode kumulativ auftretenden Veränderungen der Knochenstoffwechsellage zu erfassen und Rückschlüsse auf mögliche Ursachen dieser Veränderungen zu ziehen.

Bei sechs Frauen (Alter  $22 \pm 10,07$ , Körpergewicht  $60,05 \pm 8,07$  kg, BMI  $21,19 \pm 1,97$ ) und neun Männern (Alter  $29,1 \pm 10,51$ , Körpergewicht  $76,98 \pm 6,82$  kg, BMI  $22,6 \pm 2,15$ ) wurde zwei Tage vor Studienbeginn eine Serumprobe und am Morgen vor dem ersten geplanten Tauchgang eine Morgenurinprobe gewonnen. Diese Ausgangsmessdaten gelten als durch das Tauchen noch nicht beeinflusst und wurden mit den Serum- und Urinproben verglichen, welche nach dem letzten Tauchgang asserviert wurden (Abschlussproben). Mit dieser Konstellation wurde der kumulierte Einfluss aller Tauchgänge auf den Knochenstoffwechsel untersucht. Um die Auswirkung eines Tauchganges auf den Knochenstoffwechsel zu untersuchen, wurden Urin- und Serumproben, die eine Stunde vor dem letzten Tauchgang gewonnen wurden, mit den Abschlussproben verglichen.



In den Serumproben wurden die Knochenformationsmarker CACP und BAP und die Knochenresorptionsmarker CTx und PYD bestimmt. In den Urinproben wurden die Knochenresorptionsmarker CTx und PYD/DPD analysiert.

Mit der Messung der Resorptionsmarker in den Urinproben vor und nach dem letzten Tauchgang sollte der Einfluss der Kompressions- und Isopressionsphase während des Tauchganges auf den Knochenstoffwechsel überprüft werden.

Bei Betrachtung der Formationsmarker im Serum zeigt sich beim CACP am Morgen vor dem letzten Tauchgang eine signifikante Erniedrigung des circadianen Niveaus um 29% (p-Wert = 0,04). Die Ergebnisse des BAP stützen diese Datenlage.

Beim Vergleich der Messergebnisse aus den Serumproben, welche vor und zwei Stunden nach dem letzten Tauchgang erhoben wurden, weist das BAP einen signifikanten Anstieg (p-Wert = 0,03) der Knochenformation um 3,86% auf (von  $23,4 \pm 9,0$  auf  $24,2 \pm 9,5$  U/L). Dieser Anstieg wird durch die Datenlage beim CACP nicht bestätigt.

Trotz der geringen Fallzahl und einer nur zum Teil signifikanten Datenlage ergibt sich ein berechtigter Hinweis auf eine Verminderung der Knochenformation nach am Vortag absolvierten Sporttauchgängen im Nullzeitbereich.

Die Analyse des Knochenresorptionsmarkers CTx im Serum zeigt ein um 100% erhöhtes circadianes Niveau im Anschluss an einen Tauchgang (p-Wert = 0,0001) sowie eine signifikante Zunahme der Knochenresorption (p-Wert = 0,00006) im Gesamtverlauf (von  $0,336 \pm 142$  auf  $0,550 \pm 231$  ng/ml).

Beim PYD im Serum konnten trotz einiger qualitativ fragwürdiger Messungen und einem zu diskutierenden circadianen Verlauf die Ergebnisse des Serum-CTx signifikant bestätigt werden (p-Werte = 0,01 und 0,001).

Die Ergebnisse lassen darüber hinaus keinen eindeutigen Einfluss unterschiedlich starker Tauchbelastungen auf den Knochenstoffwechsel erkennen.

Bei der Auswertung der Resorptionsmarker CTx und PYD/DPD im Urin kommt es nur beim CTx nach Abschluss aller Tauchgänge zu einem signifikanten Anstieg der Messwerte (von  $328 \pm 159$  auf  $378 \pm 156$   $\mu\text{g}/\text{mmol}$ ; p-Wert = 0,001), wohingegen die PYD/DPD-Werte beim identischen Vergleichspaar dem circadianen Niveau entsprechen und im Verlauf um nur 0,34% absinken

(von  $29,8 \pm 8,8$  auf  $29,7 \pm 7,1$  nmol/mmol). Hierbei ist eine höhere Präzision der PYD/DPD-Messwerte zu diskutieren.

Bei keinen der beiden Urinmarkern lässt sich bei einem dem circadianen Niveau entsprechenden Absinken der Messwerte ein Einfluss der Kompressions- und Isopressionsphase auf den Knochenstoffwechsel erkennen.

Von den diskutierten möglichen Ursachen, die zu einer Veränderung der Knochenstoffwechsellage führen könnten, werden die bei jedem Tauchgang auftretende Gasblasenbildung während der Dekompressionsphase und die durch den erhöhten Umgebungsdruck unter Wasser initiierte Blutstase in den Knochensinoiden als die wahrscheinlichsten erachtet. Die vier Probanden mit einer im Vergleich mit den übrigen Studienteilnehmern deutlich höheren Knochenresorptionslage würden dem statistischen Anteil der Bevölkerung entsprechen, der ein persistierendes Foramen ovale aufweist. Ein auf dieser anatomischen Variation beruhender Shuntmechanismus könnte die stärker ausgeprägten Veränderungen erklären.

Der Einfluss einer verminderten Schwerkraftwirkung unter Wasser, als eine weitere mögliche Ursache von Knochenmasseverlust erscheint aufgrund der gemessenen starken Schwankungen der Knochenresorptionsmesswerte unwahrscheinlich, da hierbei eine konstantere Erhöhung zu erwarten wäre.

Aufgrund der kleinen Fallzahl sind noch weitere Untersuchungen nötig, um alle Fragestellungen abschließend und umfassend beantworten zu können.

## 10 Anhang

HeAl	max. Tiefe in m	Ø Tiefe in m	TZ in min	A ges.(m²sec)
TG 1	36,3	k.D.	58' 00"	50000
TG 2	39,5	k.D.	59' 00"	50000
TG 3	41,1	15,0	62' 20"	56529
TG 4	37,8	13,5	63' 00"	51467
TG 5	43,0	12,5	79' 40"	59419
TG 6	41,1	14,0	48' 00"	40696
TG 7	49,1	17,7	57' 40"	61455
TG 8	38,1	12,7	60' 40"	46429
R-TG 9	30,5	11,4	73' 00"	50398
Σ	<b>356,5</b>	<b>96,9</b>	<b>561' 20"</b>	<b>466394</b>

NaKa	max. Tiefe in m	Ø Tiefe in m	TZ in min	A ges.(m²sec)
TG 1	17,0	7,6	27' 40"	12736
TG 2	12,6	6,2	38' 40"	14566
TG 3	20,1	9,5	51' 40"	29658
TG 4	20,8	11,6	59' 20"	41628
TG 5	19,1	10,9	45' 20"	29918
TG 6	31,0	10,9	47' 60"	31672
TG 7	19,1	8,2	57' 20"	28408
R-TG 8	14,1	7,7	60' 40"	28100
Σ	<b>153,8</b>	<b>72,7</b>	<b>388' 40"</b>	<b>216686</b>

LiMo	max. Tiefe in m	Ø Tiefe in m	TZ in min	A ges.(m²sec)
TG 1	13,3	6,0	18' 40"	6784
TG 2	14,9	7,2	30' 40"	13356
TG 3	15,3	9,5	38' 20"	21976
TG 4	15,5	8,5	45' 00"	23244
TG 5	20,8	10,8	47' 00"	30550
TG 6	22,8	11,0	48' 40"	32308
TG 7	25,1	9,4	39' 00"	22100
R-TG 8	19,0	10,8	47' 40"	31148
Σ	<b>146,7</b>	<b>73,1</b>	<b>315' 00"</b>	<b>181466</b>

RoLü	max. Tiefe in m	Ø Tiefe in m	TZ in min	A ges.(m²sec)
TG 1	12,8	5,6	71' 00"	23941
TG 2	13,3	6,6	36' 20"	14509
TG 3	10,9	5,2	20' 40"	7778
TG 4	15,6	9,3	39' 40"	22353
TG 5	14,2	8,3	46' 20"	23151
TG 6	16,6	9,6	50' 20"	29188
TG 7	20,2	9,2	51' 20"	28592
TG 8	18,6	6,3	39' 00"	14837
TG 9	17,3	9,8	55' 00"	32594
TG 10	19,2	8,4	55' 20"	27994
R-TG 11	15,0	7,3	61' 40"	26953
Σ	<b>173,7</b>	<b>85,5</b>	<b>526' 40"</b>	<b>251890</b>

NiEi	max. Tiefe in m	Ø Tiefe in m	TZ in min	A ges.(m²sec)
TG 1	10,0	5,4	20' 40"	6796
TG 2	17,5	8,0	32' 40"	15884
TG 3	19,4	9,5	51' 40"	29554
TG 4	20,7	11,6	59' 20"	41442
TG 5	17,7	10,6	48' 20"	30852
TG 6	21,3	9,9	50' 20"	30080
TG 7	24,2	10,6	43' 00"	27588
R-TG 8	28,1	10,8	50' 00"	32542
Σ	<b>158,9</b>	<b>76,3</b>	<b>356' 00"</b>	<b>214738</b>

CiSo	max. Tiefe in m	Ø Tiefe in m	TZ in min	A ges.(m²sec)
TG 1	16,9	7,9	26' 40"	12778
TG 2	13,4	6,3	38' 40"	14812
TG 3	20,5	9,8	52' 00"	30652
TG 4	20,6	11,9	59' 00"	42940
TG 5	18,3	11,0	45' 00"	30114
TG 6	30,1	11,2	48' 20"	32586
TG 7	17,9	7,2	33' 40"	14586
R-TG 8	19,5	8,7	54' 40"	28622
Σ	<b>157,2</b>	<b>73,8</b>	<b>358' 00"</b>	<b>207090</b>

