

DIPLOMARBEIT

Titel der Diplomarbeit

Polymorphismen des Vitamin D-Rezeptors,
seine Konsequenzen für den Knochenstoffwechsel
und mögliche Ernährungsfaktoren

angestrebter akademischer Grad

Magistra der Naturwissenschaften (Mag.rer.nat.)

Verfasserin:	Katharina Landl
Matrikel-Nummer:	0105744
Studienrichtung:	Ernährungswissenschaften
Betreuer:	Univ.-Prof. Dr. Jürgen König

Wien, im Februar 2010

DANKSAGUNG

Müde macht uns die Arbeit, die wir liegenlassen, nicht die, die wir tun.

(Marie von Ebner-Eschenbach)

Dass diese Arbeit nun getan und nicht länger liegengelassen wurde, dazu haben sehr viele Menschen auf unterschiedliche Art und Weise beigetragen, denen ich an dieser Stelle danken möchte.

Ein herzliches Dankeschön möchte ich Herrn Univ.-Prof. Dr. Jürgen König für die Betreuung meiner Diplomarbeit aussprechen.

Ganz besonderer Dank gebührt meinen Eltern, die mich in meinem Handeln immer unterstützt haben, und ohne deren Hilfe und Rückhalt die Fertigstellung dieser Arbeit nicht mit derartiger Intensität und Effizienz möglich gewesen wäre.

Eine unverzichtbare Stütze war mir außerdem meine Schwester, die zu jeder Tages- und Nachtzeit ein offenes Ohr für mich hatte. Bei ihr möchte ich mich vor allem für ihre Geduld und die unermüdliche Motivationsarbeit bedanken, die sie geleistet hat.

Zu guter Letzt möchte ich noch meinen Freunden und all den lieben Menschen danken, die mich während dieser anstrengenden, intensiven Zeit ein Stück meines Weges begleitet und immer wieder für Spaß und erholsame Pausen gesorgt haben.

DANKE

Kurzfassung

Die Zahl der Menschen, die an Osteoporose leiden, nimmt ständig zu. Derzeit leben in Österreich etwa 740.000 Menschen im Alter von über 50 Jahren mit einer Osteoporoseerkrankung. Dies stellt nicht nur ein großes gesundheitliches, sondern aufgrund der verursachten Kosten auch ein wirtschaftliches Problem dar. Viele verschiedene Faktoren tragen zur Entstehung des klinischen Bildes der Osteoporose bei, nämlich verringerte Knochenmasse, poröse Knochenstruktur und daraus resultierende Knochenfrakturen. Einer dieser Faktoren ist die Genetik. Die Knochendichte kann möglicherweise durch die kombinierten Effekte verschiedener Gene, gelegentlich aber auch aufgrund einer Mutation eines einzelnen Gens beeinflusst werden. Vitamin D spielt eine Schlüsselrolle bei der Regulierung der Calciumhomöostase und des Knochenstoffwechsels. Es übt seine Wirkung auf den Knochenmetabolismus durch Regulation der Genexpression aus, vermittelt durch den Vitamin D-Rezeptor (VDR), der als ligandenaktivierter, regulatorischer Transkriptionsfaktor fungiert. Daher ist es naheliegend, eine Verbindung zwischen den Genvarianten des Vitamin D-Rezeptors und dem Risiko für Osteoporose zu vermuten. Nach der Aufklärung der genomischen Struktur des VDR-Gens 1997 wurden zahlreiche Studien über die Assoziation der häufigsten VDR-Genpolymorphismen – ApaI, BsmI, TaqI, FokI, Cdx2, poly(A) – mit Osteoporose veröffentlicht. Die Ergebnisse dieser Studien sind allerdings sehr widersprüchlich und aufgrund der heterogenen Studienpopulationen auch schwer miteinander zu vergleichen. Verschiedene ethnische Gruppen unterscheiden sich außerdem sehr stark hinsichtlich der Häufigkeit bestimmter Allele, Genotypen und Haplotypen. Und auch die Interaktion des VDR-Gens mit anderen Genen und Umweltfaktoren beeinflusst möglicherweise das Risiko an Osteoporose zu erkranken und erschwert die Interpretation vorliegender Studienergebnisse.

Dennoch liefern viele der Studien starke Hinweise darauf, dass VDR-Genvarianten einen Einfluss auf bestimmte Merkmale der Osteoporose und anderer Krankheiten, wie Prostata-, Brustkrebs oder Diabetes mellitus ausüben, und dass weiterführende Forschung notwendig ist, um neue Ansätze für Prävention und Behandlung dieser Krankheiten zu finden.

Abstract

The number of people suffering from osteoporosis is constantly increasing. Currently around 740.000 people are affected by this disease in Austria. This fact is not only a matter of health but also a matter of economy, because osteoporosis is causing tremendous costs.

Many different factors contribute to the development of the clinical outcome of osteoporosis, which consists of low bone mass and porous bone structure resulting in fractures. One of these factors is genetics. The bone mass density is possibly modified by combined effects of several genes or occasionally due to a mutation of one single gene. Vitamin D is essential for modulating calcium homeostasis and bone metabolism. The vitamin D receptor functions as ligand-activated, regulatory transcription factor and mediates the vitamin D dependent regulation of gene expression. Therefore, the vitamin D receptor gene and its polymorphisms are supposed to influence the risk of osteoporosis.

In 1997 the genomic structure of the VDR gene was decoded. Many publications about the association between the most important VDR gene polymorphisms – ApaI, BsmI, TaqI, FokI, Cdx2, poly(A) – and the outcome of osteoporosis followed. The conflicting results of these studies are difficult to interpret due to the heterogeneity of the participants. The frequency of alleles, genotypes and haplotypes differs significantly among different ethnic populations. Gene-gene-interactions as well as gene-environment-interactions probably influence the risk of suffering from osteoporosis and make it hard to interpret the results of available studies.

Nevertheless many studies suggest a strong association between VDR gene polymorphisms and some endpoints of osteoporosis and other diseases like prostate cancer, breast cancer or diabetes. Further research will be required to find new approaches to prevent and treat those diseases.

Inhaltsverzeichnis

KURZFASSUNG	I
ABSTRACT	II
INHALTSVERZEICHNIS	III
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	VI
TABELLENVERZEICHNIS	VIII
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	IX
1 EINLEITUNG UND FRAGESTELLUNG	1
2 VITAMIN D-METABOLISMUS	3
2.1 Biosynthese von 1,25-Dihydroxy-Cholecalciferol	3
2.2 Wirkungsmechanismen von 1,25-Dihydroxy-Cholecalciferol	4
2.2.1 Genomischer Mechanismus	5
2.2.2 Nicht-genomischer Mechanismus	5
2.3 Biologische Wirksamkeit von 1,25-Dihydroxy-Cholecalciferol	6
2.3.1 Funktionen von 1,25(OH) ₂ D ₃ in klassischen Zielgeweben	6
2.3.2 Funktionen von 1,25(OH) ₂ D ₃ in nicht-klassischen Zielgeweben	9
3 STRUKTUR UND FUNKTION DES VITAMIN D-REZEPTORS	13
3.1 Struktur nukleärer Rezeptoren	13
3.1.1 N-terminale Region	14
3.1.2 DNA-Bindungsdomäne	14
3.1.3 Hinge-Region	15
3.1.4 Ligandenbindungsdomäne	16
3.1.5 C-terminale Region	17

3.2	Hormone Response Elements	17
3.3	Prinzip der Signaltransduktion durch nukleäre Rezeptoren	19
3.4	Struktur des Vitamin D-Rezeptors	20
3.4.1	N-terminale Region	21
3.4.2	DNA-Bindungsdomäne	21
3.4.3	Hinge-Region	21
3.4.4	Ligandenbindungsdomäne	22
3.5	Signalübertragung durch den Vitamin D-Rezeptor	25
3.5.1	Genomische Wirkungsweise des Vitamin D-Rezeptors	25
3.5.2	Kofaktoren	26
3.5.3	Zielgene des Vitamin D-Rezeptors	29
4	VDR-GEN: LOKALISATION UND STRUKTURELLE ORGANISATION	31
5	POLYMORPHISMEN DES VITAMIN D-REZEPTOR-GENS	34
5.1	Bestimmung der VDR-Genpolymorphismen	34
5.1.1	Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP)	35
5.2	Bedeutendste Polymorphismen des VDR-Gens	37
5.2.1	FokI-Polymorphismus	37
5.2.2	BsmI-, ApaI-, TaqI- und 3' UTR-Polymorphismen	37
5.2.3	Cdx2-Polymorphismus	38
5.3	Linkage Disequilibrium	39
6	PRÄVALENZ DER HÄUFIGSTEN VDR-GENPOLYMORPHISMEN IN UNTERSCHIEDLICHEN ETHNISCHEN BEVÖLKERUNGSGRUPPEN	41
7	OSTEOPOROSE	47
7.1	Klassifikation	47
7.1.1	Begriffsdefinition: Osteoporose	47
7.1.2	WHO-Kriterien für Osteoporose	48
7.1.3	Primäre und Sekundäre Osteoporose	48
7.2	Risikofaktoren	49
7.3	Epidemiologie der Osteoporose	49

	V
7.3.1 International	50
7.3.2 Österreich	52
7.4 Osteoporose und Genetik	53
8 ASSOZIATION DIVERSER VDR-GENPOLYMORPHISMEN MIT KNOCHENMETABOLISMUS UND OSTEOPOROSE	57
8.1 Erste Studie: Assoziation von VDR-Allelen mit Osteoporose	59
8.2 Frühkindliches Wachstum und Skelettgröße	59
8.3 Knochenmasse und Knochendichte	63
8.3.1 Faktoren Calciumaufnahme und Calciumabsorption	66
8.4 Knochenabbau	67
8.5 Osteoporotische Frakturen	67
8.6 Interaktion des VDR-Gens mit anderen Genen und Umweltfaktoren	69
8.7 GENOMOS-Projekt	70
9 WEITERE MIT VDR-GENPOLYMORPHISMEN ASSOZIIERTE ERKRANKUNGEN	73
9.1 Krebs	73
9.1.1 Prostatakrebs	73
9.1.2 Brustkrebs	74
9.1.3 Andere Malignome	75
9.2 Diabetes mellitus	75
9.3 Niereninsuffizienz und sekundärer Hyperparathyreoidismus	77
9.4 Andere Erkrankungen	78
10 SCHLUSSBETRACHTUNG	79
11 LITERATURVERZEICHNIS	81
CURRICULUM VITAE	114

Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1: VITAMIN D ₃ – SYNTHESE, AKTIVIERUNG UND KATABOLISMUS	4
ABBILDUNG 2: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DER ROLLE DES VITAMIN D-HORMONS UND DES PARATHORMONS (PTH) FÜR EINEN ANSTIEG DER PLASMA-CALCIUMKONZENTRATION	6
ABBILDUNG 3: REGULIERUNG DES EPITHELIALEN CALCIUMTRANSPORTS DURCH 1,25(OH) ₂ D ₃	7
ABBILDUNG 4: MODULARE STRUKTUR NUKLEÄRER REZEPTOREN	13
ABBILDUNG 5: HOCHAUFGELOSTE NMR-STRUKTUR DER DBD EINES ÖSTROGEN-REZEPTORS	14
ABBILDUNG 6: DNA-BINDUNGSDOMÄNE NUKLEÄRER REZEPTOREN	15
ABBILDUNG 7: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG VERSCHIEDENER KONFORMATIONSZUSTÄNDE VON NR-LBDS	16
ABBILDUNG 8: HORMONE RESPONSE ELEMENTS NUKLEÄRER REZEPTOREN	18
ABBILDUNG 9: LIGANDENABHÄNGIGE EXPRESSION VON GENEN DURCH NUKLEÄRE REZEPTOREN	19
ABBILDUNG 10: MODULARE STRUKTUR DES VITAMIN D-REZEPTORS	20
ABBILDUNG 11: KRISTALLSTRUKTUR VON 1,25(OH) ₂ D ₃ GEBUNDEN AN DIE LBD DES VDR	23
ABBILDUNG 12: INTRAMOLEKULARE INTERAKTIONEN VON HELIX 12 IM VITAMIN D-REZEPTOR	24
ABBILDUNG 13: ÜBER DEN VITAMIN D-REZEPTOR VERMITTELTER WIRKUNGS-MECHANISMUS VON 1,25 (OH) ₂ D ₃	25
ABBILDUNG 14: TEMPORALE BINDUNG VON KOAKTIVATOREN WÄHREND DER VDR-VERMITTELTEN TRANSKRIPTION	28
ABBILDUNG 15: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DER VDR-VERMITTELTEN REGULATION DER GENEXPRESSION	30
ABBILDUNG 16: STRUKTURELLE ORGANISATION DES MENSCHLICHEN VDR-GENS	31
ABBILDUNG 17: GENOMISCHE STRUKTUR DES VDR-COL2A1-LOKUS AUF CHROMOSOM 12Q13.1	32
ABBILDUNG 18: STRUKTUR DES VDR-GENS VON MAUS UND MENSCH	33
ABBILDUNG 19: EXON-INTRON-STRUKTUR DES VDR-GENS UND POSITION DER BEKANNTEN POLYMORPHISMEN	35
ABBILDUNG 20: PCR-RFLP-ANALYSE DER VDR-GENPOLYMORPHISMEN BSMI, FOKI UND TAQI	36
ABBILDUNG 21: STRUKTUR UND POSITION DER POLYMORPHISMEN IN DER 3'-UTR UND DIE HÄUFIGSTEN BSM-APA-TAQ-HAPLOTYPEN	38
ABBILDUNG 22: WELTWEITE HÄUFIGKEIT VON HÜFTFRAKTUREN ALS VERHÄLTNIS DER RATEN ZU DER BEI WEIßEN FRAUEN DESSELBEN ALTERS IN DEN USA	50

ABBILDUNG 23: PROJIZIERTE PRÄVALENZ VON OSTEOPOROSE UND/ODER NIEDRIGER KNOCHENDICHTE (LOW BONE MASS) BEI AMERIKANISCHEN FRAUEN UND MÄNNERN IM ALTER VON ÜBER 50 JAHREN	51
ABBILDUNG 24: SPITALSENTLASSUNGEN VON MÄNNLICHEN FÄLLEN MIT OSTEOPOROSE ALS HAUPT- ODER NEBENDIAGNOSE ALS ANTEIL AN ALLEN KRANKENHAUSENTLASSUNGEN NACH BUNDESLAND	52
ABBILDUNG 25: SPITALSENTLASSUNGEN VON WEIBLICHEN FÄLLEN MIT OSTEOPOROSE ALS HAUPT- ODER NEBENDIAGNOSE ALS ANTEIL AN ALLEN KRANKENHAUSENTLASSUNGEN NACH BUNDESLAND	53
ABBILDUNG 26: FUNKTIONELLE WIRKUNGEN VON VDR-GENPOLYMORPHISMEN AUF VERSCHIEDENEN EBENEN DER BIOLOGISCHEN ORGANISATION	58
ABBILDUNG 27: KÖRPERGEWICHT BRITISCHER FRAUEN IM ALTER VON EINEM JAHR	61

Tabellenverzeichnis

TABELLE 1: KOFAKTOREN, DIE MIT DEM VITAMIN D-REZEPTOR INTERAGIEREN	26
TABELLE 2: HÄUFIGKEIT VERSCHIEDENER VDR-GENPOLYMORPHISMEN IN DEN DREI WICHTIGSTEN ETHNISCHEN GRUPPEN	41
TABELLE 3: HÄUFIGKEIT VON ALLELEN UND GENOTYPEN (IN %) IN ZWEI VERSCHIEDENEN ETHNISCHEN GRUPPEN IM VERGLEICH ZU DATEN DES HAPMAP-PROJEKTES	43
TABELLE 4: HÄUFIGKEIT VON HAPLOTYPEN (IN %) IN ZWEI VERSCHIEDENEN ETHNISCHEN GRUPPEN IM VERGLEICH ZU DATEN DES HAPMAP-PROJEKTES	44
TABELLE 5: HÄUFIGKEIT VON ALLELEN IN DER BEVÖLKERUNG URUGUAYS	45
TABELLE 6: VERTEILUNG DER GENOTYPEN IN DER BEVÖLKERUNG URUGUAYS UND IN ANDEREN ETHNISCHEN GRUPPEN	46
TABELLE 7: WHO-DIAGNOSEKRITERIEN	48
TABELLE 8: RISIKOFAKTOREN FÜR OSTEOPOROSE	49
TABELLE 9: MERKMALE DER VERSUCHSPERSONEN	60
TABELLE 10: ANTHROPOMETRIE UND BSMI-RFLP BEI KINDERN IM ALTER VON ZEHN MONATEN BZW. ZWEI JAHREN	62
TABELLE 11: GRUNDLEGENDE CHARAKTERISTIKA VON 124 OSTEOPOROTISCHEN FRAUEN	64
TABELLE 12: ALTER, BMI UND BMD VON 96 PATIENTEN UNTER 75 JAHREN	65
TABELLE 13: STUDIEN ÜBER DIE ASSOZIATION VON VDR-GENPOLYMORPHISMEN MIT FRAKTURRISIKEN	68
TABELLE 14: VERGLEICH DER BMD-WERTE FÜR DIE VDR-GENOTYPEN VON CDX2 UND FOKI	71

Abkürzungsverzeichnis

1,25(OH) ₂ D ₃	1,25-Dihydroxy-Cholecalciferol (Calcitriol)
25(OH)D ₃	25-Hydroxy-Cholecalciferol
A	Adenin
AF-1	Aktivierungsfunktion 1
AF-2	Aktivierungsfunktion 2
AR	Androgenrezeptor
BMD	bone mineral density
BMI	Body-Mass-Index
C	Cytosin
CA II	carbonic anhydrase II
cAMP	cyclic adenosine monophosphate
CBP	cAMP response element binding protein
CaBP	calcium binding protein
CaT1	Calciumkanal
CaT2	Calciumkanal
CD4	cluster of differentiation 4
cGMP	cyclic guanosine monophosphate
COL1A1	Typ-I-Kollagen-alpha-1
COL2A1	Typ-II-Kollagen-alpha-1
CTE	C-terminal extension
CYP27	Vitamin D ₃ -25-Hydroxylase
CYP1α	Vitamin D ₃ -1α-Hydroxylase
CYP24	25-Hydroxy-Vitamin D ₃ -24-Hydroxylase

X

D-Box	Distale Box
DBD	DNA-Bindungsdomäne
DM	Diabetes mellitus
DNA	deoxyribonucleic acid
DRIP	VDR-interacting Proteins
ECaC1	Calciumkanal
ECaC2	Calciumkanal
EGF-R	epidermal growth factor receptor
ER	Estrogen- bzw. Östrogenrezeptor
ER α	Estrogenrezeptor alpha
ESR1	Estrogenrezeptor 1
FISH	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
G	Guanin
Glu	Glutamat
GM-CSF	granulocyte macrophage colony-stimulating factor
GR	Glukokortikoidrezeptor
GWAS	genome-wide association scan
HAT	Histon-Acetyl-Transferase
HDAC7	Histondeacetylase 7
HRE	hormone response elements
IFN- γ	Gamma-Interferon
IGFBP	insulin-like growth factor binding protein
IL	Interleukin
KO-Mäuse	Knock-out-Mäuse
kb	Kilobasen
LBD	Ligandenbindungsdomäne

LBP	ligand binding pocket
LD	Linkage Disequilibrium
Leu	Leucin
MAP	mitogen activated protein
MARRS	membrane associated rapid response steroid binding proteins
NCoA	nuclear receptor coactivator
NCoR	nuclear receptor corepressor
NCX1	Natrium-Calcium-Austauscher
NF-AT	nuclear factor of activated T cells
NF- κ B	nuclear factor κ B
NMR	nuclear magnetic resonance
NR	Nukleärer Rezeptor
P-Box	Proximale Box
pCAF	p300/CBP-associated factor
PFK	Phosphofruktokinase
PIC	Präinitiationskomplex
PKC	Proteinkinase C
PLC	Phospholipase C
PMCA1b	Plasmamembran-Calcium-ATPase
PR	Progesteronrezeptor
PTH	parathyroid hormone
PTHrP	parathyroid hormone related protein
QTL	Quantitative Trait Locus
RANKL	receptor activator of NF- κ B ligand
RAR	Retinsäurerezeptor
RE	response element

RFLP	restriction fragment length polymorphism
RXR	Retinoid-X-Rezeptor
SCP	start codon polymorphism
SENP1	septrin/SUMO specific protease
SFR	structure-function-relationship
sHPT	sekundärer Hyperparathyreoidismus
SKIP	ski-interacting protein
SNP	single nucleotide polymorphism
SRC	steroid receptor coactivator
T	Thymin
T ₃ R	Thyroidhormonrezeptor
Th1	T-Helferzellen Typ 1
Th2	T-Helferzellen Typ 2
TNF- α	Tumornekrosefaktor Alpha
TRAP	thyroid receptor activating protein
TRPV5	Calciumkanal
TRPV6	Calciumkanal
UTR	untranslated region
VATPase	vacuolar ATPase
VDR	Vitamin D-Rezeptor
VDRE	vitamin D responsive element
VNTR	variable number of tandem repeats
wt	wild type

1 Einleitung und Fragestellung

Auf 9,0 Millionen wurde im Jahr 2000 die Zahl der weltweit durch Osteoporose erlittenen Frakturen geschätzt. In den USA litten im Jahr 2002 7,8 Millionen Frauen und 2,3 Millionen Männer an Osteoporose, und bis zum Jahr 2020 wird die Zahl der Betroffenen etwa auf 10,5 bzw. 3,3 Millionen ansteigen. Allein in Österreich schätzt man die Zahl der Betroffenen derzeit auf etwa 740.000 Menschen über 50 Jahren.

Diese Zahlen zeigen ganz deutlich, dass diese Erkrankung weltweit nicht nur ein schwerwiegendes gesundheitliches, sondern aufgrund der verursachten Kosten auch ein wirtschaftliches Problem darstellt.

Osteoporose zeichnet sich durch verringerte Knochenmasse, poröse Knochenstruktur und daraus resultierende Knochenbrüche aus. Sie wird zu den so genannten komplexen Krankheiten gezählt, was bedeutet, dass viele verschiedene Faktoren zur Entstehung dieser Erkrankung führen. In vielen Studien wurde den genetischen Ursachen eine besondere Bedeutung in Bezug auf die Varianz der Knochenmasse zugeschrieben. Eine niedrige Knochendichte resultiert häufig aus kombinierten Effekten verschiedener Gene und ihrer Interaktion mit Umweltfaktoren, gelegentlich aber auch aus der Mutation eines einzelnen Gens.

In Betracht kommen dafür hauptsächlich Gene, die bei der Regulierung des Knochenmetabolismus eine Rolle spielen, wie z.B. die Gene der Sexualhormone und ihrer Rezeptoren, der calciumregulierenden Hormone, der Wachstumsfaktoren und des Kollagens.

Vitamin D ist besonders wichtig für die Regulation der Calciumhomöostase und somit für den Knochenmetabolismus. Da es seine Wirkung vor allem über einen genomischen Mechanismus durch die Bindung an den Vitamin D-Rezeptor in seinen Zielorganen ausübt, rückte der Vitamin D-Rezeptor früh in den Mittelpunkt des Interesses bei der Suche nach den möglichen genetischen Ursachen für Osteoporose.

Diese Arbeit soll zuerst einen kurzen Überblick über den Vitamin D-Metabolismus und die Struktur und Funktionsweise des Vitamin D-Rezeptors geben. Im Anschluss folgt eine Beschreibung der Lokalisierung des Vitamin D-Rezeptor-Gens und seiner

strukturellen Organisation. Danach wird auf die bis heute am häufigsten beschriebenen und untersuchten Polymorphismen dieses Gens und ihre unterschiedliche Prävalenz in verschiedenen ethnischen Bevölkerungsgruppen eingegangen.

Nach einer Erläuterung des Krankheitsbildes, der Ursachen und der Epidemiologie der Osteoporose liefert die Arbeit dann eine Übersicht über die Assoziationen diverser Genpolymorphismen des Vitamin D-Rezeptors mit dieser Krankheit.

Da sich die Wirkungen von Vitamin D aber nicht nur auf den Knochenmetabolismus beschränken und der Vitamin D-Rezeptor in über 30 verschiedenen Geweben des menschlichen Körpers vorkommt, wird abschließend auch kurz der mögliche Zusammenhang zwischen Genvarianten des Vitamin D-Rezeptors und anderen Erkrankungen beschrieben.

2 Vitamin D-Metabolismus

Als Vitamin D wird eine Gruppe von Verbindungen bezeichnet, deren wichtigste Vertreter das synthetische Ergocalciferol (Vitamin D₂) und Cholecalciferol (Vitamin D₃) sind. Vitamin D kann einerseits über die Nahrung aufgenommen werden, wobei es nur sehr wenige natürliche Nahrungsquellen mit nennenswerten Mengen an Vitamin D₂ und Vitamin D₃ gibt. Viele Lebensmittel sind heutzutage aber auch angereichert mit Vitamin D. Andererseits kann Vitamin D auch bei Sonnenexposition in der Haut erzeugt werden.

Durch das UV-Licht kommt es zur Photolyse von 7-Dehydrocholesterol. Es entsteht Provitamin D₃, das durch eine thermische Isomerisierung zu Cholecalciferol umgewandelt wird (vgl. Abbildung 1). Der physiologisch wirksame Metabolit des Vitamin D ist das Steroidhormon 1,25-Dihydroxy-Cholecalciferol (Calcitriol) [DUSSO et al., 2005].

2.1 Biosynthese von 1,25-Dihydroxy-Cholecalciferol

Vitamin D₃ selbst ist biologisch inert und muss daher in seine physiologisch aktive Form umgewandelt werden [DELUCA, 2004]. Es wird, an ein Vitamin D-bindendes Protein (DBP) gebunden, über das Blut zur Leber transportiert und dort am C-25 hydroxyliert, was die Bildung von 25(OH)D₃ (25-Hydroxy-Vitamin D₃) zur Folge hat. 25(OH)D₃ wird über das DBP weitertransportiert zur Niere, wo es im proximalen Tubulus an der 1 α -Position zu 1,25(OH)₂D₃ hydroxyliert wird (vgl. Abbildung 1) [CHRISTAKOS et al., 2003].

Diese Reaktionen finden unter dem Einfluss zweier Cytochrom *P*-450 enthaltenden Enzyme statt, nämlich der Vitamin D₃-25-Hydroxylase (CYP27) in den Leberzellen und der 25-Hydroxy-Vitamin D₃-1 α -Hydroxylase (CYP1 α) in den Zellen des proximalen Tubulus [JONES et al., 1998].

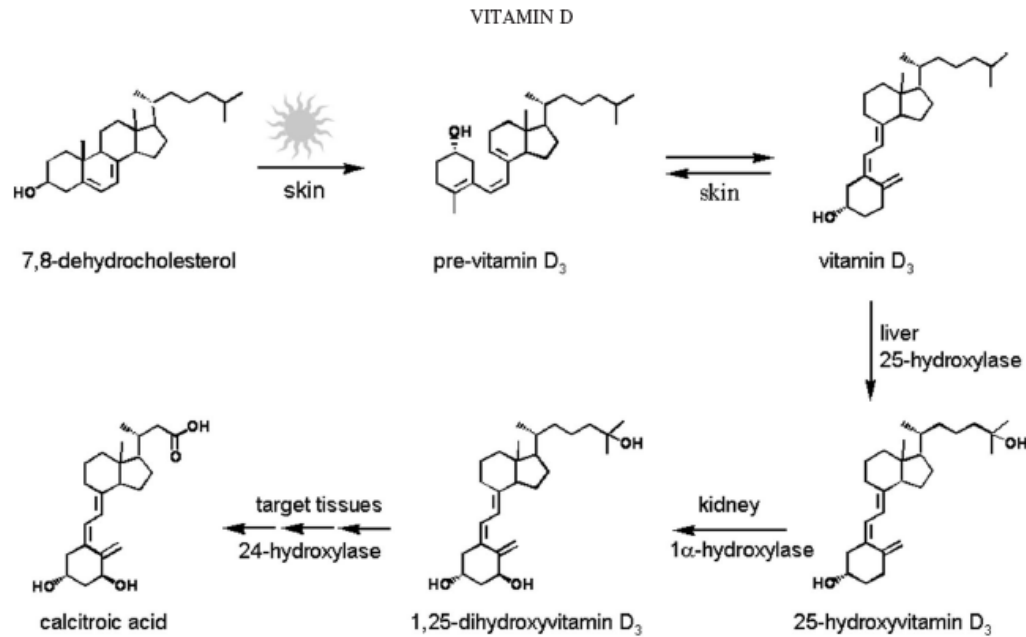


Abbildung 1: Vitamin D₃ – Synthese, Aktivierung und Katabolismus
[DUSSO et al., 2005]

Die 25-Hydroxyvitamin D₃-24-Hydroxylase (CYP 24), ein weiteres mitochondriales Cytochrom *P*-450 enthaltendes Enzym, spielt eine wichtige Rolle im Vitamin D-Katabolismus [JONES et al., 1998]. Dieses Enzym kann sowohl 25(OH)D₃ als auch 1,25(OH)₂D₃ an der Position 24 hydroxylieren [CHRISTAKOS et al., 2003].

Es ist im ganzen Körper verbreitet und katalysiert einige Schritte des Abbaus von 1,25(OH)₂D₃, auch als C-24 Oxidationsweg bekannt, der letztendlich mit der Bildung von Calcitronsäure endet (vgl. Abbildung 1) [JONES et al., 1998].

2.2 Wirkungsmechanismen von 1,25-Dihydroxy-Cholecalciferol

Man unterscheidet prinzipiell zwei verschiedene Mechanismen, über die 1,25(OH)₂D₃ seine Wirkung in den entsprechenden Zielgeweben ausübt.

2.2.1 Genomischer Mechanismus

Die meisten biologischen Aktivitäten von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ werden über den VDR (Vitamin D-Rezeptor), der zur Familie der Steroidhormonrezeptoren gehört, vermittelt. Wie auch die anderen Mitglieder dieser Rezeptorenfamilie fungiert der VDR als ligandenaktivierter Transkriptionsfaktor [BROWN et al., 1999].

Die Bindung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ an den VDR löst eine Kaskade von makromolekularen Interaktionen aus, die letztendlich zur Transkription spezifischer Gene führen [HAUSSLER et al., 1998; zitiert in SUTTON und MACDONALD, 2003].

2.2.2 Nicht-genomischer Mechanismus

$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ kann wie auch andere Steroidhormone Reaktionen hervorrufen, die schneller eintreten als es durch Änderung der Genexpression erklärbar wäre, und die durch Oberflächenrezeptoren vermittelt werden [DUSSO et al., 2005].

Die nicht-genomischen Wirkungen von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ umfassen zum Beispiel rasch auftretende Änderungen des Phosphatidylinositolzyklus [LIEBERHERR et al., 1989], Anstiege der intrazellulären Calciumkonzentration [MORELLI et al., 1993], eine sehr rasche Stimulierung des intestinalen Calciumtransportes [BROWN et al., 1999], das Anheben der Konzentration von zyklischem Guanosinmonophosphat (cGMP) [VESELY und JUAN, 1984; zitiert in DUSSO et al., 2005], die Aktivierung der Proteinkinase C (PKC) [SYLVIA et al., 1996; zitiert in DUSSO et al., 2005], die Stimulierung von mitogen-aktivierten Proteinkinasen (MAP Kinasen) [BENO et al., 1995] und das Öffnen von Chloridkanälen [ZANELLO und NORMAN, 1996].

Voraussichtlich sind zumindest zwei verschiedene Rezeptoren in diese nicht-genomischen Reaktionen eingebunden. Einerseits $1,25\text{D}_3\text{MARRS}$ (membrane associated rapid response steroid binding protein), das aus der intestinalen Basolateralmembran von Hühnern isoliert wurde, und andererseits vermutet man, dass auch der VDR eine wichtig Rolle bei diesen rasch eintretenden Wirkungen von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ spielt [KOCHUPILLAI, 2008].

2.3 Biologische Wirksamkeit von 1,25-Dihydroxy-Cholecalciferol

Die genomischen und nicht-genomischen Wirkungen von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ rufen eine Vielzahl von Reaktionen in einer ständig wachsenden Liste von Zielzellen hervor. Der VDR wurde in den klassischen Zielorganen für Vitamin D gefunden, dem Darm, den Knochen, der Niere und der Nebenschilddrüse. Der VDR kommt aber auch in Geweben vor, die nicht in die Calciumhomöostase eingebunden sind, wie der Haut, den Muskeln, der Bauchspeicheldrüse, den Fortpflanzungsorganen, den blutbildenden Organen, dem Immun- und dem Nervensystem [BERGER et al., 1988; zitiert in BROWN et al., 1999].

2.3.1 Funktionen von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in klassischen Zielgeweben

Das Vitamin D-Endokrinsystem hält durch seine Wirkung in Darm, Knochen, Nieren und Nebenschilddrüse die extrazelluläre Calciumkonzentration aufrecht (vgl. Abbildung 2). Das im proximalen Tubulus der Niere produzierte $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ induziert die intestinale Calciumaufnahme, regelt den Knochenumbau und unterdrückt die Wirkung des Parathormons (PTH) [BOYLE et al., 2003].

Diese vier Organe sind besonders wichtig für die Calciumhomöostase und somit die Hauptzielorgane für $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$.

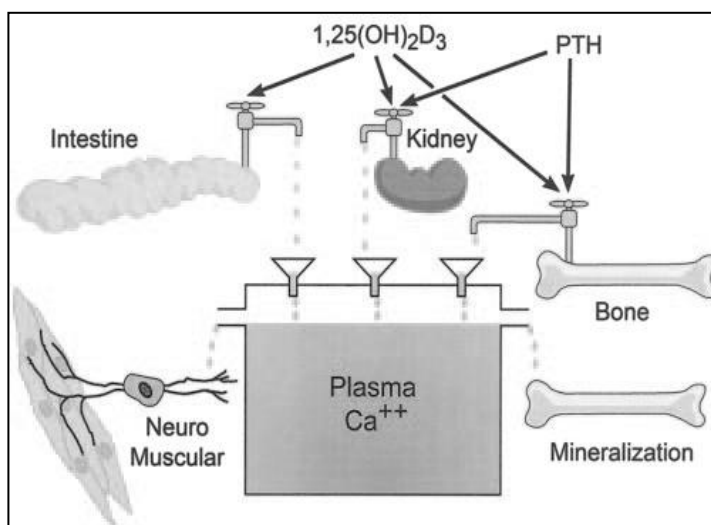


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Rolle des Vitamin D-Hormons und des Parathormons (PTH) für einen Anstieg der Plasmacalciumkonzentration [DELUCA, 2004]

Darm:

Die wichtigste Aufgabe von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ im Mineralstoffwechsel ist es, die Calcium- und Phosphatabsorption des Dünndarms zu verstärken [LI et al., 1998]. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ erhöht die Aufnahme von Calcium in die Enterozyten über die Plasmamembran, den Transport durch das Cytoplasma und den Transfer von Calcium über die Basolateralmembran in den Blutkreislauf [WASSERMAN und FULLMER, 1995].

Die Calciumaufnahme erfolgt über die Calciumkanäle TRPV6 (Transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 6, auch bekannt als CaT1 oder ECaC2) und TRPV5 (ECaC1). Das zytosolische calciumbindende Protein Calbindin D (CaBP) transportiert das Calcium durch die Zelle, und die Plasmamembran-Calcium-ATPase (PMCA1b) und der Natrium-Calcium-Austauscher (NCX1) sorgen für die Abgabe des Calciums an den Blutkreislauf (vgl. Abbildung 3) [DUSSO et al., 2005].

