

## **1. Einleitung und Fragestellungen**

Das Mammakarzinom ist weltweit der häufigste maligne Tumor der Frau mit mehr als einer Million Neuerkrankungen pro Jahr. In Deutschland erkrankten im Jahr 2000 47517 Frauen an Brustkrebs (1). Einige Frauen haben bereits bei der Diagnosestellung der Erkrankung Metastasen oder entwickeln diese im Laufe der Zeit, insbesondere treten bei 50 bis 85% der Patientinnen im Stadium IV Knochenmetastasen auf (2).

Über die Hälfte der betroffenen Patientinnen geben bereits zum Zeitpunkt der Diagnosestellung von ossären Filiae Knochenschmerzen an. Andere Komplikationen der Knochenmetastasierung sind Hyperkalzämie, pathologische Frakturen mit folgender Immobilisation und hämatopoetische Insuffizienz. Diese Komplikationen der Knochenmetastasierung beeinträchtigen die Lebensqualität der Patientinnen erheblich. Möglicherweise würde der Verlauf der Erkrankung einen anderen Ausgang nehmen, wenn die Diagnose kleiner, klinisch noch nicht in Erscheinung getretener Knochenmetastasen zu einem früheren Zeitpunkt als bisher möglich wäre.

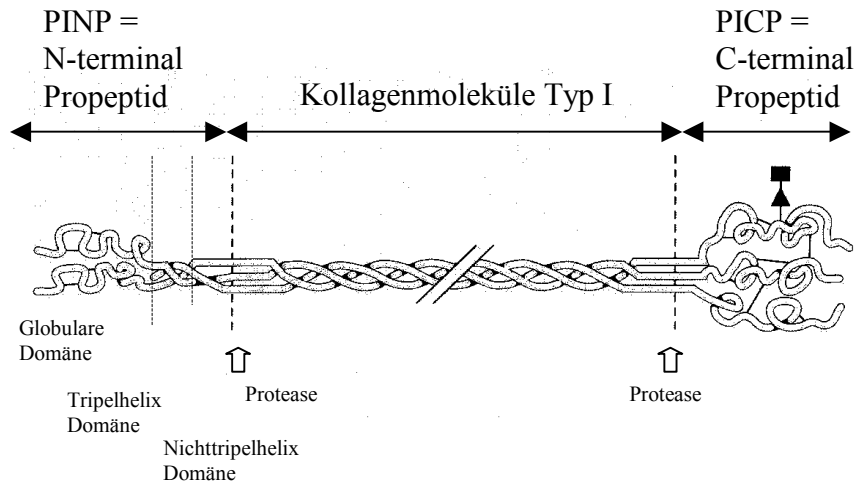
Patientinnen könnten generell von einer Frühdiagnostik des Knochenbefalls in Hinsicht auf ein verlängertes komplikationsfreies Intervall im Bereich des Skelettsystems profitieren. Zur Zeit werden hauptsächlich zwei Methoden zur Diagnostik von ossären Filiae angewendet: die klinische Untersuchung mit Abklopfen des Skeletts, da Knochenläsionen meistens klopfschmerzhaft sind, sowie bildgebende Verfahren, insbesondere die Knochenszintigraphie. Durch diese Übersichtsdarstellung des Gesamtskeletts ist die Knochenmetastasierung mit hoher Sensitivität nachzuweisen. Zur weiteren Abklärung sind jedoch in der Regel Röntgenuntersuchungen oder MRT-Aufnahmen der betroffenen Regionen notwendig. Die ersten Arbeiten zur Diagnostik von Knochenmetastasen mittels der Positronenemissionstomographie zeigten eine Verbesserung der Erkennung der Knochenläsionen bei 12% der Patientinnen im Vergleich zur Skelettszintigraphie (3).

Jedoch bleiben diese zur Verfügung stehenden Methoden von zu geringer Sensitivität, um kleinste Knochenmetastasen möglichst früh zu diagnostizieren. Dazu kommt das Problem der Verlaufsbeurteilung der Knochenmetastasen. Die Kontrolle der Effizienz einer Therapie der Knochenmetastasen bei Mammakarzinom ist schwierig und wird meistens später als das restaging von viszeralen oder Weichteilmetastasen eingeleitet. Daher wäre es wünschenswert,

anhand spezifischer biochemischer Marker die Früherkennung von Knochenfrakturen und die Verlaufsbeurteilung zu verbessern, um therapeutische Maßnahmen früher ergreifen oder ändern zu können (4;5).

