

Diplomarbeit

"Die Rolle von Vitamin D und anderen neuen Knochenstoffwechselfparametern bei MammacarcinompatientInnen mit und ohne Knochenmetastasen"

eingereicht von

Eva Maria Pöschl

Mat.Nr.: 0433680

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktorin der gesamten Heilkunde
(Dr. med. univ.)**

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

**Universitätsklinik für Innere Medizin (UKIM)
Klin. Abt. f. Endokrinologie und Nuklearmedizin**

unter der Anleitung von

Univ.-Prof. Dr. Barbara Obermayer- Pietsch

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 20.10.2009

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei Frau Professor Barbara Obermayer- Pietsch für die ausgezeichnete Betreuung dieser Diplomarbeit bedanken. Trotz unzähliger beruflicher Aufgaben hat sie immer Zeit für Fragen bezüglich der Bearbeitung und Fertigstellung dieser Diplomarbeit gefunden und wissenschaftliches Arbeiten sehr gefördert und unterstützt.

Weiters möchte ich mich bei Herrn Professor Thomas Bauernhofer, meinem Zweitbetreuer bedanken, der die Serumproben und Daten dieses Patientinnen-Kollektivs zur Verfügung gestellt hat.

Frau Hannelore Pock danke ich für die tatkräftige Unterstützung beim Recherchieren der Patientinnendaten, Herrn DI Thomas Mendlik für seine Hilfe bei den statistischen Auswertungen.

Vor allem möchte ich meiner Familie für ihre tatkräftige Unterstützung danken. An erster Stelle meinen Eltern, die mir das Studium ermöglicht haben und immer wieder Anregungen für wichtige Entscheidungen gaben, Johannes, David-Paul und Clara-Maria für die immer wieder notwendigen Erheiterungen in allzu ernster Stunde.

Ihnen widme ich diese Arbeit.

Zusammenfassung

Die Rolle von Vitamin D und anderen neuen Knochenstoffwechselfparametern bei MammacarcinompatientInnen mit und ohne Knochenmetastasen

Einführung/ Zielsetzung

Das Mammacarcinom ist weltweit die häufigste Krebserkrankung der Frau. In 64% bis 83% aller Patienten findet man im Verlauf der Erkrankung Knochenmetastasen. Trotz ständiger Weiterentwicklungen im Bereich der Bildgebung bleibt es schwierig, damit Metastasen frühzeitig zu erkennen.

Da das Risiko des Fortschreitens der Erkrankung und das damit verbundene erhöhte Mortalitätsrisiko mit gesteigertem Knochenstoffwechsel in Verbindung steht, wurden Stoffwechseleränderungen unter dem Einfluss calciotroper Hormone wie dem Vitamin D3 und weiteren Parametern in Hinblick auf die Entstehung von Knochenmetastasen untersucht.

Methodik

Im Rahmen einer retrospektiven Studie wurden aus 4000 Patientinnen stichprobenartig 167 Patientinnen mit positivem Östrogen- und Progesteron-Status ohne Lebermetastasen in vier Gruppen nach folgenden Kriterien erfasst:

- 1) Patientinnen ohne Knochenmetastasen, ohne Osteoporose**
- 2) Patientinnen ohne Knochenmetastasen, mit Osteoporose**
- 3) Patientinnen mit Knochenmetastasen bei Erstdiagnose/-kontakt**
- 4) Patientinnen mit Knochenmetastasen im Verlauf der Erkrankung**

Analysiert wurden Serumcalcium (Ca), Alkalische Phosphatase (AP), 25(OH)Vitamin D (Vit.D), Prokollagen Typ 1 N-terminales Propeptid (P1NP), Serum-Crosslaps (CTX) und Dickkopf-1 (Dkk-1).

Ergebnisse

Bei 167 Patientinnen mit einem mittleren Alter von 57 ± 29 Jahren lagen Serumcalcium-Werte in allen Gruppen zum Großteil im Normbereich.

In 36% aller Fälle lagen erhöhte Werte der AP vor, bei 69% aller Patientinnen mit bereits erfolgter ossärer Metastasierung.

In allen Gruppen zeigten sich stark verminderte **Vitamin D**-Werte, bei **P1NP** lag ein signifikanter Unterschied zwischen Gruppe 3 (s.o.) und den übrigen Gruppen vor: ($p < 0,001$)-Werte in Gruppe 3 im Mittel 188,9 ng/ml, bei den übrigen im Normbereich [16-67 ng/ml]. Die mittleren **Serum-CTX-Werte** der bereits metastasierten Gruppe waren ebenfalls im Mittel doppelt so hoch wie in den übrigen Gruppen ($p < 0,001$). **Dkk-1**-Werte waren in allen Gruppen stark erhöht, es zeigte sich keine Signifikanz zwischen den einzelnen Gruppen.

Schlussfolgerung

Je nach Stadium des Mammacarcinoms zeigten sich unterschiedliche Tendenzen im Bezug auf die Knochenformationsparameter.

Aufgrund der signifikanten Ergebnisse in der Gruppe mit bereits erfolgter ossärer Metastasierung (P1NP, CTX) ist eine Routinediagnostik dieser Parameter bei Mammacarcinom initial und im Verlauf sinnvoll, während die übrigen Parameter verschiedenen Einflüssen unterliegen und so nur bedingt einsetzbar sind.

Abstract

Vitamin D and new bone marker levels in breast cancer patients with and without bone metastases

Introduction/ Aim of the study

Breast cancer is the most common cancer in women. Bone metastases with an incidence of 64% to 83% are a frequent event in patients with breast cancer.

Although imaging techniques are permanently under development, the early detection of tumorous bone lesions often remains difficult.

The risk of disease progression and the resulting increased mortality are associated with high bone turnover. Aim of our study was to find changes in bone metabolism at different tumor stages in patients with breast cancer using serum parameters of vitamin D and other recently available bone turnover parameters.

Methods

Within this retrospective study we selected randomly 167 femal patients with estrogen and progesteron receptor positive breast cancer out of a pool of over 4000 patients. After classifying the four following groups, we analysed serum vitamin D, bone specific alkaline phosphatase, serum calcium, serum crosslaps, N-terminal procollagen type 1 peptide (P1NP) and dickkopf-1.

Classification of the four groups:

- 1) Patients without bone metastases, without osteoporosis**
- 2) Patients without bone metastases, with osteoporosis**
- 3) Patients with bone metastases at first consultation**
- 4) Patients with bone metastases later in disease progression**

Results

In 167 female patients with a mean age of 57 ± 29 years we found the following results:

In 69% of the patients with bone metastases at first consultation, alkaline phosphatase was significantly elevated; mean serum calcium was within normal ranges in every group.

Overall serum vitamin D levels were decreased, while P1NP and crosslaps also showed significantly increased levels in the collective of patients with bone metastases ($p < 0.001$). Dkk-1 levels were overall elevated; there was a trend in the group with osteoporosis.

Conclusion

We found significant differences in bone markers, depending on the tumor stage of breast cancer patients. Because of the predictive value of P1NP and serum crosslaps it seems to be useful to analyse these parameters routinely for tumor detection at baseline and in disease progression.

Inhaltsverzeichnis

Eidesstattliche Erklärung	I
Danksagung.....	II
Zusammenfassung.....	III
Abstract.....	V
Inhaltsverzeichnis	VII
EINLEITUNG.....	1
1.1 Epidemiologie und Allgemeines zum Mammacarcinom	1
1.2 Metastasierung	1
1.3 Mammacarcinom	3
1.3.1 Therapie des Mammacarcinoms.....	7
1.4 Knochen	11
1.4.1 Knochensubstanz	11
1.4.2 Knochenstoffwechsel	13
1.4.3 Vitamin D und Mammacarcinom	13
1.4.4 Calcium.....	15
1.4.5 Knochenstoffwechselfparameter der Osteoblasten- Entwicklung	18
1.4.5.1 Osteoblasten	18
1.4.5.2 Knochenformationsparameter.....	19
1.4.5.2.1 Alkalische Phosphatase.....	19
1.4.5.2.2 Osteocalcin.....	19
1.4.5.2.3 Prokollagen Typ 1 Propeptide.....	20
1.4.5.3 Knochenresorptionsparameter.....	21
1.4.5.3.1 TRAP 5b.....	22
1.4.5.3.2 Telo peptide von Kollagen Typ 1- Crosslaps.....	22
1.4.5.3.3 ICPT (Carboxyterminal cross-linked telopeptide of type I collagen)	23
1.4.5.4 Stoffwechselfparameter der Osteoklastenbildung.....	24
1.4.5.5 Das RANKL/ RANK/ OPG- System.....	25
1.5 Knochenstoffwechselstörungen.....	29
1.5.5 Osteoporose	29
1.5.6 Osteomalazie	38
1.6 Fragestellung, Zielsetzung, Neuigkeitswert	40

2 Material und Methoden	41
2.1 Material.....	41
2.1.1 Serumbank	41
2.1.2 Patientinnenkollektiv	41
2.1.3 Positiver Hormonrezeptorstatus.....	42
2.1.4 Nachweis/ Ausschluss von Knochenmetastasen	42
2.1.5 Nachweis von Osteoporose	43
2.1.6 Ausschluss von Lebermetastasen und chronischen Lebererkrankungen.....	43
2.1.7 Ausschluss einer Niereninsuffizienz oder Hyperthyreose	43
2.2 Methoden.....	44
2.2.1 Laborparameter	44
2.3 Datenauswertung	53
3 Ergebnisse- Resultate.....	55
3.1 Patientinnenkollektiv	55
3.2 Auswertung der Laborparameter	58
3.2.1 Übersicht.....	58
3.2.2 Ergebnisse der Knochenparameter	59
3.2.1 Auswertung Serumcalcium	60
3.2.2 Auswertung Vitamin D	61
3.2.3 Auswertung Prokollagen Typ 1 N-terminales Propeptid (P1NP)	62
3.2.4 Auswertung Dickkopf-1	63
3.2.5 Auswertung CTX.....	64
3.3 Odds- Ratio	67
3.3.1 Interpretation der Odds-Ratio.....	68
3.4 Korrelationen der Knochenstoffwechsel-Marker zueinander	68
3.5 Sensitivität und Spezifität.....	68
4 Diskussion	69
4.1 Serum-Crosslaps	70
4.2 P1NP	70
4.3 Alkalische Phosphatase.....	71
4.4 Vitamin D	72
4.5 Calcium.....	72

4.6	Dickkopf-1	72
4.7	Limitationen	73
5	Schlussfolgerung	74
	Literaturverzeichnis	75
	Abbildungsverzeichnis	88
	Tabellenverzeichnis	90
	Abkürzungsverzeichnis	91

EINLEITUNG

1.1 Epidemiologie und Allgemeines zum Mammacarcinom

Das Mammacarcinom ist weltweit die häufigste Krebserkrankung der Frau und steht bei den Todesursachen durch Neoplasien bei Frauen nach dem Lungencarcinom an zweiter Stelle.

So starben 2002 etwa 410.000 Frauen weltweit an dieser Krebsart [1]. Die Inzidenz des Mammacarzinoms nimmt entsprechend einer Langzeit-Beobachtung über einen Zeitraum von mehreren Jahrzehnten in den Industrieländern schnell zu, in den Entwicklungsländern hingegen zeigt sich eine langsame, aber stetige Zunahme an Neuerkrankungen pro Jahr. Die Mortalität blieb in den Industrieländern zwischen 1960 und 1990 annähernd konstant [2].

Bei Frauen im Alter zwischen 45 und 55 Jahren stellt das Mammacarcinom die häufigste Todesursache überhaupt dar [1].

75 % aller Mammacarzinome in Industrieländern betreffen postmenopausale Frauen, davon sind ca. 80 % hormonrezeptor-positiv [3].

1.2 Metastasierung

In fortgeschrittenen Stadien, aber oft auch schon bei klinischer Manifestation finden sich Sekundärabsiedelungen, darunter sind Knochenmetastasen bei 64% bis 83% aller Patienten besonders häufig [4, 5]. Eine Früherkennung ist trotz bildgebender Verfahren oft nur eingeschränkt möglich.

Beim Mammacarcinom gibt es zwei Arten von Knochenmetastasen:

- In 80-90% der Patienten finden sich osteolytische Metastasen, die den Knochen zerstören und so häufig für die Morbidität und Mortalität der Erkrankung verantwortlich sind [6].

-
- Im Gegensatz dazu findet man viel seltener osteoblastische Metastasen, die zu einer Knochenneubildung führen können.

Häufig findet man Metastasenanteile von beiden Metastasentypen [7, 8, 9].

Klinisch können Knochenmetastasen Schmerzen, Nervenkompressionssyndrome, pathologische Frakturen und Hypercalcämien verursachen, die einen starken Einfluss auf die Lebensqualität und die Mortalität der Betroffenen haben [8].

Schon 1889 hatte Stephen Paget die „seed and soil“-Theorie in der Zeitschrift „Lancet“ veröffentlicht, in der er die Metastasierung beim Mammacarcinom wie folgt erklärt:

Die Mikrostruktur des Gewebes, in das Tumorzellen metastasieren, dient möglicherweise als fruchtbarer Nährboden, in dem sich die Krebszellen gut vermehren können. Dies überprüfte er durch 735 Autopsien bei Patientinnen mit Mammacarcinom [4].

In einer neueren Studie zeigten sich bei einer Fallzahl von 3500 Patientinnen mit der Todesursache Mammacarcinom in 64% der Fälle Knochenmetastasen [6].

Trotz einer ständigen Entwicklung und Verbesserung der Therapien des Mammacarzinoms ist die Knochenmetastasierung stark mit der Morbidität und Mortalität der Erkrankung assoziiert [11].

Die Therapie nach dem heutigen Stand der Wissenschaft setzt sich aus folgenden Säulen zusammen:

- Operative Sanierung (soweit möglich in sano)
- Chemotherapie/ Hormontherapie
- Bestrahlung

Trotz intensiver Therapie sind Knochenmetastasen meist mit starken, oft unerträglichen Knochenschmerzen verbunden [8].

Da mit erhöhtem Knochenstoffwechsel das Risiko des Fortschreitens der Erkrankung und damit auch ein erhöhtes Mortalitätsrisiko besteht, könnten Stoffwechselveränderungen unter dem Einfluss calciotroper Hormone wie dem Vitamin D3 eine entscheidende Rolle als Risikofaktor für die Entstehung und den Verlauf von Knochenmetastasen übernehmen.

1.3 Mammacarcinom

Die verschiedenen Typen des Mammacarcinoms zeigen Unterschiede in Prognose, Verlauf und Therapie- Response. Invasive Carcinome entstehen meist am Boden präinvasiver Carcinome (Carcinoma in situ). Abgegrenzt wird das Carcinoma in situ vom invasiven Carcinom aufgrund einer intakten Basalmembran. Stromainvasion und Metastasierung in die regionalen Lymphknoten oder entfernte Organe sind Charakteristika der invasiven Formen des Mammacarcinoms.

50% aller in situ- oder invasiven Carcinome entstehen im äußeren oberen Quadranten, 20% im Mamillenbereich und jeweils 10% in den restlichen Quadranten.

Die histologische Einteilung erfolgt nach den TNM- Stadien. T steht hier für Tumorgroße, N für Lymphknotenmetastasen, M für Fernmetastasen [12].

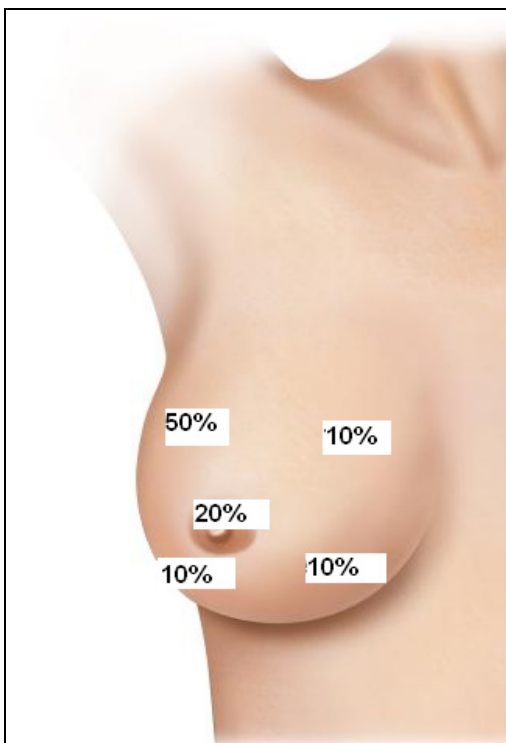


Abbildung 1 Lokalisationen des Mammacarcinoms

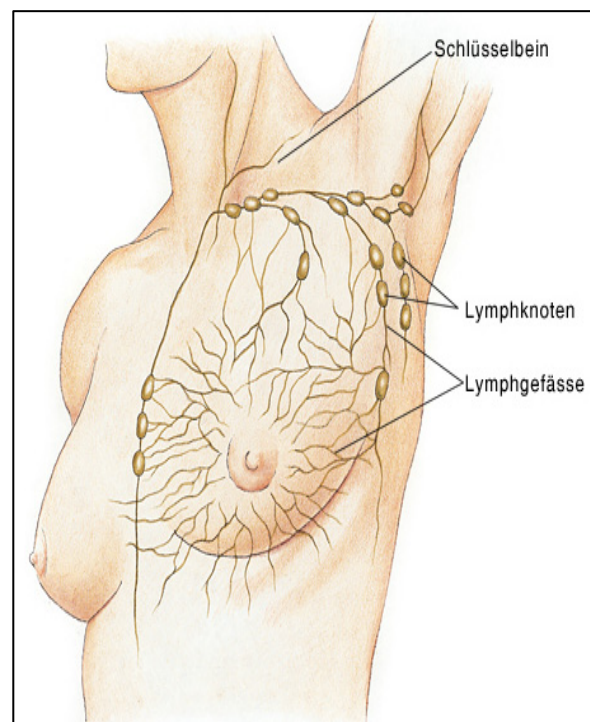


Abbildung 2 Lymphabflusswege- Lnn.- Metastasenausbreitung

Grob kann man Mammacarcinome in folgende Tumortypen einteilen:

Lobuläres Carcinom	Duktales Carcinom
• Carcinoma lobulare in situ (CLIS)	• Duktales Carcinoma in situ (DCIS)
• Invasives lobuläres Mammacarcinom	• Invasiv ○ Invasives duktales Carcinom ○ Medulläres Carcinom ○ Gallertcarcinom ○ Tubuläres Carcinom ○ Papilläres Carcinom ○ Morbus Paget der Mamille mit invasivem duktalem Mammacarcinom ○ Weitere Subtypen

Tabelle 1 Formen des Mammacarcinoms

Faktoren, die für die Prognose entscheidend sind und die Mammacarcinome weiter differenzieren, sind Tumortyp, Staging (Ausbreitung), Grading (Malignitätsgrad), Nottingham-Prognose-Index, Lymphknotenstatus, Lymph- und Blutgefäßeinbrüche, DNA-Diploidie, Rezeptorstatus und molekularbiologische Faktoren.

Der Rezeptorstatus stellt einen wichtigen Punkt zur Prognoseeinschätzung dar. Ein negativer Östrogenrezeptorstatus zum Beispiel erhöht das Rezidivrisiko und die tumorspezifische Mortalität um das 1,5-2fache und ist weiters ein wichtiger stark prädiktiver Faktor bezüglich der adjuvanten endokrinen Therapie [13].

Der Malignitätsgrad wird über das von Elston und Ellis modifizierte Gradingssystem, auch als Nottingham-Grading bezeichnet, bestimmt und beinhaltet die Faktoren Mitosezahl, Kernatypien und glanduläre Differenzierung.

Der Nottingham-Prognose-Index(NPI) setzt sich aus den drei Komponenten Tumorgroße, Malignitätsgrad und axillärer Lymphknotenmetastasierung zusammen, die stärksten intrinsischen und zeitabhängigen Prognosefaktoren unter Berücksichtigung ihrer unterschiedlichen Gewichte [13] und unterteilt die Mammacarcinome in Prognosegruppen (exzellent, gut, mäßig I, mäßig II, schlecht, sehr schlecht).

NPI= max. Durchmesser(cm x 0,2) + Malignitätsgrad(1- 3) + Lymphknotenstatus(1- 3)		
Komponente	Wert	Bezug
Durchmesser	0,2 x Durchmesser	Durchmesser in cm
Malignitätsgrad	1	Nottingham-Score 3-5
	2	Nottingham-Score 6-7
	3	Nottingham-Score 8-9
Lymphknotenstatus	1	0 LK mit Metastasen
	2	1-3 LK mit Metastasen
	3	<3 LK mit Metastasen

Tabelle 2 Bestimmung des „Nottingham-Prognose-Index“ (NPI)

So lassen sich vor allem Risikopatienten und das weitere therapeutische Vorgehen besser einschätzen.

Bei sehr schlechter Prognose nach dem Nottingham-Prognose-Index zeigen die Patientinnen eine 5- Jahres Überlebenserwartung von 5-10% [12].

Risikofaktoren für die Entstehung eines Mammacarcinoms sind für die jeweiligen Untertypen unterschiedlich.

In der nachfolgenden Tabelle werden die Risikofaktoren mit dem jeweiligen relativen Risiko und den Hochrisikogruppen dargestellt:

Risikofaktor	Relatives Risiko(RR)	Hochrisiko
Alter	>10	Ältere Population
Brustgewebedichte	>5	Erhöhte Brustgewebedichte im Mammogramm
Alter bei Menarche	3	Vor 11. Lj.
Alter bei Menopause	2	Nach 54. Lj.
Alter bei Geburt 1. Kind	3	Nach 35. Lj.
Positive Familienanamnese	>2	Mammacarcinom bei Verwandten 1. Grades
BMI • Prämenopausal • Postmenopausal	0-7 2	Adipositas
Alkoholkonsum	1-7	7 bei täglichem Konsum
Exogene Hormone • Orale Kontrazeption • Hormonersatztherapie • Diethylstilbestrol	1-2 66 2	Dauerkonsum Dauerkonsum Während Schwangerschaft
Strahlenbelastung	3	Abnormale Strahlenbelastung bei Mädchen ab 10 Jahren

Tabelle 3 Risikofaktoren und relatives Risiko des Mammacarcinoms

Weitere Beobachtungen, die jedoch unterschiedlich diskutiert werden, unterstützen die Hypothese, dass Hormone in der Ätiologie von Mammacarcinom eine wichtige Rolle spielen.

Nachfolgend werden die verschiedenen Bereiche als mögliche Risikoquellen behandelt:

Spontaner oder induzierter Abort könnte das Mammacarcinomrisiko erhöhen, dazu gibt es allerdings unterschiedliche Ansichten [14, 15].

Die Hormon-Plasmaspiegel sind bei postmenopausalen Frauen mit Mammacarcinom höher als bei gesunden Kontrollen, exogene Hormone (Kontrazeptiva oder Hormonersatztherapie - HRT für „hormone replacement therapy“) scheinen das Risiko während der Anwendung und fünf bis zehn Jahre nach Anwendung zu erhöhen.

Diese epidemiologischen Daten werden durch Forschungsergebnisse untermauert, die zeigen, dass Östrogene und Progesteron, gemeinsam mit anderen Hormonen (ovariellen Androgenen, Polypeptid-Hormonen, Wachstumsfaktoren), als Promotoren die Proliferation von Brustzellen stimulieren [14].

Weiters sind ionisierende Strahlung [16, 17] und eine positive Genetik wichtige Risikofaktoren bei der Entstehung von Malignomen der Brust, hier sind in der Vielfalt der unterschiedlichen Gene vor allem das BRCA-1 Gen, das BRCA-2 Gen, das ERB-B2-(Her2/NEU)-Onkogen und das p53-Tumorsuppressorgen anzuführen [12].

1.3.1 Therapie des Mammacarcinoms

Neben den systemischen Therapien gibt es lokale und regionale Behandlungsformen, die unter anderem die chirurgische Sanierung und Bestrahlung umfassen.

In Tabelle 2 wird ein grober Überblick über die aktuellen medikamentösen Therapie- Strategien nach dem internationalen St. Gallen Konsensus 2009 gegeben [18].

Im Weiteren folgt eine kurze Abhandlung über die Therapieformen des Mammacarcinoms.

**Tabelle 4 Therapieplan nach der internationalen Konsensus-
Empfehlung St. Gallen 2009, modifiziert nach Goldhirsch [18]**

Therapie	Indikation	Kommentar
Endokrine Therapie	ER positiv*	ER negative und PR positive-Konstellation möglicherweise artefakt- bedingt [102]

Anti- HER2 Therapie	ASCO/CAP Her2 positiv [>30% intensiv und komplett anfärbbar(IHC) oder FISH>2,2+]*	
Chemotherapie		
HER2 positiv (Kombination mit Anti- HER2 Therapie	Versuchsbasierte Evidenz von Trastuzumab mit oder nach Chemotherapie nicht erwiesen/ limitiert*	Kombination von endokriner+ Anti- HER2 Therapie ohne Chemotherapie bei stark ER positiven, HER2 positiven Tumortypen ist logisch, aber nicht etabliert
Bei triple negativen Patientinnen (ER, PR, HER2 negativ)	Großteil der Patientinnen*,**	Keine bewährten Alternativen, die meisten sind mit erhöhtem Risiko verbunden
ER positiv, HER2 negativ (mit endo- kriner Therapie)	Abhängig vom Risiko*	Je nach Grading, Gefäß- einbrüchen, Rezeptorstatus und anderen Faktoren muss man sich individuell für eine endokrine Therapie allein (bei hohem ER und PR- Score) oder mit Chemotherapie ent- scheiden.

*Patientinnen mit einer Tumorgöße unter 1 cm ohne axilläre Lymphknotenmetastasierung und anderen Voraussetzungen für eine potentielle Metastasierung wie zum Beispiel Gefäßeinbrüchen brauchen unter Umständen keine systemische adjuvante Therapie. Wenn der Tumor endokrin- sensibel ist, wird eine endokrine Therapie empfohlen.

** Medulläre Carcinome, apokrine Carcinome, adenoid-zystische Carcinome benötigen wegen des niedrigen Risikos trotz dreifacher Negativität keine Chemotherapie, vorausgesetzt, dass noch keine axilläre Lymphknotenmetastasierung oder andere erhöhte Metastasenrisiken vorliegen.

ER...Östrogenrezeptor; PR...Progesteronrezeptor; ASCO...American Society of Clinical Oncology; CAP...College of American Pathologists; IHC...Immunhistochemie; FISH...Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung.

1.3.1.1 Endokrine Therapie des Mammacarcinoms

Bei prämenopausalen Frauen wird standardmäßig die endokrine Therapie mittels Tamoxifen oder Tamoxifen plus Suppressoren der Ovarfunktion empfohlen, da die Ovarien bis zur Menopause Östrogen produzieren. Tamoxifen ist ein selektiver Östrogen- Rezeptor- Modulator (SERM), der den Effekt von Östrogen auf die Brust und die damit verbundene Zellproliferation blockiert.

Eine Therapie mit Aromatase-Hemmern allein ist bei prämenopausalen Frauen kontraindiziert, nur in Ausnahmefälle (bei Kontraindikation von Tamoxifen) wird

eine Kombination von Suppressoren der Ovarfunktion und Aromatase-Hemmern eingesetzt.

Bei postmenopausalen Patientinnen mit rezeptor- positivem Tumortyp sind an erster Stelle der endokrinen Therapie Aromatase-Hemmern indiziert, da die Östrogenproduktion (nach Einstellen der Ovarfunktion in der Menopause) in peripherem Gewebe durch die Konversion von Testosteron, Androstendion und Dehydroandrosteron in viel geringeren Mengen gebildet wird, katalysiert durch das Cytochrome P450 Enzym Aromatase, oder CYP19 [19].