Neben der Calciumaufnahme verstärkt $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ im Darm auch den aktiven Transport von Phosphat. Es stimuliert die Expression des Natrium-Phosphat-Cotransporters [YAGCI et al., 1992] und verändert die Zusammensetzung der Enterozytenplasmamembran, was zu einer Zunahme des Fließvermögens und der Phosphataufnahme führt. [KURNIK und HRUSKA, 1985].

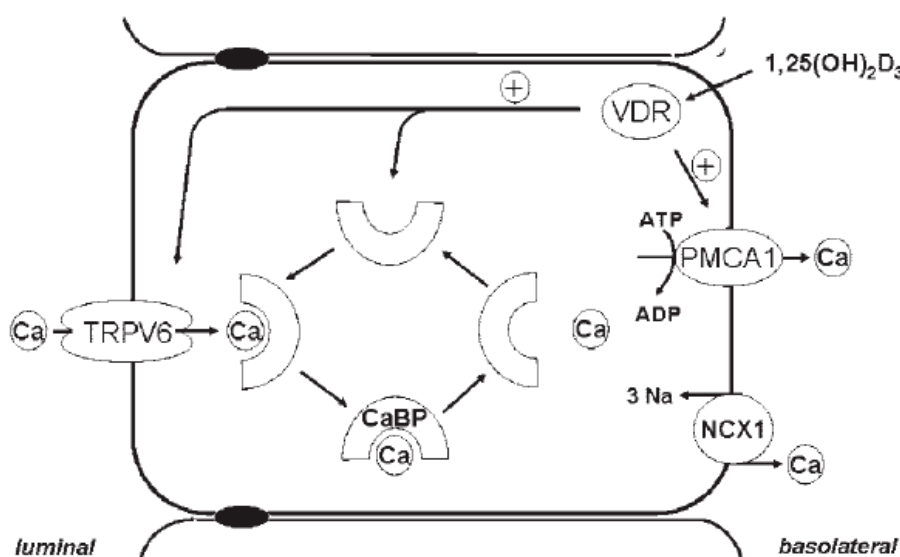


Abbildung 3: Regulierung des epithelialen Calciumtransports durch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ [DUSSO et al., 2005]

Knochen:

Um herauszufinden, ob $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ einen direkten Einfluss auf den Knochenbau hat oder nur indirekt über die erhöhte Calcium- und Phosphataufnahme im Darm wirkt, wurden Studien mit VDR-Knock-out-Mäusen (VDR-KO-Mäuse) durchgeführt [AMLING et al., 1999, LI et al., 1997, YOSHIZAWA et al., 1997].

Diese VDR-KO-Mäuse werden mit einem normalen Phänotyp geboren, entwickeln dann aber sekundären Hyperparathyreoidismus, Hypokalzämie und nach dem Abstillen auch Rachitis und Osteomalazie. Wenn diese VDR-KO-Mäuse mit einer Kost gefüttert werden, die besonders reich an Calcium, Phosphor und Laktose ist, normalisieren sich Calcium- und Parathormonkonzentration im Serum, und Rachitis und Osteomalazie werden unterbunden [AMLING et al., 1999].

In-vitro-Studien [TAKEDA et al., 1999, YASUDA et al., 1998] zeigten aber auch eine direkte Wirkung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ auf den Knochen, da $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ die Bildung der knochenabsorbierenden Osteoklasten stimuliert. Gestützt wird diese Aussage auch durch PANDA et al. (2004), die in einer Studie in vivo zu dem Ergebnis kamen, dass sowohl die optimale intestinale Calciumaufnahme als auch der maximale Anstieg der PTH-induzierten Osteoklastogenese und die Aufrechterhaltung der Osteoblastenbildung auf das $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ /VDR-System angewiesen zu sein scheinen [PANDA et al., 2004].

Nieren:

Die wichtigste Funktion von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in der Niere ist die strenge Kontrolle der eigenen Homöostase durch die gleichzeitige Unterdrückung der 25-Hydroxy-Vitamin D_3 -1 α -Hydroxylase und die Stimulierung der 25-Hydroxyvitamin D_3 -24-Hydroxylase. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ verstärkt auch die renale Calciumreabsorption und die Expression von Calbindin, und es beschleunigt den PTH-abhängigen Calciumtransport in den distalen Tubulus [DUSSO et al., 2005].

Ähnlich wie bei Untersuchungen im Darm wurde auch im distalen Tubulus ein apikaler Calciumkanal TRPV5 (ECaC1 oder CaT2) gefunden [HOENDEROP et al., 1999], der durch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ induziert wird [HOENDEROP et al., 2001].

Nebenschilddrüse:

Eine wichtige Funktion von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ist es, die Produktion des Preproparathyroid-Gens zu kontrollieren bzw. zu unterdrücken [JONES et al., 1998].

$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ verhindert außerdem die Proliferation der Nebenschilddrüsenzellen. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ist also nötig, um den Normalzustand der Nebenschilddrüse beizubehalten. Bei Patienten mit Niereninsuffizienz ist die Produktion von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ gestört und in der Nebenschilddrüse entsteht ein $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Mangel. Es kommt zu einer Hyperproliferation der Nebenschilddrüse und zu einer übermäßigen Sekretion von PTH, was sekundären Hyperparathyreoidismus zur Folge hat [SLATOPOLSKY et al., 2003, zitiert in DELUCA, 2004].

2.3.2 Funktionen von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in nicht-klassischen Zielgeweben

Zahlreiche Studien weisen darauf hin, dass $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ nicht nur eine wichtige Rolle in der Calciumhomöostase spielt, sondern auch zahlreiche wichtige Funktionen in den so genannten nicht-klassischen Zielgeweben übernimmt.

Unterdrückung des Zellwachstums:

ABE et al. machten 1981 bahnbrechende Beobachtungen, die darauf hinwiesen, dass $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ möglicherweise in der Behandlung von Leukämie und anderen myeloproliferativen Erkrankungen eingesetzt werden könnte. Sie entdeckten, dass $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ die Proliferation verschiedener menschlicher Leukämie-Zelllinien verhindert. Zugleich fördert es die Differenzierung von normalen und leukämischen myeloiden Vorläufern zu reiferen, weniger aggressiven Phänotypen [ABE et al., 1981].

Auf eine protektive Rolle von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ im Bezug auf Krebserkrankungen deuteten starke epidemiologische Zusammenhänge von Prostata-, Brust- und Dickdarmkrebs mit Vitamin D-Mangel hin. Dies wurde in Fall-Kontroll-Studien für Prostata- und Dickdarmkrebs auch bestätigt [ZITTERMANN, 2003]. Das $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ /VDR-System stoppt dabei den Krebszellzyklus durch verschiedene Mechanismen [DUSSO et al., 2005].

Modulation der Immunreaktionen:

Die Fähigkeit des Vitamin D-Endokrinsystems Infektionen, Autoimmunerkrankungen und die Verträglichkeit von Transplantaten zu beeinflussen, ist auf die prodifferenzierende Wirkung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ auf Monozyten/Makrophagen, antigenpräsentierende Zellen, dendritische Zellen und Lymphozyten zurückzuführen [DUSSO et al., 2005].

Die CD4-Zellen der T-Lymphozyten sind das bevorzugte Ziel von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Die zwei unterschiedlichen funktionellen Typen der CD4-Zellen werden als Th1 und Th2 bezeichnet. Die Th1-Zellen produzieren bevorzugt IL-2, IFN- γ und TNF- α und stimulieren das zelluläre Immunsystem. Th2-Zellen sezernieren hauptsächlich IL-4 und IL-10 und hemmen die Wirkung der Th1-Zellen, die die Haupteffektorzellen bei einer Vielzahl von Autoimmunerkrankungen und bei Organabstoßung darstellen [LIBLAU et al., 1995]. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ hemmt die Th1-Zellen und somit auch die Produktion der Th1-Zytokine IL-2, IFN- γ und TNF- α [LEMIRE und ARCHER, 1991] und fördert die Produktion von IL-4 [CANTORNA et al., 1998]. Weiters verhindert $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ die Differenzierung und das Überleben von dendritischen Zellen, was eine verminderte alloreaktive T-Zellen-Aktivierung zur Folge hat [PENNA und ADORINI, 2000].

HAYES et al. weisen in einem Review auf Studien hin, die zeigen, dass $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ den Krankheitsausbruch von experimenteller autoimmuner Enzephalomyelitis (EAE), Thyreoiditis (Schilddrüsenentzündung), insulinabhängigem Diabetes mellitus, entzündlichen Darmerkrankungen, systemischem Lupus erythematoses sowie von kollageninduzierter Arthritis und Lyme-Arthritis verhindert [HAYES et al., 2003].

Funktionen in der Haut:

Bereits in den 30er Jahren behandelte man verschiedene Hautkrankheiten, unter anderen auch Psoriasis, mit Vitamin D. Aber erst in den 80er Jahren wurde das Potential von Vitamin D für den therapeutischen Einsatz bei Hautkrankheiten wiederentdeckt. Bei einem Patienten mit schwerer Osteoporose, dem 1α -Hydroxyvitamin D_3 oral verabreicht wurde, stellte man immense Verbesserungen der psoriatischen Läsionen fest [MORIMOTO und KUMAHARA, 1985; zitiert in DUSSO et al., 2005].

Die Ursache dafür liegt möglicherweise in der antiproliferativen und prodifferenzierenden Wirkung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in Keratinozyten, Melanozyten und

Fibroblasten [CORDERO et al., 2002]. Es könnten aber auch die immunsuppressiven Eigenschaften von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ auf die Langerhans-Zellen, die antigenpräsentierenden Zellen der Epidermis, für die Wirksamkeit bei der Behandlung von Psoriasis, Melanomen und Sklerodermie verantwortlich sein [DUSSO et al., 2005].

Der $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ /VDR-Komplex ist aber auch für die normale Entwicklung von Haaren und Haut essenziell [LI et al., 1998].

Kontrolle des Renin-Angiotensin-Systems:

Das Renin-Angiotensin-System nimmt eine zentrale Rolle bei der Regulation des Blutdrucks, des Elektrolythaushaltes und des Blutvolumens ein. Man nimmt an, dass ein Zusammenhang besteht zwischen zu geringer Sonnenexposition bzw. niedrigem Serumlevel an $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ und hohem Blutdruck und/oder hoher Plasma-Renin-Aktivität. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ wirkt als negativer endokriner Regulator des Renin-Angiotensin-Systems. In VDR-KO-Mäusen waren die Reninexpression und die Produktion von Plasma-Angiotensin-2 deutlich erhöht, was zu Hypertonie, kardialer Hypertrophie und vermehrter Wasseraufnahme führte [LI et al., 2002].

Kontrolle der Insulinsekretion:

Bei Tierversuchen wurde ein Zusammenhang zwischen Vitamin D-Mangel und einem früheren und aggressiveren Ausbruch von Diabetes mellitus festgestellt. Verbunden war dies auch mit Abnormitäten der Immunfunktion und einer Störung der glucosevermittelten Insulinsekretion, die durch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -Sättigung behoben werden kann [CHERTOW et al., 1983; zitiert in DUSSO et al., 2005].

Außerdem kontrolliert $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ durch eine VDR-vermittelte Calbindin-Expression den intrazellulären Einstrom von Calcium in die Inselzellen, was wiederum die Insulinfreisetzung beeinflusst [CHRISTAKOS et al., 1979; zitiert in BROWN et al., 1999].

Kontrolle der Muskelfunktion:

Vitamin D-Mangel kann Schwäche und Atrophie der Skelettmuskeln, begleitet von elektrophysiologischen Abnormitäten der Muskelkontraktion und -relaxation, zur Folge

haben. Diese Defekte wurden ursprünglich auf einen zu niedrigen Calciumspiegel zurückgeführt, aber Studien mit VDR-KO-Mäusen bewiesen, dass auch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ eine direkte Wirkung auf Wachstum und Differenzierung des Skelettmuskels ausübt [ENDO et al., 2003].

Im Herzen führt Vitamin D-Mangel zu Kardiomegalie, wohingegen $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ die Hypertrophie der Herzmuskelzellen kontrolliert [WU et al., 1996].

Bei terminaler Niereninsuffizienz verbessert die Therapie mit $25(\text{OH})\text{D}_3$ oder $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sowohl die linksventrikuläre Funktion bei Patienten mit Kardiomyopathie als auch die Schwäche der Skelettmuskeln [SELLES et al., 1997].

Funktionen in weiteren nicht-klassischen Zielgeweben:

$1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ übt noch in vielen weiteren nicht-klassischen Zielgeweben eine große Bandbreite an biologischen Wirkungen aus. Zu diesen Geweben zählen neben den bereits näher beschriebenen auch die hämatopoetischen Organe (Thymus, Milz, Knochenmark), die Nebennieren, das Gehirn, die Hypophyse, das Nervensystem, das Knorpelgewebe, die weiblichen und männlichen Reproduktionsorgane, die Leber, die Lunge und die Schilddrüse. Die Funktionen von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in diesen Geweben umfassen die Kontrolle von Wachstum und Differenzierung von normalen Zellen und Krebszellen, die Modulierung der Hormonsekretion endokriner Drüsen, die Regulierung der reproduktiven Funktion und den Schutz spezifischer Neuronen vor degenerativen Prozessen [BROWN et al., 1999].

3 Struktur und Funktion des Vitamin D-Rezeptors

Wie andere Hormone auch, wirkt $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ durch die Regulation der Genexpression [JONES et al., 1998]. Dies wird durch den Vitamin D-Rezeptor vermittelt, der zur Familie der nukleären Rezeptoren gehört und als ligandenaktivierter, regulatorischer Transkriptionsfaktor fungiert [BROWN et al., 1999].

3.1 Struktur nukleärer Rezeptoren

Nukleäre Hormonrezeptoren, einschließlich des VDR, weisen eine modulare Struktur, bestehend aus sechs funktionellen Domänen (A-F), auf (vgl. Abbildung 4). Dazu gehören eine sehr variable N-terminale Region (A/B), eine meist hochkonservierte DNA-Bindungsdomäne (C), eine variable Hinge-Region (D), eine mäßig konservierte Ligandenbindungsdomäne (E) und eine variable C-terminale Region (F) [MANGELSDORF et al., 1995].

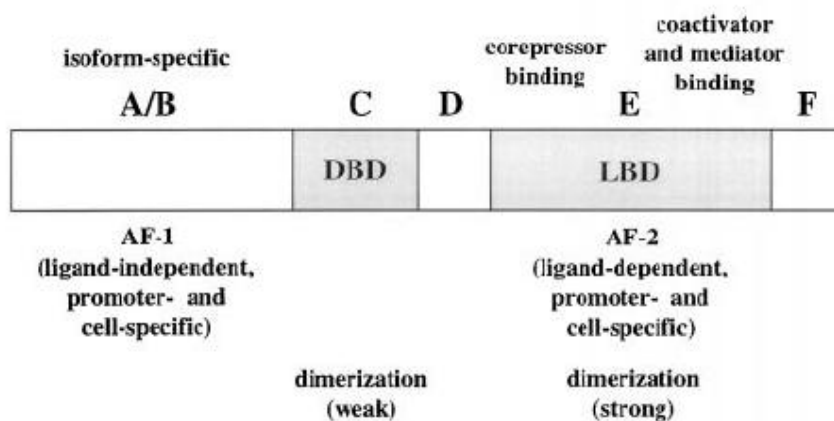


Abbildung 4: Modulare Struktur nukleärer Rezeptoren [RENAUD und MORAS, 2000]

3.1.1 N-terminale Region

Die N-terminale Region (A/B) ist hochvariabel und beinhaltet eine autonome transkriptionelle Aktivierungsfunktion (AF-1). Die AF-1-Region ist an der ligandenunabhängigen Aktivierung des Rezeptors durch Phosphorylierung beteiligt. A/B-Domänen variieren in der Länge von weniger als 50 bis zu mehr als 500 Aminosäuren [TREMBLAY et al., 1999].

3.1.2 DNA-Bindungsdomäne

Die DBD (C) ist hochkonserviert und weist eine Länge von etwa 66-70 Aminosäuren auf. Sie erkennt über zwei Zinkfinger so genannte response elements (RE) in der Promotorregion von Zielgenen [RENAUD und MORAS, 2000]. Über diese zwei Zinkfinger, in denen jeweils vier Cysteinreste ein Zink-Ion (Zn^{2+}) komplexieren, bindet der Rezeptor an die DNA [FREEDMAN et al., 1988].

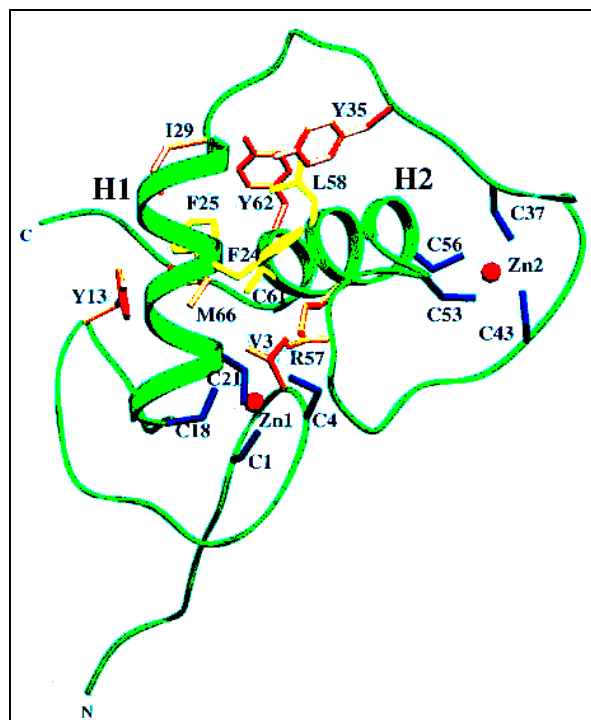


Abbildung 5: Hochauflöste NMR-Struktur der DBD eines Östrogenrezeptors [RENAUD und MORAS, 2000]

Jedes der beiden Zinkfinger motive enthält eine amphipatische α -Helix. Die beiden Helices stehen senkrecht zueinander und werden durch hydrophobe Seitenketten fixiert (vgl. Abbildung 5).

Das Zinkfingermotiv 1 mit der N-terminalen Helix wird als Proximale Box (P-Box) bezeichnet. Sie ist verantwortlich für die Selektion spezifischer Response-Elemente der DNA. Das Motiv 2 bildet die Distale Box (D-Box), die an der Dimerisierung von Rezeptoren beteiligt ist. An das 2. Motiv schließt sich dann noch die C-terminale Extension (CTE) an, die für die Dimerisierung auf der DNA und das Erkennen von Adenin-Thymidin-Bereichen der Response-Elemente benötigt wird (vgl. Abbildung 6) [RENAUD und MORAS, 2000].

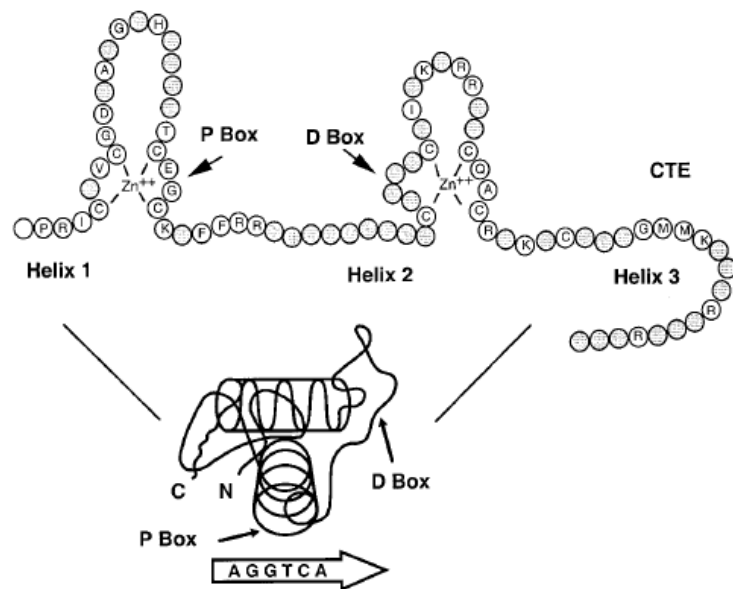


Abbildung 6: DNA-Bindungsdomäne nukleärer Rezeptoren
[ARANDA und PASCUAL, 2001]

3.1.3 Hinge-Region

Die Hinge-Region (D) verhält sich wie ein flexibles Gelenk zwischen den Domänen C und E und variiert stark in Länge und Sequenz. Sie beinhaltet Kernlokalisierungssignale (nuclear localization signals, NLS) [ROBINSON-RECHAVI et al., 2003].

3.1.4 Ligandenbindungsdomäne

Die mäßig konservierte LBD (E) ist die größte Domäne und besteht aus etwa 250 hauptsächlich hydrophoben Aminosäuren [MORAS und GRONEMEYER, 1998].

Sie umfasst eine transkriptionelle Aktivierungsfunktion 2 (AF-2), die für die ligandenabhängige Transkription verantwortlich ist. Die LBD stellt somit jenen Bereich des Rezeptors dar, an den der Ligand bindet, und sie beinhaltet auch Bindungsstellen für die Interaktion mit Homo- bzw. Heterodimerisierungspartnern und Kofaktoren [STEINMETZ et al., 2001].

Die Struktur der LBD von nukleären Rezeptoren wird in Abbildung 7 am Beispiel des apo (= ohne Ligand) RXR (vgl. Abbildung 7a) und des holo (= gebunden an einen Agonisten) RAR (vgl. Abbildung 7b) dargestellt [BOURGUET et al., 2000].

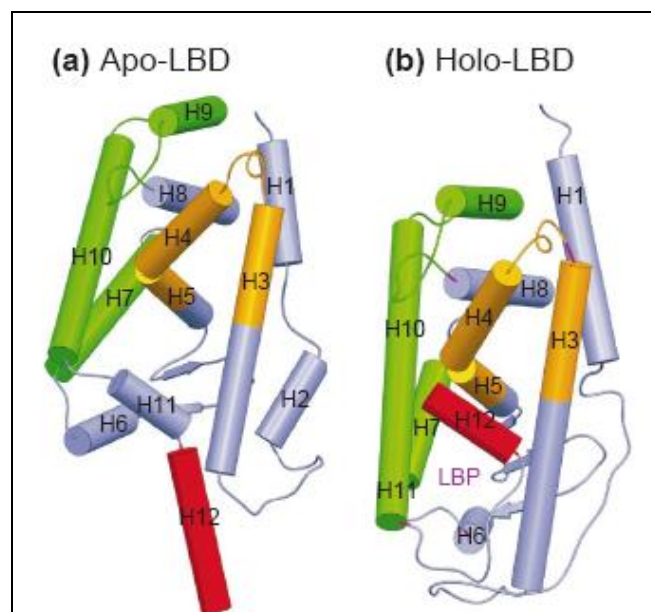


Abbildung 7: Schematische Darstellung verschiedener Konformationszustände von NR-LBDs [modifiziert nach BOURGUET et al., 2000]

Die LBD der meisten NRs besteht aus 10-13 α -Helices (H1-H12, in Abbildung 7 als Zylinder dargestellt) und einem kurzen β -turn (β -Stränge s1 und s2, in Abbildung 7 als Pfeile dargestellt). Die Helices und der β -turn sind sandwichartig in drei Schichten angeordnet: H1, H2 und H3 bilden die erste Oberfläche der LBD, H4, H5, s1-s2, H8 und H9 stellen die Mittelschicht dar, und H6, H7 und H10 formen die zweite Oberfläche

(vgl. Abbildung 7a). Die β -Stränge s1 und s2 sind zwischen H5 und H6 angeordnet und stellen einen wichtigen Part der Ligandenbindungstasche (LBP, ligand binding pocket) dar [BOURGUET et al., 2000, WURTZ et al., 1996].

Der größte Unterschied zwischen der Struktur der apo-RXR- und der holo-RAR-LBD besteht in der veränderten Positionierung der C-terminalen Helices (H11, H12). Bei der apo-LBD steht H11 beinahe senkrecht zu H10 und zeigt in die Richtung der LBP. Einige der hydrophoben Reste von H11 füllen teilweise die LBP und stabilisieren diese somit. H12, die die AF-2 beinhaltet, zeigt von der LBD weg (vgl. Abbildung 7a). Bei der holo-LBD hingegen ist H11 in der Verlängerung von H10 positioniert, und H12 klappt zurück über die LBP (vgl. Abbildung 7b). Durch die Bindung eines Liganden wird also eine Konformationsänderung des Proteins bewirkt.

Ist dieser Ligand ein Agonist, werden durch die Konformationsänderung Bindungsstellen für Koaktivatoren generiert, was schließlich zu einer Aktivierung der Transkriptionsmaschinerie führt. Die durch Antagonisten ausgelöste Konformationsänderung hingegen verhindert die Bindung von Koaktivatoren an H12 und unterdrückt somit die Aktivierung der Transkription [BOURGUET et al., 2000].

3.1.5 C-terminale Region

Die Funktion der C-terminalen Region (F) ist bisweilen unbekannt [STEINMETZ et al., 2001].

3.2 Hormone Response Elements

Nukleäre Rezeptoren regulieren die Transkription, indem sie an spezifische Sequenzen der DNA von Zielgenen binden, die als HREs (hormone response elements) bezeichnet werden. Eine Sequenz von sechs Basenpaaren bildet das Kernerkennungsmotiv für NRs. Zwei Motive wurden identifiziert: die Sequenz AGAACA wird bevorzugt von Steroidrezeptoren der Klasse III erkannt, wohingegen AG(G/T)TCA als Erkennungsmotiv für die übrigen Nuklearriszeptoren dient. Bei diesen Motiven handelt

es sich allerdings um idealisierte Sequenzen, von denen natürlich auftretende HREs abweichen können [ARANDA und PASCUAL, 2001, BEATO et al., 1995].

Obwohl einige monomere Rezeptoren an ein einzelnes Hexamer binden können, binden die meisten NRs als Homo- oder Heterodimere an HREs, die typischerweise aus zwei hexameren Motiven zusammengesetzt sind. Diese Motive können konfiguriert sein als Palindrome (Pal), invertierte Palindrome (IPs) oder als direkte Wiederholung (DR, direct repeats). [ARANDA und PASCUAL, 2001].

Abbildung 8 zeigt die verschiedenen Varianten der Bindung von nukleären Rezeptoren an HREs.

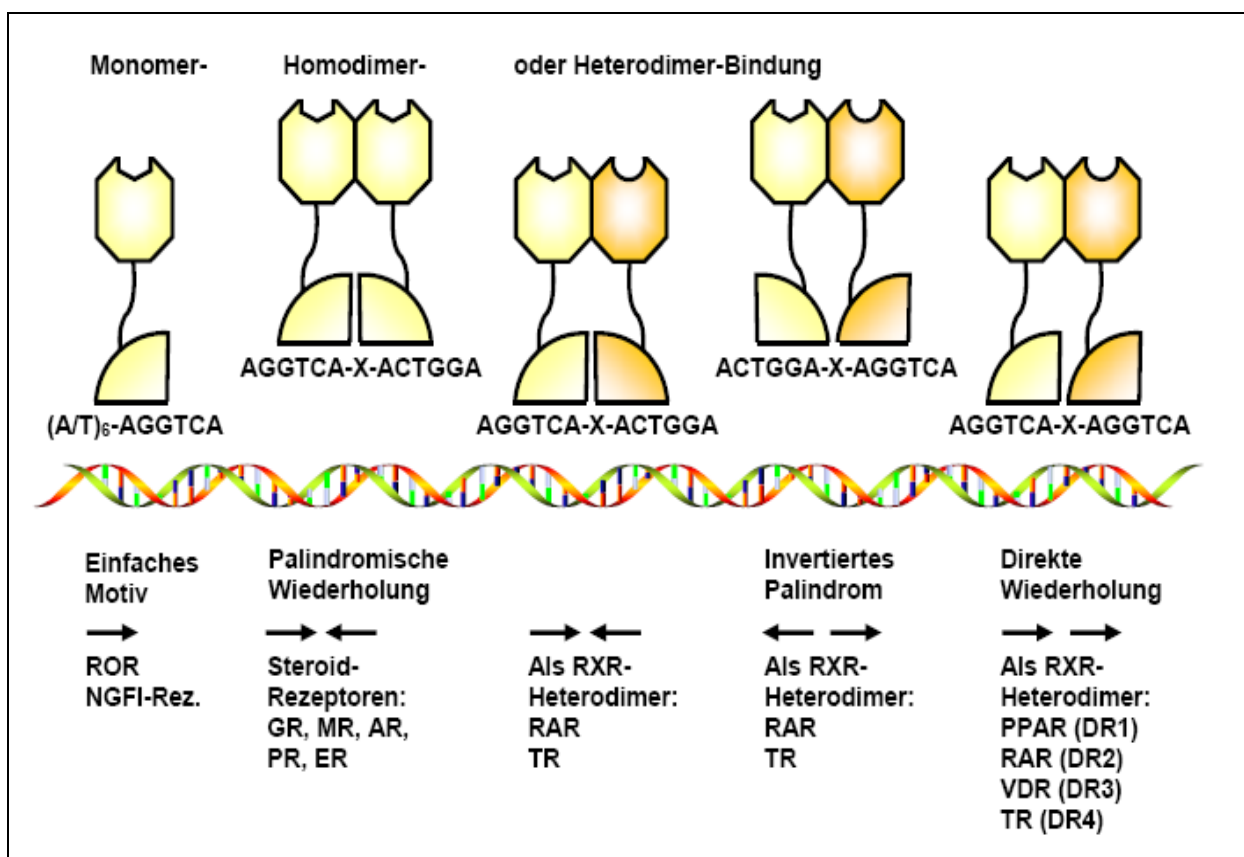


Abbildung 8: Hormone Response Elements nukleärer Rezeptoren [SYHA, 2005]

3.3 Prinzip der Signaltransduktion durch nukleäre Rezeptoren

In Abbildung 9 wird der äußerst komplexe Vorgang der Signaltransduktion durch nukleäre Rezeptoren vereinfacht dargestellt. Am Beispiel des VDR wird darauf in Kapitel 3.5 genauer eingegangen.

NRs werden durch ihre Liganden aktiviert und wirken im Zellkern als Transkriptionsfaktoren [BROWN et al., 1999].

Der apo-Rezeptor kann im Zellkern oder im Cytoplasma lokalisiert sein. Einige Steroidrezeptoren sind in Abwesenheit eines Liganden im Cytoplasma lokalisiert und mit einem großen Multiproteinkomplex assoziiert. Erst die Bindung eines Liganden induziert die Dissoziation dieses Komplexes und ermöglicht eine Translokation in den Zellkern. Dort bindet der Ligand-Rezeptor-Komplex (meist als Dimer) an HREs der DNA von Zielgenen und initiiert durch Bindung von Koaktivatoren und Bildung des Transkriptionsinitiationskomplexes die Transkription [ARANDA und PASCUAL, 2001, SYHA, 2005].

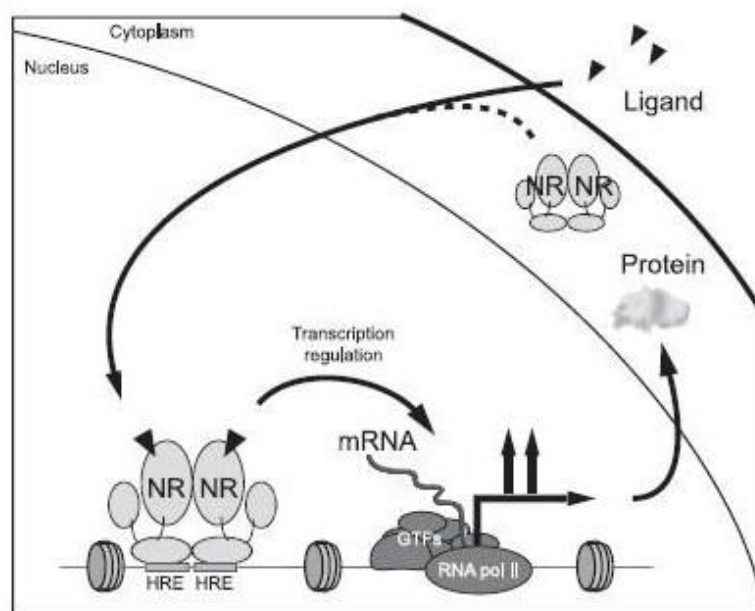


Abbildung 9: Ligandenabhängige Expression von Genen durch nukleäre Rezeptoren
[KISHIMOTO et al., 2006]

3.4 Struktur des Vitamin D-Rezeptors

Der VDR gehört innerhalb der nukleären Rezeptoren der Superfamilie der Steroidrezeptoren an. Dazu gehören neben dem VDR auch die Rezeptoren für Glukokortikoide (GR), Östrogen (ER), Androgen (AR), Progesteron (PR), Thyroidhormon (T_3R), Retinsäure (RAR), Retinoid X (RXR) und über 150 weitere orphanen Rezeptoren [MANGELSDORF et al., 1995].

Innerhalb dieser Familie gehört der VDR, ebenso wie der RAR und der RXR zur Subfamilie (Klasse II) der Schilddrüsenhormonrezeptoren [BAKER et al., 1988]. Diese Abgrenzung basiert hauptsächlich auf der Beobachtung, dass Hormonrezeptoren wie GR, ER und PR in erster Linie als Homodimere fungieren. Die Mitglieder der Subfamilie (VDR, T_3R , RAR) dimerisieren hauptsächlich mit RXR und fungieren vor allem als Heterodimere [MANGELSDORF et al., 1995].

Der VDR besteht aus 427 Aminosäuren und weist bezüglich der Aminosäuresequenz eine signifikante Homologie zu den anderen nukleären Hormonrezeptoren auf [ISSA et al., 1998].

Die modulare Struktur des VDR entspricht im Wesentlichen der in Kapitel 3.1 beschriebenen Struktur der NRs und umfasst ebenfalls die Domänen A-F (vgl. Abbildung 10).

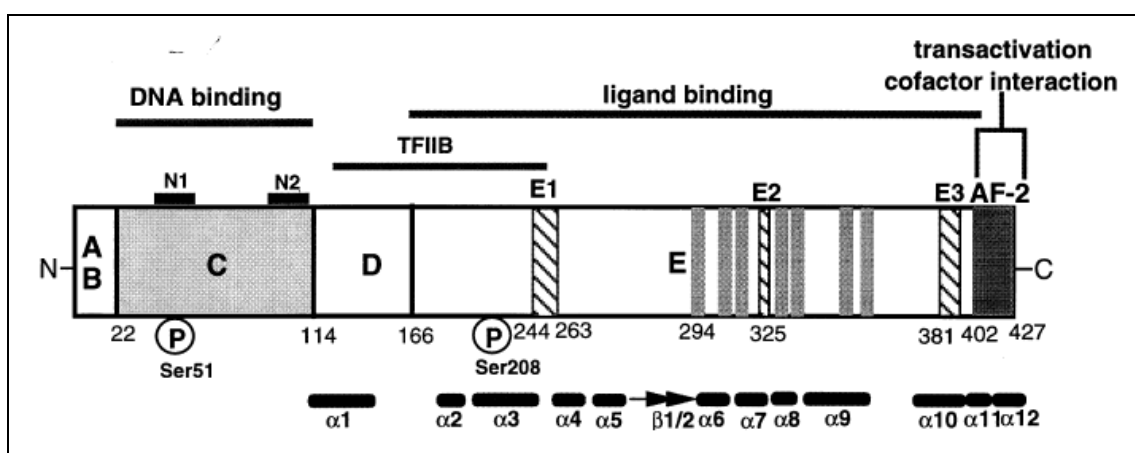


Abbildung 10: Modulare Struktur des Vitamin D-Rezeptors [ISSA et al., 1998]

3.4.1 N-terminale Region

Die aminoterminalen A/B-Domäne variiert innerhalb der Familie der nukleären Rezeptoren sehr stark in Länge und Aminosäuresequenz. Der VDR weist eine sehr kurze A/B-Domäne von etwa 20 Aminosäuren auf im Vergleich zu 421, 185, 135, 102 und 88 Aminosäuren bei GR, ER, RXR α , T₃R und RAR α . Bei ER, RAR und RXR umfasst die A/B-Domäne eine ligandenunabhängige transkriptionelle Aktivierungsfunktion (AF-1) [ISSA et al., 1998].

