

Validierung der onkologischen Bedeutung der Serummarker PINP (N-terminales Propeptid vom Typ I Prokollagen) und ICTP (C-terminales Telopeptid vom Typ I Kollagen) beim Prostatakarzinom

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard Karls Universität  
zu Tübingen

vorgelegt von  
**Dr. med. univ. Aufderklamm, Stefan**

2016

Dekan:

Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter:

Professor Dr. C. Schwentner

2. Berichterstatter:

Professor Dr. M. Schuhmann

## **INHALTSVERZEICHNIS**

<b>I</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>4</b>
<b>I.1</b>	<b>DAS PROSTATAKARZINOM.....</b>	<b>4</b>
I.1.1	ALLGEMEINE ASPEKTE ZUM PROSTATAKARZINOM	4
I.1.2	GRUNDLEGENDE DIAGNOSTIK BEIM PROSTATAKARZINOM	5
I.1.3	DIE TNM-KLASSIFIKATION DES PROSTATAKARZINOMS	7
I.1.4	DER GLEASON SCORE	11
I.1.5	THERAPIEMÖGLICHKEITEN DES PROSTATAKARZINOMS	12
I.1.6	DAS OSSÄR METASTASIERTE PROSTATAKARZINOM	16
I.1.7	LIMITATIONEN DER METASTASENSITUATION BEIM PROSTATAKARZINOMS	18
I.1.8	PROGNOSE DES METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMS	19
<b>I.2</b>	<b>ALLGEMEINE ASPEKTE DER OSSÄREN METASTASIERUNG .....</b>	<b>20</b>
I.2.1	MARKER FÜR DEN KNOCHENSTOFFWECHSEL	21
I.2.2	BEDEUTUNG VON PINP UND ICTP BEIM PROSTATAKARZINOM	24
<b>I.3</b>	<b>FRAGESTELLUNG.....</b>	<b>27</b>
<b>II</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN.....</b>	<b>28</b>
<b>III</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>52</b>
<b>III.1</b>	<b>DESKRIPTIVE STATISTIK DER KOLLEKTIVE.....</b>	<b>52</b>
<b>III.2</b>	<b>BESCHREIBUNG DER FÜR DIE AUSWERTUNG DEFINIERTEN KOLLEKTIVE.....</b>	<b>54</b>
III.2.1	PATIENTEN MIT BENIGNER PROSTATAHYPERPLASIE	54
III.2.2	PATIENTEN MIT PROSTATAKARZINOM OHNE KNOCHENMETASTASEN BEI BLUTENTNAHME	55
III.2.3	PATIENTEN MIT PROSTATAKARZINOM UND KNOCHENMETASTASEN BEI BLUTENTNAHME	56
<b>III.3</b>	<b>SPEZIFISCHE AUSWERTUNG DER KOLLEKTIVE VON PATIENTEN MIT BENIGNER PROSTATAHYPERPLASIE ODER PROSTATAKARZINOM HINSICHTLICH DER SERUMMARKER ICTP UND PINP .....</b>	<b>58</b>

III.3.1 C-TERMINALES TELOPEPTID VOM TYP I KOLLAGEN (ICTP)	58
III.3.2 N-TERMINALES PROPEPTID VOM TYP I PROKOLLAGEN (PINP)	66
<b>IV DISKUSSION .....</b>	<b>72</b>
<b>IV.1 ASPEKTE DER UNTERSUCHTEN KOLLEKTIVE .....</b>	<b>75</b>
<b>IV.2 WERTIGKEIT VON ICTP UND PINP IN DER DIAGNOSTIK DES PROSTATAKARZINOMS .....</b>	<b>77</b>
IV.2.1 ICTP UND PINP BEI PATIENTEN MIT PROSTATAKARZINOM UND BENIGNER PROSTATAHYPERPLASIE	77
IV.2.2 VERGLEICH VON ICTP UND PINP MIT DEM PSA WERT IN DER DIAGNOSTIK DES PROSTATAKARZINOMS	79
<b>IV.3 WERTIGKEIT VON ICTP UND PINP IN DER DIAGNOSTIK VON KNOCHENMETASTASEN BEIM PROSTATAKARZINOM .....</b>	<b>81</b>
IV.3.1 VERGLEICH DER KOLLEKTIVE VON PATIENTEN MIT UND OHNE KNOCHENMETASTASEN BEIM PROSTATAKARZINOM	82
IV.3.2 VERGLEICH VON ICTP UND PINP MIT ANDEREN DIAGNOSTISCHEN MARKERN FÜR KNOCHENMETASTASEN BEIM PROSTATAKARZINOM	86
<b>IV.4 WERTIGKEIT VON ICTP UND PINP FÜR DIE BEURTEILUNG DES KRANKHEITSVERLAUFS VON PATIENTEN MIT KNOCHENMETASTASEN .....</b>	<b>89</b>
IV.4.1 ZUSAMMENHANG ZWISCHEN ICTP, PINP UND DEM KREBSSPEZIFISCHEN VERSTERBEN	90
IV.4.2 ZUSAMMENHANG ZWISCHEN ICTP, PINP UND DEM GESAMTVERSTERBEN	92
<b>IV.5 AUSBLICK: KLINISCHE VERWENDUNG VON ICTP UND PINP BEIM PROSTATAKARZINOM .....</b>	<b>93</b>
<b>IV.6 PHYSIOLOGISCHE LIMITATIONEN DER SERUMMARKER ICTP UND PINP .....</b>	<b>94</b>
<b>IV.7 LIMITATIONEN DER STUDIE .....</b>	<b>95</b>
<b>IV.8 SCHLUSSFOLGERUNG .....</b>	<b>96</b>
<b>IV.9 ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>97</b>
<b>IV.10 LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>99</b>
<b>IV.11 ERKLÄRUNG ZUM EIGENANTEIL .....</b>	<b>111</b>
<b>IV.12 DANKSAGUNG .....</b>	<b>112</b>

## Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
µg/l	Mikrogramm pro Liter
AHT	antihormonelle Therapie
AP	alkalische Phosphatase
B	Radioaktivität einer Probe
B0	gebundene Radioaktivität des Nullkalibrators
BPH	benigne Prostatahyperplasie
bzw.	beziehungsweise
CCC	Cancer Comprehensive Center
CT	Computertomographie
ELISA	Enzymimmunoassay
FSH	follikel-stimulierendes Hormon
HR	Hazard Ratio
ICTP	C-terminales Telopeptid vom Typ I Kollagen
IgG	Immunglobulin G
KI	Konfidenzintervall
LH	luteinisierendes Hormon
M-Stadium	Metastasenstadium
ng/ml	Nanogramm pro Milliliter
nm	Nanometer

NSB	nicht spezifische Bindung
N-Stadium	Lymphknotenstadium
OD	optische Dichte
OPG	Osteoprotegerin
PC	Prostatakarzinom
PINP	N-terminales Propeptid vom Typ I Prokollagen
PSA	prostataspezifisches Antigen
RANK	Receptor Activator of NF- $\kappa$ B
RIA	Radioimmunoassay
SRE	Skeletal Related Events
STD	Standardabweichung
TRUS	transrektaler Ultraschall
T-Stadium	Tumorstadium
UICC	Union internationale contre le cancer
vs.	Versus
$\beta$ -CTX	beta Isomer des C-terminalen Telopeptides von Typ I Kollagen

# I EINLEITUNG

## I.1 DAS PROSTATAKARZINOM

### I.1.1 ALLGEMEINE ASPEKTE ZUM PROSTATAKARZINOM

Das Adenokarzinom der Prostata ist die häufigste Krebserkrankung des Mannes (1). Insbesondere in westlichen Ländern nimmt die Erkrankungsrate aufgrund der immer älter werdenden Population zu. Mit einer Inzidenz von über 200 Neuerkrankungen auf 100.000 Einwohner pro Jahr ist die Inzidenz des PC in den nördlichen und westlichen Regionen Europas am höchsten (2). Während es nach wie vor Unterschiede hinsichtlich der Überlebensrate zwischen den zentralen und östlichen Ländern Europas gibt, stieg die gesamte 5-Jahres Überlebensrate aus den Jahren 1999-2001 von 73.4% auf 83.4% (2005-2007) an (3).

Trotz der steigenden Überlebensraten und der verhältnismäßig geringen Mortalität kann es im Erkrankungsverlauf zur Bildung von Metastasen kommen. Oft verlaufen diese asymptomatisch und sind in der Regel mit einer medikamentösen Therapie beherrschbar, können aber zu einem späteren Zeitpunkt mit Komplikationen einhergehen (4). Neben Lymphknotenmetastasen gehören Knochenmetastasen zu den häufigsten Lokalisationen für Metastasen beim PC (5). Insbesondere Knochenmetastasen können zu schwerwiegenden Komplikationen führen, welche den Patienten stark einschränken und in seiner Lebensqualität kompromittieren (6). Derartige Komplikationen sollen früh verhindert werden, sind aber oft erst bei bereits deutlicher Tumorausdehnung bildmorphologisch oder klinisch ersichtlich (7). In diesem Zusammenhang spielt die Entwicklung von neuen Knochenumbau markern, welche auf ein Tumorgeschehen im Knochen hinweisen, eine zentrale Rolle. Insbesondere sollen solche Marker eine Aussage zur Diagnose und Prognose von Knochenmetastasen ermöglichen, um damit eine entsprechende Therapieeinleitung oder -änderung rechtzeitig zu initiieren.

## I.1.2 GRUNDLEGENDE DIAGNOSTIK BEIM PROSTATAKARZINOM

### I.1.2.1 DIE DIGITAL-REKTALE UNTERSUCHUNG

Die digitale-rektale Untersuchung beschreibt die transrektale Abtastung der Prostata mit dem Finger. So ist diese Untersuchung bei einem PSA-Wert von größer als 2 ng/ml mit einer positiven Prädiktionsrate von 5-30% verbunden (8). Deshalb sollte bei auffälligem rektalem Tastbefund eine Stanzbiopsie der Prostata empfohlen werden (9, 10).

### I.1.2.2 DAS PROSTATASPEZIFISCHE ANTIGEN-PSA

Das bislang wichtigste Werkzeug in der Diagnostik des PC stellt nach wie vor die PSA Messung im Serum dar (11). Beim PSA handelt es sich um das Enzym Kallikrein-3 welches eine Serinprotease darstellt und explizit von Epithelzellen der Prostata gebildet wird (12). Dieses Enzym ist organspezifisch aber nicht krebsspezifisch. Erhöhte Werte können somit auf das Vorhandensein einer Entzündung, einer gutartigen Vergrößerung der Prostata oder auf ein PC hinweisen (12). Generell gilt: je höher der PSA-Wert, desto höher ist auch die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen eines PC (13). Als allgemeingültiger Cut-Off-Wert gilt aktuell eine gemessene Serum-Konzentration von 4 ng/ml (13).

Zur Verbesserung der Diagnostik und Interpretation dieses Serummarkers wurden vielerlei Varianten und Berechnungsmöglichkeiten des PSA-Wertes entwickelt. Die Gängigsten hierunter sind neben der Ratio aus freiem und totalem PSA (zur besseren Unterscheidung zwischen PC und BPH) auch die PSA-Velocity und die PSA-Verdopplungszeit (13, 14). Die PSA Verdopplungszeit misst den exponentiellen Anstieg des PSA Wertes über einen gewissen Zeitraum: so weist eine kurze PSA Verdopplungszeit auf ein aggressives Tumorwachstum hin (15, 16).

Trotz der These, dass die Höhe des PSA-Wertes mit einem bildmorphologischen Progress des Tumors zu korrelieren scheint, gibt es nach wie vor keinen eindeutigen Cut-Off-Wert hierfür (17). Insbesondere bei der ossären Metastasierung ist die Früherkennung wichtig, um mittels therapeutischen und unterstützenden Therapiemaßnahmen mögliche schwerwiegende Komplikationen zu vermeiden (18).

### I.1.2.3 DER TRANSREKTALE ULTRASCHALL-TRUS

Das wohl am häufigsten primär verwendete bildgebende Verfahren zur Darstellung der Prostata ist der TRUS. Dieser dient insbesondere der morphologischen Darstellung der Prostata als auch der Größenbestimmung. Was die Aussagekraft hinsichtlich eines möglichen PC betrifft, konnte gezeigt werden, dass lediglich 60% der Tumoren sonographisch sichtbar sind. Der restliche Teil stellt sich isoechogen dar und kann somit sonographisch nicht detektiert werden (19). Die Kombination aus DRU und TRUS kann im Weiteren zu einer besseren Detektion fortgeschrittener PC führen, als die jeweilige Methode allein (20).

### I.1.2.4 DIE BIOPTISCHE DIAGNOSESICHERUNG DES PROSTATAKARZINOMS

Besteht nach DRU oder PSA-Wert Bestimmung klinisch oder laborchemisch der Verdacht auf das Vorliegen eines PC soll eine Stanzbiopsie der Prostata empfohlen werden (19). Hierbei sollen aber etwaige Komorbiditäten beachtet werden, da sich daraus therapeutische Konsequenzen ableiten können (21). Die bevorzugte Vorgehensweise für die Biopsie ist der transrektale Zugang mittels Ultraschall. Alternativ kann aber auch eine perineale Biopsie durchgeführt werden (22).

Wenn auch diese standardmäßig verwendeten diagnostischen Basisuntersuchungen beim PC bereits eine erste Einschätzung des Tumorausmaßes ermöglichen, bleibt die Erkennung von Metastasen in einem frühen Stadium schwierig. Selbst unter der Verwendung von weiteren bildgebenden Verfahren wie CT oder Knochenszintigraphie können Metastasen erst ab einer gewissen Größe detektiert werden (23-25). In diesem Zusammenhang konnten Studien belegen, dass Knochenbaumarke­rer bereits vor den ersten sichtbaren Knochenmetastasen im Serum auftreten können (26). Die Bestimmung derartiger Marker im Serum könnte somit auf einen veränderten Knochenstoffwechsel hindeuten und für die rechtzeitige Erkennung von Knochenmetastasen hilfreich sein.

### I.1.3 DIE TNM-KLASSIFIKATION DES PROSTATAKARZINOMS

Die Klassifizierung des PC ist deshalb so wichtig, weil die entsprechende Therapie davon beeinflusst werden kann. Insbesondere die Unterscheidung zwischen lokal begrenztem und lokal fortgeschrittenem sowie metastasiertem und nicht metastasiertem PC ist von großer Wichtigkeit für die weitere Behandlung (27, 28). Die TNM-Klassifikation des PC wird anhand von Faktoren wie das lokale Ausmaß des Tumors (T), das Vorhandensein von betroffenen Lymphknoten (N) sowie das Vorhandensein von Metastasen (M) gebildet (Tabelle 1) (29). Zudem wird zwischen einem klinischen und pathologischen TNM-Stadium unterschieden. Während sich das klinische (cTNM) auf die körperliche Untersuchung, PSA Wert, Stanzbiopsie und bildgebenden Verfahren stützt, beinhaltet das pathologische Stadium (pTNM) die genau histologische Auswertung nach radikaler Prostata- und Lymphknotenentfernung (Tabelle 1) (30).

