

Aus dem Institut für Biochemie und Molekularbiologie II, Molekulare  
Zellbiologie des Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

Direktorin: Frau Prof. Dr. rer. physiol. Dr. h.c. Ulrike Beisiegel

Blutplasma-Fettsäurekomposition und Knochendichte bei jungen gesunden  
Männern

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
des Fachbereichs Humanmedizin der Universität Hamburg  
vorgelegt von

Ruth-Christine Pighin  
aus Göttingen

Hamburg 2011

Angenommen vom Fachbereich Medizin der Universität Hamburg am: 24.02.2012

Veröffentlicht mit Genehmigung des Fachbereiches Medizin der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. Dr. U. Beisiegel

Prüfungsausschuss: 2. Gutachter/in: PD Dr. A. Niemeier

Prüfungsausschuss: 3. Gutachter/in: PD Dr. F. Barvencik

<b>1 PROBLEMSTELLUNG UND ZIEL DER ARBEIT</b>	<b>S. 1</b>
<b>2 EINLEITUNG</b>	<b>S. 2</b>
<b>2.1 Lipide</b>	<b>S. 2</b>
2.1.1 Fettsäuren	S. 2
2.1.1.1 Aufnahme von Fettsäuren mit der Nahrung	S. 4
2.1.1.2 Biosynthese von Fettsäuren	S. 5
2.1.2 Phospholipide	S. 7
2.1.2.1 Fettsäurekomposition der Phospholipide	S. 7
2.1.3 Lipidstoffwechsel und Lipoproteine	S. 9
<b>2.2 Knochengewebe</b>	<b>S. 10</b>
2.2.1 Kortikales und trabekuläres Knochengewebe	S. 10
2.2.2 Osteoblasten und Osteoklasten	S. 11
2.2.3 <i>Modelling</i> und <i>Remodelling</i>	S. 12
2.2.4 Parakrine Regulation des Knochenstoffwechsels	S. 13
2.2.5 Endokrine Regulation des Knochenstoffwechsels	S. 14
2.2.6 Knochendichte und Knochenmineralgehalt	S. 15
2.2.7 <i>Peak Bone Mass</i>	S. 16
2.2.8 Osteoporose	S. 17
<b>2.3 Wirkung von Fettsäuren auf Knochen und andere Gewebe</b>	<b>S. 18</b>
2.3.1 Wirkung von $\omega$ 3-PUFA auf verschiedene Erkrankungen	S. 18
2.3.2 Wirkung von $\omega$ 3- und $\omega$ 6-PUFA auf die Knochendichte	S. 19
2.3.2.1 Mechanismen von $\omega$ 3-PUFA im Knochen	S. 19
2.3.2.2 Mechanismen von $\omega$ 6-PUFA im Knochen	S. 21
2.3.2.3 Daten zu $\omega$ 3- und $\omega$ 6-PUFA und Knochendichte aus Tierstudien	S. 22
2.3.2.4 Daten zu $\omega$ 3- und $\omega$ 6-PUFA und Knochendichte aus Studien am Menschen	S. 23
2.3.3 Wirkung von MUFA auf die Knochendichte	S. 25
2.3.4 Wirkung von SAFA auf die Knochendichte	S. 26

<b>3 MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>S. 27</b>
<b>3.1 Probandenkollektiv</b>	<b>S. 27</b>
<b>3.2 Sportliche Aktivität</b>	<b>S. 28</b>
<b>3.3 Größe und Gewicht</b>	<b>S. 28</b>
<b>3.4 Knochendichte und Knochenmineralgehalt</b>	<b>S. 28</b>
<b>3.5 Vitamin D3</b>	<b>S. 29</b>
<b>3.6 Fettsäuren der Phospholipide</b>	<b>S. 29</b>
3.6.1 Prinzip der Fettsäure-Messmethode	S. 29
3.6.2 Material	S. 31
3.6.2.1 Chemikalien	S. 31
3.6.2.2 Verbrauchsmaterial	S. 32
3.6.2.3 Software	S. 32
3.6.2.4 Geräte	S. 33
3.6.3 Extraktion der Lipide aus dem Plasma	S. 33
3.6.4 Lipidklassentrennung mit Hilfe von Sep-Pak	S. 34
3.6.5 Derivatisierung	S. 35
3.6.6 Gaschromatographie	S. 36
3.6.7 Auswertung der Gaschromatographie-Daten	S. 37
3.6.8 Statistische Auswertung	S. 37
<b>4 ERGEBNISSE</b>	<b>S. 38</b>
<b>4.1 Probandenkollektiv</b>	<b>S. 38</b>
4.1.1 Alter	S. 38
4.1.2 Größe	S. 38
4.1.3 Gewicht und Body-Mass-Index	S. 38
4.1.4 Sportliche Aktivität	S. 40
4.1.5 Vitamin D3	S. 41
4.1.6 Knochendichte und Knochenmineralgehalt	S. 43
4.1.7 Anteile der Fettsäuren in den Plasmaphospholipiden	S. 45

<b>4.2 Einflussvariablen, welche die Knochendichte beeinflussen</b>	<b>S. 49</b>
4.2.1 Korrelationen des Vitamin D3-Status mit der Knochendichte und dem Knochenmineralgehalt	S. 49
4.2.2 Korrelationen des Body-Mass-Index mit der Knochendichte und dem Knochenmineralgehalt	S. 50
4.2.3 Korrelationen der sportlichen Aktivität mit der Knochendichte und dem Knochenmineralgehalt	S. 52
4.2.4 Adjustierung für Einflussvariablen	S. 53
<b>4.3 Korrelationen der Anteile von Docosahexaensäure, den Fettsäuren und den Fettsäuregruppen der Phospholipide mit der Knochendichte, Veränderung der Knochendichte und dem Knochenmineralgehalt</b>	<b>S. 54</b>
4.3.1 Docosahexaensäure (DHA)	S. 54
4.3.1.1 Korrelationen des DHA-Anteils der Phospholipide mit der Knochendichte	S. 54
4.3.1.2 Korrelationen des DHA-Anteils der Phospholipide mit der Veränderung der Knochendichte	S. 57
4.3.1.3 Korrelationen des DHA-Anteils der Phospholipide mit dem Knochenmineralgehalt	S. 57
4.3.2 Fettsäuregruppen	S. 59
4.3.2.1 Korrelationen der Anteile der Fettsäuregruppen der Phospholipide mit der Knochendichte	S. 59
4.3.2.2 Korrelationen der Anteile der Fettsäuregruppen der Phospholipide mit der Veränderung der Knochendichte	S. 61
4.3.2.3 Korrelationen der Anteile der Fettsäuregruppen der Phospholipide mit dem Knochenmineralgehalt	S. 62
4.3.3 Fettsäuren	S. 64
4.3.3.1 Korrelationen der Anteile einzelner Fettsäuren der Phospholipide mit der Knochendichte	S. 64
4.3.3.2 Korrelationen der Anteile einzelner Fettsäuren der Phospholipide mit der Veränderung der Knochendichte	S. 71
4.3.3.3 Korrelationen der Anteile einzelner Fettsäuren der Phospholipide mit dem Knochenmineralgehalt	S. 73

<b>5 DISKUSSION</b>	<b>S. 75</b>
<b>5.1 Die Wirkung von DHA und <math>\omega</math>3-PUFA auf die Knochendichte</b>	<b>S. 75</b>
<b>5.2 Die Wirkung von Arachidonsäure und <math>\omega</math>6-PUFA auf die Knochendichte</b>	<b>S. 89</b>
<b>5.3 Die Wirkung von Ölsäure und MUFA auf die Knochendichte</b>	<b>S. 91</b>
<b>5.4 Die Wirkung von Palmitinsäure und SAFA auf die Knochendichte</b>	<b>S. 93</b>
<b>5.5 Stärken und Schwächen dieser Arbeit</b>	<b>S. 94</b>
<b>6 ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>S. 98</b>
<b>7 ANHANG</b>	<b>S. 99</b>
<b>7.1 Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>S. 99</b>
<b>7.2 Abbildungsverzeichnis</b>	<b>S. 102</b>
<b>7.3 Tabellenverzeichnis</b>	<b>S. 103</b>
<b>7.4 Literaturverzeichnis</b>	<b>S. 105</b>
<b>8 DANKSAGUNG</b>	<b>S. 121</b>
<b>9 LEBENS LAUF (ENTFÄLLT AUS DATENSCHUTZRECHTLICHEN GRÜNDEN)</b>	<b>S. 122</b>
<b>10 EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG</b>	<b>S. 123</b>

## **1 PROBLEMSTELLUNG UND ZIEL DER ARBEIT**

Osteoporose ist eine Volkskrankheit der Industrienationen, welche durch Knochensubstanzverlust und ein erhöhtes Frakturrisiko charakterisiert ist. Bei der Pathogenese spielen neben genetischen Faktoren Lebensweise, Umwelt- und Ernährungseinflüsse eine Rolle.

Eine für den Knochen optimierte Ernährung kann dem Knochensubstanzverlust präventiv entgegenwirken. Die Identifizierung von Nahrungsbestandteilen, welche die Knochendichte positiv beeinflussen, ist daher eine relevante Frage für die klinisch orientierte Forschung. Während die Bedeutung des mit der Nahrung aufgenommenen Calciums für den Knochenstoffwechsel hinlänglich bekannt ist, wird der Einfluss von Nahrungslipiden noch nicht ausreichend verstanden.

Experimentelle Daten von Nagern, Hühnern und Schweinen deuten auf einen förderlichen Effekt von in Fischöl enthaltenen langkettigen  $\omega$ 3-Fettsäuren auf die Knochendichte hin. Ob vergleichbare Effekte auch beim Menschen existieren, wird bei heterogener Studienlage wissenschaftlich kontrovers diskutiert.

Ziel dieser Arbeit ist es, zu analysieren, ob die Fettsäurezusammensetzung der Plasmaphospholipide mit der Knochendichte und dem Knochenmineralgehalt bei jungen gesunden Männern korreliert. Eine schwedische Forschergruppe konnte an einem Kollektiv gesunder Männer im Alter von 16 und 22 Jahren zeigen, dass ein Zusammenhang zwischen dem Anteil der  $\omega$ 3-Fettsäure DHA in der Plasmaphospholipidfraktion und der Knochendichte besteht (Hogstrom et al. 2007). Die vorliegende Arbeit führt eine Folgeuntersuchung dieser Probanden im Alter von 24 und 28 Jahren durch.

Dazu wurden die Anteile der einzelnen Fettsäuren der Plasmaphospholipide per Gaschromatographie bestimmt und die Knochendichte mit Dual-Energy-Röntgenabsorptiometrie gemessen. Pearson-Korrelationen wurden eingesetzt, um lineare Zusammenhänge zwischen der Knochendichte und der Fettsäurezusammensetzung zu erkennen.

## 2 EINLEITUNG

### 2.1 Lipide

#### 2.1.1 Fettsäuren

Fettsäuren werden aus einer geraden Anzahl von Kohlenstoff-Atomen (C-Atomen) und einer endständigen Carboxylgruppe (-COOH) gebildet. Sie können je nach Länge der Kohlenstoffkette nach dem gleichlangen Kohlenwasserstoff oder mit den gebräuchlicheren Trivialnamen benannt werden (siehe S.3, Tab. 1).

Fettsäuren mit vier bis sechs C-Atomen werden als kurzkettig, mit acht bis zwölf C-Atomen als mittelkettig und ab 14 C-Atomen als langkettig bezeichnet. Ab 20 C-Atomen spricht man von sehr langkettigen Fettsäuren (*engl. very long chain fatty acids, VLCFA*).

Die einzelnen CH<sub>2</sub>-Gruppen werden mit griechischen Kleinbuchstaben bezeichnet. Die der Carboxylgruppe benachbarte CH<sub>2</sub>-Gruppe heißt  $\alpha$ , die Methyl-Gruppe (-CH<sub>3</sub>) am Ende der Kette wird, unabhängig von der Kettenlänge, immer mit  $\omega$  markiert.

Die C-Atome der Kohlenwasserstoffkette können durch eine Einfach- oder Doppelbindung verbunden sein. Die Anzahl der in einer Fettsäure vorhandenen Doppelbindungen bestimmt den Grad ihrer Sättigung, nach der die Säuren in vier Hauptgruppen eingeteilt werden können.

Fettsäuren, die ausschließlich Einfachbindungen enthalten, werden als gesättigt (*engl. saturated fatty acids, SAFA*) bezeichnet. Besitzt die Fettsäure eine Doppel- (oder ungesättigte) Bindung, gehört sie zu den einfach ungesättigten Fettsäuren (*engl. monounsaturated fatty acids, MUFA*). Bei mehreren Doppelbindungen spricht man von mehrfach ungesättigten Fettsäuren (*engl. polyunsaturated fatty acids, PUFA*). Diese Gruppe lässt sich in zwei Untergruppen einteilen, deren Namen sich von der Entfernung der ersten Doppelbindung vom Methylende aus ableiten (Salari et al. 2008). Die  $\omega$ 3-Fettsäuren (*engl.  $\omega$ 3-polyunsaturated fatty acids,  $\omega$ 3-PUFA*) haben an der dritten C-C-Bindung vom Methylende aus gesehen eine Doppelbindung. Bei den  $\omega$ 6-Fettsäuren (*engl.  $\omega$ 6-polyunsaturated fatty acids,  $\omega$ 6-PUFA*) befindet sich die Doppelbindung hinter dem sechsten C-Atom.

Sättigungsgruppe	Trivialname	Formel	Abkürzung
Gesättigte Fettsäuren (SAFA)	Palmitinsäure	C16:0	-
	Stearinsäure	C18:0	-
	Arachinsäure	C20:0	-
	Behensäure	C22:0	-
	Lignocerinsäure	C24:0	-
Einfach ungesättigte Fettsäuren (MUFA)	d7-Hexadecensäure	C16:1n-9	d-7-HDA
	Palmitölsäure	C16:1n-7	-
	Ölsäure	C18:1n-9	-
	Vaccinsäure	C18:1n-7	-
	Nervensäure	C24:1n-9	-
Mehrfach ungesättigte $\omega$ 6-Fettsäuren ( $\omega$ 6-PUFA)	Linolsäure	C18:2n-6	LA
	$\gamma$ -Linolensäure	C18:3n-6	GLA
	Eicosadiensäure	C20:2n-6	EDA
	Dihomogammalinolensäure	C20:3n-6	DGLA
	Arachidonsäure	C20:4n-6	AA
Mehrfach ungesättigte $\omega$ 3-Fettsäuren ( $\omega$ 3-PUFA)	$\alpha$ -Linolensäure	C18:3n-3	ALA
	Eicosatetraensäure	C20:4n-3	ETEA
	Eicosapentaensäure	C20:5n-3	EPA
	Docosapentaensäure	C22:5n-3	DPA
	Docosahexaensäure	C22:6n-3	DHA

Tab. 1 Übersicht über die Fettsäuregruppen SAFA, MUFA,  $\omega$ 6-PUFA und  $\omega$ 3-PUFA und der einzelnen, in dieser Arbeit gemessenen Fettsäuren. Trivialnamen, chemische Summenformeln und Abkürzungen der Fettsäuren.

Fettsäuren können auch mit einer Kurzform ihrer chemischen Formel bezeichnet werden. Die Wasserstoffatome werden dabei außer Acht gelassen. C und die folgende Zahl bezeichnen die Kettenlänge, nach einem Doppelpunkt folgt die Anzahl der Doppelbindungen. Der Ausdruck „n-x“ bezeichnet die Lokalisation der ersten Doppelbindung vom Methylende aus gesehen.

Docosahexaensäure (*engl. docosahexanoic acid*, DHA) zum Beispiel hat die Formel C22:6n-3. Ihre Kettenlänge beträgt 22 C-Atome. In der Kette sind sechs Doppelbindungen, die erste vom Methylende aus befindet sich an Stelle drei. DHA

gehört also zu der Gruppe der sehr langkettigen, mehrfach ungesättigten  $\omega$ 3-Fettsäuren. Länge und Sättigungsgrad der Fettsäuren bestimmen ihre physikalischen Eigenschaften: Je kürzer und ungesättigter eine Fettsäure ist, desto niedriger ist ihr Schmelzpunkt. Die physiologische Funktion der Fettsäure ist ebenfalls von ihrer Länge und Sättigung abhängig. Während beispielsweise die  $\omega$ 6-Fettsäure Arachidonsäure (*engl. Arachidonic acid*, AA) ein Vorläufer des Entzündungsmediators Prostaglandin E2 ist (Calder 2009), werden langkettige SAFA vor allem zur Energieerzeugung durch  $\beta$ -Oxidation verwendet. Ungesättigte Fettsäuren allgemein sind Bestandteile von Phospholipiden (PL) in Membranen und beeinflussen deren Fluidität und Funktionalität.

#### 2.1.1.1 Aufnahme von Fettsäuren mit der Nahrung

Die mit der Nahrung aufgenommenen Fettsäuren bestimmen die Zusammensetzung der Fettsäuren in den Geweben des Organismus entscheidend mit.

Den größten Teil der Nahrungsfette bilden auf dem Speiseplan der Industrienationen die SAFA und MUFA. Gesättigte Fette machen etwa 42%, einfach ungesättigte Fettsäuren 35% aus.  $\omega$ 3- und  $\omega$ 6-PUFA dagegen stellen zusammen nur etwa 15-16% des verzehrten Fetts (Ma et al. 1995; Meyer et al. 2003).

Gesättigte Fettsäuren sind vor allem in Speisefett, zum Beispiel Butter und Kokosnussöl, Fleisch, Milch und Käse enthalten (Meyer et al. 2003; Saxholt 2008). Einen hohen SAFA-Gehalt haben auch Gebäck und *Fast Food*, z.B. Hamburger und Milchshakes ("USDA National Nutrient Database for Standard Reference" 2009).

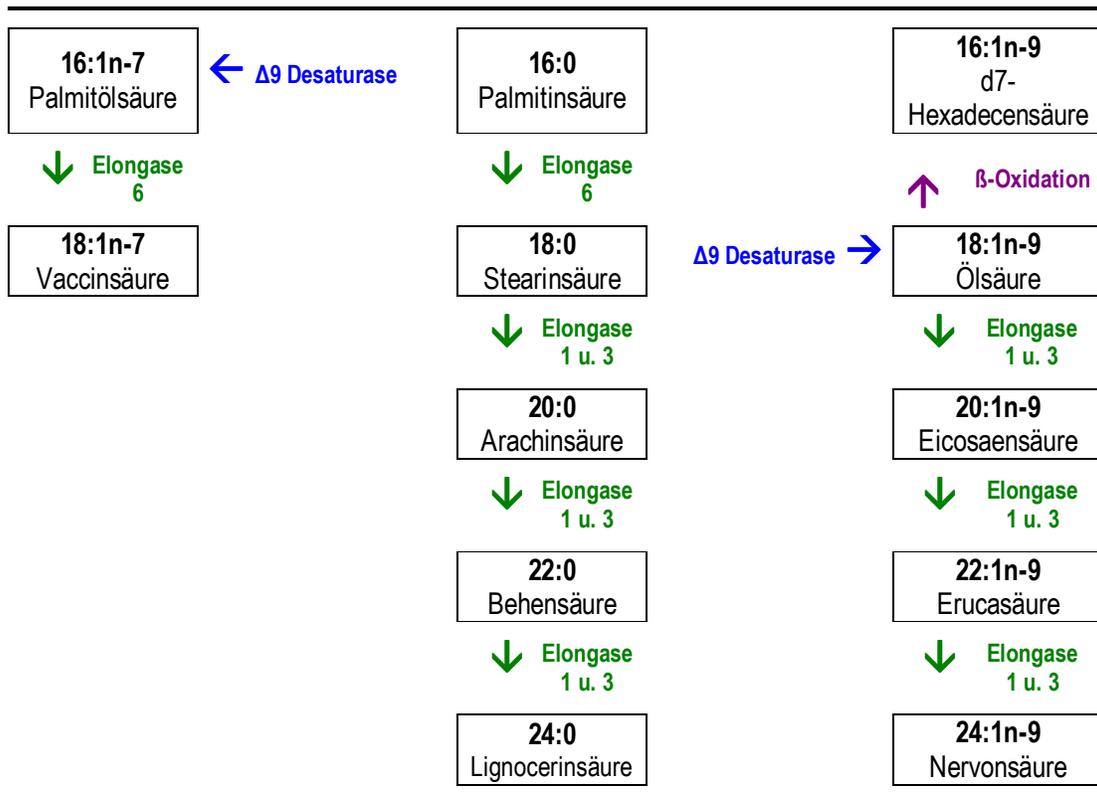
Einfach ungesättigte Fettsäuren finden sich in hohen Mengen in Oliven- und Rapsöl. Konsum von Milch, Milchprodukten und Getreideprodukten trägt außerdem zur MUFA-Aufnahme bei (Meyer et al. 2003; Saxholt 2008; "USDA National Nutrient Database for Standard Reference" 2009).

$\omega$ 6-PUFA sind in Speiseöl, Getreide und Fleisch enthalten (Meyer et al. 2003).  $\omega$ 3-PUFA sind vor allem in Fisch und Fischöl vorhanden (Salari et al. 2008), kommen in geringeren Mengen aber auch in Fleisch vor (Meyer et al. 2003; Howe et al. 2006). Zur Aufnahme der einzelnen  $\omega$ 3-Fettsäuren tragen verschiedene Nahrungsmittel zu sehr ungleichen Teilen bei. Mit getreidehaltigen Produkten und Fleisch wird jeweils annähernd 40% der verzehrten  $\alpha$ -Linolensäure aufgenommen, während nur 16% der Nahrungs-DHA aus diesen Nahrungsmitteln stammt. 73% DHA wird mit Fischen und

Fischprodukten konsumiert, die wiederum nur 3,5% zur insgesamten ALA-Aufnahme beitragen (Meyer et al. 2003). Damit sind Fischprodukte die Hauptquelle für DHA in der Nahrung.

### 2.1.1.2 Biosynthese von Fettsäuren

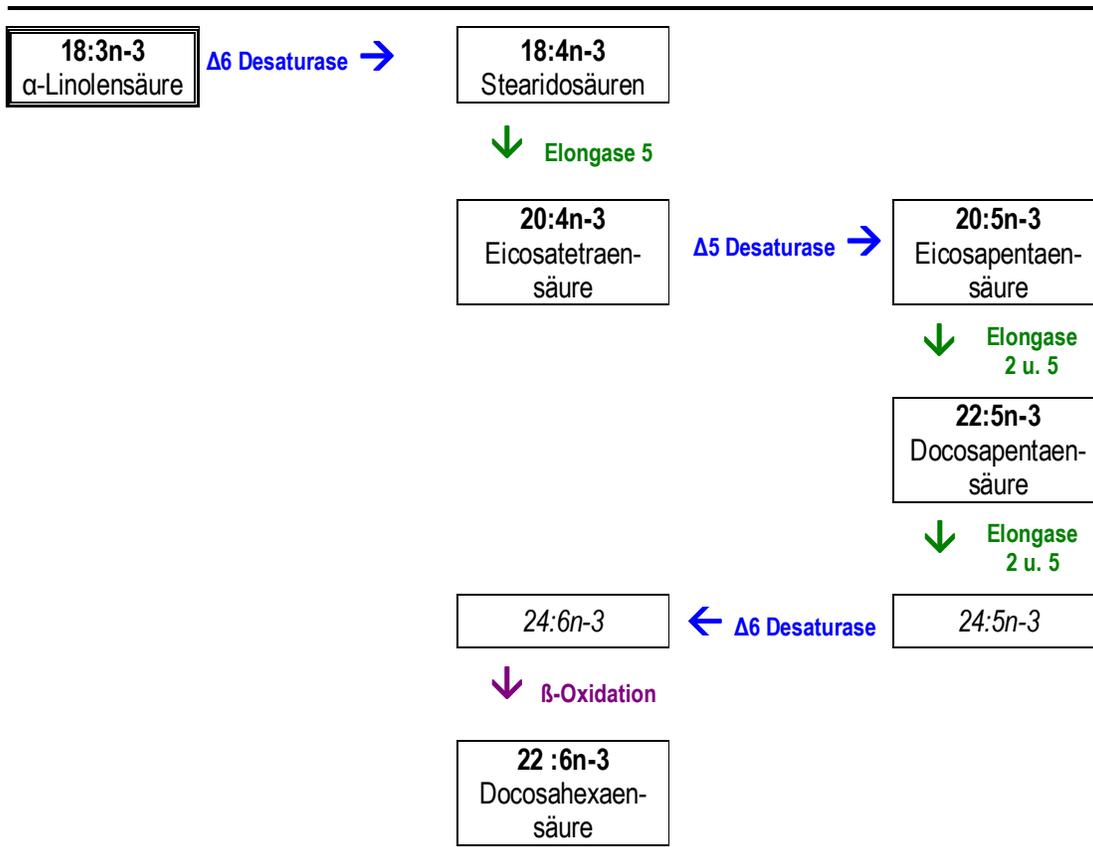
Gesättigte und einfach ungesättigte Fettsäuren können endogen von dem Enzym Fettsäuresynthase aus Acetyl-CoEnzym A synthetisiert werden. Fettsäuren endogener und exogener Herkunft können dann durch Elongasen verlängert und durch Desaturasen entsättigt werden. Durch  $\beta$ -Oxidation kann das Kohlenstoffgerüst verkürzt werden (siehe S.5, Tab. 2).



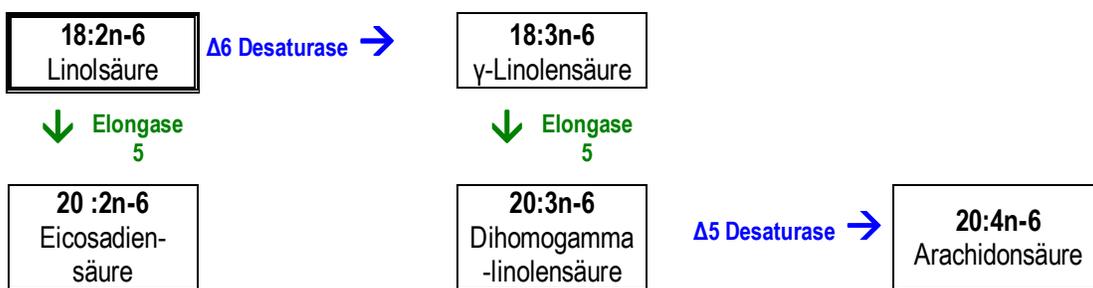
Tab. 2 Syntheseweg der gesättigten und einfach ungesättigten Fettsäuren. Verändert nach Dr. Ludger Scheja, Institut für Biochemie und Molekularbiologie II, Uniklinikum Eppendorf, Hamburg.

$\alpha$ -Linolensäure (engl.:  $\alpha$ -linolenic acid, ALA) und Linolsäure (engl. linoleic acid, LA), die Vorläufer der langkettigen  $\omega 3$ - und  $\omega 6$ -Fettsäuren, sind essentiell. Sie können vom Menschen nicht synthetisiert werden sondern müssen mit der Nahrung zugeführt

werden. Allerdings können ALA und LA in andere langkettige  $\omega$ 3- bzw.  $\omega$ 6-PUFA umgewandelt werden (siehe S.6, Tab. 3 und S.6, Tab. 4).



Tab. 3 Syntheseweg der  $\omega$ 3-Fettsäuren ausgehend von der essentiellen Fettsäure  $\alpha$ -Linolensäure. Zwischenprodukte der DHA-Synthese: *schräg* gedruckt. Verändert nach Dr. Ludger Scheja, Institut für Biochemie und Molekularbiologie II, Uniklinikum Eppendorf, Hamburg.



Tab. 4 Syntheseweg der  $\omega$ 6-Fettsäuren ausgehend von der essentiellen Fettsäure Linolsäure. Verändert nach Dr. Ludger Scheja, Institut für Biochemie und Molekularbiologie II, Uniklinikum Eppendorf, Hamburg.

Studien mit Isotopen-Tracern haben gezeigt, dass der menschliche Körper aus mit der Nahrung aufgenommenener ALA die langkettigen  $\omega$ 3-PUFA Eicosapentaensäure (*engl. eicosapentanoic acid*, EPA), Docosapentaensäure (*engl. docosapentanoic acid*, DPA) und DHA synthetisieren kann (siehe S.6, Tab. 3, (Pawlosky et al. 2001; Burdge et al. 2002; Burdge and Wootton 2002; Goyens et al. 2005)). Quantitativ hat die Synthese von langkettigen  $\omega$ 3-PUFA aus ALA gegenüber der Aufnahme mit der Nahrung jedoch praktisch keine Bedeutung: Nur 0,2% - 7% der Nahrungs-ALA wird zu EPA synthetisiert und damit in den  $\omega$ 3-Pfad eingeschleust (Pawlosky et al. 2001; Goyens et al. 2005). Unter 1% der verzehrten ALA wird letztendlich zu DHA umgewandelt (Burdge et al. 2002; Goyens et al. 2005).

Am Beginn des  $\omega$ 6-Syntheseweges steht die essentielle  $\omega$ 6-Fettsäure Linolsäure, aus der die langkettigen  $\omega$ 6-Fettsäuren Eicosadiensäure (*engl. eicosadienoic acid*, EDA), Dihomogammalinolensäure (*engl. dihomogammalinoleic acid*, DGLA) und Arachidonsäure (*engl. arachidonic acid*, AA) synthetisiert werden können (siehe S.6, Tab. 4, (Goyens et al. 2005; Hussein et al. 2005; Arterburn 2006; Salari et al. 2008; Rousseau et al. 2009)).

### 2.1.2 Phospholipide

Bei den Phospholipiden (PL) ist der Alkohol Glycerin mit zwei Fettsäuren verestert. Die Hydroxylgruppe ist mit Phosphorsäure besetzt, die mit einer von vier möglichen Alkoholgruppen verestert ist: Cholin, Ethanolamin, Serin oder Inositol. Da die polaren Reste der Phospholipide hydrophil, die Fettsäureketten dagegen hydrophob sind, gehören sie zu den amphiphilen Lipiden. Sie ordnen sich an Öl-Wasser-Grenzschichten mit dem hydrophilen Anteil zum Wasser, mit dem hydrophoben zum Öl. Aus diesem Grund sind die Phospholipide der Hauptbestandteil von Membranen: Es entsteht eine Doppelschicht, in der die lipophilen Anteile einander zugewandt sind, während die hydrophilen Anteile das Äußere der Membran bilden.

#### *2.1.2.1 Fettsäurekomposition der Phospholipide*

Mit der Nahrung aufgenommene Fettsäuren bestimmen die Zusammensetzung der Fettsäureanteile in den Phospholipiden entscheidend (Ma et al. 1995; Nikkari et al.

1995; Saadatian-Elahi et al. 2009). Die in den PL messbaren Fettsäureanteile geben Aufschluss über mittelfristige Ernährungsgewohnheiten im Rahmen von mehreren Tagen bis Wochen (Lovegrove et al. 1997; Mantzioris et al. 2000).

Vor allem der Verzehr von langkettigen mehrfach ungesättigten Fettsäuren wird gut abgebildet. Das liegt einerseits daran, dass PUFA in den Phospholipiden angereichert werden (Nikkari et al. 1995; Fekete et al. 2009). Andererseits sind vor allem die  $\omega$ 3-Fettsäuren und unter ihnen besonders DHA stark nahrungsabhängig. Nach der Gabe von ALA steigen zwar die Anteile von EPA und DPA in den Plasmaphospholipiden, eine Erhöhung des DHA-Anteils kann durch Gabe von ALA aber nicht herbeigeführt werden (Brenna et al. 2009). Wird DHA jedoch mit der Nahrung zugeführt, ist eine deutliche Erhöhung des DHA-Anteils in den Serumlipiden beobachtbar (Brenna et al. 2009).

Für den SAFA- und MUFA-Konsum zeigen die Fettsäuren in den PL ein ungenaueres Bild, da diese Säuren stark metabolisiert und *de novo* synthetisiert werden (Ma et al. 1995; Nikkari et al. 1995). Während zwischen verzehrten SAFA und den SAFA in den Phospholipiden eine schwache positive Korrelation besteht, korrelieren aufgenommene MUFA überraschenderweise nicht oder nur sehr schwach mit den MUFA in den Phospholipiden (Ma et al. 1995; Nikkari et al. 1995). Statt dessen besteht eine positive Korrelation mit den verzehrten SAFA. Dies weist darauf hin, dass die MUFA in den PL endogen aus Nahrungs-SAFA synthetisiert werden.

Zusätzlich beeinflussen eine Reihe von nahrungsbedingten und nahrungsunabhängigen Faktoren die Fettsäurekomposition der Phospholipide.

So wird die Fettsäurezusammensetzung der Phospholipide durch die Gesamtmenge des aufgenommenen Fettes bestimmt. Weniger Fett in der Nahrung lässt die Anteile der  $\omega$ 3-Fettsäuren in den Phospholipiden steigen und die Anteile der  $\omega$ 6-PUFA sinken (Raatz et al. 2001).

Darüber hinaus können einzelne  $\omega$ 3- und  $\omega$ 6-Fettsäuren in der Nahrung die Regulation der Biosynthese der PUFA verändern. Die  $\omega$ 6- und  $\omega$ 3-PUFA konkurrieren um das Schlüsselenzym  $\Delta$ 6-Desaturase (siehe S.6, Tab. 3 und S.6, Tab. 4, (Brenner 1974)). Die Desaturierung von Nahrungsfettsäuren sowohl zu langkettigen  $\omega$ 3- als auch  $\omega$ 6-Fettsäuren wird durch Zufuhr von DHA vermindert (Garg et al. 1988; Emken et al. 1999). Und das Schlüsselenzym  $\Delta$ 6-Desaturase wird auch durch Hormone, zum Beispiel Corticosteroide, blockiert (Das 2002).

Östrogen führt bei Frauen zu einem im Vergleich mit Männern höherem DHA-Spiegel in den Phospholipiden (Giltay et al. 2004) und bewirkt eine messbare Umwandlung von ALA zu DHA (Burdge and Wootton 2002), die bei Männern nicht nachgewiesen werden konnte (Burdge et al. 2002).

Geschlechtsunabhängige Faktoren sind Alkoholkonsum und Rauchen. Alkoholkonsum korrelierte in einer Studie mit erhöhten Palmitinsäureanteilen und niedrigeren Stearinsäureanteilen in den Plasmaphospholipiden (Saadatian-Elahi et al. 2009). Raucher hatten eine erhöhte  $\omega$ 3-Bioverfügbarkeit und eine erhöhte Syntheserate von langkettigen  $\omega$ 3-Fettsäuren als Nichtraucher. Damit wurde wahrscheinlich die durch das Rauchen bedingte Oxidation von Lipiden ausgeglichen (Pawlosky et al. 2007).

Die Fettsäureanteile in den Phospholipiden spiegeln daher einerseits die mit der Nahrung aufgenommenen Fettsäuren wieder, besonders gut im Falle der PUFA. Andererseits können diverse Einflüsse die Anteile einzelner Fettsäuren und Fettsäuregruppen in den PL verändern.

### 2.1.3 Lipidstoffwechsel und Lipoproteine

Triglyceride (TG), bei denen der dreiwertige Alkohol Glycerin mit drei Fettsäuren verestert ist, stellen einen großen Teil der Nahrungslipide dar. Auch Phospholipide, Cholesterin und weitere Lipide werden mit der Nahrung aufgenommen. Nachdem die Lipide im Lumen des Darms zunächst durch Magen- und Pankreaslipase gespalten und folgend durch Gallensäuren emulgiert worden sind, werden sie über die Darmwand resorbiert. Mittelkettige Fettsäuren brauchen zur Resorption keine Gallensäuren und gelangen über die Vena portae direkt zur Leber. Die längerkettigen Fettsäuren sind für ihren Transport in der Blutbahn auf Lipoproteine angewiesen.

Die Lipoproteine werden nach einer gängigen Klassifikation nach ihrer Dichte benannt: Die geringste Dichte haben die triglyceridreichen Chylomikronen, gefolgt von den ebenfalls TG-reichen *very low density lipoproteins* (VLDL), den *low density lipoproteins* (LDL), die TG-arm sind, und den *intermediate density lipoproteins* (IDL). Die höchste Dichte zeigen die *high density lipoproteins* (HDL).

Die Hülle der Lipoproteine wird von einer einfachen Schicht aus Phospholipiden und Cholesterin gebildet. Im Inneren werden TG, Cholesterinester und freie Fettsäuren transportiert. Die Funktion der Lipoproteine wird durch die Apoproteine in ihrer Hülle vermittelt.

Die mit den Apoproteinen der A- und C- Gruppe sowie Apo B48 ausgestatteten Chylomikronen werden in der Darmmukosa aus Nahrungslipiden synthetisiert und dann ins Blut und die Lymphe abgegeben. Apo CII vermittelt die Abgabe von Fettsäuren aus den TG-reichen Chylomikronen an extrahepatische Gewebe. Zudem werden Apoproteine und Cholesterin an HDL-Vorstufen abgegeben. Die Reste der Chylomikronen, auch als *remnant* bezeichnet, werden in der Leber abgebaut.

Die Leber synthetisiert auch VLDL, die mit den Apoproteinen der C-Gruppe sowie Apo B100 und Apo E markiert sind, und sezerniert sie in die Blutbahn. In der Peripherie werden Fettsäuren aus den transportierten TG abgespalten und ans Gewebe abgegeben. VLDL wird zu IDL (*engl. intermediate density lipoprotein*) abgebaut, das in der Leber zu LDL umgebaut wird.

LDL ist das cholesterinreichste Lipoprotein. Über das Apoprotein B100 bindet LDL am LDL-Rezeptor der Zellen und gibt dabei nicht nur exogenes Cholesterin an die Zellen ab, sondern reguliert auch ihre endogene Cholesterinsynthese. Die HDL sind für den reversen Transport des Cholesterins verantwortlich. Sie besitzen die Apoproteine der A- und C-Gruppe und Apo E. HDL nehmen aus Membranen und von Chylomikronen Cholesterin auf und transportieren es zur Leber, die das Cholesterin in Gallensäuren einbaut und über den Darm ausscheidet.

Die in dieser Arbeit gemessenen Fettsäuren der Phospholipide stammen aus den Membranen der aus dem Plasma extrahierten Lipoproteine.

## **2.2 Knochengewebe**

Knochengewebe erfüllt im Körper eine Stützfunktion und schafft die mechanischen Voraussetzungen für die Fortbewegung. Überdies hat es auch eine metabolische Funktion. Es spielt eine wichtige Rolle in der Calciumhomöostase und enthält 99% des im Körper vorhandenen Calciums. Außerdem dient der Knochen als Phosphatdepot. Im Knochenmark findet die Blutbildung statt.

### **2.2.1 Kortikales und trabekuläres Knochengewebe**

Histologisch unterscheidet man zwei Arten von Knochen. Der kortikale Knochen zeichnet sich durch eine kompakte Knochenmasse aus und bildet den Schaft der Röhrenknochen und die Platten der flachen Knochen. Trabekulärer Knochen in den

Enden der Röhrenknochen und dem Inneren der flachen Knochen ist locker formiert. Streben (Trabekel) und Balken bilden eine dreidimensionale Struktur, die sich entlang der mechanischen Kraftlinien des Skeletts ausrichtet. Die äußere (Periosteum) und innere Knochenhaut (Endosteum) enthalten Zellen, die für den Auf-, Ab- und Umbau des Knochens zuständig sind (Datta et al. 2008).

### 2.2.2 Osteoblasten und Osteoklasten

Die Extrazellulärmatrix des Knochens wird von Osteoblasten produziert. Osteoblasten differenzieren sich aus mesenchymalen Vorläuferzellen. Aktive Osteoblasten befinden sich bei Kindern in den Wachstumsfugen und führen durch Bildung von Osteoid, einer zunächst nicht mineralisierten Extrazellulärmatrix, zum Wachstum. Bei Erwachsenen sind die Osteoblasten an dem kontinuierlich stattfindenden Umbau des Knochens beteiligt und bilden unter anderem Knochensubstanz an mechanisch beanspruchten Stellen.

Osteoid besteht zu großen Teilen aus Kollagen Typ I. Eingebettete Glycoproteine besitzen Bindungsstellen für Calciumphosphate, die in Form von Hydroxylapatit in die organische Substanz eingelagert werden und zu ihrer Verkalkung führen. Zusammen mit Wasser stellt Hydroxylapatit 80% der Knochensubstanz, nur 20% ist organisches Material (Datta et al. 2008). Die verkalkte Matrix schließt im Verlauf der Knochenbildung die Osteoblasten ein, von denen einige weiter zu Osteozyten differenzieren. Diese bleiben durch Zellfortsätze miteinander in Kontakt. Vermutlich reagieren Osteozyten auf mechanische Belastung des Knochens und regen den Umbau des Skeletts an (Datta et al. 2008; Blackwell et al. 2010).

Osteoblasten können außerdem die Aktivität und Reifung von Osteoklasten sowohl stimulieren als auch hemmen. Osteoklasten, die von den Makrophagen abstammen, sind als einziger Zelltyp des Körpers in der Lage, Knochensubstanz abzubauen. Sie können sich fest an den Knochen heften und sogenannte Howship-Lakunen bilden. In diese Lakunen sezernieren sie Wasserstoffionen und lysosomale Proteasen, die zum Abbau sowohl der anorganischen als auch organischen Anteile des Knochens führen (Datta et al. 2008). Die Osteoklastogenese wird durch RANK-L (*engl. receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand*) stimuliert (Raggatt and Partridge 2010). RANK-L wird unter anderem von Osteoblasten gebildet, denen somit eine wichtige regulierende Funktion im Reifungsprozess der Osteoklasten zukommt. Auf die Differenzierung der Osteoklasten

wirken außerdem para- und endokrine Faktoren, z.B. Parathormon (PTH), Vitamin D3, die Sexualhormone und Interleukine ("Prevention and management of osteoporosis" 2003). Der reife Osteoklast entsteht durch die Verschmelzung mehrerer Vorläuferzellen und ist somit multinukleär.