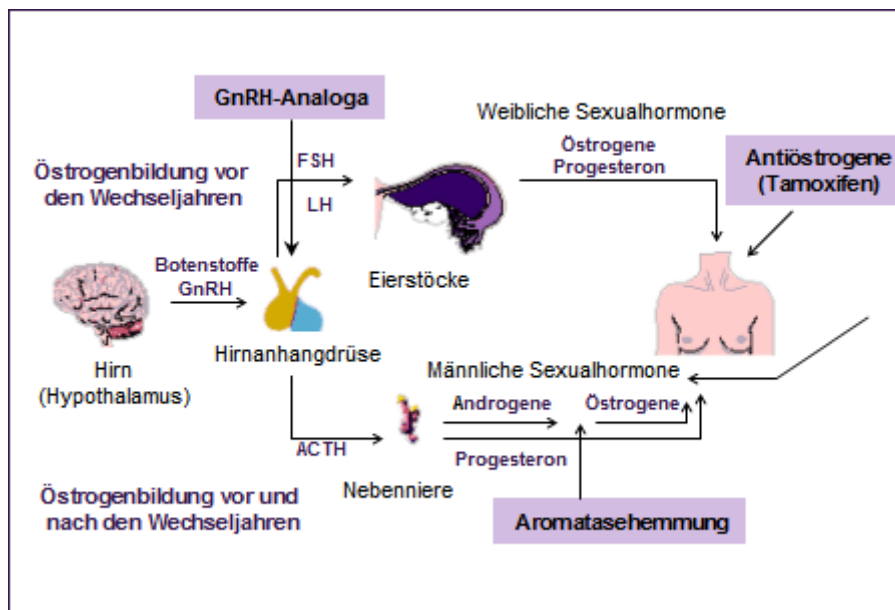


Abbildung 3 Wirkmechanismen der einzelnen endokrinen Therapien

Auch eine Therapie mit Tamoxifen allein ist in manchen Fällen zu überlegen [18].

Tamoxifen wirkt über eine Blockade der Östrogenrezeptoren auf Tumorzellen, während Aromatasehemmer durch die Blockade der Aromatase-Reaktion die Produktion von Östrogen verhindern [20], was sich natürlich auch negativ auf den Knochenstoffwechsel auswirken kann.

Bisphosphonate als Standardtherapiekonzept bei Mammacarcinom werden nach dem St. Gallen Konsensus nicht empfohlen, beim letzten ASCO (American Society of Clinical Oncology)-Plenum 2008 wurden die folgenden Studien präsentiert und die positive Wirkung von Bisphosphonaten bei Mammacarcinom herausgestrichen.

Bei der Therapie von Knochenmetastasen gibt es für mehrere Bisphosphonat-Präparate Studien, die die positive Wirkung dieser Substanzklasse in Bezug auf Knochenstoffwechselfparameter belegen [21-24].

So konnten Bisphosphonate Serum-Crosslaps um mehr als 70% reduzieren, die knochenspezifische alkalische Phosphatase, P1NP und Osteocalcin nahmen, außer bei Clodronat, im Vergleich zum Ausgangswert bei allen Bisphosphonaten um 30-50% ab.

Diese Ergebnisse wurden durch Studien bei adjuvanten Therapien mit Tamoxifen und Aromatase-Hemmern und zeitgleicher Bisphosphonat-Therapie untermauert.

Zoledronsäure zeigte in präklinischen Studien eine Aktivität gegen den Tumor und Metastasenbildung und wurde in der ABCSG-12 Studie geprüft, die die Kombination von Tamoxifen und Ovulationshemmung, Anastrozol allein oder Anastrozol in Kombination mit Zoledronsäure bei prämenopausalen Frauen mit endokrin-sensiblen Mammacarcinomen im Stadium I und II evaluierte [25].

Es gab keinen signifikanten Unterschied bei den Ergebnissen der Patientinnen, die nur mit Tamoxifen oder nur mit Anastrozol allein therapiert wurden, aber in der Gruppe der endokrinen Therapie in Kombination mit Zoledronsäure erhöhte sich das krankheitsfreie Überleben (disease free survival) um 36% und das rezidivfreie Überleben (relapse free survival) um 35%, verglichen mit alleiniger endokriner Therapie.

Eine zweite Studie untersuchte die Effekte von Zoledronsäure auf die Knochenmineraldichte, hier wurde eine Therapie von Zoledronsäure im Voraus („upfront“) mit einer verzögerten Therapie bei postmenopausalen Frauen mit Mammacarcinom bei Beginn der Therapie mit Letrozol nach Tamoxifen-Therapie verglichen [26].

558 Frauen erhielten 4 mg Zoledronsäure pro Tag über einen Zeitraum von 6 Monaten. Die Gruppe mit der upfront Therapie zeigte eine durchschnittliche Zunahme der Knochendichte im Lendenwirbelbereich um 3,7%, während die Knochenmineraldichte der zweiten Gruppe um 1,7% weiter abnahm.

In einer weiteren ASCO 2008-Studie wurde die positive Wirkung von Ibandronat, einem weiteren Bisphosphonat, in Bezug auf die Knochendichte während Anastrozoltherapie nachgewiesen [27].

In der Therapie von Knochenmetastasen bei Mammacarcinom gibt es in Mäuseversuchen zwei Therapieansätze, die eine Reduktion des Tumors im Knochen bewirken und eine weitere Knochendestruktion verhindern: Die Hemmung der Knochenresorption durch Bisphosphonate oder durch eine RANKL-Signalweg-Blockade durch Osteoprotegerin. Es zeigte sich in weiteren Versuchen [28] jedoch keine Potenzierung des positiven Effekts auf den Knochenstoffwechsel durch einen kombinierten Einsatz von Osteoprotegerin und Bisphosphonaten.

1.4 Knochen

1.4.1 Knochensubstanz

Die Mikrostruktur des Knochens besteht im Wesentlichen aus zwei Bestandteilen, die sowohl Auswirkungen auf die Funktion und Festigkeit des Gewebes als auch auf den Stoffwechsel des Knochens haben.

1.4.1.1 Äußerer Knochen

Die Corticalis besteht hauptsächlich aus Knochenmatrix, die von Kollagen (90%), Osteocalcin, Osteonectin, Sialoproteinen und Proteoglykanen gebildet wird, und Mineralien, die etwa zwei Drittel des Knochengewichtes ausmachen [29].

Die wichtigsten Mineralien stellen Hydroxylapatit, Bruschit, Oktocalciumphosphat und Komplexe mit weiteren Anionen (F^- , HCO_3^-) oder Kationen (Na^+ , K^+ , Mg^{2+}) dar.

In der Knochenmatrix finden sich neben oben genannten Bestandteilen eine Vielzahl von Wachstumsfaktoren wie z.B. insulin like growth factors (IGFs), transforming growth factor α und β (TGF α und β), fibroblast growth factor 1 und 2

(FGF-1 und -2), platelet derived growth factors (PDGFs) und bone morphogenetic proteins (BMPs) [30].

Manche dieser Wachstumsfaktoren werden von den Osteoblasten bei der Knochenentwicklung gebildet und in der Matrix gespeichert. Ein Großteil dieser Wachstumsfaktoren wird während der Knochenresorption durch Osteoklasten in ihrer aktiven Form freigesetzt [31, 32, 33].

Wahrscheinlich resultiert aus diesem Prozess ein solcher „Nährboden“, wie ihn Sir Paget [4] beschrieben hat, auf dem sich die Karzinomzellen vermehren können. Demgegenüber steht allerdings auch die Vermutung, dass die Krebszellen selbst über die Fähigkeit des Knochenabbaus verfügen [34].

Eine weitere Theorie versucht, die Knochendestruktion über die Induktion der Osteoklastogenese durch die Karzinomzellen selbst zu erklären [32].

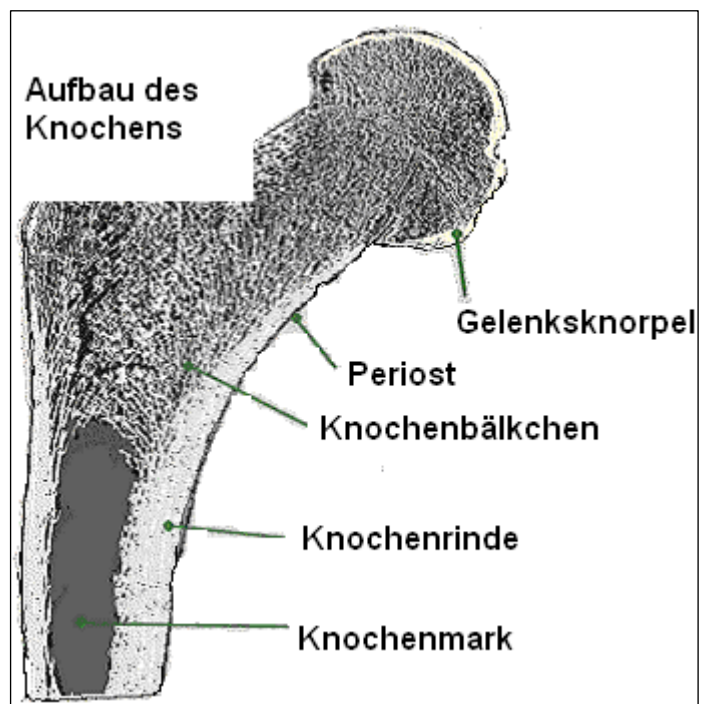


Abbildung 4 Knochenaufbau

1.4.1.2 Knochenmark

Der innere Teil des Knochens besteht aus dem Knochenmark, das unter anderem aus hämatopoetischen Stammzellen und Stromazellen besteht. Hämatopoetische Stammzellen können sich in jede Art von Blutzellen und Immunzellen (Makrophagen, Lymphozyten, Osteoklasten, etc.) differenzieren.

Die Stromazellen unterstützen die Differenzierung der hämatopoetischen Stammzellen und können sich selbst zu Osteoblasten entwickeln [35, 36].

1.4.2 Knochenstoffwechsel

Eine wichtige Rolle bei der Entstehung und Progression von Sekundärabsiedelungen im Knochen spielt ein erhöhter Knochenstoffwechsel [37].

Durch die starke Durchblutung des Knochenmarks können sich Tumorzellen durch die Produktion von adhäsiven Molekülen an Endothelzellen, Stromazellen und Knochenmatrix binden. Nach diesem Prozess kommt es in den Tumorzellen zu einer vermehrten Produktion von Angiogenese- und Knochenresorptionsfaktoren [28].

1.4.3 Vitamin D und Mammacarcinom

Mehrere experimentelle und Beobachtungsstudien zeigten einen Zusammenhang zwischen erhöhter Calcium- und Vitamin D-Zufuhr und reduziertem Carcinomrisiko [38], vor allem auch bei Mammacarcinom, bzw. die Wichtigkeit von Vitamin D Serumspiegeln bei Mammacarcinompatientinnen [39-43].

Diese Beobachtung bestätigten Almquist et al. [44] in einer prospektiven Kohortenstudie mit einer Fallzahl von 7847 Frauen mit einer durchschnittlichen follow-up Dauer von 18 Jahren.

Chlebowski [45] stellt diesem Resultat allerdings eine Studie mit einer Fallzahl von 36282 postmenopausalen Frauen entgegen, in der er keine Hinweise auf eine reduzierte Inzidenz invasiver Mammacarcinome bei entsprechender täglicher Zufuhr von Calcium (1000 mg/d) und Vitamin D (400 IU/d) findet. Dies wird aber in einem Kommentar der Autoren aufgrund einer eventuell zu niedrigen Dosis relativiert [46].

Vitamin D3 wird auf zwei verschiedenen Wegen gebildet. Zum einen wird es über die Nahrung im Darm resorbiert, zum größeren Teil jedoch wird Vitamin D durch folgenden Mechanismus gebildet:

In der Haut wird 7-Dehydrocholesterol durch Sonnenlichtexposition (durch UVB-Strahlung) zu Provitamin D umgewandelt, dieses isomerisiert zu Vitamin D3 (Cholecalciferol).

Danach folgt in der Leber die Hydroxylierung von Cholecalciferol zu 25(OH)Vitamin D3.

In der Niere kommt es zur zweiten Hydroxylierung in den aktiven Metaboliten 1,25 Dihydroxy-Vitamin D.

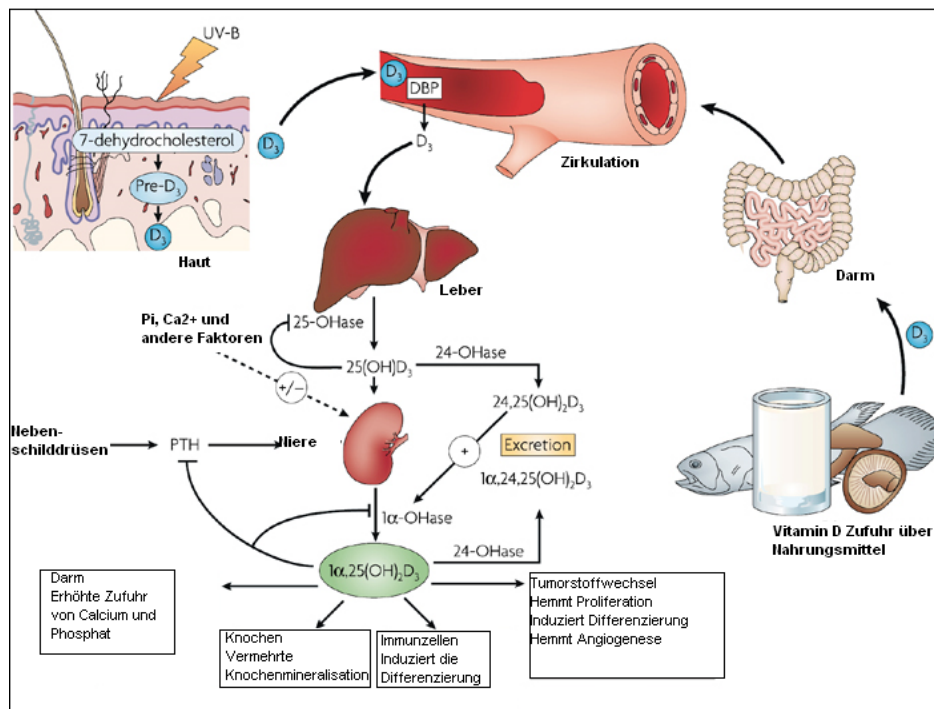


Abbildung 5 Vitamin D-Stoffwechsel

Niedrige Calcium-Zufuhr und niedrige Vitamin D-Spiegel in der österreichischen Gesamtbevölkerung wurden in mehreren Ernährungs- und laborchemischen Studien erhoben. Die mittlere tägliche Calcium- und Vitamin D-Zufuhr lag mit durchschnittlich 569 mg Calcium/d und 101 IU Vitamin D/d signifikant unter den jeweiligen Ernährungsempfehlungen [47].

In dieser epidemiologischen Studie zeigten sich bei 8% aller Teilnehmer erniedrigte Serumcalcium-Werte.

26% der Probanden lagen mit einem Serum- 25(OH)Vitamin D-Wert von unter 12 ng/ml weit unter dem international empfohlenen Normbereich von 30-60 ng/ml.

PTH stieg mit zunehmendem Alter sowohl bei Männern als auch bei Frauen signifikant an.

Ein Kritikpunkt vieler Studien besteht darin, dass die meisten Studien nur die Auswirkungen der Zufuhr von Vitamin D über die Nahrung darstellen. Eine Aussage über den tatsächlich verfügbaren individuellen Vitamin D-Status ist durch eine Messung von 25(OH)Vitamin D im Serum möglich, da dieser Parameter die Speicherform und den größten Anteil der zirkulierenden Formen des Vitamin D darstellt.

In den meisten Studien findet sich eine inverse Korrelation von erniedrigten Calciumspiegeln zu erhöhtem Mammacarcinomrisiko [48].

In den onkologischen Mammacarcinom- Richtlinien wird eine tägliche Zufuhr von Calcium in einer Menge von 1200mg und von Vitamin D in der Höhe von 400 IU empfohlen [49].

Ein protektiver Effekt bei postmenopausalem Mammacarcinom durch eine adäquate Vitamin D-Zufuhr, gemessen an der 25(OH)Vitamin D-Konzentration, zeigte sich gegenüber niedrigen Serumkonzentrationen in einem Bereich unter 50 nM [50].

Dem widersprechen einige Studien [51] aufgrund der verwendeten Tagesdosis, wobei die Autoren die verwendete Vitamin D-Dosis (400 IU) als wahrscheinlich zu gering erachten, um einen positiven Effekt erfassen zu können. Aufgrund der kontroversen Datenlage ist die tägliche Zufuhr von Vitamin D und Calcium als Mammacarcinomprophylaxe noch zu diskutieren, bzw. in höherer Dosis weiter nachzuweisen.

1.4.4 Calcium

Calcium ist in fast allen Stoffwechselprozessen des Körpers integriert.

1-2% des Gesamtkörpergewichts wird von Calcium in einer Gesamtmenge von ca. 1200g bereitgestellt.

99% des Calciums werden im Knochen hauptsächlich in Form von Calciumphosphat gespeichert, in geringerem Anteil auch als Calciumcarbonat.

Die restlichen 1 % des Calciums verteilen sich mit 0,6 % auf die Zähne, mit 0,6% auf das Gewebe, mit 0,03% auf das Plasma und mit 0,06% auf die Extravasalflüssigkeit.

So kann man den Calciumgesamtbestand in drei Kompartimente aufteilen:

1. Skelett
2. Extrazelluläre Flüssigkeit
3. Intrazellulärraum (IZR)

Der Calciumgehalt des Skeletts beträgt 25%.

In der extrazellulären Flüssigkeit wird die Konzentration von Calcium in ionisierter Form durch den Nebenschilddrüsen/ Vitamin D-Stoffwechsel in einem Bereich von 1,15-1,25 mmol/l (entspricht einer Calcium-Plasmakonzentration von 2,3-2,5 mmol/l) gehalten.

45 % des Serumcalciums sind an Eiweiß (hauptsächlich Albumin) gebunden, 10 % in Verbindung mit niedermolekularen organischen Stoffen wie Phosphor.

Biologisch wirksam ist nur das freie Serumcalcium mit 45 %, das in etwa einer Menge von 1,1-1,3 mmol/l entspricht.

Im Intrazellulärraum ist die Gesamtcalciumkonzentration mit der Gesamtcalciumkonzentration im Plasma vergleichbar, die Konzentration des freien Calciums liegt aber in einem Bereich von 10^{-4} mmol/l [52].

Die mechanische Belastbarkeit des Skeletts ist hauptsächlich durch eine Calcium-Phosphat- Verbindung, Hydroxylapatit, gegeben, das in Kollagenfibrillen eingelagert ist.

Das extrazelluläre Calcium stellt einen Speicher dar, der sich aus absorbiertem Calcium aus dem Darm und resorbiertem Calcium aus dem Knochen zusammensetzt.

1.4.5 Knochenstoffwechselfparameter der Osteoblasten- Entwicklung

1.4.5.1 Osteoblasten

Osteoblasten entwickeln sich aus mesenchymalen Vorläuferzellen, während sich Osteoklasten aus hämatopoetischen Stammzellen entwickeln.

Verschiedene Gene zeigen sich für die Differenzierung und Proliferation von Osteoblasten verantwortlich, wobei die biologischen Abläufe des Osteoblasten-Stoffwechsels zum gegenwärtigen Zeitpunkt nur zu einem geringen Anteil erforscht sind.

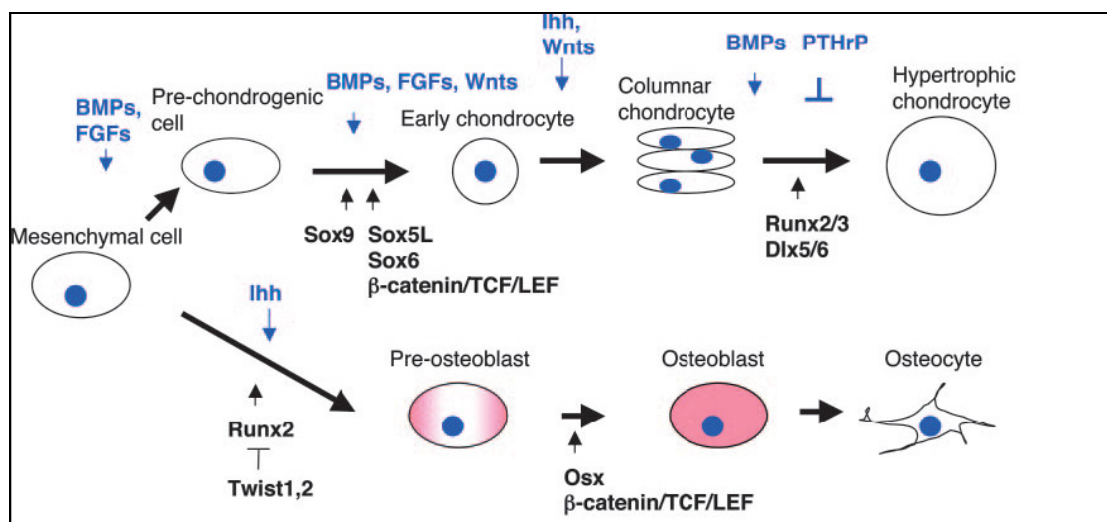


Abbildung 7. Differenzierung der Osteozyten und Chondrozyten- Linie unter Einfluss der jeweiligen Transkriptionsfaktoren

So wird nach heutigem Wissensstand die Differenzierung der Osteoblasten durch die Transkriptionsfaktoren Runx2, das direkt auf Osteocalcin, Osteopontin, Osteonectin und Matrix-Metalloproteinase 13 wirkt [54-56], und Osterix kontrolliert, welches wiederum Einfluss auf Runx2 hat, während Proliferation und Formation der Osteoblasten über den Wnt-frizzled-LRP5 (low density lipoprotein receptor-related protein)-Katenin Signalweg laufen. Ein genetischer Mangel an LRP5 führt wie beim Osteoporose-Pseudogliom-Syndrom in weiterer Folge zu Osteoporose [57-59].

1.4.5.2 Knochenformationsparameter

Knochenformationsparameter sind direkte oder indirekte Produkte von aktiven Osteoblasten. Die am häufigsten in Labors eingesetzten Knochenneubildungsparameter sind die Knochenspezifische alkalische Phosphatase, Gesamt- alkalische Phosphatase, Osteocalcin und die Prokollagene Prokollagen Typ 1 N-terminales Propeptid(P1NP) und Prokollagen Typ 1 C-terminales Propeptid(P1CP) [60].

1.4.5.2.1 Alkalische Phosphatase

Es gibt 4 verschiedene Isoformen der Alkalischen Phosphatase, der Hauptanteil der Serum-AP wird jedoch in etwa zu gleichen Teilen von der Knochenspezifischen alkalischen Phosphatase (40-50%) und der alkalischen Phosphatase der Leber gebildet.

So kann man bei Patientinnen, die keine Lebererkrankungen vorweisen, davon ausgehen, dass eine Erhöhung der alkalischen Phosphatase auf eine vermehrte Osteoblasten- Aktivität bei Knochenneubildung bzw. im Rahmen von lytischen Knochenläsionen als Reparatur- Mechanismus schließen lässt [61].

Die Knochenspezifische AP ist ein membrangebundenes osteoblastisches Enzym, das Pyrophosphat hydroxyliert und so den für die Bildung von Hydroxylapatit notwendigen anorganischen Phosphat-Komplex bereitstellt.

Dadurch wird die Knochenmineralisation des neu gebildeten Knochens forciert [62].

1.4.5.2.2 Osteocalcin

Osteocalcin oder BGP (bone glutamic acid protein) ist das nach Kollagen am häufigsten vorkommende Protein der Knochenmatrix, bestehend aus 49 Aminosäuren, wird von Osteoblasten, Odontoblasten und hypertrophen

Chondrozyten gebildet und wirkt so als Bindungsort für Hydroxylapatit- Kristalle während der Mineralisation der Knochenmatrix- Synthese.

Als Knochenneubildungsmarker unterliegt Osteocalcin aber größeren Schwankungen als andere Knochenformationsparameter, außerdem wird Osteocalcin sowohl bei Osteolyse als auch bei Osteogenese freigesetzt.

Einen weiteren Kritikpunkt an die Zuverlässigkeit von Osteocalcin als Knochenformationsparameter stellt seine Affinität zu Lipiden dar, und so können erhöhte Lipidserumspiegel die Osteocalcin- Werte ebenfalls verfälschen [62].

1.4.5.2.3 Prokollagen Typ I Propeptide

Kollagen Typ I macht 90% der Knochenmatrix aus und wird als Prokollagen von den Osteoblasten synthetisiert. Kollagen wird im selben Verhältnis (1:1) wie die zwei Propeptide P1NP und P1CP neu gebildet, sodass man von diesen Serumwerten auf die Kollagensynthese und in weiterer Folge auf die Knochenformation schließen kann [63].

P1CP steht für Prokollagen Typ 1 C-terminales Propeptid und korreliert mit der histomorphologischen Knochenneubildung, Bisphosphonat- oder Hormontherapien führen zu einer Abnahme der Serumspiegel von P1CP.

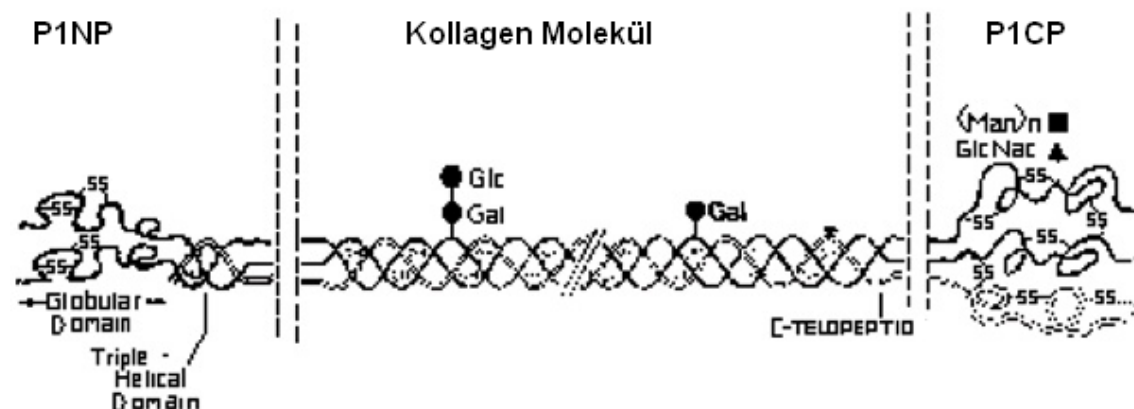


Abbildung 8 Kollagenmolekül mit C- und N- terminalem Propeptid

Die meisten vorliegenden Studien bevorzugen aber P1NP (Prokollagen Typ 1 N-terminales Propeptid) als diagnostischen Marker. Beim Mammacarcinom lässt ein vermindertes P1CP/P1NP-Verhältnis vermutlich auf einen aggressiveren Phenotyp mit erhöhter Wahrscheinlichkeit einer Knochenmetastasierung schließen [64].

