

Aus dem Fachbereich Medizin
der Johann Wolfgang Goethe-Universität
Frankfurt am Main
Zentrum der Inneren Medizin – Fachbereich Laboratoriumsmedizin
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. A. Zeiher

**Die Bedeutung von
Prokollagen Typ I aminoterminalen Propeptid (P1NP)
zur Diagnostik von Knochenmetastasen bei
Karzinompatienten**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
des Fachbereichs Medizin der
Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main

vorgelegt von Martina Brigitte Klepzig
aus Frankfurt am Main

Frankfurt am Main, 2009

Dekan: Prof. Dr. J. Pfeilschifter

Referent: Prof. Dr. G. M. Oremek

Korreferent: Prof. Dr. I. Marzi

Tag der mündlichen Prüfung: 28. 02. 2010

Inhaltsverzeichnis

1.EINLEITUNG	6
1.1 Das Prostatakarzinom.....	6
1.1.1 Epidemiologie	6
1.1.2 Ätiologie	6
1.1.3 Pathologie und Stadieneinteilung.....	6
1.1.4 Klinische Symptomatik	8
1.1.5 Diagnostik	8
1.1.5.1 Klinische Diagnostik.....	8
1.1.5.2 Labordiagnostik	9
1.1.5.3 Einflussfaktoren auf den PSA-Spiegel.....	10
1.1.6 Therapie	13
1.2 Nierenzellkarzinom	14
1.2.1 Epidemiologie	14
1.2.2 Ätiologie	14
1.2.3 Pathologie und Stadieneinteilung.....	14
1.2.4 Klinische Symptomatik	16
1.2.5 Diagnostik	17
1.2.6 Therapie	18
1.3 Ovariakarzinom.....	18
1.3.1 Epidemiologie	18
1.3.2 Ätiologie	19
1.3.3 Pathologie und Stadieneinteilung.....	19
1.3.4 Klinische Symptomatik	21
1.3.5 Diagnostik	21
1.3.5.1 Klinische Diagnostik.....	21
1.3.5.2 Labordiagnostik	22
1.3.6 Therapie	23
1.4 Prokollagen Typ I aminoterminales Propeptid (P1NP).....	23
1.4.1 Knochenstoffwechsel.....	23
1.4.2 Entdeckung von P1NP.....	23
1.4.3 Bildung von P1NP.....	24
1.4.4 Quantifizierung von P1NP	24
1.4.5 Einflussfaktoren auf die laborchemische Bestimmung von P1NP.....	26
1.4.6 Hyperparathyreoidismus	29
1.4.7 Osteoporose.....	30
1.5 Knochenmetastasen.....	31
1.5.1 Überwiegend osteoblastische Knochenmetastasen	32
1.5.2 Überwiegend osteolytische Knochenmetastasen	32
1.5.3 Therapiemöglichkeiten für Knochenmetastasen	33
1.6 Problemstellung.....	33

2.MATERIAL UND METHODEN	35
2.1. Serumproben	35
2.2. Patientenkollektiv	35
2.2.1. Patienten mit BPH und Prostatakarzinom.....	35
2.2.2. Patienten mit Nierenzellkarzinom	38
2.2.3. Patienten mit malignen Veränderungen der Ovarien.....	40
2.3. Roche Immunoassay Analysenautomat Elecsys 2010	41
2.4. Bestimmung der Tumormarker	41
2.4.1. Bestimmung von P1NP	41
2.4.2. Bestimmung der AP.....	42
2.4.3. Bestimmung von tPSA.....	43
2.4.4. Bestimmung von CA 125.....	43
2.4.5. Bestimmung von CEA	44
2.5. Statistik	44
3.ERGEBNISSE.....	46
3.1 Prostatakarzinome	46
3.1.1 Serumkonzentrationen von P1NP	46
3.1.2 Serumkonzentrationen von PSA	47
3.1.3 Serumkonzentrationen der AP	49
3.1.4 Vergleich von P1NP und PSA	50
3.1.5 Vergleich von P1NP und AP	52
3.1.6 Patientenbeispiel I	54
3.1.7 Patientenbeispiel II.....	57
3.2 Nierenzellkarzinome.....	59
3.2.1 Serumkonzentrationen von P1NP in Gruppe TxKM(-) und TxKM(+)	59
3.2.2 Serumkonzentrationen von P1NP in Gruppe TxKM (+) + S.....	60
3.2.3 Serumkonzentration der AP	60
3.2.4 Vergleich P1NP und AP	62
3.3 Ovarialkarzinome	64
3.3.1 Serumkonzentrationen von P1NP	64
3.3.2 Serumkonzentrationen der AP	65
3.3.3 Serumkonzentrationen von CEA und CA 125	66
3.3.4 Vergleich von P1NP und AP	68
3.3.5 Vergleich von P1NP und CEA / CA 125.....	70
3.4 Gesamtbetrachtung unabhängig von der Tumorpathologie.....	72
3.4.1 Serumkonzentrationen von P1NP	72
3.4.2 Serumkonzentrationen der AP	74
3.4.3 Aussagekraft für das Vorliegen von Knochenmetastasen	75
3.4.4 P1NP in Abhängigkeit vom Geschlecht	76

4.DISKUSSION.....	78
4.1 Prostatakarzinom.....	79
4.2 Nierenzellkarzinom	83
4.3 Ovarialkarzinom.....	85
5.ZUSAMMENFASSUNG.....	89
6.LITERATUR.....	92
7.ZUSAMMENFASSUNG I (DEUTSCH).....	102
8.ZUSAMMENFASSUNG II (ENGLISCH).....	104
9.DANKSAGUNG.....	106
10.LEBENS LAUF.....	107
11.EHRENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG.....	109

Einleitung

1.1 Das Prostatakarzinom

1.1.1 Epidemiologie

Das Prostatakarzinom ist bei Männern der häufigste maligne Tumor und steht in Europa und den USA in der Todesursachenstatistik an Platz 2 nach dem Bronchialkarzinom.¹ Bei Obduktionen findet man bei über der Hälfte der > 50 jährigen Patienten tumorverdächtige histologische Veränderungen der Prostata, bei einem Patientenalter > 85 Jahre beträgt dieser Prozentteil schon 75%.² So geht man davon aus, dass beispielsweise in den USA pro Jahr 220.000 neue Prostatakarzinome diagnostiziert werden und ca. 30.000 Patienten an dem Tumorleiden sterben.³ Das Risiko, im Verlauf des Lebens an einem Prostatakarzinom zu erkranken, beträgt ca. 16%, das Risiko daran zu versterben ca. 3,4%.³ In Deutschland macht das Prostatakarzinom ca. 17% aller bösartigen Neubildungen beim Mann aus.⁴ Im europäischen Vergleich liegt Deutschland damit im mittleren Bereich. Österreich und Skandinavien weisen die höchsten Fallzahlen auf, die südeuropäischen Länder die niedrigsten. Interessant ist auch die Tatsache, dass es unter der schwarzen Bevölkerung in Amerika die weltweit höchste Inzidenz für Prostatakarzinome gibt, während diese Tumorerkrankung bei Asiaten selten vorkommt.

1.1.2 Ätiologie

Ca. 10% aller Prostatakarzinome sind hereditär, wobei etwa 42% der Familienstammbäume einen autosomal dominanten Erbgang zeigen. Das Erkrankungsrisiko steigt, wenn Verwandte I und II Grades betroffen sind und wird umso größer, je jünger die Verwandten bei Diagnosestellung waren.⁴ Da bei Eunuchen keine Prostatakarzinome beobachtet werden, scheinen auch hormonelle Einflüsse die Entstehung von Prostatakarzinomen zu beeinflussen. Ca. 80% der Karzinome sind androgenabhängig.⁵

1.1.3 Pathologie und Stadieneinteilung

Entwicklungsgeschichtlich besteht die Prostata aus zwei Drüsenanteilen: der Innendrüse, die sich östrogenabhängig entwickelt und der Außendrüse, die durch

Testosteron beeinflusst wird. Während die benigne Prostatahyperplasie in erster Linie die Innendrüse betrifft, handelt es sich beim Prostatakarzinom in 97% der Fälle um ein Adenokarzinom der Außendrüse.⁵

Es können drei Formen des Prostatakarzinoms unterschieden werden:⁵

- Latentes Prostatakarzinom: Es wird zufällig bei der Obduktion entdeckt, da es zu Lebzeiten asymptomatisch war. Histologisch handelt es sich um hoch differenzierte, niedrig maligne Tumore.⁶
- Inzidentes Prostatakarzinom: Diese Form wird zufällig bei einer transurethralen Resektion im Rahmen einer anderen Indikation, beispielsweise einer benignen Prostatahyperplasie, gestellt.
- Okkultes Prostatakarzinom: Das Prostatakarzinom wird als verantwortlicher Primärtumor bei der Manifestation von neu aufgetretenen Metastasen entdeckt. Die rektale Untersuchung weist meist keine Auffälligkeiten auf.⁷

Das Prostatakarzinom ist eine multifokale Erkrankung. Zur Stadieneinteilung wird hauptsächlich die in *Tabelle 1* dargestellte TNM – Klassifikation angewendet.⁵

Tabelle 1: TNM Klassifikation des Prostatakarzinoms

Stadium	Ausbreitung
T1	klinisch nicht nachweisbarer Tumor
T1a	Ausdehnung des Tumors auf bis zu 5% des resezierten Gewebes
T1b	Ausdehnung des Tumors auf mehr als 5% des resezierten Gewebes
T1c	Tumor bei Nadelbiopsie entdeckt (z.B. weil PSA erhöht)
T2	Tumor auf Prostata begrenzt
T2a	Tumor auf die Hälfte eines Lappens begrenzt
T2b	Tumor befällt mehr als die Hälfte eines Lappens
T2c	Tumor befällt beide Lappen
T3	Tumor hat Prostatakapsel durchbrochen/Invasion der Samenblase
T4	Tumor infiltriert Nachbarstrukturen oder -organe
N0	Lymphknoten frei
N1	Befall eines Lymphknotens
N2	Befall mehrerer regionärer Lymphknoten
N3	Fixation befallener regionärer Lymphknoten
N4	Befall entfernter Lymphknoten
M0	keine Metastasen
M1	Fernmetastasen

Die histologische Beurteilung zur Bestimmung des Malignitätsgrades des Prostatakarzinoms erfolgt anhand des *Gleason Scores*. Für das vorherrschende und für das wenig vorkommende Wachstumsmuster wird der Differenzierungsgrad von Drüsenform, Drüsengröße, Drüsenabstand, Stromainvasion und Herdgrenzen mit 1-5 Punkten bewertet. Die Summe ermöglicht die Beurteilung: 2 bedeutet wenig maligne, 10 hoch maligne.^{7 8}

1.1.4 Klinische Symptomatik

Studien haben gezeigt, dass die bei Prostatakarzinomen auftretenden Symptome wie Pollakisurie, Dysurie, Nykturie, Dranginkontinenz, Schwächung des Harnstrahles, verzögerter Miktionsbeginn, Restharnbildung bis hin zum Harnverhalt weder sensitiv noch spezifisch für die Diagnose des Prostatakarzinoms sind.^{2 8} Sie ermöglichen auch keine sichere Differenzierung zwischen benignen und malignen Prozessen. Tumoren im Stadium T1 bis T2 sind häufig asymptomatisch, während bei benigner Prostatahyperplasie, sowie Tumoren im Stadium T3 – T4 die oben erwähnten Beschwerden auftreten.² Da Prostatakarzinome sich vor allem in der peripheren Zone der Prostata entwickeln (die benigne Prostatahyperplasie entsteht in erster Linie in der Transitionalzone der Prostata, die urethrale Zone ist selten von Veränderungen betroffen)³, treten Symptome erst spät auf, wenn es durch den Tumor zu einer Kompression der Urethra kommt, oder durch das Tumorwachstum eine Invasion und Zerstörung der Sphinktermuskulatur des Harntraktes erfolgt.

Häufig wird das Prostatakarzinom zufällig bei Patienten entdeckt, die über rheumatische oder ischialgieforme Beschwerden klagen.⁷ In diesem Fall sorgen die bei Prostatakarzinomen häufigen Knochenmetastasen für die ersten Beschwerden. Die Metastasierung erfolgt über die Vertebralvenen und betrifft neben Becken – und Femurknochen hauptsächlich die Lendenwirbelsäule.⁵

1.1.5 Diagnostik

1.1.5.1 Klinische Diagnostik

Die hohe weltweite Prävalenz dieses Karzinoms, sowie die guten Therapiechancen im organbegrenzten Stadium, z.B. durch radikale Prostatektomie, verdeutlichen die Wichtigkeit der Früherkennung. Aus diesem Grund wird das jährliche Prostatacreening allen Männern empfohlen, die noch eine voraussichtliche Lebensdauer von 10 Jahren haben und aufgrund ihres Alters zur Risikogruppe für das Prostatakarzinom gehören.

Digitale rektale Palpation: Diese Untersuchung soll die Beurteilung von Größe und Gewebestruktur der Prostata ermöglichen und bei der Diagnostik von pathologischen Befunden, wie Knoten, Asymmetrien und Indurationen, helfen. Die Untersuchungstechnik hat bei einem geübten Untersucher eine Sensitivität von 70%.¹ Catalona et al. stellten in einer Studie die Effektivität der digital rektalen Palpation bei Screeningtests der PSA – Bestimmung gegenüber. Sie fanden heraus, dass anhand der digital rektalen Palpation von 264 Karzinomen 146 (55%) diagnostiziert werden konnten, bei der PSA – Messung wurden 82% der Tumoren (216 von 264 Karzinomen) erkannt.⁹ Außerdem erlaubt dieses Verfahrens nicht möglich, das pathologische Stadium einer Tumorerkrankung festzustellen, sondern es wird in den meisten Fällen anhand dieser Methode zu niedrig eingestuft.¹⁰ 50 – 60% der tastbaren Prostatakarzinome haben die Organgrenze bereits überschritten, was die Prognose der Patienten verschlechtert.¹

Transrektaler Ultraschall: Aufgrund der geringen Bildauflösung ist diese Methode weniger zum Screening als vielmehr zur genauen Volumenbestimmung der Prostata und der sonographischen Steuerung der Stanzbiopsien sinnvoll. Auch CT und MRT sind sehr unspezifische Verfahren, und werden zum Staging des Prostatakarzinoms nicht empfohlen.¹⁸

Stanzbiopsie: 8 – 10% der Männer zwischen dem 50. und 69. Lebensjahr haben einen Befund (PSA > 4 ng/ml, auffälliger Befund bei der digital rektalen Palpation)⁹, der eine Stanzbiopsie nahe legt.¹¹ Die Prostata wird gedanklich in Sechstel gegliedert und jeder Teilbereich ultraschallgesteuert biopsiert. Stellen mit auffälligem Tastbefund werden zusätzlich punktiert. Als häufige Komplikationen treten Hämaturie und Hämatospermie bis hin zu rektalen Blutungen auf, seltener kommt es zur Sepsis.¹¹

1.1.5.2 Labordiagnostik

Das Prostata spezifische Antigen (PSA) ist ein entscheidender Marker in der Diagnostik des Prostatakarzinoms, auch wenn der Marker nicht tumorspezifisch, sondern ausschließlich spezifisch für Prostatagewebe ist.¹² Es gibt verschiedene Eigenschaften, die PSA als geeigneten Marker für Tumorerkrankungen der Prostata auszeichnen:

- PSA ist spezifisch für Prostatagewebe, auch wenn durch Immunoassays PSA – Aktivität im Gewebe der paraurethralen und analen Drüsen, im Zytosol von Brustkrebszellen¹³, in Endometrium, apokrinen Schweißdrüsen, Amnionflüssigkeit, sowie Muttermilch¹⁴ nachgewiesen werden kann.
- Die PSA – Konzentrationen im Blut ermöglichen die Tumorerkennung bevor es die Möglichkeiten der klinischen Diagnostik zulassen.
- PSA hat mit 2-3 Tagen eine relativ kurze Halbwertszeit, so dass sich die PSA – Konzentrationen unter erfolgreicher Therapie schnell verändern.²³

PSA ist ein einkettiges Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 25 – 40 kDa und hat die Funktion einer kallikreinähnlichen Serinprotease.¹⁵ PSA wird vom Prostataepithel in hohen Konzentrationen (0,5 – 5 g/l)¹⁶ in die Samenflüssigkeit sezerniert und sorgt durch die Spaltung von Fibronectin, Seminogelin I und II für deren Verflüssigung. Bei jungen, gesunden Männern kommt es selten (1 : 1.000.000 sezernierter PSA Moleküle) zum retrograde Eintreten von PSA in den Blutkreislauf, sodass die Serumkonzentrationen weniger als 4 ng/ml betragen.¹⁶ Bei Prostatakarzinomen, benignen Prostataerkrankungen oder mechanischem Trauma kommt es dagegen zu einem massiven Einstrom von PSA ins Blut. Zur Diagnostik wurden Cut-Off-Werte festgelegt, anhand derer die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines Prostatakarzinoms beurteilt wird. Die Inzidenz für ein Karzinom liegt bei Werten unter 4 ng/ml zwischen 4 und 9%, bei Werten von 4 bis 10 ng/ml zwischen 24 und 25%. Bei Konzentrationen über 10 ng/ml steigt die Wahrscheinlichkeit parallel zum Wachstum des Karzinoms auf Werte zwischen 33 und 42%.¹ Es ist zwar nicht möglich, das pathologische Stadium der Tumorerkrankung mit Hilfe der PSA – Bestimmung zu klassifizieren, dennoch korreliert die Höhe der PSA – Spiegel mit dem invasiven Befall der Organkapsel der Prostata, der Samenblase oder regionären Lymphknoten und damit mit der Prognose.¹⁷ Die Rezidiv freie 5 – Jahres – Überlebensrate liegt bei PSA – Werten <10 ng/ml bei 93%, bei Werten > 10 ng/ml nur noch bei 71%.¹⁸

1.1.5.3 Einflussfaktoren auf den PSA-Spiegel

Die folgenden Parameter können Einfluss auf die Konzentrationen von PSA nehmen:¹⁹

Alter: Gewebekonzentrationen von PSA sind altersabhängig. Die bei Geburt hohen Konzentrationen sinken innerhalb von 6 Monaten in nicht mehr messbare Bereiche. Ab

dem 10. Lebensjahr steigen die Spiegel kontinuierlich an, fallen jedoch mit Beginn der Pubertät wieder ab.²³ Mit zunehmendem Alter steigen die PSA-Konzentrationen im Serum wieder an. So haben nur 10,7 % der < 60 jährigen Männer ein PSA > 4 ng/ml, während bei den > 60 jährigen Patienten schon ca. 40 % ein erhöhtes PSA aufweisen.²⁰ Aus diesem Grund sind altersspezifische PSA – Grenzwerte eingeführt worden: (Tabelle 2)²¹

Tabelle 2: Altersspezifische Grenzwerte für PSA

Alter	PSA – Wert (ng/ml)
40-49	2,5
50-59	3,5
60-69	4,5
70-79	6,5

Prostatagröße: Verantwortlich für steigende PSA – Werte kann ebenfalls ein erhöhtes Prostatavolumen (normales Prostatavolumen: ca. 30-35 ml) sein, das unter Verwendung des transrektalen Ultraschalls, sowie des MRTs bestimmt werden kann. Das Serum – PSA steigt um 0,3 ng/ml pro Gramm gesundes Prostatagewebe. Pro Gramm Tumorgewebe steigen die PSA – Konzentrationen um ca. das 10 fache, d. h. um 3,5 ng/ml.²³ Da im Alter aufgrund der benignen Prostatahyperplasie ebenfalls das Prostatavolumen zunimmt, wird eine Differenzierung zwischen benignen und malignen Prozessen anhand des Prostatavolumens immer schwieriger.

Manipulation der Prostata: Die PSA – Konzentrationen im Serum werden durch diagnostische und therapeutische Maßnahmen verändert. So kommt es nach digital rektaler Untersuchung, transrektalem Ultraschall, Prostatabiopsien, Urethrozystoskopien oder Thermotherapie der Prostata zu einem Anstieg der PSA – Werte. Durch die digital rektale Untersuchung können die PSA – Werte um ca. 0,26-0,4 ng/ml²² steigen, durch Prostatabiopsien kommt es zu einem für 2 – 4 Wochen messbaren Anstieg der Spiegel um im Mittel 7,9 ng/ml²² und beim transrektalen Ultraschall können sich die Konzentrationen um bis zu 10% erhöhen¹⁹. Nach einer Biopsie sollte deshalb zwischen Untersuchung und nächster Blutabnahme zur PSA –

Bestimmung eine Wartezeit von ca. 3 Wochen liegen. Bei weniger invasiven Eingriffen, wie der digital rektalen Palpation, ist auch ein Zeitraum von 1 Woche ausreichend.

Veränderungen des PSA-Spiegels nach radikaler Prostatektomie: PSA ist ein geeigneter Marker für das Patientenmonitoring, insbesondere nach chirurgischer Prostatektomie. Nach einer radikalen Prostatektomie sollte PSA im Serum nicht mehr nachweisbar sein, da es ausschließlich von der Prostata selbst produziert wird. Anhaltend messbare Konzentrationen deuten auf Metastasen oder verbliebendes Prostatagewebe hin. Bei steigenden PSA – Spiegeln besteht der dringende Verdacht auf ein Rezidiv der Tumorerkrankung.²³

Pathologische Einflussgrößen: Zu einem PSA – Anstieg kann es auch bei einer Prostatitis oder einem Prostatainfarkt kommen. Auch Erkrankungen, die nicht die Prostata selbst betreffen, können zu einer Veränderung des PSA – Konzentration führen. So kann es bei akut schmerzhaftem Harnverhalt, sowie einer akuten Leberfunktionsstörung ebenfalls zu einer PSA – Erhöhung kommen.

Ejakulation: Bei 49 – 79 jährigen Männern kommt es nach Ejakulation zu einem Anstieg der Serum – PSA – Konzentrationen, der bei 97% der Untersuchten für mindestens 48h messbar bleibt.²⁴ Bei Männern mit PSA – Spiegeln im oberen Normbereich wirken sich PSA – Veränderungen durch Ejakulation stärker aus als bei Patienten mit Serumkonzentrationen im unteren Bereich. Aus diesem Grund wird Patienten empfohlen, dies bei entsprechenden Probenentnahmen für Screeninguntersuchungen zu berücksichtigen, um falsch positive Tests, sowie unnötige Prostatabiopsien zu vermeiden.²⁴

Sport: Fahrrad fahren bewirkt einen geringen Anstieg der PSA – Konzentrationen im Serum.

Zirkadiane Rhythmik: Es gibt keine Hinweise, dass die PSA – Konzentrationen tagszeitlichen Schwankungen unterliegen.¹²

Krankenhausaufenthalt: 24h nach Aufnahme wird bei Patienten ein PSA – Abfall um ca. 18% beobachtet. Bei einigen Patienten fallen die Werte sogar um bis zu 50%. Der

Grund hierfür ist noch nicht ganz geklärt. Es wird vermutet, dass die Gabe von Sedativa, sowie die Rückenlage im Bett verantwortlich ist.¹²

1.1.6 Therapie

Eine Möglichkeit ist die radikale Prostatektomie, die das Risiko, an dem Tumorleiden zu sterben, senkt. Sie ist nur dann indiziert, wenn Organ – und Lymphknotenmetastasen ausgeschlossen sind.⁷ An Komplikationen kommt es nach dem chirurgischen Eingriff bei 2-5% der Männer zu schwerer Inkontinenz, ca. 70% klagen über Impotenz.¹¹

Nachblutungen, Strikturen und Nebenhodenentzündungen sind selten. Darüber hinaus ist bei Patienten mit bereits initial lokal fortgeschrittenem Karzinom (T3 N0 M0) eine Strahlentherapie die Methode der Wahl.⁷ Da das Prostatakarzinom eine multifokale Erkrankung ist und durch Biopsien selten alle Herde identifiziert werden können, wird die gesamte Prostata der Bestrahlung ausgesetzt. Überschreitet das Risiko für die Ausbreitung des Tumors auf Samenblase oder Beckenlymphknoten mehr als 15%, werden diese ebenfalls bestrahlt.²⁵ Da die Radiotherapie ein nicht invasives Verfahren ist, ist sie auch günstig für Patienten, für die aufgrund ihres Alters oder ihres allgemeinen Gesundheitszustandes eine Prostatektomie zu risikoreich wäre.

Eine mögliche Therapieoption bei Organ – und Lymphknotenmetastasen ist die Hormontherapie bei androgenabhängigen Formen des Prostatakarzinomes. Hierfür kommen verschiedene Verfahren zur Anwendung. Sehr effektiv und dauerhaft ist der Hormonentzug durch beidseitige Orchiektomie (Absinken des Serumtestosteronspiegels auf 10% des Normwertes). Medikamentöse Möglichkeiten sind die Gabe von LH RH – Analoga und Antiandrogenen. Varianten sind hierbei entweder eine Monotherapie oder das Erreichen einer vollständigen Androgenblockade durch die kombinierte Gabe. Mit dieser antiandrogenen Therapie sind unerwünschte Nebenwirkungen verbunden. Es kommt zu Hitzewallungen, Libido – und Potenzverlust, Depression, Gynäkomastie, sowie beim chronischen Androgenentzugssyndrom zu Osteoporose, Anämie und Muskelatrophie.²⁶ Mit zunehmender Progredienz des Tumors lässt nach 2-3 Jahren die Wirkung der antiandrogenen Therapie nach.⁷ Ist eine Umstellung der Hormontherapie nicht erfolgreich, ist Chemotherapie, beispielsweise mit Docetaxel + Prednison oder Mitoxantron + Prednison, eine weitere Alternative für Patienten mit metastasiertem, hormonrefraktärem Prostatakarzinom um Schmerzen zu reduzieren und die Lebensqualität zu verbessern.²⁷

1.2 Nierenzellkarzinom

1.2.1 Epidemiologie

Das Nierenzellkarzinom macht ca. 2-3 % aller malignen Tumore aus. In den USA wurde dieses Karzinom im Jahr 2006 bei ungefähr 39.000 Patienten diagnostiziert, 13.000 Menschen starben an dieser Tumorerkrankung.²⁸ Das mittlere Manifestationsalter liegt bei 60. Jahren, wobei das Nierenzellkarzinom vor dem 40. Lebensjahr selten beobachtet wird. Durchschnittlich erkranken mehr Männer als Frauen (Verhältnis 3:1).⁷

1.2.2 Ätiologie

Das Auftreten von Nierenzellkarzinomen wird durch verschiedene Risikofaktoren gefördert. Wie bereits unter 1.2.1 erwähnt, prädisponiert das männliche Geschlecht für die Entstehung eines Nierenzellkarzinomes. Bei Frauen besteht ein enger Zusammenhang zwischen einem erhöhten Körpergewicht und der Wahrscheinlichkeit, an einem Nierenzelltumor zu erkranken.⁶ Durch Zigarettenkonsum wird das Risiko verdoppelt. Ebenso führt die Exposition mit Petroleum, Asbest und Kadimium zum Auftreten des Tumors,⁶ da diese Substanzen möglicherweise zu Mutationen in bestimmten Genen (z.B. dem von Hippel – Lindau – Tumorsuppressorgen) führen. Das klarzellige Nierenzellkarzinom ist darüber hinaus die häufigste Todesursache beim von Hippel – Lindau Syndrom. Des weiteren ist das Erkrankungsrisiko für Patienten mit Zystennieren um ca. 30 % gegenüber der Normalbevölkerung erhöht,²⁹ wobei insbesondere Männer mit Zysten, die zu einer sichtbaren Nierenvergrößerung führen, betroffen sind. Außerdem besteht eine Korrelation zwischen Dialysezeit und Entwicklung eines malignen Nierentumors. Das Risiko steigt ab dem 8. bis 10. Dialysejahr.

1.2.3 Pathologie und Stadieneinteilung

Das Nierenzellkarzinom tritt hauptsächlich an den Nierenpolen auf und wächst von dort aus in Richtung Nierenhilus. Dabei erreicht es Größen von 3 – 15 cm. Bei einem Durchmesser von < 2 cm ist eine Malignität unwahrscheinlich, da in diesem Fall eher ein Nierenadenom vorliegt. Man kann 5 verschiedene Typen des Nierenzellkarzinomes unterscheiden:^{30 31}

Klarzelliger Typ: Dieser Typ macht ca. 75% der Nierenzellkarzinome aus. Der Tumor, der von den Epithelzellen des proximalen Nierentubulus ausgeht, kann sowohl in solider, tubulärer, papillärer als auch zystischer Form vorliegen. Bei diesem Typ tritt in 80 % der Fälle eine Mutation im von Hippel – Lindau Gen (Lage auf 3p25 – 3p26) auf. Die Inaktivierung dieses Tumor – Suppressor – Gens führt zu einer Überexpression von vascular endothelial growth factor, platelet derived growth factor und anderen Hypoxie – induzierten Proteinen und fördert auf diese Weise Wachstum, Angiogenese und Metastasierung des Tumors.³²

Chromophiler Typ: Dieser multifokal, bilateral auftretende Typ ist mit 10% die zweithäufigste Erscheinungsform. Auch diese Variante, die durch papilläres Wachstum und stark eosinophiles oder basophiles Zytoplasma gekennzeichnet ist, nimmt ihren Ursprung von den Zellen des proximalen Tubulus. Als genetische Besonderheiten fallen ein Verlust des Y – Chromosomes, sowie eine Trisomie der Chromosomen 7, 8, 12, 16, 17 oder 20 auf.

Chromophober Typ: Dieser sich im Epithel des Sammelrohres bildende Typ ist mit 5% relativ selten. Den Tumorzellen fehlt das sonst für Nierenzellkarzinome typische glykogen – und lipidreiche Zytoplasma. Diese Tumorform wächst bevorzugt solide oder tubulär und basiert auf einem kombinierten Verlust der Chromosomen 1, 2, 6, 10, 13, 17, oder 21.³³

Onkozytischer Typ: Diese ebenfalls von den Sammelrohren ausgehende Gruppe (Vorkommen: 3%) ist aufgrund ihres wenig invasiven Wachstums und ihrer geringen Neigung zur Metastasierung als benigne einzustufen. Sie verlangt aber wegen ihrer eventuell schnellen Vergrößerung mit Zerstörung des angrenzenden Nierenparenchyms eine engmaschige Überwachung. Auffällig ist die Eosinophile der Tumorzellen, deren Hintergrund der hohe Mitochondriengehalt des Zytoplasmas ist. Auch hier liegt der Tumorentstehung meist ein hypodiploider Chromosomensatz mit möglichem Verlust der Chromosomen 1, 2, 6, 10, 13, 17, and 21 zugrunde.

Bellini-Gang Typ: Mit 1% Auftretenswahrscheinlichkeit ist diese Tumorform extrem selten. Sie tritt bevorzugt bei jüngeren Patienten auf und zeigt einen aggressiven Verlauf mit oft schwerer Hämaturie. Häufig liegen bereits bei Erstdiagnose Metastasen vor. Die

mittlere 5 – Jahres – Überlebensrate liegt bei ca. 34%. Dieses Nierenzellkarzinom geht von den im Nierenmark gelegenen Anteilen der Sammelrohre aus. Es konnte bis jetzt keine genetische Aberration als Grundlage gefunden werden, es scheint jedoch ein genetischer Zusammenhang zur Sichelzellanämie zu bestehen.

Neben den bereits erwähnten Mutationen liegt bei ca. der Hälfte der Tumoren auch eine Veränderung des Tumorsuppressorgens p53 vor, die die Aggressivität der Erkrankung steigert. Die Mutation ist wahrscheinlich für eine Überexpression von Interleukin 6 verantwortlich.³⁴

Die in *Tabelle 3* gezeigte Stadieneinteilung der Nierenzellkarzinome erfolgt anhand der TNM – Klassifikation.⁷

Tabelle 3: TNM Klassifikation des Nierenzellkarzinoms

Stadium	Ausbreitung
T1a	Tumor < 4 cm, begrenzt auf die Niere
T1b	Tumor > 4 cm und < 7 cm, begrenzt auf die Niere
T2	Tumor > als 7 cm, begrenzt auf die Niere
T3a	Tumor infiltriert perirenale Fettkapsel oder Nebenniere, Gerotafaszie intakt
T3b	Tumorausdehnung in Nierenvene oder V. cava infradiaphragmal
T3c	Tumorausdehnung in V. cava supradiaphragmal
T4	Tumor durchbricht die Gerotafaszie
N0	Lymphknoten frei
N1	Befall eines regionären Lymphknotens
N2	Befall mehrerer regionärer Lymphknoten
M0	keine Metastasen
M1	Fernmetastasen

1.2.4 Klinische Symptomatik

Das Nierenzellkarzinom verläuft im Frühstadium oft asymptomatisch. Typisch für das fortgeschrittene Nierenzellkarzinom ist neben der klassischen B – Symptomatik die Symptomtrias „tastbar vergrößerte Niere, Flankenschmerz und schmerzlose Hämaturie“. Bei extrem starken Blutungen kann es durch Koagelbildung im Nierenbecken zu Koliken kommen. Als Folge eines Verschlusses der Einmündungsstelle der Vena testicularis in die Vena renalis kann es zu einer

linksseitigen Varikozele kommen, die auch bei horizontaler Lage des Patienten bestehen bleibt.⁷ Infolge der Tumorinvasion in die Vena cava treten bei Patienten Ödeme der unteren Extremität, Aszites und hepatische Dysfunktion auf. Eine weitere Besonderheit des Nierenzellkarzinoms sind die paraneoplastischen Syndrome, die sich durch die ektope Bildung von Hormon (z.B. Erythropoetin, Renin, parathyreoid hormon – related protein) entwickeln.³⁵

- Blutbild: Bereits Monate vor der Erstdiagnose eines Nierenzellkarzinomes können Anämie und Polyglobulie auffallen.
- Stauffer – Syndrom: Es können Leberfunktionsstörungen auftreten, die zu einer Erhöhung der alkalischen Phosphatase, Dysproteinämie und einer Verlängerung der Prothrombinzeit führen.
- Hyperkalzämie: Sie entsteht durch die Entwicklung osteolytischer Metastasen, die vermehrte Bildung sowohl von parathyreoid hormon – related protein als auch von Prostaglandinen, die die Knochenresorption beschleunigen.
- Hypertonie: Es kann eine vermehrte Reninproduktion vorliegen.