Die Balance zwischen der Aktivität von Osteoblasten und Osteoklasten entscheidet darüber, ob die Knochenmasse erhalten bleibt oder ein Knochensubstanzverlust eintritt.

### 2.2.3 Modelling und Remodelling

Das Skelett befindet sich lebenslang in einem ständigen Umbau, bei dem *Modelling* und *Remodelling* unterschieden werden können.

*Modelling* wird der Prozess genannt, der für das Wachstum und die Form der Knochen sowie die Anpassung an mechanische Beanspruchung verantwortlich ist. Osteoblasten und Osteoklasten agieren unabhängig voneinander, so dass beim *Modelling* die Neubildung von Knochen nicht an eine vorherige Resorption von Knochen gekoppelt ist. Vielmehr reagieren die Osteoblasten auf eine mechanische Belastung mit Anlagerung von Knochensubstanz an den entsprechenden Stellen des Skeletts. Bei Immobilität dagegen führt eine erhöhte Aktivität der Osteoklasten zu Knochensubstanzverlust ("Prevention and management of osteoporosis" 2003; Brandi 2009).

Als *Remodelling* bezeichnet man den Umbau von bereits gebildetem Knochen: An geschädigten Zonen des Knochens wird zunächst durch Osteoklasten Knochenmasse aufgelöst und danach von Osteoblasten neuer Knochen gebildet (Raggatt and Partridge 2010). Dazu bedarf es einer komplizierten Interaktion zwischen den beteiligten Zellen. In diesem Prozess wird pro Jahr etwa 10% des erwachsenen Skeletts erneuert ("Prevention and management of osteoporosis" 2003; Brandi 2009).

#### 2.2.4 Parakrine Regulation des Knochenstoffwechsels

Das Zusammenwirken der Zellen im Knochen wird durch eine Vielzahl von im Knochen synthetisierten Zytokinen beeinflusst. Die meisten Zytokine wirken durch eine Modulation der Interaktion zwischen Osteoblasten und –klasten.

Pro-inflammatorische Zytokine wie beispielsweise Interleukin-1 (IL-1), TNF $\alpha$  (*engl. tumor necrosis factor  $\alpha$* ) und Interleukin-6 (IL-6) stimulieren die Osteoklastogenese und die Aktivität der Osteoklasten und führen so zum Abbau von Knochen (Datta et al. 2008).

Arachidonsäure, ein Bestandteil von Membranphospholipiden, ist der Vorläufer des Zytokins Prostaglandin E2 (PGE2), dem eine zentrale Rolle im Knochenstoffwechsel zukommt. Mit Hilfe des Enzyms Cyclooxygenase (COX) wird aus Arachidonsäure PGE2 gebildet. PGE2 kommt im Knochen in großen Mengen vor. Über auto- und parakrine Mechanismen kann es sowohl den Abbau als auch den Aufbau von Knochen stimulieren. Die katabolen Effekte von PGE2 werden zum einen durch die Stimulation von Knochenabbau fördernden Substanzen (u.a. Interleukine, TNF $\alpha$ , Parathormon) erreicht, zum anderen vermittelt PGE2 in Osteoblasten eine vermehrte Expression des die Osteoklastogenese stimulierenden RANK-L (Kanematsu et al. 2000). Bei entzündlichen Erkrankungen können hohe Spiegel proinflammatorischer Zytokine zu einer Erhöhung der Cyclooxygenase führen, die über PGE2 zu Knochensubstanzverlust führt.

Andererseits kann PGE2 auch anabol auf den Knochen wirken. *In vivo* und *in vitro* konnten aktivierende Effekte von PGE2 auf die Osteoblastendifferenzierung beobachtet werden. In einer Humanstudie führte die Einnahme von COX-2-Inhibitoren, die die Prostaglandinproduktion senken, zu einer niedrigeren Knochendichte bei Männern (Richards et al. 2006). Eine Erklärung dafür könnte die Beteiligung von PGE2 an der Mechanotransduktion sein, bei der Osteozyten als Reaktion auf mechanische Belastung die Knochenbildung anregen (Blackwell et al. 2010). Fällt diese anabole Funktion von PGE2 weg, kommt es demnach zu einer niedrigeren Knochendichte.

Unklar ist bislang, in welcher Situation der katabole bzw. anabole Effekt von PGE2 überwiegt. Zum Beispiel scheint PGE2 bei intermittierender Ausschüttung eher die Formation von Knochensubstanz anzuregen während kontinuierlich hohe Spiegel zur Resorption führen (Blackwell et al. 2010).

Die Osteoblasten und Osteoklasten, die durch ihre Aktivität eine Verminderung oder Vermehrung von Knochenmasse bewirken können, werden also entscheidend durch im Knochen ausgeschüttete Zytokine beeinflusst.

#### 2.2.5 Endokrine Regulation des Knochenstoffwechsels

Die wichtigsten Hormone mit Einfluss auf den Knochenstoffwechsel sind Vitamin D, Parathormon, Calcitonin, Glukocorticoide und Sexualhormone.

Bei einem Mangel an Vitamin D kommt es durch die Störung der Mineralisierung des Knochens zum Krankheitsbild der Rachitis bei Kindern bzw. der Osteomalazie bei Erwachsenen. Vitamin D<sub>3</sub> kann mit der Nahrung, vor allem Fisch, aufgenommen werden und in kleinen Mengen unter Einwirkung der Sonne auf die Haut endogen synthetisiert werden. In seiner aktivierten Form, dem 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (kurz: Vitamin D<sub>3</sub>), steigert das Vitamin die Resorption von Calcium im Darm und die Rückresorption von Calcium in der Niere. Befindet sich ausreichend Calcium im Blut, kann es von den Osteoblasten zur Mineralisierung verwendet werden. In diesem Sinne wirkt Vitamin D<sub>3</sub> anabol auf den Knochen. Andererseits kann Vitamin D<sub>3</sub> bei einem Mangel an Calcium dieses aus dem Knochen mobilisieren und trägt so zu einer Aufrechterhaltung der Calciumkonzentration im Blut bei (Holick 2007; DeLuca 2008).

Sinkt die Konzentration des Minerals im Blut, reagieren die Nebenschilddrüsen mit der Sekretion von Parathormon (PTH). PTH erhöht den Calciumspiegel im Blut über die Aktivierung des Knochenabbaus durch Osteoklasten und über vermehrte Rückresorption von Calcium in der Niere. Darüber hinaus reguliert PTH einen Syntheseschritt im Vitamin D-Metabolismus und ist ein wirkungsvoller Stimulant der Cyclooxygenase-2 und der Prostaglandinproduktion (Blackwell et al. 2010). PTH kann, wird es intermittierend zugeführt, ebenso wie PGE<sub>2</sub> anabole Effekte auf den Knochen haben, obwohl es hauptsächlich als Knochenabbau förderndes Hormon gesehen wird (de Paula and Rosen 2010).

Steigt der Calciumspiegel an, wird weniger PTH ausgeschüttet und das in den C-Zellen gebildete Calcitonin führt über die Hemmung von Osteoklasten zu vermehrtem Einbau von Calcium in den Knochen und so zu einer Senkung des Blutspiegels (de Paula and Rosen 2010).

Für den Erhalt der Knochendichte sorgen auch die Sexualhormone. Sie hemmen unter anderem die Produktion von Zytokinen wie TNF $\alpha$  und IL-1 und IL6 und bremsen so

den Knochenabbau ("Prevention and management of osteoporosis" 2003; Frenkel et al. 2010). Die Verminderung des Östrogens nach der Menopause ist deshalb ein Faktor für die Entwicklung von Osteoporose bei Frauen. Als Risikofaktor dieser Erkrankung gilt auch die hochdosierte Einnahme von Glukocorticoiden, denn das Stresshormon Cortisol führt zu einem Knochendichteverlust (Canalis and Delany 2002; Lodish et al. 2010). Die Kontrolle der Osteoblasten und Osteoklasten ist somit stufenartig aufgebaut: Während Zytokine direkt auf diese Zellen wirken, entfalten Hormone vor allem durch die Beeinflussung der Zytokine ihre Wirkung auf den Knochen.

#### 2.2.6 Knochendichte und Knochenmineralgehalt

Der Mineralgehalt, also das Hydroxylapatit des Knochens (*engl. bone mineral content, BMC, [g]*) wird mit Dual-Energy-Röntgenabsorptiometern (*engl. dual-x-ray-absorptiometer, DXA*) gemessen. Vereinfachend ausgedrückt steigt mit dem Mineralgehalt die Abschwächung der eingesetzten Röntgenstrahlen. Um die Messung für überlagerte Weichteile zu korrigieren, wird ein Doppelstrahl benötigt (Adams 2008). Mit Hilfe einer computergestützten Ausmessung der Knochenfläche (*engl. bone area, BA, [cm<sup>2</sup>]*) kann dann aus dem BMC und der BA die areale Knochendichte (*engl. bone mineral density, BMD, [g/cm<sup>2</sup>]*) errechnet werden:

$$\text{BMC [g]} / \text{BA [cm}^2\text{]} = \text{BMD [g/cm}^2\text{]}$$

Knochendensitometrie mit DXA ist kostengünstig, schnell durchführbar und hat eine gute Vorhersagekraft für das Frakturrisiko eines Patienten. Die DXA-Messung gehört deshalb zur Standarddiagnostik der Osteoporose (Blake and Fogelman 2010).

Obgleich von Knochendichte gesprochen wird, handelt es sich im physikalischen Sinn nicht um eine Dichte, denn diese müsste in Kubikzentimetern angegeben werden. Die BMD aber drückt die Masse an Hydroxylapatit pro Quadratzentimeter Knochen aus und ist somit ein zweidimensionaler Wert für eine in der Realität dreidimensionale Struktur. So können beispielsweise Frakturen oder Osteophyten zu falsch hohen Knochendichtewerten führen. Auch die Größe der Knochen beeinflusst den Messwert. Kurze Knochen und Knochen mit geringem Volumen haben niedrigere Knochendichtewerte (Adams 2008; Blake and Fogelman 2010). Dies muss bei der Auswertung der Messwerte berücksichtigt werden.

Bei der Messung der BMD wird außerdem nicht zwischen dem dichteren kortikalem und dem locker konstituierten trabekulärem Knochen unterschieden. Da die Anteile von kortikalem bzw. trabekulärem Knochen je nach Skelettort variieren, hat das Skelett einer Person unterschiedliche Knochendichtewerte (Adams 2008).

DXA-Messungen sind außerdem stark vom Untersucher abhängig. Die beste Reproduzierbarkeit wird durch den Einsatz ein und desselben, gut ausgebildeten Untersuchers erreicht. Der Grad der Reproduzierbarkeit wird durch den Präzisionsfehler ausgedrückt und bezeichnet die Streubreite der Messwerte. Er liegt für die Hüfte und die LWS bei etwa 1-2% und für den Schenkelhals bei 2,5% (Adams 2008; Blake and Fogelman 2010). Eine weitere Einschränkung ist der Fakt, dass mit DXA nur zwischen Knochengewebe und restlichem Gewebe unterschieden werden kann. Die unterschiedliche Zusammensetzung der Weichteile, die den Knochen überlagern, wird nicht berücksichtigt. Auch dies beeinflusst die Messwerte. Besonders ausgeprägt ist dieser Effekt im Abdomen, in dem der Knochen von einer großen Masse Weichgewebe überdeckt ist (Blake and Fogelman 2010).

### 2.2.7 Peak Bone Mass

Die *Peak Bone Mass* (PBM) ist die im Leben maximal erreichte Knochendichte. Sie ist stark genetisch determiniert und bestimmt auch die Knochendichte im Alter und das damit verbundene Risiko für osteoporotische Erkrankungen (Seeman et al. 1994; Bradney et al. 2000; Heaney et al. 2000).

Nicht alle Abschnitte des Skeletts erreichen die maximale Knochendichte zur selben Zeit. Allgemein gesehen liegt dieser Zeitpunkt in der späten Adoleszenz (Henry et al. 2004; Kelly et al. 2009). Die Pubertät ist eine wichtige Phase für die Skelettreifung, da ein großer Teil des Calciums des ausgewachsenen Skeletts in diesen Jahren eingelagert wird (Bonjour et al. 1991; Bradney et al. 2000; Henry et al. 2004).

Die Knochendichte und der Mineralgehalt des gesamten Skeletts bei hellhäutigen Männern verzeichnet einen starken Anstieg bis um das 17. Lebensjahr, danach flacht die Kurve ab, das heißt die Knochendichte steigt nicht mehr nennenswert an (Kelly et al. 2009). Die Probanden der vorliegenden Studie befanden sich im Alter von 24 bzw. 28 Jahren also in einer Phase, in der sich die Knochendichte und der Mineralgehalt des Knochens nicht mehr entscheidend ändern (Slosman et al. 1994).

### 2.2.8 Osteoporose

Der Dachverband Osteologie (DVO) definiert Osteoporose als „systemische Skeletterkrankung, die durch eine niedrige Knochenmasse und mikroarchitektonische Verschlechterung des Knochengewebes charakterisiert ist.“ ("DVO-Leitlinie 2009 zur Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der Osteoporose bei Erwachsenen" 2009). In der Folge kommt es zu einer verminderten Widerstandskraft der Knochen und einem erhöhtem Frakturrisiko. Typisch sind Wirbelkörperbrüche und Frakturen des Schenkelhalses nach Bagatelltraumen. Die WHO definiert die Inzidenz der Osteoporose über eine mit DXA gemessene Knochendichte mit einem T-Wert ab  $-2,5$ . Dies bedeutet einen individuellen Wert, der 2,5 Standardabweichungen unter der durchschnittlichen BMD gesunder Erwachsener liegt ("Prevention and management of osteoporosis" 2003). Je mehr Standardabweichungen die BMD eines Individuums unter der durchschnittlichen maximalen Knochendichte liegt, desto höher ist das individuelle Frakturrisiko.

Die Knochendichte ist das Resultat des Verhältnisses von Knochenauf- zu Knochenabbau. Frauen in der Postmenopause sind am stärksten von Osteoporose betroffen, da in dieser Gruppe der Knochendichteverlust mit 35-50% bei trabekulärem und 25-30% bei kortikalem Knochen besonders ausgeprägt ist. Männer im selben Alter verlieren nur etwa 15-45% der Knochendichte des trabekulären und 5-15% des kortikalen Knochens ("Prevention and management of osteoporosis" 2003). Jedoch steigt mit dem Alter auch die Zahl an Männern mit Osteoporose. In den USA erfüllen 7% der hellhäutigen Männer die Osteoporose-Kriterien der WHO ("Prevention and management of osteoporosis" 2003). Neben erheblichen Kosten für die Gemeinschaft zieht diese Erkrankung häufig eine beträchtliche Verminderung der Lebensqualität und Erhöhung der Morbidität und Mortalität der Betroffenen nach Stürzen mit sich.

Allgemeine Risikofaktoren für Osteoporose sind Untergewicht, Immobilität, Calcium- und Vitamin D<sub>3</sub>-Mangel, hohes Alter, weibliches Geschlecht, Nikotin und einige Medikamente (z.B. Glukocorticoide). Auch die genetischen Vorraussetzungen des Einzelnen spielen eine Rolle (Rittweger 2006). Dabei kommt der in der Jugend erreichten maximalen Knochendichte eine ausschlaggebende Bedeutung zu. Die PBM ist bis zu 60% genetisch determiniert und der Startpunkt für den folgenden lebenslangen Knochenverlust (Rizzoli et al. 2010). Ihre Höhe bestimmt die Knochendichte im Alter und damit auch die Wahrscheinlichkeit für eine manifeste Osteoporose (Seeman et al.

1994; Bradney et al. 2000; Heaney et al. 2000; Rizzoli et al. 2010). Gesicherte Faktoren, die die maximale Knochendichte erhöhen können, sind sportliche Aktivität und Ernährungsfaktoren wie Calcium, Vitamin D3 und ein ausreichender Proteingehalt der Nahrung im Kindes- und Jugendalter (Rizzoli et al. 2010). Nahrungslipide als möglicher zu optimierender diätischer Faktor hingegen sind bislang nicht hinreichend untersucht. Dies könnte ein relevanter Ansatzpunkt bei der Prävention der Osteoporose sein, denn eine Erhöhung der maximalen Knochendichte um 10% im jugendlichen Alter bedeutet die Erhöhung der Knochendichte um eine Standardabweichung im Erwachsenenalter. Dies korrespondiert mit der Verminderung des osteoporotischen Frakturrisikos um bis zu 50% (Rizzoli et al. 2010).

## **2.3 Wirkung von Fettsäuren auf Knochen und andere Gewebe**

### **2.3.1 Wirkung von $\omega$ 3-PUFA auf verschiedene Erkrankungen**

Bereits vor über drei Jahrzehnten standen  $\omega$ 3-Fettsäuren im Fokus klinischer Forschung. In den 70er Jahren bemerkten Forscher, dass grönländische Eskimos extrem selten an Herzinfarkt starben (Bang et al. 1980). Als Ursache wurde schon zu diesem Zeitpunkt der hohe Gehalt an  $\omega$ 3-Fettsäuren in der Nahrung der Eskimos vermutet.

Dass die  $\omega$ 3-PUFA aktuell anhaltend großes wissenschaftliches Interesse erregen, zeigt eine vor wenigen Jahren publizierte Metaanalyse zum Thema  $\omega$ 3-Fettsäuren und kardiovaskuläre Gesundheit, in der 89 aktuelle Studien analysiert wurden (Hooper et al. 2004). Die Autoren des renommierten *Cochrane Reviews* kommen zu dem Schluss, dass ein eindeutiger Beweis für die Wirksamkeit der  $\omega$ 3-PUFA auf das kardiovaskuläre System noch aussteht. Dennoch bestärken die Ergebnisse vieler Studien die Vermutung, dass  $\omega$ 3-PUFA einen positiven Effekt auf das Herz-Kreislaufsystem haben. Beispielsweise hatten in einem Vergleich von 36 Ländern Konsumenten von  $\omega$ 3-Fettsäure-reichem Fisch eine geringere Mortalität durch Herzinfarkt (Zhang et al. 1999). Diese inverse Korrelation zwischen Konsum von  $\omega$ 3-Fettsäuren und koronaren Ereignissen fand sich in weiteren Studien wieder (Albert et al. 1998; Levitan et al. 2009).

Myokardinfarktpatienten ("Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione trial.

Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto miocardico" 1999) und Patienten mit Herzinsuffizienz (Tavazzi et al. 2008) profitierten von einer Substitution mit  $\omega$ 3-PUFA. Überdies konnte gezeigt werden, dass  $\omega$ 3-PUFA Triglyceride und LDL im Blut senken und HDL-Spiegel erhöhen (Khandelwal et al. 2009; Lopez-Huertas 2009; Rajaram et al. 2009). Die Verbesserung des Lipidstatus könnte dabei für einen Teil der beobachteten Wirkungen verantwortlich sein. Auffällig ist, dass die Effekte der  $\omega$ 3-Fettsäuren am deutlichsten bei vorbelasteten, also Patienten mit Koronarer Herzkrankheit, zu sein scheinen (Yokoyama et al. 2007).

$\omega$ 3-Fettsäuren beeinflussen darüber hinaus vermutlich eine ganze Reihe von Erkrankungen positiv, darunter die Zystische Fibrose (McKarney et al. 2007), Depressionen (Martins 2009), Demenz (Lim et al. 2006) und chronisch-entzündliche Darmerkrankungen (Calder 2008). Weitere Studien beschäftigten sich mit dem Effekt von  $\omega$ 3-PUFA auf die Rheumatoide Arthritis (RA), eine entzündliche Erkrankung der Gelenke.  $\omega$ 3-PUFA in der Nahrung oder  $\omega$ 3-PUFA-Substitution mit Kapseln senkten bei RA-Patienten Entzündungsparameter im Blut (Dawczynski et al. 2009), verminderten den Gelenkschmerz (Galarraga et al. 2008) und reduzierten die Zeit der Morgensteifigkeit (Kremer et al. 1995; Berbert et al. 2005).

$\omega$ 3-PUFA zeigten demzufolge Effekte auf Erkrankungen unterschiedlicher Organsysteme, darunter das Herz-Kreislaufsystem, die Psyche, den Darm und die Gelenke. Dagegen wird die Wirkung der Fettsäuren auf den Knochen und, genauer, die Knochendichte, zur Zeit noch kontrovers diskutiert.

### 2.3.2 Wirkung von $\omega$ 3- und $\omega$ 6-PUFA auf die Knochendichte

#### *2.3.2.1 Mechanismen von $\omega$ 3-PUFA im Knochen*

Durch welche Mechanismen  $\omega$ 3-PUFA auf den Knochenstoffwechsel wirken ist bislang nicht abschließend geklärt.

Ergebnisse aus Zellversuchen erhärten die These, dass zumindest eine Eigenschaft von  $\omega$ 3-Fettsäuren in der Hemmung von Entzündungsprozessen und der Reduktion von Entzündungsmediatoren liegt (Kelley et al. 1999; Calder 2009). Langkettige  $\omega$ 3-Fettsäuren wie Eicosapentaensäure und Docosahexaensäure werden in Entzündungszellen aufgenommen und inhibieren kompetitiv die Aufnahme von

Arachidonsäure. Als Konsequenz nehmen Lymphozyten und Monozyten weniger AA auf (Kelley et al. 1999) und erzeugen weniger entzündungsfördernde Eicosanoide daraus (Kelley et al. 1999; Calder 2009). Im Tierversuch mit Ratten sank die AA-Konzentration im Fett der Knochen, als  $\omega$ 3-PUFA reiches Futter gegeben wurde (Watkins et al. 2000).

DHA und EPA werden von verschiedenen Enzymen, darunter die Cyclooxygenase (COX) und Lipooxygenase (LOX), zu metabolisch aktiven Substanzen umgebaut. Aus 20-C-Atom- $\omega$ 3-Fettsäuren werden Eicosanoide synthetisiert, zu denen Prostaglandine, Leukotriene und Resolvine gehören. Die aus  $\omega$ 3-PUFA synthetisierten Eicosanoide spielen jedoch im Entzündungsgeschehen vermutlich eine untergeordnete Rolle (Fernandes et al. 2003). Resolvine sind anti-inflammatorisch wirksam (Calder 2009), so dass DHA und EPA über diesen Weg eine entzündungshemmende Wirkung haben.

Eine wichtige Konsequenz der Verminderung von AA durch  $\omega$ 3-PUFA ist die Reduktion von Prostaglandin E2 (PGE2) und anderen den Knochenabbau fördernden Zytokine. Dies konnte im Tierversuch sowohl in der Rattenleber (Garg et al. 1988; Kokkinos et al. 1993) als auch in Leber und Knochen bei Küken (Watkins et al. 1997) und *ex vivo* in Knochenzellen von Japanwachteln (Liu et al. 2004) gezeigt werden.

Beim Menschen ist dieser Effekt ebenfalls bekannt. Neben anderen Zytokinen fielen PGE2 und Interleukin-1b (IL-1b), das ebenfalls Knochenabbau vermittelt, im Blut junger männlicher Probanden ab, nachdem sie zwei Wochen lang eine  $\omega$ 3-reiche Diät konsumiert hatten (Mantzioris et al. 2000). Beobachtet wurde auch eine negative Korrelation zwischen der Höhe von EPA in verschiedenen Geweben und der Produktion von PGE2, IL-1b und TNF $\alpha$  (einem weiteren den Knochenabbau stimulierenden Zytokin) in Leukozyten bzw. in Vollblut (Caughey et al. 1996; Mantzioris et al. 2000).

Ein weiterer Ansatzpunkt der  $\omega$ 3-PUFA ist der von T-Zellen sezernierte lösliche RANK-L, der die Aktivität von Osteoklasten erhöht. Durch die Verminderung von Produktion von RANK-L in T-Zellen bzw. eine Hemmung der Differenzierung von durch RANK-L stimulierte Osteoklasten-Vorläuferzellen inhibieren  $\omega$ 3-Fettsäuren die Osteoklastogenese, dies verhindert den Abbau von Knochengewebe (Fernandes et al. 2003; Bhattacharya et al. 2005), wobei hier DHA erheblich effektiver wirkt als EPA (Rahman et al. 2008).

Zusätzlich steigern essentielle Fettsäuren *in vitro* die Produktion von endotheliale Stickstoff (NO), einem Mediator, der die Aktivität von Osteoklasten vermindert (Das

2002). Hinweise gibt es auch darauf, dass PUFA die Spiegel von IGF-1 (*engl. insulin like growth factor*) erhöhen und auch so zum Knochenaufbau beitragen könnten (Watkins et al. 1997).

Ein weiterer Mechanismus, über den  $\omega$ 3-Fettsäuren auf den Knochen wirken, könnte eine erhöhte Calcium-Absorption im Darm bei Anwesenheit von  $\omega$ 3-PUFA (Coetzer et al. 1994) sein. Dabei scheint vor allem DHA die Calciumresorption zu steigern (Haag et al. 2003). Möglich wäre auch eine Verminderung der Calciumausscheidung durch  $\omega$ 3-PUFA (Buck et al. 1991; Yasui et al. 2001).

Vermutlich wirken die Reduktion von Entzündungsmediatoren, die Inhibition der Osteoklastogenese und die Stimulierung der Osteoblastogenese sowie eine gesteigerte Calcium-Aufnahme aus der Nahrung und eine höhere Calcium-Rückresorption zusammen und führen so zu einer Knochenaufbau-fördernden Wirkung der  $\omega$ 3-PUFA.

#### *2.3.2.2 Mechanismen von $\omega$ 6-PUFA im Knochen*

Die  $\omega$ 6-PUFA Arachidonsäure (AA) kommt in großen Mengen im Knochen vor. Als Vorläufer von PGE2 kann AA zum Knochenabbau führen wie oben beschrieben. Die Wirkung von  $\omega$ 6-PUFA auf den Knochen ist aber nicht in allen Fällen katabol.

Tierstudien, die überwiegend an Ratten durchgeführt wurden, deuten darauf hin, dass eine hohe PGE2 Konzentration zwar den Knochenabbau stimuliert, geringe Mengen von  $\omega$ 6-PUFA in der Nahrung dagegen den Knochenaufbau stimulieren können (Kruger et al. 2010). Wichtig sind auch die einzelnen Anteile der Fettsäuren an der Gesamtmenge der  $\omega$ 6-PUFA. Wird beispielsweise viel  $\gamma$ -Linolensäure mit der Nahrung zugeführt, sinkt in der Folge die PGE2 Produktion. Zusätzlich steigt die Produktion von Prostaglandin E1, das anabole Effekte auf den Knochen hat (Corwin 2003).

In einem anderen Experiment wiederum steigerten  $\gamma$ -Linolensäure wie auch AA die RANK-L Konzentration in Mausezellen (Kruger et al. 2010) und könnten so zur Osteoklastogenese beitragen.

Dies illustriert die Komplexität der Wirkmechanismen von Fettsäuren auf den Knochen. Eine Vielzahl von Einflussfaktoren bestimmen somit die Wirkung einer Fettsäure.

### 2.3.2.3 Daten zu $\omega$ 3- und $\omega$ 6-PUFA und Knochendichte aus Tierstudien

Die Wirkung von  $\omega$ 3-PUFA auf die Knochendichte wurde in Tierstudien, zumeist mit Ratten und Mäusen, extensiv untersucht.

Die positive Wirkung von  $\omega$ 3-PUFA in der Nahrung auf den Knochen konnte bis auf wenige Ausnahmen (Weiler 2002; Sirois 2003; Poulsen 2006) nachgewiesen werden.

Bei ovariectomierten Nagern, einem Osteoporosemodell, konnte eine Erhöhung der mechanischen Widerstandskraft der Knochen im Dreipunktbiegeversuch nachgewiesen werden (Sakaguchi et al. 1994). Im Dreipunktbiegeversuch wird ein langer Röhrenknochen, meist Femur oder Tibia, an seinen Enden fixiert und in der Schaftmitte einer verbiegenden Kraft ausgesetzt. Mit  $\omega$ 3-PUFA angereichertes Futter führte auch zu einer Erhöhung der BMD (Fernandes et al. 2003) und des BMC (Poulsen et al. 2007) und zu einer Hemmung der Osteoklastogenese (Sun et al. 2003).

Durch  $\omega$ 3-reiche Nahrung konnten auch die mechanische Widerstandskraft des Knochens im Dreipunktbiegeversuch bei männlichen Ratten (Shen et al. 2007) und der Mineralgehalt der Knochen bei Japanwachtelnmännchen (Liu et al. 2003) beeinflusst werden.

Weitere Versuche wurden mit Tieren im Wachstum durchgeführt, und auch hier zeigte sich eine positive Beziehung zwischen  $\omega$ 3-PUFA und der Knochengesundheit: Der DHA-Gehalt der Nahrung korrelierte positiv mit dem BMC junger Ratten (Li et al. 2010), während  $\omega$ 3-PUFA Mangel mit einer erhöhten Knochenbrüchigkeit einherging (Reinwald et al. 2004). Eine erhöhte Calciumresorption wurde gemessen, als  $\omega$ 3-PUFA und konjugierte Linolsäure (eine  $\omega$ 6-Fettsäure) im Futter kombiniert wurden (Kelly et al. 2003).

Das Verhältnis von  $\omega$ 3-PUFA zu  $\omega$ 6-PUFA scheint bei der Wirkung von Fettsäuren auf die Knochen ebenfalls eine Rolle zu spielen. Hohe Anteile an  $\omega$ 3-PUFA und niedrige  $\omega$ 6-Anteile verminderten die *ex vivo* PGE2-Produktion bei Ratten (Watkins et al. 2000). Ist der Anteil an  $\omega$ 6-PUFA zu gering, scheint dies jedoch auch negative Auswirkungen zu haben und zum Beispiel die Kortikalis zu verdünnen (Judex et al. 2000; Korotkova et al. 2004). Eine ausreichende Versorgung mit  $\omega$ 6-Fettsäuren scheint daher neben der Versorgung mit  $\omega$ 3-PUFA wichtig für den Knochenstoffwechsel zu sein. Dabei scheint die  $\omega$ 6-Fettsäure AA vor allem positiv auf den BMC wirksam zu sein, wie Ergebnisse aus Studien mit Ferkeln zeigen (Blanaru et al. 2004; Kohut et al. 2009).

Eine starke Erhöhung der  $\omega$ 3-PUFA-Anteile in der Nahrung wiederum steigert nicht unbedingt die positiven Effekte dieser Fettsäuren auf den Knochen. Ferkel, die eine geringe absolute Menge an DHA bekamen, hatten bei gleichbleibendem AA:DHA-Verhältnis eine höhere BMD als Ferkel, die mehr DHA konsumierten (Mollard et al. 2005). Und sehr hohe  $\omega$ 3-PUFA-Anteile führten bei Kaninchen sogar zu reduziertem Längenwachstum der Tibia, eine Beobachtung, die allerdings bislang nicht wiederholt werden konnte (Judex et al. 2000).

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse aus Tierstudien, dass  $\omega$ 3-PUFA und vor allem DHA eine positive Wirkung auf den Knochenstoffwechsel, die mechanischen Eigenschaften des Knochens sowie BMD und BMC haben können. Sowohl die Quantität der PUFA als auch das Verhältnis von  $\omega$ 3- zu  $\omega$ 6-PUFA-Anteilen scheint für Knochendichte und Mineralgehalt wichtig zu sein, wobei sowohl ein großer Überschuss an  $\omega$ 6- als auch an  $\omega$ 3-PUFA ungünstig zu sein scheint.

#### *2.3.2.4 Daten zu $\omega$ 3- und $\omega$ 6-PUFA und Knochendichte aus Studien am Menschen*

Eine besondere Stellung unter den Studien am Menschen zur Wirkung von  $\omega$ 3-PUFA auf die Knochendichte nimmt die Studie von Hogstrom et. al. ein, welche die Grundlage für die vorliegende Arbeit bildet. Bei 78 jungen gesunden schwedischen Männern wurden die Fettsäureanteile der Phospholipide mit der mittels DXA gemessenen Knochendichte korreliert. Statistisch signifikant korrelierte sowohl der Anteil der langkettigen  $\omega$ 3-Fettsäure DHA als auch der Anteil der  $\omega$ 3-Fettsäuren der Phospholipide (PL) positiv mit der Knochendichte (Hogstrom et al. 2007). Dies ist die einzige Studie am Menschen, in der bei jungen gesunden männlichen Probanden eine Korrelation zwischen  $\omega$ 3-PUFA in den Phospholipiden und der Knochendichte gefunden wurde.

Positive Auswirkungen der  $\omega$ 3-PUFA auf die BMD und verschiedene biochemische Marker für den Knochen wurden des Weiteren bei Patienten nach Nierentransplantation (Baggio et al. 2005), bei Adipösen (Griel et al. 2007), Osteoporosepatienten (van Papendorp 1995; Kruger et al. 1998) und bei Kindern mit Zystischer Fibrose (Gronowitz et al. 2006; Gronowitz et al. 2008) gefunden. Interessant ist, dass die Korrelation nicht bei Erwachsenen mit dieser Krankheit (Gronowitz et al. 2006) und

auch nicht bei gesunden Kindern in der Kontrollgruppe (Gronowitz et al. 2008) beobachtet werden konnte.

Studien mit Menschen ohne eine spezielle Grunderkrankung zeigten, dass bei älteren, selbstständig lebenden Erwachsenen eine niedrigere  $\omega 6/\omega 3$ -Ratio der Nahrung mit einer höheren Knochendichte korrelierte und in einer Studie mit Altersheimbewohnern 6% der Varianz der BMD durch  $\omega 3$ -PUFA erklärt wurde (Weiss et al. 2005; Rousseau et al. 2009).

Dagegen zeigte die Substitution von  $\omega 3$ -PUFA bei gesunden prä- und postmenopausalen Frauen keinen Effekt auf die BMD (Bassey et al. 2000; Dodin et al. 2005) und in einer bevölkerungsbasierten Studie mit 14 000 Teilnehmern bestand keine Assoziation zwischen  $\omega 3$ -Fettsäuren in der Nahrung und der Knochendichte (Corwin et al. 2006). Bei orthopädischen Patienten bestand kein Zusammenhang zwischen der Fettsäurekomposition im Knochenmarksfett und der BMD (Griffith et al. 2009) und von regelmäßigem Fischkonsum profitierten in einer chinesischen Studie nur weibliche Probanden, während die BMD der Männer unbeeinflusst blieb (Zalloua et al. 2007). Eine Studie berichtet sogar über einen negativen Effekt von langkettigen mehrfach ungesättigten Fettsäuren in der Nahrung auf die BMD (Macdonald et al. 2004), wobei in dieser Studie nicht zwischen  $\omega 3$ - und  $\omega 6$ -PUFA unterschieden wurde.

Die untersuchten Probandenkollektive unterscheiden sich im Geschlecht, Hormon- und Gesundheitsstatus, Faktoren, die potentiell eine Auswirkung auf das Ergebnis einer Studie haben können. Zudem arbeiteten einige Studien mit der Substitution von  $\omega 3$ -PUFA, andere dagegen ermittelten die Menge der aufgenommenen Fettsäuren durch einen Fragebogen oder maßen den Fettsäurestatus im Blut. Die Interventionsstudien fanden teils eine Wirkung von  $\omega 3$ -Fettsäuren auf die BMD (Kruger et al. 1998) bzw. auf biochemische Marker des Knochenauf- und abbaus (van Papendorp 1995; Griel et al. 2007), teils konnte kein Effekt festgestellt werden (Bassey et al. 2000; Dodin et al. 2005). Auch die Arbeiten, in denen der Fettsäurestatus mittels Fragebogen oder Fettsäuremessung ermittelt und mit der Knochendichte korreliert wurden, fanden sowohl positive (Baggio et al. 2005; Weiss et al. 2005; Gronowitz et al. 2006; Hogstrom et al. 2007; Gronowitz et al. 2008; Rousseau et al. 2009) als auch negative Antworten (Macdonald et al. 2004; Corwin et al. 2006; Zalloua et al. 2007; Griffith et al. 2009) auf die Frage, ob  $\omega 3$ -PUFA die Knochendichte beeinflussen.

Ob  $\omega$ 3-PUFA einen Einfluss auf die Knochendichte haben, ist somit bislang nicht eindeutig zu beantworten. Unabhängig von der Zusammensetzung des Probandenkollektivs und des Studiendesigns wurden Effekte oder eine fehlende Wirkung beobachtet. Damit bleibt dieser Zusammenhang nicht eindeutig reproduzierbar.

### 2.3.3 Wirkung von MUFA auf die Knochendichte

Zu der Wirkung von MUFA auf den Knochen ist sehr wenig bekannt. In einigen Studien, in der Diäten mit einem hohen Fettanteil (*engl. high-fat-diets*) negative Effekte auf den Knochen hatten, enthielt das Futter der Versuchstiere mit 41 - 46% auch einen hohen MUFA-Anteil (Salem et al. 1992; Lac et al. 2008). Trotzdem werden MUFA bislang nicht als Hauptauslöser von katabolen Stoffwechseleränderungen und Knochendichteverlust diskutiert. Als verantwortlich gelten die gesättigten Fettsäuren.

In Tierstudien wird über Hinweise auf einen eventuell positiven Effekt von MUFA auf den Knochen bei Japanwachteln berichtet. Bei den Tieren war ein hoher MUFA-Anteil im Futter mit einer dickeren Kortikalis assoziiert (Liu et al. 2003).

Bei Menschen wird sowohl über positive (Trichopoulou et al. 1997) als auch negative (Gunnes and Lehmann 1995; Macdonald et al. 2004) Korrelationen zwischen dem MUFA-Verzehr und der Knochendichte berichtet. Bei jungen gesunden Männern bestand eine negative Korrelation zwischen der MUFA Ölsäure in den PL und der BMD (Hogstrom et al. 2007).

Mit der Nahrung aufgenommene einfach ungesättigte Fettsäuren korrelieren allerdings nur sehr schwach oder gar nicht mit den MUFA in den PL (Ma et al. 1995; Nikkari et al. 1995). Im Gegenteil lässt ein hoher MUFA-Anteil in den PL auf einen hohen SAFA-Konsum schließen, da gesättigte Fettsäuren nach dem Verzehr zu MUFA desaturiert werden (Ma et al. 1995; Nikkari et al. 1995). Möglicherweise ist deshalb die negative Beziehung zwischen den MUFA der Phospholipide und der Knochendichte durch einen hohen SAFA-Konsum erklärbar.

#### 2.3.4 Wirkung von SAFA auf die Knochendichte

Den gesättigten Fettsäuren wird in hohen Dosen eine abträgliche Wirkung auf die Knochengesundheit zugeschrieben. Darauf weisen Ergebnisse aus Tier- und Zellversuchen hin.

SAFA erhöhten im Zellversuch die Überlebenszeit von Osteoklasten (Oh et al. 2010). Im Tierversuch zeigten *high-fat-diets* mit einem hohen SAFA-Anteil einen negativen Effekt auf die BMD von Rattenföten (Liang et al. 2009) und von wachsenden Ratten (Lac et al. 2008). Auch die mechanische Widerstandskraft der wachsenden Knochen wurde durch SAFA-reiches Futter gesenkt (Lac et al. 2008). Bei erwachsenen Tieren wurde dieser Effekt, wenn auch weniger deutlich, ebenfalls beobachtet. Bei ausgewachsenen Hähnen verminderte Futter mit einem hohen SAFA-Anteil den BMC in trabekulären Knochen (Wohl et al. 1998), bei Ratten wurde der mechanische Widerstand gesenkt (Zernicke et al. 1995).

Ergebnisse aus Humanstudien sind widersprüchlich. Verzehrte SAFA beeinflussten in einer Studie die Knochendichte nicht (Brownbill and Ilich 2006). In einer Arbeit mit Kindern und Jugendlichen korrelierten die gesättigten Fettsäuren positiv mit der BMD (Gunnes and Lehmann 1995). Dagegen waren sie in anderen Studien bei Erwachsenen negativ mit der BMD (Corwin et al. 2006) und positiv mit einem Biomarker korreliert, der mit erhöhtem Frakturrisiko zusammenhängt (Pearce et al. 2010).

Als gesichert gilt, dass ein hoher Palmitin-Gehalt in Milchersatz für Säuglinge BMD und BMC negativ beeinflussen (Koo et al. 2003), indem im Darm weniger Fett und Calcium resorbiert wird (Nelson et al. 1996).

Insgesamt scheint sich der Verzehr von SAFA und *high-fat-diets* negativ auf die Knochendichte auszuwirken.

### **3 MATERIAL UND METHODEN**

Das Probandenkollektiv stammt aus der Longitudinalstudie *Northern Osteoporosis and Obesity Study* (Hogstrom et al. 2007). Die Rekrutierung der Probanden, die Messung der anthropometrischen Daten, die Ausgabe des Fragebogens und die Knochenmessungen wurden von Mitarbeitern der Sportmedizinischen Abteilung, Universitätskrankenhaus von Nordschweden, Umeå, Schweden, durchgeführt.

#### **3.1 Probandenkollektiv**

Beginnend 1994 wurden junge gesunde Männer in Schulen und Sportvereinen in Umeå, Schweden, rekrutiert. Der Verlauf der Studie ist in Tab. 5 dargestellt. Ergebnisse der Knochendichtemessungen zu Beginn der Studie (Tb) und sowie die Basismessung (T0) der Fettsäuren in den Plasmaphospholipiden wurden 2007 von Hogstrom et. al. veröffentlicht (Hogstrom et al. 2007).