Das Vorhandensein dieser AF-1 in der A/B-Domäne des VDR ist hingegen nicht gesichert, da eine Entfernung der A/B-Domäne des VDR keinen Einfluss auf Ligandenbindung, DNA-Bindung oder Transaktivierungsfunktion zu haben scheint [SONE et al., 1991].

Eine zusätzliche Funktion dieser Region könnte möglicherweise darin bestehen, Inputs anderer Signaltransduktionswege an die AF-2-Domäne weiterzugeben, wie es beim ER der Fall ist [KATO et al., 1995; zitiert in ISSA et al., 1998].

Durch welche Proteinmodifikation der AF-1-Region die ligandenabhängige Funktion der AF-2-Region verändert wird, ist aber ungeklärt [ISSA et al., 1998].

3.4.2 DNA-Bindungsdomäne

Die DBD (C) des VDR umfasst die Aminosäuren 22-114 (vgl. Abbildung 10) und entspricht der in Kapitel 3.1.2 beschriebenen Struktur der NRs.

Die VDR-DBD und die Hinge-Region beinhalten Sequenzen, die den NLS anderer nukleärer Hormonrezeptoren entsprechen. Diese liegen zwischen den Aminosäuren 49 und 58 (nuclear import region 1, N1) und 102-111 (N2), also in einem Bereich zwischen den zwei Zinkfingern der DBD [ISSA et al., 1998].

3.4.3 Hinge-Region

Wie bei allen NRs stellt die Hinge-Region (D) auch beim VDR das Verbindungsstück zwischen DBD und LBD dar. Es ermöglicht Flexibilität des Proteins und strukturelle Konformationsänderungen bei Aktivierung durch den Liganden [ISSA et al., 1998].

3.4.4 Ligandenbindungsdomäne

Die LBD (E) kann zwischen den nukleären Hormonrezeptoren variieren. Subdomänen der LBD scheinen in Signalisierung des nukleären Imports, Dimerisierung, transkriptionelle Hemmung, Transaktivierung und Interaktion mit der Transkriptionsmaschinerie involviert zu sein [ISSA et al., 1998].

Durch Mutationsanalysen fand man heraus, dass der N-terminale Grenzbereich der LBD zwischen den Aminosäureresten 114 und 166 liegen muss. Ein $\Delta 1-114$ -Mutant (Aminosäuren 1-114 wurden eliminiert) band $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ mit normaler Affinität, wohingegen ein $\Delta 1-166$ -Mutant keine Ligandenbindungskapazität zeigte [MCDONNELL et al., 1989]. Eine weitere Studie zeigte, dass für die Bindung von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ mit hoher Affinität die Aminosäuren 382-402 erforderlich sind. Das Eliminieren der Aminosäuren 382-427 verhinderte die Ligandenbindung, während bei einem $\Delta 403-427$ -Mutant 1/10 der Affinität des wild-type-Rezeptors erhalten blieb, ohne die Fähigkeit mit RXR zu dimerisieren zu beeinflussen [NAKAJIMA et al., 1994].

Diese C-terminale Region ist hochvariabel und scheint an der ligandenspezifischen Interaktion mit nukleären Kofaktoren beteiligt zu sein [ISSA et al., 1998].

Kristallstruktur der VDR-LBD:

Die Kristallstruktur der VDR-LBD konnte im Gegensatz zu der LBD anderer NRs lange Zeit nicht aufgeklärt werden. Der Grund dafür ist, dass die VDR-LBD einen langen, flexiblen Loop zwischen H1 und H3 (Loop 1-3) besitzt, der die Bildung stabiler Kristalle verhindert [YAMADA et al., 2003].

ROCHEL et al. klärten 2000 erfolgreich die Kristallstruktur der VDR-LBD auf, indem sie ein Molekül erzeugten, bei dem sie einen Teil dieses Loops (Aminosäuren 165-215) eliminierten (vgl. Abbildung 11) [ROCHEL et al., 2000].

Die gleichen Autoren verglichen die biologischen und strukturellen Eigenschaften des VDRwt (VDR wild type) und des VDRdl (VDR ohne Aminosäuren 165-215) und kamen zu dem Schluss, dass der eliminierte Loop 1-3 nicht in die wichtigsten biologischen Funktionen (Ligandenbindung, Dimerisierung mit RXR und ligandenabhängige Transaktivierung) involviert ist [ROCHEL et al., 2001].

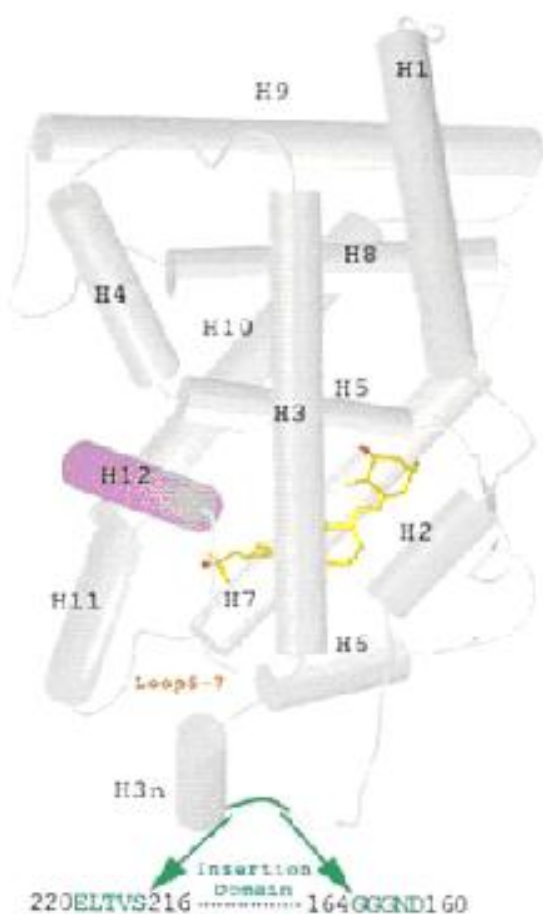


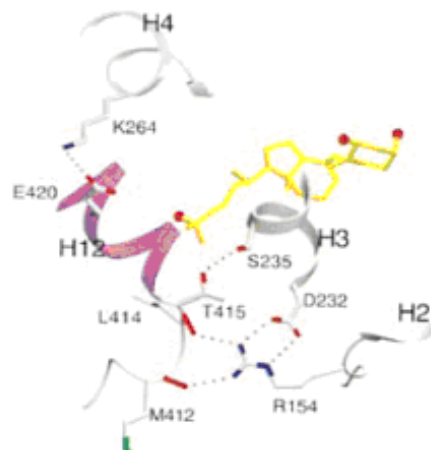
Abbildung 11: Kristallstruktur von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ gebunden an die LBD des VDR [ROCHEL et al., 2000]

Die Gesamttopologie der VDR-LBD entspricht der anderer nukleärer Rezeptoren. Wie in Abbildung 11 dargestellt, besteht die VDR-LBD aus 13 α -Helices, die sandwichartig in drei Schichten angeordnet sind, und drei β -Strängen. Helices H1 und H3 werden durch die zwei kleinen Helices H2 und H3n verbunden. Kurz vor der Helix H3n ist in Abbildung 11 in grün der Bereich dargestellt ($\Delta 165-215$), der eliminiert wurde. Dieser Bereich ist relativ weit entfernt vom Liganden, was

darauf schließen lässt, dass es unwahrscheinlich ist, dass er die Ligandenbindung beeinflusst [ROCHEL et al., 2000].

Die Ligandenbindungstasche des VDR ist größer als die anderer NRs. Der Ligand $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ nimmt 56% des Volumens der LBP ein. Die Tasche ist breit bei Helix 11, wo die Seitenkette von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ untergebracht wird, und sehr eng an der Stelle des β -Turns, wo der A-Ring des $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ lokalisiert ist. Diese Eigenschaften der LBP erklären die Beobachtung, dass eine große Vielfalt von Modifikationen in der Seitenkette den Effekt von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ potenzieren kann, wohingegen Modifikationen am A-Ring die Aktivität senken. Die LBP ist ausgekleidet mit 27 Aminosäureresten: 16 hydrophoben und elf hydrophilen Resten [YAMADA et al., 2003].

Die Position von Helix 12 ist entscheidend für die Bindung von Koaktivatoren und für die Transaktivierung. H12 geht zwei Van-der-Waals-Bindungen mit Methylgruppen des Liganden ein, was auf eine Modulation der Konformation und der Position von H12 durch den Liganden schließen lässt (vgl. Abbildung 12) [ROCHEL et al., 2000].



*Abbildung 12: Intramolekulare Interaktionen von Helix 12 im Vitamin D-Rezeptor
[ROCHEL et al., 2000]*

Aktivierungsfunktion AF-2:

Die AF-2-Domäne bietet eine interaktive Oberfläche für transkriptionelle Korepressoren und Koaktivatoren, die die Nuklearrezeptoraktivität mit dem Präinitiationskomplex (PIC) verbinden. Die AF-2-Domäne des VDR liegt im äußersten C-terminalen Bereich des VDR zwischen den Aminosäuren 402-423 [JURUTKA et al., 1997].

Das Eliminieren der Aminosäuren 403-427 brachte einen transkriptionell inaktiven Rezeptor hervor, der die Fähigkeit, mit RXR Heterodimere zu bilden, beibehielt und eine etwas reduzierte Ligandenbindungskapazität aufwies. Das führte zu dem Schluss, dass sich die Aktivierungsfunktion in dieser Region befindet [NAKAJIMA et al., 1994].

Durch Sequenzanalysen und Vergleiche mit den AF-2-Domänen anderer nukleärer Rezeptoren hat sich herausgestellt, dass die AF-2-Domäne hochkonservierte Aminosäurereste beinhaltet, die für die Transaktivierungsfunktion verantwortlich sein könnten [JURUTKA et al., 1997].

Doppelte Punktmutationen der Reste Leu-417 und Glu-420 zu Alaninresten erzeugten einen Rezeptor, der die Ligandenbindungskapazität, die DNA-Bindungskapazität und die Fähigkeit zur Heterodimerisierung mit RXR beibehielt, der aber nicht zur Transaktivierung fähig war. Daraus schloss man, dass die transkriptionelle Aktivierungsfunktion des VDR unabhängig von seinen anderen Aktivitäten ist [ISSA et al., 1998].

3.5 Signalübertragung durch den Vitamin D-Rezeptor

3.5.1 Genomische Wirkungsweise des Vitamin D-Rezeptors

In Abbildung 13 wird schematisch die Signalübertragung durch den VDR dargestellt, die im Wesentlichen dem in Kapitel 3.3 allgemeinen Prinzip der Signaltransduktion durch nukleäre Rezeptoren entspricht.

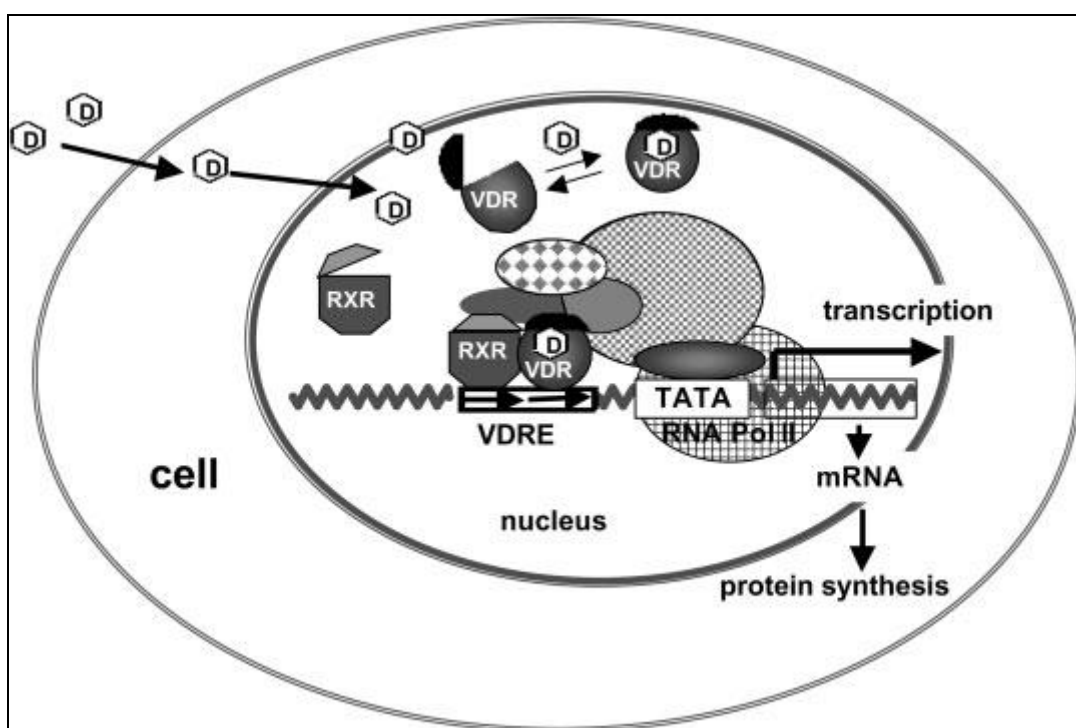


Abbildung 13: Über den Vitamin D-Rezeptor vermittelter Wirkungsmechanismus von $1,25\text{ (OH)}_2\text{D}_3$ [YAMADA et al., 2003]

In der Abwesenheit eines Liganden befindet sich der Großteil an VDRs vermutlich im Cytoplasma [BARSONY et al., 1990].

Durch die Ligandenbindung kommt es zu einer Repositionierung der Helix 12 am C-terminalen Ende der VDR-LBD (AF-2), was zu einer Konformationsänderung der dreidimensionalen Struktur des VDR führt. Dieser Aktivierungsschritt scheint notwendig zu sein für eine rasche Translokation des zytoplasmatischen VDR in den Nukleus [RACZ und BARSONY, 1999]. Weiters induziert die Bindung des Liganden

die Heterodimerisierung mit RXR. Das VDR-RXR-Heterodimer bindet an spezifische DNA-Sequenzen, so genannte Vitamin D Responsive Elements (VDRE), in der Promotorregion von Zielgenen [YAMADA et al., 2003].

Der häufigste VDRE-Typ, DR3 genannt, besteht aus zwei variablen Hexameren der Sequenz AGGTCA, die durch einen Spacer von drei Nukleotiden getrennt werden [HAUSSLER et al., 1998]. Es kommt zur Rekrutierung von Koaktivatoren, was komplexe Vorgänge einleitet, die zur Transaktivierung führen [YAMADA et al., 2003].

3.5.2 Kofaktoren

Die Ligandenbindung erhöht die Affinität des VDR zu verschiedenen Proteinen, den so genannten Kofaktoren. Diese fungieren als Brücke zwischen dem VDR-RXR-Heterodimer und der RNA-Polymerase-II-Transkriptionsmaschinerie. Mithilfe genetischer und biochemischer Methoden konnte eine Vielzahl an Kofaktoren identifiziert werden, die ligandenabhängig mit dem VDR interagieren (vgl. Tabelle 1) [NAGPAL et al., 2005].

Cofactor	Function/activity
Coactivators	
SRC/p160 family	Chromatin modification
SRC-1 (SRC-1/NCoA-1)	
SRC-2 (GRIP1/TIF2/NCoA-2)	
SRC-3 (pCIP/RAC3/ACTR/AIB1/TRAM-1/NcoA-3)	
DRIP205/TRAP220/PBP/TRIP2	Mediator complex recruitment
TRIP1/SUG1	DNA helicase
	Transcriptional mediator
	Proteasome-dependent proteolysis
CBP/p300	Chromatin modification
RIP 140	Not known
TIF1	Protein kinase
NCoA-62/SKIP	Chromatin modification
TAF _{II} 135	Basal transcription factor
TAF _{II} 55	Basal transcription factor
TAF _{II} 28	Basal transcription factor
Corepressors	
NcoR-1/RIP13	Chromatin remodeling
NcoR-2/SMRT/TRAC2	Chromatin remodeling
Hairless/TRIP8/KIAA1380	Chromatin remodeling

*Tabelle 1: Kofaktoren, die mit dem Vitamin D-Rezeptor interagieren
[NAGPAL et al., 2005]*

Die Kofaktoren umfassen zwei funktionelle Familien von Proteinen, nämlich die Koaktivatoren und die Korepressoren. Die Koaktivatoren vermitteln die Induktion der Transkription, während die Korepressoren an den ligandenfreien oder antagonistengebundenen Rezeptor binden und die Expression von Genen unterdrücken [HERMANSON et al., 2002].

Koaktivatoren:

Wie in den Kapiteln 3.1.4 und 3.4.4 beschrieben, kommt es durch die Bindung eines Liganden zu einer Repositionierung von Helix 12. Durch diese Konformationsänderung der LBD entsteht eine hydrophobe Spalte, gebildet von den Helices 3, 4, 5 und 12 [FENG et al., 1998]. Sie dient als Andockstelle für viele Koaktivatoren, indem sie mit einer komplementären, hydrophoben Domäne des Koaktivators, die das LXXLL-Motiv enthält (L = Leucin, X= beliebige Aminosäure), interagiert [HEERY et al., 1997].

Die SRC (steroid receptor coactivator) Familie der Kofaktoren umfasst drei Mitglieder, nämlich SRC-1, SRC-2 und SRC-3 (vgl. Tabelle 1). Die Mitglieder der SRC-Familie sind ebenso wie CBP (cAMP response element binding protein)/p300 und pCAF (p300/CBP-associated factor) Histon-Acetyl-Transferasen (HAT). Sie destabilisieren den nucleosomal core, indem sie die Acetylierung von Lysinresten der N-terminalen Enden der Histone katalysieren [HERMANSON et al., 2002]. SRCs verändern also die Struktur des Chromatins und rekrutieren auch andere histonmodifizierende Koaktivatoren. Sie machen dadurch wahrscheinlich die Promotorregionen besser zugänglich, damit sich der Transkriptionskomplex anlagern und die Transkription der Zielgene initiieren kann (vgl. Abbildung 14) [SUTTON und MACDONALD, 2003].

Ein großer Multiproteinkomplex, DRIP (VDR-interacting proteins) genannt, der mit dem VDR, anderen nukleären Rezeptoren und mit Transkriptionsfaktoren wechselwirkt, wurde von RACHEZ et al. (1998) beschrieben. Die biochemische Eliminierung des DRIP-Komplexes in azellulären Transkriptionsversuchen zeigte, dass dieser für die VDR-aktivierte Transkription in vitro essenziell ist [RACHEZ et al., 1998]. Bei der VDR-vermittelten Transkription fungiert DRIP205/TRAP220 als verankernde Untereinheit des Komplexes, da sie über eines der zwei LXXLL-Motive direkt mit dem

VDR-RXR-Heterodimer interagiert. Da der DRIP-Komplex keine SRCs beinhaltet und selbst über keine HAT-Aktivität verfügt, ist es wahrscheinlich, dass DRIPs und SRCs die transkriptionelle Aktivität des VDR durch verschiedene Mechanismen erhöhen. Es wird vermutet, dass die Rekrutierung von VDR-SRC und VDR-DRIP zu VDREs nacheinander erfolgen [RACHEZ et al., 2000].

Der erste Schritt scheint die Rekrutierung von SRCs oder eines HAT-Komplexes zum Promotor zu sein, um die Destabilisierung des nukleosomalen Kerns zu ermöglichen. Während der SRC-Komplex dissoziiert, wird die entspiralisierte DNA zum Ziel für den DRIP-Komplex (vgl. Abbildung 14) [NAGPAL et al., 2005], der dann die RNA-Polymerase II rekrutiert [CHIBA et al., 2000].

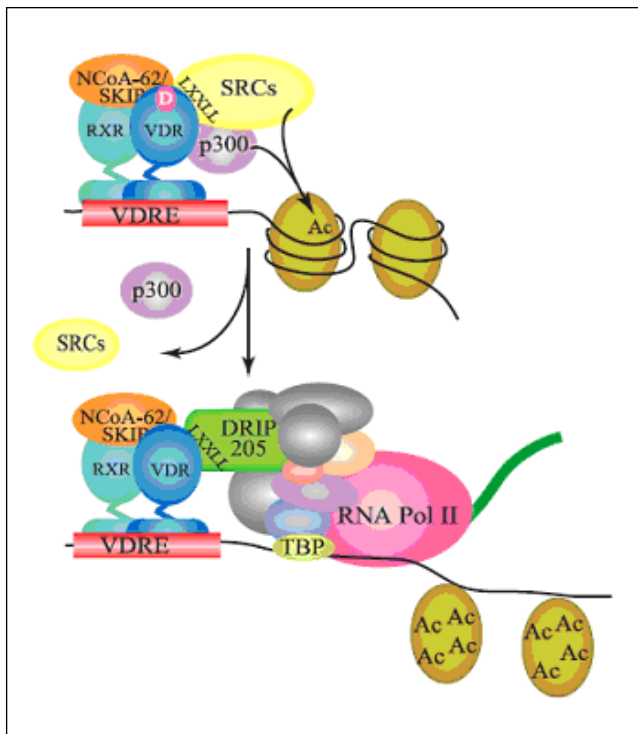


Abbildung 14: Temporale Bindung von Koaktivatoren während der VDR-vermittelten Transkription [SUTTON und MACDONALD, 2003]

Ein weiteres wichtiges Protein, das die VDR-vermittelte Transkription fördert, ist NCoA-62 (nuclear receptor coactivator)/SKIP (ski-interacting protein). Dieser Koaktivator ist nicht verwandt mit DRIPs, SRCs oder anderen Koaktivatoren mit LXXLL-Motiv

[BAUDINO et al., 1998]. NCoA-62/SKIP besitzt selbst kein LXXLL-Motiv und bindet ausschließlich an das VDR-RXR-Heterodimer über die LBD, allerdings nicht an die von H3-H5 und H12 gebildete hydrophobe Domäne. NCoA-62/SKIP bindet zugleich mit SRC-1 an den VDR, wodurch ein trinärer Komplex gebildet wird, der auf synergistische Weise die VDR-stimulierte Transkription verstärkt [ZHANG et al., 2001].

Korepressoren:

Drei verschiedene Korepressoren wurden gefunden, die mit dem VDR interagieren, nämlich NCoR-1 (nuclear receptor corepressor), NCoR-2 und hairless (vgl. Tabelle 1) [HERMANSON et al., 2002]. Diese Korepressoren rekrutieren Proteine mit Histone-Deacetylase-Aktivität, die die Lysinreste an den N-terminalen Enden der Histone deacetylieren. Dies führt zu einer Verdichtung des Chromatins und somit zu einer Hemmung der Transaktivierung von Genen. Ähnlich dem LXXLL-Motiv (NR-Box) der Koaktivatoren, gibt es bei den Korepressoren eine CoRNR-Box mit dem Motiv I/LXXI/VI (I = Isoleucin, L = Leucin, X = beliebige Aminosäure, V = Valin), die essentiell für die Interaktion der Korepressoren mit dem ligandenfreien Rezeptor ist [HU et al., 2001, WEBB et al., 2000].

Koaktivatoren und Korepressoren verhalten sich wie „yin“ und „yang“ und sind erforderlich für eine strenge Kontrolle der Transkription. Die Vielzahl von Kofaktoren lässt vermuten, dass auch kombinatorisch und parallel interagierende Komplexe existieren. Durch die Entdeckung dieser Fülle an Koaktivatoren wurde das Bild der Transkription noch komplizierter, bietet aber auch die Möglichkeit eines besseren Verständnisses der gewebs- und genselektiven Transkription durch natürliche und synthetische Liganden [NAGPAL et al., 2005].

3.5.3 Zielgene des Vitamin D-Rezeptors

Der VDR kann die Expression von Genen auf drei Arten beeinflussen (vgl. Abbildung 15):

1. Positive Regulierung der Expression von Genen durch Bindung an VDREs in deren Promotorregion [SUTTON und MACDONALD, 2003].
2. Negative Regulierung der Expression anderer Gene durch Bindung an so genannte negative VDREs [DONG et al., 2003].
3. Verhinderung der Expression mancher Gene durch Wirkung entgegen bestimmter Transkriptionsfaktoren, wie etwa NF-AT (nuclear factor of activated T cells) und NF- κ B (nuclear factor κ B) [HARANT et al., 1997, TAKEUCHI et al., 1998].

In Abbildung 15 sind Gene, deren Expression durch VDR-Liganden induziert wird und deren Promotorregion ein VDRE aufweist, gemeinsam mit ihrer Funktion aufgelistet.

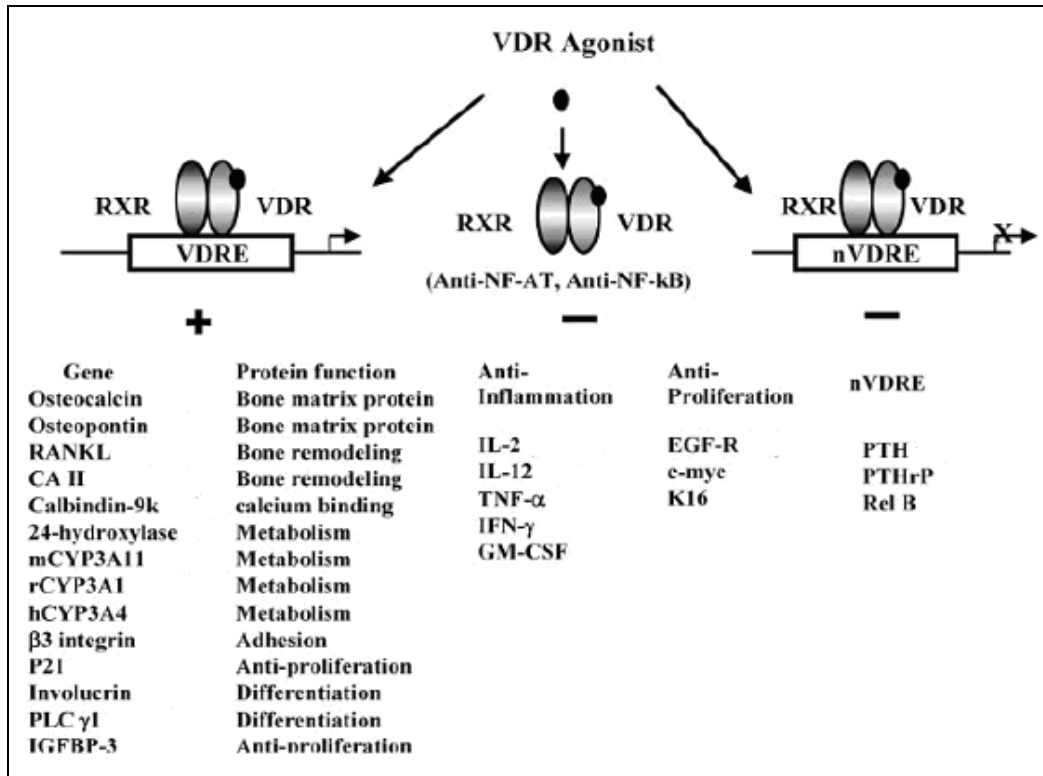


Abbildung 15: Schematische Darstellung der VDR-vermittelten Regulation der Genexpression [NAGPAL et al., 2005]

Von den Genen, die durch den VDR positiv reguliert werden, sind besonders Osteocalcin, Osteopontin, RANKL (receptor activator of NF- κ B ligand), CA II (carbonic anhydrase II) und Calbindin-9K hervorzuheben, da sie in den Knochen- bzw. Calciumstoffwechsel involviert sind [NAGPAL et al., 2005].

Ebenfalls in Abbildung 15 aufgelistet sind jene Gene, die durch Bindung des VDR negativ reguliert werden. Die hyperproliferativen und entzündungsfördernden Funktionen vieler dieser Genprodukte indizieren, dass viele therapeutische Effekte von 1,25(OH) $_2$ D $_3$ und seiner Analoga von dieser negativen Genregulierung herrühren könnten [NAGPAL et al., 2005].

PIKE et al. (2007) wiesen unter anderem auch VDREs im VDR-Gen selbst und auch im TRPV6-Gen (Calciumkanal) nach [PIKE et al., 2007].

4 VDR-Gen: Lokalisation und strukturelle Organisation

Nachdem es BAKER et al. 1988 gelungen war, die menschliche cDNA des VDR zu klonen, dauerte es nahezu zehn Jahre bis die wesentlichen Teile der genomischen Struktur des humanen VDR-Gens von MIYAMOTO et al. (1997) beschrieben wurden [BAKER et al., 1988, MIYAMOTO et al., 1997]. MIYAMOTO et al. (1997) beschrieben die strukturelle Organisation des humanen VDR-Gens wie in Abbildung 16 dargestellt. Das Gen erstreckt sich über mehr als 75 kb der genomischen DNA und umfasst elf Exons (1A, 1B, 1C und 2-9). Drei Exons bilden die 5'-noncoding Region, die anderen acht kodieren für die strukturellen Komponenten des VDR. Der Promotor wird charakterisiert durch das Fehlen einer TATA-Box und durch seinen GC-Reichtum. Somit war die generelle Organisation des hVDR-Gens durchaus vergleichbar mit der bereits bekannten Struktur anderer Gene von Steroidrezeptoren wie etwa dem Thyroidrezeptor, dem Progesteronrezeptor, dem Östrogenrezeptor, dem Androgenrezeptor und dem Glukokortikoidrezeptor [MIYAMOTO et al., 1997].

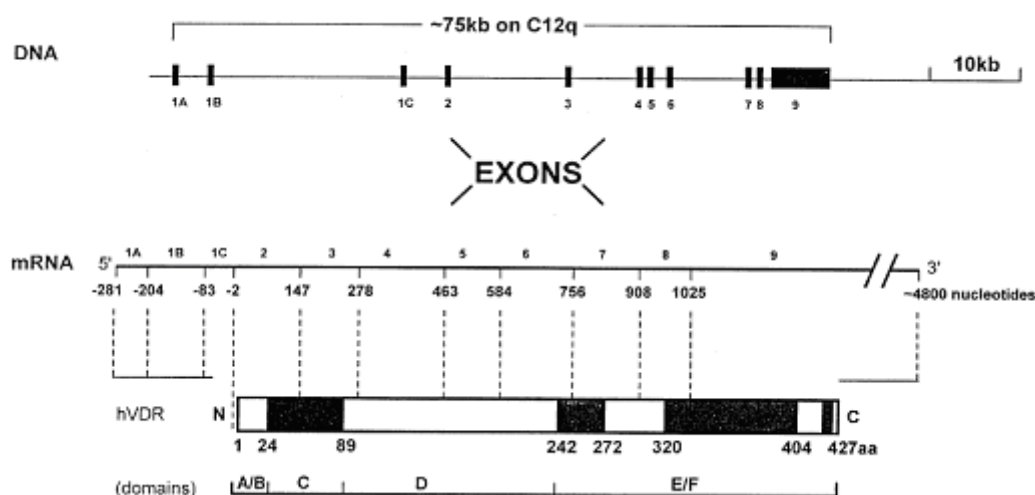


Abbildung 16: Strukturelle Organisation des menschlichen VDR-Gens
[MIYAMOTO et al., 1997]

Die Lage des VDR-Gens auf der physikalischen Karte von Chromosom 12 wurde zuerst annähernd durch Linkage Mapping von LABUDA et al. (1992) und später etwas präziser durch Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) und Radiation Hybrid Mapping durch TAYMANS et al. (1999) bestimmt. Diese Studien beschreiben die Position des VDR-Gens allerdings sehr allgemein mit einer Auflösung von > 100 kb, was nicht ausreicht, um die Rolle von VDR-Polymorphismen bei Krankheiten verstehen zu können [LABUDA et al., 1992, TAYMANS et al., 1999].

UITTERLINDEN et al. (2004) erstellten eine physikalische Karte höherer Auflösung der chromosomalen 12q13-Region, wo das VDR-Gen lokalisiert ist. Dafür setzten sie eine umfassende Analyse aller verfügbaren Datenbanken genomischer Sequenzen ein und verwendeten Pulsed-Field-Gelelektrophorese, um die exakte Position und Abfolge des VDR-Gens und seiner benachbarten Gene zu bestimmen. Die Analyse des VDR-Genortes auf Chromosom 12q13.1 zeigte, dass das VDR-Gen selbst sich über 100 kb erstreckt, eine sehr ausgedehnte Promotorregion besitzt und strangabwärts neben dem COL2A1-Gen (Typ-II-Kollagen-alpha-1) liegt (vgl. Abbildung 17) [UITTERLINDEN et al., 2004].

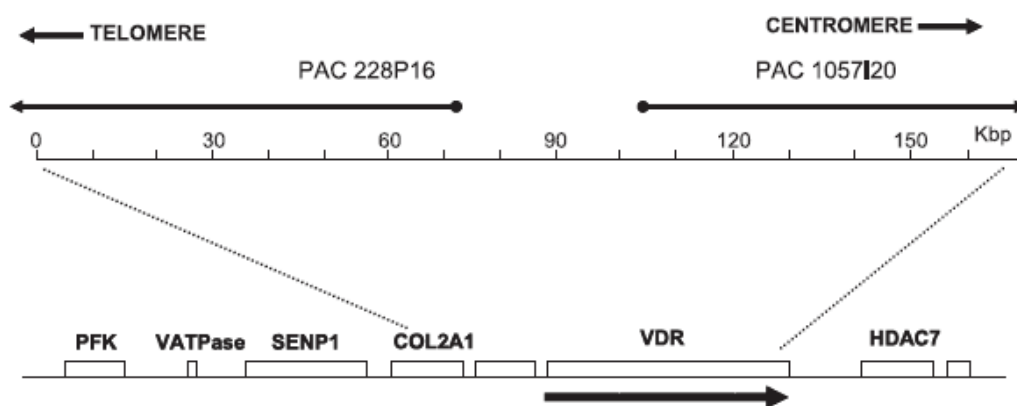


Abbildung 17: Genomische Struktur des VDR-COL2A1-Lokus auf Chromosom 12q13.1 [UITTERLINDEN et al., 2004]

Abbildung 17 zeigt die vollständige physikalische Karte der Region um das VDR-Gen mit den bereits identifizierten Genen PFK (Phosphofruktokinase), VATPase (Vacuolar ATPase), SENP1 (sentrin/SUMO-specific protease) und HDAC7 (Histondeacetylase 7). Zwischen COL2A1 und VDR gibt es allerdings immer noch eine Lücke in der Sequenz.

Es ist wichtig, die umliegenden Gene und ihre Entfernungen zum VDR-Gen zu kennen, da bei genetischen Assoziationsstudien der beobachtete Zusammenhang nicht immer durch das VDR-Gen selbst erklärbar ist, sondern eventuell auch durch ein anderes nahe gelegenes Gen [UITTERLINDEN et al., 2004].

