

Biochemische Knochenumbaumarker bei Knochenmetastasen

Teil I^{*}: Klinische Bedeutung in der Diagnostik

Da die Manifestation von Skelettmetastasen in der Regel mit prognostisch ungünstigen und schweren Komplikationen verbunden ist, kommt ihrer frühzeitigen Diagnose und Therapie sowie der konsequenten Verlaufskontrolle besondere Bedeutung zu. Die Anwendung spezifischer osteologischer Parameter bei der Diagnose, Nachsorge und Verlaufskontrolle ossärer Metastasen hat sich in den letzten Jahren vermehrt etabliert, nachdem nachgewiesen wurde, dass den biochemischen Markern des Knochenstoffwechsels bei diesen Indikationen eine besondere Rolle zufällt.

CHRISTIAN MEIER, MARKUS J. SEIBEL

Das praktische diagnostische Vorgehen bei Skelettmastasen stützt sich gegenwärtig auf die Kombination radiologischer, nuklearmedizinischer, bioptisch-histologischer und laborchemischer Methoden, welche hinsichtlich Spezifität und Sensitivität an methodentypische Grenzen stossen. Zum Beispiel lassen sich metastatische Herde im spongiösen Knochen röntgenologisch erst ab einer Grösse von zirka 1 cm sicher nachweisen. Im Vergleich hierzu ist die Knochenszintigrafie zwar sensitiver und daher zur Frühdiagnostik (v.a. osteoblastischer Prozesse) geeignet; sie erlaubt jedoch oft keine Aussage zur Dignität der detektierten Veränderung. Biopische Untersuchungen sind aufgrund der geringen Trefferquote zur Frühdiagnostik nicht geeignet und nur bei Nachweis entsprechender Veränderungen im Röntgenbild sinnvoll. Laborchemische Tumormarker wie CEA, PSA oder CA 15-3 sind zwar bei der Verlaufsbeurteilung der malignen Grunderkrankung von grossem Nutzen, erlauben naturgemäss aber keine Aussagen zur Aktivität lokaler Osteolysen.

Zur Behandlung von Knochenmetastasen stehen derzeit eine Reihe von unterschiedlichen konservativen Therapieverfahren zur Verfügung: Chemo- und Hormontherapie, Resorptionshemmer (v.a. Bisphosphonate) sowie die Strahlentherapie. Sämtlichen dieser Strategien ist die Reduktion der Osteoklas-

tenaktivität und damit die Verminderung der Knochenresorption und osteolytischen Progression gemeinsam. Die Kontrolle des Therapieeffekts erfolgt durch die kombinierte Anwendung unterschiedlicher Verfahren, wobei die radiologische Verlaufskontrolle in der Regel im Vordergrund steht. Mit der Einführung hochwirksamer therapeutischer Strategien ist allerdings auch der Bedarf an sensitiveren und spezifischeren Methoden zur Kontrolle des Therapieeffektes deutlich gewachsen.

Hintergrund des Einsatzes spezifischer osteologischer Parameter in Diagnose, Nachsorge und Verlaufskontrolle ist die Tatsache, dass unter physiologischen Bedingungen Knochenaufbau- und Knochenabbauvorgänge in einem Fließgleichgewicht stehen. Anabole und katabole Prozesse sind demzufolge eng aneinander gekoppelt und regulieren sich teilweise gegenseitig. Dieses Phänomen wird im Allgemeinen als «coupling» bezeichnet und garantiert den Erhalt einer stabilen Knochenmasse. Das Auftreten von Knochenmetastasen führt zur Störung dieses Gleichgewichts und zum «uncoupling» der Stoffwechselprozesse, wobei je nach Metastasentyp die resorptive (osteolytische) oder formative (osteoblastische) Komponente überwiegen kann.

Biochemische Marker des Knochenstoffwechsels

Als stoffwechselaktives Gewebe unterliegt die Knochensubstanz fortlaufenden An- und Abbauprozessen.

^{*} Teil 2: Prognostische Bedeutung und Stellenwert im Therapiemonitoring. In: SZO 1/2007.