**Tabelle 1:** TNM-Klassifikation des Prostatakarzinoms nach UICC 2009 (29).

<b>T – Primärtumor</b>	
<b>TX</b>	Primärtumor nicht beurteilbar
<b>T0</b>	Kein Anhalt für Primärtumor
<b>T1</b>	Tumor klinisch nicht erkennbar
<b>T1a</b>	Inzidenteller histologischer Befund, weniger als 5% des resezierten Gewebes
<b>T1b</b>	Inzidenteller histologischer Befund, mehr als 5% des resezierten Gewebes
<b>T1c</b>	Tumor durch Nadelbiopsie diagnostiziert
<b>T2</b>	Tumor auf die Prostata begrenzt
<b>T2a</b>	Tumor infiltriert maximal die Hälfte eines Prostatalappens
<b>T2b</b>	Tumor infiltriert mehr als die Hälfte eines Prostatalappens
<b>T2c</b>	Tumor infiltriert beide Prostatalappen
<b>T3</b>	Tumor überschreitet die Prostatakapsel
<b>T3a</b>	Extrakapsuläre Ausbreitung (ein- oder beidseitig)
<b>T3b</b>	Tumor infiltriert eine oder beide Samenblasen
<b>T4</b>	Tumor infiltriert umliegende Strukturen (Blase, Sphinkter externus, Enddarm, Beckenboden, Beckenwand)
<b>N – Regionäre Lymphknoten</b>	
<b>N0</b>	Kein Anhalt für Vorliegen von regionären Lymphknotenmetastasen
<b>N1</b>	Vorliegen von regionären Lymphknotenmetastasen
<b>M – Fernmetastasen</b>	
<b>M0</b>	Kein Anhalt für Vorliegen von Fernmetastasen
<b>M1</b>	Vorliegen von Fernmetastasen
<b>M1a</b>	Nicht regionärer Lymphknotenbefall
<b>M1b</b>	Knochenmetastasen
<b>M1c</b>	andere Manifestationen

### I.1.3.1 DAS T-STADIUM

In erster Linie soll beim PC eine klinische Schätzung des T-Stadiums erfolgen. Hier ist insbesondere eine Unterscheidung zwischen organbegrenztem sowie organüberschreitendem Wachstum wichtig, da dies die weitere Therapie beeinflussen kann (29, 31).

Eine genaue Aussage zum T-Stadium lässt sich letztendlich nur nach der Entfernung der Prostata sowie histologischen Untersuchung treffen. Jedoch lässt ein Panel aus mehreren Einzeluntersuchungen wie PSA, Gleason Score und die Prostatastanzbiopsie eine klinische Einschätzung des T-Stadiums im Vorfeld zu (31, 32).

### I.1.3.2 DAS N-STADIUM

Ein N-Staging soll dann erfolgen, wenn dies den weiteren Behandlungsverlauf direkt beeinflusst. Dies trifft bei Patienten mit kurativen Therapieansatz zu, bei denen aber bereits eine lymphonodale Ausbreitung erfolgt sein könnte (33, 34). So ist in diesen Fällen neben dem PSA-Wert und dem Gleason Score eine radiologische Untersuchung notwendig (35, 36). Letztlich bleibt jedoch die Lymphadenektomie der Goldstandard im Lymphknotenstaging (30, 37).

### I.1.3.3 DAS M-STADIUM

Ein Mann der an einem PC erkrankt ist, kann im Laufe seines Lebens Metastasen entwickeln. Diese können über einen langen Zeitraum asymptomatisch verlaufen, zu einem späteren Zeitpunkt aber auch mit Komplikationen einhergehen (4). Neben den lokalen Lymphknoten im kleinen Becken, kann das PC auch in weiter entfernte Lymphknoten, in den Knochen sowie in Organe metastasieren (5). Abhängig von der Lokalisation kann das mittlere Überleben trotz des Vorliegens von Metastasen bis zu 60 Monate betragen (4). Aktuell stehen uns neben bildgebenden Verfahren jedoch kaum Marker zur Verfügung, die uns das Vorkommen von Metastasen vorhersagen können. Die am häufigsten verwendeten Hilfsmittel zur Diagnose ossärer Filiae sind die Bestimmung der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase im Serum sowie die Durchführung einer Computertomographie oder einer Skelettszintigraphie (7, 38, 39).

Diese Verfahren sind allerdings dadurch gekennzeichnet, maligne Läsionen erst ab einer gewissen Größe zu entdecken bzw. den Wachstumsverlauf zu beurteilen. Insbesondere bei Knochenmetastasen gilt es aber, diese rechtzeitig zu erkennen um hierdurch entstehende Komplikationen zeitnah behandeln zu können (40). Somit besteht weiterhin ein großer Bedarf in der Untersuchung und klinischen Verwendung von Markern für den Knochenstoffwechsel.

#### I.1.4 DER GLEASON SCORE

Zum PSA-Wert und der TNM-Klassifikation kommt das Grading beim PC als wichtiger Baustein für die Beurteilung der Aggressivität hinzu (41). Dies erfolgt sowohl bei der Beurteilung der Stanzbiopsie als auch nach Prostatektomie. Hierbei hat sich im Laufe der Zeit das sogenannte Grading nach Gleason etabliert und ist fester Bestandteil einer jeden histologischen Gewebeaufarbeitung beim PC. Dieses Grading soll den Grad der Entdifferenzierung wiedergeben (42). Errechnet wird hierbei eine Summe, basierend auf dem primären und sekundären Muster. Die Höhe dieses sogenannten Gleason Score gibt die Aggressivität des PC an (41, 42).

### I.1.5 THERAPIEMÖGLICHKEITEN DES PROSTATAKARZINOMS

Die Therapiemodalität des PC muss in Abhängigkeit von der klinischen Ausdehnung des Tumors gewählt werden. Hauptsächlich wird hier zwischen dem lokal begrenzten sowie dem lokal fortgeschrittenen und metastasierten PC unterschieden (29).

#### I.1.5.1 THERAPIE DES LOKAL BEGRENZTEN PROSTATAKARZINOMS

Bei der Therapie des lokal begrenzten Prostatakarzinoms werden verschiedenen Behandlungsmodalitäten angeboten. Hierunter fallen nicht invasive Möglichkeiten wie die aktive Überwachung sowie das Watchful-Waiting (43, 44). Während das Watchful-Waiting eine symptomorientierte Behandlung bei Patienten mit eingeschränkter Lebenserwartung eingesetzt wird (45, 46), zielt die aktive Überwachung auf eine kurative Therapie zum richtigen Zeitpunkt ab (43). So wird der Patient nicht unmittelbar zum Zeitpunkt der Diagnose behandelt, soll jedoch im Verlauf eine kurative Therapie erhalten (27).

Zu den invasiven Therapieformen des PC gehören neben der radikalen Prostatektomie, die Strahlentherapie sowie die Brachytherapie oder fokale Therapie.

Unter der Prämisse die Kontinenz sowie die Potenz zu erhalten, soll durch diese Therapieverfahren die Prostata komplett entfernt oder das vom Tumor befallene Gewebe zerstört werden (47).

#### I.1.5.2 THERAPIE DES FORTGESCHRITTENEN PROSTATAKARZINOMS

Das fortgeschrittene PC ist oft Folge eines primär lokalisierten und kurativ behandelten PC. Jedoch kann es auch unbemerkt zu einem Fortschreiten der Erkrankung kommen, sodass sich der Patient zum Zeitpunkt der Erstdiagnose bereits in einem lokal fortgeschrittenen oder metastasierten Stadium befindet (4). In Einzelfällen können auch hier kurative Therapieverfahren angewendet werden. Häufig setzt sich die Behandlung jedoch aus dem Watchful-Waiting, der AHT oder im weiteren Verlauf aus der Chemotherapie zusammen (43, 48).

Da die Behandlung des PC darauf abzielt die Entstehung fortgeschrittener PC zu verhindern, wären sowohl in der Früherkennung als auch in der Tumornachsorge Marker oder Untersuchungsmethoden von Vorteil, welche auf ein solches Tumorgeschehen rechtzeitig hinweisen können.

#### I.1.5.2.1 DIE ANTIHORMONELLE THERAPIE

Die AHT mittels medikamentöser Androgensuppression oder vormals Orchiectomie, ist wichtigster Bestandteil in der Therapie des fortgeschrittenen oder metastasierten PC (49, 50).

Die Zellen des PC scheinen testosteronabhängig zu sein und somit gut zugänglich für einen Androgenentzug (51). Im Allgemeinen sind die Hoden größtenteils für die Androgenproduktion verantwortlich (52). Reguliert wird die Testosteronsekretion durch die Hypothalamus-Hypophysen-Gonadenachse (53, 54). Hierbei stimuliert das luteinisierende Hormon-releasing Hormon (LHRH) den vorderen Anteil der Hypophyse, was zur Freisetzung von luteinisierendem Hormon (LH) und Follikel-stimulierendem Hormon (FSH) führt (54). Das LH stimuliert dann die Leydig-Zellen im Hoden, was zur Testosteronproduktion führt (55). Das zirkulierende Testosteron wird in der Peripherie in Östrogen umgewandelt, welches zusammen mit den übrigen Androgenen einen negativen Feedback- Mechanismus auf den Hypothalamus und die LH-Produktion und somit eine Hemmung derselben bewirkt (56). Da Prostatazellen androgenabhängig sind, kommt es im Falle eines Androgenentzuges zur Apoptose. Dies findet wiederum in der Behandlung des fortgeschrittenen PC Anwendung (57).

Die Wirkungsweise der Hormontherapie kann unterschiedlich genutzt werden. So kann zum einen die Sekretion der testikulären Testosteronproduktion über die Hypothalamus-Hypophysenachse unterdrückt werden, als auch die Wirkung der zirkulierenden Androgene am entsprechenden Rezeptor antagonisiert werden (58). Die Kombination aus beidem ist als komplette Androgenblockade bekannt (58).

#### I.1.5.2.2 THERAPIE DES KASTRATIONSRESISTENTEN PROSTATAKARZINOMS

Das kastrationsresistente PC ist definiert als progrediente Erkrankungsphase mit einem steigendem PSA-Wert trotz laufender AHT (59). Hierbei sind nach 2-4-wöchigem Antiandrogen-Entzug die gemessenen Testosteronwerte im Serum auf Kastrationsniveau (60). Der Mechanismus der Kastrationsresistenz wird vor allem in der Veränderung des Androgenrezeptors vermutet (51). Hier spielen insbesondere die Genamplifikation aber auch die Überexpression eine wichtige Rolle (51, 59). Bei der Diagnose der Kastrationsresistenz kann ein Versuch mittels maximaler Androgenblockade unternommen werden. Dies beinhaltet die Kombination eines LHRH-Analogons mit einem nicht-steroidalem Androgenrezeptorantagonisten (61). Bei einem Progress hierunter kann ein Wechsel des Androgenrezeptorantagonisten erfolgen oder dieser abgesetzt werden (62). Sollte es hierunter weiterhin zu einem Progress der Erkrankung kommen, wird die Änderung der Hormontherapie oder die Einleitung einer Chemotherapie empfohlen (61).

Der richtige Zeitpunkt eines solchen Therapiewechsels bleibt jedoch nach wie vor unklar. Ebenso vermeiden möchte man einen zu frühen Therapiewechsel. Letztlich fehlen hierfür laborchemische Marker, die das Fortschreiten der Erkrankung oder das Auftreten neuer Metastasen bereits im frühen Stadium signalisieren können.

### I.1.6 DAS OSSÄR METASTASIERTE PROSTATAKARZINOM

Durch den demographischen Wandel und die dadurch steigende Prävalenz des PC sowie die zunehmenden Behandlungsmöglichkeiten finden sich immer mehr Patienten, welche im Laufe der Erkrankung Knochenmetastasen aufweisen (63). Aktuell geht man davon aus, dass etwa 60-80% der Patienten mit einem PC im Laufe der Erkrankung ossäre Filiae entwickeln (40). Speziell beim PC zeigen sich die Knochenmetastasen zumeist osteoplastisch mit zum Teil osteolytischen Zügen (64). Radiologisch zeigen sich diese Läsionen häufig im Achsenskelett, insbesondere in den Wirbelkörpern, sowie in den Beckenknochen (65). Bereits deutlich vor dem radiologischen Erscheinen, können im Rahmen der beginnenden ossären Metastasierung Metaboliten des Knochenstoffwechsels vermehrt im Blut erscheinen und auf eine Knochenbeteiligung hinweisen (66). Die Knochenmetastasen weisen histologisch eine wenig organisierte Mikrostruktur auf, weshalb sie anfällig für pathologische Frakturen sind (67).

Wenn auch die bildgebenden Verfahren Knochenmetastasen diagnostizieren können, konnte auch gezeigt werden, dass erhöhte Knochenumbaumarker im Serum bereits Monate vor dem bildmorphologischen sichtbaren Befund auftreten können (26). Mit Hilfe einer frühzeitigen Erkennung durch solche Marker, könnten Komplikationen wie Schmerzen und Frakturen rechtzeitig verhindert werden. Diese sogenannten Skeletal Related Events (SRE) sind Ereignisse, welche im unmittelbaren Zusammenhang mit einer ossären Metastasierung stehen. Hierzu zählen Frakturen der Knochen, Rückenmarkskompression oder die maligne Hyperkalzämie (18). Ebenso dazu zählen operative Eingriffe, welche aufgrund Knochenmetastasen hervorgerufen werden, notwendig sind (68). Ursache für die SRE's ist die verminderte Produktion robuster Knochenmasse (68). Diverse Studien konnten zeigen, dass die Inzidenz von SRE's in den ersten zwei Jahren nach der Diagnose eines metastasierten PC bei 41.9% liegt (69). Zur Senkung der Häufigkeit der SRE's wird deshalb die unterstützende Therapie mittels im Knochen antiresorptiv wirksamen Medikamenten empfohlen (70).

#### I.1.6.1 BEGLEITTHERAPIE BEIM OSSÄR METASTASIERTEM PROSTATAKARZINOM

Bei Patienten mit Knochenmetastasen kommt es bei bis zu 50% zu pathologischen Frakturen (71). Damit das Risiko hierfür gesenkt wird, empfiehlt es sich regelmäßig ein Bisphosphonat oder einen RANK-Ligand-Inhibitor zu verabreichen (18). Dies hemmt die abbauende Aktivität der Osteoklasten und verringert das Auftreten von ossären Komplikationen (71).