Bei Erstdiagnose sind bereits ca. 30% der Tumore metastasiert.³⁶ Bei über 50 % der Patienten kommt es im Verlauf der Tumorerkrankung ebenfalls zur Metastasenbildung im Knochen, die durch Schmerzen, pathologische Frakturen und Immobilität die Betroffenen stark einschränken.³⁷ Hinter Lungenmetastasen sind Knochenmetastasen, die beim Nierenzellkarzinom überwiegend osteolytischen Charakter haben, der zweithäufigste Manifestationsort, wobei insbesondere das Becken, Wirbelsäule, Rippen, Schädel und die langen Röhrenknochen betroffen sind.³⁸ Darüber hinaus finden sich metastatische Herde in Lymphknoten, Leber und ZNS.

1.2.5 Diagnostik

Zu den Standardmethoden für die Diagnose eines Nierenzellkarzinomes gehören CT und Ultraschall. Besonders letzteres ist hilfreich um die Differenzialdiagnose Nierenzyste sicher abgrenzen zu können. Um eine eventuelle Invasion des Tumors in die Vena cava diagnostizieren zu können eignet sich das MRT mit Gabe von Gadolinium. Klagen die Patienten über Knochenschmerzen oder zeigt sich im Serum ein erhöhter Spiegel der Alkalischen Phosphatase, so ist eine Knochenszintigrafie indiziert. Aufgrund der geringen Prävalenz wird ein Screening nur für Patienten

bestimmter Risikogruppen empfohlen, so z. B bei positiver Familienanamnese, einer vorhergehenden Bestrahlung der Niere, langer Dialysezeit und bei Vorlage eines von Hippel – Lindau Syndroms.

1.2.6 Therapie

Bei einer Tumorgröße < 4 cm kann eine Teilresektion des betroffenen Nierenabschnittes durchgeführt werden. Bei größeren Tumoren ist die radikale Nephrektomie (einschließlich Lymphadenektomie zum Staging) erforderlich. Als Komplikation kann es nach der Operation zur Dialysepflichtigkeit kommen. Außerdem können Nachblutungen, Milzverletzungen und eine Darmatonie auftreten.⁷ Bei Verletzung der Pleura besteht die Möglichkeit eines Pneumothorax. Eine Adrenalektomie ist nur bei Befall der Nebenniere indiziert. Auch sollten solitäre Metastasen und Tumorthromben in der Vena cava entfernt werden, um so die Prognose des Patienten zu verbessern. Da Nierenzellkarzinome kaum strahlen - und chemotherapiesensibel sind, kann bei metastatischem Krankheitsverlauf eine Immuntherapie mit alpha – Interferon und Interleukin 2 durchgeführt werden.³⁹

Neue Therapieansätze für Patienten mit fortgeschrittenen und metastasierten Nierenzellkarzinomen, bei denen andere Therapieoptionen versagt haben, sind beispielsweise Angiogenese – Inhibitoren, Tyrosinkinase – Inhibitoren oder Epidermal Growth Factor Rezeptor Antagonisten, da eine Up – Regulation entsprechender Pathways nachgewiesen werden konnte.³⁶ Ein Beispiel hierfür ist Sorafenib, ein Multikinase – Inhibitor, der sowohl die Tumorzellproliferation hemmt, als auch die Angiogenese unterdrückt und damit das Fortschreiten der Erkrankung verzögert.⁴⁰

1.3 Ovarialkarzinom

1.3.1 Epidemiologie

Das Ovarialkarzinom ist mit ca. 3 – 4 % der zweithäufigste gynäkologische Tumor nach dem Mammakarzinom. In den USA wurden im Jahr 2006 ungefähr 21.000 neue Fälle diagnostiziert, 15.000 Menschen starben an dieser Tumorerkrankung.²⁸ Die Erkrankungswahrscheinlichkeit steigt kontinuierlich zwischen dem 45. bis 60. Lebensjahr, nur 10 % der Karzinome treten bei Frauen unter 40 Jahren auf.

1.3.2 Ätiologie

Das Risiko, an einem Ovarialkarzinom zu erkranken, scheint mit der zunehmenden Zahl abgelaufener Ovulationen zu steigen, da die wiederholte Ruptur und Regeneration des Oberflächenepithels die Entstehung maligner Proliferationen begünstigt.⁴¹ Aus diesem Grund sind insbesondere weiße, kinderlose Frauen über 40 Jahre von diesem Tumorleiden betroffen. Weitere Risikofaktoren sind eine positive Familienanamnese, Übergewicht, Nikotinabusus, sowie frühe Menarche (< 12 Jahre) und späte Menopause (> 50 Jahre). Auch ein Überschuss an Gonadotropin, der zu erhöhten Östrogenspiegeln und damit gesteigerter Epithelproliferation führt, wird als Risikofaktor für eine Karzinogenese diskutiert. Darüber hinaus spielen genetische Faktoren eine entscheidende Rolle. Das Risiko, bis zum 70. Lebensjahr an einem Ovarialkarzinom zu erkranken, beträgt bei Mutationen im BCR 1 Gen etwa 40 %, bei Mutationen im BCR 2 Gen ca. 20%.⁴² Protektiv wirken sich dagegen die Einnahme oraler Kontrazeptiva (Risikoreduktion um ca. 35 %), Multiparität (Risikoreduktion um ca. 25 – 50 %), sowie Stillen (Risikoreduktion um ca. 20 %) aus.⁴³ Außerdem zeigt auch die Durchführung gynäkologischer Operationen, beispielsweise einer Tubenligatur oder einer Hysterektomie, positive Effekte. Zum einen kommt es hierdurch zur Anovulation, zum anderen wird die Aszension von Erregern durch die Vagina in die Peritonealhöhle verhindert.

1.3.3 Pathologie und Stadieneinteilung

Das Ovarialkarzinom ist eine multizentrische Erkrankung und tritt aus diesem Grund meist bilateral auf. Es werden verschiedenen Typen unterschieden:⁴⁵

Borderline Tumor: Es handelt sich hierbei um einen malignen Tumor, der aber kein invasives Wachstum zeigt und selten Omentum majus, Lymphknoten und Peritoneum infiltriert.

Epitheliale Tumoren: Diese Gruppe macht ca. 70 – 80 % der Ovarialkarzinome aus. Während die muzinösen und endometrioiden Tumore hoch – bis mittelgradig differenziert sind und demnach eine relativ günstige Prognose haben, fallen die undifferenzierten serösen und hellzelligigen Karzinome durch eine sehr schlechte Prognose auf. Die serös – papillären Ovarialtumore sind insgesamt betrachtet der häufigste histopathologische Typ.

Metastatische Tumore: Etwa 6 – 10 % der Ovarialkarzinome sind durch Metastasen eines anderen Primärtumors bedingt. Häufig sind die Abtropfmetastasen des Magenkarzinoms, der sogenannte Krukenberg tumor, sowie Filiae von Mamma – und Uterustumoren. Bei metastatischen Ovarialtumoren kommt es seltener zu Aszites als bei primären Ovarialkarzinomen.

Stromazelltumore: Dieser Typ macht ca. 4 % aller Ovarialkarzinome aus. Es werden beispielsweise die Östrogen bildenden Granulosa – und Thekazellkarzinome, sowie die Androgen bildenden Sertoli – und Leydigzelltumore unterschieden. Die Patientinnen werden durch Folgen des Hormonüberschusses auffällig, beispielsweise durch Pubertas praecox oder durch Virilisierungerscheinungen.

Tabelle 4 zeigt zwei verschiedene Klassifizierungssysteme für Ovarialkarzinome.

Tabelle 4: Zwei verschiedene Tumorklassifikationen für Ovarialkarzinome ⁴⁴

FIGO	TNM	Ausbreitung
I	T1	Karzinom auf Ovarien begrenzt
Ia	T1a	Nur ein Ovar befallen, kein Aszites, kein Tumor auf der Oberfläche, Kapsel intakt
Ib	T1b	Beide Ovarien befallen, kein Aszites, kein Tumor auf der Oberfläche, Kapsel intakt
Ic	T1c	Wie Ia/Ib, aber mit Tumor auf der Oberfläche eines Ovars/beider Ovarien oder mit Kapselruptur oder mit positivem Aszites oder positiver Peritonealspülung
II	T2	Karzinom eines oder beider Ovarien mit Ausdehnung im kleinen Becken
IIa	T2a	Ausdehnung /Metastasen auf Uterus oder Tuben
IIb	T2b	Ausdehnung auf andere Gewebe im kleinen Becken
IIc	T2c	Wie IIa/IIb, aber mit Tumor auf der Oberfläche eines Ovars/beider Ovarien oder mit Kapselruptur oder mit positivem Aszites oder positiver Peritonealspülung
III	T3	Karzinom mit intraperitonealer Metastasierung außerhalb des kleinen Beckens und/oder positiven retroperitonealen/inguinalen Knoten, Leberkapselmetastasen
IIIa	T3a	Tumor makroskopisch auf das kleine Becken begrenzt, keine retroperitonealen Knoten, aber histologisch gesicherte Metastasierung ins Peritoneum

IIIb	T3b	Karzinom eines/beider Ovarien mit histologisch gesicherten intraabdominellen Metastasen <2cm, keine retroperitonealen Knoten
IIIc	T3	Karzinom eines/beider Ovarien mit histologisch gesicherten intraabdominellen Metastasen >2cm und N1
	N1	Retroperitoneale/inguinale Knoten
IV	M1	Karzinom eines/beider Ovarien mit Fernmetastasen, bei Pleuraergüssen nur bei positivem Tumorzellnachweis, Leberparenchymmetastasen

Die Ovarialkarzinome breiten sich schon frühzeitig intraperitoneal aus. Vor allem der untere Teil des kleinen Beckens, Oberbauch, Zwerchfell und Omentum majus sind von Absiedlungen befallen. Die Metastasierung erfolgt in erster Linie lymphogen, betroffen sind die pelvinen und paraaortalen Lymphknotenstationen. Hämatogene Streuungen sind seltener. So liegen Metastasen in Leber, Lunge und Knochen nur in ca. 5 – 10 % der Fälle vor.⁴⁴

1.3.4 Klinische Symptomatik

Die Frühsymptome des Ovarialkarzinoms sind sehr unspezifisch, so dass sich bei vielen Patientinnen die Tumorerkrankung zum Zeitpunkt der Erstdiagnose schon im fortgeschrittenen Stadium III oder IV befindet. Erst bei Krankheitsprogression kommt es zu Symptomen wie Übelkeit, Anorexie, aufgeblähtem Abdomen, Fremdkörpergefühl, Pollakisurie, Defäkationsschmerz und vaginalen Blutungen.⁴⁵ Darüber hinaus können Kreuzschmerzen, Aszites und Dyspnoe durch Pleuraergüsse auftreten.⁴¹ Starke Schmerzen im Zusammenhang mit Stieldrehungen oder Spontanrupturen des Ovars werden seltener beobachtet. Häufige Todesursache bei Patientinnen mit Ovarialkarzinom ist die Entwicklung eines Ileus, der bei Darmbefall entsteht und die Anlage eines künstlichen Darmausganges erfordert.

1.3.5 Diagnostik

1.3.5.1 Klinische Diagnostik

Ultraschall ist zur frühen Entdeckung von ovariellen Veränderungen geeignet. Wird im Rahmen der gynäkologischen Untersuchung bei der bimanuellen Palpation eine tumorverdächtige Resistenz getastet, so kann ebenfalls mit Hilfe der Sonografie eine genauere Differenzierung vor allem kleiner Befunde erfolgen. Zur weiteren Diagnostik wird die Laparoskopie verwendet. Entscheidend ist, dass bei Frauen vor der Menopause

nur 5 – 18 % der suspekten Befunde maligne sind, postmenopausal steigt dieser Prozentsatz auf ca. 30 – 60 %. Darüber hinaus kann durch Sonografie der ableitenden Harnwege, Koloskopie und Rektoskopie der Befall der umliegenden Organe ermittelt werden. Um das infiltrative Wachstum eines Ovarialkarzinoms beurteilen zu können, sind CT und MRT geeignet. Eine Aszitespunktion ermöglicht eine zytologische Untersuchung der Peritonealflüssigkeit.

1.3.5.2 Labordiagnostik

Bei Patientinnen mit Ovarialkarzinomen eignen sich verschiedene Tumormarker zur Verlaufskontrolle:

Cancer – Antigen 125 (CA 125): Anhand des Glykoproteins CA 125 kann bei serösen und endometrioiden Ovarialkarzinomen der postoperative Therapieerfolg gut beurteilt werden. Ein Wiederanstieg dieses Parameters geht bei einem möglichen Rezidiv der klinischen Manifestation meist zeitlich voraus. Die normalen Serumkonzentrationen liegen bei < 35 U/ml, bei ca. 80 % der Tumorpatientinnen finden sich Werte > 65 U/ml. Die Spezifität von CA 125 wird jedoch durch die Tatsache eingeschränkt, dass seine Serumkonzentration auch durch benigne Erkrankungen wie z.B. Ovarialzysten, Uterusmyome, Endometriose und Leberzirrhose, sowie andere maligne Prozesse wie Uterus-, Brust- oder Pankreaskarzinome erhöht wird, und die Messwerte vom Menstruationszyklus abhängig sind.⁴¹ Aus diesem Grund eignet sich der Parameter vor allem bei postmenopausalen Patientinnen.⁴⁶

Carcinoembryonales Antigen (CEA): Die normalen Serumkonzentrationen liegen bei gesunden Erwachsenen < 3 ng/ml, Werte > 10 ng/ml sind als maligne anzusehen. CEA ist aufgrund seiner geringen Sensitivität kein geeigneter Screening – Parameter für Ovarialkarzinome, da er auch bei Karzinomen von Kolon, Pankreas, Magen, Mamma und Bronchen,⁴⁷ sowie im Rahmen einer chronisch entzündlichen Darmerkrankung, Pankreatitis, Hepatitis oder Leberzirrhose erhöht sein kann⁴⁸. Auch Rauchen kann zu erhöhten CEA Spiegeln führen. Der Marker CEA eignet sich jedoch vor allem bei endometrioiden und muzinösen Karzinomen um den postoperativen Therapieerfolg abzuschätzen und Tumorrezidive und Metastasierung durch einen Wiederanstieg des Tumormarkers zu erkennen.⁴⁹

1.3.6 Therapie

Grundlage der zytoreduktiven Therapie eines Ovarialkarzinoms ist eine radikale Operation, bei der Tumorreste < 1 cm angestrebt werden.⁴¹ Hierzu wird eine mediane Laparotomie durchgeführt, durch die die Entfernung der erkrankten Adnexen, des Uterus und des umgebenden Peritoneums ermöglicht wird. Ebenfalls wird in diesem Rahmen oft eine Lymphadenektomie angeschlossen, um die Wahrscheinlichkeit der Tumorfreiheit zu erhöhen. Da man ab FIGO – Stadium Ic davon ausgeht, dass Tumorreste zurückbleiben, muss an die Operation eine systemische Therapie angeschlossen werden, um das Rezidivrisiko zu minimieren. Als Chemotherapie 1. Wahl werden Carboplatin und Paclitaxel gegeben, Etoposid, Topotecan und Gemcitabin werden an 2. Stelle verabreicht. Die Chemotherapie hat außerdem bei den meisten Patientinnen einen positiven Effekt auf Aszites und Pleuraergüsse, die ab FIGO – Stadium III auftreten, anderenfalls kann der Allgemeinzustand durch Punktion verbessert werden. Zu den neueren Therapieverfahren gehört die Gabe von Interferonen, Interleukinen oder Tumornekrosefaktor, die zu einer Rückbildung von mikroskopischen Tumorresten beitragen können. Strahlentherapie wird heute nur noch palliativ zur Schmerzreduktion bei Knochenmetastasen eingesetzt.

1.4 Prokollagen Typ I aminoterminales Propeptid (P1NP)

1.4.1 Knochenstoffwechsel

Über 90 % der organischen Knochenmatrix bestehen aus Kollagen Typ 1. Die Knochensubstanz ist ein aktives Gewebe, das einem ständigen Umbau unterliegt. Die 206 Knochen des menschlichen Skelettes werden auf diese Weise kontinuierlich erneuert, wobei dieser Vorgang für die Knochenspongiosa ca. 4 Jahre, für die Knochenkompakta ca. 6 – 8 Jahre in Anspruch nimmt. Im gesunden Organismus besteht somit ein Gleichgewicht zwischen Knochenbildung durch Osteoblasten und Knochenresorption durch Osteoklasten.⁵⁰

1.4.2 Entdeckung von P1NP

Prokollagen Typ 1 aminoterminales Propeptid (P1NP) wurde ursprünglich als sogenanntes Fetales Antigen 2 (FA 2) aus Amnionflüssigkeit isoliert, die im Verlauf des

zweiten Trimenons gewonnen wurde.⁵¹ Aufgrund der Verteilung des FA 2 zwischen kindlichen und maternalen Gewebekompartimenten ging man zunächst davon aus, dass es sich um ein rein fetales Protein handelte. Zunehmend konnte aber beispielsweise eine vermehrte Synthese von FA 2 im Granulationsgewebe der Wundheilungsreaktion festgestellt werden und es wurde eine Produktion von FA 2 in Fibroblasten und Osteoblasten beobachtet. Darüber hinaus stellte man eine verstärkte Ablagerung des fetal Proteins im reaktiv proliferierenden Stromagewebe im Umfeld maligner Tumore, z.B. beim Brustkrebs, fest.⁵¹ Bei der genauen Analyse der Aminosäuresequenz von FA 2 stellte sich heraus, dass dieses Protein dem aminoterminalen Propeptid des Kollagen Typ 1 entsprach.

1.4.3 Bildung von P1NP

P1NP entsteht im Knochen aus einer Vorstufe des Kollagens, dem Prokollagen Typ I. Charakteristisches Merkmal dieser Vorstufe sind seine globulären, trimeren Erweiterungen am C – und N – terminalen Ende des Moleküles, die nach der Sekretion des Prokollagens in den Extrazellulärraum durch spezielle Propeptidasen abgespalten werden.⁵² Es werden also im Knochen stöchiometrisch zur Kollagenbildung äquivalente Mengen an Prokollagen Typ 1 *aminoterminalem* Propeptid (P1NP) und Prokollagen Typ 1 *carboxyterminalem* Propeptid (P1CP) in die Zirkulation freigesetzt. Obwohl Typ 1 Kollagen auch noch in anderen Strukturen wie Haut, Sehnen und Dentin vorkommt, ist der Kollagenmetabolismus in diesen Geweben zu gering um einen messbaren Einfluss auf die Mengen von P1NP und P1CP im Serum zu nehmen.⁵²

1.4.4 Quantifizierung von P1NP^{53 54}

P1NP ist ein thermisch instabiles Peptid, das bei Inkubation mit 37°C in eine hochmolekulare und eine niedermolekulare Form zerfällt, die aber immunologisch identisch sind. Die verschiedenen bekannten Nachweisverfahren unterscheiden sich in ihrer Spezifität für diese beiden Varianten. Die Kenntnis der jeweiligen Experimentbesonderheiten ist Voraussetzung für die Auswahl der optimalen Bestimmungsverfahren für P1NP im Rahmen der Diagnostik.

Größenchromatographie: Mit diesem Verfahren können unter Verwendung von Antikörpern gegen die $\alpha 1$ – Ketten des P1NP die hochmolekulare und die niedermolekulare Formen als zwei klare Peaks identifiziert werden. Mit Hilfe einer

Absorptionsmessung bei 280 nm treten die zwei molekularen Erscheinungsformen als Fraktionen 22 und 27 auf. Inkubiert man in einem weiterführenden Experiment die beiden Fraktionen bei 37°C, so erhält man unterschiedliche Ergebnisse: Während es in Fraktion 22 zu einer Abnahme der hochmolekularen zu Gunsten der niedermolekularen Verbindung kommt, ergeben sich für die Fraktion 27 keine wesentlichen Veränderungen. Dies bestätigt die Vermutung, dass P1NP ein heterogenes Erscheinungsbild aufweist und die hochmolekulare, trimere Struktur des P1NP als thermisch instabile Verbindung bei Körpertemperatur in die niedermolekulare, monomere $\alpha 1$ – Kette zerfällt. Begründen lässt sich diese Eigenschaft mit dem biochemischen Aufbau des P1NP. Als Kollagenvorläufer besitzt das trimere P1NP einen geringen Anteil an tripelhelicalen Abschnitten. Da aber die Tripelhelix des Kollagens nur durch schwache, nichtkovalente Bindungen zwischen den einzelnen Helices stabilisiert wird, enthält das trimere P1NP wenig widerstandsfähige Verbindungen und ist damit temperaturempfindlich.

SDS – Gelelektrophorese: Bei dieser Methode zeigen sich dagegen keine Unterschiede in den Eigenschaften der hoch – und niedermolekularen Form des P1NP. Fraktion 22 und Fraktion 27 weisen beide ein identisches Molekulargewicht von 27 kDa auf. Dieses Verhalten impliziert, dass sowohl das Trimer als auch das Monomer aus intakten $\alpha 1$ – Ketten bestehen, die ihrerseits das Molekulargewicht bestimmen. Die Gewichtsdivergenz der einzelnen $\alpha 1$ – Ketten (14,213 kDa) zu den in der SDS – Gelelektrophorese gemessenen 27 kDa erklärt sich durch das variable Vorkommen von sechs bis neun Hydroxyprolinresten am C – terminalen Ende der $\alpha 1$ – Ketten.

Immunoassays: Um den Gehalt von P1NP in Patientenproben zu bestimmen gibt es noch zwei weitere Testverfahren. Unter Verwendung von iodiertem (125 I) P1NP kann die hochmolekulare Struktur mit einem Radioimmunoassay (RIA) detektiert werden, während dieser Test sich nicht zum Nachweis des niedermolekularen Monomers eignet. Mögliche Ursache ist eine unterschiedliche Affinität der Antikörper zu der hoch – und niedermolekularen Form des P1NP. Durch einen speziellen Sandwich – ELISA mit monoklonalen Kaninchenantikörpern und Biotin – markierten Antikörpern gelingt dagegen die Darstellung beider Varianten. Inkubiert man im Versuch P1NP aus Amnionflüssigkeit über mehrere Stunden bei 37°C, so zeigen sich im ELISA keine Konzentrationsunterschiede, während im RIA die P1NP Konzentration drastisch sinkt.

Grund hierfür ist die Umwandlung der trimeren in die monomere Form, die – wie oben bereits erwähnt – mit dem RIA nicht mehr nachzuweisen ist. Bei einer Inkubationszeit über 72 h ist ein P1NP – Nachweis aufgrund einer Halbwertszeit der trimeren Form von ca. 10 h im RIA nicht mehr möglich. Normwerte für die gemessenen Konzentrationen von P1NP betragen für den ELISA – Test 61 ng/ml, für den RIA 45 ng/ml⁵⁴.

1.4.5 Einflussfaktoren auf die laborchemische Bestimmung von P1NP

Die Bestimmung von Knochenmarkern im Serum wird durch verschiedene Faktoren, (laborchemische Methoden sowie individuelle Eigenschaften der Patienten) beeinflusst. Die Variabilität beträgt für Knochenformationsmarker ca. 5 – 13 %.⁵⁵ Aufgrund dieser Variabilität ist es schwierig, präzise Schwellenwerte für die einzelnen Marker im Serum zu definieren. Um dennoch verwertbare Ergebnisse - beispielsweise für wiederholte Kontrollmessungen im Therapiemonitoring - zu erhalten, sollten die Abweichungen möglichst gering gehalten werden.

Alter und Geschlecht:⁵² Die Knochenmarkerkonzentrationen unterliegen einer starken alterabhängigen Variabilität. In früher Kindheit und Pubertät zeigen sich aufgrund des Wachstums höhere Spiegel als bei Erwachsenen. Männer zeigen im Verhältnis zu gleichaltrigen Frauen zwischen dem 20. und 30. Lebensjahr höhere Knochenmarkerwerte, da es in diesem Zeitraum zu einer maximalen Bildung von Knochenmasse kommt. Bei gesunden Männern bleiben anschließend die Marker des Knochenstoffwechsels konstant oder sinken leicht und erreichen zwischen dem 50. und 60. Lebensjahr ein Minimum.⁵⁶ Erst nach dem 60. Lebensjahr wird wieder ein vermehrter Knochenumsatz erreicht, der mit einer entsprechenden Erhöhung der Knochenmarker korreliert. Es kommt zu einer Abnahme der Knochenformation, während durch die unveränderte Aktivität der Osteoklasten die Knochenresorption weitgehend konstant bleibt. So ist für den mit dem Alter zunehmenden Knochenschwund bei Männern ein Nachlassen der Knochenneubildung verantwortlich. Insgesamt ist aber der altersbedingte Anstieg der Knochenmarker bei Männern geringer als bei Frauen.

Bei Frauen kommt es am Ende der prämenopausalen Phase sowohl zu einem Rückgang der Knochenneubildung, als auch zu einer später einsetzenden Erhöhung der Knochenresorption, die die Grundlage für die postmenopausale Osteoporose bildet. Somit ist, anders als bei den Männern der Knochenabbau gesteigert. Außerdem

unterliegt der Knochenmetabolismus auch im Zusammenhang mit Hormonveränderungen im Menstruationszyklus der Frau Schwankungen um ca. 10 – 20 %. Studien haben gezeigt, dass die Knochenneubildung in der Lutealphase höher als während der Follikelphase ist. Der Knochenabbau dagegen ist in der späten Follikelphase und frühen Lutealphase gesteigert. Um die Vergleichbarkeit bei der Markerbestimmung sicher zu stellen, ist eine Probenentnahme im Verlauf des 3. bis 7. Tages des Menstruationszyklus ideal.

Nahrungsaufnahme und Fasten: Mit Ausnahme der Alkalischen Phosphatase, bei der sich keine Veränderungen beobachten lassen, sind alle Knochenbildungs – und Knochenresorptionsmarker im nüchternen Zustand erhöht und sinken bei Nahrungsaufnahme. Wahrscheinlich ist eine Wechselwirkung mit Glucose oder Calcium in der zugeführten Nahrung. Für P1NP beträgt der Rückgang bei Nahrungszufuhr 3,8 +/- 0,9 %.⁵⁵ Insgesamt unterliegt der Knochenabbau einer stärkeren Beeinflussung durch Nahrungsaufnahme und Fasten als die Knochenneubildung. Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass eine Probenentnahme am besten im nüchternen Zustand erfolgen sollte um die Variabilität der Messergebnisse möglichst gering zu halten.⁵⁵

Insulin: Insulin wird als möglicher Mediator diskutiert, der für die Suppression des Knochenstoffwechsels nach Nahrungsaufnahme verantwortlich sein könnte. So hat man auf Osteoblasten und Osteoklasten Insulin – Rezeptoren gefunden, was einen direkten Einfluss des anabolen Hormones auf den Knochenstoffwechsel implizieren könnte.⁵⁷ Auch führt eine intravenöse Gabe von Insulin zu einem Absinken der Knochenresorption. Während es im Rahmen einer hypoglykämischen Hyperinsulinämie zu einer Reduktion der P1NP – Spiegel kommt, führt eine Hyperinsulinämie bei euglykämischer Stoffwechselsituation dagegen zu keiner signifikanten Änderung der Knochenmarkerkonzentrationen.⁵⁷ Diese Ergebnisse deuten an, dass Insulin nur im Zusammenhang mit einer hypoglykämischen Stoffwechsellage den Knochenmetabolismus beeinflusst, selbst aber kaum einen Effekt ausübt. Gründe für die Wirkung der Hypoglykämie sind direkte Auswirkungen auf die glucoseabhängige Funktion der Osteoblasten und Osteoklasten, Änderungen in Metabolismus oder Clearance der Knochenmarker selbst, sowie eine Reduktion der Parathormonkonzentration im Serum.⁵⁷ Auch im Gewebe der Nebenschilddrüse finden sich Insulin-Rezeptoren, die bei Stimulation durch Insulin die Sekretion des

Parathormones und damit gleichzeitig den Knochenumsatz senken.

Alkoholabusus:⁵⁸ Alkohol hat einen hemmenden Einfluss auf die Aktivität der Osteoblasten, der zu einer Störung des Gleichgewichtes von Knochenaufbau und Knochenresorption beiträgt und auf diese Weise zu einem stetigen Knochenverlust führt. Obwohl sich diese Verschiebung des Knochenmetabolismus bei Abstinenz schnell wieder normalisiert und sich die Osteoblastenfunktion verbessert, scheint eine Erhöhung des Knochenumsatzes noch über mehr als 5 Jahre fortzubestehen. Da sich Änderungen der Knochenstruktur mit bildgebenden Verfahren erst nach ein bis zwei Jahren darstellen lassen, ist die Messung von Knochenmarkern auch in diesem Zusammenhang von entscheidender Bedeutung. Sie ergibt für Alkoholiker reduzierte Serumkonzentrationen von Knochenformationsmarkern bei gleichzeitig erhöhten Spiegeln von Resorptionsmarkern. Während die Marker der Knochenneubildung bereits bei 10 tägigem Alkoholverzicht eine Besserung zeigen, bleibt der gesteigerte Knochenabbau noch über bis zu 5 Jahre nachweisbar. Es ist wahrscheinlich, dass der Verlust an Knochenmasse mit zu der Gewichtsabnahme beiträgt, die bei Alkoholabhängigen beobachtet wird.

Aerobes und Anaerobes Training:⁵⁹ Körperliche Aktivität ist ein bekannter Einflussfaktor auf den Knochenstoffwechsel. Es bestehen aber abhängig von der Trainingsform unterschiedliche Auswirkungen auf die Prozesse des Knochenmetabolismus. Bewegung unter aeroben Bedingungen führt zu einer anhaltenden Reduktion von Resorptionsmarkern im Urin. Die Serummarker der Knochenneubildung sinken zwar anfangs ebenfalls, erreichen aber innerhalb eines Beobachtungszeitraumes von 8 Wochen wieder ihre Ausgangswerte. Somit scheint regelmäßige und moderate körperliche Aktivität zu einer vermehrten Knochenbildung bei gleichzeitig reduzierter Knochenresorption zu führen. Möglicher Auslöser ist eine vermehrte Aktivität einzelner Osteoblasten. Anders ist dagegen die Situation bei Hochleistungssportarten. Die bei Marathonläuferinnen häufig beobachtete Amenorrhö beruht auf einem Östrogenmangel, der darüber hinaus die Grundlage für osteoporotische Vorgänge im Knochen legt. Unter anaeroben Konditionen kommt es im Gegensatz zum aeroben Training zu einer Beschleunigung des gesamten Knochenumsatzes, was sich in einer generellen Erhöhung aller Knochenmarker zeigt.

Jahreszeitliche Einflüsse: In Studien konnte für P1NP wie auch für Osteocalcin ein geringfügiger, aber statistisch relevanter Anstieg der Serumspiegel im Frühling und Sommer gegenüber Herbst und Winter nachgewiesen werden. Die Messungen des Knochenmarkers P1NP zeigen Peaks am 101. und 174. Tag des Jahres.⁶⁰ Zum einen kommt es im Sommer zu vermehrter körperlicher Aktivität, die durch einen beschleunigten Blutfluss die Markerkonzentrationen um bis zu 30 – 40 % steigern kann.⁵² Zum anderen sinkt im Sommer der Kortisolspiegel des Organismus und die Kortisolempfindlichkeit der Gewebe.⁶¹ Kortison bewirkt als kataboles Hormon im Stoffwechsel eine Stimulation der Osteoklasten und führt auf diese Weise z. B. zur Ausbildung einer Osteoporose unter Steroidtherapie.