Messzeitpunkte	Beginn der Studie (Tb)	Basismessung (T0)	1. Nachmessung (T1)	2. Nachmessung (T2)
Messjahr	1994	2000	<b>2003</b>	<b>2007</b>
Alter (J.) ± SD	16,7 ± 0,5	22,6 ± 0,7	<b>24,8 ± 1,4</b>	<b>28,9 ± 1,4</b>
Erhobene Messwerte	•Knochendichte	•Knochendichte •Fettsäuren in den Plasma-phospholipiden	• <b>Knochendichte</b> • <b>Fettsäuren in den Plasma-phospholipiden</b>	• <b>Knochendichte</b> • <b>Fettsäuren in den Plasma-phospholipiden</b>
Autor	(Hogstrom et al. 2007)		<b>Pighin (vorliegende Arbeit)</b>	

Tab. 5 Studienverlauf des Probandenkollektivs : Messzeitpunkte, Messjahr, Alter der Probanden, erhobene Messwerte, Autoren.

Die hier verwendeten Blutproben und Knochendichtemessungen stammen aus den Jahren 2003 und 2007 (T1 und T2). Die Probanden waren bei der Probenentnahme durchschnittlich 24 und 28 Jahre alt.

Die Proben wurden den nicht nüchternen Probanden in üblicher Weise venös entnommen. Der Zeitpunkt der Entnahme war nicht standardisiert. Das Serum wurde nach der Entnahme bis zur Weiterverarbeitung bei  $-80\text{ C}^\circ$  eingefroren.

Alle Probanden gaben ihr schriftliches Einverständnis zur Studie. Die Studie wurde von der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Universität Umeå, Schweden, genehmigt.

### **3.2 Sportliche Aktivität**

Die Probanden füllten zu den Zeitpunkten der Probenentnahme einen Fragebogen aus. Die sportliche Aktivität wurde als Stunden/Woche, in denen der Proband aufgrund körperlicher Aktivität schwitzte bzw. außer Atem war, gemessen (Hogstrom et al. 2007).

### **3.3 Größe und Gewicht**

Gewicht und Größe wurden in leichter Bekleidung gemessen. Das Gewicht wurde auf 0,1kg genau auf einer digitalen Waage gemessen. Die Größe wurde auf 0,5cm genau an einem an der Wand angebrachten Stadiometer gemessen (Hogstrom et al. 2007).

### **3.4 Knochendichte und Knochenmineralgehalt**

Die Knochendichte ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) und der Mineralgehalt (g) der rechten Hüfte sowie die Knochendichte des gesamten Körpers wurde mit einem Dual-Energy-Röntgenabsorptiometer (Lunar DPX-L, Lunar Co.) gemessen. Das Material wurde an jedem Messtag mit Hilfe eines standardisierten Phantoms überprüft. Der Präzisionsfehler (Standardabweichung/ Mittelwert) betrug für das gesamte Skelett 0,7% und 1% für die Hüfte. Aus dem Scan des gesamten Skeletts wurden die Werte für die Lumbalwirbelsäule, die gesamte Wirbelsäule und das Becken abgeleitet. Der Hüftscan lieferte die BMD-Werte für den Femurhals. Der gleiche Untersucher führte alle Messungen durch (Hogstrom et al. 2007).

### **3.5 Vitamin D3**

Vitamin D3 wurde von Mitarbeitern der Klinischen Chemie, Universitätsklinikum Eppendorf Hamburg, mit einem Immunoassay (Chemilumineszenz, Roche) gemessen.

### **3.6 Fettsäuren der Phospholipide**

#### **3.6.1 Prinzip der Fettsäure-Messmethode**

Die Plasmalipide wurden mit der Extraktion nach Folch (Folch et al. 1957) aus dem Plasma extrahiert. Dazu wurden die Lipide in Chloroform/Methanol gelöst. Durch Erhöhung des Wasseranteils in dem Gemisch und Zentrifugieren der Probe bildeten sich zwei Phasen aus. Die Lipide wurden aus der lipophilen Phase abgenommen und mit Hilfe von Festphasentrennung in Lipidklassen – hier: Cholesterinester, TG, freie Fettsäuren und Phospholipide – aufgeteilt (Hamilton and Comai 1988). Verwendet wurden Kieselgel- (Silica-) Säulen. Die OH-Gruppen (Dipole) auf der Oberfläche der Säulen halten die Lipide je nach ihrer Polarität durch Dipol-Dipol-Wechselwirkungen mehr oder weniger stark zurück. Mit Lösungsmitteln steigender Polarität wurden die Lipide kompetitiv vom Kieselgel verdrängt. Die unpolaren Cholesterinester wurden als Erstes eluiert. Dann folgten die TG, die freien Fettsäuren und schließlich die Phospholipide. Letztere wurden aufgefangen, während die anderen Fraktionen verworfen wurden. Die Phospholipide wurden mit Methanol und in Anwesenheit von Salzsäure (HCl, aus Acetylchlorid) in Fettsäuremethylester umgewandelt, um die nicht verdampfenden Fettsäuren im Gaschromatographen messbar zu machen.

Die Separation der Fettsäuremethylester in der Trennsäule des Gaschromatographen beruht auf der Zunahme des Siedepunktes mit steigender Kettenlänge der Moleküle. Apparativ wurde dies mit Hilfe eines Temperaturprogrammes bewirkt. Bei Fettsäuremethylestern mit gleicher Kettenlänge wurde die Trennung durch die chemischen Eigenschaften der stationären Phase erreicht: Je nach Anzahl und Position der Doppelbindungen hat jede Säure eine charakteristische Retentionszeit. Säuren mit mehreren bzw. endständigen Doppelbindungen haben die längste Laufzeit. Die Fettsäuren wurden im Flammenionisationsdetektor (FID) in einer Knallgasflamme verbrannt. Dabei entstehen unter anderem Ionen. Die Ionen ergeben ein elektrisches Signal, welches verstärkt, registriert und gespeichert wurde. Es ist proportional zur

Menge der verbrannten Fettsäuremethylester und wurde mit Hilfe einer speziellen Software (ChemStation, Revision A.10.02) qualitativ und quantitativ ausgewertet.

### 3.6.2 Material

#### 3.6.2.1 Chemikalien

Substanz	Zusatzbezeichnung	Hersteller
Aceton	zur Analyse	J.T.Baker
Acetylchlorid		Fluka
Ammoniaklösung	Gehalt 25%, zur Analyse	Merck
BHT (2,6-Di-Tert-butyl-p-cresol)	zur Analyse	Fluka
BHT-Lösung	(0,1 M in Methanol)	Eigenherstellung
Chloroform	zur Analyse	J.T.Baker
Chloroform:Methanol	(2:1) v/v	Eigenherstellung
Essigsäure (Eisessig)	100% wasserfrei, zur Analyse	Merck
Heptadecansäure	zur Analyse	Fluka
n-Hexan	zur Analyse	Fluka
Hexan:Eisessig	(100:0,2) v/v	Eigenherstellung
Hexan:MTBE	(200:3) v/v	Eigenherstellung
Hexan:MTBE	(96:4) v/v	Eigenherstellung
Hexan:MTBE:Eisessig	(100:2:0,2) v/v/v	Eigenherstellung
Methanol	zur Analyse	J.T. Baker
MTBE (tert-Butylmethylether)	für die Gaschromatographie	Merck
MTBE:Methanol:Ammoniumacetatlösung	(5:8:2) v/v/v, pH 8,6	Eigenherstellung
Natriumcarbonat	wasserfrei, zur Analyse	Fluka
Natriumcarbonatlösung	6%	Eigenherstellung
Natriumchloridlösung	isoton, 0,9%	Braun
Standardlösung FAME ( <i>engl. fatty acid methyl ester</i> )	bekannte FAME-Konzentration	Eigenherstellung
Standardreaktionslösung	(5µg/ml Heptadecansäure in Methanol/Toluol 4:1)v/v	Eigenherstellung
Toluol	zur Analyse	Merck

Tab. 6 Chemikalien für die Fettsäurebestimmung: Verwendete Substanzen, Zusatzbezeichnungen und Hersteller.

### 3.6.2.2 Verbrauchsmaterial

Bezeichnung	Zusatzbezeichnung	Hersteller
Bördelkappen		CS
Dichtscheiben groß	1,3 mm	CS
Dichtscheiben klein	12 x 1mm	CS
Kulturröhrchen groß	16 x 100mm, Gewinde GL 18	Roth
Kulturröhrchen klein	12 x 100 mm, Gewinde GL 14	Roth
Mikroinsert	G30Is/6mm	CS
Pipettenspitzen	200 µL, 1000 µL	Sarstedt
Schraubverbindungskappen groß	Bohrung 11mm, Gewinde GL 18	VWR
Schraubverbindungskappen klein	Bohrung 9,5mm, Gewinde GL 14	VWR
Vials	braun, 6mm	CS

Tab. 7 Verbrauchsmaterialien für die Fettsäurebestimmung: Bezeichnung, Zusatzbezeichnung und Hersteller.

### 3.6.2.3 Software

Bezeichnung	Hersteller
Excel 2000, Excel 2003	Microsoft
ChemStation, Revision A.10.02, Jan. 2004	Agilent
SPSS 16.0 German	SPSS Inc.
Endnote 8	Thomson Reuters

Tab. 8 Software für die Datenauswertung: Bezeichnung und Hersteller.

### 3.6.2.4 Geräte

Bezeichnung	Zusatzbezeichnung	Hersteller
Controller	7673 Controller	Hewlett Packard
Gaschromatograph	HP Series II 5890	Hewlett Packard
Hamilton-Spritze	0,5 ml mit PEEK-Kapillare	Hamilton
Hetovac		Hetointermed
Injektor	HP 6890 Injector Series	Hewlett Packard
Inkubator	Unitron AJ 260	Infors
Kapillarsäule	DB-225, 20m x 0,18 mm x 0,2µm, 50%- Cyanopropyl	Agilent
Lichrolut-Einheit	12 Steckplätze	Merck
Membran-Vakuumpumpe		Vacuubrand
Ölpumpe		Vacuubrand
PH-Meter	CG 820	Schott
Pipetten	verschiedene Pipettiervolumina	Eppendorf
Sep-Pak Säulen	Isolute Solid Phase Extraction (SPE) Columns, Silica, 3ml/ 100mg	Biotage
Tischwaage	LA 120 S, 0,1mg genau	Sartorius
Trockenschrank	memmert SL 30	Memmert
Vortexer	Reax 2000	Heidolph
Zentrifuge	6 K 15	Sigma

Tab. 9 Geräte für die Fettsäurebestimmung: Bezeichnung, Zusatzbezeichnung und Hersteller

### 3.6.3 Extraktion der Lipide aus dem Plasma

Die Lipide wurden von Mitarbeitern des Instituts für Biochemie und Molekularbiologie II, Molekulare Zellbiologie, Hamburg, nach der von Folch etablierten Methode (Folch et al. 1957) extrahiert.

Zwölf große Kulturröhrchen wurden mit ca. 1ml Aceton ausgespült und zehn Minuten bei 100°C im Trockenschrank getrocknet. 80µl Serum und 50µl BHT-Lösung (0,1 M BHT in Methanol (MeOH)) wurden in jedes Röhrchen pipettiert. Dann wurden 1600µl Chloroform/Methanol 2:1 hinzugegeben. Im Inkubator wurden die Röhrchen 30

Minuten lang bei 90rpm und 50°C geschüttelt. Es folgte eine 15 Minuten lange Zentrifugation bei 4°C und 3500rpm. Anschließend wurden 300µl isotone Natriumchlorid-Lösung hinzugegeben und die Proben fünf Minuten bei 4°C und 2000rpm zentrifugiert. Mit einer Hamilton Spritze mit PEEK-Kapillare (Polyether-Etherketon-Kapillare) wurden 1000µl der Chloroformphase abgezogen und in ein Vial eingefüllt.

Das Chloroform wurde in der Zentrivac mit Hilfe einer Membranpumpe ca. 45 Minuten lang eingedampft. Der Rückstand wurde in 1ml Hexan/MTBE (200:3) gelöst. Die Vials wurden mit einer Bördelkappe luftdicht verschlossen und bis zur weiteren Verarbeitung bei -30°C gelagert.

#### 3.6.4 Lipidklassentrennung mit Hilfe von Sep-Pak

Zur Auftrennung der Lipidklassen aus dem Extrakt wurde die Festphasentrennung (*engl. Solid Phase Extraction, SPE*) verwendet (Hamilton and Comai 1988). Es wurden Isolute Si Sep-Pak Säulen mit Silica-Gel (Kieselgel), 3ml/100mg, eingesetzt. Die Lichrolut-Einheit wurde mit zwölf großen Kulturröhrchen bestückt. Über jedes Röhrchen wurde eine Sep-Pak Säule gesteckt. Die Säulen wurden jeweils für nur eine Probe verwendet und anschließend entsorgt. Zwei der Säulen dienten der Leerwertmessung. Sie durchliefen alle Schritte gemäß des Schemas, ohne dass Probenflüssigkeit hinzugegeben wurde.

Zunächst wurden die Säulen mit 2ml des polaren Sorbens MeOH und drei mal 1ml des unpolaren Sorbens Hexan:MTBE (200:3) konditioniert. Beim Spülen und allen weiteren Schritten wurde darauf geachtet, dass die Säulen nicht trocken liefen. Auf die gespülten Säulen wurden die Rückstände aus der Lipidextraktion aufgegeben und gemäß des Elutionsschemas (siehe S.35, Tab. 10) ausgewaschen.

Die Phospholipide wurden isoliert. Alle anderen Lipidklassen wurden in diesem Versuch verworfen. Zum Auffangen der Phospholipidfraktion wurden zwölf kleine Kulturröhrchen mit Aceton gespült und getrocknet. In jedes Röhrchen wurden 25µl BHT-Lösung (0,1 M in MeOH) gegeben. Die Spüllösung für die Phospholipide, MTBE:Methanol:Ammoniumacetatlösung (5:8:2), wurde durch Titration von Ammoniaklösung auf den pH 8,6 eingestellt. Diese Mischung hat sich in Versuchen als am ergiebigsten erwiesen (Hamilton and Comai 1988). Beim letzten Schritt liefen die Säulen trocken, um die gesamte Flüssigkeit aufzufangen.

Nr.	Lösungsmittel	Menge	Eluierte Fraktion	Polarität	Folgender Schritt
1	Hexan:MTBE (200:3)	2 x 1ml	Cholesterinester	1 Ester- bindung	verwerfen
2	Hexan:MTBE (96:4)	1 x 2ml	Triglyceride	3 Ester- bindungen	verwerfen
3	Hexan:Eisessig (100:0,2)	1 x 1ml	Keine; Säule wird angesäuert	_	verwerfen
4	Hexan:MTBE:Eisessig (100:2:0,2)	3 x 2ml	Freie Fettsäuren	OH-Gruppe am -COOH Ende	verwerfen
5	MTBE:Methanol: Ammoniumacetatlösung (5:8:2), pH 8,6	2 x 2ml	Phospholipide	Ionisch	Weiter- verarbeitung in der Zentrivac

Tab. 10 Elutionsschema für die Lipidklassentrennung: Nummer des Arbeitsschrittes, Lösungsmittel, Menge des Lösungsmittels, Eluierte Fraktion, Polarität und folgender Arbeitsschritt.

In der Zentrivac wurde die Flüssigkeit eingedampft. Zunächst wurde 30min die Membranpumpe betrieben, dann weitere 30 min zusätzlich die *Heat*-Funktion angestellt. Das restliche Vakuum wurde ca. 3 Stunden lang im Ölpumpenvakuum abgezogen. Erst wenn in den Gläsern keine Flüssigkeit mehr sichtbar war, wurden die Rückstände in den Röhren weiter verarbeitet.

### 3.6.5 Derivatisierung

Die Umesterung der Fettsäuren in Fettsäuremethylester wird als Derivatisierung bezeichnet.

Es wurde eine 1-Gefäß-Reaktion verwendet, die von Lepage und Roy etabliert wurde. (Lepage and Roy 1988). 1ml der Standardreaktionslösung (5µg/ml Heptadecansäure in MeOH/Toluol 4:1) wurde in die wasserfreien Röhren pipettiert. Zur sauren Katalyse der Reaktion wurden ca. 100µL Acetylchlorid hinzugegeben. Währenddessen wurde das Gemisch gevortext. Die Gläser wurden mit den mit Dichtungsscheiben abgedichteten

Schraubverbindungskappen verschlossen und für eine Stunde bei 100° Grad in den Trockenschrank gegeben.

Zur Neutralisierung wurde zu jeder Probe 3ml 6% Natriumcarbonatlösung gegeben. Dann wurde die Mischung geschüttelt und anschließend fünf Minuten bei Kühlung auf 4°C und 3000rpm zentrifugiert. Aus der oberen Phase wurden 80-120µl abgenommen und in ein Vial-Inlet überführt. Die Vials wurden bis zur Messung im Gaschromatographen bei -30°C eingefroren.

### 3.6.6 Gaschromatographie

Je 1µL pro Probe wurde automatisch in den Gaschromatographen (GC) eingespritzt. Verwendet wurde eine mit Cyanopropylphenyl beschichtete Kapillare, DB-225, 20m x 0,18 mm x 0,2µm (Agilent). Ein 36minütiges Temperaturprogramm steuerte die Erhitzung der Kapillare (siehe S. 36, Tab. 11).

Nr.	Temperaturerhöhung [°C/min]	Dauer [min]	(vorläufige) Endtemperatur [°C]
1	Starttemperatur	1,5	90,0
2	36	3,05	200,0
3	1,1	21,8	224,0
4	40	0,35	238,0
5	Plateauphase	9,3	-
6	Abkühlen	~ 4,0	-
Gesamtdauer		~ 40,0	-

Tab. 11 Temperaturprogramm des Gaschromatographen: Nr. Temperaturschrittes, Temperaturerhöhung [°C/min], Dauer [min], Endtemperatur [C°]

Die bei der Verbrennung am Ende der Kapillare entstehenden Ionen wurden durch einen Flammenionisationsdetektor (FID) gemessen. Die Verbrennung der Fettsäuren wurde an den charakteristischen Retentionszeiten als *Peak* des Graphen über der Zeit aufgezeichnet.

### 3.6.7 Auswertung der Gaschromatographie-Daten

Der Vergleich der Laufzeiten der Fettsäuren und der Peakflächen mit einer Fettsäuremethylester-(FAME-) Standardlösung konnten die Fettsäuren identifiziert und quantifiziert werden. Die Rohdaten wurden durch das Programm ChemStation in der Einheit  $\mu\text{g/ml}$  in eine Excel-Datei geschrieben. Für jeden Probanden lagen zwei Werte vor, da eine Doppelbestimmung durchgeführt wurde. Aus diesen Werten wurde der Mittelwert gebildet. Lagen beide Werte innerhalb von 10% über bzw. unter dem Mittelwert, wurde die Messung als gültig akzeptiert. Der Mittelwert wurde als Messwert für die Säure eingetragen. Lagen die Messwerte weiter auseinander, wurde das Chromatogramm überprüft und manuell nachbearbeitet.

Aus allen in einer GC-Charge gemessenen Leerwerten wurde der Mittelwert gebildet. Die Höhe dieses Wertes wurde mit dem Mittelwert aller in der betreffenden GC-Charge gemessenen Proben verglichen. Überstieg der Leerwert einer Fettsäure ein Drittel des Mittelwertes der Proben, wurde sie als nicht bestimmbar aus der Analyse ausgeschlossen. Nach dem Herausnehmen der in diesem Sinne nicht bestimmbar Fettsäuren verblieben die Messwerte von 20 Fettsäuren, die für die folgenden Analysen verwendet wurden.

### 3.6.8 Statistische Auswertung

Alle statistischen Analysen wurden mit SPSS 16.0 *German* erstellt, nachdem die Originaldaten aus einer Excel-Datei importiert worden waren. Um die Verteilung der Messwerte der Normalverteilung anzupassen, wurde von Absolutwerten der natürliche Logarithmus ( $\ln$ ), von Prozentwerten (Relativwerten) *Log Odds* gebildet.

Standardabweichungen, Mittelwerte und Mediane wurden ebenfalls mit SPSS erstellt. Veränderungen in einzelnen Variablen zwischen den zwei Probenentnahmen wurden durch den T-Test für verbundene Stichproben geprüft. Bivariate Korrelationen wurden mit dem Pearson Test erstellt. Ein  $p$ -Wert  $< 0,05$  wurde als statistisch signifikant angenommen.

## **4 ERGEBNISSE**

### **4.1 Probandenkollektiv**

#### **4.1.1 Alter**

Bei T1 waren die Probanden durchschnittlich 24 Jahre alt, wobei der jüngste 21 Jahre, der Älteste 30 Jahre alt war. Bei T2 nach vier Jahren reichte die Altersspanne von 25 bis 34 Jahre. Das Durchschnittsalter betrug 28 Jahre (siehe S.38, Tab. 12).

#### **4.1.2 Größe**

Der Mittelwert für die Körpergröße der Probanden betrug bei T1 181,0 cm und bei T2 181,8 cm (siehe S.38, Tab. 12). Zieht man den Messfehler der Größenmessung in Betracht, der 0,5cm betrug, so veränderte sich die Größe der Probanden zwischen 24 Jahren und 28 Jahren nicht.

	<b>Messzeitpunkt</b>					
	T1 (24 Jahre)			T2 (28 Jahre)		
	MW	+/-	n	MW	+/-	n
Alter [Jahre]	24,8	1,4	95	28,9	1,3	94
Größe [cm]	181,0	5,5	95	181,8	5,5	96
Gewicht [kg]	82,8	10,8	95	83,6	12,1	96
Sportliche Aktivität [h/Wo]	4,3	3,8	95	2,9	2,8	95
Vitamin D3 [ng/ml]	24,1	6,43	92	26,25	6,23	88

Tab. 12 Alter [Jahre], Größe [cm], Gewicht [kg], sportliche Aktivität [h/Wo] und Vitamin D3 [ng/ml] der Probanden bei T1 (24 Jahre) und T2 (28 Jahre). Mittelwerte (MW), Standardabweichung (+/-) und Probandenanzahl (n).

#### **4.1.3 Gewicht und Body-Mass-Index**

Das Durchschnittsgewicht der Probanden war mit 24 Jahren 82,8 kg und mit 28 Jahren 83,6 kg (siehe S.38, Tab. 12).

Bei T1 hatten 46 Probanden (45,1%) einen BMI zwischen 18,5 bis 25 kg/m<sup>2</sup> und damit laut der WHO Normalgewicht ("BMI classification" 2011). 38 Probanden (37,3 %) hatten mit einem BMI zwischen 25 und 29,99 kg/m<sup>2</sup> leichtes Übergewicht . Zehn der Männer (9,8%) waren adipös, hatten also einen BMI über 29,99 kg/cm<sup>2</sup> und ein Proband (1%) war untergewichtig (BMI unter 18,5 kg/m<sup>2</sup>). Von sieben (6,8%) Probanden fehlten Größe und Gewicht, so dass der BMI nicht berechnet werden konnte.

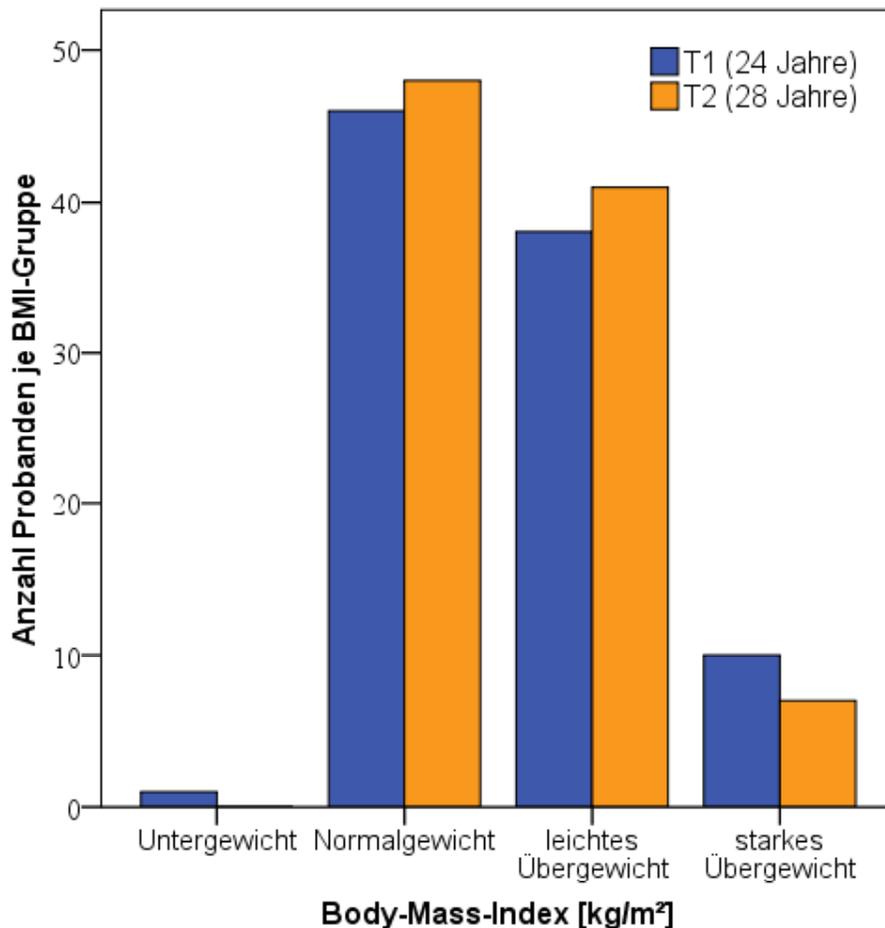


Abb. 1 Anzahl der Probanden mit Untergewicht (<18,5 kg/m<sup>2</sup>), Normalgewicht (18,5- 25 kg/m<sup>2</sup>), leichtem (25 – 29,99 kg/m<sup>2</sup>) sowie starkem Übergewicht (>29,99 kg/m<sup>2</sup>) bei T1 (24 Jahre, n=95) und T2 (28 Jahre, n=96).

Vier Jahre später wiesen 48 Männer (47,1%) einen normalen BMI auf. 41 (40,2%) waren leicht und sieben (6,9%) stark übergewichtig. Keiner der Probanden war bei T2 untergewichtig. Von sechs Probanden (5,9%) fehlten die Messwerte.

Die Verteilung der Gewichtsklassen im Probandenkollektiv ist auf S.39 in Abb. 1 dargestellt. Zwischen T1 und T2 veränderte sich der durchschnittliche BMI der Probanden nicht signifikant.

#### 4.1.4 Sportliche Aktivität

Die sportliche Aktivität der Gruppe wurde in Stunden pro Woche, in denen die Probanden schwitzten und atemlos waren, gemessen.

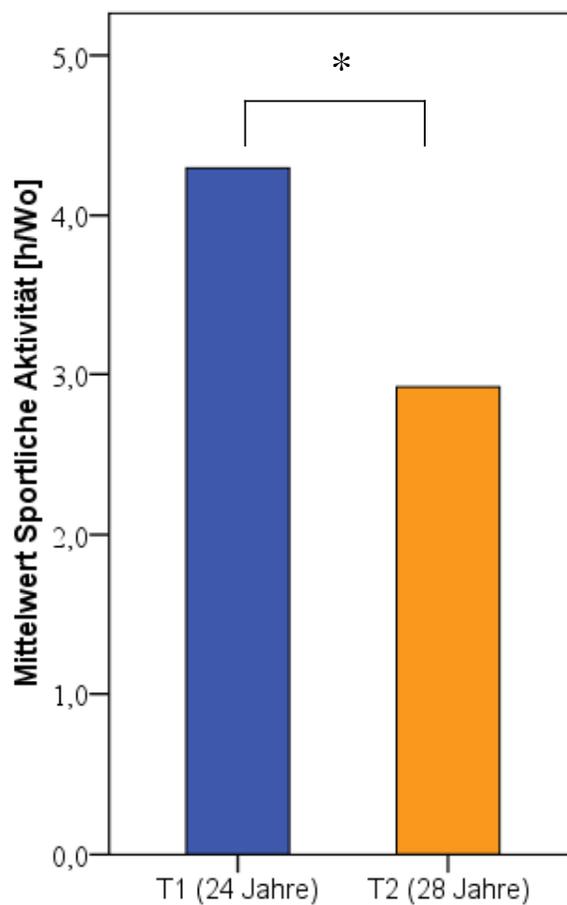


Abb. 2 Sportliche Aktivität im Mittel bei T1 (24 Jahre, n=84) und T2 (28 Jahre, n=79). Die Probanden gaben an, wie viele Stunden pro Woche sie aufgrund von körperlicher Aktivität schwitzten bzw. außer Atem waren. Die signifikante Veränderung zwischen T1 und T2 ( $p=0,001$ ) ist mit einem \* markiert.

Mit 24 Jahren trainierten die Probanden (n=84) etwa 4,3 Stunden pro Woche. Bei 28 Jahren betrug die sportliche Aktivität nur noch 2,9 Stunden im Mittel (siehe S.40, Abb. 2). Die sportliche Aktivität des Probandenkollektivs nahm damit statistisch signifikant ab. Das zeigte nach logarithmischer Transformation der T-Test für verbundene Stichproben (n=69) mit einem p-Wert von 0,001.

#### 4.1.5 Vitamin D3

Im Durchschnitt betrug der Vitamin D3-Gehalt bei T1 24,1 ng/ml und bei T2 26,25 ng/ml (siehe S.38, Tab. 12). Umeå, die nordschwedische Heimatstadt der Probanden, liegt auf dem 63. Breitengrad nördlich. Überraschenderweise hatten die Probanden einen Vitamin D3-Durchschnittswert, der mit dem der Bevölkerung im viel weiter südlich gelegenen Paris (48. Breitengrad nördlich) vergleichbar war und über dem der Einwohner Nordfrankreichs lag (Chapuy et al. 1997).

Auch war der durchschnittliche Vitamin D3-Wert in dem hier analysierten Probandenkollektiv höher als bei finnischen jungen Männern, die am Ende des Winters durchschnittlich nur 18 ng/ml Vitamin D3 im Blut hatten (Lamberg-Allardt et al. 2001). Die in der vorliegenden Arbeit untersuchte Gruppe hatte einen deutlich besseren Vitamin D3-Status als die Finnen: Der geringste Wert betrug 15,2 ng/ml, es war also kein Proband von schwerem Vitamin D3-Mangel betroffen (<10 ng/ml). Dagegen litten ein Drittel der finnischen Probanden daran (Lamberg-Allardt et al. 2001). Der Grund dafür war vermutlich, dass die Blutproben bei den Probanden nicht ausschließlich im Winter, sondern auch im Sommer, in dem die Vitamin D3-Spiegel durch Sonneneinfluss höher sind, abgenommen wurden (von Muhlen et al. 2005; Adams 2010).

Im Detail verbesserte sich der Vitamin D3-Status der Probanden zwischen T1 und T2 sogar noch geringfügig. Innerhalb der vier Jahre zwischen den Probenentnahmen erhöhte sich der Anteil der Probanden, die ausreichend mit Vitamin D3 versorgt waren (>30ng/ml), von 17,6 % bei T1 auf 20,6 % bei T2 (siehe S.42, Abb. 3, (Holick 2007; Gallagher and Sai 2010)). Auch die Anzahl derer, die lediglich einen gering erniedrigten Wert (20-30 ng/ml) aufwiesen stieg (von 42,2% mit 24 Jahren auf 52 % mit 28 Jahren). Dagegen sank die Anzahl der Probanden, die einen Vitamin D3-Mangel (<20 ng/ml) hatten zwischen T1 und T2 (30,4 % vs. 13,7%).

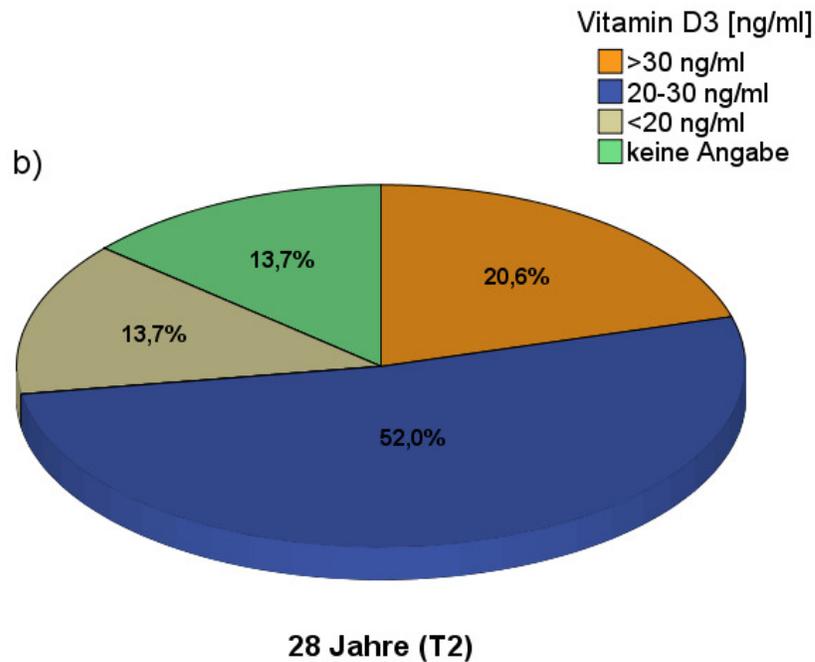
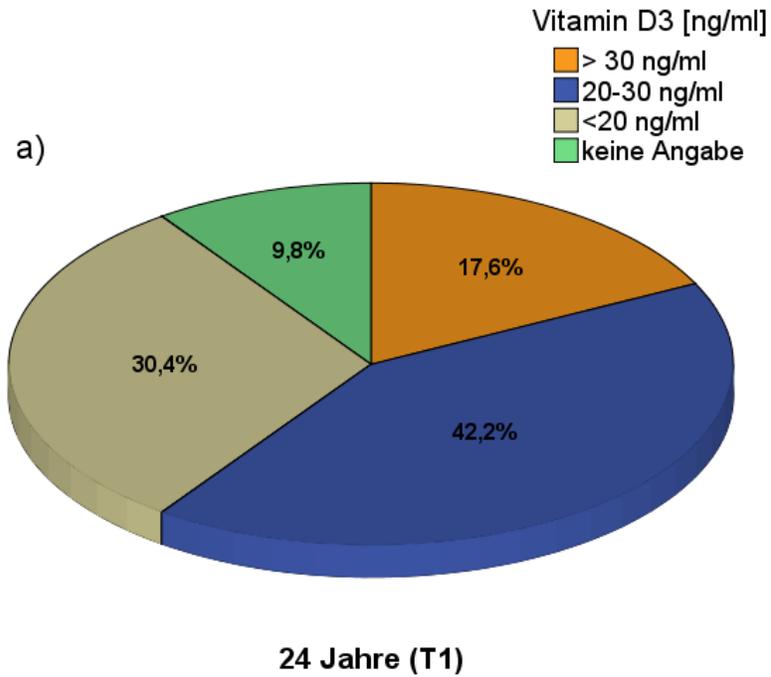


Abb. 3 Vitamin D3-Status der Probanden bei a) T1 (24 Jahre) und b) T2 (28 Jahre): Prozentsatz der Probanden mit ausreichend Vitamin D3 im Blut (> 30 ng/ml, orange), mit leicht erniedrigtem Vitamin D3 (20-30 ng/ml, blau), mit Vitamin D3-Mangel (< 20 ng/ml, grau) und Prozentsatz der Probanden, für die keine Vitamin D3-Messwerte vorliegen (grün).

Insgesamt hatten die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Probanden einen durchschnittlich höheren Vitamin D3-Wert als vergleichbare Probandengruppen.

#### 4.1.6 Knochendichte und Knochenmineralgehalt

Die Mittelwerte und die Standardabweichung für die Knochendichte (BMD) und den Mineralgehalt (BMC) des Knochens an T1 und T2 sind auf S.44 in Tab. 13 dargestellt. Das Becken wies mit 1,36 g/cm<sup>2</sup> bei T1 und 1,34 g/cm<sup>2</sup> bei T2 die höchste Knochendichte auf. Der Femurhals hatte dagegen mit 1,20 g/cm<sup>2</sup> bei T1 und 1,15 g/cm<sup>2</sup> bei T2 die geringste BMD. Unterschiede in der BMD sind einerseits durch die natürliche Variabilität der Knochendichte an verschiedenen Skelettstellen und andererseits durch die unterschiedlich starke Überlagerung der Knochen auf der zweidimensionalen Vorlage gegeben (Adams 2008; Blake and Fogelman 2010). Im Becken überlagern sich beispielsweise die ventral bzw. dorsal liegenden Knochen des Beckenringes, was zu einer scheinbar höheren BMD führt, während der Femurhals frei steht und von keinem anderen Knochen überdeckt wird.

Für den Wert der BMD des gesamten Skeletts wurden die Dichtewerte der gesamten Skelettfläche gemittelt. Vergleichswerte betragen für die Knochendichte des gesamten Skeletts 1.196 g/cm<sup>2</sup> für 25jährige hellhäutige Männer (Kelly et al. 2009). Mit 24 Jahren lagen die hier untersuchten Probanden mit einer Knochendichte des gesamten Skeletts von 1,32 g/cm<sup>2</sup> über dem Vergleichswert. Auch mit 28 Jahren hatten sie mit einer Knochendichte des gesamten Skeletts von 1,31 g/cm<sup>2</sup> Werte, die über den durchschnittlich 1,2 g/cm<sup>2</sup> dieser Altersgruppe lagen ((Kelly et al. 2009), siehe S.3, Tab. 1). Zwischen T1 und T2 bestand eine statistisch hochsignifikante Reduktion der BMD an allen gemessenen Skelettteilen (siehe S.44, Tab. 13).

Diese Ergebnisse schließen schlüssig an frühere Ergebnisse der Entwicklung der Knochendichte in dem verwendeten Probandenkollektiv an. Bis zum 19 Lebensjahr hatte die Knochendichte zugenommen. Zwischen dem 19. und 24. Lebensjahr begann dann am Femurhals und an der Hüfte ein Knochendichteverlust, während die BMD des gesamten Skeletts und der Lumbalwirbelsäule (LWS) in dieser Zeit keine großen Änderungen erfuhr (Nordstrom 2007).

Zwischen dem 24. und 28. Lebensjahr der Probanden (dem in der vorliegenden Arbeit analysierten Zeitraum) nahm die Knochendichte je nach Messort zwischen 0,06 g/cm<sup>2</sup>

und 0,01 g/cm<sup>2</sup> ab. Auch in diesem Alter war der Knochendichteverlust am Femurhals und an der Hüfte besonders stark (-0,06 bzw. -0,05 g/cm<sup>2</sup>, siehe S.44, Tab. 13).

	Messzeitpunkt				T-Test für verbundene Stichproben		
	T1 (24 Jahre) (n=95)		T2 (28 Jahre) (n=96)		ΔT2-T1 (n=90)		p
	MW	+/-	MW	+/-	MW	+/-	
BMD Becken [g/cm <sup>2</sup> ]	1,36 <sup>4</sup>	0,11	1,34	0,12	-0,02 <sup>2</sup>	0,06	<0,001
BMD LWS [g/cm <sup>2</sup> ]	1,33 <sup>3</sup>	0,13	1,315	0,14	-0,031	0,06	<0,001
BMD gesamte WS [g/cm <sup>2</sup> ]	1,29 <sup>4</sup>	0,14	1,25	0,13	-0,05 <sup>2</sup>	0,08	<0,001
BMD Femurhals [g/cm <sup>2</sup> ]	1,20	0,17	1,15	0,17	-0,06	0,08	<0,001
BMD Hüfte [g/cm <sup>2</sup> ]	1,26	0,17	1,21	0,17	-0,05	0,07	<0,001
BMD gesamtes Skelett [g/cm <sup>2</sup> ]	1,32	0,07	1,31	0,08	-0,01	0,02	<0,001
BMC Hüfte [g]	47,73	7,45	46,11	7,72	-1,55	3,11	<0,001
BMC Femurhals [g]	6,87	1,08	6,57	1,07	-0,30	0,53	<0,001

Tab. 13 Knochendichte (BMD, [g/cm<sup>2</sup>]) und Knochenmineralgehalt (BMC, [g]) bei T1 (24 Jahre) und T2 (28 Jahre): Mittelwerte (MW), Standardabweichungen (+/-) und Anzahl der Probanden (n). Signifikanztest für Unterschiede zwischen den Messungen (T-Test für gepaarte Stichproben): Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (+/-) der gepaarten Differenzen der Werte von T2-T1 (ΔT2-T1) mit p-Werten. Signifikante Veränderungen sind farbig markiert : p <0,001 rot. <sup>1</sup>n=87, <sup>2</sup>n=91, <sup>3</sup>n=93, <sup>4</sup>n=94, <sup>5</sup>n=95.

Der Mineralgehalt des Knochens (BMC), der für die Hüfte und den Femurhals berechnet wurde, nahm ebenfalls statistisch signifikant ab.

Da sich die Knochendichte (BMD) an T1 und T2 signifikant unterschied, wurden die Differenzen dieser Werte als Variable in die Analyse aufgenommen. Analog zu der Analyse von Hogstrom et. al. (Hogstrom et al. 2007) wurden die Änderungen in der Gesamt-BMD, der BMD der Hüfte und der gesamten Wirbelsäule betrachtet.

Die ermittelten Werte für die BMD und den BMC entsprachen den aus der Literatur bekannten Werten. Der Knochendichteverlust zwischen 24 und 28 Jahren steht im Einklang mit der zu früheren Zeitpunkten beobachteten Entwicklung der Knochendichte in dem untersuchten Probandenkollektiv.