Tabelle 1:

Marker der Knochenformation

Marker (Abkürzung)	Ursprungsgewebe	Probenmaterial	Analytische Methoden	Spezifität und andere Charakteristika
Alkalische Phosphatase (ALP)	Knochen, Leber, Intestinum, Niere, Plazenta	Serum	Kolorimetrisch (Kinetisch)	Mittlere Spezifität; beim Erwachsenen Mischung aus Leber- und Knochen-ALP; preiswerter Marker (z.B. bei M. Paget).
Knochenspezifische alkalische Phosphatase (BAP)	Knochen (Osteoblasten)	Serum	Thermo- und spezifische Denaturierung, Elektrophorese, Lektinfällung, Immunoassays (IRMA, EIA)	Hohe Spezifität; in allen Assays mehr oder weniger starke Kreuzreaktivität (bis 20%) mit Leber- und anderen ALP-Isoenzymen; kein Routinemarkers, da teuer.
Osteocalcin (OC)	Knochen (Osteoblasten), Thrombozyten (passiv)	Serum	RIA, ELISA, IRMA	Hohe Spezifität; im Blut zahlreiche Fragmente und immunoreaktive Formen, z.T. Knochenresorptionsprodukt; Akkumulation bei Niereninsuffizienz.
Carboxyterminales Propeptid des Typ I Prokollagen (PICP)	Knochen (Osteoblasten), Bindegewebe, Haut, Narben	Serum	RIA, ELISA	Mittlere Spezifität und Sensitivität; Marker der frühen Osteoblasten- und Fibroblastenaktivierung.
Aminoterminales Propeptid des Typ I Prokollagen (PINP)	Knochen (Osteoblasten), Bindegewebe, Haut, Narben	Serum	RIA, ELISA	Mittlere Spezifität und Sensitivität; Marker der frühen Osteoblasten- und Fibroblastenaktivierung.

sen. Während im gesunden Knochen der Abbau alten Knochens und die Neubildung neuen Knochens in einem Gleichgewicht stehen, führen ossäre Metastasen zu einer ausgeprägten Imbalance dieses Knochenumbaus. Im Laufe der letzten Jahre hat die Isolierung und Charakterisierung zellulärer und extrazellulärer Komponenten der Knochenmatrix zur Entwicklung von biochemischen Knochenumbau markern, die spezifisch die Knochenformation respektive die Knochenresorption widerspiegeln, geführt. Diese Knochenumbau marker sind nicht invasive, vergleichsweise kostengünstige und bei korrekter Anwendung hilfreiche Parameter in der Beurteilung von Knochenkrankheiten (Tabelle 1 und 2) (2). In der Anwendung biochemischer Parameter des Knochenstoffwechsels muss beachtet werden, dass zumindest einige dieser Knochenmarker teilweise die Knochenformation wie auch die Knochenresorption widerspiegeln (z.B. Osteocalcin, Hydroxyproline). Zudem werden diese Stoffwechselfmarker nicht ausschliesslich im Knochen, sondern auch in anderen Körpergeweben synthetisiert und können entsprechend auch durch nicht ossäre Prozesse beeinflusst werden (2).

Diagnostische Wertigkeit

Bis auf sehr wenige Ausnahmen liefern chemische Messgrössen keine Diagnosen, sondern tragen als gewebe- und/oder prozessspezifische Indices zum diagnostischen Puzzle bei. Dies gilt auch für die Wertigkeit biochemischer Knochen-

stoffwechselfmarker in der Diagnose manifester Knochenmetastasen. Es existiert keine biochemische Kenngrösse, die für das Auftreten oder Vorhandensein einer ossären Metastasierung pathognomonisch wäre. Allerdings können pathologisch erhöhte Resorptionsparameter durchaus auf eine osteolytische Knochenmetastasierung hindeuten – dies insbesondere, wenn zunächst normale Werte im weiteren Verlauf ansteigen. Veränderungen im dynamischen Knochenstoffwechselgeschehen sind jedoch nicht krankheitsspezifisch. So kann eine hohe Knochenresorptionsrate auch durch einen PTHrP-produzierenden Primärtumor oder, in extremen Fällen, durch eine längerfristige Immobilisation des Patienten bedingt sein. Verschiedene Noxen bewirken also am Knochen sehr ähnliche Reaktionen, sodass im Einzelfall nur die Synopsis von Laborwert, klinischem Bild und Anamnese eine sinnvolle Diagnosestellung erlaubt.