### I.1.7 LIMITATIONEN DER METASTASENSITUATION BEIM PROSTATAKARZINOMS

Trotz der vorhandenen diagnostischen Untersuchungsmöglichkeiten wie PSA oder Skelettszintigraphie, Risikomodell, TNM-Klassifikation oder Gleason Score, gibt es nach wie vor eine Gruppe von Patienten, bei denen eine ossäre Metastasierung aufgrund fehlender knochenspezifischer Diagnostik vorliegt und unbemerkt voran schreiten kann (31). In diesem Zusammenhang konnte eine Studie beweisen, dass bei Patienten mit Knochenmetastasen erhöhte Werte für den Knochenumbau marker PINP bis zu 8 Monate vor einer knochenszintigraphisch feststellbaren Läsion auftreten können (26).

Letztlich ist die Beurteilung der Metastasensituation beim PC aufgrund der teilweise ausgeprägten Heterogenität der Erkrankung schwierig und stellt eine große Herausforderung für die Medizin dar (5). Prognosefaktoren spielen hierbei eine wichtige Rolle (66, 72, 73). Insbesondere Knochenumbau marker sollen hierfür eingesetzt werden, um die Früherkennung und Verlaufsbeurteilung von Knochenmetastasen verbessern. Dadurch können bei Patienten mit Knochenmetastasen Komplikationen rechtzeitig vermieden werden, was wiederum zu einer Verbesserung der Lebensqualität führen kann (18).

### I.1.8 PROGNOSE DES METASTASIERTEN PROSTATAKARZINOMS

Wenn auch die Prognose beim PC insgesamt günstig ist, hängt sie doch stark von der Ausprägung des Tumors ab (5). Bei Patienten mit einer metastasierten Erkrankung ist aufgrund der Heterogenität eine klare Vorhersage der Prognose schwierig. So haben Patienten mit einer geringen Metastasenlast eine mittlere Überlebensrate von 58 Monate, Patienten mit viszeralen Metastasen oder ausgeprägten Knochenmetastasen hingegen nur 30 Monate (5). Ein weiterer wichtiger Prognosefaktor ist das Ansprechen des PSA-Werts auf die Therapie (72). So wird auch der PSA-Wert nach einer 7-monatigen antihormonellen Therapie als prognostischer Faktor bewertet. Ist dieser hierbei unter 0.2 ng/ml liegt das mittlere Gesamtüberleben bei 75 Monaten, ist der PSA < 4 ng/ml bei 44 Monaten und liegt der PSA > 4 ng/ml bei lediglich 13 Monaten (74). Die mittlere Überlebenszeit in den Chemotherapiestudien ist deutlich geringer und liegt bei 12-18 Monaten (61).

Inwieweit die Entwicklung neuer Marker für den Knochenstoffwechsel das Auftreten oder einen Progress ossärer Metastasen vorhersagen sowie das Überleben verbessern können ist nicht vollends erforscht. Es gibt jedoch bereits Studien die einen Zusammenhang zwischen Metaboliten des Knochenstoffwechsel sowie der Prognose des metastasierten PC erbringen konnten (66, 75, 76). Einen festen Bestandteil im Therapiealgorithmus haben diese Marker jedoch noch nicht.

Mit dem Ziel Komplikationen zu verhindern, könnten solche Marker hilfreich für den rechtzeitigen Behandlungsbeginn oder den Therapiewechsel beim fortgeschrittenen PC sein. Das könnte sich wiederum auf die Prognose des PC auswirken.

## I.2 ALLGEMEINE ASPEKTE DER OSSÄREN METASTASIERUNG

Ein wichtiger Aspekt der ossären Metastasierung ist die Fähigkeit der Tumorzellen in den Knochen einzudringen und dort eine Läsion hervorzurufen (77, 78). Die Metastasierung von Tumorzellen ist ein komplexer Vorgang, der von vielen Faktoren abhängt. So müssen sich Tumorzellen vom Primärtumor lösen, das umliegenden Gewebe infiltrieren und in das Blutsystem oder Lymphsystem gelangen (79). Im Zielgewebe angelangt, müssen körpereigene Zellen manipuliert werden um das Tumorwachstum zu etablieren (77).

Normalerweise würde die Struktur des Knochengewebes dies verhindern, jedoch bewirkt das veränderte Mikromilieu der Tumorzellen eine Umgehung der natürlichen Schutzmechanismen des Knochengewebes sowie eine Ausbreitung in demselben (78). Unterteilt werden die Knochenmetastasen in osteoplastische, osteolytische sowie gemischte Läsionen (78, 80). Osteolytische oder auch osteoklastische Metastasen stimulieren knochenresorbierende Zellen, was wiederum zu einer Destruktion des Knochens führt und pathologische Frakturen provoziert (78, 80). Beim PC sind osteoplastische Metastasen typisch, welche insbesondere durch die Aktivierung von knochenstimulierenden Zellen (Osteoblasten) entstehen (78, 80). Hierbei binden die Tumorzellen Osteoblasten um sich, was wiederum zu einer deutlich weiten Trabekulierung der Knochenstruktur führt und nur wenig Stabilität bietet. Dies führt wiederum zu einem gesteigerten Frakturrisiko (78, 80). Es ist generell bekannt, dass Knochenresorption und Knochenaufbau naturgemäß gekoppelt sind und im Gleichgewicht passiert (81). Gerade dieses Gleichgewicht ist bei Tumorerkrankungen gestört, was wiederum zu osteolytischen, osteoplastischen und auch gemischten Metastasen führt (78). Dieser Mechanismus ist sehr komplex und beginnt mit dem Eindringen von Krebszellen in den Knochen durch spezifische Migrations- und Invasionsprozesse. Das anschließende sogenannte Osteomimicry führt dazu, dass Tumorzellen die knocheneigenen Zellen nachahmen und somit eine Stimulation von Osteoblasten oder Osteoklasten bewirken (77).

### I.2.1 MARKER FÜR DEN KNOCHENSTOFFWECHSEL

Im Allgemeinen macht Kollagen Typ I über 90% der organischen Knochenmatrix aus (78). Dieses Kollagen Typ I wird während des ständigen Knochenumbaus abgebaut. Die dabei entstehenden Abbauprodukte gelangen in die Blutbahn und werden renal eliminiert (82). Im Falle eines gesteigerten Abbau oder Umbau im Knochen, wie man dies bei einer ossär metastasierten Erkrankung vorfindet, können diese Produkte im Serum ansteigen (78). Marker, die derartige Veränderungen im Stoffwechsel anzeigen, gewannen in den letzten zwei Jahrzehnten zunehmend an Stellenwert in der Diagnostik und Therapie von Knochenerkrankungen (83, 84). Mittlerweile sind verschiedene biochemische Marker erhältlich, mit welchen der Umbau und die Resorptionsrate im Knochen monitorisiert werden kann (83). Betrachtet man die Literatur spielt hierbei unter anderem Kollagen sowie dessen Fragmente eine zunehmend zentrale Rolle. Eben diese Produkte des Knochenstoffwechsels finden eine besondere Bedeutung in der Einschätzung der Knochenmetastasierung sowie einer möglichen Therapiekontrolle (85).

Es lassen sich im Allgemeinen zwei Formern von Markern für den Knochenstoffwechsel nennen:

- Marker für eine vermehrte Knochenbildung
- Marker für eine vermehrte Knochenresorption

Marker für eine vermehrte Knochenbildung sind unter anderem Osteocalcin, die knochenspezifische alkalische Phosphatase und die N-terminale Form vom Prokollagen Typ I Propeptid (PINP) (83). Unter Marker für die Knochenresorption fallen Fragmente von Kollagen wie das C-terminale Telopeptid vom Typ I Kollagen (ICTP) und das beta-Isomer des C-terminalen Telopeptids von Typ I Kollagen ( $\beta$ -CTX) (83).

#### I.2.1.1 DAS N-TERMINALE PROPEPTID VOM TYP I PROKOLLAGEN (PINP)

Prokollagen Typ I ist ein Propeptid und stammt von Kollagen Typ I, welches das am häufigsten im Knochen vorkommende Kollagen darstellt (86, 87). Im Knochen wird Kollagen von Osteoblasten in Form von Prokollagen Typ I synthetisiert (87). Dieses Prokollagen beinhaltet amino- und carboxyterminale Präkursor-Proteine. Die aminoterminalen Propeptide PINP werden durch Proteasen bei der Umwandlung von Prokollagen in Kollagen abgespalten und können anschließend ins Serum gelangen. Dies kann wiederum als Marker für das Ausmaß an Bildung von Kollagen Typ I verwendet werden (88). Zwar können Propeptide auch von anderem Gewebe stammen (Haut, Gefäße oder Knorpel), jedoch weisen diese Gewebsarten einen nur sehr langsamen Stoffwechsel auf und somit nur eine geringe Beteiligung am Gesamtanteil von PINP (87, 89).

#### I.2.1.2 DAS C-TERMINALE TELOPEPTID VOM TYP I KOLLAGEN (ICTP)

Das C-terminale Telopeptid vom Typ I Kollagen (ICTP) ist ein trivalentes Kollagen, welches aus drei Polypeptidketten besteht. Es wird als Indikator für den Abbau von Typ I Kollagen bezeichnet (90). So ist ICTP im Serum bei osteolytischen Erkrankungen des Knochens erhöht, hat aber den Vorteil nur wenig mit sonstigen physiologischen Veränderungen im Knochenstoffwechsel zu interagieren (91). ICTP wird renal eliminiert, weshalb eine Niereninsuffizienz einen falsch positiven Wert provozieren kann (82).

### I.2.2 BEDEUTUNG VON PINP UND ICTP BEIM PROSTATAKARZINOM

Generell gilt bei Patienten mit potentiellen Knochenmetastasen diese frühzeitig zu erkennen um somit eine Behandlung rechtzeitig zu initiieren (18). Des Weiteren ist das Monitoring einer laufenden Therapie bei einer ossär metastasierten Erkrankung äußerst wichtig, um die Notwendigkeit eines Therapiewechsels frühzeitig erkennen zu können. Beim PC basiert die Bildgebung zur Erkennung von Knochenmetastasen primär auf dem Knochenszintigramm, welches bei Erstdiagnose sehr sensitiv, beim Monitoring jedoch Limitation aufweist (25). Zudem ist diese Untersuchung invasiv, Zeitaufwändig und kostenintensiv. Auch die Computertomographie kann im Frühstadium nicht immer einen richtungsweisenden Befund ergeben (92). Insofern spielen sogenannte Knochenmarker in der Diagnose, Prognose und Therapie von Erkrankungen mit Knochenmetastasen eine wichtige Rolle. Die Peptide ICTP und PINP kommen im Blut als intakte Peptide vor und stammen von Knochenumbau oder Knochenresorption (87, 88, 90). Hierbei können diese Peptide vermehrt im Serum anfallen, weshalb eine quantitative Bestimmung dieser Peptide somit für die Früherkennung von ossären Metastasen sowie die Beurteilung eines möglichen Therapieansprechens hilfreich sein kann (73). Auch kann durch die Höhe der Serumkonzentration dieser Peptide möglicherweise auf die Prognose der Erkrankung geschlossen werden (66, 75).

Beide Serummarker wurden in der Vergangenheit bereits in diversen Studien untersucht. Allerdings ist die Verhaltensweise von PINP und ICTP bei diversen Krankheitsbildern nicht hinreichend geklärt. Weitere Studien sind notwendig, um den Stellenwert dieser Marker beim PC besser einschätzen zu können. Auch könnte dadurch eine Einbindung in den klinischen Algorithmus erfolgen.

### I.2.2.1 PINP BEIM PROSTATAKARZINOM

Da PINP ein Marker für die Osteoblastenaktivität ist, konnte in er in vielen Studien erfolgreich als Indikator für das Vorliegen eines ossär metastasierten PC untersucht werden (89). Obwohl die Ergebnisse aus den bisherigen Studien vielversprechend sind, erfolgt ein routinemäßiger klinischer Einsatz bislang jedoch nicht. Koizumi et al. konnte zeigen, dass bei Patienten mit PC und Knochenmetastasen PINP durchschnittlich bei 231 ng/ml liegt bzw. beim nicht metastasierten Patienten bei 31 ng/ml (89). In einer weiteren Studie wurden Patienten mit BPH, metastasiertem PC und nicht metastasiertem PC verglichen. Hier konnte gezeigt werden, dass Patienten mit einem ossär metastasierten PC signifikant höhere PINP Werte aufweisen als Patienten ohne Knochenmetastasen und PC (569 ng/ml versus 32 ng/ml). Ein Unterschied zwischen BPH Patienten sowie Patienten mit nicht metastasiertem PC konnte nicht gefunden werden. Die Autoren schlussfolgerten hieraus eine 100%ige Sensitivität und Spezifität für Knochenmetastasen für PINP beim PC (93). Einen weiteren Beitrag hierzu leistete auch die Gruppe um Klepzig (94). Auch hier wurde PINP beim Prostatakarzinom untersucht. Dabei konnte ebenso gezeigt werden, dass sich Patienten mit Knochenmetastasen zu Patienten mit BPH unterscheiden. Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied hinsichtlich PINP (Median: 194.7ng/ml) als auch der AP ( $p \leq 0.001$ ). Eine weitere wichtige Erkenntnis dieser Studie war der Vorteil von PINP im Vergleich zum PSA-Wert und zu AP bezüglich der hohen Sensitivität und Spezifität in der Diagnostik von Knochenmetastasen. Zudem war PINP in der Lage, unabhängig vom Lokalbefund, zwischen dem Vorhandensein und Nicht-Vorhandensein von Knochenmetastasen zu unterscheiden. Auch wurde PINP konträr zu AP nicht durch das Vorliegen von viszerale Metastasen beeinflusst (94).

#### I.2.2.2 ICTP BEIM PROSTATAKARZINOM

ICTP gilt als ein Abbauprodukt von Typ I Kollagen und wird bei Knochenmetastasen, teilweise ins Serum abgegeben (95). ICTP scheint im Serum bei osteolytischen oder osteoplastischen Erkrankungen des Knochens erhöht (95). Von allen knochenspezifischen Markern haben jene der Knochenresorption die höchste diagnostische Aussagekraft hinsichtlich der Prädiktion von Knochenmetastasen (83). So konnte für ICTP durchaus eine diagnostische und prognostische Relevanz beim PC gezeigt werden (96). Teilweise war ICTP anderen Markern diesbezüglich sogar überlegen (97). Darüber hinaus bietet ICTP auch Informationen bei Knochenmetastasen mit laufender Bisphosphonattherapie im Sinne eines Therapie-Monitoring (76, 85).