#### 4.1.7 Anteile der Fettsäuren in den Plasmaphospholipiden

Aus Gründen der Übersichtlichkeit werden für einige Fettsäurenamen Abkürzungen verwendet. Eine Tabelle mit Angaben des Namens der Fettsäure, der Formel und der zugehörigen Abkürzung findet sich in 2.1.1 Fettsäuren (siehe S.3, Tab. 1).

Die relativen Anteile der Fettsäuren in den Plasmaphospholipiden für T1 und T2 sind auf S.47 in Tab. 14 dargestellt.

Die größte Fraktion waren die gesättigten Fettsäuren, sie stellten knapp die Hälfte der Fettsäuren in den Phospholipiden (48,47 % T1; 49,09 % T2). Den zweitgrößten Anteil machten die  $\omega$ 6-Fettsäuren mit annähernd einem Drittel aus (28,13 % T1; 28,97 % T2). Die MUFA repräsentierten bei 24 Jahren 16,31 %, bei 28 Jahren 14,54 % der in den Phospholipiden enthaltenen Fettsäuren und waren somit nach den SAFA und den  $\omega$ 6-PUFA die drittstärkste Fraktion. Die kleinste Fraktion bildeten die  $\omega$ 3-Fettsäuren mit 7,09 bzw. 7,41 % (siehe S.47, Tab. 14 und S.48, Abb. 4).

Die Anteile der Fettsäuregruppen der PL stimmen mit Ergebnissen aus 16 Studien in verschiedenen Ländern überein (Bakewell et al. 2006; Saadatian-Elahi et al. 2009) und entsprechen somit den erwarteten Werten.

In Tab. 14 auf S.47 sind die gemittelten gepaarten Differenzen zwischen T1 und T2 aufgeführt. Der Anteil der  $\omega$ 6-Fettsäuren stieg, der Anteil der einfach ungesättigten Fettsäuren sank statistisch signifikant (siehe S.47, Tab. 14 und S.48, Abb. 4). Die Veränderungen der relativen Anteile der  $\omega$ 3-PUFA und der SAFA als Gruppen veränderten sich nicht statistisch signifikant. Nur einzelne Fettsäuren innerhalb dieser Gruppen zeigten signifikante Veränderungen. In der Gruppe der  $\omega$ 3-Fettsäuren fielen die Anteile der  $\alpha$ -Linolensäure (ALA) und Eicosatetraensäure (*engl. eicosatetraenoic acid*, ETEA) ab, während der Anteil der Docosahexaensäure bei T2 größer war als bei T1. Die positiven und negativen Veränderungen innerhalb dieser Gruppe glichen sich aus, so dass die  $\omega$ 3-Fettsäuren insgesamt keine signifikante Veränderung zeigten (siehe S.47, Tab. 14 und S.48, Abb. 4).

Der Anteil der gesättigten Fettsäuren Palmitin-, Arachin-, Behen- und Lignocerinsäure stieg zwischen T1 und T2 an. Die Stearinsäure, die einen großen Anteil der SAFA ausmacht, veränderte sich nicht statistisch signifikant. Die Gruppe der gesättigten Fettsäuren verzeichnete daher keine statistisch signifikante Veränderung, zeigte aber

einen Trend zu einem steigenden Anteil an den Fettsäuren der Phospholipide ( $p = 0,08$ , siehe S.47, Tab. 14 und S.48, Abb. 4).

Anteile der Fettsäuren der Phospholipide [%]	Messzeitpunkt				T-Test für verbundene Stichproben		
	T1 (24 Jahre) (n=93)		T2 (28 Jahre) (n=89)		$\Delta T2-T1$ (n=79)		p
	MW	+/-	MW	+/-	MW	+/-	
Palmitinsäure	29,74	1,30	30,20	1,14	0,37	1,53	0,033
Stearinsäure	16,35	2,30	16,21	2,11	-0,06	2,95	0,857
Arachinsäure	0,51	0,06	0,54	0,08	0,04	0,08	<0,001
Behensäure	1,05	0,14	1,17	0,18	0,13	0,20	<0,001
Lignocerinsäure	0,83	0,11	0,97	0,15	0,15	0,18	<0,001
<b><math>\Sigma</math> SAFA</b>	<b>48,47</b>	<b>2,30</b>	<b>49,09</b>	<b>2,25</b>	<b>0,63</b>	<b>3,20</b>	<b>0,080</b>
d-7-HDA	0,25	0,04	0,20	0,04	-0,04	0,05	<0,001
Palmitölsäure	0,60	0,16	0,52	0,18	-0,10	0,18	<0,001
Ölsäure	12,06	1,11	10,43	1,26	-1,64	1,39	<0,001
Vaccinsäure	1,71	0,28	1,57	0,21	-0,16	0,29	<0,001
Nervensäure	1,69	0,28	1,80	0,32	0,12	0,38	0,005
<b><math>\Sigma</math> MUFA</b>	<b>16,31</b>	<b>1,24</b>	<b>14,54</b>	<b>1,38</b>	<b>-1,82</b>	<b>1,52</b>	<b>&lt;0,001</b>
LA	18,40	2,05	18,80	2,01	0,44	2,36	0,099
GLA	0,13	0,06	0,14	0,06	0,00	0,07	0,766
EDA	0,29	0,03	0,30	0,03	0,01	0,04	0,133
DGLA	2,37	0,44	2,33	0,49	-0,03	0,49	0,605
AA	6,94	1,09	7,41	1,27	0,49	1,15	<0,001
<b><math>\Sigma</math> <math>\omega 6</math>-PUFA</b>	<b>28,13</b>	<b>2,04</b>	<b>28,97</b>	<b>2,07</b>	<b>0,91</b>	<b>2,70</b>	<b>0,003</b>
ALA	0,44	0,15	0,40	0,14	-0,05	0,18	0,01
ETE A	0,27	0,08	0,25	0,08	-0,02	0,09	0,046
EPA	1,77	0,51	1,88	0,57	0,09	0,60	0,178
DPA	0,96	0,17	0,97	0,19	0,00	0,19	0,974
DHA	3,63	0,69	3,91	0,85	0,27	0,80	0,004
<b><math>\Sigma</math> <math>\omega 3</math>-PUFA</b>	<b>7,09</b>	<b>1,18</b>	<b>7,41</b>	<b>1,35</b>	<b>0,28</b>	<b>1,33</b>	<b>0,060</b>

Tab. 14 Anteile der Fettsäuren der Phospholipide [%] an T1 (24 Jahre) und T2 (28 Jahre): Mittelwerte (MW), Standardabweichungen (+/-) und Anzahl der Probanden (n). Signifikanztest für Unterschiede zwischen T1 und T2 (T-Test für gepaarte Stichproben): Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (+/-) der gepaarten Differenzen der Werte von T2 – T1 ( $\Delta T2-T1$ ) mit p-Werten. Signifikante Veränderungen sind farbig markiert : p<0,05 gelb, <0,01 orange, <0,001 rot.

Die Messwerte für die Anteile der Fettsäuren an den Phospholipiden entsprachen den Referenzwerten aus der Literatur (Bakewell et al. 2006; Saadatian-Elahi et al. 2009). Zwischen T1 und T2 stieg der Anteil der  $\omega$ 6-PUFA signifikant, während der Anteil der MUFA signifikant fiel. Die Anteile der SAFA und  $\omega$ 3-PUFA als Gruppen verzeichneten keine signifikanten Veränderungen.

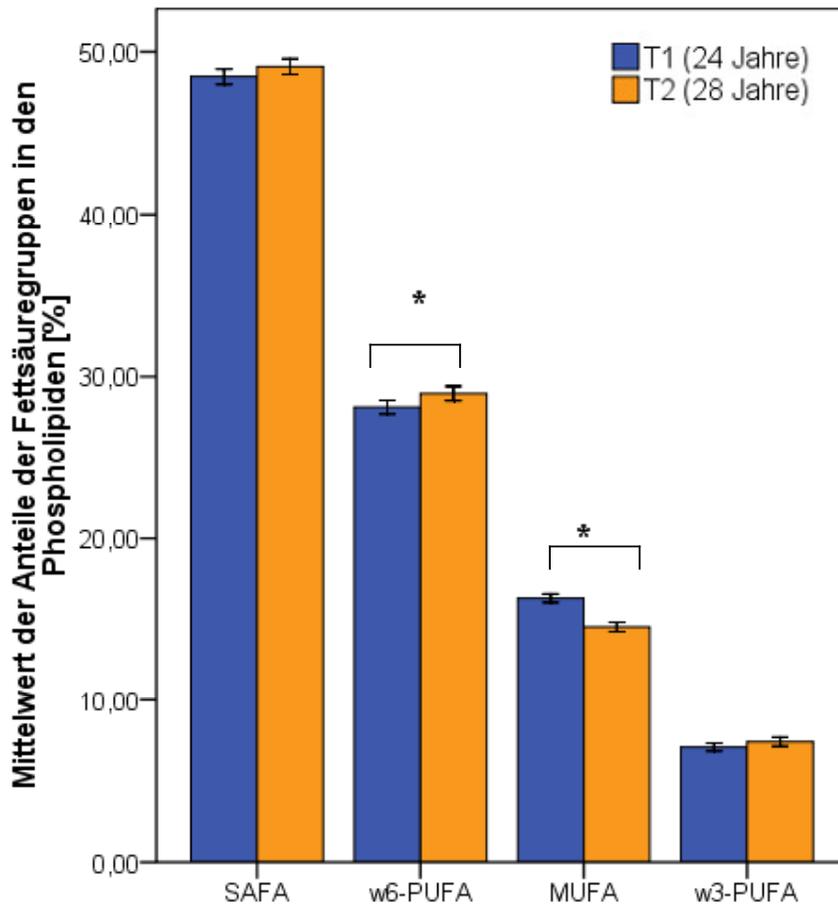


Abb. 4 Anteile der Fettsäuregruppen der Phospholipide [%]. T1 (24 Jahre) = blau; T2 (28 Jahre) = orange. Die Fehlerbalken stellen das 95% Konfidenzintervall dar. Signifikante Veränderungen zwischen T1 und T2 sind mit einem \* markiert.

## **4.2 Einflussvariablen, welche die Knochendichte beeinflussen**

### 4.2.1 Korrelationen des Vitamin D3-Status mit der Knochendichte und dem Knochenmineralgehalt

Der Vitamin D3-Status beeinflusste sowohl die Knochendichte (BMD) als auch den Mineralgehalt des Knochens (BMC, siehe S.50, Tab. 15).

Besonders deutlich war der Zusammenhang zwischen Vitamin D3 und dem Mineralgehalt. Vitamin D3 korrelierte an T1 und T2 mit dem BMC der Hüfte und des Femurhalses positiv. Für T2 waren diese Korrelationen auf dem 0,01-Niveau signifikant.

Dies entspricht Ergebnissen einer Studie mit jungen finnischen Männern, bei der der Vitamin D3 Gehalt im Blut ebenfalls mit dem BMC der Hüfte und des Femurhalses korrelierte (Valimaki et al. 2004).

Eine positive Korrelation von Vitamin D3 mit der BMD der Hüfte (von Muhlen et al. 2005; Adams 2010) und der LWS (Collins et al. 1998) ist aus der Literatur bekannt. Erwartungsgemäß korrelierte Vitamin D3 in dem hier analysierten Probandenkollektiv mit der Knochendichte der LWS und der Hüfte an beiden Zeitpunkten positiv und auf dem 5% Niveau signifikant (siehe S.50, Tab. 15).

Weniger deutlich war der ebenfalls vorbeschriebene Zusammenhang (Collins et al. 1998) zwischen Vitamin D3 und der Knochendichte des Femurhalses. Die positive Korrelation bei der ersten Messung war nur schwach signifikant, an T2 zeigte sich ein entsprechender Trend ( $p=0,059$ , siehe S.50, Tab. 15). Keine Zusammenhänge bestanden zwischen Vitamin D3 und der Knochendichte des Beckens, der gesamten Wirbelsäule und des gesamten Skeletts (siehe S.50, Tab. 15).

Der gemessene Vitamin D3 Gehalt des Blutes war weder an T1 noch an T2 mit dem Knochendichteverlust im Intervall zwischen T1 und T2 korreliert. Die entsprechenden p-Werte für die Korrelationen von Vitamin D3 und der  $\Delta$ BMD der Hüfte, der gesamten Wirbelsäule und des gesamten Skeletts erreichten nicht das Signifikanzniveau.

	In Vitamin D <sub>3</sub> [ng/ml]					
	T1 (24 Jahre)			T2 (28 Jahre)		
	r	p	n	r	p	n
In BMD Becken [g/cm <sup>2</sup> ]	0,20	0,064	85	0,20	0,059	88
In BMD LWS [g/cm <sup>2</sup> ]	0,24	0,028	86	0,22	0,045	87
In BMD gesamte WS [g/cm <sup>2</sup> ]	0,09	0,412	85	0,17	0,105	88
In BMD Femurhals [g/cm <sup>2</sup> ]	0,21	0,047	88	0,20	0,059	88
In BMD Hüfte [g/cm <sup>2</sup> ]	0,21	0,049	88	0,24	0,022	88
In BMD gesamtes Skelett [g/cm <sup>2</sup> ]	0,17	0,113	88	0,12	0,276	88
In BMC Hüfte [g]	0,25	0,017	88	0,31	0,003	88
In BMC Femurhals [g]	0,25	0,020	88	0,30	0,005	88
ΔBMD Hüfte [g/cm <sup>2</sup> ]	-0,07	0,511	84	0,09	0,405	83
ΔBMD gesamte WS [g/cm <sup>2</sup> ]	0,01	0,924	83	-0,07	0,524	84
ΔBMD gesamtes Skelett [g/cm <sup>2</sup> ]	-0,16	0,135	84	-0,03	0,782	83

Tab. 15 Korrelationen zwischen Vitamin D<sub>3</sub> [ng/ml] und der Knochendichte (BMD, [g/cm<sup>2</sup>]), der Veränderung der Knochendichte zwischen T1 und T2 (ΔBMD, [g/cm<sup>2</sup>]) sowie dem Knochenmineralgehalt (BMC, [g]): Korrelationskoeffizienten (r), p-Werte und Probandenanzahl (n) bei T1 (24 Jahre) und T2 (28 Jahre) nach logarithmischer Transformation. Signifikante Korrelationen sind farbig markiert : p<0,05 gelb, p<0,01 orange.

Hohe Vitamin D<sub>3</sub>-Spiegel korrelierten in dem Probandenkollektiv also mit einer guten Knochengesundheit. Probanden mit einem hohen Vitamin D<sub>3</sub>-Wert hatten einen hohen Mineralgehalt und eine hohe Knochendichte an der LWS und Hüfte. Dies entspricht Ergebnissen aus der Literatur.

#### 4.2.2 Korrelationen des Body-Mass-Index mit der Knochendichte und dem Knochenmineralgehalt

Der Body-Mass-Index ist eine bekannte Einflussgröße der Knochendichte (BMD), wobei ein höherer BMI gewöhnlich mit einer erhöhten BMD (Hernandez-Avila et al. 1993; Collins et al. 1998; von Muhlen et al. 2005) und einem geringeren Frakturrisiko (De Laet et al. 2005) einhergeht.

Übereinstimmend korrelierte der Body-Mass-Index der Probanden sowohl an T1 als auch an T2 signifikant positiv mit der Knochendichte, der Veränderung der Knochendichte zwischen T1 und T2 und dem Knochenmineralgehalt (siehe S.51, Tab. 16).

Bei T1 korrelierte der BMI der Probanden signifikant positiv mit der BMD des Beckens, der gesamten Wirbelsäule und des gesamten Skeletts. Am zweiten Zeitpunkt korrelierte der BMI signifikant positiv mit der Knochendichte an allen Messorten. Mit dem Mineralgehalt der Hüfte und des Schenkelhalses war der BMI an beiden Messzeitpunkten positiv assoziiert (siehe S.51, Tab. 16).

	In Body-Mass-Index [kg/m <sup>2</sup> ]					
	T1 (24 Jahre)			T2 (28 Jahre)		
	r	p	n	r	p	n
In BMD Becken [g/cm <sup>2</sup> ]	0,29	0,006	91	0,46	<0,001	96
In BMD LWS [g/cm <sup>2</sup> ]	0,07	0,499	93	0,34	0,001	95
In BMD gesamte WS [g/cm <sup>2</sup> ]	0,25	0,015	91	0,52	<0,001	96
In BMD Femurhals [g/cm <sup>2</sup> ]	0,14	0,162	95	0,26	0,011	96
In BMD Hüfte [g/cm <sup>2</sup> ]	0,17	0,093	95	0,29	0,004	96
In BMD gesamtes Skelett [g/cm <sup>2</sup> ]	0,35	0,001	95	0,49	<0,001	96
In BMC Hüfte [g]	0,27	0,009	95	0,40	<0,001	96
In BMC Femurhals [g]	0,23	0,027	95	0,34	0,001	96
ΔBMD Hüfte [g/cm <sup>2</sup> ]	0,11	0,279	91	0,22	0,038	91
ΔBMD gesamte WS [g/cm <sup>2</sup> ]	0,11	0,307	89	0,16	0,119	92
ΔBMD gesamtes Skelett [g/cm <sup>2</sup> ]	0,23	0,031	91	0,39	<0,001	91

Tab. 16 Korrelationen von Body-Mass-Index (BMI, [kg/m<sup>2</sup>]) mit der Knochendichte (BMD, [g/cm<sup>2</sup>]), der Veränderung der Knochendichte zwischen T1 und T2 (ΔBMD, [g/cm<sup>2</sup>]) sowie dem Knochenmineralgehalt (BMC, [g]): Korrelationskoeffizienten (r), p-Werte und Probandenanzahl (n) bei T1 (24 Jahre) und T2 (28 Jahre) nach logarithmischer Transformation. Signifikante Korrelationen sind farbig markiert : p<0,05 gelb, p<0,01 orange, p<0,001 rot.

Erwartungsgemäß fand sich im Probandenkollektiv ein statistisch signifikanter positiver Zusammenhang zwischen dem BMI und der Knochendichte bzw. dem Mineralgehalt.

Probanden mit einem hohen BMI hatten demnach durchschnittlich eine höhere Knochendichte als leichtere Probanden.

#### 4.2.3 Korrelationen der sportlichen Aktivität mit der Knochendichte und dem Knochenmineralgehalt

Sportlich aktive Jugendliche und junge Erwachsene haben eine höhere Knochendichte (BMD) als ihre unsportlicheren Altersgenossen (Valimaki et al. 1994; Ruffing et al. 2006).

In den hier besprochenen Daten zeigten sich dementsprechend positive Korrelationen zwischen der sportlichen Aktivität bei 24 Jahren und der Knochendichte an folgenden Messpunkten: Becken, LWS, gesamte Wirbelsäule, Femurhals und Hüfte. Die sportliche Aktivität korrelierte zudem positiv bei T1 mit dem Mineralgehalt (BMC) der Hüfte und des Femurhalses sowie mit der Veränderung der BMD der Hüfte. Am zweiten Zeitpunkt zeigten sich keine signifikanten Korrelationen (siehe S.53, Tab. 17). Es ist möglich, dass die signifikante Verminderung der sportlichen Aktivität der Probanden zwischen T1 und T2 dazu geführt hat, dass Korrelationen an T2 nicht das Signifikanzniveau erreichten (siehe S.40, Abb. 2). Ein anderer Grund könnte das fortgeschrittene Alter der Probanden sein. Möglicherweise hat Sport einen deutlicheren Effekt auf das junge als auf das ausgewachsene Skelett.

Insgesamt entsprachen die positiven Korrelationen der sportlichen Aktivität mit der Knochendichte und Mineralgehalt an T1 den Erwartungen. Warum dieser Zusammenhang an T2 nicht zu Tage tritt bleibt letztlich unklar.

	In Sportliche Aktivität [h/Wo]					
	T1 (24 Jahre)			T2 (28 Jahre)		
	r	p	n	r	p	n
In BMD Becken [g/cm <sup>2</sup> ]	0,31	0,004	81	0,11	0,339	79
In BMD LWS [g/cm <sup>2</sup> ]	0,30	0,005	82	0,06	0,608	78
In BMD gesamte WS [g/cm <sup>2</sup> ]	0,31	0,005	81	0,12	0,294	79
In BMD Femurhals [g/cm <sup>2</sup> ]	0,33	0,002	84	0,10	0,360	79
In BMD Hüfte [g/cm <sup>2</sup> ]	0,33	0,002	84	0,13	0,262	79
In BMD gesamtes Skelett [g/cm <sup>2</sup> ]	0,13	0,227	84	0,02	0,859	79
In BMC Hüfte [g]	0,29	0,007	84	0,05	0,663	79
In BMC Femurhals [g]	0,33	0,002	84	0,14	0,203	79
ΔBMD Hüfte [g/cm <sup>2</sup> ]	-0,25	0,022	81	0,05	0,668	74
ΔBMD gesamte WS [g/cm <sup>2</sup> ]	-0,17	0,138	79	0,05	0,651	75
ΔBMD gesamtes Skelett [g/cm <sup>2</sup> ]	-0,03	0,810	81	-0,13	0,285	74

Tab. 17 Korrelationen der sportlichen Aktivität [h/Wo] mit der Knochendichte (BMD, [g/cm<sup>2</sup>]), der Veränderung der Knochendichte zwischen T1 und T2 (ΔBMD, [g/cm<sup>2</sup>]) sowie dem Knochenmineralgehalt (BMC, [g]): Korrelationskoeffizienten (r), p-Werte und Probandenzahl (n) bei T1 (24 Jahre) und T2 (28 Jahre) nach logarithmischer Transformation. Signifikante Korrelationen sind farblich markiert : p<0,05 gelb, p<0,01 orange.

#### 4.2.4 Adjustierung für Einflussvariablen

Da BMI, sportliche Aktivität und Vitamin D3 in dem untersuchten Probandenkollektiv einen Einfluss auf die Knochendichte hatten, wurde nach der Analyse der Rohdaten eine Korrektur um diese Einflussvariablen durchgeführt. Um andererseits einen Vergleich mit der früheren Analyse der Korrelationen zwischen den Fettsäureanteilen der Plasmaphospholipide mit der Knochendichte dieses Probandenkollektivs (Hogstrom et al. 2007) durchführen zu können, wurde wie in Hogstroms Analyse eine Adjustierung um Größe, Gewicht und sportliche Aktivität ausgeführt. Es wurde folglich einmal für BMI, sportliche Aktivität und Vitamin D3 adjustiert (bezeichnet mit *a*), und einmal für Größe, Gewicht und sportliche Aktivität (bezeichnet mit *b*, siehe S.54, Tab. 18). Die

Ergebnisse für Adjustierung (a) und Adjustierung (b) weichen allerdings nur minimal voneinander ab.

	Bezeichnung	
	a	b
Adjustierung	<ul style="list-style-type: none"> <li>• BMI</li> <li>• Sportliche Aktivität</li> <li>• Vitamin D3</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Größe</li> <li>• Gewicht</li> <li>• Sportliche Aktivität</li> </ul>

Tab. 18 Übersicht über die Adjustierung (a) für BMI, sportliche Aktivität und Vitamin D3 und (b) für Größe, Gewicht und sportliche Aktivität.

### **4.3 Korrelationen der Anteile von Docosahexaensäure, den Fettsäuren und den Fettsäuregruppen der Phospholipide mit der Knochendichte, Veränderung der Knochendichte und dem Knochenmineralgehalt**

#### 4.3.1 Docosahexaensäure (DHA)

##### *4.3.1.1 Korrelationen des DHA-Anteils der Phospholipide mit der Knochendichte*

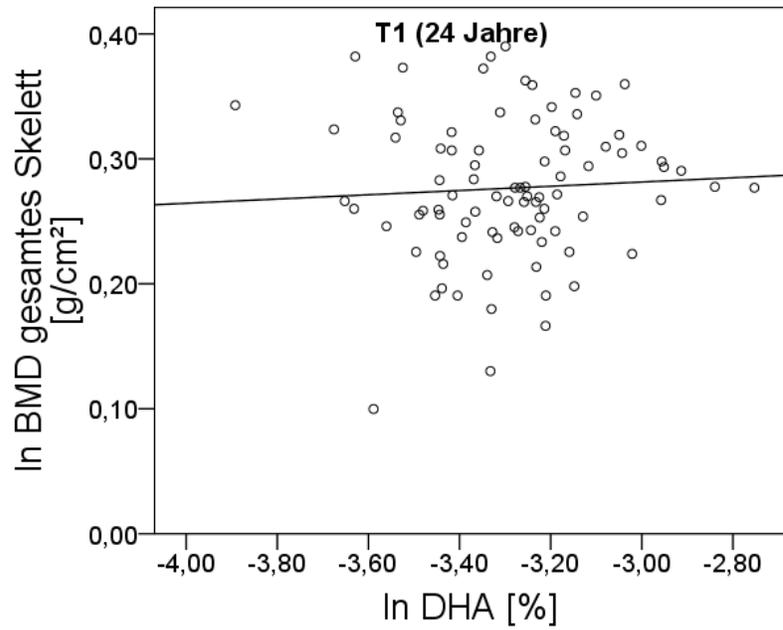
Weder an T1 noch an T2 waren Korrelationen zwischen dem relativen Anteil von DHA in den Phospholipiden mit der Knochendichte des Beckens, der Lumbalwirbelsäule (LWS), der gesamten Wirbelsäule (WS), des Femurhalses, der Hüfte und des gesamten Skeletts statistisch signifikant (siehe S.55, Tab. 19). Die zugehörigen Streudiagramme zeigen eine disseminierte Punktwolke (siehe S.56, Abb. 5).

Die Korrelationen wurden dann für BMI, sportliche Aktivität und Vitamin D3 (a) und in einem zweiten Ansatz für Größe, Gewicht und sportliche Aktivität (b) kontrolliert. Daraufhin korrelierte DHA positiv mit der Knochendichte der Gesamt-Wirbelsäule an T1 und T2 und der BMD der Hüfte an T2.

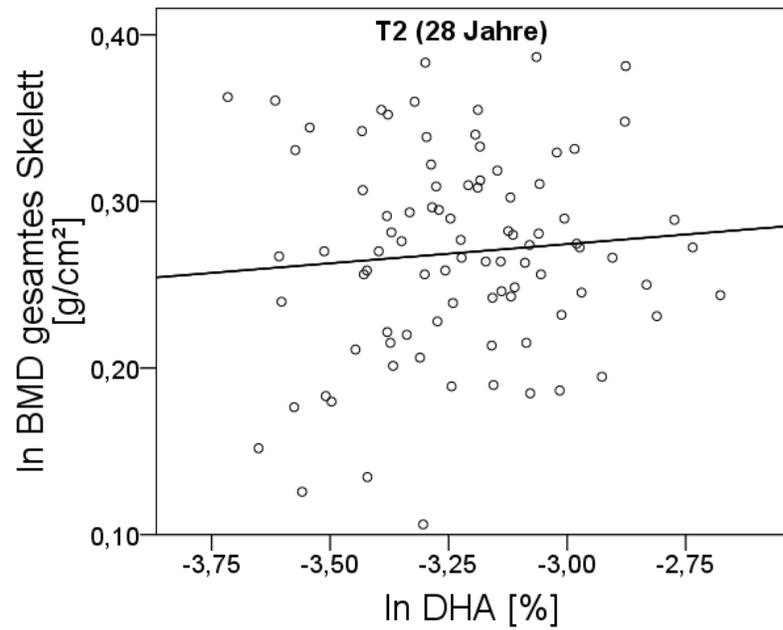
Zusammenfassend fand sich entgegen der Erwartung keine Korrelation zwischen DHA und der BMD oder BMC. Die Ergebnisse aus einer früheren Analyse des Zusammenhangs von DHA und BMD in diesem Probandenkollektiv konnten somit für die hier untersuchten Altersgruppen nicht gezeigt werden (Hogstrom et al. 2007).

	In DHA [%]					
	T1 (24 Jahre)			T2 (28 Jahre)		
	r	p	n	r	p	n
In BMD Becken [g/cm <sup>2</sup> ]	0,12	0,288	86	0,10	0,357	89
In BMD LWS [g/cm <sup>2</sup> ]	0,09	0,425	87	0,10	0,376	88
In BMD gesamte WS [g/cm <sup>2</sup> ]	0,16	<b>0,137<sup>b</sup></b>	86	0,19	<b>0,076<sup>a,b</sup></b>	89
In BMD Femurhals [g/cm <sup>2</sup> ]	-0,02	0,877	89	0,17	<b>0,110<sup>b</sup></b>	89
In BMD Hüfte [g/cm <sup>2</sup> ]	-0,03	0,801	89	0,18	<b>0,095<sup>a,b</sup></b>	89
In BMD gesamtes Skelett [g/cm <sup>2</sup> ]	0,06	0,584	89	0,08	0,430	89
In BMC Hüfte [g]	-0,05	0,670	89	0,09	0,389	89
In BMC Femurhals [g]	-0,01	0,892	89	0,14	0,204	89
ΔBMD WS [g/cm <sup>2</sup> ]	-0,04	0,728	84	-0,04	0,750	85
ΔBMD Hüfte [g/cm <sup>2</sup> ]	-0,01	0,937	85	0,06	0,564	84
ΔBMD gesamtes Skelett [g/cm <sup>2</sup> ]	-0,23	<b>0,035</b>	85	-0,13	0,234	84

Tab. 19 Korrelationen des DHA-Anteils der Phospholipide [%] mit der Knochendichte (BMD, [g/cm<sup>2</sup>]), dem Knochenmineralgehalt (BMC, [g]) und der Veränderung der Knochendichte zwischen T1 und T2 (ΔBMD, [g/cm<sup>2</sup>]): Korrelationskoeffizienten (r), p-Werte und Probandenanzahl (n) an T1 und T2 nach logarithmischer Transformation. Signifikante Korrelationen sind farbig markiert : p<0,05 gelb. War die Korrelation nach der Adjustierung um BMI, sportliche Aktivität und Vitamin D3 signifikant, ist sie fett gedruckt und mit *a* markiert. War die Korrelation nach der Adjustierung um Größe, Gewicht und sportliche Aktivität signifikant, ist sie fett gedruckt und mit *b* markiert.



a)



b)

Abb. 5 Zusammenhang des DHA-Anteils der Phospholipide [%] mit der Knochendichte (BMD, [g/cm<sup>2</sup>]) des gesamten Skeletts a) bei T1 (24 Jahre):  $r=0,06$ ,  $p=0,584$  und b) bei T2 (28 Jahre):  $r=0,08$ ,  $p=0,43$  nach logarithmischer Transformation : Streudiagramme mit Regressionsgeraden.

#### *4.3.1.2 Korrelationen des DHA-Anteils der Phospholipide mit der Veränderung der Knochendichte*

Um zu prüfen, ob der Knochendichteverlust im Messintervall mit dem Anteil von DHA an den Fettsäuren der PL zusammenhing, wurden diese Variablen miteinander korreliert. DHA korrelierte bei 24 Jahren (T1) negativ mit der Veränderung der Knochendichte des gesamten Skeletts zwischen T1 und T2. Die Korrelation war mit  $p=0,035$  schwach signifikant (siehe S.55, Tab. 19). Die BMD des gesamten Skeletts nahm im Mittel ab (siehe S. 44, Tab. 13). Die Probanden, die mit 24 Jahren einen hohen DHA-Anteil an den Fettsäuren der Phospholipide hatten, erlitten folglich im Intervall zwischen T1 und T2 den geringsten Knochendichteverlust.

Die Korrelation des Anteils von DHA an den PL bei T2 (28 Jahre) mit der Veränderung der BMD der Wirbelsäule, der Hüfte und des gesamten Skeletts zwischen T1 und T2 waren nicht signifikant.

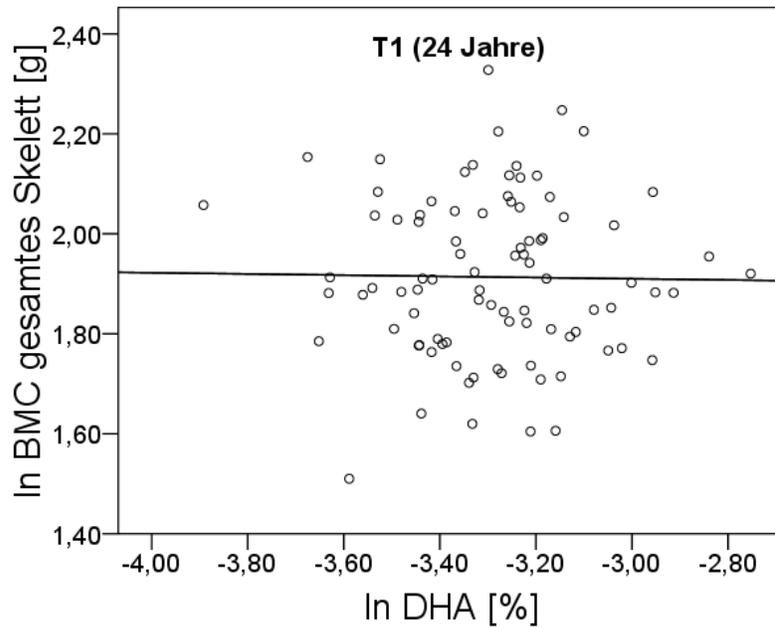
Insgesamt fanden sich zwischen DHA und der Veränderung der Knochendichte zwischen 24 und 28 Jahren bis auf eine Ausnahme keine signifikanten Korrelationen.

#### *4.3.1.3 Korrelationen des DHA-Anteils der Phospholipide mit dem Knochenmineralgehalt*

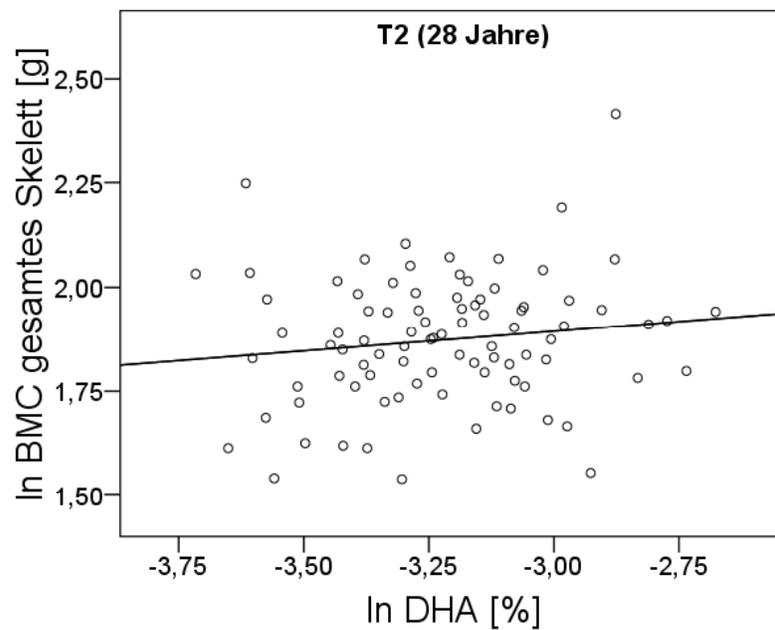
Korrelationen von DHA mit dem Knochenmineralgehalt der Hüfte und des Femurhalses waren nicht statistisch signifikant (siehe S.55, Tab. 19). Im Streudiagramm zeigt sich eine diffuse Punktwolke und eine Regressionsgerade, deren Steigung in etwa Null beträgt (siehe S.58, Abb. 6).

Dieses Ergebnis änderte sich durch eine Adjustierung um BMI, sportliche Aktivität und Vitamin D3-Status (*a*) bzw. um Größe, Gewicht und sportliche Aktivität (*b*) nicht.

DHA korrelierte somit nicht signifikant mit dem Mineralgehalt des Knochens.



a)



b)

Abb. 6 Korrelationen des DHA-Anteils der Phospholipide [%] mit dem Knochenmineralgehalt (BMC, [g]) des gesamten Skeletts a) bei T1 (24 Jahre):  $r=-0,01$ ,  $p=0,892$  und b) bei T2 (28 Jahre):  $r=0,14$ ,  $p=0,204$  nach logarithmischer Transformation: Streudiagramme mit Regressionsgeraden.

### 4.3.2 Fettsäuregruppen

#### 4.3.2.1 Korrelationen der Anteile der Fettsäuregruppen der Phospholipide mit der Knochendichte

Fettsäuren können nach dem Grad ihrer Sättigung und der Lokalisation der Doppelbindungen in Gruppen eingeteilt werden (siehe S.3, Tab. 1). Keine dieser Gruppen zeigte statistisch hochsignifikanten Zusammenhänge mit der Knochendichte an den verschiedenen Lokalisationen (siehe S.59, Tab. 20).

Die einfach ungesättigten Fettsäuren (MUFA) korrelierten bei T2 auf dem 5%-Niveau negativ mit der Knochendichte. Diese Korrelationen finden sich bei der Ölsäure, die den Hauptanteil der MUFA stellt, wieder (siehe S.67, Tab. 26).

Knochendichte (BMD, [g/cm <sup>2</sup> ])	In SAFA [%]						In MUFA [%]					
	T1 (24 Jahre)			T2 (28 Jahre)			T1 (24 Jahre)			T2 (28 Jahre)		
	r	p	n	r	p	n	r	p	n	r	p	n
In BMD Becken	-0,01	0,900	86	0,05	0,621	89	-0,04	0,742	86	-0,21	<b>0,045<sup>a,b</sup></b>	89
In BMD LWS	-0,05	0,634	87	0,00	0,990	88	-0,02	0,881	87	-0,19	0,079	88
In BMD ges. WS	-0,02	0,822	86	0,09	0,419	89	0,00	0,985	86	-0,21	<b>0,046<sup>a,b</sup></b>	89
In BMD Femurhals	0,14	0,193	89	-0,08	0,466	89	-0,04	0,708	89	-0,11	0,291	89
In BMD Hüfte	0,11	0,312	89	-0,02	0,837	89	-0,06	0,599	89	-0,18	<b>0,091<sup>a,b</sup></b>	89
In BMD ges. Skelett	0,17	0,120	89	0,01	0,947	89	-0,03	0,805	89	-0,18	<b>0,093<sup>a,b</sup></b>	89

Tab. 20 Korrelationen der Anteile der SAFA und MUFA der Phospholipide [%] mit der Knochendichte (BMD, [g/cm<sup>2</sup>]): Korrelationskoeffizienten (r), p-Werte und Probandenanzahl (n) bei T1 (24 Jahre) und T2 (28 Jahre) nach logarithmischer Transformation. Signifikante Korrelationen sind farbig markiert : p<0,05 gelb. War die Korrelation nach der Adjustierung um BMI, sportliche Aktivität und Vitamin D3 signifikant, ist sie fett gedruckt und mit *a* markiert. War die Korrelation nach der Adjustierung um Größe, Gewicht und sportliche Aktivität signifikant, ist sie fett gedruckt und mit *b* markiert.

Im Einzelnen korrelierten bei 28 Jahren die MUFA schwach negativ mit der Knochendichte des Beckens (p= 0,045) und der Gesamtwirbelsäule (p= 0,046, siehe S.59, Tab. 20). Auch nach der Korrektur um *a* (BMI, sportliche Aktivität und Vitamin D3) bzw. um *b* (Größe, Gewicht und sportliche Aktivität) blieben diese Korrelationen

signifikant. Hinzu kamen signifikant negative Beziehungen zwischen MUFA und der Knochendichte der Hüfte und des gesamten Skeletts bei 28 Jahren, die vor der Korrektur nur einen schwachen Trend aufgewiesen hatten.

Die Anteile der  $\omega$ 6-PUFA der Phospholipide korrelierten schwach signifikant negativ mit der Knochendichte des gesamten Skeletts an T1 (siehe S.60, Tab. 21). Nach der Adjustierung war dem widersprechend eine positive Korrelation zwischen den  $\omega$ 6-PUFA und der Knochendichte des gesamten Skeletts (*a, b*) und des Beckens (*a*) bei T2 signifikant .

Weder die ungesättigten Fettsäuren (SAFA) noch die  $\omega$ 3-Fettsäuren zeigten statistisch signifikante Zusammenhänge mit der Knochendichte des Beckens, der LWS, der gesamten WS, des Femurhalses, der Hüfte oder des gesamten Skeletts (siehe S.59, Tab. 20 und S.60, Tab. 21).

Die SAFA korrelierten auch nach der Adjustierung (*a, b*) nicht signifikant mit der Knochendichte.

Knochendichte (BMD, [g/cm <sup>2</sup> ])	ln $\omega$ 6-PUFA [%]						ln $\omega$ 3-PUFA [%]					
	T1 (24 Jahre)			T2 (28 Jahre)			T1 (24 Jahre)			T2 (28 Jahre)		
	r	p	n	r	p	n	r	p	n	r	p	n
ln BMD Becken	-0,04	0,697	86	0,05	<b>0,660<sup>a</sup></b>	89	0,12	0,270	86	0,07	0,523	89
ln BMD LWS	0,01	0,923	87	0,05	0,617	88	0,09	0,393	87	0,11	0,305	88
ln BMD ges. WS	-0,06	0,572	86	-0,04	0,733	89	0,15	<b>0,160<sup>b</sup></b>	86	0,14	<b>0,204<sup>a,b</sup></b>	89
ln BMD Femurhals	-0,13	0,232	89	0,07	0,536	89	-0,01	0,911	89	0,17	<b>0,116<sup>b</sup></b>	89
ln BMD Hüfte	-0,07	0,517	89	0,05	0,632	89	-0,04	0,737	89	0,16	0,135	89
ln BMD ges. Skelett	-0,22	<b>0,040</b>	89	0,12	<b>0,260<sup>a,b</sup></b>	89	0,06	0,589	89	0,01	0,914	89

Tab. 21 Korrelationen der Anteile der  $\omega$ 6-PUFA und  $\omega$ 3-PUFA der Phospholipide [%] mit der Knochendichte (BMD, [g/cm<sup>2</sup>]): Korrelationskoeffizienten (r), p-Werte und Probandenanzahl (n) bei T1 (24 Jahre) und T2 (28 Jahre) nach logarithmischer Transformation. Signifikante Korrelationen sind farbig markiert : p<0,05 gelb. War die Korrelation nach der Adjustierung um BMI, sportliche Aktivität und Vitamin D3 signifikant, ist sie fett gedruckt und mit *a* markiert. War die Korrelation nach der Adjustierung um Größe, Gewicht und sportliche Aktivität signifikant, ist sie fett gedruckt und mit *b* markiert.

