

Aus der Klinik für Urologie  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

***Verhalten von Knochenmarkern bei Patienten mit ossär  
metastasiertem Nierenzellkarzinom unter Zoledronsäurebehandlung***

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Kerstin Geisler

aus Zweibrücken

Gutachter/in:      1. Herr Prof. Dr. M. Lein  
                             2. Herr Prof. Dr. D. Fahlenkamp  
                             3. Herr Priv.-Doz. Dr. P. Hemmati

Datum der Promotion: 30.November 2012

---

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>3</b>
<b>1.1</b>	<b>Das Nierenzellkarzinom .....</b>	<b>3</b>
1.1.1	Epidemiologie .....	3
1.1.2	Ätiologie und Risikofaktoren .....	3
1.1.3	Klinik und Diagnostik des Nierenzellkarzinoms .....	4
1.1.4	Histologie und Grading .....	5
1.1.5	Stadieneinteilung und Prognose .....	6
1.1.6	Therapie des Nierenzellkarzinoms .....	7
<b>1.2</b>	<b>Knochenmetastasen .....</b>	<b>11</b>
1.2.1	Diagnostik von Knochenmetastasen.....	12
1.2.2	Therapie von Knochenmetastasen .....	13
1.2.3	Bisphosphonate .....	14
<b>1.3</b>	<b>Knochenmetabolismus.....</b>	<b>16</b>
1.3.1	Knochenaufbau.....	16
1.3.2	Knochenremodeling .....	17
1.3.3	Marker des Knochenstoffwechsels .....	18
<b>2</b>	<b>ZIELSTELLUNG.....</b>	<b>21</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>22</b>
<b>3.1</b>	<b>Patientengruppe .....</b>	<b>22</b>
<b>3.2</b>	<b>Analytische Methoden .....</b>	<b>26</b>
3.2.1	Bestimmung der Aktivität der tALP.....	26
3.2.2	Bestimmung der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase (bALP).....	26
3.2.3	Bestimmung der PINP.....	27
3.2.4	Bestimmung der ICTP.....	27
<b>3.3</b>	<b>Statistik .....</b>	<b>28</b>
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>29</b>
<b>4.1</b>	<b>Knochenmarkerkonzentrationen vor Zoledronsäuregabe .....</b>	<b>29</b>
<b>4.2</b>	<b>Veränderung der Knochenmarkerkonzentrationen unter Zoledronsäure .....</b>	<b>34</b>
4.2.1	Prozentuale Markerkonzentration im Verlauf der Zoledronsäurebehandlung .....	34
4.2.2	Knochenmarker in Absolutwerten im Verlauf der Zoledronsäurebehandlung .....	38

---

4.2.3	Gesamtbetrachtung der Markerkonzentrationen im Studienverlauf unter Zoledronsäuretherapie .....	40
<b>5</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>41</b>
5.1	Diagnostische und prognostische Eignung der Knochenmarker beim metastasierten NZK .....	42
5.2	Beurteilung des Behandlungseffektes von Zoledronsäure anhand der Knochenmarkeraktivität .....	46
5.3	Vergleich mit Knochenmarkern bei Knochenmetastasen des Prostatakarzinoms .....	48
5.4	Vergleich mit Knochenmarkern bei Knochenmetastasen des Mammakarzinoms .....	53
5.5	Schlussfolgerung .....	55
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>57</b>
<b>7</b>	<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....</b>	<b>59</b>
<b>8</b>	<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>60</b>
<b>9</b>	<b>TABELLENVERZEICHNIS .....</b>	<b>61</b>
<b>10</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>62</b>
<b>11</b>	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>74</b>
<b>12</b>	<b>LEBENS LAUF .....</b>	<b>75</b>
<b>13</b>	<b>ERKLÄRUNG AN EIDES STATT .....</b>	<b>77</b>

# 1 Einleitung

## 1.1 Das Nierenzellkarzinom

### 1.1.1 Epidemiologie

Nach Prostata- und Harnblasenkarzinom ist das Nierenzellkarzinom (NZK) das dritthäufigste urologische Malignom. Männer sind 1,5-mal häufiger betroffen als Frauen. Der Gesamtanteil der Nierenkarzinome beträgt bei Männern 4,4 % und bei Frauen 3,6 % aller Karzinomerkrankungen. Dies entspricht 8960 Neuerkrankungen pro Jahr bei Männern und 5540 Neuerkrankungen jährlich bei Frauen. Die Zahl der Sterbefälle 2008 betrug bei den Männern 3060 und bei den Frauen 2041 pro Jahr. Bei 85 % aller bösartigen Neubildungen der Niere handelt es sich um Nierenzellkarzinome. Zu den benignen Nierentumoren gehören Angiomyolipome, einfache oder komplizierte Zysten, Adenome, Fibrome, Lipome und das renale Onkozytom, das aufgrund seiner fehlenden Metastasierungsneigung als benigne eingestuft wird, obwohl es infiltrierend wachsen kann. Die Differentialdiagnose zum Onkozytom lässt sich präoperativ mit derzeitiger Bildgebung nicht stellen. Andere Karzinome der Niere sind das Urothelkarzinom des Nierenbeckens, Non-Hodgkin-Lymphome, Sarkome und bei Kindern vor allem die Nephroblastome (Wilms-Tumore). Das NZK verursacht ungefähr 3 % aller Karzinomsterbefälle in Deutschland. Die Inzidenz des NZK hat sich seit den 1980er Jahren mehr als verdoppelt, blieb aber seit Mitte der 1990er Jahren nahezu gleich. Die Mortalität ist seit den 1990er Jahren leicht rückläufig. Die 5-Jahres-Überlebensraten haben sich im Vergleich zu den 1980er Jahren (mit 50 %) aktuell mit 65 % bis 75 % deutlich verbessert. Der Erkrankungsgipfel liegt in der Altersgruppe von 75 bis 79 Jahren bei Männern und Frauen (Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland 2012). Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung lassen sich bei fast einem Drittel der Patienten bereits Metastasen nachweisen (Motzer et al. 1996, Vogelzwang et al. 1998, Coleman RE 2001). Unbehandelt ist die Prognose dieser Patienten sehr ungünstig und die Überlebenszeit beträgt weniger als 12 Monate (Neves et al. 1988).

### 1.1.2 Ätiologie und Risikofaktoren

Sowohl exogene als auch genetische Risikofaktoren spielen eine Rolle bei der Entstehung eines NZK. Der wichtigste exogene Risikofaktor ist das Rauchen. Für 25 - 30 % aller NZK ist das Zigarettenrauchen ursächlich (Vogelzwang et al. 1998). Desweiteren erhöhen die Einnahme von nephrotoxischen Analgetika (vor allem phenacethinhaltige Schmerzmittel) und die Exposition

gegenüber Cadmium und Halogenkohlenwasserstoffen das Risiko, an einem NZK zu erkranken (Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland 2012). Die arterielle Hypertonie und Diuretika-Abusus werden als weitere Risikofaktoren diskutiert (Chow et al. 1999, Benichou et al. 1998, Yuan et al. 1998).

Zu den endogenen Risikofaktoren zählen Übergewicht (besonders bei Frauen), das Alter (langsamer Anstieg ab dem 40. Lebensjahr) und dialysepflichtige Niereninsuffizienz. Selten (etwa 4 % der Fälle) wird die genetische Disposition mit dem NZK in Verbindung gebracht. Als gesicherte genetische Prädisposition gilt das von Hippel-Lindau-Syndrom. Dabei tritt die Erkrankung meist bei jüngeren Patienten und multifokal auf. Auch eine bilaterale Manifestation ist typisch für das von Hippel-Lindau-Syndrom, von dem Männer und Frauen gleich häufig betroffen sind (Maher et al. 1991, Walther et al. 1995, Poston et al. 1995). Weitere hereditäre Formen des NZK sind bekannt. Darunter finden sich das hereditäre papilläre NZK, das hereditäre Leiomyomatosis-NZK, das Birt-Hogg-Dubé-Syndrom und die tuberöse Sklerose (Schmidt et al. 1997, Toro et al. 2003, Pavlovich et al. 2005, Sillwell et al. 1987).

### **1.1.3 Klinik und Diagnostik des Nierenzellkarzinoms**

Da das NZK im Frühstadium asymptomatisch ist, werden viele NZK als Zufallsbefund bei einer abdominalen Sonographie aufgrund anderer Beschwerden entdeckt. Bei den meisten Patienten verursacht das NZK keine Beschwerden. Mögliche Symptome können allerdings Makro- oder Mikrohämaturie, lokale Schmerzen, allgemeine Symptome wie Gewichtsverlust, Fieber, Müdigkeit und Anämie sein. In wenigen Fällen lässt sich die klassische Trias Makrohämaturie, Flankenschmerzen und einen tastbaren Tumor feststellen.

Die Sonographie hat einen hohen Stellenwert bei der Früherkennung des NZK. Neben der Größenbestimmung des NZK kann sie dabei helfen, Differenzialdiagnosen wie Zysten, Abszesse und gutartige Tumore auszuschließen. Bei sehr kleinen (< 1 cm), zufällig entdeckten Nierentumoren handelt es sich in 45 % um gutartige Tumore (Frank et al. 2003).

Für Patienten mit NZK ist in der Labordiagnostik bis heute noch kein spezifischer Tumormarker gefunden worden. Es wurden einige diskutiert, die sich bisher aber klinisch nicht durchsetzen konnten.

Nach der körperlichen Untersuchung und ausführlicher Anamnese (auch Familienanamnese) sollte die Basisdiagnostik durch folgende Analysen ergänzt werden: Urin-Status, Blutbild, Gerinnung, Nierenfunktionswerte, Leberwerte, Lactatdehydrogenase (LDH) und alkalische Phosphatase (tALP).

Bei einem suspekten Sonobefund wird zur Diagnoseerhärtung eine Computertomographie (CT) oder, falls ein CT kontraindiziert ist, eine Magnetresonanztomographie (MRT) durchgeführt. Bei diesen Untersuchungen ist die Qualität der Bildgebung und dadurch die Aussagefähigkeit höher als bei der Sonographie. Moderne Techniken der Computertomographie ermöglichen mittels dünnen Schichtaufnahmen, adäquater Kontrastmittelgabe und Mehr-Phasen-Aufnahmen eine sehr hohe Sicherheit bei der Diagnosestellung solider Nierentumore. Angiomyolipome können vom NZK computertomographisch mit großer Sicherheit differenziert werden. Im Gegensatz dazu können Onkozytome im CT nicht vom NZK unterschieden werden. Die Tumorausbreitung (TNM-Stadium), die Tumordinfiltration in Nachbarorgane (z. B. die Nebenniere), das umliegende Fettgewebe und Tumorzapfen in den Gefäßen können dabei ebenfalls beurteilt werden. Bei Patienten mit einer Niereninsuffizienz oder Kontrastmittelallergie kann alternativ ein MRT durchgeführt werden. Bei Verdacht auf Gehirnmetastasen sollte ein CT des Schädels veranlasst werden.

Die Feinnadelbiopsie ist nicht indiziert, wenn in der Bildgebung aussagekräftige Befunde für ein NZK vorliegen. Die Indikation zur Feinnadelbiopsie sollte nur bei ausgewählten Fällen (z.B. zum Metastasennachweis eines anderen bekannten Tumors) gestellt werden, da die Gefahr einer Tumorzellverschleppung durch den Punktionskanal besteht.

Die Skelettszintigraphie kann bei symptomatischen Patienten mit Knochenschmerzen, fortgeschrittenem Tumor und erhöhter alkalischer Phosphatase zum Nachweis von Skelettmetastasen herangezogen werden.

Aufgrund ihrer guten Sensitivität kann die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) zur Diagnostik von Rezidiven und Lymphknotenmetastasen eingesetzt werden (Lawrentschuk et al. 2006).

#### **1.1.4 Histologie und Grading**

Bei der pathohistologischen Klassifikation spielen sowohl das Grading, also die morphologischen Veränderungen der Zelle und des Zellkerns, von G1 (gut differenziert) bis G4 (undifferenziert), als auch die histologische Typisierung eine wichtige Rolle. Es werden folgende histologische Untergruppen des NZK je nach Ursprungsort unterschieden: klarzelliges, chromophiles, papilläres, chromophobes, medulläres und Sammelrohr (Ductus Bellini)-NZK.

Der häufigste histologische Typus des NZK umfasst mit 70 bis 80 % das klarzellige NZK, welches auch am häufigsten zur Metastasierung neigt (Reuter et al. 2006, Beck et al. 2004, Bostwick et al. 1999, Kovacs et al. 1997).

### 1.1.5 Stadieneinteilung und Prognose

Durch die Stadieneinteilung können für die Patienten individuelle Therapieformen gewählt werden oder prognostische Aussagen getroffen werden.

Die Einteilung des Tumorstadiums erfolgt nach der international anerkannten TNM-Klassifikation der UICC (7. Auflage 2010) und beschreibt die Größe des Primärtumors (von T1 bis T4 zunehmend), das Ausmaß der lymphogenen Metastasierung (N0 bis N3) und das Auftreten von Fernmetastasen (M0 oder M1). Zur Vereinfachung und zur besseren Beurteilung der Prognose wurde die TNM-Klassifikation in vier Stadien zusammengefasst. Das Stadium I beinhaltet T1 N0 M0 Tumore und weist die beste 5-Jahres-Überlebensrate mit 90 bis 95 % auf. Zu dem Stadium II werden alle Tumore der T2 N0 M0 Gruppe gezählt. In diesem Stadium ist eine 5-Jahres-Überlebensrate von 75 bis 90 % zu erwarten. Auch beim Stadium III, das die Patienten mit T1/2 N1 M0 oder T3 N0/1 M0 Tumore beinhaltet, ist noch eine 5-Jahres-Überlebensrate von 60 bis 70 % zu erwarten. Bei Patienten im Stadium IV (T4 N0/1 M0, T1-4 N2 M0, T1-4 N0-2 M1) liegt die Lebenswahrscheinlichkeit nach 5 Jahren noch lediglich bei 25 bis 35 %. Die schlechteste Prognose haben Patienten mit Fernmetastasierung mit weniger als 20 % bei der 5-Jahres-Überlebensrate (Coppin et al. 2005, Negrier et al. 1998). Bei ihnen ist eine mediane Überlebenszeit von ungefähr 7 Monaten zu erwarten (Mancuso et al. 2005, Schrader et al. 2006, Motzer et al. 2002).

Bei einem kleinen Patientenkollektiv von 40 Patienten konnte gezeigt werden, dass Tumore, die kleiner als 3 cm waren, keine Metastasierung aufwiesen (Bosniak et al. 1995).

Um beim metastasierten NZK ein Risikoprofil mit Prognose erstellen zu können, werden die Motzer-Kriterien verwendet (Motzer et al. 2002). Dabei wurden als ungünstige Prognosefaktoren folgende Faktoren identifiziert:

- Performance-Status < 80 %
- LDH > 1,5-fach des oberen Normwertes
- Hämoglobin < 10 g/dl
- korrigiertes Calcium > 10 mg/dl
- Zeitintervall zwischen Nephrektomie und Metastasennachweis < 1 Jahr

Um Patienten in die günstige Prognosegruppe einteilen zu können, dürfen keine der oben genannten Risikofaktoren vorliegen. Patienten der intermediären Prognosegruppe weisen ein bis zwei Risikofaktoren auf. Die ungünstige Prognosegruppe beinhaltet alle Patienten mit mehr als drei Risikofaktoren.



Die Tabelle 1 zeigt das mittlere Überleben und die Überlebensraten unter Interferontherapie bei Patienten mit metastasiertem NZK in Abhängigkeit vom oben genannten Risikoprofil (Motzer et al. 2002).

<b>Risikogruppe</b>	<b>Häufigkeit</b>	<b>Progressionsfreies Überleben</b>	<b>Mittleres Überleben</b>	<b>1-Jahres Überleben</b>	<b>3-Jahres Überleben</b>
<b>günstig</b>	18 %	8,3 Monate	30 Monate	83 %	43 %
<b>intermediär</b>	62 %	5,1 Monate	14 Monate	58 %	17 %
<b>ungünstig</b>	20 %	2,5 Monate	5 Monate	20 %	2 %

*Tabelle 1: Mittleres Überleben und Überlebensraten unter Interferontherapie bei Patienten mit metastasiertem NZK in Abhängigkeit vom Risikoprofil*

Durch die Einführung der Target Therapie konnte das progressionsfreie Überleben und das Gesamtüberleben verlängert werden (Dorff et al. 2009).

### **1.1.6 Therapie des Nierenzellkarzinoms**

Die einzige, potentiell kurative Behandlungsmethode beinhaltet zum derzeitigen Standpunkt die operative Therapie des NZK. Die Therapien im Bereich der Chemo-, Strahlen- und Hormontherapie gelten als nahezu wirkungslos. In den letzten Jahren wurden die Ergebnisse beim metastasierten NZK durch neue Behandlungsmöglichkeiten auf dem Gebiet der Target (= zielgerichteten) Therapie deutlich verbessert.

#### **Lokal begrenztes Nierenzellkarzinom**

Die Standardbehandlung bei Patienten mit gesunder kontralateraler Niere besteht in der Tumornephrektomie. Der jeweilige Zugangsweg sollte von Tumorgröße, Lokalisation, Lymphknotenbefall, Venenthrombus und auch vom Patienten (Allgemeinzustand, Adipositas) abhängig sein. Der Operateur kann sich zwischen transperitonealem, lumbalem oder thorakoabdominalem Zugangsweg entscheiden. Die klassische radikale Tumornephrektomie beinhaltet die Resektion der Gerota-Faszie, der ipsilateralen Nebenniere und regionalen Lymphknoten. Der Operateur kann je nach Tumorausbreitung und intraoperativem Befund auf Resektion der Nebenniere verzichten.

Bei der Nierenteilresektion muss die komplette Tumorexzision gewährleistet sein. Die Indikation zur partiellen Nephrektomie ist abhängig von der Größe und Lage des Tumors, daneben spielen Faktoren wie Anzahl der Tumore, Funktionalität der kontralateralen Niere und bilaterale Nierentumore eine Rolle. Bei kleinen Tumoren < 4 cm konnte im Vergleich zur radikalen Nephrektomie gezeigt werden, dass die tumorfreie 5-Jahres-Überlebenszeit in beiden Fällen mehr als 95 % betrug (Lau et al. 2000). Inzwischen wird die Indikation zur Teilresektion auch bei größeren Tumoren bis 7 cm immer häufiger gestellt, da die in Studien aufgezeigten Überlebenszeiten beider Gruppen ähnlich waren (Becker et al. 2006, Crippen et al. 2008, Patard et al. 2004). Sowohl die Nierenteilresektion als auch die Nephrektomie können offen oder laparoskopisch mit gleichwertigen onkologischen Ergebnissen durchgeführt werden (Permpongkosol et al. 2005, Portis et al. 2002).

Bei den alternativen Therapien sind die Daten über die HIFU (high intensity focused ultrasound), die Elektrochemotherapie und die Magnetthermotherapie zurzeit noch nicht aussagekräftig. Minimal invasiv können die Kryotherapie und Radiofrequenzablation kleinerer Nierentumore nachweislich zur Tumorkontrolle eingesetzt werden, wobei über eine Beobachtungszeit von 6 bis 36 Monate eine Rezidivrate von 5 bis 10 % bei der Kryotherapie (Gill et al. 2005, Cestari et al. 2004, Lawatsch et al. 2006, Gupta et al. 2006) und eine Rezidivrate bei der Radiofrequenzablation von 2,5 % (über einen Beobachtungszeitraum von 8 bis 27 Monate) beschrieben wird (Gervais et al. 2005, Stone et al. 2007, Venkatesan et al. 2011). Rezidivtumore können erneut einer Kryo- bzw. Radiofrequenzablation zugeführt werden.

Für eine adjuvante Therapie gibt es derzeit noch keinen Wirksamkeitsnachweis. Auch für eine aktive Immunisierung mit autologer Tumorstimmzellvaksinierung liegen noch keine ausreichenden Daten vor.

### **Metastasiertes Nierenzellkarzinom**

Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung sind bereits bei 30 % aller Patienten Fernmetastasen nachweisbar (Motzer et al. 1996, Vogelzang et al. 1998, Coleman et al. 2001), wobei 30 bis 50 % der nephrektomierten Patienten im weiteren Krankheitsverlauf Metastasen entwickeln (Dineen et al. 1988, Chin et al. 2006). 80 % aller Metastasen werden in den ersten drei Jahren nach Erstdiagnose des NZK beobachtet. Auch beim metastasierten NZK kann beim Vorliegen von solitären Metastasen eine Tumornephrektomie mit Metastasektomie in kurativer Absicht durchgeführt werden.

Es wurde gezeigt, dass die 5-Jahres-Überlebensrate nach erfolgter Resektion von solitären Metastasen deutlich erhöht werden konnte. Bei Lungenmetastasen zeigte sich sogar fast eine

Verdopplung beim Überlebensvorteil (Pfannschmidt et al. 2002). Vor einer Interferon  $\alpha$  Therapie kann die Tumornephrektomie zur Verlängerung der medianen Überlebenszeit um 31 % führen (Flanigan et al. 2001, Mickisch et al. 2001). Bei fortgeschrittenem NZK und schlechtem Allgemeinzustand des Patienten sollte eine Nephrektomie nur dann durchgeführt werden, wenn eine Verbesserung von Symptomen (unstillbare Blutungen, lokale Schmerzen, Raumforderungssymptomatik) erzielt werden kann. Bei unstillbaren Blutungen und inoperablem Allgemeinzustand des Patienten kann auch eine Nierenarterienembolisation erfolgen.

Eine Radiotherapie hat sich als palliative Therapie bei symptomatischen Knochenmetastasen oder Frakturgefährdung als effektiv erwiesen. Auch beim Vorliegen von Hirnmetastasen kann die Radiotherapie in palliativer Absicht herangezogen werden.

Sowohl die Chemo- als auch die Hormontherapie weisen nur eine geringe Effektivität und keinen Überlebensvorteil auf.

Die Immuntherapie mit Interferon  $\alpha$  (IFN  $\alpha$ ) und Interleukin-2 (IL-2) wurde in den letzten 20 Jahren standardmäßig zur Therapie des metastasierten NZK eingesetzt. Bei einem Teil der behandelten Patienten konnte eine Remission der Metastasen beobachtet werden. Zunächst wurde von einem Überlebensvorteil ausgegangen, doch neuere Studien widerlegen dies (Negrier et al. 2005). Die Häufigkeit von Nebenwirkungen bei dieser Behandlung ist hoch. Die unerwünschten Nebenwirkungen (grippeähnliche Symptome, Anorexie, Übelkeit, Erbrechen, Schüttelfrost, zerebro-vaskuläre Störungen, Schwindel, Hypersensibilitätsreaktionen) von IFN  $\alpha$  sind für die Patienten belastend und somit dosislimitierend. Die Indikation zur Immuntherapie besteht bei jungen, ausgewählten Patienten weiterhin, denn nur durch eine Immuntherapie konnte bisher in Einzelfällen eine Heilung beim metastasierten NZK erzielt werden.

Der Einsatz von autologen Tumorkvakzinen zur Therapie des metastasierten NZK wurde in einzelnen Studien positiv bewertet (Jocham et al. 2004), konnte aber bisher den Einsatz nicht standardmäßig rechtfertigen.