### I.3 FRAGESTELLUNG

Eine ossäre Metastasierung beim PC kann Jahre nach der Primärtherapie auftreten und die Prognose sowie Lebensqualität der betroffenen Patienten maßgeblich beeinflussen. Dies macht die rechtzeitige Erkennung von Knochenmetastasen zu einem zentralen Thema in der Behandlung des PC. Geeignete Marker für den Knochenstoffwechsel sollen Patienten mit und ohne Knochenmetastasen voneinander unterscheiden können sowie eine Aussage über die Prognose der Erkrankung zulassen.

Die Knochenstoffwechsellmarker ICTP und PINP stammen von Knochendegeneration oder Resorption und kommen im Blut als intakte Peptide vor (87, 88, 90). Bei Knochenmetastasen können beide Metaboliten vermehrt im Blut anfallen, weshalb eine quantitative Bestimmung von ICTP und PINP hilfreich für deren Diagnose sein kann. Darüber hinaus scheinen erhöhte Konzentrationen dieser Peptide mit den Überlebensraten des PC zu korrelieren (66).

Die Bedeutung von ICTP und PINP wurde beim PC bereits mehrfach untersucht. Die diagnostische und prognostische Wertigkeit dieser beiden Peptide beim PC ist jedoch weiterhin unklar.

Ziel der vorliegenden Studie war es, die beiden Marker PINP und ICTP an einem exemplarischen Patientenkollektiv mit und ohne PC zu validieren.

Hierbei sollte zum einem der Stellenwert von ICTP und PINP in der Diagnostik von Knochenmetastasen beim PC untersucht werden.

Des Weiteren galt es, eine mögliche prognostische Nutzbarkeit der beiden Peptide bei Patienten mit PC und Knochenmetastasen zu evaluieren.

## II MATERIAL UND METHODEN

### II.1 ETHIKVOTUM

Vor Beginn der Studie wurde ein entsprechender Antrag bei der Ethikkommission der Eberhard Karls Universität Tübingen gestellt. Nach Erhalt des Ethikvotums mit der Nummer 643/2015BO1 erfolgte der retrospektive Beginn des Patienteneinschluss in die Studie.

### II.2 ERHEBUNG DES PATIENTENKOLLEKTIVS

Es erfolgte im Zeitraum 2002 bis 2007 die routinemäßige klinische Untersuchung von Patienten mit einem histologisch diagnostizierten PC sowie von Patienten mit einer, mittels transurethraler Prostataresektion oder Prostatastanzbiopsie, histologisch gesicherten benignen Prostatahyperplasie. Diesen Patienten wurde im Rahmen der regulären klinischen Vorstellung an der Klinik für Urologie Tübingen, die Bestimmung von PINP sowie ICTP angeboten und durchgeführt. Hierfür wurde das zugelassene Testverfahren der Firma Orion Diagnostica Oy verwendet. Aus dem daraus resultierendem Gesamtkollektiv mitsamt den bekannten klinischen Informationen erfolgte das Erstellen einer Datenbank mittels Excel 2010® in anonymer, pseudonymisierter Form.

### II.3 DATENSCHUTZBESTIMMUNGEN

Alle persönlichen Daten der Patienten wurden unter der strengen Befolgung der Datenschutzaufgaben und Beachtung des Datenschutzgesetzes erfasst und in anonymisierter Form verarbeitet.

## II.4 EIN- UND AUSSCHLUSSKRITERIEN

Eingeschlossen wurden

- Patienten, die vor 2007 in der Klinik für Urologie des Universitätsklinikums Tübingen wegen eines Prostatakarzinoms oder einer gutartigen Prostatahyperplasie routinemäßig behandelt worden sind – und-
- Patienten, bei welchen im Zeitraum bis 2007 eine im Rahmen der klinische Routineuntersuchung angebotenen Bestimmung der Knochenumbaumarker ICTP und PINP mittels des zugelassenen Testverfahrens der Firma Orion Diagnostica Oy, P.O.Box 83, Koivu-Mankkaantie 6 B, FI-02101 Espoo, Finnland erfolgte und sich weiterhin einem regelmäßigen klinischen Follow-Up unterzogen.

Ausgeschlossen wurden Patienten bei welchen es im Verlauf zu einem Lost of Follow-Up gekommen war.

## II.5 UNTERTEILUNG DES PATIENTENKOLLEKTIVS

Aus den Patienten bei denen ICTP und PINP bestimmt wurden, ergaben sich folgende 3 Kollektive: Patienten mit benigner Prostatahyperplasie, Patienten mit PC ohne bildmorphologische Knochenmetastasen und Patienten mit PC mit bildmorphologischen Knochenmetastasen.

### II.5.1 PATIENTEN MIT BENIGNER PROSTATAHYPERPLASIE

Es wurden insgesamt 53 Patienten mit histologisch gesicherter BPH rekrutiert. Die Gewebesicherung erfolgt bei diesen Patienten über eine transurethrale Resektion der Prostata (aufgrund einer symptomatischen Prostataobstruktion) oder die Durchführung einer transrektalen Stanzbiopsie der Prostata (bei Verdacht auf das Vorliegen eines Prostatakarzinoms). Diesen Patienten wurde zum Zeitpunkt der Vorstellung im Zeitraum bis 2007, im Rahmen der weiteren urologischen Routineuntersuchung, die Bestimmung von ICTP und PINP auf freiwilliger Basis angeboten. Diese Patientengruppe wurde dann als Kontrollgruppe in die Studie einbezogen.

### II.5.2 PATIENTEN MIT PROSTATAKARZINOM OHNE KNOCHENMETASTASEN

Alle Patienten mit bekanntem PC, jedoch ohne Nachweis von ossären Metastasen wurden in diese Patientengruppe eingeschlossen. Dabei war der bildmorphologische Metastasenstatus zum Zeitpunkt der Bestimmung von ICTP und PINP entscheidend. Es konnten damit 58 Patienten mit PC jedoch ohne Nachweis von Knochenmetastasen in diese Gruppe eingeschlossen werden.

### II.5.3 PATIENTEN MIT PROSTATAKARZINOM UND KNOCHENMETASTASEN

In diese Gruppe wurden all jene Patienten eingeschlossen, bei welchen zum Zeitpunkt der Blutentnahme zur Bestimmung von ICTP und PINP eine bildmorphologisch gesicherte ossäre Metastasierung bekannt war. Es konnten 70 Patienten identifiziert werden.

Bei 5 Patienten war eine Einteilung in diese beiden Gruppen zum Zeitpunkt der Blutentnahme nicht möglich.

## II.6 PROBENGEWINNUNG

Die venöse Probenentnahme erfolgte im Zeitraum bis 2007 im Rahmen einer routinemäßigen Vorstellung von Patienten mit PC sowie Patienten mit BPH an der Klinik für Urologie Tübingen. Im Vorfeld erfolgte eine genaue Information und Beratung über den Nutzen des zugelassenen Tests sowie dessen klinischen Verwendung.

### II.6.1 TECHNISCHE AUFARBEITUNG DER PROBEN

Im Rahmen dieser Studie wurden die zwei verschiedenen Kollagenmarker PINP sowie ICTP bestimmt, welchen ein Zusammenhang mit ossären Filiae beim PC aber auch bei anderen Tumorerkrankungen zugesagt wird. Das zu diesem Zweck entnommene Blut wurde nach der Entnahme sachgemäß verarbeitet. Hierzu erfolgten unmittelbar nach der venösen Blutentnahme das Zentrifugieren und sowie das anschließende korrekte Lagern des Blutes. Die maximale Aufbewahrungszeit betrug bis zu 5 Tage bei 2-8 °C. Sollte eine Probe erst zu einem späteren Zeitpunkt aufgearbeitet werden, erfolgte die Lagerung bei -20°C. Die Aufarbeitung der Proben erfolgte dann mittels Radioimmunoassay (RIA) sowie Enzymimmunoassay (ELISA) für ICTP sowie mittels RIA für PINP.

Die Bereitstellung der Gebrauchsanweisung für die sachgerechte Aufarbeitung der Proben sowie deren Auswertung erfolgte über die Firma Orion Diagnostica Oy, P.O.Box 83, Koivu-Mankkaan tie 6 B, FI-02101 Espoo, Finnland.

#### II.6.1.1 BESTIMMUNG VON ICTP MITTELS RADIOIMMUNOASSAYTECHNIK

Der hierbei untersuchte Marker ICTP wurde mittels  $^{125}\text{I}$  RIA Kits der Firma Orion Diagnostica Oy, P.O.Box 83, Koivu-Mankkaan tie 6 B, FI-02101 Espoo, Finnland, im Serum bestimmt. Das Grundprinzip des RIA bei ICTP basiert auf eine kompetitive Radioimmunoassaytechnik. Hierbei wird ein bekannter markierter ICTP Anteil sowie ein nicht bekannter und nicht markierter ICTP Anteil verwendet. Diese beiden ICTP Anteil konkurrieren kompetitiv mit einer limitierten Anzahl an high-affinity Antikörpern. Nach Separierung der freien Antigene, ist die Anzahl der markierten ICTP in den Proben umgekehrt proportional zum nicht bekannten ICTP.

Die Bereitstellung der Gebrauchsanweisung für die sachgerechte Aufarbeitung der Proben sowie deren Auswertung erfolgte über die Firma Orion Diagnostica Oy, P.O.Box 83, Koivu-Mankkaan tie 6 B, FI-02101 Espoo, Finnland.

#### II.6.1.1.1 TECHNISCHER ABLAUF DER BESTIMMUNG VON ICTP MITTELS RADIOIMMUNOASSAYTECHNIK

1. Alle Reagenzien wurden mindestens 30 Minuten vor Verwendung auf Raumtemperatur gebracht (18-25°C).
2. Die Röhren für die Doppelbestimmung der nicht spezifischen Bindung (NSB), Kalibratoren, Kontrollen, Patientenproben und Totalaktivität wurden entsprechend beschriftet.
3. Anschließend wurden 100 µl der jeweiligen Röhren (Kalibrierung, Kontrolle, Patientenprobe) in die entsprechenden Röhren pipettiert. Zudem wurde eine beliebige Patientenprobe in die Röhren mit nicht spezifischer Bindung pipettiert.
4. Dann erfolgte das Pipettieren von 200 µl des ICTP-Tracers in alle Röhren.
5. Es folgte das Pipettieren von 200 µl des Antiserums in alle Röhren mit Ausnahme des Röhrchens ohne spezifische Bindung und Totalaktivität. Jedem Röhrchen mit NSB wurde Aqua dest. hinzugefügt.
6. Nach dem Mischen von allen Röhren wurden diese mit einem Parafilm ® bedeckt und für 2 Stunden bei 37 °C im Wasserbad inkubiert.
7. Es erfolgte dann das sorgfältige Mischen des Trennreagenz. Anschließend wurden jeweils 500 µl davon in jedes Röhrchen gegeben (Ausnahme Röhrchen für Totalaktivität).
8. Danach erfolgte wiederum das Mischen der Röhren und Inkubation für 30 Minuten bei Raumtemperatur.
9. Es wurden dann alle Röhren (mit Ausnahme des Röhrchens mit der Totalaktivität) für insgesamt 30 Minuten bei 2000g bei 4-20°C zentrifugiert.

10. Dann wurden die Überstände aller Röhren mit Ausnahme der Röhren mit Totalaktivität gleichzeitig dekantiert.

11. Zuletzt erfolgte noch das Auszählen aller Röhren mittels Gammazähler für mindestens 1 Minute oder bis sich eine Zählrate von mindestens 10.000 Zähler pro Röhren angesammelt hatte.

Die Bereitstellung der Gebrauchsanweisung für die sachgerechte Aufarbeitung der Proben sowie deren Auswertung erfolgte über die Firma Orion Diagnostica Oy, P.O.Box 83, Koivu-Mankkaan tie 6 B, FI-02101 Espoo, Finland.

#### II.6.1.2 BESTIMMUNG VON ICTP MITTELS ENZYMIMMUNOASSAY

In der Bestimmung von ICTP mittels ELISA wurde hierbei ein kompetitiver Enzymimmunoassay verwendet. Bei diesem Verfahren wird eine bekannte Menge an mit Peroxidase-markiertem ICTP verwendet. Diese konkurriert mit einer nicht bekannten Menge an unmarkiertem ICTP, um die limitiert vorhandenen, hochaffinen Bindungsstellen des primären Antikörpers. Ein weiterer, gegen den Primärantikörper gerichteter Antikörper reagiert mit dem Komplex aus Primärantikörper und Antigen. Dadurch ist eine Trennung von gebundenem und nicht gebundenem Antigen möglich. Daraufhin wird das nicht gebundene Antigen ausgewaschen. Die Menge von markiertem ICTP ist anschließend umgekehrt proportional zur Menge an ICTP in der Probe. Das markierte ICTP wird nach der Inkubation mit einem Substrat gemessen. Dabei wird ein farbiges Endprodukt gebildet. Zuletzt wird die ICTP Konzentration mittels einer Kalibrationskurve errechnet.

Die Bereitstellung der Gebrauchsanweisung für die sachgerechte Aufarbeitung der Proben sowie deren Auswertung erfolgte über die Firma Orion Diagnostica Oy, P.O.Box 83, Koivu-Mankkaan tie 6 B, FI-02101 Espoo, Finnland.

#### II.6.1.2.1 TECHNISCHER ABLAUF DER BESTIMMUNG VON ICTP MITTELS ENZYMIMMUNOASSAY

1. alle Reagenzien, Proben und Kontrollen wurden mindestens 30 Minuten vor Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht (18-25°C).
2. es wurden die erforderliche Anzahl an Streifen aus dem Halterahmen entnommen
3. Von den Kalibratoren, Kontrollen, und Patientenproben wurden jeweils 50 µl für die Doppelbestimmung in die entsprechenden Kavitäten der Streifen pipettiert. Zwei Kavitäten für den Substrat-Leerwert wurden freigelassen.
4. In jede Kavität, außer in jenen für den Leerwert, wurden 50 µl ICTP-Enzymkonjugat (rot) pipettiert.
5. In jede Kavität (außer für den Leerwert) wurden 50 µl ICTP-Antiserum (blau) pipettiert. Sämtliche Kavitäten wurden binnen 3 Minuten mit Antiserum pipettiert.
6. Mittels Vortex für Mikrotiterplatten wurde dann für 2 Stunden bei 18-25 °C inkubiert.
7. Die Streifen wurden anschließend 4 Mal mit der Waschlösung in einem Mikrotiterstreifen-Waschgerät gewaschen.
8. In jede Kavität wurde 100 µl ICTP-Substrat pipettiert.
9. Auf einem Schüttler wurde dann 30 Minuten inkubiert bei 18-25°C.
10. Die Enzymreaktion wurde dann in den einzelnen Kavitäten mit jeweils 100 µl Stopplösung abgestoppt sowie anschließend 15-30 Sekunden geschüttelt um die Reagenzien zu mischen.
11. Binnen 10 Minuten wurde dann die optische Dichte in den einzelnen Kavitäten bei 450 nm mit einem Mikrotiterplatten-Reader gemessen.