Mehr als 90% der organischen Knochenmatrix besteht aus Typ I Kollagen, das bevorzugt im Knochen synthetisiert wird (6-8). Während des normalen Knochenstoffwechsels wird reifes Typ I-Kollagen abgebaut, Bruchstücke gelangen ins Blut und werden durch die Niere ausgeschieden. Bei physiologisch oder pathologisch erhöhter Knochenresorption wird vermehrt Typ I-Kollagen abgebaut, entsprechend steigt der Spiegel von Kollagenbruchstücken wie den C-terminalen Telopeptiden (Crosslaps oder CTX) im Blut an. Durch Reparaturmechanismen wird der Knochenabbauprozess kompensiert, um die Knochenmasse aufrecht zu erhalten. Während dieses kontinuierlichen Knochenumbaus wird Kollagen Typ I aus Molekülen von Prokollagen Typ I produziert. Prokollagen Typ I wird von Osteoblasten und Fibroblasten sekretiert und enthält amino- und carboxyterminal-Propeptide, die während der Konversion von Pro-Kollagen in Kollagen durch Proteasen abgespalten werden (9-11) (Abbildung 1). PINP (aminoterminales Propeptid vom Pro-Kollagen Typ I) und PICP (carboxyterminales Propeptid vom Pro-Kollagen Typ I) werden also als Abbauprodukt von Kollagen Typ I in die Zirkulation abgegeben. Deren Konzentrationen reflektieren das Ausmaß der Synthese von Kollagen Typ I. Es wurde bereits gezeigt, wie hilfreich PINP bei der Diagnose und in der Verlaufsbeurteilung der Knochenmetastasierung verschiedener Tumorentitäten (insbesondere Mamma-, Prostatakarzinom und multiples Myelom) sein kann (12-14). Ein Zusammenhang zwischen der PINP-Konzentration und dem Verlust an Knochenmasse nach der Menopause bei Brustkrebspatientinnen ist bereits nachgewiesen (15).

Die aktuelle Standardmethode zur Messung von PINP ist ein Radioimmunoassay oder RIA. Leider kann dieser Test nur die trimerische Form der PINP-Moleküle erkennen und messen. PINP ist ein heterogenes Molekül, das in allen biologischen Flüssigkeiten als monomerische und trimerische Form existiert. Die thermische Verwandlung von einer Form zu den anderen findet bei 37 °C statt und ist des Weiteren in vivo ein ständig ablaufender Prozess (16-18). Eine Studie von Hoyle et al (19) beschrieb eine ECLIA-Technik (Elektrochemilumineszenzimmunoassay) auf dem Gerät Elecsys 2010® von Roche® Diagnostics, die dem Standard-RIA-Test überlegen sein soll.



**Abbildung 1:** Schematische Darstellung der Bildung der Kollagenmoleküle mit Abspaltung der zwei Carboxy- und Aminoterminal-Propeptide durch Proteasen. Die  $\alpha$ -1Kette des aminoterminalen Propeptides zeigt zwei Formen: eine Variante mit einer Tripelhelix (Hochgewichtsmolekül) und eine zweite Variante mit einer Nichttripelhelixdomäne (Niedriggewichtsmolekül)

Der methodische Teil dieser Arbeit befasst sich mit der Prüfung des neuen PINP-Tests von Roche® Diagnostics. Der zweite Teil der Arbeit widmet sich der klinischen Anwendung des PINP-Tests bei Patientinnen mit Brustkrebs mit oder ohne ossäre Filiae im Vergleich zu anderen Markern des Knochenmetabolismus ( $\beta$ -Crosslaps und Osteocalcin) und einem Tumormarker des Mammakarzinoms (CA 27-29 oder CA 15-3).

Die biochemischen Marker und das Patientinnenkollektiv wurden unter folgenden Gesichtspunkten analysiert:

- Wie ist die Performance des neuen, automatisierten PINP-Tests auf dem Gerät Elecsys 2010® analyser (Elektrochemilumineszenzimmunoassay - ECLIA) von Roche® Diagnostics?
- Sind die PINP-Werte aussagekräftig genug, um die Diagnose von Knochenmetastasen bei Brustkrebspatientinnen zu stellen?
- Wie verhalten sich die PINP-Werte bei prä- im Vergleich zu postmenopausalen Patientinnen?

- Gibt es einen Zusammenhang zwischen der PINP-Konzentration und dem Ausmaß an Knochenmetastasen?
- Gibt es einen Zusammenhang zwischen der PINP-Konzentration und dem Zustand nach Knochenfraktur(en) im Rahmen der Erkrankung der Patientinnen?
- Kann anhand des PINP-Wertes der Typ der Knochenmetastasierung (osteolytisch, osteoplastisch oder gemischt) weiter differenziert werden?
- Können die PINP-Konzentrationen im Verlauf das Ansprechen auf die Therapie darstellen?
- Wie verhält sich der PINP-Wert im Vergleich zu anderen etablierten Markern der Knochenmetastasierung (Osteocalcin und  $\beta$ -Crosslaps)? Wie verhält er sich im Vergleich zu einem Tumormarker des Mammakarzinoms (CA 27-29 oder CA 15-3)?