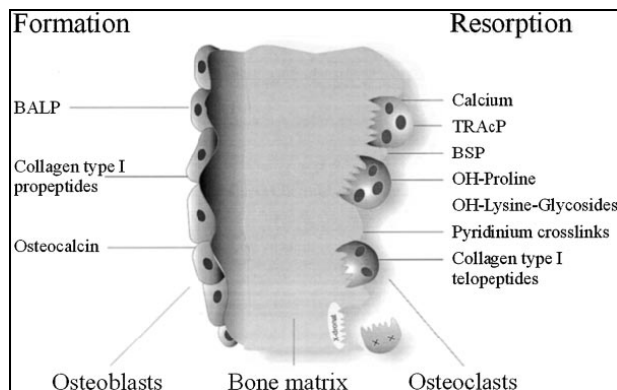


Abbildung 9 Biomarker des Knochenstoffwechsels

1.4.5.3 Knochenresorptionsparameter

Die meisten Knochenresorptionsmarker können als Kollagennebenprodukte der Osteolyse oder als Produkte der Osteoklasten wie TRAP 5b (TRAP steht für „Tartrate resistant acid phosphatase“), BSP (Bone Sialoprotein) oder Cathepsin K einen Einblick in den aktuellen Knochenabbau geben [60, 62, 65].

In der Vergangenheit wurden auch Harncalcium und das Kollagenabbauprodukt Hydroxyprolin bestimmt, heute sind sie aber aufgrund ihrer geringen Sensitivität und Spezifität als Marker des Knochenstoffwechsels obsolet.

Während des Abbaus von Kollagen Typ I werden die Fragmente von N- und C-terminalem Peptid in die Zirkulation freigesetzt. Voorzanger-Rousslot et al. [66] verglichen in einer Studie 29 Patientinnen mit primärem Mammacarcinom (mit oder ohne Knochenmetastasen) mit 15 gesunden Frauen. Multivariable Analysen zeigten, dass die Knochenresorptionsmarker CTX, TRAP 5b, und ICTP voneinander unabhängig mit Knochenmetastasen assoziiert waren. So konnte man mithilfe dieser Parameter 85% der Mammacarcinom-Patientinnen mit oder ohne Metastasen vom normalen Vergleichskollektiv unterscheiden.

Longitudinalstudien zeigten, dass Patientinnen mit Knochenmetastasen im Verlauf zum Zeitpunkt der Erstdiagnose des Mammacarcinoms höhere TRAP 5b Spiegel und erhöhte ICPT-Werte gegenüber den Patientinnen ohne Metastasen im Verlauf aufwiesen.

1.4.5.3.1 TRAP 5b

TRAP 5b wird von aktivierten Osteoklasten produziert und findet sich als eines von 2 Isoformen im menschlichen Serum. Die zweite Isoform TRAP 5a wird von aktivierten Makrophagen gebildet [62].

Nachdem sich die Osteoklasten an die Knochenoberfläche aufgelagert haben, sezernieren sie das aktive Enzym, das dann aber beim Eintritt in die Blutbahn inaktiviert und abgebaut wird. So ist es ein Indikator für den Knochenabbau.

In einer Studie von Halleen et al. [67] zeigte TRAP 5b eine negative Korrelation zur Knochendichte. Bei Patienten mit Knochenmetastasen und multiplem Myelom war das Enzym je nach Ausmaß der lytischen Läsionen erhöht [62, 68].

1.4.5.3.2 Telo peptide von Kollagen Typ I- Crosslaps

Durch vermehrten Knochenabbau im Rahmen einer Osteolyse gelangen vermehrt Kollagen Typ I Bruchstücke ins Blut.

C- terminal cross-linked telopeptide(CTX) und N- terminal cross-linked telopeptide (NTX) werden bei der Knochenresorption als Fragmente von Kollagen Typ I in die Zirkulation abgegeben [62].

Kollagenabbauprodukte werden aufgrund ihrer unterschiedlichen Größe in Leber und Nieren weiter abgebaut, und so findet man auch Konzentrationen derselben im Urin.

Das cross linked Peptid wird primär aus einer alpha-2 Isoform für NTX und aus einer alpha-1 Isoform aus anderen Geweben zusammengesetzt.

Die in der Routine häufigeren CTX kommen in zwei Isoformen vor, im reifen Knochen dominiert aber die β -Isoform.

Die CTX- Werte sind im Serum stabil, verschiedene Antikoagulantien können aber den Assay beeinflussen.

Beide, NTX und CTX, scheinen in mehreren Studien gute Indikatoren für Knochenmetastasen bei Mammacarcinom, Prostatacarcinom, Lungencarcinom und Osteolyse bei Multiplem Myelom zu sein.

Es zeigt sich auf beide Parameter eine starke Wirkung von Bisphosphonaten, hormoneller- oder chemotherapeutischer Therapie.

1.4.5.3.3 ICPT (Carboxyterminal cross-linked telopeptide of type I collagen)

Ein weiteres Produkt des Kollagenabbaus ist das ICPT.

Erhöhte ICPT-Spiegel korrelieren gut mit den Knochenresorptions-Spiegeln bei Patienten mit hohem oder niedrigem Knochenumsatz [62].

Es finden sich erhöhte Serumspiegel bei Mb. Paget des Knochens, bei primärem Hyperparathyreoidismus, rheumatoider Arthritis, Osteomalazie und Knochenmetastasen [60]. Aufgrund seiner niedrigen Spezifität ist das ICPT heute als Knochenresorptionsparameter jedoch obsolet.

1.4.5.4 Stoffwechselfparameter der Osteoklastenbildung

Osteoklasten entwickeln sich aus den Monozyten/Makrophagen Vorläuferzellen.

Man kann sie als gewebsspezifische mehrkernige Makrophagen nahe der Knochenoberfläche bezeichnen. Die Entdeckung des Osteoprotegerin/ RANK- Systems bei den Osteoklasten gibt einen Einblick in den Mechanismus der Osteoklastogenese, Knochenresorption und den Einfluss von Hormonen auf Knochenstruktur und -masse.

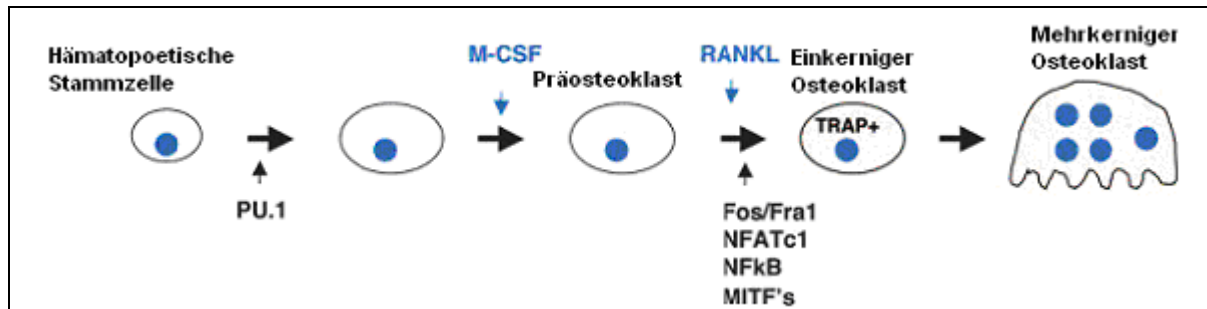


Abbildung 10 Osteoklasten differenzieren sich aus hämatopoetischen Stammzellen.

M- CSF und RANKL sind wichtige externe Stimuli der Osteoklastenentstehung.

Die Entdeckung der Konnekte von Stromazellen zu Zellen des Knochenmarks laut Takahashi [69] war für das Verständnis der Osteoklastogenese bahnbrechend und ließ auf einen Einfluss von Faktoren, die sich vom Stroma ableiten (stroma-derived factors), auf die Osteoklastogenese schließen.

Dieses System ist für die Bildung von zwei hämatopoetischen Faktoren, die beide für die Entstehung von Osteoklasten unerlässlich sind, und für die Aktivierung von RANK (auf der Oberfläche der hämatopoetischen Stammzellen) verantwortlich.

Zum einen ist das RANKL (RANK- Ligand) aus der Familie der Tumor- Nekrose Faktoren (TNF), das von aktivierten T- Zellen exprimiert wird, die das Überleben und die Funktion von dendritischen Zellen steuern, zum anderen CSF-1(Colony stimulating factor).

Zusammen induzieren CSF-1 und RANKL die Expression von Genen, die die Osteoklasten- Linie codieren, TRAP, Cathepsin K, Calcitonin- Rezeptor und β 3-Integrin eingeschlossen.

Der Zellkörper des reifen Osteoklasten unterliegt durch die Aktivierung von RANK durch RANKL mehreren strukturellen Umwandlungen, um die Resorbierung von Knochen zu ermöglichen. Durch die Resorption abgebaute Fragmente von Kollagen und gelöstes Calcium und Phosphat werden im Osteoklasten verstoffwechselt und in die Zirkulation abgegeben. Das Osteoklasten-„System“ wird durch viele Hormone und Zytokine beeinflusst [70].

RANKL und IL-1 (Interleukin 1) erhöhen die Lebensdauer eines reifen Osteoklasten in vitro und in vivo, wahrscheinlich durch die Fähigkeit, die NFkB-Aktivität zu induzieren [71, 72].

1.4.5.5 Das RANKL/ RANK/ OPG- System

Osteoprotegerin (OPG) ist für viele Faktoren in der Entwicklung osteolytischer Metastasen verantwortlich. Eine Erhöhung des Verhältnisses von RANKL, dem entsprechenden Liganden (receptor activator of nuclear factor kappa B ligand) zu OPG erhöht die Osteoklastenbildung im Knochen und gilt als Ursache des Knochenverlustes bei Osteoporose, rheumatoider Arthritis und multiplem Myelom [73].

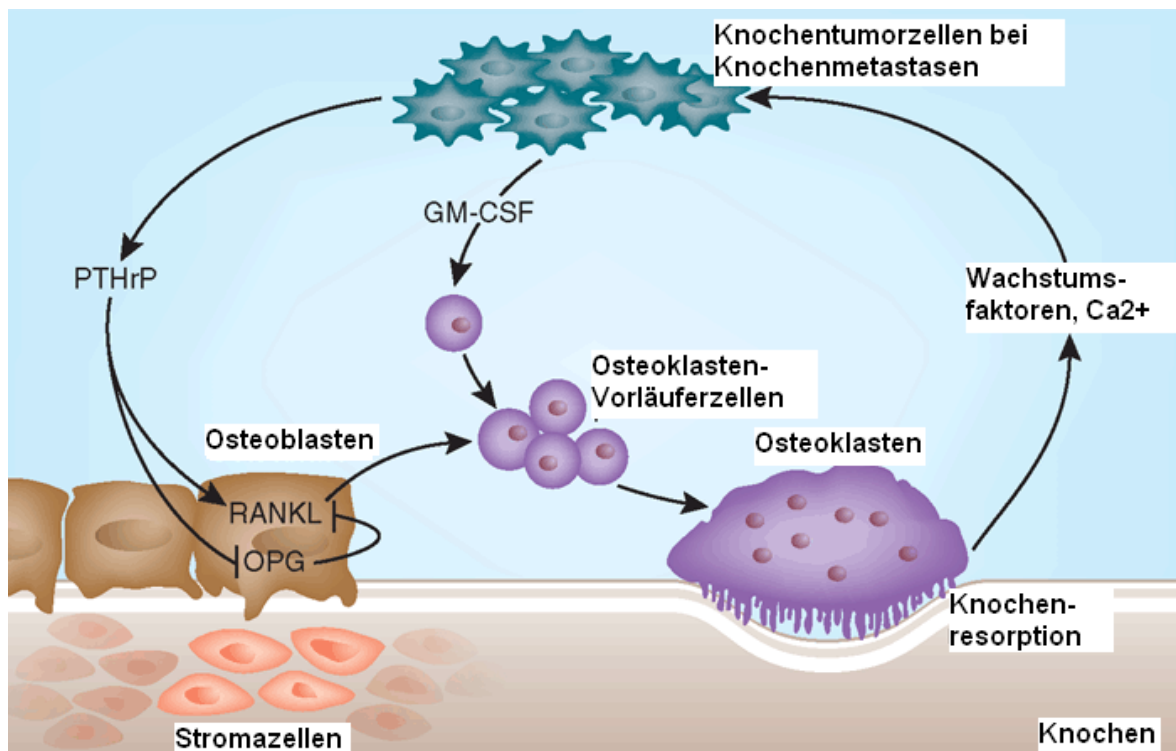


Abbildung 11 Wirkmechanismus von Mammacarcinomzellen auf den Knochenstoffwechsel
Mammacarcinomzellen produzieren Faktoren, die die Osteoklastogenese fördern.

Weiters zeigt sich Osteoprotegerin für das Überleben von Carcinomzellen verantwortlich, indem es diese vor einer durch TRAIL (tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand) induzierten Apoptose schützt.

RANKL wird von Knochenmarkzellen, Osteoblasten und Tumorzellen produziert [74] und aktiviert RANK, das auf die Expression von Osteoklasten-spezifischen Genen während der Differenzierung und auf die Aktivierung der Resorption durch reife Osteoklasten wirkt.

Die folgenden Signal-Kaskaden sind im Wesentlichen bei der Osteoklasten-differenzierung und -aktivierung involviert:

- Inhibitor of NF κ B kinase (IKK);
- c-Jun N-terminal kinase (JNK),
- p38;
- extracellular signal- regulated kinase (ERK) und
- Src Signalwege.

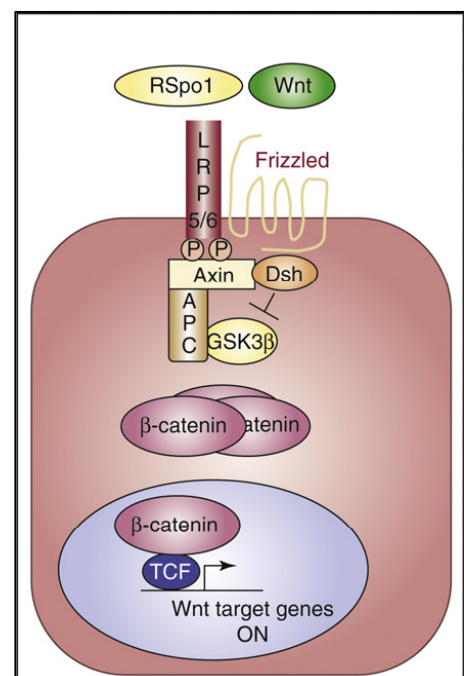
Die RANKL/RANK-Wechselwirkung ist der Hauptmechanismus, der die Osteoklasten-Physiologie kontrolliert und für Knochenverlust verantwortlich sein dürfte. Osteoprotegerin wirkt diesem Mechanismus entgegen, indem es als Rezeptor RANKL täuscht, dieses an OPG andockt und so eine Interaktion von RANKL mit RANK unmöglich gemacht wird.

1.4.5.6 Der Wnt-Signalweg

Abb. 12 Der Wnt/ β -catenin-Signalweg

Tumorzellen können Glykoproteine produzieren, die in der Embryonalentwicklung für die Knochenentwicklung verantwortlich sind.

Der Wnt/ β -catenin-Signalweg, der meisterforschte Signalweg der Wnt-Familie, spielt eine wichtige Rolle bei der Kontrolle der Knochenmasse und ist bei vielen Erkrankungen des Knochens involviert. Dieser Signalweg kontrolliert die Osteoblasten-Differenzierung und ist in der postnatalen Periode für eine ausgeglichene Knochenhomöostase äußerst wichtig. Durch die Bindung adäquater Wnt-Liganden an Fzs (Frizzled Rezeptor) und LPR 5/6 Co Rezeptoren wird der Wnt/ β -catenin Signalweg initiiert.



Es zeigen sich durch den Wnt/ β -catenin-Signalweg, auch „canonical pathway“ genannt, erhöhte Spiegel von Osteoprotegerin, das den Hauptwirkungsort des Signalweges darstellt. Antagonisiert wird die Wirkung der von den Tumorzellen produzierten Wnt-Proteine von verschiedenen Gegenspielern wie sFRPs (soluble frizzled related receptors) und Dickkopf-Proteinen.

Die Wichtigkeit dieses Stoffwechselprozesses in der Entstehung des Mammacarcinoms ist bekannt, und mehrere Studien zeigen einen Zusammenhang beziehungsweise eine vermehrte Produktion verschiedener Faktoren wie z.B. Dickkopf bei Mammacarcinom.

Nach Matsuda et al. [75] spielen Wnt-Proteine auch in der Migration von Mammacarcinomzellen eine wichtige Rolle.

1.4.5.7 DKK-1

Das Dickkopf-Molekül blockiert die Wnt 3A-induzierte Osteoblastendifferenzierung und die Osteoprotegerin-Expression von Osteoblasten-Vorläuferzellen.

Diese Wirkung von Dickkopf wurde durch die Hemmung desselben Effekts durch einen Anti-Dkk1 Antikörper nachgewiesen [76, 77]. Eine vermehrte Aktivität des Wnt-Signalweges ist der Hauptgrund der Knochenläsionen bei multiplem Myelom durch die erhöhte Osteoklastenaktivität und verminderte Knochenneubildung [78].

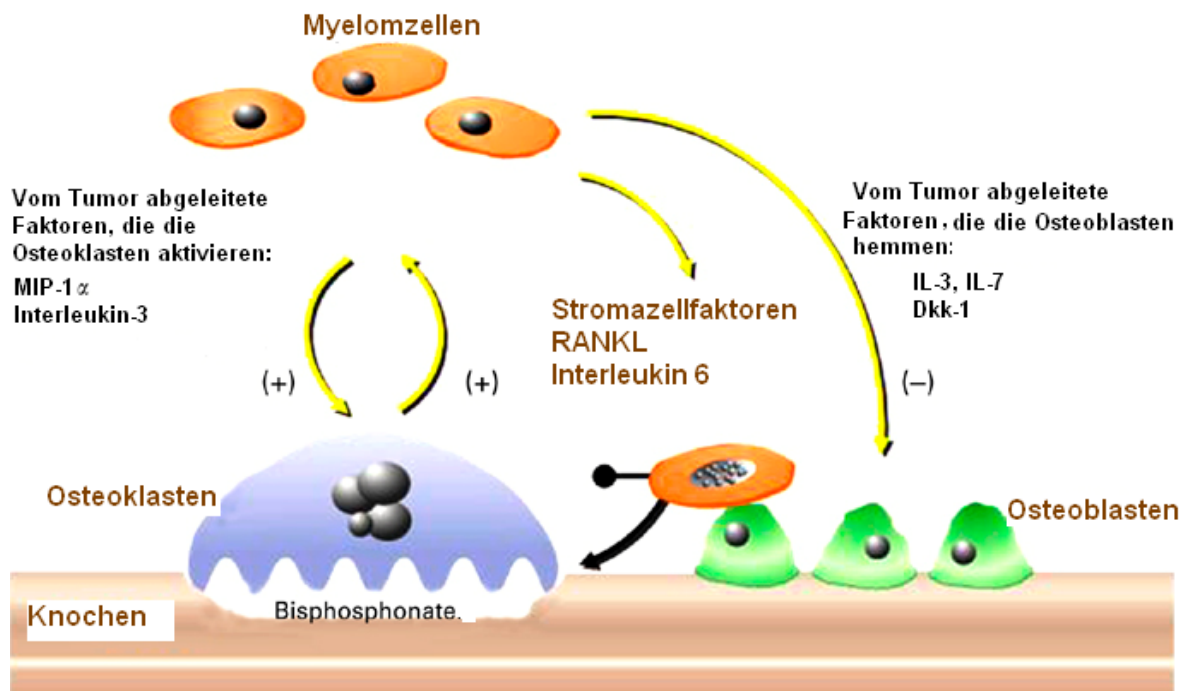


Abbildung 13 Knochenstoffwechsel bei multiplen Myelom, modifiziert nach Roodman

Dkk wurde als eines der am meisten überexprimierten Gene in Plasmazellen bei Patienten mit Knochenläsionen bei multiplen Myelom gefunden [78], aber auch bei Mammacarcinom mit Knochenmetastasen ließen sich erhöhte Dickkopf-Werte nachweisen [76]. Generell, vor allem aber bei Östrogenrezeptor-negativen Zelllinien des Mammacarcinoms zeigte sich eine enorme Überexpression von Dickkopf-Protein [76]. Schwaninger et al. [79] konnten Dkk-1-mRNA in osteolytischen Mammacarcinom-Zelllinien nachweisen, während osteoblastische Zelllinien des Mammacarcinoms in vitro Dkk-1 nicht exprimierten.

DKK-1-Serumspiegel sind bei Frauen mit in den Knochen metastasiertem Mammacarcinom erhöht im Vergleich zu gesunden, nach Alter gematchten Frauen oder Frauen mit Metastasen, die nicht im Knochen lokalisiert sind [80].

1.5 Knochenstoffwechselstörungen

Neben dem veränderten Knochenstoffwechsel bei Malignomen gibt es weitere wichtige Störungen des Knochenstoffwechsels wie Osteoporose oder Osteomalazie.

1.5.5 Osteoporose

Im Kindes- und Jugendlichenalter dominiert die Knochenformation, Knochenlänge und -umfang nehmen bis zum frühen Erwachsenenalter zu, wo dann die individuelle Maximalknochendichte erreicht ist.

Ca. ab dem 20. Lebensjahr nimmt bei Männern der Knochenmineralgehalt pro Dekade um etwa 4 % ab, während hingegen bei Frauen der Spitzenwert der Knochenmineraldichte bis zur Menopause aufrechterhalten wird, sich dann aber pro Dekade um 15 % vermindert [81].

Osteoporose ist durch eine verminderte Knochendichte und Verschlechterung der Mikroarchitektur des Knochengewebes durch eine Verminderung der Trabekelanzahl, eine deutlich herabgesetzte Trabekeldicke und Abnahme der Quervernetzungen der einzelnen Knochenbälkchen charakterisiert und betrifft in den Vereinigten Staaten, Japan und Europa über 75 Millionen Menschen [82].

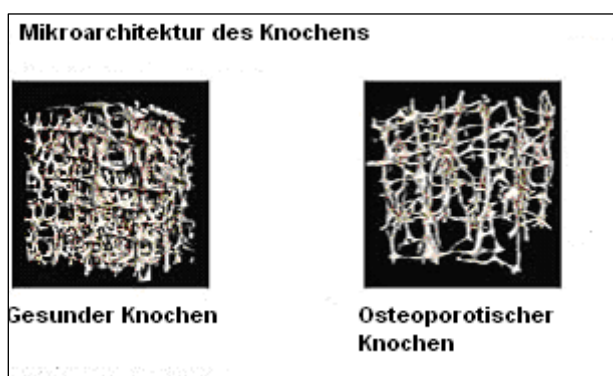


Abbildung 14 Gesunder versus osteoporotischer Knochen

8,9 Millionen Knochenbrüche werden jährlich weltweit auf Osteoporose zurückgeführt, und das Risiko, im Laufe des Lebens einen Knochenbruch in Hüfte,

Wirbelkörper oder Unterarm zu erleiden, liegt mit 40% in Industrieländern in einem ähnlichen Bereich wie das Risiko einer koronaren Herzkrankheit.

Osteoporose verursacht nicht nur Knochenbrüche, sondern zeigt sich generell oft für Immobilisierung und Bettlägrigkeit und die sich daraus ergebenden Komplikationen verantwortlich, die vor allem für ältere Menschen lebensbedrohlich werden können.

Osteoporose wird über die Knochenmineraldichte (BMD-Bone mineral density) definiert. So spricht man bei einer Abnahme der Knochenmineraldichte von 2,5 oder mehr (T-Score < - 2,5), verglichen mit dem Durchschnittswert junger gesunder Frauen, von Osteoporose.

Das Messergebnis wird als T-Score angegeben und dient sowohl als diagnostischer als auch als interventioneller Richtwert.

Ein T-Score von -1,0 bis -2,5 gilt als Osteopenie.

Definition laut WHO	T-Score (Referenzwert im Vergleich mit der mittleren BMD junger gesunder Frauen)
Normalbereich	<-1
Osteopenie	-1 bis -2,5
Osteoporose	>-2,5

Tabelle 5 Einteilung mittels T-Score, modifiziert nach dem WHO Technical Report 1994

Gemessen wird die Knochenmineraldichte nach internationalem Standard mittels DXA-Technik (dual energy X-ray absorptiometry) im Bereich des proximalen Femurs und/oder im Bereich der Lendenwirbelsäule, wo man den Mittelwert von L1- L4 bestimmt.

So werden die meisten Therapie- Indikationen der Osteoporose aufgrund einer verminderten Knochenmineraldichte gestellt.

Neben einer herabgesetzten Knochenmineraldichte spielen aber auch weitere Faktoren wie Alter, Geschlecht, Nikotinabusus, Grad des Knochenabbaus, vorangegangene Frakturen, eine positive Familienanamnese, verschiedene Medikamente wie z.B. Glukokortikoide, niedriger BMI, Immobilisierung und

generell wenig Bewegung eine Rolle, um ein eventuelles Frakturrisiko abschätzen zu können, da die Knochenmineraldichte- Messung zwar eine hohe Spezifität, jedoch eine geringe Sensitivität aufweist.

Das heißt, das Risiko einer Fraktur ist bei bestehender Osteoporose sehr hoch, eine normale Knochenmineraldichte kann deshalb aber eine mögliche Fraktur nicht ausschließen. Bei den meisten Frakturen findet man eine normale Knochenmineraldichte [82].

1.5.5.2 Formen der Osteoporose

Es gibt unterschiedliche Klassifikationsmöglichkeiten der Osteoporose.

Prinzipiell lässt sich die primäre von der sekundären Osteoporose unterscheiden.

Die häufigste Variante der primären Osteoporose stellt die postmenopausale Osteoporose dar, die durch Östrogenmangel verursacht wird.

Sekundäre Formen der Osteoporose kommen im Rahmen von anderen Grunderkrankungen oder unter Einnahme bestimmter Medikamente vor und stellen mit 20 -30% aller postmenopausalen Frauen mit Osteoporose und mehr als 50% aller Männer mit Osteoporose einen erheblichen Anteil dar [83].

Am häufigsten wird die sekundäre Form durch die Langzeiteinnahme von Glukokortikoiden induziert, weiters ist der Zusammenhang zwischen Glukokortikoid- Einnahme und Frakturrisiko mehrfach nachgewiesen [84, 85].

Primäre Osteoporose	• Postmenopausale/ altersassoziierte Osteoporose	
Sekundäre Osteoporose	Krankheiten	Medikamente/ Noxen
	• Hyperthyreose • Diabetes mellitus • COPD • Hyperkortisolismus • Hypogonadismus • Malabsorptionssyndrome • Malnutrition • Anorexia nervosa • Hepatopathien • Rheumatoide Arthritis • Multiple Sklerose • Hämatonkologische Erkrankungen • Hyperparathyreoidismus	• Glukokortikoide • Zytostatika • Aromatasehemmer • Tamoxifen • Antikonvulsiva • Thyroxin • Heparin • Aluminium • Lithium • GRH- Agonisten • Rauchen • Alkohol • Benzodiazepine

Tabelle 6 Primäre und Sekundäre Osteoporose- Ätiologien/ Risikofaktoren modifiziert nach Harrisons Innere Medizin [123]

Bei der postmenopausalen Osteoporose ist die schnelle Abnahme von Östrogen für die Knochenabnahme und in weiterer Folge für das Sturzrisiko verantwortlich. Nach Jarvinen et al. [86] bewirkt die Zunahme von Östrogen in der Pubertät bei jungen Mädchen eine Calciumablagerung im Knochen, die dann als Calcium-Reserve während Schwangerschaft und Stillzeit dient. In der Menopause führt die Östrogenabnahme zur vermehrten Resorption und zum Verbrauch dieses Depots, weil eine Unterstützung der Fortpflanzung nicht mehr notwendig ist.