Die Bereitstellung der Gebrauchsanweisung für die sachgerechte Aufarbeitung der Proben sowie deren Auswertung erfolgte über die Firma Orion Diagnostica Oy, P.O.Box 83, Koivu-Mankkaan tie 6 B, FI-02101 Espoo, Finnland.

### II.6.1.3 BESTIMMUNG VON PINP MITTELS RADIOIMMUNOASSAYTECHNIK

Mittels des RIA Testverfahrens wird die Serumkonzentration von PINP berechnet. Da die Konzentration dieses Propeptides im Serum direkt proportional zum Ausmaß von Kollagen im Knochen steht, kann PINP verwendet werden um die Knochenumwandlung zu bestimmen. PINP wurde mittels des RIA Kits der Firma Orion Diagnostica Oy, P.O.Box 83, Koivu-Mankkaan tie 6 B, FI-02101 Espoo, Finnland, im Serum bestimmt. Das Grundprinzip des RIA bei PINP basiert auf eine kompetitive Radioimmunoassaytechnik. Eine bekannte Menge an radioaktiv markiertem PINP konkurriert hierfür mit einer nicht bekannten Mengen an unmarkiertem PINP um eine limitierte Menge an hochaffinen Bindungsstellen eines polyklonalen Antikörpers für PINP von Kaninchen. Im Weiteren wird dann ein zweiter gegen Kaninchen-IgG gerichteter und an Kaolinpartikel gebundener Antikörper verwendet. Dieser dient insbesondere zur Trennung von Antikörpergebundenen PINP und freiem PINP. Anschließend wird die Radioaktivität von gebundenem Tracer-Antigen in einem Gammacounter gemessen. Die Menge an radioaktivem PINP ist dann umgekehrt proportional zur Menge an PINP in der Probe. Zur Auswertung werden dann die PINP-Konzentrationen der Proben an einer Standardkurve abgelesen. Diese wurde anhand der gleichzeitig erfolgten Bestimmung der UniQ PINP RIA Kalibratoren von 0-250 µg/l PINP erstellt.

Die Bereitstellung der Gebrauchsanweisung für die sachgerechte Aufarbeitung der Proben sowie deren Auswertung erfolgte über die Firma Orion Diagnostica Oy, P.O.Box 83, Koivu-Mankkaan tie 6 B, FI-02101 Espoo, Finnland.

#### II.6.1.4 TECHNISCHER ABLAUF DER BESTIMMUNG VON PINP MITTELS RADIOIMMUNOASSAYTECHNIK

1. Alle Reagenzien und Proben wurden vor Gebrauch auf Raumtemperatur gebracht (18-25°C). Es erfolgte zudem ein Durchmischen mittels Schwenken.
2. Die Röhren aus Polystyrol wurden für die Doppelbestimmung für die unspezifischen Bindung (NSB), Kalibratoren, Kontrollen, Patientenproben und Totalaktivität beschriftet.
3. Von den Kalibratoren, Kontrollen und Patientenproben wurden jeweils 50 µl in die dafür vorgesehenen Röhren pipettiert sowie eine beliebige Patientenprobe oder den Nullkalibrator in die Röhren mit NSB gegeben.
4. In jedes Röhren wurden 200 µl PINP RIA Tracer (rot) pipettiert.
5. In jedes Röhren, außer in jenes mit der Totalaktivität und NSB, wurden 200 µl PINP RIA Antiserum (blau) pipettiert. Anschließend wurde in jedes NSB-Röhren 200 µl destilliertes oder entionisiertes Wasser gegeben.
6. Jedes Röhren wurde am Rüttler gemischt, mit einem Parafilm verschlossen und für 2 Stunden bei 37+1°C in einem Wasserbad inkubiert.
7. Das Prokollagen Trennreagenz wurde durch behutsames Kippen sorgfältig gemischt und 500 µl jedem Röhren (außer dem Röhren für die Totalaktivität) hinzugefügt.
8. Die Röhren wurden dann im Rüttler gemischt und für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert.
9. Mit Ausnahme des Röhrens für die Totalaktivität wurden jedes Röhren für 15 Minuten bei 2000 g und 4-20 °C zentrifugiert.
10. Der Überstand der Röhren wurde gleichzeitig dekantiert. Die Restflüssigkeit wurde entfernt.
11. Jedes Röhren wurde dann mittels Gammacounter für mindestens 1 Minute gezählt

Die Bereitstellung der Gebrauchsanweisung für die sachgerechte Aufarbeitung der Proben sowie deren Auswertung erfolgte über die Firma Orion Diagnostica Oy, P.O.Box 83, Koivu-Mankkaan tie 6 B, FI-02101 Espoo, Finnland.

## II.7 BERECHNUNG UND AUSWERTUNG VON ICTP UND PINP

Die Berechnung von ICTP und PINP wurde gemäß der Gebrauchsanweisung, bereitgestellt durch die Firma Orion Diagnostica Oy, P.O.Box 83, Koivumankkaan tie 6 B, FI-02101 Espoo (Finnland), durchgeführt. Als Berechnungsmethode wurde eine individuell erstellte Kalibrationskurve verwendet.

### II.7.1 BERECHNUNG VON ICTP GEMESSEN MITTELS RADIOIMMUNOASSAYTECHNIK

Es wurde für die Auswertung der Ergebnisse eine Kalibrationskurve mit Hilfe von semilogarithmischem Millimeterpapier gezeichnet. Hierfür wurde %B/B<sub>0</sub> mittels folgender Gleichung berechnet. Hierbei stellt B die Radioaktivität einer Probe dar und B<sub>0</sub> die gebundene Radioaktivität des Nullkalibrators sowie NSB die nicht spezifische Radioaktivität.

$$\%B/B_0 = \frac{\text{Zählrate Kalibrator oder Probe} - \text{NSB}}{\text{Zählrate Nullkalibrator} - \text{NSB}} \times 100$$

Abbildung 1: Formel für die Berechnung der Ergebnisse für ICTP, Orion Diagnostica Oy.

Anschließend wurden die mit der Formel berechneten %B/B<sub>0</sub> Werte auf der Ordinate der Kalibrationskurve gegen die Abszisse eingezeichnet, welche die ICTP Konzentration wiedergibt. Zuletzt erfolgte dann das Ablesen der Konzentration von ICTP mittels der Kalibrationskurve mit Hilfe von Interpolation der %B/B<sub>0</sub> Werte (Abbildung 2).

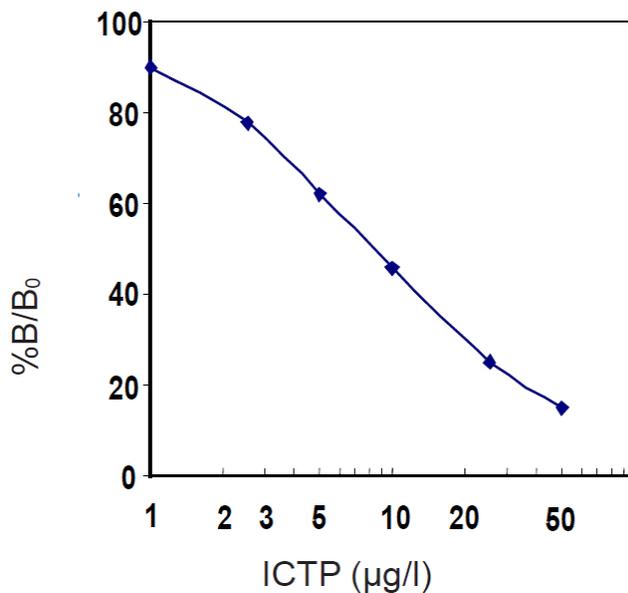


Abbildung 2: Die Abbildung zeigt eine exemplarische Kalibrationskurve (Firma Orion Diagnostica Oy, P.O.Box 83, Koivu-Mankkaan tie 6 B, FI-02101 Espoo, Finnland). Die %B/B<sub>0</sub> Werte werden auf der y-Achse gegen die x-Achse eingezeichnet, welche dann die ICTP Konzentration wiedergibt.

### Referenzbereiche

Die Referenzbereich der ICTP Spiegel wurden laut Angabe des Herstellers bei gesunden Menschen mittels ICTP-RIA gemessen (Alter 19-74). Die Messung der Normbereiche der oberen und unteren Grenzwerte erfolgte mittels nicht-parametrischer Methoden entsprechend der Empfehlung der IFCC (International Federation of Clinical Chemistry, (98).

Dabei lag der Mittelwert für ICTP bei Männern bei 3.2 µg/l, der Normbereich wurde mit 2.1-5.0 µg/l definiert (Firma Orion Diagnostica Oy, P.O.Box 83, Koivu-Mankkaan tie 6 B, FI-02101 Espoo, Finnland).

## II.7.2 BERECHNUNG VON ICTP GEMESSEN MITTELS ENZYMIMMUNOASSAY

Es erfolgte die wurde für die Auswertung der Ergebnisse eine Kalibrationskurve mit Hilfe von semilogarithmischem Millimeterpapier gezeichnet. Dabei wurde folgende Formel verwendet:

$$\%B/B_0 = \frac{(\text{OD Kalibrator oder Probe} - \text{Leerwert}) \times 100}{\text{OD Nullkalibrator} - \text{NSB}}$$

Abbildung 3: Formel für die Berechnung der Ergebnisse für ICTP gemessen nach ELISA, Orion Diagnostica Oy. OD=optische Dichte

Anschließend wurden die Konzentrationen von ICTP durch Interpolation ihrer %B/B<sub>0</sub> Werte auf einer Kalibrationskurve eingetragen und abgelesen.

### **Referenzbereiche**

Die Bestimmung der Referenzbereich der ICTP-Konzentrationen erfolgte mittels nicht-parametrischer Methoden (International Federation of Clinical Chemistry, (98). Dabei lag der Mittelwert für ICTP bei Männern bei 2.7 µg/l, Normbereich 1.5-4-3 µg/l, (Firma Orion Diagnostica Oy, P.O.Box 83, Koivu-Mankkaan tie 6 B, FI-02101 Espoo, Finnland).

### II.7.3 BERECHNUNG VON PINP GEMESSEN MITTELS RADIOIMMUNOASSAY

Die Auswertung der Ergebnisse wurde mit semilogarithmischem Millimeterpapier durchgeführt. Dafür wurde vorab %B/B<sub>0</sub> mittels folgender Formel berechnet. Hierbei stellt B die Radioaktivität einer Probe dar und B<sub>0</sub> die gebundene Radioaktivität des Nullkalibrators sowie NSB die nicht spezifische Radioaktivität.

$$\%B/B_0 = \frac{\text{Zählrate Kalibrator oder Probe} - \text{NSB}}{\text{Zählrate Nullkalibrator} - \text{NSB}} \times 100$$

Abbildung 4: Formel für die Berechnung der Ergebnisse für PINP, Orion Diagnostica Oy.

Zur Berechnung erfolgte dann das Aufzeichnen einer Standardkurve auf semilogarithmischem Papier. Hierfür wurden die %B/B<sub>0</sub> Werte auf der Ordinate (y-Achse) der Kalibrationskurve gegen die Abszisse eingezeichnet, welche die PINP Konzentration wiedergibt (x-Achse). Durch Interpolation der %B/B<sub>0</sub> Werte konnten dann die PINP-Konzentrationen abgelesen werden (Abbildung 4).

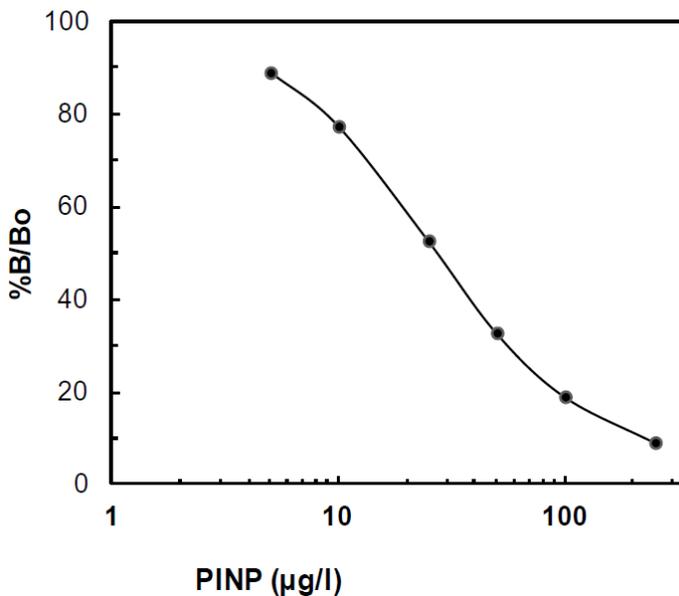


Abbildung 5: Die Abbildung zeigt eine exemplarische Kalibrationskurve (Firma Orion Diagnostica Oy, P.O.Box 83, Koivu-Mankkaan tie 6 B, FI-02101 Espoo, Finnland). Die %B/B<sub>0</sub> Werte werden auf der y-Achse gegen die x-Achse eingezeichnet, welche dann die PINP Konzentration wiedergibt.

### Referenzbereich

Die vom Hersteller angegebenen Referenzbereiche der PINP-Spiegel wurden laut Angabe des Herstellers bei gesunden Erwachsenen mittels PINP-RIA Kit gemessen (Alter 19-74). Die Messung der Normbereiche der oberen und unteren Grenzwerte erfolgte mittels nicht-parametrischer Methoden entsprechend der Empfehlung der IFCC (International Federation of Clinical Chemistry, (98). Bei Männern ergab sich hierbei ein Mittelwert von 45 µg/l sowie ein Median von 43 µg/l. Als Normbereich wurden Werte zwischen 22-87 µg/l definiert (Firma Orion Diagnostica Oy, P.O.Box 83, Koivu-Mankkaan tie 6 B, FI-02101 Espoo, Finnland).