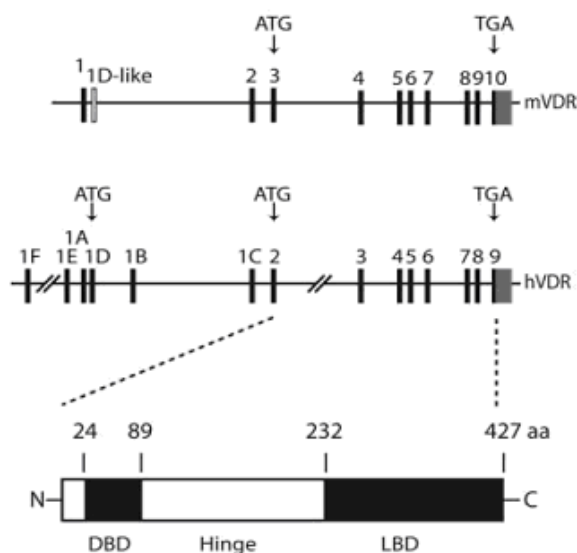


Abbildung 18: Struktur des VDR-Gens von Maus und Mensch [ZELLA et al., 2006]

Abbildung 18 veranschaulicht die heute bekannte Struktur des VDR-Gens von Mensch und Maus (lokalisiert auf Chromosom 15) im Vergleich. Beide Gene besitzen acht kodierende Exons mit eindeutigen Start-Codons in Exon 2 des menschlichen Gens und in Exon 3 des Mäuse-Gens. Es entstehen Proteine von 423 Aminosäuren bei der Maus und 427 Aminosäuren beim Menschen. Trotz dieser Ähnlichkeiten unterscheiden sich die beiden Gene signifikant in der Anzahl der nicht-kodierenden Exons, die sich strangaufwärts des Start-Codons befinden. Während im Mäuse-Gen zwei nicht-kodierende Exons gefunden wurden (Exon 1 und Exon 2), gibt es zumindest sechs im menschlichen VDR-Gen (Exons 1a-1f). Ein weiterer Unterschied ist das Vorhandensein von zumindest zwei Promotoren im menschlichen Gen (vgl. Abbildung 18) [ZELLA et al., 2006].

5 Polymorphismen des Vitamin D-Rezeptor-Gens

Um das Vitamin D-Endokrinsystem besser verstehen zu können, versucht man den Einfluss der Variationen in der DNA-Sequenz auf wichtige Proteine dieses Systems zu erforschen. Mutationen im VDR-Gen verursachen zum Beispiel Vitamin D-resistente Rachitis, eine sehr seltene monogenetische Erkrankung. Subtilere Variationen der Sequenz (Polymorphismen) des VDR-Gens treten viel häufiger auf, aber ihre Auswirkungen sind nur wenig erforscht. Ihr Einfluss auf das Endokrinsystem wird derzeit genau untersucht, vor allem im Zusammenhang mit einer Vielzahl von so genannten komplexen Erkrankungen wie Osteoporose [UITTERLINDEN et al., 2002].

5.1 Bestimmung der VDR-Genpolymorphismen

Informationen über die Existenz von Polymorphismen des VDR-Gens erhielt man bis jetzt durch die Analyse von begrenzten Bereichen des Gens. Man wendete dafür ziemlich unempfindliche Techniken an, wie etwa die Behandlung der DNA mit verschiedenen Restriktionsenzymen in Southern-Blot-Hybridisierungs-Versuchen (vgl. Kapitel 5.1.1). ApaI [FARACO et al., 1989], EcoRV [MORRISON et al., 1992], BsmI [MORRISON et al., 1992], TaqI [MORRISON et al., 1994], FokI [ARAI et al., 1997] und Tru9I [YE et al., 2000] sind RFLPs (restriction fragment length polymorphisms), die durch diese Methode am 3'-Ende des VDR-Gens in den frühen 90ern entdeckt wurden [UITTERLINDEN et al., 2004].

Eine aufschlussreichere Methode, Polymorphismen zu finden, ist die Bestimmung der Basenpaarabfolge des gleichen VDR-Genabschnitts bei einer Reihe verschiedener Individuen.

MORRISON et al. (1994) bedienten sich dieser Methode, als sie in der 3'-UTR (untranslated region) des Gens nach weiteren Polymorphismen suchten. Sie berichteten über 13 Polymorphismen in diesem 3,2 kb langen Abschnitt, darunter auch der poly(A)-Polymorphismus [MORRISON et al., 1994].

Mit einer ähnlichen Methode analysierten BROWN et al. (2000) die kodierende Region des VDR-Gens in 59 Tumoren der Nebenschilddrüse, um Mutationen zu finden. Neben den bereits zuvor entdeckten TaqI- und FokI-Polymorphismen fanden sie keine weiteren Polymorphismen in der kodierenden Region, jedoch zwei Intron-Polymorphismen in der Nähe der Exons 2 und 8 (vgl. Abbildung 19) [BROWN et al., 2000]. Durch Sequenzanalysen wurde auch der so genannte Cdx2-Polymorphismus in der 1e-Promotorregion gefunden (vgl. Abbildung 19) [ARAI et al., 2001].

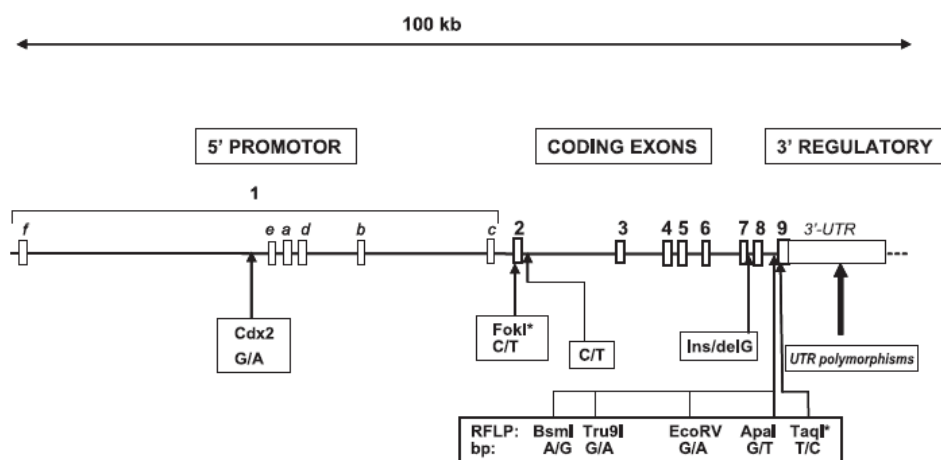


Abbildung 19: Exon-Intron-Struktur des VDR-Gens und Position der bekannten Polymorphismen [UITTERLINDEN et al., 2004]

5.1.1 Restriktions-Fragment-Längen-Polymorphismus (RFLP)

Die RFLP-Analyse ermöglicht es, mit Hilfe von Restriktionsenzymen Veränderungen eines Gen-Abschnittes festzustellen und anschließend durch Gel-Elektrophorese sichtbar zu machen. Bei diesem Verfahren wird ein Amplikon mit einem Restriktionsenzym (Endonuklease) versetzt und bei einer für dieses Enzym geeigneten Temperatur inkubiert. Wenn innerhalb eines Allels eine für diese Endonuklease spezifische Stelle vorhanden ist, so spaltet das Enzym den Gen-Abschnitt an genau dieser Stelle. Wenn eine solche Schnittstelle für das Enzym (z.B. BsmI-Endonuklease) vorhanden ist, wird das mit einem Kleinbuchstaben (b) bezeichnet, wenn keine Schnittstelle vorhanden ist, mit einem Großbuchstaben (B). Eine Schnittstelle für TaqI- bzw. FokI-Enzyme wird dementsprechend mit (t) bzw. (f) und die Abwesenheit einer

solchen spezifischen Schnittstelle mit (T) bzw. (F) bezeichnet. Für die diversen Polymorphismen gibt es also jeweils drei mögliche Genotypen:

1. (bb), (tt) und (ff) bedeuten, dass eine Restriktionsstelle auf beiden Allelen vorliegt.
2. (Bb), (Tt) und (Ff) weisen einen heterozygoten Genotyp auf.
3. (BB), (TT) und (FF) zeigen eine homozygote Abwesenheit der Restriktionsstelle. [BAYER, 2007].

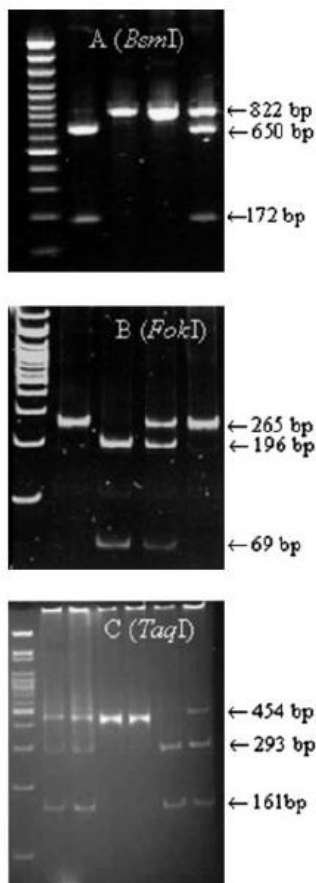


Abbildung 20: PCR-RFLP-Analyse der VDR-Genpolymorphismen *BsmI*, *FokI* und *TaqI* [VUPPUTURI et al., 2006]

Abbildung 20 zeigt das Ergebnis einer solchen RFLP-Analyse für die Polymorphismen *BsmI*, *FokI* und *TaqI*:

***BsmI*:** Bei homozygoten Genotypen des Typs BB erhält man eine intakte Bande von 822 bp (Streifen 3 und 4), bei bb erhält man zwei Banden von 650 bp und 172 bp (Streifen 2), und bei einem heterozygoten Genotyp Bb entstehen drei Banden von 822, 650 und 172 bp (Streifen 5).

***FokI*:** Der homozygote Genotyp FF lässt eine intakte Bande von 265 bp entstehen (Streifen 2 und 5), bei ff zeigen sich zwei Banden von 196 bp und 69 bp (Streifen 3), und bei dem heterozygoten

Genotyp Ff erhält man drei Banden von 265, 196 und 69 bp (Streifen 4).

***TaqI*:** TT erzeugt eine erzeugt eine Bande von 454 bp (Streifen 4 und 5), tt zwei Banden von 293 bp und 161 bp (Streifen 6), und bei dem heterozygoten Genotyp Tt entstehen drei Banden von 454, 293 und 161 bp (Streifen 2, 3 und 7) [VUPPUTURI et al., 2006].

5.2 Bedeutendste Polymorphismen des VDR-Gens

5.2.1 FokI-Polymorphismus

Auf der ursprünglichen Baker-Sequenz der VDR-cDNA [BAKER et al., 1988] wurden zwei potenzielle Translationsstartpunkte (ATG) gefunden. Nachfolgende Sequenzvergleiche haben gezeigt, dass ein T/C-Polymorphismus (ATG zu ACG) am ersten Translationsstartpunkt existiert [GROSS et al., 1996], weshalb dieser Polymorphismus auch SCP (Startcodon-Polymorphismus) genannt wurde [ARAI et al., 1997].

Dieser SNP (single nucleotide polymorphism), eine T/C-Substitution am zweiten Nukleotid von Exon 2 des VDR-Gens, hat die Entstehung einer FokI-Restriktionsschnittstelle zur Folge [VUPPUTURI et al., 2006].

Den zwei möglichen Startpunkten für die Translation entsprechend können zwei Proteinvarianten entstehen:

1. Die lange Version des VDR-Proteins mit 427 Aminosäuren (T- oder f-Allel).
2. Die kürzere Variante des VDR-Proteins mit 424 Aminosäuren (C- oder F-Allel) [ARAI et al., 1997].

Die Ergebnisse diverser Studien [ARAI et al., 1997, COLIN et al., 2000, GROSS et al., 1998, JURUTKA et al., 2000] lassen darauf schließen, dass der FokI-Polymorphismus ein funktioneller Polymorphismus ist, und dass die VDR-Variante mit 424 Aminosäuren aktiver ist als jene mit 427 Aminosäuren, was ihre Transaktivierungskapazität als Transkriptionsfaktor betrifft [UITTERLINDEN et al., 2004].

5.2.2 BsmI-, ApaI-, TaqI- und 3' UTR-Polymorphismen

Die RFLPs BsmI und ApaI sind im Intron 8 (zwischen Exon 8 und 9) lokalisiert und üben weder einen Einfluss auf Splicing-Stellen noch auf Bindungsstellen für Transkriptionsfaktoren aus (vgl. Abbildung 19) [UITTERLINDEN et al., 2002].

Der RFLP TaqI befindet sich in Exon 9 und ist ein so genannter synonymer Polymorphismus. Das bedeutet, dass der T/C-Polymorphismus (ATT zu ATC) zwar im kodierenden Bereich des Gens liegt, dass aber die Aminosäuresequenz des Proteins dadurch nicht verändert wird. Beide Basentriplets kodieren für die gleiche Aminosäure (Isoleucin). Man geht daher davon aus, dass BsmI-, ApaI- und TaqI-RFLPs im Gegensatz zum FokI-RFLP keine funktionellen Polymorphismen sind [UITTERLINDEN et al., 2002].

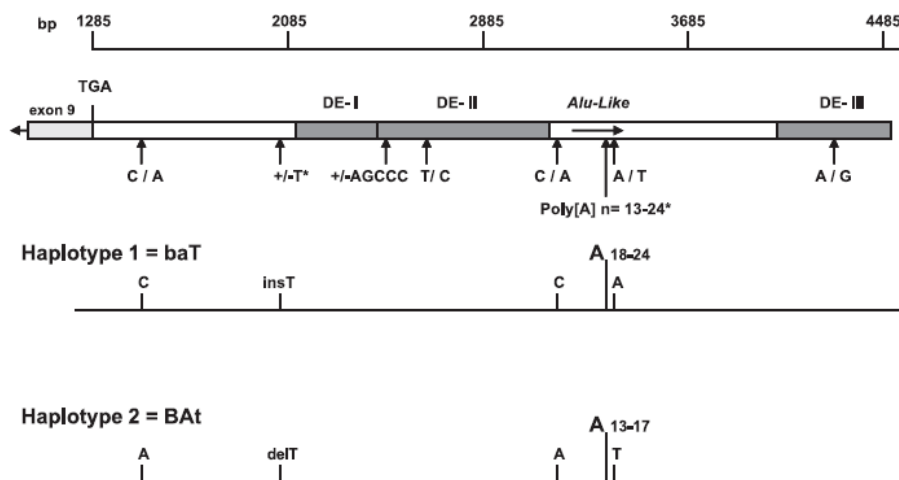


Abbildung 21: Struktur und Position der Polymorphismen in der 3'-UTR und die häufigsten Bsm-Apa-Taq-Haplotypen [UITTERLINDEN et al., 2004]

Mehr als zehn Sequenzänderungen wurden in der 3'-UTR gefunden (vgl. Abbildung 21), darunter auch der poly(A)-Polymorphismus. Dieser Mononukleotid-Repeat-Polymorphismus [(A)n] variiert in seiner Länge von 13 bis zu 24 Adenosinen (12 Allele). Klassifiziert wird als „short“ (S-Allel) bei 13 bis 17 Adenosinen und als „long“ (L-Allel) bei 18 bis 24 Adenosinen [INGLES et al., 1997].

5.2.3 Cdx2-Polymorphismus

Der Cdx2-Polymorphismus wurde durch Studien von ARAI et al. (2001) und YAMAMOTO et al. (1999) beschrieben [ARAI et al., 2001, YAMAMOTO et al., 1999].

Dieser G/A-Polymorphismus befindet sich an einer Cdx2-Bindungsstelle in der Promotorregion. Diese Bindungsstelle scheint eine wichtige Rolle bei der darmspezifischen Transkription des VDR-Gens zu spielen. Da der Darm der wichtigste Ort der Calciumabsorption ist, nimmt man an, dass die Cdx2-Bindungsstelle die Vitamin D-abhängige Regulierung der Calciumaufnahme beeinflusst. Das A-Allel ist „aktiver“ als das G-Allel, indem es den Cdx2-Transkriptionsfaktor stärker bindet und eine höhere transkriptionelle Aktivität besitzt. Dementsprechend geht man davon aus, dass das A-Allel eine verstärkte VDR-Expression im Darm auslöst und dadurch die Transkription von Calcium-Transportproteinen (wie Calbindin-9K und -28K, TRPV5, TRPV6) steigert. Das könnte folglich die intestinale Absorption von Calcium verstärken und so zu einer höheren BMD (bone mineral density) führen [ARAI et al., 2001].

5.3 Linkage Disequilibrium

Linkage Disequilibrium (LD) bezeichnet die Assoziation bzw. das gemeinsame Auftreten von Allelen benachbarter Polymorphismen [WALL und PRITCHARD, 2003].

Das bedeutet, dass ein Polymorphismus den anderen „verlinkten“ Polymorphismus voraussagen kann, weil zwischen ihnen im Laufe der Evolution sehr wenig Rekombination stattgefunden hat. Liegt in einem bestimmten Bereich ein hoher Grad an LD vor, bedeutet das, dass es in diesem Bereich eine sehr begrenzte Anzahl von Haplotypen gibt. Haplotypen sind Blöcke verlinkter Allele von benachbarten Polymorphismen. Die Größe dieser Blöcke kann von fünf bis zu über 50 kb variieren und beträgt im Mittel ungefähr 10-20 kb. Das internationale HapMap-Projekt [<http://www.hapmap.org>, Stand 27.09.2009] hat sich zur Aufgabe gemacht, die Haplotypen des menschlichen Genoms zu beschreiben [GABRIEL et al., 2002].

LD und die Struktur von Haplotypen bestimmter Gene sind wichtig für Assoziationsstudien, um besser verstehen zu können, wie polymorphe Veränderungen zu erhöhten Krankheitsrisiken beitragen. Wenn ein bestimmtes Allel eines Polymorphismus mit einem erhöhten Risiko für eine Krankheit assoziiert wird, so kann dies durch die Wirkung dieses einen Allels erklärt werden, genauso aber (aufgrund des LD und der Haplotyp-Struktur) durch ein oder mehrere andere Allele, die mit diesem

bestimmten Allel innerhalb eines Haplotyps verlinkt sind. Weiß man also welcher Haplotyp das Risikoallel beinhaltet, kann man durch zellbiologische und molekularbiologische Funktionsanalysen bestimmen, welche Variante des Allels den beobachteten Effekt wirklich verursacht [UITTERLINDEN et al., 2004].

Basierend auf einigen bekannten Polymorphismen (vgl. Abbildung 19) hat man in mehreren Studien das Ausmaß des LD im VDR-Gen analysiert. Aufgrund der geringen Anzahl an Polymorphismen, die dafür verwendet wurden, sind die Informationen über LD und Haplotypen bis jetzt sehr begrenzt. Ein starkes LD wurde am 3'-Ende des VDR-Gens beobachtet für die Polymorphismen BsmI, ApaI, EcoRV und TaqI [MORRISON et al., 1994, MORRISON et al., 1992].

UITTERLINDEN et al. (1996) identifizierten dann fünf Haplotypen, von denen der Haplotyp baT (48%) und der Haplotyp Bat (40%) am häufigsten waren und auch mit den von MORRISON et al. (1994) entdeckten übereinstimmten [MORRISON et al., 1994, UITTERLINDEN et al., 1996]. Ein starkes LD wurde auch zwischen BsmI-RFLP und poly(A)-VNTR (variable number of tandem repeats) in der 3'-UTR beobachtet. INGLES et al. (1997) berichteten über eine starke Kopplung zwischen b-Allel und einem langen poly(A)-Stück und zwischen B-Allel und einem kurzen poly(A)-Stück [INGLES et al., 1997].

Kombiniert mit den Ergebnissen von MORRISON et al. (1994), DURRIN et al. (1999) und UITTERLINDEN et al. (1996) lässt sich daraus schlussfolgern, dass der Haplotyp baT eng verknüpft ist mit einer großen Anzahl von „A“s (n = 18-24) und der Haplotyp Bat mit einer kleineren Anzahl von „A“s (n = 13-17) (vgl. Abbildung 20). In den Studien wurde keine Verbindung zwischen dem FokI-RFLP und irgendeinem der anderen VDR-Genpolymorphismen gefunden [DURRIN et al., 1999, INGLES et al., 1997, MORRISON et al., 1994, UITTERLINDEN et al., 1996].

6 Prävalenz der häufigsten VDR-Genpolymorphismen in unterschiedlichen ethnischen Bevölkerungsgruppen

Die VDR-Genpolymorphismen wurden am häufigsten bei Kaukasiern entdeckt und analysiert. Bei den am besten untersuchten Polymorphismen des VDR-Gens gibt es allerdings erhebliche Unterschiede zwischen den verschiedenen ethnischen Gruppen (vgl. Tabelle 2) [ZMUDA et al., 2000].

VDR polymorphism	Minor allele	Ethnic group (%)		
		Caucasian	Asian	African
<i>Individual polymorphisms</i>				
Cdx2	A	19	43	74
FokI	f ~ T	34	51	24
BsmI	B	42	7	36
ApaI	A	44	74	31
TaqI	T	43	8	31
polyA	short $n = 13-17$	41	12	29
<i>Bsm-Apa-Taq haplotypes</i>				
	baT : haplotype 1	43	75	26
	BAt : haplotype 2	39	7	16
	bAT: haplotype 3	11	17	59

Tabelle 2: Häufigkeit verschiedener VDR-Genpolymorphismen in den drei wichtigsten ethnischen Gruppen [UITTERLINDEN et al., 2004]

In Tabelle 2 sind die Daten verschiedener Quellen [ARAI et al., 1997, DURRIN et al., 1999, FANG et al., 2003, FARACO et al., 1989, GROSS et al., 1996, INGLES et al., 1997, MORRISON et al., 1994, MORRISON et al., 1992, SAIJO et al., 1991, UITTERLINDEN et al., 1996, YE et al., 2000] über die Häufigkeit der bestuntersuchten VDR-Genpolymorphismen und -haplotypen in den drei wichtigsten ethnischen Gruppen zusammengefasst. Das f-Allel des FokI-RFLP etwa, das mit der 427 Aminosäuren umfassenden VDR-Variante korrespondiert, und das A-Allel des ApaI-RFLP kommen bei Asiaten deutlich häufiger vor als bei Kaukasier oder Afrikanern. Das B-Allel des

BsmI-RFLP ebenso wie das T-Allel des TaqI-RFLP hingegen findet man bei Asiaten sehr selten im Vergleich zu den anderen beiden ethnischen Gruppen [UITTERLINDEN et al., 2004]. INGLES et al. (1997) fanden große Unterschiede zwischen den ethnischen Gruppen den poly(A)-Polymorphismus betreffend. Die kürzere Variante des Allels (n = 13-17) fand man bei Kaukasier deutlich häufiger als bei Afrikanern und nur sehr selten bei Asiaten [INGLES et al., 1997]. Massive Unterschiede gab es auch beim A-Allel des Cdx2-Polymorphismus. Nur 19% der Kaukasier besaßen dieses, jedoch 74% der Afrikaner [FANG et al., 2003].

Wie Tabelle 2 zeigt, unterscheiden sich die Bsm-Apa-Taq-Haplotypen in ihrer Häufigkeit zwischen den verschiedenen ethnischen Gruppen sehr deutlich. Man nimmt an, dass diese Unterschiede in der Häufigkeit der Allele zwischen ethnischen Gruppen höchstwahrscheinlich aus evolutionären Prozessen resultieren. Das Gleiche gilt auch für LD zwischen Polymorphismen und für diverse Haplotypen. Diese lassen möglicherweise Rückschlüsse auf die Abstammung menschlicher Bevölkerungsgruppen und auf Gen-Umwelt-Wechselwirkungen zu, bei denen bestimmte Genvarianten in der Evolution Vorteile für das Überleben und/oder die Fortpflanzung brachten. Bei relativ „alten“ Polymorphismen gibt es demnach nur geringe Variationen zwischen den verschiedenen ethnischen Gruppen, wohingegen sich bei „neueren“ Polymorphismen größere Unterschiede zeigen. Unter diesem Aspekt scheint der Cdx2-Polymorphismus ein relativ neuer und der FokI-RFLP ein eher alter Polymorphismus zu sein [UITTERLINDEN et al., 2004].

UITTERLINDEN et. al (2004) zeigten in ihrer Studie, dass es beträchtliche Unterschiede zwischen den verschiedenen ethnischen Gruppen gibt und es wichtig ist, Haplotypen zu definieren [UITTERLINDEN et al., 2004]. Es gibt allerdings nur sehr wenige Daten bezüglich der Häufigkeit von Allelen und Haplotypen in heterogenen Bevölkerungsgruppen [REZENDE et al., 2007].

REZENDE et al. (2007) haben in ihrer Studie nicht nur die Häufigkeit bestimmter Allele, sondern auch verschiedener Genotypen untersucht. Sie analysierten schwarze und weiße Individuen der brasilianischen Bevölkerung und verglichen die Ergebnisse ihrer Untersuchung auch mit den Resultaten des HapMap-Projektes [<http://www.hapmap.org>, Stand 27.09.2009] (vgl. Tabelle 3). Die heutige heterogene brasilianische Bevölkerung resultiert aus einer interethnischen Vermischung von Menschen verschiedener Kontinente inklusive Europäern, Afrikanern, Asiaten und autochthoner Indianer. REZENDE et al. (2007) untersuchten 220 Personen im Alter von

19 bis 56 Jahren. Diese wurden eingeteilt in 120 Personen, die sich selbst als schwarz und 100 Personen, die sich selbst als weiß bezeichneten. Personen, die sich diesbezüglich nicht eindeutig festlegten, wurden nicht in die Studie miteinbezogen [REZENDE et al., 2007].

	This study		HapMap project	
	Blacks	Whites	Blacks	Whites
<i>BsmI</i>				
Genotype	(N=120)	(N=100)	(N=59)	(N=60)
BB	14	15	14	23
Bb	46	51	32	42
bb	40	34	54	35
Allele	(N=240)	(N=200)	(N=118)	(N=120)
B	36	40	30	44
b	64	60	70	56
<i>ApaI</i>				
Genotype	(N=120)	(N=100)	(N=60)	(N=58)
AA	23	27	37	40
Aa	57	41	51	36
aa	20	32	12	24
Allele	(N=240)	(N=200)	(N=120)	(N=116)
A	49	47	62	58
a	51	53	38	42
<i>FokI</i>				
Genotype	(N=120)	(N=100)	(N=60)	(N=60)
FF	42	47	68	35
Ff	46	41	30	42
ff	12	12	2	23
Allele	(N=240)	(N=200)	(N=120)	(N=120)
F	65	67	83	56
f	35	33	17	44

Tabelle 3: Häufigkeit von Allelen und Genotypen (in %) in zwei verschiedenen ethnischen Gruppen im Vergleich zu Daten des HapMap-Projektes [REZENDE et al., 2007]

Für die Verteilung der VDR-Genotypen und -Allele der drei VDR-Genpolymorphismen (BsmI, ApaI, FokI) ergaben sich bei den untersuchten Brasilianern keine wesentlichen Unterschiede zwischen den zwei ethnischen Gruppen. Signifikante Unterschiede zeigten sich hingegen beim ApaI-RFLP, als man die Genotypen der schwarzen brasilianischen Bevölkerung mit der weißen Studienpopulation des HapMap-Projektes verglich. Gleiches beobachtete man für den FokI-RFLP, bei dem es diese signifikanten

Unterschiede sowohl für die Genotypen als auch für die Allele gab [REZENDE et al., 2007].

Diese Ergebnisse zeigen, dass Ethnie einen signifikanten Effekt auf die Verteilung von VDR-Genvarianten haben kann, aber nicht in allen Bevölkerungsgruppen haben muss. Das f-Allel des FokI-Polymorphismus etwa wurde sowohl von UITTERLINDEN et al. (2004) [UITTERLINDEN et al., 2004] als auch bei den untersuchten Personen des HapMap-Projektes bei Kaukasier deutlich häufiger gefunden als bei Afrikanern [<http://www.hapmap.org>, Stand 27.09.2009]. Diese Ergebnisse konnten bei den Untersuchungen in der ethnisch heterogenen brasilianischen Bevölkerung aber nicht repliziert werden [REZENDE et al., 2007].

	Haplotypes			This study		HapMap project	
	<i>BsmI</i>	<i>Apal</i>	<i>FokI</i>	Black	White	Black	White
H1	B	A	F	11.7	12.8	23.0	23.0
H2	B	A	f	6.2	6.1	21.0	6.0
H3	B	a	F	12.0	14.5	0	0
H4	B	a	f	6.3	7.0	0	0
H5	b	A	F	20.7	18.9	8.0	26.0
H6	b	A	f	11.0	9.1	5.0	7.6
H7	b	a	F	21.0	21.3	24.0	34.0
H8	b	a	f	11.1	10.3	19.0	3.4

Tabelle 4: Häufigkeit von Haplotypen (in %) in zwei verschiedenen ethnischen Gruppen im Vergleich zu Daten des HapMap-Projektes [REZENDE et al., 2007]

REZENDE et al. (2007) untersuchten auch die Häufigkeit, mit der verschiedene Haplotypen in den zwei ethnischen Gruppen vorkommen (vgl. Tabelle 4). Die zwei ethnischen Gruppen innerhalb der brasilianischen Bevölkerung unterschieden sich diesbezüglich nicht signifikant, sehr wohl jedoch die zwei Gruppen des HapMap-Projektes. Signifikante Unterschiede zeigten sich auch jeweils zwischen den zwei entsprechenden ethnischen Gruppen der Studie von REZENDE et al. (2007) und des HapMap-Projektes. Die Haplotypen H3 und H4 wurden im HapMap-Projekt sogar überhaupt nicht gefunden, obwohl beide Haplotypen unter den Brasilianern relativ verbreitet waren [REZENDE et al., 2007].

Diese Ergebnisse unterstützen auch die These von UITTERLINDEN et al. (2004), dass zwischen verschiedenen Bevölkerungsgruppen signifikante Unterschiede in der Haplotyp-Struktur bestehen. Der Grund dafür liegt möglicherweise aber nicht nur in der ethnisch heterogenen Bevölkerungsstruktur Brasiliens, sondern in der Evolution [UITTERLINDEN et al., 2004].

MIMBACAS et al. (2007) analysierten in ihrer Studie die Häufigkeit von Allelen und Genotypen der Bevölkerung Uruguays bei 500 Personen und verglichen die Ergebnisse mit anderen ethnischen Gruppen (vgl. Tabellen 5 und 6).

Tabelle 5 veranschaulicht die Verteilung der Allele der VDR-Genpolymorphismen FokI, BsmI und TaqI in der uruguayischen Bevölkerung, die das Resultat eines Gemisches europäischer (86-96%), afrikanischer (4-11%) und indianischer (1-7%) Vorfahren ist. Hier ergab sich folgende Prävalenz der VDR-Genpolymorphismen: Allel F = 48%, B= 35% und T= 64% [MIMBACAS et al., 2007].

Polymorphism	Alleles	
<i>FokI</i>	F	0.48
	f	0.52
<i>BsmI</i>	B	0.35
	b	0.65
<i>TaqI</i>	T	0.64
	t	0.36

*Tabelle 5: Häufigkeit von Allelen in der Bevölkerung Uruguays
[MIMBACAS et al., 2007]*

Die Allele f, b, T und die heterozygoten Genotypen wurden in der Bevölkerung Uruguays am häufigsten gefunden. Die meist beobachteten Haplotypen waren FfBbTt (26,5%) und FfbbTT (24,1%). Signifikante Unterschiede im Vergleich zu anderen Bevölkerungsgruppen fand man beim FokI-Polymorphismus. Bei BsmI und TaqI ergaben sich ähnliche Häufigkeiten wie bei den französischen und afroamerikanischen Studiengruppen (vgl. Tabelle 6) [MIMBACAS et al., 2007].

Ethnic groups	Polymorphisms			P value
	FF	Ff	ff	
Italian	37.0	51.7	11.3	<0.05
African-American	61.0	35.0	4.0	<0.05
White	40.0	45.0	15.0	<0.05
Japanese	33.0	55.0	12.0	<0.05
Uruguayan	17.0	64.0	19.0	
	BB	Bb	bb	
Italian	24.8	49.6	25.6	<0.05
African-American	10.0	42.0	48.0	NS
White	19.0	46.0	35.0	<0.05
Japanese	2.4	31.0	66.6	<0.05
French	13.0	53.0	34.0	NS
Uruguayan	6.0	57.0	37.0	
	TT	Tt	tt	
African-American	45.0	46.0	9.0	NS
White	36.0	46.0	18.0	NS
Japanese	77.0	22.4	0.6	<0.05
French	42.4	44.4	13.1	NS
Uruguayan	40.0	48.0	12.0	

NS = not significant.

Tabelle 6: Verteilung der Genotypen in der Bevölkerung Uruguays und in anderen ethnischen Gruppen [MIMBACAS et al., 2007]

7 Osteoporose

Osteoporose zeichnet sich durch eine verringerte Knochenmasse und eine poröse Knochenstruktur aus und führt letztendlich zu Knochenbrüchen. Diese systemische Erkrankung des Skelettsystems ist weltweit ein schwerwiegendes gesundheitliches und aufgrund der dadurch verursachten Kosten auch ein wirtschaftliches Problem [CUMMINGS und MELTON, 2002].

Bei der Entstehung von Osteoporose spielen genetische Faktoren eine wichtige Rolle. Zwillings- und Familienstudien führten zu der Annahme, dass 50-85% der Varianz der Knochenmasse genetisch determiniert sind [POCOCK et al., 1987]. Aber auch Umweltfaktoren wie Hormone, Ernährung, körperliche Betätigung und Lifestyle-Faktoren beeinflussen die Knochendichte (BMD) und somit das Osteoporoserisiko [BONJOUR et al., 1997].

7.1 Klassifikation

7.1.1 Begriffsdefinition: Osteoporose

Osteoporose wird laut „Consensus Development Conference on Osteoporosis (1993)“ folgendermaßen definiert: „Systemische Erkrankung des Skelettsystems mit Verringerung der Knochenmasse und Veränderung der Mikroarchitektur des Knochengewebes, verbunden mit einer sich daraus ergebenden Abnahme der Knochenfestigkeit und mit gesteigertem Risiko für Frakturen an Prädilektionsstellen im Bereich der Wirbelsäule und der Extremitätenknochen“ [CDC, 1993].

7.1.2 WHO-Kriterien für Osteoporose

Die WHO (World Health Organization) hat Diagnosekriterien für die Definition von Osteoporose festgelegt (vgl. Tabelle 7). Diese Kriterien wurden aufgrund von Knochendichtemessungen mittels DXA (Dual Energy X-Ray Absorptiometry) festgelegt [WHO, 1994].