Seit 2006 konnte ein deutlicher Fortschritt durch die Einführung der Multikinase-Inhibitoren Pazopanib (Votrient®), Sorafenib (Nexavar®) und Sunitinib (Sutent®), der mTOR Kinase-Inhibitoren Everolimus (Afinitor®) und Temsirolimus (Torisel®), sowie dem antiangiogenetisch wirksamen VEGF-Antikörper Bevacizumab (Avastin®) verzeichnet werden. Diese Substanzen wirken gezielt an charakteristischen molekularen Strukturen des NZK. Aus diesem Grund wird von Target Therapie (= gezielter Therapie) gesprochen. Bei Patienten mit metastasiertem NZK

konnte sowohl das Gesamtüberleben als auch das progressionsfreie Intervall dadurch nachweislich verlängert werden (Dorff 2009, Houk 2009). Über eine Hemmung der Angiogenese und tumorspezifischen intrazellulären Proliferationskaskaden wirken die Target Therapien präziser und sind weniger toxisch als klassische Chemotherapeutika. Häufigste Nebenwirkungen bei den Target Therapien sind Fatigue-Syndrome, arterielle Hypertonie und Diarrhö. Je nach Substanz kann es zu charakteristischen unerwünschten Nebenwirkungen kommen.

Abhängig vom Motzer-Score werden Patienten in günstige, intermediäre und ungünstige Risikogruppen eingeteilt und danach einen Algorithmus zur Erst- und Zweitlinientherapie festgelegt. Eine Sequenztherapie ist inzwischen Standard, um eine Resistenzentwicklung hinauszuzögern und damit die Lebenserwartung des Patienten zu verlängern. Entscheidend für die Therapiewahl und Sequenzabfolge sind neben der Leitlinienempfehlung auch patientenindividuelle Faktoren (Nebenwirkungsprofil, Komorbiditäten und Lebenssituation).

### **Supportive und palliative Maßnahmen**

Das Ziel der Palliativtherapie ist die Verbesserung der Lebensqualität durch die Behandlung belastender Symptome. Dazu zählen eine adäquate Schmerztherapie (nach WHO-Stufenschema), nichtmedikamentöse physikalische Therapie (u.a. Lymphdrainage, aktivierende Pflege, Lagerung) und vor allem auch psychoonkologische Betreuung und psychosoziale Unterstützung (Selbsthilfegruppen, ambulante Pflege, Hospize, seelsorgerischer und/oder psychologischer Beistand). Systemtherapie-induzierte Nebenwirkungen (vor allem Nausea und Emesis) können durch medikamentöse Begleittherapie oder Prophylaxe reduziert werden.

## 1.2 Knochenmetastasen

Aufgrund des demographischen Wandels nimmt die Inzidenz von Karzinomerkrankungen und damit auch von Knochenmetastasen stetig zu. Neben der direkten Tumorausbreitung in das Skelettsystem, wie beim Pancoasttumor, der intraspinalen Aussaat und der lymphogenen Ausbreitung, stellt der häufigste Metastasierungsweg die hämatogene Metastasierung dar. Wegen der guten Vaskularisation des roten Knochenmarks wird es den Tumorzellen durch hämatogene oder lymphogene Ausbreitung erleichtert, in die Knochensubstanz einzudringen und mit den dort ansässigen Knochenzellen in Wechselwirkung zu treten. Durch die Aktivierung der ortsständigen Knochenzellen werden humorale Mediatoren, wie Wachstumsfaktoren und Prostaglandine, freigesetzt, die zur Bildung von Mikrometastasen führen. Aus den Mikrometastasen entwickeln sich nun durch Wachstum und Konfluenz Makrometastasen. Diese führen zu lokalen Veränderungen der Knochenstruktur, der Mineralisation und der Stabilität des Knochens. Erst nach diesen Veränderungen kommt es zu klinischen Symptomen.

Knochenformation und Knochenresorption stellen eine untrennbare funktionelle Einheit dar. Knochenmetastasen führen zu einem Ungleichgewicht der Knochenaufbau- und Knochenabbauvorgänge, bei dem die osteoblastische (formative) oder die osteolytische (resorptive) Komponente überwiegen kann. Außerdem gibt es auch Knochenmetastasen, bei denen gemischt osteoblastisch-osteolytische Formen imponieren. Als mögliche Faktoren für die Entwicklung von primären Knochentumoren oder Knochenmetastasen werden Veränderungen des RANKL/RANK/OPG-Systems vermutet (siehe „1.3 Knochenmetabolismus“). Tumorzellen selbst sind nicht in der Lage zur Skelettdestruktion, sondern destruieren den Knochen über eine Rekrutierung der Osteoklasten und damit auch indirekt der Osteoblasten.

Die häufigsten Primärtumore bei Knochenmetastasen sind mit 50 bis 75 % aller Knochenmetastasen das Mamma- und das Prostatakarzinom. Darauf folgen das Bronchial- und das NZK (je 30 bis 50 % aller Knochenmetastasen). Weniger häufig werden Knochenmetastasen bei Schilddrüsen-, Pankreas-, Kolorektal-, Magen-, Leberzell- und Ovarialkarzinomen beobachtet (Coleman et al. 1997, Bán et al. 1986, Moriwaki et al. 1987). Beim größten Teil der Knochenmetastasen handelt es sich um osteolytische Metastasen, deren Primärtumor meist Nieren-, Lungen-, Mamma- oder Schilddrüsenkarzinome sind. Auch beim multiplen Myelom (= Plasmozytom) beobachtet man ausgeprägte diffuse Osteolysen, es wird allerdings in Deutschland nicht zu den Knochenmetastasen gezählt. Osteoblastische Knochenmetastasen sind seltener und werden vor allem durch das Prostatakarzinom verursacht. Die kleinste Gruppe der

Knochenmetastasen wird von den gemischt osteoblastisch-osteolytischen Metastasen gebildet und kann von sämtlichen Primärtumoren ausgehen.

Aufgrund der Fehlregulation der Knochenremodellierung kommt es sowohl bei osteoblastischen als auch bei osteolytischen Formen zur Instabilität des Knochens. Da es durch übermäßige Osteoblastenstimulierung zur Aktivierung von Osteoklasten kommt, wird auch bei osteoblastischen Metastasen qualitativ minderwertige Knochenstruktur gebildet. Bei etwa 50 bis 70 % aller Patienten mit Knochenmetastasen kommt es im weiteren Verlauf zu skeletal-related events (SRE) (Lipton et al. 2000, Saad et al. 2007, Rosen et al. 2004). Als SRE werden pathologische Frakturen, spinale Kompressionssymptomatik bei Wirbelkörperbefall und die Notwendigkeit einer chirurgischen oder strahlentherapeutischen Intervention bezeichnet. Einhergehende Beschwerden sind vor allem Knochenschmerzen. Damit sinkt die Lebensqualität der Patienten und auch der Todeszeitpunkt wird dadurch ungünstig beeinflusst.

Bei Patienten mit fortgeschrittenem NZK sind nach der Lunge (50 bis 60 % der Metastasen) die Knochen und die Leber als zweithäufigste Metastasenlokalisation mit je 30 bis 40 % nachweisbar. Mit 5 bis 11 % ist das Gehirn weniger von Metastasen betroffen (Ritchie et al. 1983). Die Metastasierung beim NZK erfolgt überwiegend hämatogen und bildet am häufigsten osteolytische oder gemischt osteolytisch-osteoblastische Knochenmetastasen.

### **1.2.1 Diagnostik von Knochenmetastasen**

Die Diagnostik von Knochenmetastasen beinhaltet radiologische, nuklearmedizinische, laborchemische, bioptischhistologische Methoden und deren Kombinationen. Bei jeder diagnostischen Methode gibt es hinsichtlich der Spezifität und Sensitivität Grenzen.

Als Goldstandard zur Detektion von Knochenmetastasen dient die Knochenszintigraphie. Dabei werden Technetium 99m-markierte Phosphatverbindungen eingesetzt, die an anorganische Apatitkristalle im Osteoid binden. Mehranreicherungen beruhen auf erhöhter osteoblastischer Aktivität (Sklerosierung). Die Sensitivität der Knochenszintigraphie ist hoch, jedoch ist diese Methode nicht metastasenspezifisch. Differentialdiagnostisch muss an degenerative bzw. entzündliche Prozesse und an stattgehabte Frakturen gedacht werden. Deshalb liegt die Spezifität in einem niedrigeren Bereich. Außerdem kann sie fast nur zur Detektion von osteoblastischen Metastasen eingesetzt werden. Osteolytische Metastasen können durch die Skelettszintigraphie nur schwer beurteilt werden. Deshalb ist die Skelettszintigraphie zur Diagnostik beim NZK umstritten (Staudenherz et al. 1999).

Eine gezielte konventionelle Röntgenaufnahme kann zur Abgrenzung der Differentialdiagnosen zusätzlich durchgeführt werden, um die Sensitivität und Spezifität zu erhöhen. Allerdings können metastatische Herde radiologisch erst ab einer Größe von ca. 1 cm nachgewiesen werden. In einem Wirbelkörper kann eine Osteolyse im Nativröntgenbild erst bei einem Tumorbefall von 30 bis 50 % sichtbar werden. Die Magnetresonanztomographie (MRT) oder die Kombination von MRT mit Nativröntgen und mit Skelettszintigraphie bietet mit 83 % Sensitivität und 100 % Spezifität die größte Präzision (Lecouvet et al. 2007).

Auch die Computertomographie kann bei unklaren Befunden mittels Knochenfensterung weiterhelfen. Die Durchführung einer Positronen-Emissions-Tomographie (PET) kann in Einzelfällen bei speziellen Fragestellungen Informationsgewinn bringen. Der Nachteil bei der PET oder PET-CT sind die derzeit noch extrem hohen Kosten.

Biopsien weisen eine nur geringe Präzision auf und sind deshalb zur Frühdiagnostik nicht geeignet.

### **1.2.2 Therapie von Knochenmetastasen**

Da derzeit eine Heilung bei Patienten mit Knochenmetastasen nicht möglich ist, stehen palliative Therapiekonzepte zur Verbesserung der Lebensqualität im Mittelpunkt. Knochenmetastasen verursachen eine hohe Morbidität durch Schmerzen, funktionelle Einschränkungen, Rückenmarkskompressionen und pathologischen Frakturen. Zur Linderung der Schmerzsymptomatik können neben einer Analgetikatherapie auch die Chemotherapie (Substanz je nach Primärtumor und Allgemeinzustand des Patienten), die lokale Radiatio (insbesondere bei Frakturgefährdung und drohendem Querschnittssyndrom) und die Applikation von Radionukliden (bisher erfolgreich beim Mamma- und Prostatakarzinom) eingesetzt werden. Durch Hormonentzugstherapien kann beim Prostatakarzinom die Progression der Knochenmetastasierung für Monate bis Jahre aufgehalten werden. Auch die Metastasenchirurgie sollte in einigen Fällen angestrebt werden, nämlich bei Wirbelkörpermetastasen mit Querschnittssymptomatik, drohendem Querschnitt oder bei pathologischen Frakturen bzw. Prävention von Frakturen. Insbesondere beim NZK kann die Metastasektomie die Prognose günstig beeinflussen.

Seit Mitte 2011 ist Denosumab (XGEVA®) in Europa zur Prävention von skelettbezogenen Komplikationen (skeletal-related events, SRE) bei Knochenmetastasen aufgrund solider Tumoren zugelassen. Beim Knochenremodeling spielen intrazelluläre Kommunikationspfade eine entscheidende Rolle (siehe „1.3 Knochenmetabolismus“). XGEVA® ist ein monoklonaler Antikörper, der die Signalübertragung von Osteoblasten zu Osteoklasten durch Hemmung des

RANK-Liganden verhindert. Denosumab imitiert somit die Effekte von Osteoprotegerin (OPG) und hemmt die Differenzierung und Reifung der Osteoklastenvorläuferzellen sowie die Aktivierung reifer Osteoklasten und fördert deren Apoptose. Zu den möglichen unerwünschten Nebenwirkungen zählen Hypokalzämie, Kieferosteonekrose, Diarrhö, Dyspnoe, Hyperhidrose und Hautinfektionen. XGEVA® ist auch bei Patienten mit renaler Funktionsstörung ohne Dosisreduktion einsetzbar.

### **1.2.3 Bisphosphonate**

Bisphosphonate gehören derzeit zum Standard bei der Therapie von Knochenmetastasen. Momentan sind eine Reihe von Bisphosphonaten in Deutschland zugelassen. Die Bisphosphonate können in zwei Substanzgruppen eingeteilt werden: stickstofffreie Bisphosphonate, wie Etidronat und Clodronat, und stickstoffhaltige Bisphosphonate, wie Alendronat, Ibandronat, Risedronat und Zoledronat.

Aus der Waschmittelindustrie, wo sie als „Weichmacher“ aufgrund ihrer Fähigkeit Kalkablagerungen zu verhindern in Waschmitteln genutzt wurden, fanden sie ihren Weg in die Medizin. Ursprünglich wurden sie nur zur Therapie bei Knochenstoffwechselerkrankungen, wie des Morbus Paget und der Osteoporose, eingesetzt. Beim Morbus Paget handelt es sich um eine klassische Erkrankung der Osteoklasten, die zu einem erhöhten Knochenumbau mit Skelettdeformitäten einhergeht. Bei dieser Erkrankung konnte schon in den 70er Jahren gezeigt werden, dass Bisphosphonate zu einer Normalisierung des Knochenmetabolismus führen können. Das detaillierte Wirkprinzip auf den Osteoklasten ist bis heute nicht vollständig geklärt. Ein vermuteter Wirkmechanismus besteht in der Apoptoseinduktion der Osteoklasten. Die stickstofffreien Bisphosphonate werden in die Phosphatkette Adenosinriphosphat(ATP)-haltiger Metabolite eingebaut. Diese entstandenen ATP-Analoga sind für die Osteoklasten zytotoxisch und führen zur Apoptose der Osteoklasten. Die stickstoffhaltigen Bisphosphonate hemmen ein Schlüsselenzym (die Farnesyldiphosphatsynthase, FFPS) des Mevalonatweges (Van Beek et al. 1999). Dies führt zur Hemmung der Prenylierung niedermolekularer Guanosinriphosphat(GTP)-bindender Proteine in den Osteoklasten, was ihre Apoptose induziert. Kleine GTP-bindende Proteine spielen bei der Signaltransduktion eine wichtige Rolle und sind für die Zellfunktion und das Überleben essentiell. Ein weiteres Wirkprinzip der Bisphosphonate besteht darin, die Adhäsion der Osteoklasten an der Knochenoberfläche zu verhindern. Außerdem zeigen Bisphosphonate inhibitorische Effekte auf die Osteoklastogenese (Van Beek et al. 2002).



Eine Heilung oder Osteoreparation kann durch sie jedoch nicht erreicht werden. Allerdings führen sie zur Osteoprotektion, indem sie das restliche Skelett vor weiterer Zerstörung schützen können. Ihren Stellenwert haben sie auch bei der Therapie der Tumorhyperkalzämie gefunden. Große klinische Studien haben gezeigt, dass eine Bisphosphonattherapie zur Prävention von Komplikationen bei Knochenmetastasen sinnvoll ist (Saad et al. 2002, Hatoum et al. 2008). Die Therapie mit Zoledronsäure (Zometa®) führte bei Patienten mit metastasiertem Prostatakarzinom zur Reduktion von pathologischen Frakturen um 40 % im Vergleich zur Placebogruppe und das Risiko der Skelettkomplikationen insgesamt wurde um 11 % gesenkt (Hatoum et al. 2008, Lipton et al. 2002). Durch die Bisphosphonattherapie konnten die metastatischen Knochenschmerzen reduziert werden und somit die Lebensqualität der Patienten bedeutend verbessert werden (Pelger et al. 1998). Es wurde außerdem gezeigt, dass der Einsatz von Bisphosphonaten beim metastasierten Prostatakarzinom zur Prävention von neuen skelettalen Läsionen sinnvoll sein könnte (Garnero 2001).

Durch ihre schlechte enterale Resorptionsrate (aufgrund von Bildung unlöslicher Komplexe mit Kalzium) hat sich die i.v.-Therapie bei Knochenmetastasen als sinnvoll erwiesen.

Bei korrekter Anwendung sind die Bisphosphonate gut verträglich und weisen nur wenige Nebenwirkungen auf. Zu den unerwünschten Nebenwirkungen bei einer Bisphosphonattherapie zählen die Serumkreatininerhöhung durch Nierenversagen (bei Bildung unlöslicher Komplexe durch zu schnelle Infusion), die aseptische Kieferosteonekrose, Übelkeit, Fieber, Obstipation, Myalgie, Emesis, Fatigue und Gewichtsverlust (Saad et al. 2002). Nach der ersten Infusion kann es zu einer „Akute-Phase-Reaktion“ mit Temperaturanstieg und Blutbildveränderungen kommen, die jedoch bei den nächsten Infusionen nur noch selten auftreten (Berenson J. et al. 2004).

### **1.3 Knochenmetabolismus**

Das menschliche Knochengewebe unterliegt lebenslang kontinuierlicher Umbauprozesse („remodeling“). Diese erfolgen durch Resorption von altem Knochen und ihrem Ersatz durch neuen Knochen. Die ständig stattfindenden Umbauprozesse ermöglichen die Anpassung an ändernde Belastungen und auch die Reparatur kleiner Risse durch auftretende Mikrotraumen, so dass eine mechanische Stabilität des Skelettes gewährleistet wird. Etwa alle 10 bis 15 Jahre wird unser Skelett einmal komplett erneuert (Rosenbrock et al. 2002). Bis zum Alter von ungefähr 25 Jahren überwiegt der Knochenaufbau, danach der Knochenabbau.

Viele verschiedene Faktoren beeinflussen die Regulation des Knochenstoffwechsels. Dazu zählen Kalzium- und Phosphathaushalt, Parathormon, Vitamin D, Wachstumshormon und Insulin like growth factor (IGF)-1, Schilddrüsenhormone, Östrogene, Androgene, Kortisol und andere Glukokortikoide, mechanische Belastung und die Ernährung.

#### **1.3.1 Knochenaufbau**

Beim menschlichen Skelett handelt es sich um hochspezialisiertes Bindegewebe, das neben der Grundlage zur Fortbewegung und zum Schutz von Organen auch zur Regulation des Kalzium- und Phosphathaushaltes dient. Es muss also so aufgebaut sein, dass es bei hoher Elastizität eine ausgeprägte Stabilität ermöglicht und ein Reservoir für Kalzium und Phosphat stellt.

Die Knochenzellen (Osteozyten) sind in die Knochenmatrix, die zu 20 % aus organischen Bestandteilen und zu 70 % aus anorganischen Mineralien besteht, eingebettet. Bei den organischen Materialien handelt es sich zu 95 % um Kollagenfasern Typ I. Die restlichen 5 % setzen sich aus nicht-kollagenen Proteinen und Proteoglycanen zusammen. Diese Glykoproteine und Proteoglykane verfügen über eine hohe Bindungsaffinität für Kalzium. Dadurch kommt es zur Mineralisierung des Knochens und damit zur Entwicklung der ausgeprägten Knochenhärte und zur Bildung eines Kalziumspeichers zur Regulierung des Kalzium- und Phosphathaushaltes. Zur Optimierung der inneren Knochenfestigkeit trägt die spezielle Gerüststruktur der Lamellenknochen bei. 80 % der Knochenmasse wird durch die Kortikalis gebildet, 20 % durch die Spongiosa. Durch die besondere Architektur der Spongiosabälkchen wird eine größtmögliche Stabilität erreicht.

### 1.3.2 Knochenremodeling

Die Osteoklasten sind für die Resorption von altem Knochen und die Osteoblasten sind für die Formation von neuem Knochen verantwortlich. An der Stelle im Knochen, wo die Osteoklasten mittels Freisetzung spezieller Enzyme Knochenmasse abbauen, entstehen Resorptionslakunen. Anschließend werden diese Resorptionslakunen von den Osteoblasten, die hauptsächlich Kollagen Typ I und nicht-kollagene Proteine synthetisieren, mit neuer Knochenmasse aufgefüllt (Ducy et al. 2000, Teitelbaum 2000).

Während die Osteoblasten aus pluripotenten mesenchymalen Stammzellen entstehen, differenzieren sich die Osteoklasten aus hämatopoetischen Vorläuferzellen der Monozyten und Makrophagen, also Zellen der körpereigenen Abwehr. Es besteht eine enge funktionelle Abhängigkeit zwischen Osteoklasten und Osteoblasten. Zur Aktivierung von Osteoklasten ist eine intrazelluläre Signaltransduktion von den Osteoblasten an die Osteoklasten nötig. Als Signalüberträger wird von den Osteoblasten das Protein RANKL (Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B Ligand) gebildet. RANKL ist ein membranständiges Peptid, welches nach posttranslationeller Prozessierung auch in eine lösliche Form umgewandelt wird. RANKL gehört der Familie der Tumornekrosefaktoren (TNF) an und wurde auch Tumor necrosis factor-related activation-induced cytokine (TRANCE) oder Osteoprotegerinligand (OPGL) benannt. RANKL kann an den Rezeptor RANK (Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B) binden, der sich auf der Oberfläche von Osteoklastenvorläufern befindet. Dadurch wird über intrazelluläre enzymatische Prozesse die Osteoklastogenese aktiviert. Somit ist RANKL für den Knochenabbau verantwortlich. Ein Inhibitor der Osteoklastogenese ist das auch von Osteoblasten synthetisierte Osteoprotegerin (OPG). OPG ist als kompetitiver RANK-Rezeptorantagonist in der Lage, RANKL abzufangen und die Bindung von RANKL an den RANK-Rezeptor der Präosteoklasten zu verhindern (Harada 2003).

Das Zusammenspiel von Auf- und Abbauvorgängen wird durch den ständigen Einfluss verschiedener Faktoren bestimmt. RANKL wird durch inflammatorische und pro-resorptive Zytokine (Interleukin (IL)-1, IL-6, IL-11, Oncostatin, TNF- $\alpha$ , Prostaglandin E2) sowie Dexamethason, Vitamin D<sup>3</sup>, Parathormon (PTH) und Immunsuppressiva (Cyclosporin A, Papamycin und Tacrolimus) induziert. RANKL wird durch Transforming growth factor (TGF)- $\beta$ , Inhibin und vasoaktives intestinales Peptid (VIP) inhibiert (Fuller et al. 1998, Hofbauer et al. 1999, Horwood et al. 1998, Li et al. 2000).

Stimulatoren für die OPG-Produktion sind: Zytokine (IL-1, TNF, TGF- $\beta$ , Bone morphogenetic protein-2 und -7), die Steroidhormone Vitamin D<sup>3</sup> und 17 $\beta$ -Östradiol, VIP und Kalziumkationen.

Auf die Produktion von OPG wirken Prostaglandin E<sub>2</sub>, VIP, Glukokortikoide, Immunsuppressiva, PTH und der Östrogenrezeptorantagonist ICI 182 780 hemmend (Hofbauer et al. 1998 und 1999, Horwood et al. 1998, Li et al. 2000).

Im Tierversuch konnte gezeigt werden, dass die parenterale OPG-Gabe die Knochenmasse normaler Tiere steigert und einen Knochenverlust bei ovariectomierten Tieren verhindert (Srivastava et al. 1999).