1.4.6 Hyperparathyreoidismus

Der Calciumgehalt des Körpers wird hormonell über das von den Nebenschilddrüsen produzierte Parathormon reguliert. Während Calciummangel und Phosphatüberschuss eine vermehrte Freisetzung des Hormones aus den Nebenschilddrüsen auslösen, senken Hypercalcämie und Phosphatmangel die Sekretion. Ein Hyperparathyreoidismus kann auf zwei Wegen ausgelöst werden. Zum einen existiert die Form des primären Hyperparathyreoidismus, wo durch eine Erkrankung der Nebenschilddrüse vermehrt Parathormon synthetisiert wird. Zum anderen gibt es die Variante des sekundären Hyperparathyreoidismus, bei dem ein enterales Malassimilationssyndrom, eine gestörte Vitamin – D – Synthese bei Leberzirrhose oder mangelnde Sonnenlichtexposition als Auslöser einer Hypocalcämie in Betracht kommen. Der Wirkmechanismus des Hormons basiert auf folgendem Prinzip: Parathormon führt zu einer gesteigerten tubulären und, Vitamin D vermittelt, zu einer vermehrten intestinalen Calciumresorption. Darüber hinaus erhöht Parathormon die ossäre Calciummobilisation durch eine Aktivierung von Osteoklasten. Diese Wirkung kommt durch eine Aktivierung von Kollagenasen und lysosomalen Hydrolasen in den Osteoklasten zustande.⁶² Als Folge sind die Knochenresorptionsmarker, wie Hydroxyprolin, im Urin erhöht. Darüber hinaus zeigt Parathormon auch einen anabolen Effekt auf den Knochenstoffwechsel, da die Gabe von niedrig dosiertem Parathormon aufgrund einer antiapoptischen Wirkung zu einer Erhöhung der Knochendichte führt.⁶³ Demnach steigt unter Parathormon die Aktivität der Osteoblasten, die Menge an nichtmineralisiertem Gewebe im betroffenen Knochen nimmt zu und im Serum findet sich eine Erhöhung der Knochenbildungsmarker Osteocalcin und Alkalische

Phosphatase. Die P1NP Spiegel weisen eine enge Korrelation zu diesen beiden Markern auf, so dass sich für P1NP ebenfalls erhöhte Serumspiegel beobachten lassen.⁶⁴

Eine andere Form des Hyperparathyreoidismus findet sich bei Hämodialysepatienten, die unter Urämie leiden. Hier kommt es urämiebedingt zu einer Reduktion der Knochenneubildung, die mit einer Änderung der entsprechenden Serummarker einhergeht. Auch hier eignet sich die Bestimmung von P1NP, da seine Serumkonzentration aufgrund seiner Elimination durch die Leber von der renalen Funktion unabhängig ist. Unter Hämodialyse verändern sich demnach die P1NP – Spiegel kaum, so dass sich P1NP gut zur Diagnostik der eingeschränkten osteoblastischen Aktivität, sowie des Knochenverlustes bei Niereninsuffizienten eignet.⁶⁵

1.4.7 Osteoporose

Osteoporose wurde ursprünglich von der World Health Organization (WHO) ausschließlich für weiße Frauen definiert. Als erkrankt galten demnach alle Patientinnen, die eine Bone Mineral Density (BMD) unterhalb der festgesetzten 2,5 % Standardabweichung von den normalen Grenzwerten junger weißer Frauen aufwiesen.⁶⁶ Die Osteoporose entsteht auf der Grundlage eines Missverhältnisses zwischen der Aktivität von Osteoklasten und Osteoblasten, in über 80 % der Fälle ausgelöst durch ein Absinken der Östrogenspiegel im Serum mit Beginn der Menopause. Häufigste Komplikation des gesteigerten Knochenabbaus ist das Auftreten von Schenkelhals-, Unterarm- und Wirbelfrakturen, die die Lebensqualität der Betroffenen mindern und die Folgekosten für das Gesundheitssystem bedingen.⁶⁷ Im Vergleich zu jungen Frauen zeigen Frauen in der Menopause signifikant erhöhte Knochenmarkerspiegel (Steigerung bis zu 50 – 100 % über den Ausgangswert)⁶⁸ bei einer gleichzeitig erniedrigten Bone Mineral Density (BMD), wie sie mit Dual – X – Ray – Absorptiometrie (DXA) gemessen werden kann. Je höher der anhand der Knochenmarker definierte Knochenumsatz, desto höher sind Knochenverlust und Frakturrisiko,^{69 70} aber desto besser spricht die Erkrankung meist auf eine medikamentöse Therapie an.⁷⁰ P1NP zeigte sich in der OFELY Studie als besonders geeignet zur Vorhersage von Knochenumsatz und entsprechendem Knochenverlust.⁷¹ Eine Problematik bei der Analyse der Knochenmarker besteht darin, dass der Umbau innerhalb *eines* osteoporotischen Knochens, wie z.B. von Radius oder Femur, mit dieser Methode nicht präzise bestimmt

werden kann, denn die im Serum und Urin gemessenen Werte spiegeln den Knochenstoffwechsel des ganzen Organismus wieder. Der einzelne Knochen leistet nur einen kleinen Beitrag zu dem Gesamtwert.⁷²

Die wichtigste Domäne der biochemischen Bestimmung von Formationsmarkern bei Osteoporosekranken ist die Therapie- und Verlaufskontrolle. Im Gegensatz zur Knochendichtemessung, die frühestens nach 1 bis 2 Jahr Therapieeffekte anzeigt,⁶⁸ detektieren die Biomarker therapieinduzierte Veränderungen des Knochenstoffwechsels bereits nach wenigen Wochen.⁷³ Zur Therapie werden neben Substitution von Calcium und Vitamin D Biphosphonate als Medikamente der ersten Wahl gegeben,⁶⁷ deren antiresorptive Wirkung auf einer Hemmung der Osteoklastenfunktion beruht. Während die knochenspezifische Alkalische Phosphatase und Osteocalcin auf prämenopausale Werte abfallen, sinken die Spiegel für P1NP sogar unter das prämenopausale Niveau.⁷⁰ Eine alternative Möglichkeit ist die Behandlung von Osteoporose mit Hormonersatztherapie, d. h. mit beispielsweise Östradiol, da in der Menopause die Östrogenspiegel im Blut stark abfallen. Die Östrogene bedingen eine Reduktion des Knochenumsatzes, vor allem der Kollagen I Synthese, so dass es bereits nach einjähriger Therapie zu einer Halbierung der Serumspiegel von P1NP kommt.⁷⁴ Im Therapieverlauf sinken die Konzentrationen von P1NP im zweiten Behandlungsjahr weiter, wenn auch nicht mehr so stark. Diese Therapieeffekte, die man an P1NP besonders eindrucksvoll verfolgen kann, zeigen sich sowohl bei konventioneller Hormondosis, als auch – wie neue Studien ergeben haben – bei niedrig dosierten Östrogenen.⁷⁴

Eine neue Alternative ist eine Therapie mit rekombinantem humanem Parathormon, das deutlich anabole Effekte auf den Knochenstoffwechsel zeigt. Aufgrund einer überwiegenden Stimulation der Osteoblasten kommt es zu einer Steigerung der Knochenneubildung und einer damit verbundenen Zunahme der BMD. Als Folge sind unter dieser Therapie Knochenformationsmarker wie P1NP und AP stark erhöht.⁷⁵

1.5 Knochenmetastasen

Knochenmetastasen sind nach Lungen – und Lebermetastasen eine häufige Komplikation von Tumorerkrankungen, die zu einer Erhöhung der Morbidität und Mortalität der Patienten beiträgt. Zellen eines Primärtumors dringen durch aggressives Wachstum in lokale Blutgefäße ein, siedeln sich in einem gut durchbluteten Organ ab und initiieren eine massive Angiogenese zur Versorgung der neu entstandenen

Metastase. Obwohl das Knochenmark im Vergleich zu Leber und Lunge weniger stark durchblutet wird, so trägt doch die sinusoidale Gefäßstruktur des Knochens mit verlangsamtem Blutfluss zur Metastasenansiedlung bei. Darüber hinaus sezernieren Osteoblasten und Osteoklasten ein breites Spektrum von Zytokinen und Wachstumsfaktoren, die einen chemotaktischen Effekt besitzen und Invasion, Wachstum und Überleben der Tumorzellen im Knochengewebe fördern.⁷⁶ Man unterscheidet mit Hilfe der bildgebenden Verfahren 3 Arten von Knochenmetastasen: osteolytische, osteoblastische und gemischte Knochenmetastasen. Diese Einteilung ist jedoch vereinfacht, denn meistens sind im betroffenen Knochen sowohl die Resorption, als auch die Knochenbildung beschleunigt.⁷⁷

1.5.1 Überwiegend osteoblastische Knochenmetastasen

Bei Patienten mit Prostatakarzinomen zeigt sich in 65 – 100% der Fälle eine ossäre Metastasierung.⁸⁰ In der Bildgebung stellen sich die schmerzhaften Knochenmetastasen bei Prostatakarzinom als vorwiegend osteosklerotische Läsion in den betroffenen Knochen dar. Die laborchemische Untersuchung zeigt sowohl erhöhte Resorptions – als auch erhöhte Formationsmarker, wobei die Marker der Knochenbildung höhere Konzentrationen aufweisen.⁸⁵ Ursache hierfür ist eine gesteigerte Aktivität der Osteoblasten bei einer zuvor erhöhten Knochenresorption durch Osteoklasten.⁷⁸ So kommt es trotz fehlender osteolytischer Läsionen einerseits zu dem beobachteten Anstieg von Knochenresorptionsmarkern,⁷⁹ andererseits lassen sich pathologisch erhöhte Konzentrationen von Formationsmarkern wie der alkalischen Phosphatase und PINP nachweisen.⁸⁴ Bei Vorliegen einer benignen Prostatahyperplasie oder eines Prostatakarzinomes ohne nachweisbare Knochenmetastasen dagegen zeigen die Marker keine Veränderungen, was ihre Spezifität in der Diagnostik von Metastasen unterstreicht.

1.5.2 Überwiegend osteolytische Knochenmetastasen

Die Inzidenz von Knochenmetastasen bei Patienten mit Nierenzellkarzinomen wird mit 20 – 30% angegeben.⁸⁰ Die ossäre Metastasierung stellt sich nach einer Studie von Zekri et al. in der Bildgebung vorwiegend osteolytisch (71 %) dar. Nur in 18 % der Fälle treten osteoblastische Läsionen auf, in 11 % gemischte Herde.⁸¹ Als Besonderheit des Nierenzellkarzinomes ist jedoch bei allen Knochenmetastasen – unabhängig von den

radiologischen Charakteristiken – der gesamte Knochenmetabolismus gesteigert, so dass parallel zur Entstehung osteolytischer Metastasen meistens auch eine geringgradige Neubildung von Knochen beobachtet werden kann.^{82 79} Bei Patientinnen mit Ovarialkarzinomen sind Knochenmetastasen selten, sie treten nur bei ca. 2 – 6% der Betroffenen auf. Auch diese Metastasen sind vorwiegend osteolytisch.⁸³

1.5.3 Therapiemöglichkeiten für Knochenmetastasen

Es gibt verschiedene Therapieoptionen für Knochenmetastasen. Es besteht zum einen die Möglichkeit, durch Strahlentherapie die Knochenläsionen zu stabilisieren und die damit verbundenen Schmerzen zu lindern. Zum anderen kann man versuchen, das Frakturrisiko durch chirurgisch – orthopädische Eingriffe zu mindern.⁸⁴ Es gibt auch medikamentöse Alternativen. Der für die von den Patienten angegebenen Schmerzen verantwortliche osteoklastische Knochenabbau scheint durch die Gabe von Biphosphonaten, die die Osteoklastenfunktion einschränken, gemildert zu werden. Außerdem reduziert die Biphosphonatherapie das Risiko von Frakturen und einer tumorbedingten Hypercalcämie.⁷⁸

1.6 Problemstellung

Knochenmetastasen sind mit konventionell röntgenologischen Verfahren oft schwer zu diagnostizieren. In der Regel werden Röntgenaufnahmen oder Skelettszintigraphien angefertigt, um sich ein Bild von der Ausbreitung der Metastasen zu machen. Das Prinzip der Szintigraphie basiert auf folgenden Prozessen: Die Metastasenbildung beginnt mit einer Zerstörung von Knochenstrukturen, die aufgrund der engen Kopplung von Knochenauf – und abbau zusätzlich zur einer gesteigerten Knochenformation führt.⁸⁵ Verbunden mit der stimulierten Knochenneubildung kommt es zu einer vermehrten Radionuklidaufnahme in das betroffene Gewebe. Die osteoblastischen Metastasen eines Prostatakarzinomes lassen sich erst ab einer Größe von > 1 cm mit guter Sensitivität nachweisen, der Negativkontrast osteolytischer Metastasen wird erst bei Raumforderungen > 2 cm signifikant, so dass ca. 10% der Läsionen nicht diagnostiziert werden können.⁸² Darüber hinaus ist die Knochenszintigraphie eine relativ unspezifische Methode, denn die vermehrte Aufnahme der diagnostischen Radionuklide ist nicht immer Ausdruck von metastatisch aktiven Arealen.⁸⁶ Sie kann

auch ein Zeichen für eine gesteigerte Knochenreparatur sein, wie sie bei Tumorpatienten beobachtet wird, die auf eine Therapie effektiv ansprechen.

In der klinischen Routine gibt es bisher außer radiologischen Verfahren wenig Alternativen zur Diagnostik von Knochenmetastasen. Die einzige Ausnahme ist der prostata-spezifische Tumormarker PSA, der bei hohen Serumspiegeln den Nachweis von Knochenmetastasen wahrscheinlich macht. Für Nierenzellkarzinome ist dagegen kein entsprechender Tumormarker etabliert, CA 125 und CEA sind zu unspezifisch, um bei Patientinnen mit Ovarialkarzinomen Hinweis auf eventuelle Knochenmetastasen zu geben.

Aus diesem Grund bieten sich die Untersuchung neuer, nicht invasiver, relativ preisgünstiger Methoden an, die Prozesse der Knochenbildung und Knochenresorption anhand von knochenspezifischen Markern zu verfolgen und somit Informationen über Knochenerkrankungen, Therapieerfolge und Patientencompliance zu gewinnen.⁸⁷

P1NP hat sich bereits bei der Diagnostik von Knochenmetastasen bei Patientinnen mit Mammakarzinomen als hilfreich erwiesen.⁸⁸ Lüftner et al. zeigten, dass P1NP bei Brustkrebs ein hoch spezifischer Marker für Knochenmetastasen ist, da sich sowohl beim Fehlen von Knochenmetastasen als auch beim Vorliegen von beispielsweise ausschließlich Lebermetastasen keine signifikanten Spiegelveränderungen ergaben.⁸⁹ Neue Studien legen die Vermutung nahe, dass P1NP auch bei Patienten mit ossär metastasiertem Prostatakarzinom ein sensitiver Marker sein könnte.⁹⁰

Von der Firma Roche wurde 2004 ein Elektrochemolumineszenz ImmunoAssay für P1NP entwickelt, der bisher zum Therapiemonitoring bei postmenopausaler Osteoporose eingesetzt wird. Im Verlauf meiner Arbeit soll nun der Einsatz dieses Testverfahrens zur Diagnostik von Knochenmetastasen bei Patienten mit Prostata – , Nierenzell – und Ovarialkarzinomen untersucht werden.

Material und Methoden

2.1. Serumproben

Im Zeitraum von Januar 2006 bis Juli 2007 wurden Serumproben von 177 Patienten der gynäkologischen und urologischen Klinik der Johann Wolfgang Goethe Universität Frankfurt a. M. analysiert. 10 weitere Patientenproben wurden uns von dem Klinikum Großhadern der Ludwig – Maximilians – Universität München (7 Patienten), dem St. Markus Krankenhaus in Frankfurt a. M. (2 Patienten) und dem Klinikum Hanau (1 Patient) zur Verfügung gestellt. Ausschlusskriterien für die Aufnahme eines Patienten in die Studie waren alle Einflussfaktoren, die zu falsch positiven P1NP Konzentrationen führen können, wie frische Knochenbrüche, manifeste Osteoporose, Hyperparathyreoidismus und Therapie mit Medikamenten, die bekannter Maßen den Knochenstoffwechsel beeinflussen (z.B. Biphosphonate). Fünf der insgesamt 187 Patienten mussten dementsprechend aus der Auswertung ausgeschlossen werden. Die Blutproben wurden mit Hilfe von Serummonovetten entnommen und innerhalb von einer Stunde zentrifugiert (3000 U für 10 min). Anschließend wurden die Serumproben bis zur P1NP – Messung bei - 80° aufbewahrt und nach dem Auftauen sorgfältig gemischt.

2.2. Patientenkollektiv

Die 182 in die Berechnungen einbezogenen Patienten wurden in 3 Kollektive aufgeteilt.

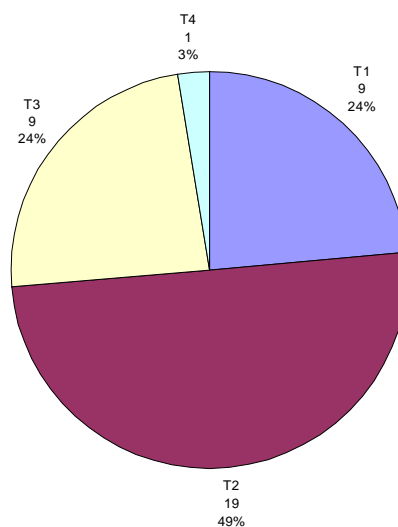
2.2.1. Patienten mit BPH und Prostatakarzinom

Die insgesamt 100 Patienten werden in 3 Untergruppen eingeteilt:

- Die erste Gruppe umfasst 32 Patienten mit benigner Prostatahyperplasie (Mittelwert Alter: 65,5 Jahre, Range: 54 – 85 Jahre). Die Diagnose wurde mit Hilfe von digital rektaler Untersuchung und transrektalem Ultraschall gestellt. Bei 31 Patienten erfolgte außerdem eine histologische Analyse von Prostatagewebe, das entweder durch Stanze (6 Patienten), durch transurethrale Resektion (23 Patienten) oder offene retropubische extravasikale Prostataadenomektomie (Millin – Operation) (2 Patienten) gewonnen wurde. Im weiteren Verlauf wird dieses Kollektiv mit **BPH** abgekürzt.

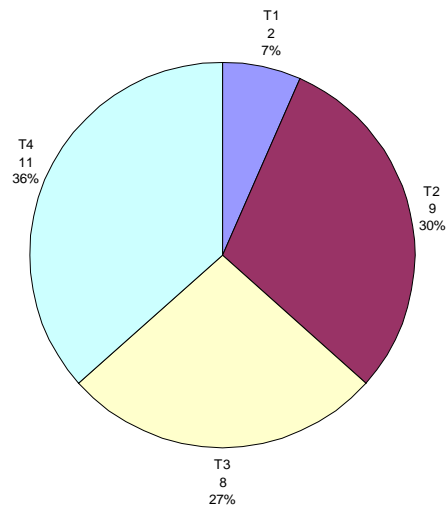
- Zu der zweiten Gruppe gehören 38 Patienten mit histologisch gesicherten Prostatakarzinomen, bei denen in der Knochenszintigrafie keine Knochenmetastasen nachgewiesen wurden (Mittelwert Alter: 66,4 Jahre, Range: 50 – 90 Jahre). *Abbildung 1* zeigt die Verteilung der bei diesen Patienten diagnostizierten Tumorstadien entsprechend der TNM – Klassifikation. Dieses Patientenkollektiv wird im Folgenden mit **Tx^PKM(-)** abgekürzt.

Abbildung 1: Tx^PKM(-) – Tumorstadien



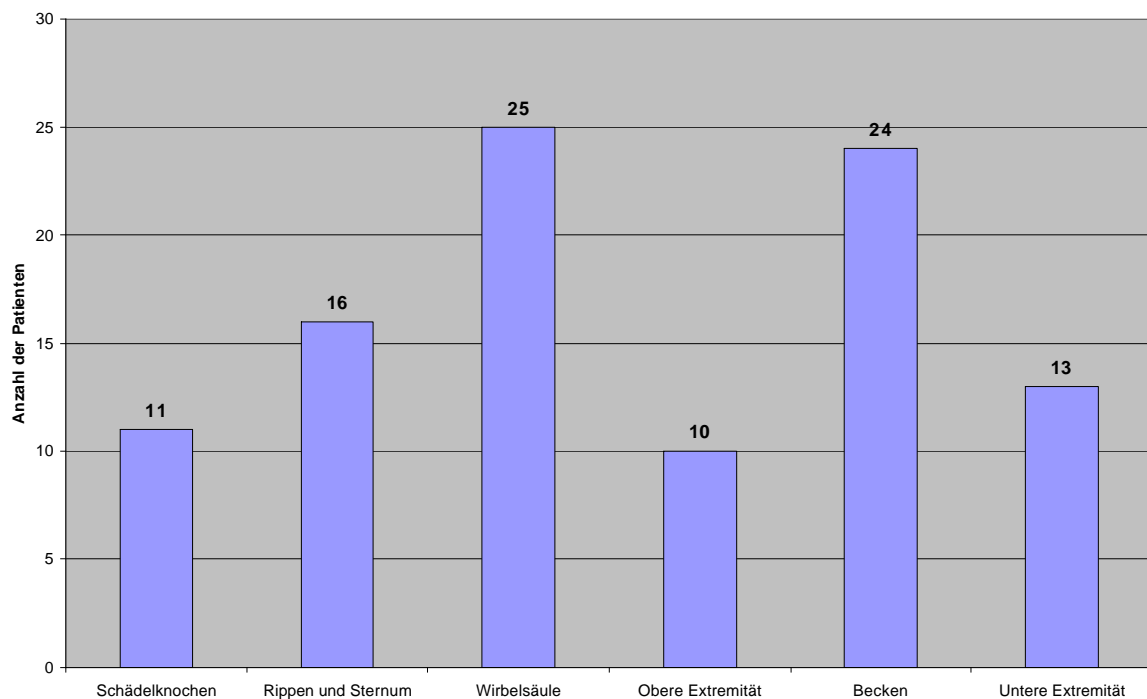
- Die dritte Gruppe beinhaltet 30 Patienten mit ebenfalls histologisch gesicherten Prostatakarzinomen (Mittelwert Alter: 70,3 Jahre, Range: 41 – 86 Jahre). Bei diesen Patienten wurden darüber hinaus in der Knochenszintigrafie Knochenmetastasen nachgewiesen. *Abbildung 2* zeigt die Verteilung der bei diesen Patienten diagnostizierten Tumorstadien entsprechend der TNM – Klassifikation, die im Vergleich zu *Abbildung 1* eine deutliche Tendenz zu höheren Tumorstadien zeigt. Im nachfolgenden wird dieses Kollektiv mit **Tx^PKM(+)** abgekürzt.

Abbildung 2: Tx^pKM(+) – Tumorstadien



In *Abbildung 3* wird dargestellt, wo sich bei diesen Patienten metastatische Herdbefunde in der Szintigraphie manifestieren. Die häufigsten Lokalisationen bei den Patienten in unserer Studie sind die Wirbelsäule (bei insgesamt 19 Patienten fanden sich Metastasen in der Lendenwirbelsäule) und das Becken.

Abbildung 3: Lokalisation der Knochenmetastasen in Gruppe Tx^pKM(+)



2 Patienten wurden aufgrund von Begleiterkrankungen, die zu falsch positiven Veränderungen der P1NP Spiegel führten, aus der Studie ausgeschlossen. Bei einem Patienten [Gruppe BPH] wurde zusätzlich eine unklare Neoplasie der Kardia (P1NP: 213,7 ng/ml) diagnostiziert. Der zweite Patient [Gruppe Tx^PKM(-)] zeigte ein großes, florides Ulcus cruris mit bis auf den Knochen reichendem Entzündungsprozess (P1NP: 222,7 ng/ml).

2.2.2. Patienten mit Nierenzellkarzinom

Bei diesen 36 Patienten liegen histologisch gesicherte Nierenzellkarzinome vier verschiedener pathologischer Typen vor (siehe *Abbildung 4*).

Abbildung 4: Tumorpathologien der Nierenzellkarzinome

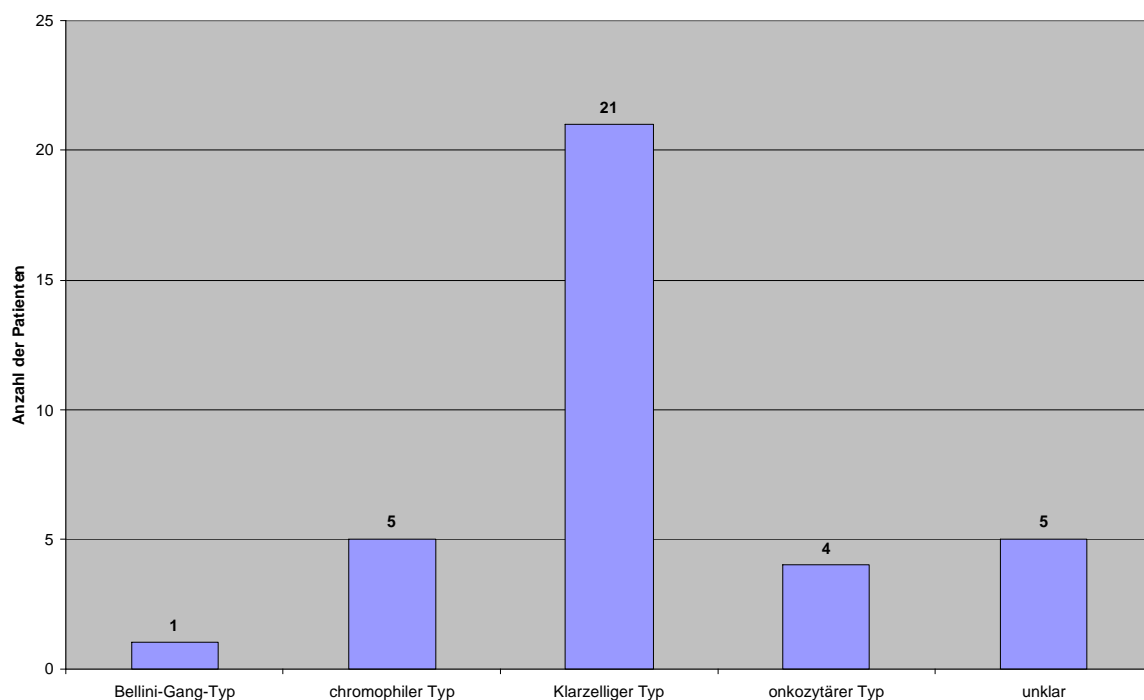
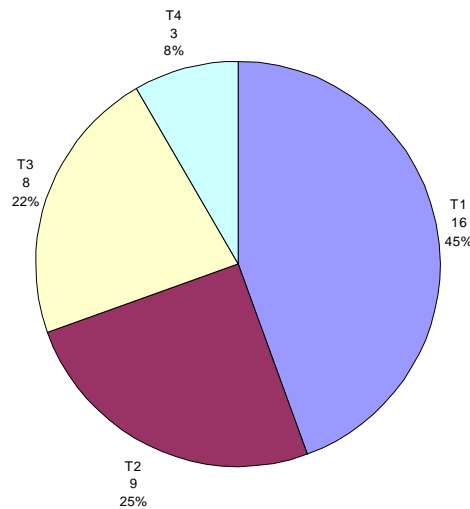


Abbildung 5 zeigt die Verteilung der Tumorstadien gemäß der TNM Klassifikation, das Tumorstaging erfolgte mit Hilfe von Sonographie, Computertomographie und Magnetresonanztomographie.

Abbildung 5: Tx^N – Tumorstadien



Wie unter 2.1.1 werden wiederum 3 Untergruppen gebildet:

- Zu der ersten Gruppe gehören 24 Patienten (männlich: 13, weiblich: 11; Mittelwert Alter: 60,6 Jahre, Range: 38 – 90 Jahre). Bei diesen Patienten wurden in der Knochenszintigrafie keine metastasensuspekte Befunde detektiert. Im weiteren Verlauf wird dieses Einheit mit **Tx^NKM(-)** abgekürzt.
- Die zweite Gruppe umfasst 6 Patienten (männlich: 5, weiblich: 1), die ein ins Skelettsystem metastasiertes Nierenzellkarzinom aufweisen (Mittelwert Alter: 68,8 Jahre, Range: 65 – 76 Jahre). Zum Zeitpunkt der Serumentnahme haben die Patienten weder Strahlentherapie noch Chemotherapie erhalten. Auf dieses Kollektiv wird im folgenden mit **Tx^NKM(+)** Bezug genommen.
- Die dritte Gruppe schließt 6 Patienten mit Nierenzellkarzinom und Knochenmetastasen ein (männlich: 5, weiblich: 1), bei denen im Jahr 2006 eine Chemotherapie mit Sorafenib durchgeführt wurde. Die Abnahme von Serum erfolgte im Anschluss an diese Therapie. Diese Gruppe wird im nachfolgenden mit **Tx^NKM(+)+S** bezeichnet.

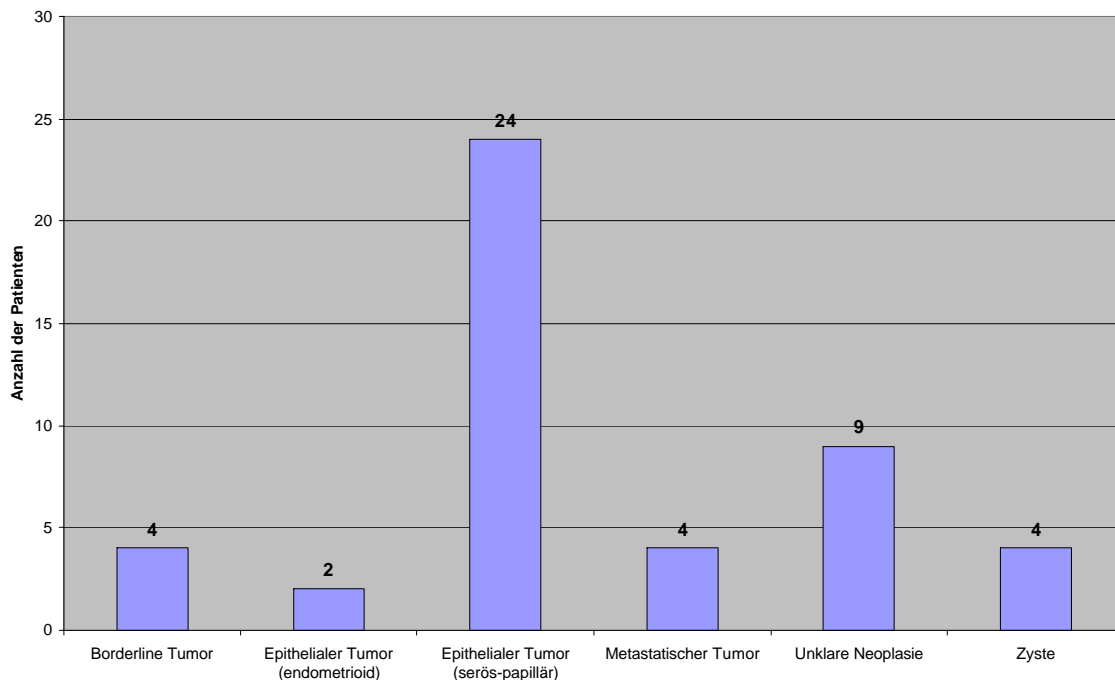
Zwei Patienten mit Nierenzellkarzinomen mussten aus dieser Studie ausgeschlossen werden, da sich bei ihnen ein zusätzlicher Hyperparathyreoidismus (siehe 1.4.6)

herausstellte. Bei beiden Patienten zeigten sich stark erhöhte, falsch positiv P1NP Konzentrationen (Patient 1: P1NP 657,2 ng/ml; Patient 2: P1NP 1084,2 ng/ml).

2.2.3. Patienten mit malignen Veränderungen der Ovarien

Insgesamt 46 Patientinnen mit malignen Veränderungen an den Ovarien wurden in diese Untersuchung miteinbezogen. Wie in *Abbildung 6* dargestellt, leiden 38 Patientinnen unter histologisch gesicherten Ovarialkarzinomen, bei 4 Patientinnen liegen zystische Veränderungen unklarer Malignität vor und bei weitere 4 Patientinnen zeigen sicher metastatische Prozesse an den Ovarien. Primarius dieser Metastasen sind ein Mamma – Karzinom und ein Adenokarzinom des Uterus, in zwei Fällen liegt ein Krunkenberg – Tumor vor. Bei 28 Patientinnen lag eine zusätzliche Peritonealkarzinose mit Aszitesbildung vor, 8 Patientinnen zeigten einen beidseitigen Befall der Ovarien.