Auch bei älteren Männern korreliert der Östrogen- Status mit der Knochenmineraldichte, während dem Zusammenhang der altersbedingten Abnahme der Knochenmineraldichte mit einem verminderten Testosteronspiegel eine geringere Rolle zukommt [87].

1.5.5.3 Therapie der Osteoporose

Grob kann man zwischen anaboler und antiresorptiver Therapie unterscheiden. Der anabole Therapieansatz führt zu Knochenaufbau, die antiresorptive Therapie verhindert einen weiteren Knochenabbau durch Osteoklastenhemmung.

Zu den in Europa gebräuchlichsten Osteoporose- Therapien zählen Raloxifen, die Bisphosphonate Alendronat, Ibandronat und Risedronat, Parathormon- Derivate und Strontiumranelat [88]. Hormonersatztherapien kommen bei dieser Indikation auch häufig zur Anwendung [89], sind aber in höherer Dosierung umstritten.

1.5.5.3.1 Parathormon- Derivate: Teriparatid

Die Auswirkungen von Teriparatid auf den Knochenstoffwechsel wurden in Studien bei postmenopausalen Frauen und Männern mit fortgeschrittener Osteoporose erforscht [90]. So erhöhte eine tägliche Teriparatid- Injektion von 20µg über 24 Monate die Knochenmineraldichte der Wirbelkörper um 8-9%, im Bereich des proximalen Femurs kam es zu einer Steigerung von ca. 3%. Das Frakturrisiko nahm im Bereich der Wirbelsäule um 65%, am Oberschenkel um 54% ab.

Die empfohlene Dauer einer Teriparatid- Applikation liegt in Europa bei 18 Monaten, in Amerika bei zwei Jahren, da noch keine Datenlage bezüglich der Sicherheit und Effizienz über einen längeren Anwendungszeitraum vorliegt.

Als Nebenwirkungen wurden in 1- 3% leichte Hypercalcämien beobachtet [90, 91]. Kontraindiziert ist Teriparatid bei Kindern, Hypercalcämie, aktivem Mb.Paget, Knochenmetastasen oder Zustand nach Bestrahlung des Skeletts.

1.5.5.3.2 Strontiumranelat

Strontiumranelat weist in vitro sowohl eine anabole als auch eine antiresorptive Wirkung auf und wird, wie Calcium, in die Knochenkristalle eingebaut [92, 93].

Knochenbiopsien von Patienten nach Strontiumranelat-Therapie zeigten eine Abnahme der Knochenresorption, eine vermehrte Knochenneubildung konnte jedoch nicht beobachtet werden.

In einer prospektiven klinischen Studie war eine tägliche Therapie mit 2 g Strontiumranelat über einen Zeitraum von 3 Jahren mit einer 40%igen Abnahme neuer Wirbelkörperbrüche bei Frauen mit postmenopausaler Osteoporose assoziiert [94].

1.5.5.3.3 Wachstumshormone und IGF-1

Wachstumshormone können bei Patientinnen mit postmenopausaler Osteoporose zumindest kurzfristig die Knochenmineraldichte erhöhen, es gibt jedoch keine Studienendpunkte zu einer dauerhaften Risikoreduktion von Frakturen.

Verglichen mit jungen Erwachsenen haben ältere Personen niedrigere Serumspiegel von Wachstumshormonen und IGF-1, zeigen aber durch Applikation oft keine Zunahme der Knochenmasse [95].

1.5.5.3.4 Dickkopf-1 Derivate

Bei Gain of function-Mutationen (Zunahme der Aktivität eines Gens) von LRP5 und LRP6 kommt es durch eine verminderte Bindung von Dkk-1 an seinen Wnt-Corezeptor zu einer Zunahme der Knochenmasse [96].

Die hemmende Wirkung von Dickkopf auf den Wnt- Signalweg und die Knochenneubildung ist heute durch wissenschaftliche Untersuchungen nachgewiesen [76, 77]. In weiterer Folge wurden und werden Dkk-1 Antikörper entwickelt und getestet.

Bei Versuchen mit Nagetieren erhöht die Neutralisation von Dickkopf das trabekuläre Knochenvolumen, die Knochenmineraldichte und Knochenneubildung, sodass Dkk-1-Hemmer möglicherweise in der anabolen Therapie der Osteoporose bald eine wichtige Rolle einnehmen können [97].

1.5.5.3.5 Bisphosphonate

Eine der wichtigsten klinischen Gruppen der antiresorptiven Medikamente stellen die Bisphosphonate dar.

Strukturell sind Bisphosphonate chemisch stabile Derivate von anorganischem Pyrophosphat (Ppi), einem natürlich vorkommenden Molekül, das aus zwei Phosphatgruppen besteht, die miteinander verestert sind.

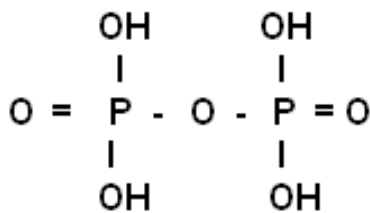


Abbildung 15 Pyrophosphat

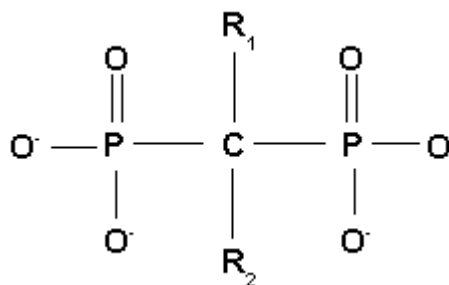


Abbildung 16 Grundstruktur der Bisphosphonate

Bei Menschen wird Pyrophosphat als Nebenprodukt bei vielen Stoffwechselreaktionen freigesetzt und kann in einigen Geweben oder Flüssigkeiten (Blut, Urin) nachgewiesen werden.

In den sechziger Jahren des letzten Jahrhunderts wurde in einigen Studien die Hemmung der Calcifizierung durch die Bindung von Pyrophosphat an Hydroxylapatit-Kristalle beobachtet, und daraus geschlossen, dass man durch die Regulation der Pyrophosphatspiegel die Knochenmineralisation beeinflussen könne.

Wie ihr natürliches Korrelat zeigen Bisphosphonate eine hohe Affinität zu den Knochenmineralien, da sie ebenfalls an Hydroxylapatit-Kristalle binden. So hängt der Bisphosphonatgehalt des Knochens von der Anzahl der möglichen Bindungsstellen der Hydroxylapatit-Kristalle zusammen und Bisphosphonate werden vorzugsweise in Prozesse des aktiven Knochenwiederaufbaus bei erhöhtem Knochenumsatz eingebaut [88]. Jene Bisphosphonat-Moleküle, die nicht in den Knochen eingebaut werden, werden über die Niere eliminiert.

Neben der Hemmung der Calcifizierung verhindern sie den Abbau von Hydroxylapatit und unterdrücken dabei effektiv die Knochen-Resorption.

Weiters wird vermutet, dass Bisphosphonate auch die Apoptose von Osteoblasten und Osteozyten limitieren.

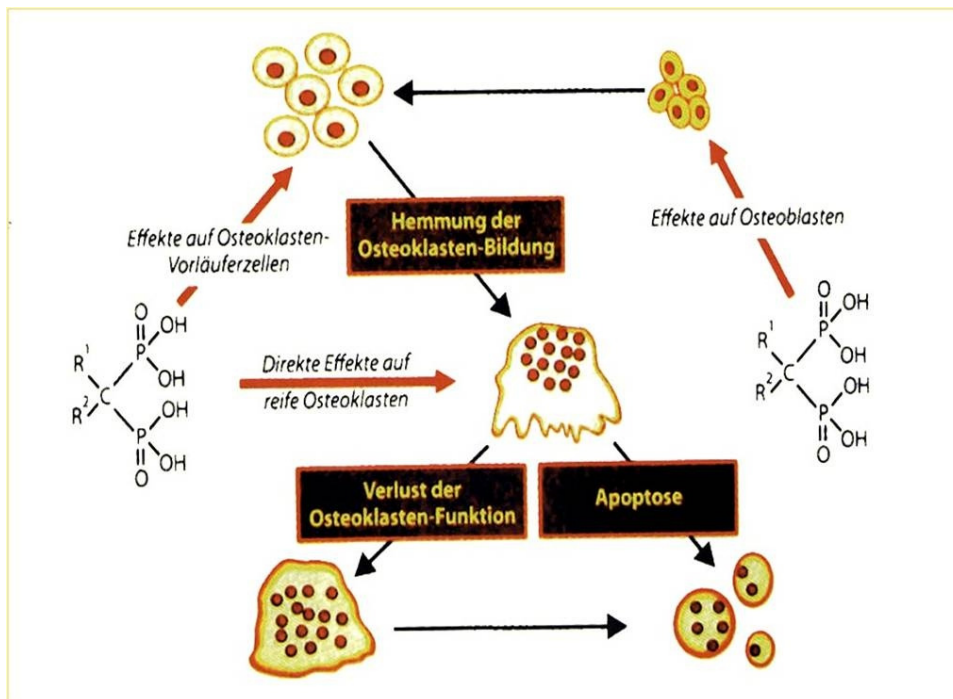
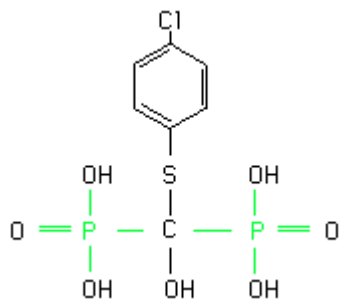


Abbildung 17 Wirkungsmechanismus der Bisphosphonate

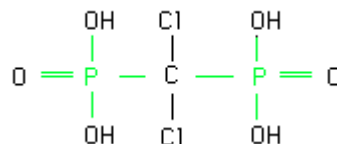
Die Grundstruktur der Bisphosphonate unterscheidet sich gegenüber der Struktur von Pyrophosphat in einer zentralen nicht hydrolysierbaren Kohlenstoff- Gruppe. Die Phosphatgruppen, die diese Carboxylgruppe umgeben, sind bei beiden gleich. Die Phosphat- und Hydroxylgruppen bewirken die Affinität der Bisphosphonate zur Knochenmatrix, der jeweilige Rest in R2-Position, gebunden an die zentrale Carboxylgruppe, ist für die Wirksamkeit des jeweiligen Bisphosphonats bezüglich ihrer Hemmung der Knochenresorption verantwortlich.

Man kann Bisphosphonate nach ihrer Potenz in Bezug auf die Osteoklasten-hemmung einteilen. So weisen die Therapeutika der 1. Generation eine relative Potenz von 1-10 auf, während die relative Potenz der 2. Generation in einem Bereich von 100-1000 variiert und bei den Vertretern der 3. Generation teilweise Werte bis 20 000 erreicht [98].

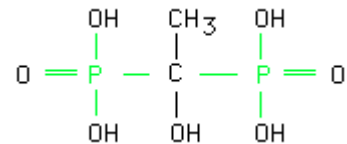
1.Generation: Nicht- N- haltige Bisphosphonate



Tiludronat

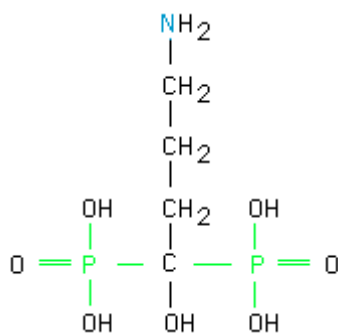


Clodronat

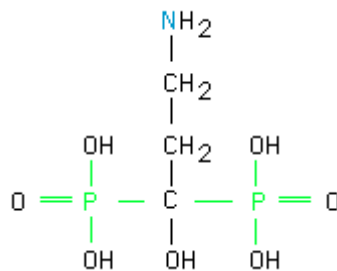


Etidronat

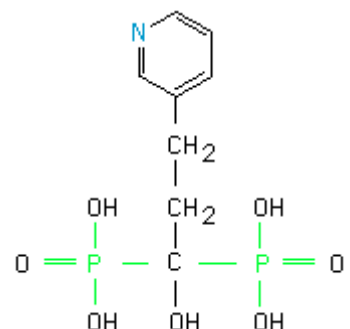
2.Generation: N- haltige Bisphosphonate



Alendronat

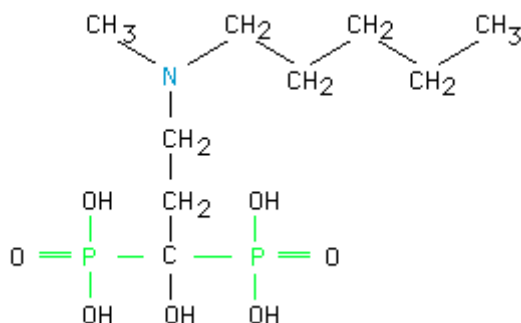


Pamidronat

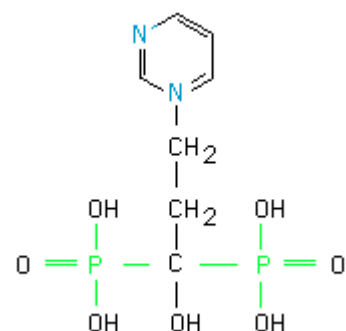


Risedronat

3.Generation: N- haltige Bisphosphonate



Ibandronat



Zoledronat

Abbildung 18 Strukturformeln der einzelnen Bisphosphonate.

Einteilung modifiziert nach Christofanilli [98].

1.5.6 Osteomalazie

Osteomalazie bedeutet „weicher Knochen“ und ist durch eine verminderte Knochenmineralisation gekennzeichnet, bedingt durch eine verminderte Vitamin-D- Rezeptor-(VDR-) Wirkung und einen Mangel an Calcium.

Ursachen können niedrige Zufuhr von Vitamin D3 und Calcium, mangelnde Sonnenlichtexposition, Mangelernährung, Malabsorption, Wechselwirkungen verschiedener Medikamente mit dem Calcium- oder Vitamin D- Stoffwechsel oder Nierenerkrankungen und die daraus folgende reduzierte Hormonaktivierung zu Calcitriol oder Phosphatverlust sein [99].

So ist Osteomalazie durch eine normale Menge an vermindert mineralisiertem Knochen gekennzeichnet, im Gegensatz zur Osteoporose, die sich durch eine verminderte Menge normal mineralisierten Knochens auszeichnet [100].

Knochenschmerzen, Muskelschwäche, Muskelkrämpfe und eine im Alter erhöhte Sturzinzidenz sind die Hauptsymptome der Osteomalazie.

Seltene Ursachen der Osteomalazie sind angeborene und erworbene Störungen mit renalem Phosphatverlust. Im Erwachsenenalter entsteht eine hypophosphatämische Osteomalazie z.B. bei der fibrösen Dysplasie oder als onkogenetisches Syndrom bei meist gutartigen mesenchymalen Neoplasien [101]. Histopathologisch findet man bei der Osteomalazie wegen der gestörten Calciumresorption, bedingt durch den Calcitriolmangel, eine fehlende Mineralisierung der von Osteoblasten neu gebildeten Knochenmatrix (Osteoidose).

Zur Verifizierung der Diagnose Osteomalazie werden neben dem klinischen Erscheinungsbild folgende Verfahren eingesetzt:

1. Labor

Meist findet man eine erhöhte alkalische Phosphatase, typisch ist eine Kombination mit erhöhtem Parathormon und vermindertem 25(OH)Vitamin D3. Wichtig ist bei unklarer Diagnose, mittels Phosphat-Clearance einen renalen Phosphatverlust auszuschließen.

2. Bildgebende Verfahren

Hier stehen die üblichen Verfahren wie konventionelles Röntgen, Skelettszintigraphie, MRT und ähnliches zum Ausschluss verschiedener Differentialdiagnosen zur Verfügung [101].

Für die Osteomalazie selbst gibt es kein spezifisches Korrelat, und in einer normalen BMD- Messung mittels DXA kann man eine Osteomalazie von Osteoporose nicht unterscheiden [100].

3. Biopsie

Bei der typischen Laborkonstellation und den klassischen Symptomen ist eine Knochenbiopsie zum Nachweis einer Osteoidose meist nicht erforderlich.

Sie kommt bei unklaren Befunden, möglichen Differentialdiagnosen wie Malignomen oder unklaren Knochenstrukturen zum Einsatz.

Der First-line Therapieansatz der Osteomalazie liegt bei einer adäquaten Calcium- und Vitamin D-Zufuhr. Bei einer Malabsorptionsproblematik sollte diese parenteral erfolgen, bei Niereninsuffizienz oder Erkrankungen mit fehlender Aktivierung des Vitamin D-Hormons kommen Vitamin D-Hormon-Analoga zum Einsatz.

Phosphatverlustsyndrome werden mittels peroraler Phosphatsubstitution therapiert, häufig erfolgt eine Kombination mit Vitamin D-Präparaten.

Ist der Phosphatverlust tumorbedingt, kann man versuchen, in manchen Fällen durch eine Octreotid-Therapie den Phosphatverlust zu senken [101].

1.6 Fragestellung, Zielsetzung, Neuigkeitswert

Da Knochenmetastasen bei Mammacarcinom mittels Bildgebung oft erst spät und ab einer bestimmten Größe festgestellt werden können, geht das wissenschaftliche Interesse neben der Weiterentwicklung und Verbesserung der Bildgebungstechniken dahin, spezifische Knochenmarker bei erhöhtem Knochenstoffwechsel zu erforschen und in der Diagnostik einzusetzen.

Durch die heutigen Möglichkeiten der Molekularbiologie und das bessere Verständnis der komplexen Abläufe diverser Stoffwechselschritte ist es gelungen, einzelnen Knochenstoffwechselschritten spezifische Parameter zuzuordnen.

Vitamin D kommt beim Knochenstoffwechsel eine besondere Rolle zu, und so werden folgende Fragen untersucht:

1. Ist 25(OH)Vitamin D bei Mammacarcinom-Patientinnen erniedrigt, und gibt es Unterschiede in den einzelnen Gruppen?
2. Welcher der untersuchten Knochenmarker ist der verlässlichste Monitoring-Parameter?
3. Gibt es initial bei bereits erfolgter Knochenmetastasierung einen Marker, den man als Verlaufskontrolle bei anderen Gruppen anwenden kann?
4. Gibt es Zusammenhänge zwischen den jeweiligen Parametern?
5. Gibt es einen engen Zusammenhang zwischen neuen Wnt-Signal-Markern und dem Knochenstoffwechsel?
6. Gibt es im Knochenstoffwechsel einen Unterschied zwischen der prämenopausalen und der postmenopausalen Gruppe?

2 Material und Methoden

2.1 Material

2.1.1 Serumbank

Während der letzten Jahre wurden beim jeweiligen Erstkontakt von Mammacarcinompatientinnen mit der klinischen Abteilung für Onkologie und weiter im Verlauf nach erfolgter Aufklärung und schriftlicher Einverständniserklärung zu Forschungszwecken Blut entnommen.

2.1.2 Patientinnenkollektiv

Nach genehmigtem Ethikantrag wurden in einer randomisierten, retrospektiven Studie aus einem Pool von 4000 Mammacarcinompatientinnen stichprobenartig 167 Patientinnen mit positivem Östrogen- und Progesteron-Status ausgewählt.

Eingeteilt wurden sie in folgende Gruppen von Patientinnen:

- 1) Patientinnen ohne Knochenmetastasen, ohne Osteoporose
- 2) Patientinnen ohne Knochenmetastasen, mit Osteoporose
- 3) Patientinnen mit Knochenmetastasen bei Erstdiagnose/-kontakt
- 4) Patientinnen mit Knochenmetastasen im Verlauf der Erkrankung

Ein- und Ausschlusskriterien

Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
• Positiver Hormonrezeptorstatus • Gruppe 2: Osteoporose, diagnostiziert nach WHO-Kriterien • Gruppe 3: Nachweis von Knochenmetastasen mittels Bildgebung	• Lebermetastasen • Niereninsuffizienz • Andere Tumore • Chronische Lebererkrankungen • Manifeste Hyperthyreose

2.1.3 Positiver Hormonrezeptorstatus

Bei jeder Patientin lag ein histopathologischer Nachweis über die positive Anfärbbbarkeit eines Biopsates oder Resektates bezüglich des Östrogen- und Progesteronrezeptor-Status vor.

2.1.4 Nachweis/ Ausschluss von Knochenmetastasen

Der Nachweis von Knochenmetastasen erfolgte mittels Technetium- 99m Knochenszintigraphie, Computertomographie oder Magnetresonanztomographie.

Jede Patientin hatte nach Erstdiagnose des Mammacarcinoms initial eine Bildgebung zum Ausschluss/Nachweis einer Skelettmetastasierung.

Im Verlauf, vor allem auch bei klinischer Symptomatik wurde die Bildgebung in regelmäßigen Abständen wiederholt, um eine eventuell später erfolgte Metastasierung auszuschließen bzw. nachzuweisen.

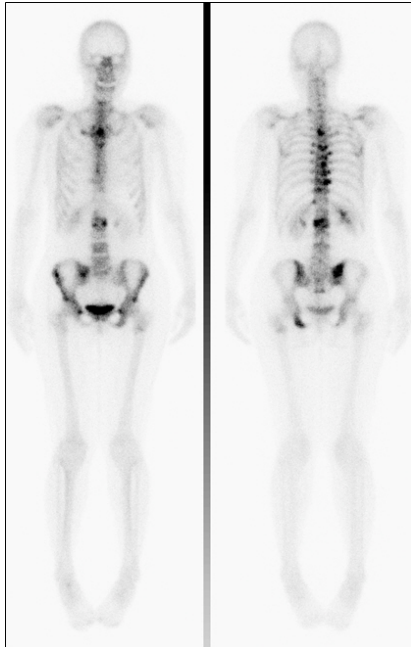


Abbildung 19 Knochenmetastasen bei primärem Mammacarcinom

Die Skelettszintigraphie mit ^{99m}Tc -DPD zeigt mehrere metastasentypische Befunde vorwiegend in Wirbelsäule und Becken. Die Metastasen weisen einen deutlich erhöhten Knochenstoffwechsel auf.

2.1.5 Nachweis von Osteoporose

Die Diagnose Osteoporose wurde nach den durch die WHO definierten Kriterien (DXA-Messung, Klinik) verifiziert.

2.1.6 Ausschluss von Lebermetastasen und chronischen Lebererkrankungen

Lebermetastasen und chronische Lebererkrankungen wurden morphologisch (mittels Bildgebung- MRT, Computertomographie, Sonographie) und laborchemisch (GGT, AST, ALT) ausgeschlossen.

2.1.7 Ausschluss einer Niereninsuffizienz oder Hyperthyreose

Der Ausschluss einer Niereninsuffizienz erfolgte routinemäßig über die Nierenparameter Kreatinin und Harnstoff, bei besonderen Fragestellungen wurden die Kreatinin-Clearance und die glomeruläre Filtrationsrate bestimmt.

Routinemäßig wurden zum Ausschluss einer Hyperthyreose TSH, fT3 und fT4 im Serum gemessen.

2.2 Methoden

2.2.1 Laborparameter

Initial wurden bei jeder Patientin im Rahmen eines Routinelabors bei Erstkontakt Alkalische Phosphatase und Serumcalcium bestimmt, und diese wurde retrospektiv erhoben.

In dieser Studie wurden folgende Laborparameter ausgewertet:

25(OH)Vitamin D, Prokollagen Typ 1 N-terminales Propeptid, Serum-Crosslaps und Dickkopf-1 im endokrinologisch-nuklearmedizinischen Labor.

Laborparameter	Referenzbereich
Gesamt-Serumcalcium (Ca)	[2,2-2,65 mmol/l]
25(OH)Vitamin D (Vit.D)	[30-60 ng/ml]
Prokollagen Typ 1 N-terminales Propeptid (P1NP)	[16-67 ng/ml]
Serum-Crosslaps (CTX)	Prämenopausal [0,03-0,37 ng/ml] Postmenopausal [0,09-0,44 ng/ml]
Dickkopf-1 (Dkk-1)	[32,6-72,6 pmol/l]

Zur Bestimmung der Laborparameter im nuklearmedizinischen Labor wurden folgende Methoden verwendet:

EnzymeLinkedImmunoSorbent Assay (ELISA)

ElektroChemiLumineszenzImmunoAssay(ECLIA)

Der ELISA ist eine empfindliche und spezifische immunologische Methode zur Bestimmung antigener Substanzen (Hormone, etc.) in Flüssigkeiten unter Verwendung enzymmarkierter spezifischer Antikörper oder Antigene vom gleichen Typ wie das zu bestimmende Antigen. Nach der Antigen-Antikörper-Reaktion

werden die Immunkomplexe durch einen weiteren Antikörper detektiert. Dieser ist mit einem Enzym gekoppelt (sog. Sandwich-Methode) und wird nach Reaktion mit einer chromogenen Substanz photometrisch bestimmt [104].

ECLIA ist eine Variante des Immunassays, bei der zur Markierung von Antigen- oder Antikörper chemilumineszierende Substanzen eingesetzt werden.

Gemessen wird die Freisetzung von Lichtquanten, die in zuvor durch Absorption zugeführter Energie angeregten Atomen bei Rückkehr der Elektronen auf ihr ursprüngliches Energieniveau erfolgt [104].

2.2.1.1 Gesamt- Serumcalcium

Der Calciumbestand im ECR, der etwa 100 mmol ausmacht und gemeinsam mit dem Calcium des ICR 1% des Körpercalciums darstellt, steht im dynamischen Gleichgewicht mit dem rasch austauschbaren Anteil des Knochencalciums.

Calciumionen wirken auf Herzmuskel und Skelettmuskel, das Nervensystem und spielen bei der Blutgerinnung und Knochenmineralisation eine wichtige Rolle.

Hypercalcämien können im Rahmen von Osteoporose oder Knochenmetastasen bei Mammacarcinom, Prostatacarinom, Bronchialcarcinom oder Schilddrüsencarcinom durch verstärkte Mobilisation des Knochencalciums oder durch vermehrte Absorption von Calcium aus dem Darm entstehen.

Neben der Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) werden komplexometrische Methoden eingesetzt.

Das Gesamt-Calcium wird mittels Cobas System der Firma Roche via Reaktion des Calciums mit o-Kresolphthalein-Komplexon in alkalischer Lösung bestimmt.

Die Farbintensität des gebildeten Komplexes ist direkt proportional der Calciumkonzentration und wird photometrisch gemessen [105].

Als Proben können Serum oder Heparin-Plasma verwendet werden.

2.2.1.2 Knochenspezifische Alkalische Phosphatase

Als quantitatives Maß eines Knochenabbau-Markers liefert die knochenspezifische alkalische Phosphatase wertvolle Informationen über den Knochenumbau bei Osteoporose oder Morbus Paget und Änderungen in der Aktivität der Knochenabnahme unter antiresorptiver Therapie. Für die quantitative Messung wird ein monoklonaler Antikörper, der gegen die knochenspezifische alkalische Phosphatase wirkt, verwendet.

Die knochenspezifische alkalische Phosphatase wird mittels Enzym-Immunoassay im menschlichen Serum quantifiziert.

Der zur Anwendung kommende MicroVue BAP Assay ist ein Immunoassay in Form einer Mikrotiterplatte, der über einen monoklonalen Anti-BAP Antikörper, mit dem die Platte bedeckt ist, die BAP in der Blutprobe bindet. Die Enzymaktivität der gebundenen alkalischen Phosphatase wird mittels p-Nitrophenyl-Phosphat nachgewiesen [106].