Eine genaue Einschätzung des Knochenmetabolismus ist für die Bestimmung der Schwere metabolischer Knochenerkrankungen sowie das Ansprechen einer Therapie unerlässlich.

### **1.3.3 Marker des Knochenstoffwechsels**

Die Knochenaktivität kann entweder durch Messung von Faktoren, die den Knochenumbau direkt beeinflussen (Zytokine, Wachstumsfaktoren) oder durch indirekte Analysen der Auf- und Abbauprodukte der Knochenmatrix oder der beteiligten Zellen bestimmt werden.

Bisher gibt es für die Verifizierung des Einsatzes von Knochenumbau markern nur wenige aussagekräftige Studien. Bei der gegenwärtigen Datenlage lässt sich erkennen, dass die Knochenumbau marker subtile Veränderungen des Knochenstoffwechsels im Serum reflektieren. Durch Knochenmetastasen werden die Umbauparameter im Serum verändert (Seibel 2008). Dadurch könnten Metastasen frühzeitig diagnostiziert und dynamische Veränderungen der metastatischen Osteopathie (Progression, skelettale Ereignisse) besser dargestellt werden. Dies kann sowohl bei der prädiktiven Wertigkeit im Hinblick auf die Therapiewahl als auch bei der Therapieempfehlung bei gesicherten Metastasen genutzt werden.

In den letzten Jahren wurden Knochenumbau marker identifiziert, die entweder die Osteoklastogenese, die Knochenformation oder die Knochenresorption widerspiegeln. Zu den Osteoklastogeneseparametern gehören OPG, RANK und RANKL (Hofbauer et al. 2001).

Verschiedene Einflussfaktoren können die laborchemischen Bestimmungen von Knochenmarkern beeinflussen. Man kann zwischen technischen und biologischen (patientenbezogenen) Ursachen differenzieren. Zu den Fehlerquellen auf technischer Seite zählen Umgang und Lagerung der Proben, Temperaturschwankungen, UV-Strahlung, Zeitpunkt der Probenentnahme (tageszeitliche Schwankungen) und Variablen zwischen verschiedenen Laboren. Ursachen der Variabilität auf biologischer Seite sind Geschlecht, Alter, Hormonveränderungen (Menopause), Schwangerschaft, Stillzeit, Medikamenteneinnahme, Alkoholkonsum, Diabetes, Hyperparathyreoidismus, Leber-, Nierenerkrankungen, Immobilität, körperliches Training, Osteoporose, Diäten, Nahrungsaufnahme und schließlich zirkadiane und saisonale Schwankungen (Seibel et al. 2005).

Um die Bedeutung von veränderten Knochenmarkern korrekt einzuordnen, ist es wichtig diese Zusammenhänge zu kennen und die Veränderungen vor diesem Hintergrund richtig zu interpretieren. Im weiteren Verlauf beschäftigt sich diese Arbeit mit unten genannten Knochenformations- und Knochenresorptionsmarkern.

### **Marker der Knochenformation**

In dieser Arbeit werden als Marker der Knochenformation tALP, bALP und PINP untersucht.

- **Gesamt-Alkalische Phosphatase (tALP)**

Die alkalische Phosphatase ist ein häufig bestimmter Laborparameter. Die Spezifität der alkalischen Phosphatase ist gering, da verschiedene Isoenzyme vorliegen (Leber-, Knochen-, Dünndarm-, Plazenta-alkalische Phosphatase). Vorwiegend kommt sie jeweils im gleichen Verhältnis aus der Leber und den Knochen. Zu einer Erhöhung kommt es bei Leber- und Gallengangerkrankungen sowie Knochenerkrankungen. In Studien wurde dargelegt, dass die alkalische Phosphatase zur Diagnostik und als prognostischer Faktor bei Knochenmetastasen des Prostatakarzinoms herangezogen werden kann. Darüber wird in Kapitel 5 dieser Arbeit genauer eingegangen.

- **Knochenspezifische Alkalische Phosphatase (bALP)**

Diese Isoform der alkalischen Phosphatase weist eine höhere Spezifität auf, da die bALP fast ausschließlich in den Osteoblasten gebildet wird. Sie löst die Einlagerung von Kalziumphosphatkristallen aus. In Studien wurde gezeigt, dass sie zur Beurteilung einer Metastasierung und zur Verlaufsbeurteilung des metastasierten Prostatakarzinoms geeignet ist (Brown et al. 2005, Kouji et al. 2012, Kamiya et al. 2010, Lein et al. 2007, Ramankulov et al. 2007, Jung et al. 2010).

- **N-terminales Propeptid des Typ I-Prokollagens (PINP)**

Das Kollagen I wird von den Osteoblasten exprimiert und ist Hauptbestandteil der organischen Knochenanteile und verantwortlich für die Festigkeit und Elastizität des Knochens. Ein Großteil der Kollagen I-Synthese läuft im Knochen intrazellulär über die Synthese von Vorläuferproteinen (Prokollagen I) mit C- und N-terminalen Peptidregionen ab. Extrazellulär werden diese Propeptide proteolytisch abgespalten. Die Fragmente aus den Kollagenvorläufermolekülen werden als Abbauprodukte PICP und PINP (C-terminales Propeptid des Typ I-Prokollagens und N-terminales Propeptid des Typ I-Prokollagens) in die Blutzirkulation freigesetzt. Ihre

Konzentrationen reflektieren das Ausmaß der Kollagen Typ I-Synthese. Deshalb können sie als Marker der Knochenformation genutzt werden (Seibel et al. 2005). PINP unterliegt keinem zirkadianen Rhythmus und weist eine höhere Stabilität als PICP auf. Obwohl auch Haut, Dentin und Sehnen einen geringen Kollagen Typ I-Metabolismus aufweisen, wird aufgrund dieser geringen Mengen die Messung von PINP und PICP im Serum nicht beeinflusst (Seibel et al. 2005).

### **Marker der Knochenresorption**

Als Marker der Knochenresorption wird in dieser Arbeit ICTP bestimmt.

- Carboxyterminales Telopeptid des Typ I-Kollagens (ICTP)

Zu den Telopeptiden zählen neben dem ICTP auch das aminoternale quervernetzte Typ I-Kollagen-Telopeptid (NTX) und das carboxyterminale quervernetzte Typ I-Kollagen-Telopeptid (CTX). Beim Knochenabbau wird das quervernetzte Kollagen durch lytische Enzyme der Osteoklasten gespalten. Dabei werden kleine Bruchstücke (terminale Telopeptide) erzeugt (NTX, CTX). NTX weist eine hohe Spezifität auf. CTX ist abhängig vom Alter des Kollagens. Die Bildung von größeren Kollagenmolekülen (ICTP) wird durch die Matrix-Metallo- proteinase 9 (MMP-9) indiziert. In neueren Untersuchungen wurde nachgewiesen, dass ICTP-Bestimmungen unempfindlicher gegenüber Schwankungen des normalen Knochenmetabolismus sind, so dass ICTP bevorzugt zur Untersuchung des pathologischen Knochenstoffwechsels eingesetzt werden kann. ICTP-Erhöhungen sind bei osteolytischen sowie kombiniert osteolytisch und osteoblastischen Knochenmetastasen beschrieben. Da ICTP renal eliminiert wird, ist die Interpretation bei Patienten mit Niereninsuffizienz erschwert.

### **Weitere Marker der Knochenresorption:**

- Hydroxyprolin (HYPRO)
- Hydroxylysinglycosid
- Pyridinolin (PYD)
- Desoxypyridinolin (DPD)
- Bone Sialprotein (BSP)
- Osteocalcinfragmente (ufOC, U-Mid-OC, U-LongOC)
- tartratresistente saure Phosphatase (TRAP)
- Cathepsin K, L
- Kalzium im Harn

## 2 Zielstellung

Knochenmetastasen beeinflussen sowohl die Schmerzsymptomatik und Mobilität, damit die Lebensqualität, als auch den Todeszeitpunkt. Da im klinischen Alltag die diagnostischen Möglichkeiten zur Prädiktion von Knochenmetastasen beim Nierenzellkarzinom (NZK) und zur Verlaufskontrolle nach Therapie limitiert sind, werden neue, nicht-invasive, preisgünstige und sichere Methoden benötigt.

In der vorliegenden Arbeit soll untersucht werden, ob biochemische Knochenumbaumarker zur Verlaufs- bzw. Therapiekontrolle bei Patienten mit ossär metastasiertem NZK geeignet sind. Es soll analysiert werden, ob mit ihrer Hilfe Informationen zur Prädiktion von skelettalen Ereignissen (skeletal-related events, SRE) gewonnen werden können und ob sie zur Beurteilung der Progression einer Knochenmetastasierung genutzt werden können. Daneben soll das Verhalten von Knochenmarkern vor und nach Applikation von Zoledronsäure analysiert werden.

In dieser Arbeit wurde eine klinische Studie (Protokoll Nr. CZOL446E DE15, Novartis Pharma, Nürnberg) analysiert. Es wurden bei 41 Patienten mit ossär metastasiertem NZK verschiedene Serumknochenmarker bestimmt. Als Marker der Knochenformation wurden tALP, bALP und PINP untersucht. Für die Knochenresorption wurde ICTP ausgewählt. Als primärer Endpunkt wurde das Auftreten von  $\geq 1$  SRE während 12 monatiger Zoledronattherapie definiert.

In dieser Arbeit soll gezeigt werden, wie sich die Konzentrationen der Serumknochenmarker vor und im Verlauf der Zoledronsäuregabe bei Patienten mit und ohne SRE verhalten. Insbesondere soll gezeigt werden, ob die Knochenmarker hinsichtlich der Prädiktion von SRE und somit zur Verlaufskontrolle genutzt werden können.

## 3 Material und Methoden

### 3.1 Patientengruppe

In dieser Arbeit wurde eine Population von 41 Patienten einer klinischen Studie (Protokoll Nr. CZOL446E, Novartis Pharma, Nürnberg) untersucht. Zwischen September 2004 und Juni 2008 wurden in dieser prospektiven multizentrischen Phase IV Studie Patienten mit NZK und mindestens einer Knochenmetastase beobachtet. Alle Patienten erhielten eine 15-minütige Zometa®-Infusion (Zoledronsäure, 4 mg bzw. Dosisanpassung bei Niereninsuffizienz) alle drei Wochen über einen Zeitraum von einem Jahr, wobei alle neun Wochen Serumproben zur Knochenmarkerbestimmung (insgesamt sieben Blutentnahmen bei 20 „visits“) gewonnen wurden. Begleitend zur Zometa®-Infusion erhielten die Patienten täglich sowohl 500 mg Kalzium als auch eine Vitamin D Tablette über die gesamte Studiendauer. Während der Studiendauer waren die Standardtherapien des metastasierten NZK (unter anderem Chemotherapie, Zytokine, Kortikosteroide und Tyrosinkinaseinhibitoren wie Sunitinib und Sorafenib) erlaubt. Als primärer Endpunkt wurde das Auftreten von  $\geq 1$  SRE während 12- monatiger Zoledronattherapie definiert.

Voraussetzungen für die Aufnahme in die vorliegende Studie waren:

- Das Vorliegen eines histologisch gesicherten NZK mit keinem oder maximal 2 der folgenden Risikofaktoren:
  - Karnowsky-Performance-Status  $< 80$  %
  - LDH  $> 1,5$ -fach des oberen Normwertes
  - Hämoglobin  $<$  als der untere Normwert
  - Nicht-durchgeführte Nephrektomie
- Mindestens eine Knochenmetastase des NZK
- Maximal 3 Bisphosphonatinfusionen vor Studienbeginn
- ECOG-Performance-Status von 0,1 oder 2
- Lebenserwartung von  $\geq 6$  Monaten
- Adäquate Leberfunktion
- Alter von  $\geq 18$  Jahren
- Eine unterschriebene Einverständniserklärung



Als Ausschlusskriterien wurden festgelegt:

- Mehr als 3 Bisphosphonatinfusionen vor Studienbeginn
- Niereninsuffizienz mit einer Kreatininclearance  $< 30$  ml/min
- Serumkalziumkonzentration  $< 8,0$  mg/dl oder  $\geq 12,0$  mg/dl
- Patienten mit symptomatischen Gehirnmetastasen
- Bereits diagnostizierte Störungen des Knochenstoffwechsels (wie Morbus Paget oder primärer Hyperparathyroidismus)
- Schwerwiegende physische oder psychische Begleiterkrankungen, die die Einhaltung des Studienprotokoll erschweren oder verhindern (unter anderem klinisch signifikanter Aszites, kardiologische Erkrankungen, NYHA III oder IV, pathologische EKG-Veränderungen)
- Bekannte Unverträglichkeit von Zometa® oder anderen Bisphosphonaten
- Schwangerschaft und Stillzeit
- Gebärfähige Frauen ohne Kontrazeptiva
- Der Gebrauch von anderen experimentellen Medikamenten (Medikamente ohne Marktzulassungen) bis 30 Tage vor Studienbeginn
- Teilnahme bei einer anderen klinischen Studie
- Bekannte Anamnese von Alkohol- oder Drogenabusus
- Patienten, die von den Studienärzten als nicht-kooperativ eingestuft werden
- Aktuelle Zahn- und Kieferprobleme (u.a. Infektionen, Traumata, Osteonekrose)
- Weniger als sechs Wochen zuvor durchgeführte Zahn- oder Kiefereingriff oder geplanter Zahn- oder Kiefereingriff

Bei der in dieser Arbeit untersuchten Patientengruppe handelt es sich um Patienten, die sämtliche Einschlusskriterien erfüllten und keine Ausschlusskriterien vorlagen.

Von allen Patienten mit und ohne SRE konnten die Ausgangswerte der Marker im Blut vor Behandlungsbeginn untersucht werden („visit 2“). Insgesamt wurden 184 Serumproben von 41 Patienten gesammelt. Davon wurden 145 Serumproben von 33 Patienten bestimmt, die im Laufe der Studie unter Zoledronsäurebehandlung keine SRE aufwiesen. Von 16 dieser 33 Patienten lagen Ausgangswerte und Verlaufswerte vor. Von 17 Patienten ohne SRE konnten nur Serumproben vor Behandlungsbeginn („visit 2“) ermittelt werden.

Bei 8 von insgesamt 41 Patienten traten im Studienverlauf SRE auf. Von diesen 8 Patienten mit SRE wurden insgesamt 37 Serumproben im Lauf der Studie gesammelt. Von einem dieser Patienten mit SRE konnte nur die Ausgangsprobe und keine Proben über den Studienverlauf

gewonnen werden. Von den anderen 7 Patienten mit SRE konnten die Proben mit Ausgangswerten und Verlaufswerten bis zum Behandlungsabbruch bzw. bis zum Ende der Studie ermittelt werden.

Die in dieser Arbeit untersuchte Patientengruppe weist folgende Merkmale auf:

<b>Variable</b>	<b>Statistik</b>	<b>Wert</b>
<u>Alter</u>		
	Minimum (Jahre)	38
	Median (Jahre)	63
	Maximum (Jahre)	80
< 65 Jahre	n (Patienten)	24
≥ 65 Jahre	n (Patienten)	17
<u>Geschlecht</u>		
männlich	n (Patienten)	27
weiblich	n (Patienten)	14

*Tabelle 2: Patientenalter und Patientengeschlecht*

Von den 41 Patienten erlitten 8 Patienten SRE. Die Tabelle 3 zeigt die Verteilung der SRE während der Studie.

<b>n (Patienten)</b>	<b>Gesamtanzahl</b>	<b>SRE ja</b>	<b>SRE nein</b>
<u>Geschlecht</u>		n / %	n / %
männlich	27	5 / 18,5	22 / 81,5
weiblich	14	3 / 21,4	11 / 78,6
<u>Alter</u>			
< 65 Jahre	24	4 / 16,7	20 / 83,3
≥ 65 Jahre	17	4 / 23,5	13 / 76,5
<u>Anzahl der Knochenmetastasen</u>			
< 6 Knochenmetastasen	33	5 / 15,2	28 / 84,8
6 – 20 Knochenmetastasen	8	3 / 37,5	5 / 62,5

*Tabelle 3: Verteilung der SRE während der Studie*

Tabelle 4 zeigt die initiale histologische Verteilung der Tumorstadien gemäß der TNM-Klassifikation. Bei den 5 Patienten mit initial M0 traten im weiteren Krankheitsverlauf Knochenmetastasen auf, so dass sie in die Studie eingeschlossen werden konnten.

<b>Initiales Tumorstadium p</b>	<b>n (Patienten)</b>
T1a (Tumor < 4 cm, begrenzt auf die Niere)	4
T1b (Tumor > 4 cm und < 7 cm, begrenzt auf die Niere)	4
T2 (Tumor > 7 cm, begrenzt auf die Niere)	8
T3a (Infiltration perirenales Fett oder Nebenniere, Gerotafaszie intakt)	3
T3b (Infiltration der Nierenvene oder V. Cava infradiaphragmal)	4
T3c (Infiltration der V. Cava supradiaphragmal)	12
T4 (Tumor durchbricht Gerotafaszie)	2
Tx (Ermittlung war nicht möglich)	4
N0 (Lymphknoten frei)	11
N1 (Befall eines regionären Lymphknotens)	6
N2 (Befall mehrerer regionärer Lymphknoten)	3
Nx (Ermittlung war nicht möglich)	21
M0 (keine Fernmetastasen)	5
M1 (Vorliegen von Fernmetastasen)	18
Mx (Ermittlung war nicht möglich)	18

*Tabelle 4: Initiales TNM-Tumorstadium*

Insgesamt haben 21 Patienten die Studie beendet und 20 Patienten brachen die Studie ab. In Tabelle 5 werden die Gründe für die Studienabbrüche dargestellt.

<b>Gründe für Studienabbruch</b>	<b>n (Patienten)</b>
Klinisch relevante SRE	5
Klinisch relevante Laborwertveränderungen	2
Protokollverletzung	2
Rücknahme der Einverständniserklärung	4
Versäumtes Follow-Up	1
Tod	6

*Tabelle 5: Gründe für Studienabbrüche*

## **3.2 Analytische Methoden**

Die 184 Serumproben der Probanden wurden morgens vor den Zometa®-Infusionen alle 3 Monate gewonnen (während der Visiten 2, 5, 8, 11, 14, 17 und 20). Die dabei verwendeten 10 ml Serum-Monovetten wurden nach Blutentnahme zunächst 2 Stunden bei Raumtemperatur gelagert und anschließend 10 Minuten lang bei 2000 g und 4° C zentrifugiert. Die Proben wurden danach bei -20° bis -80°C eingefroren und auf Trockeneis nach Berlin zur Analyse geschickt. Alle Proben wurden zentral in der Urologischen Klinik der Charité, Berlin Mitte, analysiert.

Folgende Knochenbaumarke­rer wurden ermittelt: als Marker der Knochenformation wurden tALP (total alkaline phosphatase), bALP (bone-specific alkaline phosphatase) und PINP (amino-terminal procollagen propeptides of type I collagen) untersucht. Als Marker der Knochenresorption wurde ICTP (C-terminal telopeptides of type I collagen) bestimmt.

### **3.2.1 Bestimmung der Aktivität der tALP**

Die tALP wurde mit dem Testsystem Modular Analyzer (Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland) in einem Standardtest als Enzymaktivitätsmessung bestimmt. Das Prinzip der Bestimmung beruht auf der katalytischen Umsetzung von 4-Nitrophenol. Das im alkalischen Milieu gelb gefärbte 4-Nitrophenol wird bei 405 nm gemessen. Die freigesetzte Konzentration des 4-Nitrophenols verhält sich proportional zur Aktivität der tALP. In diesem Routinetest wird nicht zwischen leber- und knochenspezifischer alkalische Phosphatase differenziert.

### **3.2.2 Bestimmung der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase (bALP)**

Bei der Ermittlung von bALP wurde das Immunoenzymetric Assay von ids immunodiagnostic systems (Charge 7225) verwendet. Der Assay Ostase bALP ist ein immunoenzymetrischer Festphasen-Assay mit monoklonalen Antikörpern. bALP-haltige Proben reagieren mit einer Lösung, die mit Biotin markierte, für bALP spezifische monoklonale Antikörper enthält. Die Reaktion erfolgt in einem Kunststoffrahmen mit Streifen (Festphase), deren Vertiefungen mit Streptovadin beschichtet sind. Nach der Bildung eines Komplexes aus Festphase, Erfassungsantikörper und bALP wird die Mikrotiterplatte gewaschen, um ungebundenes bALP zu entfernen und anschließend mit einem Enzymsubstrat inkubiert. Der Umfang der Substratumwandlung wird in einem Mikrotiterplattenleser durch Messung der Extinktion der gestoppten Reaktion bei 405 nm kolorimetrisch bestimmt. Die Extinktion ist dem bALP-Spiegel

der Testprobe proportional. Die Berechnung des bALP-Spiegels in der Probe erfolgt durch gleichzeitiges Messen von bALP-Kalibratoren und Null-Kalibrator/Verdünner.

### **3.2.3 Bestimmung der PINP**

Die Bestimmung von PINP erfolgte mittels eines PINP-Testkits der Firma Cusabio Biotech Co, LTD (Charge K24042159). In diesem Testkit wurde die Mikrotiterplatte mit spezifischen Antikörpern für PINP beschichtet. Standards oder Proben werden zu den entsprechenden Mikrotiterplattenkammern mit einem biotingegebenen Antikörperpräparat (spezifisch für PINP) hinzugefügt und Avidin, gebunden an Horseradish Peroxidase (HRP), wird zu jeder Mikrotiterplattenkammer dazugegeben und anschließend inkubiert. Dann wird eine TMB (3, 3', 5, 5' tetramethyl-benzidin) Substrat-Lösung zu jeder Kammer hinzugefügt. Nur die Kammern, die PINP, biotin-gebundene Antikörper und enzymgebundenes Avidin beinhalten, weisen eine Farbveränderung auf. Die Enzym-Substrat-Reaktion wird durch die Beimengung einer Schwefelsäurelösung abgeschlossen und die Farbveränderung wird bei einer Wellenlänge von 450 nm  $\pm$  2 nm spektrophotometrisch abgelesen. Die Konzentration von PINP in den Proben wird dann durch den Vergleich der Probenkonzentration mit der Standardkurve ermittelt.

### **3.2.4 Bestimmung der ICTP**

Zur Ermittlung von ICTP wurde das Enzymimmunoassay Kit von Orion Diagnostica Oy (Charge 1350354; 1360893) benutzt. Der Orion Diagnostica UniQ ICTP EiA ist ein kompetitiver Enzymimmunoassay. Eine bekannte Menge an peroxidase-markiertem ICTP konkurriert mit einer unbekannt Menge an nicht-markiertem ICTP in der Probe um die in limitierter Menge vorhandenen, hochaffinen Bindungsstellen des Primärantikörpers. Ein zweiter, gegen den Primärantikörper gerichteter und an die Festphase gebundener Antikörper reagiert mit dem Komplex aus Primärantikörper und Antigen und ermöglicht dadurch eine saubere Trennung von gebundenem und nicht gebundenem Antigen. Nachdem nicht gebundenes Antigen ausgewaschen wurde, ist die Menge an markiertem ICTP in der Kavität umgekehrt proportional zur Menge an ICTP in der Probe. Die Menge an markiertem ICTP wird nach Inkubation mit einem Substrat gemessen, wobei ein farbiges Endprodukt gebildet wird. Die ICTP-Konzentration in der Probe wird anschließend anhand einer Kalibrationskurve ermittelt.