Die  $\omega$ 3-PUFA korrelierten nach der Adjustierung an T1 (*a*) und T2 (*a, b*) mit der BMD der gesamten Wirbelsäule und an T2 mit der BMD des Femurhalses (*b*, siehe S.60, Tab.

21). Dies entspricht den Korrelationen von DHA mit der BMD der gesamten Wirbelsäule und des Femurhalses, die ebenfalls nach der Adjustierung signifikant korrelierten (siehe S.55, Tab. 19).

Im Überblick bedeutet das, dass vor allem eine negative Assoziation zwischen den MUFA und der BMD erwähnenswert ist. Korrelationen der BMD mit den anderen Fettsäuregruppen fehlten entweder ganz, waren widersprüchlich oder traten nur nach Adjustierung der Daten auf.

#### *4.3.2.2 Korrelationen der Anteile der Fettsäuregruppen der Phospholipide mit der Veränderung der Knochendichte*

Die Anteile der SAFA, MUFA,  $\omega$ 6-PUFA und  $\omega$ 3-PUFA der Phospholipide hatten keinen Vorhersagewert für die Veränderung der Knochendichte der gesamten Wirbelsäule, der Hüfte bzw. des gesamten Skeletts in dem 4jährigen Intervall zwischen den beiden Probenentnahmen (siehe S.62, Tab. 22 und S.62, Tab. 23). Keine der Korrelationen zwischen den Fettsäuregruppen, gemessen bei T1, und der  $\Delta$ BMD war signifikant.

Das Fettsäuremuster bei T2 spiegelte ebenfalls nicht den Knochenverlust im Intervall wieder. Signifikant war hier nur eine negative Korrelation zwischen der Gruppe der  $\omega$ 6-Fettsäuren und der  $\Delta$ BMD der Hüfte. Dies würde für einen verminderten Knochendichteverlust bei hohen Anteilen der  $\omega$ 6-Fettsäuren sprechen. Dem widerspricht, dass die  $\omega$ 6-PUFA an T1 negativ mit der BMD des gesamten Skeletts korrelierten, also einen entgegengesetzten Zusammenhang annehmen ließen (siehe S. 61, Tab. 21).

Insgesamt findet sich kein Anhalt für eine Beeinflussung des Knochendichteverlustes im Intervall durch die Anteile der Fettsäuregruppen der Phospholipide.

Veränderung d. Knochendichte ( $\Delta$ BMD, [g/cm <sup>2</sup> ])	In SAFA [%]						In MUFA [%]					
	T1 (24 Jahre)			T2 (28 Jahre)			T1 (24 Jahre)			T2 (28 Jahre)		
	r	p	n	r	p	n	r	p	n	r	p	n
$\Delta$ BMD WS	0,17	0,125	84	-0,03	0,754	85	0,02	0,835	84	-0,12	0,280	85
$\Delta$ BMD Hüfte	0,16	0,144	85	0,09	0,408	84	-0,06	0,585	85	0,09	0,412	84
$\Delta$ BMD ges. Skelett	0,01	0,931	85	0,03	0,793	84	0,09	0,432	85	-0,02	0,824	84

Tab. 22 Korrelationen der Anteile der SAFA und MUFA der Phospholipide [%] mit der Veränderung der Knochendichte ( $\Delta$ BMD, [g/cm<sup>2</sup>]) der gesamten Wirbelsäule, der Hüfte und des gesamten Skeletts zwischen T1 und T2: Korrelationskoeffizienten (r), p-Werte und Probandenanzahl (n) bei T1 (24 Jahre) und T2 (28 Jahre) nach logarithmischer Transformation.

Veränderung der Knochendichte ( $\Delta$ BMD, [g/cm <sup>2</sup> ])	In $\omega$ 6-PUFA [%]						In $\omega$ 3-PUFA [%]					
	T1 (24 Jahre)			T2 (28 Jahre)			T1 (24 Jahre)			T2 (28 Jahre)		
	r	p	n	r	p	n	r	p	n	r	p	n
$\Delta$ BMD WS	-0,21	0,058	84	0,08	0,466	85	0,01	0,904	84	0,03	0,799	85
$\Delta$ BMD Hüfte	-0,10	0,368	85	-0,23	0,039	84	-0,07	0,519	85	0,08	0,472	84
$\Delta$ BMD ges. Skelett	0,05	0,620	85	0,07	0,530	84	-0,21	0,053	85	-0,12	0,281	84

Tab. 23 Korrelationen der Anteile der  $\omega$ 6-PUFA und  $\omega$ 3-PUFA der Phospholipide [%] mit der Veränderung der Knochendichte ( $\Delta$ BMD, [g/cm<sup>2</sup>]) zwischen T1 und T2: Korrelationskoeffizienten (r), p-Werte und Probandenanzahl (n) bei T1 (24 Jahre) und T2 (28 Jahre) nach logarithmischer Transformation. Signifikante Korrelationen sind farbig markiert : p<0,05 gelb.

#### 4.3.2.3 Korrelationen der Anteile der Fettsäuregruppen der Phospholipide mit dem Knochenmineralgehalt

Zwischen den Anteilen der Fettsäuregruppen SAFA, MUFA,  $\omega$ 6-PUFA und  $\omega$ 3-PUFA der Phospholipide und dem Knochenmineralgehalt der Hüfte und des Femurhalses bestanden keine signifikanten Korrelationen (siehe S.63, Tab. 24 und S.63, Tab. 25).

Knochenmineral- gehalt (BMC, [g/cm <sup>2</sup> ])	ln SAFA [%]				ln MUFA [%]			
	T1 (24 Jahre) (n= 89)		T2 (28 Jahre) (n= 89)		T1 (24 Jahre) (n= 89)		T2 (28 Jahre) (n= 89)	
	r	p	r	p	r	p	r	P
ln BMC Hüfte	0,05	0,651	0,05	0,636	-0,02	0,824	-0,19	<b>0,072<sup>b</sup></b>
ln BMC Femurhals	0,09	0,408	-0,01	0,923	0,06	0,550	-0,14	<b>0,179<sup>a</sup></b>

Tab. 24 Korrelationen der Anteile der SAFA und MUFA der Phospholipide [%] mit dem Mineralgehalt (BMC; [g]) der Hüfte und des Femurhalses: Korrelationskoeffizienten (r), p-Werte und Probandenzahl (n) bei T1 (24 Jahre) und T2 (28 Jahre) nach logarithmischer Transformation. War die Korrelation nach der Adjustierung um BMI, sportliche Aktivität und Vitamin D3 signifikant, ist sie fett gedruckt und mit *a* markiert. War die Korrelation nach der Adjustierung um Größe, Gewicht und sportliche Aktivität signifikant, ist sie fett gedruckt und mit *b* markiert.

Knochenmineral- gehalt (BMC, [g/cm <sup>2</sup> ])	ln ω6-PUFA [%]				ln ω3-PUFA [%]			
	T1 (24 Jahre) (n= 89)		T2 (28 Jahre) (n= 89)		T1 (24 Jahre) (n= 89)		T2 (28 Jahre) (n= 89)	
	r	p	r	p	r	p	r	p
ln BMC Hüfte]	-0,04	0,736	0,00	0,963	-0,02	0,858	0,10	0,336
ln BMC Femurhals	-0,15	0,152	0,04	0,704	0,01	0,938	0,12	0,272

Tab. 25 Korrelationen der Anteile der SAFA und MUFA, ω6-PUFA und ω3-PUFA der Phospholipide [%] mit dem Mineralgehalt (BMC; [g]) der Hüfte und des Femurhalses: Korrelationskoeffizienten (r), p-Werte und Probandenzahl (n) bei T1 (24 Jahre) und T2 (28 Jahre) nach logarithmischer Transformation.

Nach der Bereinigung um BMI, sportliche Aktivität und Vitamin D3 (*a*) wurde eine negative Korrelation zwischen dem MUFA-Anteil der PL und dem Mineralgehalt des Femurhalses an T2 statistisch signifikant (siehe S.63, Tab. 24). Nach Bereinigung um Größe, Gewicht und sportliche Aktivität (*b*) korrelierten die MUFA negativ mit dem BMC der Hüfte (siehe S.63, Tab. 24). Dies steht im Einklang mit den negativen

Korrelationen zwischen MUFA und der Knochendichte an mehreren Skelettpunkten (siehe S.59, Tab. 20).

Kohärent zu den negativen Korrelationen zwischen MUFA und BMD fielen also die negativen Beziehungen zwischen dieser Fettsäuregruppe und dem BMC auf. Diese Korrelationen waren aber schwächer und wurden erst nach der Korrektur für Einflussvariablen signifikant. Zwischen dem BMC und den anderen Fettsäuregruppen bestanden keine statistisch signifikanten Zusammenhänge.

### 4.3.3 Fettsäuren

#### *4.3.3.1 Korrelationen der Anteile einzelner Fettsäuren der Phospholipide mit der Knochendichte*

Alle Korrelationen zwischen den Anteilen einzelner Fettsäuren der Phospholipide und der Knochendichte waren entweder nur an T1 oder nur an T2 signifikant. Zwei Korrelationen waren auf dem 0,01%-Niveau signifikant. Die Ergebnisse für die Adjustierung um BMI, sportliche Aktivität und Vitamin D3-Status (*a*) unterschieden sich nicht wesentlich von den Ergebnissen für die Bereinigung um Größe, Gewicht und sportliche Aktivität (*b*).

Eine hochsignifikante Korrelation bestand zwischen dem Ölsäure-Anteil der Phospholipide und der Beckenknochendichte an T2 (siehe S.67, Tab. 26 und S.70, Abb. 8). Der negative Zusammenhang war mit  $p=0,007$  signifikant.

Nach Korrektur (*a*, *b*) blieb diese Korrelation signifikant. Da Ölsäure die anteilig am stärksten vertretene einfach ungesättigte Fettsäure ist, konnte man ebenso eine negative Korrelation zwischen der Gruppe der MUFA und der Knochendichte des Beckens beobachten (siehe S.59, Tab. 20).

Ölsäure zeigte bei T2 (28 Jahre) außerdem eine Serie von signifikanten Korrelationen mit der Knochendichte aller gemessenen Knochenlokalisationen mit Ausnahme der BMD des Femurhalses. So bestand eine negative Korrelation zwischen Ölsäure und der Knochendichte der gesamten Wirbelsäule ( $p= 0,01$ , siehe S.70, Abb. 8). Auch diese Korrelation blieb nach der Adjustierung (*a*, *b*) bestehen. Sie spiegelt sich in der negativen Korrelation zwischen den MUFA und der Knochendichte der gesamten Wirbelsäule wieder (siehe S.59, Tab. 20). Auch mit der Knochendichte der LWS, der Hüfte und des gesamten Skeletts korrelierte Ölsäure bei 28 Jahren negativ (siehe S.63,

Tab. 25 und S.70, Abb. 8). Diese Korrelationen waren auf dem 0,05-Signifikanzniveau signifikant. An T1 dagegen war keine Korrelation statistisch signifikant. Mit Ausnahme der Korrelation zwischen Ölsäure und der Knochendichte der LWS blieben die Zusammenhänge auch nach Bereinigung um die Einflussvariablen (*a*, *b*) signifikant (siehe S.67, Tab. 26 und S.68, Tab. 27).

Die zweite hochsignifikante Korrelation bestand zwischen dem Anteil der  $\omega$ 6-Fettsäure Eicosadiensäure (*engl. eicosadienoic acid*, EDA) der Phospholipide mit der Knochendichte des Beckens an T2 ( $p=0,005$ ). Auch nach der Korrektur (*a*, *b*) blieb der positive Zusammenhang bestehen (siehe S.67, Tab. 26).

Weiter korrelierte Eicosadiensäure positiv mit der Knochendichte der LWS und der Gesamtwirbelsäule sowie der Gesamtknochendichte bei T2. Hier erreichten die *p*-Werte das 0,05%-Niveau. Nach der Korrektur (*a*, *b*) fielen diese Korrelationen als statistisch nicht signifikant weg, mit Ausnahme der Korrelation zwischen Eicosadiensäure und der BMD der LWS (siehe S.67, Tab. 26 und S.68, Tab. 27).

Dihomogammalinolensäure (*engl. Dihomogammalinoleic acid*, DGLA), eine weitere  $\omega$ 6-PUFA, wies ähnliche Korrelationen auf. Bei T2 korrelierte Dihomogammalinolensäure ebenso wie Eicosadiensäure positiv mit der Knochendichte der gesamten Wirbelsäule ( $p= 0,037$ , siehe S.67, Tab. 26). Ebenfalls bei 28 Jahren korrelierte DGLA zudem positiv mit der Gesamtknochendichte ( $p=0,024$ ; siehe S.68, Tab. 27). Die Korrelationen waren nach der Adjustierung um BMI, sportliche Aktivität und Vitamin D3 (*a*) nicht mehr signifikant (siehe S.68, Tab. 27). Nach der Adjustierung um Größe, Gewicht und sportliche Aktivität (*b*) blieb die positive Korrelation mit der BMD des gesamten Skeletts signifikant (siehe S.68, Tab. 27).

Außer der einfach ungesättigten Fettsäure Ölsäure und den zwei  $\omega$ 6-Fettsäuren EDA und DGLA korrelierten einige gesättigte Fettsäuren mit der Knochendichte. Dazu gehörten die sehr langkettigen Fettsäuren (*engl. very long chain fatty acids*, VLCFA) Arachinsäure und Behensäure, die an T2 positiv mit der Knochendichte korrelierten (siehe S.67, Tab. 26 und S.68, Tab. 27). Die beiden Säuren korrelierten positiv mit der Knochendichte des Beckens, der gesamten Wirbelsäule und der Gesamtknochendichte. Die Korrelationskoeffizienten waren für beide Säuren ähnlich. Nach der Korrektur für die Einflussvariablen (*a*, *b*) waren die Korrelationen nicht signifikant. Neu nach der Adjustierung zeigten sich dagegen zwischen der BMD der gesamten Wirbelsäule und Behensäure bzw. Arachinsäure an T1 negative Korrelationen (siehe S.67, Tab. 26).

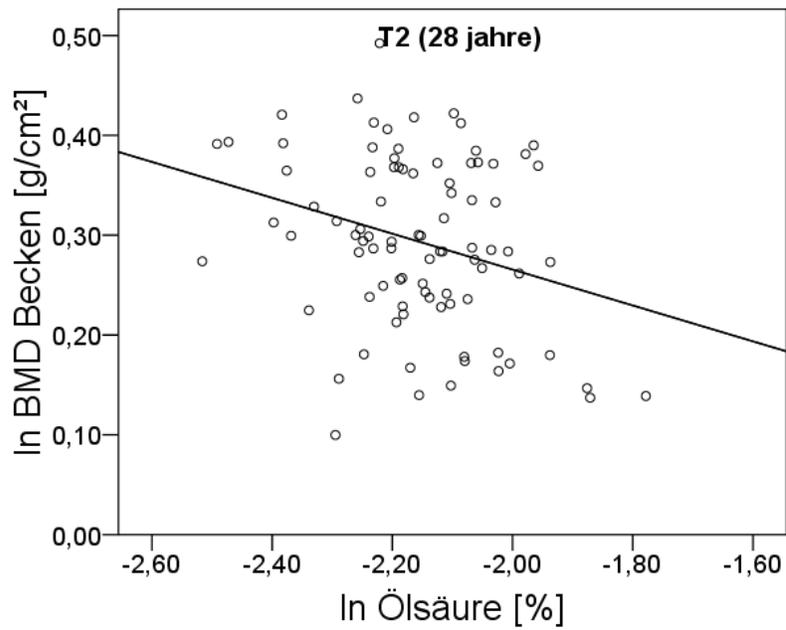
Korrelationen zwischen der Knochendichte und Palmitinsäure erreichten nicht das Signifikanzniveau. Da Palmitinsäure den größten Anteil der SAFA ausmacht, erklärt dies die fehlende Korrelation zwischen der Gruppe der SAFA und der Knochendichte (siehe S.59, Tab. 20). Die Adjustierung ( $a$ ,  $b$ ) änderte nichts daran, dass zwischen dem relativen Anteil von Palmitinsäure in den Phospholipiden und der BMD an den verschiedenen Lokalisationen kein statistisch signifikanter Zusammenhang bestand. Zusammenfassend zeigte Ölsäure einen starken negativen Zusammenhang mit der BMD. Die  $\omega$ 6-PUFA DGLA und EDA sowie die gesättigten VLCFA Arachin- und Behensäure dagegen zeigten einen weniger deutlich ausgeprägten positiven Zusammenhang mit der Knochendichte. Alle signifikanten Korrelationen traten bei T2 (28 Jahre) auf.

Anteile der Fettsäuren der Phospholipide [%]	In BMD Becken [g/cm <sup>2</sup> ]				In BMD LWS [g/cm <sup>2</sup> ]				In BMD gesamte WS [g/cm <sup>2</sup> ]			
	T1		T2		T1		T2		T1		T2	
	(24 Jahre)		(28 Jahre)		(24 Jahre)		(28 Jahre)		(24 Jahre)		(28 Jahre)	
	(n=86)		(n=89)		(n=87)		(n=89)		(n=86)		(n=89)	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
In Palmitinsäure	-0,05	0,618	0,01	0,959	-0,20	0,070	-0,11	0,320	-0,04	0,717	-0,03	0,773
In Stearinsäure	0,03	0,795	0,01	0,893	0,08	0,471	0,04	0,717	0,04	0,744	0,07	0,538
In Arachinsäure	-0,09	0,436	0,26	<b>0,015</b>	-0,14	0,204	0,13	0,240	-0,17	<b>0,116<sup>ab</sup></b>	0,26	<b>0,012</b>
In Behensäure	-0,06	0,589	0,25	<b>0,017</b>	-0,06	0,580	0,17	0,115	-0,17	<b>0,113<sup>ab</sup></b>	0,26	<b>0,013</b>
In Lignocerin- säure	-0,07	0,502	0,15	0,167	-0,08	0,446	0,06	0,574	-0,18	0,098	0,12	0,257
In d-7-HDA	-0,09	0,417	0,11	0,285	0,05	0,677	0,11	0,330	0,01	0,909	0,18	0,083
Ln Palmitölsäure	0,17	0,120	-0,10	<b>0,368<sup>ab</sup></b>	0,08	0,452	-0,03	0,761	0,18	0,091	-0,05	<b>0,616<sup>b</sup></b>
In Ölsäure	-0,04	0,703	-0,28	<b>0,007<sup>ab</sup></b>	-0,06	0,599	-0,23	<b>0,031</b>	-0,05	0,653	-0,27	<b>0,010<sup>ab</sup></b>
In Vaccinsäure	-0,07	0,515	0,13	<b>0,219<sup>ab</sup></b>	0,04	0,733	0,02	0,881	0,05	0,671	0,01	0,927
In Nervonsäure	0,04	0,732	0,19	0,075	0,10	0,378	0,13	0,237	0,09	0,412	0,20	0,056
In LA	-0,06	0,598	-0,12	0,262	0,08	0,467	-0,09	0,381	-0,07	0,552	-0,16	0,131
In GLA	-0,05	0,625	-0,14	0,190	-0,08	0,470	-0,02	0,866	-0,10	0,371	-0,09	0,427
In EDA	-0,03	0,801	0,30	<b>0,005<sup>ab</sup></b>	0,03	0,801	0,26	<b>0,015<sup>ab</sup></b>	0,01	0,928	0,22	<b>0,037</b>
In DGLA	0,01	0,950	0,19	0,068	-0,10	0,349	0,18	0,103	0,11	0,314	0,22	<b>0,037</b>
In AA	0,05	0,671	0,18	<b>0,083<sup>ab</sup></b>	-0,06	0,583	0,15	<b>0,151<sup>ab</sup></b>	-0,02	0,882	0,10	0,355
In ALA	0,06	0,599	-0,14	0,178	-0,04	0,721	-0,11	0,299	0,02	0,856	-0,10	0,359
In ETEA	0,05	0,636	-0,08	0,483	-0,08	0,466	-0,02	0,818	0,05	0,668	-0,04	0,693
In EPA	0,07	0,512	0,03	0,811	0,06	0,601	0,07	0,515	0,04	0,695	0,03	0,809
In DPA	0,03	0,751	0,09	0,393	0,17	<b>0,120<sup>a</sup></b>	0,21	<b>0,045<sup>ab</sup></b>	0,19	<b>0,084<sup>ab</sup></b>	0,10	0,335
In DHA	0,12	0,288	0,10	0,357	0,09	0,425	0,10	0,376	0,16	<b>0,137<sup>b</sup></b>	0,19	<b>0,076<sup>ab</sup></b>

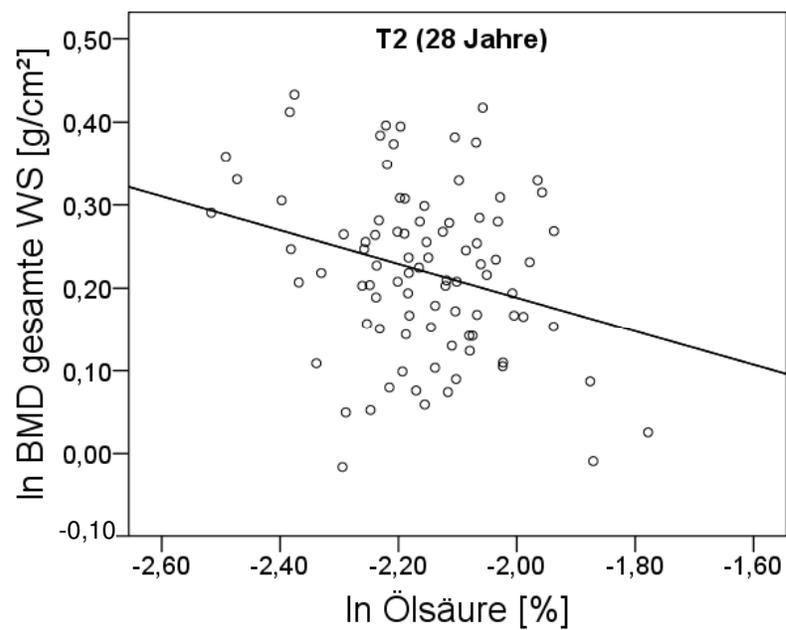
Tab. 26 Korrelationen der Anteile der Fettsäuren der Phospholipide [%] mit der Knochendichte (BMD, [g/cm<sup>2</sup>]) des Beckens, der LWS und der gesamten Wirbelsäule: Korrelationskoeffizienten (r), p-Werte und Probandenzahl (n) bei T1 (24 Jahre) und T2 (28 Jahre) nach logarithmischer Transformation. Signifikante Korrelationen sind farbig markiert : p<0,05 gelb, p<0,01 orange. War die Korrelation nach der Adjustierung um BMI, sportliche Aktivität und Vitamin D3 signifikant, ist sie fett gedruckt und mit a markiert. War die Korrelation nach der Adjustierung um Größe, Gewicht und sportliche Aktivität signifikant, ist sie fett gedruckt und mit b markiert.

Anteile der Fettsäuren der Phospholipide [%]	In BMD Femurhals [g/cm <sup>2</sup> ]				In BMD Hüfte [g/cm <sup>2</sup> ]				In BMD gesamtes Skelett [g/cm <sup>2</sup> ]			
	T1		T2		T1		T2		T1		T2	
	(24 Jahre)		(28 Jahre)		(24 Jahre)		(28 Jahre)		(24 Jahre)		(28 Jahre)	
	(n=89)		(n=89)		(n=89)		(n=89)		(n=89)		(n=89)	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
In Palmitinsäure	-0,18	0,097	-0,12	0,257	-0,19	0,071	-0,13	0,218	-0,10	0,341	-0,05	0,662
In Stearinsäure	0,26	0,015	-0,03	0,791	0,23	0,028	0,03	0,798	0,25	0,020	-0,01	0,951
In Arachinsäure	-0,04	0,711	0,06	0,551	-0,09	0,412	0,12	0,260	0,00	0,990	0,23	0,031
In Behensäure	-0,10	0,371	0,10	0,375	-0,07	0,539	0,16	0,128	-0,15	0,149 <sup>ab</sup>	0,27	0,010
In Lignocerin-säure	-0,17	0,107	-0,01	0,934	-0,14	0,200	0,05	0,654	-0,21	0,054 <sup>ab</sup>	0,14	0,185
In d-7-HDA	0,03	0,815	0,11	0,313	0,05	0,631	0,06	0,555	-0,01	0,909	0,16	0,136
In Palmitölsäure	0,11	0,323	0,02	0,886	0,10	0,338	-0,03	0,749	0,19	0,082	-0,05	0,648
In Ölsäure	-0,01	0,923	-0,17	0,120	-0,02	0,872	-0,23	0,032 <sup>ab</sup>	-0,02	0,848	-0,27	0,012 <sup>ab</sup>
In Vaccinsäure	-0,02	0,831	0,01	0,921	-0,06	0,560	0,00	0,999	-0,04	0,735	0,14	0,196
In Nervonsäure	-0,14	0,183	0,19	0,079	-0,14	0,188	0,18	0,092	-0,05	0,615	0,25	0,019
In LA	-0,07	0,517	0,02	0,857	-0,01	0,894	-0,01	0,901	-0,16	0,138	-0,08	0,476
In GLA	-0,04	0,741	-0,02	0,831	-0,02	0,882	-0,06	0,582	-0,03	0,802	-0,08	0,458
In EDA	0,03	0,800	0,17	0,111	-0,04	0,740	0,12	0,260	-0,12	0,263	0,24	0,026
In DGLA	-0,05	0,631	0,05	0,648	-0,07	0,540	0,06	0,600	-0,09	0,418	0,24	0,024 <sup>b</sup>
In AA	-0,07	0,510	0,06	0,558	-0,06	0,582	0,09	0,413	-0,07	0,515	0,22	0,037 <sup>a</sup>
In ALA	0,08	0,455	-0,07	0,498	0,03	0,792	-0,11	0,283	0,10	0,344	-0,20	0,059
In ETEA	-0,04	0,706	-0,04	0,696	-0,09	0,417	-0,11	0,327	0,00	0,970	-0,18	0,092 <sup>ab</sup>
In EPA	-0,03	0,797	0,11	0,313	-0,05	0,629	0,09	0,417	0,03	0,812	-0,07	0,503
In DPA	0,00	0,971	0,13	0,217	0,00	0,999	0,16	0,142	-0,03	0,759	0,10	0,330
In DHA	-0,02	0,877	0,17	0,110 <sup>ab</sup>	-0,03	0,801	0,18	0,095 <sup>ab</sup>	0,06	0,584	0,08	0,430

Tab. 27 Korrelationen der Anteile der Fettsäuren der Phospholipide [%] mit der Knochendichte (BMD, [g/cm<sup>2</sup>]) des Femurhalses, der Hüfte und des gesamten Skeletts: Korrelationskoeffizienten (r), p-Werte und Probandenzahl (n) bei T1 (24 Jahre) und T2 (28 Jahre) nach logarithmischer Transformation. Signifikante Korrelationen sind farbig markiert : p<0,05 gelb. War die Korrelation nach der Adjustierung um BMI, sportliche Aktivität und Vitamin D3 signifikant, ist sie fett gedruckt und mit a markiert. War die Korrelation nach der Adjustierung um Größe, Gewicht und sportliche Aktivität signifikant, ist sie fett gedruckt und mit b markiert.

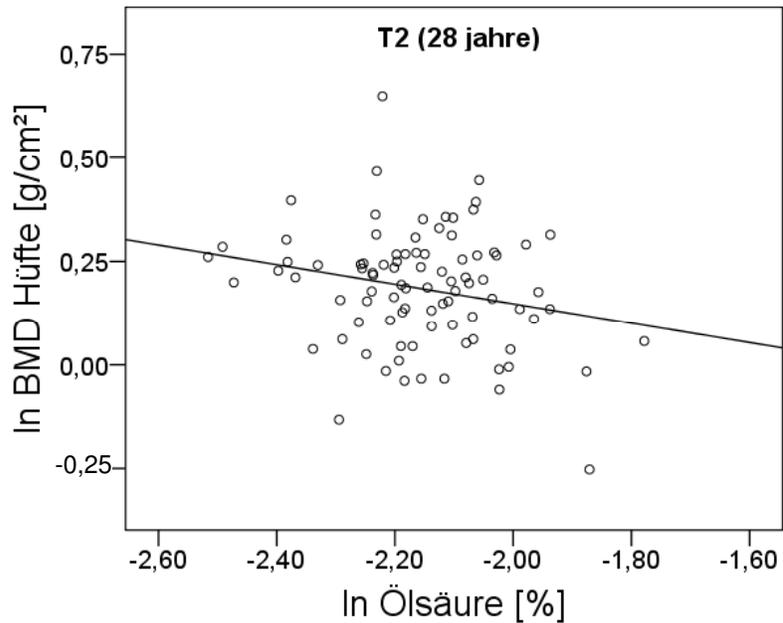


a)

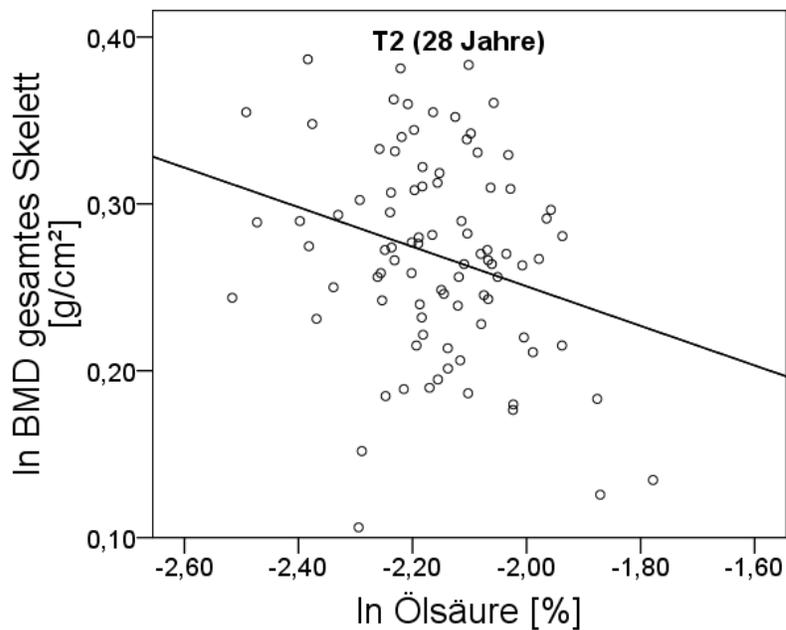


b)

Abb. 7 Korrelationen des Ölsäure-Anteils der Phospholipide [%] mit der Knochendichte (BMD, [g/cm<sup>2</sup>]) a) des Beckens ( $r=-0,28$ ,  $p=0,007$ ) und b) der gesamten Wirbelsäule ( $r=-0,27$ ,  $p=0,01$ ) bei T2 (28 Jahre) nach logarithmischer Transformation: Streudiagramme mit Regressionsgeraden.



a)



b)

Abb. 8 Korrelationen des Ölsäure-Anteils der Phospholipide [%] mit der Knochendichte (BMD, [g/cm<sup>2</sup>]) a) der Hüfte ( $r=-0,23$ ,  $p=0,032$ ) und b) des gesamten Skeletts ( $r=-0,27$ ,  $p=0,012$ ) bei T2 (28 Jahre) nach logarithmischer Transformation: Streudiagramme mit Regressionsgeraden.

#### *4.3.3.2 Korrelationen der Anteile einzelner Fettsäuren der Phospholipide mit der Veränderung der Knochendichte*

Die mittlere Veränderung der Knochendichte der LWS, der Hüfte und des gesamten Skeletts wurde aus den untransformierten (nicht logarithmierten) Daten erstellt. Die BMD nahm im Intervall (vier Jahre) zwischen T1 und T2 an diesen Punkten minimal, jedoch statistisch signifikant ab (siehe S.44, Tab. 13). Eine positive Korrelation einer Fettsäure mit der Änderung bedeutete also eine Korrelation mit der erhöhten Abnahme der BMD, während eine negative Korrelation einen Zusammenhang mit einem geringeren Knochendichteverlust ausdrückte.

Dihomogammalinolensäure (DGLA) korrelierte positiv mit der Veränderung der Gesamtknochendichte zwischen den Zeitpunkten. Diese Korrelation war als einzige Korrelation für beide Messungen signifikant (T1:  $p=0,022$ ; T2:  $p=0,01$ ; siehe S.72, Tab. 28). Demnach wäre DGLA mit einem erhöhtem Knochendichteverlust assoziiert – dies widerspricht aber den positiven Korrelationen dieser Säure mit der Knochendichte bei 28 Jahren (siehe S.67, Tab. 26 und S. 68, Tab. 27).

Eine negative Korrelation zwischen DHA und der Änderung der BMD des gesamten Skeletts bei T1 war statistisch signifikant, das heißt Probanden mit einem hohen DHA-Anteil der PL verloren im Mittel weniger Knochendichte im Messintervall (siehe S. 55, Tab. 19).

Alles in allem zeigte sich kein klarer Zusammenhang zwischen den Fettsäuren und dem Knochendichteverlust im Messintervall.

Anteile der Fettsäuren der Phospholipide [%]	$\Delta$ BMD Hüfte [g/cm <sup>2</sup> ]				$\Delta$ BMD WS [g/cm <sup>2</sup> ]				$\Delta$ BMD gesamtes Skelett [g/cm <sup>2</sup> ]			
	T1		T2		T1		T2		T1		T2	
	(24 Jahre)		(28 Jahre)		(24 Jahre)		(28 Jahre)		(24 Jahre)		(28 Jahre)	
	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r	p
In Palmitinsäure	0,01	0,923	-0,01	0,947	0,14	0,202	-0,06	0,564	0,01	0,921	0,09	0,411
In Stearinsäure	0,17	0,129	0,11	0,307	0,06	0,595	-0,02	0,882	-0,02	0,879	-0,04	0,714
In Arachinsäure	0,08	0,478	0,05	0,646	0,13	0,244	-0,18	0,108	0,11	0,339	0,09	0,410
In Behensäure	-0,04	0,711	-0,13	0,243	0,24	0,029	0,06	0,583	0,25	0,019	0,15	0,184
In Lignocerin-säure	-0,02	0,875	-0,13	0,232	0,22	0,044	0,10	0,385	0,18	0,097	0,09	0,428
In d-7-HDA	-0,03	0,775	0,15	0,184	-0,08	0,484	-0,02	0,849	-0,02	0,856	0,08	0,497
In Palmitölsäure	0,09	0,403	0,23	0,035	0,13	0,226	0,11	0,299	0,11	0,316	0,16	0,143
In Ölsäure	-0,06	0,591	0,04	0,721	0,08	0,452	-0,11	0,337	0,08	0,456	-0,03	0,776
In Vaccinsäure	-0,14	0,199	0,14	0,195	-0,21	0,058	-0,10	0,374	-0,17	0,113	0,01	0,950
In Nervonsäure	0,02	0,859	-0,01	0,953	-0,12	0,280	-0,10	0,370	0,13	0,224	-0,08	0,443
In LA	-0,11	0,300	-0,22	0,047	-0,16	0,141	-0,04	0,690	0,03	0,789	-0,06	0,576
In GLA	0,09	0,438	-0,15	0,168	0,03	0,755	0,15	0,164	-0,10	0,376	-0,08	0,489
In EDA	-0,04	0,708	-0,04	0,688	0,03	0,768	-0,04	0,738	0,18	0,100	0,22	0,044
In DGLA	0,04	0,744	0,02	0,849	0,00	0,976	0,18	0,092	0,25	0,022	0,28	0,010
In AA	0,01	0,945	-0,02	0,830	-0,10	0,356	0,12	0,268	-0,05	0,635	0,08	0,484
In ALA	-0,12	0,279	-0,02	0,882	0,00	0,977	-0,05	0,662	-0,11	0,325	-0,09	0,408
In ETEA	-0,08	0,443	0,03	0,757	0,17	0,112	0,06	0,609	0,07	0,517	0,09	0,428
In EPA	-0,12	0,256	0,06	0,576	0,08	0,487	0,09	0,433	-0,17	0,123	-0,06	0,560
In DPA	0,03	0,778	0,10	0,359	-0,07	0,508	0,12	0,275	0,01	0,921	-0,02	0,824
In DHA	-0,01	0,937	0,06	0,564	-0,04	0,728	-0,04	0,750	-0,23	0,035	-0,13	0,234

Tab. 28 Korrelationen der Anteile der Fettsäuren der Phospholipide [%] mit der Veränderung der Knochendichte ( $\Delta$ BMD, [g/cm<sup>2</sup>]) der Hüfte, der Wirbelsäule und des gesamten Skeletts zwischen T1 und T2: Korrelationskoeffizienten (r), p-Werte und Probandenanzahl (n) bei T1 (24 Jahre) und T2 (28 Jahre) nach logarithmischer Transformation. Signifikante Korrelationen sind farblich markiert : p<0,05 gelb, p<0,01 orange.

#### *4.3.3.3 Korrelationen der Anteile einzelner Fettsäuren der Phospholipide mit dem Knochenmineralgehalt*

Die Korrelationen zwischen den Fettsäureanteilen der Phospholipide und dem BMC ähneln den Korrelationen der Fettsäureanteile mit der BMD. Dies ist nicht verwunderlich, da der Mineralgehalt aus dem mit DXA-Technik gemessenen Knochendichtewert errechnet wird und somit direkt von diesem abhängt (siehe S. 15, 2.2.6 *Knochendichte und Knochenmineralgehalt*).

Erwähnenswert ist eine negative Korrelation zwischen Ölsäure und dem Mineralgehalt der Hüfte bei T2 ( $p=0,033$ ). Dies ist in Einklang mit der Beobachtung, dass Ölsäure mit der Hüftknochendichte negativ korreliert (siehe S. 68, Tab. 27). Eicosadiensäure korrelierte an T2 positiv mit dem Mineralgehalt des gesamten Skeletts ( $p=0,035$ ). Auch diese Korrelation findet sich in der Korrelation zwischen Eicosadiensäure und der Knochendichte des gesamten Skeletts wieder (siehe S.68, Tab. 27).

Nur die negative Beziehung zwischen Ölsäure und dem BMC der Hüfte blieb nach Korrektur für BMI, sportliche Aktivität und Vitamin D3-Gehalt über dem Signifikanzniveau.

Somit ist die negative Korrelation zwischen Ölsäure und dem BMC besonders erwähnenswert, da sich dieser Zusammenhang auch zwischen Ölsäure und der Knochendichte finden lässt. Dieser Befund zeigt sich also zwischen Ölsäure und BMD sowie BMC. Korrelationen von anderen Fettsäuren mit BMD und BMC waren sehr viel weniger deutlich ausgeprägt und größtenteils nicht konsistent.

Anteile der Fettsäuren der Phospholipide [%]	In BMC Hüfte [g]				In BMC Femurhals [g]			
	T1 (24 Jahre) (n= 89)		T2 (28 Jahre) (n=89)		T1 (24 Jahre) (n=89)		T2 (28 Jahre) (n=89)	
	r	p	r	p	r	p	r	p
In Palmitinsäure	-0,22	0,043	-0,06	0,584	-0,16	0,138	-0,03	0,766
In Stearinsäure	0,18	0,083	0,07	0,498	0,19	0,070	-0,02	0,858
In Arachinsäure	-0,15	<b>0,170<sup>a,b</sup></b>	0,10	0,372	-0,07	0,528	0,14	0,182
In Behensäure	-0,09	0,410	0,09	0,419	-0,10	0,349	0,14	0,187
In Lignocerinsäure	-0,10	0,372	-0,02	0,887	-0,13	0,240	0,06	0,572
In d-7-HDA	0,03	0,786	0,09	0,426	0,01	0,926	0,08	0,452
In Palmitölsäure	0,15	0,148	-0,01	0,949	0,17	<b>0,102<sup>a</sup></b>	-0,07	<b>0,486<sup>b</sup></b>
In Ölsäure	0,01	0,943	-0,23	<b>0,033<sup>a,b</sup></b>	0,09	0,418	-0,19	<b>0,070<sup>b</sup></b>
In Vaccinsäure	-0,12	0,266	-0,02	0,879	-0,05	0,632	0,05	0,654
In Nervensäure	-0,06	0,573	0,13	0,231	-0,07	0,526	0,20	0,067
In LA	0,02	0,837	-0,06	0,591	-0,04	0,690	-0,02	0,860
In GLA	-0,03	0,748	-0,04	0,696	-0,08	0,453	-0,12	0,257
In EDA	-0,04	0,684	0,15	0,170	0,02	0,837	0,22	0,035
In DGLA	-0,09	0,413	0,05	0,643	-0,15	0,152	0,04	0,700
In AA	-0,05	0,618	0,08	0,439	-0,12	0,252	0,08	0,433
In ALA	0,08	0,438	-0,03	0,764	0,12	0,283	-0,11	0,316
In ETEA	-0,06	0,605	-0,05	0,643	-0,01	0,951	-0,08	0,478
In EPA	-0,01	0,961	0,09	0,415	0,02	0,885	0,08	0,465
In DPA	-0,01	0,957	0,08	0,478	-0,04	0,710	0,08	0,484
In DHA	-0,05	0,670	0,09	0,389	-0,01	0,892	0,14	0,204

Tab. 29 Korrelationen der Anteile der Fettsäuren der Phospholipide [%] mit dem Mineralgehalt (BMC, [g]) der Hüfte und des Femurhalses: Korrelationskoeffizienten (r), p-Werte und Probandenanzahl (n) für T1 (24 Jahre) und T2 (28 Jahre) nach logarithmischer Transformation. Signifikante Korrelationen sind farbig markiert: p<0,05 gelb. War die Korrelation nach der Adjustierung um BMI, sportliche Aktivität und Vitamin D3 signifikant, ist sie fett gedruckt und mit *a* markiert. War die Korrelation nach der Adjustierung um Größe, Gewicht und sportliche Aktivität signifikant, ist sie fett gedruckt und mit *b* markiert.