Abbildung 6: Pathologien der malignen Veränderungen am Ovar



Auch dieses Patientenkollektiv wird in 2 Untergruppen aufgeteilt:

- Die erste Gruppe umfasst 34 Patientinnen, bei denen sich in der Knochenszintigraphie keine metastasenverdächtigen Herde präsentierten (Mittelwert Alter: 60,7 Jahre, Range: 28 – 84 Jahre). In den folgenden Ausführungen wird diese Patientengruppe mit **Tx⁰KM(-)** abgekürzt.
- In der zweiten Gruppe werden die 12 Patientinnen zusammengefasst, bei denen sich Knochenmetastasen in der Bildgebung manifestierten (Mittelwert Alter: 63,6 Jahre, Range: 42 – 82 Jahre). Im weiteren Verlauf wird dieses Kollektiv mit **Tx⁰KM(+)** bezeichnet.

Eine Patientin wurde aus den Berechnungen ausgeschlossen, da bei ihr ein unklarer Knochenschwund im Oberkiefer diagnostiert wurde. Der falsch positiv erhöhte P1NP Spiegel von 502,5 ng/ml ist wahrscheinlich auf den damit verbundenen gesteigerten Knochenumsatz zurückzuführen.

2.3. Roche Immunoassay Analysenautomat Elecsys 2010

Proben, die ein Präzipitat enthalten, müssen vor Testbeginn zentrifugiert werden. Außerdem darf die Temperatur der Serumproben, Kalibratoren und Kontrollen zur Messung nicht weniger als 20-25°C betragen. Deshalb werden vor dem Einsatz der Materialien in den Reagenzrotor des Elecsys 2010 die gekühlt gelagerten Reagenzien auf 20°C erwärmt. Das weitere Temperieren, Öffnen und Schließen der Flaschen wird vom Gerät selbstständig durchgeführt. Die Analytkonzentrationen können vom Gerät automatisch in ng/ml oder µg/l angegeben werden.

2.4. Bestimmung der Tumormarker

2.4.1. Bestimmung von P1NP

Zur Bestimmung der Serumkonzentrationen des totalen P1NPs wurde der von der Firma Roche entwickelte ElektroChemiLumineszenz ImmunoAssay „ECLIA“ verwendet, zu dessen Auswertung der oben beschriebene Analysenautomat Elecsys 2010 benötigt wird. An Reagenzien werden für diesen Versuch Streptavidin beschichtete Mikropartikel (Konzentration 0,72 mg/ml) eingesetzt, des weiteren ein Biotin

markierter monoklonaler Anti – P1NP Antikörper der Maus (Konzentration 2,5 mg/l), sowie ein mit einem Ruthenium Komplex verknüpfter monoklonaler Anti – P1NP Mausantikörper (Konzentration 2,5 mg/l). Der auf dem Sandwichprinzip beruhende ELISA dauert ca. 18 Minuten und läuft nach folgendem Schema ab:

- 1. Inkubationsschritt: Zu Testbeginn lässt man 20 µl des Patientenserums mit dem biotinylierten Anti – P1NP – Antikörper inkubieren.
- 2. Inkubationsschritt: Anschließend wird der mit Ruthenium markierte Zweitantikörper dazugegeben, sodass sich in dieser zweiten Inkubationszeit der Sandwichkomplex bilden kann.
- Nach Zugabe der Streptavidin beschichteten Mikropartikel kann dieser Sandwichkomplex aufgrund der Biotin – Streptavidin Wechselwirkungen an die Festphase gebunden und danach in die Messzelle transferiert werden.
- Hier kommt es unter magnetischen Einflüssen zu einer Haftung der Mikropartikel an der Elektrodenoberfläche.
- Die ungebundenen Substanzen werden mit dem Systempuffer ProCell entfernt.
- Bei angelegter Spannung kann die gewünschte Chemilumineszenzemission beobachtet und mit Hilfe eines Photomultipliers gemessen werden.
- Zur Auswertung wird eine Kalibrationskurve benötigt, die durch eine 2 – Punkte – Kalibration, sowie durch eine über den Reagenzcode mitgelieferte Masterkurve gerätespezifisch erstellt wird.

Sensitivität: Der Messbereich dieses Testverfahrens liegt zwischen 5 – 1200 ng/ml. Die analytische Nachweisgrenze dieses Testverfahrens liegt <5 ng/ml. Für Proben mit Werten im oberen Messbereich wird eine 1:2 fache Verdünnung mit dem Diluent Universal Elecsys empfohlen.

Spezifität: Es kann in <1% der Versuche zu Kreuzreaktivitäten mit β – Crosslaps, Osteocalcin, Parathormon und 25 – OH Vitamin D kommen.

2.4.2. Bestimmung der AP

Die Alkalische Phosphatase wird mit Hilfe eines anderen Testverfahrens der Firma Roche bestimmt. Als Puffer und Aktivatoren werden hierzu 2 – Amino – 2 – methyl – 1 – propanol (Konzentration 2,12 mol/l) benötigt, als Substrat dient p – Nitrophenylphosphat. Die Reaktion läuft nach folgendem Schema ab:

- Zu der Probe wird das Gemisch aus Puffer und Aktivatoren gegeben.
- Nach Zugabe des Substrates startet die Reaktion:



- Zur Spaltung von p – Nitrophenylphosphat ist die Anwesenheit von Magnesium – und Zinkionen erforderlich. Das freigesetzte p – Nitrophenol ist der Aktivität der AP proportional und wird photometrisch bestimmt.

Sensitivität: Der Messbereich dieser Methode liegt zwischen 1 – 1200 U/l, die analytische Nachweisgrenze bei 0,67 U/l.

Spezifität: Es sind keine Kreuzreaktivitäten bekannt.

2.4.3. Bestimmung von tPSA

Dieser Test der Firma Roche zum Nachweis von tPSA basiert auf dem Prinzip des ElektroChemiLumineszenz ImmunoAssays, zu dessen Durchführung der Elecsys 2010 benötigt wird. An Reagenzien werden Streptavidin beschichtete Mikropartikel (Konzentration 0,72 mg/ml), Biotin markierte Anti – PSA Antikörper der Maus (Konzentration 1,5 mg/l), sowie ein mit einem Ruthenium Komplex verknüpfter monoklonaler Anti – PSA Mausantikörper (Konzentration 1,0 mg/l) verwendet. Der Versuchsablauf entspricht dem unter 2.4.1 beschriebenen Verfahren.

Sensitivität: Der Messbereich dieses Testsystems liegt für den Elecsys 2010 zwischen 0,002 – 100 ng/ml. Die analytische Nachweisgrenze beträgt entsprechend <0,002 ng/ml. Für Proben mit Werten im oberen Messbereich wird eine 1:50 fache Verdünnung mit dem Diluent Universal Elecsys empfohlen.

Spezifität: In diesem Test wurden keine Kreuzreaktionen der verwendeten Antikörper beobachtet.

2.4.4. Bestimmung von CA 125

Zur Messung von CA 125 werden der ElektroChemiLumineszenz ImmunoAssay und der Analysenautomat Elecsys 2010 eingesetzt. An Reagenzien werden Streptavidin

beschichtete Mikropartikel (Konzentration 0,72 mg/ml), biotinylierte Anti – CA 125 – Antikörper der Maus (Konzentration 1,0 mg/l) und mit Ruthenium markierte Anti – CA 125 – Antikörper der Maus (Konzentration 1,0 mg/l) eingesetzt. Der Versuchsablauf entspricht dem Vorgang unter 2.4.1.

Sensitivität: Der Messbereich dieses Verfahrens beträgt 0,60 – 5000 U/ml, die analytische Nachweisgrenze liegt demnach bei 0,20 ng/ml. Für Proben mit Werten im oberen Messbereich wird eine 1:5 fache Verdünnung mit dem Diluent Universal Elecsys empfohlen.

Spezifität: Es bestehen keine Kreuzreaktivitäten.

2.4.5. Bestimmung von CEA

Zur Bestimmung dieses Tumormarkers werden ebenfalls der ElektroChemilumineszenz ImmunoAssay und der Analysenautomat Elecsys 2010 benötigt. Die verwendeten Reagenzien sind Streptavidin beschichtete Mikropartikel (Konzentration 0,72 mg/ml), biotinylierte Anti – CEA – Antikörper der Maus (Konzentration 3,0 mg/l) und mit Ruthenium markierte Anti – CEA – Antikörper der Maus (Konzentration 4,0 mg/l). Das Testprinzip entspricht wiederum dem unter 2.4.1 beschriebenen Ablauf, nur dass im 1. Inkubationsschritt nur 10 µl Patientenserum erforderlich sind.

Sensitivität: Dieser Test hat einen Messbereich von 0,20 – 1000 ng/ml, die analytische Nachweisgrenze liegt demnach bei 0,20 ng/ml. Für Proben mit Werten im oberen Messbereich wird eine 1:50 fache Verdünnung mit dem Diluent Universal Elecsys empfohlen.

Spezifität: Es besteht in 72% eine Kreuzreaktion zu dem Mekonium Antigen NCA2, in < 0,7 % zu NCA1.

2.5. Statistik

Die statistische Auswertung und die Erstellung der Abbildungen und Tabellen erfolgte mit Hilfe der Statistik – Software SPSS® 11.0 (SPSS Int., 2001) und Microsoft® Office Excel (Microsoft Corporation, 2003).

Alle gemessenen Parameter werden mit Median und Range angegeben.

Der lineare Zusammenhang zwischen P1NP und den Tumormarkern PSA, CA 125 sowie der AP wurde mit Hilfe des Spearman Korrelationskoeffizienten bestimmt.

Um die Untergruppen vergleichen zu können wurde der Mann – Whitney U – Test berechnet. Das einseitige Signifikanzniveau wurde als $p \leq 0,05$ definiert.

Für alle Marker wurden Sensitivität, Spezifität, positiv prädiktiver Wert und negativ prädiktiver Wert berechnet.

Um die diagnostische Aussagefähigkeit der einzelnen Parameter analysieren und vergleichen zu können, wurden Receiver Operating Characteristic Curves (ROC – Kurven) erstellt. Mit Hilfe der entsprechenden Fläche unter der Kurve (Area under the curve = AUC) kann in dieser Studie eine Aussage darüber getroffen werden, wie hoch die Vorhersagewahrscheinlichkeit der untersuchten Marker für das Vorliegen von Knochenmetastasen ist. Bei einem Marker ohne jede Vorhersagekraft läge die Fläche unter der Kurve bei < 50 %, bei einem Marker mit maximaler Vorhersagekraft dagegen bei 100 %.

Ergebnisse

3.1 Prostatakarzinome

3.1.1 Serumkonzentrationen von P1NP

Tabelle 5 und Abbildung 7 geben die P1NP Konzentrationen in den 3 Untergruppen an. Für die folgenden Auswertungen wird ein Cutoff von 60 ng/ml verwendet, um zwischen normalen und pathologisch erhöhten P1NP Konzentrationen zu unterscheiden. Der Cutoff für dieses männliche Kollektiv orientiert sich an der 95. Perzentile (P1NP: 58,59 ng/ml), die sich in Osteoporosestudien für prämenopausale Frauen mit dem Immunoassay „ECLIA“ von Roche® ergeben hat.

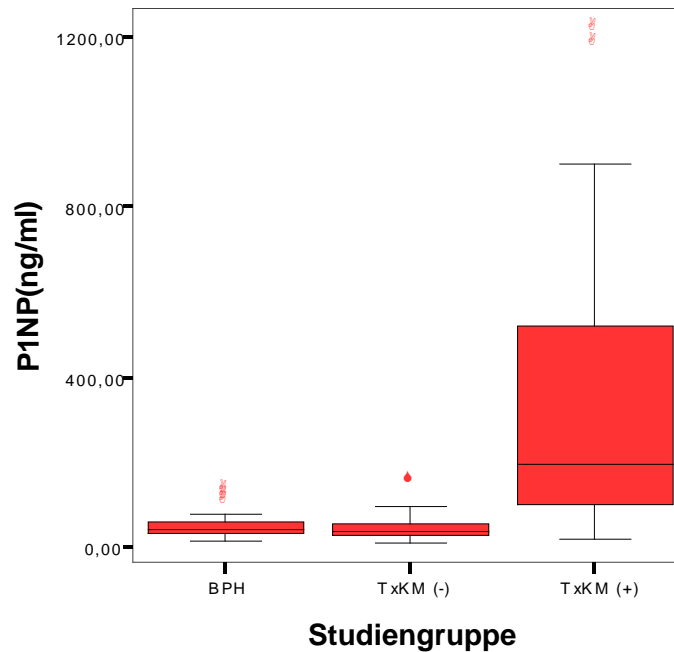
Tabelle 5: P1NP Serumkonzentrationen in den 3 Untergruppen

Untergruppe	P1NP (ng/ml)	
	Median	Range
BPH	42,2	11,3 – 132,3
Tx^PKM (-)	38,0	11,1 – 155,0
Tx^PKM (+)	194,7	19,6 – 1218,9

Man erkennt, dass bei Patienten mit benignen Veränderungen der Prostata (Median: 42,2 ng/ml) und bei Karzinompatienten ohne Knochenmetastasen (Median: 38,0 ng/ml) die P1NP Werte im Normbereich ($P1NP \leq 60$ ng/ml) liegen. Außerdem unterscheiden sich die P1NP Mediane der beiden Gruppen, die keine pathologischen Veränderungen im Knochenstoffwechsel aufweisen, nicht signifikant voneinander ($p = 0,19 = n. s.$). Im Gegensatz dazu lassen sich bei Patienten mit bekannten Knochenmetastasen (Median: 149,7 ng/ml) signifikant ($p \leq 0,001$) höhere P1NP Konzentrationen im Serum nachweisen als in den Gruppen BPH und Tx^PKM (-). Es gibt nur 4 Patienten, bei denen trotz manifester Metastasierung in das skeletale System ein falsch niedriger P1NP Spiegel vorliegt. Es fällt auf, dass bei den zwei Patienten mit den niedrigsten P1NP

Werten unmittelbar mit einer neuen Therapie begonnen wurde, die möglicherweise Einfluss auf die Konzentration des Knochenmarkers nimmt. Beiden Patienten (P1NP: 19,60 ng/ml und 20,56 ng/ml) erhielten zum Zeitpunkt der Blutentnahme einen Zyklus Chemotherapie.

Abbildung 7: P1NP Spiegel in den 3 Untergruppen



3.1.2 Serumkonzentrationen von PSA

Tabelle 6 und Abbildung 8 stellen die PSA Konzentrationen in den drei Untergruppen dar. Als Grenzwert für ein pathologisch erhöhtes PSA wurde die in der klinischen Routine übliche Serumkonzentration von 10 ng/ml angenommen.

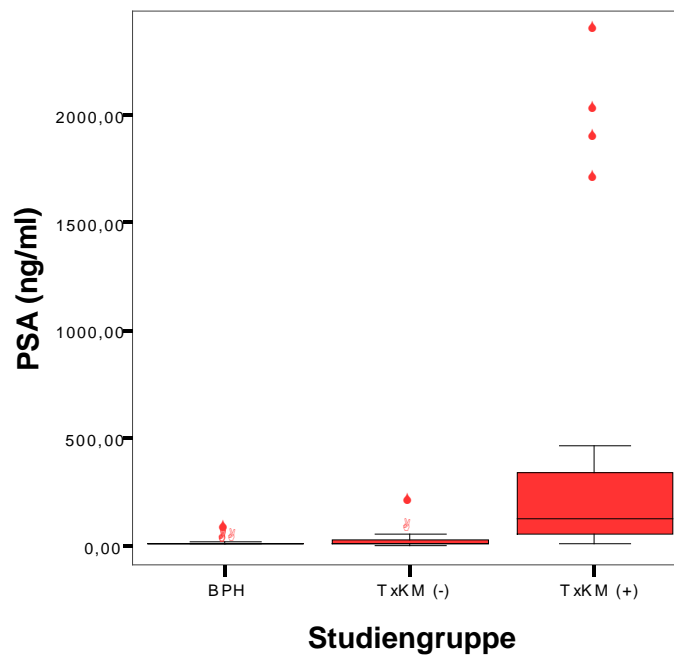
Die PSA Werte für Patienten mit benigner Prostatahyperplasie (Median: 4,4 ng/ml) und für das Kollektiv mit Prostatakarzinomen ohne metastatischen Knochenbefall (Median: 9,2 ng/ml) liegen im Normbereich. Da PSA ein sensibler Marker in der Tumordiagnostik der Prostata ist, zeigt sich bei diesem Tumormarker – anderes als bei P1NP - ein signifikanter Unterschied ($p \leq 0,001$) zwischen diesen beiden Gruppen. In dem Kollektiv mit benignen Veränderungen der Prostata liegt das PSA nur knapp über der Grenze von 4 ng/ml, bei der ein maligner Prozess sicher ausgeschlossen werden

kann. In Gruppe Tx^PKM (-) liegt der PSA Median dagegen bei 9,2 ng/ml und damit genau in dem Graubereich zwischen 4 und 10 ng/ml, wo die sichere Unterscheidung zwischen benignen und malignen Prozessen erschwert ist.

Tabelle 6: PSA Serumkonzentrationen in den 3 Untergruppen

Untergruppe	PSA (ng/ml)	
	Median	Range
BPH	4,4	0,5 – 68,4
Tx^PKM (-)	9,2	0,03 – 190,0
Tx^PKM (+)	119,0	0,6 – 2390,0

Abbildung 8: PSA Spiegel in den 3 Untergruppen



Bei den Patienten mit Prostatakarzinom und nachgewiesenen pathologischen Herdbefunden in der Szintigraphie liegen signifikant ($p \leq 0,001$) höhere PSA Spiegel (Median: 119,0 ng/ml) vor als in den Gruppen BPH und Tx^PKM (-).

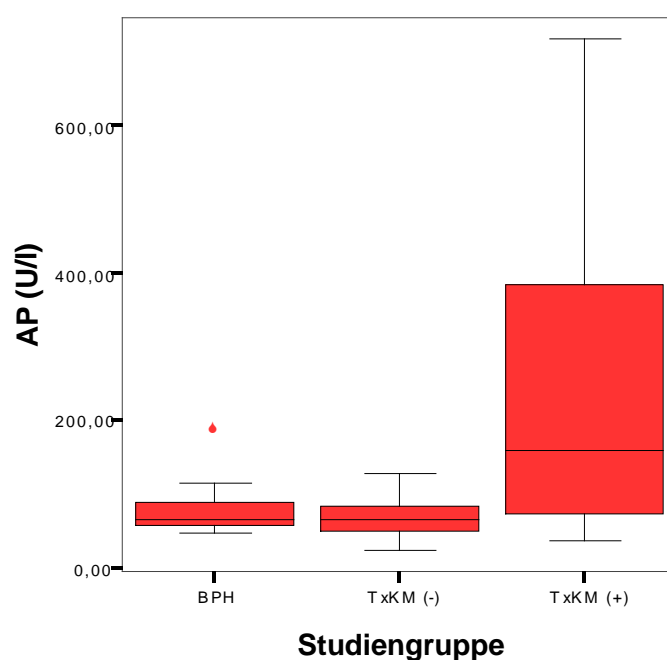
3.1.3 Serumkonzentrationen der AP

Tabelle 7 und Abbildung 9 zeigen die AP Konzentrationen in den drei Untergruppen. Als Cutoff für die alkalische Phosphatase wird der für männliche Patienten in der Labordiagnostik gültige Referenzwert von 129 U/l verwendet.

Tabelle 7: AP Serumkonzentrationen in den 3 Untergruppen

Untergruppe	AP (U/l)	
	Median	Range
BPH	68,0	46,0 – 184,0
Tx^PKM (-)	66,0	23,0 – 127,0
Tx^PKM (+)	144,0	36,8 – 718,0

Abbildung 9: AP Spiegel in den 3 Untergruppen



Für die alkalische Phosphatase ergibt sich, dass die Werte der Patienten der Gruppe BPH (Median: 68 U/l) und Gruppe Tx^PKM (-) (Median: 66 U/l) entsprechend dem negativen Knochenbefund im Normbereich liegen. Die beiden Gruppen unterscheiden sich nicht signifikant voneinander ($p = 0,16 = \text{n.s.}$). Das Patientenkollektiv mit Knochenmetastasen zeigt stark erhöhte AP Werte (Median: 144 U/l), die damit signifikant ($p \leq 0,001$) über den Medianen der zwei Patientenkollektive ohne Metastasen im knöchernen System liegen.

3.1.4 Vergleich von P1NP und PSA

Um nachzuweisen, ob ein linearer Zusammenhang zwischen den beiden Tumormarkern P1NP und PSA besteht, wurde der Spearman Korrelationskoeffizient berechnet. Es zeigt sich eine positive Korrelation zwischen beiden Parametern (Korrelationskoeffizient: 0,347; $p \leq 0,01$).

Darüber hinaus wurden Sensitivität, Spezifität, positiv prädiktiver Wert und negativ prädiktiver Wert für P1NP und PSA bestimmt.

Tabelle 8: Vergleich der Knochenformationsmarker P1NP und PSA

Marker	Sensitivität (%)	Spezifität (%)	Positiv prädiktiver Wert (%)	Negativ prädiktiver Wert (%)
P1NP	86,7	78,0	63,4	93,2
PSA	90,0	51,9	64,3	93,8

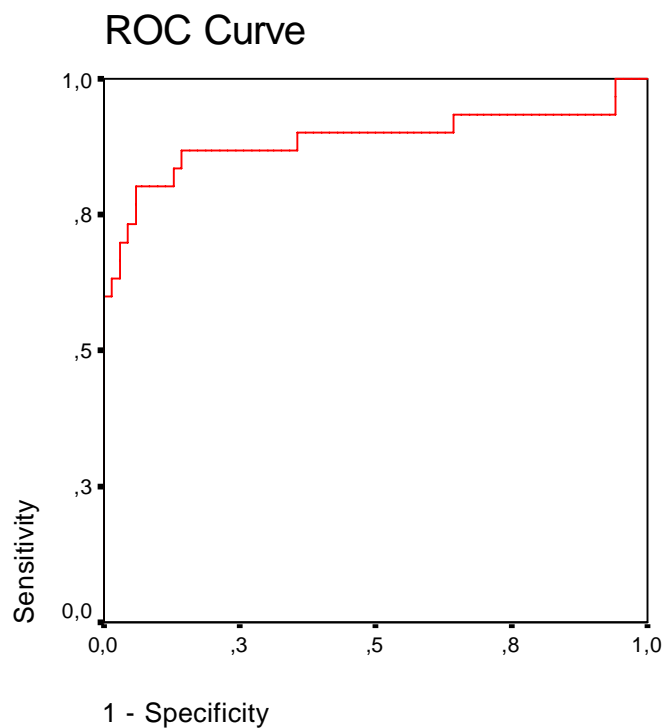
Wie *Tabelle 8* entnommen werden kann, zeigen sich für P1NP und PSA nahezu identische Ergebnisse für positiv und negativ prädiktiven Wert. Das PSA ist nur in Bezug auf die Sensitivität dem Knochenmarker P1NP gering überlegen. Der Unterschied in der Sensitivität beider Tumormarkern beträgt jedoch nur 3,3 %.

Betrachtet man dagegen die Spezifität, zeigt sich ein klarer Vorteil von P1NP gegenüber dem PSA. Mit einer Spezifität von 78 % ermöglicht P1NP eine ca. 26 % bessere

diagnostische Vorhersage darüber, wie sicher bei einem Patienten mit negativem Testergebnis Knochenmetastasen ausgeschlossen werden können.

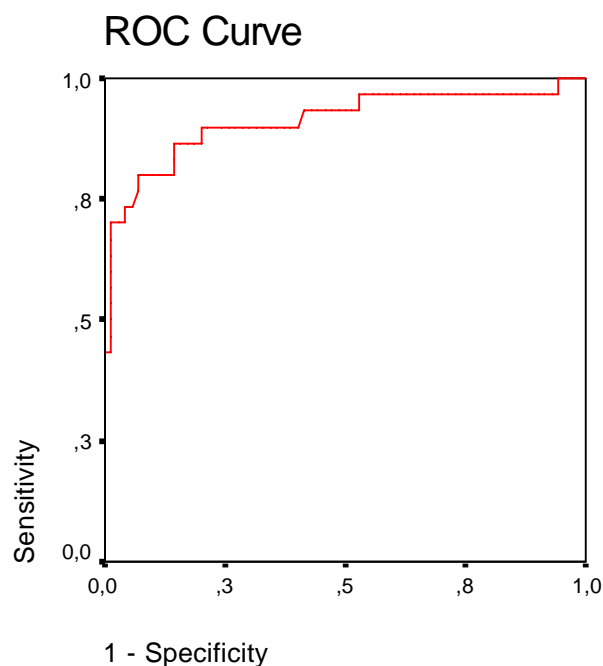
Die unterschiedliche diagnostische Aussagefähigkeit der beiden Tumormarker P1NP und PSA wurde mit Hilfe von Receiver Operating Characteristic Curves (ROC – Kurven) untersucht. Bei diesem Verfahren werden die Flächen unter den Kurven (AUC, Area under the curve) verglichen, um damit eine Aussage treffen zu können, welcher Parameter eine bessere Vorhersagekraft für das Vorliegen von Knochenmetastasen besitzt.

Abbildung 10: ROC Kurve von P1NP



In *Abbildung 10* beträgt die berechnete Fläche unter der ROC – Kurve **88,7 %**.

Abbildung 11: ROC Kurve von PSA



In *Abbildung 11* beträgt die errechnete Fläche unter der ROC – Kurve **91,1 %**.

Entsprechend *Abbildung 10* und *11* ergibt sich für P1NP und PSA eine fast identische diagnostische Aussage über das Vorliegen von Knochenmetastasen.

3.1.5 Vergleich von P1NP und AP

Mit Hilfe des Spearman Korrelationskoeffizient zeigte sich ein linearer Zusammenhang zwischen P1NP und der Alkalischen Phosphatase (Korrelationskoeffizient: 0,49; $p \leq 0,01$).

Außerdem wurden Sensitivität, Spezifität, sowie positiv und negativ prädiktiver Wert berechnet. Die Daten können *Tabelle 9* entnommen werden. Für die AP zeigen sich in dieser Studie sehr gute Ergebnisse für Spezifität und den positiv prädiktiven Wert. Für die AP zeigt sich eine 15 % bessere Spezifität als für P1NP. In Sensitivität und negativ prädiktivem Wert ist P1NP jedoch deutlich überlegen. P1NP hat eine > 33 % bessere Sensitivität als die AP. Des weiteren fällt auf, dass die diagnostischen Qualitäten der AP sehr unterschiedlich sind: bei hohen AP Werte sind Knochenmetastasen sehr

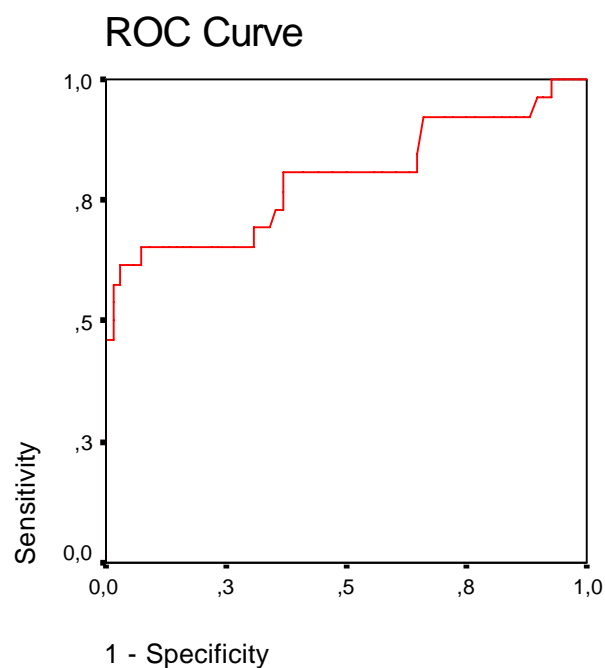
wahrscheinlich (Spezifität 93,3 %), aber bei niedrigen AP Konzentrationen können maligne Knochenherde nicht sicher ausgeschlossen werden. (Sensitivität 53,8 %). P1NP besitzt dagegen in allen Bereichen sehr gute Aussagekraft: hohe P1NP Spiegel korrelieren mit dem Nachweis von Knochenmetastasen (Sensitivität: 86,7%), bei niedrigem P1NP ist eine ossäre Metastasierung unwahrscheinlich (Spezifität: 78,0%).

Tabelle 9: Vergleich der Knochenformationsmarker P1NP und AP

Marker	Sensitivität (%)	Spezifität (%)	Positiv prädiktiver Wert (%)	Negativ prädiktiver Wert (%)
P1NP	86,7	78,0	63,4	93,2
AP	53,8	93,3	98,5	84,8

Die unterschiedliche diagnostische Aussagekraft von P1NP und der AP wird mit Hilfe von ROC – Kurven und den entsprechenden Flächen unter der Kurve ermittelt. Die Werte für P1NP sind *Abbildung 10* zu entnehmen (P1NP: AUC von **88,7 %**).

Abbildung 12: ROC Kurve der AP



In *Abbildung 12* beträgt die berechnete Fläche unter der ROC – Kurve für **79,6 %**.

Entsprechend *Abbildung 10* und *12* ermöglicht P1NP eine ca. 10 % bessere Differenzierung zwischen Prostatakarzinomen mit und ohne Knochenmetastasen als die AP.

3.1.6 Patientenbeispiel I

Im März 2004 wurde bei diesem Patienten ein gering differenziertes Prostatakarzinom [G3; GS 9 (5+4)] diagnostiziert, nachdem er durch einen erhöhten PSA Wert von 11,3 ng/ml und einen suspekten Tastbefund auffällig geworden war. Die radikale Prostatektomie wurde aufgrund beidseitiger Lymphknotenmetastasen abgebrochen und anschließend eine Therapie mit einem LHRH – Analogon begonnen. Die im Rahmen des Stagings angefertigte Knochenszintigrafie war negativ.

Im April 2005 fielen erneut ansteigende PSA – Spiegel auf, so dass der Patient zusätzlich mit einem Antiandrogen behandelt wurde. Dieses wurde jedoch im November bei weiter ansteigendem PSA wieder abgesetzt um den eventuell positiven Effekt eines Antiandrogenentzugs zu erzielen.

Abbildung 13 zeigt den Verlauf von P1NP, PSA und AP ab dem Zeitpunkt der Aufnahme in unsere Studie im Januar 2006. Aufgrund des weiterhin ansteigenden, pathologisch erhöhten PSA wurde im Februar 2006 eine Chemotherapie mit Docetaxel über 10 Zyklen zur Therapie des hormonrefraktären Gewebes eingeleitet. Obwohl die zeitnahe Szintigraphie keinen Hinweis auf Knochenmetastasen ergab und die AP als ein möglicher Indikator für Veränderungen im Knochenstoffwechsel unauffällig war, lagen die P1NP Werte mit > 100 ng/ml schon deutlich über dem vorgegebenen Cutoff von 60 ng/ml (ca. 70% ige Erhöhung über den Grenzwert). Unter der Chemotherapie waren PSA und AP deutlich rückläufig.

Nach Aussetzen der Docetaxel – Therapie im September 2006 zeigte sich bereits im Oktober ein PSA Anstieg auf 115 ng/ml, so dass ein Rezidiv des Prostatakarzinoms diagnostiziert wurde. In der Bildgebung zeigten sich jedoch weiterhin keine malignen

ossären Veränderungen. Der Versuch, die ansteigenden PSA Werte mit Hilfe von Ketokonazol (+ Kortison) zu senken, zeigte keine Wirkung.