### 3.3 Statistik

Die gewonnenen Messergebnisse wurden in eine Microsoft® Office Excel-Tabelle eingegeben. Mittels vorprogrammierter Makros von Microsoft® Excel wurden die Daten zunächst deskriptiv ausgewertet und es wurde der Median und die Spannweite der Daten berechnet. Weiterhin wurde die Software GraphpadPrism zur Erstellung von Abbildungen und Tabellen verwendet. Der Mann Whitney-U-Test wurde durchgeführt, um statistisch signifikante Unterschiede zwischen verschiedenen Patientensubgruppen nachzuweisen. Zur Beurteilung von Unterschieden zwischen den Subgruppen wurde der nicht-parametrische Test nach Kruskal und Wallis für unverbundene Stichproben verwendet, während zur Beurteilung der Unterschiede im Studienverlauf innerhalb der Subgruppen der Friedman-Test für verbundene Stichproben verwendet wurde. Ein p-Wert kleiner als 0,05 wurde als statistisch signifikant angesehen.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Knochenmarkerkonzentrationen vor Zoledronsäuregabe

In der Studie waren Patientenkontakte alle drei Wochen vorgesehen. Beim ersten Kontakt („visit 1“) erfolgte noch keine Blutentnahme zur Knochenmarkerbestimmung. Ab dem zweiten Kontakt („visit 2“) wurden alle drei Wochen bis zum Ausscheiden bzw. Ende der Studie Serumproben gewonnen und eingefroren. Es wurden die Konzentrationen von tALP, bALP, PINP und ICTP bestimmt. Insgesamt erfolgten sieben Blutentnahmen zur Knochenmarkerbestimmung (bei visit 2, 5, 8, 11, 14, 17 und 20). Die Probanden sind unterteilt nach Patienten ohne (-) und mit (+) SRE während der Studie. Die Kennzeichnungen sind wie folgt:

- SRE- (alle V2): alle Patienten (n = 33) ohne SRE nur mit Knochenmarkerausgangswerten (vor Zoledronsäuregabe, visit 2)
- SRE- (V2-Verlauf): 16 Patienten ohne SRE mit Knochenmarkerwerten über den gesamten Verlauf der Studie
- SRE+ (alle V2): alle Patienten (n = 8) mit SRE nur mit den Knochenmarkerausgangswerten (vor Zoledronsäuregabe, visit 2)
- SRE+ (V2-Verlauf): 7 Patienten mit SRE und mit Knochenmarkerkonzentrationen im Verlauf der Studie

Patientengruppe	Anzahl	Anzahl der Proben
<b>SRE- (alle V2)</b> Ohne SRE und nur mit Ausgangswerten (vor Zoledronsäure)	33	33
<b>SRE- (V2-Verlauf)</b> Ohne SRE mit Verlaufswerten	16	112 (pro Patient je 7 Proben)
<b>SRE+ (alle V2)</b> Mit SRE und nur mit Ausgangswerten (vor Zoledronsäure)	8	8
<b>SRE+ (V2-Verlauf)</b> Mit SRE mit Verlaufswerten	7	31 (3 Patienten mit je 3 Proben, 2 Patienten mit je 4 Proben, 2 Patienten mit je 7 Proben)

Tabelle 6: Darstellung der Patientengruppen

Die folgenden Abbildungen zeigen die Knochenmarkerkonzentrationen vor Beginn der Zoledronsäurebehandlung („visit 2“). Um die Repräsentativität der jeweiligen "V2-Verlauf"-Gruppe als selektierte Gruppe gegenüber der entsprechenden Gesamtgruppe "alle V2" nachzuweisen, wurde der Mann Whitney-U-Test durchgeführt.

Die Abbildung 1 gibt die PINP-Konzentrationen vor Zoledronsäuregabe an.

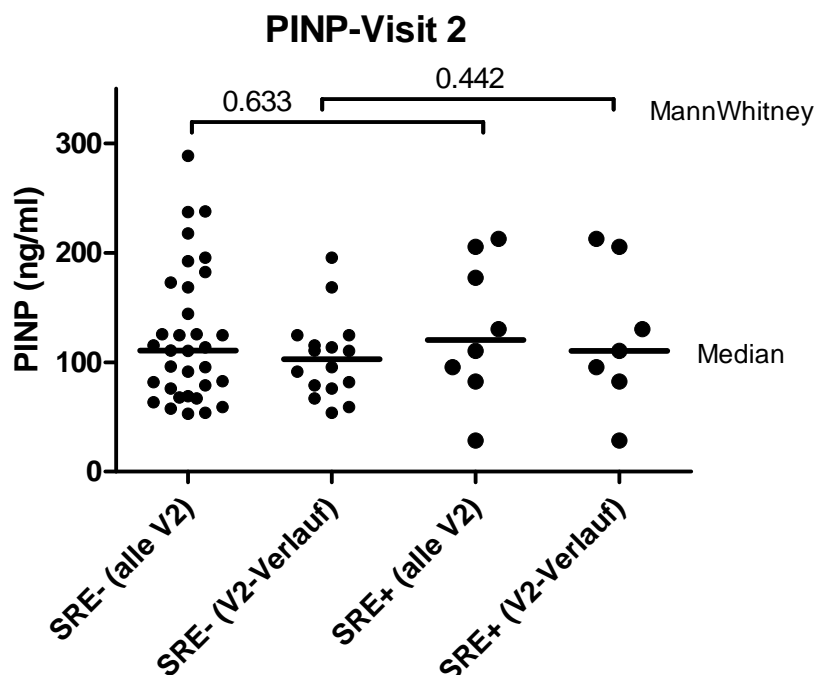


Abbildung 1: PINP-Werte vor Zoledronsäuregabe bei Patienten mit (+) und ohne (-) SRE

Die Medianwerte der PINP-Konzentrationen im Serum aller vier Patientengruppen liegen nahe beieinander und sind nicht signifikant unterschiedlich. Im Gruppenvergleich der Gruppe SRE- (alle V2) mit der Gruppe SRE+ (alle V2) ergibt sich ein p-Wert von 0,633 und im Vergleich der Gruppe SRE- (V2-Verlauf) mit der Gruppe SRE+ (V2-Verlauf) ist der p-Wert mit 0,442 ebenfalls nicht signifikant. Die hier im Gruppenvergleich nicht eingezeichneten p-Werte des Mann Whitney-U-Tests zeigen ebenfalls keine Signifikanz.

Der Median der Gruppe SRE- (alle V2) unterscheidet sich mit 110,7 ng/ml nicht signifikant von den Medianwerten der Gruppe SRE- (V2-Verlauf) mit 102,9 ng/ml, von der Gruppe SRE+ (alle V2) mit 120,3 ng/ml und von der Gruppe SRE+ (V2-Verlauf) mit 110,4 ng/ml.



Die ICTP-Konzentrationen vor Zoledronsäuretherapie werden in Abbildung 2 dargestellt.

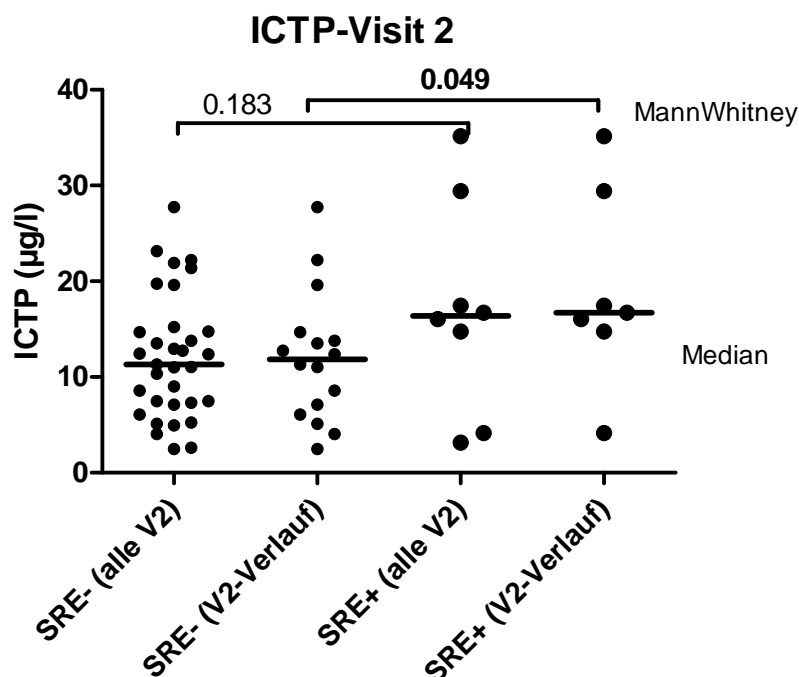


Abbildung 2: ICTP-Werte vor Zoledronsäuregabe bei Patienten mit (+) und ohne (-) SRE

Diese Abbildung zeigt eine signifikante Erhöhung der ICTP-Knochenmarkerausgangswerte vor Zoledronsäuregabe bei den Patientengruppe SRE+ (V2-Verlauf) im Vergleich zur Patientengruppe SRE- (V2-Verlauf) mit  $p = 0,049$ . Jedoch ist keine Signifikanz bei der Gruppe SRE- (alle V2) im Vergleich zur Gruppe SRE+ (alle V2), obwohl diese Gruppen die Patienten „V2-Verlauf“ beinhalten. Der Medianwert der Patientengruppen SRE+ (V2-Verlauf) beträgt 16,7  $\mu\text{g/l}$ . Für die Patientengruppe SRE- (V2-Verlauf) ist der Medianwert der ICTP-Konzentration 11,8  $\mu\text{g/l}$ . Der Medianwert der Patientengruppe SRE+ (alle V2) liegt bei 16,4  $\mu\text{g/l}$ . Bei der Gruppe SRE- (alle V2) wurde ein Median von 11,3  $\mu\text{g/l}$  gemessen.

Die hier im Gruppenvergleich nicht eingezeichneten p-Werte des Mann-Whitney-U-Tests zeigen ebenfalls keine Signifikanz.

In Abbildung 3 sind die bALP-Ausgangswerte vor Zoledronsäuregabe abgebildet.

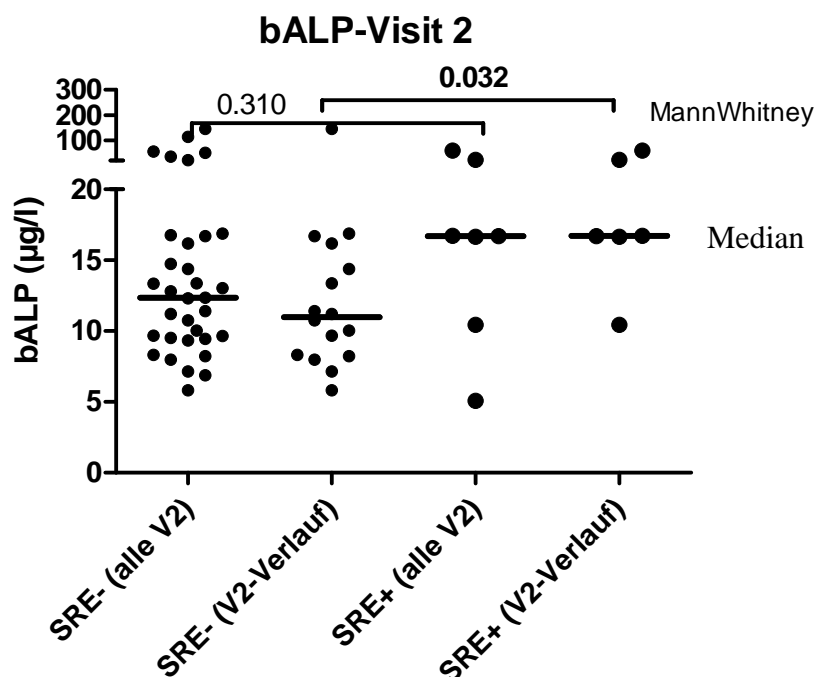


Abbildung 3: bALP-Werte vor Zoledronsäuregabe bei Patienten mit (+) und ohne (-) SRE

Bei den Ausgangswerten von bALP zeigt sich ein signifikanter Unterschied bei der Gruppe der Patienten mit SRE+ (V2-Verlauf) im Vergleich zur Gruppe SRE- (V2-Verlauf) [ $p = 0,032$ ], nicht jedoch Gruppe SRE- (alle V2) im Vergleich zur Gruppe SRE+ (alle V2) [ $p = 0,310$ ]. Obwohl diese Gruppen die Patienten „V2-Verlauf“ beinhalten, ist hier im Gruppenvergleich mittels Mann Whitney-U-Test kein signifikanter Unterschied feststellbar. Der Medianwert der Patienten SRE- (V2-Verlauf) liegt mit  $11 \mu\text{g/l}$  deutlich unterhalb des Medians der Patientengruppe SRE+ (V2-Verlauf) mit  $16,7 \mu\text{g/l}$ . Die Mediane der Patientengruppen mit SRE+ wurden mit  $16,7 \mu\text{g/l}$  (alle V2) und  $16,7 \mu\text{g/l}$  (V2-Verlauf) bestimmt.

Die anderen p-Werte sind im Gruppenvergleich ebenfalls nicht signifikant unterschiedlich.

Abbildung 4 veranschaulicht die tALP-Konzentrationen vor Zoledronsäurebehandlung.

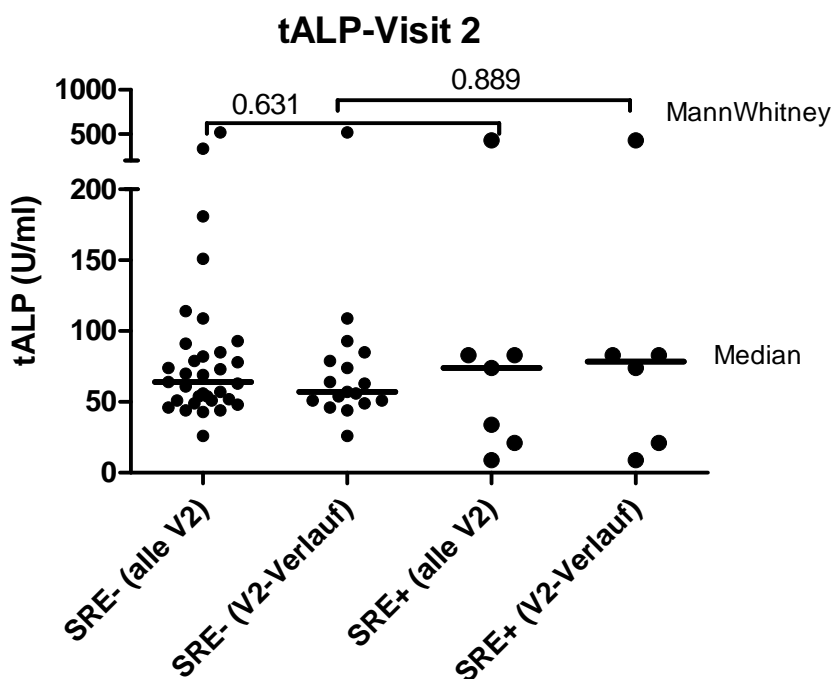


Abbildung 4: tALP-Werte vor Zoledronsäuregabe bei Patienten mit (+) und ohne (-) SRE

Bei der tALP wurde bei dem Median aller 4 Patientengruppen keine signifikanten Unterschiede der einzelnen Gruppen im Vergleich zueinander nachgewiesen. Bei der Gruppe SRE- (alle V2) wurde er mit 64 U/ml, bei der Gruppe SRE- (V2-Verlauf) mit 57 U/ml und bei den Gruppen mit SRE wurden die Medianwerte mit 74 U/ml und 78,5 U/ml gemessen.

Zusammenfassend werden vor Zoledronsäuregabe nur zwei signifikante Unterschiede bei den ICTP- und bALP-Konzentrationen im Gruppenvergleich nachgewiesen. Diese sind bei der Gruppe SRE- (V2-Verlauf) im Vergleich zur Gruppe SRE+ (V2-Verlauf) zu finden. Obwohl diese Patientengruppen in den Gruppen „alle V2“ beinhaltet sind, zeigen alle anderen Gruppenvergleiche keine signifikanten Unterschiede. In der vorliegenden Studie können anhand der Ausgangswerte der gemessenen Knochenmarker keine Aussagen über später im Verlauf auftretende SRE getroffen werden.

## 4.2 Veränderung der Knochenmarkerkonzentrationen unter Zoledronsäure

Bei 23 von 41 Patienten wurden im Abstand von drei Wochen Knochenmarker im Verlauf der Zoledronsäuretherapie bestimmt. Im gesamten Verlauf konnten insgesamt bei 16 Patienten ohne SRE und bei 7 Patienten mit SRE Verlaufswerte ermittelt werden. Zur besseren Übersicht werden die Knochenmarkerkonzentrationen zunächst in Prozent und anschließend in Absolutwerten angegeben. Die prozentualen Medianwerte der Studie wurden mittels Test nach Kruskal und Wallis und Friedmann-Test untereinander verglichen, um die möglichen Unterschiede im Studienverlauf zu beurteilen.

### 4.2.1 Prozentuale Markerkonzentration im Verlauf der Zoledronsäurebehandlung

Zur Veranschaulichung werden in den folgenden Abbildungen die Knochenmarkerkonzentrationen in Prozent angegeben, wobei der individuelle Ausgangswert 100 % entspricht. Die Abweichungen davon werden dargestellt.

Die folgenden Abbildungen 5 und 6 stellen den Verlauf der medianen prozentualen PINP-Konzentrationen bei Patienten ohne SRE und mit SRE dar.

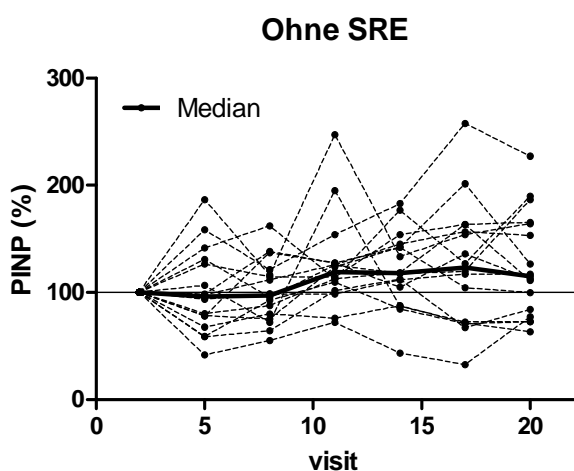


Abbildung 5: PINP-Werte (in % des Ausgangswertes) im Verlauf bei Patienten ohne SRE

100 % = Ausgangswert, n = 16

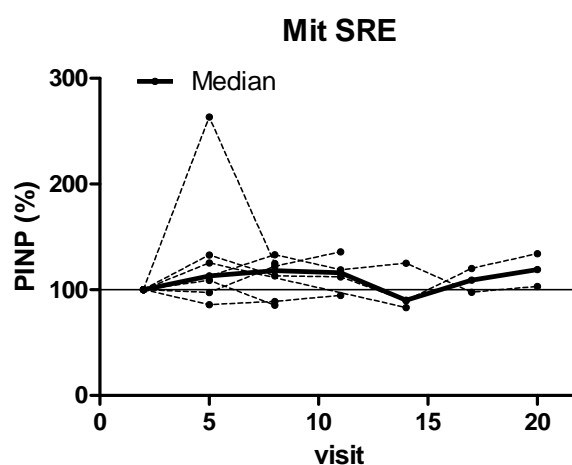


Abbildung 6: PINP-Werte (in % des Ausgangswertes) im Verlauf bei Patienten mit SRE

100 % = Ausgangswert, n = 7

Weder bei der Patientengruppe ohne SRE noch bei der Patientengruppe mit SRE können im Verlauf signifikante Unterschiede der PINP-Konzentrationen im Vergleich zum Ausgangswert

festgestellt werden. Die Berechnung erfolgte mittels Friedmann-Test und Test nach Kruskal und Wallis.

In der Gruppe der Patienten mit SRE ist allerdings zu berücksichtigen, dass nur eine kleine Fallzahl eingeschlossen wurde und gleichzeitig vorzeitige Studienabbrecher vorliegen, so dass eine Übertragung der Ergebnisse nur eingeschränkt möglich ist. Im Test nach Kruskal und Wallis und Friedmann-Test zeigen sich sämtliche prozentualen Änderungen der Medianwerte im Vergleich zum Ausgangswert als statistisch nicht signifikant.

In den Abbildungen 7 und 8 wird der Verlauf der medianen prozentualen ICTP-Konzentrationen bei Patienten ohne und mit SRE veranschaulicht.

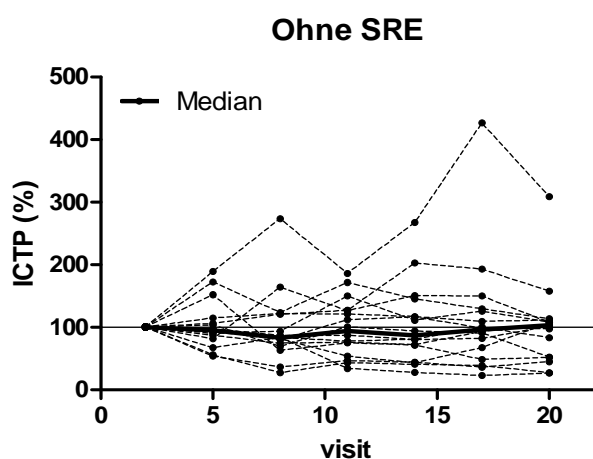


Abbildung 7: ICTP-Werte (in % des Ausgangswertes) im Verlauf bei Patienten ohne SRE

100 % = Ausgangswert,  $n = 16$

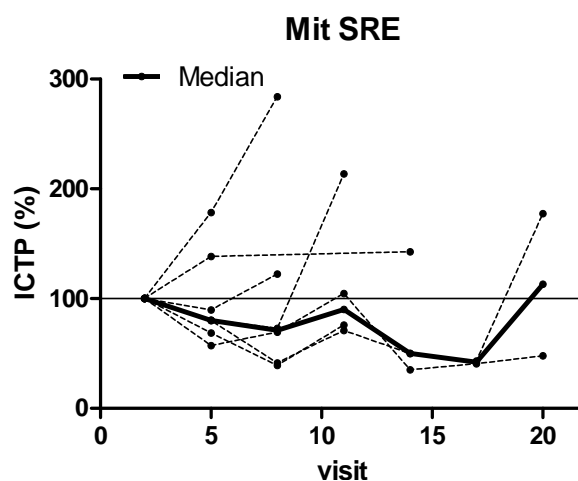


Abbildung 8: ICTP-Werte (in % des Ausgangswertes) im Verlauf bei Patienten mit SRE

100 % = Ausgangswert,  $n = 7$

Bei den ICTP-Werten lassen sich in der Gruppe der Patienten ohne SRE über den gesamten Studienverlauf fast konstante mediane prozentuale ICTP-Konzentrationen im Vergleich zur individuellen Ausgangskonzentration beobachten. Diese Unterschiede sind nach dem Friedmann-Test statistisch nicht als signifikant zu bewerten.

Während bei den medianen prozentualen ICTP-Konzentrationen in der Patientengruppe ohne SRE kaum Schwankungen zu verzeichnen sind, beträgt der Median in der Patientengruppe mit SRE von 41,8 % bis 112,6 %. Da sich in der Patientengruppe mit SRE viele Studienabbrecher

befanden, ist die Übertragung der Ergebnisse aufgrund der geringen Zahl nur eingeschränkt möglich.