## II.8 ERSTELLUNG DER DATENBANK UND ERHEBUNG DES FOLLOW-UP

Die Durchführung des Follow-Up erfolgte mittels Sichtung der im Dokumentationsprogramm der Universitätsklinik Tübingen vorhandenen Arztbriefe, Untersuchungen und Laborwerte (IS-H Med) sowie entsprechende Daten des CCC (Cancer Comprehensive Center Tübingen). Des Weiteren erfolgte bei fehlenden Informationen ein Schreiben an die behandelnden Hausärzte sowie Urologen mit Information über die laufenden Untersuchung und sowie Fragebogen über den aktuellen Stand der Erkrankung (Abbildung 5).

Nach Erfassung der Daten erfolgte deren Darstellung in einer Tabelle mittels Microsoft Excel®. Hierbei wurden die Daten wie folgt gegliedert: Zunächst erfolgte die Einteilung nach Alter und Erkrankung der Patienten (PC oder BPH) sowie Datum der jeweiligen Abnahme von PINP (gemessen mit RIA), ICTP (gemessen mit ELISA und RIA) sowie PSA und PSA-Verdopplungszeit in Monaten.

Im Weiteren erfolgte die Erfassung der Therapie (radikale Prostatektomie, externe Strahlentherapie, transurethrale Resektion der Prostata, antihormonelle Therapie oder bilaterale Orchiektomie) bei Erstdiagnose sowie bei entsprechender Histologie die Auswertung nach TNM-Stadium.

Hinsichtlich des klinischen Verlaufs erfolgte die Erfassung des Auftretens von ossären oder anderen Metastasen, des tumorspezifischen Versterbens sowie des allgemeinen Versterbens und des jeweiligen Zeitpunkts bis dahin. Zu Erstellung der Tabelle mitsamt allen genannten Informationen wurde Microsoft Excel 2010® (Microsoft Germany) genutzt.



Klinik für Urologie ·  
Hoppe-Seyler-Str. 3 · 72076 Tübingen

An Herrn  
«Titel1» «Vorname\_Urol\_HA\_Praxis»  
«Name\_Urologische\_HA\_Praxis»  
«Zusatz\_urol\_HA»  
«Strasse\_und\_HN\_Urol\_HA»  
«PLZ\_urol» «Ort\_Uro\_HA»

24h-Info-Telefon: 07071 / 29 – 86000  
Sekretariat: 07071 / 29 – 86613  
Poliklinik: 07071 / 29 – 86670  
OP-Termin: 07071 / 29 – 84097  
Telefax: 07071 / 29 – 5092  
E-Mail: [urologie@med.uni-tuebingen.de](mailto:urologie@med.uni-tuebingen.de)  
Internet: [www.uro-tuebingen.de](http://www.uro-tuebingen.de)

Fax-Nr.: «Fax»

Sehr geehrter Herr Kollege «Name\_Urologische\_Praxis/Hausarzt»,

Aus unseren Unterlagen geht hervor, dass Ihr Patient Herr «Name», «Vorname» geb. «GebDat» im Jahre «AbnJahr» in unserem Hause aufgrund eines Prostatakarzinoms in Behandlung war.

Wir würden Sie um eine Auskunft Herrn «Name» betreffend bitten.

Die Urologische Klinik der Universität Tübingen führt momentan ein Forschungsprojekt zu Serumknochenmarkern und dem Krankheitsverlauf des Prostatakarzinoms durch. Für eine vollständige Auswertung der Ergebnisse wäre die Information des „Tumorabhängigen Versterbens“ sehr wichtig.

Wir wären Ihnen daher sehr dankbar, wenn Sie uns mitteilen könnten, ob Herr «Name» am Prostatakarzinom verstorben ist, oder ob andere Gründe dafür vorlagen. In diesem Falle haben Sie die Möglichkeit, dies ohne die Verletzung der ärztlichen Schweigepflicht zu tun.

Vielen Dank für Ihre Kooperation und mit freundlichen Grüßen

Prof. Dr. med. A. Stenzl  
Ärztlicher Direktor d. Klinik

Prof. Dr. med. C. Schwentner  
Stv. Äzrtl. Dir. d. Klinik

Dr. med. univ. S. Aufderklamm  
Facharzt der Klinik

Herr «Name» ist

an den Folgen des Prostatakarzinoms

aus anderen Gründen

am (Datum) \_\_\_\_\_ verstorben

Nicht verstorben

Ihre Kommentare \_\_\_\_\_

**RÜCKFAX BITTE AN 07071-29-5092, vielen Dank**

Abbildung 6: Anschreiben an Urologen und Hausärzte zur Erhebung des Follow-Up

## II.9 STATISTIK

Es erfolgte zunächst eine deskriptive Darstellung der einzelnen Kollektive von Patienten mit BPH sowie Patienten mit PC mit und ohne Knochenmetastasen mittels Mittelwert, Median, Standardabweichung und Range.

Mittels Wilcoxon-Kruskall-Wallis Test wurden die Werte von PINP und ICTP (gemessen mittels RIA und ELISA für ICTP sowie RIA für PINP) der definierten Patientenkollektive untersucht und mittels Chi-Quadratstest verglichen.

Zur Darstellung potenzieller Assoziationen zum Krankheitsverlauf erfolgte die Durchführung von Kaplan Meier Analysen. Hierbei wurden dann die Werte für ICTP und PINP (gemessen nach RIA) der Kollektive der Patienten mit und ohne Knochenmetastasen mittels des Median geteilt und der Zeit bis zum Gesamt- sowie krebspezifischen Versterben mittels Log-Rank-Test statistisch gegenübergestellt.

Es erfolgte eine zudem eine Cox-Regressions Analyse, welche die Variablen ICTP (gemessen mittels RIA), PSA Verdopplungszeit, Alter und Lokalisation der Metastasen (M1b versus M1a und M1c) hinsichtlich des krebspezifischen oder Gesamtüberlebens untersuchte.

Aufgrund der fehlenden Signifikanz von ICTP gemessen mittels ELISA sowie PINP gemessen mittels RIA mittels Log-Rank-Test, wurde hierfür keine multivariate Analyse durchgeführt.

P-Werte kleiner 0.05 wurden als signifikant gewertet.

### **Verwendete Software zur Ausarbeitung der Dissertationsschrift:**

- Statistische Auswertung: JMP 10.0® (SAS Inc., Cary, NC, USA)
- Datenbankerstellung: Microsoft Excel 2010® (Microsoft Germany)
- Verfassung der Dissertation: Microsoft Word 2010® (Microsoft Germany)
- Literaturverwaltung: Endnote X5®
- Grafiken: Microsoft Excel 2010®, Microsoft PowerPoint 2010® (Microsoft Germany)

### III ERGEBNISSE

#### III.1 DESKRIPTIVE STATISTIK DER KOLLEKTIVE

Insgesamt konnten 186 Patienten in die Studie aufgenommen werden. Bei 133 (71.50%) war ein PC histologisch nachgewiesen worden, wohingegen 53 (28.50%) Patienten mit histologisch gesicherter BPH eingeschlossen wurden. Die Patientencharakteristika der Patienten mit PC und BPH sind in Tabelle 2 angeführt. Das Alter des Gesamtkollektivs lag im Mittelwert bei 66.70 Jahren (Range 43-86), das Alter der Patienten mit PC 66.25 Jahre (Range 43-81) und der Patienten mit BPH 67.79 Jahre (Range 49-80). In der Gruppe mit BPH betrug der mittlere totale PSA Wert 3.06 ng/ml, Median 2.09 ng/ml (Range 0.15-13.40), Tabelle 2.

Bei den Patienten mit PC wurde bei 60 (45.11%) Patienten bei Erstdiagnose eine radikale Prostatektomie durchgeführt worden, bei 11 (8.27%) eine kurativ intendierte Strahlentherapie der Prostata. Bei 39 (29.32%) Patienten wurde bei Erstdiagnose eine antihormonelle Therapie durchgeführt und bei 10 (7.50%) eine transurethrale Resektion der Prostata. Bei 9 (6.80%) Patienten erfolgte keine Therapie bei Diagnosestellung des PC. Bei 4 (3.00%) Patienten war die Therapie nicht bekannt.

Von allen 133 Patienten mit PC war es bei 106 (79.70%) Patienten im Verlauf zu einer Metastasierung gekommen. Bei 78 Patienten (58.65%) wurde eine ossäre Metastasierung diagnostiziert. Bei 23 (17.29%) der Patienten mit Metastasen zeigten sich anderweitige Metastasen im Sinne von extraregionalen Lymphknoten, sowie bei 5 (3.76%) Patienten viszerale Filiae.

Insgesamt verstarben 69 (51.88%) von 133 Patienten im Nachbeobachtungszeitraum. Es verstarben 50 Patienten (37.60%) an den Folgen des PC. Bei 5 (3.70%) Patienten war die Todesursache eine andere, bei 14 von 133 Patienten (10.53%) konnte sie nicht geklärt werden. Bei 2 Patienten, welche verstarben, war eine Zuordnung zum Metastasenstatus nicht möglich.

Der mediane Nachbeobachtungszeitraum bei Patienten mit PC ohne Knochenmetastasen betrug 60 Monate (Range 6-186) und bei Patienten mit Knochenmetastasen 40 Monate (Range 1-142). Bei 15 Patienten (11.28%) war es zu einem Lost of Follow-Up gekommen.

### III.2 BESCHREIBUNG DER FÜR DIE AUSWERTUNG DEFINIERTEN KOLLEKTIVE

Zur Validierung des Stellenwertes von PINP und ICTP beim PC wurden Patienten mit und ohne Knochenmetastasen eingeschlossen. Hierfür entscheidend war das Vorhandensein von bildmorphologischen ossären Metastasen zum Zeitpunkt der Blutentnahme. Als Kontrollgruppe wurden Patienten mit BPH verwendet, bei welchen im Rahmen einer Routineuntersuchung eine PINP und ICTP Bestimmung angeboten wurde.

#### III.2.1 PATIENTEN MIT BENIGNER PROSTATAHYPERPLASIE

Im Sinne einer Kontrollgruppe wurden 53 (28.50%) Patienten mit histologisch gesicherter BPH identifiziert bei welchen eine Bestimmung von ICTP und PINP erfolgte (Tabelle 2). ICTP-RIA wurde hierbei bei allen 53 Patienten untersucht, ICTP-ELISA bei 28 Patienten (52.83%) und PINP-RIA ebenso bei allen 53 Patienten.

### III.2.2 PATIENTEN MIT PROSTATAKARZINOM OHNE KNOCHENMETASTASEN BEI BLUTENTNAHME

Bei 58 (31.20%) Patienten mit PC war zum Zeitpunkt der Bestimmung von ICTP und PINP keine ossäre Metastasierung nachgewiesen worden. Das mittlere Alter betrug in dieser Gruppe im Mittelwert 66.19 Jahre (Range 48-80), der mittlere PSA Wert zum Zeitpunkt der Bestimmung von ICTP und PINP lag bei 29.6 ng/ml (Range <0.04-348).

ICTP-RIA sowie PINP-RIA wurden hierbei bei allen 58 Patienten untersucht, ICTP-ELISA bei lediglich 8 Patienten (13.79 %). Der Median von ICTP nach RIA, ICTP nach ELISA sowie PINP nach RIA betrug bei den Patienten ohne ossäre Metastasen 3.91 µg/l (Range 2.04-34.51), 3.10 µg/l (Range 0.97-4.37) sowie 33.90 µg/l (Range 8.72-149.3), Tabelle 2.

Von den 58 Patienten wurde bei 34 (58.62%) eine radikale Prostatektomie durchgeführt, bei 8 (13.90%) eine Strahlentherapie, bei 6 (10.34%) eine AHT sowie bei 3 (5.17%) eine TURP. Bei 7 (12.06%) Patienten war keine Therapie durchgeführt worden.

Bei den 58 Patienten ohne ossäre Filiae bei Blutentnahme erhielten 1 (1.72%) Patient bereits eine Bisphosphonattherapie sowie 14 (24.14%) Patienten eine AHT.

Von den 58 Patienten entwickelten 12 (20.60%) eine ossäre Metastasierung sowie 2 (3.45%) viszerale Metastasen.

Von den 58 Patienten starben im Verlauf 8 am PC (13.79%), 3 an einer anderen Todesursache (5.17%). Bei 2 (3.45%) Patienten war die Todesursache unklar.

### III.2.3 PATIENTEN MIT PROSTATAKARZINOM UND KNOCHENMETASTASEN BEI BLUTENTNAHME

Insgesamt konnten von 133 Patienten mit PC 70 (52.63%) Patienten mit bildmorphologisch nachgewiesenen ossären Metastasen zum Zeitpunkt der Bestimmung von ICTP und PINP identifiziert werden. Das Alter betrug im Durchschnitt 66.37 Jahre (Range 43-81), der mittlere PSA Wert zum Zeitpunkt der Bestimmung von ICTP und PINP lag bei 542.60 ng/ml (Range 1-6540).

ICTP-RIA wurde hierbei bei allen 70 Patienten untersucht, ICTP-ELISA bei 11 Patienten (15.71%) sowie PINP-RIA bei 69 (98.57%). Der Median von ICTP nach RIA, ICTP nach ELISA sowie PINP nach RIA betrug bei den Patienten mit ossären Metastasen 6.04 µg/l (Range 1.73-158.00), 4.37 µg/l (Range 0-18.86) sowie 48.60 µg/l (Range 9.12-1074.37), Tabelle 2.

Von den 70 Patienten wurde bei der Erstdiagnose bei 25 (35.71%) eine radikale Prostatektomie durchgeführt, bei 3 (4.29%) eine Strahlentherapie, bei 32 (45.71%) eine AHT sowie bei 7 (10.00%) eine TURP. Bei 3 (4.29%) Patienten war keine Therapie durchgeführt worden.

18 (25.71%) von 70 Patienten, welche zum Zeitpunkt der Bestimmung von ICTP und PINP ossäre Filiae aufwiesen, erhielten bereits eine Bisphosphonattherapie. Ebenso bekamen 18 (25.71%) Patienten zum Zeitpunkt der Blutentnahme eine AHT.

Von den 70 Patienten starben im Verlauf 54 Patienten (77.14%). 41 Patienten verstarben am PC (58.57%), 1 (1.43%) nicht am PC. Bei 12 (17.14%) Patienten war die Todesursache unklar, Tabelle 2.