Tabelle 28: Gesamtübersicht über die mittels Tauchcomputer erhaltenen Daten und den errechneten Unterwasserexpositionsgrößen aller Tauchgänge. Der farblich unterlegte Tauchgang entspricht dem am fünften Tag um 11:00 Uhr absolvierten Referenztauchgang. (max. = maximale, Ø = durchschnittliche, k. D. = keine Daten, TZ = Tauchzeit, A ges. = Fläche über der Kurve als Maß der Unterwasserexpositionsgröße)

OIBo	max. Tiefe in m	Ø Tiefe in m	TZ in min	A ges.(m*sec)
TG 1	17,0	7,6	27' 40"	12736
TG 2	16,0	7,1	33' 20"	14350
TG 3	15,3	9,5	38' 20"	21976
TG 4	20,4	10,4	46' 40"	29382
TG 5	22,8	10,7	50' 00"	32344
TG 6	25,1	9,4	39' 00"	22100
TG 7	28,1	10,8	50' 00"	32542
R-TG 8	14,1	7,7	60' 40"	28100
Σ	<b>158,8</b>	<b>73,1</b>	<b>345' 40"</b>	<b>193530</b>

WiGf	max. Tiefe in m	Ø Tiefe in m	TZ in min	A ges.(m*sec)
TG 1	36,3	k.D.	58' 00"	50000
TG 2	39,5	k.D.	59' 00"	50000
TG 3	41,1	15,0	62' 20"	56529
TG 4	37,8	13,5	63' 00"	51467
TG 5	43,0	12,5	79' 40"	59419
TG 6	41,1	14,0	48' 00"	40696
TG 7	49,1	16,8	59' 20"	60183
TG 8	37,5	12,3	61' 00"	45096
R-TG 9	30,5	11,5	73' 00"	50380
Σ	<b>355,8</b>	<b>95,6</b>	<b>563' 20"</b>	<b>463771</b>

SaTh	max. Tiefe in m	Ø Tiefe in m	TZ in min	A ges.(m*sec)
TG 1	17,7	7,8	25' 20"	11990
TG 2	17,5	7,7	33' 20"	15604
TG 3	20,4	10,4	46' 40"	29382
TG 4	16,4	9,3	53' 00"	29808
TG 5	20,0	10,9	48' 20"	31782
TG 6	21,3	9,6	50' 20"	29200
TG 7	24,2	10,5	43' 00"	27376
R-TG 8	20,3	9,8	55' 00"	29180
Σ	<b>157,8</b>	<b>76,1</b>	<b>355' 00"</b>	<b>204322</b>

ChRö	max. Tiefe in m	Ø Tiefe in m	TZ in min	A ges.(m*sec)
TG 1	17,0	7,6	27' 40"	12736
TG 2	12,6	6,2	38' 20"	14566
TG 3	20,5	9,8	52' 00"	30652
TG 4	20,6	11,9	60' 00"	42940
TG 5	20,4	10,5	48' 20"	30620
TG 6	26,3	11,6	50' 00"	35088
TG 7	24,8	10,3	43' 00"	26682
TG 8	24,2	10,5	43' 00"	27376
R-TG 9	14,1	7,7	60' 40"	28100
Σ	<b>180,5</b>	<b>86,0</b>	<b>423' 00"</b>	<b>248760</b>

PaWy	max. Tiefe in m	Ø Tiefe in m	TZ in min	A ges.(m*sec)
TG 1	10,0	5,4	22' 40"	6796
TG 2	16,0	7,1	33' 20"	14350
TG 3	20,4	10,4	46' 40"	29382
TG 4	15,1	8,9	52' 20"	28126
TG 5	20,4	10,5	48' 20"	30620
TG 6	26,3	11,6	50' 00"	35088
TG 7	17,9	7,2	33' 40"	14586
R-TG 8	19,5	8,7	54' 20"	28622
Σ	<b>145,6</b>	<b>69,7</b>	<b>339' 20"</b>	<b>187570</b>

MaDe	max. Tiefe in m	Ø Tiefe in m	TZ in min	A ges.(m*sec)
TG 1	13,7	6,6	21' 20"	8540
TG 2	16,0	7,1	33' 20"	14350
TG 3	19,7	10,3	46' 00"	28716
TG 4	15,1	8,9	52' 20"	28126
TG 5	20,4	10,5	48' 20"	30620
TG 6	26,3	11,6	50' 00"	35088
TG 7	24,8	10,3	43' 00"	26682
R-TG 8	18,7	8,7	54' 40"	28660
Σ	<b>154,7</b>	<b>73,9</b>	<b>349' 00"</b>	<b>200782</b>

Tabelle 29: Gesamtübersicht über die mittels Tauchcomputer erhaltenen Daten und den errechneten Unterwasserexpositionsgrößen aller Tauchgänge. Der farblich unterlegte Tauchgang entspricht dem am fünften Tag um 11:00 Uhr absolvierten Referenztauchgang. (max. = maximale, Ø = durchschnittliche, k. D. = keine Daten, TZ = Tauchzeit, A ges. = Fläche über der Kurve als Maß der Unterwasserexpositionsgröße)

DiLü	max. Tiefe in m	Ø Tiefe in m	TZ in min	A ges.(m*sec)
TG 1	17,2	5,7	74' 20"	25503
TG 2	16,9	8,0	29' 40"	14409
TG 3	13,9	7,1	32' 20"	13844
TG 4	16,6	7,4	34' 40"	15541
TG 5	17,2	9,9	48' 20"	28750
TG 6	15,6	8,9	54' 20"	29273
TG 7	17,8	10,6	46' 40"	29966
TG 8	29,7	10,7	49' 20"	31775
TG 9	25,2	9,3	40' 20"	22576
TG10	17,0	10,3	56' 20"	35044
TG 11	18,3	9,0	61' 40"	33570
R-TG 12	17,0	8,3	61' 40"	30734
Σ	<b>222,4</b>	<b>105,1</b>	<b>589' 40"</b>	<b>310985</b>

YvBr	max. Tiefe in m	Ø Tiefe in m	TZ in min	A ges.(m*sec)
TG 1	13,7	6,6	21' 20"	8540
TG 2	16,0	7,1	33' 20"	14350
TG 3	15,3	9,5	38' 20"	21976
TG 4	15,5	8,6	45' 00"	23244
TG 5	19,1	10,9	45' 20"	29918
TG 6	31,0	10,9	48' 00"	31672
R-TG 7	18,7	8,7	54' 40"	28660
Σ	<b>135,7</b>	<b>62,9</b>	<b>270' 20"</b>	<b>158360</b>

AlFe	max. Tiefe in m	Ø Tiefe in m	TZ in min	A ges.(m*sec)
TG 1	17,0	7,6	27' 40"	12736
TG 2	12,6	6,2	38' 40"	14566
TG 3	19,7	10,3	46' 20"	28716
TG 4	15,1	8,9	52' 20"	28126
TG 5	15,9	10,1	49' 00"	30035
TG 6	20,6	9,2	51' 20"	28560
TG 7	23,0	10,1	41' 40"	25570
R-TG 8	24,8	10,0	50' 40"	30719
Σ	<b>148,8</b>	<b>72,2</b>	<b>357' 40"</b>	<b>199027</b>

Tabelle 30: Gesamtübersicht über die mittels Tauchcomputer erhaltenen Daten und den errechneten Unterwassere xpositionsgrößen aller Tauchgänge. Der farblich unterlegte Tauchgang entspricht dem am fünften Tag um 11:00 Uhr absolvierten Referenztauchgang. (max. = maximale, Ø = durchschnittliche, TZ = Tauchzeit, A ges. = Fläche über der Kurve als Maß der Unterwassere xpositionsgröße)

VK>15%		uCTX	VK	uCTX	VK	uCTX	VK	uCTX	VK
<b>Tag:</b>		Tag 1		Tag 5		Tag 5		Tag 6	
<b>Zeit:</b>		7:30		9:55		12:30		8:00	
<b>Einheit:</b>		µg/l		µg/l		µg/l		µg/l	
HeAl	w	4240	0,59%	348	14,12%	399	14,08%	4375	4,47%
NaKa	w	3158	1,84%	525	6,10%	540	<b>29,17%</b>	4089	<b>20,14%</b>
LiMo	w	2675	<b>15,46%</b>	2203	10,31%	4797	7,15%	4721	5,25%
RoLü	w	3230	1,06%	305	1,24%	587	12,19%	2107	3,10%
NiEi	w	6427						7990	
CiSo	w	3934						5097	
<b>MW</b>	<b>w</b>	<b>3944</b>		<b>845</b>		<b>1581</b>		<b>4730</b>	
S.A.	w	1341		910		2146		1907	
OlBo	m	15468	4,03%	9571	8,92%	1719	6,08%	11416	5,33%
WiGf	m	3192	<b>18,09%</b>	2445	<b>60,77%</b>	347	<b>63,16%</b>	3871	14,66%
SaTh	m	7414	14,64%	3444	3,24%	2423	9,28%	6834	4,15%
ChRö	m	3540	4,91%					3213	2,64%
PaWy	m	11419	6,39%					11025	0,52%
ThDe	m	7009	6,13%					6328	6,13%
DiLü	m	1710	14,01%					1480	4,20%
YvBr	m	1932						5281	
AlFe	m	5032						8023	
<b>MW</b>	<b>m</b>	<b>6302</b>		<b>5153</b>		<b>1496</b>		<b>6386</b>	
S.A.	m	3780		3268		1636		2921	
<b>MW</b>	<b>ges.</b>	<b>5359</b>		<b>2692</b>		<b>1545</b>		<b>5723</b>	
S.A.	ges.	3780		3268		1636		2921	