Befund	T-Score*	Fraktur(risiko)
Normal	$\geq 1,0$	Kein erhöhtes Frakturrisiko
Osteopenie	$-1,0$ bis $-2,5$	Mäßig erhöhtes Frakturrisiko
Osteoporose	$\leq -2,5$	Hohes Frakturrisiko
Schwere Osteoporose	$\leq -2,5$	Bereits Fraktur(en)

* der T-Wert beschreibt das Ausmaß der Standardabweichung vom mittleren Normwert eines knochengesunden Kollektivs junger Erwachsener kaukasischer Ethnizität

Tabelle 7: WHO-Diagnosekriterien [WHO, 1994]

7.1.3 Primäre und Sekundäre Osteoporose

Ausschlaggebend für die Unterteilung in primäre und sekundäre Osteoporose ist das Kriterium einer ursächlichen Krankheit, die für die Entstehung der Osteoporose verantwortlich ist. Existiert eine derartige die Knochen beeinflussende Erkrankung oder kann eine langfristige Medikamenteneinnahme dafür verantwortlich gemacht werden, spricht man von sekundärer Osteoporose. Solche ursächlichen Krankheiten wären zum Beispiel Hypogonadismus, Hyperkortisolismus (Cushing-Syndrom), Glukokortikoidbehandlung, Hyperparathyreoidismus, Hyperthyreose, Hyperprolaktinämie, Rheumatische Erkrankungen, Diabetes mellitus Typ 1 oder Alkoholmissbrauch. Entsteht die Osteoporose hingegen, wie bei den meisten Menschen, durch altersbedingten Verlust von Knochenmasse, spricht man von primärer Osteoporose. Diese wird häufig auch als Typ-II-Osteoporose (früher auch senile Osteoporose genannt) bezeichnet. Bei einem postmenopausalen Knochenmasseverlust bei Frauen aufgrund eines Östrogendefizits nach der Menopause spricht man hingegen oft von der Typ-I-Osteoporose [WEICHSELBAUM et al., 2007].

7.2 Risikofaktoren

Das Risiko, an Osteoporose zu erkranken, hängt von einer Vielzahl von Faktoren ab. Manche dieser Risikofaktoren sind unbeeinflussbar wie etwa Alter, Geschlecht oder genetische Prädisposition. Aber auch Hormone, Körpergewicht, Ernährung, körperliche Aktivität, Alkohol- und Nikotinkonsum und Medikamenteneinnahme haben Auswirkungen auf die Knochengesundheit des Menschen (vgl. Tabelle 8) [WEICHSELBAUM et al., 2007].

1. GENETISCHE URSACHEN:
 - Ethnische Zugehörigkeit
 - Geschlecht
 - U. a. graziiler Körperbau
 - Osteoporose der Eltern
 - Genpolymorphismen
2. LEBENSSTIL:
 - Rauchen
 - Übermäßiger Alkoholkonsum
 - Niedriges Körpergewicht
 - Bewegungsarmut
 - Längere Immobilisationsphasen (v. a. während der Pubertät)
 - Ernährung (calciumarm)
 - Vitamin-D-Mangel
 - Mangelnde Sonnenlichtexposition
3. HORMONELLE VERÄNDERUNGEN:
 - Primäre oder sekundäre Oligoamenorrhoe
 - Frühzeitige Menopause
 - Hypogonadismus
 - Schilddrüsenüberfunktion
4. BEHANDLUNG MIT MEDIKAMENTEN, WELCHE DEN KNOCHENSTOFFWECHSEL NEGATIV BEEINFLUSSEN::
 beispielsweise Glukokortikoide, LH-RH-Agonisten/Antagonisten, Aromataseinhibitoren, Antiandrogene, Antiepileptika (Hydantoine cave Poromalazie), Heparin, Glithazone, Immunsuppressiva (z. B. Cyclosporine), Zytostatika

Tabelle 8: Risikofaktoren für Osteoporose [WEICHSELBAUM et al., 2007]

7.3 Epidemiologie der Osteoporose

In den letzten Jahren ist die Prävalenz der Osteoporose und der damit verbundenen Frakturen stark gestiegen. Die Gründe dafür sind einerseits die demographische Veränderung und andererseits die Zunahme von Risikofaktoren für Osteoporose [WEICHSELBAUM et al., 2007].

7.3.1 International

Weltweit wurde die Zahl der durch Osteoporose erlittenen Frakturen, vor allem Hüft-, Unterarm- und Wirbelfrakturen, im Jahr 2000 auf 9,0 Millionen geschätzt [JOHNELL und KANIS, 2006].

Da Hüftfrakturen stark mit einer verringerten Knochendichte assoziiert sind, wurden sie international zu einem guten Indikator für Osteoporose. Sie ermöglichen einen internationalen Vergleich, da sie fast immer im Krankenhaus behandelt und somit dokumentiert werden [CUMMINGS und MELTON, 2002].

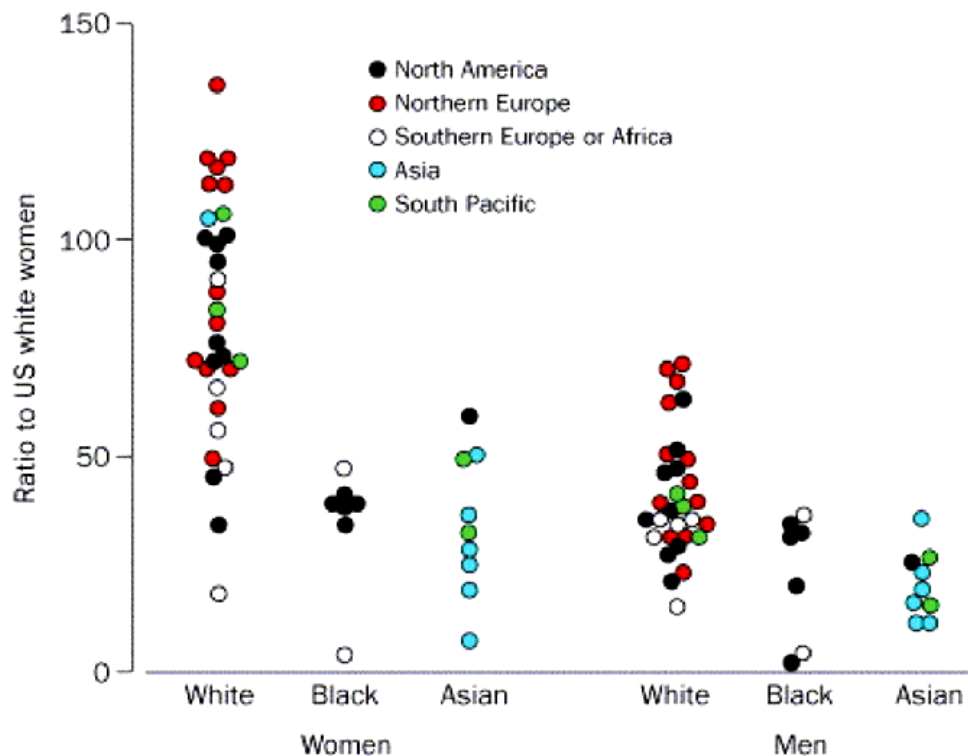


Abbildung 22: Weltweite Häufigkeit von Hüftfrakturen als Verhältnis der Raten zu der bei weißen Frauen desselben Alters in den USA
[CUMMINGS und MELTON, 2002]

Wie in Abbildung 22 dargestellt gibt es weltweit sehr große Unterschiede bezüglich des Auftretens von Hüftfrakturen. So unterscheiden sich etwa die altersstandardisierten Inzidenzraten zwischen weißen Frauen aus Nordeuropa gravierend von denen weißer Frauen Amerikas oder Ozeaniens. Auch innerhalb Europas differieren die Zahlen bis um das Siebenfache [CUMMINGS und MELTON, 2002].

Die höchsten Inzidenzraten innerhalb Europas weisen Schweden, die Slowakei und Österreich auf, die niedrigsten die Mittelmeerländer Frankreich, Spanien und Portugal [IOF, 2004]. Ebenso geht aus Abbildung 22 hervor, dass die Inzidenz von Hüftfrakturen in Europa und den USA bei Frauen fast doppelt so hoch ist wie bei Männern [CUMMINGS und MELTON, 2002].

SAMBROOK und COOPER (2006) rechnen sogar mit einem Anstieg der Inzidenz von Hüftfrakturen von 1,7 Millionen im Jahr 1990 auf 6,3 Millionen im Jahr 2050 [SAMBROOK und COOPER, 2006].

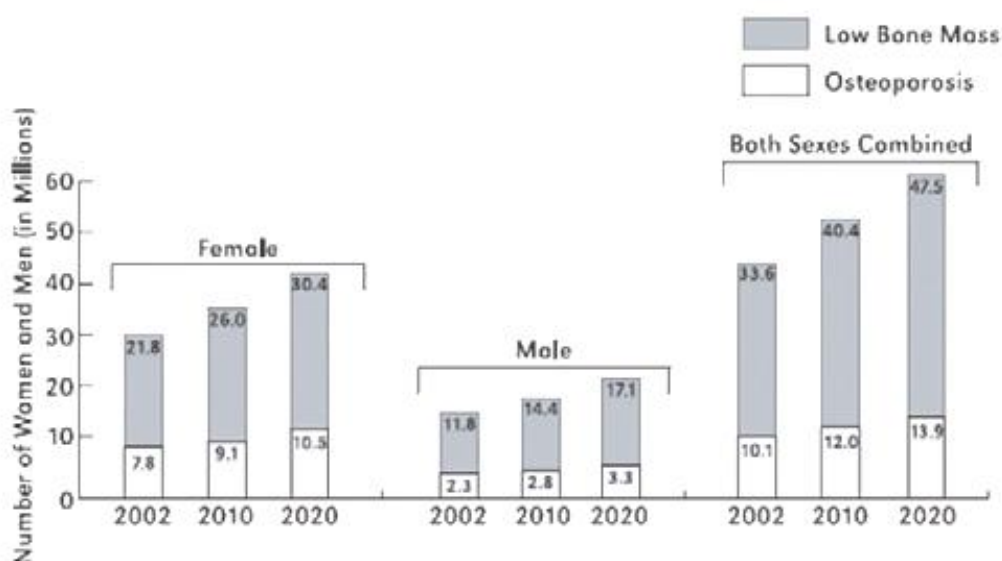


Abbildung 23: Projizierte Prävalenz von Osteoporose und/oder niedriger Knochendichte (Low Bone Mass) bei amerikanischen Frauen und Männern im Alter von über 50 Jahren (NOF, 2002)

Abbildung 23 zeigt die von der National Osteoporosis Foundation angestellten Berechnungen zur Entwicklung der Osteoporosehäufigkeit in den USA. Sie prognostizieren für das Jahr 2020 eine Steigerung der Osteoporoseprävalenz auf 10,5 Millionen Frauen und 3,3 Millionen Männern im Vergleich zu 7,8 Millionen bzw. 2,3 Millionen im Jahr 2002 [NOF, 2002].

7.3.2 Österreich

Die Daten zur Prävalenz von Osteoporose in Österreich stützen sich hauptsächlich auf Krankenhausentlassungsstatistiken und sind folglich nur Schätzungen. Daher werden häufig Daten der deutschen Bevölkerung, die der österreichischen demographisch ähnelt, herangezogen. Auf diese Weise erhält man eine Schätzung von etwa 740.000 Osteoporose-Betroffenen der über 50-jährigen Menschen in Österreich. Davon entfallen 617.000 Fälle auf Frauen [WEICHSELBAUM und DORNER, 2007 HAUSSLER et al., 2007].

BRÖLL et al. (2007) schätzen, dass bei einer Annahme der Osteoporoseprävalenz von 30%, in Österreich etwa 470.000 Frauen über 50 Jahren an Osteoporose leiden. In ärztlicher Behandlung befinden sich allerdings in Österreich deswegen nur 200.000 Frauen [BRÖLL, et al., 2007].

1.382 Männer und 8.080 Frauen wurden im Jahr 2005 aus österreichischen Krankenhäusern mit der Hauptdiagnose Osteoporose entlassen, 9.711 Männer und 54.840 Frauen mit Osteoporose als Nebendiagnose.

Sowohl bei Männern als auch bei Frauen wurde die Haupt- oder Nebendiagnose Osteoporose am häufigsten in den Bundesländern Steiermark, Wien, Salzburg, Kärnten und Oberösterreich diagnostiziert, am seltensten in Vorarlberg und Tirol (vgl. Abbildungen 24 und 25) [WEICHSELBAUM et al., 2007].

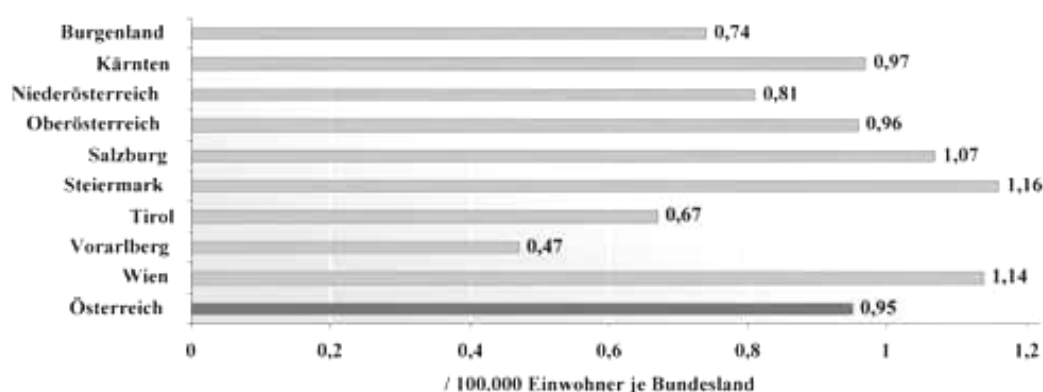


Abbildung 24: Spitalsentlassungen von männlichen Fällen mit Osteoporose als Haupt- oder Nebendiagnose als Anteil an allen Krankenhausentlassungen nach Bundesland [WEICHSELBAUM et al., 2007]

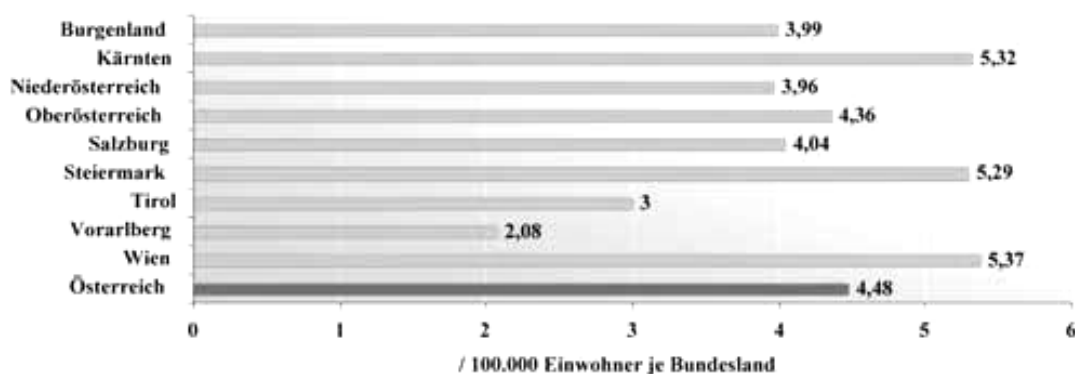


Abbildung 25: Spitalsentlassungen von weiblichen Fällen mit Osteoporose als Haupt- oder Nebendiagnose als Anteil an allen Krankenhausentlassungen nach Bundesland [WEICHSELBAUM et al., 2007]

7.4 Osteoporose und Genetik

Die Entstehung von Osteoporose wird stark beeinflusst von genetischen Faktoren. Die Knochendichte (BMD) wird bestimmt durch die peak bone mass (Maximalwert der Knochenmineraldichte eines Menschen) und dem Ausmaß des Knochenabbaus. Zwillings- und Familienstudien deuten darauf hin, dass die Varianz der BMD zu 50-85% von genetischen Faktoren bestimmt wird [POCOCK et al., 1987].

Eine niedrige BMD resultierte bei vielen Studien aus kombinierten Effekten verschiedener Gene und ihrer Interaktion mit Umweltfaktoren. Gelegentlich war die niedrige Knochendichte aber auch die Folge einer Mutation eines einzelnen Gens [ALBAGHA und RALSTON, 2003].

Gene, die beim Menschen eine Rolle bei der Regulation der Knochenmasse spielen, sind die Gene der Sexualhormone und ihrer Rezeptoren, der Zytokine und ihrer Rezeptoren, der calciumregulierenden Hormone, der Wachstumsfaktoren und des Kollagens [LAU et al., 2005].

Es gibt verschiedene Möglichkeiten Gene zu identifizieren, die mit der Entstehung von Osteoporose assoziiert sind:

Linkage Studies:

LD beschreibt das Phänomen, bei dem nahe beisammen liegende Gene gemeinsam vererbt werden können (vgl. Kapitel 6.3). Linkage Studies sind eine gute Methode zur Identifizierung von Genen, die für monogenetische Erkrankungen verantwortlich sind. Sie werden auch eingesetzt, um Chromosomenregionen mit bestimmten Genen zu identifizieren, die quantitative Merkmale wie die Knochenmasse regulieren. Die Vorteile der Linkage Studies bestehen einerseits darin, dass sie eine Chance bieten, neue molekulare Mechanismen zu finden, die den Knochenmetabolismus steuern, und andererseits darin, dass sie nicht durch Mischpopulationen beeinflusst werden. Ein großer Nachteil ist allerdings ihre geringe statistische Aussagekraft. Die Popularität dieses Studientyps nimmt aufgrund der Verfügbarkeit von Genome Wide Association Scans (GWAS) immer mehr ab [WILLIAMS und SPECTOR, 2006].

Candidate Gene Studies:

Candidate Gene Studies sind weit verbreitet, da sie leicht durchzuführen sind und auch geringfügige Effekte von Allelen feststellen können. Nachteilig beeinflusst werden sie durch genetische Heterogenität und Mischpopulationen. Darüber hinaus bedeutet eine Assoziation zwischen einem Kandidatengen und der BMD nicht notwendigerweise, dass das Gen ursächlich verantwortlich für den beobachteten Effekt ist, da auch LD mit einem nahe liegenden Gen bestehen könnte [WILLIAMS und SPECTOR, 2006].

Derartige Kandidatengene, die im Zusammenhang mit Osteoporose untersucht wurden, sind:

- Gene, die Zytokine und Wachstumsfaktoren beeinflussen.
- Gene, die für Komponenten der Knochenmatrix kodieren.
- Gene, die für Rezeptoren der calciumregulierenden Hormone kodieren [LIU et al., 2003].

Gene Expression Studies:

Gewebe von Versuchspersonen mit und ohne ein bestimmtes Merkmal werden auf Unterschiede in der Genexpression untersucht. Eine größere Aussagekraft erhält man bei diesen Studien, wenn der genetische Background der Versuchspersonen mit und ohne Merkmal ähnlich oder wie bei eineiigen Zwillingen sogar gleich ist [WILLIAMS und SPECTOR, 2006].

Pooling Studies:

Eine weitere neuere Methode, mit Osteoporose assoziierte Gene zu finden, sind Pooling Studies. Sie sollen die Aussagekraft der Studien erhöhen und die Kosteneffektivität verbessern. Bei dieser Art von Assoziationsstudie werden DNA-Pools von 200-300 Versuchspersonen mit und ohne Merkmal (z.B. BMD) gegenübergestellt und verglichen [WILLIAMS und SPECTOR, 2006].

RENELAND et al. (2005) zogen für ihre Studie zum Beispiel 25.000 SNPs von 16.000 Genen von Frauen heran, die sie nach dem Merkmal hohe oder niedrige BMD in Gruppen einteilten. Diese Studie zeigt das große Potential dieser Methode, aber es besteht die dringende Notwendigkeit der Replikation [RENELAND et al., 2005].

Genome Wide Association Scans (GWAS)

Während die geschätzte Anzahl der menschlichen Gene kontinuierlich sinkt, steigt die Zahl der bekannten SNPs ständig. Mehr als 30.000 nicht-synonyme SNPs sind bereits bekannt. Die Verwendung von Genome Wide Association Scans beginnt bereits neue Gene für andere komplexe genetische Merkmale zu liefern, wie etwa für Diabetes [SLADEK et al., 2007].

Diese neue Technologie wird es ermöglichen, die steigende Zahl an Polymorphismen, wie auch die Ebene der Genexpression und möglicherweise sogar Proteine und metabolische Profile gleichzeitig zu untersuchen [WILLIAMS und SPECTOR, 2006].

Osteoporose ist ein perfektes Beispiel für eine komplexe genetische Erkrankung. Die mit dieser Erkrankung assoziierten Phänotypen sind möglicherweise zu 50-85% vererbt, und eine Vielzahl an Genen ist höchstwahrscheinlich in die Pathogenese involviert.

Einige Kandidatengene wie etwa das VDR-Gen, das COLIA1-Gen und das ER-Gen wurden identifiziert. Man fand heraus, dass sie eine Rolle bei der Regulation der BMD spielen, möglicherweise aber in einem doch sehr geringen Ausmaß [WILLIAMS und SPECTOR, 2006].

8 Assoziation diverser VDR-Genpolymorphismen mit Knochenmetabolismus und Osteoporose

Wie bereits in Kapitel 2 beschrieben, ist Vitamin D in eine Vielzahl endokriner Wege eingebunden, die unter anderem in Beziehung zum Calciummetabolismus, zur Immunmodulation, zur Regulierung des Zellwachstums und der Zelldifferenzierung stehen [HAUSSLER et al., 1998].

Das VDR-Gen ist daher ein so genanntes pleiotropes „Master-Gen“, was bedeutet, dass dieses eine Gen mit verschiedenen Eigenschaften und phänotypischen Merkmalen wie zum Beispiel Osteoarthritis, Hyperparathyreoidismus oder Krebs assoziiert wird. Häufig stellen aber verschiedene Allele dieses Gens die so genannten Risiko-Allele dar. Darüber hinaus muss man berücksichtigen, dass die möglichen unterschiedlichen Effekte, die aus dieser Pleiotropie hervorgehen, einen Einfluss auf die beobachteten Assoziationen ausüben. So können etwa VDR-Genvarianten den Calciummetabolismus durch veränderte Absorption im Darm und zur gleichen Zeit aber auch den Knochenumsatz oder das Auftreten von Osteoporose beeinflussen. Das Resultat davon ist in der Folge möglicherweise eine veränderte BMD, gemessen an einer bestimmten Stelle, bei einer Person bestimmten Alters und mit einer bestimmten Ernährung [UITTERLINDEN et al., 2002].

Die Interpretation von Studien bezüglich des VDR-Gens wird weiters gravierend erschwert durch die Tatsache, dass die meisten dafür herangezogenen Polymorphismen anonym sind, ihre funktionelle Wirkung also nicht bekannt ist. Die plausibelste Erklärung für beobachtete Assoziationen ist daher eine Verbindung der Allele eines solchen anonymen Polymorphismus mit tatsächlich funktionellen Sequenzveränderungen an einer anderen Stelle des Gens. Durch die komplexe Organisation des VDR-Gens wird es schwierig werden, diese funktionellen Polymorphismen zukünftig zu identifizieren. Trotzdem wurden diese anonymen Polymorphismen wie FokI, BsmI, ApaI, TaqI, Cdx2 und auch Bsm-Apa-Taq-Haplotypen in zahlreichen Studien (In-Vitro-Zellstudien, molekularbiologische In-

Vitro-Studien, In-Vivo-Messungen biochemischer Marker, In-Vivo-Messungen von Reaktionen auf Behandlung mit Vitamin D, Calcium oder Bisphosphonaten) für Analysen herangezogen [UITTERLINDEN et al., 2002].

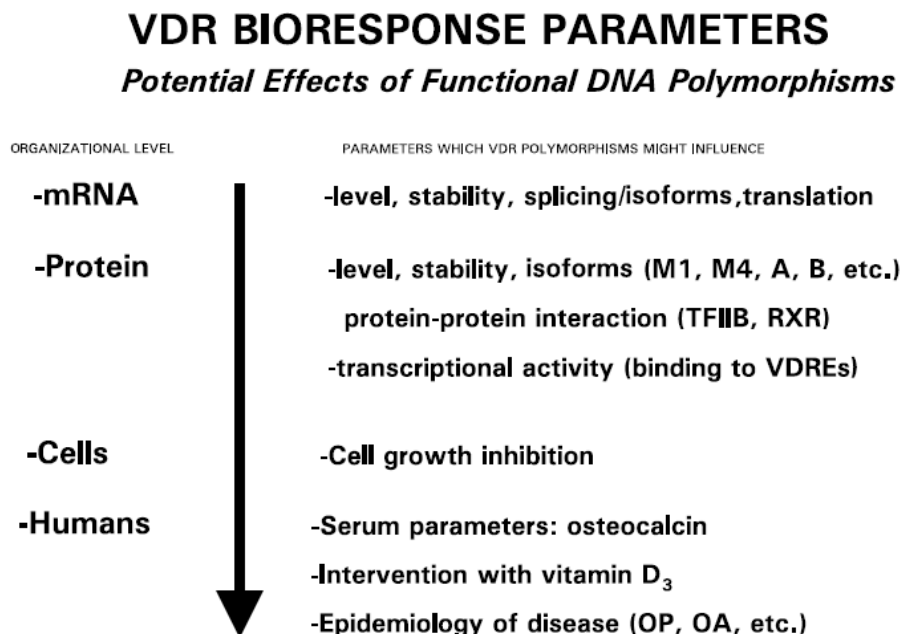


Abbildung 26: Funktionelle Wirkungen von VDR-Genpolymorphismen auf verschiedenen Ebenen der biologischen Organisation [UITTERLINDEN et al., 2002].

Abbildung 26 zeigt die verschiedenen Ebenen der biologischen Organisation, auf denen funktionelle Effekte von VDR-Polymorphismen beobachtet und gemessen werden können. Im Idealfall zeigt ein Allel eines funktionellen Polymorphismus durchgängig Effekte auf allen Organisationsebenen (vgl. Abbildung 26).

In bisher durchgeführten Studien war es nicht möglich zu zeigen, dass ein bestimmtes Allel mit all diesen verschiedenen Parametern assoziiert ist. Man verwendete in diesen Studien allerdings verschiedene Zelltypen und Versuchsbedingungen und nutzte anonyme anstatt funktioneller Polymorphismen, um Versuchspersonen bzw. Zellen nach Genotypen einzuteilen und erhielt daher oft widersprüchliche Ergebnisse. Um die molekularen Mechanismen aufzuklären, die den beobachteten Assoziationen zwischen VDR-Genpolymorphismen und diverser phänotypischer Merkmale zugrunde liegen,

wird es nötig sein, in weiteren Studien funktionelle Polymorphismen zu identifizieren und klar definierte Zelltypen zu verwenden [UITTERLINDEN et al., 2004].

8.1 Erste Studie: Assoziation von VDR-Allelen mit Osteoporose

Da Vitamin D eine wesentliche Rolle in der Calcium- und Phosphathomöostase und im Knochenmetabolismus spielt und der VDR die Wirkung seines Liganden vermittelt, war das VDR-Gen das erste und naheliegendste Kandidatengen im Zusammenhang mit Knochenmasse und Osteoporose [FANG et al., 2006].

MORRISON et al (1994) veröffentlichten eine der ersten Studien bezüglich der Genetik komplexer Erkrankungen und untersuchten darin die Osteoporose. Sie stellten fest, dass 75% der genetischen Variabilität der BMD auf eine Allelvariante des VDR zurückzuführen war. Allerdings war diese Studie relativ klein. Es wurden 125 Zwillingspaare und 311 postmenopausale Frauen, die nicht miteinander verwandt waren, untersucht. Man konzentrierte sich auf den BsmI-RFLP in Intron 8 und es zeigte sich eine signifikant verminderte BMD der Lendenwirbelsäule und des proximalen Femurs (Oberschenkelknochen) in Verbindung mit dem B-Allel [MORRISON et al., 1994].

Später wurden Fehler bei der Genotypisierung entdeckt, und die Ergebnisse mussten modifiziert werden [UITTERLINDEN et al., 2006]. Dennoch folgten darauf hunderte Studien, die die Verbindung zwischen VDR-Genpolymorphismen und Osteoporose bzw. BMD und Knochenbrüchen untersuchten [FANG et al., 2006].

8.2 Frühkindliches Wachstum und Skelettgröße

Vitamin D reguliert unter anderem die Differenzierung und Proliferation der Zellen, die für das Skelettwachstum und generell für das Körperwachstum verantwortlich sind. Mäuse, denen das VDR-Gen fehlt, zeigen ernste Wachstumsverzögerungen [YOSHIZAWA et al., 1997].

Einige Studien belegen einen Zusammenhang von VDR-Genvarianten mit frühkindlichem Wachstum und Skelettgröße, aber diese Ergebnisse waren sehr

unbeständig, höchstwahrscheinlich aufgrund der sehr geringen Anzahl an Versuchspersonen [ZMUDA et al., 2000].

TAO et al. (1998) untersuchten in ihrer Studie 114 australische Kinder (davon 68 Mädchen) im Alter von sieben Jahren. Mädchen mit dem Genotyp TT waren 3,9 kg schwerer ($p = 0,03$) und 4,1 cm größer ($p = 0,008$) als jene Mädchen, die Genotyp tt aufwiesen. Keine signifikanten Unterschiede wurden hingegen bei den Buben gefunden (vgl. Tabelle 9) [TAO et al., 1998].

	<i>Genotype</i>			<i>p value</i>
	<i>TT</i>	<i>Tt</i>	<i>tt</i>	
<i>Girls (n = 68)</i>				
n	24	33	11	
Percentage	35.3	48.5	16.2	
Age (years)	7.31 (0.03)	7.26 (0.02)	7.27 (0.04)	0.33
Weight (kg)	27.65 (0.95)	25.29 (0.75)	23.7 (11.04)	0.03
Height (cm)	126.72 (1.02)	123.31 (0.60)	122.64 (1.62)	0.008
Body mass index (kg/m ²)	17.47 (0.47)	16.59 (0.38)	15.26 (0.41)	0.10
Birth weight (kg)	3.43 (0.10)	3.22 (0.79)	3.28 (1.29)	0.27
Birth length (cm)	49.71 (0.42)	49.07 (0.39)	49.04 (0.85)	0.51
Midparental height (cm)	163.79 (1.52)	164.31 (0.89)	163.35 (1.58)	0.89
<i>Boys (n = 46)</i>				
n	11	26	9	
Percentage	23.9	56.5	19.5	
Age (years)	7.28 (0.03)	7.28 (0.01)	7.30 (0.01)	0.85
Weight ((kg)	26.07 (1.40)	26.65 (1.39)	27.27 (1.97)	0.91
Height (cm)	125.12 (2.00)	125.05 (1.38)	127.01 (2.86)	0.77
Body mass index (kg/m ²)	16.58 (1.21)	16.83 (1.05)	16.80 (1.31)	0.97
Birth weight (kg)	3.78 (0.15)	3.52 (0.10)	3.28 (0.13)	0.10
Birth length (cm)	51.22 (0.91)	50.36 (0.43)	50.00 (0.89)	0.52
Midparental height (cm)	177.17 (2.02)	175.81 (1.07)	171.92 (6.32)	0.38

Values are mean (SE). p value using ANOVA test.

Tabelle 9: Merkmale der Versuchspersonen [TAO et al., 1998]

KEEN et al. (1997) kamen zu einem anderen Ergebnis. In einer retrospektiven Studie untersuchten sie 66 britische Frauen mit einem Durchschnittsalter von 65,5 Jahren, von denen detaillierte Aufzeichnungen der Geburtsdaten verfügbar waren. Sie stellten einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem TaqI-RFLP und dem Gewicht der Frauen im Alter von einem Jahr fest. Im Gegensatz zu der Studie von TAO et al. (1998) war hier das Gewicht der Frauen mit dem Genotyp TT signifikant niedriger (vgl. Abbildung 27) [KEEN et al., 1997].

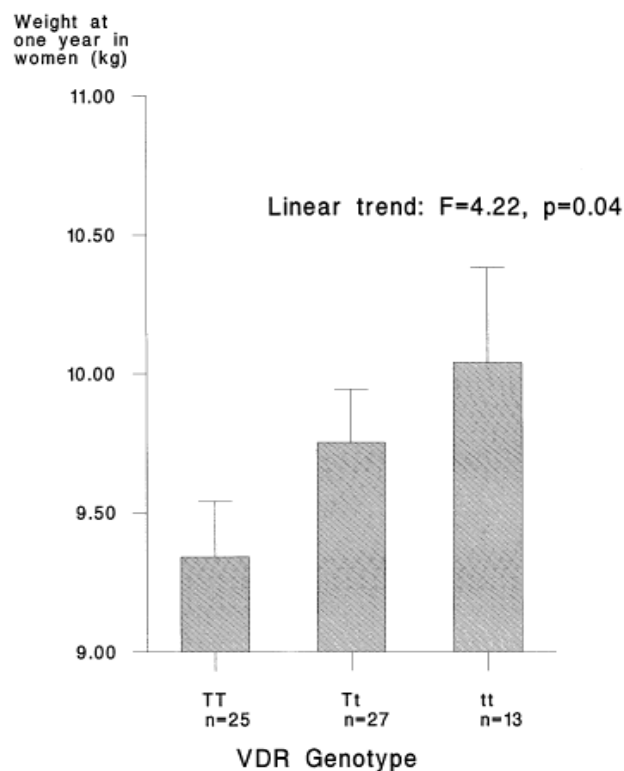


Abbildung 27: Körpergewicht britischer Frauen im Alter von einem Jahr
[KEEN et al., 1997]

Möglicherweise sind die widersprüchlichen Ergebnisse dieser Studien durch die Unterschiede in Alter und Herkunft zu erklären [ZMUDA et al., 2000].

Den BsmI-RFLP untersuchten SUAREZ et al. (1997) im Bezug auf das frühkindliche Wachstum. 589 gesunde Kinder aus Frankreich, die sich betreffend Alter, Ernährung und Vitamin D-Status glichen, wurden untersucht. Es wurden signifikante Assoziationen zwischen anthropometrischen Daten und VDR-Genotypen gefunden. Bei der Gruppe der zehn Monate alten Kinder wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt, mit Ausnahme des deutlich niedrigeren BMI (Body-Mass-Index) bei den Mädchen des bb-Genotyps im Vergleich zu den Mädchen des BB-Genotyps. Deutliche Unterschiede gab es allerdings in der Gruppe der zweijährigen Kinder. Mädchen des BB-Genotyps wiesen signifikant höhere Werte für die Körperlänge und das Körpergewicht im Vergleich zu Mädchen des bb-Genotyps auf. Umgekehrt verzeichneten die zweijährigen Buben des BB-Genotyps signifikant niedrigere Werte für Körpergewicht und BMI im Vergleich zu den Buben mit Bb- oder bb-Genotyp.

Geschlechtsbedingte Unterschiede bei Körpergröße und –gewicht wurden nur für Kinder mit heterozygotem Genotyp ($p < 0,003$) und mit bb-Genotyp ($p < 0,003$) festgestellt [SUAREZ et al., 1997].

	Age (months)	Length (cm)	Weight (kg)	BMI
10-month-old				
Girls				
BB	10.2 ± 0.9 (17)	70.8 ± 2.8	9.0 ± 0.8	17.9 ± 1.5
Bb	10.2 ± 0.7 (36)	71.2 ± 2.4	9.0 ± 0.7	17.7 ± 1.2
bb	10.4 ± 1.0 (20)	72.3 ± 2.8	8.9 ± 0.8	$17.0 \pm 1.2^{a,d}$
Boys				
BB	10.2 ± 0.4 (15)	74.5 ± 2.5	10.0 ± 1.1	18.0 ± 1.3
Bb	10.2 ± 0.6 (40)	74.0 ± 2.2	9.9 ± 0.9	17.7 ± 1.2
bb	10.2 ± 0.9 (34)	73.3 ± 2.3	9.6 ± 0.8	17.9 ± 1.6
2-year-old				
Girls				
BB	23.2 ± 1.2 (18)	86.7 ± 3.0	12.5 ± 1.7	16.6 ± 2.1
Bb	22.7 ± 1.1 (58)	85.4 ± 2.8	12.0 ± 1.1	16.4 ± 1.3
bb	23.0 ± 1.2 (43)	84.7 ± 3.1^a	$11.5 \pm 1.1^{b,e}$	16.1 ± 1.3
Boys				
BB	23.1 ± 1.1 (18)	86.4 ± 2.7	11.7 ± 1.1	15.6 ± 1.4
Bb	23.1 ± 1.4 (67)	87.1 ± 3.0	12.7 ± 1.5^b	16.7 ± 1.4^b
bb	22.8 ± 1.0 (57)	86.8 ± 3.4	12.8 ± 1.7^b	17.0 ± 1.4^c

^a $P < 0.05$.