Im Rahmen der osteoblastischen Metastasierung eines Mamma- oder Prostatakarzinoms finden sich, in Abhängigkeit von der Ausdehnung und Progredienz des Befundes, diskret bis deutlich ausgeprägte Veränderungen der *alkalischen Phosphatase (ALP)* (3 bis 5). Insbesondere beim Prostatakarzinom ist ein Anstieg der ALP (auch innerhalb des Normbereichs) oft mit einer Metastasierung verbunden und bedarf in jedem Fall der weiteren Abklärung. So konnte gezeigt werden, dass durch eine ergänzende Bestimmung der ALP zusätzlich zum PSA

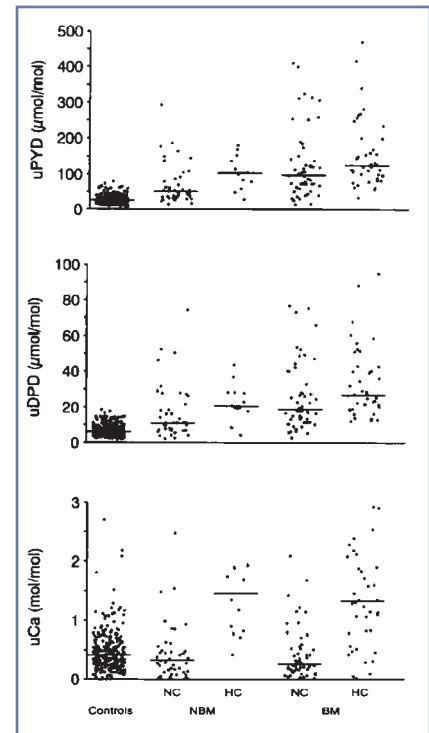


Abbildung 1: PYD-, DPD- und Kalziumausscheidung bei Patienten mit (BM) und ohne (NBM) Knochenmetastasen und Gesunden (Controls). Bei Tumorpatienten ist zudem eine weitere Stratifizierung anhand der Serum-Kalziumspiegel dargestellt (NC= normokalzämisch, HC= hyperkalzämisch, > 2,6 mmol/L). (Aus: Pecherstorfer et al., 1995).

die diagnostische Sensitivität in der Erkennung von Knochenmetastasen erhöht werden kann (6, 7). Bei älteren Patienten kann ein derartiger Anstieg der Gesamt-ALP durch nicht ossäre, insbesondere hepatobiliäre Störungen bedingt sein. In diesem Fall ist die Bestimmung der *knochenspezifischen ALP (BAP)* indiziert.

Tabelle 2:

Marker der Knochenresorption

Marker (Abkürzung)	Ursprungsgewebe	Probenmaterial	Analytische Methoden	Spezifität und andere Charakteristika
<i>a) Kollagenabbaumarker</i>				
Hydroxyprolin, (Gesamt- und dialysierbares OHP)	Knorpel, Knochen, Bindegewebe, Haut	Urin	Kolorimetrisch HPLC	Geringe Spezifität; stammt aus neu synthetisiertem und älterem Kollagen, d.h. Kollagensynthese und -abbau beeinflussen den Urinspiegel.
Hydroxylysin-glycosid	Knochen, Bindegewebe, Haut, Komplement	Urin (Serum)	HPLC ELISA	Glykosylierung von Hydroxylysin gewebeabhängig. Glycosylgalactosyl-OHLys v.a. in Bindegewebe und Clq; Galactosyl-OHLys v.a. in ossärem Kollagen.
Pyridinolin (PYD)	Knochen, Knorpel, Sehnen, Blutgefäße	Urin Serum	HPLC ELISA	Mittlere Spezifität, da in höchster Konzentration in Knochen und Knorpel vorhanden; nicht nachweisbar in der Haut oder neugebildeten Kollagenen.
Deoxypyridinolin (DPD)	Knochen, Dentin	Urin Serum	HPLC ELISA	Hohe Spezifität, da höchste Konzentration in Knochen; nicht nachweisbar in der Haut oder in neugebildeten Kollagenen.
Carboxyterminales quervernetztes Typ-I-Kollagen-Telopeptid (ICTP, CTX-MMP)	Knochen, Haut	Serum	RIA	Mittlere Spezifität, da v.a. aus Knochen.
Carboxyterminales quervernetztes Typ-I-Kollagen-Telopeptid (CTX)	Kollagen Typ I enthaltende Gewebe	Urin (α -/β) Serum (β)	ELISA RIA	Isomerisierung von Aspartyl zu β-Aspartyl abhängig vom Alter des Kollagens.
Aminotermiales quervernetztes Typ-I-Kollagen-Telopeptid (NTX)	Kollagen Typ I enthaltende Gewebe	Urin Serum	ELISA CLIA RIA	Hohe Spezifität, da höchste Konzentration im Knochen.
<i>b) Kollagenunabhängige Proteine</i>				
Bone Sialoprotein (BSP)	Knochen, Dentin, Knorpel	Serum	RIA ELISA	Saures, phosphoryliertes Glycoprotein von Osteoblasten und osteoklastenähnlichen Zellen synthetisiert.
Osteocalcinfragmente (ufOC, U-Mid-OC, U-LongOC)	Knochen	Urin	ELISA	Gewisse altersmodifizierte Osteoklastenfragmente werden während der Knochenresorption freigesetzt und können als Resorptionsparameter herangezogen werden.
<i>c) Osteoklastenzym</i>				
Tartrateresistente saure Phosphatase (TRAP)	Knochen, Blut	Plasma Serum	Kolorimetrisch RIA ELISA	Isoenzym 5b ist osteoklastenspezifisch.
Cathepsin (K, L)	K: Osteoklasten L: Makrophagen, Osteoklasten	Plasma Serum	ELISA	Cathepsin K spielt eine zentrale Rolle in der osteoklastären Knochenresorption. Durch Abspaltung von schleifenförmigen Domänen des TRAP werden Cathepsin K und L aktiviert. Assays zur Bestimmung von Cathepsin werden zurzeit evaluiert.