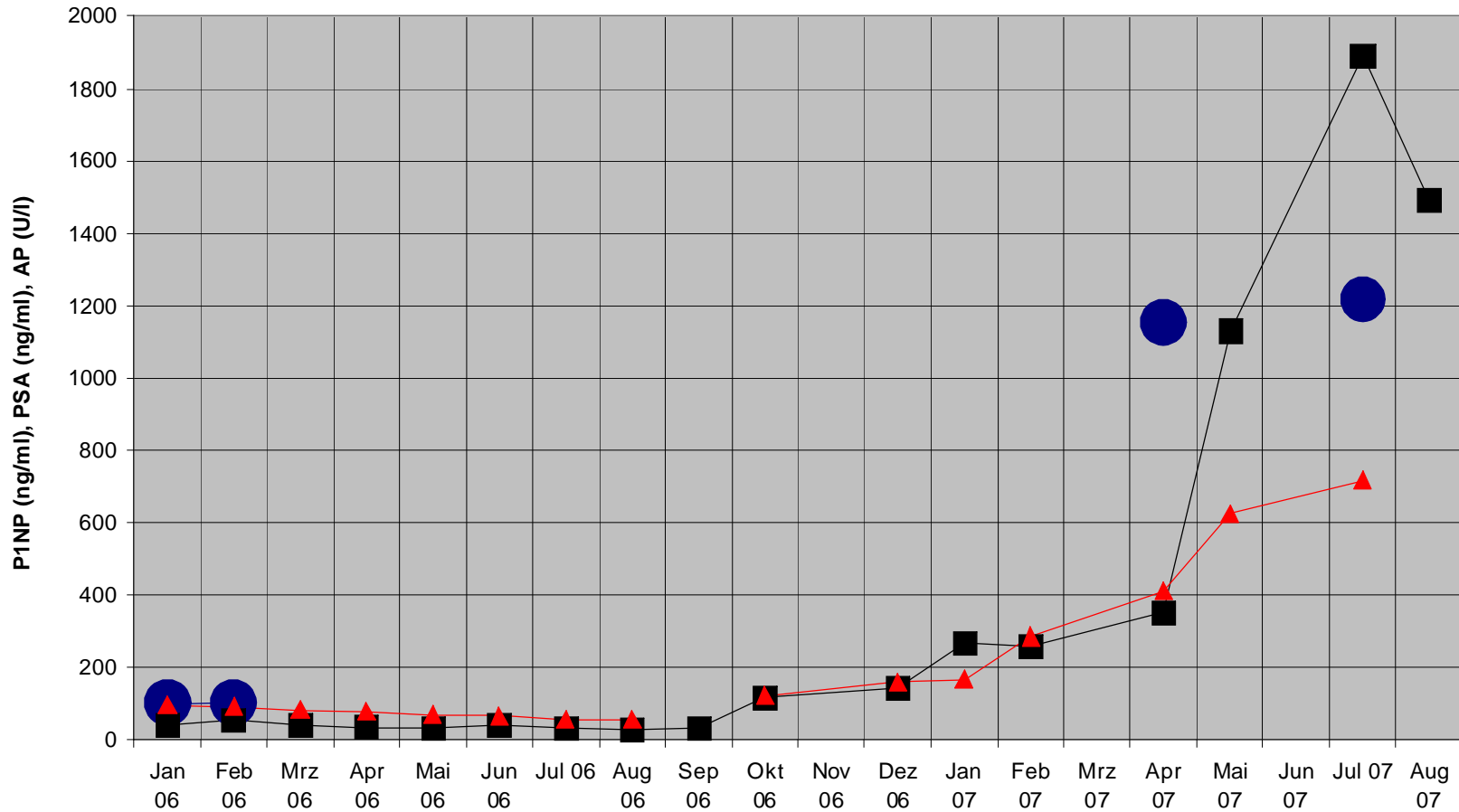
Im Januar 2007 wurde im Rahmen des fortschreitenden Tumorwachstums mit zunehmend obstruktiver Miktionsymptomatik eine palliative Greenlight – Vaporisation vorgenommen. In der vor dem Eingriff angefertigten Bildgebung konnten weiterhin keine metastasensuspekten Herdbefunde im Knochen nachgewiesen werden. Aufgrund der raschen PSA – Verdopplungszeit (PSA im Dezember 2006 142 ng/ml, im Januar bereits 268 ng/ml) wurde darüber hinaus eine erneute Therapie mit einem Antiandrogen eingeleitet, unter der es zu einem kurzzeitigen Abfall des PSA Wertes kam (PSA im Februar 2007: 260 ng/ml).

Bei kontinuierlich ansteigenden Laborparametern (PSA > 1000 ng/ml) wurde im Mai 2007 erneut eine Szintigraphie durchgeführt und es stellte sich erstmals eine diffuse Knochenmetastasierung mit den Schwerpunkten knöcherner Schädel, Sternum, Rippen, Humerus beidseits, Os Ileum links, Femur beidseits, sowie Hals – und Lendenwirbelsäule dar. Das im Rahmen unserer Studie bestimmte P1NP zeigte diesem Befund entsprechend Werte >1000 ng/ml, die AP war inzwischen ebenfalls pathologisch erhöht.

Im Juli 2007 wurden mit dem 1. Zyklus einer palliativen Second – Line – Chemotherapie mit Mitoxanthron begonnen unter der sich das PSA leicht rückläufig zeigte.

Der Patient verstarb kurz nach Beginn des 2. Zyklus.

Abbildung 13: Verlauf von P1NP, PSA und AP für Patientenbeispiel I



	Jan. 06	Feb. 06	Mrz. 06	Apr. 06	Mai. 06	Jun. 06	Jul. 06	Aug. 06	Sep. 06	Okt. 06	Nov. 06	Dez. 06	Jan. 07	Feb. 07	Mrz. 07	Apr. 07	Mai. 07	Jun. 07	Jul. 07	Aug. 07
● P1NP (ng/ml)	101,6	104,6														1156			1218,9	
■ PSA (ng/ml)	42,1	55,2	41,7	34,5	33,9	39,8	32	28,7	31,1	115		122	160	268	260	353	1130	1890	1490	
▲ AP (U/l)	95	92	82	79	70	66	56	56				122	160	167	286	410	626	718		

3.1.7 Patientenbeispiel II

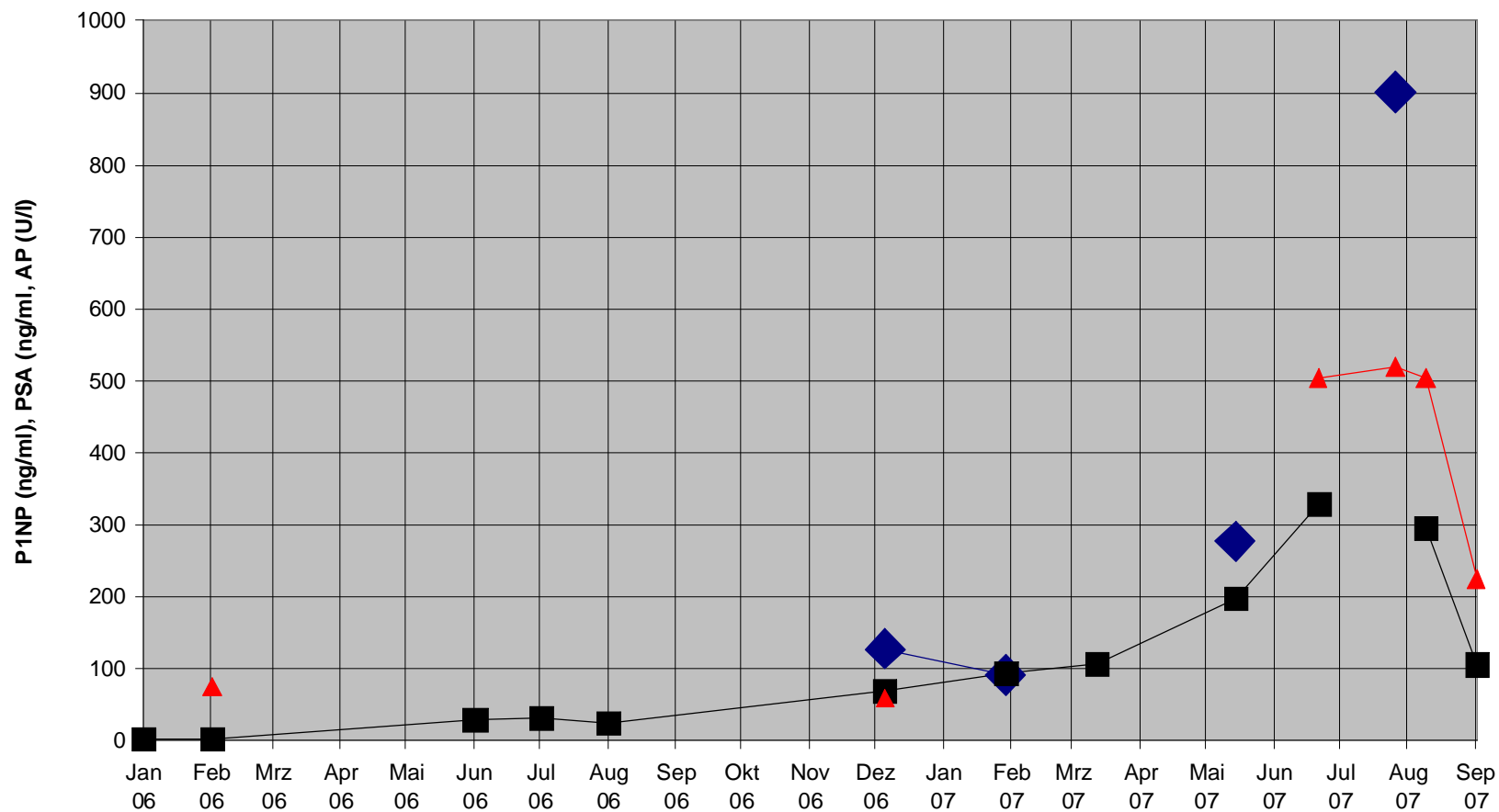
Bei diesem Patienten wurde im April 2002 ein Prostatakarzinom diagnostiziert (G2). In der anschließend durchgeführten bipelvinen Lymphadenektomie zeigte sich bereits eine beidseitige metastatische Infiltration der regionären Lymphknoten. Postoperativ wurde eine Kombinationstherapie aus Antiandrogen und LHRH – Agonist begonnen und ein Abfall des PSA Spiegels auf 0,3 ng/ml erreicht.

Ende 2004 kam es jedoch zu einem erneuten Anstieg des PSA, so dass im Februar 2005 das Antiandrogen gegen Estramustin ausgetauscht wurde. Zu diesem Zeitpunkt zeigten sich in der Skelettszintigraphie erstmals rechtsseitig metastasensuspekte Mehranreicherungen in Os Ileum, Azetabulum und Os Pubis.

Im September 2005 wurde in einer erneuten Szintigraphie eine zunehmende Progression der bereits beschriebenen Herde beobachtet und es manifestierten sich neue Knochenmetastasen zentral im Os Sacrum und in der linken Ileosakralfuge. Aufgrund dieses Befundes wurde bei einem anfänglichen PSA von 8,7 ng/ml und einer AP von 104 U/l eine Chemotherapie mit 6 Zyklen Docetaxel eingeleitet. Unter dieser Therapie halbierte sich das PSA (PSA im Februar 2006 3,9 ng/ml), im CT wurde keine Metastasenbildung beobachtet und der szintigraphische Befund war im Vergleich zu Voraufnahme stabil. Wie *Abbildung 14* zu entnehmen ist, stiegen die PSA Spiegel jedoch zunehmend deutlich an, eine Therapie mit LHRH – Analogon und Ketokonazol zeigte keinen Effekt. In einer Knochenszintigrafie im Oktober stellte sich eine Progression der ossären Metastasierung dar: es fielen neue Herde in der Schädelkalotte, in der 4. und 5. Rippe, sowie im rechtsseitigen Trochanter major und Femurknochen auf.

Zum Zeitpunkt der Aufnahme in unsere Studie im Dezember 2006 zeigte sich – wie bei dem ausgedehnten Szintigraphiebefund erwartet – ein stark erhöhter P1NP Spiegel von 127,8 ng/ml. Entsprechend der fortschreitenden Metastasierung in Manubrium sterni mit Xyphoid und Wirbelsäule, sowie einem Befall des linken und rechten Humerus stiegen die P1NP Spiegel auf 277,4 ng/ml im Mai und 901,5 ng/ml im Juli. Parallel dazu stiegen auch die PSA Werte an. Aufgrund der erhöhten PSA – Verdopplungszeit (PSA im Mai 199 ng/ml, PSA im Juni 296 ng/ml) wurde im August erneut eine Chemotherapie mit Docetaxel (geplant: 10 Zyklen) eingeleitet. Die letzten in dieser Studie erfassten Labordaten zeigten eine über 50 % ige Reduktion von PSA und AP unter Chemotherapie.

Abbildung 14: Verlauf von P1NP, PSA und AP für Patientenbeispiel II



	Jan. 06	Feb. 06	Jun. 06	Jul. 06	Aug. 06	Dez. 06	Jan. 07	Mrz. 07	Mai. 07	Jun. 07	Jul. 07	Aug. 07	Sep. 07
—◆— P1NP (ng/ml)						127,8	91,79		277,4		901,5		
—■— PSA (ng/ml)	3,31	3,9	29,3	32	24,7	68,9	94,4	108	199	329		296	106
—▲— AP (U/l)		75				60				504	520	504	225

3.2 Nierenzellkarzinome

3.2.1 Serumkonzentrationen von P1NP in Gruppe Tx^NKM(-) und Tx^NKM(+)

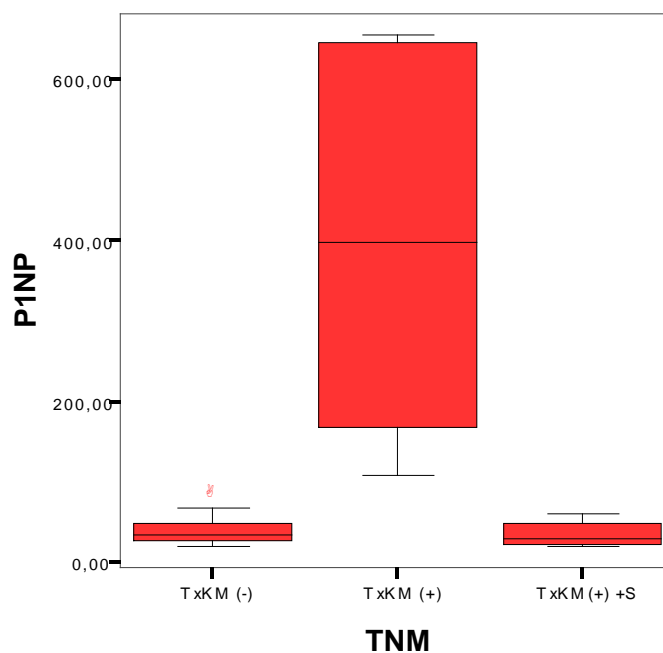
Als Grenzwert für ein pathologisch erhöhtes P1NP wird im Folgenden wie unter 3.1.1 ein Cutoff von 60 ng/ml angesetzt. *Tabelle 10* vergleicht die P1NP Konzentrationen im Serum von Patienten mit und ohne Knochenmetastasen.

Tabelle 10: P1NP Serumkonzentrationen in den 3 Untergruppe

Untergruppe	P1NP (ng/ml)	
	Median	Range
Tx ^N KM (-)	35,5	21,0 – 82,3
Tx ^N KM (+)	396,1	109,5 - 655,8
Tx ^N KM (+) + S	28,9	19,4 - 61,0

Abbildung 15 dient der Veranschaulichung der in der Tabelle angegeben Werte.

Abbildung 15: P1NP Spiegel in den 3 Untergruppen



Es wird offensichtlich, dass die P1NP Spiegel bei Patienten mit Knochenmetastasen signifikant ($p \leq 0,001$) höher liegen (Median: 396,10 ng/ml) als in der Untergruppe, die keine Knochenmetastasen in der Szintigraphie aufweist (Median: 35,53 ng/ml).

Mit Ausnahme von 3 Patienten liegen die P1NP Werte in der Gruppe Tx^NKM (-) alle im normalen Grenzbereich. Zwei der Patienten mit leicht erhöhten Serumspiegeln sind postmenopausale Frauen (Patientin 1: Alter 74 Jahre, P1NP 64,59 n/ml; Patientin 2: Alter 60 Jahre, P1NP 67,66 ng/ml), die nicht mit Hormonersatztherapie behandelt wurden und demnach höhere P1NP Werte haben dürfen (für den Electrochemiluminescence Immunoassay "ECLIA", Roche® gilt für postmenopausale Patientinnen ohne Hormonersatztherapie eine 95 % Perzentile von 76,31 ng/ml). Der dritte Patient ist neben seinem Nierenzellkarzinom noch an einem B – Zell – Lymphom erkrankt (P1NP 82,34 ng/ml), das möglicher Weise Einfluss auf die P1NP Spiegel nehmen könnte.

3.2.2 Serumkonzentrationen von P1NP in Gruppe Tx^NKM (+) + S

Tabelle 10 und *Abbildung 15* kann entnommen werden, dass Chemotherapie (in unserer Studie zum Beispiel Sorafenib) bei Patienten mit Knochenmetastasen zu niedrigen Werten des Knochenmarkers P1NP führt. Die Gruppe Tx^NKM (+) + S zeigt mit einem Median von 28,96 ng/ml signifikant ($p \leq 0,001$) niedrigere P1NP Level als Patienten mit Skelettmetastasen, die nicht mit Chemo – oder Strahlentherapie behandelt wurden (Median: 396,10 ng/ml). Vielmehr liegen die P1NP Konzentrationen des mit Sorafenib therapierten Kollektivs alle unterhalb des Cutoff Wertes von 60 ng/ml und der Median ist sogar deutlich geringer als in der Gruppe ohne Anzeichen von malignen Knochenprozessen in der Bildgebung (Median: 35,53 ng/ml).

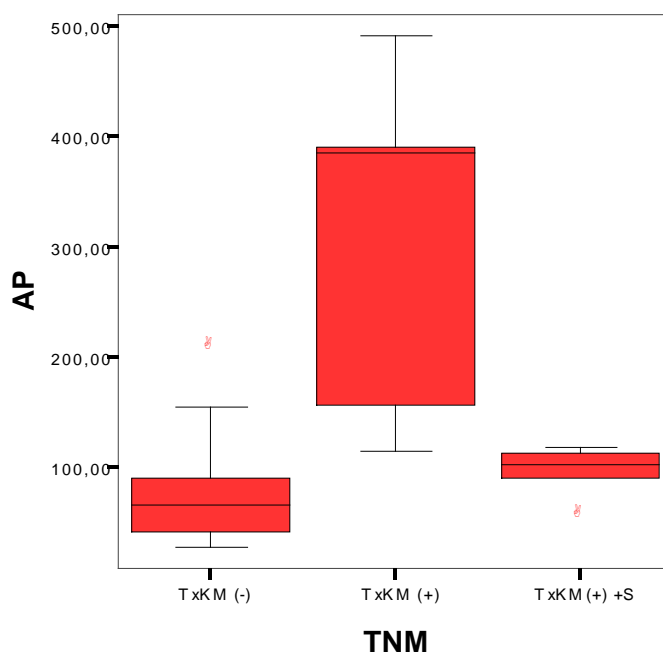
3.2.3 Serumkonzentration der AP

Tabelle 11 und *Abbildung 16* präsentieren die Serumspiegel der Alkalischen Phosphatase. Wie P1NP gibt auch die AP in erster Linie Veränderungen der Knochenformation an. Als Referenzbereich gelten für die Alkalische Phosphatase Cutoff Werte von 129 U/l für männliche Patienten und von 104 U/l für weibliche Patienten.

Tabelle 11: AP Serumkonzentrationen in den 3 Untergruppen

Untergruppe	AP (U/l)	
	Median	Range
Tx ^N KM (-)	66,0	27,0 - 207,0
Tx ^N KM (+)	385,0	114,0 - 492,0
Tx ^N KM (+) + S	103,0	91,0 – 119,0

Abbildung 16: AP Spiegel in den 3 Untergruppen



Entsprechend den unter 3.2.1 beschriebenen Verhältnissen für P1NP zeigen sich auch für die AP signifikant ($p \leq 0,001$) höhere Serumkonzentrationen bei Patienten mit unbehandelten Knochenmetastasen (Median: 358 U/l) als in dem Kollektiv ohne maligne ossäre Veränderungen (Median: 66 U/l).

Wiederum scheint eine Chemotherapie mit Sorafenib zu niedrigen Spiegeln des Knochenmarkers zu führen: in Gruppe Tx^NKM (+) + S liegt der Median der AP bei 103 U/l und liegt damit signifikant ($p \leq 0,01$) unter dem Median der Gruppe Tx^NKM (+).

3.2.4 Vergleich P1NP und AP

Der Spearman Korrelationskoeffizient wurde angewendet um zu überprüfen, ob ein linearer Zusammenhang zwischen den Serumkonzentrationen von P1NP und AP besteht. Es zeigte sich eine positive Korrelation zwischen diesen beiden Knochenmarkern (Korrelationskoeffizient 0,474; $p \leq 0,01$).

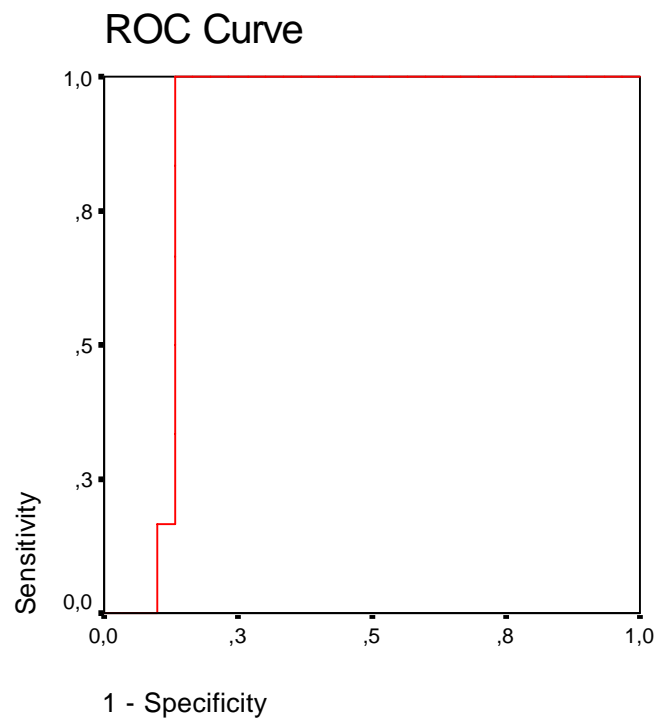
Darüber hinaus wurden auch Sensitivität, Spezifität, positiv prädiktiver Wert und negativ prädiktiver Wert für beide Marker berechnet. Hierfür wurden nur die beiden Gruppen Tx^NKM (-) und Tx^NKM (+) herangezogen. Die Patientengruppe, die mit Sorafenib behandelt wurde, wurde aus diesen Berechnung ausgeschlossen, um eine korrekte Aussage über den diagnostischen Wert von P1NP – unverfälscht von eventuellen Einflüssen der Chemotherapie – treffen zu können. Wie man *Tabelle 12* entnehmen kann, ist P1NP in allen 4 Qualitäten der AP überlegen. Die Sensitivität von P1NP ist ca. 17 % höher als die der AP, in Bezug auf die Spezifität besteht ein Unterschied von 4,2%.

Tabelle 12: Vergleich der Knochenformationsmarker P1NP und AP

Marker	Sensitivität (%)	Spezifität (%)	Positiv prädiktiver Wert (%)	Negativ prädiktiver Wert (%)
P1NP	100	87,5	66,7	100
AP	83,3	83,3	55,6	95,2

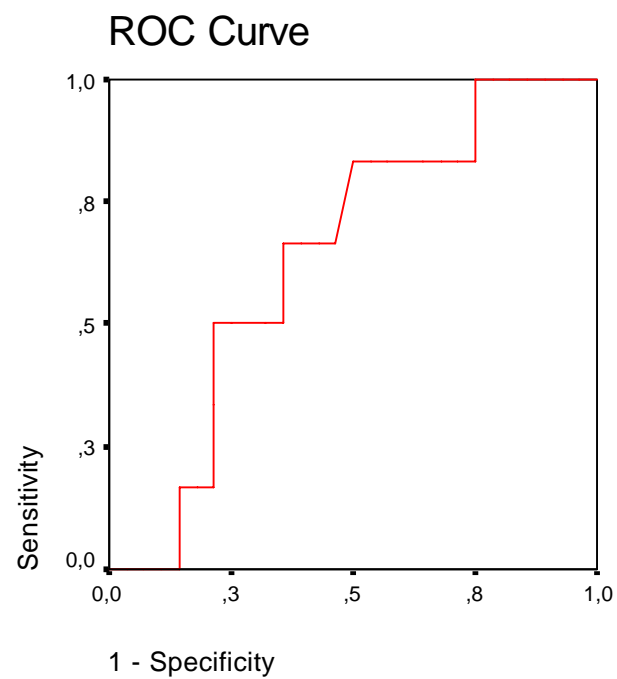
Um die diagnostische Aussagekraft von P1NP und AP für Knochenmetastasen bei Patienten mit Nierenzellkarzinomen analysieren zu können, wurden ROC – Kurven erstellt und die entsprechende AUC berechnet.

Abbildung 17: ROC Kurve von PINP



In *Abbildung 17* beträgt die entsprechende Fläche unter der ROC – Kurve **87,2 %**.

Abbildung 18: ROC Kurve der AP



In *Abbildung 18* beträgt die entsprechende Fläche unter der ROC – Kurve **64,0 %**.

Entsprechend *Abbildung 17* und *18* ermöglicht P1NP eine 23,2 % bessere Differenzierung zwischen Nierenzellkarzinomen mit und ohne Knochenmetastasen als die AP.

3.3 Ovarialkarzinome

3.3.1 Serumkonzentrationen von P1NP

Tabelle 13 und *Abbildung 19* zeigen die Serumkonzentrationen von P1NP in den zwei Studiengruppen. In den folgenden Berechnungen wird für dieses weibliche Kollektiv ein Cutoff von 80 ng/ml angenommen. Dieser Wert orientiert sich an der 95. Perzentile von 76,21 ng/ml für postmenopausale Patientinnen ohne Hormonersatztherapie, die sich in Osteoporosestudien für den Immunoassay „ECLIA“ der Firma Roche® ergeben hat.

Tabelle 13: P1NP Serumkonzentrationen in den 2 Untergruppen

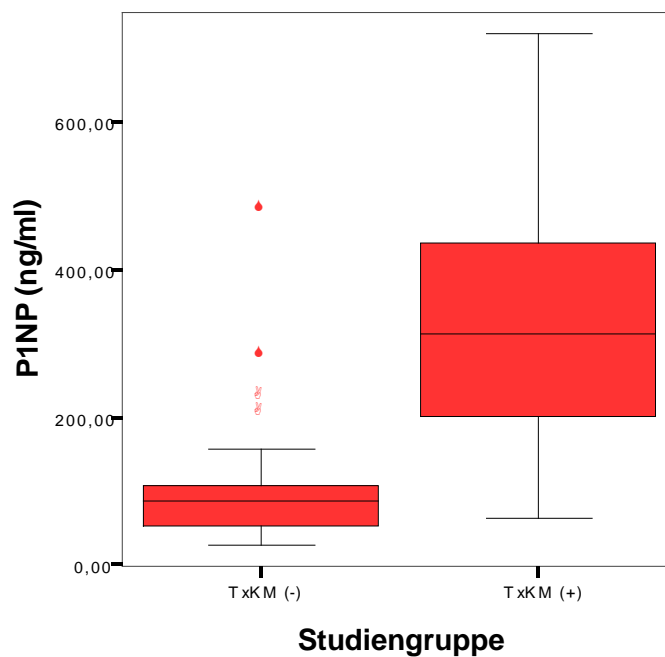
Untergruppe	P1NP (ng/ml)	
	Median	Range
Tx ⁰ KM (-)	87,7	46,0 - 418,0
Tx ⁰ KM (+)	312,5	62,81 - 722,0

Man erkennt, dass für Patientinnen ohne Knochenmetastasen die P1NP Konzentrationen nur knapp oberhalb des Cutoffs liegen (Median: 87,7 ng/ml). Patientinnen der Gruppe Tx⁰KM (+) zeigen dagegen signifikant ($p \leq 0,001$) höhere Werte des Knochenmarkers P1NP (Median: 312,5 ng/ml). Nur bei einer Patientin mit Knochenmetastasen liegt der P1NP Wert knapp unterhalb des Cutoff von 80 ng/ml (P1NP: 62,81 ng/ml).

Interessanter Weise findet sich bei dieser Patientin in der Knochenszintigrafie nur eine solitäre Metastase im Schambein, so dass vermutet werden kann, dass der P1NP Spiegel

vom Ausprägungsgrad der Knochenmetastasierung abhängt. Außerdem muss darauf hingewiesen werden, dass bei einem P1NP Cutoff von 60 ng/ml, wie er in dieser Arbeit für Patienten mit Prostata – und Nierenzellkarzinomen angelegt wird, der P1NP Spiegel dieser Patientin als sicher pathologisch angesehen würde.

Abbildung 19: P1NP Spiegel in den 2 Untergruppen



3.3.2 Serumkonzentrationen der AP

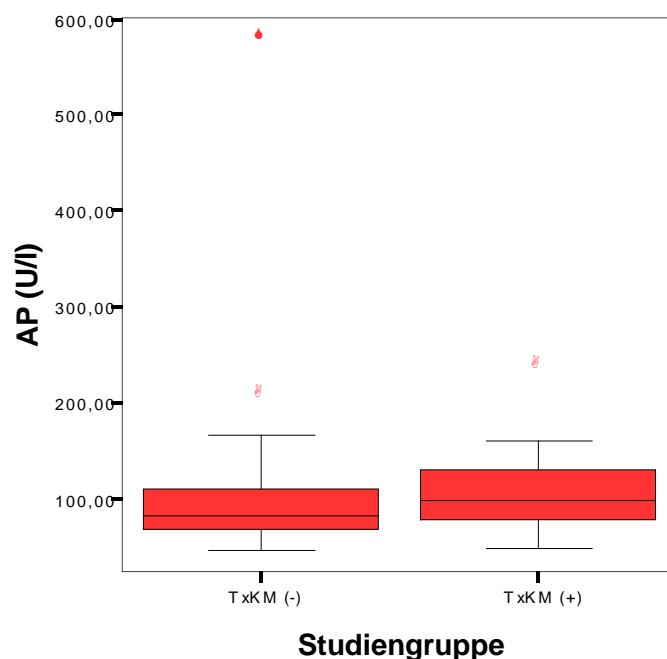
In *Tabelle 14* und *Abbildung 20* werden die Serumkonzentrationen der AP dargestellt.

Tabelle 14: AP Serumkonzentrationen in den 2 Untergruppen

Untergruppe	AP (U/l)	
	Median	Range
$\text{Tx}^0\text{KM} (-)$	81	45 – 580
$\text{Tx}^0\text{KM} (+)$	98	47 – 237

Der in der klinischen Routine gültige Cutoff der AP für weibliche Patienten liegt bei 104 U/l. Es fällt auf, dass demnach sowohl bei Patientinnen mit Knochenmetastasen (Median: 98 U/l) als auch in der Gruppe ohne ossäre Metastasierung (Median 81 U/l) die Werte der Alkalischen Phosphatase im Normbereich liegen. Es besteht kein signifikanter Unterschied ($p = 0,172 = \text{n.s.}$) zwischen den beiden Gruppen Tx⁰KM (-) und Tx⁰KM (+). Als Besonderheit zeigt *Abbildung 20* darüber hinaus, dass der höchste AP Wert bei einer Patientin ohne Knochenmetastasen gemessen wurde. Ursache hierfür ist wahrscheinlich, dass bei dieser Patientin Lebermetastasen bekannt sind. Da in dieser Studie die Gesamt – Alkalische Phosphatase bestimmt wurde, die sich aus mehreren Isoenzymen zusammensetzt, kann in diesem Beispiel eine isolierte Erhöhung der leberspezifischen Isoenzyme zu einer Erhöhung der Gesamt – AP führen.

Abbildung 20: AP Spiegel in den 2 Untergruppen



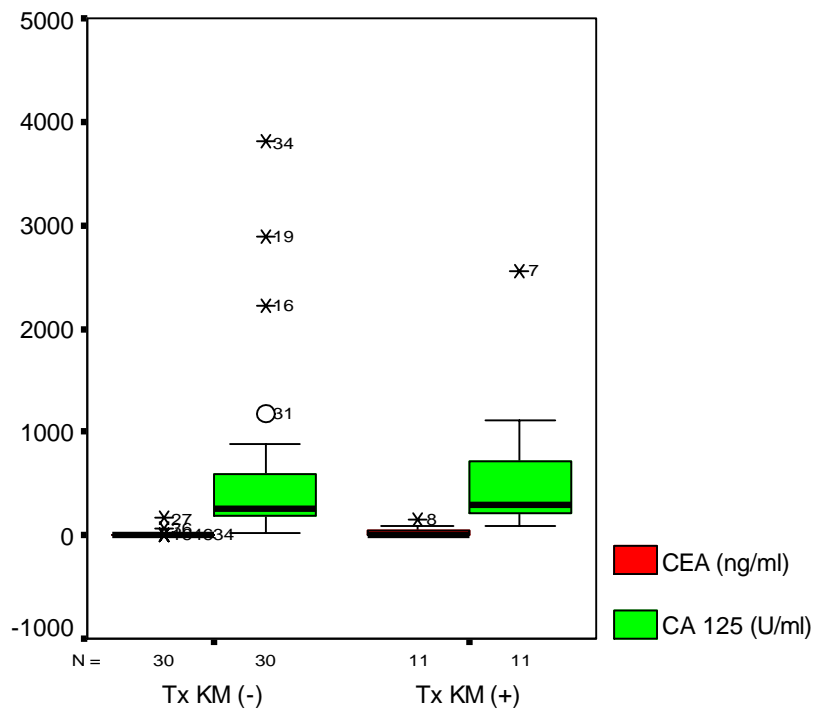
3.3.3 Serumkonzentrationen von CEA und CA 125

Tabelle 15 und *Abbildung 21* zeigen die Serumkonzentrationen der beiden Tumormarker CEA und CA 125. Als Cutoffs wurden die in der klinischen Routine üblichen Grenzwerte von 10 ng/ml für CEA und 65 U/ml für CA 125 verwendet.