Zusammenfassend können im gesamten Studienverlauf bei beiden Patientengruppen keine signifikanten Unterschiede der prozentualen medianen Konzentration von ICTP im Vergleich zum Ausgangswert festgestellt werden.

Die Abbildungen 9 und 10 stellen den Verlauf der medianen prozentualen bALP-Konzentrationen bei Patienten ohne SRE und mit SRE dar.

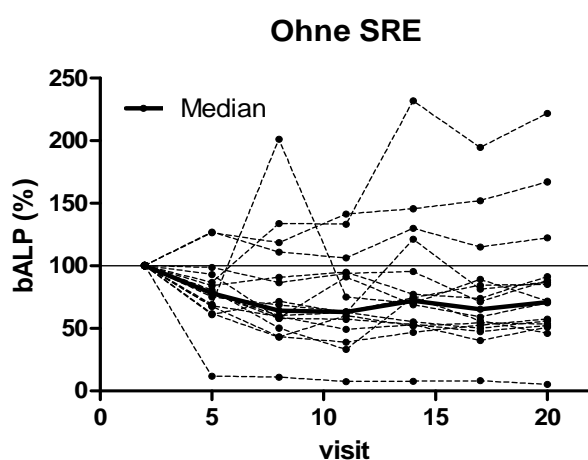


Abbildung 9: bALP-Werte (in % des Ausgangswertes) im Verlauf bei Patienten ohne SRE

100 % = Ausgangswert,  $n = 16$

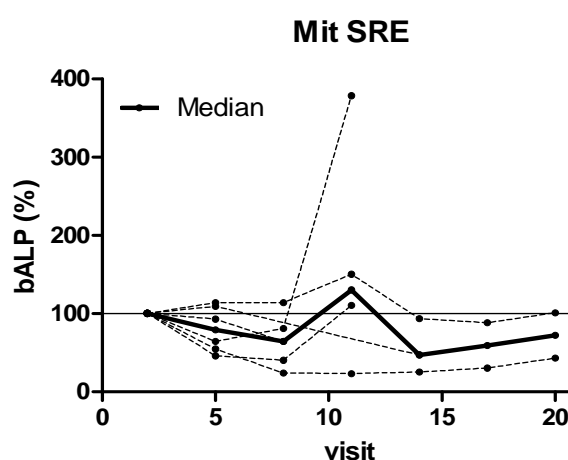


Abbildung 10: bALP-Werte (in % des Ausgangswertes) im Verlauf bei Patienten mit SRE

100 % = Ausgangswert,  $n = 7$

Im Vergleich zu den individuellen Ausgangswerten von bALP können bei der Patientengruppe ohne SRE statistisch signifikante Unterschiede von  $p = 0,019$  bei Visit 11 und von  $p = 0,048$  bei Visit 17 beobachtet werden. Die bALP-Konzentrationen sind zum Zeitpunkt von Visit 11 und von Visit 17 um 63 % und 65,1 % der Baseline-Konzentrationen verringert.

Mit eingeschränkter Beurteilbarkeit (aufgrund der kleinen Fallzahl) erfolgt die Betrachtung des Verlaufs bei den Patienten mit SRE. Der Friedman-Test und Test nach Kruskal und Wallis zeigen, dass sämtliche Abweichungen zur Ausgangskonzentration nicht als signifikant betrachtet werden können.

Zusammengefasst lassen sich zu zwei Zeitpunkten (Visit 11 und Visit 17) bei Patienten ohne SRE signifikante Unterschiede der bALP-Konzentration im Vergleich zur Anfangskonzentration feststellen, jedoch zeigt sich in der Gesamtbetrachtung über den Studienverlauf keine Korrelation zum Auftreten von SRE. Bei der Patientengruppe mit SRE waren keine Unterschiede im Studienverlauf feststellbar.

Die Abbildungen 11 und 12 zeigen den Verlauf der medianen prozentualen tALP-Konzentrationen bei Patienten ohne und mit SRE.

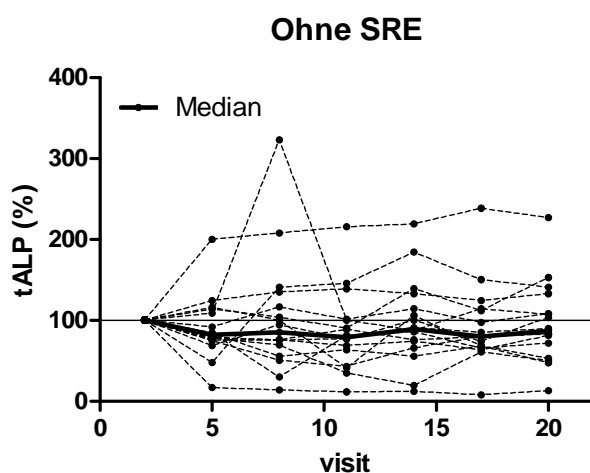


Abbildung 11: tALP-Werte (in % des Ausgangswertes) im Verlauf bei Patienten ohne SRE

100 % = Ausgangswert, n = 16

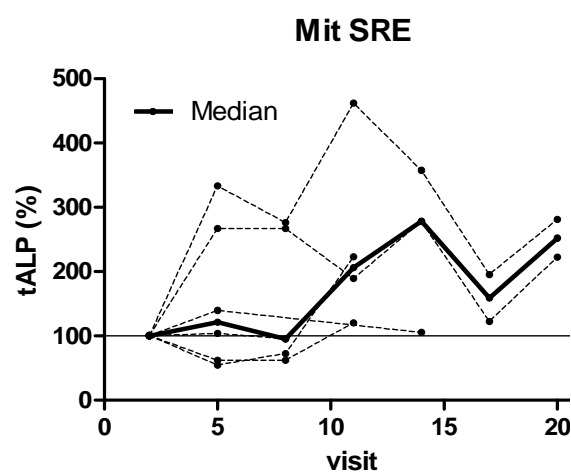


Abbildung 12: tALP-Werte (in % des Ausgangswertes) im Verlauf bei Patienten mit SRE

100 % = Ausgangswert, n = 7

In der Patientengruppe ohne SRE zeigt sich ein relativ konstanter Verlauf der medianen prozentualen tALP-Konzentration, die mit ihren medianen Werten von mindestens 79,2 % bis maximal 89,1 % immer unter den 100 % des Ausgangswertes liegen, jedoch sind keine signifikanten Unterschiede zu beobachten.

Bei eingeschränkter Interpretationsmöglichkeit kam es in der Patientengruppe mit SRE (n = 7) zu starken Streuungen der medianen tALP-Konzentration. Sämtliche Veränderungen sind jedoch im Friedmann-Test und Test nach Kruskal und Wallis als nicht signifikant beschrieben.

#### 4.2.2 Knochenmarker in Absolutwerten im Verlauf der Zoledronsäurebehandlung

Im Folgenden werden die Absolutwerte der Knochenmarker im Verlauf der Zoledronsäurebehandlung dargestellt. Es ergeben sich keine zusätzlichen Bewertungen und Ergebnisse bezüglich der Zielstellung. In den Abbildungen 13 bis 20 werden die individuell gemessenen Absolutwerte der Knochenmarker und deren Abweichungen von den Ausgangswerten dargestellt.

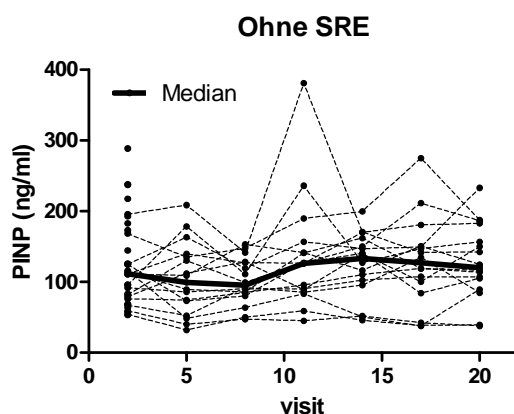


Abbildung 13: PINP-Absolutwerte im Verlauf bei Patienten ohne SRE  
 $n = 16$

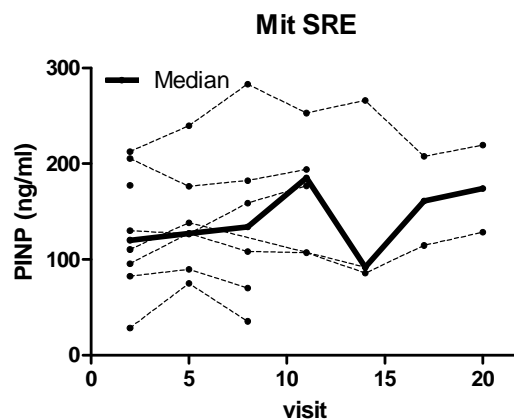


Abbildung 14: PINP-Absolutwerte im Verlauf bei Patienten mit SRE  
 $n = 7$

Im Verlauf der Studie zeigen sich weder bei der Patientengruppe ohne SRE noch bei der Patientengruppe mit SRE statistisch signifikante Unterschiede im Vergleich zu den Ausgangskonzentrationen von PINP.

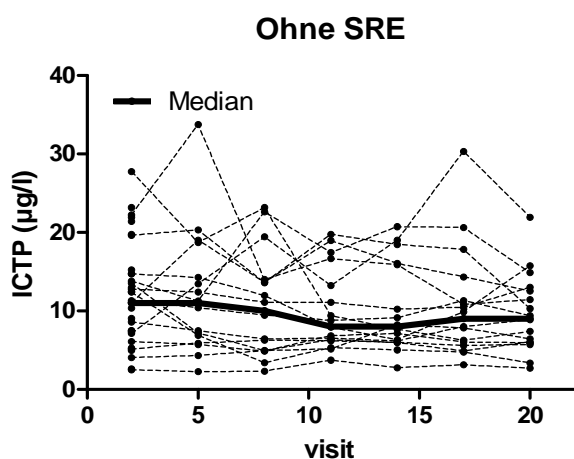


Abbildung 15: ICTP-Absolutwerte im Verlauf bei Patienten ohne SRE  
 $n = 16$

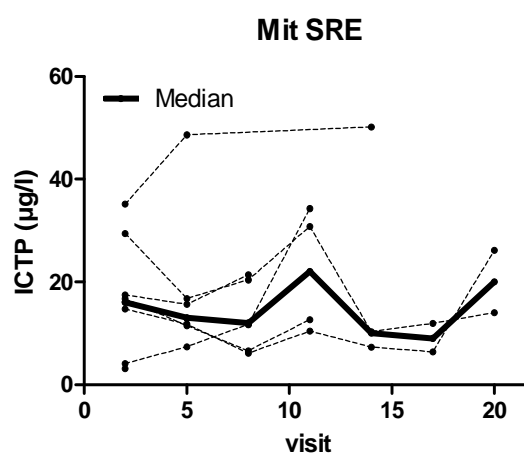


Abbildung 16: ICTP-Absolutwerte im Verlauf bei Patienten mit SRE  
 $n = 7$



Auch bei der ICTP-Konzentration kann in keiner der beiden Patientengruppen im Verlauf statistisch signifikante Unterschiede verglichen mit den Ausgangskonzentrationen festgestellt werden.

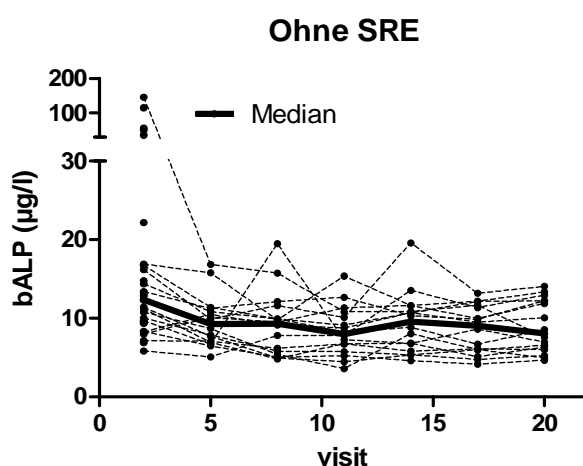


Abbildung 17: bALP-Absolutwerte im Verlauf bei Patienten ohne SRE

$n = 16$

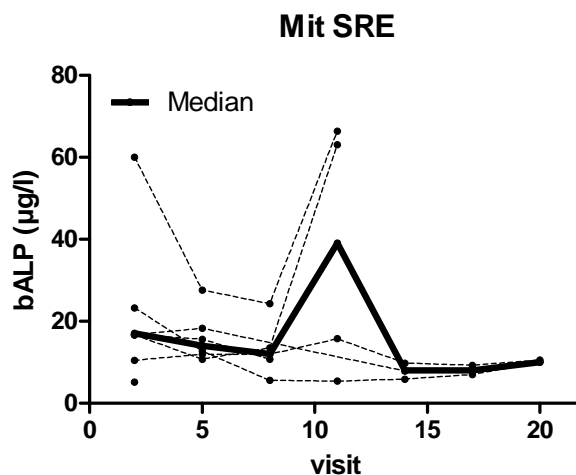


Abbildung 18: bALP-Absolutwerte im Verlauf bei Patienten mit SRE

$n = 7$

Im Vergleich zur Ausgangskonzentration von bALP werden statistische signifikante Unterschiede nur bei den Patienten ohne SRE bei Visit 11 ( $p = 0,019$ ) und bei Visit 17 ( $p = 0,048$ ) beobachtet. Bei den Patienten mit SRE sind keine Unterschiede im Studienverlauf festzustellen.

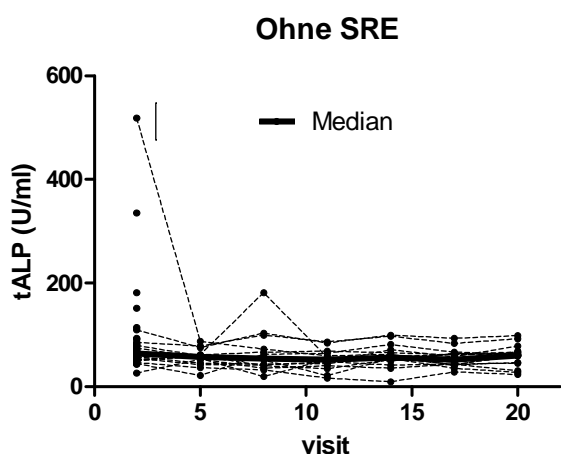


Abbildung 19: tALP-Absolutwerte im Verlauf bei Patienten ohne SRE

$n = 16$

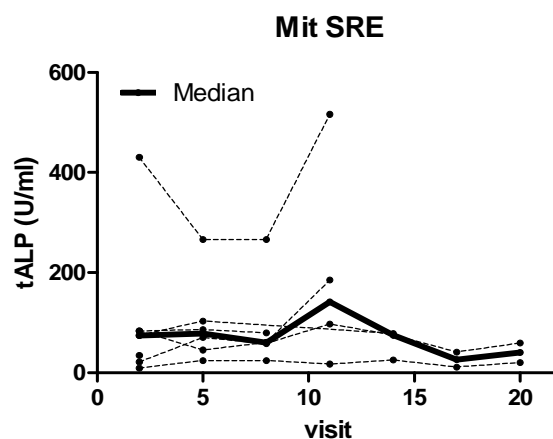


Abbildung 20: tALP-Absolutwerte im Verlauf bei Patienten mit SRE

$n = 7$

In beiden Gruppen können im Verlauf keine statistisch signifikanten Unterschiede der tALP-Konzentration im Vergleich zu den Ausgangswerten beschrieben werden.

---

### **4.2.3 Gesamtbetrachtung der Markerkonzentrationen im Studienverlauf unter Zoledronsäuretherapie**

Zusammengefasst zeigen sich im Vergleich zu den individuellen Ausgangswerten sowohl in Prozent als auch in Absolutwerten bei beiden Patientengruppen mit und ohne SRE im Verlauf der Zoledronsäurebehandlung keine statistisch signifikanten Veränderungen der PINP-, ICTP- und tALP-Konzentrationen. Lediglich die mediane bALP-Konzentration zeigt bei Patienten ohne SRE im Verlauf der Behandlung zu einigen Zeitpunkten statistisch signifikant niedrigere Werte im Vergleich zu den Ausgangswerten. Aber auch hier gibt es insgesamt keinen statistisch signifikanten Zusammenhang zum Auftreten der SRE im weiteren Krankheitsverlauf. Zusammenfassend kann eingeschätzt werden, dass der Markerverlauf dieser Studie nicht mit der Klinik (späteren SRE) korreliert.

Aufgrund der kleinen Fallzahl und der vorzeitigen Studienabbrüchen war eine Interpretation des Verlaufs der Markerkonzentrationen bei allen Knochenmarkern in der Gruppe der Patienten mit SRE nur eingeschränkt möglich.

## 5 Diskussion

Die in der Zielstellung aufgeworfenen Fragen und die Ergebnisse aus Kapitel 4 sollen an dieser Stelle näher diskutiert und in die Gesamthematik eingeordnet werden. Der Nachweis von Knochenmetastasen ist sowohl für die individuelle Prognose als auch für das therapeutische Konzept entscheidend. Durch die in der Klinik eingesetzte Routinediagnostik (Bildgebung und Labor) lassen sich Knochenmetastasen und Metastasenprogression erst mit einer Latenzzeit detektieren und führen deshalb zu verzögerten oder falschen therapeutischen Maßnahmen.

Mit Hilfe von Knochenformations- und Knochenresorptionsmarkern soll in heutigen Studien die klinische Relevanz der frühzeitigen Erkennung von Knochenmetastasen untersucht werden. Es besteht ein großer klinischer Bedarf an nicht-invasiven Parametern als Hilfe bei der Therapiewahl und zur Kontrolle der Therapieeffekte (z. B. bei TKI-Behandlungen).

Um die eigenen Ergebnisse zu analysieren, werden sie mit den Ergebnissen anderer Arbeiten zu Knochenumbau markern bei Knochenmetastasen verglichen. Dabei geht die Diskussion speziell auf die Ergebnisse der in dieser Arbeit untersuchten Knochenmarker PINP, ICTP, tALP und bALP ein. Abschließend werden auch Vergleiche zu Studien bezüglich Serumknochenmarkern bei Patienten mit Knochenmetastasen aufgrund eines Prostata- und Mammakarzinoms gezogen. Die Durchführung von Studien zu dieser Thematik wird dadurch erschwert, dass die Studien bei vielen Patienten nicht bis zum Zielpunkt fortgesetzt werden, sobald SRE eintreten. Aufgrund des Krankheitsprogresses reduziert sich der Allgemeinzustand der Patienten, was zum vorzeitigen Abbruch der Studie oder zum vorzeitigen Ausscheiden führt. Insgesamt gibt es zu diesem Thema bisher relativ wenige Arbeiten mit geringen Patientenzahlen, so dass die Datenlage derzeit sehr begrenzt ist.

## **5.1 Diagnostische und prognostische Eignung der Knochenmarker beim metastasierten NZK**

Das NZK bildet überwiegend osteolytische Knochenmetastasen. Zur Diagnostik wird derzeit als Goldstandard die Knochenszintigraphie verwendet. Sie liefert noch immer keine zufriedenstellenden Ergebnisse, denn im Gegensatz zu den osteoblastischen Knochenmetastasen, die szintigraphisch gut darstellbar sind, können osteolytische Knochenläsionen nur schlecht mittels Skelettszintigraphie visualisiert werden. Zusätzlich zum positiven Befund in der Knochenszintigraphie wird zur Bestätigung des Befundes oft eine konventionelle Röntgenaufnahme angefertigt. Sohaib et al. konnten in ihrer Arbeit die Überlegenheit des Ganzkörper-MRT gegenüber der Knochenszintigraphie beim NZK und Knochenmetastasen belegen. Während die Knochenszintigraphie die Knochenmetastasen mit einer Sensitivität von 62 % detektierte, wurden sie vom MRT mit einer Sensitivität von 94 % erkannt ( $p = 0,007$ ). Die Spezifität lag bei beiden Verfahren mit 94 % und 97 % in einem sehr guten Bereich (Sohaib et al. 2009). Staudenherz et al. kamen in ihrer Arbeit zu dem Ergebnis, dass die Knochenszintigraphie ein ungeeignetes Verfahren zur Detektion von osteolytischen Knochenmetastasen beim NZK darstellt (Staudenherz et al. 1999). Daher ist es ersichtlich, dass ein klinischer Bedarf an Markern besteht, die sensitiver bei der Detektion von ossären Metastasen beim NZK sind. In der vorliegenden Studie soll die Eignung von Knochenbauproteinen diesbezüglich untersucht werden.

Ein wichtiger Punkt ist, dass die erhobenen Knochenmarker ausschließlich aus dem Serum und nicht aus dem Urin gewonnen wurden. Dies hat sowohl präanalytische als auch analytische Ursachen. Blutproben lassen sich zuverlässiger sammeln als Urinproben. Außerdem unterliegt der Urin sich variierenden Faktoren (unterschiedliche Osmolarität, pH-Wert, Diurese) und könnte aus diesem Grund die Stabilität verschiedener Marker negativ beeinflussen. Vor allem bei älteren Patienten stellt diese Urinvariabilität eine hohe Fehlerquelle dar. Um valide Ergebnisse bei der Knochenmarkermessung zu erhalten, ist es wichtig, die Abweichungen so gering wie möglich zu halten.

Da in dieser Studie nur Patienten mit nachgewiesenen Knochenmetastasen bei NZK eingeschlossen wurden und keine Kontrollgruppe ohne Knochenmetastasen untersucht wurde, kann man die Ergebnisse der Knochenmarkeraktivität nicht direkt mit den Ergebnissen anderer Studien vergleichen. Jedoch kann man davon ausgehen, dass bei Patienten, bei denen im weiteren Verlauf SRE auftreten, die Knochenmarker sich durch den pathologischen Knochenstoffwechsel

verändern, genauso wie eine Veränderung der Knochenmarkeraktivität bei der Entwicklung von Knochenmetastasen beobachtet werden kann.

Bei der tALP handelt es sich um einen unspezifischen und von vielen Einflussfaktoren abhängigen Parameter, der bei pathologischen Leberprozessen zu einer falsch positiven Diagnose führen kann. Kriteman et al. führten in ihrer Arbeit an, dass die tALP ein unzuverlässiger Marker für die Diagnostik von Knochenmetastasen beim NZK darstellt. Um eine Korrelation zwischen Knochenmetastasen beim NZK und der tALP zu überprüfen, wurden zwei Kohorten von Patienten (539 und 184 Patienten) untersucht, deren Knochenmetastasen mittels Bildgebung nachgewiesen wurden. In der zweiten Patientengruppe wurden zusätzlich Informationen über Knochenschmerzen erfasst. Der Normbereich der tALP wurde von 111 U/L bis 141 U/L festgelegt. Bei der ersten Gruppe blieben 72 % der Patienten mit Knochenmetastasen unterhalb der oberen Normgrenze der tALP, in der zweiten Kohorte blieben 86 % der Patienten im Normbereich für die tALP. Aus dieser Studie resultierte, dass tALP kein sensitiver Indikator für Knochenmetastasen beim NZK darstellt (Kriteman et al. 1998).