Bei normokalzämischen Patienten mit ossärer Metastasierung finden sich häufig erhöhte Serum-Osteocalcin-(OC-) Spiegel (8), die bei Entwicklung einer metastatischen Hyperkalzämie in den unteren Normbereich oder darunter absinken können (9, 10). Im Gegensatz hierzu finden sich bei überwiegend humoraler Hyperkalzämie stark wechselnde OC-Spiegel, während reine Weichteilmetastasen die Serumspiegel von OC nicht signifikant zu beeinflussen scheinen (11, 12). Beim Multiplen Myelom wurde

eine inverse Korrelation zwischen OC-Werten und dem Tumorstadium nach Durie-Salmon beschrieben. Demnach sind supprimierte OC-Spiegel beim Myelom mit einer signifikant kürzeren Überlebenszeit assoziiert (13 bis 15). Neuere Arbeiten haben diese Assoziation jedoch nicht bestätigen können (16, 17).

Bei Patienten mit Mamma- oder Prostatakarzinom konnte gezeigt werden, dass die Serumkonzentrationen der *carboxy- beziehungsweise aminoterminalen Propeptide des Typ I Prokollagens (PICP,*

PINP) erhöht sind und dass ein verminderter PICP/PINP-Quotient ein aggressiveres Tumorverhalten mit höherer Metastasierungsrates widerspiegelt (18). Die Serumspiegel von PINP und PICP waren bei Patienten mit dokumentierten ossären Lungenkarzinometastasen signifikant höher als bei Patienten ohne Knochenmetastasen oder isolierten Weichteilmetastasen. Auch bei Frauen mit Mammakarzinom konnte eine signifikante Korrelation zwischen postoperativen PINP-Konzentrationen und Über-

lebensrate, Tumorgrosse und Malignitätsgrad dokumentiert werden (19). In einer kürzlich publizierten Arbeit wird postuliert, dass aufgrund signifikant höherer PINP-Werte bei Patienten mit metastasierendem Prostatakarzinom das PINP im Serum ein nützlicher Marker in der Evaluation einer Knochenmetastasierung darstellt (20).

Bei 80 bis 95% aller Tumorpatienten mit manifesten Knochenmetastasen (Mamma-, Prostata- oder Lungenkarzinome) ist eine vermehrte Ausscheidung der Pyridinium-Crosslinks (PYD, DPD) zu beobachten (21 bis 23). Wie in *Abbildung 1* dargestellt, finden sich bei zahlreichen Patienten ohne radiologische Anhaltspunkte für eine ossäre Metastasierung erhöhte PYD- beziehungsweise DPD-Konzentrationen. Auch Arbeiten anderer Arbeitsgruppen bestätigen die hohe Sensitivität der Pyridinium-Crosslinks als Indices einer stattgefundenen Metastasierung, ohne jedoch Angaben zur Spezifität zu machen (22, 24, 25).