Tabelle 15: Serumkonzentrationen von CEA und CA 125 in den 2 Untergruppen

Untergruppe	CEA (ng/ml)		CA 125 (U/ml)	
	Median	Range	Median	Range
Tx ⁰ KM (-)	1,5	0,2 - 167	249	22 - 3806
Tx ⁰ KM (+)	1,9	0,6 - 160	283	88 - 2557

Abbildung 21: CEA und CA 125 Spiegel in den 2 Untergruppen



Wie schon bei der Alkalischen Phosphatase zeigen sich für die zwei Tumormarker keine signifikanten Unterschiede (CEA: $p = 0,144 = n.s.$; CA 125: $p = 0,47 = n.s.$) zwischen Patienten mit und ohne Knochenmetastasen. Der Median von CEA ist mit Werten < 2 ng/ml sowohl in Gruppe Tx⁰KM (-), als auch in Gruppe Tx⁰KM (+) nicht pathologisch erhöht. Für CA 125 zeigen dagegen beide Kollektive stark erhöhte Serumkonzentrationen von > 200 U/ml.

3.3.4 Vergleich von P1NP und AP

Mit Hilfe der Spearman Korrelationskoeffizienten wurde ermittelt, dass kein linearer Zusammenhang zwischen P1NP und der AP besteht (Korrelationskoeffizient: 0,166)

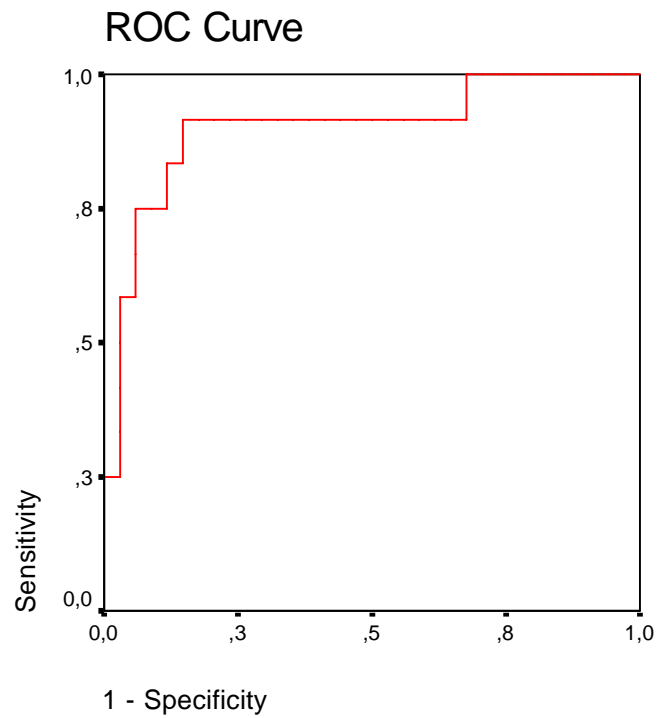
Des weiteren wurden Sensitivität, Spezifität, positiv und negativ prädiktiver Wert berechnet. *Tabelle 16* zeigt, dass P1NP der AP sowohl in Bezug auf Sensitivität, als auch positiv und negativ prädiktiven Wert deutlich überlegen ist. Zwar ist die Spezifität der AP 16,7 % besser als die Spezifität von P1NP, die AP ist dafür jedoch nur halb so sensitiv wie P1NP.

Tabelle 16: Vergleich der Knochenformationsmarker P1NP und AP

Marker	Sensitivität (%)	Spezifität (%)	Positiv prädiktiver Wert (%)	Negativ prädiktiver Wert (%)
P1NP	91,7	50,0	39,3	94,4
AP	45,5	66,7	33,3	76,9

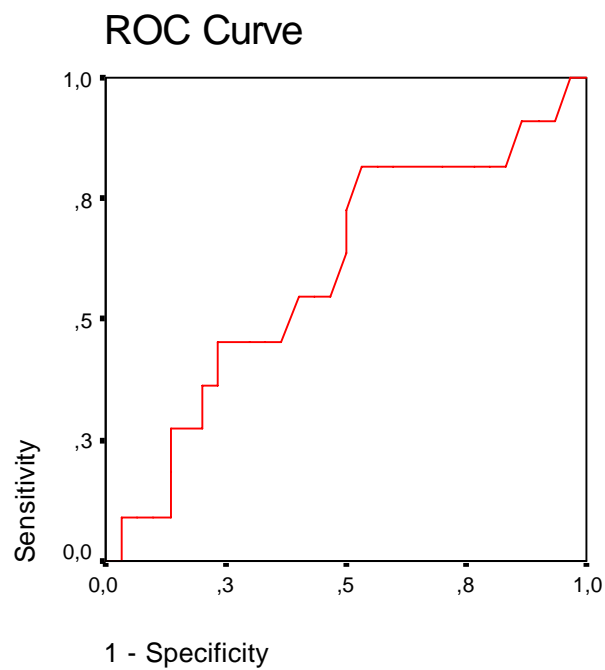
Um die diagnostische Aussagekraft von P1NP und AP für Knochenmetastasen bei Patienten mit Ovarialkarzinomen analysieren zu können, wurden ROC – Kurven erstellt und die entsprechende AUC berechnet

Abbildung 22: ROC Kurve von PINP



In *Abbildung 22* beträgt die entsprechende Fläche unter der AUC Kurve **90,2 %**.

Abbildung 23: ROC Kurve der AP



In *Abbildung 23* beträgt die entsprechende Fläche unter der AUC Kurve **59,8 %**.

Entsprechend *Abbildung 22* und *23* ermöglicht P1NP eine 30,4 % bessere Differenzierung zwischen Ovarialkarzinomen mit und ohne Knochenmetastasen als die AP.

3.3.5 Vergleich von P1NP und CEA / CA 125

Um einen linearen Zusammenhang zwischen P1NP und den zwei Tumormarkern CEA und CA 125 zu ermitteln wurde der Spearman Korrelationskoeffizient berechnet. Für beide Marker zeigte sich jedoch keine Abhängigkeit (Korrelationskoeffizient CEA: -0,08; Korrelationskoeffizient CA 125: 0,127).

Darüber hinaus wurden Sensitivität, Spezifität, sowie positiv und negativ prädiktiver Wert für das Vorliegen von Knochenmetastasen berechnet.

Tabelle 17: Vergleich der Knochenformationsmarker P1NP, CEA und CA 125

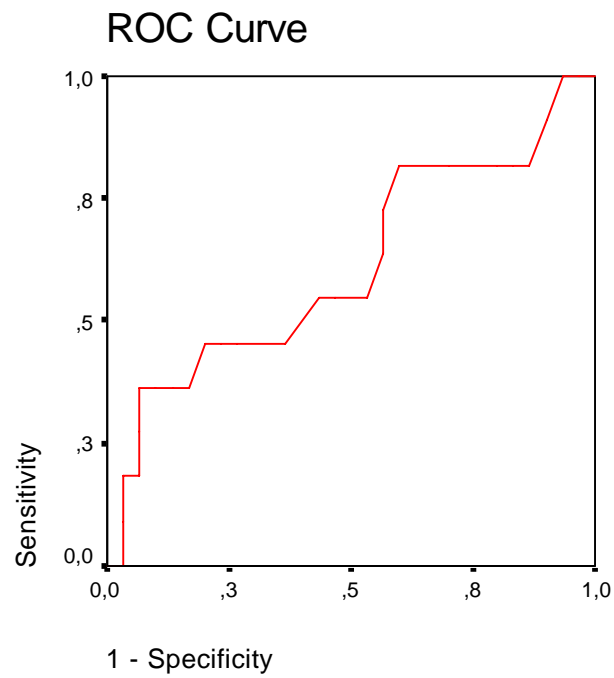
Marker	Sensitivität (%)	Spezifität (%)	Positiv prädiktiver Wert (%)	Negativ prädiktiver Wert (%)
P1NP	91,7	50,0	39,3	94,4
CEA	36,4	93,3	66,7	80,0
CA 125	100	2,9	26,7	100

Tabelle 17 stellt dar, dass P1NP eine 55,3 % bessere Sensitivität als CEA aufweist, dafür zeigt CEA eine 43,3 % bessere Spezifität. CA 125 weist eine 8,3 % bessere Sensitivität als P1NP auf, dafür besitzt CA 125 fast keinerlei Spezifität für die Diagnostik von Knochenmetastasen.

Um die diagnostische Aussagekraft von P1NP und den zwei Tumormarkern für Knochenmetastasen bei Patienten mit Ovarialkarzinomen analysieren zu können, wurden ROC – Kurven erstellt und die entsprechende AUC berechnet.

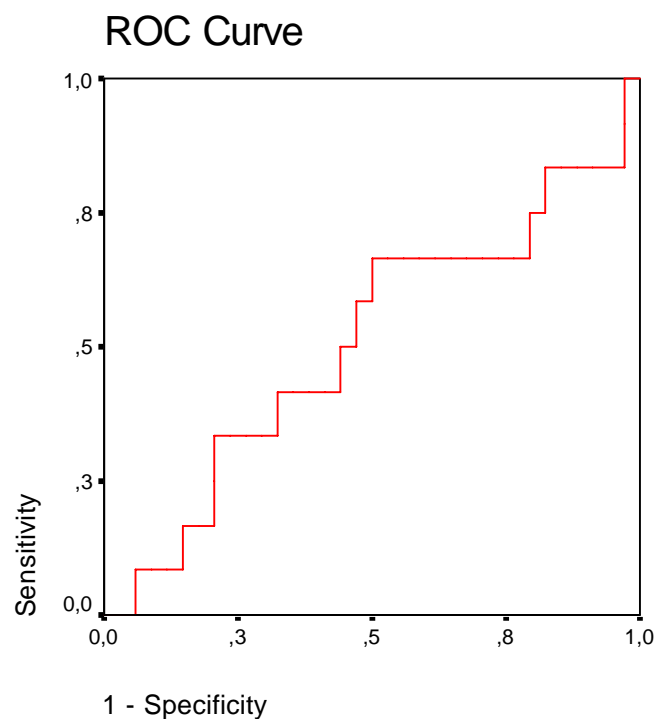
Für P1NP beträgt gemäß *Abbildung 22* die Fläche unter der AUC Kurve **90,2 %**.

Abbildung 24: ROC Kurve von CEA



In *Abbildung 24* beträgt die entsprechende Fläche unter der AUC Kurve **61,1 %**.

Abbildung 25: ROC Kurve von CA 125



In *Abbildung 25* beträgt die entsprechende Fläche unter der AUC Kurve **50,7 %**.

Die *Abbildungen 22, 24 und 25* machen deutlich, dass P1NP eine 29,1 % bessere Aussage als CEA und eine ca. 40 % bessere Aussage als CA 125 darüber macht, ob bei einer Patientin mit Ovarialkarzinom Knochenmetastasen vorliegen oder nicht.

3.4 Gesamtbetrachtung unabhängig von der Tumorpathologie

3.4.1 Serumkonzentrationen von P1NP

In *Tabelle 18* und *Abbildung 26* werden noch einmal die P1NP Konzentrationen aller insgesamt 48 Patienten mit Knochenmetastasen (Median: 225,85 ng/ml) den P1NP Werten der 128 Patienten ohne Knochenmetastasen (Median: 46,7 ng/ml) gegenübergestellt. Die 6 mit Sorafenib behandelten Patienten mit ossär metastasiertem Nierenzellkarzinom wurden aus diesen Berechnungen ausgeschlossen um eine sichere Aussage darüber treffen zu können, ob sich P1NP zur Diagnostik neu aufgetretener, unbehandelter Knochenmetastasen eignet.

Es zeigt sich ein signifikanter Unterschied ($p \leq 0,001$) zwischen den P1NP Konzentrationen von Patienten mit und ohne Knochenmetastasen, wobei Patienten mit ossärer Metastasierung deutlich höhere P1NP Spiegel aufweisen als Patienten ohne skeletalen Befall, deren Median sich im Normalbereich befindet.

Tabelle 18: Serumkonzentrationen von P1NP und AP bei Patienten mit und ohne Knochenmetastasen

Untergruppe	P1NP (ng/ml)		AP (U/l)	
	Median	Range	Median	Range
Keine Knochenmetastasen	46,7	11,1- 418,0	69	23 - 580
Knochenmetastasen	225,85	19,6-1218,9	138	36 - 718

Abbildung 26: P1NP Konzentrationen bei Patienten mit und ohne Knochenmetastasen

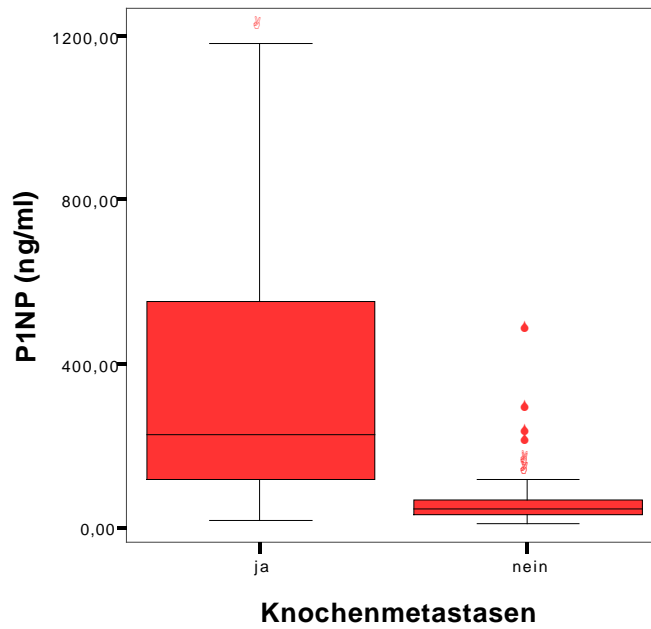
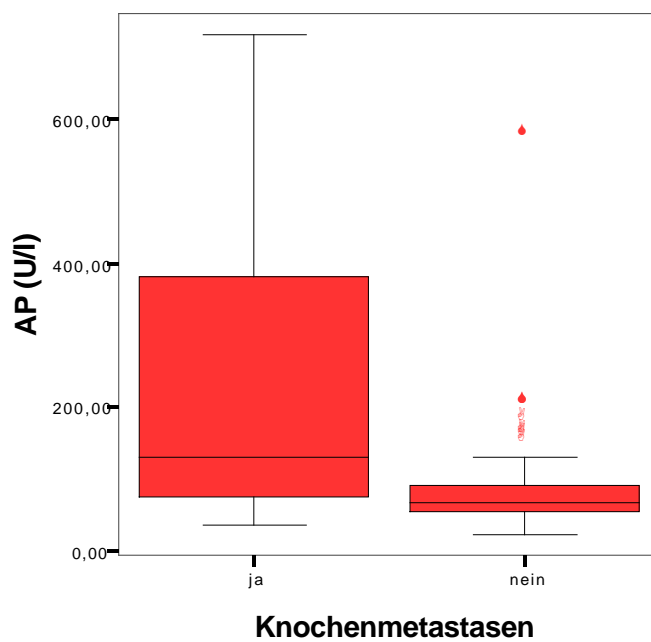


Abbildung 27: AP Konzentrationen bei Patienten mit und ohne Knochenmetastasen

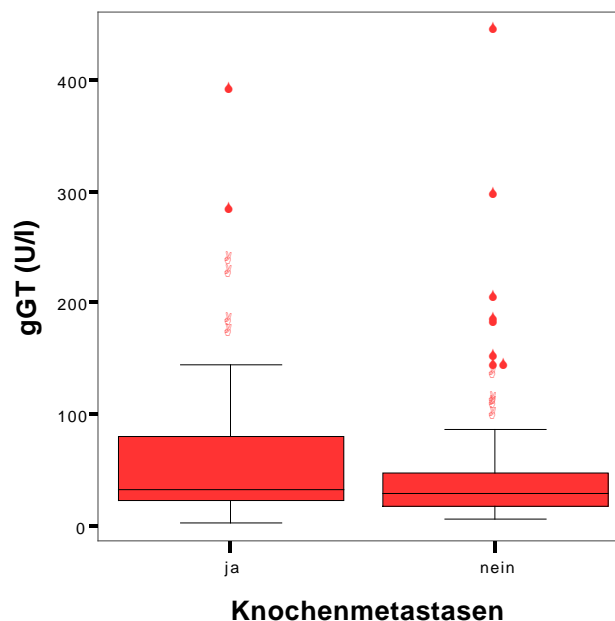


3.4.2 Serumkonzentrationen der AP

In *Tabelle 18* und *Abbildung 27* werden die Serumkonzentrationen der AP bei den 48 Patienten mit Knochenmetastasen (Median: 138 U/l) den AP Werten der 128 Patienten ohne ossäre Metastasierung (Median 69 U/l) gegenübergestellt. Zwischen den beiden Gruppen zeigt sich ein signifikanter Unterschied ($p \leq 0,001$). Während Patienten mit Knochenmetastasen pathologisch erhöhte AP Werte aufweisen, liegen die Konzentrationen des Kollektivs ohne skeletalen Befall im Normbereich.

Da sich die AP aus verschiedenen Isoenzymen, vor allem den knochen – und leberspezifischen Isoenzymen, zusammensetzt, muss man zur Darstellung des durch Knochenmetastasen bedingten Anstiegs der AP die tumorbedingte hepatobiliäre Dysfunktion der Patienten mit erfassen. Als Parameter wird in dieser Studie die γ GT eingesetzt. Wie in *Abbildung 28* dargestellt, ergeben sich für Patienten mit (Median: 32 U/l) und ohne Knochenmetastasen (Median 29 U/l) fast gleiche Serumkonzentrationen der γ GT. Sie sind jedoch in beiden Gruppen pathologisch erhöht (Normwerte männlich: 6-28 U/l); Normwerte weiblich: 4-18 U/l). Hieraus ergibt sich, dass der in *Abbildung 27* beobachtet Unterschied in erster Linie auf eine Erhöhung des knochenspezifischen Isoenzym zurückzuführen ist.

Abbildung 28: γ GT bei Patienten mit und ohne Knochenmetastasen

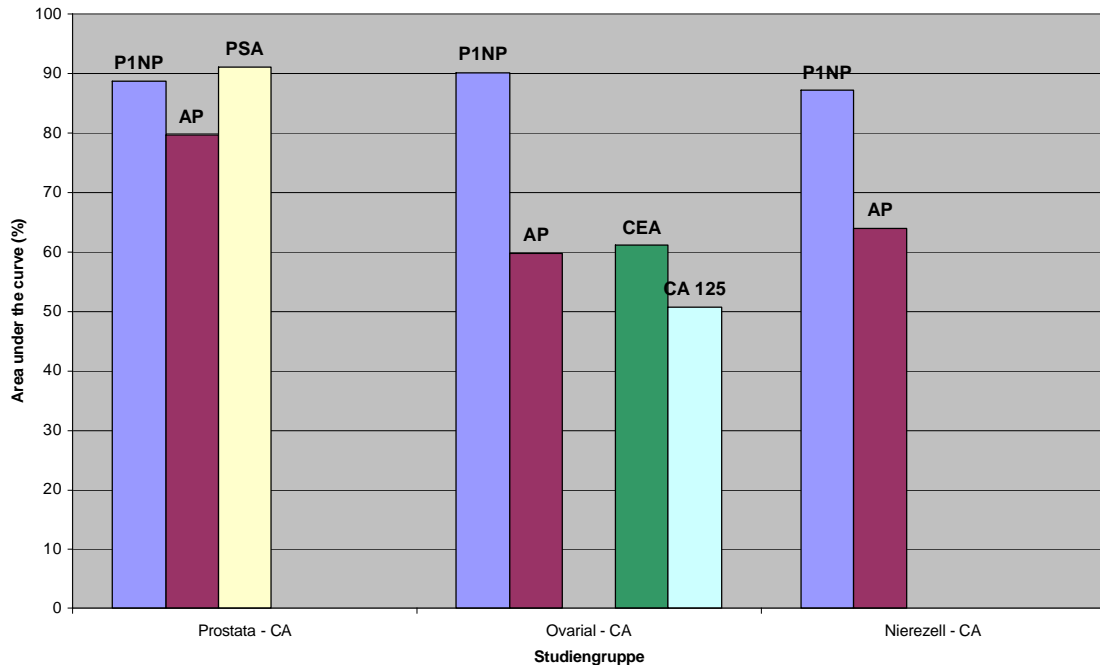


3.4.3 Aussagekraft für das Vorliegen von Knochenmetastasen

Abbildung 29 stellt die für alle untersuchten Parameter berechneten AUC Kurven für Prostata -, Nierenzell – und Ovarialkarzinome einander gegenüber.

Es fällt auf, dass P1NP unabhängig von der Tumorpathologie eine ca. 90 % sichere Angabe darüber ermöglicht, ob bei einem Patienten Knochenmetastasen vorliegen oder nicht. Einzig mit Hilfe des prostataspezifischen Tumormarkers PSA kann eine ähnlich sichere Aussage getroffen werden. Die Tumormarker CEA und CA 125, die im Rahmen der Diagnostik für Ovarialkarzinome eingesetzt werden, sind dem P1NP deutlich an Aussagekraft unterlegen. Der Knochenformationsmarker AP zeigt unterschiedliche Ergebnisse: während seine diagnostische Qualität bei Prostatakarzinomen gut ist, ist die Aussage über das Vorliegen von Knochenmetastasen bei Patienten mit Nierenzell – und Ovarialkarzinomen deutlich schlechter als von P1NP.

Abbildung 29: Vergleich der AUC von P1NP, AP, PSA, CEA und CA 125 in den 3 Studiengruppen



Insgesamt ergeben sich für P1NP und die AP die in *Tabelle 19* dargestellten Werte für Sensitivität, Spezifität, positiv und negativ prädiktiven Wert.

Tabelle 19: Vergleich der Knochenformationsmarker P1NP und AP bei allen 176 Patienten

Marker	Sensitivität (%)	Spezifität (%)	Positiv prädiktiver Wert (%)	Negativ prädiktiver Wert (%)
P1NP	89,6	74,2	56,6	95,0
AP	57,1	87,1	61,5	85,6

Der Knochenmarker P1NP zeigt eine ca. 13 % schlechtere Spezifität als die AP, dafür zeichnet sich P1NP durch eine über 33 % bessere Sensitivität und eine 10 % bessere Aussage des negativ prädiktiven Wertes bei der Diagnostik von Knochenmetastasen aus.

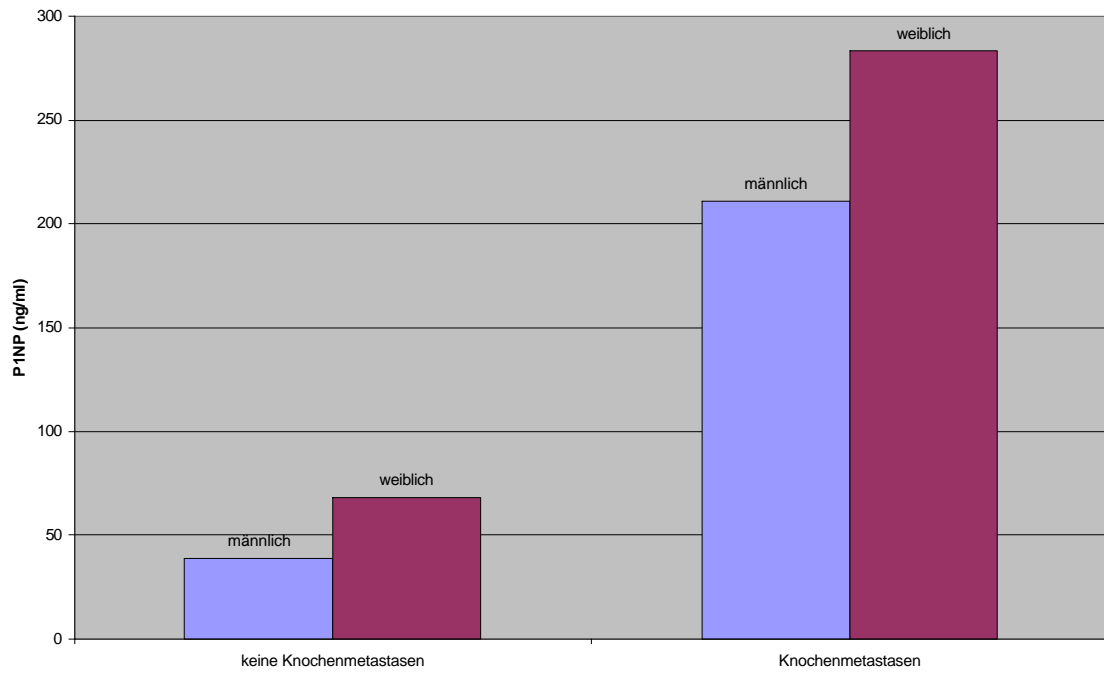
3.4.4 P1NP in Abhängigkeit vom Geschlecht

Tabelle 20 und Abbildung 30 zeigen die Abhängigkeit des Knochenmarkers P1NP vom Geschlecht des Patienten. Bei Patienten ohne Knochenmetastasen zeigt sich ein signifikanter Unterschied ($p \leq 0,001$) zwischen dem männlichen (Median: 39,2 ng/ml) und dem fast doppelt so hohen weiblichen (Median: 68,5 ng/ml) Parameter. Für das Kollektiv mit Knochenmetastasen ergibt sich zwar kein signifikanter Unterschied ($p = 0,39 = n.s.$), trotzdem liegen die weiblichen Werte (Median: 283,3 ng/ml) wiederum über den Serumspiegeln der männlichen Patienten (Median: 210,9 ng/ml).

Tabelle 20: Serumkonzentrationen von P1NP in Abhängigkeit vom Geschlecht

Untergruppe	Männlich (ng/ml)		Weiblich (ng/ml)	
	Median	Range	Median	Range
Keine Knochenmetastasen	39,2	11,1-155,0	68,5	20,9-481,3
Knochenmetastasen	210,9	19,6-1218,9	283,3	62,8-722,0

Abbildung 30: P1NP Mediane in Abhängigkeit vom Geschlecht bei Patienten mit und ohne Knochenmetastasen



Diskussion

Bei ungefähr 25 % aller Tumorpatienten treten mit zunehmendem Krankheitsverlauf Knochenmetastasen auf.⁹¹ Besonders häufig sind hiervon Patienten mit Brust-, Lunge-, Prostata-, Nierenzell-, und Schilddrüsentumoren, seltener Ovarialkarzinomen, betroffen. Aufgrund der Häufigkeit dieser Erkrankungen geht man davon aus, dass 99% aller Knochentumore metastatisch bedingt sind.⁹² Zu den schwerwiegenden Komplikationen von Knochenmetastasen gehören pathologische Frakturen, Nervenwurzelkompression, spinale Kompressionssyndrom, Knochenmarksaplasie und Hypercalcämie, ca. 75 % der Patienten klagen über Knochenschmerzen.⁹²

Es wird offensichtlich, dass eine akkurate Diagnostik von Knochenmetastasen sowohl für das primäre Staging als auch im Follow – up von Tumorpatienten entscheidend ist, um frühzeitig therapeutische Maßnahmen einleiten zu können und Morbidität und Mortalität der Patienten zu reduzieren. Da die in der Klinik üblichen bildgebenden Verfahren trotz guter Sensitivität nur über eine geringe Spezifität verfügen, Knochenmetastasen meist nicht frühzeitig detektiert werden können und sich Krankheitsprogression und Therapieerfolge nur mit Latenzzeit manifestieren,⁷⁶ wird heute in Studien untersucht, ob sich ein pathologischer Knochenstoffwechsel mit Hilfe von speziellen Knochenformations – und Resorptionsmarker diagnostiziert lässt.

Ein bereits in der Routinediagnostik eingesetzter Marker der Knochenneubildung ist die Alkalische Phosphatase.⁹³ Die Gesamt – Alkalische Phosphatase setzt sich aus verschiedenen Isoenzymen zusammen, von denen die knochenspezifische und die leberspezifische Untergruppe je ca. 50 % ausmachen. Hieraus ergibt sich, dass die Gesamt – AP ein sehr unspezifischer Parameter zur Diagnostik von Knochenmetastasen ist, da pathologische Prozesse in der Leber ebenfalls zu einer falsch positiven Diagnose führen können. Eine relativ sichere Aussage über das Vorliegen von Knochenmetastasen kann nur getroffen werden, wenn bei einem Patienten eine metastatische Leberbeteiligung oder eine begleitende Lebererkrankung sicher ausgeschlossen werden können. Pecherstorfer et al. fanden bei einer Untersuchung der Gesamt – Alkalische Phosphatase heraus, dass gesunde Patienten niedrigere AP Werte zeigen als Tumorpatienten ohne Knochenmetastasen. Patienten mit Knochenmetastasen wiesen die höchsten Serumkonzentrationen auf.⁹⁴ Da sich die beiden Gruppen von

Tumorpatienten hinsichtlich ihrer γ GT und dem Vorliegen von Lebermetastasen nicht unterschieden, schlossen sie daraus, dass der Anstieg des leberspezifischen AP - Isoenzym die erhöhte Gesamt - AP von Karzinompatienten versus Gesunden verursacht. Die darüber hinaus erhöhten Werte von Patienten mit Knochenmetastasen sei auf eine zusätzliche Erhöhung des knochenspezifischen AP - Isoenzym zurückzuführen.⁹⁴

Da es sich bei der Alkalischen Phosphatase demnach um einen störanfälliger Parameter zur Diagnostik von Knochenmetastasen handelt, wurde in der vorliegenden Arbeit ein neuer vielversprechender, spezifischer Knochenformationsmarker, das PINP, untersucht. Seine diagnostische Aussagekraft für das Vorliegen einer ossären Metastasierung wurde am Beispiel von Patienten mit Prostata - , Nierenzell - und Ovarialkarzinomen analysiert.

4.1 Prostatakarzinom

Aufgrund des zunehmenden Durchschnittsalters der Bevölkerung und der verbesserten Methoden zu Früherkennung mit Hilfe des prostataspezifischen Tumormarkers PSA ist eine steigende Inzidenz des Prostatakarzinoms zu beobachten. Vor allem Knochenmetastasen erhöhen die Morbidität und Mortalität der Patienten und bis zu 50 % der Betroffenen sterben innerhalb von 30 Monaten.⁹⁵ Goldstandard zur Diagnostik von Knochenmetastasen bei Patienten mit Prostatakarzinom ist die Knochenszintigrafie. Als Kriterium für den Einsatz dieses teuren, zeitaufwendigen Verfahrens dient die Serumkonzentration von PSA. Entsprechend einer Studie von Kratochwil et al. treten bei PSA Spiegel zwischen 20 - 100 ng/ml mit 50 - 60% iger Wahrscheinlichkeit Knochenmetastasen auf, bei Werten > 100 ng/ml ist mit einer disseminierten Metastasierung zu rechnen.⁸² Oesterling et al. vertraten 1993 die Ansicht, dass bei PSA Werten < 10 ng/ml kaum ossäre Metastasen beobachtet würden und somit bei asymptomatischen Patienten auf eine Knochenszintigrafie verzichtet werden könnte.^{96 98} Eine sichere Diagnose kann jedoch nur bei unbehandelten Patienten gestellt werden, da nach chirurgischen oder strahlentherapeutischen Eingriffen, sowie unter antiandrogener Therapie falsch negative PSA Werte gemessen werden.^{96 97}

In unserer Studie zeigen sich bei Patienten mit Knochenmetastasen deutlich höhere **PSA** Serumkonzentrationen als für Tumorpatienten ohne Knochenmetastasen oder ein gesundes Vergleichskollektiv von Männern mit benigner Prostatahyperplasie (siehe *Tabelle 6* und *Abbildung 8*). Der Median in Gruppe Tx^PKM(+) liegt mit 119 ng/ml in dem PSA Bereich von > 100 ng/ml, der eine disseminierte Metastasierung nahelegt. Insgesamt ergibt sich bei einem Cutoff von 10 ng/ml für die Diagnostik von Knochenmetastasen mit Hilfe von PSA eine Sensitivität von 90 % und eine Spezifität von 51,9 % (siehe *Tabelle 8*). Ähnliche Daten liegen von Rudoni et al. vor, die in ihrer Arbeit für PSA ebenfalls bei hoher Sensitivität (100 %) eine deutlich geringere Spezifität (36 %) erhielten.⁹⁸

Ursache dieser geringen Spezifität für das Vorliegen von Knochenmetastasen ist, dass nicht nur skeletale Metastasen zu einem Anstieg von PSA führen. PSA lässt sich in epithelialen Zellen der Prostata detektieren, unabhängig davon ob es sich um eine gesunde Prostata, eine benigne Prostatahyperplasie oder ein primäres Karzinom handelt. Außerdem gelang Nadji et al. der Nachweis von PSA in Metastasengewebe.⁹⁹ Dies lässt vermuten, dass ein ansteigender PSA Spiegel ein allgemeines Fortschreiten der Erkrankung signalisiert, aber keine genaue Differenzierung zwischen viszeraler und / oder skeletaler Metastasierung ermöglicht.