Tabelle 31: Übersicht über die gemessenen, noch nicht Kreatinin korrigierten CTx-Urinwerte mit zugehörigen VK.  
(VK = Variabilitätskoeffizient, w = weiblich, m = männlich, MW = Mittelwert, S.A. = Standardabweichung)

VK>15%		uPYD/DPD	VK	uPYD/DPD	VK	uPYD/DPD	VK	uPYD/DPD	VK
<b>Tag</b>		1		5		5		6	
<b>Zeit</b>		7:30		9:55		12:30		8:00	
<b>Einheit:</b>		nmol/l		nmol/l		nmol/l		nmol/l	
<b>HeAl</b>	w	461	6,73%	43	<b>33,78%</b>	59	3,94%	433	9,21%
<b>NaKa</b>	w	430	5,57%	102	<b>24,83%</b>	128	5,44%	562	6,44%
<b>LiMo</b>	w	213	10,31%	238	3,32%	421	2,45%	289	12,50%
<b>RoLü</b>	w	453	0,64%	73	12,05%	82	1,21%	219	1,01%
NiEi	w	1199						921	
CiSo	w	451						450	
<b>MW</b>	<b>w</b>	<b>535</b>		<b>114</b>		<b>173</b>		<b>479</b>	
S.A.	w	339,1		86,1		168,1		248,6	
<b>OlBo</b>	m	871	2,42%	655	11,42%	138	2,05%	719	0,84%
<b>WiGf</b>	m	342	1,69%	131	6,97%	32	<b>36,23%</b>	330	9,15%
<b>SaTh</b>	m	427	2,78%	355	7,41%	133	6,69%	333	3,06%
ChRö	m	479	5,56%					409	1,51%
PaWy	m	752	<b>27,80%</b>					603	8,21%
ThDe	m	425	2,46%					401	3,89%
DiLü	m	341	1,12%					206	0,50%
YvBr	m	212						469	
AlFe	m	262						435	
<b>MW</b>	<b>m</b>	<b>457</b>		<b>380</b>		<b>101</b>		<b>434</b>	
S.A.	m	219,5		262,9		59,8		152,4	
<b>MW</b>	<b>ges.</b>	<b>488</b>		<b>228</b>		<b>142</b>		<b>452</b>	
S.A.	ges.	264,9		216,8		129,6		189,4	

Tabelle 32: Übersicht über die gemessenen, noch nicht Kreatinin korrigierten DPD/PYD-Urinwerte mit zugehörigen VK. (VK = Variabilitätskoeffizient, w = weiblich, m = männlich, MW = Mittelwert, S.A. = Standardabweichung)

Proband		MUP Tag 1, 07.30	UP Tag 5; 09.55	UP Tag 5; 12.30	MUP Tag 6, 08.00
		Kreatinin in mmol/l	Kreatinin in mmol/l	Kreatinin in mmol/l	Kreatinin in mmol/l
HeAl	w	14,62	1,06	1,98	15,37
NaKa	w	14,69	1,91	3,24	12,81
LiMo	w	6,90	7,69	16,77	9,10
RoLü	w	17,31	2,43	4,03	10,43
NiEi	w	22,30			23,43
CiSo	w	12,44			13,22
OiBo	m	28,90	21,64	5,33	21,09
WiGf	m	16,54	7,06	0,99	17,18
SaTh	m	13,32	10,44	5,42	10,55
ChRö	m	21,26			15,91
PaWy	m	18,12			18,05
ThDe	m	17,18			14,85
DiLü	m	13,43			10,63
YvBr	m	10,71			14,70
AlFe	m	11,25			17,02

Tabelle 33: Übersicht über die in den Urinproben gemessenen Kreatininwerte. (MUP = Morgenurinprobe, UP = Urinprobe, w = weiblich, m = männlich)





Unfall- und Wiederherstellungschirurgie · Sauerbruchstraße,  
17487 Greifswald

Sekretariat:

Tel.: 03834/86 60 12  
Fax: 03834/86 60 13  
[traumato@mail.uni-greifswald.de](mailto:traumato@mail.uni-greifswald.de)  
[www.unfallchirurgie-](http://www.unfallchirurgie-greifswald.de)

greifswald.de

Notaufnahme:

Tel.: 03834/86 22428  
Fax: 03834/86 22215

Unfallsprechstunde:

Tel.: 03834/86 22402

Sporttraumatol. Sprechstunde: Tel.: 03834/86 22402

D-Arzt-Sprechstunde: Tel.: 03834/86 22403

## **Information für die Studienteilnehmer der Studie**

### **„Untersuchungen zum Flüssigkeitshaushalt, Knochenstoffwechsel und oxydativen Stress und beim Sporttauchen“**

Sporttauchen erfreut sich zunehmender Beliebtheit. Mögliche Risiken, die diese Freizeitbeschäftigung in sich birgt, sind bislang nur unzureichend untersucht worden. Deshalb sollen in dieser Studie den folgenden Fragestellungen nachgegangen werden.

- 1) Während des Tauchens verliert der Körper z.T. erhebliche Mengen an Wasser und Salzen, teils unsichtbar über die Atemluft oder über die Ausscheidung der Nieren in die Blase, teils sichtbar über den Schweiß. Mögliche Verluste können so groß sein, dass die körperliche und seelische Leistungsfähigkeit noch während des Tauchgangs beeinträchtigt werden kann. Derzeit gibt es keine Untersuchungen, die zeigen, wie hoch die Flüssigkeitsverluste zu veranschlagen sind. Das soll mit der geplanten Studie nachgeholt werden.
- 2) Es gibt bei Berufstauchern Hinweise, dass Tauchen zu einem Knochensubstanzabbau führt. Der Frage, ob das Sporttauchen ebenfalls zu einem Knochensubstanzverlust führt, soll in dieser Studie nachgegangen werden.
- 3) In letzter Zeit wird das Tauchen mit Sauerstoff angereicherten Atemgasgemischen propagiert. Untersuchungen über die Auswirkungen des erhöhten Sauerstoffdruckes beim Sporttauchen sind nicht bekannt. In dieser Untersuchung soll der zellschädigenden Wirkung des erhöhten Sauerstoffdruckes nachgegangen werden.

Zur Messung des Wasserhaushaltes und -umsatzes trinken die Versuchspersonen eine kleine Menge von D<sub>2</sub>O (schweres Wasser). Die Konzentration von D<sub>2</sub>O wird anschließend im

Blutserum, Speichel oder Urin gemessen. Aus den Werten kann der Wassergehalt des Körpers und der Körperwasserumsatz seit dem Probetrunk berechnet werden. Die Proben werden nach einem festgelegten Studienprotokoll entnommen.

D<sub>2</sub>O ist eine natürliche Sonderform an Wasser, die in Trinkwasser und in den Körperflüssigkeiten zu 0,015 % vorkommt. Es ist nicht radioaktiv und in kleinen Mengen ungiftig. Durch unseren Versuch wird die Konzentration von D<sub>2</sub>O in den Körperflüssigkeiten der Probanden auf etwa 0,05 % angehoben. Sie sinkt anschließend wieder so ab, dass sie sich in jeweils 10 Tagen etwa halbiert. D.h. 10 Tage nach dem Versuch beträgt die Konzentration noch 0,025 %, weitere 10 Tage später ist sie wieder auf die normale Konzentration abgesunken. Die Unschädlichkeit von D<sub>2</sub>O ist in den letzten 40 Jahren sehr genau untersucht worden. Bei den Mengen, die wir verabreichen, ist garantiert, dass kein Schaden auftreten kann. Schäden sind frühestens zu befürchten, wenn die Konzentration von D<sub>2</sub>O in den Körperflüssigkeiten 10 % erreicht, das liegt um den Faktor 200 höher als in dem vorgesehenen Versuch.

Die Beurteilung des Knochenstoffwechsels wird durch die Analyse von Knochen- und Stoffwechsellmarkern aus Serum und Urin erfolgen. Es werden die Proben des o.g. Studienprotokolls benutzt.

Aus dem Urin und Blutserum werden zusätzlich Abbauprodukte des oxydativen Stresses der Zelle bestimmt werden. Auch hierfür sind keine zusätzlichen Proben notwendig.

Die geplanten Blutentnahmen werden unter medizinisch üblichen Bedingungen durchgeführt werden.

Die erhobenen persönlichen Daten werden in verschlüsselter (pseudonymisierter) Form gespeichert werden. Dabei werden die Grundsätze des Datenschutzes beachtet werden, d.h. die personenbezogenen Daten vertraulich behandelt und nur zur Überprüfung der Wissenschaftlichkeit der Studie herangezogen.

Dr. med. Wilfried Gfrörer  
Studienleiter

## Probandeneinwilligung

### ” Einfluss des Tauchens auf die Körperzusammensetzung

Ich, \_\_\_\_\_, wurde von dem Studienleiter vollständig über Wesen, Bedeutung und Tragweite der Studie mit dem o. g. Titel aufgeklärt. Ich habe den Aufklärungstext gelesen und verstanden. Ich hatte die Möglichkeit, Fragen zu stellen, und habe die Antworten verstanden und akzeptiere sie. Der Studienleiter hat mich über die mit der Teilnahme an der Studie verbundenen Risiken und den möglichen Nutzen informiert.