Die Ergebnisse von Kriteman et al. entsprechen auch den in der vorliegenden Studie ermittelten Ergebnissen. Bei der Patientengruppe mit SRE waren keine erhöhten Werte für die tALP feststellbar (weder vor Zometa®-Therapie noch im Verlauf der Behandlung). Auch über den Studienverlauf zeigten sich unter Zoledronsäuretherapie keine signifikanten Veränderungen im Vergleich zu den Ausgangswerten. Die in dieser Arbeit festgestellte beschränkte Aussagekraft der tALP zur Beurteilung von Knochenmetastasen beim metastasierten NZK stimmt mit den Ergebnissen von Kriteman et al. überein

Um die diagnostische und prognostische Wertigkeit von Serumknochenmarkern bei Patienten mit NZK und ossären Metastasen zu untersuchen, testeten Jung et al. verschiedene Marker der Knochenformation (tALP und bALP) und Marker der Knochenresorption (Tartrat-resistente Saure Phosphatase Isoenzym 5 b und N-Terminal Crosslink) bei 72 Patienten mit NZK (28 Patienten mit pN0 M0, 8 mit pN1 M0 und 36 mit M1) und einer Kontrollgruppe von 68 Patienten (32 weiblich, 36 männlich). Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede der Knochenmarkerkonzentrationen zwischen den Patienten mit und ohne Knochenmetastasen. Das Ergebnis dieser Studie war, dass keiner der Knochenmarker geeignet war, um zwischen Patienten mit und ohne ossären Metastasen beim NZK zu differenzieren (Jung et al. 2006).

Die Ergebnisse von Jung et al. können in der vorliegenden Arbeit hinsichtlich der Aussagekraft zum Auftreten von SRE bestätigt werden. Denn obwohl bei den ICTP- und bALP-

Konzentrationen höhere Ausgangswerte vor Zoledronsäuregabe bei den Patientengruppen SRE+ (V2-Verlauf) im Vergleich zu den Gruppen SRE- (V2-Verlauf) bestimmt wurden, können keine Rückschlüsse auf das spätere Eintreffen von SRE gezogen werden.

Auf der Suche nach geeigneten diagnostischen Markern führten Ramankulov et al. eine Studie durch, in der neben Osteopontin (OPN) auch die Serumknochenmarker bALP und ICTP bei 80 Patienten mit NZK und einer gesunden Kontrollgruppe (52 Patienten) bestimmt wurden. Die Karzinompatienten wurden in drei Gruppen unterteilt: 32 Patienten mit pN0 M0, 11 Patienten mit pN1 M0 und 37 Patienten mit Fernmetastasen M1 (davon 17 mit und 20 ohne Knochenmetastasen). Aus dieser Studie resultierte, dass die bALP bei allen Gruppen keine Unterschiede zeigte. Die Serumwerte für OPN und ICTP waren bei den beiden Patientengruppen mit Fernmetastasen (pN1 M0 und M1) signifikant erhöht ( $p < 0,001$ ) im Vergleich zur Gruppe ohne Metastasennachweis und zur Kontrollgruppe. Allerdings konnte anhand der ICTP-Konzentration nicht zwischen ossärem und nicht-ossärem Metastasenbefall differenziert werden. Für Osteopontin wurde eine gute Sensitivität als potentieller Marker zur Diagnostik von Metastasen und als Prädiktor zum Gesamtüberleben bei Patienten mit metastasiertem NZK erzielt (Ramankulov et al. 2007).

Im Vergleich zu der vorliegenden Arbeit zeigt die Patientengruppe mit späteren SRE [SRE+ (V2-Verlauf)] zwar eine signifikant höhere ICTP-Ausgangskonzentration im Vergleich zur Patientengruppe ohne spätere SRE [SRE- (V2-Verlauf)]. Jedoch sind diese Ergebnisse nicht zur Prädiktion von SRE geeignet, da die Patienten der Gruppe „V2-Verlauf“ in der Patientengruppe „alle V2“ vertreten sind und die Gruppe SRE+ (alle V2) keine signifikante Erhöhung der Ausgangswerte im Vergleich zur Gruppe SRE- (alle V2) aufweist. Aufgrund der geringen Fallzahl lässt sich in der vorliegenden Studie eine Korrelation zum späteren Krankheitsverlauf nicht sicher nachweisen oder ausschließen. Jedoch kann die Vermutung gestellt werden, dass eine erhöhte ICTP-Ausgangskonzentration auf Knochenmetastasen und das spätere Eintreten von SRE hinweist.

Das Verhalten von PINP bei Patienten mit NZK und ossären Metastasen wurde in einer Studie von Klepzig et al. genauer untersucht. Dabei standen folgende Fragen im Mittelpunkt: Ist anhand der Konzentration von PINP eine frühe Detektion von Knochenmetastasen möglich? Und lässt sich der Erfolg einer TKI- oder Chemotherapie mittels des Knochenmarkers PINP kontrollieren? Dazu wurden 36 Patienten mit histologisch gesichertem NZK (24 Patienten ohne Knochenmetastasen, sechs Patienten mit Knochenmetastasen und sechs Patienten mit

Knochenmetastasen und mit Sorafenib-Therapie) untersucht. Bei der Gruppe der Patienten mit Knochenmetastasen waren signifikant höhere PINP-Werte messbar als bei den beiden anderen Gruppen ( $p \leq 0,001$ ). Der Median von PINP lag bei den Patienten mit ossärer Metastasierung bei 396,10 ng/ml, während er bei den Patienten ohne Nachweis von Knochenmetastasen bei 35,53 ng/ml lag. Bei der Patientengruppe mit Metastasen und Sorafenib-Therapie sanken die PINP-Konzentrationen sogar auf ein Niveau ab, das unter dem Median für das Patientenkollektiv ohne maligne Knochenveränderungen lag (Median: 28,96 ng/ml). Dabei blieben die Werte der tALP unter Therapie mit Sorafenib unterhalb der oberen Normgrenze. Der Knochenmarker PINP war der tALP in Spezifität und Sensitivität überlegen.

Die Arbeitsgruppe von Klepzig et al. untersuchte in anderen Arbeiten den Marker PINP auch bei Patienten mit metastasiertem Prostatakarzinom. Zusammenfassend lassen diese Ergebnisse vermuten, dass anhand von PINP die Detektion von Knochenmetastasen möglich ist und die Erfolge einer Chemotherapie in Bezug auf den Regress eines pathologischen Knochenmetabolismus bei ossären Metastasen überwacht werden können (Klepzig et al. 2008).

Bei den im Rahmen dieser Arbeit erhobenen Daten lassen sich für PINP diese Ergebnisse leider nicht in Bezug auf die Wertigkeit von PINP zur Beurteilung von SRE bestätigen. Die anfänglich gemessenen PINP-Konzentrationen unterschieden sich nicht signifikant bei den Patientengruppen mit und ohne SRE. Auch im Verlauf der Zoledronsäuretherapie waren keine signifikanten Veränderungen zum Ausgangswert feststellbar. Jedoch ist dies sicherlich ein interessanter Ansatz für weitere Studien, die auf dieses Thema genauer eingehen und auch größere Patientenzahlen einschließen sollten.

## 5.2 Beurteilung des Behandlungseffektes von Zoledronsäure anhand der Knochenmarkeraktivität

Der positive Effekt von Zoledronsäure bei Knochenmetastasen aufgrund eines NZK konnte schon anhand mehrerer Studien gezeigt werden. Tunn et al. zeigten in ihrer Arbeit, dass bei Patienten mit NZK und Knochenmetastasen ein bis zu 74 %-iges Risiko für das Erleiden von SRE vorliegt. Durch eine 12 monatige Zoledronsäuretherapie konnte die SRE-Rate auf 26 % gesenkt und eine tumor-induzierte Hyperkalzämie verhindert werden (Tunn et al. 2009). Die Effektivität von Zoledronsäure bei Patienten mit ossär metastasiertem NZK wurde bestätigt und die Therapie mit Zometa® wurde von den Patienten gut toleriert (Tunn et al. 2012).

In einer Übersichtsarbeit von Saad und Eastham wurden die Vorteile einer Zoledronsäurebehandlung bei Patienten mit NZK und ossären Metastasen auf vielfältige Weise dargelegt (Saad et al. 2010). Die Zoledronsäure wirkt osteoprotektiv und reduziert das Risiko von SRE im Vergleich zur Placebogruppe. Zusätzlich verlängert sie das Zeitintervall bis zum Auftreten des ersten SRE und vermindert die Knochenschmerzen, was erheblich zur Verbesserung der Lebensqualität der Patienten beiträgt. Desweiteren verhindert sie eine Tumorprogression und verlängert das Gesamtüberleben der Patienten. Es konnte gezeigt werden, dass Patienten mit Knochenmetastasen beim NZK von einer Kombinationstherapie, bestehend aus Zoledronsäure mit Radiotherapie, mit Sunitinib oder mit Interferon  $\alpha$  zusätzlich profitieren. Ebenfalls wird die Therapie von Zoledronsäure beim metastasierten NZK aus ökonomischer Sicht befürwortet, da durch ihren Einsatz eine hohe Kosteneffizienz und damit Kostenersparnis im Gesundheitssystem zu erwarten ist (Saad et al. 2010).

Zur Überwachung einer Bisphosphonattherapie bei Patienten mit ossären Metastasen und NZK wurden in Studien geeignete biochemische Parameter untersucht. Über den aus dem Urin gewonnenen Knochenmarker NTX wurden bisher einige Studien veröffentlicht, die eine Korrelation der Knochenmarkerkonzentration mit dem Ausmaß des Knochenbefalls beschrieben (Saad et al. 2010).

Es wurden auch Studien zur Kombinationstherapie von Zoledronat mit Statinen (Fluvastatin und Atorvastatin) durchgeführt. Aufgrund der geringen Patientenzahl konnte jedoch keine statistische Signifikanz erreicht werden (Manoukian et al. 2011).

Bisher ist die vorliegende Studie jedoch die einzige Studie, bei der die Knochenmarkeraktivität von tALP, bALP, PINP und ICTP während der Zoledronsäuretherapie bei Patienten mit NZK und Knochenmetastasen gemessen wurden. Während die Serumknochenmarker tALP, PINP und ICTP keine statistisch signifikanten Unterschiede im Vergleich zu den Ausgangskonzentrationen



erkennen ließen, zeigte lediglich die bALP-Konzentration bei Patienten ohne SRE an zwei Punkten im Verlauf der Zoledronatbehandlung eine statistische signifikante Verringerung verglichen mit dem Ausgangswert. Diese Tendenz lässt sich auch bei den Patienten mit SRE erkennen, denn auch in dieser Gruppe kommt es über den gesamten Studienverlauf zum Abfall der bALP-Konzentration, der jedoch nicht signifikant ist.

Die beobachtete Verringerung der Knochenmarkerkonzentration unter Zoledronsäure bei Knochenmetastasen wurde in Studien über andere Tumorentitäten ähnlich beschrieben. In einigen Studien zu Knochenmetastasen bei Prostatakarzinom konnte ebenfalls eine Verringerung der Knochenmarkerkonzentrationen bei Patienten ohne SRE unter Zoledronsäuretherapie im Vergleich zur Patientengruppe mit SRE (Lein et al. 2007 und 2009, Jung et al. 2011) gezeigt werden. Diese Ergebnisse wurden bei Patienten mit ossär metastasiertem Prostatakarzinom durch eine japanische Arbeitsgruppe bekräftigt (Kouji et al. 2012).

### **5.3 Vergleich mit Knochenmarkern bei Knochenmetastasen des Prostatakarzinoms**

Das Prostatakarzinom (PCA) ist mit etwa 63440 Neuerkrankungen pro Jahr der häufigste maligne Tumor des Mannes in Deutschland (Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland, 2012). Aufgrund des demographischen Wandels und durch die verbesserte Diagnostik bei der Früherkennung steigt die Inzidenz an. Bei über 80 % der Patienten mit fortgeschrittenem Prostatakarzinom sind Knochenmetastasen nachweisbar. In absteigender Reihenfolge sind die Lendenwirbelsäule, der Femur, das Becken, die Brustwirbelsäule über den vertebralen Plexus und die Rippen betroffen. Bei Knochenmetastasen beträgt die mediane Überlebenszeit ca. 3 Jahre (Bubendorf et al. 2000, Carlin et al. 2000, Eaton et al. 2003, Saad et al. 2004).

Knochenmetastasen werden meist klinisch durch Schmerzen, Rückenmarkskompressionen und pathologischen Frakturen symptomatisch. Da beim Prostatakarzinom eine Reihe von Therapieoptionen zur Verfügung stehen, sollte vor jeder Therapiewahl eine für jeden Patienten individuelle Entscheidung getroffen werden. Zur Linderung der Schmerzsymptomatik können neben einer Analgetikatherapie auch die Applikation von Radionukliden, die Chemotherapie, die Bisphosphonattherapie und die lokale Radiatio (insbesondere bei Frakturgefährdung und drohendem Querschnittssyndrom) eingesetzt werden.

Aufgrund der Früherkennung durch die Bestimmung des Tumormarkers prostataspezifisches Antigen (PSA) steigt die Anzahl der Prostatakarzinome in frühen Stadien. Deshalb werden heute nur 10 % der Männer mit Prostatakarzinom symptomatisch und nur 3 % versterben daran (Bott et al. 2003).

Bei der Früherkennung von Knochenmetastasen zur Detektion von Mikrometastasen im Skelett sind jedoch sowohl die PSA-Bestimmung als auch die Bildgebung mit "Goldstandard Knochenszintigraphie" deutlich limitiert. Zum einen können falsch negative PSA-Werte bei Patienten nach chirurgischer oder strahlentherapeutischer Behandlung gemessen werden. Zum anderen ist die Spezifität des PSA für Knochenmetastasen gering, da es auch zum PSA-Anstieg bei Karzinomrezidiven und viszerale Metastasen kommt. Steigende PSA-Werte signalisieren den Karzinomprogress allgemein, wobei keine Diskriminierung zu Knochenmetastasen möglich ist.

Aus diesen Gründen wurden Studien durchgeführt, die aufzeigen, dass Knochenmarker subtile Veränderungen des Knochenmetabolismus bei der Formation und Resorption des Knochens bei Metastasierungsvorgängen im Serum reflektieren und somit dem behandelnden Arzt eine wichtige Hilfe bei der Therapieentscheidung und bei der Patientenaufklärung bieten können.

Die derzeitige Datenlage zur klinischen Anwendung von Serumknochenmarkern ist bei Patienten mit ossär metastasiertem NZK sehr heterogen und es werden noch keine eindeutigen Vorteile für Verwendung von Knochenmarkern im klinischen Alltag beschrieben. Während die Anzahl der durchgeführten Studien und die Patientenzahl beim metastasierten NZK noch gering sind, wurden beim metastasierten Prostatakarzinom schon deutlich mehr Untersuchungen durchgeführt. Zur Prädiktion und Verlaufskontrollen von SRE bei Patienten mit ossär metastasiertem Prostatakarzinom wurde in mehreren Studien untersucht, ob es zu Veränderungen der Serumwerte für Knochenmarker bei neu auftretenden SRE kommt und diese somit als Prädiktoren für SRE genutzt werden können.

Bei einer multizentrischen Studie wurden 117 Patienten mit Prostatakarzinom und Knochenmetastasen unter Zoledronsäuretherapie auf SRE untersucht und Knochenmarkerbestimmungen durchgeführt (Lein et al. 2009). 56 Patienten wiesen im Verlauf SRE auf und bei 61 Patienten wurden keine SRE beobachtet. Unter anderem wurden tALP, bALP, ICTP und PINP alle drei Monate vor und nach Zometa®-Behandlungsbeginn für insgesamt 15 Monate aus dem Serum bestimmt. Bei der Patientengruppe mit SRE konnten höhere Ausgangswerte aller Knochenmarker beobachtet werden. Während des Studienverlaufs zeigten die Knochenmarker bei den Patienten ohne SRE einen größeren Abfall als bei den Patienten mit SRE. Zu jedem Untersuchungszeitpunkt wurden ansteigende Serumkonzentrationen der Knochenmarker bei der Patientengruppe mit SRE im Vergleich zur Gruppe ohne SRE beobachtet. Als beste Marker zum Therapiemonitoring unter Zoledronsäure und zur Beurteilung der Progression stellten sich PINP und ICTP heraus (Lein et al. 2009).

Brown et al. führten eine Arbeit durch, in der bei Patienten mit Prostatakarzinom, nicht-kleinzelligem Lungenkarzinom und anderen soliden Tumoren mit Knochenmetastasen unter anderem die Serumwerte für bALP alle drei Monate bestimmt wurden. Daraus resultierte, dass bei denjenigen Patienten aus der Prostatakarzinomgruppe ( $n = 203$ ), bei denen ein signifikant höheres Risiko für das Auftreten eines SRE bestand (relatives Risiko 1,85;  $p = 0,012$ ) höhere bALP-Werte messbar waren als bei den Patienten mit niedrigeren bALP-Werten (Brown et al. 2005).

In einer japanischen Studie wurden bei 30 Patienten mit Prostatakarzinom und Knochenmetastasen die Knochenmarker ICTP und bALP im Serum alle vier Wochen nach Beginn der Zoledronsäurebehandlung untersucht. Einmal pro Monat erhielten die Patienten eine Infusion mit 4 mg Zometa®. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass das SRE-freie Überleben signifikant schlechter bei jenen Patienten war, die einen Anstieg von ICTP (nach einem und drei Monaten) und von bALP (nach 3 Monaten) aufwiesen [ $p = 0,001$ ;  $p = 0,042$ ;  $p = 0,004$ ] (Kouji et al. 2012).

Bereits 1999 veröffentlichte die Arbeitsgruppe von Koga et al. eine Studie, bei der sich ICTP als verlässlicher Marker zur Indikation von ossären Metastasen beim Prostatakarzinom herausstellte. Dabei waren die Serumkonzentrationen von ICTP bei Patienten mit Knochenmetastasen signifikant höher als bei den Patienten ohne Knochenmetastasen oder bei den Patienten mit einer BPH ( $p < 0,0001$ ). Zusätzlich war ein Abfall der Serumwerte für ICTP als Monitor zum Ansprechen der Hormontherapie zu beobachten (Koga et al. 1999).

Bei Kamiya et al. wurden unter anderem die Serumwerte von bALP, tALP und ICTP von 222 Patienten bestimmt. Von diesen 222 Patienten lagen bei 58 Patienten Knochenmetastasen vor, 57 Patienten waren an einem Prostatakarzinom erkrankt und befanden sich im Tumorstadium T2 M0, 55 Patienten im Tumorstadium T3 M0. Bei 52 Patienten lag keine Prostatakarzinomerkrankung vor. Aus dieser Studie resultierte, dass bei allen Patienten mit Knochenmetastasen signifikant erhöhte Serumwerte für bALP, tALP und ICTP vorlagen. Die Höhe dieser Werte korrelierte mit der Metastasenausbreitung im Skelettszintigramm. Unter den Markern stellte sich ICTP als der zuverlässigste Prädiktor von Knochenmetastasen heraus (Kamiya et al. 2010).

Koizumi et al. führten eine Untersuchung von 40 Patienten ohne und 25 Patienten mit Knochenmetastasen bei Prostatakarzinom durch, bei der verschiedene Knochenmarker bestimmt wurden. Es waren signifikant höhere Konzentrationen von PINP, bALP und ICTP bei Patienten mit Knochenmetastasen als bei Patienten ohne Knochenmetastasen zu beobachten, wobei PINP am meisten mit der Tumorausbreitung korrelierte und zur Unterscheidung von Patienten mit und ohne Knochenmetastasen herangezogen werden konnte (Koizumi et al. 2001).

Diese Daten stehen im Einklang mit den Ergebnissen von De la Piedra et al., die mit Hilfe von PINP eine komplette Separierung der Patientengruppen mit und ohne Knochenmetastasen mit einer 100-prozentigen Sensitivität und Spezifität durchführen konnten. Bei dieser Arbeit wurden 67 Patienten eingeschlossen, von denen bei 21 Patienten eine BPH, bei 31 Patienten ein Prostatakarzinom ohne Knochenmetastasen und bei 15 Patienten ein Prostatakarzinom mit Knochenmetastasen vorlag. Unter anderem wurde PINP und ICTP untersucht. Dabei war zu beobachten, dass alle Knochenmarkerkonzentrationen bei der Patientengruppe mit Metastasennachweis erhöht waren (De la Piedra et al. 2003).

Die gleiche Beobachtung in Bezug auf PINP bestätigte auch die Arbeitsgruppe von Klepzig et al. 2009. In dieser Arbeit wurden 100 Patienten in 3 Gruppen unterteilt: 32 Patienten mit BPH, 68 Patienten mit Prostatakarzinom, davon 38 ohne und 30 Patienten mit Knochenmetastasen. Während die Patienten ohne bestätigte Knochenmetastasen und BPH normwertige PINP-Konzentrationen aufwiesen, waren bei der Gruppe der Patienten mit diagnostizierten Skelettmetastasen signifikant höhere PINP-Konzentrationen nachweisbar ( $p < 0,001$ ). Daraus

wurde abgeleitet, dass PINP ein zuverlässiger Prädiktor für das Vorhandensein von Knochenmetastasen darstellt (Klepzig et al. 2009).

Um Hinweise auf eine Progression der Skelettmetastasen wurde bei Patienten mit Prostatakarzinom bisher üblicherweise Routinelaborparameter wie Hämoglobin, LDH und PSA im Serum bestimmt. Durch die Bestimmung charakteristischer Serumknochenmarker wurde die Möglichkeit von genaueren und schnelleren Informationen über die Veränderung im Knochenstoffwechsel eröffnet.

Da bei dem Prostatakarzinom sowohl Knochenresorptions- als auch Knochenformationsprozesse eine Rolle spielen, bestimmte die Arbeitsgruppe von Lein et al. sowohl Marker der Knochenformation als auch der Knochenresorption. Im Rahmen einer Multizenterstudie, in der die Wirksamkeit von Zoledronsäure auf die Knochenmetastasierung untersucht wurde, wurden parallel sechs Knochenmarker (tALP, bALP, ICTP, PINP, CTX und NTX) im Serum von Patienten mit Prostatakarzinom und Knochenmetastasen gemessen. Innerhalb des Beobachtungszeitraums erlitten 50 Patienten einen Progress der Knochenmetastasierung und bei 27 Patienten wurde keine Progression festgestellt. Die Ausgangswerte der Knochenmarker im Serum waren in beiden Gruppen ähnlich. Im weiteren Verlauf wiesen die Patienten mit gesichertem Knochenmetastasenprogress signifikant höhere Konzentrationen von tALP, bALP, ICTP und PINP auf als die Patienten mit einer stabilen oder sich verbessernden Situation der Knochenmetastasen. Da es nach Zoledronsäure zum Abfall von bestimmten Knochenmarkern (mit Ausnahme von ICTP) kam, schlussfolgerten die Autoren, dass selektive Knochenmarker den Effekt der Bisphosphonattherapie anzeigen können und damit eine Therapieoptimierung (Fortsetzung oder Beenden) möglich ist. Dies ist vor allem deshalb von Bedeutung, da Zometa® nicht für alle Patienten mit Prostatakarzinom effektiv ist und die Dauer des Therapieeffektes ungeklärt ist. Allerdings wird darauf hingewiesen, dass die Studie nicht zur Beantwortung dieser Fragen ausgelegt wurde und eine abschließende Antwort diesbezüglich anhand dieser Studienlage nicht gegeben werden kann (Lein et al. 2007, Jung et al. 2011).