Noguchi et al. zogen hieraus die Schlussfolgerung, dass spezifische Knochenmarker geeigneter als PSA sein könnten, um im Follow – up von Patienten mit Prostatakarzinomen über die Notwendigkeit einer Knochenszintigrafie zu entscheiden.¹⁰⁰ Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen Wymenga et al., aus deren Ergebnissen hervorging, dass bei ausschließlicher Orientierung an PSA Werten 13 % der Patienten mit Knochenmetastasen nicht erkannt werden.¹⁰¹ Von 111 Patienten mit PSA Werten < 20 ng/ml zeigten 19 positive Szintigraphiebefunde, bei 14 dieser Patienten lagen die PSA Werte sogar < 10 ng/ml. Darüber hinaus fanden sich bei nur knapp der Hälfte der Patienten (51 %) mit PSA Werten > 20 ng/ml wirklich ossäre Metastasen in der Bildgebung. Für den parallel zu PSA bestimmten Knochenmarker AP zeigten sich bessere Daten: hier fand sich bei 60 % der Untersuchten eine Übereinstimmung zwischen pathologischem Knochenmarker und positiver Szintigraphie.

In unserer Studie zeigt sich für den Knochenformationsmarker **AP** – ähnlich wie für PSA – eine Abhängigkeit vom Szintigraphiebefund: Patienten mit Knochenmetastasen weisen signifikant höhere Serumkonzentrationen auf als das Kollektiv Tx^PKM(-).

Unseren Ergebnissen zufolge scheint aber PSA trotz der oben angeführten Einschränkungen eine bessere Aussage über das Vorliegen von Knochenmetastasen zu treffen. Während sich für PSA eine AUC von über 90 % ergibt (siehe *Abbildung 11*), erreicht die AP in unserer Studie nur 79,6 % (siehe *Abbildung 12*). Diese Daten stehen im Einklang mit Ergebnissen von Akimoto et al., die eine AUC von 84,9 % für PSA und 77,3 % für die AP angeben.¹⁰² Auch wenn die AP mit 93,3 % in unserer Studie eine deutlich bessere Spezifität als PSA (Spezifität: 51,9 %) aufweist, ist sie aufgrund ihrer geringen Sensitivität von nur 53,8 % (siehe *Tabelle 9*) PSA beim Nachweis von Knochenmetastasen insgesamt unterlegen.

In unserer Studie wurde des Weiteren der neue Knochenformationsmarker **P1NP** untersucht. Auch P1NP ermöglicht eine präzise Differenzierung zwischen Patienten mit und ohne Knochenmetastasen. Ähnlich wie in einer Studie von Koizumi et al. werden in der Gruppe Tx^PKM(+) signifikant höhere Serumkonzentrationen beobachtet als bei Patienten mit negativer Szintigraphie. Zwischen Gruppe Tx^PKM(-) und dem gesunden Vergleichskollektiv von Männern mit benigner Prostatahyperplasie zeigt sich dagegen kein Unterschied.⁹⁰ Insgesamt scheint P1NP vorteilhafter für die Diagnostik von Knochenmetastasen zu sein als PSA und die AP. Im Gegensatz zu PSA und der AP ist P1NP dadurch gekennzeichnet, dass man sowohl für die Sensitivität als auch für die Spezifität sehr gute Werte erhält (siehe *Tabelle 8* und *9*). In unserer Studie erreicht P1NP eine Sensitivität von 86,7 % und eine Spezifität 78,0 %, in einer Arbeit von de la Piedra et al. liegen beide Parameter sogar bei 100 %.¹⁰³

Vergleicht man PSA und P1NP mit Hilfe von *Abbildung 29*, so wird offensichtlich, dass sich die beiden Marker hinsichtlich ihrer diagnostischen Aussagekraft kaum unterscheiden. Während in unserer Studie beide eine AUC von ca. 90 % aufweisen, zeigt sich in der oben erwähnten Studie von Koizumi et al. sogar eine Überlegenheit von P1NP. Die ROC Kurven ergeben hier für P1NP 84,4 %, für PSA nur 82,0 %.⁹⁰

Es wird offensichtlich, dass PSA und P1NP nahezu gleichwertige Ergebnisse in der Diagnostik von Knochenmetastasen liefern. Aufgrund seiner besseren Spezifität für die

Aktivität von Osteoblasten könnte P1NP jedoch bei den osteosklerotischen Knochenmetastasen bei Prostatakarzinomen der zu bevorzugende Parameter sein.

Häufige Fragen, die sich im Zusammenhang mit Knochenmarkern immer wieder ergeben, sind:

- Können mit ihrer Hilfe Knochenmetastasen frühzeitig nachgewiesen werden, bevor sich ossäre Veränderungen in der Szintigraphie zeigen?
- Kann mit ihnen das Ausmaß einer skeletalen Metastasierung abgeschätzt werden?

In einer Studie von Oremek et al. zeigte sich, dass beispielsweise der Knochenformationsmarker knochenspezifische Alkalische Phosphatase diese Fragen beantwortet. Im Follow – up eines Patienten mit anfangs nicht metastasiertem Prostatakarzinom zeigte sich 25 Wochen nach radikaler Prostatektomie ein Anstieg der AP, drei Wochen später wurden die ersten metastatischen Herde in der Knochenszintigrafie beobachtet.¹⁰⁴ Auch das Ausmaß der ossären Metastasierung und die Anzahl der Knochenherde schien mit der knochenspezifischen AP zu korrelieren.¹⁰⁵

Anhand der Patientenverläufe I und II (siehe *Abbildung 13* und *14*) sollen die oben gestellten Fragen im Folgenden für den in unserer Studie untersuchten Knochenformationsmarker P1NP diskutiert werden.

In *Abbildung 13* fällt auf, dass bei diesem Patienten bereits erhöhte P1NP Werte gemessen wurden (101,6 ng/ml und 104,6 ng/ml) bevor 17 Monate später Knochenmetastasen in der Szintigraphie auffielen. Man kann davon ausgehen, dass zu diesem Zeitpunkt bereits Mikrometastasen im Skelettsystem vorlagen, die jedoch in der Bildgebung noch nicht nachweisbar waren. Andere Studiendaten belegen diese These. Koopmans et al. publizierten im Jahr 2007 ebenfalls ihre Beobachtung, dass der Knochenformationsmarker P1NP schon vor der Szintigraphie Hinweise auf eine ossäre Metastasierung gibt. Die Zeitspanne zwischen einer Erhöhung der Marker und einer positiven Bildgebung betrug in dieser Studie im Durchschnitt nur 8 Monate,¹⁰⁶ in einer Studie von Thuraiiraja et al. manifestierten sich erste Knochenmetastasen bei Patienten mit bereits initial erhöhten P1NP Werten nach einem Follow – up von 2 Jahren.⁹⁵ Zusammenfassend scheint P1NP eine gute prognostische Einschätzung zu erlauben, ob

bei Patienten mit Prostatakarzinomen trotz negativer Bildgebung bereits Mikrometastasen vorliegen.

Die Patientenverläufe I und II bestätigen auch die in anderen Studien geäußerte Vermutung, dass Knochenmarker, in unserer Studie zum Beispiel P1NP, einen Anhaltspunkt für das Ausmaß des skeletalen Befalls geben könnten.⁹¹ Wie *Abbildung 13* zu entnehmen ist, beträgt P1NP zum Zeitpunkt nicht nachweisbarer Mikrometastasen >100 ng/ml. In der ersten positiven Szintigraphie zeigte sich eine disseminierte Metastasierung in über 6 Regionen (Schädel, Rippen/Sternum, Humerus, Becken, Femur, Wirbelsäule). Die dazugehörigen P1NP Werte haben sich gegenüber dem Vorbefund verzehnfacht und liegen entsprechend dem ausgedehnten Befund >1000 ng/ml. *Abbildung 14* zeigt einen ähnlichen Zusammenhang. Auch hier steigen die P1NP Werte entsprechend der zunehmenden ossären Tumorausbreitung. Zum Zeitpunkt der Aufnahme in unsere Studie zeigt sich bei P1NP Werten > 120 ng/ml eine disseminierte Metastasierung in 4 Regionen (Schädel, Rippen, Becken, Femur), im Juli 2007 erreicht der P1NP Spiegel > 900 ng/ml bei einer Metastasierung in wiederum 6 Regionen (Schädel, Rippen/Sternum, Humerus, Becken, Femur, Wirbelsäule). Die bei beiden Patienten verzeichneten starken Anstiege der AP mögen ebenfalls mit der skeletalen Tumorausbreitung zusammenhängen. Die Höhe der PSA Spiegel wurde wahrscheinlich zusätzlich durch das lokal fortschreitende Tumorstadium und die viszerale Metastasierung (Magenmetastasen bei Patient I, Lebermetastasen bei Patient II) beeinflusst.

Insgesamt betrachtet, scheint P1NP ein Marker zu sein, der bei Prostatakarzinomen mit guter Sensitivität und Spezifität zwischen Patienten mit und ohne Knochenmetastasen unterscheidet, pathologische Knochenherde früher als die Bildgebung nachweist und ein Abschätzen des Knochenbefalls ermöglicht.

4.2 Nierenzellkarzinom

Knochenmetastasen sind eine häufige Komplikation bei Nierenzellkarzinomen und ihr Auftreten erhöht Morbidität und Mortalität der betroffenen Patienten. Die Diagnostik der überwiegend osteolytischen Knochenmetastasen ist mit den derzeit in der klinischen Routine eingesetzten Methoden nicht immer vollständig möglich.

Staudenherz et al. zeigten in ihrer Studie, dass mit der Knochenszintigrafie die Ausdehnung des metastatischen Knochenbefalls bei Patienten mit Nierenzellkarzinom häufig unterschätzt wird. Sie fanden selbst in einem Kollektiv von Patienten mit erhöhtem Risiko für Knochenmetastasen (Knochenschmerz, extraossäre Metastasen, unvollständige Tumorresektion) nur eine Sensitivität von 79 % und eine Spezifität von 73% und kamen demzufolge zu dem Schluss, dass die Knochenszintigrafie ein ungeeignetes Verfahren ist, um osteolytische Knochenmetastasen bei Patienten mit Nierenzellkarzinomen zu detektieren.¹⁰⁷ Eine Studie von Johnson et al. präsentierte zwar bessere Ergebnisse für die Knochenszintigrafie (Sensitivität: 93,1%, Spezifität: 85,7%), andererseits konnten bei keinem Patienten nur durch Szintigraphie Knochenmetastasen diagnostiziert werden. In jedem Einzelfall legten bereits Symptomatik und Tumorstaging das Vorliegen von skeletaler Metastasierung nahe.¹⁰⁸

Auch die Alkalische Phosphatase, die häufig bei anderen Malignomen als Indikator für mögliche Knochenmetastasen eingesetzt wird, zeigt keine eindeutigen diagnostischen Ergebnisse für Patienten mit Nierenzellkarzinom. Atlas et al. legen mit ihrer Studie die Vermutung nahe, dass die AP mit dem Tumorstadium korreliert und eine pathologisch erhöhte AP die Wahrscheinlichkeit von Knochenmetastasen in der Szintigraphie erhöht.¹⁰⁹ Im Gegensatz dazu stellte sich die AP in einer Kohortenstudie von Kriteman et al. als ein unzuverlässiger Marker für die Diagnostik von Knochenmetastasen bei Patienten mit Nierenzellkarzinomen heraus. In der ersten Gruppe blieben 72 % der Patienten mit ossärer Metastasierung unterhalb des oberen Normbereichs der alkalischen Phosphatase, in der 2. Kohorte waren es 86%.¹¹⁰ Diese Ergebnisse entsprechen den in der vorliegenden Studie ermittelten Daten. Hier liegt die mit Hilfe der AUC Kurven berechnete Aussagekraft der Alkalischen Phosphatase für das Vorliegen von Knochenmetastasen bei nur 64 %.

Auf der Suche nach präziseren Methoden der Diagnostik von Knochenmetastasen bei Patienten mit Nierenzellkarzinomen untersuchten Jung et al. verschiedene bekannte Marker des Knochenstoffwechsels, beispielsweise die totale und knochenspezifische Alkalische Phosphatase, sowie das Tartrat – resistente Saure Phosphatase Isoenzym 5b und das N – Terminal Crosslink. Sie kamen jedoch zu dem Resultat, dass keiner dieser Knochenmarker geeignet sei, zwischen Patienten mit und ohne Knochenmetastasen zu differenzieren.¹¹¹ In der vorliegenden Arbeit wurde zum ersten Mal die Aussagekraft

des bisher in der Osteoporosediagnostik eingesetzten Knochenformationsmarkers P1NP geprüft. Mit einer Sensitivität von 100% und einer Spezifität von 87,5 % scheint dieser Marker eine bessere Möglichkeit zur signifikanten Erkennung von Knochenmetastasen zu bieten als die zur Zeit eingesetzten bildgebenden und laborchemischen Verfahren. Die Sensitivität und Spezifität von P1NP liegt über den oben zitierten Daten für die Knochenszintigrafie und den in dieser Studie ermittelten Werten für die AP (Sensitivität: 83,3 % und Spezifität: 83,3 %).

Darüber hinaus scheint P1NP eine bessere Trennschärfe im Therapiemonitoring als die AP zu besitzen. In einer Fallstudie von Sciarra et al. konnte bei einem Patienten mit ossär metastasiertem Nierenzellkarzinom mit Hilfe der Computertomographie eine Normalisierung der metastatischen Knochenherde unter Therapie mit dem Multikinase – Inhibitor Sorafenib beobachtet werden.¹¹² Ähnliche Ergebnisse zeigen sich auch in unserer Studie für P1NP. Während die Werte der AP unter Chemotherapie mit Sorafenib dicht an der oberen Grenze des Normbereichs bleiben, sinken die P1NP Spiegel weit unter den angegebenen Cutoff. Wie in *Tabelle 11* und *Abbildung 16* dargestellt, ist der AP – Median der Gruppe Tx^NKM (+) + S deutlich höher als der Median der Gruppe Tx^NKM (-). Im Gegensatz dazu liegt in unserer Studie der P1NP – Median der mit Sorafenib behandelten Patienten sogar noch unter dem Median für das Patientenkollektiv ohne Knochenmetastasen (*Tabelle 10* und *Abbildung 15*).

Zusammengefasst legen diese Ergebnisse die Vermutung nahe, dass P1NP geeignet sein könnte, die Erfolge einer Chemotherapie – insbesondere einen Rückgang des pathologischen Knochenstoffwechsels bei Patienten mit ossären Metastasen – frühzeitig nachzuweisen.

4.3 Ovarialkarzinom

Kennzeichnend für das Ovarialkarzinom ist, dass es, anders als beispielsweise das Brust-, Prostata-, oder Nierenkarzinom, selten hämatogen in Lunge, Leber oder Knochen metastasiert. Es zeichnet sich vielmehr – entsprechend den Kriterien der FIGO und TNM Klassifikation – durch lokal infiltratives Wachstum, sowie lymphogene und peritoneale Metastasierung mit Bildung von malignem Aszites aus.

Neben klinischen und bildgebenden Untersuchungsverfahren werden in der Routinediagnostik die Tumormarker CA 125 und CEA bestimmt. Studien haben für beide Parameter ergeben, dass ihre Serumkonzentrationen vor allem von der Tumorphistologie beeinflusst werden. Tholander et al. beobachteten in ihrer Studie, dass bei serösen, nicht muzinösen Ovarialkarzinomen hohe CA 125 Serumspiegel vorlagen, während bei muzinösen Tumoren nur geringe Konzentrationen nachgewiesen werden konnten.¹¹³ Muzinöse Tumore zeichneten sich im Gegensatz dazu durch erhöhte Serumkonzentrationen von CEA aus. Gadducci et al. kamen deshalb zu der Überzeugung, dass die zusätzliche Bestimmung von CEA bei Patienten mit positivem CA 125 keinen Vorteil erbringen würde, aber bei Patienten mit negativem CA 125 eventuell eine Möglichkeit zum Monitoring des Krankheitsverlaufes eröffnen könnte.¹¹⁴ Der Einfluss von Tumorstadium und Tumormasse auf die Höhe der Tumormarker CA 125 und CEA im Serum ist umstritten. Während Tholander et al. eine Abhängigkeit der beiden Parameter vom FIGO Stadium nachwiesen,¹¹³ zeigte sich in einer Studie von Altaras et al. kein signifikanter Unterschied der CA 125 Werte zwischen Patienten in Stadium I/II und Stadium III/IV.¹¹⁵ Sie stellten deshalb die Behauptung auf, dass CA 125 unabhängig von der initialen Tumormasse sei. Fleuren et al. beobachteten dagegen ein erhöhtes CA 125 nur bei Patienten mit fortgeschrittenen Malignomen und nicht bei kleinen, auf das Ovar begrenzten Tumoren.¹¹⁶ Ihre Studie wies dafür eine Korrelation zwischen dem Tumormarker und dem Ausmaß der peritonealen Metastasierung auf.

Die in *Tabelle 15* und *Abbildung 21* dargestellten Werte ergeben für die vorliegende Arbeit stark erhöhte Werte für CA 125 und Normwerte für CEA. Dieses Ergebnis erklärt sich mit Hilfe von *Abbildung 6*: Bei über der Hälfte der Patientinnen liegen fortgeschrittene, seröse Ovarialkarzinome vor, die zu der beobachteten Erhöhung von CA 125 und zu keiner Veränderung von CEA führen. Auffällig ist des Weiteren, dass für beide Tumormarker kein Unterschied zwischen den Kollektiven mit und ohne Knochenmetastasen offensichtlich wird. Dies legt die Vermutung nahe, dass die Serumkonzentrationen der Tumormarker (entsprechend den oben zitierten Studien) hauptsächlich von der Tumormasse und dem lokalen Befall des Peritoneums abhängen und keine geeigneten Indikatoren für das Vorliegen einer hämatogenen Metastasierung sind.

Auf der Suche nach geeigneten, wenig invasiven, preisgünstigen Möglichkeiten für die Diagnostik von ossären Fernmetastasen untersuchten wir in unserer Studie den Tumormarker P1NP. Auch wenn Knochenmetastasen bei Ovarialkarzinomen selten auftreten, erhöhen sie doch Morbidität und Mortalität der betroffenen Patientinnen, wenn sie nicht frühzeitig erkannt und therapiert werden. Wie in *Tabelle 13* und *Abbildung 19* dargestellt, ergeben sich für Patientinnen mit Knochenmetastasen signifikant höhere P1NP Konzentrationen als für Patientinnen ohne Knochenmetastasen. Im Gegensatz dazu zeigt sich für die in dieser Arbeit parallel zu P1NP untersuchte Alkalische Phosphatase (*Tabelle 14, Abbildung 20*) kein Unterschied zwischen den Gruppen Tx⁰KM (-) und Tx⁰KM (+), sodass diesem bei anderen Tumoren aussagekräftigen Marker bei Ovarialkarzinomen keine Bedeutung in der Diagnostik von ossären Metastasen zuzukommen scheint. Während sich für die AP nur eine Sensitivität von 45,5 % errechnet, erreicht P1NP bei Ovarialkarzinomen eine Sensitivität von 91,7 % und hat damit eine deutlich bessere Aussagekraft als die in der bisherigen Routine übliche AP. Dies zeigt sich auch mit Hilfe der AUC Kurven. Hiernach trifft man mit P1NP in 90,2 % eine sichere Aussage über das Vorliegen von Knochenmetastasen, mit Hilfe der AP kann man nur eine ca. 60 % sichere Vorhersage machen.

Anders als bei den untersuchten Prostata – und Nierenzellkarzinomen, die neben einer sehr guten Sensitivität auch durch eine gute Spezifität für P1NP gekennzeichnet sind, erlangt P1NP in dieser Arbeit bei Ovarialkarzinomen nur eine Spezifität von 50 %. Aufgrund der überwiegend männlichen Kollektive (auch beim Nierenzellkarzinom 64 % männliche Patienten) wurde in den vorhergehenden Gruppen der Einfluss der postmenopausalen Osteoporose auf die Serumkonzentrationen von P1NP nicht offensichtlich. Garnero et al. fanden in einer neuen Studie von 2008 bei postmenopausalen Frauen 74 % höhere P1NP Werte als bei prämenopausalen Frauen, während sich bei Männern im Alter zwischen 40 und 60 Jahren keine signifikanten Veränderungen der P1NP Spiegel beobachten ließen.¹¹⁷ Diese Tatsache erklärt auch, dass die Firma Roche® für ihren Immunoassy „ECLIA“ unterschiedliche Normwerte für prä – und postmenopausale Frauen vorgibt. Auch in unserer Studie zeigen sich für weibliche Patienten – entsprechend *Tabelle 20* und *Abbildung 30* – signifikant höhere P1NP Serumspiegel als bei dem männlichen Vergleichskollektiv, so dass wir für die Gruppe von durchschnittlich > 55 jährigen Patientinnen mit Ovarialkarzinomen einen

höheren Cutoff für P1NP (Cutoff: 80 ng/ml) anlegten als für die überwiegend männlichen Patienten mit Prostata – und Nierenzellkarzinomen (Cutoff: 60 ng/ml).

Diese Ergebnisse legen die Vermutung nahe, dass der Knochenformationsmarker P1NP zur Diagnostik von Knochenmetastasen bevorzugt für männliche Kollektive und prämenopausale Patientinnen eingesetzt werden sollte. Aber wenn P1NP auch bei Patientinnen mit Ovarialkarzinomen durch den Störfaktor „postmenopausale Osteoporose“ zu einer deutlichen Rate falsch positiver Ergebnisse führt, scheint es doch aufgrund seiner hohen Sensitivität und guten diagnostischen Aussagekraft auch für dieses Karzinom ein geeigneter Parameter für die Diagnostik von Knochenmetastasen zu sein.

Zusammenfassung

Im Jahr 2007 erkrankten in den USA 218.890 Männer an einem Prostatakarzinom, 51.190 Patienten an einem Nierenzellkarzinom und 22.430 Frauen an einem Ovarialkarzinom. Insgesamt zählen Knochenmetastasen neben einer Tumorausssaat in Lunge, Leber und Gehirn zu den häufigsten Komplikationen und entwickeln sich mit zunehmender Krankheitsprogression bei ungefähr 25 % aller Tumorpatienten. Da das Auftreten von Knochenmetastasen die Kurzzeitprognose der betroffenen Patienten stark beeinflusst und sowohl Morbidität als auch Mortalität deutlich erhöht, ist der Nachweis oder sichere Ausschluss metastatischer Knochenherde eine essentielle Grundlage von primärem Tumorstaging und Follow – up.

Derzeit erfolgt die Diagnostik von Knochenmetastasen mit Hilfe radiologischer Verfahren, insbesondere der Knochenszintigrafie. Diese zeichnet sich zwar durch eine hohe Sensitivität aus, besitzt jedoch nur eine geringe Spezifität für ossäre Metastasen. Die bisher in der klinischen Routine eingesetzten laborchemischen Verfahren lassen ebenfalls keinen sicheren Nachweis zu. Die Serumkonzentrationen der Gesamt – Alkalischen Phosphatase hängt aufgrund ihrer verschiedenen Isoenzyme nicht nur von ossären Prozessen, sondern auch von hepatische Einflüssen ab. Der prostataspezifische Tumormarker PSA legt zwar bei Werten zwischen 20 – 100 ng/ml den Verdacht auf Knochenmetastasen nahe, ist jedoch ebenfalls nicht ausreichend spezifisch. Die gynäkologischen Marker CEA und CA 125 korrelieren mit Tumorhistologie und lokaler Tumorprogression, aber eignen sich nicht als Indikatoren für Fernmetastasen. Für Nierenzellkarzinome gibt es keine etablierten Tumormarker.

Da Knochenmetastasen zu einem pathologisch erhöhten Knochenstoffwechsel führen, wird heute versucht, die vermehrten osteolytischen und osteoblastischen Prozesse anhand von speziellen Tumormarkern zu detektieren. Da Kollagen Typ 1 über 90 % der organischen Knochenmatrix ausmacht, scheint sein Vorläufermolekül, das sogenannte Prokollagen Typ I aminoterninale Propeptid (P1NP), ein geeigneter Marker für eine gesteigerte Neubildung von Knochensubstanz zu sein.

Da es erste Studien gibt, die gute Ergebnisse für P1NP im Screening von Patientinnen mit Brustkrebs zeigen, sollte in der vorliegenden Arbeit untersucht werden, ob sich

dieser Marker auch bei Patienten mit Prostata -, Nierenzell – und Ovarialkarzinomen eignen könnte.

Hierzu wurden Serumproben von 182 Patienten der Universitätsklinik Frankfurt, sowie der Kliniken Hanau, St. Markus und Großhadern analysiert. Die insgesamt 54 Patienten mit und 128 Patienten ohne Knochenmetastasen wurden in 3 Gruppen aufgeteilt: 100 Patienten mit benigner Prostatahyperplasie und Prostatakarzinom, 36 Patienten mit Nierenzellkarzinom und 46 Patienten mit Ovarialkarzinom. Die Messung von P1NP erfolgte mit Hilfe des Immunoassays „ECLIA“ und dem Analysenautomat Elecsys® 2010 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany).

Unsere Ergebnisse zeigen, dass Patienten mit Knochenmetastasen signifikant ($p \leq 0,001$) höhere Serumkonzentrationen von P1NP aufweisen als Patienten ohne Metastasen im skeletalen System. Auffällig ist, dass sich für Frauen insgesamt höhere P1NP Werte als für männliche Kollektive ergeben. Des weiteren wurde der Einfluss von Chemotherapie (Sorafenib) auf den Knochenmarker P1NP untersucht. Die 6 Patienten mit ossär metastasiertem Nierenzellkarzinom zeigten ein Jahr nach Chemotherapie P1NP Werte im Normbereich.

In dieser Studie ergibt sich für P1NP unabhängig von der Tumorpathologie eine Sensitivität von 89,6 % und eine Spezifität von 74,2 %. Die Fläche unter der Receiver Operating Characteristic Curve (ROC) liegt bei allen drei untersuchten Tumoren für P1NP bei fast 90 % (AUC: 88,7 % bei Prostatakarzinomen; 87,2 % bei Nierenzellkarzinomen; 90,2 % bei Ovarialkarzinomen). Eine vergleichbar gute diagnostische Leistung erbringt nur PSA bei Patienten mit Prostatakarzinomen (AUC: 91,1 %). Alle anderen untersuchten Marker zeigen deutlich schlechtere Ergebnisse. Die Aussagekraft der AP schwankt zwischen 59,8 % bei Ovarialkarzinomen und 79,6 % bei Prostatakarzinomen. Die gynäkologischen Tumormarker CEA und CA 125 erreichen nur 61,1 % und 50,7 %.

Zusammenfassend, lässt sich feststellen, dass der Knochenformationsmarker P1NP eine sichere Differenzierung zwischen Patienten mit und ohne Knochenmetastasen bei Tumoren unterschiedlicher Ätiologie ermöglicht. Er scheint den im klinischen Alltag

zur Zeit gängigen Parametern aufgrund seiner gleichbleibend hohen Sensitivität und Spezifität deutlich an diagnostischer Leistung überlegen zu sein.

Darüber hinaus legen unsere Beobachtungen bei Patienten mit Prostatakarzinomen die Vermutung nahe, dass durch den Einsatz von P1NP der Nachweis von Knochenmetastasen früher als mit den üblichen bildgebenden Verfahren möglich wird und bereits Mikrometastasen detektiert werden können.

Da Osteoporose die Serumkonzentration von P1NP beeinflusst und zu einer relativ geringen Spezifität bei der Diagnostik von Knochenmetastasen führt, könnte man daraus schließen, dass P1NP vorwiegend bei männlichen Kollektiven und bei prämenopausalen Frauen eingesetzt werden sollte. Unsere Studie zeigt jedoch, dass P1NP auch bei Patientinnen mit Ovarialkarzinomen der sensitivste Indikator für Knochenmetastasen ist, wenn für postmenopausale Frauen höhere Grenzwerte (Cutoff in dieser Studie: 80 ng/ml) als bei Männern (Cutoff in dieser Studie: 60 ng/ml) zugelassen werden.

Abschließend stellt sich P1NP in unserer Studie auch als ein geeigneter Parameter im Therapiemonitoring dar. Nach Chemotherapie mit Sorafenib wurden bei den Patienten mit ossär metastasiertem Nierenzellkarzinom P1NP Werte im Normbereich gemessen. P1NP zeigt damit präziser als der Knochenmarker AP den positiven Einfluss der Chemotherapie auf den Allgemeinzustand des Patienten und spiegelt insbesondere einen Rückgang des pathologischen Knochenmetabolismus wieder.

Literatur

- 1 Luboldt H, Rübben H: PSA – Früherkennung des Prostatakarzinomes. Urologe [A] 2000, Vol. 39, S. 22-26.
- 2 Hamilton W, Sharp D: Symptomatic diagnosis of prostate cancer in primary care: a structured review. British Journal of General Practice 2004, Vol. 54, S. 617-621.
- 3 Wilt TJ: Prostate Cancer: epidemiology and screening. Reviews in Urology 2003, Vol.5 Suppl.6, S. S3-S9.
- 4 Paiss T, Herkommer K, Chab A, Häussler J, Vogel W, Gschwend JE, Hautmann RE: Das familiäre Prostatakarzinom in Deutschland. Urologe [A] 2002, Vol.41, S. 38-43.
- 5 Bühling KJ, Lepenies J, Witt K.: Intensivkurs - Allgemeine und Spezielle Pathologie. Urban & Fischer, 3. Auflage, München, 2004.
- 6 Riede UN, Werner M, Schäfer HE: Allgemeine und Spezielle Pathologie. Thieme Verlag, 5. Auflage, Stuttgart, 2004.
- 7 Sökeland J, Schulze H, Rübben H: Urologie – Verstehen, Lernen, Anwenden. Thieme Verlag, 13. Auflage, Stuttgart 2004.
- 8 Pschyrembel – Klinisches Wörterbuch, 259. Auflage, Walter de Gruyter Verlag, Berlin, 2002.
- 9 Catalona WJ, Richie JP, Ahmann FR, Hudson MA, Scardino PT, Flanigan RC, DeKernion JB, Ratliff TL, Kavoussi LR, Dalkin BL, Waters BW, MacFarlane MT, Southwick PC: Comparison of digital rectal examination and serum prostate specific antigen in the early detection of prostate cancer: Results of a multicenter clinical trial of 6,630 men. Journal of Urology 1994, Vol. 151, S. 1283-1290.
- 10 Huland H, Hammerer P, Henke R, Huland E: preoperative prediction of tumor heterogeneity and recurrence after radical prostatectomy for localized prostatic carcinoma with digital rectal examination, prostate specific antigen and the results of 6 systematic biopsies. Journal of Urology 1996, Vol. 155 Nr. 4, S. 1344-1347.
- 11 Frankel S, Smith GD, Donovan J, Neal D: Screening for prostate cancer. The Lancet 2003, Vol. 361, S. 1122-1128.
- 12 Oesterling JE: Prostate-Specific-Antigen: A critical assessment of the most useful tumor marker for adenocarcinoma of the prostate. Journal of Urology 1991, Vol. 145, S. 907-923.