Ich hatte ausreichend Zeit, mich zur Teilnahme an dieser Studie zu entscheiden und weiß, dass die Teilnahme daran freiwillig ist. Ich weiß, dass ich jederzeit und ohne Angabe von Gründen diese Zustimmung widerrufen kann, ohne dass sich dieser Entschluss nachteilig auswirken wird.

### **Datenschutzrechtliche Patienteneinwilligung (§ 40 Abs.1, Satz 2 und Abs. 2, AMG)**

Mir ist bekannt, dass meine persönlichen Daten in verschlüsselter (pseudonymisierter) Form gespeichert werden. Mir wurde versichert, dass dabei die Grundsätze des Datenschutzes beachtet werden, d.h. meine personenbezogenen Daten vertraulich behandelt werden.

Ich weiß, dass ich ohne Nachteil jederzeit diese Zustimmung widerrufen kann. Meine bis dahin erhobenen Daten werden dann, soweit noch zuordenbar, vernichtet.

Schließlich erkläre ich auch mein Einverständnis für die wissenschaftliche Veröffentlichung der Forschungsergebnisse unter Beachtung der datenschutzrechtlichen Bestimmungen.

Ich habe eine Kopie der Probandeninformation und dieser Einwilligungserklärung erhalten. Ich erkläre hiermit meine freiwillige Teilnahme an dieser Studie.

\_\_\_\_\_  
Ort und Datum

\_\_\_\_\_  
Unterschrift des Patienten

\_\_\_\_\_  
Ort und Datum

\_\_\_\_\_  
Unterschrift des Aufklärenden

## 11 Literaturübersicht

1. Aseptic bone necrosis in commercial divers. A report from the Decompression Sickness Central Registry and Radiological Panel. *Lancet* 2: 384-388, 1981.
2. Abbiati, G., Bartucci, F., Longoni, A., Fincato, G., Galimberti, S., Rigoldi, M. and Castiglioni, C. Monitoring of free and total urinary pyridinoline and deoxypyridinoline in healthy volunteers: sample relationships between 24-h and fasting early morning urine concentrations. *Bone Miner* 21: 9-19, 1993.
3. Amako, T., Kawashima, M., Torisu, T. and Hayashi, K. Bone and joint lesions in decompression sickness. *Semin Arthritis Rheum* 4: 151-190, 1974.
4. Aoshima, H., Kushida, K., Takahashi, M., Ohishi, T., Hoshino, H., Suzuki, M. and Inoue, T. Circadian variation of urinary type I collagen crosslinked C-telopeptide and free and peptide-bound forms of pyridinium crosslinks. *Bone* 22: 73-78, 1998.
5. Baecker, N., Tomic, A., Mika, C., Gotzmann, A., Platen, P., Gerzer, R. and Heer, M. Bone resorption is induced on the second day of bed rest: results of a controlled crossover trial. *J Appl Physiol* 95: 977-982, 2003.
6. Beardsworth, L.J., Eyre, D.R. and Dickson, I.R. Changes with age in the urinary excretion of lysyl- and hydroxylysylpyridinoline, two new markers of bone collagen turnover. *J Bone Miner Res* 5: 671-676, 1990.
7. Bianco, P., Fisher, L.W., Young, M.F., Termine, J.D. and Robey, P.G. Expression of bone sialoprotein (BSP) in developing human tissues. *Calcif Tissue Int* 49: 421-426, 1991.
8. Bikle, D.D. Biochemical markers in the assessment of bone disease. *Am J Med* 103: 427-436, 1997.
9. Bjarnason, N.H. and Christiansen, C. Early response in biochemical markers predicts long-term response in bone mass during hormone replacement therapy in early postmenopausal women. *Bone* 26: 561-569, 2000.
10. Blumsohn, A., Herrington, K., Hannon, R.A., Shao, P., Eyre, D.R. and Eastell, R. The effect of calcium supplementation on the circadian rhythm of bone resorption. *J Clin Endocrinol Metab* 79: 730-735, 1994.
11. Bolte, H., Koch, A., Tetzlaff, K., Bettinghausen, E., Heller, M. and Reuter, M. Detection of dysbaric osteonecrosis in military divers using magnetic resonance imaging. *Eur Radiol* 15: 368-375, 2005.
12. Bonde, M., Qvist, P., Fledelius, C., Riis, B.J. and Christiansen, C. Immunoassay for quantifying type I collagen degradation products in urine evaluated. *Clin Chem* 40: 2022-2025, 1994.
13. Brandt, M.T. Oral and maxillofacial aspects of diving medicine. *Mil Med* 169: 137-141, 2004.
14. Bühlmann, A.A., Völlm, E.B., Nussberger, P., Zwischenfälle beim Tauchen; Inertgasaufnahme und -abgabe des menschlichen Körpers; Das adaptive Rechenmodell ZH-L8 ADT; Dekompressionscomputer. *Tauchmedizin*. Heidelberg: Springer Verlag: 49-54; 86-109; 182-188; 208-217, 2002.
15. Butler, B.D. and Hills, B.A. The lung as a filter for microbubbles. *J Appl Physiol* 47: 537-543, 1979.
16. Carson, W.K. and Mecklenburg, B. The role of radiology in dive-related disorders. *Mil Med* 170: 57-62, 2005.

17. Carturan, D., Boussuges, A., Burnet, H., Fondarai, J., Vanuxem, P. and Gardette, B. Circulating venous bubbles in recreational diving: relationships with age, weight, maximal oxygen uptake and body fat percentage. *Int J Sports Med* 20: 410-414, 1999.
18. Carturan, D., Boussuges, A., Molenat, F., Burnet, H., Fondarai, J. and Gardette, B. Ascent rate and circulating venous bubbles in recreational diving. *Int J Sports Med* 21: 459-462, 2000.
19. Carturan, D., Boussuges, A., Vanuxem, P., Bar-Hen, A., Burnet, H. and Gardette, B. Ascent rate, age, maximal oxygen uptake, adiposity, and circulating venous bubbles after diving. *J Appl Physiol* 93: 1349-1356, 2002.
20. Chang, C.C., Greenspan, A. and Gershwin, M.E. Osteonecrosis: current perspectives on pathogenesis and treatment. *Semin Arthritis Rheum* 23: 47-69, 1993.
21. Christenson, R.H. Biochemical markers of bone metabolism: an overview. *Clin Biochem* 30: 573-593, 1997.
22. Christgau, S., Rosenquist, C., Alexandersen, P., Bjarnason, N.H., Ravn, P., Fledelius, C., Herling, C., Qvist, P. and Christiansen, C. Clinical evaluation of the Serum CrossLaps One Step ELISA, a new assay measuring the serum concentration of bone-derived degradation products of type I collagen C-telopeptides. *Clin Chem* 44: 2290-2300, 1998.
23. Chryssanthou, C. Animal model of human disease: dysbaric osteonecrosis. *Am J Pathol* 103: 334-336, 1981.
24. Chryssanthou, C.P. Dysbaric osteonecrosis. Etiological and pathogenetic concepts. *Clin Orthop Relat Res*: 94-106, 1978.
25. Cohen, B., Millett, P.J., Mist, B., Laskey, M.A. and Rushton, N. Effect of exercise training programme on bone mineral density in novice college rowers. *Br J Sports Med* 29: 85-88, 1995.
26. Colwell, A. and Eastell, R. The renal clearance of free and conjugated pyridinium cross-links of collagen. *J Bone Miner Res* 11: 1976-1980, 1996.
27. Craciun, A.M., Vermeer, C., Eisenwiener, H.G., Drees, N. and Knapen, M.H. Evaluation of a bead-based enzyme immunoassay for the rapid detection of osteocalcin in human serum. *Clin Chem* 46: 252-257, 2000.
28. Davidson, J.K. Dysbaric disorders: aseptic bone necrosis in tunnel workers and divers. *Baillieres Clin Rheumatol* 3: 1-23, 1989.
29. Davidson, J.K. Radiology of Dysbaric osteonecrosis. *J Clin Pathol* 25: 1005-1006, 1972.
30. Davidson, J.K., Harrison, J.A., Jacobs, P., Hilditch, T.E., Catto, M. and Hendry, W.T. The significance of bone islands, cystic areas and sclerotic areas in dysbaric osteonecrosis. *Clin Radiol* 28: 381-393, 1977.
31. de la Piedra, C., Traba, M.L., Dominguez Cabrera, C. and Sosa Henriquez, M. New biochemical markers of bone resorption in the study of postmenopausal osteoporosis. *Clin Chim Acta* 265: 225-234, 1997.
32. Delany, A.M., Kalajzic, I., Bradshaw, A.D., Sage, E.H. and Canalis, E. Osteonectin-null mutation compromises osteoblast formation, maturation, and survival. *Endocrinology* 144: 2588-2596, 2003.
33. E. Kaiser, G.D. Osteozyten - ein Organ im Aufwind morphologischer und zellbiologischer Forschung. *Osteologie* 11/4: 219-236, 2002.
34. Eyre, D. New biomarkers of bone resorption. *J Clin Endocrinol Metab* 74: 470A-470C, 1992.