	<b>BPH</b>	<b>PC total</b>	<b>PC M0</b>	<b>PC M1b</b>
<b>Parameter</b>				
Patienten, N (%)	53 (28.50)	133 (71.50)	58 (31.20)	70 (52.63)
Alter/Jahre, Mittelwert (Range)	67.79 (49-80)	66.25 (43-81)	66.19 (48-80)	66.37 (43-81)
PSA ng/ml, Mittelwert (Range)	3.06 (0.15-13.40)	247.10 (0.04-6540)	29.60 (<0.04-348)	542.60 (1-6540)
ICTP µg/l (RIA), Median (Range)	4.00 (2.18-34.19)	5.08 (1.73-158)	3.91 (2.04-34.51)	6.04 (1.73-158.00)
ICTP µg/l (ELISA), Median (Range)	3.40 (0.9-18.69)	4.01 (0-18.86)	3.10 (0.97-4.37)	4.37 (0-18.86)
PINP µg/l (RIA), Median (Range)	38.25 (11.7-247.52)	41.49 (8.72-1074.37)	33.90 (8.72-149.3)	48.60(9.12-1074.37)
Verstorben, total	-	69 (51.88)	13 (22.41)	54 (77.14)
PC abhängig N (%)	-	50 (37.60)	8 (13.79)	41 (58.57)
PC unabhängig N (%)	-	5 (3.70)	3 (5.17)	1 (1.43)
unklare Ursache	-	14 (10.53)	2 (3.45)	12 (17.14)

Tabelle 2: Tabelle mit Patientencharakteristika des Gesamtkollektivs (N=186) unterteilt in die einzelnen Subkollektive: Patienten mit benigner Prostatahyperplasie (BPH), alle Patienten mit Prostatakarzinom (PC total), Patienten mit PC ohne ossäre Filiae (PC M0) sowie Patienten mit PC und ossären Filiae (PC M1b).

### III.3 SPEZIFISCHE AUSWERTUNG DER KOLLEKTIVE VON PATIENTEN MIT BENIGNER PROSTATAHYPERPLASIE ODER PROSTATAKARZINOM HINSICHTLICH DER SERUMMARKER ICTP UND PINP

#### III.3.1 C-TERMINALES TELOPEPTID VOM TYP I KOLLAGEN (ICTP)

##### III.3.1.1 ICTP BEI PATIENTEN MIT PC UND BPH GEMESSEN MIT RIA

Es erfolgte die Analyse von 133 Patienten mit PC sowie 53 Patienten mit BPH. Der gemessene Median von ICTP beim PC betrug 5.08 µg/l (Range 1.73-158.00) und bei Patienten mit BPH 4.00 µg/l (Range 2.18-34.19). Die Analyse mittels Wilcoxon/Kruskal-Wallis-Test zeigte hierbei einen signifikanten Unterschied zwischen der Serumkonzentration von ICTP beim PC und bei der BPH ( $p=0.0195$ ), Abbildung 7a.

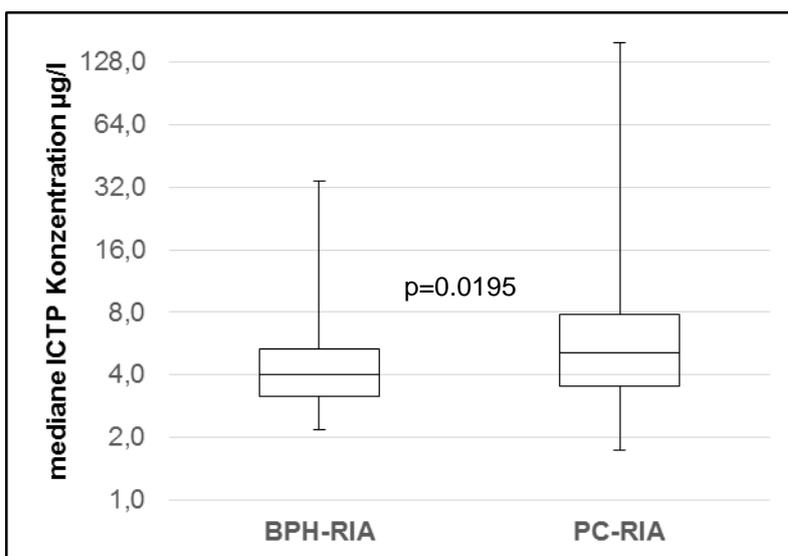


Abbildung 7a: Unterschiede der medianen ICTP Konzentrationen (gemessen mit RIA) bei Patienten mit Prostatakarzinom (PC) und benigner Prostatahyperplasie (BPH).

### III.3.1.2 ICTP BEI PATIENTEN MIT PC UND BPH GEMESSEN MIT ELISA

Die Bestimmung von ICTP mittels ELISA wurde bei 22 Patienten mit PC sowie bei 28 Patienten mit BPH durchgeführt. Der Median betrug bei den Patienten mit PC 4.01 µg/l (Range 0-18.86) und bei den Patienten mit BPH 3.40 µg/l (Range 0.9-18.69). Ein statistischer signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen konnte jedoch nicht gezeigt werden ( $p=0.3898$ ), Abbildung 7b.

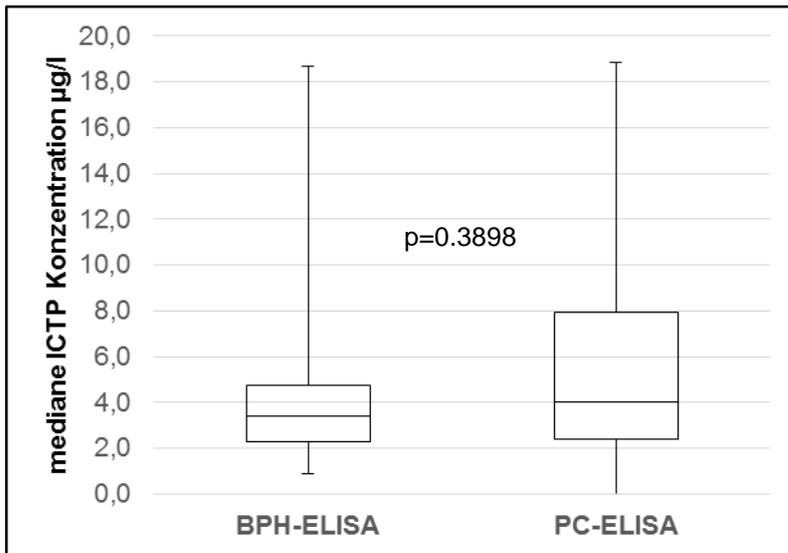


Abbildung 7b: Unterschiede der medianen ICTP Konzentrationen (gemessen mit ELISA) bei Patienten mit Prostatakarzinom (PC) und benigner Prostatahyperplasie (BPH).

### III.3.1.3 ICTP BEI PATIENTEN MIT UND OHNE KNOCHENMETASTASEN BEI BLUTENTNAHME GEMESSEN MIT RIA

Der Median der ICTP Bestimmung im Serum war bei den Patienten mit ossären Metastasen signifikant höher als bei der Patientengruppe ohne Knochenmetastasen und betrug 6.04 µg/l (Range 1.73-158.00) versus 3.91 µg/l (2.04-34.51),  $p=0.0011$  (Abbildung 8).

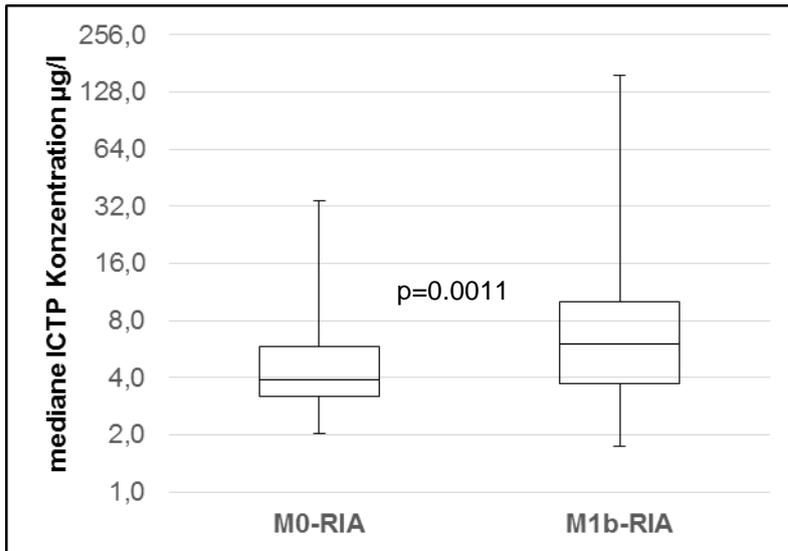


Abbildung 8: Darstellung der medianen Serumkonzentrationen von ICTP gemessen mit RIA bei Patienten mit (M1b) und ohne Knochenmetastasen (M0).

### III.3.1.4 ICTP BEI PATIENTEN MIT UND OHNE KNOCHENMETASTASEN BEI BLUTENTNAHME GEMESSEN MIT ELISA

Der Median bei den Patienten mit ossären Filiae betrug für ICTP 4.37 µg/l (Range 0-18.86) und bei den Patienten ohne Metastasen 3.10 µg/l (Range 0.97-4.37). Ein signifikanter Unterschied zwischen diesen beiden Gruppen konnte nicht festgestellt werden ( $p=0.0904$ ), wenn auch ein Trend dahingehend zu verzeichnen war.

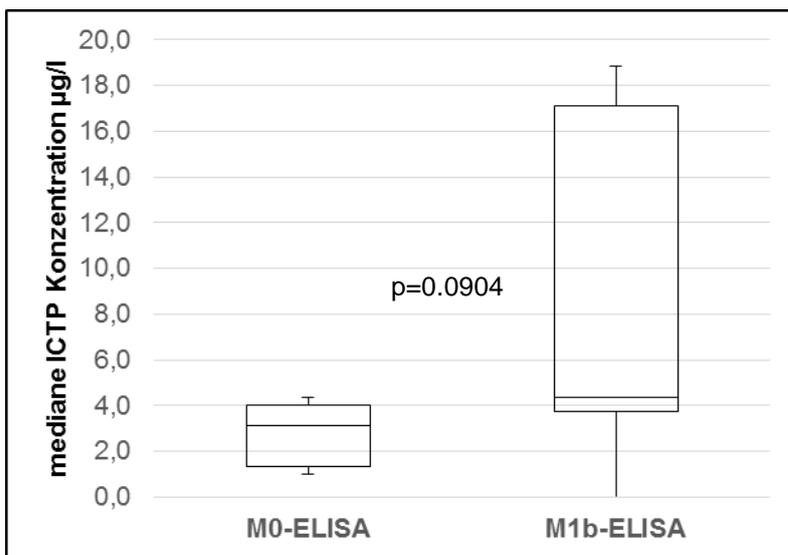
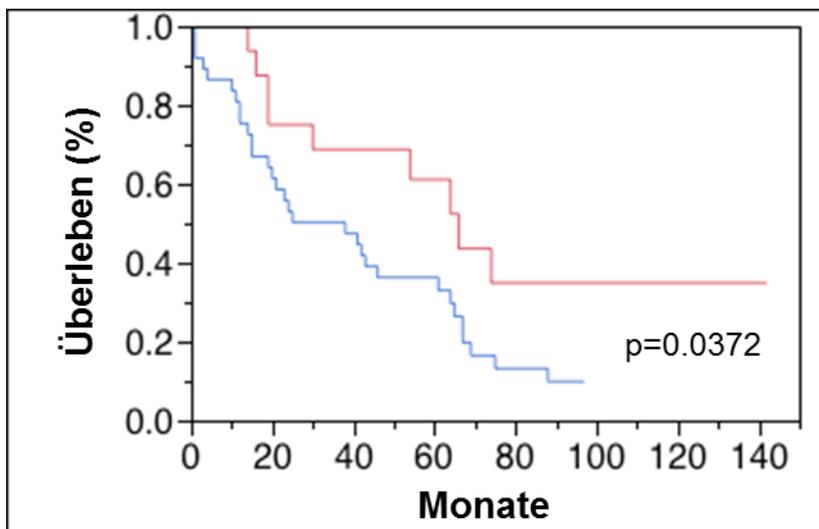


Abbildung 9: Darstellung der medianen Serumkonzentrationen von ICTP gemessen mit ELISA bei Patienten mit (M1b) und ohne ossäre Metastasen (M0).

### III.3.1.5 ZUSAMMENHANG ZWISCHEN ICTP GEMESSEN MIT RIA UND DER ZEIT BIS ZUM KREBSSPEZIFISCHEN VERSTERBEN BEI PATIENTEN MIT KNOCHENMETASTASEN

Die Zeit bis zum krebsspezifischen Versterben war in der Gruppe der Patienten mit ossären Metastasen für ICTP-Konzentrationen  $\geq$  dem Median von 6.04  $\mu\text{g/l}$  signifikant kürzer als bei Patienten mit ICTP-Konzentrationen  $<$  des Median,  $p=0.0372$ . Die mittleren Überlebensraten für 2 und 5 Jahre lagen bei Patienten mit ICTP-Konzentrationen  $\geq$  Median bei 50% und 33% sowie bei Patienten mit ICTP-Konzentrationen  $<$  Median bei 75% und 52%.

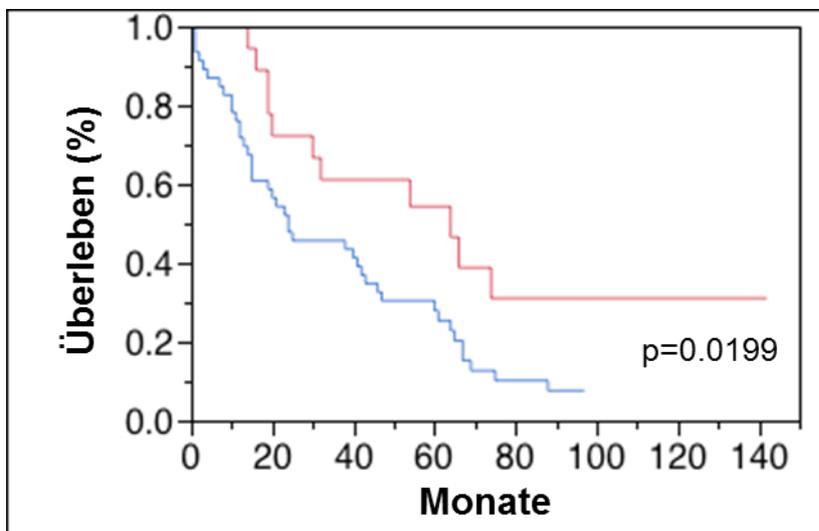


Monate	0	20	40	60	80	100	120	140
Patienten, N								
$\geq$ Median	16	14	11	8	5	2		1
$<$ Median	37	24	18	12	5	1		

Abbildung 10: Kaplan-Meier Kurve für die Zeit bis zum krebsspezifischen Versterben bei Patienten mit ossären Metastasen und ICTP gemessen nach RIA. Blaue Kurve: ICTP-Konzentration  $\geq$  Median, rote Kurve ICTP-Konzentration  $<$  Median.