2.2.1.2.1 Testdurchführung:

1. Inkubation der Proben

125 µl Testpufferlösung in jede Vertiefung geben. 20 µl Standardlösung, Kontrolle oder Probe in jede Vertiefung geben. Dieser Schritt sollte innerhalb von 30 Minuten abgeschlossen werden. Die Teststreifen vorsichtig schwenken, um eine gründliche Mischung von Probe und Pufferlösung zu erreichen.

Bei 20–28 °C 3 Stunden (+/- 10 Minuten) inkubieren.

Die Substratlösung mit einer Substratablette versetzen und 1 Stunde auflösen lassen.

2. Waschen

Das benötigte Volumen des 1fach konzentrierten Waschpuffers vorbereiten, indem 10fach konzentrierter Waschpuffer im Verhältnis 1:10 mit entionisiertem Wasser verdünnt wird. Bei 20–28°C aufbewahren.

Die Teststreifen manuell umdrehen/entleeren.

Mindestens 250 µl des 1fach konzentrierten Waschpuffers in jede Vertiefung geben und die Teststreifen manuell umdrehen/entleeren. Diesen Vorgang dreimal wiederholen, um insgesamt viermal zu waschen.

3.Inkubieren des Substrats

150 µl der Substratlösung in jede Vertiefung geben.

Bei 20–28°C 30 Minuten (+/- 5 Minuten) inkubieren.

4.Hinzugeben der Stopplösung und Ablesen des Ergebnisses

100 µl der Stopplösung in jede Vertiefung geben.

Die Absorbanz bei 405 nm ablesen. Die Ergebnisse sollten innerhalb von

15 Minuten nach Zugabe der Stopplösung abgelesen werden.

Analyse des MicroVue BAP Testergebnisses durch eine Quantifizierungssoftware zum Anpassen quadratischer Kalibrierkurven.

Gleichung: $y = A + Bx + Cx^2$

2.2.1.3 25(OH)Vitamin D (ECLIA)

Der 25-Hydroxy Vitamin D Assay der Firma IDS wird für die quantitative Messung von 25(OH)Vitamin D und anderen hydroxylierten Metaboliten im menschlichen Serum oder Plasma am IDS-iSYS Multi-Discipline Automated Analyser verwendet.

Der Assay basiert auf Chemilumineszenz. Neben den Proben werden als Qualitätskontrolle auch die Konzentrationen der 25(OH) Vitamin D Kontroll-Sets gemessen, die in drei bestimmten Konzentrationen vorliegen [107].

1. Denaturierung von VDBP

Als erstes werden die Proben vorbehandelt, um das Vitamin D bindende Protein(VDBP) zu denaturieren.

2. Antikörperzugabe

Dann werden die Proben in einem Puffer neutralisiert und ein spezifischer Antikörper gegen 25(OH)Vitamin D, mit Acridinium versetzt, zugefügt.

3. Inkubation

Nach einer Inkubation werden magnetische Partikel, die mit Vitamin D beschichtet sind, zugegeben.

4. Inkubation und Separation

Es folgt eine weitere Inkubation mit anschließender Trennung der magnetischen Teilchen mittels eines Magneten.

5. Messung der Quanten

Nach einer Auswaschphase und der Zugabe von Trigger- Substanzen (Trigger A, bestehend aus Wasserstoff- Peroxid und Salpetersäure, und Trigger B, bestehend aus Natriumazid) wird das vom Acridinium- Zusatz emittierte Licht gemessen. Das emittierte Licht ist inversiv proportional zur 25(OH) Vitamin D Konzentration der Blutprobe.

Mögliche Stoffe, die ab einer bestimmten Konzentration mit dem Assay interferieren können, sind Lipide, Hämoglobin, Biotin und Bilirubin.

2.2.1.4 Gesamt- P1NP(ECLIA)

Das totale P1NP ist ein immunologischer Test zur quantitativen Bestimmung von Gesamt- P1NP in Humanserum und –plasma.

Typ 1 Kollagen wird aus dem von Fibroblasten und Osteoblasten synthetisierten Prokollagen Typ 1 gebildet. Prokollagen hat am Amino(N)- und am Carboxyl(C)- Ende Propeptide, die während der Synthese von Prokollagen zu Kollagen und dessen anschließender Einlagerung in die Knochenmatrix durch spezifische Proteasen entfernt werden.

Der Test misst das Gesamt-P1NP, das sich aus einer trimeren Struktur und einer monomeren Form zusammensetzt.

P1NP ist ein Marker für die Knochenbildung [108].

2.2.1.5 Crosslaps(CTX)

CTX ist ein immunologischer Test zur quantitativen Bestimmung von Abbauprodukten aus Typ I Kollagen im Humanplasma oder –serum.

Analysiert wird die Aktivität des Knochenumbaus, die der Test durch Messung von quervernetzten, isomerisierten Telopeptiden (C-terminal), die für den Abbau von Kollagen Typ I spezifisch sind, bestimmt.

Die Spezifität wird durch den Einsatz zweier monoklonaler Antikörper, die jeweils lineare Oktapeptide β -8AA (EKAHD- β -GGR) erkennen, gewährleistet.

Der β -CrossLaps/Serum Elecsys Test quantifiziert somit alle Fragmente aus dem Typ I Kollagenabbau, die das isomerisierte Oktapeptid β -8AA zweifach enthalten [109].

2.2.1.5.2 Testprinzip für P1NP und CTX [108, 109]

Die ElektroCHemiLumineszenz Immuno Assays für P1NP und CTX sind zur Durchführung an Elecsys sowie cobas e Immunoassay-Systemen der Firma Roche vorgesehen.



Abbildung 20 Roche Elecsys Gerät

Dieser Test erfolgt nach dem Sandwichprinzip und dauert ca. 18 Minuten:

1. Inkubation

20 µl Probe und ein biotinylierter monoklonaler P1NP- bzw. CTX- spezifischer Antikörper werden zusammen inkubiert.

2. Inkubation

Nach Zugabe eines mit Ruthenium- Komplex markierten monoklonalen P1NP- bzw. CTX- spezifischen Antikörpers wird ein Sandwichkomplex gebildet, der mit Hilfe von Streptavidin- beschichteten Mikropartikeln über die Biotin-Streptavidin Wechselwirkung an die Festphase gebunden wird.

3. Messung

Das Reaktionsgemisch wird in die Messzelle überführt, wo die Mikropartikel durch magnetische Wirkung auf die Oberfläche der Elektrode fixiert werden. Danach werden die ungebundenen Substanzen entfernt. Durch Anlegen einer Spannung wird die Chemilumineszenzemission induziert und mit dem Photomultiplier gemessen.

4. Ergebnisse

Die Ergebnisse werden anhand einer Kalibrationskurve ermittelt. Diese wird durch eine 2-Punkt-Kalibration und eine über den Reagenzbarcode mitgelieferte Masterkurve gerätespezifisch generiert.

2.2.1.6 Dkk-1 ELISA

Dickkopf-1 (Dkk-1) ist ein extrazelluläres Protein von 28.672 Da, das im Wnt Signalweg als Inhibitor wirkt. Dieser Signalweg besteht aus lipid-modifizierten Glykoproteinen, die Zellmembran-vermittelte Signaltransduktionen aktivieren. Die WNT Signalkaskade wirkt bei verschiedenen Zellaktivitäten, wie Lebensdauer, Proliferation, Zellmigration, Polarität und Genexpression. Weiters ist Dkk-1 maßgeblich an der Steuerung von Entwicklungsprozessen beteiligt und spielt in der Regulation des Knochenstoffwechsels eine Rolle, da es die Differenzierung von Osteoblasten inhibiert. Dkk-1 wird auch von verschiedenen Tumoren sezerniert [110].

Dieser Test funktioniert nach dem Sandwich- Prinzip.

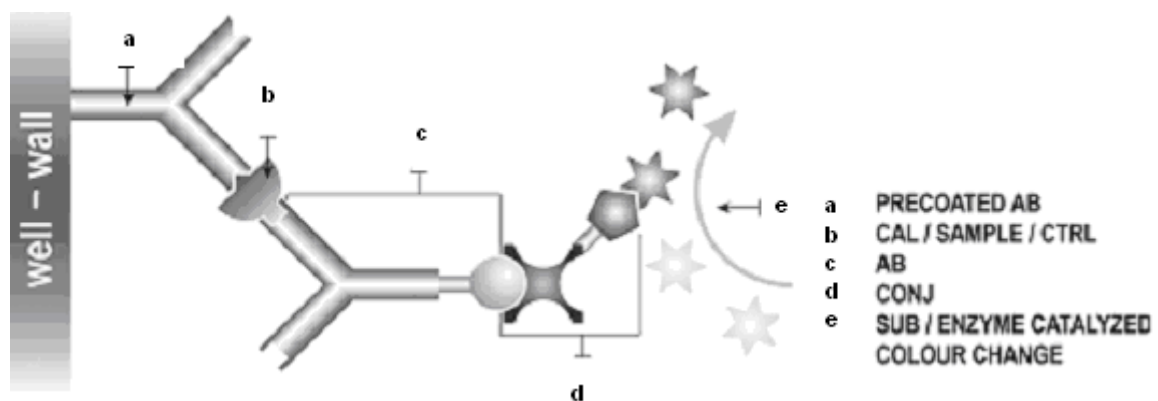


Abbildung 21 Dkk-1 ELISA

1. 50 µl Standard/Probe/Kontrolle werden mit 200 µl biotinyliertem DKK-1 Antikörper in allen Wells, mit Ausnahme des Leerwertes, gut vermischt.
2. **Inkubation** (18-24 Stunden) bei Raumtemperatur (18-26°C) im Dunkeln.
3. Inhalt der Wells verwerfen und 5x mit 300 µl verdünntem **Waschpuffer** waschen, nach dem letzten Waschschrift Resten von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
Zugabe von 200 µl **Konjugat** in alle Wells.
4. **Inkubation** (1 Stunde) bei Raumtemperatur (18-26°C) im Dunkeln.

-
5. Inhalt der Wells verwerfen und 5x mit 300 µl verdünntem **Waschpuffer** waschen, nach dem letzten Waschschrift Reste von Waschpuffer durch Ausklopfen auf saugfähigem Papier entfernen.
Zugabe von 200 µl **Substrat** in alle Wells.
 6. **Inkubation** (30 Minuten) bei Raumtemperatur (18-26°C) im Dunkeln.
 7. Nach Zugabe von 50 µl Stopplösung in alle Wells **Extinktion bei 450 nm** mit 620 nm als Referenz messen.

2.3 Datenauswertung

Die Daten wurden in **Microsoft-Access 2003 erfasst** und mittels **SPSS 16 English** statistisch ausgewertet.

Es wurden die Werte zum jeweiligen Erstkontakt aus den Serumproben bestimmt und die vier Gruppen untereinander verglichen.

Diese statistisch ausgewerteten Daten wurden in SPSS mit Hilfe von **Boxplots** graphisch dargestellt.

In **Tabellen** wurden zusätzlich die Patientinnenzahl, Mittelwert, Standardabweichung, Median, Range, 25. und 75. Quartil der erhobenen Daten aufgeteilt nach Gruppen zusammengefasst.

Die **Signifikanz** von Vitamin D, Gesamt-Calcium, AP, CTX, Dkk-1 und P1NP wurden, da diese nicht normal verteilt waren, mittels nicht-parametrischem **Kruskal- Wallis- Test** ermittelt.

Der **Signifikanzlevel** wurde angegeben:

mit 5%-level ($p = 0.05$) als signifikant und

mit 0.5%-level ($p = 0.005$) als hoch signifikant

Das Ergebnis ist **nicht signifikant**, wenn die **aufgestellte Nullhypothese wahr** ist und nicht widerlegt werden kann. Die aufgestellte Hypothese (H_1) ist falsch→ Die Werte sind gleich.

Das Ergebnis ist **signifikant**, wenn sich die **aufgestellte Nullhypothese als falsch** erweist und widerlegt werden kann. Die Werte haben sich verändert.

Weiters wurden bei signifikanten Ergebnissen die Sensitivität und Spezifität berechnet.

Die Sensitivität entspricht der richtig-positiv-Rate, Empfindlichkeit oder Trefferquote und wird wie folgt berechnet:

$$\text{Sensitivität} = \frac{\text{Anzahl der richtig Positiven}}{\text{Anzahl der richtig Positiven} + \text{Anzahl der falsch Negativen}}$$

Die Spezifität entspricht der richtig-negativ-Rate oder kennzeichnenden Eigenschaft und wird wie folgt berechnet:

$$\text{Spezifität} = \frac{\text{Anzahl der richtig Negativen}}{\text{Anzahl der richtig Negativen} + \text{Anzahl der falsch Negativen}}$$

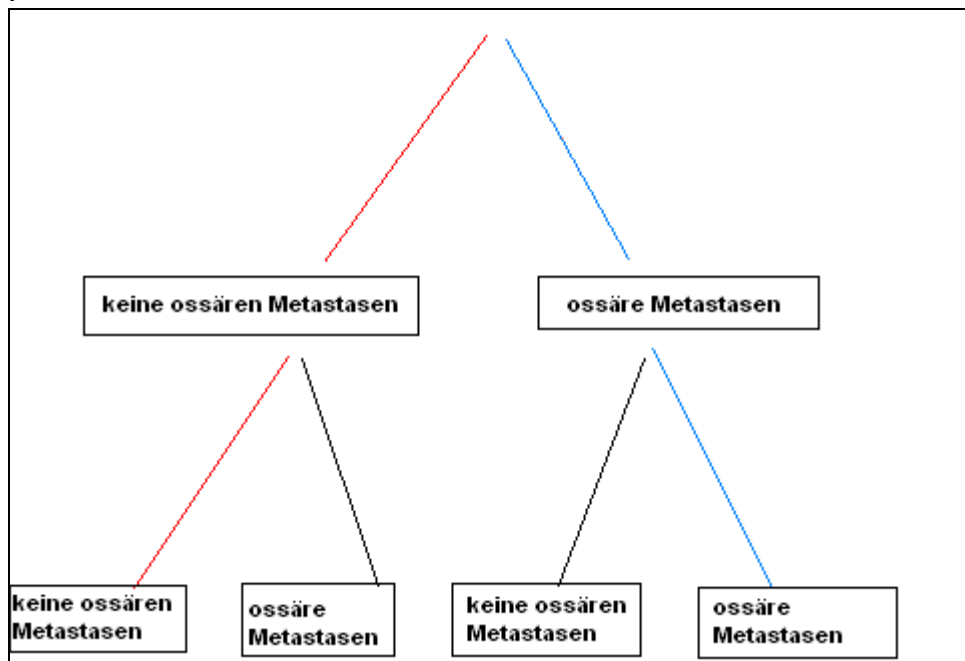


Abbildung 22 Sensitivität und Spezifität

Beim ersten Fall (rot) benutzt man den Begriff Spezifität, um die Wahrscheinlichkeit auszudrücken, dass die Patientin keine ossären Metastasen hat und die Untersuchungen dies auch bestätigen. Beim vierten Fall (blau) benutzt man den Begriff Sensitivität, um die Wahrscheinlichkeit auszudrücken, dass die Patientin ossäre Metastasen aufweist und das durch die Untersuchungen bestätigt wird. Korrelationen zwischen den einzelnen Markern wurden nach Spearman analysiert.

3 Ergebnisse- Resultate

3.1 Patientinnenkollektiv

Im Rahmen dieser randomisierten, retrospektiven Studie wurden aus einem Pool von 4000 Mammacarcinom-Patientinnen stichprobenartig 167 Patientinnen mit positivem Östrogen- und Progesteron-Status ausgewählt und in folgende Gruppen unterteilt:

- 1) Patientinnen ohne Knochenmetastasen, ohne Osteoporose
- 2) Patientinnen ohne Knochenmetastasen, mit Osteoporose
- 3) Patientinnen mit Knochenmetastasen bei Erstdiagnose/-kontakt
- 4) Knochenmetastasen im Verlauf der Erkrankung

Bei jeder Patientin wurden vor Aufnahme in die Studie mögliche Sekundär-Erkrankungen mit Einfluss auf den Knochenstoffwechsel wie Niereninsuffizienz, manifeste Hyperthyreose, chronische Lebererkrankungen, Lebermetastasen oder andere Tumore ausgeschlossen.

Das mittlere Patientinnenalter lag bei 57 ± 29 Jahren.

Gruppe	Gesamtzahl
Ohne Knochenmetastasen, ohne Osteoporose	n= 54
Ohne Knochenmetastasen, mit Osteoporose	n= 29
Knochenmetastasen bei Erstkontakt	n= 30
Knochenmetastasen im späteren Verlauf	n= 54

3.1.1 Vergleich prämenopausaler und postmenopausaler Frauen

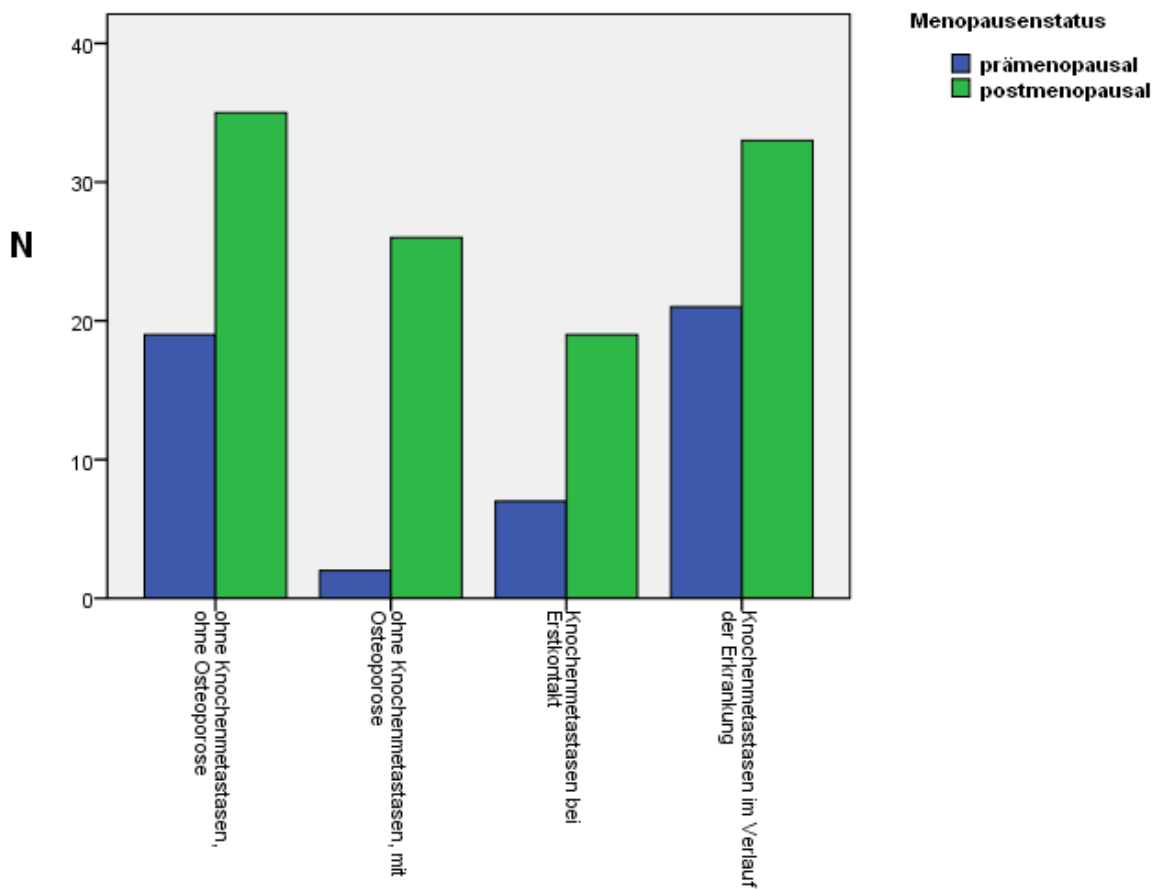


Abbildung 23 Übersichtsgraphik: Menopausenstatus- Verteilung der einzelnen Gruppen

Insgesamt überwogen die postmenopausalen Patientinnen. So waren 113 der insgesamt 167 Patientinnen postmenopausal. 49 Patientinnen oder 29,3% der Frauen waren prämenopausal, bei 5 Frauen (entspricht 3%) war der Menopausenstatus unbekannt.

	N	%
prämenopausal	49	29,3
postmenopausal	113	67,7
Unbekannter Status	5	3

Tabelle 7 Übersichtstabelle der Patientinnencharakteristika nach Menopausenstatus

Unterteilt man die einzelnen Gruppen nach Menopausenstatus, ergeben sich folgende Werte:

Menopausenstatus	Gruppen	N	N% nach Menopausen-Untergruppen	Gesamt N%
Prämenopausal	ohne Knochenmetastasen, ohne Osteoporose	19	38,8%	11,4%
	ohne Knochenmetastasen, mit Osteoporose	2	4,1%	1,2%
	Knochenmetastasen bei Erstkontakt	7	14,3%	4,2%
	Knochenmetastasen im Verlauf der Erkrankung	21	42,9%	12,6%
Postmenopausal	ohne Knochenmetastasen, ohne Osteoporose	35	31,0%	21,0%
	ohne Knochenmetastasen, mit Osteoporose	26	23,0%	15,6%
	Knochenmetastasen bei Erstkontakt	19	16,8%	11,4%
	Knochenmetastasen im Verlauf der Erkrankung	33	29,2%	19,8%
Unbekannt	ohne Knochenmetastasen, ohne Osteoporose	0	0%	0%
	ohne Knochenmetastasen, mit Osteoporose	1	20,0%	0,6%
	Knochenmetastasen bei Erstkontakt	4	80,0%	2,4%
	Knochenmetastasen im Verlauf der Erkrankung	0	0%	0%
Gesamt	ohne Knochenmetastasen, ohne Osteoporose	54	32,3%	32,3%
	ohne Knochenmetastasen, mit Osteoporose	29	17,4%	17,4%
	Knochenmetastasen bei Erstkontakt	30	18,0%	18,0%
	Knochenmetastasen im Verlauf der Erkrankung	54	32,3%	32,3%

Tabelle 8 Prozentuelle Verteilung nach Menopausenstatus

3.2 Auswertung der Laborparameter

3.2.1 Übersicht

Zu den ausgewerteten Laborparametern zählen:

Knochenspezifische alkalische Phosphatase (**AP**), Serumcalcium (**Ca**), Serum-Crosslaps (**CTX**), 25-OH-Vitamin D3 (**VitD**), Prokollagen Typ 1 N-terminales Propeptid (**P1NP**) und Dickkopf-1 (**DKK-1**).

Es ist besonders hervorzuheben, dass die Abnahme der Knochenresorptionsmarker (**CTX**) sowie die Zunahme der Knochenformationsmarker (**P1NP**, **AP**) mit $p < 0,001$ (Kruskal-Wallis) hoch signifikant war (siehe Tabelle 9).

Vitamin D war in allen Gruppen deutlich erniedrigt. Hier lassen sich keine Rückschlüsse bezüglich der Unterschiede im Fortschreiten der Erkrankung treffen.

Dickkopf-1 zeigte sich bei allen Gruppen erhöht, besonders hohe Werte fanden sich in der Gruppe mit Osteoporose.

	Gesamt N	p	Qui- Quadrat	Referenzbereich	MW
AP	157	0,0001	43,615	[35- 105 U/l]	114,76
Ca_ges	150	0,700	1,425	[2,2- 2,65mmol/l]	2,41
VitD3	167	0,328	3,441	[30-60 ng/ml]	21,2
CTX	166	0,004 0,312 0,013	13,402	Prämenopausal [0,03-0,37] Postmenopausal [0,09- 0,44ng/ml]	,22
P1NP	166	0,0001	24,199	[16-67 ng/ml]	75
DKK-1	167	0,399	2,955	[32,6- 72,6pmol/l]	116,2

Tabelle 9 Übersicht über die einzelnen Laborparameter und ihre statistischen Ergebnisse

3.2.2 Ergebnisse der Knochenparameter

3.2.1.1 Auswertung Alkalische Phosphatase

Vergleiche der einzelnen Gruppen wiesen hoch signifikante Unterschiede ($p < 0,0001$ Kruskal- Wallis) bezüglich der alkalischen Phosphatase auf.

So lag der Mittelwert der Gruppe mit bereits erfolgter Metastasierung bei 234 U/l, während sich die Mittelwerte der übrigen Gruppen im Normbereich befanden.

Allerdings zeigte sich in dieser Gruppe auch die größte Standardabweichung mit 212 U/l. Die Sensitivität der bAP für Knochenmetastasen betrug $p = 0,8$, die Spezifität $p = 0,7$.

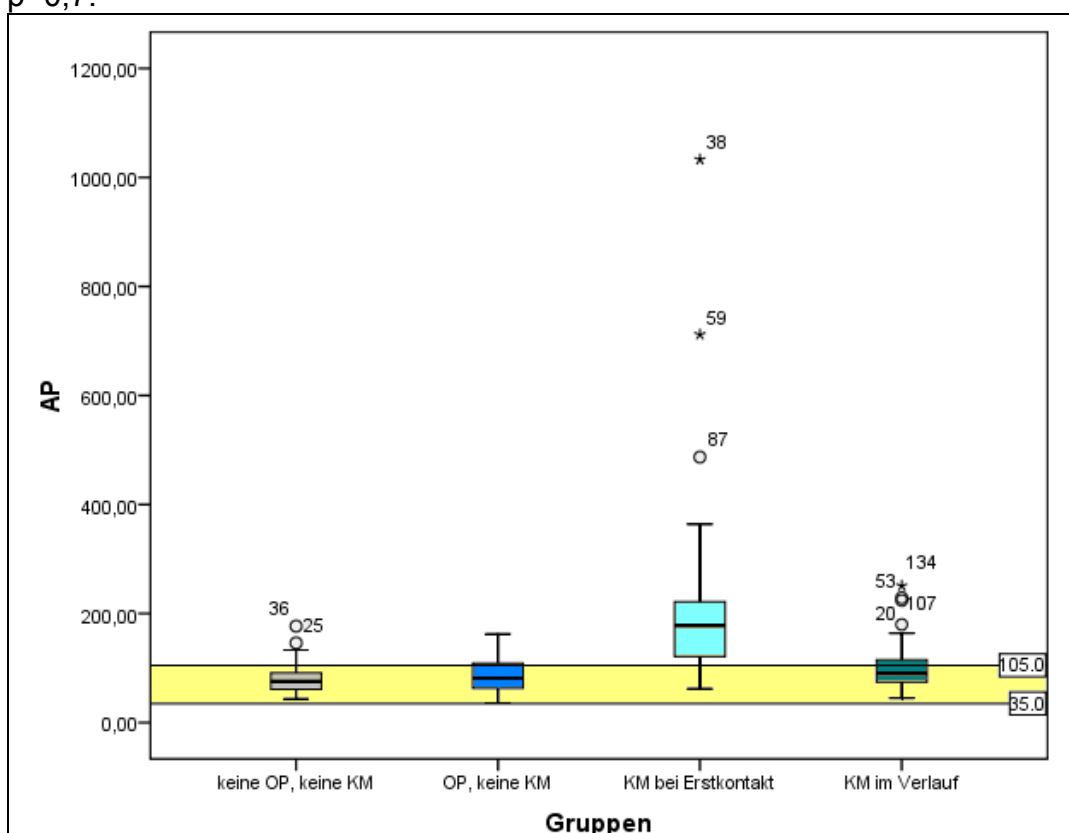


Abbildung 24 Knochenspezifische alkalische Phosphatase

OP...Osteoporose, KM... Knochenmetastasen; Normbereich: gelb

	Gruppen	N	MW	SD	Median	25.Q	75.Q	Min.	Max.
AP	Keine OP, keine KM	54	79,4	26,25	75,50	61,00	91,00	43,00	177,00
	OP, keine KM	29	85,8	32,37	81,50	63,00	109,00	36,00	162,00
	KM bei Erstkontakt	30	234,3	212,33	178,00	120,00	229,00	62,00	1033,00
	KM im Verlauf der Erkrankung	54	102,4	43,88	90,00	74,50	115,00	45,00	251,00

Tabelle 7 Ergebnisse Alkalische Phosphatase

3.2.1 Auswertung Serumcalcium

Bei der Auswertung der Serumcalcium-Werte lag der Großteil der Werte im Normbereich, hier zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen ($p < 0,700$). Auch wenn man die prämenopausalen mit den postmenopausalen Patientinnen vergleicht, ergeben sich keine signifikanten Unterschiede, keine Sensitivität oder Spezifität für Knochenmetastasen.