35. Eyre, D.R., Dickson, I.R. and Van Ness, K. Collagen cross-linking in human bone and articular cartilage. Age-related changes in the content of mature hydroxypyridinium residues. *Biochem J* 252: 495-500, 1988.
36. Fatayerji, D. and Eastell, R. Age-related changes in bone turnover in men. *J Bone Miner Res* 14: 1203-1210, 1999.
37. Fessler, L.I., Morris, N.P. and Fessler, J.H. Procollagen: biological scission of amino and carboxyl extension peptides. *Proc Natl Acad Sci U S A* 72: 4905-4909, 1975.
38. Fink, E., Cormier, C., Steinmetz, P., Kindermans, C., Le Bouc, Y. and Souberbielle, J.C. Differences in the capacity of several biochemical bone markers to assess high bone turnover in early menopause and response to alendronate therapy. *Osteoporos Int* 11: 295-303, 2000.
39. Flook, V. Physics and physiology in the hyperbaric environment. *Clin Phys Physiol Meas* 8: 197-230, 1987.
40. Fraser W. D., A.M., Chesters C., Durham B., Aftab M. A., Chattington P., Vora J., Squire C. R. and Diver M. J., Circadian rhythm studies of serum bone resorption markers: implications for and utility., o.s.t.a.c. In: Eastell R, Baumann M, Hoyle NR, Wiczorek L, eds. *Bone markers: biochemical and clinical perspectives*. London: Martin Dunitz: 107-118, 2001.
41. Garnero, P. and Delmas, P.D. Bone markers. *Baillieres Clin Rheumatol* 11: 517-537, 1997.
42. Garnero, P. and Delmas, P.D. An immunoassay for type I collagen alpha 1 helical peptide 620-633, a new marker of bone resorption in osteoporosis. *Bone* 32: 20-26, 2003.
43. Gregg, P.J. and Walder, D.N. Caisson disease of bone. *Clin Orthop Relat Res*: 43-54, 1986.
44. Gundberg, C.M. Biochemical markers of bone formation. *Clin Lab Med* 20: 489-501, 2000.
45. Hagen, P.T., Scholz, D.G. and Edwards, W.D. Incidence and size of patent foramen ovale during the first 10 decades of life: an autopsy study of 965 normal hearts. *Mayo Clin Proc* 59: 17-20, 1984.
46. Halleen, J.M., Alatalo, S.L., Janckila, A.J., Woitge, H.W., Seibel, M.J. and Vaananen, H.K. Serum tartrate-resistant acid phosphatase 5b is a specific and sensitive marker of bone resorption. *Clin Chem* 47: 597-600, 2001.
47. Halleen, J.M., Alatalo, S.L., Suominen, H., Cheng, S., Janckila, A.J. and Vaananen, H.K. Tartrate-resistant acid phosphatase 5b: a novel serum marker of bone resorption. *J Bone Miner Res* 15: 1337-1345, 2000.
48. Halleen, J.M., Kaija, H., Stepan, J.J., Vihko, P. and Vaananen, H.K. Studies on the protein tyrosine phosphatase activity of tartrate-resistant acid phosphatase. *Arch Biochem Biophys* 352: 97-102, 1998.
49. Hamanishi, C., Kawabata, T., Yoshii, T. and Tanaka, S. Bone mineral density changes in distracted callus stimulated by pulsed direct electrical current. *Clin Orthop*: 247-252, 1995.
50. Hames, B.D., Hooper, N.M. Amino acids and proteins, *Biochemistry*. Oxford: BIOS Scientific Publishers Limited: 48-49, 2000.
51. Hannon, R. and Eastell, R. Preanalytical variability of biochemical markers of bone turnover. *Osteoporos Int* 11 Suppl 6: S30-44, 2000.
52. Harrelson, J.M. and Hills, B.A. Changes in bone marrow pressure in response to hyperbaric exposure. *Aerosp Med* 41: 1018-1021, 1970.
53. Harrison, J. Aseptic bone necrosis in divers. *Br J Radiol* 45: 393, 1972.

54. Harrison, J.A. Aseptic bone necrosis in naval clearance divers: radiographic findings. *Proc R Soc Med* 64: 1276-1278, 1971.
55. Harrison, J.A. Early diagnosis and pitfalls in diagnosis of aseptic bone necrosis in divers. *Proc R Soc Med* 70: 486-487, 1977.
56. Hassager, C., Risteli, J., Risteli, L., Jensen, S.B. and Christiansen, C. Diurnal variation in serum markers of type I collagen synthesis and degradation in healthy premenopausal women. *J Bone Miner Res* 7: 1307-1311, 1992.
57. Hattersley, G., Kerby, J.A. and Chambers, T.J. Identification of osteoclast precursors in multilineage hemopoietic colonies. *Endocrinology* 128: 259-262, 1991.
58. Hausler, K.D., Horwood, N.J., Chuman, Y., Fisher, J.L., Ellis, J., Martin, T.J., Rubin, J.S. and Gillespie, M.T. Secreted frizzled-related protein-1 inhibits RANKL-dependent osteoclast formation. *J Bone Miner Res* 19: 1873-1881, 2004.
59. Heine, H. Struktur und Vernetzungsglykoproteine, *Lehrbuch der biologischen Medizin*. Stuttgart: Hippokrates Verlag: 58-72, 1997
60. Holick, M.F. Microgravity-induced bone loss--will it limit human space exploration? *Lancet* 355: 1569-1570, 2000.
61. Huang, K.L. and Lin, Y.C. Activation of complement and neutrophils increases vascular permeability during air embolism. *Aviat Space Environ Med* 68: 300-305, 1997.
62. Huisman, A., Aarnoudse, J.G., Heuvelmans, J.H., Goslinga, H., Fidler, V., Huisjes, H.J. and Zijlstra, W.G. Whole blood viscosity during normal pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 94: 1143-1149, 1987.
63. Hunter, W.L., Jr. and Biersner, R.J. Comparison of long-bone radiographs between U.S. Navy divers and matched controls. *Undersea Biomed Res* 9: 147-159, 1982.
64. Hunter, W.L., Jr., Biersner, R.J., Sphar, R.L. and Harvey, C.A. Aseptic bone necrosis among U.S. Navy divers: survey of 934 nonrandomly selected personnel. *Undersea Biomed Res* 5: 25-36, 1978.
65. Hutter, C.D. Dysbaric osteonecrosis: a reassessment and hypothesis. *Med Hypotheses* 54: 585-590, 2000.
66. Ihlberg, L., Haukipuro, K., Risteli, L., Oikarinen, A., Kairaluoma, M.I. and Risteli, J. Collagen synthesis in intact skin is suppressed during wound healing. *Ann Surg* 217: 397-403, 1993.
67. Jacobs, D.S., DeMott, W.R., Oxley, D.K., Osteocalcin, Pyridinolines, *Laboratory Test Handbook*. Hudson: Lexi-Comp: 237-238, 272-273, 2001.
68. Jankowski, L.W., Tikuisis, P. and Nishi, R.Y. Exercise effects during diving and decompression on postdive venous gas emboli. *Aviat Space Environ Med* 75: 489-495, 2004.
69. Jones, J.P., Jr. Intravascular coagulation and osteonecrosis. *Clin Orthop Relat Res*: 41-53, 1992.
70. Jones, J.P., Jr., Ramirez, S. and Doty, S.B. The pathophysiologic role of fat in dysbaric osteonecrosis. *Clin Orthop Relat Res*: 256-264, 1993.
71. Ju, H.S., Leung, S., Brown, B., Stringer, M.A., Leigh, S., Scherrer, C., Shepard, K., Jenkins, D., Knudsen, J. and Cannon, R. Comparison of analytical performance and biological variability of three bone resorption assays. *Clin Chem* 43: 1570-1576, 1997.
72. Junqueira, L.C.U., Carneiro, J., Knochen, *Histologie*. Heidelberg: Springer Medizin Verlag: 92-105, 2005.

73. Junqueira, L.C.U., Carneiro, J. und Kelley, R. O. Bindegewebe, *Histologie*. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag: 140-171, 1996.
74. Kamel, S., Brazier, M., Neri, V., Picard, C., Samson, L., Desmet, G. and Sebert, J.L. Multiple molecular forms of pyridinolines cross-links excreted in human urine evaluated by chromatographic and immunoassay methods. *J Bone Miner Res* 10: 1385-1392, 1995.
75. Kawashima, M. Aseptic bone necrosis in Japanese divers. *Bull Tokyo Med Dent Univ* 23: 71-92, 1976.
76. Kawashima, M., Hayashi, K., Torisu, T. and Kitano, M. Histopathology of the early stage of osteonecrosis in divers. *Undersea Biomed Res* 4: 409-417, 1977.
77. Kawashima, M., Torisu, T., Hayashi, K. and Kitano, M. Pathological review of osteonecrosis in divers. *Clin Orthop*: 107-117, 1978.
78. Keck A.-V., M.P. Knochenstoffwechsel bei malignen Erkrankungen. *Journal für Mineralstoffwechsel* 10 (2): 6-11, 2003.
79. Klingmann, C. and Wallner, F., Current diving medicine. 1. The Heidelberg Symposium on Diving Medicine, 22 November 2003. *Hno* 52: 585-589, 2004.
80. Konietzko, J. Überdruck, Knochennekrose durch Druckluftabfall, *Arbeitsbedingte Erkrankungen*. Landsberg: Ecomed Verlagsgesellschaft: 224-226, 290-291, 2001.
81. Laden, G.D. and Grout, P. Aseptic bone necrosis in an amateur scuba diver. *Br J Sports Med* 38: E19, 2004.
82. Lehmann, F.G. Human alkaline phosphatases. Evidence of three isoenzymes (placental, intestinal and liver-bone-kidney-type) by lectin-binding affinity and immunological specificity. *Biochim Biophys Acta* 616: 41-59, 1980.
83. Lomeo, A. and Bolner, A. Stability of several biochemical markers of bone metabolism. *Clin Chem* 46: 1200-1202, 2000.
84. Low, M.G. and Saltiel, A.R. Structural and functional roles of glycosyl-phosphatidylinositol in membranes. *Science* 239: 268-275, 1988.
85. Lueken, S.A., Arnaud, S.B., Taylor, A.K. and Baylink, D.J. Changes in markers of bone formation and resorption in a bed rest model of weightlessness. *J Bone Miner Res* 8: 1433-1438, 1993.
86. Lynch, J.J., Schuchard, G.H., Gross, C.M. and Wann, L.S. Prevalence of right-to-left atrial shunting in a healthy population: detection by Valsalva maneuver contrast echocardiography. *Am J Cardiol* 53: 1478-1480, 1984.
87. Manolagas, S.C. and Jilka, R.L. Bone marrow, cytokines, and bone remodeling. Emerging insights into the pathophysiology of osteoporosis. *N Engl J Med* 332: 305-311, 1995.
88. McCallum, R.I. Bone necrosis due to decompression. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 304: 185-191, 1984.
89. McCallum, R.I. and Walder, D.N. Bone lesions in compressed air workers, with special reference to men who worked on the Clyde Tunnels 1958 to 1963. Report of Decompression Sickness Panel Medical Research Council. *J Bone Joint Surg Br* 48: 207-235, 1966.
90. Melkko, J., Hellevik, T., Risteli, L., Risteli, J. and Smedsrod, B. Clearance of NH<sub>2</sub>-terminal propeptides of types I and III procollagen is a physiological function of the scavenger receptor in liver endothelial cells. *J Exp Med* 179: 405-412, 1994.
91. Melkko, J., Kauppila, S., Niemi, S., Risteli, L., Haukipuro, K., Jukkola, A. and Risteli, J. Immunoassay for intact amino-terminal propeptide of human type I procollagen. *Clin Chem* 42: 947-954, 1996.