^b $P < 0.01$.

^c $P < 0.001$ as compared with BB infants of same age and sex (unpaired Student's t test).

^d $P < 0.05$ and ^e $P < 0.01$ as compared with Bb infants of the same age and sex.

(), Number of infants in each group.

Tabelle 10: Anthropometrie und BsmI-RFLP bei Kindern im Alter von zehn Monaten bzw. zwei Jahren [modifiziert nach SUAREZ et al., 1997]

Eine geringere Körpergröße, verringertes Wachstum in der Jugend und eine kleinere Statur im Erwachsenenalter für Buben des BB-Genotyps bestätigte auch eine weitere Studie von LORENTZON et al. (2000) [LORENTZON et al., 2000].

All diese Daten deuten darauf hin, dass Variationen des VDR-Gens Auswirkungen auf das intrauterine, das frühkindliche und das jugendliche Wachstum haben, und dass dieser Effekt möglicherweise durch das Geschlecht des Kindes beeinflusst wird [ZMUDA et al., 2000].

8.3 Knochenmasse und Knochendichte

Der Studie von MORRISON et al. (1994) folgten zahlreiche Studien über den Zusammenhang zwischen BsmI-RFLP und BMD mit sehr widersprüchlichen Ergebnissen. Einige bestätigten diese Assoziation und stellten Unterschiede in der BMD von 4-13% zwischen BB- und bb-Genotyp fest [GENNARI et al., 1998, SPECTOR et al., 1995, TAMAI et al., 1997, TOKITA et al., 1996, VANDEVYVER et al., 1997].

Einige Studien fanden hingegen keinen signifikanten Zusammenhang zwischen VDR-Allelen und BMD [GARNERO et al., 1996, GARNERO et al., 1995, HANSEN et al., 1998, JORGENSEN et al., 1998]. Andere wiederum kamen zum exakt gegenteiligen Ergebnis und berichteten über eine höhere BMD bei Personen des BB-Genotyps im Vergleich zu Personen des bb-Genotyps [HOUSTON et al., 1996, SALAMONE et al., 1996, UITTERLINDEN et al., 1996].

Zwei große Meta-Analysen [COOPER und UMBACH, 1996, GONG et al., 1999] bestätigten die Beteiligung der Varianten des BsmI-RFLP an den BMD-Werten, wenn auch in einem viel geringeren Ausmaß als ursprünglich angenommen. COOPER und UMBACH (1996) analysierten 16 Studien mit insgesamt mehr als 3.600 Versuchspersonen. Personen mit dem Genotyp BB wiesen im Vergleich zu jenen des bb-Genotyps eine um 2,4% geringere Knochenmasse in der Hüfte und eine um 2,5% niedrigere in der Wirbelsäule auf [COOPER und UMBACH, 1996].

GONG et al. (1999) fassten in ihrer Analyse sogar 75 Studien mit mehr als 14.000 Personen zusammen. Sie kamen ebenfalls zu dem Ergebnis, dass die VDR-Allele B, A und t mit einer niedrigeren Hüft- und Wirbelsäulenknochenmasse zusammenhängen. Signifikante Assoziationen wurden häufiger bei prä- als bei postmenopausalen Frauen gefunden [GONG et al., 1999].

Einige Studien untersuchten auch den Zusammenhang zwischen FokI-RFLP und Knochenmasse. GROSS et al. (1996) fanden bei 100 postmenopausalen mexikanisch-amerikanischen Frauen des ff-Genotyps eine um 12,8% niedrigere BMD im Bereich der Lendenwirbelsäule als bei jenen des FF-Genotyps ($p = 0,01$). Die BMD der heterozygoten Studienpopulation lag dazwischen. Bei der Knochenmasse des

Oberschenkelhalses bzw. des Unterarms konnten keine signifikanten Unterschiede im Bezug auf den Genotyp der Versuchspersonen festgestellt werden [GROSS et al., 1996].

Der Großteil der darauf folgenden Studien wurde mit prämenopausalen Frauen oder mit Mädchen verschiedener ethnischer Herkunft durchgeführt und kam zu dem Ergebnis, dass kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem FokI-RFLP und der Knochendichte besteht [CHENG und TSAI, 1999, ECCLESHALL et al., 1998, FERRARI et al., 1998, SOWERS et al., 1999, TAO et al., 1998].

Im Gegensatz dazu stimmten drei Studien mit italienischen [GENNARI et al., 1999], französischen [LUCOTTE et al., 1999] und koreanischen [CHOI et al., 2000] postmenopausalen, weißen Frauen in ihren Ergebnissen überein und bestätigten einen Einfluss des FokI-RFLP auf die BMD der Lendenwirbelsäule.

GENNARI et al. (1999) untersuchten 400 postmenopausale Frauen italienischer Herkunft und berichteten über einen schwachen Zusammenhang zwischen FokI-RFLP und der BMD in der Lendenwirbelsäule. Interessanterweise war die Wirkung des FokI-RFLP auf die Knochendichte in den ersten fünf Jahren nach der Menopause am stärksten und nahm danach schrittweise ab [GENNARI et al., 1999].

Genotypes	1 <i>FF</i>	2 <i>Ff</i>	3 <i>ff</i>	ANOVA <i>p</i>
Subjects (N)*	45	69	10	
Age (years)	61.3 ± 11.9	64.8 ± 12.9	59.6 ± 8.6	0.22
Years since menopause	12.8 ± 12.8	15.7 ± 13.3	10.4 ± 7.8	0.33
Height (cm)	157.3 ± 7.1	157.4 ± 6.8	160.9 ± 6.4	0.29
Weight (kg)	58.9 ± 9.8	58.5 ± 9.6	55.1 ± 7.7	0.52
Body mass index (g/cm ²)	23.8 ± 3.4	23.7 ± 3.9	21.2 ± 2.1	0.11
Bone mineral density: lumbar spine (g/cm ²)	0.807 ± 0.145	0.792 ± 0.142	0.801 ± 0.150	0.86
Bone mineral density: femoral neck (g/cm ²)	0.642 ± 0.124	0.631 ± 0.124	0.603 ± 0.083	0.66

Tabelle 11: Grundlegende Charakteristika von 124 osteoporotischen Frauen [LUCOTTE et al., 1999]

LUCOTTE et al. (1999) zogen für ihre Studie 124 postmenopausale französische Frauen zwischen 45 und 90 Jahren mit Osteoporose heran. Zuerst fand man keine signifikanten Unterschiede zwischen den FokI-Genotypen bezüglich Alter, Größe, Gewicht, BMI oder BMD (vgl. Tabelle 11) [LUCOTTE et al., 1999].

In einer weiteren Analyse wurden dann nur jene Frauen untersucht, die unter 75 Jahren waren, um Nebeneffekte, die durch das hohe Alter verursacht werden, zu eliminieren. In dieser Subpopulation stellte man dann zwischen FF- und ff-Genotyp einen großen Unterschied bezüglich des BMI fest, der beinahe signifikant war ($p = 0,06$). Außerdem zeigte sich ein weiterer Trend, der sich einer statistischen Signifikanz näherte, im Bezug auf die BMD des Oberschenkelhalsknochens. Bei Frauen des ff-Genotyps war die BMD an dieser Stelle um 10,7% niedriger als bei jenen des FF-Genotyps (vgl. Tabelle 12) [LUCOTTE et al., 1999].

Genotypes		FF	Ff	ff	p
Subjects (N)		36	50	10	
Age		56.4 ± 6.9	58.4 ± 8.5	59.6 ± 8.6	0.60
BMI		23.8 ± 3.3	23.9 ± 4.1	21.2 ± 2.1	0.06
BMD	Lumbar spine	0.808 ± 0.143	0.810 ± 0.133	0.801 ± 0.149	0.98
	Femoral neck	0.675 ± 0.115	0.673 ± 0.112	0.603 ± 0.083	0.17

*Tabelle 12: Alter, BMI und BMD von 96 Patienten unter 75 Jahren
[modifiziert nach LUCOTTE et al., 1999]*

CHOI et al. (2000) untersuchten 174 koreanische Frauen im Alter von 43 – 71 Jahren. Sie beobachteten eine signifikante Assoziation des FokI-RFLP mit der BMD der Lendenwirbelsäule ($p = 0,048$), jedoch nicht mit der BMD des Oberschenkelhalsknochens ($p = 0,505$). Frauen, die einen ff-Genotyp aufwiesen, hatten eine um 13,3% niedrigere Knochendichte der Lendenwirbelsäule als jene des FF-Genotyps [CHOI et al., 2000].

Diese Ergebnisse von Studien mit weißen Frauen europäischer oder asiatischer Herkunft stehen im Gegensatz zu einer Studie mit afrikanisch-amerikanischen Frauen, bei der keine Assoziation zwischen FokI-Polymorphismus und BMD beobachtet werden konnte. Man vermutet daher, dass auch die ethnische Herkunft eine Rolle spielt und dass das häufigere Vorkommen des günstigeren FF-Genotyps die erhöhte Knochendichte bzw. das niedrigere Osteoporoserisiko afroamerikanischer Frauen im Vergleich zu Kaukasier erklären könnte [ZMUDA et al., 1999].

8.3.1 Faktoren Calciumaufnahme und Calciumabsorption

Ein Faktor, der möglicherweise die Beziehung zwischen VDR-Genotypen und BMD beeinflusst, ist die Calciumaufnahme. Obwohl bekannt ist, dass Calcium-Supplemente bei Kindern im Wachstum den Gewinn an Knochenmasse verstärken und im Alter den Verlust an Knochenmasse vermindern, konnte man bisher nur eine schwache Korrelation zwischen Calciumaufnahme über die Nahrung und BMD nachweisen. Das zeigt, dass es große Unterschiede in der Resonanz des Skeletts auf Calciumzufuhr über die Nahrung gibt, und dass dies womöglich auf genetische Faktoren zurückzuführen ist [GENNARI et al., 2002].

FERRARI et al. (1995) konnten erstmals eine Verbindung zwischen BsmI-RFLP und Calciumaufnahme nachweisen. Sie analysierten die Veränderung der BMD bei älteren Patienten, die Calcium- und Vitamin D-Supplemente erhielten. Es zeigten sich höhere Knochenmasseverluste im Bereich der Lendenwirbelsäule bei BB-Genotypen als bei Bb- oder bb-Genotypen [FERRARI et al., 1995].

In einer Studie von FERRARI et al. (1998) führte die Erhöhung der Calciumaufnahme von 800 mg auf 1700 mg pro Tag zu keiner Veränderung der BMD bei bb-Genotypen, wohingegen ein signifikanter Anstieg der Knochenmasse bei Bb- und BB-Genotypen verzeichnet wurde [FERRARI et al., 1998]. Dieses Zusammenspiel von VDR-Genpolymorphismen und Calciumaufnahme führt zu der Annahme, dass die unterschiedliche Intensität der Calciumabsorption im Darm mit verschiedenen VDR-Allelen bzw. -Genotypen assoziiert sein könnte [GENNARI et al., 2002].

Eine Studie dazu wurde von DAWSON-HUGHES et al. (1995) veröffentlicht. Es wurden postmenopausale, nordamerikanische Frauen untersucht, und es zeigte sich eine verminderte Calciumabsorption bei BB-Genotypen im Vergleich zu bb-Genotypen, insbesondere bei einer niedrigen Calciumaufnahme über die Nahrung. Diese Unterschiede bezüglich der Calciumabsorption zwischen BB- und bb-Genotyp verschwanden, als man den gleichen Frauen Nahrung mit hohem Calciumgehalt verabreichte [DAWSON-HUGHES et al., 1995]. Weitere Studien bestätigten diesen Zusammenhang zwischen VDR-Allelen und intestinaler Calciumabsorption [GENNARI et al., 1997, WISHART et al., 1997, ZMUDA et al., 1997].

Keine Assoziation konnte hingegen zwischen VDR-Genotyp und der VDR-Dichte in der Mukosa gefunden werden [BARGER-LUX et al., 1995, KINYAMU et al., 1997].

8.4 Knochenabbau

Die Knochenmasse im Alter ist das Resultat aus der in den ersten drei Lebensdekaden maximal aufgebauten Knochenmasse (peak bone mass) und dem nachfolgenden durch Alter und Menopause bedingten Knochenabbau. Daher wurde in zahlreichen Studien auch nach einem Zusammenhang zwischen Allelvarianten des VDR-Gens und dem Grad des Knochenabbaus geforscht [ZMUDA et al., 2000].

In drei Studien war die postmenopausale Knochenabbaurate signifikant höher in Verbindung mit dem B-Allel [FERRARI et al., 1995, KIKUCHI et al., 1999, KRALL et al., 1995].

In drei weiteren Studien untersuchte man die Assoziation zwischen TaqI-RFLP und dem Verlust an Knochenmasse, fand jedoch keinen signifikanten Zusammenhang [JORGENSEN et al., 1996, KEEN et al., 1995, MCCLURE et al., 1997]. ZMUDA et al. (1997) untersuchten 101 afroamerikanische Frauen über 65 Jahren und fanden einen vermehrten Abbau des Hüftknochens bei Frauen des tt-Genotyps. Allerdings war dieses Ergebnis nur bei den über 70-Jährigen signifikant [ZMUDA et al., 1997].

GROSS et al. (1996) fanden einen signifikant höheren Abbau des Hüftknochens bei postmenopausalen mexikanisch-amerikanischen Frauen mit dem FokI-Genotyp ff verglichen mit Frauen des FF- oder des Ff-Genotyps [GROSS et al., 1996]. Dieses Ergebnis wurde in einer nachfolgenden Studie von SOWERS et al. (1999), in der weiße, amerikanische Frauen untersucht wurden, nicht bestätigt [SOWERS et al., 1999].

Viele Studien, die den Knochenabbau untersuchten, wurden mit weniger als 100 Versuchspersonen durchgeführt und hatten eine kürzere Follow-Up-Zeit als zwei Jahre. Daher erreichten sie oftmals nicht die ausreichende statistische Aussagekraft, um Unterschiede zwischen verschiedenen Genotypen aufzudecken [ZMUDA et al., 2000].

8.5 Osteoporotische Frakturen

In einer Analyse von 14 veröffentlichten Studien wiesen YOUNG et al. (1996) auf einen Zusammenhang zwischen TT-Genotyp und einem niedrigeren altersadjustierten Hüftfrakturrisiko hin [YOUNG et al., 1996]. FESKANICH et al. (1998) stellten in einer

Fall-Kontroll-Studie bei weißen amerikanischen Frauen zwischen 43 und 69 Jahren ein 2,4-fach höheres Risiko für eine Hüftfraktur beim Genotyp BB im Vergleich zu Bb oder bb fest [FESKANICH et al., 1998].

ENSRUD et al. (1999) untersuchten 9.704 weiße, amerikanische Frauen ab 65 Jahren. Sie konnten jedoch keinen Zusammenhang zwischen TaqI- oder ApaI-Polymorphismen, weder einzeln noch in Kombination, und dem Auftreten von Hüft-, Wirbelsäulen- oder anderen Frakturen nachweisen. Auch Analysen geschichtet nach Alter, ethnischer Herkunft, Knochenmasse, Einnahme von Vitamin D- oder Calcium-Supplementen und oraler Östrogeneinnahme führten zu ähnlichen Resultaten [ENSRUD et al., 1999].

GENNARI et al. (1999) fanden den Genotyp ff überrepräsentiert bei postmenopausalen Frauen mit vertebralem Frakturen (25%) verglichen mit den Kontrollpersonen (11%) [GENNARI et al., 1999].

Author	Country	Study design	Mean age (range), years	Gender	Fracture type	Fracture definition	Eligible subjects (n)		Studied polymorphism	b-allele frequency (%) ^a	P value (HWE) ^a
							Case	Control			
Berg et al. [5]	Norway	Cohort	65	Women	Any	Self-reported	19	30	<i>BsmI</i>	54	0.15
Houston et al. [18]	Scotland	Case-control	60 (45–88)	Women	Vertebral	Radiological	44	44	<i>BsmI</i>	55	0.44
Ramalho et al. [32]	Brazilian	Case-control	32–78	Women and men	Hip	Clinical	73	148	<i>BsmI</i>	66	0.78
Feskanich et al. [11]	USA	Case-control	43–69	Women	Hip	Self-reported	54	108	<i>BsmI</i>	61	0.77
Gomez et al. [14]	Spain	Cohort	67 ± 8	Men	Forearm	Self-reported	163	163		57	0.15
Ensrud et al. [9]	USA	Cohort	72 (65–)	Women	Vertebral	Radiological	39	114	<i>BsmI</i>	59	0.59
				Women	Vertebral	Radiological	37	122		63	0.24
				Women	Hip	Clinical	181	693	<i>ApaI, TaqI</i>	56	–
				Women	Vertebral	Radiological	127	482		57	–
Aerssens et al. [1]	Belgium	Case-control	77 (60–95)	Women	Other	Clinical	223	368		56	–
Langdahl et al. [26]	Denmark	Case-control	51 ± 16	Women	Hip	Radiological	135	239	<i>BsmI</i>	52	0.46
				Men	Vertebral	Clinical	30	73	<i>FokI, BsmI, ApaI, TaqI</i>	60	0.67
Valimaki et al. [37]	Finland	Case-control	53 (50–56)	Women	Vertebral	Clinical	80	80		48	0.18
				Women	Low-energy	Self-reported	57	315	<i>BsmI</i>	57	0.53
Uitterlinden et al. [36]	Netherlands	Cohort	89 (85–98)	Women	Hip	Self-reported	64	108		66	0.25
			67 (55–80)	Women	Any	Clinical	97	905	Haplotype (B-A-T)	59	0.09
Alvarez-Hernandez et al. [2]	Spain	Cohort	64 ± 9	Men	Vertebral	Radiological	20	134	<i>BsmI, ApaI, TaqI</i> , haplotype	59	0.69
Garnero et al. [12]	France	Cohort	61 ± 8	Women	Vertebral	Radiological	34	589 ^b	<i>BsmI</i>	60	0.71
				Women	Non-vertebral	Self-reported	86	589 ^b		60	0.71
Nguyen et al. [30]	Australia	Cohort	70 ± 7	Women	Hip	Radiological	69	608	<i>TaqI</i>	60	0.74
Total							1632	5323			

Tabelle 13: Studien über die Assoziation von VDR-Genpolymorphismen mit Frakturrisiken [FANG et al., 2006]

FANG et al. (2006) fassten in einer Meta-Analyse zwischen 1996 und September 2005 veröffentlichte Studien zusammen und versuchten den genetischen Einfluss von VDR-Genpolymorphismen auf das Risiko einer Knochenfraktur zu evaluieren. Die 13 Studien, die in Tabelle 11 zusammengefasst sind, umfassen 1.632 Fälle und 5.323 Kontrollen von Frakturen mit den jeweiligen Genotypdaten. Das Durchschnittsalter für alle Studien lag zwischen 51 und 89 Jahren und die Stichprobengröße variierte von 49 bis zu 1.002 Versuchspersonen. Die Häufigkeit des B-Allels in der gesamten Studienpopulation reichte von 34% bis zu 52%, wobei es hier höchstsignifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Studiengruppen gab ($P < 0,001$). Zehn Studien untersuchten nur Kaukasier, bei drei Studien war zumindest der Großteil der Studienpopulation kaukasischer Herkunft. Die meisten Versuchspersonen waren peri- oder postmenopausale Frauen und nur drei Studien erfassten separate Daten für Männer (vgl. Tabelle 11) [FANG et al., 2006].

Es konnte kein Zusammenhang zwischen dem BsmI-RFLP oder dem TaqI-RFLP und dem Risiko für osteoporotische Frakturen beobachtet werden. Es ist allerdings schwierig, die Bestimmung osteoporotischer Frakturen zu standardisieren, da sie auf verschiedene Arten beeinflusst werden kann. Die Bestimmung ist abhängig von der Diagnose (klinisch oder durch Röntgenaufnahmen), Art des Traumas (low-energy oder high-impact), die Entwicklung der Fraktur (prävalent oder inzident) und die Stelle der Fraktur (Wirbelsäule, Hüfte, Handgelenk) [FANG et al., 2006].

8.6 Interaktion des VDR-Gens mit anderen Genen und Umweltfaktoren

Der Einfluss bestimmter VDR-Genvarianten auf das Risiko, an Osteoporose zu erkranken, könnte auch durch Allelvarianten anderer Kandidatengene modifiziert werden. WILLING et al. (1998) kamen in ihrer Studie zu dem Ergebnis, dass der BsmI-Polymorphismus an sich bei den untersuchten weißen Frauen nicht signifikant mit der Knochenmasse der Wirbelsäule verknüpft war. Allerdings fand man signifikante Gen-Gen-Wechselwirkungen zwischen VDR- und ER-Gen ($p < 0,05$), die die BMD-Werte beeinflussten. Frauen mit der Variante (-/-) PvuII ER und dem bb-Genotyp besaßen im

Durchschnitt eine sehr hohe Knochendichte, während Frauen mit der Kombination (-/-) PvuII ER und BB-Genotyp eine signifikant niedrigere BMD aufwiesen [WILLING et al., 1998].

UITTERLINDEN et al. (2001) untersuchten bei 1.004 postmenopausalen Frauen den gemeinsamen Einfluss von Polymorphismen des VDR- und des COLIA1-Gens auf das Risiko für osteoporotische Frakturen. Sie beobachteten eine signifikante Wechselwirkung ($p = 0,03$) zwischen den beiden Genen. Bei Frauen des COLIA1-Genotyps GG wurde das Frakturrisiko nicht durch den VDR-Genotyp beeinflusst. Bei den COLIA1-„Risikogruppen“ (Genotypen GT und TT) hingegen gab es signifikante Unterschiede zwischen den Frauen die heterozygot und jenen, die homozygot bezüglich des VDR-baT-Haplotyps waren ($p < 0,05$) [UITTERLINDEN et al., 2001].

Auch mit Faktoren wie Alter, Ernährung oder anderen Lifestylefaktoren könnte das Osteoporoserisiko assoziiert sein. So stellten FESKANICH et al. (1998) fest, dass Frauen des BB-Genotyps ein erhöhtes Frakturrisiko aufwiesen und dass dieses Risiko am höchsten unter Frauen war, die älter, schlanker und weniger aktiv waren und eine niedrigere Calciumaufnahme hatten [FESKANICH et al., 1998]. Hinweise gibt es auch darauf, dass Vitamin D-Supplemente einen Einfluss auf den Zusammenhang zwischen VDR-Genotypen und Knochenmasse haben könnten [GRAAFMANS et al., 1997].

Demnach könnte der Einfluss der VDR-Genotypen auf das Osteoporoserisiko unter anderem auch von der An- bzw. Abwesenheit bestimmter Allelvarianten anderer Gene oder verschiedener Umweltfaktoren abhängen [ZMUDA et al., 2000].

8.7 GENOMOS-Projekt

Das GENOMOS-Projekt umfasst Studien über den Zusammenhang zwischen verschiedenen Kandidatengenen bzw. deren Polymorphismen und Osteoporose bzw. mit Merkmalen der Osteoporose. Von über 20.000 Personen acht teilnehmender europäischer Zentren (Aarhus, Aberdeen, Barcelona, Cambridge, Florenz, Oxagen, Rotterdam sowie der Danish Osteoporosis Study DOPS) wurden Informationen über Geschlecht, Alter, Körpergröße, Körpergewicht, Genotypen, BMD der Lendenwirbelsäule und des Oberschenkelhalsknochens und Frakturen erhoben [IOANNIDIS et al., 2004].

UITTERLINDEN et al. (2006) verwendeten in ihrer Meta-Analyse [UITTERLINDEN et al., 2006] die Daten von Aarhus, Aberdeen, Barcelona, Florenz, Oxagen und Rotterdam, die IOANNIDIS et al. (2004) zuvor schon für ihre Analyse bezüglich des ESR1-Genpolymorphismus herangezogen hatten [IOANNIDIS et al., 2004]. Zusätzlich bezogen sie in die Analyse noch Daten von Teams aus Graz [KUDLACEK et al., 2003] und Amsterdam [PLUIJM et al., 2004] und der EPOS (European Prospective Osteoporosis Study) [ISMAIL et al., 1998] mit ein. Letztendlich umfasste die Studienpopulation 26.242 Personen aus neun europäischen Studien [UITTERLINDEN et al., 2006].

Alle neun Teams stellten Daten über Geschlecht, Alter, Körpergröße und –gewicht, VDR-Genotypen der Polymorphismen Cdx2, FokI, BsmI, ApaI und TaqI und die BMD der Lendenwirbelsäule und des Oberschenkelhalsknochens zur Verfügung. Ebenfalls erhoben wurden Informationen über den klimakterischen Status und Hormonersatztherapien bei Frauen mit Frakturen [UITTERLINDEN et al., 2006].

Sex	Polymorphism	Difference in Estimated Marginal Means of BMD (95% CI), mg/cm ²			
		Lumbar Spine	P Value	Femoral Neck	P Value
Woment	Cdx2				
	GG vs. GA	3 (−4 to 9)	0.38	3 (−2 to 8)	0.13
	GG vs. AA	−8 (−23 to 8)		−9 (−19 to 4)	
	GA vs. AA	−10 (−26 to 5)		−11 (−23 to 1)	
	FokI				
	CC vs. CT	4 (−3 to 11)	0.19	1 (−4 to 6)	0.76
	CC vs. TT	8 (−1 to 18)		−2 (−9 to 5)	
	CT vs. TT	4 (−5 to 13)		−3 (−10 to 4)	
Ment	Cdx2				
	GG vs. GA	0 (−12 to 12)	0.48	3 (−5 to 11)	0.74
	GG vs. AA	−19 (−49 to 12)		−2 (−22 to 19)	
	GA vs. AA	−18 (−50 to 13)		−5 (−26 to 16)	
	FokI				
	CC vs. CT	2 (−10 to 14)	0.43	−5 (−14 to 3)	0.02
	CC vs. TT	11 (−6 to 29)		12 (0 to 24)	
	CT vs. TT	9 (−8 to 26)		17 (5 to 29)	

Tabelle 14: Vergleich der BMD-Werte für die VDR-Genotypen von Cdx2 und FokI [UITTERLINDEN et al., 2006]

Die BMD-Werte ergaben für die verschiedenen Genotypen von Cdx2 und FokI keine signifikanten Unterschiede. Einzige Ausnahme waren die Werte für die Knochendichte des Oberschenkelhalsknochens bei FokI (vgl. Tabelle 14). Auch die Vergleiche

zwischen den häufigsten BsmI-ApaI-TaqI-Haplotypen ergaben keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Knochendichte.

Bei der Analyse des Zusammenhanges zwischen VDR-Genotypen und Frakturen erhielt man ebenfalls keine signifikanten Ergebnisse. Nur das Cdx2 A-Allel zeigte einen möglichen positiven Effekt im Bezug auf vertebrale Frakturen, aber auch hier konnte keine statistische Signifikanz nachgewiesen werden ($p = 0,069$).

UITTERLINDEN et al. (2006) kamen zu dem Schluss, dass weder der FokI-Polymorphismus noch die BsmI-ApaI-TaqI-Haplotypen einen Effekt auf die BMD oder das Frakturrisiko haben. Das Ergebnis dieser Studie widerspricht somit den vorangegangenen Behauptungen, dass diese Polymorphismen als genetische Determinanten für die Knochendichte fungieren. Man erhielt einzig einige Hinweise auf einen schwachen Effekt des Cdx2-Polymorphismus auf das Risiko vertebraler Frakturen [UITTERLINDEN et al., 2006].

9 Weitere mit VDR-Genpolymorphismen assoziierte Erkrankungen

Da Vitamin D nicht nur für den Knochenmetabolismus, sondern auch für zahlreiche andere Organe wie etwa Niere, Darm, Haut, Nerven- und Immunsystem eine wichtige Funktion hat (vgl. Kapitel 2.3), und auch der VDR in über 30 Geweben entdeckt wurde, geht man davon aus, dass Polymorphismen des VDR-Gens nicht nur mit Osteoporose, sondern auch mit anderen Erkrankungen assoziiert sein könnten.

9.1 Krebs

Die meisten Studien über die Assoziation zwischen VDR und Krebs haben sich auf die in Kapitel 6.2 beschriebenen Polymorphismen konzentriert und wurden vorwiegend in der weißen Bevölkerung durchgeführt. Es wurden Zusammenhänge zwischen VDR-Genpolymorphismen und Prostata-, Brust- und Blasenkrebs, Melanomen und kolorektalen Adenomen bzw. Karzinomen untersucht [SLATTERY, 2007].

9.1.1 Prostatakrebs

Eine der ersten Studien, die einen Zusammenhang von VDR-Genvarianten, in diesem Fall dem poly(A)-Polymorphismus, mit Prostatakrebs belegte, wurde von INGLES et al. (1997) veröffentlicht [INGLES et al., 1997].

Ein Jahr davor zeigte sich in einer Studie von TAYLOR et al. (1996), dass eine Beziehung zwischen dem TaqI-RFLP und dem Prostatakrebsrisiko besteht. Männer des Genotyps tt hatten ein deutlich niedrigeres Risiko an Prostatakrebs zu erkranken ($p < 0,01$) als Männer der Genotypen TT oder Tt und besaßen außerdem einen deutlich höheren Serumspiegel an $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ [TAYLOR et al., 1996]. Diese Ergebnisse

wurden einige Jahre später durch die Studie von CORREA-CERRO et al. (1999) bestätigt, welche ebenfalls einen Zusammenhang von Prostatakrebs mit den Polymorphismen TaqI und poly(A) belegte [CORREA-CERRO et al., 1999]. Aber es wurden auch zahlreiche Studien mit gegenteiligen Ergebnissen veröffentlicht, die keinen Beleg für einen derartigen Zusammenhang fanden [CHETERI et al., 2004, GSUR et al., 2004, KIBEL et al., 1998].

XU et al. (2003) fanden eine Assoziation zwischen FokI-RFLP und Prostatakrebs [XU et al., 2003], andere Studien konnten keine Verbindung mit diesem Polymorphismus belegen [CHETERI et al., 2004, CHOKKALINGAM et al., 2001, CORREA-CERRO et al., 1999].

Ähnlich widersprüchlich waren auch die Studienergebnisse für den BsmI-Polymorphismus. Während man bei japanischen und afroamerikanischen Studienpopulationen einen Zusammenhang fand [HABUCHI et al., 2000, INGLES et al., 1998], konnte man keinen Einfluss des BsmI-RFLP auf das Risiko für Prostatakrebs bei Nordamerikanern [CHETERI et al., 2004] oder Chinesen [CHOKKALINGAM et al., 2001] finden.

NTAIS et al. (2003) untersuchten in einer Meta-Analyse 28 Studien zu diesem Thema, konnten aber für keinen der vier Polymorphismen (poly (A), BsmI, TaqI, FokI) einen signifikanten Zusammenhang mit dem Risiko für Prostatakrebs nachweisen [NTAIS et al., 2003].

9.1.2 Brustkrebs

Brustkrebs ist eine der häufigsten bösartigen Tumorerkrankungen bei Frauen. Daher gibt es ein sehr großes Bestreben, mögliche genetische Risikofaktoren zu identifizieren. Aber genau wie bei Prostatakrebs sind die Ergebnisse der Studien über einen möglichen Zusammenhang zwischen Brustkrebs und VDR-Genpolymorphismen sehr widersprüchlich [VALDIVIELSO und FERNANDEZ, 2006].

Eine Studie fand einen starken Zusammenhang zwischen Brustkrebs und TaqI-RFLP [CURRAN et al., 1999], zwei stellten eine schwache Assoziation zwischen TaqI und dem Risiko für Metastasen fest [LUNDIN et al., 1999, SCHONDORF et al., 2003], der

Großteil der Studien konnte jedoch keinen Zusammenhang feststellen [DUNNING et al., 1999, NEWCOMB et al., 2002].

Für den BsmI-Polymorphismus fanden drei Studien eine Assoziation mit dem Brustkrebsrisiko [BRETHERTON-WATT et al., 2001, GUY et al., 2004, RUGGIERO et al., 1998], SCHONDORF et al. (2003) fanden keinerlei Zusammenhang [SCHONDORF et al., 2003].

Im Fall des FokI-Polymorphismus konnte kaum eine Studie eine Assoziation mit einem erhöhten Brustkrebsrisiko nachweisen [BRETHERTON-WATT et al., 2001, CURRAN et al., 1999, GUY et al., 2004].

Die Studien jedoch, die die Polymorphismen ApaI [CURRAN et al., 1999, SCHONDORF et al., 2003] und poly(A) [GUY et al., 2004, INGLES et al., 1997] untersuchten, zeigten durchwegs eine Assoziation mit dem Risiko für Brustkrebs.

9.1.3 Andere Malignome

Auch für die Entstehung weiterer Krebsarten wie Darm-, Haut-, Blasen- oder Lungenkrebs könnte möglicherweise ein Zusammenhang mit VDR-Polymorphismen bestehen, allerdings gibt es dazu bis dato noch kaum Studien.

Der VDR scheint aber auf jeden Fall für einige Krebsarten eine wichtige Rolle zu spielen. Wichtig wird daher in Zukunft sein, die Beziehung zwischen weiteren Polymorphismen des VDR-Gens und Krebs und auch die Assoziationen mit anderen Umwelt- und Lifestylefaktoren zu untersuchen [SLATTERY, 2007].

9.2 Diabetes mellitus

Es ist naheliegend, dass Vitamin D sowohl in die Ätiologie von Diabetes mellitus (DM) Typ 1 als auch von DM Typ 2 involviert ist. DM Typ 1 ist eine durch T-Zellen vermittelte Autoimmunerkrankung. Vitamin D-Verbindungen können die T-Zellen-Aktivierung unterdrücken, indem sie an den VDR binden. Daher ist es wahrscheinlich,

dass VDR-Genpolymorphismen in Verbindung mit durch T-Zellen vermittelten Autoimmunerkrankungen stehen.

Weiters wurde in Tierversuchen entdeckt, dass Vitamin D essenziell für die Erhaltung der Glukosetoleranz und einer normalen Insulinabgabe ist, beides ist bei DM Typ 2 defekt. Auch in den Beta-Zellen des Pankreas wurden VDRs gefunden. Die Insulinsekretion wird durch Vitamin D-Mangel beeinträchtigt, durch $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ jedoch wiederhergestellt. Man kann also vermuten, dass VDR-Genpolymorphismen auch in Zusammenhang mit DM Typ 2 stehen könnten [VALDIVIELSO und FERNANDEZ, 2006].

Die Ergebnisse der Studien über die Assoziation von VDR-Genpolymorphismen mit DM Typ 1 und 2 variieren sehr stark.

Bei DM Typ 1 wurde eine Verbindung des BsmI-Polymorphismus mit dem Vorliegen der Erkrankung bei Bewohnern Südiindiens [MCDERMOTT et al., 1997], Taiwanesen [CHANG et al., 2000], Kroaten [SKRABIC et al., 2003] und Japanern [MOTOHASHI et al., 2003] festgestellt. Diese Ergebnisse wurden in Studien bei Finnen [TURPEINEN et al., 2003] und Chilenen nicht bestätigt [ANGEL et al., 2004]. Ähnlich kontrovers waren die Ergebnisse für die Polymorphismen ApaI, TaqI und FokI. In einigen Studien fand man eine Assoziation zu DM Typ 1 [CHANG et al., 2000, SKRABIC et al., 2003], in anderen hingegen nicht [ANGEL et al., 2004, TURPEINEN et al., 2003].