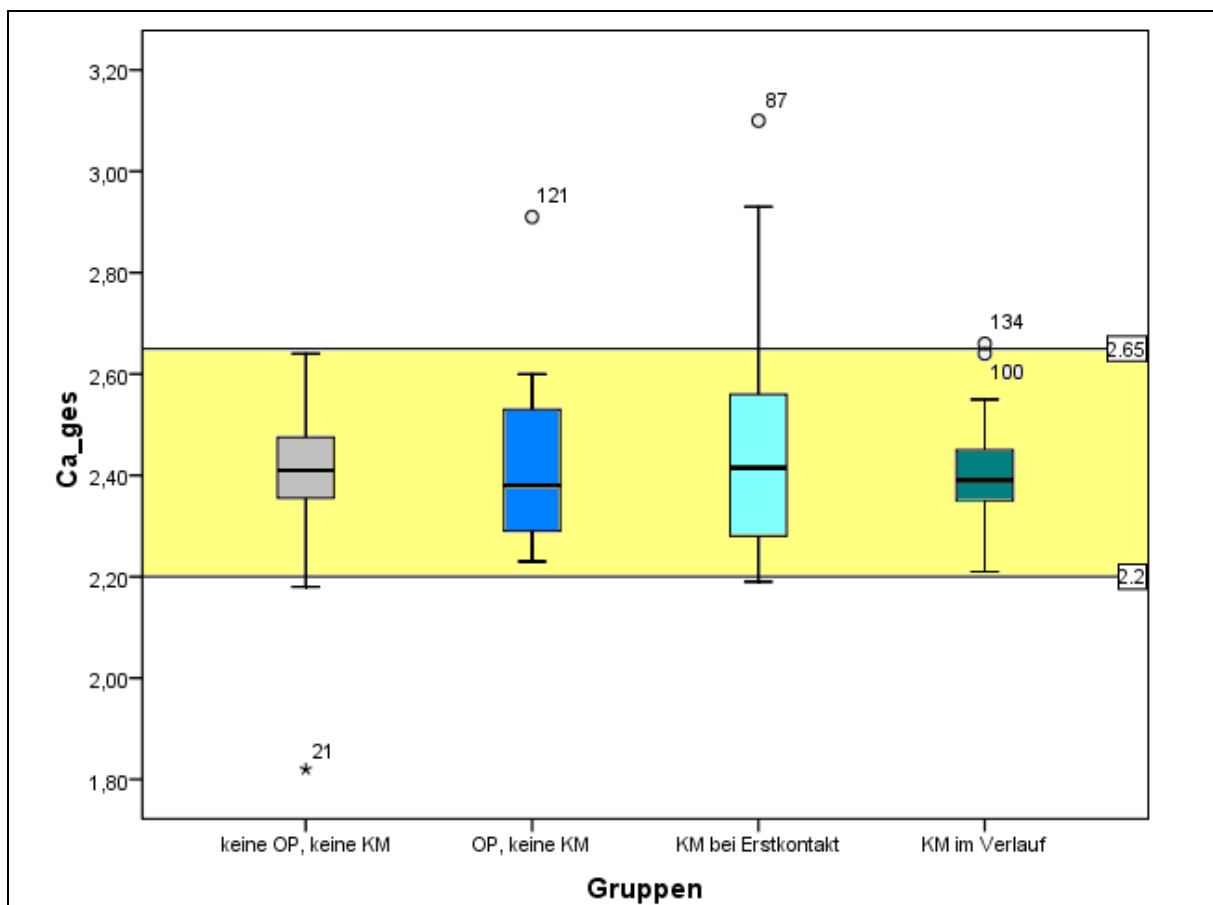


Abbildung 25 Serumcalcium

OP...Osteoporose, KM...Knochenmetastasen; Normbereich: gelb

	Gruppen	N	MW	SD	Median	25.Q	75.Q	Min.	Max.
Ca_ges	Keine OP, keine KM	54	2,41	0,13	2,41	2,35	2,48	1,82	2,64
	OP, keine KM	29	2,42	0,17	2,38	2,29	2,53	2,23	2,91
	KM bei Erstkontakt	30	2,45	0,23	2,42	2,28	2,56	2,19	3,10
	KM im Verlauf der Erkrankung	54	2,39	0,10	2,39	2,35	2,45	2,21	2,66

Tabelle 8 Ergebnisse Serumcalcium

3.2.2 Auswertung Vitamin D

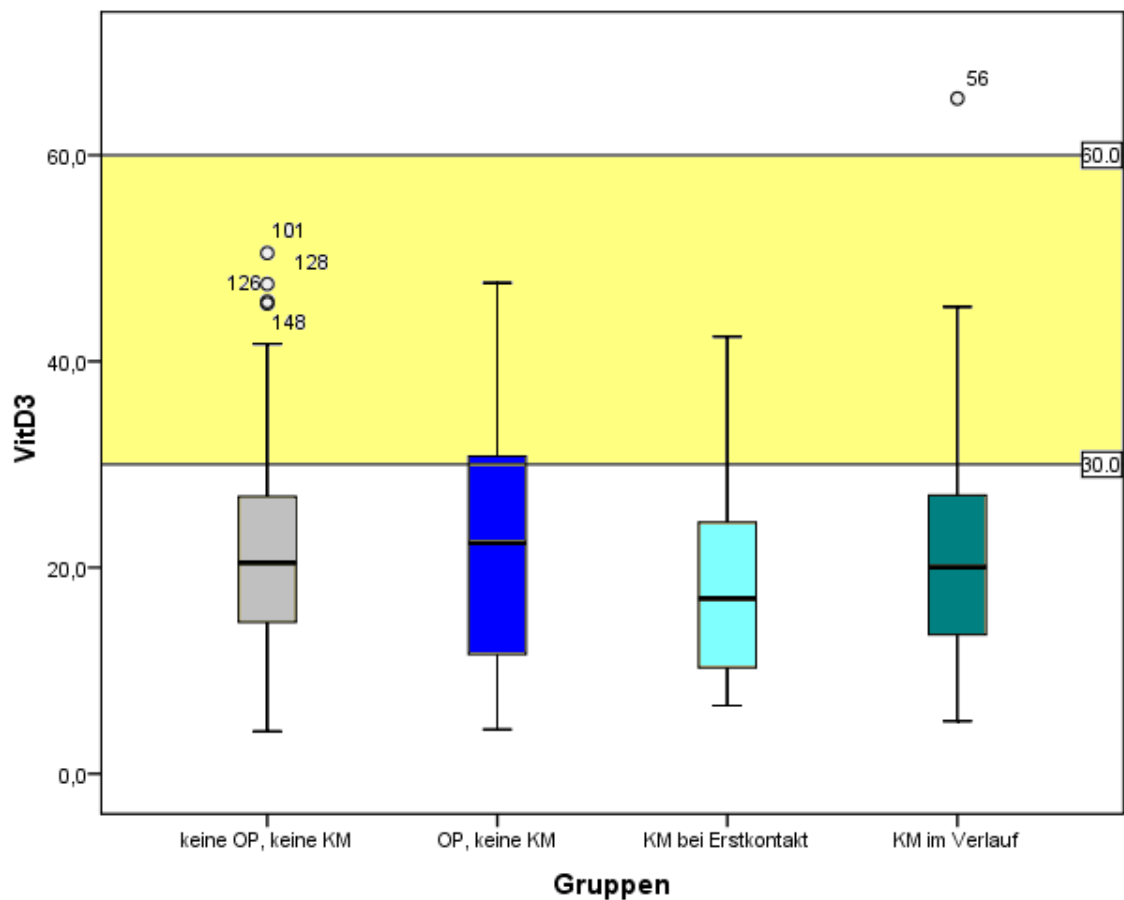


Abbildung 26 Vitamin D

OP...Osteoporose, KM...Knochenmetastasen; Normbereich: gelb

Bei Vitamin D zeigten sich in allen Gruppen Mittelwerte unter dem Normbereich.

Hier zeigten sich keine Signifikanzen ($p > 0,328$), keine Spezifität oder Sensitivität für Knochenmetastasen.

	Gruppen	N	MW	SD	Median	25.Q	75.Q	Min.	Max.
VitD3	Keine OP, keine KM	54	22,7	11,3	20,4	14,7	26,9	4,1	50,5
	OP, keine KM	29	21,9	11,2	22,4	11,6	30,8	4,3	47,6
	KM bei Erstkontakt	30	18,2	9,5	17,0	10,3	24,4	6,6	42,4
	KM im Verlauf der Erkrankung	54	21,1	11,4	20,0	13,5	27,0	5,1	65,5

Tabelle 9 Ergebnisse Vitamin D

3.2.3 Auswertung Prokollagen Typ 1 N-terminales Propeptid (P1NP)

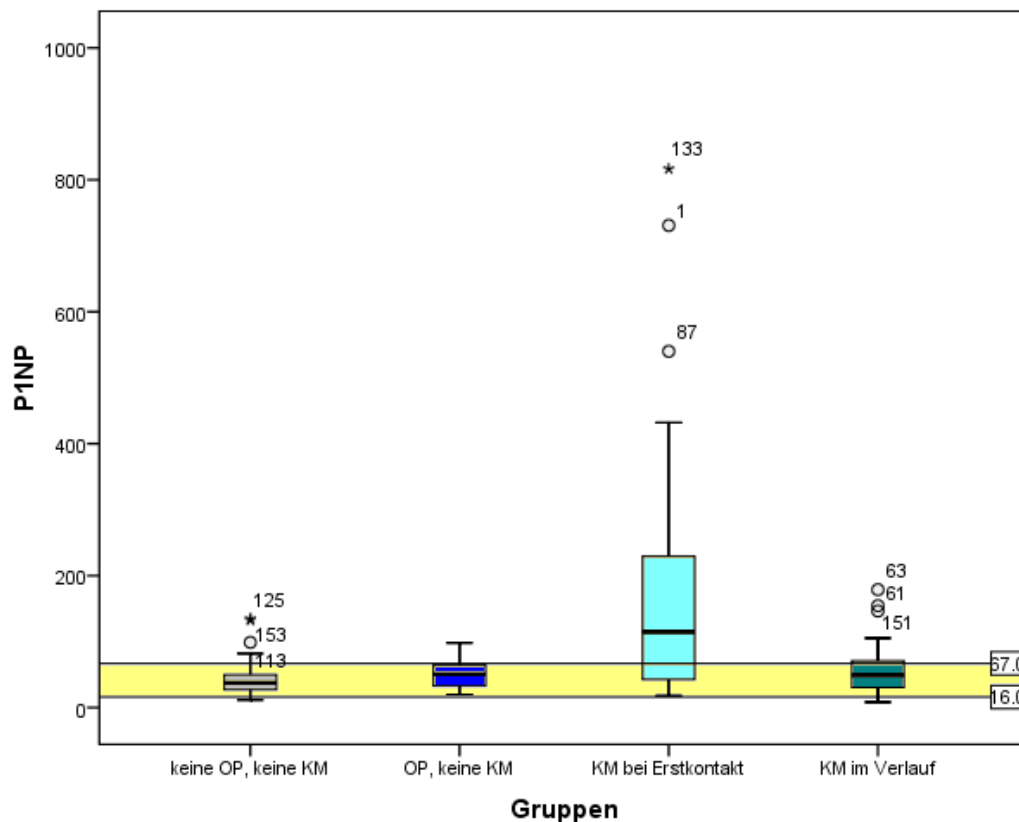


Abbildung 27 P1NP

OP...Osteoporose, KM...Knochenmetastasen; Normbereich: gelb

Es zeigten sich in der Gruppe mit Knochenmetastasen bei Erstkontakt stark erhöhte P1NP-Werte mit Maximalwerten über 600 ng/ml, während die meisten Werte in den übrigen Gruppen im Normbereich lagen. Dieses Ergebnis entspricht einer Signifikanz von $p < 0,001$ mit einer Sensitivität von $p = 0,7$ und einer Spezifität von $p = 0,8$ für die Detektion von Knochenmetastasen.

Die Gesamtwerte sind in der nachfolgenden Tabelle aufgelistet:

	Gruppen	N	MW	SD	Median	25.Q	75.Q	Min.	Max.
P1NP	Keine OP, keine KM	54	43	25	38	27	50	12	135
	OP, keine KM	29	53	21	50	33	64	20	98
	KM bei Erstkontakt	30	189	208	115	43	230	18	817
	KM im Verlauf der Erkrankung	54	56	34	49	31	71	8	179

Tabelle 10 Ergebnisse P1NP

3.2.4 Auswertung Dickkopf-1

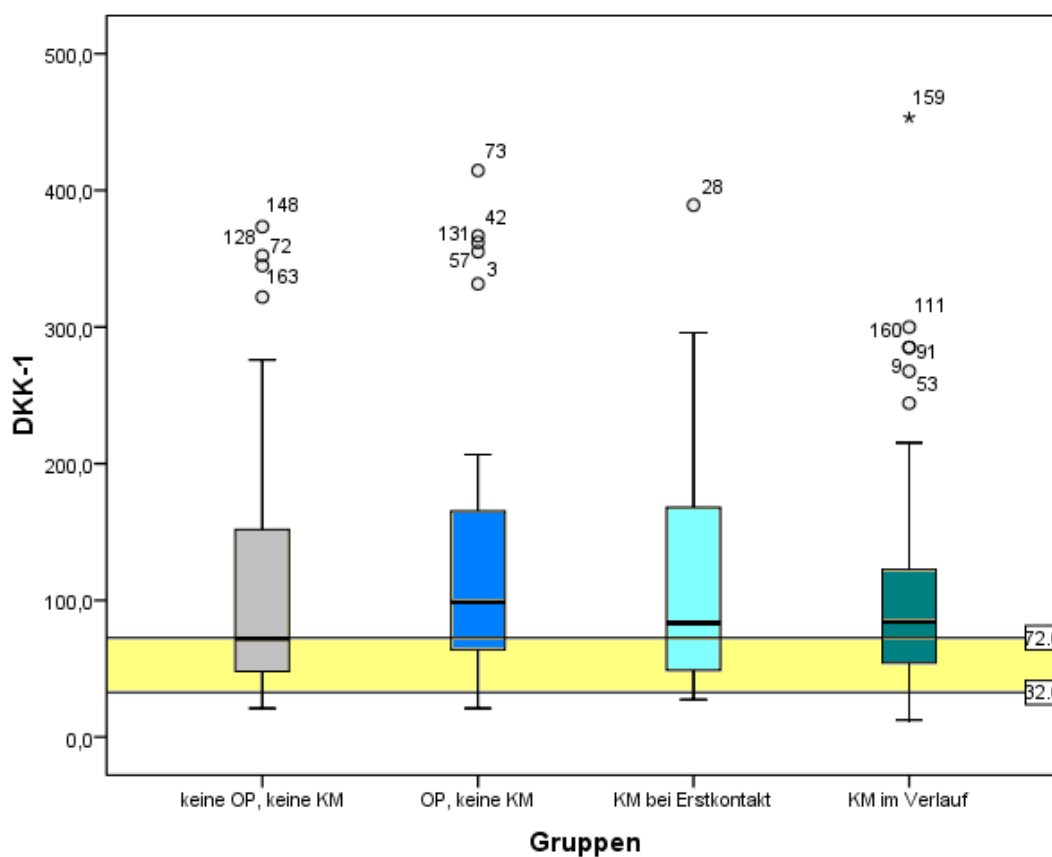


Abbildung 28 Dkk-1

Bei den Serum-Dickkopf-1-Werten zeigten sich in allen Gruppen deutlich erhöhte Werte. Interessant zu beobachten war, dass es in der Gruppe mit bereits erfolgter Metastasierung die wenigsten Ausreißer gab, und sich auch der Median in den Gruppen nicht wesentlich unterschied. Allein in der Gruppe der Patientinnen ohne Osteoporose und Metastasen lag der Median innerhalb des Normbereiches, während die Mittelwerte in allen Gruppen, besonders aber in der Gruppe mit Osteoporose stark erhöht waren. Keine Sensitivitäts- oder Spezifitätsdaten berechenbar.

	Gruppen	N	MW	SD	Median	25.Q	75.Q	Min.	Max.
DKK-1	Keine OP, keine KM	54	111,2	89,9	72,0	48,0	151,8	21,0	373,4
	OP, keine KM	29	142,9	113,7	98,7	64,0	165,3	21,0	414,5
	KM bei Erstkontakt	30	113,6	91,8	83,4	48,8	168,0	27,4	389,2
	KM im Verlauf der Erkrankung	54	108,3	85,6	84,2	54,2	122,6	12,4	453,2

Tabelle 11 Ergebnisse Dkk-1

3.2.5 Auswertung CTX

Untersucht man das gesamte Kollektiv gemeinsam, ergeben sich folgende Daten mit einer Signifikanz von $p < 0,004$.

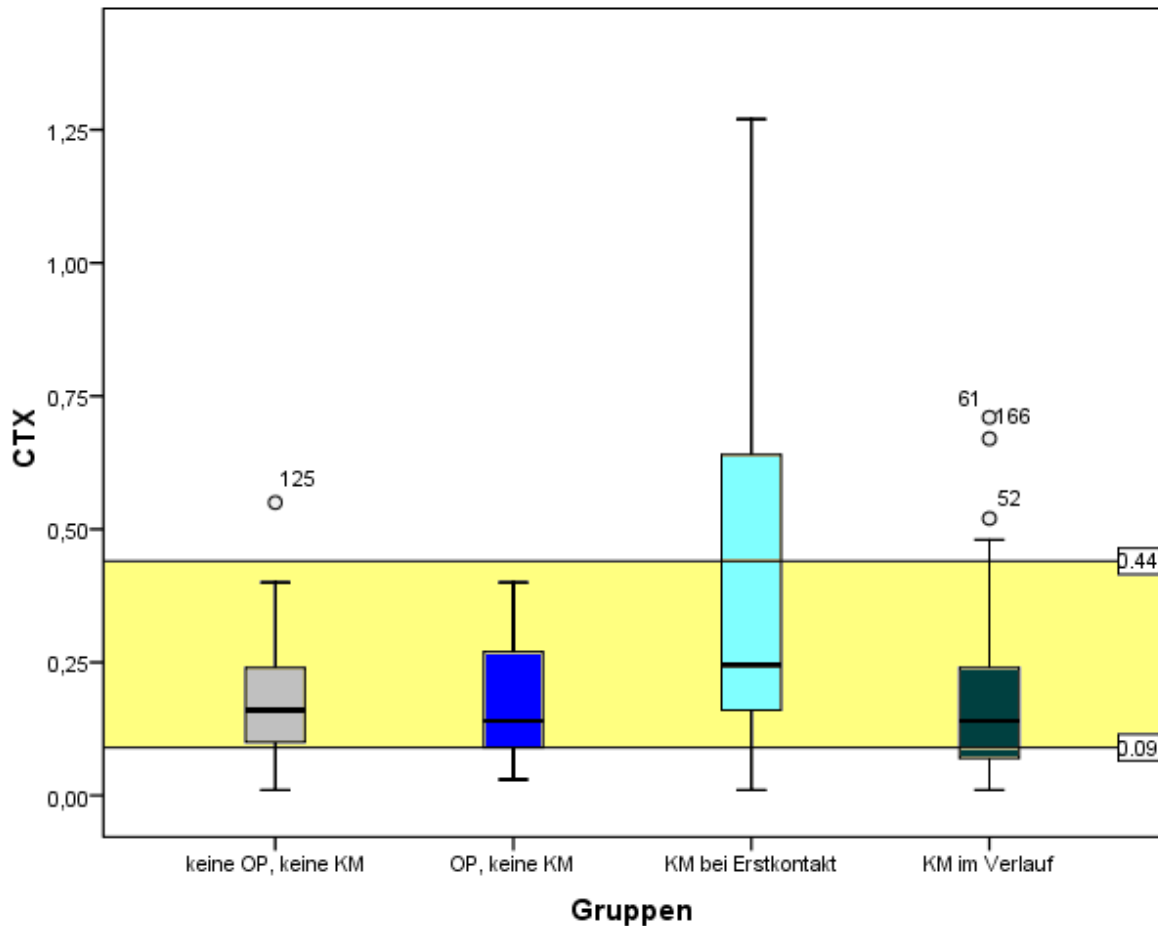


Abbildung 29 Serum-CTX

	Gruppen	N	MW	SD	Median	25.Q	75.Q	Min.	Max.
CTX	Keine OP, keine KM	54	0,17	0,11	0,16	0,10	0,24	0,01	0,55
	OP, keine KM	29	0,18	0,12	0,14	0,09	0,27	0,03	0,40
	KM bei Erstkontakt	30	0,39	0,32	0,24	0,16	0,64	0,01	1,27
	KM im Verlauf der Erkrankung	54	0,18	0,15	0,14	0,07	0,24	0,01	0,71

Tabelle 12 Ergebnisse Serum-CTX

Dies entspricht einer Sensitivität von $p = 0,4$ und einer Spezifität von $p = 0,963$ für Knochenmetastasen.

Splittet man die Gruppen in einen prämenopausalen und einen postmenopausal Teil, nimmt die Signifikanz aufgrund der geringen Fallzahlen ab:

CTX prämenopausaler Frauen: $p < 0,312$

Hier sieht man die stark erhöhten CTX- Werte in der Gruppe mit bereits erfolgter ossärer Metastasierung. Aufgrund der geringen Fallzahl lässt sich dieses Ergebnis nur beschränkt auswerten.

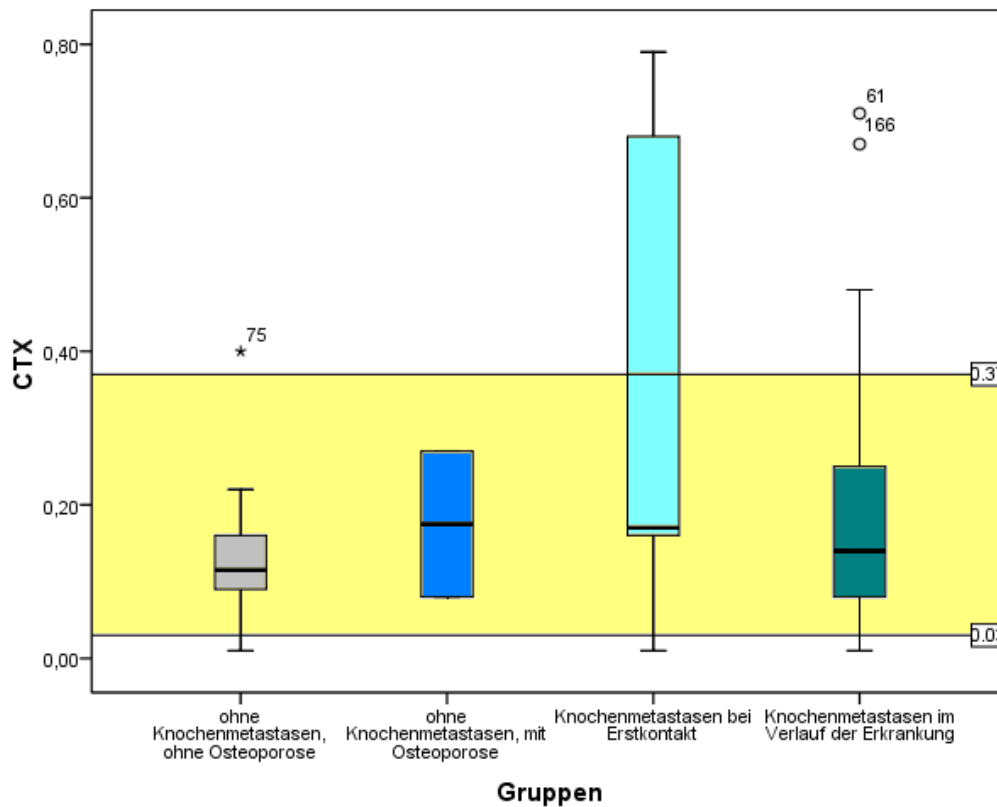


Abbildung 30 CTX prämenopausaler Frauen

Menopausenstatus	Gruppen	N	MW	SD	Median	25. Q	75. Q	Min.	Max.
Prämenopausal	Keine OP, keine KM	19	0,13	0,09	0,11	0,09	0,16	0,01	0,40
	OP, keine KM	2	0,18	0,13	0,18	0,08	0,27	0,08	0,27
	KM bei Erstkontakt	7	0,38	0,32	0,17	0,16	0,72	0,01	0,79
	KM im Verlauf der Erkrankung	21	0,22	0,20	0,14	0,08	0,25	0,01	0,71

Tabelle 13 CTX prämenopausal

CTX postmenopausaler Frauen: $p < 0,013$

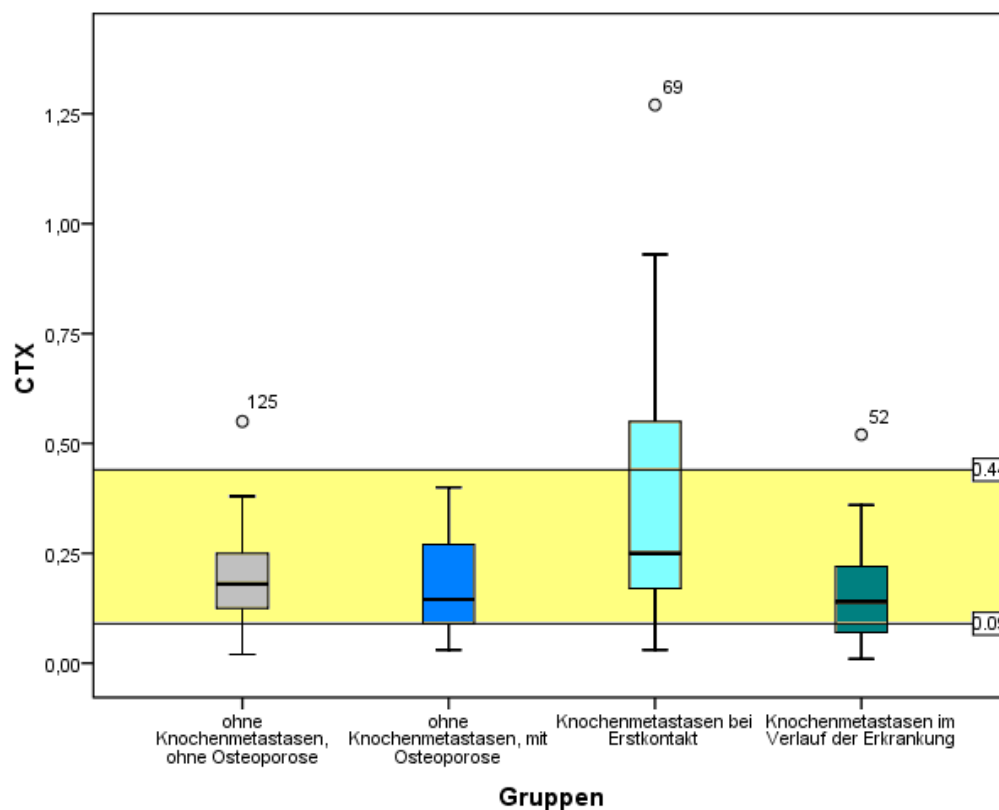


Abbildung 31 CTX postmenopausaler Frauen

Menopausenstatus	Gruppen	N	MW	SD	Median	25. Q	75. Q	Min.	Max.
Postmenopausal	ohne OP, ohne KM	35	0,20	0,11	0,18	0,12	0,25	0,02	0,55
	Mit OP, ohne KM	26	0,18	0,12	0,15	0,09	0,27	0,03	0,40
	KM bei Erstkontakt	19	0,40	0,33	0,25	0,16	0,57	0,03	1,27
	KM im Verlauf der Erkrankung	33	0,16	0,11	0,14	0,07	0,22	0,01	0,52

Tabelle 14 CTX postmenopausal

3.3 Odds- Ratio

Berechnet man die Odds-Ratio zwischen den signifikanten Ergebnissen CTX, bAP und P1NP, so ergeben sich folgende Werte:

Odds-Ratio für bAP - CTX

	ossäre Metastasen	keine ossären Metastasen
bAP-Werte über Norm	A= 22	B= 33
CTX-Werte über Norm	C= 12	D= 18

$$\text{Odds-Ratio} = \frac{A \times D}{B \times C} = 1$$

Odds-Ratio für P1NP - CTX

	ossäre Metastasen	keine ossären Metastasen
P1NP-Werte über Norm	A = 21	B = 27
CTX-Werte über Norm	C = 12	D = 18

$$\text{Odds-Ratio} = \frac{A \times D}{B \times C} = 1,16$$

Odds-Ratio von bAP - P1NP

	ossäre Metastasen	keine ossären Metastasen
bAP-Werte über Norm	A = 22	B = 33
P1NP-Werte über Norm	C = 21	D = 27

$$\text{Odds-Ratio} = \frac{A \times D}{B \times C} = 0,86$$

3.3.1 Interpretation der Odds-Ratio

Eine Odds-Ratio von 1 bedeutet, dass das Odds für eine Detektion von Knochenmetastasen bei beiden Methoden gleich groß ist.