Ähnliche Ergebnisse konnten in Bezug auf das Verhalten von Knochenmarkern beim Progress der Skelettmetastasen auch in der Arbeitsgruppe von Koopmans et al. 2007 bestätigt werden. Zwischen 1999 und 2004 wurden Serumproben von insgesamt 64 Patienten mit Prostatakarzinom gewonnen. Die Patienten wurden in folgende drei Gruppen eingeteilt: Patienten ohne Metastasennachweis (N0 M0), Patienten mit Lymphknotenmetastasen (N1 M0) und Patienten mit Skelettmetastasen (M1). Im Vergleich zu den Ausgangswerten zeigten sich ansteigende Konzentrationen von PINP bei den Patienten der N1 M0- und M1-Gruppen ( $p = 0,035$ ;  $p < 0,001$ )

während bei der N0 M0-Gruppe kein Anstieg zu verzeichnen war. Erhöhte PINP-Werte konnten bei den Patienten mit Knochenmetastasen bereits acht Monate vor dem ersten positiven Skelettszintigramm festgestellt werden. Auch bei den ICTP-Werten kam es in der Patientengruppe mit Metastasen zu einem deutlichen Anstieg (Koopmans et al. 2007).

Diese Erkenntnisse über PINP als Prädiktor für erste Knochenmetastasen und prognostischer Faktor für die Metastasenprogression konnten auch durch die Arbeitsgruppe von Thuraiarja belegt werden (Thuraiarja et al. 2006).

Ramankulov et al. untersuchten in ihrer Arbeit ONP, bALP und PINP an 90 Prostatakarzinom-Patienten mit und ohne Knochenmetastasen, 35 Patienten mit BPH und 29 Gesunden und kamen zu ähnlichen Ergebnissen hinsichtlich der Wertigkeit von Knochenmarkern als diagnostische und prognostische Marker (Ramankulov et al. 2007).

Die Arbeitsgruppe von Cook et al. führte eine große Multizenterstudie mit 643 Patienten durch, die alle unter Zoledronsäuretherapie bei skelettmetastasiertem hormonrefraktärem Prostatakarzinom standen. Höhere Serumwerte für bALP waren mit einem kürzeren Gesamtüberleben der Patienten assoziiert (Cook et al. 2006).

Es konnte also vielfach demonstriert werden, dass Serumknochenmarker sinnvolle Instrumente zur Prädiktion von SRE bei Patienten mit Prostatakarzinom und Knochenmetastasen unter laufender Zoledronsäuretherapie darstellen. Durch Knochenmarker könnten diagnostische und prognostische Informationen über den Knochenstatus der Patienten mit metastasiertem Prostatakarzinom verbessert werden und somit zum effektiveren Krankheitsmanagement führen.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Studienlage bei Patienten mit ossär metastasiertem Prostatakarzinom eindeutige Vorteile für die Anwendung von Knochenmarkern aufzeigt, während beim metastasierten NZK zur Zeit noch keine Empfehlung aufgrund der vorhanden Daten ausgesprochen werden kann und zukünftig weitere Studien zu diesem Thema erforderlich sind.

## **5.4 Vergleich mit Knochenmarkern bei Knochenmetastasen des Mammakarzinoms**

Das Mammakarzinom ist mit etwa 71660 Neuerkrankungen pro Jahr die mit Abstand häufigste maligne Tumorerkrankung der Frau in Deutschland. Der Erkrankungsgipfel liegt bei 65 bis 69 Jahren, jedoch ist jede zehnte Frau bei Diagnosestellung jünger als 45 Jahren. Trotz steigender Inzidenz sind die Sterberaten durch Fortschritte in der Therapie deutlich besser als noch vor 20 Jahren (Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland 2012).

Im Krankheitsverlauf entwickeln über die Hälfte der Brustkrebspatientinnen Knochenmetastasen. Genau so häufig wie das Prostatakarzinom neigt das Mammakarzinom zur Metastasierung in das Skelettsystem (Lipton et al. 2009).

Wie beim ossär metastasierten NZK ist die derzeitige Studienlage über die Wertigkeit biochemischer Marker des Knochenstoffwechsels zur Diagnostik von Knochenmetastasen beim Mammakarzinom kontrovers. Besonders PINP stand im Mittelpunkt vieler Arbeiten über das Verhalten von biochemischer Knochenmarker beim metastasierten Mammakarzinom.

2011 veröffentlichten Clouth et al. eine Studie zur Wertigkeit von PINP bei Patientinnen mit Brustkrebs und Knochenmetastasen. Bei 80 Patientinnen mit histologisch gesichertem Mammakarzinom wurde PINP hinsichtlich der Möglichkeiten zur Detektion von Knochenmetastasen untersucht. Bei den Patientinnen mit radiologisch nachgewiesenen Knochenmetastasen waren die PINP-Konzentrationen im Serum höher als bei den Patientinnen ohne Knochenmetastasen. Desweiteren wurde beobachtet, dass bei Patientinnen mit multiplen ossären Metastasen (mehr als 5 Läsionen) höhere PINP-Werte feststellbar waren als bei den anderen Patientinnen. Die Spezifität lag lediglich bei 22 % und die Sensitivität lag bei 87 %. Aus diesen Gründen kann auch hier der routinemäßige Einsatz von PINP zur Detektion von Knochenmetastasen beim Mammakarzinom nicht gerechtfertigt werden. Allerdings kann er zur Ergänzung bei unklaren radiologischen Ergebnissen herangezogen werden (Clouth et al. 2011).

In einer Arbeit von Pollmann et al. wurde der Nutzen von PINP zur Detektion und Charakterisierung von Knochenmetastasen bei Brustkrebspatientinnen untersucht. Für die Arbeit wurde bei 51 Patientinnen mit metastasiertem Mammakarzinom (davon 38 mit Knochenmetastasen und 13 mit Viszeral- oder Weichteilmetastasen) und bei 11 Patientinnen vor neoadjuvanter Therapie. Zum Zeitpunkt der ersten Blutentnahme befanden sich alle Patientinnen vor Einleitung einer Therapie (Chemo-, Hormon- und/oder Antikörpertherapie). Die Patientinnen mit Knochenmetastasen wurden mit einem Bisphosphonat (Pamidronat) behandelt. Folgende

Ergebnisse wurden festgestellt: Die Baseline-Werte von PINP waren signifikant höher bei Vorliegen von Knochenmetastasen im Vergleich zu den anderen Patientinnengruppen. Weiterhin konnte festgestellt werden, dass bei Frauen mit mehr als sieben Knochenmetastasen höhere PINP-Konzentrationen messbar waren als bei Frauen mit weniger als sieben ossären Filiae. Ebenfalls wurde beschrieben, dass ein statistisch signifikant höherer PINP-Wert bei Patientinnen mit Knochenmetastasen messbar war, die in der Anamnese eine stattgehabte Knochenfraktur angaben. Schließlich zeigte sich im Verlauf bei Patientinnen, die gut auf die Therapie angesprochen hatten, eine Verringerung der PINP-Konzentration, während bei Patientinnen mit progredienter Erkrankung eine Erhöhung der PINP-Werte feststellbar waren. Aufgrund der niedrigen Patientenzahl waren diese Unterschiede statistisch nicht signifikant. Insgesamt betrachtet zeigt diese Studie, dass PINP dazu nützlich sein kann, zwischen Patientinnen mit und ohne Knochenmetastasen zu unterscheiden. Zusätzlich kann das Ausmaß der Knochenmetastasierung und der Zustand nach Knochenfrakturen widerspiegelt werden (Pollmann et al. 2007).

Eine andere Meinung vertritt die die Arbeitsgruppe von Seibel et al. Sie hat beschrieben, dass die untersuchten Knochenmarker tALP, bALP, OC, PICP, PYD, DPD, NTX und CTX keinen signifikanten prädiktiven Wert besitzen und zur Diagnostik einer Knochenmetastasierung beim Mammakarzinom nicht geeignet sind. Jedoch wurde bei dieser Arbeit PINP nicht untersucht (Seibel et al. 2002).

Zusammenfassend scheint PINP ein vielversprechender Knochenmarker zur Detektion und zur Charakterisierung von Knochenmetastasen bei Mammakarzinompatientinnen zu sein. Aber wie beim metastasierten NZK kann aufgrund der geringen Datenlage keine eindeutige Überlegenheit von Serumknochenmarkern zur Prädiktion und zur Verlaufskontrolle von Knochenmetastasen gezeigt werden. Ebenso wie bei Patienten mit NZK und ossären Metastasen werden zukünftig weitere Untersuchungen diesbezüglich notwendig sein.



## 5.5 Schlussfolgerung

Zunächst muss als limitierender Faktor in dieser Arbeit sicherlich die geringe Anzahl von eingeschlossenen Patienten und das gleichzeitige Vorliegen vieler Studienabbrecher betont werden. Die Studienabbrüche sind insbesondere bei Patienten mit SRE im Behandlungsverlauf zu beobachten. Bei der kleinen Patientengruppe mit SRE ( $n = 7$ ), bei denen über den gesamten Studienverlauf Serumknochenmarker gewonnen werden konnten, ist die Interpretation der Verlaufswerte aufgrund der geringen Patientenzahl nur eingeschränkt möglich. Damit hat die Studie nur eine geringe Allgemeingültigkeit und kann nur bestimmte Tendenzen aufzeigen. Zusätzlich wurde keine Kontrollgruppe (ohne Metastasen oder Gesunde ohne NZK) rekrutiert, die die Validität der Ergebnisse positiv beeinflussen könnte. Insgesamt sind in der Literatur zu diesem Thema nur wenige Arbeiten zu finden.

Eine Prädiktion von SRE beim metastasierten NZK war nicht möglich. Obwohl bei den ICTP- und bALP-Konzentrationen höhere Ausgangswerte vor Zoledronsäuregabe bei den Patientengruppen SRE+ (V2-Verlauf) im Vergleich zu den Gruppen SRE- (V2-Verlauf) bestimmt wurden, können keine Rückschlüsse auf das spätere Eintreffen von SRE gezogen werden. Denn die Patienten der Gruppe „V2-Verlauf“ sind in der Patientengruppe „alle V2“ enthalten und die Gruppe SRE+ (alle V2) zeigt keine signifikante Erhöhung der Ausgangswerte im Vergleich zur Gruppe SRE- (alle V2). Somit korrelieren die Ergebnisse des Markerverlaufs nicht mit dem späteren klinischen Krankheitsverlauf. Anhand der Verlaufsdaten lässt sich ebenfalls nicht belegen, dass die Marker zur Prädiktion von SRE im weiteren Verlauf und somit zur Verlaufskontrolle genutzt werden können. Lediglich die bALP-Daten, die bei Patienten ohne SRE in einigen Fällen signifikant gegenüber den Ausgangswerten erniedrigt sind, lassen auf ein Ansprechen der Zoledronsäurebehandlung schließen.

In der Literatur weisen bei Patienten mit metastasiertem Prostatakarzinom erhöhte Serumwerte der untersuchten Knochenmarker auf ein mögliches Risiko für ein SRE hin. Erhöhte Werte entsprechen einer erhöhten Knochenaktivität, die sowohl auf osteoblastischen Vorgängen (z. B. bALP als Marker) als auch auf resorptiven Vorgängen (z. B. ICTP als Marker) beruhen. Insgesamt scheinen Knochenmarker beim metastasierten Prostatakarzinom einen Nachweis von Skelettmetastasen und die Abschätzung des Knochenbefalls zu ermöglichen.

Die Wertigkeit von biochemischen Markern des Knochenstoffwechsels wird bei Knochenmetastasen des Mammakarzinoms derzeit kontrovers diskutiert. Es gibt allerdings

Hinweise darauf, dass sie das Ausmaß des Knochenbefalls widerspiegeln und zur Diskriminierung von Patientinnen mit und ohne ossären Filiae hilfreich sein könnten.

Im Vergleich zu den bei Prostatakarzinompatienten erhobenen Befunden, können auf Grundlage der Ergebnisse dieser Arbeit und den bis heute veröffentlichten Studien keine eindeutigen Empfehlungen zum Einsatz von Knochenmarkern bei Patienten mit ossär metastasiertem NZK ausgesprochen werden. Zukünftig werden weitere Studien mit größeren Patientenzahlen notwendig sein, um die diagnostische Wertigkeit von Knochenmarkern beim metastasierten NZK zu evaluieren. Es soll vor allem näher auf die Fragen eingegangen werden, ob mittels Knochenmarker eine Skelettmetastasierung bereits vor der heute üblichen Diagnostik nachgewiesen werden kann und ob eine quantifizierbare Aussage über das Ausmaß der Metastasierung und die Progression möglich sind.

## 6 Zusammenfassung

Beim Nierenzellkarzinom (NZK) bedeutet die Diagnose „Knochenmetastasen“ für die betroffenen Patienten, dass eine Kuration ausgeschlossen ist. Die häufigsten Symptome ossärer Metastasen umfassen Schmerzen, Frakturen und Funktionseinschränkungen. Durch Knochenmetastasen werden die Therapieform, die Lebensqualität und häufig der Todeszeitpunkt entschieden.

Die strukturelle Integrität des Knochens wird durch kontinuierliche Umbauprozesse als Zusammenspiel von Knochenformation und Knochenresorption bestimmt. Knochenmetastasen verursachen eine Störung in diesem Gleichgewicht des Knochenmetabolismus. Beim Knochenaufbau und -abbau entstehen Produkte, deren Nachweis im Serum als Knochenmarker möglich ist. Veränderungen des Knochenstoffwechsels können durch die Knochenmarkerkonzentration im Blut widerspiegelt werden. Bisher diente die Skelettszintigraphie als Methode der Wahl zur Diagnostik skelettaler Läsionen. Neben der Strahlenbelastung für die Patienten sind die Nachteile folgende: relativ hohe Kosten, niedrige Spezifität, geringe Sensitivität bei osteolytischen Metastasen und eingeschränkte Quantifizierungsmöglichkeiten der Läsionen. Zukünftig könnten nicht-invasive Parameter als Indikatoren einer Knochenmetastasierung, zur Prognosestellung und zur Beurteilung der Effekte einer gezielten Therapie genutzt werden. In der Vergangenheit wurde eine Vielzahl von Markern beim NZK getestet, aber bis heute konnten keine relevanten Biomarker zur Diagnostik, zum Therapiemonitoring und zur Vorhersage des Krankheitsverlaufs gefunden werden. Bei ossär metastasiertem NZK sollten sich neue Marker im klinischen Alltag dadurch bewähren, dass sie zuverlässig, robust und die Ergebnisse reproduzierbar sind. Knochenumbauprodukte konnten bei Knochenmetastasen anderer Tumorentitäten erfolgreich zur Diagnostik beziehungsweise zur Verlaufskontrolle eingesetzt werden.

Das Ziel dieser Arbeit war es, die diagnostische Effizienz von Serumknochenmarkern bei Patienten mit NZK und Knochenmetastasen zu prüfen. In der vorliegenden Untersuchung wurden Patienten einer klinischen Studie (Protokoll Nr. CZOL 446E, Novartis Pharma, Nürnberg), die zwischen 2004 und 2008 durchgeführt wurde, untersucht. Das Patientenkontingent umfasste 41 Patienten mit NZK und ossären Metastasen. Alle Patienten erhielten ein Jahr lang alle drei Wochen eine Infusion mit 4 mg Zoledronsäure und eine tägliche Zugabe von Kalzium und Vitamin D. Als primärer Endpunkt wurde das Auftreten von  $\geq 1$  SRE (skeletal-related events) während 12 monatiger Zoledronsäuretherapie definiert. Als SRE werden pathologische Frakturen, Wirbelkörperkompressionen und die chirurgische oder strahlentherapeutische Intervention bei ossären Metastasen bezeichnet. Ab dem zweiten Patientenkontakt wurden bis zum Studienende oder bis zum Studienabbruch alle neun Wochen Serumproben zur Knochenmarkerbestimmung

abgenommen. Bei den 41 Patienten konnten insgesamt 184 Serumproben zur Knochenmarkerbestimmung gewonnen werden. Zur Evaluierung wurden die gesamte alkalische Phosphatase tALP, ihr knochenspezifisches Isoenzym bALP und das N-terminale Propeptid des Typ I-Prokollagens (PINP) als Marker der Knochenformation sowie das Carboxyterminales Telozeptid des Typ I-Kollagens (ICTP) als Marker der Knochenresorption ausgewählt. Die Patienten wurden in Gruppen mit und ohne SRE im Studienverlauf eingeteilt. Bei einem Teil der Probanden konnten nur die Ausgangswerte der Knochenmarker vor Zoledronsäuregabe ermittelt werden. Ein Problem stellten die vorzeitigen Studienabbrüche bei Patienten mit SRE dar. Die Ausgangsmessungen vor Zoledronsäuretherapie ergaben bei den Patientengruppen mit Verlaufsuntersuchungen und SRE signifikant höhere bALP- und ICTP-Ausgangswerte im Vergleich zu den Patientengruppen ohne SRE. Leider lässt sich anhand dieser Werte keine Korrelation zur Klinik erkennen. Vor Zoledronsäuretherapie waren die Ausgangswerte von PINP und tALP weder bei Patienten mit SRE noch bei Patienten ohne SRE signifikant erhöht. Während der Studiendauer korrelierte das Verhalten von tALP, PINP und ICTP nicht mit dem Krankheitsverlauf der Patienten mit ossär metastasiertem NZK. Die im Serum gemessenen individuellen bALP-Ausgangswerte (sowohl bei Patienten mit SRE, als auch bei Patienten ohne SRE) zeigten sich im Verlauf der Zoledronsäurebehandlung rückläufig, eine Signifikanz war jedoch nur bei den Patienten ohne SRE zu einigen Zeitpunkten feststellbar. In der Gruppe der Patienten mit SRE ist allerdings zu berücksichtigen, dass nur eine kleine Fallzahl ( $n = 7$ ) untersucht wurde und sogleich vorzeitige Studienabbrecher vorlagen, so dass eine Übertragung der Ergebnisse nur eingeschränkt möglich ist.

In dieser Studie war weder eine Prädiktion von SRE noch die Verlaufskontrolle der Knochenmetastasierung beim NZK unter Zoledronsäuretherapie mittels Knochenmarkerbestimmung möglich. Deshalb können hier keine Empfehlungen zum Einsatz der untersuchten Marker des Knochenstoffwechsels bei Patienten mit ossär metastasiertem NZK ausgesprochen werden.

Insgesamt ist die derzeitige Datenlage eingeschränkt, da zu diesem Thema nur wenige Untersuchungen mit geringen Patientenzahlen durchgeführt wurden. Durch die Entwicklung neuer Medikamente beim metastasierten NZK spielen die Therapie und ihre Kontrolle eine immer wichtigere Rolle. Während die Bedeutung der Diagnostik von Knochenmetastasen zunehmend größer wird, fehlen geeignete analytische Methoden. Aus diesem Grund ist die vorliegende Studie trotz geringer Fallzahl hilfreich bei der Suche nach neuen Möglichkeiten, durch Knochenmarker valide Aussagen zur Detektion und Progression von Knochenmetastasen beim NZK zu treffen.

## 7 Abkürzungsverzeichnis

AP	Alkalische Phosphatase
ATP	Adenosintriphosphat
bALP	bone-specific alkaline phosphatase, Knochenspezifische alkalische Phosphatase
BPH	Benigne Prostatahyperplasie
CT	Computertomographie
CTX	Carboxyterminales quervernetztes Typ I-Kollagen-Telopeptid
GTP	Guanosintriphosphat
HIFU	High intensity focused ultrasound
ICTP	Carboxyterminales Telopeptid des Typ I-Kollagens
IFN $\alpha$	Interferon $\alpha$
IGF	Insulin like growth factor
IL-2	Interleukin-2
LDH	Lactatdehydrogenase
MRT	Magnetresonanztomographie
NTX	Aminoternales quervernetztes Typ I-Kollagen-Telopeptid
NZK	Nierenzellkarzinom
OPG	Osteoprotegerin
OPGL	Osteoprotegerinligand
OPN	Osteopontin
PCA	Prostate carcinoma = Prostatakarzinom
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PICP	C-terminales Propeptid des Typ I-Prokollagens
PINP	N-terminales Propeptid des Typ I-Prokollagens
PTH	Parathormon
RANK	Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B
RANKL	Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B Ligand
SRE	Skeletal-related events
tALP	total alkaline phosphatase, Gesamt-Alkalische Phosphatase
TGF	Transforming growth factor
TKI	Tyrosinkinaseinhibitoren
TNF	Tumornekrosefaktor
TRANCE	Tumor necrosis factor-related activation-induced cytokine
VIP	vasoaktives intestinales Peptid

## 8 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: PINP-Werte vor Zoledronsäuregabe bei Patienten mit (+) und ohne (-) SRE.....	30
Abbildung 2: ICTP-Werte vor Zoledronsäuregabe bei Patienten mit (+) und ohne (-) SRE.....	31
Abbildung 3: bALP-Werte vor Zoledronsäuregabe bei Patienten mit (+) und ohne (-) SRE.....	32
Abbildung 4: tALP-Werte vor Zoledronsäuregabe bei Patienten mit (+) und ohne (-) SRE.....	33
Abbildung 5: PINP-Werte (in % des Ausgangswertes) im Verlauf bei Patienten ohne SRE.....	34
Abbildung 6: PINP-Werte (in % des Ausgangswertes) im Verlauf bei Patienten mit SRE.....	34
Abbildung 7: ICTP-Werte (in % des Ausgangswertes) im Verlauf bei Patienten ohne SRE.....	35
Abbildung 8: ICTP-Werte (in % des Ausgangswertes) im Verlauf bei Patienten mit SRE.....	35
Abbildung 9: bALP-Werte (in % des Ausgangswertes) im Verlauf bei Patienten ohne SRE.....	36
Abbildung 10: bALP-Werte (in % des Ausgangswertes) im Verlauf bei Patienten mit SRE.....	36
Abbildung 11: tALP-Werte (in % des Ausgangswertes) im Verlauf bei Patienten ohne SRE.....	37
Abbildung 12: tALP-Werte (in % des Ausgangswertes) im Verlauf bei Patienten mit SRE.....	37
Abbildung 13: PINP-Absolutwerte im Verlauf bei Patienten ohne SRE.....	38
Abbildung 14: PINP-Absolutwerte im Verlauf bei Patienten mit SRE.....	38
Abbildung 15: ICTP-Absolutwerte im Verlauf bei Patienten ohne SRE.....	38
Abbildung 16: ICTP-Absolutwerte im Verlauf bei Patienten mit SRE.....	38
Abbildung 17: bALP-Absolutwerte im Verlauf bei Patienten ohne SRE.....	39
Abbildung 18: bALP-Absolutwerte im Verlauf bei Patienten mit SRE.....	39
Abbildung 19: tALP-Absolutwerte im Verlauf bei Patienten ohne SRE.....	39
Abbildung 20: tALP-Absolutwerte im Verlauf bei Patienten mit SRE.....	39

## 9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Mittleres Überleben und Überlebensraten unter Interferontherapie bei Patienten mit metastasiertem NZK in Abhängigkeit vom Risikoprofil .....	7
Tabelle 2: Patientenalter und Patientengeschlecht .....	24
Tabelle 3: Verteilung der SRE während der Studie .....	24
Tabelle 4: Initiales TNM-Tumorstadium .....	25
Tabelle 5: Gründe für Studienabbrüche .....	25
Tabelle 6: Darstellung der Patientengruppen .....	29

## 10 Literaturverzeichnis

Bán A, Ferenczy S. Cytology of bone marrow metastases of malignant tumors. *Inn Med* 1986; 41: 682-5

Beck SD, Patel MI, Snyder ME, et al. Effect of papillary and chromophobe cell type on disease-free survival after nephrectomy for renal cell carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2004; 11 (1): 71-7

Becker F, Siemer S, Hack M, et al. Excellent long-term cancer control with elective nephron-sparing surgery for selected renal cell carcinomas measuring more than 4 cm. *Eur Urol* 2006; 49: 1058-63

Benichou J, Chow WH, McLaughlin JK, et al. Population attributable risk of renal cell cancer in Minnesota. *Am J Epidemiol* 1998; 14: 424-430

Berenson J, Hirschberg R. Safety and convenience of a 15-minute infusion of zoledronic acid. *Oncologist* 2004; 9: 319-329

Bosniak MA, Birnbaum BA, Krinsky GA. Small renal parenchymal neoplasms: Further observations of growth. *Radiology* 1995; 197: 589-597

Bostwick DG, Eble JN. Diagnosis and classification of renal cell carcinoma. *Urol Clin North Am* 1999; 26: 627-635

Bott SR, Birtle AJ, Taylor CJ, Kirby RS. Prostate cancer management: (1) an update on localised disease. *Postgrad Med J* 2003; 79(936): 575-80

Brown JE, Cook RJ, Major P, et al. Bone turnover markers as predictors of skeletal complications in prostate cancer, lung cancer and other solid tumors. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 59-69

Bubendorf L, Schopfer A, Wagner U, et al. Metastatic patterns of prostate cancer: an autopsy study of 1,589 patients. *Hum Pathol* 2000; 31(5): 578-83



Carlin BI, Andriole GL. The natural history, skeletal complications, and management of bone metastases in patients with prostate carcinoma. *Cancer* 2000; 88(12 Suppl): 2989-94

Cestari A, Guazzoni G, dell'Acqua V, et al. Laparoscopic cryoablation of solid renal masses: intermediate term followup. *J Urol* 2004; 172: 1267-70

Chin AI, Lam JS, Figlin RA, et al. Surveillance strategies for renal cell carcinoma patients following nephrectomy. *Rev Urol* 2006; 8: 1-7

Chow WH, Devesa SS, Warren JL, et al. Rising incidence of renal cell cancer in the United States. *JAMA* 1999; 146: 1221-1223

Clouth A, Oremek GM. Value of Procollagen Type I Aminoterminal Propeptide in Women with Breast Cancer with regard to Metastases. *Patholog Res Int* 2011; 2011, 853484. Epub 2011 Nov 9.