NEJENTSEV et al. (2004) untersuchten in ihrer Studie den Zusammenhang zwischen 98 verschiedenen SNPs und DM Typ1 in mehr als 3.000 englischen Familien. Die Resultate dieser Studie zeigten, dass kein einziger untersuchter Polymorphismus einen Effekt auf DM Typ 1 hatte [NEJENTSEV et al., 2004].

Bei DM Typ 2 konnte ein Zusammenhang mit dem BsmI-Polymorphismus bei Ungarn [SPEER et al., 2001] und Deutschen [ORTLEPP et al., 2001], jedoch nicht bei Franzosen [YE et al., 2001], Bangladeschi [HITMAN et al., 1998] oder Polen [MALECKI et al., 2003] festgestellt werden. Ähnlich kontroverse Ergebnisse erhielt man auch für die anderen Polymorphismen [HITMAN et al., 1998, MALECKI et al., 2003, YE et al., 2001].

9.3 Niereninsuffizienz und sekundärer Hyperparathyreoidismus

Eine der Hauptkomplikationen bei Patienten mit Niereninsuffizienz ist das Auftreten von sekundärem Hyperparathyreoidismus (sHPT). Dabei kommt es zu einer vermehrten Bildung von Parathormon als Reaktion auf einen niedrigen Serum-Calcium-Spiegel, der durch eine verminderte Vitamin D-Aktivierung aufgrund der Nierenerkrankung verursacht wird. Der Calcitriol-VDR-Komplex reguliert die Proliferation der Nebenschilddrüsenzellen und die Synthese von Parathormon (PTH) [PATEL et al., 1994, SZABO et al., 1989].

Als der VDR auch in den Zellen der Nebenschilddrüse gefunden wurde, begann man Studien über den möglichen Zusammenhang von VDR-Genpolymorphismen und Hyperparathyreoidismus durchzuführen. CARLING et al. (1995) fanden eine Assoziation zwischen BsmI-Polymorphismus und primärem Hyperparathyreoidismus [CARLING et al., 1995], was zu der Hypothese führte, dass es auch eine Verbindung zu sHPT geben könnte. TSUKAMOTO et al. (1996) berichteten über ein höheres Vorkommen des B-Allels bei Hämodialysepatienten mit sHPT [TSUKAMOTO et al., 1996]. Man fand außerdem heraus, dass Patienten des BB-Genotyps nach einer einmaligen Gabe von Calcitriol eine größere Reduktion des PTH-Levels zeigten als Patienten des bb-Genotyps [MARCO et al., 2001].

Trotz einiger Studien mit gegensätzlichen Ergebnissen [MCCAREY et al., 1998, SCHMIDT et al., 1997] weisen die meisten veröffentlichten Studien auf einen Zusammenhang von BsmI-Genotypen und sHPT hin.

Die restlichen Polymorphismen wurden nicht so intensiv im Zusammenhang mit Nierenerkrankungen untersucht. Es gibt eine Studie, die einen höheren PTH-Spiegel bei prädialytischen Patienten mit dem FF-Genotyp in Verbindung bringt [VIGO GAGO et al., 2005]. Der aa-Genotyp des ApaI-Polymorphismus wird ebenfalls mit einem höheren PTH-Spiegel bei prädialytischen Patienten [YOKOYAMA et al., 1998] assoziiert sowie mit einer höheren Empfindlichkeit, Veränderungen des Calciumspiegels festzustellen und die PTH-Sekretion zu regulieren [YOKOYAMA et al., 2001].

9.4 Andere Erkrankungen

Aufgrund der zahlreichen unterschiedlichen Zielgewebe und Funktionen von Vitamin D und der großen Verbreitung des VDR in den verschiedensten Geweben wurde der Einfluss der VDR-Genpolymorphismen auf zahlreiche weitere Erkrankungen untersucht. Allerdings oft nur in einer einzigen Studie und mit niedrigen Probandenzahlen.

So wird etwa ein Zusammenhang zwischen BsmI-Polymorphismus und Bluthochdruck und koronaren Herzkrankheiten vermutet. Weiters gibt es erste Untersuchungen zu Autoimmunerkrankungen wie Lupus, Hepatitis, Zirrhose, Morbus Crohn, Morbus Basedow und Multipler Sklerose. Aber auch für Krankheiten wie Alzheimer und Parkinson wird mittlerweile ein Zusammenhang mit VDR-Genpolymorphismen diskutiert und in zukünftigen Studien genauer untersucht werden [VALDIVIELSO und FERNANDEZ, 2006].

10 Schlussbetrachtung

1,25(OH)₂D₃ übt seine Wirkung auf den Knochenstoffwechsel durch Regulation der Genexpression aus. Dies wird durch den Vitamin D-Rezeptor, der als ligandenaktivierter, regulatorischer Transkriptionsfaktor fungiert, vermittelt.

1988 gelang es, die menschliche cDNA des VDR zu klonen, 1997 wurden die wesentlichen Teile der genomischen Struktur des humanen VDR-Gens beschrieben.

Allerdings gibt es immer noch Lücken bei der Identifizierung der umliegenden Gene und ihrer Entfernung zum VDR-Gen. Dies in Zukunft aufzuklären ist von großer Bedeutung, da bei genetischen Assoziationsstudien der beobachtete Zusammenhang nicht immer zwangsläufig durch das VDR-Gen selbst, sondern eventuell durch ein anderes nahe gelegenes Gen erklärbar ist. Auch die Kenntnisse über die Strukturen von Haplotypen und Linkage Disequilibrium innerhalb des VDR-Gens sind momentan noch unzureichend. Dieses Wissen über die Verlinkung mehrerer Allele innerhalb eines Gens muss in Zukunft ausgebaut werden, um Risikoallele für bestimmte Krankheiten schneller und präziser identifizieren zu können. Viele Polymorphismen sind anonym, also ohne bekannte funktionelle Wirkung, daher nimmt man an, dass sich beobachtete Assoziationen mit solchen Verlinkungen zu funktionellen Sequenzänderungen an anderen Stellen des Gens erklären lassen könnten.

Die wichtigsten Genpolymorphismen, die für das VDR-Gen identifiziert und in der Folge auch am besten im Zusammenhang mit Osteoporose und anderen Erkrankungen untersucht wurden, sind ApaI, BsmI, TaqI, FokI, Cdx2 und poly(A).

Diese Polymorphismen wurden in Studien am häufigsten in der weißen Bevölkerung entdeckt und analysiert. Allerdings hat sich gezeigt, dass es bezüglich der Häufigkeit bestimmter Polymorphismen große Unterschiede zwischen den verschiedenen ethnischen Gruppen gibt. Die Zahlen diesbezüglich differieren zwischen den Ethnien sehr deutlich sowohl für einzelne Allele als auch für Genotypen und Haplotypen.

1994 wurde erstmals eine Studie publiziert, die den Zusammenhang zwischen Polymorphismen des VDR-Gens und Osteoporose untersuchte. In dieser wurde ein eindeutiger Zusammenhang mit dem BsmI-Polymorphismus nachgewiesen, allerdings

mussten die Ergebnisse aufgrund eines Fehlers bei der Genotypisierung später korrigiert werden. Dennoch folgten daraufhin hunderte Studien, die die Verbindung zwischen VDR-Genpolymorphismen und Osteoporoseprävalenz, Knochendichte, Knochenabbau, Frakturen oder Wachstum analysierten. Gleichgültig welcher dieser Aspekte im Zusammenhang mit Polymorphismen des VDR-Gens untersucht wurde, die Ergebnisse der Studien waren durchwegs sehr kontrovers. Eine Erklärung dafür ist vermutlich, dass sich die Studienpopulationen bezüglich Größe, Alter, Herkunft, Ernährung, Einnahme von Supplementen oder menopausalem Status stark unterschieden und die Studien daher schwer vergleichbar sind.

Im Rahmen des GENOMOS-Projektes wurde 2007 eine umfassende Meta-Analyse mit Daten von über 26000 Studienteilnehmern aus neun großen europäischen Studien durchgeführt. Es wurden keinerlei signifikante Zusammenhänge zwischen den verschiedenen VDR-Genpolymorphismen und Osteoporose gefunden. Einzig der Cdx2-Polymorphismus scheint einen schwachen Effekt auf das Risiko vertebraler Frakturen zu haben.

Allerdings gibt es starke Hinweise darauf, dass der Einfluss der VDR-Genvarianten auf das Risiko, an Osteoporose zu erkranken, sehr stark durch Interaktionen zwischen dem VDR-Gen und anderen Genen, wie dem ER- oder dem COLIA1-Gen, beeinflusst wird. Dieser Aspekt und auch der Einfluss von Umweltfaktoren auf den Zusammenhang zwischen VDR-Genpolymorphismen und Osteoporose sollte bei zukünftigen Studien stärker berücksichtigt werden.

Zusammenfassend kann man darauf schließen, dass VDR-Genvarianten durchaus einen Einfluss auf bestimmte Merkmale der Osteoporose ausüben. Um einzelne Polymorphismen in Zusammenhang mit einem erhöhten Osteoporoserisiko bringen zu können, müssen allerdings funktionelle Polymorphismen des VDR-Gens identifiziert und mehr Informationen über LD und Haplotypen innerhalb des VDR-Gens gesammelt werden. Darüber hinaus müssen die ethnischen Unterschiede und die Einflüsse anderer Gene und Umweltfaktoren in zukünftigen Studien stärker berücksichtigt werden. Da es auch Hinweise auf Assoziationen des VDR-Gens mit anderen Krankheiten wie Prostatakrebs, Brustkrebs oder Diabetes mellitus gibt, könnte die Identifikation neuer funktioneller Polymorphismen nicht nur neue Präventions- und Therapieansätze für Osteoporose, sondern auch für zahlreiche andere Krankheiten liefern.

11 Literaturverzeichnis

ABE E, MIYAURA C, SAKAGAMI H, TAKEDA M, KONNO K, YAMAZAKI T, YOSHIKI S, SUDA T. Differentiation of mouse myeloid leukemia cells induced by 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1981; 78: 4990-4994.

ALBAGHA OM, RALSTON SH. Genetic determinants of susceptibility to osteoporosis. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2003; 32: 65-81, vi.

AMLING M, PRIEMEL M, HOLZMANN T, CHAPIN K, RUEGER JM, BARON R, DEMAY MB. Rescue of the skeletal phenotype of vitamin D receptor-ablated mice in the setting of normal mineral ion homeostasis: formal histomorphometric and biomechanical analyses. *Endocrinology* 1999; 140: 4982-4987.

ANGEL B, SANTOS JL, CARRASCO E, ALBALA C, PEREZ-BRAVO F. Vitamin D receptor polymorphism and susceptibility to type 1 diabetes in Chilean subjects: a case-parent study. *Eur J Epidemiol* 2004; 19: 1085-1087.

ARAI H, MIYAMOTO K, TAKETANI Y, YAMAMOTO H, IEMORI Y, MORITA K, TONAI T, NISHISHO T, MORI S, TAKEDA E. A vitamin D receptor gene polymorphism in the translation initiation codon: effect on protein activity and relation to bone mineral density in Japanese women. *J Bone Miner Res* 1997; 12: 915-921.

ARAI H, MIYAMOTO KI, YOSHIDA M, YAMAMOTO H, TAKETANI Y, MORITA K, KUBOTA M, YOSHIDA S, IKEDA M, WATABE F, KANEMASA Y, TAKEDA E. The polymorphism in the caudal-related homeodomain protein Cdx-2 binding element in the human vitamin D receptor gene. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 1256-1264.

ARANDA A, PASCUAL A. Nuclear hormone receptors and gene expression. *Physiol Rev* 2001; 81: 1269-1304.

BAKER AR, MCDONNELL DP, HUGHES M, CRISP TM, MANGELSDORF DJ, HAUSSLER MR, PIKE JW, SHINE J, O'MALLEY BW. Cloning and expression of full-length cDNA encoding human vitamin D receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988; 85: 3294-3298.

BARGER-LUX MJ, HEANEY RP, HAYES J, DELUCA HF, JOHNSON ML, GONG G. Vitamin D receptor gene polymorphism, bone mass, body size, and vitamin D receptor density. *Calcif Tissue Int* 1995; 57: 161-162.

BARSONY J, PIKE JW, DELUCA HF, MARX SJ. Immunocytology with microwave-fixed fibroblasts shows 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D₃-dependent rapid and estrogen-dependent slow reorganization of vitamin D receptors. *J Cell Biol* 1990; 111: 2385-2395.

BAUDINO TA, KRAICHELY DM, JEFcoat SC, JR., WINCHESTER SK, PARTRIDGE NC, MACDONALD PN. Isolation and characterization of a novel coactivator protein, NCoA-62, involved in vitamin D-mediated transcription. *J Biol Chem* 1998; 273: 16434-16441.

BAYER M. Vitamin-D-Rezeptor-Gen-Polymorphismen und Knochenstoffwechsel bei Patienten mit Spondylitis ankylosans, 2007; 33-37.

BEATO M, HERRLICH P, SCHUTZ G. Steroid hormone receptors: many actors in search of a plot. *Cell* 1995; 83: 851-857.

BENO DW, BRADY LM, BISSONNETTE M, DAVIS BH. Protein kinase C and mitogen-activated protein kinase are required for 1,25-dihydroxyvitamin D₃-stimulated Egr induction. *J Biol Chem* 1995; 270: 3642-3647.

BERGER U, WILSON P, MCCLELLAND RA, COLSTON K, HAUSSLER MR, PIKE JW, COOMBES RC. Immunocytochemical detection of 1,25-dihydroxyvitamin D receptors in normal human tissues. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67: 607-613.

BONJOUR JP, CARRIE AL, FERRARI S, CLAVIEN H, SLOSMAN D, THEINTZ G, RIZZOLI R. Calcium-enriched foods and bone mass growth in prepubertal girls: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Clin Invest* 1997; 99: 1287-1294.

BOURGUET W, GERMAIN P, GRONEMEYER H. Nuclear receptor ligand-binding domains: three-dimensional structures, molecular interactions and pharmacological implications. *Trends Pharmacol Sci* 2000; 21: 381-388.

BOYLE WJ, SIMONET WS, LACEY DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature* 2003; 423: 337-342.

BRETHERTON-WATT D, GIVEN-WILSON R, MANSI JL, THOMAS V, CARTER N, COLSTON KW. Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with breast cancer risk in a UK Caucasian population. *Br J Cancer* 2001; 85: 171-175.

BRÖLL H, RESCH H, PIETSCHMANN P. Konsensus-Statement: Therapie der postmenopausalen Osteoporose – Anwendungsbereiche von parenteralen Bisphosphonaten. *J Miner Stoffwechs* 1/2007.

BROWN AJ, DUSSO A, SLATOPOLSKY E. Vitamin D. *Am J Physiol* 1999; 277: F157-175.

BROWN SB, BRIERLEY TT, PALANISAMY N, SALUSKY IB, GOODMAN W, BRANDI ML, DRUEKE TB, SARFATI E, URENA P, CHAGANTI RS, PIKE JW, ARNOLD A. Vitamin D receptor as a candidate tumor-suppressor gene in severe hyperparathyroidism of uremia. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 868-872.

CANTORNA MT, WOODWARD WD, HAYES CE, DELUCA HF. 1,25-dihydroxyvitamin D3 is a positive regulator for the two anti-encephalitogenic cytokines TGF-beta 1 and IL-4. *J Immunol* 1998; 160: 5314-5319.

CARLING T, KINDMARK A, HELLMAN P, LUNDGREN E, LJUNGHALL S, RASTAD J, AKERSTROM G, MELHUS H. Vitamin D receptor genotypes in primary hyperparathyroidism. *Nat Med* 1995; 1: 1309-1311.

CDC, Consensus Development Conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. *Am J Med* 1993; 94: 646-650.

CHANG TJ, LEI HH, YEH JI, CHIU KC, LEE KC, CHEN MC, TAI TY, CHUANG LM. Vitamin D receptor gene polymorphisms influence susceptibility to type 1 diabetes mellitus in the Taiwanese population. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2000; 52: 575-580.

CHENG WC, TSAI KS. The vitamin D receptor start codon polymorphism (Fok1) and bone mineral density in premenopausal women in Taiwan. *Osteoporos Int* 1999; 9: 545-549.

CHERTOW BS, SIVITZ WI, BARANETSKY NG, CLARK SA, WAITE A, DELUCA HF. Cellular mechanisms of insulin release: the effects of vitamin D deficiency and repletion on rat insulin secretion. *Endocrinology* 1983; 113: 1511-1518.

CHETERI MB, STANFORD JL, FRIEDRICHSEN DM, PETERS MA, IWASAKI L, LANGLOIS MC, FENG Z, OSTRANDER EA. Vitamin D receptor gene polymorphisms and prostate cancer risk. *Prostate* 2004; 59: 409-418.

CHIBA N, SULDAN Z, FREEDMAN LP, PARVIN JD. Binding of liganded vitamin D receptor to the vitamin D receptor interacting protein coactivator complex induces interaction with RNA polymerase II holoenzyme. *J Biol Chem* 2000; 275: 10719-10722.

CHOI YM, JUN JK, CHOE J, HWANG D, PARK SH, KU SY, KANG D, KIM JG, MOON SY, LEE JY. Association of the vitamin D receptor start codon polymorphism (FokI) with bone mineral density in postmenopausal Korean women. *J Hum Genet* 2000; 45: 280-283.

CHOKKALINGAM AP, MCGLYNN KA, GAO YT, POLLAK M, DENG J, SESTERHENN IA, MOSTOFI FK, FRAUMENI JF, JR., HSING AW. Vitamin D receptor gene polymorphisms, insulin-like growth factors, and prostate cancer risk: a population-based case-control study in China. *Cancer Res* 2001; 61: 4333-4336.

CHRISTAKOS S, DHAWAN P, LIU Y, PENG X, PORTA A. New insights into the mechanisms of vitamin D action. *J Cell Biochem* 2003; 88: 695-705.

CHRISTAKOS S, FRIEDLANDER EJ, FRANSEN BR, NORMAN AW. Studies on the mode of action of calciferol. XIII. Development of a radioimmunoassay for vitamin D-dependent chick intestinal calcium-binding protein and tissue distribution. *Endocrinology* 1979; 104: 1495-1503.

COLIN EM, WEEL AE, UITTERLINDEN AG, BUURMAN CJ, BIRKENHAGER JC, POLS HA, VAN LEEUWEN JP. Consequences of vitamin D receptor gene polymorphisms for growth inhibition of cultured human peripheral blood mononuclear cells by 1, 25-dihydroxyvitamin D₃. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2000; 52: 211-216.

COOPER GS, UMBACH DM. Are vitamin D receptor polymorphisms associated with bone mineral density? A meta-analysis. *J Bone Miner Res* 1996; 11: 1841-1849.

CORDERO JB, COZZOLINO M, LU Y, VIDAL M, SLATOPOLSKY E, STAHL PD, BARBIERI MA, DUSSO A. 1,25-Dihydroxyvitamin D down-regulates cell membrane growth- and nuclear growth-promoting signals by the epidermal growth factor receptor. *J Biol Chem* 2002; 277: 38965-38971.

CORREA-CERRO L, BERTHON P, HAUSSLER J, BOCHUM S, DRELON E, MANGIN P, FOURNIER G, PAISS T, CUSSENOT O, VOGEL W. Vitamin D receptor polymorphisms as markers in prostate cancer. *Hum Genet* 1999; 105: 281-287.
CUMMINGS SR, MELTON LJ. Epidemiology and outcomes of osteoporotic fractures. *Lancet* 2002; 359: 1761-1767.

CURRAN JE, VAUGHAN T, LEA RA, WEINSTEIN SR, MORRISON NA, GRIFFITHS LR. Association of A vitamin D receptor polymorphism with sporadic breast cancer development. *Int J Cancer* 1999; 83: 723-726.

DAWSON-HUGHES B, HARRIS SS, FINNERAN S. Calcium absorption on high and low calcium intakes in relation to vitamin D receptor genotype. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80: 3657-3661.

DELUCA HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 1689S-1696S.

DONG X, CRAIG T, XING N, BACHMAN LA, PAYA CV, WEIH F, MCKEAN DJ, KUMAR R, GRIFFIN MD. Direct transcriptional regulation of RelB by 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ and its analogs: physiologic and therapeutic implications for dendritic cell function. *J Biol Chem* 2003; 278: 49378-49385.

DUNNING AM, MCBRIDE S, GREGORY J, DUROCHER F, FOSTER NA, HEALEY CS, SMITH N, PHAROAH PD, LUBEN RN, EASTON DF, PONDER BA. No association between androgen or vitamin D receptor gene polymorphisms and risk of breast cancer. *Carcinogenesis* 1999; 20: 2131-2135.

DURRIN LK, HAILE RW, INGLES SA, COETZEE GA. Vitamin D receptor 3'-untranslated region polymorphisms: lack of effect on mRNA stability. *Biochim Biophys Acta* 1999; 1453: 311-320.

DUSSO AS, BROWN AJ, SLATOPOLSKY E. Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 289: F8-28.

ECCLESHALL TR, GARNERO P, GROSS C, DELMAS PD, FELDMAN D. Lack of correlation between start codon polymorphism of the vitamin D receptor gene and bone mineral density in premenopausal French women: the OFELY study. *J Bone Miner Res* 1998; 13: 31-35.

ENDO I, INOUE D, MITSUI T, UMAKI Y, AKAIKE M, YOSHIZAWA T, KATO S, MATSUMOTO T. Deletion of vitamin D receptor gene in mice results in abnormal skeletal muscle development with deregulated expression of myoregulatory transcription factors. *Endocrinology* 2003; 144: 5138-5144.

ENSRUD KE, STONE K, CAULEY JA, WHITE C, ZMUDA JM, NGUYEN TV, EISMAN JA, CUMMINGS SR. Vitamin D receptor gene polymorphisms and the risk of fractures in older women. For the Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *J Bone Miner Res* 1999; 14: 1637-1645.

FANG Y, RIVADENEIRA F, VAN MEURS JB, POLS HA, IOANNIDIS JP, UITTERLINDEN AG. Vitamin D receptor gene BsmI and TaqI polymorphisms and fracture risk: a meta-analysis. *Bone* 2006; 39: 938-945.

FANG Y, VAN MEURS JB, BERGINK AP, HOFMAN A, VAN DUIJN CM, VAN LEEUWEN JP, POLS HA, UITTERLINDEN AG. Cdx-2 polymorphism in the promoter region of the human vitamin D receptor gene determines susceptibility to fracture in the elderly. *J Bone Miner Res* 2003; 18: 1632-1641.

FARACO JH, MORRISON NA, BAKER A, SHINE J, FROSSARD PM. ApaI dimorphism at the human vitamin D receptor gene locus. *Nucleic Acids Res* 1989; 17: 2150.

FENG W, RIBEIRO RC, WAGNER RL, NGUYEN H, APRILETTI JW, FLETTERICK RJ, BAXTER JD, KUSHNER PJ, WEST BL. Hormone-dependent coactivator binding to a hydrophobic cleft on nuclear receptors. *Science* 1998; 280: 1747-1749.

FERRARI S, RIZZOLI R, CHEVALLEY T, SLOSMAN D, EISMAN JA, BONJOUR JP. Vitamin-D-receptor-gene polymorphisms and change in lumbar-spine bone mineral density. *Lancet* 1995; 345: 423-424.

FERRARI S, RIZZOLI R, MANEN D, SLOSMAN D, BONJOUR JP. Vitamin D receptor gene start codon polymorphisms (FokI) and bone mineral density: interaction with age, dietary calcium, and 3'-end region polymorphisms. *J Bone Miner Res* 1998; 13: 925-930.

FERRARI SL, RIZZOLI R, SLOSMAN DO, BONJOUR JP. Do dietary calcium and age explain the controversy surrounding the relationship between bone mineral density and vitamin D receptor gene polymorphisms? *J Bone Miner Res* 1998; 13: 363-370.

FESKANICH D, HUNTER DJ, WILLETT WC, HANKINSON SE, HOLLIS BW, HOUGH HL, KELSEY KT, COLDITZ GA. Vitamin D receptor genotype and the risk of bone fractures in women. *Epidemiology* 1998; 9: 535-539.

FREEDMAN LP, LUISI BF, KORSZUN ZR, BASAVAPPA R, SIGLER PB, YAMAMOTO KR. The function and structure of the metal coordination sites within the glucocorticoid receptor DNA binding domain. *Nature* 1988; 334: 543-546.

GABRIEL SB, SCHAFFNER SF, NGUYEN H, MOORE JM, ROY J, BLUMENSTIEL B, HIGGINS J, DEFELICE M, LOCHNER A, FAGGART M, LIU-CORDERO SN, ROTIMI C, ADEYEMO A, COOPER R, WARD R, LANDER ES, DALY MJ, ALTSHULER D. The structure of haplotype blocks in the human genome. *Science* 2002; 296: 2225-2229.

GARNERO P, BOREL O, SORNAY-RENDU E, ARLOT ME, DELMAS PD. Vitamin D receptor gene polymorphisms are not related to bone turnover, rate of bone loss, and bone mass in postmenopausal women: the OFELY Study. *J Bone Miner Res* 1996; 11: 827-834.

GARNERO P, BOREL O, SORNAY-RENDU E, DELMAS PD. Vitamin D receptor gene polymorphisms do not predict bone turnover and bone mass in healthy premenopausal women. *J Bone Miner Res* 1995; 10: 1283-1288.

GENNARI L, BECHERINI L, FALCHETTI A, MASI L, MASSART F, BRANDI ML. Genetics of osteoporosis: role of steroid hormone receptor gene polymorphisms. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2002; 81: 1-24.

GENNARI L, BECHERINI L, MANSANI R, MASI L, FALCHETTI A, MORELLI A, COLLI E, GONNELLI S, CEPOLLARO C, BRANDI ML. FokI polymorphism at translation initiation site of the vitamin D receptor gene predicts bone mineral density and vertebral fractures in postmenopausal Italian women. *J Bone Miner Res* 1999; 14: 1379-1386.

GENNARI L, BECHERINI L, MASI L, GONNELLI S, CEPOLLARO C, MARTINI S, MANSANI R, BRANDI ML. Vitamin D receptor genotypes and intestinal calcium absorption in postmenopausal women. *Calcif Tissue Int* 1997; 61: 460-463.

GENNARI L, BECHERINI L, MASI L, MANSANI R, GONNELLI S, CEPOLLARO C, MARTINI S, MONTAGNANI A, LENTINI G, BECORPI AM, BRANDI ML. Vitamin D and estrogen receptor allelic variants in Italian postmenopausal women: evidence of multiple gene contribution to bone mineral density. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 939-944.

GONG G, STERN HS, CHENG SC, FONG N, MORDESON J, DENG HW, RECKER RR. The association of bone mineral density with vitamin D receptor gene polymorphisms. *Osteoporos Int* 1999; 9: 55-64.

GRAAFMANS WC, LIPS P, OOMS ME, VAN LEEUWEN JP, POLS HA, UITTERLINDEN AG. The effect of vitamin D supplementation on the bone mineral density of the femoral neck is associated with vitamin D receptor genotype. *J Bone Miner Res* 1997; 12: 1241-1245.

GROSS C, ECCLESHALL TR, MALLOY PJ, VILLA ML, MARCUS R, FELDMAN D. The presence of a polymorphism at the translation initiation site of the vitamin D receptor gene is associated with low bone mineral density in postmenopausal Mexican-American women. *J Bone Miner Res* 1996; 11: 1850-1855.

GROSS C, KRISHNAN AV, MALLOY PJ, ECCLESHALL TR, ZHAO XY, FELDMAN D. The vitamin D receptor gene start codon polymorphism: a functional analysis of FokI variants. *J Bone Miner Res* 1998; 13: 1691-1699.

GSUR A, FEIK E, MADERSBACHER S. Genetic polymorphisms and prostate cancer risk. *World J Urol* 2004; 21: 414-423.

GUY M, LOWE LC, BRETHERTON-WATT D, MANSI JL, PECKITT C, BLISS J, WILSON RG, THOMAS V, COLSTON KW. Vitamin D receptor gene polymorphisms and breast cancer risk. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 5472-5481.

HABUCHI T, SUZUKI T, SASAKI R, WANG L, SATO K, SATOH S, AKAO T, TSUCHIYA N, SHIMODA N, WADA Y, KOIZUMI A, CHIHARA J, OGAWA O, KATO T. Association of vitamin D receptor gene polymorphism with prostate cancer and benign prostatic hyperplasia in a Japanese population. *Cancer Res* 2000; 60: 305-308.

HANSEN TS, ABRAHAMSEN B, HENRIKSEN FL, HERMANN AP, JENSEN LB, HORDER M, GRAM J. Vitamin D receptor alleles do not predict bone mineral density or bone loss in Danish perimenopausal women. *Bone* 1998; 22: 571-575.

HARANT H, ANDREW PJ, REDDY GS, FOGLAR E, LINDLEY IJ. 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ and a variety of its natural metabolites transcriptionally repress nuclear-factor-kappaB-mediated interleukin-8 gene expression. *Eur J Biochem* 1997; 250: 63-71.

HAUSSLER B, GOTHE H, GOL D, GLAESKE G, PIENKA L, FELSENBURG D. Epidemiology, treatment and costs of osteoporosis in Germany--the BoneEVA Study. *Osteoporos Int* 2007; 18: 77-84.

HAUSSLER MR, WHITFIELD GK, HAUSSLER CA, HSIEH JC, THOMPSON PD, SELZNICK SH, DOMINGUEZ CE, JURUTKA PW. The nuclear vitamin D receptor: biological and molecular regulatory properties revealed. *J Bone Miner Res* 1998; 13: 325-349.

HAYES CE, NASHOLD FE, SPACH KM, PEDERSEN LB. The immunological functions of the vitamin D endocrine system. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2003; 49: 277-300.

HEERY DM, KALKHOVEN E, HOARE S, PARKER MG. A signature motif in transcriptional co-activators mediates binding to nuclear receptors. *Nature* 1997; 387: 733-736.

HERMANSON O, GLASS CK, ROSENFELD MG. Nuclear receptor coregulators: multiple modes of modification. *Trends Endocrinol Metab* 2002; 13: 55-60.

HITMAN GA, MANNAN N, MCDERMOTT MF, AGANNA E, OGUNKOLADE BW, HALES CN, BOUCHER BJ. Vitamin D receptor gene polymorphisms influence insulin secretion in Bangladeshi Asians. *Diabetes* 1998; 47: 688-690.

HOENDEROP JG, MULLER D, VAN DER KEMP AW, HARTOG A, SUZUKI M, ISHIBASHI K, IMAI M, SWEEP F, WILLEMS PH, VAN OS CH, BINDELS RJ. Calcitriol controls the epithelial calcium channel in kidney. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 1342-1349.

HOENDEROP JG, VAN DER KEMP AW, HARTOG A, VAN DE GRAAF SF, VAN OS CH, WILLEMS PH, BINDELS RJ. Molecular identification of the apical Ca²⁺ channel in 1, 25-dihydroxyvitamin D₃-responsive epithelia. *J Biol Chem* 1999; 274: 8375-8378.

HOUSTON LA, GRANT SF, REID DM, RALSTON SH. Vitamin D receptor polymorphism, bone mineral density, and osteoporotic vertebral fracture: studies in a UK population. *Bone* 1996; 18: 249-252.

HU X, LI Y, LAZAR MA. Determinants of CoRNR-dependent repression complex assembly on nuclear hormone receptors. *Mol Cell Biol* 2001; 21: 1747-1758.

INGLES SA, COETZEE GA, ROSS RK, HENDERSON BE, KOLONEL LN, CROCITTO L, WANG W, HAILE RW. Association of prostate cancer with vitamin D receptor haplotypes in African-Americans. *Cancer Res* 1998; 58: 1620-1623.

INGLES SA, HAILE RW, HENDERSON BE, KOLONEL LN, NAKAICHI G, SHI CY, YU MC, ROSS RK, COETZEE GA. Strength of linkage disequilibrium between two vitamin D receptor markers in five ethnic groups: implications for association studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1997; 6: 93-98.

INGLES SA, ROSS RK, YU MC, IRVINE RA, LA PERA G, HAILE RW, COETZEE GA. Association of prostate cancer risk with genetic polymorphisms in vitamin D receptor and androgen receptor. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 166-170.

IOANNIDIS JP, RALSTON SH, BENNETT ST, BRANDI ML, GRINBERG D, KARASSA FB, LANGDAHL B, VAN MEURS JB, MOSEKILDE L, SCOLLEN S, ALBAGHA OM, BUSTAMANTE M, CAREY AH, DUNNING AM, ENJUANES A, VAN LEEUWEN JP, MAVILIA C, MASI L, MCGUIGAN FE, NOGUES X, POLS HA, REID DM, SCHUIT SC, SHERLOCK RE, UITTERLINDEN AG. Differential genetic effects of ESR1 gene polymorphisms on osteoporosis outcomes. *Jama* 2004; 292: 2105-2114.

IOF (International Osteoporosis Foundation) on behalf of the European Parliament Osteoporosis Interest Group and EU Osteoporosis Consultation Panel. *Osteoporosis in Europe: Indicators of Progress*. 2004.

ISMAIL AA, O'NEILL TW, COOPER C, FINN JD, BHALLA AK, CANNATA JB, DELMAS P, FALCH JA, FELSCH B, HOSZOWSKI K, JOHNNELL O, DIAZ-LOPEZ JB, LOPEZ VAZ A, MARCHAND F, RASPE H, REID DM, TODD C, WEBER K, WOOLF A, REEVE J, SILMAN AJ. Mortality associated with vertebral deformity in men and women: results from the European Prospective Osteoporosis Study (EPOS). *Osteoporos Int* 1998; 8: 291-297.

ISSA LL, LEONG GM, EISMAN JA. Molecular mechanism of vitamin D receptor action. *Inflamm Res* 1998; 47: 451-475.

JOHNELL O, KANIS JA. An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures. *Osteoporos Int* 2006; 17: 1726-1733.

JONES G, STRUGNELL SA, DELUCA HF. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiol Rev* 1998; 78: 1193-1231.

JORGENSEN HL, SCHOLLER J, SAND JC, BJURING M, HASSAGER C, CHRISTIANSEN C. Relation of common allelic variation at vitamin D receptor locus to bone mineral density and postmenopausal bone loss: cross sectional and longitudinal population study. *Bmj* 1996; 313: 586-590.

JORGENSEN HL, SCHOLLER J, SAND JC, BJURING M, HASSAGER C, CHRISTIANSEN C. [Relation between common allelic variation in a cross-sectional longitudinal population study. Vitamin D receptor locus, bone mineral density and postmenopausal bone loss]. *Ugeskr Laeger* 1998; 160: 648-653.

JURUTKA PW, HSIEH JC, REMUS LS, WHITFIELD GK, THOMPSON PD, HAUSSLER CA, BLANCO JC, OZATO K, HAUSSLER MR. Mutations in the 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptor identifying C-terminal amino acids required for transcriptional activation that are functionally dissociated from hormone binding, heterodimeric DNA binding, and interaction with basal transcription factor IIB, in vitro. *J Biol Chem* 1997; 272: 14592-14599.

JURUTKA PW, REMUS LS, WHITFIELD GK, THOMPSON PD, HSIEH JC, ZITZER H, TAVAKKOLI P, GALLIGAN MA, DANG HT, HAUSSLER CA, HAUSSLER MR. The polymorphic N terminus in human vitamin D receptor isoforms influences transcriptional activity by modulating interaction with transcription factor IIB. *Mol Endocrinol* 2000; 14: 401-420.