92. Melkko, J., Niemi, S., Risteli, L. and Risteli, J. Radioimmunoassay of the carboxyterminal propeptide of human type I procollagen. *Clin Chem* 36: 1328-1332, 1990.
93. Miller, P.D., Baran, D.T., Bilezikian, J.P., Greenspan, S.L., Lindsay, R., Riggs, B.L. and Watts, N.B. Practical clinical application of biochemical markers of bone turnover: Consensus of an expert panel. *J Clin Densitom* 2: 323-342, 1999.
94. Neumeister, B., Besenthal, I. und Liebich, H., Kalzium und Knochenstoffwechsel, *Klinikleitfaden Labordiagnostik*. München, Jena: Urban und Fischer: 206-210, 2000.
95. Nielsen, H.K., Brixen, K., Kassem, M., Charles, P. and Mosekilde, L. of the morning cortisol peak abolishes the expected morning decrease in serum osteocalcin in normal males: evidence of a controlling effect of serum cortisol on the circadian rhythm in serum osteocalcin. *J Clin Endocrinol Metab* 74: 1410-1414, 1992.
96. Nielsen, H.K., Brixen, K. and Mosekilde, L. Diurnal rhythm and 24-hour integrated concentrations of serum osteocalcin in normals: influence of age, sex, season, and smoking habits. *Calcif Tissue Int* 47: 284-290, 1990.
97. Oldberg, A., Franzen, A. and Heinegard, D. Cloning and sequence analysis of rat bone sialoprotein (osteopontin) cDNA reveals an Arg-Gly-Asp cell-binding sequence. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83: 8819-8823, 1986.
98. Ota, Y. and Matsunaga, H. Bone lesions in divers. *J Bone Joint Surg Br* 56: 3-16, 1974.
99. Pedersen, B.J., Schlemmer, A., Rosenquist, C., Hassager, C. and Christiansen, C. Circadian rhythm in type I collagen formation in postmenopausal women with and without osteopenia. *Osteoporos Int* 5: 472-477, 1995.
100. Pereira Silva, J.A., Costa Dias, F., Fonseca, J.E., Canhao, H., Resende, C. and Viana Queiroz, M. Low bone mineral density in professional scuba divers. *Clin Rheumatol* 23: 19-20, 2004.
101. Price, P.A., Parthemore, J.G. and Deftos, L.J. New biochemical marker for bone metabolism. Measurement by radioimmunoassay of bone GLA protein in the plasma of normal subjects and patients with bone disease. *J Clin Invest* 66: 878-883, 1980.
102. Qvist, P., Christgau, S., Pedersen, B.J., Schlemmer, A. and Christiansen, C. Circadian variation in the serum concentration of C-terminal telopeptide of type I collagen (serum CTx): effects of gender, age, menopausal status, posture, daylight, serum cortisol, and fasting. *Bone* 31: 57-61, 2002.
103. Rittling, S.R., Matsumoto, H.N., McKee, M.D., Nanci, A., An, X.R., Novick, K.E., Kowalski, A.J., Noda, M. and Denhardt, D.T. Mice lacking osteopontin show normal development and bone structure but display altered osteoclast formation in vitro. *J Bone Miner Res* 13: 1101-1111, 1998.
104. Ritz-Timme, S., Eckelt, N., Schmidtke, E. and Thomsen, H. Genesis and diagnostic value of leukocyte and platelet accumulations around "air bubbles" in blood after venous air embolism. *Int J Legal Med* 111: 22-26, 1998.
105. Robison, R., Macleod, M. and Rosenheim, A.H. The possible significance of hexosephosphoric esters in ossification: Calcification in vitro. *Biochem J* 24: 1927-1941, 1930.
106. Rosen, C.J. and Tenenhouse, A. Biochemical markers of bone turnover. A look at laboratory tests that reflect bone status. *Postgrad Med* 104: 101-102, 107-110, 113-114, 1998.

107. Rubin, C.T. and McLeod, K.J. Promotion of bony ingrowth by frequency-specific, low-amplitude mechanical strain. *Clin Orthop*: 165-174, 1994.
108. Schlemmer, A., Hassager, C., Alexandersen, P., Fledelius, C., Pedersen, B.J., Kristensen, I.O. and Christiansen, C. Circadian variation in bone resorption is not related to serum cortisol. *Bone* 21: 83-88, 1997.
109. Schlemmer, A., Hassager, C., Jensen, S.B. and Christiansen, C. Marked diurnal variation in urinary excretion of pyridinium cross-links in premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 74: 476-480, 1992.
110. Schlemmer, A., Hassager, C., Pedersen, B.J. and Christiansen, C. Posture, age, menopause, and osteopenia do not influence the circadian variation in the urinary excretion of pyridinium crosslinks. *J Bone Miner Res* 9: 1883-1888, 1994.
111. Schmidt, R.F., Lang, F. und Thews, G. Kalzium- und Phosphat-Haushalt, *Physiologie des Menschen*. Heidelberg: Springer Verlag: 723-732, 2005.
112. Schmolke, B. [Laboratory diagnosis of osteoporosis]. *Orthopade* 30: 425-436, 2001.
113. Scholz, J.F. und Wittgens, H. Taucher und Druckluftarbeiter, *Arbeitsmedizinische Berufskunde*. Stuttgart: Genter Verlag: 1019-1028, 1981.
114. Seargeant, L.E. and Stinson, R.A. Evidence that three structural genes code for human alkaline phosphatases. *Nature* 281: 152-154, 1979.
115. Seibel, M.J., Baylink, D.J., Farley, J.R., Epstein, S., Yamauchi, M., Eastell, R., Pols, H.A., Raisz, L.G. and Gundberg, C.M. Basic science and clinical utility of biochemical markers of bone turnover--a Congress report. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 105: 125-133, 1997.
116. Seibel, M.J., Duncan, A. and Robins, S.P. Urinary hydroxy-pyridinium crosslinks provide indices of cartilage and bone involvement in arthritic diseases. *J Rheumatol* 16: 964-970, 1989.
117. Simon, L.S., Krane, S.M., Wortman, P.D., Krane, I.M. and Kovitz, K.L. Serum levels of type I and III procollagen fragments in Paget's disease of bone. *J Clin Endocrinol Metab* 58: 110-120, 1984.
118. Smedsrod, B., Melkko, J., Risteli, L. and Risteli, J. Circulating C-terminal propeptide of type I procollagen is cleared mainly via the mannose receptor in liver endothelial cells. *Biochem J* 271: 345-350, 1990.
119. Stein, G.S., Lian, J.B. and Owen, T.A. Relationship of cell growth to the regulation of tissue-specific gene expression during osteoblast differentiation. *Faseb J* 4: 3111-3123, 1990.
120. Stenner, D.D., Tracy, R.P., Riggs, B.L. and Mann, K.G. Human platelets contain and secrete osteonectin, a major protein of mineralized bone. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83: 6892-6896, 1986.
121. Sténuit, R. Geschichte des Tauchens, Scholl, J. *Handbuch Tauchen*. München, Wien, Zürich: BLV Verlagsgesellschaft mbH, München: 13-38, 1996.
122. Takahashi, M., Kawana, K. and Nagano, A. Biological variability of biochemical markers of bone turnover in healthy women. *Endocr Res* 28: 257-264, 2002.
123. Taxel, P., Fall, P.M., Prestwood, K.M., Dulipsingh, L., Dauser, D., Ohannessian, C. and Raisz, L.G. Changes in urinary excretion of helical peptide during therapy for osteoporosis in older adults. *Clin Chem* 50: 747-750, 2004.
124. Termine, J.D., Kleinman, H.K., Whitson, S.W., Conn, K.M., McGarvey, M.L. and Martin, G.R. Osteonectin, a bone-specific protein linking mineral to collagen. *Cell* 26: 99-105, 1981.