## **5 DISKUSSION**

### **5.1 Die Wirkung von DHA und $\omega$ 3-PUFA auf die Knochendichte**

Die vorliegende Analyse der Knochendichtemessungen und Fettsäuremuster der 102 Probanden aus Umeå bei 24 und 28 Jahren führt zu dem Ergebnis, dass in diesem Kollektiv zu diesen Zeitpunkten kein statistisch signifikanter linearer Zusammenhang zwischen der  $\omega$ 3-Fettsäure DHA in den Phospholipiden und der mittels DXA gemessenen Knochendichte bestand.

Dies steht im Gegensatz zu den Ergebnissen der Gruppe um Hogstrom, die das gleiche Kollektiv an zwei früheren Zeitpunkten (im Alter von 16 (Tb) und 22 (T0) Jahren) untersuchte (Hogstrom et al. 2007). In diesen Messungen korreliert die  $\omega$ 3-Fettsäure DHA statistisch signifikant positiv mit der BMD des gesamten Skeletts ( $p=0,004$ ) sowie der gesamten Wirbelsäule ( $p=0,008$ ) bei T0 (22 Jahre).

Im Alter von 24 und 28 Jahren, an den in der vorliegenden Arbeit untersuchten Zeitpunkten T1 und T2, waren diese Korrelationen nicht nachweisbar. Weder der Zusammenhang von DHA mit der BMD des gesamten Skeletts (24 Jahre:  $p=0,584$ ; 28 Jahre:  $p=0,43$ ) noch mit der BMD der gesamten Wirbelsäule (24 Jahre:  $p=0,137$ ; 28 Jahre:  $p=0,076$ ) war statistisch signifikant (siehe S.55, Tab. 19). Lediglich nach Adjustierung um Größe, Gewicht und sportliche Aktivität war die Korrelation zwischen DHA und der BMD der gesamten Wirbelsäule im Alter von 28 Jahren (T2) signifikant ( $p=0,012$ ). Bei T1 jedoch ließ sich auch nach der Korrektur um die Einflussvariablen keine signifikante Korrelation nachweisen. Würde ein Zusammenhang bestehen, der durch Störvariablen maskiert wäre, müsste nach der Adjustierung auch die Korrelation bei 24 Jahren signifikant werden und sich Übereinstimmungen mit der BMD anderer Skelettorte finden lassen. Eine signifikante Korrelation zwischen DHA und der Knochendichte des gesamten Skeletts fehlte aber ganz (siehe S.55, Tab. 19).

Bei 22 Jahren (T0) korrelierte DHA mit der Veränderung der Knochendichte der Wirbelsäule zwischen dem 16. und 22. Lebensjahr der Probanden ( $p=0,02$ ) (Hogstrom et al. 2007). Da in diesem Intervall ein Zuwachs an Knochendichte zu verzeichnen war, bedeutet dies, dass ein höherer DHA-Anteil mit einem größeren Gewinn an Knochendichte der Wirbelsäule im Messintervall einher ging.

Obleich der Zusammenhang zwischen DHA und der BMD der Wirbelsäule bei 24 bzw. 28 Jahren fehlte, zeigte sich in der vorliegenden Analyse eine ähnliche Korrelation von DHA mit der BMD des gesamten Skeletts. DHA korrelierte bei 24 Jahren negativ mit der Veränderung der BMD des gesamten Skeletts zwischen T1 und T2 ( $p=0,035$ , siehe S.55 Tab. 19). Da die Knochendichte des gesamten Skeletts zwischen T1 und T2 im Durchschnitt abnahm, verloren Probanden, die mit 24 Jahren einen hohen DHA-Anteil in den PL hatten, im Messintervall insgesamt weniger Knochendichte als Probanden mit einem niedrigen DHA-Anteil. Insgesamt konnte jedoch die deutliche Assoziation zwischen DHA und der BMD, die Hogstrom beobachtet hatte, in der vorliegenden Analyse nicht gefunden werden.

In den Phospholipiden ist DHA die am stärksten vertretene Fettsäure in der Gruppe der  $\omega$ 3-PUFA (siehe S. 47, Tab. 14). Die Korrelationen von DHA beeinflussen daher auch die Korrelationen der Gruppe der  $\omega$ 3-Fettsäuren. Diese Überlegung bestätigend fanden Hogstrom et.al. bei 22 Jahren entsprechend den Korrelationen von DHA auch positive Korrelationen der  $\omega$ 3-PUFA als Gruppe mit der BMD des gesamten Skeletts ( $p= 0,02$ ), der Wirbelsäule ( $p= 0,02$ ) und der Veränderung der BMD der Wirbelsäule ( $p= 0,02$ ) (Hogstrom et al. 2007).

Bei 24 und 28 Jahren wies DHA - wie bereits erwähnt - keine positiven Korrelationen mit der BMD auf. Folglich fanden sich auch keine Korrelationen zwischen der Gruppe der  $\omega$ 3-PUFA und der BMD. Erst nach Adjustierung um Größe, Gewicht und sportliche Aktivität korrelierten die  $\omega$ 3-PUFA positiv mit der BMD der Wirbelsäule bei T1 (24 Jahre,  $p= 0,027$ ) und T2 (28 Jahre  $p= 0,043$ , siehe S.61, Tab. 21). Dies kann als ein schwacher Hinweis auf eine positive Beziehung zwischen  $\omega$ 3-PUFA und BMD gewertet werden, die von Hogstrom et. al. vorbeschrieben ist. Widersprüchlich ist dagegen die schwach positive Korrelation der  $\omega$ 3-PUFA mit der Veränderung der BMD der Wirbelsäule bei 28 Jahren nach Adjustierung ( $p= 0,049$ , siehe S.62, Tab. 23). Da sich die Knochendichte der Wirbelsäule im Messintervall erniedrigte, würde ein positiver Zusammenhang von  $\Delta$ BMD mit den  $\omega$ 3-Fettsäuren auf einen erhöhten Knochendichteverlust bei einem hohen Anteil von  $\omega$ 3-Fettsäuren schließen lassen. Dies stände auch im Widerspruch zu Hogstroms Ergebnissen.

Zusammenfassend konnten die eindeutigen positiven Korrelationen zwischen DHA bzw.  $\omega$ 3-Fettsäuren und der Knochendichte bei jungen gesunden Männern der durch Hogstrom et. al. durchgeführten Analyse in der vorliegenden Arbeit nicht nachgewiesen

werden. Es zeigten sich zwar bei 24 und 28 Jahren einige wenige positive Beziehungen zwischen dieser Fettsäuregruppe und der BMD. Aber nur eine Korrelation war bereits in den Rohdaten apparent, der Großteil trat erst nach Adjustierung um Einflussvariablen in den signifikanten Bereich ein. Zudem existierte eine widersprüchliche Korrelation, die einen negativen Einfluss von  $\omega$ 3-PUFA auf die Knochendichte nahelegt.

Um zu beleuchten, weshalb die Ergebnisse von Hogstrom et. al. in der vorliegenden Arbeit nicht reproduziert werden konnten, sollen im Folgenden Aspekte des Studiendesigns, der Messmethoden und des Probandenkollektivs der vorliegenden Studie vor dem Hintergrund der aktuellen Studienlage zum Thema  $\omega$ 3-Fettsäuren und Knochendichte diskutiert werden.

Die Studie von Hogstrom et.al. nimmt in der Forschung zu Effekten von  $\omega$ 3-PUFA beim Menschen eine besondere Stellung ein. Sie ist die einzige Arbeit, die den Anteil der Fettsäuren in den PL mit der mit DXA bestimmten Knochendichte bei jungen gesunden Männern untersucht hat. Die wissenschaftliche Diskussion zu dieser Frage ist trotz langjährigem Forschungsinteresse kontrovers.

Zwei Studien, die in den 1990er Jahren von einer Forschungsgruppe um Krüger durchgeführt wurden, sind besonders hervorzuheben (van Papendorp 1995; Kruger et al. 1998). Die eindeutigen Ergebnisse dieser Publikationen erneuerten das Interesse der Forschung für den Zusammenhang zwischen Fettsäuren und Knochenmetabolismus. Auf sie nehmen viele Autoren späterer Studien bei der Interpretation ihrer Ergebnisse Bezug.

1995 führten Krüger, van Papendorp et. al. eine Pilotstudie an einem Kollektiv von 40 osteoporotischen Frauen durch (van Papendorp 1995). Die Frauen wurden in vier Gruppen eingeteilt und erhielten über 16 Wochen eine Nahrungsergänzung reich an  $\omega$ 3,  $\omega$ 6,  $\omega$ 3- und  $\omega$ 6-Fettsäuren oder einen Placebo aus Olivenöl. Die Nahrungsergänzung mit  $\omega$ 3-PUFA steigerte die Calciumabsorption im Darm und erhöhte Osteoblasten-aktivierende Faktoren. Überdies stieg das Prokollagen, ein Biomarker für den Knochenaufbau, und die alkalische Phosphatase, ein Parameter für den Knochenabbau, sank. Dies werteten die Forscher als einen deutlichen Hinweis auf den positiven, also Knochensubstanz-erhaltenden Einfluss von  $\omega$ 3-PUFA auf den Knochen, wenngleich in dieser Studie die Knochendichte nicht gemessen wurde.

Drei Jahre später führten sie einen ähnlichen Versuch mit 65 osteoporotischen Frauen durch, der ihre Hypothese bestätigte. Die Frauen bekamen 18 Monate lang entweder eine Kapsel mit 60% Linolsäure, 8% GLA, 4% EPA und 3% DHA oder eine Placebokapsel mit 97% gesättigten Fettsäuren und 0,2% Linolsäure. In der Verumgruppe war der BMD-Verlust an der LWS geringer als in der Kontrollgruppe. Die BMD des Femurhalses erhöhte sich sogar minimal im Vergleich zum Ausgangswert (Kruger et al. 1998). Einschränkend muss angemerkt werden, dass sich die mit  $\omega$ 3-PUFA supplementierte Gruppe in ihrer BMD zwar statistisch signifikant von der Placebo-Gruppe unterschied, die Veränderung der BMD innerhalb der Gruppen jedoch nicht statistisch signifikant war (Kruger et al. 1998).

Tierversuche unterstützen die in den Studien von Krüger aufgestellten Hypothese, dass mit der Nahrung aufgenommene  $\omega$ 3-PUFA eine positive Wirkung auf die BMD haben.

Ovariectomierte Nager sind ein Modell für Osteoporose, da ihnen wie Frauen nach der Menopause die weiblichen Geschlechtshormone fehlen.  $\omega$ 3-PUFA hemmten im Tiermodell den durch die Ovariectomie ausgelösten Knochendichteverlust. Mit  $\omega$ 3-PUFA angereichertes Futter erhöhte die mechanische Widerstandskraft der Knochen (Sakaguchi et al. 1994), steigerte den BMC (Poulsen et al. 2007) und die BMD (Fernandes et al. 2003) bei ovariectomierten Ratten. Außerdem hemmten  $\omega$ 3-PUFA die Osteoklastogenese bei ovariectomierten Mäusen (Sun et al. 2003).

Auch bei männlichen Tieren verbesserten  $\omega$ 3-Fettsäuren die Knochenqualität.  $\omega$ 3-reiche Nahrung führte bei Ratten (Shen et al. 2007) und Japanwachteln (Liu et al. 2003) zu einer erhöhten mechanischen Widerstandsfähigkeit des Knochens. Zusätzlich war die Osteoklastenanzahl bei den mit  $\omega$ 3-PUFA gefütterten Ratten geringer als in der Kontrollgruppe (Shen et al. 2007) und die Japanwachtelmännchen hatten einen höheren Calcium- und Phosphatgehalt im Knochen und eine breitere Kortikalis als Wachteln, deren Nahrung hohe Anteile an  $\omega$ 6-Fettsäuren und MUFA enthielten (Liu et al. 2003).

Nur einige wenige Tierstudien stellten keine Auswirkung von Fischöl auf die BMD und den BMC bei Ratten (Sirois 2003) bzw. von verschiedenen  $\omega$ 6: $\omega$ 3-PUFA-Anteilen in der Nahrung auf den BMC von Ferkeln fest (Weiler 2002). Eine Studie berichtete sogar über einen verstärkenden Effekt der langkettigen  $\omega$ 3-PUFA EPA auf den Knochendichteverlust bei Ratten nach Ovariectomie (Poulsen 2006). Dieses Ergebnis ist jedoch in der Gesamtschau isoliert. Die Ergebnisse aus Tierstudien sprechen somit deutlich für einen Einfluss der  $\omega$ 3-PUFA auf die Knochendichte. Jedoch unterscheidet

sich der Lipidmetabolismus von Tieren teilweise deutlich von dem des Menschen – Ratten beispielsweise nutzen HDL zum Transport von Cholesterin im Blut, nicht LDL wie der Mensch (Harris 1997). Mechanismen der  $\omega$ 3-PUFA auf den Lipidstoffwechsel und ihre Verarbeitung im Organismus sind deshalb nicht ohne weiteres von Ratten auf den Menschen übertragbar. Zudem können im Experiment die aufgenommene Menge der  $\omega$ 3-PUFA durch die Tiere und andere Einflussfaktoren genau kontrolliert werden. Dies ist in einer Studie mit Menschen natürlich nicht im gleichen Maße möglich. Bei Humanstudien sind deshalb weniger eindeutige Ergebnisse zu erwarten.

Die oben erwähnten Studien mit osteoporotischen Frauen (van Papendorp 1995; Kruger et al. 1998) und die beeindruckenden Ergebnisse aus der Forschung mit Tieren entfachten breites wissenschaftliches Interesse an der Wirkung von  $\omega$ 3-PUFA auf den Knochen beim Menschen. Die in der Folge durchgeführten klinischen Studien konnten insgesamt diese klaren Zusammenhänge jedoch nicht reproduzieren. Studien mit positiven und solche mit negativen Ergebnissen stehen sich gegenüber.

So wurden bei einem großen Probandenkollektiv von 891 Frauen Hinweise auf einen negativen Effekt von langkettigen Fettsäuren auf die Knochendichte gefunden: Probandinnen, die laut Nahrungs-Fragebogen viele PUFA zu sich nahmen, litten unter erhöhtem BMD-Verlust am Femurhals (Macdonald et al. 2004). Dieses Ergebnis widerspricht dem Großteil der veröffentlichten Studien zu diesem Thema. Zudem muss angemerkt werden, dass die Studie nicht zwischen  $\omega$ 3-PUFA und  $\omega$ 6-PUFA differenzierte.

Positive Effekte von  $\omega$ 3-PUFA in der Nahrung auf die Knochen dagegen zeigte eine aktuelle Diätstudie aus den USA. Die 23 Männer und Frauen waren deutlich jünger als die von Krüger et. al. untersuchten Frauen und zudem übergewichtig. In dem Kreuzversuch erhielten die Probanden eine typisch amerikanische Kost, eine  $\omega$ 6-reiche Kost (12,6% des Gesamtfettes war Linolsäure) und eine  $\omega$ 3-reichen Kost (6,5% des Gesamtfettes war  $\alpha$ -Linolensäure). Ein Biomarker für Knochenabbau, die N-telopeptide, sanken in den Phasen der  $\omega$ 6- und  $\omega$ 3-PUFA-reichen Diäten. Der Entzündungsparameter TNF $\alpha$  sank, als die Probanden sich  $\omega$ 3-reich ernährten (Griel et al. 2007).

Sowohl die beiden Studien von Kruger et. al. aus den 90er Jahren als auch die Arbeit mit der übergewichtigen Probandengruppe von Griel et. al. und der Großteil der

Tierversuche arbeiteten mit einer Substitution von  $\omega$ 3-PUFA. In der hier vorliegenden Studie wurde dagegen der *status quo* der Fettsäuren in den PL bei individueller, nicht durch die Studie beeinflusster Ernährung der Probanden gemessen. Zwei Arbeiten mit Kindern und Erwachsenen mit vergleichbarem Design fanden ebenfalls keinen Zusammenhang zwischen DHA und BMD (Eriksson et al. 2009; Griffith et al. 2009). Die Wirkung der  $\omega$ 3-PUFA könnte also von der zugeführten Menge abhängig sein.

So korrelierten die Anteile von DHA bzw.  $\omega$ 3-PUFA in den PL von achtjährigen Mädchen und Jungen nicht signifikant mit der mit DXA gemessenen BMD (Eriksson et al. 2009). Und der Vergleich der DHA-Anteile im Knochenmarksfett von Erwachsenen mit leicht erniedrigter bzw. normaler BMD und osteoporotischen Probanden ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen (Griffith et al. 2009). Gezielte Substitution der  $\omega$ 3-PUFA scheint deutlichere Effekte auf die Knochendichte zu erbringen als die Analyse des *status quo*.

Gegen diese These spricht allerdings, dass in zwei weiteren Interventionsstudien keine positiven Effekte von DHA bzw.  $\omega$ 3-Fettsäuren auf die Knochendichte gefunden wurden. Diesen Studien ist gemein, dass sie im Gegensatz zu Arbeiten von Krüger et.al. und Griel et. al. keine Surrogatparameter einsetzten, sondern die Zielgröße Knochendichte direkt mittels DXA maßen. Möglicherweise reicht der Effekt einer  $\omega$ 3-PUFA Substitution aus, um Surrogatparameter zu verändern, hat aber auf die Knochendichte keinen messbaren Effekt.

In der ersten Studie erhielten 43 prä- und 42 postmenopausale Frauen zwölf Monate lang eine Efacal-Kapsel (1g Calcium, 4g Nachtkerzenöl, 440mg Fischöl) bzw. Kontrollkapsel (1g Calcium). Weder bei den prä- noch bei den postmenopausalen Frauen bestanden signifikante Unterschiede in der Veränderung der BMD zwischen Kontroll- und Verumgruppe (Bassey et al. 2000).

In der zweiten Studie, die ebenfalls über zwölf Monate durchgeführt wurde, bekamen postmenopausale Frauen 40g/Tag Leinsamenöl oder einen Placebo (Weizenkeimöl). Es bestand kein Unterschied im Knochendichteverlust in der LWS und am Femurhals zwischen den beiden Gruppen (Dodin et al. 2005).

Einschränkend muss angemerkt werden, dass das von Dodin et. al. verwendete Leinsamenöl besonders reich an  $\alpha$ -Linolensäure ist (Dodin et al. 2005). Dies könnte einen fehlenden Erfolg der Substitution erklären, denn diskutiert wird vor allem die Wirkung der 20 C-Atome langen DHA auf den Knochen.  $\alpha$ -Linolensäure weist nur 18

C-Atome auf und hat vermutlich einen geringeren oder gar keinen Effekt auf die Knochendichte.

Dennoch ist es plausibel, dass sich DHA bzw.  $\omega$ 3-PUFA zwar messbar auf Surrogatparameter für Knochenauf und -abbau, nicht aber signifikant auf die Knochendichte auswirken.

Als Surrogatparameter können auch die in vielen Studien verwendeten Ernährungsfragebögen (engl. *Food frequency questionnaires*, FFQ) bezeichnet werden. Sie sind problematisch, da sie die aufgenommene Höhe der  $\omega$ 3-PUFA nur ungenau erfassen. Dagegen wurden in der vorliegenden Arbeit die Anteile der Fettsäuren in den Phospholipiden gemessen. Diese bilden die mit der Nahrung aufgenommenen Fettsäuren sehr genau ab (Ma et al. 1995; Nikkari et al. 1995; Saadatian-Elahi et al. 2009) und zeigen ein Bild der Ernährung der letzten Wochen (Lovegrove et al. 1997; Mantzioris et al. 2000). Dies gilt vor allem für mehrfach ungesättigte Fettsäuren (PUFA), da diese im Gegensatz zu den gesättigten (SAFA) und einfach ungesättigten Fettsäuren (MUFA) nur minimal verstoffwechselt (Pawlosky et al. 2001; Burdge et al. 2002; Burdge and Wootton 2002; Goyens et al. 2005; Brenna et al. 2009) und außerdem in den Phospholipiden angereichert werden (Nikkari et al. 1995; Fekete et al. 2009).

Humanstudien, die mit FFQ oder ähnlichen Methoden die Aufnahme von  $\omega$ 3-PUFA maßen, zeigten teils sowohl einen Zusammenhang zwischen aufgenommenen  $\omega$ 3-PUFA und Knochendichte (Weiss et al. 2005; Rousseau et al. 2009) als auch keinen Effekt der Fettsäuren (Macdonald et al. 2004; Corwin et al. 2006; Zalloua et al. 2007).

Als Messinstrument sind Fragebögen ungenau, da sie oft nicht detailliert genug auf  $\omega$ 3-PUFA-haltige Nahrungsmittel eingehen (Sullivan et al. 2008). Der  $\omega$ 3-PUFA-Gehalt beispielsweise von Fleisch wurde lange unterschätzt. Dabei machen zum Beispiel in Australien die aus Fleisch aufgenommenen  $\omega$ 3-PUFA etwa 50% der insgesamt verzehrten  $\omega$ 3-Fettsäuren aus (Howe et al. 2006). Errechnete Fettsäuremengen mit Hilfe von FFQ korrelieren zudem nur mäßig mit im Serum gemessenen Fettsäureprofilen (Ma et al. 1995), ein Problem, das auch bei den  $\omega$ 3-Fettsäuren auftritt (Welch et al. 2006). Dies kann einerseits an der ungenauen Erfassung der aufgenommenen Menge durch die FFQ liegen. Andererseits gibt es auch Faktoren, die die Aufnahme und Verstoffwechslung der Fettsäuren beeinflussen. Neben Unterschieden zwischen den Geschlechtern, die hormonell bedingt sind (Giltay et al. 2004), ist ein Beispiel dafür

Alkoholkonsum (Saadatian-Elahi et al. 2009). Auch andere Nahrungsbestandteile können die Aufnahme der  $\omega$ 3-Fettsäuren beeinflussen. So verminderte beispielsweise eine hohe Linolsäurezufuhr die Aufnahme von EPA in Neutrophilenmembranen (Cleland et al. 1992). Der Vorteil einer Messung in den Phospholipiden besteht also unter anderem in der Abbildung der dem Körper zur Verfügung stehenden Fettsäuregruppen, während in FFQ nur die verzehrte Menge der Fette angegeben werden kann. Schließlich gibt es neben den standardisierten FFQ weitere Formen der Befragung, etwa 24-Stunden-Recalls oder 7-Tage-Essenstagebücher, die bei gleicher Kost die Quantität einzelner Nahrungsbestandteile ganz unterschiedlich einschätzen (Welch et al. 2006). Die Messung der Fettsäuren in den Plasmaphospholipiden ist dagegen als korrekter und dosisabhängiger Biomarker anerkannt (Fekete et al. 2009).

Das unterschiedliche Studiendesign und die Verwendung von Surrogatparametern anstatt der direkten Messung der BMD oder der Fettsäuren könnte ein Grund dafür sein, dass in einigen Humanstudien Zusammenhänge gefunden wurden, die in den vorliegenden Daten nicht zu Tage treten.

Dass das Studiendesign eine Auswirkung auf das Ergebnis der Studie hat, legt folgende Überlegung nahe:

Von neun Humanstudien, die einen positiven Zusammenhang zwischen  $\omega$ 3-PUFA und BMD fanden, maßen zwei nicht die Knochendichte direkt, sondern Surrogatparameter z.B. biochemische Marker für Knochenauf- und abbau (van Papendorp 1995; Griel et al. 2007). In sieben Studien wurde die Knochendichte mit DXA bestimmt (Kruger et al. 1998; Baggio et al. 2005; Weiss et al. 2005; Gronowitz et al. 2006; Hogstrom et al. 2007; Gronowitz et al. 2008; Rousseau et al. 2009). Drei dieser Studien arbeiteten mit Probanden, die durch eine Grunderkrankung einen veränderten Knochenstoffwechsel und Lipidstatus hatten (Baggio et al. 2005; Gronowitz et al. 2006; Gronowitz et al. 2008) und zwei maßen nicht den Lipidstatus, sondern lediglich die Nahrungsaufnahme per FFQ (Weiss et al. 2005; Rousseau et al. 2009). Es bleiben nur zwei Arbeiten übrig, von denen eine mit  $\omega$ 3-PUFA Substitution arbeitet (Kruger et al. 1998), so dass also nur die Studie von Hogstrom et.al. (Hogstrom et al. 2007) als direkt vergleichbar mit der vorliegenden Arbeit gelten kann, wobei die Probanden in dieser Analyse sich in einer anderen Phase des Skelettreifung befinden als zum Zeitpunkt der in der vorliegenden Arbeit verwendeten Analysen (siehe unten).

Das Alter der Probanden ist ein weiterer Punkt, an dem die Humanstudien differieren. Der Grund für die heterogenen Ergebnisse könnte somit auch in der Qualität, also den Merkmalen der Probandengruppen liegen.

Krüger et.al. untersuchten Erwachsene im Senium (van Papendorp 1995; Kruger et al. 1998), während die Probanden der vorliegenden Studie junge Erwachsene waren. Andere Arbeiten schlossen wiederum Kinder bis Erwachsene unterschiedlicher Altersgruppen ein. Das Alter ist auch ein wichtiger Unterschied zwischen der vorliegenden Studie und der Arbeit von Hogstrom et.al., der das in der vorliegenden Studie untersuchte Probandenkollektiv in einem jüngeren Alter beforschte (Hogstrom et al. 2007).

Ergebnisse aus Tierstudien legen nahe, dass vor allem das wachsende Skelett positiv auf  $\omega$ 3-PUFA-Zufuhr reagiert. Bei jungen Ratten fand sich eine positive Korrelation zwischen dem DHA-Gehalt der Nahrung und dem Mineralgehalt des Femur (Li et al. 2010) sowie eine erhöhte Calciumresorption, wenn  $\omega$ 3-PUFA und konjugierte Linolsäure (eine  $\omega$ 6-Fettsäure) im Futter kombiniert wurden (Kelly et al. 2003). Die Knochen von jungen Ratten mit  $\omega$ 3-Mangel frakturierten früher als in der Kontrollgruppe, ein Unterschied, der durch erhöhte Zufuhr von ALA und DHA wieder ausgeglichen werden konnte (Reinwald et al. 2004). Hühnerküken, die Futter mit einem hohen Anteil an gesättigten Fettsäuren bekamen, hatten ein höheres *Remodelling* der Knochen, als Küken, die  $\omega$ 6- und  $\omega$ 3-reiches Futter bekamen (Watkins et al. 1997).

Bei den mit Kindern und Jugendlichen durchgeführten Studien dagegen ist, wie bei den Erwachsenen die Ergebnislage, kontrovers. Es gibt Hinweise darauf, dass das Alter des Skeletts einen Einfluss darauf hat, ob  $\omega$ 3-PUFA sich statistisch signifikant auf die Knochendichte auswirken.

So wurde eine positive Korrelation zwischen DHA im Blut und der BMD der Lumbalwirbelsäule bei 35 Kindern, nicht jedoch bei 19 Erwachsenen mit Zystischer Fibrose gefunden (Gronowitz et al. 2006). Die untersuchten Jungen waren durchschnittlich 13 Jahre bei der ersten Messung und 15 Jahre bei der zweiten Messung. Das Alter der Männer entspricht dem Kollektiv der vorliegenden Arbeit: Zu Beginn der Studie waren sie 24 Jahre, am Ende 27 Jahre alt. Das Alter der untersuchten Kinder entspricht eher der Analyse der Probanden bei 16 bzw. 22 Jahren, die durch Hogstrom et. al. durchgeführt wurde (Hogstrom et al. 2007). Entsprechend könnte das Alter als

Einflussgröße erklären, warum beim vorliegenden Kollektiv mit 16/22 Jahren ein Zusammenhang zwischen DHA und BMD gefunden wurde, bei der späteren Analyse mit 24/28 Jahren jedoch nicht.

Der Mechanismus hinter dieser Beobachtung könnte sein, dass metabolische Faktoren wie  $\omega$ 3-Fettsäuren unterschiedliche Effekte auf wachsende und ausgewachsene Knochen haben. Die Knochen von Kindern sammeln Masse an. Nach Erreichen der maximalen Knochendichte (*engl. Peak bone mass*, PBM) setzt dann ein lebenslanger Verlust von Knochenmasse ein.

Die PBM ist stark genetisch determiniert und der Startpunkt für den folgenden Dichteverlust. Ihre Höhe bestimmt somit auch die Knochendichte im Alter und das damit verbundene Risiko für osteoporotische Erkrankungen (Seeman et al. 1994; Bradney et al. 2000; Heaney et al. 2000).

Die PBM wird an unterschiedlichen Punkten des Skeletts zu verschiedenen Zeitpunkten erreicht. Im Schnitt liegt dieser Zeitpunkt in der späten Adoleszenz (Henry et al. 2004), (Kelly et al. 2009). Am Femurhals wird die maximale BMD zwischen 18 und 25 Jahren erreicht (Bonjour et al. 1991; Szulc et al. 2000), die volumetrische BMD (eine dreidimensionale Knochendichtemessung, bei der zwischen Kortikalis und trabekulärem Knochen unterschieden werden kann) sogar schon mit zwölf Jahren (Henry et al. 2004). In der Lumbalwirbelsäule wird die PBM zwischen dem 18. und 29. Lebensjahr erreicht (Bonjour et al. 1991; Szulc et al. 2000; Henry et al. 2004).

Ein Großteil des Calciums des erwachsenen Skeletts wird in der Pubertät eingelagert, die einen Schlüsselzeitpunkt für das Ansammeln von Knochendichte darstellt (Bonjour et al. 1991; Bradney et al. 2000; Henry et al. 2004).

Eine Richtschnur für die durchschnittliche Knochendichte des gesamten Skeletts in einem gegebenen Alter bieten die Kontrollkurven des *National Health and Nutrition Survey* (NHANES). Die BMD und der BMC des gesamten Skeletts von 10 000 männlichen und 10 000 weiblichen Probanden im Alter von acht bis 85 Jahren wurden den Kurven zu Grunde gelegt (Kelly et al. 2009). Dort stellt sich für die BMD des gesamten Skeletts bei hellhäutigen Männern ein starker Anstieg der BMD bis um das 17. Lebensjahr dar. Danach flacht die Kurve ab, d.h. die Knochendichte steigt zwischen dem 20. und dem 30. Lebensjahr nur noch minimal (Kelly et al. 2009). Mit 24 bzw. 28 Jahren waren somit die Probanden der vorliegenden Studie in einem Alter, in dem sich die Knochendichte nicht mehr entscheidend verändert (Slosman et al. 1994). Zwischen 16 und 22 Jahren dagegen, dem von Hogstrom untersuchten Alterszeitraum, verändert

sich die Knochendichte noch stark. Effekte von  $\omega$ 3-Fettsäuren auf den Knochen sind in dem hier analysierten Kollektiv womöglich deshalb nicht nachweisbar, da das Skelett der Probanden ausgewachsen ist und sich in einer Phase befindet, in der die Anlagerung von Calcium und das Steigen der BMD in einen den Rest des Lebens währenden Verlust an Knochendichte umschlagen. Die Effekte von Ernährungsfaktoren wie der Höhe der  $\omega$ 3-PUFA sind vor dem Hintergrund dieser Entwicklung mit hoher Wahrscheinlichkeit nicht groß genug, um eine statistisch signifikante Beziehung zwischen  $\omega$ 3-PUFA und BMD abzubilden.

Der Einfluss von Lebensstil und Ernährung macht neben der genetischen Disposition ohnehin nur einen kleinen Teil der Varianz der Knochendichte aus. Schätzungen aus Familien- und Zwillingsstudien gehen davon aus, dass zwischen 44% und 79% der Varianz der Knochendichte genetisch determiniert ist (Pocock et al. 1987; Duncan et al. 2003; Ng et al. 2006).

Ein weiteres entscheidendes Merkmal ist das Geschlecht der Probanden. In der vorliegenden Arbeit wurden männliche Probanden untersucht, die Erkenntnisse über den Einfluss von  $\omega$ 3-PUFA auf den Knochenstoffwechsel basieren dagegen größtenteils auf Studien mit weiblichen Probandenkollektiven. Dies ist problematisch, da sich Ernährungsgewohnheiten und Stoffwechsel von Männern und Frauen unterscheiden.

Zum Einen verzehren Männer im Durchschnitt weniger Fisch (Welch et al. 2006), zum anderen haben sie auch bei gleicher Kost hormonabhängig eine niedrigere  $\omega$ 3-PUFA-Konzentration in den Plasmaphospholipiden als Frauen (Nikkari et al. 1995; Giltay et al. 2004). Ein Vergleich von Männern und Frauen und von Frauen mit und ohne orale Kontrazeption konnte zeigen, dass Östrogen dabei eine Schlüsselrolle spielt (Giltay et al. 2004; Bakewell et al. 2006). Das Geschlechtshormon erhöht die Konzentration von DHA in den PL, vermutlich durch eine gesteigerte Biosynthese von DHA aus ALA.

Dass das Geschlecht die statistische Beziehung zwischen der Aufnahme von  $\omega$ 3-PUFA und BMD beeinflussen kann, zeigt eine aktuelle Studie mit chinesischen Männern und Frauen. Bei Frauen bestand eine positive Korrelation zwischen Fischverzehr und der Hüftknochendichte, bei Männern jedoch nicht (Zalloua et al. 2007).

Die jungen, schwedischen Männer, die in der vorliegenden Arbeit das Probandenkollektiv bildeten, weisen noch eine weitere Besonderheit auf: Sie waren

gesund. Dies steht im Gegensatz zu der Mehrzahl der Studien, die eine positive Korrelationen zwischen  $\omega$ 3-PUFA und der BMD bzw. Surrogatparametern für Knochenaufbau nachwiesen. Hier bestanden die Probandenkollektive aus Patienten mit unterschiedlichen Grunderkrankungen.

Bei jungen Männern mit Zystischer Fibrose beispielsweise korrelierte der DHA-Anteil der Plasmaphospholipide positiv mit dem endostalen Umfang des Femurs (Gronowitz et al. 2008). Bei der Kontrollgruppe jedoch, die aus gesunden Männern etwa des gleichen Alters bestand, waren keine signifikanten Zusammenhänge zwischen Fettsäurekomposition der Phospholipide und dem Knochen messbar. Zystische Fibrose-(CF)-Patienten haben ein verändertes Fettsäureprofil, unter anderem einen Mangel an essentiellen Fettsäuren (Gronowitz et al. 2008). Dies lässt wahrscheinlich die Effekte der  $\omega$ 3-Fettsäuren besonders deutlich zu Tage treten. Auch Patienten nach Nierentransplantation haben eine veränderte Fettsäurekomposition, und auch bei ihnen bestand zwischen dem Anteil von  $\omega$ 3-PUFA in den Plasmaphospholipiden und der BMD des Femurhalses eine positive Assoziation (Baggio et al. 2005). Bei Frauen mit Osteoporose – einer Krankheit, die auf einem veränderten Knochenstoffwechsel beruht – wurden positive Effekte von  $\omega$ 3-PUFA auf die Knochendichte nachgewiesen (van Papendorp 1995; Kruger et al. 1998). Die Probanden einer Diät-Interventionsstudie waren adipös (Griel et al. 2007) und die Probanden einer weiteren Studie hatten ein Durchschnittsalter von 79 Jahren, ein Alter, in dem wohl nur eine Minderheit vollkommen gesund ist (Rousseau et al. 2009).

In einem Großteil der Humanstudien wurden also Effekte von  $\omega$ 3-PUFA auf den Knochen bei Menschen nachgewiesen, die durch eine Grunderkrankung, ihr Gewicht oder ihr Alter eine veränderte Stoffwechsellage der Knochen, der Fettsäuren oder von beidem hatten. Zudem aktiviert Krankheit Entzündungsfaktoren. Die entzündungshemmenden Eigenschaften der  $\omega$ 3-PUFA wurden in Zellversuchen (Kelley et al. 1999; Calder 2009) und Versuchen mit Tieren nachgewiesen (Watkins et al. 2000). Bei Menschen senkten  $\omega$ 3-PUFA Zytokine, die den Knochenabbau fördern (Mantzioris et al. 2000), bzw. ihre Höhe korrelierte negativ mit diesen Zytokinen (Caughey et al. 1996; Mantzioris et al. 2000). In einem chronisch kranken Organismus könnten die Effekte der  $\omega$ 3-PUFA auf den Knochen also besonders hervortreten, weil ihre entzündungshemmenden Eigenschaften dort stärker ins Gewicht fallen als in einem jungen, gesunden Organismus.  $\omega$ 3-PUFA beeinflussten Krankheiten, die auf

chronischer Entzündung beruhen, wie die Rheumatoide Arthritis (Kremer et al. 1995; Berbert et al. 2005; Galarraga et al. 2008; Dawczynski et al. 2009) und Darmerkrankungen (Calder 2008). In einer Studie zu den Effekten von  $\omega$ 3-PUFA auf das Herz-Kreislaufsystem profitierten vor allem vorbelastete Patienten mit Koronarer Herzkrankheit von der  $\omega$ 3-PUFA-Einnahme (Yokoyama et al. 2007).

Die Studie von Hogstrom et.al. ist die einzige Studie, die Effekte des  $\omega$ 3-PUFA-Anteils in den Phospholipiden auf die Knochen bei jungen gesunden Probanden zeigen konnte. Die Mehrzahl der Studien, die dieses Ergebnis bestätigten, arbeiteten mit Probanden, deren Fett- oder Knochenstoffwechsel krankheitsbedingt verändert waren. Dies spricht für die Hypothese, dass ein Mensch mit einem Mangel an  $\omega$ 3-Fettsäuren im Rahmen einer chronischen Krankheit eine stärkere Reaktion auf  $\omega$ 3-PUFA-Zufuhr zeigt als ein gesunder Mensch, der ausreichend mit essentiellen Fettsäuren und anderen Nahrungselementen versorgt ist.  $\omega$ 3-PUFA haben zudem eine anti-inflammatorische Wirkung, die bei chronischen Entzündungen stärker ins Gewicht fällt, als in einem gesunden Organismus.

Neben dem Konzept einer Studie und den Merkmalen der untersuchten Personen bestimmen Einflussvariablen maßgeblich das Resultat einer Beobachtung, da sie Effekte auf die abhängige Variable haben und so die gesuchte Korrelation zwischen unabhängiger und abhängiger Variablen maskieren können. Einflussgrößen der Knochendichte, zum Beispiel der Vitamin D3-Status, können bei chronisch Kranken ebenfalls verändert sein. Dagegen waren die Probanden der vorliegenden Arbeit sogar in ihrer Altersgruppe überdurchschnittlich mit Vitamin D3 versorgt (siehe S.38, Tab. 12, (Chapuy et al. 1997; Lamberg-Allardt et al. 2001)). Bei einer guten Grundversorgung des Körpers nicht nur mit essentiellen Fettsäuren, sondern auch Vitaminen und körperlichen Merkmalen, die die BMD beeinflussen, könnte der Einfluss der  $\omega$ 3-PUFA geringer ausgeprägt sein als in einem Organismus, der einen Mangel an für die Knochengesundheit wichtigen Faktoren aufweist.

Um den Einfluss von Störvariablen vernachlässigen zu können, wurden in der vorliegenden Arbeit die Korrelationen um das Gewicht, die Größe, die sportliche Aktivität und den Vitamin D3 Status korrigiert. Der Vitamin D3 Status und der BMI beeinflussten in der vorliegenden Analyse an T1 und T2 sowohl BMD als auch BMC positiv, das heißt je höher der Vitamin D3-Gehalt im Blut und je höher der BMI der

Probanden, desto höher waren auch BMD und BMC (siehe S. 50, Tab. 15 und S. 51, Tab. 16). Diese Zusammenhänge sind auch aus der Literatur bekannt (Collins et al. 1998; Valimaki et al. 2004; Adams 2010). Auch die sportliche Aktivität der Probanden hatte an T1 statistisch signifikant positive Auswirkungen auf die BMD, nicht jedoch an T2 (siehe S.53, Tab. 17). Übereinstimmend wird in der Literatur sportliche Aktivität als positiver Einflussfaktor der Knochendichte beschrieben (Valimaki et al. 1994; Ruffing et al. 2006).

Eine ganze Reihe weiterer Faktoren können einen Einfluss auf die Knochendichte nehmen. Nicht alle konnten im Rahmen der vorliegenden Arbeit gemessen werden, somit konnte eine Korrektur für diese Faktoren nicht erfolgen.