KATO S, ENDOH H, MASUHIRO Y, KITAMOTO T, UCHIYAMA S, SASAKI H, MASUSHIGE S, GOTOH Y, NISHIDA E, KAWASHIMA H, METZGER D, CHAMBON P. Activation of the estrogen receptor through phosphorylation by mitogen-activated protein kinase. *Science* 1995; 270: 1491-1494.

KEEN RW, EGGER P, FALL C, MAJOR PJ, LANCHBURY JS, SPECTOR TD, COOPER C. Polymorphisms of the vitamin D receptor, infant growth, and adult bone mass. *Calcif Tissue Int* 1997; 60: 233-235.

KEEN RW, MAJOR PJ, LANCHBURY JS, SPECTOR TD. Vitamin-D-receptor-gene polymorphism and bone loss. *Lancet* 1995; 345: 990.

KIBEL AS, ISAACS SD, ISAACS WB, BOVA GS. Vitamin D receptor polymorphisms and lethal prostate cancer. *J Urol* 1998; 160: 1405-1409.

KIKUCHI R, UEMURA T, GORAI I, OHNO S, MINAGUCHI H. Early and late postmenopausal bone loss is associated with BsmI vitamin D receptor gene polymorphism in Japanese women. *Calcif Tissue Int* 1999; 64: 102-106.

KINYAMU HK, GALLAGHER JC, KNEZETIC JA, DELUCA HF, PRAHL JM, LANSPA SJ. Effect of vitamin D receptor genotypes on calcium absorption, duodenal vitamin D receptor concentration, and serum 1,25 dihydroxyvitamin D levels in normal women. *Calcif Tissue Int* 1997; 60: 491-495.

KISHIMOTO M, FUJIKI R, TAKEZAWA S, SASAKI Y, NAKAMURA T, YAMAOKA K, KITAGAWA H, KATO S. Nuclear receptor mediated gene regulation through chromatin remodeling and histone modifications. *Endocr J* 2006; 53: 157-172.

KOCHUPILLAI N. The physiology of vitamin D : current concepts. *Indian J Med Res* 2008; 127: 256-262.

KRALL EA, PARRY P, LICHTER JB, DAWSON-HUGHES B. Vitamin D receptor alleles and rates of bone loss: influences of years since menopause and calcium intake. *J Bone Miner Res* 1995; 10: 978-984.

KUDLACEK S, SCHNEIDER B, PETERLIK M, LEB G, KLAUSHOFER K, WEBER K, WOLOSZCZUK W, WILLVONSEDER R. Normative data of bone mineral density in an unselected adult Austrian population. *Eur J Clin Invest* 2003; 33: 332-339.

KURNIK BR, HRUSKA KA. Mechanism of stimulation of renal phosphate transport by 1,25-dihydroxycholecalciferol. *Biochim Biophys Acta* 1985; 817: 42-50.

LABUDA M, FUJIWARA TM, ROSS MV, MORGAN K, GARCIA-HERAS J, LEDBETTER DH, HUGHES MR, GLORIEUX FH. Two hereditary defects related to vitamin D metabolism map to the same region of human chromosome 12q13-14. *J Bone Miner Res* 1992; 7: 1447-1453.

LAU HH, NG MY, HO AY, LUK KD, KUNG AW. Genetic and environmental determinants of bone mineral density in Chinese women. *Bone* 2005; 36: 700-709.

LEMIRE JM, ARCHER DC. 1,25-dihydroxyvitamin D₃ prevents the in vivo induction of murine experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Clin Invest* 1991; 87: 1103-1107.

LI YC, AMLING M, PIRRO AE, PRIEMEL M, MEUSE J, BARON R, DELLING G, DEMAY MB. Normalization of mineral ion homeostasis by dietary means prevents hyperparathyroidism, rickets, and osteomalacia, but not alopecia in vitamin D receptor-ablated mice. *Endocrinology* 1998; 139: 4391-4396.

LI YC, KONG J, WEI M, CHEN ZF, LIU SQ, CAO LP. 1,25-Dihydroxyvitamin D(3) is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system. *J Clin Invest* 2002; 110: 229-238.

LI YC, PIRRO AE, AMLING M, DELLING G, BARON R, BRONSON R, DEMAY MB. Targeted ablation of the vitamin D receptor: an animal model of vitamin D-dependent rickets type II with alopecia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997; 94: 9831-9835.

LIBLAU RS, SINGER SM, MCDEVITT HO. Th1 and Th2 CD4⁺ T cells in the pathogenesis of organ-specific autoimmune diseases. *Immunol Today* 1995; 16: 34-38.

LIEBERHERR M, GROSSE B, DUCHAMBON P, DRUEKE T. A functional cell surface type receptor is required for the early action of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on the phosphoinositide metabolism in rat enterocytes. *J Biol Chem* 1989; 264: 20403-20406.

LIU YZ, LIU YJ, RECKER RR, DENG HW. Molecular studies of identification of genes for osteoporosis: the 2002 update. *J Endocrinol* 2003; 177: 147-196.

LORENTZON M, LORENTZON R, NORDSTROM P. Vitamin D receptor gene polymorphism is associated with birth height, growth to adolescence, and adult stature in healthy caucasian men: a cross-sectional and longitudinal study. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85: 1666-1670.

LUCOTTE G, MERCIER G, BURCKEL A. The vitamin D receptor FokI start codon polymorphism and bone mineral density in osteoporotic postmenopausal French women. *Clin Genet* 1999; 56: 221-224.

LUNDIN AC, SODERKVIST P, ERIKSSON B, BERGMAN-JUNGESTROM M, WINGREN S. Association of breast cancer progression with a vitamin D receptor gene

polymorphism. South-East Sweden Breast Cancer Group. *Cancer Res* 1999; 59: 2332-2334.

MALECKI MT, FREY J, MOCZULSKI D, KLUPA T, KOZEK E, SIERADZKI J. Vitamin D receptor gene polymorphisms and association with type 2 diabetes mellitus in a Polish population. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2003; 111: 505-509.

MANGELSDORF DJ, THUMMEL C, BEATO M, HERRLICH P, SCHUTZ G, UMESONO K, BLUMBERG B, KASTNER P, MARK M, CHAMBON P, EVANS RM. The nuclear receptor superfamily: the second decade. *Cell* 1995; 83: 835-839.

MARCO MP, MARTINEZ I, BETRIU A, CRAVER L, FIBLA MJ, FERNANDEZ E. Influence of Bsm1 vitamin D receptor gene polymorphism on the response to a single bolus of calcitrol in hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 2001; 56: 111-116.

MCCAREY D, SPOONER R, JAGGER C, MCLELLAN AR, JARDINE AG. The BSM-1 vitamin D receptor polymorphism and secondary hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 811-812.

MCCLURE L, ECCLESHALL TR, GROSS C, VILLA ML, LIN N, RAMASWAMY V, KOHLMEIER L, KELSEY JL, MARCUS R, FELDMAN D. Vitamin D receptor polymorphisms, bone mineral density, and bone metabolism in postmenopausal Mexican-American women. *J Bone Miner Res* 1997; 12: 234-240.

MCDERMOTT MF, RAMACHANDRAN A, OGUNKOLADE BW, AGANNA E, CURTIS D, BOUCHER BJ, SNEHALATHA C, HITMAN GA. Allelic variation in the vitamin D receptor influences susceptibility to IDDM in Indian Asians. *Diabetologia* 1997; 40: 971-975.

MCDONNELL DP, SCOTT RA, KERNER SA, O'MALLEY BW, PIKE JW. Functional domains of the human vitamin D3 receptor regulate osteocalcin gene expression. *Mol Endocrinol* 1989; 3: 635-644.

MIMBACAS A, TRUJILLO J, GASCUE C, JAVIEL G, CARDOSO H. Prevalence of vitamin D receptor gene polymorphism in a Uruguayan population and its relation to type 1 diabetes mellitus. *Genet Mol Res* 2007; 6: 534-542.

MIYAMOTO K, KESTERSON RA, YAMAMOTO H, TAKETANI Y, NISHIWAKI E, TATSUMI S, INOUE Y, MORITA K, TAKEDA E, PIKE JW. Structural organization of the human vitamin D receptor chromosomal gene and its promoter. *Mol Endocrinol* 1997; 11: 1165-1179.

MORAS D, GRONEMEYER H. The nuclear receptor ligand-binding domain: structure and function. *Curr Opin Cell Biol* 1998; 10: 384-391.

MORELLI S, DE BOLAND AR, BOLAND RL. Generation of inositol phosphates, diacylglycerol and calcium fluxes in myoblasts treated with 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Biochem J* 1993; 289 (Pt 3): 675-679.

MORIMOTO S, KUMAHARA Y. A patient with psoriasis cured by 1 alpha-hydroxyvitamin D3. *Med J Osaka Univ* 1985; 35: 51-54.

MORRISON NA, QI JC, TOKITA A, KELLY PJ, CROFTS L, NGUYEN TV, SAMBROOK PN, EISMAN JA. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature* 1994; 367: 284-287.

MORRISON NA, YEOMAN R, KELLY PJ, EISMAN JA. Contribution of trans-acting factor alleles to normal physiological variability: vitamin D receptor gene

polymorphism and circulating osteocalcin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89: 6665-6669.

MOTOHASHI Y, YAMADA S, YANAGAWA T, MARUYAMA T, SUZUKI R, NIINO M, FUKAZAWA T, KASUGA A, HIROSE H, MATSUBARA K, SHIMADA A, SARUTA T. Vitamin D receptor gene polymorphism affects onset pattern of type 1 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 3137-3140.

NAGPAL S, NA S, RATHNACHALAM R. Noncalcemic actions of vitamin D receptor ligands. *Endocr Rev* 2005; 26: 662-687.

NAKAJIMA S, HSIEH JC, MACDONALD PN, GALLIGAN MA, HAUSSLER CA, WHITFIELD GK, HAUSSLER MR. The C-terminal region of the vitamin D receptor is essential to form a complex with a receptor auxiliary factor required for high affinity binding to the vitamin D-responsive element. *Mol Endocrinol* 1994; 8: 159-172.

NEJENTSEV S, COOPER JD, GODFREY L, HOWSON JM, RANCE H, NUTLAND S, WALKER NM, GUJA C, IONESCU-TIRGOVISTE C, SAVAGE DA, UNDLIEN DE, RONNINGEN KS, TUOMILEHTO-WOLF E, TUOMILEHTO J, GILLESPIE KM, RING SM, STRACHAN DP, WIDMER B, DUNGER D, TODD JA. Analysis of the vitamin D receptor gene sequence variants in type 1 diabetes. *Diabetes* 2004; 53: 2709-2712.

NEWCOMB PA, KIM H, TRENTAM-DIETZ A, FARIN F, HUNTER D, EGAN KM. Vitamin D receptor polymorphism and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2002; 11: 1503-1504.

NOF (National Osteoporosis Foundation). America's Bone Health. The State of Osteoporosis and Low Bone Mass in Our Nation. Prevalence Report. Washington DC, 2002.

NTAIS C, POLYCARPOU A, IOANNIDIS JP. Vitamin D receptor gene polymorphisms and risk of prostate cancer: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003; 12: 1395-1402.

ORTLEPP JR, LAUSCHER J, HOFFMANN R, HANRATH P, JOOST HG. The vitamin D receptor gene variant is associated with the prevalence of type 2 diabetes mellitus and coronary artery disease. *Diabet Med* 2001; 18: 842-845.

PANDA DK, MIAO D, BOLIVAR I, LI J, HUO R, HENDY GN, GOLTZMAN D. Inactivation of the 25-hydroxyvitamin D 1alpha-hydroxylase and vitamin D receptor demonstrates independent and interdependent effects of calcium and vitamin D on skeletal and mineral homeostasis. *J Biol Chem* 2004; 279: 16754-16766.

PATEL SR, KE HQ, HSU CH. Regulation of calcitriol receptor and its mRNA in normal and renal failure rats. *Kidney Int* 1994; 45: 1020-1027.

PENNA G, ADORINI L. 1 Alpha,25-dihydroxyvitamin D₃ inhibits differentiation, maturation, activation, and survival of dendritic cells leading to impaired alloreactive T cell activation. *J Immunol* 2000; 164: 2405-2411.

PIKE JW, MEYER MB, WATANUKI M, KIM S, ZELLA LA, FRETZ JA, YAMAZAKI M, SHEVDE NK. Perspectives on mechanisms of gene regulation by 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and its receptor. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007; 103: 389-395.

PLUIJM SM, VAN ESSEN HW, BRAVENBOER N, UITTERLINDEN AG, SMIT JH, POLS HA, LIPS P. Collagen type I alpha1 Sp1 polymorphism, osteoporosis, and intervertebral disc degeneration in older men and women. *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 71-77.

POCOCK NA, EISMAN JA, HOPPER JL, YEATES MG, SAMBROOK PN, EBERL S. Genetic determinants of bone mass in adults. A twin study. *J Clin Invest* 1987; 80: 706-710.

RACHEZ C, GAMBLE M, CHANG CP, ATKINS GB, LAZAR MA, FREEDMAN LP. The DRIP complex and SRC-1/p160 coactivators share similar nuclear receptor binding determinants but constitute functionally distinct complexes. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 2718-2726.

RACHEZ C, SULDAN Z, WARD J, CHANG CP, BURAKOV D, ERDJUMENT-BROMAGE H, TEMPST P, FREEDMAN LP. A novel protein complex that interacts with the vitamin D3 receptor in a ligand-dependent manner and enhances VDR transactivation in a cell-free system. *Genes Dev* 1998; 12: 1787-1800.

RACZ A, BARSONY J. Hormone-dependent translocation of vitamin D receptors is linked to transactivation. *J Biol Chem* 1999; 274: 19352-19360.

RENAUD JP, MORAS D. Structural studies on nuclear receptors. *Cell Mol Life Sci* 2000; 57: 1748-1769.

RENELAND RH, MAH S, KAMMERER S, HOYAL CR, MARNELLOS G, WILSON SG, SAMBROOK PN, SPECTOR TD, NELSON MR, BRAUN A. Association between a variation in the phosphodiesterase 4D gene and bone mineral density. *BMC Med Genet* 2005; 6: 9.

REZENDE VB, BARBOSA F, JR., MONTENEGRO MF, SANDRIM VC, GERLACH RF, TANUS-SANTOS JE. An interethnic comparison of the distribution of vitamin D receptor genotypes and haplotypes. *Clin Chim Acta* 2007; 384: 155-159.

ROBINSON-RECHAVI M, ESCRIVA GARCIA H, LAUDET V. The nuclear receptor superfamily. *J Cell Sci* 2003; 116: 585-586.

ROCHEL N, TOCCHINI-VALENTINI G, EGEA PF, JUNTUNEN K, GARNIER JM, VIHKO P, MORAS D. Functional and structural characterization of the insertion region in the ligand binding domain of the vitamin D nuclear receptor. *Eur J Biochem* 2001; 268: 971-979.

ROCHEL N, WURTZ JM, MITSCHLER A, KLAHOLZ B, MORAS D. The crystal structure of the nuclear receptor for vitamin D bound to its natural ligand. *Mol Cell* 2000; 5: 173-179.

RUGGIERO M, PACINI S, ATERINI S, FALLAI C, RUGGIERO C, PACINI P. Vitamin D receptor gene polymorphism is associated with metastatic breast cancer. *Oncol Res* 1998; 10: 43-46.

SAIJO T, NAITO E, ITO M, TAKEDA E, HASHIMOTO T, KURODA Y. Therapeutic effect of sodium dichloroacetate on visual and auditory hallucinations in a patient with MELAS. *Neuropediatrics* 1991; 22: 166-167.

SALAMONE LM, FERRELL R, BLACK DM, PALERMO L, EPSTEIN RS, PETRO N, STEADMAN N, KULLER LH, CAULEY JA. The association between vitamin D receptor gene polymorphisms and bone mineral density at the spine, hip and whole-body in premenopausal women. *Osteoporos Int* 1996; 6: 63-68.

SAMBROOK P, COOPER C. Osteoporosis. *Lancet* 2006; 367: 2010-2018.

SCHMIDT S, CHUDEK J, KARKOSZKA H, HEEMANN U, REICHEL H, RAMBAUSEK M, KOKOT F, RITZ E. The BsmI vitamin D-receptor polymorphism and secondary hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12: 1771-1772.

SCHONDORF T, EISBERG C, WASSMER G, WARM M, BECKER M, REIN DT, GOHRING UJ. Association of the vitamin D receptor genotype with bone metastases in breast cancer patients. *Oncology* 2003; 64: 154-159.

SELLES J, MASSHEIMER V, SANTILLAN G, MARINISSEN MJ, BOLAND R. Effects of calcitriol and its analogues, calcipotriol (MC 903) and 20-epi-1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ (MC 1288), on calcium influx and DNA synthesis in cultured muscle cells. *Biochem Pharmacol* 1997; 53: 1807-1814.

SKRABIC V, ZEMUNIK T, SITUM M, TERZIC J. Vitamin D receptor polymorphism and susceptibility to type 1 diabetes in the Dalmatian population. *Diabetes Res Clin Pract* 2003; 59: 31-35.

SLADEK R, ROCHELEAU G, RUNG J, DINA C, SHEN L, SERRE D, BOUTIN P, VINCENT D, BELISLE A, HADJADJ S, BALKAU B, HEUDE B, CHARPENTIER G, HUDSON TJ, MONTPETIT A, PSHEZHETSKY AV, PRENTKI M, POSNER BI, BALDING DJ, MEYRE D, POLYCHRONAKOS C, FROGUEL P. A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature* 2007; 445: 881-885.

SLATOPOLSKY E, GONZALEZ E, MARTIN K. Pathogenesis and treatment of renal osteodystrophy. *Blood Purif* 2003; 21: 318-326.

SLATTERY ML. Vitamin D receptor gene (VDR) associations with cancer. *Nutr Rev* 2007; 65: S102-104.

SONE T, KERNER S, PIKE JW. Vitamin D receptor interaction with specific DNA. Association as a 1,25-dihydroxyvitamin D₃-modulated heterodimer. *J Biol Chem* 1991; 266: 23296-23305.

SOWERS M, WILLING M, BURNS T, DESCHENES S, HOLLIS B, CRUTCHFIELD M, JANNAUSCH M. Genetic markers, bone mineral density, and serum osteocalcin levels. *J Bone Miner Res* 1999; 14: 1411-1419.

SPECTOR TD, KEEN RW, ARDEN NK, MORRISON NA, MAJOR PJ, NGUYEN TV, KELLY PJ, BAKER JR, SAMBROOK PN, LANCHBURY JS, ET AL. Influence of vitamin D receptor genotype on bone mineral density in postmenopausal women: a twin study in Britain. *Bmj* 1995; 310: 1357-1360.

SPEER G, CSEH K, WINKLER G, VARGHA P, BRAUN E, TAKACS I, LAKATOS P. Vitamin D and estrogen receptor gene polymorphisms in type 2 diabetes mellitus and in android type obesity. *Eur J Endocrinol* 2001; 144: 385-389.

STEINMETZ AC, RENAUD JP, MORAS D. Binding of ligands and activation of transcription by nuclear receptors. *Annu Rev Biophys Biomol Struct* 2001; 30: 329-359.

SUAREZ F, ZEGHOUD F, ROSSIGNOL C, WALRANT O, GARABEDIAN M. Association between vitamin D receptor gene polymorphism and sex-dependent growth during the first two years of life. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 2966-2970.

SUTTON AL, MACDONALD PN. Vitamin D: more than a "bone-a-fide" hormone. *Mol Endocrinol* 2003; 17: 777-791.

SYHA Y. Synthese und in vitro-pharmakologische Charakterisierung von dualen PPAR α / γ -Agonisten, 2005; 12-14.

SYLVIA VL, SCHWARTZ Z, ELLIS EB, HELM SH, GOMEZ R, DEAN DD, BOYAN BD. Nongenomic regulation of protein kinase C isoforms by the vitamin D metabolites 1 α ,25-(OH) $_2$ D $_3$ and 24R,25-(OH) $_2$ D $_3$. *J Cell Physiol* 1996; 167: 380-393.

SZABO A, MERKE J, BEIER E, MALL G, RITZ E. 1,25(OH)₂ vitamin D₃ inhibits parathyroid cell proliferation in experimental uremia. *Kidney Int* 1989; 35: 1049-1056.

TAKEDA S, YOSHIZAWA T, NAGAI Y, YAMATO H, FUKUMOTO S, SEKINE K, KATO S, MATSUMOTO T, FUJITA T. Stimulation of osteoclast formation by 1,25-dihydroxyvitamin D requires its binding to vitamin D receptor (VDR) in osteoblastic cells: studies using VDR knockout mice. *Endocrinology* 1999; 140: 1005-1008.

TAKEUCHI A, REDDY GS, KOBAYASHI T, OKANO T, PARK J, SHARMA S. Nuclear factor of activated T cells (NFAT) as a molecular target for 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃-mediated effects. *J Immunol* 1998; 160: 209-218.

TAMAI M, YOKOUCHI M, KOMIYA S, MOCHIZUKI K, HIDAKA S, NARITA S, INOUE A, ITOH K. Correlation between vitamin D receptor genotypes and bone mineral density in Japanese patients with osteoporosis. *Calcif Tissue Int* 1997; 60: 229-232.

TAO C, YU T, GARNETT S, BRIODY J, KNIGHT J, WOODHEAD H, COWELL CT. Vitamin D receptor alleles predict growth and bone density in girls. *Arch Dis Child* 1998; 79: 488-493; discussion 493-484.

TAYLOR JA, HIRVONEN A, WATSON M, PITTMAN G, MOHLER JL, BELL DA. Association of prostate cancer with vitamin D receptor gene polymorphism. *Cancer Res* 1996; 56: 4108-4110.

TAYMANS SE, PACK S, PAK E, ORBAN Z, BARSONY J, ZHUANG Z, STRATAKIS CA. The human vitamin D receptor gene (VDR) is localized to region 12cen-q12 by fluorescent in situ hybridization and radiation hybrid mapping: genetic and physical VDR map. *J Bone Miner Res* 1999; 14: 1163-1166.

TOKITA A, MATSUMOTO H, MORRISON NA, TAWA T, MIURA Y, FUKAMAUCHI K, MITSUHASHI N, IRIMOTO M, YAMAMORI S, MIURA M, WATANABE T, KUWABARA Y, YABUTA K, EISMAN JA. Vitamin D receptor alleles, bone mineral density and turnover in premenopausal Japanese women. *J Bone Miner Res* 1996; 11: 1003-1009.

TREMBLAY A, TREMBLAY GB, LABRIE F, GIGUERE V. Ligand-independent recruitment of SRC-1 to estrogen receptor beta through phosphorylation of activation function AF-1. *Mol Cell* 1999; 3: 513-519.

TSUKAMOTO Y, HEISHI M, NAGABA Y, KOBAYASHI N, NOMURA Y, TAKAHASHI K, TAZAWA H. More on hyperparathyroidism and the vitamin D receptor. *Nat Med* 1996; 2: 1162.

TURPEINEN H, HERMANN R, VAARA S, LAINE AP, SIMELL O, KNIP M, VEIJOLA R, ILONEN J. Vitamin D receptor polymorphisms: no association with type 1 diabetes in the Finnish population. *Eur J Endocrinol* 2003; 149: 591-596.

UITTERLINDEN AG, FANG Y, BERGINK AP, VAN MEURS JB, VAN LEEUWEN HP, POLS HA. The role of vitamin D receptor gene polymorphisms in bone biology. *Mol Cell Endocrinol* 2002; 197: 15-21.

UITTERLINDEN AG, FANG Y, VAN MEURS JB, POLS HA, VAN LEEUWEN JP. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene* 2004; 338: 143-156.

UITTERLINDEN AG, POLS HA, BURGER H, HUANG Q, VAN DAELE PL, VAN DUIJN CM, HOFMAN A, BIRKENHAGER JC, VAN LEEUWEN JP. A large-scale population-based study of the association of vitamin D receptor gene polymorphisms with bone mineral density. *J Bone Miner Res* 1996; 11: 1241-1248.

UITTERLINDEN AG, RALSTON SH, BRANDI ML, CAREY AH, GRINBERG D, LANGDAHL BL, LIPS P, LORENC R, OBERMAYER-PIETSCH B, REEVE J, REID DM, AMEDEI A, BASSITI A, BUSTAMANTE M, HUSTED LB, DIEZ-PEREZ A, DOBNIG H, DUNNING AM, ENJUANES A, FAHRLEITNER-PAMMER A, FANG Y, KARCZMAREWICZ E, KRUK M, VAN LEEUWEN JP, MAVILIA C, VAN MEURS JB, MANGION J, MCGUIGAN FE, POLS HA, RENNER W, RIVADENEIRA F, VAN SCHOOR NM, SCOLLEN S, SHERLOCK RE, IOANNIDIS JP. The association between common vitamin D receptor gene variations and osteoporosis: a participant-level meta-analysis. *Ann Intern Med* 2006; 145: 255-264.

UITTERLINDEN AG, WEEL AE, BURGER H, FANG Y, VAN DUIJN CM, HOFMAN A, VAN LEEUWEN JP, POLS HA. Interaction between the vitamin D receptor gene and collagen type Ialpha1 gene in susceptibility for fracture. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 379-385.

VALDIVIELSO JM, FERNANDEZ E. Vitamin D receptor polymorphisms and diseases. *Clin Chim Acta* 2006; 371: 1-12.

VANDEVYVER C, WYLIN T, CASSIMAN JJ, RAUS J, GEUSENS P. Influence of the vitamin D receptor gene alleles on bone mineral density in postmenopausal and osteoporotic women. *J Bone Miner Res* 1997; 12: 241-247.

VESELY DL, JUAN D. Cation-dependent vitamin D activation of human renal cortical guanylate cyclase. *Am J Physiol* 1984; 246: E115-120.

VIGO GAGO E, CADARSO-SUAREZ C, PEREZ-FERNANDEZ R, ROMERO BURGOS R, DEVESA MUGICA J, SEGURA IGLESIAS C. Association between vitamin D receptor FokI. Polymorphism and serum parathyroid hormone level in patients with chronic renal failure. *J Endocrinol Invest* 2005; 28: 117-121.

VUPPUTURI MR, GOSWAMI R, GUPTA N, RAY D, TANDON N, KUMAR N. Prevalence and functional significance of 25-hydroxyvitamin D deficiency and vitamin D receptor gene polymorphisms in Asian Indians. *Am J Clin Nutr* 2006; 83: 1411-1419.

WALL JD, PRITCHARD JK. Haplotype blocks and linkage disequilibrium in the human genome. *Nat Rev Genet* 2003; 4: 587-597.

WASSERMAN RH, FULLMER CS. Vitamin D and intestinal calcium transport: facts, speculations and hypotheses. *J Nutr* 1995; 125: 1971S-1979S.

WEBB P, ANDERSON CM, VALENTINE C, NGUYEN P, MARIMUTHU A, WEST BL, BAXTER JD, KUSHNER PJ. The nuclear receptor corepressor (N-CoR) contains three isoleucine motifs (I/LXXII) that serve as receptor interaction domains (IDs). *Mol Endocrinol* 2000; 14: 1976-1985.

WEICHSELBAUM E, DORNER T, RIEDER A, et al. Österreichischer Osteoporosebericht. Verein Altern mit Zukunft (Hrsg.), 2007.

WHO. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of a WHO Study Group. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1994; 843: 1-129.

WILLIAMS FM, SPECTOR TD. Recent advances in the genetics of osteoporosis. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2006; 6: 27-35.

WILLING M, SOWERS M, ARON D, CLARK MK, BURNS T, BUNTEN C, CRUTCHFIELD M, D'AGOSTINO D, JANNAUSCH M. Bone mineral density and its change in white women: estrogen and vitamin D receptor genotypes and their interaction. *J Bone Miner Res* 1998; 13: 695-705.

WISHART JM, HOROWITZ M, NEED AG, SCOPACASA F, MORRIS HA, CLIFTON PM, NORDIN BE. Relations between calcium intake, calcitriol, polymorphisms of the vitamin D receptor gene, and calcium absorption in premenopausal women. *Am J Clin Nutr* 1997; 65: 798-802.

WU J, GARAMI M, CHENG T, GARDNER DG. 1,25(OH)₂ vitamin D₃ and retinoic acid antagonize endothelin-stimulated hypertrophy of neonatal rat cardiac myocytes. *J Clin Invest* 1996; 97: 1577-1588.

WURTZ JM, BOURGUET W, RENAUD JP, VIVAT V, CHAMBON P, MORAS D, GRONEMEYER H. A canonical structure for the ligand-binding domain of nuclear receptors. *Nat Struct Biol* 1996; 3: 87-94.

XU Y, SHIBATA A, MCNEAL JE, STAMEY TA, FELDMAN D, PEEHL DM. Vitamin D receptor start codon polymorphism (FokI) and prostate cancer progression. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003; 12: 23-27.

YAGCI A, WERNER A, MURER H, BIBER J. Effect of rabbit duodenal mRNA on phosphate transport in *Xenopus laevis* oocytes: dependence on 1,25-dihydroxy-Vitamin D₃. *Pflugers Arch* 1992; 422: 211-216.

YAMADA S, SHIMIZU M, YAMAMOTO K. Structure-function relationships of vitamin D including ligand recognition by the vitamin D receptor. *Med Res Rev* 2003; 23: 89-115.

YAMAMOTO H, MIYAMOTO K, LI B, TAKETANI Y, KITANO M, INOUE Y, MORITA K, PIKE JW, TAKEDA E. The caudal-related homeodomain protein Cdx-2 regulates vitamin D receptor gene expression in the small intestine. *J Bone Miner Res* 1999; 14: 240-247.

YASUDA H, SHIMA N, NAKAGAWA N, YAMAGUCHI K, KINOSAKI M, MOCHIZUKI S, TOMOYASU A, YANO K, GOTO M, MURAKAMI A, TSUDA E, MORINAGA T, HIGASHIO K, UDAGAWA N, TAKAHASHI N, SUDA T. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 3597-3602.

YE WZ, REIS AF, DUBOIS-LAFORGUE D, BELLANNE-CHANTELOT C, TIMSIT J, VELHO G. Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with obesity in type 2 diabetic subjects with early age of onset. *Eur J Endocrinol* 2001; 145: 181-186.

YE WZ, REIS AF, VELHO G. Identification of a novel Tru9 I polymorphism in the human vitamin D receptor gene. *J Hum Genet* 2000; 45: 56-57.

YOKOYAMA K, SHIGEMATSU T, KAGAMI S, TSUKADA T, ARAI T, HARA S, YAMADA A, KAWAGUCHI Y, HOSOYA T. Vitamin D receptor gene polymorphism detected by digestion with Apa I influences the parathyroid response to extracellular calcium in Japanese chronic dialysis patients. *Nephron* 2001; 89: 315-320.

YOKOYAMA K, SHIGEMATSU T, TSUKADA T, OGURA Y, TAKEMOTO F, HARA S, YAMADA A, KAWAGUCHI Y, HOSOYA T. Apa I polymorphism in the vitamin D receptor gene may affect the parathyroid response in Japanese with end-stage renal disease. *Kidney Int* 1998; 53: 454-458.

YOSHIZAWA T, HANDA Y, UEMATSU Y, TAKEDA S, SEKINE K, YOSHIHARA Y, KAWAKAMI T, ARIOKA K, SATO H, UCHIYAMA Y, MASUSHIGE S, FUKAMIZU A, MATSUMOTO T, KATO S. Mice lacking the vitamin D receptor exhibit impaired bone formation, uterine hypoplasia and growth retardation after weaning. *Nat Genet* 1997; 16: 391-396.

YOUNG RP, LAU EM, BIRJANDI Z, CRITCHLEY JA, WOO J. Interethnic differences in hip fracture rate and the vitamin D receptor polymorphism. *Lancet* 1996; 348: 688-689.

ZANELLO LP, NORMAN AW. 1 α ,25(OH) $_2$ vitamin D $_3$ -mediated stimulation of outward anionic currents in osteoblast-like ROS 17/2.8 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 225: 551-556.

ZELLA LA, KIM S, SHEVDE NK, PIKE JW. Enhancers located within two introns of the vitamin D receptor gene mediate transcriptional autoregulation by 1,25-dihydroxyvitamin D $_3$. *Mol Endocrinol* 2006; 20: 1231-1247.

ZHANG C, BAUDINO TA, DOWD DR, TOKUMARU H, WANG W, MACDONALD PN. Ternary complexes and cooperative interplay between NCoA-62/Ski-interacting protein and steroid receptor coactivators in vitamin D receptor-mediated transcription. *J Biol Chem* 2001; 276: 40614-40620.

ZITTERMANN A. Vitamin D in preventive medicine: are we ignoring the evidence? *Br J Nutr* 2003; 89: 552-572.

ZMUDA JM, CAULEY JA, DANIELSON ME, THEOBALD TM, FERRELL RE. Vitamin D receptor translation initiation codon polymorphism and markers of osteoporotic risk in older African-American women. *Osteoporos Int* 1999; 9: 214-219.

ZMUDA JM, CAULEY JA, DANIELSON ME, WOLF RL, FERRELL RE. Vitamin D receptor gene polymorphisms, bone turnover, and rates of bone loss in older African-American women. *J Bone Miner Res* 1997; 12: 1446-1452.

ZMUDA JM, CAULEY JA, FERRELL RE. Molecular epidemiology of vitamin D receptor gene variants. *Epidemiol Rev* 2000; 22: 203-217.

INTERNETQUELLEN:

<http://www.hapmap.org>, Zugriff am 27.09.2009

Curriculum Vitae – Katharina Landl

PERSÖNLICHE DATEN

Adresse: 1070 Wien, Urban-Loritz-Platz 4/19

Telefonnummer: +43 (0)650 330 12 82

E-Mail: kathi.landl@gmail.com

Geburtsdatum: 30. Dezember 1982, Steyr

Staatsbürgerschaft: Österreich

AUS- UND WEITERBILDUNG

10/2001 – 02/2010: Diplomstudium der Ernährungswissenschaften,
Schwerpunkt Ernährungsberatung, Universität Wien

09/1993 – 06/2001: Matura, Bundesgymnasium Werndlpark, Steyr

BERUFLICHER WERDEGANG

08/2007 – 10/2009: Brand Management Coordinator
bwin Interactive Entertainment AG, Wien

12/2006 – 09/2007: Datenbankadministratorin
ACB - Austrian Convention Bureau, Wien

07/2006 – 08/2006: Praktikantin im Gerste-/Malzlabor
Stamag - Stadlauer Malzfabrik, Wien

10/2005 – 12/2005: Labormitarbeiterin/Qualitätskontrolle
Fa. Josef Manner & Comp. AG, Wolkersdorf

- 08/2005 – 09/2005:** Praktikantin in der Qualitätskontrolle
Fa. Josef Manner & Comp. AG, Wolkersdorf
- 01/2005 – 10/2005:** Selbstständige Mitarbeiterin – Projekt APO.K.
PharmCare Network GmbH, Wien
- 08/2004 – 09/2004:** Praktikamtin in der Qualitätskontrolle
Fa. Josef Manner & Comp. AG, Wolkersdorf
- 12/2002 – 08/2007:** Mitarbeiterin in der Kongressorganisation
Mondial Congress, Wien

BESONDERE KENNTNISSE UND FÄHIGKEITEN

- Sprachen:** Englisch, perfekt
Französisch, gute Basis
- IT-Kenntnisse:** MS Office (Word, Excel, Power Point)
- Führerschein:** B