125. Thomas, L. Alkalische Phosphatase, Saure Phosphatase, Knochen und Mineral-stoffwechsel, *Labor und Diagnose*. Frankfurt/Main: TH-Books Verlagsgesellschaft: 37-46, 100-102, 221-235, 264-270, 2000.
126. Thorsen, T., Klausen, H., Lie, R.T. and Holmsen, H. Bubble-induced aggregation of platelets: effects of gas species, proteins, and decompression. *Undersea Hyperb Med* 20: 101-119, 1993.
127. Tsujisawa, T., Inoue, H. and Nishihara, T. SC-19220, antagonist of prostaglandin E2 receptor EP1, inhibits osteoclastogenesis by RANKL. *J Bone Miner Res* 20: 15-22, 2005.
128. Walder, D.N. *Bone necrosis*. London: E & FN Spon: 16-28, 1994.
129. Watts, N.B. Clinical utility of biochemical markers of bone remodeling. *Clin Chem* 45: 1359-1368, 1999.
130. Weatherley, C.R., Dale, G., McGurk, J. and Walder, D.N. Bone necrosis and urinary hydroxyproline excretion in rabbits. *Clin Sci Mol Med* 52: 523-526, 1977.
131. Wichers, M., Schmidt, E., Bidlingmaier, F. and Klingmuller, D. Diurnal rhythm of CrossLaps in human serum. *Clin Chem* 45: 1858-1860, 1999.
132. Wilmshurst, P. and Ross, K. Dysbaric osteonecrosis of the shoulder in a sport scuba diver. *Br J Sports Med* 32: 344-345, 1998.
133. Woitge, H.W., Scheidt-Nave, C., Kissling, C., Leidig-Bruckner, G., Meyer, K., Grauer, A., Scharla, S.H., Ziegler, R. and Seibel, M.J. Seasonal variation of biochemical indexes of bone turnover: results of a population-based study. *J Clin Endocrinol Metab* 83: 68-75, 1998.
134. Wolff, J. *Das Gesetz der Transformation der Knochen*. Berlin: Hirschwald Verlag: 1892.
135. Yang, X., Tare, R.S., Partridge, K.A., Roach, H.I., Clarke, N.M., Howdle, S.M., Shakesheff, K.M. and Oreffo, R.O. Induction of human osteoprogenitor chemotaxis, proliferation, differentiation, and bone formation by osteoblast stimulating factor-1/pleiotrophin: osteoconductive biomimetic scaffolds for tissue engineering. *J Bone Miner Res* 18: 47-57, 2003.
136. Yaziji, H., Janckila, A.J., Lear, S.C., Martin, A.W. and Yam, L.T. Immunohistochemical detection of tartrate-resistant acid phosphatase in non-hematopoietic human tissues. *Am J Clin Pathol* 104: 397-402, 1995.

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Schematische Darstellung der Extensionspeptide und ihrer Rolle während des Faltungs- und Sekretionsprozesses. ....	7
Abbildung 2:	Circadiane Variation des Serum-BAP (sBAP) in Prozent des 24-Stunden-Durchschnittes. ....	20
Abbildung 3:	Circadiane Variation des Serum-OC (sOC) in Prozent des 24-Stunden-Durchschnittes. ....	21
Abbildung 4:	Circadiane Variation des Serum-CICP (sCICP) in Prozent des 24-h-Durchschnittes. ....	23
Abbildung 5:	Circadiane Variation des Urin-DPD (uDPD) und Urin-PYD (uPYD) mit dem daraus resultierenden.....	26
Abbildung 6:	Circadiane Variation des Serum-DPD (sDPD) in Prozent des 24-h-Durchschnittes. ....	26
Abbildung 7:	Circadiane Variation des Urin-CTx (uCTx) in Prozent des 24-h-Durchschnittes. ....	28
Abbildung 8:	Circadiane Variation des Serum-CTx (sCTx) in Prozent des 24-h-Durchschnittes. ....	28
Abbildung 9:	Beispielhafte graphische Darstellung des Referenztauchganges eines Probanden.....	38
Abbildung 10:	Darstellung der jahreszeitlichen Variation des Serum-BAP (sBAP) und des Urin-DPD (uDPD) in Prozent bei Männern. ....	46
Abbildung 11:	Addierte Unterwasserepositionsgrößen (A ges.).....	49
Abbildung 12:	Circadiane Variation des Serum-BAP (sBAP) in Prozent des 24-h-Durchschnittes mit an den Ausgangswert entsprechend des circadianen Verlaufes adaptierten Messwerten.....	52
Abbildung 13:	Circadiane Variation des Serum-CICP (sCICP) in Prozent des 24-h-Durchschnittes mit an den Ausgangswert entsprechend des circadianen Verlaufes adaptierten Messwerten.....	57
Abbildung 14:	Circadiane Variation des Serum-CTx (sCTx) in Prozent des 24-h-Durchschnittes mit an den Ausgangswert entsprechend des circadianen Verlaufes adaptierten Messwerten.....	61
Abbildung 15:	Circadiane Variation des freien Serum-DPD (sDPD) in Prozent des 24-h-Durchschnittes mit an den Ausgangswert entsprechend des circadianen Verlaufes adaptierten Serum-PYD (sPYD) Messwerten im Verlauf.....	67
Abbildung 16:	Circadiane Variation des Urin-CTx (uCTx) in Prozent des 24-h-Durchschnittes mit an den mittleren Ausgangswert, entsprechend des circadianen Verlaufes, adaptierten Messwerten.....	73
Abbildung 17:	Circadiane Variation des Urin-PYD/DPD (uPYD/DPD) in Prozent des 24-h-Durchschnittes mit an den mittleren Ausgangswert, entsprechend des circadianen Verlaufes, adaptierten Messwerten..	78
Abbildung 18:	Circadiane Variation des Urin-PYD/DPD (uPYD/DPD) in Prozent des 24-h-Durchschnittes mit an den mittleren Ausgangswert, entsprechend des circadianen Verlaufes, adaptierten Messwerten, welche einen Variabilitätskoeffizienten von unter 15% aufweisen. ...	79
Abbildung 19:	Tageszeitabhängige circadiane Variation der Kreatinin korrigierten Messungen von DPD, NTx und CTx im Urin. ....	96
Abbildung 20:	Tauchgangsgesamtflächen des Referenztauchganges der fünf vor und nach diesem TG untersuchten Probanden.....	100

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Übersicht der zurzeit in der aktuellen Forschung bzw. Diagnostik im Vordergrund stehenden biochemischen Knochenstoffwechsellmarker. ....	18
Tabelle 2:	Anthropometrische Daten aller Probanden. ....	34
Tabelle 3:	Übersicht über den Studienablauf und die Entnahmezeitpunkte der untersuchten Proben. ....	37
Tabelle 4:	Übersicht der ausgewerteten Untersuchungen, welche die Grundlage für die Darstellungen der tageszeitabhängigen circadianen Variation in dieser Arbeit bilden. ....	44
Tabelle 5:	Übersicht der ausgewerteten Untersuchungen, welche die Daten für die tagesabhängige circadianen Variation liefern. ....	47
Tabelle 6:	Kumulierte Gesamtübersicht der mittels Tauchcomputer ermittelten Daten sowie die berechneten Unterwasserexpositionsgrößen aller Tauchgänge eines jeden Probanden. ....	49
Tabelle 7:	Übersicht der Messergebnisse des Serum-BAP (sBAP). ....	50
Tabelle 8:	Prozentuale Veränderung der jeweiligen Vergleichspaare (Vgl. Paar 1-4) des Serum-BAP (sBAP) mit jeweils zugehöriger statistischer Auswertung. ....	51
Tabelle 9:	Prozentuale Veränderung und statistische Berechnung der prozentual adaptierten Messdaten des Serum-BAP (sBAP) mit dem zum jeweiligen Zeitpunkt zu erwartenden Mittelwert. ....	53
Tabelle 10:	Übersicht der Messergebnisse des Serum-CICP (sCICP). ....	54
Tabelle 11:	Prozentuale Veränderung der jeweiligen Vergleichspaare (Vgl. Paar 1-4) des Serum-CICP (sCICP) mit jeweils zugehöriger statistischer Auswertung. ....	56
Tabelle 12:	Prozentuale Veränderung und statistische Berechnung der prozentual adaptierten Messdaten des sCICP (sCICP) mit dem zum jeweiligen Zeitpunkt zu erwartenden Mittelwert. ....	58
Tabelle 13:	Übersicht der Messergebnisse des Serum-CTx (sCTx). ....	59
Tabelle 14:	Prozentuale Veränderung der jeweiligen Vergleichspaare (Vgl. Paar 1-4) des Serum-CTx (sCTx) mit jeweils zugehöriger statistischer Auswertung. ....	60
Tabelle 15:	Prozentuale Veränderung und statistische Berechnung der prozentual adaptierten Messdaten des Serum-CTx (sCTx) mit dem um 14:30 Uhr zu erwartenden Mittelwert. ....	62
Tabelle 16:	Übersicht der Messergebnisse des Serum-PYD (sPYD). ....	63
Tabelle 17:	Prozentuale Veränderung der jeweiligen Vergleichspaare (Vgl. Paar 1-4) des Serum-PYD (sPYD) mit jeweils zugehöriger statistischer Auswertung. ....	65
Tabelle 18:	Prozentuale Veränderung und statistische Berechnung der prozentual adaptierten Messdaten des Serum-Pyd (sPYD) mit dem um 14:30 Uhr zu erwartenden Mittelwert. ....	68
Tabelle 19:	Übersicht der Messergebnisse des Urin-CTx (uCTx). ....	70
Tabelle 20:	Prozentuale Veränderung der jeweiligen Vergleichspaare (Vgl. Paar 1-3) des Urin-CTx (uCTx) mit jeweils zugehöriger statistischer Auswertung. ....	72