Vitamin D3 beispielsweise reguliert die Calciumhomöostase - es führt bei Calciummangel sowohl zu einer vermehrten Calciumabsorption im Darm als auch zu einer Mobilisierung dieses Minerals aus den Knochen (Adams 2010): Die Aufnahme von Calcium scheint in Abhängigkeit eines ausreichenden Vitamin D3 Spiegels die Knochendichte positiv zu beeinflussen. Die Ergebnisse sind jedoch inkonsistent und einige Studien konnten keinen Zusammenhang zwischen Calcium und hoher Knochendichte nachweisen (Papaioannou et al. 2009). Zur Versorgung der Probanden der vorliegenden Arbeit mit Calcium liegen keine Werte vor, so dass dieser Einflussfaktor nicht korrigiert werden kann.

Nicht gemessen wurden ferner der Alkoholkonsum der Probanden und ob sie Raucher oder Nichtraucher waren. Alkohol verändert abhängig von der Menge die Knochendichte: Personen mit Alkoholkrankheit haben eine geringere Knochendichte als gesunde Personen (Diamond et al. 1989). Moderater Alkoholkonsum dagegen scheint verglichen mit Abstinenz oder starkem Konsum mit höherer BMD einherzugehen oder zumindest neutral zu sein (Mukamal et al. 2007; Wosje and Kalkwarf 2007; Papaioannou et al. 2009). Einen eindeutig abträglichen Effekt auf die Knochendichte hat das Zigarettenrauchen. Raucher haben ein höheres Frakturrisiko als Nichtraucher (Trimpou et al. 2010) und eine niedrigere Knochendichte (Papaioannou et al. 2009). Überraschenderweise wurde bei Rauchern eine erhöhte  $\omega$ 3-Bioverfügbarkeit und eine erhöhte Syntheserate von langkettigen  $\omega$ 3-Fettsäuren beobachtet, vermutlich als Ausgleich für zigaretteninduzierte Lipidoxidation (Pawlosky et al. 2007). Dies

unterstreicht einmal mehr, dass  $\omega$ 3-PUFA als isolierter Faktor Unterschiede in der BMD nicht hinreichend erklärt.

Ein weiterer wichtiger Aspekt ist der Hormonstatus der Probanden. Der Testosteronspiegel greift über die Verminderung von Östrogenen in den  $\omega$ 3-PUFA Stoffwechsel ein und führt zu einer Verminderung der DHA-Spiegel (Giltay et al. 2004). Während bei Männern keine Umwandlung von ALA in DHA gemessen wurde (Burdge et al. 2002), war dies bei Frauen, vor allem wenn diese hormonelle Verhütung verwendeten, mittels Isotopen-Tracern möglich (Burdge and Wootton 2002). Der Testosteronspiegel wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit nicht bestimmt.

Es kann nicht sicher ausgeschlossen werden, dass in der vorliegenden Arbeit eine Assoziation der  $\omega$ 3-PUFA in den Phospholipiden mit der BMD aufgrund eines nicht gemessenen Einflussfaktors maskiert wurde. Andererseits wurde für die wichtigsten bekannten Einflussvariablen der Knochendichte, wie Vitamin D, BMI und sportliche Aktivität korrigiert. Daher ist es unwahrscheinlich, dass ein starker Zusammenhang zwischen  $\omega$ 3-PUFA und BMD so komplett maskiert werden konnte.

## **5.2 Die Wirkung von Arachidonsäure und $\omega$ 6-PUFA auf die Knochendichte**

Eine wichtige Eigenschaft der  $\omega$ 3-PUFA besteht darin, die Synthese von Entzündungsmediatoren aus  $\omega$ 6-PUFA zu vermindern, da  $\omega$ 3- und  $\omega$ 6-PUFA in der Zelle um das gleiche Enzym konkurrieren (Brenner 1974; Calder 2009). Die Höhe der  $\omega$ 6-PUFA in einem Organismus kann demnach auch den Einfluss der  $\omega$ 3-PUFA auf den Knochen verändern. Höhere Anteile von  $\omega$ 3-PUFA und niedrigere  $\omega$ 6-Anteile in der Nahrung von Ratten verminderten die *ex vivo* PGE2-Produktion, ein mit Knochenabbau assoziiertes Zytokin (Watkins et al. 2000). In einer Studie mit Menschen war ein erhöhtes Linolsäure: $\alpha$ -Linolensäure-Verhältnis, also ein hoher Anteil von  $\omega$ 6-PUFA, negativ mit der BMD der Hüfte bei Männern und Frauen korreliert. Bei Frauen, die keine Hormonersatztherapie erhielten, galt dies auch für die Knochendichte der LWS (Weiss et al. 2005). In einem gemischtgeschlechtlichen geriatrischen Kollektiv wurde dagegen kein Zusammenhang der BMD mit dem Verhältnis zwischen  $\omega$ 3- und  $\omega$ 6-PUFA gefunden (Rousseau et al. 2009).

Die Gleichung, „je mehr  $\omega$ 3-PUFA und je weniger  $\omega$ 6-PUFA, desto besser für die Knochengesundheit“, geht so einfach allerdings nicht auf: Bei Kaninchen z.B., die ein sehr schnelles Skelettwachstum aufweisen, führten sehr hohe  $\omega$ 3-PUFA-Anteile in der Nahrung zu vermindertem Längenwachstum der Tibia (Judex et al. 2000). Und ein zu geringer Anteil von  $\omega$ 6-Fettsäuren scheint der Knochengesundheit ebenfalls abträglich zu sein und zum Beispiel die Kortikalis zu verdünnen (Judex et al. 2000; Korotkova et al. 2004).

In dem in der vorliegenden Arbeit untersuchten Probandenkollektiv junger schwedischer Männer bestand sogar eine positive Beziehung zwischen dem Arachidonsäure-(AA)-Anteil der PL und der Knochendichte. Bei 28 Jahren (T2) korrelierte AA positiv mit der BMD des gesamten Skeletts ( $p=0,037$ , siehe S.68, Tab. 27). Nach Adjustierung um Größe, Gewicht und sportliche Aktivität war AA ferner bei 28 Jahren positiv mit der BMD des Beckens und der LWS verbunden (siehe S.67, Tab. 26). Diese Beziehung scheint aber für Arachidonsäure spezifisch zu sein. Die Gruppe der  $\omega$ 6-PUFA korrelierte in der vorliegenden Arbeit nicht mit dem BMC (siehe S.63, Tab. 24). Korrelationen mit der BMD waren widersprüchlich (siehe S.61, Tab. 21): Bei T1 korrelierten die  $\omega$ 6-PUFA negativ mit der BMD des gesamten Skeletts, nach der Adjustierung dem widersprechend positiv mit der BMD des Beckens und des gesamten Skeletts. Insofern kann aus den Daten der vorliegenden Arbeit kein eindeutiger Schluss auf die Wirkung von  $\omega$ 6-PUFA auf die BMD gezogen werden.

Positive Beziehungen zwischen Arachidonsäure und der BMD bzw. dem BMC wurden auch bei Kindern und Neugeborenen beobachtet. In einer Studie mit achtjährigen Kindern, in der die Fettsäureanteile der PL mit der BMD korreliert wurden, trat eine positive Korrelation zwischen AA und der BMD des gesamten Skeletts zu Tage (Eriksson et al. 2009). Und eine Analyse des Fettsäuremusters im Nabelschnurblut bei menschlichen Neugeborenen ergab eine positive Korrelation zwischen AA und dem BMC des gesamten Skeletts (Weiler et al. 2005).

Bestätigt wird diese Beobachtung in Tierversuchen. Bei Ferkeln, die eine konstante Menge DHA kombiniert mit variierenden Anteilen der  $\omega$ 6-PUFA AA erhielten, korrelierten hohe AA-Anteile in der Nahrung (0,6% und 0,75% des insgesamt aufgenommenen Fetts) mit einem höheren BMC im Vergleich mit Ferkeln, die nur 0,3% und 0,4% des Gesamtfettes als AA konsumierten (Blanaru et al. 2004). In einer weiteren Studie hatten diejenigen Ferkel eine höhere BMD, die bei gleichbleibendem

AA:DHA-Verhältnis (5:1) die geringste absolute Menge an DHA und AA erhielten (Mollard et al. 2005).

Sowohl die Quantität der PUFA als auch das Verhältnis von  $\omega$ 3- zu  $\omega$ 6-PUFA-Anteilen sowie die Anteile der einzelnen Fettsäuren in diesen Gruppen scheint daher für Knochendichte und Mineralgehalt eine Rolle zu spielen, wobei sowohl ein großer Überschuss an  $\omega$ 6- als auch an  $\omega$ 3-PUFA ungünstig zu sein scheint.

### **5.3 Die Wirkung von Ölsäure und MUFA auf die Knochendichte**

Der Einfluss von  $\omega$ 3-PUFA auf die Knochendichte bleibt somit ein umstrittenes Thema. Die Ergebnisse sind kontrovers, die Studien sind untereinander nicht zu vergleichen und weisen teils methodische Mängel auf. Jedoch sind  $\omega$ 3-PUFA nicht die einzige Fettsäuregruppe, die die BMD beeinflussen könnte.

So zeigte sich in der vorliegenden Datenanalyse eine negative Beziehung zwischen den einfach ungesättigten Fettsäuren (MUFA) bzw. ihrer Hauptvertreterin, der Ölsäure, und der Knochendichte (siehe S. 59, Tab. 20 und S. 67, Tab. 26 und S.68, Tab. 27). Dies ist eine Besätigung der Ergebnisse von Hogstrom et. al.. Die schwedische Forschergruppe fand im gleichen Probandenkollektiv bei 22 Jahren eine negative Beziehung zwischen der Knochendichte des gesamten Skeletts und den MUFA ( $p=0,02$ ) (Hogstrom et al. 2007). In den vorliegenden Daten findet sich eine entsprechende negative Korrelation bei T2 nach Adjustierung um Größe, Gewicht und sportliche Aktivität ( $p= 0,032$ ). Die Gruppe der MUFA korrelierte an T2 außerdem negativ mit der Knochendichte des Beckens ( $p= 0,045$ ) und der Wirbelsäule ( $p= 0,046$ , siehe 59, Tab. 20).

Zwischen Ölsäure und der BMD des gesamten Skeletts beobachteten Hogstrom et. al. bei 22 Jahren eine negative Korrelation ( $p= 0,02$ ). Diese Korrelation fand sich, neben einer ganzen Reihe an weiteren negativen Korrelationen zwischen Ölsäure und der BMD an verschiedenen Lokalisationen, in den vorliegenden Daten bei 28 Jahren wieder ( $p= 0,012$ , siehe S.67, Tab. 26 und S.68, Tab. 27).

Obwohl über die Effekte von Ölsäure bzw. MUFA einige Studien vorliegen, gibt es nur wenige Erkenntnisse zu der Wirkung von MUFA auf den Knochen. Berichtet wurde bisher vor allem über die Cholesterin- und Triglyceridsenkenden Eigenschaften der MUFA (Kris-Etherton et al. 1999), aber auch über die stimulierenden Effekte auf die Insulinsensitivität (Vessby et al. 2001), die Oxidation von Fettsäuren und den

Energieverbrauch (Kien and Bunn 2008) sowie mögliche positive Einflüsse auf Depressionen (Kyrozis et al. 2009).

Passend zu den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit zeigte eine Studie mit 891 postmenopausalen Frauen, dass Frauen, die laut Fragebogen mehr MUFA zu sich nahmen, einen stärkeren BMD-Verlust im Femurhals aufwiesen (Macdonald et al. 2004).

Im Tierversuch fand sich dagegen eine positive Beziehung zwischen MUFA im Futter und der Dicke der Kortikalis bei Japanwachteln (Liu et al. 2003). Und in einer griechischen Humanstudie korrelierten die MUFA positiv mit der BMD des nicht-dominanten Unterarmes (Trichopoulou et al. 1997). Die Autoren vermuten, dass die positiven Effekte der MUFA durch die erhöhte Energiezufuhr zu erklären sind bzw. dadurch, dass der Großteil der MUFA in Griechenland mit Olivenöl aufgenommen wird und dieses besonders reich an Vitamin E ist - ein Faktor, der zu der beobachteten Korrelation beitragen könnte.

Eine wissenschaftlich akzeptierte Begründung für die negative Beziehung zwischen MUFA und Knochendichte bietet die Literatur bislang nicht. Es fehlen Studien, die speziell nach Effekten der Ölsäure auf die Knochendichte fragen.

Eine mögliche Erklärung für die negative Assoziation von Ölsäure bzw. MUFA und Knochendichte im Probandenkollektiv könnte in der Tatsache liegen, dass das Fettsäuremuster nicht identisch mit dem Muster der Fettsäuren in der Nahrung ist. Ein Vergleich von Werten aus einem Nahrungsmittelfragebogen mit Messwerten der Phospholipide und Cholesterinester im Blut zeigte, dass MUFA und vor allem die Ölsäure in den Serumphospholipiden nach Konsum von SAFA ansteigen (Ma et al. 1995). In einem Mausmodell konnte mittels radioaktiver Markierungen nachgewiesen werden, dass 80% der aufgenommenen Stearinsäure und 47% der Palmitinsäure im Körper rasch zu Ölsäure umgewandelt wurde (Bonanome et al. 1992). Bei Menschen, die eine mit Stearinsäure angereicherte Ernährung erhielten, stieg der Anteil der Ölsäure in den Plasmatriglyceriden und den Cholesterinestern. Dies weist darauf hin, dass Stearin im Körper schnell zu Ölsäure konvertiert wird (Bonanome 1988).

Diese Umwandlung von SAFA in MUFA könnte für das vorliegende Ergebnis relevant sein, da eine erhöhte SAFA-Aufnahme mit der Nahrung sowohl zu einem Anstieg der MUFA in den PL als auch zu durch die SAFA vermittelten abträglichen Effekten auf die Knochendichte führen könnte.

## **5.4 Die Wirkung von Palmitinsäure und SAFA auf die Knochendichte**

Gesättigte Fettsäuren beeinflussten den Knochenstoffwechsel negativ. SAFA erhöhten im Zellversuch die Überlebenszeit von Osteoklasten (Oh et al. 2010). *High-fat-diets* mit hohem SAFA-Anteil beeinflussten die BMD von Rattenföten und wachsenden Ratten (Lac et al. 2008; Liang et al. 2009) sowie die mechanische Widerstandskraft der Knochen negativ (Lac et al. 2008). Bei ausgewachsenen Hähnen verminderte Futter mit einem hohen SAFA-Anteil den Mineralgehalt von trabekulären Knochen (Wohl et al. 1998), bei Ratten wurde der mechanische Widerstand gesenkt (Zernicke et al. 1995).

Für Palmitinsäure ist bekannt, dass sie in Ersatzmilch für Säuglinge für eine verminderte Calciumresorption und dadurch für eine geringere Knochendichte verantwortlich ist. Babys, die eine Milch mit Palmolein - einem an Ölsäure angereicherten Palmöl - bekommen hatten, zeigten nach sechs Monaten eine niedrigere BMD und einen geringeren BMC als die Kontrollgruppe (Koo et al. 2003). Eine weitere Studie zeigt, dass Säuglinge, die mit palmoleinhaltiger Milch gefüttert wurden, weniger Fett und Calcium resorbierten (Nelson et al. 1996).

Palmolein enthält etwa 45% Ölsäure und 40% Palmitinsäure (Tarmizi et al. 2008). Die Autoren diskutieren als Ursache für die verminderte Calciumresorption die Position der Palmitinsäure in den Milch-Triglyceriden, die bei menschlicher Milch und Kuhmilch unterschiedlich ist. Das Palmitin in der Kuhmilch bildet Seifenkomplexe mit Calcium, die als nicht-resorbierbare Anteile ausgeschieden werden (Carnielli et al. 1996). Ein möglicher Anteil von Ölsäure an den Effekten von Palmolein wird von den Autoren dieser Studien nicht in Erwägung gezogen, ist jedoch auch denkbar.

Obgleich verzehrte SAFA in einer Studie die Knochendichte nicht beeinflussten (Brownbill and Ilich 2006), präsentieren die Autoren der NHANES III Studie überzeugende Messungen eines negativen Effektes von SAFA in der Nahrung auf die BMD an verschiedenen Orten bei einem großen Kollektiv von 40 000 Amerikanern. Dieser Zusammenhang war deutlicher bei Männern als bei Frauen. Besonders stark war er an der BMD des Femurhalses bei Männern unter 50 Jahren zu sehen (Corwin et al. 2006), einer Gruppe, die besonders viel gesättigtes Fett zu sich nimmt (Drewnowski et al. 1997). Diese Auswahl entspricht auch am ehesten den Probanden der vorliegenden Arbeit: Dass die jungen Männer mit einem hohen MUFA-Gehalt in den Phospholipiden eine geringere Knochendichte aufwiesen, könnte demnach durch erhöhten SAFA-Konsum und daraus folgenden negative Effekte auf die Knochendichte bedingt sein.

Bemerkenswert ist dabei, dass die Aufnahme von SAFA der relevante Parameter für das Zustandekommen der negativen Auswirkungen auf die Knochendichte zu sein scheint, nicht aber deren Menge in den Phospholipiden. Denn die vorliegenden Daten zeigen zwar eine negative Korrelation von Ölsäure und BMD, jedoch keinen statistisch signifikanten Zusammenhang von Palmitinsäure mit der Knochendichte (siehe S.67, Tab. 26 und S.68, Tab. 27) und auch keinen Zusammenhang der Gruppe der gesättigten Fettsäuren mit der BMD (siehe S.59, Tab. 20).

Die Ergebnisse aus zwei Studien mit Kindern zeigten sogar eine positive Korrelation zwischen dem SAFA-Anteil der PL und der BMD. Bei achtjährigen Kindern bestand eine positive Verbindung zwischen Palmitinsäure und der Knochendichte des Femurs (Eriksson et al. 2009). In einer Beobachtung etwas älterer Kinder (Durchschnittsalter bei Studienbeginn zwölf Jahre) korrelierte der Anteil der Palmitinsäure in den PL positiv mit der BMC des Schenkelhalses (Gronowitz et al. 2006).

Im Gegensatz zu den in der vorliegenden Studie festgestellten signifikant positiven Korrelationen von Stearinsäure bei 24 Jahren mit der Knochendichte des Femurhalses ( $p=0,015$ ), der Hüfte ( $p=0,028$ ) und der BMD des gesamten Skeletts ( $p=0,02$ , siehe S.68, Tab. 27), zeigte sich in der Studie mit den achtjährigen Kindern eine negative Beziehung zwischen Stearinsäure und der BMD des gesamten Skeletts (Eriksson et al. 2009).

Insgesamt gibt es Hinweise darauf, dass SAFA in der Nahrung eine abträgliche Wirkung auf die BMD haben, ihre Menge in den Phospholipiden jedoch nicht mit einer geringeren Knochendichte korreliert, da ein Großteil der SAFA zu MUFA (bzw. ihrer Hauptvertreterin Ölsäure) metabolisiert werden. Interessant wären in diesem Zusammenhang Studien, die explizit nach der Wirkung von SAFA und MUFA auf den Knochen fragen und einen Ernährungsfragebogen und Messungen im Blut einsetzen, so dass Effekte von synthetisierten Fettsäuren von denen der mit der Nahrung aufgenommenen Fettsäuren abgegrenzt werden können.

### **5.5 Stärken und Schwächen dieser Arbeit**

Die vorliegende Studie war als Folgeuntersuchung an einem Probandenkollektiv konzipiert, zu dem bereits Ergebnisse veröffentlicht wurden (Hogstrom et al. 2007).

Eine Stärke der Vorgängerarbeit sowie der vorliegenden Studie war die Messtechnik: Es wurden keine Surrogatparameter gemessen, sondern Fettsäuren und Knochendichte direkt.

Wie alle Messmethoden ist jedoch auch die Messung der Knochendichte mit einem DXA-Röntgenabsorptiometer nicht frei von Fehlern. Problematisch ist bei diesem Verfahren, dass eine dreidimensionale Größe, nämlich der Knochen, nur zweidimensional erfasst wird (Rittweger 2006). Eine genauere Methode, die aber einen höheren technischen Aufwand und eine höhere Strahlenbelastung für die Patienten bedeutet hätte, wäre die Bestimmung der volumetrischen BMD mit Hilfe von CT gewesen (Griffith et al. 2009). Dennoch erfasst die DXA-Messung direkt die gesuchte Größe – die Knochendichte – im Gegensatz zu vielen Studien, die lediglich biochemische Marker des Knochenauf- bzw. Abbaus maßen.

Methodisch nicht optimal war in der vorliegenden Studie der nicht standardisierte Zeitpunkt der Blutentnahme. Die Patienten waren nicht sicher nüchtern. Ob und welche Nahrungsmittel ein Proband vor der Blutentnahme zu sich nahm, wurde nicht dokumentiert. Da das Ziel dieser Studie jedoch die Analyse der langfristig bestehenden Fettsäurekomposition der Phospholipide auf die Knochendichte war, ist dies für die Ergebnisse nicht von Bedeutung. Es wurden nicht die nahrungsabhängigen Triglyceride, sondern die Plasmaphospholipide gemessen. Die Fettsäurezusammensetzung der Phospholipide ist ein anerkannter Biomarker für die Messung von verzehrten  $\omega$ 3-Fettsäuren (Fekete et al. 2009). Kurzfristige Schwankungen im Fettsäurestoffwechsel sollten deshalb für die für die vorliegende Arbeit durchgeführten Messungen kein Problem darstellen, da das Fettsäuremuster in den Phospholipiden langfristige Ernährungsgewohnheiten reflektiert: Bei Erhöhung der  $\omega$ 3-Fettsäuren in der Nahrung in einer Interventionsstudie mit 15 gesunden jungen Männern stiegen ALA, EPA, DPA und DHA in den Plasmaphospholipiden innerhalb von zwei Wochen an und änderten ihren Anteil dann nicht mehr signifikant (Mantzioris et al. 2000). In einer vergleichbaren Studie dauerte der Anstieg der von EPA und DHA in den Plasmaphospholipiden neun Tage (Lovegrove et al. 1997). Die Phospholipide sind für die Messung der individuellen Versorgung mit  $\omega$ 3-Fettsäuren außerdem besonders geeignet, da sie sich dort anreichern (Arterburn 2006).

Eine weitere Möglichkeit wäre der zusätzliche Einsatz eines Ernährungsfragebogens gewesen. Metabolische und ernährungsbedingte Effekte auf das Fettsäuremuster hätten

dann voneinander abgegrenzt werden können. Dies wurde nicht durchgeführt, da das Hauptziel dieser Studie die Frage nach einem Zusammenhang zwischen dem Fettsäuremuster und der Knochendichte war und die Analyse des Fettsäurestoffwechsels nicht im Vordergrund stand.

Humanstudien, die die Wirkung von  $\omega$ 3-Fettsäuren auf die Knochendichte untersucht haben, arbeiteten bislang mit kleinen oder sogar sehr kleinen Kollektiven. Die vorliegende Studie zählt mit 102 Probanden nicht zu den sehr kleinen Studien. Jedoch konnten, da nicht alle Datensätze komplett waren, nicht alle Probandendaten für jede Analyse verwendet werden. Da lediglich der *status quo* der Fettsäurekomposition betrachtet wurde und kein  $\omega$ 3-Präparat gegeben wurde, wäre es von Vorteil gewesen, ein größeres Kollektiv zu rekrutieren.

Eine Schwäche und eine Stärke zugleich ist die gewählte Zusammensetzung des Probandenkollektivs: Alle Probanden waren männlich und das Kollektiv wurde nicht randomisiert, sondern aus Sportvereinen rekrutiert. Daraus folgte die relativ homogene Zusammensetzung der Gruppe in den Punkten Alter, Gewicht und sportliche Aktivität. Diese Merkmale, die einen Einfluss auf die Knochendichte haben ("Prevention and management of osteoporosis" 2003), unterlagen in dem Kollektiv nur geringen Schwankungen. Deshalb sind die vorliegenden Ergebnisse nicht auf andere Bevölkerungsgruppen, z.B. Frauen oder Menschen anderen Alters, übertragbar. Möglicherweise sind Eigenschaften wie Alter und Gesundheitsstatus der Grund für eine fehlende Korrelation zwischen Fettsäurekomposition und Knochendichte (siehe oben). Andererseits ergibt sich durch die Konstanzhaltung dieser Variablen eine größere Aussagekraft der Ergebnisse für die analysierte Gruppe.

Ergänzungsfähig war in der vorliegenden Studie die Messung von Parametern, die einen Einfluss auf die Knochendichte haben können. Der Testosteronspiegel, der über die Verminderung von Östrogenen in den  $\omega$ 3-PUFA Stoffwechsel eingreift (Giltay et al. 2004), wurde nicht gemessen. Auch der Calciumgehalt des Blutes, ein Schlüsselfaktor im Knochenstoffwechsel, wurde nicht bestimmt. Dafür lagen aber Daten über die Höhe des Vitamin D3 vor, der eng mit dem Calciumspiegel und der Mineralisierung des Knochens verknüpft ist. Überdies wurde für Größe, Gewicht und sportliche Aktivität korrigiert, so dass der Einfluss dieser Variablen herausgenommen wurde. Dagegen wurde der Alkoholkonsum und der Rauchstatus der Probanden nicht erfasst. Dies sind mögliche Einflussgrößen, da diese Verhaltensweisen die BMD und die DHA-Synthese

beeinflussen können (Diamond et al. 1989; Lorentzon et al. 2007; Pawlosky et al. 2007; Papaioannou et al. 2009; Trimpou et al. 2010).

Deutlicher wären die Einflüsse der einzelnen Säuren außerdem ausgefallen, hätte man den Probanden in einem Interventionsplan mit bestimmten Fettsäuren (z.B. eine SAFA-, eine MUFA-, eine  $\omega$ 3-PUFA- und eine  $\omega$ 6-PUFA-reiche Diät) angereicherte Nahrung gegeben. In diesem Falle wären auch Interaktionen zwischen den einzelnen Fettsäuregruppen und ihren Wirkungen besser abgrenzbar gewesen. Der methodische Goldstandard wäre selbstverständlich ein doppelblinder, placebokontrollierter Kreuzversuch.

Andererseits ging es in der vorliegenden Arbeit darum, die Wirkung der Fettsäurekomposition unter physiologischen Bedingungen zu analysieren. Eine stark erhöhte Zufuhr von  $\omega$ 3-Fettsäuren könnte Effekte zeigen, die bei normaler Ernährung schwer zu erreichen sind.

Eine Stärke dieser Arbeit war der lange Beobachtungszeitraum (Messintervall vier Jahre). Zusammen mit den Messungen von Hogstrom et. al. ergibt sich ein Beobachtungszeitraum über zwölf Lebensjahre, vom 16. bis zum 28. Lebensjahr.

Insgesamt ergeben sich zwar Einschränkungen in der Übertragbarkeit der Ergebnisse auf andere Bevölkerungsgruppen. Durch die Konstanz einiger wichtiger Variablen wurden aber auch Einflussvariablen kontrolliert, dadurch ergibt sich eine scharfe Analyse des untersuchten Kollektivs. Die vorliegende Studie ist ein kleiner Beitrag zu dem Gesamtbild, das Studien bislang zu der untersuchten Fragestellung bieten.

## **6 ZUSAMMENFASSUNG**

Das Ziel dieser Arbeit war die Beantwortung der Frage, ob das Blutfettsäureprofil von jungen gesunden Männern mit ihrer Knochendichte korreliert. Das Hauptaugenmerk lag auf der langkettigen  $\omega$ 3-Fettsäure Docosahexaensäure (DHA). Der günstige Einfluss der  $\omega$ 3-Fettsäuren auf Entzündungsprozesse und Herz-Gefäßerkrankungen gilt als gesichert. Ein deutlicher positiver Effekt von  $\omega$ 3-Fettsäuren wurde in Tierstudien auch auf die Knochendichte nachgewiesen. Beim Menschen wird diese Wirkung kontrovers diskutiert, kann aber durchaus als potentieller Ansatz für die Prophylaxe und Therapie von Osteoporose gesehen werden.

In der vorliegenden Arbeit wurde das Fettsäureprofil der Plasmaphospholipide von 102 gesunden Männern jeweils im Alter von 24 sowie 28 Jahren mittels Gaschromatographie gemessen und mit der mit DXA ermittelten Knochendichte korreliert. Eine statistisch signifikante Beziehung zeigte sich nicht, obwohl Hogstrom et.al. in demselben Kollektiv im Alter von 16 sowie 22 Jahren eine positive Korrelation zwischen den  $\omega$ 3-Fettsäuren und der Knochendichte nachgewiesen hatten (Hogstrom et al. 2007). Für die in der vorliegenden Arbeit untersuchten Altersstufen konnten diese Korrelationen nicht festgestellt werden.

Eine mögliche Erklärung für diese Diskrepanz könnte sein, dass die Effekte der Fettsäuren insbesondere beim wachsenden Skelett zum Tragen kommen, die Probanden der vorliegenden Studie ihr Wachstum aber bereits abgeschlossen hatten.

Zur definitiven Beantwortung der Frage, ob die Substitution von  $\omega$ 3-Fettsäuren eine positive Auswirkung auf die Knochendichte beim Menschen hat, ergibt sich daher aus der vorliegenden Arbeit die Forderung nach der Durchführung von prospektiven randomisiert-doppelblinden Studien in verschiedenen Altersgruppen vor und nach Abschluss des Skelettwachstums.

## 7 ANHANG

### 7.1 Abkürzungsverzeichnis

<b>Abkürzung</b>	<b>Volltext</b>	<b>Englischer Volltext</b>
1,25-(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	Vitamin D3	
AA	Arachidonsäure	<i>arachidonic acid</i>
Adjustierung (a)	Adjustierung für BMI, sportliche Aktivität und Vitamin D3	
Adjustierung (b)	Adjustierung für Größe, Gewicht und sportliche Aktivität	
ALA	α-Linolensäure	<i>α-linolenic acid</i>
Apo	Apoprotein	
BA	Knochenfläche	<i>bone area</i>
BHT	2,6-Di-Tert-butyl-p-cresol	
BMC	Knochenmineralgehalt	<i>bone mineral content</i>
BMD	Knochendichte	<i>bone mineral density</i>
BMI		<i>body-mass-index</i>
CF	Zystische Fibrose	<i>cystic fibrosis</i>
-COOH	Carboxylgruppe	
COX	Cyclooxygenase	
d-7-HDA	d7-Hexadecensäure	<i>d7-hexadecenoic acid</i>
ΔBMC	Veränderung des Knochenmineralgehaltes zwischen T1 und T2	
ΔBMD	Veränderung der Knochendichte zwischen T1 und T2	
DGLA	Dihomogammalinolensäure	<i>dihomogammalinolenic acid</i>
DHA	Docosahexaensäure	<i>docosahexaenoic acid</i>
DPA	Docosapentaensäure	<i>docosapentaenoic acid</i>
ΔT2-T1	Differenz der Werte von T2 minus T1	
DVO	Dachverband Osteologie	
DXA	Dual-Energy Röntgenabsorptiometer	<i>dual-x-ray-absorptiometer</i>
EDA	Eicosadiensäure	<i>eicosadienoic acid</i>
EPA	Eicosapentaensäure	<i>eicosapentaenoic acid</i>
ETEA	Eicosatetraensäure	<i>eicosatetraenoic acid</i>
FAME		<i>fatty acid methyl ester</i>
FFQ	Ernährungsfragebogen	<i>Food Frequency Questionnaire</i>
FID	Flammenionisationsdetektor	
FS	Fettsäure	

Abkürzung	Volltext	Englischer Volltext
GC	Gaschromatograph	
GLA	$\gamma$ -Linolensäure	<i><math>\gamma</math>-linoleic acid</i>
HCl	Salzsäure	
HDL		<i>high density lipoproteins</i>
<i>high-fat-diet</i>	Ernährung mit hohem Fettanteil	
IGF-1		<i>insulin like growth factor</i>
IL	Interleukin	
IDL		<i>intermediate density lipoproteins</i>
LA	Linolsäure	<i>linoleic acid</i>
LDL		<i>low density lipoproteins</i>
ln	natürlicher Logarithmus	
LOX	Lipoxygenase	
LWS	Lumbalwirbelsäule	
MeOH	Methanol	
MTBE	tert-Butylmethylether	
MUFA	einfach ungesättigte Fettsäuren	<i>monounsaturated fatty acids</i>
MW	Mittelwert	
n	Anzahl	
NHANES		<i>National Health and Nutrition Survey</i>
NO	Stickstoff	<i>nitrogen monoxide</i>
OH	Hydroxyd-Ion	
PBM	maximale Knochendichte	<i>peak bone mass</i>
PEEK	Polyether-Etherketon-Kapillare	
PGE1	Prostaglandin E1	
PGE2	Prostaglandin E2	
PL	Phospholipide	
+/-	Standardabweichung	
PTH	Parathormon	
r	Korrelationskoeffizient	
RA	Rheumatoide Arthritis	
RANK-L		<i>receptor activator of NF-<math>\kappa</math>B ligand</i>
$\Sigma$	Summe	
SAFA	Gesättigte Fettsäuren	<i>saturated fatty acids</i>
SPE	Festphasentrennung	<i>solid phase extraction</i>
T0	Basismessung (Alter der Probanden: 22 Jahre)	

Abkürzung	Volltext	Englischer Volltext
T1	1. Nachmessung (Alter der Probanden: 24 Jahre)	
T2	2. Nachmessung (Alter der Probanden: 28 Jahre)	
Tb	Beginn der Studie (Alter der Probanden: 16 Jahre)	
TG	Triglyceride	
TNF $\alpha$		<i>tumor necrosis factor <math>\alpha</math></i>
VCLA	sehr langkettige Fettsäuren	<i>very long chain fatty acids</i>
VLDL		<i>very low density lipoproteins</i>
$\omega$ 3-PUFA	mehrfach ungesättigte $\omega$ 3-Fettsäuren	<i><math>\omega</math>3-polyunsaturated fatty acids</i>
$\omega$ 6-PUFA	mehrfach ungesättigte $\omega$ 6-Fettsäuren	<i><math>\omega</math>6-polyunsaturated fatty acids</i>
WHO		<i>World Health Organization</i>
WS	Wirbelsäule	

## **7.2 Abbildungsverzeichnis**

Abb. 1 Anzahl der Probanden mit Untergewicht, Normalgewicht, leichtem sowie starkem Übergewicht bei T1 und T2.	S. 39
Abb. 2 Sportliche Aktivität im Mittel bei T1 und T2.	S. 40
Abb. 3 Vitamin D3-Status der Probanden bei T1 und T2.	S. 42
Abb. 4 Anteile der Fettsäuregruppen der Phospholipide bei T1 und T2.	S. 48
Abb. 5 Zusammenhang des DHA-Anteils der Phospholipide mit der Knochendichte des gesamten Skeletts bei T1 und T2.	S. 56
Abb. 6 Korrelationen des DHA-Anteils der Phospholipide mit dem Knochenmineralgehalt des gesamten Skeletts bei T1 und T2.	S. 58
Abb. 7 Korrelationen des Ölsäure-Anteils der Phospholipide mit der Knochendichte des Beckens und der gesamten Wirbelsäule bei T2.	S. 69
Abb. 8 Korrelationen des Ölsäure-Anteils der Phospholipide mit der Knochendichte der Hüfte und des gesamten Skeletts bei T2.	S. 70

### **7.3 Tabellenverzeichnis**

Tab. 1 Übersicht über die Fettsäuregruppen SAFA, MUFA, $\omega$ 6-PUFA und $\omega$ 3-PUFA und der einzelnen, in dieser Arbeit gemessenen Fettsäuren.	S. 3
Tab. 2 Syntheseweg der gesättigten und einfach ungesättigten Fettsäuren.	S. 5
Tab. 3 Syntheseweg der $\omega$ 3-Fettsäuren ausgehend von der essentiellen Fettsäure $\alpha$ -Linolensäure.	S. 6
Tab. 4 Syntheseweg der $\omega$ 6-Fettsäuren ausgehend von der essentiellen Fettsäure Linolensäure.	S. 6
Tab. 5 Studienverlauf des Probandenkollektivs.	S. 27
Tab. 6 Chemikalien für die Fettsäurebestimmung.	S. 31
Tab. 7 Verbrauchsmaterialien für die Fettsäurebestimmung.	S. 32
Tab. 8 Software für die Datenauswertung.	S. 32
Tab. 9 Geräte für die Fettsäurebestimmung.	S. 33
Tab. 10 Elutionsschema für die Lipidklassentrennung.	S. 35
Tab. 11 Temperaturprogramm des Gaschromatographen.	S. 36
Tab. 12 Alter, Größe, Gewicht, sportliche Aktivität und Vitamin D3 der Probanden bei T1 und T2.	S. 38
Tab. 13 Knochendichte und Knochenmineralgehalt bei T1 und T2.	S. 44
Tab. 14 Anteile der Fettsäuren der Phospholipide an T1 und T2.	S. 47
Tab. 15 Korrelationen zwischen Vitamin D3 und der Knochendichte, der Veränderung der Knochendichte zwischen T1 und T2 sowie dem Knochenmineralgehalt bei T1 und T2.	S. 50
Tab. 16 Korrelationen von Body-Mass-Index mit der Knochendichte, der Veränderung der Knochendichte zwischen T1 und T2 sowie dem Knochenmineralgehalt bei T1 und T2.	S. 51
Tab. 17 Korrelationen der sportlichen Aktivität mit der Knochendichte, der Veränderung der Knochendichte zwischen T1 und T2 sowie dem Knochenmineralgehalt bei T1 und T2.	S. 53

- Tab. 18 Übersicht über die Adjustierung (*a*) für BMI, sportliche Aktivität und Vitamin D3 und (*b*) für Größe, Gewicht und sportliche Aktivität. S. 54
- Tab. 19 Korrelationen des DHA-Anteils der Phospholipide mit der Knochendichte, dem Knochenmineralgehalt und der Veränderung der Knochendichte zwischen T1 und T2 bei T1 und T2. S. 55
- Tab. 20 Korrelationen der Anteile der SAFA und MUFA der Phospholipide mit der Knochendichte bei T1 und T2. S. 59
- Tab. 21 Korrelationen der Anteile der  $\omega$ 6-PUFA und  $\omega$ 3-PUFA der Phospholipide mit der Knochendichte bei T1 und T2. S. 60
- Tab. 22 Korrelationen der Anteile der SAFA und MUFA der Phospholipide mit der Veränderung der Knochendichte zwischen T1 und T2 bei T1 und T2. S. 62
- Tab. 23 Korrelationen der Anteile der  $\omega$ 6-PUFA und  $\omega$ 3-PUFA der Phospholipide mit der Veränderung der Knochendichte zwischen T1 und T2 bei T1 und T2. S. 62
- Tab. 24 Korrelationen der Anteile der SAFA und MUFA der Phospholipide mit dem Mineralgehalt der Hüfte und des Femurhalses bei T1 und T2. S. 63
- Tab. 25 Korrelationen der Anteile der SAFA und MUFA,  $\omega$ 6-PUFA und  $\omega$ 3-PUFA der Phospholipide mit dem Mineralgehalt der Hüfte und des Femurhalses bei T1 und T2. S. 63
- Tab. 26 Korrelationen der Anteile der Fettsäuren der Phospholipide mit der Knochendichte des Beckens, der LWS und der gesamten Wirbelsäule bei T1 und T2. S. 67
- Tab. 27 Korrelationen der Anteile der Fettsäuren der Phospholipide mit der Knochendichte des Femurhalses, der Hüfte und des gesamten Skeletts bei T1 und T2. S. 68
- Tab. 28 Korrelationen der Anteile der Fettsäuren der Phospholipide mit der Veränderung der Knochendichte der Hüfte, der Wirbelsäule und des gesamten Skeletts zwischen T1 und T2 bei T1 und T2. S. 72
- Tab. 29 Korrelationen der Anteile der Fettsäuren der Phospholipide mit dem Mineralgehalt der Hüfte und des Femurhalses bei T1 und T2. S. 74

## **7.4 Literaturverzeichnis**

- Adams, J, Bishop, N (2008). DXA in Adults and Children. In: Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. Rosen, C, Compston JE, Lian, JB (Hrg.). 7th Edition. American Society for Bone and Mineral Research, Washington D.C., 152-158.
- Adams, JS, Hewison, M (2010). "Update in vitamin D." J Clin Endocrinol Metab **95**(2): 471-478.
- Albert, CM, Hennekens, CH, O'Donnell, CJ, Ajani, UA, Carey, VJ, Willett, WC, Ruskin, JN, Manson, JE (1998). "Fish consumption and risk of sudden cardiac death." Jama **279**(1): 23-28.
- Arterburn, LM, Hall, EB, Oken, H (2006). "Distribution, interconversion, and dose response of n-3 fatty acids in humans." Am J Clin Nutr **83**(6 Suppl): 1467S-1476S.
- Baggio, B, Budakovic, A, Ferraro, A, Checchetto, S, Priante, G, Musacchio, E, Manzato, E, Zaninotto, M, Maresca, MC (2005). "Relationship between plasma phospholipid polyunsaturated fatty acid composition and bone disease in renal transplantation." Transplantation **80**(9): 1349-1352.
- Bakewell, L, Burdge, GC, Calder, PC (2006). "Polyunsaturated fatty acid concentrations in young men and women consuming their habitual diets." Br J Nutr **96**(1): 93-99.
- Bang, HO, Dyerberg, J, Sinclair, HM (1980). "The composition of the Eskimo food in north western Greenland." Am J Clin Nutr **33**(12): 2657-2661.
- Basse, EJ, Littlewood, JJ, Rothwell, MC, Pye, DW (2000). "Lack of effect of supplementation with essential fatty acids on bone mineral density in healthy pre- and postmenopausal women: two randomized controlled trials of Efacal v. calcium alone." Br J Nutr **83**(6): 629-635.
- Berbert, AA, Kondo, CR, Almendra, CL, Matsuo, T, Dichi, I (2005). "Supplementation of fish oil and olive oil in patients with rheumatoid arthritis." Nutrition **21**(2): 131-136.
- Bhattacharya, A, Rahman, M, Banu, J, Lawrence, RA, McGuff, HS, Garrett, IR, Fischbach, M, Fernandes, G (2005). "Inhibition of osteoporosis in autoimmune disease prone MRL/Mpj-Fas(lpr) mice by N-3 fatty acids." J Am Coll Nutr **24**(3): 200-209.