Ähnliche Resultate haben Pecherstorfer et al. bei Patienten mit Multiplem Myelom erhoben (26). Dabei waren die Ausscheidungswerte für PYD und DPD verglichen mit gesunden Kontrollen, Patienten mit MGUS (monoclonal gammopathy of undetermined significance) oder Frauen mit postmenopausaler Osteoporose unter Zugrundelegung des oberen Normwerts als Cut-off deutlich erhöht. Die Werte liessen aber in der individuellen Beurteilung, insbesondere bei frühen Stadien der Erkrankung (Stadium I und II), keine klare Abgrenzung zu (vergleiche *Abbildung 2*). Nur im Stadium III der Erkrankung zeigten die Pyridinium-Crosslinks, in Abhängigkeit vom Assay, eine Sensitivität von 78 bis 93% bei einer Spezifität von 87 bis 97%.

Wie neuere Arbeiten zeigen, scheinen auch die Kollagen-Typ-I-Telopeptide (CTX, NTX, ICTP) in der Beurteilung des Knochen-Turnovers bei Tumorpatienten ihren Stellenwert zu haben, obwohl unterschiedliche Daten zu den individuellen Markern bezüglich Spezifität, Sensitivität und diagnostischer Wertigkeit vorliegen. In einer Studie, in der NTX (Urin), ICTP und BAP bei Frauen mit Mammakarzinom verglichen wurden, zeichnete sich ICTP im Serum durch die grösste Sensitivität bei gleichzeitig hoher

Spezifität (91%) zur Erkennung von Knochenmetastasen aus (27). Demgegenüber zeigte eine andere Arbeit bei Patienten mit Knochenmetastasen, dass die NTX-Ausscheidung einen höheren prädiktiven Wert in der Erkennung einer Metastasierungsgredienz hatte als ICTP und BAP (Costa 2002). Zahlreiche andere Studien bestätigen, dass die Kollagen-Typ-I-Telopeptide (NTX, CTX oder ICTP) sensitive Parameter zur Differenzierung von Patienten mit oder ohne ossäre Metastasen bei Mamma- (28 bis 32), Prostata- (33 bis 35), Ösophagus- (36) oder Lungenkarzinomen (37) darstellen. In einer kürzlich veröffentlichten Studie haben Noguchi et al. gezeigt, dass mithilfe wiederholter ICTP-Bestimmungen bei Männern mit Prostatakarzinom eine Progression der ossären Metastasierung festgestellt werden kann (38).

Das tartratresistente Isoenzym der sauren Phosphatase (TRAP) ist ein charakteristisches Syntheseprodukt aktiver Osteoklasten (39). Im Vergleich zu Gesunden oder zu metastasiefreien Tumorpatienten finden sich bei Patienten mit nachgewiesenen Knochenmetastasen signifikant erhöhte Serumspiegel des TRAP (40 bis 43).

Bone Sialoprotein (BSP) ist ein hochgradig glykosyliertes und phosphoryliertes Protein, das ungefähr 5 bis 10% der nicht kollagenen, organischen Matrix des Knochens ausmacht (44 bis 46). Bei Patienten mit Prostatakarzinom korrelieren die BSP-Konzentrationen gut mit den PSA-Spiegeln, wobei das BSP auch bei Patienten mit Kolon- und Lungenkarzinom erhöht ist (47). In Arbeiten von Bellahcene et al. konnte interessanterweise bei Patienten mit metastasierendem Mammakarzinom beobachtet werden, dass das Ausmass der BSP-Expression im Primärtumor mit der Rate der ossären Metastasierung des Tumors korreliert (48 bis 50). Eine weitere Arbeit von Diel et al. konnte zeigen, dass die bei Erstdiagnose gemessenen BSP-Spiegel bei Frauen mit primärem Mammakarzinom prädiktiv für das spätere Auftreten von Knochenmetastasen sind (51). Pathologisch erhöhte BSP-Spiegel konnten zudem bei Patienten mit unbehandeltem Multiplem Myelom beobachtet werden (*Abbildung 3*). Bei letzterem besteht eine direkte Beziehung zum Krankheitsstadium: Prinzipiell