Tabelle 21:	Prozentuale Veränderung und statistische Berechnung der prozentual adaptierten Messdaten des Urin-Ctx (uCTX) mit dem zum jeweiligen Zeitpunkt zu erwartenden Mittelwert.....	74
Tabelle 22:	Übersicht der Messergebnisse des Urin-PYD/DPD (uPYD/DPD).....	76
Tabelle 23:	Prozentuale Veränderung der jeweiligen Vergleichspaare (Vgl. Paar 1-3) des Urin-PYD/DPD (uPYD/DPD) mit jeweils zugehöriger statistischer Auswertung.....	77
Tabelle 24:	Prozentuale Veränderung und statistische Berechnung der prozentual adaptierten Messdaten des Urin-PYD/DPD (uPYD/DPD) mit dem zum jeweiligen Zeitpunkt zu erwartenden Mittelwert.....	80
Tabelle 25:	Gesamtübersicht aller Tauchgänge des Probanden OIBo.....	86
Tabelle 26:	Übersicht der unterschiedlichen Tauchbelastungsparameter (A. ges) am vierten und am fünften Tag.....	92
Tabelle 27:	Übersicht über die mittels Tauchcomputer ermittelten Daten und den berechneten Tauchbelastungsparameter der Referenz-Tauchgänge am fünften Tag, mit den sich anschließenden prozentualen Veränderungen des CTx im Serum.....	98
Tabelle 28:	Gesamtübersicht über die mittels Tauchcomputer erhaltenen Daten und den errechneten Unterwasserexpositionsgrößen aller Tauchgänge.....	109
Tabelle 29:	Gesamtübersicht über die mittels Tauchcomputer erhaltenen Daten und den errechneten Unterwasserexpositionsgrößen aller Tauchgänge.....	110
Tabelle 30:	Gesamtübersicht über die mittels Tauchcomputer erhaltenen Daten und den errechneten Unterwasserexpositionsgrößen aller Tauchgänge.....	111
Tabelle 31:	Übersicht über die gemessenen, noch nicht Kreatinin korrigierten CTx-Urinwerte mit zugehörigen VK.....	112
Tabelle 32:	Übersicht über die gemessenen, noch nicht Kreatinin korrigierten DPD/PYD-Urinwerte mit zugehörigen VK.....	113
Tabelle 33:	Übersicht über die in den Urinproben gemessenen Kreatininwerte..	114

## Abkürzungen

$\alpha$	Irrtumswahrscheinlichkeit
$\mu\text{g}$	Mikrogramm
$\mu\text{l}$	Mikroliter
$\Sigma$	Summe
$^{\circ}\text{C}$	Grad Celsius
1,25 (OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	1,25-Dihydroxy-Vitamin D <sub>3</sub> (Calcitriol)
25 (OH)D <sub>3</sub>	25-Hydroxy-Vitamin D <sub>3</sub>
Abb.	Abbildung
AP	Alkalische Phosphatase (Gesamtalkalische Phosphatase)
BAP	Knochenspezifische alkalische Phosphatase
A ges.	Tauchgangsgesamtfläche (Maß der Tauchbelastung)
BMD	Bone Mass Density
BMI	Body Mass Index
Bzw.	beziehungsweise
cm	Zentimeter
COOH	Carboxylgruppe
Crea	Kreatinin
CTx	Crosslinkvernetztes carboxyterminales Telozeptid des Typ I-Kollagens
CV	Tageszeitpunktabhängige circadiane Variation
d	Tag
DCS	Decompression sickness (Dekompressionserkrankung)
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DON	Dysbarische Osteonekrose
DPD	Deoxypyridinolin
DTDV	Day to day variation (Tagesabhängige circadiane Variation)
ELISA	Enzym Linked Immunosorbent Assay
g	gemischt
ges.	gesamt
h	Stunde
H <sub>0</sub>	Nullhypothese

HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Hochleistungsflüssigkeitschromatographie)
ICTP	Carboxy-terminales Telopeptid des Typ I-Kollagen
kor.	korrigiert
K.A.	Kein Annahmehbereich
k. D.	keine Daten
KG	Kilogramm
L	Liter
m	männlich
m*sec	Meter multipliziert mit Sekunden
Max	Maximum
mg	Milligramm
mmol	Millimol
min	Minuten
ml	Milliliter
MW	Mittelwert
n	Anzahl der Probanden
NaOH	Natronlauge
ng	Nanogramm
NH <sub>2</sub>	Aminogruppe
nmol	Nanomol
NTx	Amino-terminales Telopeptid des Typ I-Kollagen
NW	Normwerte
NZTG	Nullzeittauchgang/-gänge
OC	Osteocalcin
OPGL	Osteoprotegerin Ligand
OPN	Bone Sialoprotein
OSF-1	Osteoblast stimulating factor 1
p	Überschreitungswahrscheinlichkeit
PICP	Carboxy-terminales Propeptid des Typ I-Kollagen
PINP	Amino-terminales Propeptid des Typ I-Kollagen
prämp	prämenopausal
PTH	Parathormon
PTN	Pleiotrophin



PYD	Pyridinolin
RANKL	Receptor Activator of NF-kappa B Ligand
rER	rauhes endoplasmatisches Reticulum
RNA	Ribonukleinsäure
R-TG	Referenztauchgang
S.A.	Standardabweichung
s. S.	siehe Seite
s	Serum
Tab.	Tabelle
TG	Tauchgang/-gänge
TNF	Tumor-Nekrosefaktor
TRAP	Tartrat Resistente Alkalische Phosphatase
U	Unit/Einheit
u	Urin
w	weiblich
v. Chr.	vor Christus
Ver.	Veränderung
Vgl. Paar	Vergleichspaar
VK	Variabilitätskoeffizient

## **Eidesstattliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Dissertation selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe.

Die Dissertation ist bisher keiner anderen Fakultät vorgelegt worden.

Ich erkläre, dass ich bisher kein Promotionsverfahren erfolglos beendet habe und dass eine Aberkennung eines bereits erworbenen Doktorgrades nicht vorliegt.

Datum:

Stefan Neßler

## Lebenslauf

Name:	Stefan Neßler	
Geburtsdatum:	30. Juni 1969	
Geburtsort:	Ansbach	
Schulbildung:	1987:	Realschule Ansbach Abschluss: Mittlere Reife
	09/95 – 07/98.	Berufsoberschule Miesbach Abschluss: Allgemeine Hochschulreife
Beruflicher Werdegang:	10/87 – 10/88	Berufsfachschule für Masseure und medizinische Bademeister in Erlangen.
	10/88 – 02/90	drei sechsmontatige Anerkennungspraktika - Rehastudio Dörres, Bad Rappenau - Klinikum Ingolstadt - Lungenfachklinik Strüth
	03/90 – 12/90	Aufenthalt in Australien und in der Südsee mit physiotherapeutischen Tätigkeiten in unterschiedlichen Urlaubsressorts
	01/91 – 12/92	Berufsfachschule für Krankengymnastik in Willstätt, Ortenau.
	01/93 – 04/93	Vorbereitung und Teilnahme an einer zwei- monatigen Grönlandexpedition.
	05/93 – 05/94	Anerkennungspraktikum im Klinikum Großhadern, München
	06/94 – 09/98	Freiberufliche Tätigkeit als - Physiotherapeut - Dozent an Physiotherapieschulen - Ausbilder von Übungsleitern im Polizeisport - Trainer im Reha- und Behindertensport
Medizinische Ausbildung:	1998 bis 2001	Studium der Humanmedizin an der Martin-Luther-Universität Halle/Wittenberg
	2001 bis 2004	Studium der Humanmedizin an der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald

Praktisches Jahr: 2003 – 2004

Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin  
der Universität Greifswald (Prof. Dr. med. M. Wendt)

Klinik und Poliklinik für Chirurgie der Universität Greifswald  
(Prof. Dr. med. A. Ekkernkamp)

Abteilung für Unfall-, Hand- und Wiederherstellungschirurgie des  
Klinikums Rosenheim, Lehrkrankenhaus der  
Ludwig-Maximilians-Universität München  
(Prof. Dr. med. G. Regel)

Klinik und Poliklinik für Innere Medizin A der Universität  
Greifswald (Prof. Dr. med. M. M. Lerch)

Medizinische  
Berufspraxis:

03/2005 – 07/2005 Assistenzarzt am Pathologischen Institut der  
Universität Greifswald, (Prof. Dr. med. G. Lorenz)

09/2005 – 04/2006 freiberufliche ärztliche Tätigkeit

05/2006 – 10/2006 Fachdozent für Physiotherapie an der  
Berufsfachschule Grone in Bergen (Rügen)

02/2007 – 07/2007 Assistenzarzt in der Dünenwald Klinik  
Trassenheide (CA Dr. med. H. Seidlein)

Seit September 2007 Assistenzarzt in der Klinik für  
Anästhesiologie und Intensivmedizin im Sana-Krankenhaus  
Rügen (CA Dr. med. Oec. med. K. Müller)

Datum:

Stefan Neßler

## **Danksagung**

Herrn Prof. Dr. med. Axel Ekkernkamp danke ich für die Überlassung des Themas und das in mich gesetzte Vertrauen.

Ein ganz herzlicher Dank an meinen Betreuer Dr. med. Wilfried Gfrörer, der mir diese Arbeit ermöglicht hat und mir ständig zur Seite stand.

Für die tolle Zusammenarbeit und Hilfe im Forschungslabor der Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin bedanke ich mich ganz herzlich bei Herrn Dr. rer. nat. Gerhard Fusch und seinen Mitarbeiterinnen.

Für die umfangreiche statistische Beratung möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. rer. nat. habil. Karl-Ernst Biebler und besonders bei Herrn Dr. Wodny vom Institut für Medizinische Biometrie der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald bedanken.