Im vorangegangenen Beispiel kann man also die Ergebnisse von der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase mit den Serum-Crosslaps vergleichen.

Im Vergleich der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase mit P1NP liegt die Odds-Ratio unter 1, das heißt, P1NP ist bei der Detektion von Knochenmetastasen der bAP vorzuziehen.

Beim Vergleich von P1NP mit den Serum-Crosslaps hat ebenfalls P1NP die bessere Voraussagekraft, da hier eine Odds-Ratio über 1 vorliegt, wenn P1NP als Ausgangspunkt genommen wird.

3.4 Korrelationen der Knochenstoffwechsel-Marker zueinander

Bei Frauen mit Mammacarcinom zeigten sich signifikante Korrelationen. Vitamin D zeigte höhere Assoziationen zu Dickkopf-1 ($r=0,279$; $p<0,0001$) und eine negative Korrelation zur knochenspezifischen alkalischen Phosphatase ($r=-0,202$, $p<0,011$).

P1NP, Serum-CTX und die knochenspezifische alkalische Phosphatase korrelierten stark miteinander ($r=0,313$ bis $0,584$; $p<0,0001$).

3.5 Sensitivität und Spezifität

Um den diagnostischen Wert der unterschiedlichen Parameter zu bestimmen, wurde bei den signifikanten Testergebnissen die Sensitivität und Spezifität berechnet und in nachfolgender Übersichtstabelle dargestellt.

	Signifikanz	Sensitivität	Spezifität
bAP	$p<0,0001$	0,8	0,74
CTX	$p<0,004$	0,4	0,96
P1NP	$p<0,001$	0,7	0,8

Tabelle 15 Sensitivität und Spezifität der signifikanten Ergebnisse

4 Diskussion

Das Ziel dieser Studie lag darin, eine Reihe von biochemischen Markern zu untersuchen, die in verschiedene Stoffwechselprozesse der Entstehung von Knochenmetastasen involviert sind und aus den Ergebnissen eine sinnvolle Kombination von Stoffwechselmarkern zur Detektion von Knochenmetastasen zu finden.

So wurden mittels ELISA und EIA verschiedene teilweise neueingeführte Knochenstoffwechselparameter auf ihre klinische Relevanz für Knochenmetastasierung bei bestehendem Mammacarcinom untersucht. Zu diesen Parametern zählten Dickkopf-1, Prokollagen Typ 1 N-terminales Propeptid (P1NP), Serum-Crosslaps (CTX), weiters die Parameter Calcium, 25(OH)Vitamin D und die knochenspezifische alkalische Phosphatase im Serum.

In dieser Pilot- Studie konnten wir Unterschiede bei einzelnen Knochenstoffwechselparametern abhängig vom jeweiligen Stadium nachweisen.

Aufgrund der signifikanten Ergebnisse in der Gruppe mit bereits erfolgter ossärer Metastasierung für P1NP und CTX scheint eine Routinediagnostik dieser Parameter bei Mammacarcinom initial und im Verlauf sinnvoll, während die übrigen Parameter verschiedenen Einflüssen unterliegen und so nur bedingt einsetzbar sind.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden in einer ersten Studienphase die Baseline-Daten bei Erstkontakt der Patientinnen mit der medizinischen Onkologie ausgewertet, geplant ist eine weitere Auswertung der Serumproben im Verlauf der Erkrankung, um einen Anstieg der in ihren Ergebnissen signifikanten Knochenstoffwechselmarker zu einem bestimmten Zeitpunkt festzumachen und daraus Schlüsse für die frühest mögliche Detektion von Knochenmetastasen ziehen zu können.

Obwohl biochemische Knochenmarker Einblicke in den Knochenstoffwechsel und dessen Aktivität geben können, sind diese teilweise noch nicht ausreichend durch Studien über das klinische Outcome bei individuellen PatientInnen untersucht und etabliert [62]. Es gibt mehrere Forschungsarbeiten zu verschiedenen, neuen Knochenparametern bei Mammacarcinom, diese sind aber häufig auf in vitro Untersuchungen beschränkt [76]. Weiters stammen viele der vorliegenden Studien zum Knochenstoffwechsel bei Knochenmetastasen aus dem Bereich anderer

Primärtumore wie zum Beispiel dem Prostatacarcinom, dem multiplen Myelom oder Bronchuscarcinom, zudem werden meist nur einzelne der beschriebenen Parameter ausgewählt.

4.1 Serum-Crosslaps

Beim Prostatacarcinom mit Knochenmetastasierung fanden mehrere Studien erhöhte Serum-Crosslaps-Werte [111]. In einer Studie über Mammacarcinom- Patientinnen mit Knochenmetastasen fanden sich ebenfalls stark erhöhte Werte bei den β -Isoformen [112] bzw. Serum-Crosslaps [66], während eine weitere Studie [113] zwar Korrelationen von P1NP mit Knochenmetastasierung bei Mammacarcinom fand, Serum-Crosslaps und Osteocalcin sich jedoch in Bezug auf die Erkennung einer Knochenmetastasierung als zu wenig effektiv erwiesen.

In unserer Studie wiesen 40% aller Patientinnen mit erfolgter Knochenmetastasierung erhöhte Serum-Crosslaps-Werte auf, während bei nur 4% der Patientinnen ohne erfolgte Knochenmetastasierung erhöhte Serum-Crosslaps-Werte gemessen wurden.

Es zeigte sich ein hoch signifikantes Ergebnis mit einer Spezifität von über 96%, jedoch mit einer geringen Sensitivität von ca. 40%, weiters Korrelationen von Serum-Crosslaps mit P1NP und der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase.

Im Vergleich dazu waren die Ergebnisse für Serum-Crosslaps bei Voorzanger et al. [66] bei Mammacarcinom mit Knochenmetastasierung ebenfalls hoch signifikant ($p < 0,0007$), zeigten jedoch keinen Zusammenhang mit anderen biochemischen Markern und änderten sich auch im Verlauf der Erkrankung, bzw. bei neu auftretenden Knochenmetastasen nicht, während weitere untersuchte Werte wie Osteoprotegerin, bAP, P1NP und andere miteinander korrelierten.

4.2 P1NP

In der vorliegenden Studie zeigten sich eine signifikante Erhöhung und eine hohe Sensitivität und Spezifität von P1NP bezüglich der Knochenmetastasierung. Hier waren die Mittelwerte der bereits metastasierten Gruppe gegenüber dem

Normbereich fast dreifach erhöht, während die Ergebnisse in den übrigen Gruppen im Referenzbereich waren.

Thurairaja fand 2006 in einer Arbeit über Prostatacarcinom mit Knochenmetastasen erhöhte Werte von PSA (Prostata-spezifisches Antigen) vergesellschaftet mit erhöhten P1NP-Werten. Untersucht wurden Patienten mit nicht eindeutigem Knochenszintigramm, die aber laut konventionellem Röntgen als metastasenfrei beurteilt wurden. Diese zeigten doppelt so hohe P1NP-Werte wie die Probanden der Gruppe mit eindeutig negativem Knochen-Scan [114, 115].

Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch Oremek und Pollmann et al. [113, 116] in ihren Studien, wo sie ebenfalls die Signifikanz von P1NP als Detektionsparameter von Knochenmetastasen bei Mammacarcinom nachweisen konnten. Es wurden allerdings auch Serum-Crosslaps als Detektionsparameter als nicht effizient beurteilt, ebenso in einer Studie von Ebert et al. [117], die allerdings die Validität der Parameter bei Lungencarcinom und Knochenmetastasierung untersuchte.

4.3 Alkalische Phosphatase

Die Werte der alkalischen Phosphatase zeigten im Rahmen dieser Studie hoch signifikante Ergebnisse in den einzelnen Gruppen. So waren die meisten AP-Werte in der Gruppe mit bereits erfolgter ossärer Metastasierung oberhalb des Referenzbereiches, während die Werte in den anderen Gruppen im Normbereich lagen.

Ähnliche Ergebnisse fanden auch Voorzanger-Rousselot et al. [118], wo die Werte der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase bei Frauen mit Mammacarcinom und Knochenmetastasen gegenüber gesunden Kontrollen ($13,7 \pm 6,2$ vs. $9,3 \pm 2,1$ ng/ml, $P=0.03$) signifikant erhöht waren.

4.4 Vitamin D

In mehreren Studien wird der protektive Effekt von Vitamin D bei Mammacarcinom diskutiert [38-43, 45]. Vitamin D hemmt die Invasivität, Angiogenese, könnte apoptotisch wirken und zeigt damit Tumor-protektive Effekte [44]. Die Vitamin D-Werte in dieser Studie waren in allen Gruppen weit unter der Norm. Der Median der Vitamin D-Werte der Gruppe mit bereits erfolgter ossärer Metastasierung war mit 17,0 ng/ml am stärksten erniedrigt.

Das in allen Gruppen stark erniedrigte Vitamin D ist vereinbar mit den sehr niedrigen Serumspiegeln in der Gesamtbevölkerung. Da ein erniedrigtes Vitamin D per se einen erhöhten Knochenumbau bedingt, kann darin eventuell ein zusätzlicher Angriffspunkt für eine Metastasierung im Sinne der seed and soil Theorie vermutet werden. Ob die Vitamin D-Werte in der bereits metastasierten Gruppe primär oder sekundär (etwa durch verminderte Sonnenexposition und erniedrigte Zufuhr) erniedrigt waren, bleibt nachzuweisen [47].

4.5 Calcium

Hohe Serumcalciumspiegel wirken sich in experimentellen Studien positiv auf die Zelldifferenzierung aus, vermindern die Zellproliferation und induzieren eine Apoptose [42, 43, 119, 120]. In der vorliegenden Studie zeigten sich in allen Gruppen großteils Serumcalcium-Werte im Normbereich.

Die Trennschärfe bei Calcium war äußerst gering und interferiert mit metabolischen Knochenerkrankungen wie Osteoporose.

4.6 Dickkopf-1

Durch mehrere Studien bei multiplem Myelom und Prostatacarcinom wurde der Einfluss des Wnt-Signalpfades bei Knochenmetastasen nachgewiesen [121]. Dickkopf-1 wirkt als Inhibitor des Wnt-Signalpfades.

Hohe Dickkopf-1-Spiegel korrelierten mit dem Vorliegen von Knochenläsionen bei multiplem Myelom [78].

Bu et al. [76] fanden bei 50% der Mammacarcinome erhöhte Dickkopf-1 Werte und eine Überexpression von Dickkopf-1 bei Östrogen- und Progesteronrezeptor-negativen Mammacarcinomen.

In der vorliegenden Studie fanden sich erhöhte Serum-Dickkopf-1-Werte in allen vier Gruppen, vor allem aber in der Gruppe ohne Metastasen mit Osteoporose. Möglicherweise ist dieses Ergebnis auf den Vitamin D-Mangel zurückzuführen.

So bleibt eine eventuelle Spezifität dieses Parameters in Bezug auf Knochenmetastasierung bei Mammacarcinom zu hinterfragen beziehungsweise weiter nachzuweisen.

4.7 Limitationen

Eine Limitation dieser Studie stellt das retrospektive Studiendesign dar. Dadurch waren einige Faktoren im Nachhinein nicht mehr erhebbar (z.B. Menopausenstatus), da einige der Patientinnen bereits verstorben waren, bzw. nicht mehr zur Nachsorge an die medizinische Onkologie gekommen waren.

Weiters wäre es sinnvoll, die Serum-Werte des Studienkollektives, das ausschließlich aus Carcinompatientinnen besteht, mit Werten von gesunden Frauen zu vergleichen, um eventuelle Fehler bzw. Schwankungen zu erkennen (z.B. Vitamin D [47]).

Aufgrund der zeitlichen Einschränkung im Rahmen dieser Arbeit war es nicht möglich, die Parameter im weiteren Verlauf zu untersuchen, um einen eventuellen Zeitpunkt der Knochenmetastasierung bei der Gruppe mit Metastasierung im Verlauf anhand der Laborwerte zu detektieren, auf ihre Sensitivität und Spezifität zu prüfen und anhand der elektronischen Daten mit den mittels Bildgebung gestellten Diagnosen zu vergleichen.

Eine weitere Limitation stellt die geringe Größe des vorliegenden Kollektives besonders bei den einzelnen Subgruppen dar, weiters die Beschränkung auf das weibliche Geschlecht, wenn auch das Mammacarcinom bei Männern mit einer Inzidenz von 0.6% selten auftritt. Im Jahr 2006 starben in Österreich 24 Männer an Mammacarcinom, verglichen mit 1563 Frauen [122].

5 Schlussfolgerung

Knochenmetastasen im Rahmen verschiedener Primärtumore haben auf das weitere Überleben und die Lebensqualität der PatientInnen einen großen Einfluss.

Wichtig ist es neben der Bildgebung, die durch verschiedene Voraussetzungen limitiert ist, andere Möglichkeiten einer frühzeitigen Detektion von Knochenmetastasen zu finden. Es gibt bereits einige Ansätze zu Knochenstoffwechselfparametern, die im Serum nachgewiesen werden können.

Die Ergebnisse dieser Studie über Knochenmetastasen bei Mammacarcinom zeigen die Gültigkeit dieses Ansatzes bei den Knochenstoffwechselfparametern bAP, Crosslaps und P1NP, eine Routinediagnostik dieser Parameter bei Mammacarcinom bei Diagnosestellung und im Verlauf ist sinnvoll.

In weiteren Studien werden diese Parameter zum Zeitpunkt des Auftretens von Knochenmetastasen bei Patientinnen mit Mammacarcinom im Verlauf ihrer Erkrankung untersucht, um die Potenz dieser Analysen weiter zu bestätigen.

Literaturverzeichnis

- [1] Jemal A, Siegel R, Ward E, Taylor M, Xu J, Thun MJ.
Cancer Statistics, 2007.
CA Cancer J Clin 2007; 57:43-66.
- [2] Boyle P, Levin B, 2008. World Health Organization.
World Cancer Report 2008.
IARC Press, Lyon.
- [3] Anderson WF, Chatterjee N, Ershler WB, Brawley OW.
Estrogen receptor breast cancer phenotypes in the surveillance, epidemiology, and end results database.
Breast Cancer Research and Treatment 2002; 76 27-36.
- [4] Paget S.
The distribution of secondary growths in cancer of the breast.
Lancet 1889; 1:571-3.
- [5] Coleman RE, Rubens RD.
The clinical course of bone metastases from breast cancer.
Br J Cancer 1987;55:61-6.
- [6] Walther HE.
Krebsmetastasen. Switzerland: Bens Schwabe Verlag, Basel, 1948.
- [7] Boyce BF, Yoneda T, Guise TA.
Factors regulating the growth of metastatic cancer in bone.
Endocr. Relat Cancer 1999; 6:333-47.
- [8] Mundy GR.
Metastases to bone: Causes, consequences and therapeutic opportunities.
Nat. Rev Cancer 2002; 2:584-93.
- [9] Roodman GD.
Mechanisms of bone metastasis.
N Engl J Med 2004; 350:1655-64.
- [10] Coleman RE, Seaman JJ.
The role of zoledronic acid in cancer: Clinical studies in the treatment and prevention of bone metastases.
Semin Oncol 2001; 28:11-6.
- [11] Body JJ.
Metastatic bone disease: clinical and therapeutic aspects.
Bone 1992.13(Suppl.):857-862.

-
- [12] Böcker W.
Mamma.
In: Böcker, Denk, Heitz. Pathologie. 3 Auflage. München Jena: Elsevier Urban & Fischer Verlag. S 987- 996.
- [13] Decker T, Hungermann D, Böcker W.
Prognostische und prädikitive Faktoren invasiver Mammakarzinome.
Pathologie 2009 ; 30:49–55.
- [14] Clavel- Chapelon F, Gerber M.
Reproductive factors and breast cancer risk. Do they differ according to age at diagnosis?
Breast Cancer Res Treat. 2002; 72: 107-115.
- [15] Veronesi U, Boyle P, Goldhirsch A, Viale G.
Breast cancer.
Lancet 2005; 365: 1727-41.
- [16] Boice JD, Stone BJ.
Interaction between radiation and other breast cancer risk factors.
Late biological effects of ionising radiation. Vol 1. Vienna: IAEA, 1978: 231-49.
- [17] Modan B, Alfandary E, Chetrit A, Katz L.
Increased risk of breast cancer after low-dose irradiation.
Lancet 1989; 333:629-31.
- [18] Goldhirsch A, Ingels JN, Gelber RD, Coates AS, Thürlimann B, Senn HJ and Panel members.
Thresholds for therapies: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2009.
Annals of Oncology 2009; 20:1319-1329.
- [19] Lake DE, Hudis C.
Aromatase inhibitors in breast cancer: an update.
Cancer Control 2002; 9:490-498.
- [20] Dowsett M, Howell A.
Breast cancer: aromatase inhibitors take on tamoxifen.
Nat Med 2002; 8:1341-4.
- [21] Clemons M, Cole DE, Gainford MC.
Can bone markers guide more effective treatment of bone metastases from breast cancer?
Breast Cancer Res Treat. 2006; 97:81-90.
- [22] Lipton A, Cook RJ, Major P, Smith MR, Coleman RE.
Zoledronic acid and survival in breast cancer patients with bone metastases and elevated markers of osteoclast activity.
Oncologist. 2007; 12:1035-43.

-
- [23] Brown JE, McCloskey EV, Dewar JA, Body JJ, Cameron DA, Harnett AN, Ruutu M, Purohit OP, Tähtelä R, Coleman RE.
The use of bone markers in a 6-week study to assess the efficiency of oral clodronate in patients with metastatic bone disease.
Calcif Tissue Int. 2007; 81:341-51.
- [24] Body JJ, Lichinitser M, Tjulandin S, Garnero P, Bergström B.
Oral ibandronate is as active as intravenous zoledronic acid for reducing bone turnover markers in women with breast cancer and bone metastases.
Ann. Oncol.2007;18:1165-71.
- [25] Gnant M, Mlineritsch B, Schippinger W, Luschin-Ebengreuth G, Poestlberger S, Menzel C, Jakesz R, Kubista E, Marth C, Greil R, On behalf of the Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group (ABCSG).
Adjuvant ovarian suppression combined with tamoxifen or anastrozole, alone or in combination with zoledronic acid, in premenopausal women with hormone-responsive, stage I and II breast cancer: First efficacy results from ABCSG-12.
Journal of Clinical Oncology ASCO meeting 2008, Abstract #LBA4(1006s).
- [26] Mincey B, Dentchev T, Sloan J, Hines S, Perez EA, Johnson DB, Schaefer PL, Liu H, Kahanic SP, Loprinzi CL.
N03CC—a randomized, controlled, open-label trial of upfront vs. delayed zoledronic acid for prevention of bone loss in postmenopausal(PM) women with primary breast cancer(PBC) starting letrozole after tamoxifen.
Journal of Clinical Oncology annual ASCO meeting 2008, Abstract #564(1006s).
- [27] Lester J, Dodwell D, Purohit O, Gutcher S, Ellis SP, Thorpe R, Horsman JM, Brown JE, Hannon RA, Coleman RE.
Use of monthly oral ibandronate to prevent anastrozole-induced bone loss during adjuvant treatment for breast cancer: Two-year results from the ARIBON study.
Journal of Clinical Oncology annual ASCO meeting 2008, Abstract #554(19s).
- [28] Zheng Y, Zhou H, Brennan K, Blair JM, Moodzelewski JR, Seibel MJ, Dunstan CR.
Inhibition of bone resorption, rather than direct cytotoxicity, mediates the anti-tumour actions of ibandronate and osteoprotegerin in a murine model of breast cancer bone metastasis.
Bone.2007; 40:471-8.
- [29] Schmid R, Thews G, Lang F. *Kalzium- und Phosphathaushalt.*
In: Physiologie des Menschen. 28. Auflage. Berlin/Heidelberg/New York: Springer Verlag. S 787.
- [30] Hauschka PV, Mavrakos AD, Iafrafi MD, Doleman SE, Klagsburn M.
Growth factors in bone matrix. Isolation of multiple types by affinity chromatography on heparin- Sepharose.
J Biol Chem 1989; 261:12665-74.
-

-
- [31] Pfeilschifter J, Mundy GR.
Modulation of transforming growth factor beta activity in bone cultures by osteotropic hormones.
Proc Natl Acad Sci USA 1987; 84:2024-8.
- [32] Boyde A, Maconnachie E, Reid SA, Delling G, Mundy GR.
Scanning electron microscopy in bone pathology. Review of methods: Potential and applications.
Scanning Electron Microsc 1986; 4:1537-54.
- [33] Casimiro S, Guise TA, Chirgwin J.
The critical role of the bone microenvironment in cancer metastases.
Mol. Cell. Endocrinol 2009; 310:71-81.
- [34] Eilon G, Mundy GR.
Direct resorption of bone by human breast cancer cells in vitro.
Nature 1978; 276:726-8.
- [35] Owen M, Friedenstein AJ.
Stromal stem cells, marrow- derived osteogenic precursors. Cellular and molecular biology of vertebrate hard tissues.
SIBA found Symp 1988; 136:41-60.
- [36] Metcalf D.
Hematopoietic regulators: Redundancy or subtlety.
Blood 1993; 82:3515-23.
- [37] Zheng Y, Zhou H, Modzelewski JR, Kalak R, Blair JM, Seibel MJ, Dunstan CR.
Accelerated bone resorption, due to dietary calcium deficiency, promotes breast cancer tumor growth in bone.
Cancer Res. 2007; 67: 9542-8.
- [38] Giovannucci E.
The epidemiology of vitamin D and cancer incidence and mortality: a review (United States).
Cancer Causes Control 2005; 16: 83-95.
- [39] Tangpricha V, Pearce EN, Chen TC, Holick MF.
Vitamin D insufficiency among free-living healthy young adults.
Am J Med 2002; 112:659-662.
- [40] Lips P, Duong T, Oleksik A, Black D, Cummings S, Cox D, Nickelsen T.
A global study of vitamin D status and parathyroid function in postmenopausal women with osteoporosis: Baseline data from the multiple outcomes of raloxifene evaluation clinical trial.
J Clin Endocrinol Metab 2002; 86:1212-1221.

-
- [41] Nesby-O'Dell S, Scanlon KS, Cogswell ME, Gillespie C, Hollis BW, Looker AC, Allen C, Dougherty C, Gunter EW, Bowman BA.
Hypovitaminosis D prevalence and determinants among African American and white women of reproductive age: Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994.
Am J Clin Nutr 2002; 76:187-192.
- [42] VanHouten JN.
Calcium sensing by the mammary gland.
J Mammary Gland Biol Neoplasia 2005; 102:129-139.
- [43] Moorman PG, Terry PD.
Consumption of dairy products and the risk of breast cancer: a review of the literature.
Am J Clin Nutr.2004; 801:5-14.
- [44] Almquist M, Manjer J, Bondeson L, Bondeson AG.
Serum calcium and breast cancer risk: results from a prospective cohort study of 7,847 women.
Cancer Causes Control 2007; 18:595-602.
- [45] Chlebowski RT, Johnson KC, Kooperberg C, Pettinger M, Wactawski-Wende J, Rohan T, Rossouw J, Lane D, O'Sullivan MJ, Yasmeen S, Hiatt RA, Shikany JM, Vitolins M, Khandekar J, Hubbell FA; Women's Health Initiative Investigators.
Calcium Plus Vitamin D Supplementation and the Risk of Breast Cancer.
J Natl Cancer Inst. 2008; 100:1562-4; 1581-1591.
- [46] Speers C, Brown P.
Breast cancer prevention using calcium and vitamin D: a bright future?
J Natl Cancer Inst 2008; 100:1562-1564.
- [47] Kudlacek S, Schneider B, Peterlik M, Leb G, Klaushofer K, Weber K, Woloszczuk W, Willvonseder R; Austrian Study Group on Normative Values of Bone Metabolism.
Austrian Study Group on Normative Values of Bone Metabolism. Assessment of vitamin D and calcium status in healthy adult Austrians.
Eur. J Clin Invest. 2003; 33: 323-31.
- [48] Crew K, Shane E, Cremers S, McMahon DJ, Irani D, Hershman DL.
High Prevalence of Vitamin D Deficiency Despite Supplementation in Premenopausal Women With Breast Cancer Undergoing Adjuvant Chemotherapy.
J Clin Oncol 2009; 27:2151-2156.
- [49] Hillner BE, Ingle JN, Chlebowski RT, Gralow J, Yee GC, Janjan NA, Cauley JA, Blumenstein BA, Albain KS, Lipton A, Brown S; American Society of Clinical Oncology.
American Society of Clinical Oncology 2003 update on the role of bisphosphonates and bone health issues in women with breast cancer.
J Clin Oncol 2003; 21:4042-4057.
-

-
- [50] Abbas S, Linseisen J, Slanger T, Kropp S, Mutschelknauss EJ, Flesch-Janys D, Chang-Claude J.
Serum 25-hydroxyvitamin D and risk of postmenopausal breast cancer- results of a large case- control study.
Carcinogenesis 2008; 29:93-99.
- [51] Speers C , Brown P .
Breast cancer prevention using calcium and vitamin D: a bright future?
J Natl Cancer Inst . 2008 ; 100:1562-1564.
- [52] Robertson WG, Marshall RW.
Ionized calcium in body fluids.
CRC Crit Rev Clin Lab Sci 1981;15:85.
- [53] Nordin BE.
Calcium and Osteoporosis.
Nutrition 1997; Vol. 13, Nos. 718.
- [54] Ducy P, Zhang R, Geoffroy V, Ridall AL, Karsenty G.
Osf2/Cbfa1: A transcriptional activator of osteoblast differentiation.
Cell 1997; 89:747-754.
- [55] Komori T, Yagi H, Nomura S, Yamaguchi A, Sasaki K, Deguchi K, Shimizu Y, Bronson RT, Gao YH, Inada M, Sato M, Okamoto R, Kitamura Y, Yoshiki S, Kishimoto T.
Targeted disruption of Cbfa1 results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts.
Cell 1997; 89:755-764.
- [56] Jiménez MJ, Balbín M, López JM, Alvarez J, Komori T, López-Otín C.
Collagenase 3 is a target of Cbfa1, a transcription factor of the runt gene family involved in bone formation.
Mol Cell Biol 1999; 19:4431-4442.
- [57] Krane S.
Identifying genes that regulate bone remodeling as potential therapeutic targets.
JEM. Vol. 201, No. 6, March 21, 2005 841-843.