-
- 13 Zhang WM, Leinonen J, Kalkkinen N, Dowell B, Stenman UK: Purification and characterization of different molecular forms of prostate-specific antigen in seminal fluid. *Clinical Chemistry* 1995, Vol. 41 Nr.11, S. 1567-1573.
- 14 Van Duijnhoven HL, Péquériaux NC, van Zon JP, Blankenstein MA: Large discrepancy between prostate-specific antigen results from different assays during longitudinal follow-up of a prostate cancer patient. *Clinical Chemistry* 1996, Vol. 42 Nr.4, S. 637-641.
- 15 Lilja H, Christensson A, Dahlén U, Matikainen MT, Nilsson O, Pettersson K, Lövgren T: Prostate-specific antigen in serum occurs predominantly in complex with alpha 1-antichymotrypsin. *Clinical Chemistry* 1991, Vol. 37 Nr.9, S. 1618-1625.
- 16 Stephan C, Jung K, Diamandis EP, Rittenhouse HG, Lein M, Loening S: Prostate-specific antigen, its molecular forms, and other Kallikrein markers for detection of prostate cancer. *Urology* 2002, Vol. 59, S. 2-8.
- 17 Chan DW, Bruzek DJ, Oesterling JE, Rock RC, Walsh PC: prostate-specific antigen as a marker for prostatic cancer: a monoclonal and a polyclonal immunoassay compared. *Clinical Chemistry* 1987, Vol. 33 Nr.10, S. 1916-1920.
- 18 Graefen M, Hammerer P, Noldus J, Haese A, Pichelmeier U, Erbersdobler A, Henke H, Conrad S, Fernandez S, Huland H: Prognosefaktoren des Prostatakarzinoms. *Urologe [A]* 2000, Vol. 39, S.14-21.
- 19 Fornara P, Fischer K, Luboldt HJ, Doehn C, Semjonow A: Einfluss von Präanalytik und Analytik auf die Aussagekraft des prostataspezifischen Antigens. *Deutsches Ärzteblatt* 2004, Vol 101 Nr. 25, S. 1820-1823.
- 20 Babaian RJ, Fritsche HA, Evans RB: Prostate-specific antigen: the relationship of serum concentration to age and prostate gland volume. *Journal of Urology* 1989, Vol. 141, S. 183-187.
- 21 Stamey TA: Second Stanford Conference on International Standardization of prostate-specific antigen immunoassays: September 1 And 2, 1994. *Urology* 1995, Vol. 45 Nr.2, S.173-184.
- 22 Tchetchgen MB, Oesterling EJ: The effect of prostatitis, urinary retention, ejaculation, and ambulation on the serum prostate-specific antigen concentration. *Urologic Clinics of North America* 1997, Vol. 24, S. 283-291.
- 23 Armbruster DA: Prostate-Specific Antigen: Biochemistry, Analytical Methods, and Clinical Application. *Clinical Chemistry* 1993, Vol. 39 Nr. 2, S. 181-195.
- 24 Tchetchgen MB, Song JT, Strawderman M, Jacobson SJ, Oesterling JE: Ejaculation increases the serum prostate-specific antigen concentration. *Urology* 1996, Vol. 47 Nr. 4, S. 511-516.

-
- 25 Pisansky TM: External beam radiotherapy for localized prostate cancer. *New England Journal of Medicine* 2006, Vol. 355 Nr.15, S. 1583-1591.
- 26 Tunn UW, Bruchovsky N, Renneberg H, Wolff JM, Kurek R: Intermittierende Androgendeprivation. *Urologe [A]* 2000, Vol.39, S.9-13.
- 27 Tannock IF, de Wit R, Berry WR, Horti J, Pluzanska A, Chi KN, Oudard S, Théodore C, James ND, Turesson I, Rosenthal MA, Eisenberger MA: Docetaxel plus prednisone or mitoxantrone plus prednisone for advanced prostate cancer. *New England Journal of Medicine* 2004, Vol. 351 Nr. 15, S. 1502-1512.
- 28 Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Smigal C, Thun MJ: Cancer Statistics, 2006. *CA Cancer Journal for Clinicians* 2006, Vol. 56, S. 106-130.
- 29 Brennan JF, Stilmant M, Babayan R, Siroky M: Acquired renal cystic disease: implications for the urologist. *British Journal of Urology* 1991, Vol. 67 Nr. 4, S. 342-148.
- 30 Kovacs G, Akhtar M, Beckwith BJ, Bugert P, Cooper C, Delahunt B, Eble J, Fleming S: The Heidelberg Classification of renal cell tumors. *Journal of Pathology* 1997, Vol. 183, S. 131-133.
- 31 Cohen HT, McGovern FJ: Renal - Cell Carcinoma. *New England Journal of Medicine* 2005, Vol. 353 Nr. 23, S. 2477-2490.
- 32 Motzer RJ, Hutson T, Tomczak P, Michaelson M, Bukowski R, Rixe O, Oudard S, Negrier S, Szczylik C, Kim S, Chen I, Bycott P, Baum C, Figlin R: Sunitinib versus interferon alfa in metastatic renal-cell carcinoma. *New England Journal of Medicine* 2007, Vol. 356 Nr. 2, S. 115-124.
- 33 Peyromaure M, Misrai V, Thiounn N, Vieillefond A, Zerbib M, Flam TA, Debré B: Chromophobe renal cell carcinoma. *Cancer* 2004, Vol.100 Nr.7, S. 1406-1410.
- 34 Uhlman D, Nguyen P, Manivel J, Aeppli D, Resnick J, Fraley E, Zhang G, Niehans G: Association of immunohistochemical staining for p53 with metastatic progression and poor survival in patients with renal cell carcinoma. *Journal of the National Cancer Institute* 1994, Vol. 86 Nr. 19, S. 1470-1475.
- 35 Gold PJ, Fefer A, Thompson J: Paraneoplastic manifestation of renal cell carcinoma. *Seminars In Urologic Oncology* 1996, Vol. 14 Nr. 4, S.216-222.
- 36 Jones J, Otu H, Spentzos D, Kolia S, Inan M, Beecken W, Fellbaum C, Gu X, Joseph M, Pantuck A, Jonas D, Libermann T: Gene signatures of progression and metastasis in renal cell cancer. *Clinical Cancer Research* 2005, Vol. 11 Nr.16, S.5730-5739.
- 37 Weber K, Doucet M, Price J, Baker C, Kim S, Fidler I: Blockade of epidermal growth factor receptor signaling leads to inhibition of renal cell carcinoma growth in the bone of nude mice. *Cancer Research* 2003, Vol. 63, S. 2940-2947.

-
- 38 Lipton A, Colombo-Berra A, Bukowski R, Rosen L, Zheng M, Urbanowitz G: Skeletal complications in patients with bone metastases from renal cell carcinoma and therapeutic benefits of zoledronic acid. *Clinical Cancer Research* 2004, Vol. 10, S. 6397-6403.
- 39 Bracarda S, Caserta C, Sordini L, Rossi M, Hamzay A, Crino L: Protein kinase inhibitors in the treatment of renal cell carcinoma: sorafenib. *Annals of Oncology* 2007, Vol. 18, Supplement 6, S. vi22-vi25.
- 40 Escudier B, Stadler WM, Szczyluk C, Oudard S, Siebels M, Negrier S, Chevreau C, Solska E, Desai A and Rolland F: Sorafenib in advanced clear-cell renal-cell carcinoma. *New England Journal of Medicine* 2007, Vol. 356 Nr. 2, S. 125-134.
- 41 Cannistra S: Cancer of the Ovary. *New England Journal of Medicine* 2004, Vol 351, S. 2519-2529.
- 42 McLaughlin J, Risch H, Lubinski J, Moller P, Ghadirian P, Lynch H, Karlan B: Reproductive risk factors for ovarian cancer in carriers of BRCA1 or BRCA2 mutations: a case-control study. *The Lancet Oncology* 2007, Vol.8, S. 26-34.
- 43 Whittemore AS, Harris R, Itnyre J, Halpern J: Characteristics relating to ovarian cancer risk: Collaborative analysis of twelve U.S. case-control studies. II. Invasive epithelial ovarian cancers in white women. *American Journal of Epidemiology* 1992; Vol. 136 Nr. 10, 1184-1203.
- 44 Stauber M, Weyerstahl T: *Duale Reihe – Gynäkologie und Geburtshilfe*. Thieme Verlag, Stuttgart 2001.
- 45 Schmidt-Matthiesen H, Hepp H: *Gynäkologie und Geburtshilfe*. Schattauer Verlag, 9. Auflage, Stuttgart 1998.
- 46 Schutter MJ, Kenemans P, Sohn C, Kristen P, Crombach G, Westerman R, Möbus V, Kaufmann M, Caffier H: Diagnostic value of pelvic examination, ultrasound, and serum CA 125 in postmenopausal women with a pelvic mass. *Cancer* 1994, Vol. 74, S. 1398-1406.
- 47 Modrak DE, Gold DV, Goldenberg DM, Blumenthal RD: Colonic tumor CEA, CSAP and MUC-1 expression following radioimmunotherapy or chemotherapy. *Tumor Biology* 2003, Vol. 24, S. 32-39.
- 48 Loewenstein MS, Zamcheck N: Carcinoembryonic Antigen (CEA) levels in benign gastrointestinal disease states. *Cancer* 1978, Vol. 42, S. 1412-1418.
- 49 van Nagell R, Donaldson ES, Gay EC, Sharkey RM, Rayburn P, Goldenberg DM: Carcinoembryonic Antigen in ovarian epithelial cystadenocarcinomas. *Cancer* 1978, Vol. 41, S. 2335-2340.
- 50 Ducy P, Schinke T, Karsenty G: The osteoblast: a sophisticated fibroblast under central surveillance. *Science* 2000, Vol.289, S. 1501-1504.

-
- 51 Teisner B, Rasmussen HB, Højrup P, Yde-Andersen E, Skjødt K: Fetal Antigen 2: an amniotic protein identified as the aminopropeptide of the α 1 chain of human prokollagen type I. *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica* 1992, Vol. 100, S. 1106-1114.
- 52 Seibel MJ: Biochemical Markers of Bone Turnover Part I : Biochemistry and Variability. *Clinical Biochemist Reviews* 2005, Vol 26, S. 97-122.
- 53 Brandt J, Krogh T, Jensen C, Frederiksen J, Teisner B: Thermal instability of the trimeric structure of the N – terminal propeptide of human procollagen type I in relation to assay technology. *Clinical Chemistry* 1999, Vol. 45 (1), S. 47-53.
- 54 Jensen C, Hansen M, Brandt J, Rasmussen H, Jensen P, Teisner B: Quantification of the N – terminal propeptide of human procollagen type I: Comparison of ELISA and RIA with respect to different molecular forms. *Clinica Chimica Acta* 1998, Vol. 269, S. 31-41.
- 55 Clowes JA, Hannon TA, Yap TS, Hoyle NS, Blumsohn A, Eastell R: Effect of feeding on bone turnover markers and its impact on biological variability of measurements. *Bone* 2002, Vol. 30 Nr. 6, S. 886-890.
- 56 Szulc P, Delmas PD: Biochemical markers of bone turnover in men. *Calcified Tissue International* 2001, Vol. 69, S. 229-234.
- 57 Clowes JA, Robinson RT, Heller SR, Eastell R, Blumsohn A: Acute changes of bone turnover and PTH induced by insulin and glucose: euglycemic and hypoglycemic hyperinsulinemic clamp studies. *Journal of Clinical Endocrinology* 2002, Vol. 87 Nr. 7, S. 3324-3329.
- 58 Nyquist F, Ljunghall S, Berglund M, Obrant K: Biochemical markers of bone metabolism after short and long time ethanol withdrawal in alcoholics. *Bone* 1999, Vol. 19 Nr.1, S. 51-54.
- 59 Woitge HW, Friedmann B, Suttner S, Farahmand I, Müller M, Schmidt-Gayk H, Baertsch P, Ziegler R, Seibel MJ: Changes in bone turnover induced by aerobic and anaerobic exercise in young males. *Journal of Bone and Mineral Research* 1998, Vol.13 Nr. 12, S. 1797-1804.
- 60 Blumsohn A, Naylor KE, Timm W, Egleton AC, Hannon RA, Eastell R: Absence of marked seasonal changes in bone turnover: a longitudinal and multicenter cross-sectional study. *Journal of Bone and Mineral Research* 2003, Vol. 18 Nr.7, S. 1274-1281.
- 61 Walker BR, Best R, Noon JP, Watt GC, Webb DJ: Seasonal variation in glucocorticoid activity in healthy men. *Journal of Endocrinological Metabolism* 1997, Vol. 82, S. 4015-4019.
- 62 Löffler G, Petrides PE: *Biochemie und Pathobiochemie*. Springer Verlag, 7. Auflage, Berlin, 2003.

-
- 63 Jilka RL, Weinstein RS, Bellido T, Roberson P, Parfitt AM, Manolagas SC: Increased bone formation by prevention of osteoblast apoptosis with parathyroid hormone. *Journal of Clinical Investigation* 1999, Vol.104, S. 439-446.
- 64 Orum O, Hansen CH, Jensen C, Sorensen HA, Jensen B, Horslev-Petersen K, Teisner B: Procollagen Type I N-terminal Propeptide as an Indicator of Type I Collagen Metabolism: ELISA Development, Reference Interval, and Hypovitaminosis D Induced Hyperparathyroidism. *Bone* 1996, Vol. 19 Nr. 2, S. 157-163.
- 65 Ueda M, Inaba M, Okuno S, Nagasue K, Kitatani K, Ishimura E, Shimizu M, Miki T, Kim M, Nishizawa Y: Clinical usefulness of serum N-terminal propeptide of type I collagen as a marker of bone formation in hemodialysis patients. *American Journal of Kidney Disease* 2002, Vol. 40 Nr. 4, S. 802-809.
- 66 Melton LJ: The prevalence of osteoporosis: gender and racial comparison. *Calcified Tissue International* 2001, Vol. 69, S. 179-181.
- 67 Ringe JD, Dorst A: Reduktion osteoporotischer Wirbelfrakturen durch moderne Bisphosphonate bereits im ersten Therapiejahr. *Arzneimitteltherapie* 2000, Vol.18 Nr. 11, S. 333-336.
- 68 Garnero P, Stevens R, Ayres S, Phelps K: Short-term effects of new synthetic conjugated estrogens on biochemical markers of bone turnover. *Journal of Clinical Pharmacology* 2002, Vol. 42, S. 290-296.
- 69 Garnero P, Sornay-Rendu E, Claustrat B, Delmas PD: Biochemical markers of bone turnover, endogenous hormones and the risk of fractures in postmenopausal women: the OFELY Study. *Journal of Bone and Mineral Research* 2000, Vol. 15 Nr.8, S. 1526-1535.
- 70 Fink E, Cormier C, Steinmetz P, Kindermans C, Le Bouc Y, Souberbielle JC: Differences in the capacity of several biochemical bone markers to assess high bone turnover in early menopause and response to alendronate therapy. *Osteoporosis International* 2000, Vol. 11, S. 295-303.
- 71 Garnero P, Sornay-Rendu E, Duboeuf F, Delmas PD: Markers of bone turnover predict postmenopausal forearm bone loss over 4 years: the OFELY Study. *Journal of Bone and Mineral Research* 1999, Vol. 14 Nr. 9, S. 1614-1621.
- 72 Seibel MJ: Biochemical markers of bone remodeling. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* 2003, Vol. 32, S. 83-113
- 73 Seibel MJ: Clinical validity and practical applicability of biochemical markers of bone turnover. *Therapeutische Umschau* 1998, Band 55, Heft 11, S. 676-684.
- 74 Sharp C, Evans SF, Ristell L, Ristell J, Worsfold M, Davies MW: Effects of low- and conventional-dose transcutaneous HRT over 2 Years on bone metabolism in younger and older postmenopausal women. *European Journal of Clinical Investigation* 1996, Vol. 26, S. 763-771.

-
- 75 Boonen S, Marin F, Obermayer-Pietsch B, Simões ME, Barker C, Glass EV, Hadji P, Lyritis G, Oertel H, Nickelsen T, McCloskey EV: Effects of previous antiresorptive therapy on the bone mineral density response to two Years of teriparatide treatment in postmenopausal women with osteoporosis. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2008, Vol. 93 Nr. 3, S. 852-860.
- 76 Fohr B, Dunstan CR, Seibel MJ: Markers of Bone Remodeling in Metastatic Bone Disease. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2003, Vol. 88 Nr. 11, S. 5059–5075.
- 77 Coleman RE: Metastatic bone disease: clinical features, pathophysiology and treatment strategies. *Cancer Treatment Reviews* 2001, Vol. 27, S. 165-176.
- 78 Adami S: Biphosphonates in prostate carcinoma. *Cancer* 1997, Vol. 80 Nr. 8., S. 1674-1679.
- 79 Goltzman D, Karaplis AC, Kremer R, Rabbani SA: Molecular basis of the spectrum of skeletal complications of neoplasia. *Cancer Supplement* 2000, Vol. 88 Nr. 12, S. 2903-2908.
- 80 Sauer G, Barth TF, Möller P: Pathophysiologie der Skelettmastasierung urologischer Karzinome. *Urologe* 2007, Vol. 46, S. 888-890.
- 81 Zekri J, Ahmed N, Coleman RE, Hancock BW: The skeletal metastatic complications of renal cell carcinoma. *International Journal of Oncology* 2001, Vol. 19, S. 379-382.
- 82 Kratochwil C: Wertigkeit bildgebender Verfahren bei ossären Metastasen. *Urologe* 2007, Vol. 46, S. 891-896.
- 83 Boucharaba A, Serre C-M, Guglielmi J, Bordet J-C, Clézardin P, Peyruchaud O: The type 1 lysophosphatidic acid receptor is a target for therapy in bone metastases. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2006, Vol. 103 Nr. 25, S. 9643-9648.
- 84 Coleman RE: The clinical use of bone resorption markers in patients with malignant bone disease. *Cancer* 2002, Vol 94 Nr. 10, S. 2521-2533.
- 85 Koizumi M., Yamada Y., Takiguchi T., Nomura E., Furukawa M., Kitahara T., Yamashita T., Maeda H., Takahashi T., Aiba K., Ogata E.: „Bone metabolic markers in bone metastases”, *Journal of Cancer Research in Clinical Oncology* 1995, Vol. 121, S. 542-548.
- 86 Fontana A, Delmas PD: Markers of bone turnover in bone metastases. *Cancer* 2000, Vol. 88 Nr. 12, S. 2952-2960.
- 87 Seibel MJ, Woitge HW: Basic principles and clinical applications of biochemical markers of bone metabolism. *Journal of Clinical Densitometrie* 1999, Vol. 2 Nr. 3, S. 299-321.

-
- 88 Tähtelä R, Thölix E: Serum concentration of type I collagen carboxyterminal propeptide and type I prokollagen carboxy - and aminoterminal propeptides as markers of metastatic bone disease in breast cancer. *Anticancer Res* 1996, Vol.16, S. 2289-2294.
- 89 Lüftner D, Jozereau D, Schildhauer S, Geppert T, Müller C, Fiolka G, Wernecke KD, Possinger K: P1NP as serum marker of metastatic spread to bone in breast cancer patients. *Anticancer Research* 2005, Vol. 25, S. 1491-1500.
- 90 Koizumi M, Yonese J, Fukui I, Ogata E: The serum level of the amino-terminal propeptide of type I procollagen is a sensitive marker for prostate cancer metastasis to bone. *British Journal of Urology International* 2001, Vol. 87, S. 348-351.
- 91 Lipton A, Costa L, Ali SM, Demers LM: Bone markers in the management of metastatic bone disease. *Cancer Treatment Reviews* 2001, Vol. 27, S. 181-185.
- 92 Ripamonti C, Fulfaro F: Pathogenesis and pharmacological treatment of bone pain in skeletal metastases. *The Quarterly Journal of Nuclear Medicine* 2001, Vol. 45 Nr. 1, S. 65-77.
- 93 Seregini E, Martinetti A, Ferrari L, Bombardieri E: Clinical utility of biochemical markers of bone remodelling in patients with bone metastases of solid tumors. *Quarterly Journal of Nuclear Medicine* 2001, Vol. 45, S. 7-17.
- 94 Pecherstorfer M, Zimmer-Roth I, Schilling T, Woitge HW, Schmidt H, Baumgartner G, Thiébaud D, Ludwig H, Seibel MJ: The diagnostic value of urinary pyridinium cross-links of collagen, serum total alkaline phosphatase, and urinary calcium excretion in neoplastic bone disease. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1995, Vol. 80, S. 97-103.
- 95 Thurairaja R, Iles RK, Jefferson K, McFarlane JP, Persad RA: Serum amino-terminal propeptide of type I procollagen (P1NP) in prostate cancer: a potential predictor of bone metastases and prognosticator for disease progression and survival. *Urologia Internationalis* 2006, Vol. 76, S. 67-71.
- 96 Oesterling JE, Martin SK, Bergstralh EJ, Lowe FC: The use of prostate-specific-antigen in staging patients with newly diagnosed prostate cancer. *Journal of the American Medical Association* 1993, Vol. 269 Nr.1, S. 57-60.
- 97 Savelli G, Maffioli L, Maccauro M, de Deckere E, Bombardieri E: Bone scintigraphy and the added value of SPECT in detecting skeletal lesions. *Quarterly Journal of Nuclear Medicine* 2001, Vol. 45, S. 27-37.
- 98 Rudoni M, Antonini G, Favro M, Baroli A, Brambilla M, Cardani G, Ciardi L, Sacchetti GM, Inglese E: The clinical value of prostate-specific antigen and bone scintigraphy in the staging of patients with newly diagnosed, pathologically proven prostate-cancer. *European Journal of Nuclear Medicine* 1995, Vol. 22, S. 207-211.

-
- 99 Nadji M, Tabei SZ, Castro A, Chu M, Murphy GP, Wang MC, Morales AR: Prostatic-specific-antigen: an immunohistologic marker for prostatic neoplasms. *Cancer* 1981, Vol. 48, S. 1229-1232.
- 100 Noguchi M, Yahara J, Noda S: Serum levels of bone turnover markers parallel the results of bone scintigraphy in monitoring bone activity of prostate cancer. *Urology* 2003, Vol. 61, S. 993-998.
- 101 Wymenga LF, Boomsma JH, Groenier K, Piers DA, Mensink HJ: Routine bone scans in patients with prostate cancer related to serum prostate-specific antigen and alkaline phosphatase. *British Journal of Urology International* 2001, Vol. 88, S. 226-230.
- 102 Akimoto S, Furuya Y, Akakura K, Shimazaki J, Ito H: Relationship between prostate-specific antigen, clinical stage, and degree of bone metastasis in patients with prostate cancer: comparison with prostatic acid phosphatase and alkaline phosphatase. *International Journal of Urology* 1997, Vol. 4, S. 572-575.
- 103 De la Piedra C, Castro-Errecaborde NA, Traba LM, Méndez-Dávila C, García-Moreno C, Rodríguez de Acuña L, Rodríguez-Molina J: Bone remodeling markers in the detection of bone metastases in prostate cancer. *Clinica Chimica Acta* 2003, Vol. 331, S. 45-53.
- 104 Oremek GM, Kramer W, Seiffert UB, Jonas D: Diagnostic Value of Skeletal AP and PSA with Respect to Skeletal Scintigram in Patients with Prostatic Disease. *Anticancer Research* 1997, Vol. 17, S. 3035-3036.
- 105 Oremek GM, Weis A, Sapoutzis N, Sauer-Eppel H: Diagnostic value of bone and tumour markers in patients with malignant disease. *Anticancer Research* 2003, Vol. 23, S. 987-990.
- 106 Koopmans N, de Jong IJ, Breeuwsma AJ, van der Veer E: Serum bone turnover markers (P1NP and ICTP) for the early detection of bone metastases in patients with prostate cancer: a longitudinal approach. *The Journal of Urology* 2007, Vol. 178, S. 849-853.
- 107 Staudenherz A, Steiner B, Puig S, Kainberger F and Leitha T: Is there a diagnostic role for bone scanning of patients with a high pretest probability for metastatic renal cell carcinoma?. *Cancer* 1999, Vol. 85, S. 153-155.
- 108 Blacher E, Johnson D, Haynie T: Value of routine radionuclide bone scan in renal cell carcinoma. *Urology* 1985, Vol. 26, S. 432-434.
- 109 Atlas I, Kwan D, Stone N: Value of Serum Alkaline Phosphatase and Radionuclide Bone Scans in Patients with Renal Cell Carcinoma. *Urology* 1991, Vol. 38, S. 220-222.
- 110 Kriteman L, Sanders WH: Normal alkaline phosphatase levels in patients with bone metastases due to renal cell carcinoma. *Urology* 1998, Vol. 51, S. 397-399.

-
- 111 Jung K, Lein M, Ringsdorf M, Roigas J, Schnorr D, Loening SA, Staack A: Diagnostic and prognostic validity of serum bone turnover markers in metastatic renal cell carcinoma. *Urology* 2006, Vol. 176, S. 1326-1331.
- 112 Sciarra A, Gomez AM, Gentilucci A, Parente U, Salciccia S, Gentile V, Di Silverio F: Adjuvant therapy with sorafenib in bone metastases - bilateral renal carcinoma: a case report. *European Urology* 2007, Vol. 52, S. 597-599.
- 113 Tholander B, Taube A, Lindgren A, Sjöberg O, Stendahl U, Tamsen L: Pretreatment serum levels of CA-125, carcinoembryonic antigen, tissue polypeptide antigen, and placental alkaline phosphatase in patients with ovarian carcinoma: influence of histological type, grade of differentiation, and clinical stage of disease. *Gynecologic Oncology* 1990, Vol. 39, S. 26-33.
- 114 Gadducci A, Cosio S, Zola P, Landoni F, Maggino T, Sartori E: Surveillance procedure for patients treated for ovarian epithelial cancer: a review of the literature. *International Journal of Gynecological Cancer* 2007, Vol. 17, S. 21-31.
- 115 Altaras M, Goldberg G, Levin W, Bloch B, Darge L, Smith J: The role of Cancer Antigen 125 in the management of ovarian epithelial carcinomas. *Gynecologic Oncology* 1988, Vol. 30, S. 26-34.
- 116 Fleuren G, Nap M, Alders J, Trimbos B, de Bruijn HW: Explanation of the limited correlation between tumor CA 125 content and serum CA 125 antigen levels in patients with ovarian tumors. *Cancer* 1987, Vol. 60, S. 2437-2442.
- 117 Garnero P, Vergnaud P, Hoyle N: Evaluation of a Fully Automated Serum Assay for Total N-Terminal Propeptide of Type I Collagen in Postmenopausal Osteoporosis. *Clinical Chemistry* 2008, Vol. 54, S. 188-196.

Zusammenfassung I (deutsch)

▪ Zielsetzung

In dieser Arbeit sollte untersucht werden, ob sich der Knochenformationsmarker P1NP zur frühen Diagnostik von Knochenmetastasen bei Patienten mit Prostata -, Nierenzell – und Ovarialkarzinomen eignet. Zum Vergleich wurden der bereits in der klinischen Routine etablierte Knochenmarker AP, sowie weitere spezielle Tumormarker (PSA, CEA, CA 125) herangezogen.

▪ Patienten und Methoden

Die Messung von P1NP erfolgte mit Hilfe des Immunoassays „ECLIA“ und dem Analysenautomat Elecsys® 2010 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). Insgesamt wurden Serumproben von 54 Patienten mit Knochenmetastasen und 128 Patienten ohne Knochenmetastasen analysiert. Die 182 Patienten wurden in 3 Kollektive aufgeteilt: 100 Patienten mit benigner Prostatahyperplasie und Prostatakarzinom, 36 Patienten mit Nierentumor und 46 Patientinnen mit Ovarialkarzinom.

▪ Ergebnisse

Patienten mit Knochenmetastasen zeigen signifikant ($p \leq 0,001$) höhere P1NP Werte als Patienten ohne Knochenmetastasen. Unter Chemotherapie sinken die Serumkonzentrationen von P1NP in den Normbereich. Es fällt auf, dass Frauen insgesamt höhere P1NP Werte haben als männliche Kollektive. P1NP erreicht für die Diagnostik von ossären Metastasen eine Sensitivität von 89,6% und eine Spezifität von 74,2%.

Vergleicht man die Flächen (AUC) unter den Receiver Operating Characteristic Curves (ROC) erkennt man, dass P1NP unabhängig von der Tumorpathologie eine sehr gute diagnostische Leistung von ca. 90% aufweist. Nur mit PSA (AUC 91,1%) erhält man beim Prostatakarzinom eine vergleichbar sichere Diagnose. Die Aussagefähigkeit der AP schwankt zwischen 60 – 80%, die der gynäkologischen Tumormarker CEA und CA 125 zwischen 50 – 60%.

▪ Schlussfolgerung

P1NP ist den in der Routine etablierten Markern und radiologischen Verfahren zur frühen Diagnostik von Knochenmetastasen deutlich überlegen und eignet sich auch, um

bei Patienten mit Knochenmetastasen den Erfolg einer Chemotherapie zu überwachen. Aufgrund der postmenopausalen Osteoporose müssen für Frauen bei der Diagnostik von Knochenmetastasen höhere Cutoff Werte verwendet werden.

Zusammenfassung II (englisch)

▪ **Objective**

The aim of this study was to investigate, whether the bone formation marker P1NP could be useful for the early detection of bone metastases in patients with prostate cancer, renal cell carcinoma and ovarian cancer. The bone turnover marker AP, which is already applied in clinical routine and other special tumor markers (PSA, CEA, CA 125) were measured in comparison.

▪ **Patients and Methods**

Serum P1NP was measured with the immunoassay “ECLIA” using the Elecsys® 2010 analyzer (Roche Co., Mannheim, Germany). Serum samples of 54 patients with bone metastases and 128 patients without bone involvement were analysed. The 182 patients were divided into 3 groups: 100 patients with benign prostate hyperplasia and prostate cancer, 36 patients with renal cell carcinoma and 46 patients with ovarian cancer.

▪ **Results**

The serum P1NP level was significantly ($p \leq 0,001$) higher in patients with bone metastases than in patients without bone involvement. Patients, who had been treated with chemotherapy, showed levels within the normal range. It is interesting to note, that women showed higher P1NP concentrations than male patients. The sensitivity for P1NP was 89,6 %, the specificity was 74,2%. The areas (AUC) under the Receiver Operating Characteristic Curves (ROC) reveal, that P1NP – independent of tumor pathology – has a diagnostic ability of about 90%. Only PSA (AUC 91,1 %) seems to be of similar applicability in patients with prostate carcinoma. The diagnostic performance of the AP ranges between 60 and 80 %, the gynaecological tumor markers range between 50 and 60 %.

▪ **Conclusion**

P1NP is a very useful marker for the early diagnosis of bone metastases and is superior to other commonly applied markers and radiological methods. Furthermore, P1NP measurements appear to be helpful for monitoring the success of chemotherapy in patients with bone metastases. As postmenopausal osteoporosis influences P1NP serum

levels, higher cutoff values have to be applied for the diagnostic of bone metastases in women.

Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Oremek ganz herzlich für die Überlassung des Themas, sowie seine freundliche Beratung und Unterstützung bei der Fertigstellung meiner Doktorarbeit. Er hat mit seinem Engagement und seiner Begeisterung mein Interesse an Forschung und wissenschaftlichem Arbeiten geweckt.

Darüber hinaus möchte ich mich sehr bei Frau Sauer – Eppel bedanken, deren Mithilfe wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Den Mitarbeitern der Urologie des Universitätsklinikums Frankfurt danke ich für ihre geduldige Unterstützung während der Sammlung meiner Patientendaten.

Abschließend möchte ich mich bei meinen Eltern und meiner Schwester Marion ganz herzlich dafür bedanken, dass sie mich während meines ganzen Studiums liebevoll unterstützt haben und mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite gestanden sind.

Lebenslauf

Martina Klepzig

* 05. 04. 1984 in Frankfurt am Main

Familienstand

ledig

Schulausbildung

1994 – 2003

St. Angela Schule, Königstein

2003

Abitur (Note: 1,0)

Hochschulstudium

Seit 10/2003

Humanmedizin

Johann Wolfgang Goethe Universität Frankfurt

12. 09. 2005

Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (Note: 1,0)

26. 11. 2010

Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (Note: 1,5)

Famulaturen

16.03. – 15.04. 2006

Allgemeinmedizin, Praxis in Königstein

05.02. – 04.03. 2007

Urologie, Universitätsklinik Frankfurt

03.09. – 02.10. 2007

Pädiatrie, Klinikum Offenbach

07.04. – 06.05. 2008

Pädiatrie, Praxis in Königstein

08/2008 – 07/2009

Praktisches Jahr (Klinikum Offenbach)

Sprachkenntnisse

Englisch, Französisch

EDV – Kenntnisse

Word, Exel, Power Point, SPSS

Königstein, den 31.01.2010

Martina Klepzig

Ehrenwörtliche Erklärung

Ich erkläre, dass ich die dem Fachbereich Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Dissertation mit dem Titel

„ Die Bedeutung von
Prokollagen Typ I aminoterminalem Propeptid (P1NP)
zur Diagnostik von Knochenmetastasen bei Karzinompatienten “

Im Zentrum der Inneren Medizin – Fachbereich Laboratoriumsmedizin unter Betreuung und Anleitung von Prof. Dr. phil. nat. Gerhard Maximilian Oremek ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Ich habe bisher an keiner in- oder ausländischen Universität ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht.

Die vorliegende Arbeit wurde bisher nicht als Dissertation eingereicht.

Die vorliegende Arbeit wurde in folgendem Publikationsorgan veröffentlicht:

1. G.M. Oremek, H. Sauer-Eppel, M. Klepzig: “Total Procollagen Type 1 Amino-terminal Propeptide (total P1NP) as a Bone Metastasis Marker in Gynecological Carcinomas”. *Anticancer Research* 27: 1961 – 1962 (2007)
2. M. Klepzig, H. Sauer-Eppel, D. Jonas, G.M. Oremek: “Value of Procollagen Type 1 Amino-terminal Propeptide in Patients with Renal Cell Carcinoma”. *Anticancer Research* 28: 2443 – 2446 (2008)

3. M. Klepzig, D. Jonas, G.M. Oremek: "Procollagen Type 1 Amino-Terminal Propeptide: a Marker for Bone Metastases in Prostate Carcinoma". Anticancer Research 29: (erscheint 2009)

Königstein, den 31.01.2010

Martina Klepzig