- Blackwell, KA, Raisz, LG, Pilbeam, CC (2010). "Prostaglandins in bone: bad cop, good cop?" Trends Endocrinol Metab **21**(5): 294-301.
- Blake, GM, Fogelman, I (2010). "An update on dual-energy x-ray absorptiometry." Semin Nucl Med **40**(1): 62-73.
- Blanaru, JL, Kohut, JR, Fitzpatrick-Wong, SC, Weiler, HA (2004). "Dose response of bone mass to dietary arachidonic acid in piglets fed cow milk-based formula." Am J Clin Nutr **79**(1): 139-147.
- "BMI classification." (2011). World Health Organization (Hrg.). [Online im Internet]. [http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro\\_3.html](http://apps.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html) [Stand: 21.08.2011, 16:13].
- Bonanome, A, Grundy, SM (1988). "Effect of dietary stearic acid on plasma cholesterol and lipoprotein levels." N Engl J Med **318**(19): 1244-1248.
- Bonanome, A, Bennett, M, Grundy, SM (1992). "Metabolic effects of dietary stearic acid in mice: changes in the fatty acid composition of triglycerides and phospholipids in various tissues." Atherosclerosis **94**(2-3): 119-127.
- Bonjour, JP, Theintz, G, Buchs, B, Slosman, D, Rizzoli, R (1991). "Critical years and stages of puberty for spinal and femoral bone mass accumulation during adolescence." J Clin Endocrinol Metab **73**(3): 555-563.
- Bradney, M, Karlsson, MK, Duan, Y, Stuckey, S, Bass, S, Seeman, E (2000). "Heterogeneity in the growth of the axial and appendicular skeleton in boys: implications for the pathogenesis of bone fragility in men." J Bone Miner Res **15**(10): 1871-1878.
- Brandi, ML (2009). "Microarchitecture, the key to bone quality." Rheumatology (Oxford) **48 Suppl 4**: iv3-8.
- Brenna, JT, Salem, N, Jr., Sinclair, AJ, Cunnane, SC (2009). "alpha-Linolenic acid supplementation and conversion to n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in humans." Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids **80**(2-3): 85-91.
- Brenner, RR (1974). "The oxidative desaturation of unsaturated fatty acids in animals." Mol Cell Biochem **3**(1): 41-52.
- Brownbill, RA, Ilich, JZ (2006). "Lipid profile and bone paradox: higher serum lipids are associated with higher bone mineral density in postmenopausal women." J Womens Health (Larchmt) **15**(3): 261-270.
- Buck, AC, Davies, RL, Harrison, T (1991). "The protective role of eicosapentaenoic acid [EPA] in the pathogenesis of nephrolithiasis." J Urol **146**(1): 188-194.

- Burdge, GC, Wootton, SA (2002). "Conversion of alpha-linolenic acid to eicosapentaenoic, docosapentaenoic and docosahexaenoic acids in young women." Br J Nutr **88**(4): 411-420.
- Burdge, GC, Jones, AE, Wootton, SA (2002). "Eicosapentaenoic and docosapentaenoic acids are the principal products of alpha-linolenic acid metabolism in young men\*." Br J Nutr **88**(4): 355-363.
- Calder, PC (2008). "Polyunsaturated fatty acids, inflammatory processes and inflammatory bowel diseases." Mol Nutr Food Res **52**(8): 885-897.
- Calder, PC (2009). "Polyunsaturated fatty acids and inflammatory processes: new twists in an old tale." Biochimie **91**(6): 791-795.
- Canalis, E, Delany, AM (2002). "Mechanisms of glucocorticoid action in bone." Ann N Y Acad Sci **966**: 73-81.
- Carnielli, VP, Luijendijk, IH, Van Goudoever, JB, Sulkers, EJ, Boerlage, AA, Degenhart, HJ, Sauer, PJ (1996). "Structural position and amount of palmitic acid in infant formulas: effects on fat, fatty acid, and mineral balance." J Pediatr Gastroenterol Nutr **23**(5): 553-560.
- Caughey, GE, Mantzioris, E, Gibson, RA, Cleland, LG, James, MJ (1996). "The effect on human tumor necrosis factor alpha and interleukin 1 beta production of diets enriched in n-3 fatty acids from vegetable oil or fish oil." Am J Clin Nutr **63**(1): 116-122.
- Chapuy, MC, Preziosi, P, Maamer, M, Arnaud, S, Galan, P, Hercberg, S, Meunier, PJ (1997). "Prevalence of vitamin D insufficiency in an adult normal population." Osteoporos Int **7**(5): 439-443.
- Cleland, LG, James, MJ, Neumann, MA, D'Angelo, M, Gibson, RA (1992). "Linoleate inhibits EPA incorporation from dietary fish-oil supplements in human subjects." Am J Clin Nutr **55**(2): 395-399.
- Coetzer, H, Claassen, N, van Papendorp, DH, Kruger, MC (1994). "Calcium transport by isolated brush border and basolateral membrane vesicles: role of essential fatty acid supplementation." Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids **50**(5): 257-266.
- Collins, D, Jasani, C, Fogelman, I, Swaminathan, R (1998). "Vitamin D and bone mineral density." Osteoporos Int **8**(2): 110-114.
- Corwin, RL (2003). "Effects of dietary fats on bone health in advanced age." Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids **68**(6): 379-386.

- Corwin, RL, Hartman, TJ, Maczuga, SA, Graubard, BI (2006). "Dietary saturated fat intake is inversely associated with bone density in humans: analysis of NHANES III." J Nutr **136**(1): 159-165.
- Das, UN (2002). "Nitric oxide as the mediator of the antiosteoporotic actions of estrogen, statins, and essential fatty acids." Exp Biol Med (Maywood) **227**(2): 88-93.
- Datta, HK, Ng, WF, Walker, JA, Tuck, SP, Varanasi, SS (2008). "The cell biology of bone metabolism." J Clin Pathol **61**(5): 577-587.
- Dawczynski, C, Schubert, R, Hein, G, Muller, A, Eidner, T, Vogelsang, H, Basu, S, Jahreis, G (2009). "Long-term moderate intervention with n-3 long-chain PUFA-supplemented dairy products: effects on pathophysiological biomarkers in patients with rheumatoid arthritis." Br J Nutr **101**(10): 1517-1526.
- De Laet, C, Kanis, JA, Oden, A, Johanson, H, Johnell, O, Delmas, P, Eisman, JA, Kroger, H, Fujiwara, S, Garnero, P, McCloskey, EV, Mellstrom, D, Melton, LJ, 3rd, Meunier, PJ, Pols, HA, Reeve, J, Silman, A, Tenenhouse, A (2005). "Body mass index as a predictor of fracture risk: a meta-analysis." Osteoporos Int **16**(11): 1330-1338.
- de Paula, FJ, Rosen, CJ (2010). "Back to the future: revisiting parathyroid hormone and calcitonin control of bone remodeling." Horm Metab Res **42**(5): 299-306.
- DeLuca, HF (2008). "Evolution of our understanding of vitamin D." Nutr Rev **66**(10 Suppl 2): S73-87.
- Diamond, T, Stiel, D, Lunzer, M, Wilkinson, M, Posen, S (1989). "Ethanol reduces bone formation and may cause osteoporosis." Am J Med **86**(3): 282-288.
- "Dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids and vitamin E after myocardial infarction: results of the GISSI-Prevenzione trial. Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'Infarto miocardico." (1999). Lancet **354**(9177): 447-455.
- Dodin, S, Lemay, A, Jacques, H, Legare, F, Forest, JC, Masse, B (2005). "The effects of flaxseed dietary supplement on lipid profile, bone mineral density, and symptoms in menopausal women: a randomized, double-blind, wheat germ placebo-controlled clinical trial." J Clin Endocrinol Metab **90**(3): 1390-1397.
- Drewnowski, A, Henderson, SA, Driscoll, A, Rolls, BJ (1997). "The Dietary Variety Score: assessing diet quality in healthy young and older adults." J Am Diet Assoc **97**(3): 266-271.

- Duncan, EL, Cardon, LR, Sinsheimer, JS, Wass, JA, Brown, MA (2003). "Site and gender specificity of inheritance of bone mineral density." J Bone Miner Res **18**(8): 1531-1538.
- "DVO-Leitlinie 2009 zur Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der Osteoporose bei Erwachsenen." (2009). Osteologie **18**(4): 304-328.
- Emken, EA, Adlof, RO, Duval, SM, Nelson, GJ (1999). "Effect of dietary docosahexaenoic acid on desaturation and uptake in vivo of isotope-labeled oleic, linoleic, and linolenic acids by male subjects." Lipids **34**(8): 785-791.
- Eriksson, S, Mellstrom, D, Strandvik, B (2009). "Fatty acid pattern in serum is associated with bone mineralisation in healthy 8-year-old children." Br J Nutr **102**(3): 407-412.
- Fekete, K, Marosvolgyi, T, Jakobik, V, Decsi, T (2009). "Methods of assessment of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acid status in humans: a systematic review." Am J Clin Nutr **89**(6): 2070S-2084S.
- Fernandes, G, Lawrence, R, Sun, D (2003). "Protective role of n-3 lipids and soy protein in osteoporosis." Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids **68**(6): 361-372.
- Folch, J, Lees, M, Sloane Stanley, GH (1957). "A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues." J Biol Chem **226**(1): 497-509.
- Frenkel, B, Hong, A, Baniwal, SK, Coetzee, GA, Ohlsson, C, Khalid, O, Gabet, Y (2010). "Regulation of adult bone turnover by sex steroids." J Cell Physiol **224**(2): 305-310.
- Galarraga, B, Ho, M, Youssef, HM, Hill, A, McMahon, H, Hall, C, Ogston, S, Nuki, G, Belch, JJ (2008). "Cod liver oil (n-3 fatty acids) as a non-steroidal anti-inflammatory drug sparing agent in rheumatoid arthritis." Rheumatology (Oxford) **47**(5): 665-669.
- Gallagher, JC, Sai, AJ (2010). "Vitamin D insufficiency, deficiency, and bone health." J Clin Endocrinol Metab **95**(6): 2630-2633.
- Garg, ML, Sebokova, E, Thomson, AB, Clandinin, MT (1988). "Delta 6-desaturase activity in liver microsomes of rats fed diets enriched with cholesterol and/or omega 3 fatty acids." Biochem J **249**(2): 351-356.
- Giltay, EJ, Gooren, LJ, Toorians, AW, Katan, MB, Zock, PL (2004). "Docosahexaenoic acid concentrations are higher in women than in men because of estrogenic effects." Am J Clin Nutr **80**(5): 1167-1174.

- Goyens, PL, Spilker, ME, Zock, PL, Katan, MB, Mensink, RP (2005). "Compartmental modeling to quantify alpha-linolenic acid conversion after longer term intake of multiple tracer boluses." J Lipid Res **46**(7): 1474-1483.
- Griel, AE, Kris-Etherton, PM, Hilpert, KF, Zhao, G, West, SG, Corwin, RL (2007). "An increase in dietary n-3 fatty acids decreases a marker of bone resorption in humans." Nutr J **6**: 2.
- Griffith, JF, Yeung, DK, Ahuja, AT, Choy, CW, Mei, WY, Lam, SS, Lam, TP, Chen, ZY, Leung, PC (2009). "A study of bone marrow and subcutaneous fatty acid composition in subjects of varying bone mineral density." Bone **44**(6): 1092-1096.
- Gronowitz, E, Mellstrom, D, Strandvik, B (2006). "Serum phospholipid fatty acid pattern is associated with bone mineral density in children, but not adults, with cystic fibrosis." Br J Nutr **95**(6): 1159-1165.
- Gronowitz, E, Lorentzon, M, Ohlsson, C, Mellstrom, D, Strandvik, B (2008). "Docosahexaenoic acid is associated with endosteal circumference in long bones in young males with cystic fibrosis." Br J Nutr **99**(1): 160-167.
- Gunnes, M, Lehmann, EH (1995). "Dietary calcium, saturated fat, fiber and vitamin C as predictors of forearm cortical and trabecular bone mineral density in healthy children and adolescents." Acta Paediatr **84**(4): 388-392.
- Haag, M, Magada, ON, Claassen, N, Bohmer, LH, Kruger, MC (2003). "Omega-3 fatty acids modulate ATPases involved in duodenal Ca absorption." Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids **68**(6): 423-429.
- Hamilton, JG, Comai, K (1988). "Rapid separation of neutral lipids, free fatty acids and polar lipids using prepacked silica Sep-Pak columns." Lipids **23**(12): 1146-1149.
- Harris, WS (1997). "n-3 fatty acids and serum lipoproteins: animal studies." Am J Clin Nutr **65**(5 Suppl): 1611S-1616S.
- Heaney, RP, Abrams, S, Dawson-Hughes, B, Looker, A, Marcus, R, Matkovic, V, Weaver, C (2000). "Peak bone mass." Osteoporos Int **11**(12): 985-1009.
- Henry, YM, Fatayerji, D, Eastell, R (2004). "Attainment of peak bone mass at the lumbar spine, femoral neck and radius in men and women: relative contributions of bone size and volumetric bone mineral density." Osteoporos Int **15**(4): 263-273.

- Hernandez-Avila, M, Stampfer, MJ, Ravnikar, VA, Willett, WC, Schiff, I, Francis, M, Longcope, C, McKinlay, SM, Longscope, C (1993). "Caffeine and other predictors of bone density among pre- and perimenopausal women." Epidemiology **4**(2): 128-134.
- Hogstrom, M, Nordstrom, P, Nordstrom, A (2007). "n-3 Fatty acids are positively associated with peak bone mineral density and bone accrual in healthy men: the NO2 Study." Am J Clin Nutr **85**(3): 803-807.
- Holick, MF (2007). "Vitamin D deficiency." N Engl J Med **357**(3): 266-281.
- Hooper, L, Thompson, RL, Harrison, RA, Summerbell, CD, Moore, H, Worthington, HV, Durrington, PN, Ness, AR, Capps, NE, Davey Smith, G, Riemersma, RA, Ebrahim, SB (2004). "Omega 3 fatty acids for prevention and treatment of cardiovascular disease." Cochrane Database Syst Rev(4): CD003177.
- Howe, P, Meyer, B, Record, S, Baghurst, K (2006). "Dietary intake of long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids: contribution of meat sources." Nutrition **22**(1): 47-53.
- Hussein, N, Ah-Sing, E, Wilkinson, P, Leach, C, Griffin, BA, Millward, DJ (2005). "Long-chain conversion of [<sup>13</sup>C]linoleic acid and alpha-linolenic acid in response to marked changes in their dietary intake in men." J Lipid Res **46**(2): 269-280.
- Judex, S, Wohl, GR, Wolff, RB, Leng, W, Gillis, AM, Zernicke, RF (2000). "Dietary fish oil supplementation adversely affects cortical bone morphology and biomechanics in growing rabbits." Calcif Tissue Int **66**(6): 443-448.
- Kanematsu, M, Sato, T, Takai, H, Watanabe, K, Ikeda, K, Yamada, Y (2000). "Prostaglandin E2 induces expression of receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand/osteoprotegerin ligand on pre-B cells: implications for accelerated osteoclastogenesis in estrogen deficiency." J Bone Miner Res **15**(7): 1321-1329.
- Kelley, DS, Taylor, PC, Nelson, GJ, Schmidt, PC, Ferretti, A, Erickson, KL, Yu, R, Chandra, RK, Mackey, BE (1999). "Docosahexaenoic acid ingestion inhibits natural killer cell activity and production of inflammatory mediators in young healthy men." Lipids **34**(4): 317-324.
- Kelly, O, Cusack, S, Jewell, C, Cashman, KD (2003). "The effect of polyunsaturated fatty acids, including conjugated linoleic acid, on calcium absorption and bone metabolism and composition in young growing rats." Br J Nutr **90**(4): 743-750.

- Kelly, TL, Wilson, KE, Heymsfield, SB (2009). "Dual energy X-Ray absorptiometry body composition reference values from NHANES." PLoS One **4**(9): e7038.
- Khandelwal, S, Demonty, I, Jeemon, P, Lakshmy, R, Mukherjee, R, Gupta, R, Snehi, U, Niveditha, D, Singh, Y, van der Knaap, HC, Passi, SJ, Prabhakaran, D, Reddy, KS (2009). "Independent and interactive effects of plant sterols and fish oil n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids on the plasma lipid profile of mildly hyperlipidaemic Indian adults." Br J Nutr **102**(5): 722-732.
- Kien, CL, Bunn, JY (2008). "Gender alters the effects of palmitate and oleate on fat oxidation and energy expenditure." Obesity (Silver Spring) **16**(1): 29-33.
- Kohut, J, Watkins, B, Weiler, H (2009). "Enhanced lumbar spine bone mineral content in piglets fed arachidonic acid and docosahexaenoic acid is modulated by severity of growth restriction." Br J Nutr **102**(8): 1117-1120.
- Kokkinos, PP, Shaye, R, Alam, BS, Alam, SQ (1993). "Dietary lipids, prostaglandin E2 levels, and tooth movement in alveolar bone of rats." Calcif Tissue Int **53**(5): 333-337.
- Koo, WW, Hammami, M, Margeson, DP, Nwaesei, C, Montalto, MB, Lasekan, JB (2003). "Reduced bone mineralization in infants fed palm olein-containing formula: a randomized, double-blinded, prospective trial." Pediatrics **111**(5 Pt 1): 1017-1023.
- Korotkova, M, Ohlsson, C, Hanson, LA, Strandvik, B (2004). "Dietary n-6:n-3 fatty acid ratio in the perinatal period affects bone parameters in adult female rats." Br J Nutr **92**(4): 643-648.
- Kremer, JM, Lawrence, DA, Pettilo, GF, Litts, LL, Mullaly, PM, Rynes, RI, Stocker, RP, Parhami, N, Greenstein, NS, Fuchs, BR, et al. (1995). "Effects of high-dose fish oil on rheumatoid arthritis after stopping nonsteroidal antiinflammatory drugs. Clinical and immune correlates." Arthritis Rheum **38**(8): 1107-1114.
- Kris-Etherton, PM, Pearson, TA, Wan, Y, Hargrove, RL, Moriarty, K, Fishell, V, Etherton, TD (1999). "High-monounsaturated fatty acid diets lower both plasma cholesterol and triacylglycerol concentrations." Am J Clin Nutr **70**(6): 1009-1015.
- Kruger, MC, Coetzer, H, de Winter, R, Gericke, G, van Papendorp, DH (1998). "Calcium, gamma-linolenic acid and eicosapentaenoic acid supplementation in senile osteoporosis." Aging (Milano) **10**(5): 385-394.

- Kruger, MC, Coetzee, M, Haag, M, Weiler, H (2010). "Long chain polyunsaturated fatty acids: selected mechanisms of action on bone." Prog Lipid Res **49**(4): 438-449.
- Kyrozis, A, Psaltopoulou, T, Stathopoulos, P, Trichopoulos, D, Vassilopoulos, D, Trichopoulou, A (2009). "Dietary lipids and geriatric depression scale score among elders: the EPIC-Greece cohort." J Psychiatr Res **43**(8): 763-769.
- Lac, G, Cavalie, H, Ebal, E, Michaux, O (2008). "Effects of a high fat diet on bone of growing rats. Correlations between visceral fat, adiponectin and bone mass density." Lipids Health Dis **7**: 16.
- Lamberg-Allardt, CJ, Outila, TA, Karkkainen, MU, Rita, HJ, Valsta, LM (2001). "Vitamin D deficiency and bone health in healthy adults in Finland: could this be a concern in other parts of Europe?" J Bone Miner Res **16**(11): 2066-2073.
- Lepage, G, Roy, CC (1988). "Specific methylation of plasma nonesterified fatty acids in a one-step reaction." J Lipid Res **29**(2): 227-235.
- Levitan, EB, Wolk, A, Mittleman, MA (2009). "Fish consumption, marine omega-3 fatty acids, and incidence of heart failure: a population-based prospective study of middle-aged and elderly men." Eur Heart J **30**(12): 1495-1500.
- Li, Y, Seifert, MF, Lim, SY, Salem, N, Watkins, BA (2010). "Bone mineral content is positively correlated to n-3 fatty acids in the femur of growing rats." Br J Nutr **104**(5): 674-685.
- Liang, C, Oest, ME, Jones, JC, Prater, MR (2009). "Gestational high saturated fat diet alters C57BL/6 mouse perinatal skeletal formation." Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol **86**(5): 362-369.
- Lim, WS, Gammack, JK, Van Niekerk, J, Dangour, AD (2006). "Omega 3 fatty acid for the prevention of dementia." Cochrane Database Syst Rev(1): CD005379.
- Liu, D, Veit, HP, Wilson, JH, Denbow, DM (2003). "Long-term supplementation of various dietary lipids alters bone mineral content, mechanical properties and histological characteristics of Japanese quail." Poult Sci **82**(5): 831-839.
- Liu, D, Veit, HP, Denbow, DM (2004). "Effects of long-term dietary lipids on mature bone mineral content, collagen, crosslinks, and prostaglandin E2 production in Japanese quail." Poult Sci **83**(11): 1876-1883.
- Lodish, MB, Hsiao, HP, Serbis, A, Sinaii, N, Rothenbuhler, A, Keil, MF, Boikos, SA, Reynolds, JC, Stratakis, CA (2010). "Effects of Cushing disease on bone mineral density in a pediatric population." J Pediatr **156**(6): 1001-1005.

- Lopez-Huertas, E (2009). "Health effects of oleic acid and long chain omega-3 fatty acids (EPA and DHA) enriched milks. A review of intervention studies." Pharmacol Res **61**(3): 200-207.
- Lorentzon, M, Mellstrom, D, Haug, E, Ohlsson, C (2007). "Smoking is associated with lower bone mineral density and reduced cortical thickness in young men." J Clin Endocrinol Metab **92**(2): 497-503.
- Lovegrove, JA, Brooks, CN, Murphy, MC, Gould, BJ, Williams, CM (1997). "Use of manufactured foods enriched with fish oils as a means of increasing long-chain n-3 polyunsaturated fatty acid intake." Br J Nutr **78**(2): 223-236.
- Ma, J, Folsom, AR, Shahar, E, Eckfeldt, JH (1995). "Plasma fatty acid composition as an indicator of habitual dietary fat intake in middle-aged adults. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators." Am J Clin Nutr **62**(3): 564-571.
- Macdonald, HM, New, SA, Golden, MH, Campbell, MK, Reid, DM (2004). "Nutritional associations with bone loss during the menopausal transition: evidence of a beneficial effect of calcium, alcohol, and fruit and vegetable nutrients and of a detrimental effect of fatty acids." Am J Clin Nutr **79**(1): 155-165.
- Mantzioris, E, Cleland, LG, Gibson, RA, Neumann, MA, Demasi, M, James, MJ (2000). "Biochemical effects of a diet containing foods enriched with n-3 fatty acids." Am J Clin Nutr **72**(1): 42-48.
- Martins, JG (2009). "EPA but not DHA appears to be responsible for the efficacy of omega-3 long chain polyunsaturated fatty acid supplementation in depression: evidence from a meta-analysis of randomized controlled trials." J Am Coll Nutr **28**(5): 525-542.
- McKarney, C, Everard, M, N'Diaye, T (2007). "Omega-3 fatty acids (from fish oils) for cystic fibrosis." Cochrane Database Syst Rev(4): CD002201.
- Meyer, BJ, Mann, NJ, Lewis, JL, Milligan, GC, Sinclair, AJ, Howe, PR (2003). "Dietary intakes and food sources of omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids." Lipids **38**(4): 391-398.
- Mollard, RC, Kovacs, HR, Fitzpatrick-Wong, SC, Weiler, HA (2005). "Low levels of dietary arachidonic and docosahexaenoic acids improve bone mass in neonatal piglets, but higher levels provide no benefit." J Nutr **135**(3): 505-512.

- Mukamal, KJ, Robbins, JA, Cauley, JA, Kern, LM, Siscovick, DS (2007). "Alcohol consumption, bone density, and hip fracture among older adults: the cardiovascular health study." Osteoporos Int **18**(5): 593-602.
- Nelson, SE, Rogers, RR, Frantz, JA, Ziegler, EE (1996). "Palm olein in infant formula: absorption of fat and minerals by normal infants." Am J Clin Nutr **64**(3): 291-296.
- Ng, MY, Sham, PC, Paterson, AD, Chan, V, Kung, AW (2006). "Effect of environmental factors and gender on the heritability of bone mineral density and bone size." Ann Hum Genet **70**(Pt 4): 428-438.
- Nikkari, T, Luukkainen, P, Pietinen, P, Puska, P (1995). "Fatty acid composition of serum lipid fractions in relation to gender and quality of dietary fat." Ann Med **27**(4): 491-498.
- Nordstrom, P, Neovius, M, Nordstrom, A (2007). "Early and rapid bone mineral density loss of the proximal femur in men." J Clin Endocrinol Metab **92**(5): 1902-1908.
- Oh, SR, Sul, OJ, Kim, YY, Kim, HJ, Yu, R, Suh, JH, Choi, HS (2010). "Saturated fatty acids enhance osteoclast survival." J Lipid Res **51**(5): 892-899.
- Papaioannou, A, Kennedy, CC, Cranney, A, Hawker, G, Brown, JP, Kaiser, SM, Leslie, WD, O'Brien, CJ, Sawka, AM, Khan, A, Siminoski, K, Tarulli, G, Webster, D, McGowan, J, Adachi, JD (2009). "Risk factors for low BMD in healthy men age 50 years or older: a systematic review." Osteoporos Int **20**(4): 507-518.
- Pawlosky, RJ, Hibbeln, JR, Novotny, JA, Salem, N, Jr. (2001). "Physiological compartmental analysis of alpha-linolenic acid metabolism in adult humans." J Lipid Res **42**(8): 1257-1265.
- Pawlosky, RJ, Hibbeln, JR, Salem, N, Jr. (2007). "Compartmental analyses of plasma n-3 essential fatty acids among male and female smokers and nonsmokers." J Lipid Res **48**(4): 935-943.
- Pearce, MS, Relton, CL, Groom, A, Peaston, RT, Francis, RM (2010). "A lifecourse study of bone resorption in men ages 49-51 years: the Newcastle Thousand Families cohort study." Bone **46**(4): 952-956.
- Pocock, NA, Eisman, JA, Hopper, JL, Yeates, MG, Sambrook, PN, Eberl, S (1987). "Genetic determinants of bone mass in adults. A twin study." J Clin Invest **80**(3): 706-710.

- Poulsen, R, Kruger, MC (2006). "Detrimental effect of eicosapentaenoic acid supplementation on bone following ovariectomy in rats." Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids **75**(6): 419-427.
- Poulsen, RC, Firth, EC, Rogers, CW, Moughan, PJ, Kruger, MC (2007). "Specific effects of gamma-linolenic, eicosapentaenoic, and docosahexaenoic ethyl esters on bone post-ovariectomy in rats." Calcif Tissue Int **81**(6): 459-471.
- "Prevention and management of osteoporosis." (2003). World Health Organ Tech Rep Ser **921**: 1-164, back cover.
- Raatz, SK, Bibus, D, Thomas, W, Kris-Etherton, P (2001). "Total fat intake modifies plasma fatty acid composition in humans." J Nutr **131**(2): 231-234.
- Raggatt, LJ, Partridge, NC (2010). "Cellular and molecular mechanisms of bone remodelling." J Biol Chem **285**(33): 25103-25108.
- Rahman, MM, Bhattacharya, A, Fernandes, G (2008). "Docosahexaenoic acid is more potent inhibitor of osteoclast differentiation in RAW 264.7 cells than eicosapentaenoic acid." J Cell Physiol **214**(1): 201-209.
- Rajaram, S, Haddad, EH, Mejia, A, Sabate, J (2009). "Walnuts and fatty fish influence different serum lipid fractions in normal to mildly hyperlipidemic individuals: a randomized controlled study." Am J Clin Nutr **89**(5): 1657S-1663S.
- Reinwald, S, Li, Y, Moriguchi, T, Salem, N, Jr., Watkins, BA (2004). "Repletion with (n-3) fatty acids reverses bone structural deficits in (n-3)-deficient rats." J Nutr **134**(2): 388-394.
- Richards, JB, Joseph, L, Schwartzman, K, Kreiger, N, Tenenhouse, A, Goltzman, D (2006). "The effect of cyclooxygenase-2 inhibitors on bone mineral density: results from the Canadian Multicentre Osteoporosis Study." Osteoporos Int **17**(9): 1410-1419.
- Rittweger, J (2006). "Can exercise prevent osteoporosis?" J Musculoskelet Neuronal Interact **6**(2): 162-166.
- Rizzoli, R, Bianchi, ML, Garabedian, M, McKay, HA, Moreno, LA (2010). "Maximizing bone mineral mass gain during growth for the prevention of fractures in the adolescents and the elderly." Bone **46**(2): 294-305.
- Rousseau, JH, Kleppinger, A, Kenny, AM (2009). "Self-reported dietary intake of omega-3 fatty acids and association with bone and lower extremity function." J Am Geriatr Soc **57**(10): 1781-1788.

- Ruffing, JA, Cosman, F, Zion, M, Tendy, S, Garrett, P, Lindsay, R, Nieves, JW (2006). "Determinants of bone mass and bone size in a large cohort of physically active young adult men." *Nutr Metab (Lond)* **3**: 14.
- Saadatian-Elahi, M, Slimani, N, Chajes, V, Jenab, M, Goudable, J, Biessy, C, Ferrari, P, Byrnes, G, Autier, P, Peeters, PH, Ocke, M, Bueno de Mesquita, B, Johansson, I, Hallmans, G, Manjer, J, Wirfalt, E, Gonzalez, CA, Navarro, C, Martinez, C, Amiano, P, Suarez, LR, Ardanaz, E, Tjonneland, A, Halkjaer, J, Overvad, K, Jakobsen, MU, Berrino, F, Pala, V, Palli, D, Tumino, R, Vineis, P, Santucci de Magistris, M, Spencer, EA, Crowe, FL, Bingham, S, Khaw, KT, Linseisen, J, Rohrmann, S, Boeing, H, Noethlings, U, Olsen, KS, Skeie, G, Lund, E, Trichopoulou, A, Oustoglou, E, Clavel-Chapelon, F, Riboli, E (2009). "Plasma phospholipid fatty acid profiles and their association with food intakes: results from a cross-sectional study within the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition." *Am J Clin Nutr* **89**(1): 331-346.
- Sakaguchi, K, Morita, I, Murota, S (1994). "Eicosapentaenoic acid inhibits bone loss due to ovariectomy in rats." *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* **50**(2): 81-84.
- Salari, P, Rezaie, A, Larijani, B, Abdollahi, M (2008). "A systematic review of the impact of n-3 fatty acids in bone health and osteoporosis." *Med Sci Monit* **14**(3): RA37-44.
- Salem, GJ, Zernicke, RF, Barnard, RJ (1992). "Diet-related changes in mechanical properties of rat vertebrae." *Am J Physiol* **262**(2 Pt 2): R318-321.
- Saxholt, E, Christensen, AT, Møller, A, Hartkopp, HB, Hess Ygil, K, Hels, OH (2008). "Danish Food Composition Databank." Revision 7. Department of Nutrition, National Food Institute, Technical University of Denmark (Hrg.). [Online im Internet]. <http://www.foodcomp.dk/> [Stand: 09.07.10, 10:15].
- Seeman, E, Tsalamandris, C, Formica, C, Hopper, JL, McKay, J (1994). "Reduced femoral neck bone density in the daughters of women with hip fractures: the role of low peak bone density in the pathogenesis of osteoporosis." *J Bone Miner Res* **9**(5): 739-743.
- Shen, CL, Yeh, JK, Rasty, J, Chyu, MC, Dunn, DM, Li, Y, Watkins, BA (2007). "Improvement of bone quality in gonad-intact middle-aged male rats by long-chain n-3 polyunsaturated fatty acid." *Calcif Tissue Int* **80**(4): 286-293.

- Sirois, I, Cheung, AM, Ward, WE (2003). "Biomechanical bone strength and bone mass in young male and female rats fed a fish oil diet." Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids **68**(6): 415-421.
- Slosman, DO, Rizzoli, R, Pichard, C, Donath, A, Bonjour, JP (1994). "Longitudinal measurement of regional and whole body bone mass in young healthy adults." Osteoporos Int **4**(4): 185-190.
- Sullivan, BL, Brown, J, Williams, PG, Meyer, BJ (2008). "Dietary validation of a new Australian food-frequency questionnaire that estimates long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids." Br J Nutr **99**(3): 660-666.
- Sun, D, Krishnan, A, Zaman, K, Lawrence, R, Bhattacharya, A, Fernandes, G (2003). "Dietary n-3 fatty acids decrease osteoclastogenesis and loss of bone mass in ovariectomized mice." J Bone Miner Res **18**(7): 1206-1216.
- Szulc, P, Marchand, F, Duboeuf, F, Delmas, PD (2000). "Cross-sectional assessment of age-related bone loss in men: the MINOS study." Bone **26**(2): 123-129.
- Tarmizi, AH, Lin, SW, Kuntom, A (2008). "Development of palm-based reference materials for the quantification of fatty acids composition." J Oleo Sci **57**(5): 275-285.
- Tavazzi, L, Maggioni, AP, Marchioli, R, Barlera, S, Franzosi, MG, Latini, R, Lucci, D, Nicolosi, GL, Porcu, M, Tognoni, G (2008). "Effect of n-3 polyunsaturated fatty acids in patients with chronic heart failure (the GISSI-HF trial): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial." Lancet **372**(9645): 1223-1230.
- Trichopoulou, A, Georgiou, E, Bassiakos, Y, Lipworth, L, Lagiou, P, Proukakis, C, Trichopoulos, D (1997). "Energy intake and monounsaturated fat in relation to bone mineral density among women and men in Greece." Prev Med **26**(3): 395-400.
- Trimpou, P, Landin-Wilhelmsen, K, Oden, A, Rosengren, A, Wilhelmsen, L (2010). "Male risk factors for hip fracture-a 30-year follow-up study in 7,495 men." Osteoporos Int **21**(3): 409-416.
- "USDA National Nutrient Database for Standard Reference."(2009). Release 22. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service (Hrg.). [Online im Internet]. <http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl> [Stand: 09.07.10, 12:20].
- Valimaki, MJ, Karkkainen, M, Lamberg-Allardt, C, Laitinen, K, Alhava, E, Heikkinen, J, Impivaara, O, Makela, P, Palmgren, J, Seppanen, R, et al. (1994). "Exercise, smoking, and calcium intake during adolescence and early adulthood as

- determinants of peak bone mass. Cardiovascular Risk in Young Finns Study Group." Bmj **309**(6949): 230-235.
- Valimaki, VV, Alfthan, H, Lehmuskallio, E, Loyttyneimi, E, Sahi, T, Stenman, UH, Suominen, H, Valimaki, MJ (2004). "Vitamin D status as a determinant of peak bone mass in young Finnish men." J Clin Endocrinol Metab **89**(1): 76-80.
- van Papendorp, H, Coetzer, H, Kruger, MC (1995). "Biochemical profile of osteoporotic patients on essential fatty acid supplementation." Nutrition Research **15**(3): 325-334.
- Vessby, B, Uusitupa, M, Hermansen, K, Riccardi, G, Rivellese, AA, Tapsell, LC, Nalsen, C, Berglund, L, Louheranta, A, Rasmussen, BM, Calvert, GD, Maffetone, A, Pedersen, E, Gustafsson, IB, Storlien, LH (2001). "Substituting dietary saturated for monounsaturated fat impairs insulin sensitivity in healthy men and women: The KANWU Study." Diabetologia **44**(3): 312-319.
- von Muhlen, DG, Greendale, GA, Garland, CF, Wan, L, Barrett-Connor, E (2005). "Vitamin D, parathyroid hormone levels and bone mineral density in community-dwelling older women: the Rancho Bernardo Study." Osteoporos Int **16**(12): 1721-1726.
- Watkins, BA, Shen, CL, McMurtry, JP, Xu, H, Bain, SD, Allen, KG, Seifert, MF (1997). "Dietary lipids modulate bone prostaglandin E<sub>2</sub> production, insulin-like growth factor-I concentration and formation rate in chicks." J Nutr **127**(6): 1084-1091.
- Watkins, BA, Li, Y, Allen, KG, Hoffmann, WE, Seifert, MF (2000). "Dietary ratio of (n-6)/(n-3) polyunsaturated fatty acids alters the fatty acid composition of bone compartments and biomarkers of bone formation in rats." J Nutr **130**(9): 2274-2284.
- Weiler, HA, Fitzpatrick-Wong, SC (2002). "Modulation of essential (n-6):(n-3) fatty acid ratios alters fatty acid status but not bone mass in piglets." J Nutr **132**(9): 2667-2672.
- Weiler, HA, Fitzpatrick-Wong, SC, Schellenberg, J, McCloy, U, Veitch, R, Kovacs, H, Kohut, J, Kin Yuen, C (2005). "Maternal and cord blood long-chain polyunsaturated fatty acids are predictive of bone mass at birth in healthy term-born infants." Pediatr Res **58**(6): 1254-1258.

- Weiss, LA, Barrett-Connor, E, von Muhlen, D (2005). "Ratio of n-6 to n-3 fatty acids and bone mineral density in older adults: the Rancho Bernardo Study." Am J Clin Nutr **81**(4): 934-938.
- Welch, AA, Bingham, SA, Ive, J, Friesen, MD, Wareham, NJ, Riboli, E, Khaw, KT (2006). "Dietary fish intake and plasma phospholipid n-3 polyunsaturated fatty acid concentrations in men and women in the European Prospective Investigation into Cancer-Norfolk United Kingdom cohort." Am J Clin Nutr **84**(6): 1330-1339.
- Wohl, GR, Loehrke, L, Watkins, BA, Zernicke, RF (1998). "Effects of high-fat diet on mature bone mineral content, structure, and mechanical properties." Calcif Tissue Int **63**(1): 74-79.
- Wosje, KS, Kalkwarf, HJ (2007). "Bone density in relation to alcohol intake among men and women in the United States." Osteoporos Int **18**(3): 391-400.
- Yasui, T, Tanaka, H, Fujita, K, Iguchi, M, Kohri, K (2001). "Effects of eicosapentaenoic acid on urinary calcium excretion in calcium stone formers." Eur Urol **39**(5): 580-585.
- Yokoyama, M, Origasa, H, Matsuzaki, M, Matsuzawa, Y, Saito, Y, Ishikawa, Y, Oikawa, S, Sasaki, J, Hishida, H, Itakura, H, Kita, T, Kitabatake, A, Nakaya, N, Sakata, T, Shimada, K, Shirato, K (2007). "Effects of eicosapentaenoic acid on major coronary events in hypercholesterolaemic patients (JELIS): a randomised open-label, blinded endpoint analysis." Lancet **369**(9567): 1090-1098.
- Zalloua, PA, Hsu, YH, Terwedow, H, Zang, T, Wu, D, Tang, G, Li, Z, Hong, X, Azar, ST, Wang, B, Bouxsein, ML, Brain, J, Cummings, SR, Rosen, CJ, Xu, X (2007). "Impact of seafood and fruit consumption on bone mineral density." Maturitas **56**(1): 1-11.
- Zernicke, RF, Salem, GJ, Barnard, RJ, Schramm, E (1995). "Long-term, high-fat-sucrose diet alters rat femoral neck and vertebral morphology, bone mineral content, and mechanical properties." Bone **16**(1): 25-31.
- Zhang, J, Sasaki, S, Amano, K, Kesteloot, H (1999). "Fish consumption and mortality from all causes, ischemic heart disease, and stroke: an ecological study." Prev Med **28**(5): 520-529.

## **8 DANKSAGUNG**

Ich bedanke mich herzlich bei Frau Professor Dr. Dr. U. Beisiegel für die Überlassung des Themas dieser Dissertation sowie für die Bereitstellung der finanziellen und technischen Mittel und für die engagierte Betreuung während der Arbeit.

Ein besonderer Dank gilt auch meinen beiden Betreuern PD Dr. Andreas Niemeier und Dr. Klaus Tödter, die mich zu allen Phasen der Arbeit mit ihrem fachkundigem Rat unterstützt haben.

Vielen Dank nach Umeå, Schweden, an Magnus Högström, Peter Nordström und Anna Nordström für die Überlassung der Blutproben und der Knochendichtemesswerte sowie der freundlichen Beratung und Beantwortung meiner Fragen.

Herzlichen Dank an Eik Vettorazzi vom Institut für Medizinische Biometrie und Epidemiologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, für die statistische Beratung.

Ich möchte mich auch bei allen Mitarbeitern des Instituts für Biochemie und Molekularbiologie II, Molekulare Zellbiologie des Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf für die angenehme Arbeitsatmosphäre bedanken. Besonders danke ich Michaela Vossen ihre geduldige und uneigennützigte Hilfestellung.

Weiter danke ich meinen Eltern sowie Melanie Benthe und Holger Cebulla, durch deren Unterstützung und Zuspruch diese Arbeit erst ermöglicht wurde.

## **09 LEBENSLAUF**

Entfällt aus datenschutzrechtlichen Gründen.

## **10 EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG**

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe. Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.