-
- [58] Gong Y, Slee RB, Fukai N, Rawadi G, Roman-Roman S, Reginato AM, Wang H, Cundy T, Glorieux FH, Lev D, Zacharin M, Oexle K, Marcelino J, Suwairi W, Heeger S, Sabatakos G, Apte S, Adkins WN, Allgrove J, Arslan-Kirchner M, Batch JA, Beighton P, Black GC, Boles RG, Boon LM, Borrone C, Brunner HG, Carle GF, Dallapiccola B, De Paepe A, Floege B, Halfhide ML, Hall B, Hennekam RC, Hirose T, Jans A, Jüppner H, Kim CA, Keppler-Noreuil K, Kohlschuetter A, LaCombe D, Lambert M, Lemyre E, Letteboer T, Peltonen L, Ramesar RS, Romanengo M, Somer H, Steichen-Gersdorf E, Steinmann B, Sullivan B, Superti-Furga A, Swoboda W, van den Boogaard MJ, Van Hul W, Vikkula M, Votruba M, Zabel B, Garcia T, Baron R, Olsen BR, Warman ML; Osteoporosis-Pseudoglioma Syndrome Collaborative Group.
LDL receptor-related protein 5 (LRP5) affects bone accrual and eye development.
Cell 2001; 107:513-523.
- [59] Kato, M., M.S. Patel, R. Levasseur, I. Lobov, B.H. Chang, D.A. Glass II, C. Hartmann, L. Li, T.H. Hwang, C.F. Brayton, R.A. Lang, G. Karsenty, and L. Chan.
Cbfa1-independent decrease in osteoblast proliferation, osteopenia, and persistent embryonic eye vascularization in mice deficient in Lrp5, a Wnt coreceptor.
J. Cell Biol 2002; 157:303-314.
- [60] Fohr B, Dunstan CR, Seibel MJ.
Markers of Bone Remodeling in Metastatic Bone Disease.
The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 2003; 88:5059-5075.
- [61] Seibel MJ.
The use of molecular markers of bone turnover in the management of patients with metastatic bone disease.
Clinical Endocrinology 2008; 68, 839-849.
- [62] Coleman R, Brown J, Terpos E, Lipton A, Smith MR, Cook R, Major P.
Bone markers and their prognostic value in metastatic bone disease: Clinical evidence and future directions.
Cancer Treatment Reviews 2008; 34, 629-639.
- [63] van der Mark K.
Structure and biosynthesis of collagens.
In: Seibel MJ, Robins SP, Bilezikian JP, eds. Dynamics of bone and cartilage metabolism. San Diego: Academic Press 1999; 3-29.
- [64] Jukkola A, Tahtela R, Tholix E, Vuorinen K, Blanco G, Risteli L, Risteli J.
Aggressive breast cancer leads to discrepant serum levels of the type I procollagen propeptides PINP and PICP.
Cancer Research 1997; 57:5517-5520.
- [65] Coleman RE.
The clinical use of bone resorption markers in patients with malignant bone disease.
Cancer 2002;94: 2521-33.
-

-
- [66] Voorzanger-Rousselot N, Juillet F, Mareau E, Zimmermann J, Kalebic T, Garnero P.
Association of 12 serum biochemical markers of angiogenesis, tumour invasion and bone turnover with bone metastases from breast cancer: a crosssectional and longitudinal evaluation.
British Journal of Cancer 2006; 95: 506-514.
- [67] Halleen JM, Ylipahkala H, Alatalo SL, Janckila AJ, Heikkinen JE, Suominen H, Cheng S, Väänänen HK.
Serum tartrate resistant acid phosphatase 5b, but not 5a, correlates with other markers of bone turnover and bone mineral density.
Calcif Tissue Int 2002;71:20-5.
- [68] Terpos E, de la Fuente J, Szydlo R, Hatjiharissi E, Viniou N, Meletis J, Yataganas X, Goldman JM, Rahemtulla A.
Tartrate-resistant acid phosphatase isoform 5b: a novel serum marker for monitoring bone disease in multiple myeloma.
Int J Cancer 2003;106:455-7.
- [69] Takahashi N, Yamana H, Yoshiki S, Roodman GD, Mundy GR, Jones SJ, Boyde A, Suda T.
Osteoclast- like cellformation and its regulation by osteotropic hormones in mouse bone marrow cultures.
Endocrinology 1988; 122: 1373-1382.
- [70] Rodan G.
Bone homeostasis.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1998; 95:13361-13362.
- [71] Jimi E, Akiyama S, Tsurukai T, Okahashi N, Kobayashi K, Udagawa N, Nishihara T, Takahashi N, Suda T.
Osteoclast differentiation factor acts as a multifunctional regulator in murine osteoclast differentiation and function.
J. Immunol 1999; 163:434-442.
- [72] Lacey DL, Tan HL, Lu J, Kaufman S, Van G, Qiu W, Rattan A, Scully S, Fletcher F, Juan T, Kelley M, Burgess TL, Boyle WJ, Poverino AJ.
Osteoprotegerin ligand modulates murine osteoclast survival in vitro and in vivo.
Am J Pathol 2000; 157: 435-448.
- [73] Hofbauer LC, Schoppet M.
Clinical implications of the osteoprotegerin/RANKL/RANK system for bone and vascular diseases.
JAMA 2004; 292: 490-5.
- [74] Jones DH, Nakashima T, Sanchez OH, Kozieradzki I, Komarova SV, Sarosi I, Morony S, Rubin E, Sarao R, Hojilla CV, Komnenovic V, Kong YY, Schreiber M, Dixon SJ, Sims SM, Khokha R, Wada T, Penninger JM.
Regulation of cancer cell migration and bone metastasis by RANKL.
Nature 2006; 440:692-6.
-

-
- [75] Matsuda Y, Schlange T, Oakeley EJ, Boulay A, Hynes NE.
WNT signaling enhances breast cancer cell motility and blockade pathway by sFRP1 suppresses MDA-MB-231 xenograft growth.
Breast Cancer Research 2009; 11:R32 doi:10.1186/bcr2317.
- [76] Bu G, Lu W, Liu CC, Selander K, Yoneda T, Hall C, Keller ET, Li Y.
Breast cancer-derived Dickkopf1 inhibits osteoblast differentiation and osteoprotegerin expression: Implication for breast cancer osteolytic bone metastases.
Int. J. Cancer 2008; 123: 1034-1042.
- [77] Zhao J, Kyung-Ah K, Arie A.
Tipping the balance: modulating the Wnt pathway for tissue repair.
Trends Biotechnol 2009; 27:131-6.
- [78] Tian E, Zhan F, Walker R, Rasmussen E, Ma Y, Barlogie B, Shaughnessy JD Jr.
The role of the Wnt-signaling antagonist DKK1 in the development of osteolytic lesions in multiple myeloma.
N Engl J Med 2003; 349: 2483-2494.
- [79] Schwaninger R, Rentsch CA, Wetterwald A, van der Horst G, van Bezooijen RL, van der Pluijm g, Lowik CW, Ackermann K, Pyerin W, Hamdy FC, Thalmann GN, Cecchini MG.
Lack of noggin expression by cancer cells is a determinant of the osteoblast response in bone metastases.
Am J Pathol 2007; 170:160-175.
- [80] Voorzanger-Rousselot N, Journe F, Doriath V, Body JJ, Garnero P.
Assessment of circulating Dickkopf-1 with a new two-site immunoassay in healthy subjects and women with breast cancer and bone metastases.
Calcif. Tissue Int. 2009; 84, 348-354.
- [81] World Health Organization.
Prevention and management of osteoporosis.
World Health Organ Tech Rep Ser. 2003;921:1-164.
- [82] World Health Organization.
Assessment of osteoporosis at the primary health care level.
2007 Summary Report of a WHO Scientific Group. WHO, Geneva.
- [83] Fitzpatrick LA.
Secondary causes of osteoporosis.
Mayo Clin Proc 2002; 77:453-468.
- [84] Kanis JA, Johansson H, Oden A, Johnell O, de Laet C, Melton III LJ, Tenenhouse A, Reeve J, Silman AJ, Pols HA, Eisman JA, McCloskey EV, Mellstrom D.
A meta-analysis of prior cortico-steroid use and fracture risk.
J Bone Miner Res 2004; 19:893-899.
-

-
- [85] Van Staa TP, Leufkens HG, Abenhaim L, Zhang B, Cooper C.
Use of oral corticosteroids and risk of fractures.
J Bone Miner Res 2000; 15:993-1000.
- [86] Jarvinen TL, Kannus P, Sievanen H.
Estrogen and bone- a reproductive and locomotive perspective.
J Bone Miner Res 2003; 1:1921-1931.
- [87] Compston J.
Clinical and therapeutic aspects of osteoporosis.
Eur J Radiol 2009; 71:388-91.
- [88] Delmas PD.
Treatment of postmenopausal osteoporosis.
Lancet 2002; 359:2018-2026.
- [89] Boonen S, Body JJ, Boutsen Y, Devogelaer JP, Goemaere S, Kaufman JM, Rozenberg S, Reginster JY.
Evidence-based guidelines for the treatment of postmenopausal osteoporosis: a consensus document of the Belgian Bone Club.
Osteoporos Int 2005; 16:239-254.
- [90] Neer RM, Arnaud CD, Zanchetta JR, Prince R, Gaich GA, Reginster JY, Hodsman AB, Eriksen EF, Ish-Shalom S, Genant HK, Wang O, Mitlak BH, Mellstrom D, Oefjord ES, Marcinowska-Suchowierska E, Salmi J, Mulder H, Halse J, Sawicki AZ.
Effect of parathyroid hormone (1–34) on fractures and bone mineral density in postmenopausal women with osteoporosis.
N Engl J Med 2001; 344:1434-41.
- [91] Gold DT, Pantos BS, Masica DN, Misurski DA, Marcus R.
Initial experience with teriparatide in the United States.
Curr Med Res Opin 2006; 22:703-8.
- [92] Marie PJ.
Strontium ranelate: a physiological approach for optimizing bone formation and resorption.
Bone 2006; 38: Suppl 1:S10-S14.
- [93] Canalis E, Hott M, Deloffre P, Tsouderos Y, Marie PJ.
The divalent strontium salt S12911 enhances bone cell replication and bone formation in vitro.
Bone 1996; 18:517-23.
- [94] Meunier PJ, Roux C, Seeman E, Ortolani S, Badurski JE, Spector TD, Cannata J, Balogh A, Lemmel EM, Pors-Nielsen S, Rizzoli R, Genant HK, Reginster JY.
The effects of strontium ranelate on the risk of vertebral fracture in women with postmenopausal osteoporosis.
N Engl J Med 2004; 350:459-68.

-
- [95] Canalis E, Giustina A, Bilezikian J.
Mechanisms of Anabolic Therapies for Osteoporosis.
N Engl J Med 2007; 357;9.
- [96] Boyden LM, Mao J, Belsky J, Mitzner L, Farhi A, Mitnick MA, Wu D, Insogna K, Lifton RP.
High bone density due to a mutation in LDL-receptor-related protein 5.
N Engl J Med 2002; 346:1513-21.
- [97] Grisanti M, Nju QT, Fan W, Asuncion F, Lee J, Steavenson S, Chen Q, Li J, Geng Z, Kostenuik P, Lacey DL, Simonet WS, Ominsky M, Li X, Richards WG.
Dkk- 1 inhibition increases bone mineral density in rodents.
J Bone Miner Res 2006; 21: Suppl 1:S25.
- [98] Christofanilli M, Hortobagyi G.
Bisphosphonates in the Management of Breast Cancer.
Cancer Control 1999; 6:241-246.
- [99] Grynpas M.
Age and disease-related changes in the mineral of bone.
Calcif Tissue Int 1993; 53(Suppl 1):S57-64.
- [100] Meunier PJ, Boivin G.
Bone mineral density reflects bone mass but also the degree of mineralization of bone: therapeutic implications.
Bone 1997; 21:373-377.
- [101] Jakob F.
Metabolische Knochenerkrankungen.
Internist 2007; 48:1101-1118.
- [102] Ibrahim M, Dodson A, Barnett S, Fish D, Jasani B, Miller K.
Potential for false-positive staining with a rabbit monoclonal antibody to progesterone receptor (SP2): findings of the UK National External Quality Assessment Scheme for Immunocytochemistry and FISH highlight the need for correct validation of antibodies on introduction to the laboratory.
Am J Clin Pathol 2008; 129: 398-409.
- [103] Karsenty, G.
The complexities of skeletal biology.
Nature 2003; 423:316-318.
- [104] Pschyrembel. Klinisches Wörterbuch.
ELISA.
2002. 259. Auflage. Walter de Gruyter. Berlin, New York. S 434.
- [105] Roche/Hitachi.
Calcium.
Gebrauchsanleitung Cobas® 2007.V11 Deutsch.
-

-
- [106] Quidel® Corporation.
BAP EIA KIT.
Gebrauchsanleitung MicroVue Bone health 2008.0461R.
<http://www.quidel.com>
- [107] IDS-iSYS.
25-Hydroxy Vitamin D (25-OH D).
Gebrauchsanleitung. IS 2700. 2009.PLV1. English.
<http://www.idsplc.com>
- [108] Roche Diagnostics GmbH.
Total P1NP.
Gebrauchsanleitung- Cobas/ Elecsys® 2008.V6 Deutsch.
- [109] Roche Diagnostics GmbH.
β- CrossLaps.
Gebrauchsanleitung- Cobas/ Elecsys® 2007.V8 Deutsch.
- [110] Biomedica Medizinprodukte GmbH & Co KG.
Dkk-1. ELISA 96t.
Gebrauchsanleitung. Wien.2007.
<http://www.bmgrp.com>
- [111] de la Piedra C, Castro-Errecaborde NA, Traba ML, Méndez-Dávila C, García-Moreno C, Rodríguez de Acuña L, Rodríguez-Molina J.
Bone remodeling markers in the detection of bone metastases in prostate cancer.
Clin Chim Acta 2003; 331: 45-53.
- [112] Cloos PA, Lyubimova N, Solberg H, Qvist P, Christiansen C, Byrjalsen I, Christgau S.
An immunoassay for measuring fragments of newly synthesized collagen type I produced during metastatic invasion of bone.
Clin Lab 2004; 50:279-89.
- [113] Pollmann D, Siepmann S, Geppert R, Wernecke KD, Possinger K, Lüftner D.
The Amino-terminal Propeptide (PINP) of Type I Collagen is a Clinically Valid Indicator of Bone Turnover and Extent of Metastatic Spread in Osseous Metastatic Breast Cancer.
Anticancer Research 2007; 27: 1853-1862.
- [114] Thuraiaraja R, Iles RK, Jefferson K, McFarlane JP, Persad RA.
Serum Amino-Terminal Propeptide of Type 1 Procollagen (P1NP) in Prostate Cancer: A Potential Predictor of Bone Metastases and Prognosticator for Disease Progression and Survival.
Urol Int 2006; 76:67-71.
- [115] Koizumi M, Yonese J, Fukui I and Ogata E.
The serum level of the amino-terminal propeptide of type I procollagen is a sensitive marker for prostate cancer metastasis to bone.
BJU Int 2001; 7:348-351.
-

-
- [116] Oremek G, Sauer- Eppel H, Klepzig M.
Total Procollagen Type 1 Amino-terminal Propeptide (total P1NP) as a Bone Metastasis Marker in Gynecological Carcinomas.
Anticancer Res 2007; 27:1961-1962.
- [117] Ebert W, Muley T, Herb KP and Schmidt-Gayk H.
Comparison of bone scintigraphy with bone markers in the diagnosis of bone metastasis in lung carcinoma patients.
Anticancer Res 2004; 24:3193-3201.
- [118] Voorzanger- Rousselot N, Goehrig D, Journe F, Doriath V, Body JJ, Clézardin P, Garnero P.
Increased Dickkopf-1 expression in breast cancer bone metastases.
British Journal of Cancer 2007; 97:964-970.
- [119] McGrath CM, Soule HD.
Calcium regulation of normal human mammary epithelial cell growth in culture.
In Vitro 1984; 208:652-662.
- [120] Russo J, Mills MJ, Moussalli MJ, Russo IH.
Influence of human breast development on the growth properties of primary cultures.
In Vitro Cell Dev Biol 1989; 257:643-649.
- [121] Gunn WG, Conley A, Deininger L, Olson SD, Prockop DJ, Gregory CA.
A crosstalk between myeloma cells and marrow stromal cells stimulates production of DKK1 and interleukin-6: a potential role in the development of lytic bone disease and tumor progression in multiple myeloma.
Stem Cells 2006; 24:986-91.
- [122] Statistik Austria. Österreichisches Krebsregister. *Brust(C50)*. 2009.
- [123] Lindsay R, Cosman F.
Osteoporose.
In: Dietel M, Suttoup N, Zeitz M, Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL(eds).
Harrisons Innere Medizin, 16. Auflage. ABW Wissenschaftsverlag, 2005, Berlin. S 2439-2451.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1	Lokalisationen des Mammacarcinoms.....	12
Abbildung 2	Lymphabflusswege-Lnn.-Metastasenausbreitung..... http://data.gueterslohtv.de/pics/news/news_5412_1.jpg	12
Abbildung 3	Wirkmechanismen der einzelnen endokrinen Therapien..... http://www.mammakarzinominfo.de/uploads/pics/pat_antihormontherapie_01.gif	9
Abbildung 4	Knochenaufbau..... http://www.deutsches-arthrose-forum.de/grafic/wipo/awd/anatomie-knochen-aufbau-01-000.gif	12
Abbildung 5	Vitamin D-Stoffwechsel Kristin K. Deeb, Donald L. Trump & Candace S. Johnson. Vitamin D signalling pathways in cancer: potential for anticancer therapeutics. Nature Reviews Cancer 7, 684-700 (September 2007)	14
Abbildung 6	Calcium-Stoffwechsel	17
Abbildung 7	Differenzierung der Osteozyten und Chondrozyten-Linie unter Einfluss der jeweiligen Transkriptionsfaktoren..... Kobayashi T, Kronenberg H, 2005. Minireview. Endocrinology 146: 1012-1017.	18
Abbildung 8	Kollagenmolekül mit C- und N-terminalem Propeptid	20
Abbildung 9	Biomarker des Knochenstoffwechsels..... Fohr B, Dunstan CR, Seibel MJ. Markers of Bone Remodeling in Metastatic Bone Disease. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2003; 88: 5059–5075.	21
Abbildung 10	Osteoklasten differenzieren sich aus hämatopoetischen Stammzellen..... Kobayashi T, Kronenberg H, 2005. Minireview. Endocrinology 146: 1012-1017	33
Abbildung 11	Wirkmechanismus von Mammacarcinomzellen auf den Knochenstoffwechsel..... Roodman GD. Bone-breaking cancer treatment. Nature Medicine 13, 25-26(2007)	25
Abbildung 12	Der Wnt/ β -catenin Signalweg..... Zhao J, Kim KA, Abo A, 2008. Tipping the balance: modulating the Wnt pathway for tissue repair	26
Abbildung 13	Knochenstoffwechsel bei multiplem Myelom, modifiziert nach Roodman..... Roodman GD. Treatment strategies for bone disease. Bone Marrow Transplantation(2007) 40, 1139-1146	28
Abbildung 14	Gesunder versus osteoporotischer Knochen	29
Abbildung 15	Pyrophosphat	35
Abbildung 16	Grundstruktur der Bisphosphonate..... http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/d/d2/Bisphosphonate_basic_structure.png	44
Abbildung 17	Wirkungsmechanismus der Bisphosphonate	36
	http://www.fibroese-dysplasie.info/?page_id=498	

Abbildung 18 Strukturformeln der einzelnen Bisphosphonate.	37
http://courses.washington.edu/bonephys/Gallery/bisstructure.gif	
Abbildung 19 Knochenmetastasen bei primärem Mammacarcinom.....	42
Bone scan: http://nuk.klinikum.uni-muenchen.de/therapie/016_ther_skelett.php	
Abbildung 20 Roche Elecsys Gerät.....	49
http://rochediagnostics.ca/lab/solutions/e2010.php	
Abbildung 21 Dkk-1 ELISA.....	51
http://www.bmgrp.com/fileadmin/user_upload/immunoassays/BI-20412_DKK-1_080528.pdf	
Abbildung 22 Sensitivität und Spezifität	- 54 -
Abbildung 23 Übersichtsgraphik: Menopausenstatus- Verteilung der einzelnen Gruppen	56
Abbildung 24 Knochenspezifische alkalische Phosphatase.....	59
Abbildung 25 Serumcalcium	60
Abbildung 26 Vitamin D	61
Abbildung 27 P1NP	62
Abbildung 28 Dkk-1	63
Abbildung 29 CTX.....	64
Abbildung 30 CTX prämenopausaler Frauen.....	65
Abbildung 31 CTX postmenopausaler Frauen	66

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Formen des Mammacarcinoms.....	4
Tabelle 2	Bestimmung des „Nottingham Prognose Index“ (NPI)	5
Tabelle 3	Risikofaktoren und relatives Risiko des Mammacarcinoms	6
Tabelle 4	Therapieplan nach der internationalen Konsensus- Empfehlung St. Gallen 2009, modifiziert nach Goldhirsch [18]	7
Tabelle 5	Einteilung mittels T- Score, modifiziert nach dem WHO Technical Report 1994	30
Tabelle 6	Primäre und Sekundäre Osteoporose- Ätiologien/ Risikofaktoren	32
Tabelle 7	Übersichtstabelle der Gesamtzahlen nach Menopausenstatus	58
Tabelle 8	Prozentuelle Verteilung nach Menopausenstatus	56
Tabelle 9	Übersicht über die einzelnen Laborparameter und ihre statistischen Ergebnisse	57
Tabelle 10	Ergebnisse Alkalische Phosphatase	59
Tabelle 11	Ergebnisse Serumcalcium	60
Tabelle 12	Ergebnisse Vitamin D.....	61
Tabelle 13	Ergebnisse P1NP.....	62
Tabelle 14	Ergebnisse Dkk-1.....	63
Tabelle 15	Ergebnisse CTX.....	64
Tabelle 16	CTX prämenopausal	65
Tabelle 17	CTX postmenopausal.....	66
Tabelle 18	Sensitivität und Spezifität der signifikanten Ergebnisse	68

Abkürzungsverzeichnis

AAS	Atomabsorptionsspektrometrie
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
ALT	Alanin-Aminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
ASCO	American Society of Clinical Oncology
AST	Aspartat-Aminotransferase
bAP	knochenspezifische alkalische Phosphatase
BGP	bone glutamic acid protein - Osteocalcin
BMD	bone mineral density- Knochenmineraldichte
BMP	bone morphogenetic protein
BRCA-1 Gen	Breast Cancer 1 Gen
BSP	Bone Sialoprotein
C	Kohlenstoff
Ca	Serumcalcium
CAP	College of American Pathologists
CLIS	Carcinoma lobulare in situ
COPD	Chronisch obstruktive Lungenerkrankung
CSF	Colony stimulating factor
CTX	Serum-Crosslaps (C-terminal cross-linked telopeptide)
CYP	Cytochrome P
DCIS	Duktales Carcinoma in situ
Dkk-1	Dickkopf-1
DXA	dual energy X-ray absorptiometry
ECLIA	ElektroChemiLumineszenzImmunoAssay
ECR	Extrazellulärraum
ELISA	EnzymeLinkedImmunoSorbent Assay
ER	Östrogenrezeptor
etc.	et cetera
F ⁻	Fluorid
FGF	fibroblast growth factor
FISH	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
FSH	Follikelstimulierendes Hormon

fT3	freies Trijodthyronin
fT4	Thyroxin
Fzs	Frizzled Rezeptor
GGT	Gamma-Glutamyl-Transferase
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormon
HCO ₃ ⁻	Hydrogencarbonat
H0	Nullhypothese
H1	alternative Hypothese
HER2/neu	human epidermal growth factor receptor 2, erb-B2,
HRT	Hormonersatz-Therapie (hormone replacement th.)
ICPT	Carboxyterminal cross-linked telopeptide of type I collagen
IDS	Immunodiagnostic Systems
IGF	insulin like growth factor
IHC	Immunhistochemie
IL	Interleukin
IZR	Intrazellulärraum
K ⁺	Kalium
KM	Knochenmetastasen
L1-L4	Lendenwirbelkörper 1-4
LH	Luteinisierendes Hormon
Lj	Lebensjahr
Lnn.	Lymphknoten
LPR	low density lipoprotein receptor–related protein
LRP 5	low density lipoprotein receptor–related protein 5
Max.	Maximum
Mg ²⁺	Magnesium
Min.	Minimum
MRT	Magnetresonanz- Tomographie
MW	Mittelwert
N	Stickstoff
Na ⁺	Natrium
NPI	Nottingham-Prognose-Index
NTX	N-terminal cross-linked telopeptide

OP	Osteoporose
OPG	Osteoprotegerin
P1CP	Prokollagen Typ 1 C-terminales Propeptid
P1NP	Prokollagen Typ 1 N-terminales Propeptid
PDGF	platelet derived growth factor
Ppi	Pyrophosphat
PR	Progesteronrezeptor
PSA	Prostata-spezifisches Antigen
PTH	Parathormon
R	Rest
RANK	Receptor Activator of nuclear factor- κ B
RANKL	Receptor Activator of NF- κ B Ligand
RNA	Ribonukleinsäure
Runx2	Transkriptionsfaktor
SERM	Selektiver Östrogen- Rezeptor- Modulator
SD	Standard deviation (Standardabweichung)
sFRPs	soluble frizzled related receptor
TGF	transforming growth factor
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
TRAIL	tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand
TRAP	Tartrate resistant acid phosphatase
TSH	Thyroidea-Stimulierendes Hormon
VDBP	Vitamin D bindende Protein
VDR	Vitamin D-Rezeptor
Vit.D	25(OH)Vitamin D
WHO	World Health Organization
Wnt	Protein in Wnt-Signaltransduktionsweg (<u>w</u> ingless)
z.B.	zum Beispiel
25.Q	25. Quartil
75.Q	75. Quartil
99mTc-DPD	99m-Technetium-Dicarboxidiphosphonat