Coleman RE. Metastatic bone disease: clinical features, pathophysiology and treatment strategies. *Cancer Treat Rev* 2001; 27: 165-76

Coleman RE. Skeletal complications of malignancy. *Cancer* 1997; 80: 1588-94

Cook RJ, Coleman R, Brown J, et al. Markers of bone metabolism and survival in men with hormone-refractory metastatic prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 3361-7

Coppin C, Porzolt F, Wilt T, et al. Immunotherapy for advanced renal cell cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2005; 1:CD001425

Cripen PL, Boorjian SA, Lohse CM, et al. Outcomes following partial nephrectomy by tumor size. *J Urol* 2008; 180: 1912-7

De la Piedra C, Castro-Errecaborde NA, Traba ML, et al. Bone remodeling markers in the detection of bone metastases in prostate cancer. *Clinica chimica acta* 2003; 331: 45-53

Dineen MK, Pastore RD, Emrich LJ, et al. Results of surgical treatment of renal cell carcinoma with solitary metastasis. *J Urol* 1988; 140: 277-9

Dorff TB, Goldkorn A, Winn DI, et al. Targeted therapy in renal cancer. *Ther Adv Med Oncol* 2009; 1(3): 183-205

Ducy P, Schinke T, Karsenty G. The osteoblast: a sophisticated fibroblast under central surveillance. *Science* 2000; 289: 1501-1504

Eaton CL, Coleman RE. Pathophysiology of bone metastases from prostate cancer and the role of bisphosphonates in treatment. *Cancer Treat Rev* 2003; 29(3): 189-98

Flanigan RC, Salmon SE, Blumenstein BA, et al. Nephrectomy followed by interferon alfa-2b compared with interferon alfa-2b alone for metastatic renal-cell cancer. *N Engl J Med* 2001; 345: 1655-9

Frank I, Blute ML, Cheville JC, et al. Solid renal tumors: an analysis of pathological features related to tumor size. *J Urol* 2003; 170: 2217-2220

Fuller K, Wong B, Fox S, et al. TRANCE is necessary and sufficient for osteoblast-mediated activation of bone resorption in osteoclasts. *J Exp Med* 1998; 188: 997-1001

Garnero, P. Markers of bone turnover in prostate cancer. *Cancer treat Rev* 27 2001; 27: 187-192

Gervais DA, Arellano RS, Mueller PR, et al. Percutaneous radiofrequency ablation of renal cell carcinoma. *Eur Radiol* 2005; 15: 960-7

Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. in Zusammenarbeit mit dem Robert Koch-Institut, Hrsg. Krebs in Deutschland, Häufigkeiten und Trends, 8. Ausgabe, Robert Koch-Institut, Berlin 2012

Gill IS, Remer EM, Hasan WA, et al. Renal cryoablation: outcome at 3 years. *J Urol* 2005; 173: 1903-1907

Gupta A, Allaf ME, Kavoussi LR, et al. Computerized tomography guided percutaneous renal cryoablation with the patient under conscious sedation: initial clinical experience. *J Urol* 2006; 175: 447-52

Harada S, Rodan GA. Control of osteoblast function and regulation of bone mass. Review. *Nature* 2003; 423: 349-355

Hatoum HT, Lin S-J, Smith MR, et al. Zoledronic acid and skeletal complications in patients with solid tumors and bone metastases: analysis of a national medical claims database. *Cancer* 2008; 113: 1438-1445

Hofbauer LC, Dunstan CR, Spelsberg TC, et al. Osteoprotegerin production by human osteoblast lineage cells is stimulated by vitamin D, bone morphogenetic protein-2, and cytokines. *Biophys Res Commun* 1998; 250: 776-781

Hofbauer LC, Gori F, Riggs BL, et al. Stimulation of osteoprotegerin ligand and inhibition of osteoprotegerin production by glucocorticoids in human osteoblastic lineage cells: potential paracrine mechanisms of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Endocrinology* 1999; 140: 4382-4389

Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, et al. Estrogen stimulates gene expression and protein production of osteoprotegerin in human osteoblastic cells. *Endocrinology* 1999; 140: 4367-4370

Hofbauer LC, Lacey DI, Dunstan CR, et al. Interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha, but not interleukin-6, stimulate osteoprotegerin ligand gene expression in human osteoblastic cells. *Bone* 1999; 35: 255-259

Horwood NJ, Elliott J, Marin TJ, et al. Osteotropic agents regulate the expression of osteoclast differentiation factor and osteoprotegerin in osteoblastic stromal cells. *Endocrinology* 1998; 139: 4743-4746

Houk BE, Bello CL, Poland B, et al. Relationship between exposure to sunitinib and efficacy and tolerability endpoints in patients with cancer: results of a pharmacokinetic/pharmacodynamic meta-analysis. *Cancer Chemother Pharmacol* 2009; 66: 357-71

Jocham D, Richter A, Hoffmann L, et al. Adjuvant autologous renal tumour cell vaccine and risk of tumour progression in patients with renal-cell carcinoma after radical nephrectomy: phase III, randomised controlled trial. *Lancet* 2004; 363: 594-599

Jung K, Miller K, Wirth M, et al. Bone turnover markers as predictors of mortality risk in prostate cancer patients with bone metastases following treatment with zoledronic acid. *Eur Urol* 2011; 59: 604-12

Jung K, Lein M, Ringsdorf M, et al. Diagnostic and prognostic validity of serum bone turnover markers in metastatic renal cell carcinoma. *J Urol* 2006; 176: 1326-31

Kamiya N, Suzuki H, Yano M, et al. Implications of serum bone turnover markers in prostate cancer patients with bone metastasis. *Urology* 2010; 1446-51

Klepzig M, Jonas D, Oremek GM. Procollagen type 1 amino-terminal propeptide: a marker for bone metastases in prostate carcinoma. *Anticancer Research* 2009; 29: 671-674

Klepzig M, Sauer-Eppel H, Jonas D, et al. Value of Procollagen Type I Amino-terminal Propeptide in Patients with Renal Cell Carcinoma. *Anticancer Research* 2008; 28: 2443-46

Koga H, Naito S, Koto S, et al. Use of bone turnover marker, pyridinoline cross-linked carboxyterminal telopeptide of type I collagen (ICTP), in the assessment and monitoring of bone metastasis in prostate cancer. *Prostate* 1999; 39: 1-7

Koizumi M, Yonese J, Fukui I, et al. The serum level of the amino-terminal pro peptide of type I procollagen is a sensitive marker for prostate cancer metastasis to bone. *British Journal of Urology International* 2001; 87: 348-351

Koopmans N, De Jong I, Breeuwsma AJ, Van der Veer E. Serum bone turnover markers (PINP and ICTP) for early detection of bone metastases in patients with prostate cancer: a longitudinal approach. *J Urol* 2007; 178: 849-853

Kouji Izumi, Atsushi Mizokami, Shingo Itai, et al. Increases in bone turnover marker levels at an early phase after starting zoledronic acid predicts SRE in patients with prostate cancer with bone metastasis. *BJU Int* 2012; 109: 394-400

Kovacs G, Akhtar M, Beckwith BJ, et al. The Heidelberg classification of renal cell tumors. *J Pathol* 1997; 183: 131-133

Kriteman L, Sanders WH. Normal alkaline phosphatase levels in patients with bone metastases due to renal cell carcinoma. *Urology* 1998; 51: 397-399

Lau WK, Blute ML, Weaver AL, et al. Matched comparison of radical nephrectomy vs nephron-sparing surgery in patients with unilateral renal cell carcinoma and a normal contralateral kidney. *Mayo Clin Proc* 2000; 75: 21236-42

Lawatsch EJ, Lanegenstroemer P, Byrd GF, et al. Intermediate results of laparoscopic cryoablation in 59 patients at the Medical College of Wisconsin. *J Urol* 2006; 175: 1225-9

Lawrentschuk N, Davis ID, Bolton DM, et al. Solid renal tumors: an analysis of pathological features related to tumor size. *BJU international* 2006; 97: 916-922

Lecouvet FE, Geukens D, Stainier A, et al. Magnetic resonance imaging of the axial skeleton for detecting bone metastases in patients with high-risk prostate cancer: diagnostic and cost-effectiveness and comparison with current detection strategies. *J Clin Oncol* 2007 Aug 1; 25 (22): 3281-7

Lein M, Miller K, Wirth M, et al. Bone turnover markers as predictive tools for skeletal complications in men with metastatic prostate cancer treated with zoledronic acid. *The prostate* 2009; 69: 624-632

Lein M, Wirth M, Miller K, et al. Serial markers of bone turnover in men with metastatic prostate cancer treated with zoledronic acid for detection of bone metastases progression. *Eur Urol* 2007; 52: 1381-7

Li J, Sarosi I, Yan Y-Q, et al. RANK is the intrinsic hematopoietic cell surface receptor that controls osteoclastogenesis and regulation of bone mass and calcium metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 1566-1571

Lipton A, Small E, Saad F, et al. The new bisphosphonate, Zometa (zoledronic acid), decreases skeletal complications in both osteolytic and osteoblastic lesions: a comparison to pamidronate. *Cancer Invest* 2002; 20: 45-54

Lipton A, Theriault RL, Hortobagyi HN. Pamidronat prevents skeletal complications and is effective palliative treatment in women with breast carcinoma and osteolytic bone metastases. *Cancer* 2000; 88: 1082-1090

Lipton A, Uzzo R, Amato RJ, et al. The science and practice of bone health in oncology: managing bone loss and metastasis in patients with solid tumors. *J Natl Compr Canc Netw* 2009; 2009 Oct;7 Suppl 7:S1-29; quiz S30

Maher ER, Iselius L, Yates JRW, et al. Von Hippel-Lindau disease: a genetic study. *J Med Genet* 1991; 28: 443-7

Mancuso A, Sternberg CN. New treatments for metastatic kidney cancer. *Can J Urol* 2005 12 Suppl 1: p. 66-70: discussion 105

Manoukian GE, Tannir NM, Jonasch E, et al. Pilot Trial of Bone-Targeted Therapy Combining Zoledronate With Fluvastatin or Atorvastatin for Patients With Metastatic Renal Cell Carcinoma. *Clin Genitourinary Cancer* 2011; 9(2):81-8. Epub 2011 Oct 1

Mickisch GH, Garin A, van Poppel H, et al. Radical nephrectomy plus interferon-alfa-based immunotherapy compared with interferon alfa alone in metastatic renal-cell carcinoma: a randomised trial. *Lancet* 2001; 358: 966-70

Moriwaki S. Histopathology of metastatic bone tumors. *Gan To Kagaku Ryoho* 1987; 14: 1680-7

Motzer RJ, Bacik J, Mariani T, et al. Treatment outcome and survival associated with metastatic renal cell carcinoma of non-clear-cell histology. *J Clin Oncol* 2002; 20(9): 2376-2381

Motzer RJ, Bacik J, Murphy BA, et al. Interferon-alfa as a comparative treatment for clinical trials of new therapies against advanced renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2002; 20: 289-296

Motzer RJ, Bander NH, Nanus DM, et al. Renal-cell carcinoma. *N Eng J Med* 1996; 335: 865-875

Negrier S, Escudier B, Lasset C, et al. Recombinant human interleukin-2, recombinant human interferon  $\alpha$ -2a, or both in metastatic renal cell carcinoma. Groupe Francais d'immunotherapie. *N Engl J Med* 1998; 338: 1272-1278

Negrier S, Perol D, Ravaud A, et al. Do cytokines improve survival in patients with renal cell carcinoma (MRCC) of intermediated prognosis? Results of the prospective randomized PERCY Quattro trial. *JCO* 2005; 23 (16): 380

Neves RJ, Zincke H, Taylor WF. Metastatic renal cell cancer and radical nephrectomy: identification of prognostic factors and patient survival. *J Urol* 1988; 139: 1173-6

Patard JJ, Shvarts O, Lam JS, et al. Safety and efficacy of partial nephrectomy for all T1 tumors based on an international multicenter experience. *J Urol* 2004; 17: 2181-5

Pavlovich CP, Grubb RL 3rd, Hurley K, et al. Evaluation and management of renal tumors in the Birt-Hogg-Dubé syndrome. *J Urol* 2005; 173: 1482-6

Pelger RCM, Hamdy NAT, Zwinderman AH, et al. Effects of bisphosphonate opadronate in patients with carcinoma of the prostate metastatic to the skeleton. *Bone* 1998; 22: 403-408

Permpongkosol S, Chan DY, Link RE, et al. Laparoscopic radical nephrectomy: long-term outcomes. *J Endourol* 2005; 19(6): 628-633

Pfannschmidt H, Hoffmann H, Muley T, et al. Prognostic factors for survival after pulmonary resection of metastatic renal cell carcinoma. *Ann Thorac Surg* 2002; 74: 1653- 1657

Pollmann D, Siepmann S, Geppert R, et al. 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 Res* 2007; 27: 1853-62

Portis AJ, Yan Y, Landman J, et al. Long-term follow up after laparoscopic radical nephrectomy. *J Urol* 2002; 167(3): 1257-1262

Poston CK, Jaffe GS, Lubensky IA, et al. Characterization of the renal pathology of a familial form of renal cell carcinoma associated with von Hippel-Lindau disease: clinical and molecular genetic implications. *J Urol* 1995; 153: 22-6

Ramankulov A, Lein M, Kristiansen G, et al. Plasma osteopontin in comparison with bone markers as indicator of bone metastasis and survival outcome in patients with prostate cancer. *Prostate* 2007; 67: 330-40

Ramankulov A, Lein M, Kristiansen H, et al. Elevated plasma osteopontin as marker for distant metastases and poor survival in patients with renal cell carcinoma. *J Cancer Res. Clin Oncol* 2007; 133: 643-652

Reuter VE. The pathology of renal epithelial neoplasms. *Semin Oncol* 2006 33(5): p. 534-43

Ritchie AWS, Cisholm GD. The natural history of renal carcinoma. *Semin Oncol* 1983; 10: 390-400

Rosen LS, Gordon D, Tchekmedyian NS, et al. Nonsmall cell lung carcinoma and other solid tumors. *Cancer* 2004; 100: 2613-2621

Rosenbrock H, Geiffert-Klauss V, Kaspar S, Busch R, Lupp PB. Changes of biochemical bone markers during the menopausal transition. *Clin Chem lab Med* 2002; 40: 143-151

Saad F, Eastham JA. Zoledronic Acid Use in Patients with Bone Metastases from Renal Cell Carcinoma or Bladder Cancer. *Seminars in Oncology* 2010; 37: S38-S44

Saad F, Gleason DM, Murray R, et al. Zoledronic Acid Prostate Cancer Study Group. Long-term efficacy of zoledronic acid for the prevention of skeletal complications in patients with metastatic hormone-refractory prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96(11): 879-82



Saad F, Lipton A, Cook R, Chen YM, Smith M, Coleman R. Pathologic fractures correlated with reduced survival in patients with malignant bone disease. *Cancer* 2007; 110: 1860- 1867

Saad F. Zoledronic acid significantly reduces pathologic fractures in patients with advanced-stage prostate cancer metastatic to bone. *Clin Prostate Cancer* 2002; 1:145-52

Schmidt L, Kuh FM, Kishida T, et al. Germline and somatic mutations in the tyrosine kinase domain of the MET proto-oncogene in papillary renal carcinomas. *Nat Genet* 1997; 16: 68-73

Schrader AJ, Varga Z, Hegele A, et al. Second-line strategies for metastatic renal cell carcinoma: classics and novel approaches. *J Cancer Res Clin Oncol* 2006; 132 (3): 137-49

Seibel MJ, Koeller M, Van der Velden B, et al. Markers of bone turnover do not predict bone metastases in breast cancer. *Clin Lab* 2002; 48: 583-8

Seibel MJ. Biochemical Markers of Bone Turnover Part I: Biochemistry and Variability. *Clinical Biochemist Reviews* 2005; Vol 26, 97-122

Seibel MJ. Biochemical Markers of Bone turnover Part II: Biochemistry and Variability. *Clinical Biochemist Reviews* 2006; Vol 27, 123-138

Seibel MJ. The use of molecular markers of bone turnover in the management of patients with metastatic bone disease. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2008; 68: 839-849

Sohaib SA, Cook G, Allen SD, et al. Comparison of whole-body MRI and bone scintigraphy in the detection of bone metastases in renal cancer. *The british Journal of Radiology* 2009; 82:632-9

Srivastava SK, Weitzmann MN, Chadhari LR, Namba N, Pacifici R. Estrogen decreases the responsiveness of osteoclast precursors to OPGL by down regulating OPGL induced JNK activity. *J Bone Miner Rs* 1999; 14: 1178 (Suppl 1)

Staudenherz A, Steiner B, Puig S, et al. Is there a diagnostic role for bone scanning of patients with a high pretest probability for metastatic renal cell carcinoma? *Cancer* 1999; Jan 1; 85: 153-5

Stillwell TJ, Gomez MR, Kelalis PP. Renal lesions in tuberous sclerosis. *J Urol* 1987; 138: 447

Stone MJ, Venkatesan AM, Locklin J, et al. Radiofrequency ablation of renal tumors. *Tech Vasc Interv Radiol* 2007; 10: 132-139

Teitelbaum SL. Bone resorption by osteoclasts. *Science* 2000; 289: 1504-1508

Thuraiarja R, Iles RK, Jefferson K, et al. 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. *Urologia Internationalis* 2006; 76: 67-71

Toro JR, Nickerson ML, Wie MH, et al. Mutations in the fumarate hydratase gene cause hereditary leiomyomatosis and renal cell cancer in families in North America. *Am J Hum Genet* 2003; 73: 95-106

Tunn UW, Stenzel A, Kindler A, et al. The effect of zoledronic acid on bone metastasis in patients suffering from renal cell cancer (RCC): A German prospective single-arm clinical trial. *J Clin Oncol* 2009; 27: 15s.

Tunn UW, Stenzel A, Schultze-Seemann W, et al. Positive effects of zoledronate on skeletal-related events in patients with renal cell cancer and bone metastases. *Can J Urol* 2012; 19(3): 16261-7.

Van Beek ER, Löwik CW, Papapoulos SE. Bisphosphonates suppress bone resorption by a direct effect on early osteoclast precursors without affecting the osteoclastogenic capacity of osteogenic cells: the role of protein geranylgeranylation in the action of nitrogen-containing bisphosphonates on osteoclast precursors. *Bone* 2002; 30: 64-70

Van Beek ER, Pieterman E, Cohen L, Löwik C, Papapoulos S. Farnesyl pyrophosphate synthase is the molecular target of nitrogen-containing bisphosphonates. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 264: 108-111

Venkatesan AM, Wood BJ, Gervais DA, et al. Percutaneous ablation in the kidney. *Radiology* 2011; 261: 375-391

Vogelzwang NJ, Stadler WM. Kidney Cancer. *Lancet* 1998; 352: 1691 – 1694

Walther MM, Lubensky IA, Venzon D, Zbar B, Linehan WM. Prevalence of microscopic lesions in grossly normal renal parenchyma from patients with von Hippel-Lindau disease, sporadic renal cell carcinoma and no renal disease: Clinical implications. *J Urol* 1995; 154: 2010-5

Yuan J-M, Castelao JE, Gago-Kominguez M, et al. Hypertension, obesity and their medications in relation to renal cell carcinoma. *Br J Cancer* 1998; 77: 1508-1513

## **11 Danksagung**

An erster Stelle bedanke ich mich sehr bei Herrn Prof. Dr. Michael Lein für die Ermöglichung dieser Dissertation, seine kontinuierliche Unterstützung, seinen Optimismus und seine große Geduld.

Vielen Dank an Herrn Prof. Dr. Klaus Jung für die Hilfe bei der Erhebung der Daten und bei der statistischen Auswertung. Dankeschön auch an Frau Silke Rabenhorst und alle Mitarbeiter der urologischen Forschungsabteilung der Charité, die zum Entstehen dieser Arbeit beigetragen haben.

Darüber hinaus bedanke ich mich bei Frau Dr. Katrin Birkholz und ihren Kollegen von Novartis Pharma GmbH für die wertvollen Informationen und freundliche Beratung.

Ganz herzlich möchte ich mich auch bei Frau Dr. Iris Burkholder für ihre kompetente und zuverlässige Mithilfe bedanken.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Ehemann Steffen. Ohne seine liebevolle Unterstützung wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

## **Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen  
Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

### **13 Erklärung an Eides Statt**

„Ich, Kerstin Geisler, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Verhalten von Knochenmarkern bei Patienten mit ossär metastasiertem Nierenzellkarzinom unter Zoledronsäurebehandlung“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Frankfurt, im Juli 2012

Kerstin Geisler