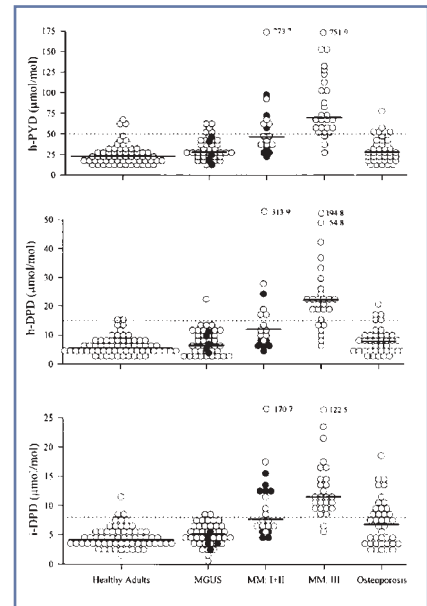


Abbildung 2: Gesamtpyridinolin (h-PYD), Gesamtdesoxypyridinolin (h-DPD) und freies Desoxypyridinolin (i-DPD) im Urin bei Gesunden (Healthy Adults) sowie bei Patienten mit monoklonaler Gammopathie unbekannter Signifikanz (MGUS), Osteoporose (Osteoporosis) und Multiplem Myelom im Stadium I-III (MM). Weitere Erläuterungen im Text. (Aus: Pecherstorfer et al. 1997).

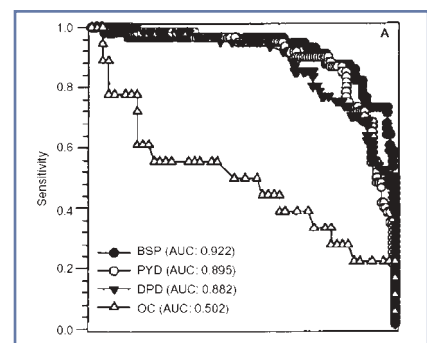


Abbildung 3: Diagnostische Validität (ROC-Kurve) biochemischer Marker beim Vergleich zwischen Gesunden und Patienten mit Multiplem Myelom (alle Stadien). (Aus: Woitge et al. 2000).

steigt das BSP mit dem Grad der Krankheitsausbreitung an (Patienten mit osteolytischen Herden haben oft höhere Konzentrationen als Patienten ohne lytische Läsionen) und sinkt unter der chemotherapeutischen Behandlung. Mit diesem Verhalten unterscheidet sich das Serum-BSP deutlich vom OC, das bei fortschreitender Erkrankung keine Veränderung oder einen Rückgang der Serumkonzentrationen zeigt. Da die Veränderungen von Serum-BSP beim Multiplem Myelom sowohl in quantitativer als auch in qualitativer Hinsicht denen der Pyridinium-Crosslinkkomponenten sehr

ähnlich sind, gehen wir derzeit davon aus, dass das BSP im Serum vorwiegend die osteoklastäre Aktivität respektive Knochenresorptionsrate reflektiert.

Resümee

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Serum- beziehungsweise Urinspiegel der meisten biochemischen Marker des Knochenumbaus, insbesondere der Resorptionsmarker, bei Patienten mit ossären Metastasen erhöht sind. Obwohl angesichts dieser Befunde postuliert wer-

den könnte, dass diese Marker in der Erkennung von Knochenmetastasen von diagnostischem Nutzen sein könnten, lässt die derzeitige Datenlage keine abschliessende Beurteilung zu. Eine erst kürzlich publizierte Arbeit widerspiegelt diesen Sachverhalt mit einer insgesamt geringen Sensitivität verschiedener Knochenmarker (verglichen mit der Knochenszintigrafie) in der Früherkennung von ossären Lungenkarzinometastasen (52).▲

Dr. med. Christian Meier
(Korrespondenzadresse)

*Klinik für Endokrinologie, Diabetologie
und klinische Ernährung
Universitätsspital Basel
und: Endokrinologische Praxis & Labor
Missionsstrasse 24, 4055 Basel
Tel. 061-264 97 97
Fax 061-264 97 96
E-Mail: christian.meier@unibas.ch*

*sowie
Dr. med. Markus J. Seibel
Bone Research Program
ANZAC Research Institute
University of Sydney, Australien*

*Die umfangreiche Quellenliste ist beim Autor
(siehe Korrespondenzadresse) oder über die Redaktion erhältlich.*