### III.3.1.6 ZUSAMMENHANG ZWISCHEN ICTP GEMESSEN MIT RIA UND DER ZEIT BIS ZUM GESAMTVERSTERBEN BEI PATIENTEN MIT KNOCHENMETASTASEN

Die Zeit bis zum Gesamtversterben bei Patienten mit ossären Metastasen sowie ICTP-Konzentrationen  $\geq$  dem Median 6.04  $\mu\text{g/l}$  war signifikant geringer als bei Patienten mit ICTP-Konzentrationen  $<$  des Median,  $p=0.0199$ . Die mittleren Überlebensraten für 2 und 5 Jahre lagen bei Patienten mit ICTP-Konzentrationen  $\geq$  dem Median bei 47% und 27% sowie bei Patienten mit ICTP-Konzentrationen  $<$  Median bei 72% und 54%.



Monate	0	20	40	60	80	100	120	140
Patienten, N								
$\geq$ Median	18	14	12	8	5	2		1
$<$ Median	46	27	20	12	5	1		

Abbildung 11: Kaplan-Meier Kurve für die Zeit bis zum Gesamtversterben bei Patienten mit ossären Metastasen und ICTP gemessen nach RIA. Blaue Kurve: ICTP-Konzentration  $\geq$  Median, rote Kurve ICTP-Konzentration  $<$  Median.

### III.3.1.7 COX PROPORTIONALE HAZARD ANALYSE ZUR UNTERSUCHUNG DES EINFLUSSES VON ICTP (GEMESSEN MIT RIA) AUF DAS KREBSSPEZIFISCHE ÜBERLEBEN BEI PATIENTEN MIT KNOCHENMETASTASEN

Bei der Untersuchung des krebsspezifischen Überlebens zeigte sich in diesem Kollektiv, dass das Risiko bei einer Konzentration von ICTP  $\geq$  dem Median am PC zu versterben um 2.15 mal höher ist als in der Gruppe der Patienten mit einer ICTP-Konzentration  $<$  dem Median, HR=2.15 (95 % KI, 1.06-4.81; p=0.0320).

### III.3.1.8 COX PROPORTIONALE HAZARD ANALYSE ZUR UNTERSUCHUNG DES EINFLUSSES VON ICTP (GEMESSEN MIT RIA) AUF DAS GESAMTÜBERLEBEN BEI PATIENTEN MIT KNOCHENMETASTASEN

Bei einer Konzentration von ICTP  $\geq$  dem Median ist das Risiko nicht tumorspezifisch zu versterben um das 2.15 fache höher, als in der Gruppe der Patienten mit einer ICTP Konzentration  $<$  dem Median, HR=2.15 (95 % KI, 1.14-4.41; p=0.0161).

### III.3.1.9 COX-REGRESSIONSANALYSE FÜR ICTP GEMESSEN MIT RIA FÜR DAS KREBSSPEZIFISCHE ÜBERLEBEN ODER GESAMTÜBERLEBEN

Die Cox-Regressionsanalyse zeigte das Vorliegen von nicht regionären oder viszeralen Metastasen (M1a/M1c) als unabhängigen Risikofaktor für das Gesamtüberleben ( $p=0.0150$ ), (Tabelle 3).

Parameter	krebsspezifisches Überleben			Gesamtüberleben		
	HR	95 % KI	p-Wert	HR	95 % KI	p-Wert
<b>ICTP-RIA</b>						
<b>≥ Median vs. &lt; Median</b>	1.69	0.65-5.24	0.2960	1.52	0.63-4.25	0.3623
<b>PSA-DT ≥ vs. &lt; 6 Monate</b>	1.38	0.53-3.66	0.5032	1.36	0.58-3.21	0.4752
<b>≥ Alter Median vs. &lt; Alter Median bei Knochenmetastasen</b>	1.80	0.71-4.55	0.2147	1.41	0.62-3.18	0.4008
<b>M1b vs. M1a und M1c</b>	3.04	0.93-9.70	0.0655	3.63	1.30-10.07	<b>0.0150</b>

Tabelle 3: Cox-Regressionsanalyse für das krebsspezifische- oder Gesamtüberleben bei Patienten mit Prostatakarzinom. DT=PSA Verdopplungszeit, M1b=Knochenmetastasen, M1a=extraregionale Lymphknotenmetastasen, M1c=andere Metastasen.

### III.3.2 N-TERMINALES PROPEPTID VOM TYP I PROKOLLAGEN (PINP)

#### III.3.2.1 PINP BEI PATIENTEN MIT PC UND BPH GEMESSEN MIT RIA

Es erfolgte die Untersuchung von 131 Patienten mit PC sowie 53 Patienten mit BPH. Der gemessene Median von PINP beim PC betrug 41.49 µg/l (Range 8.75-1074.37) und bei Patienten mit BPH 38.25 µg/l (Range 11.7-247.52). Es zeigten sich jedoch keine signifikanten Unterschied zwischen PINP beim PC sowie PINP bei der BPH ( $p=0.4558$ ).

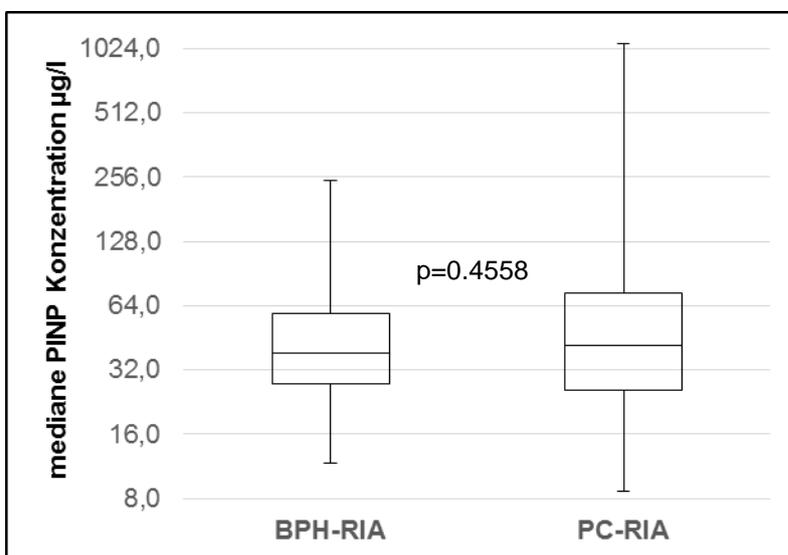


Abbildung 12: Unterschiede der medianen PINP Konzentrationen (gemessen mit RIA) bei Patienten mit Prostatakarzinom (PC) und benigner Prostatahyperplasie (BPH).

### III.3.2.2 PINP BEI PATIENTEN MIT UND OHNE KNOCHENMETASTASEN BEI BLUTENTNAHME GEMESSEN MIT RIA

Bei 58 (44.3%) Patienten mit PC wurde keine ossäre Metastasierung nachgewiesen, wohingegen 69 (52.7%) Patienten ossäre Metastasen im Erkrankungsverlauf entwickelten. Bei 4 Patienten war die entsprechende Information nicht verfügbar (3%). Der Median der PINP Bestimmung war in der Gruppe mit ossären Metastasen signifikant höher als bei der Patientengruppe ohne Metastasierung und betrug 48.60 µg/l (Range 9.12-1074.37) versus 33.80 µg/l (Range 8.72-149.3),  $p=0.0011$ .

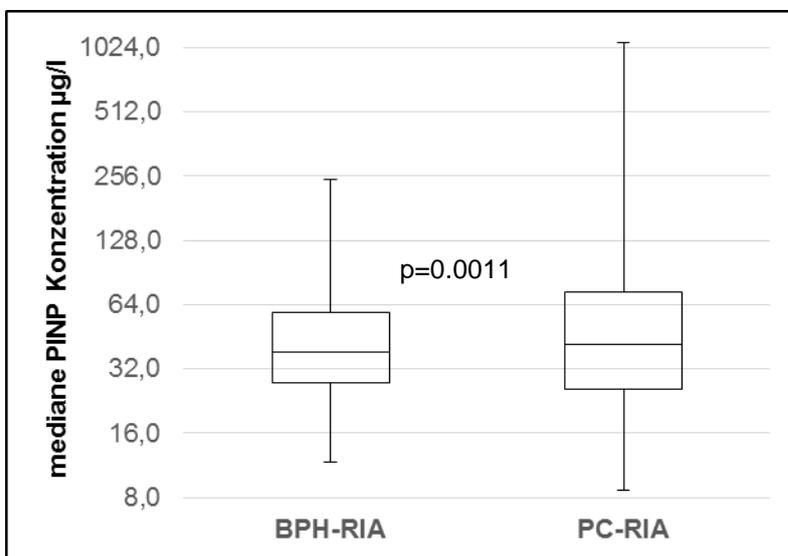
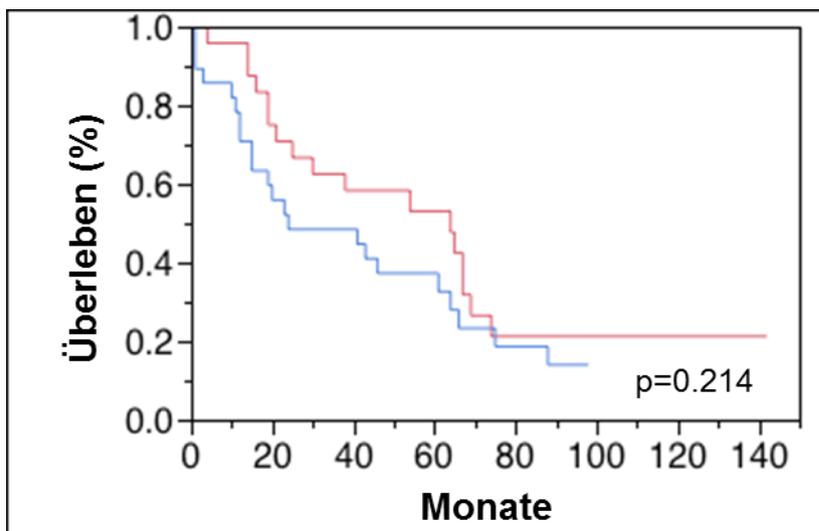


Abbildung 13: Darstellung der medianen Serumkonzentrationen von PINP gemessen mit RIA bei Patienten mit (M1b) und ohne ossäre Metastasen (M0).

### III.3.2.3 ZUSAMMENHANG ZWISCHEN PINP GEMESSEN MIT RIA UND DER ZEIT BIS ZUM KREBSSPEZIFISCHEN VERSTERBEN BEI PATIENTEN MIT KNOCHENMETASTASEN

Die mittleren Überlebensraten für 2 und 5 Jahre zeigten keinen signifikanten Unterschied und lagen bei Patienten mit PINP-Konzentrationen  $\geq$  Median bei 48% und 37% sowie bei Patienten mit PINP-Konzentrationen  $<$  Median bei 67% und 53%,  $p=0.214$

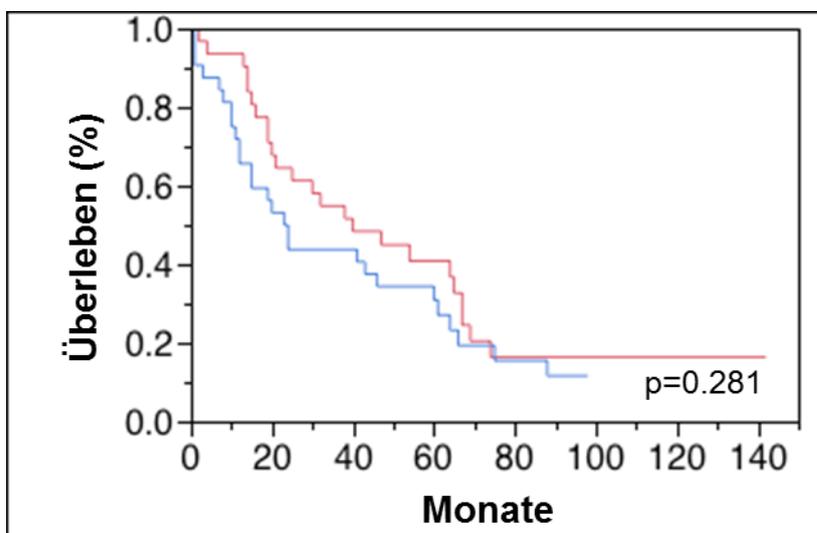


Monate	0	20	40	60	80	100	120	140
Patienten, N								
$\geq$ Median	24	20	15	11	5	2		1
$<$ Median	28	16	13	9	5	1		

Abbildung 14: Kaplan-Meier Kurve für die Zeit bis zum krebsspezifischen Versterben bei Patienten mit ossären Metastasen und PINP gemessen mit RIA. Blaue Kurve: PINP-Konzentration  $\geq$  Median, rote Kurve PINP-Konzentration  $<$  Median.

### III.3.2.4 ZUSAMMENHANG ZWISCHEN PINP GEMESSEN MIT RIA UND DER ZEIT BIS ZUM GESAMTVERSTERBEN BEI PATIENTEN MIT KNOCHENMETASTASEN

Die mittleren Gesamtüberlebensraten für 2 und 5 Jahre lagen bei Patienten mit PINP-Konzentrationen  $\geq$  Median bei 48% und 37% sowie bei Patienten mit PINP-Konzentrationen  $<$  Median bei 67% und 53%. Ein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Zeit bis zum Gesamtversterben konnte hierbei nicht festgestellt werden,  $p=0.281$ .



Monate	0	20	40	60	80	100	120	140
Patienten, N								
$\geq$ Median	31	22	16	11	5	2		1
$<$ Median	32	18	14	10	5	1		

Abbildung 15: Kaplan-Meier Kurve für die Zeit bis zum Gesamtversterben bei Patienten mit ossären Metastasen und PINP gemessen mit RIA. Blaue Kurve: PINP-Konzentration  $\geq$  Median, rote Kurve: PINP-Konzentration  $<$  Median.

### III.3.2.5 COX PROPORTIONALE HAZARD ANALYSE ZUR UNTERSUCHUNG DES EINFLUSSES VON PINP (GEMESSEN MIT RIA) AUF DAS KREBSSPEZIFISCHE ÜBERLEBEN BEI PATIENTEN MIT KNOCHENMETASTASEN

Es erfolgte die Berechnung der krebspezifischen Überlebensrate für PINP bei Patienten mit Knochenmetastasen. Hierbei zeigte sich ein nicht signifikant höhere tumorspezifisches Versterben für PINP-Konzentrationen  $\geq$  dem Median, HR = 1.52 (95 % KI, 0.78-3.02;  $p=0.2145$ ).

### III.3.2.6 COX PROPORTIONALE HAZARD ANALYSE ZUR UNTERSUCHUNG DES EINFLUSSES VON PINP (GEMESSEN MIT RIA) AUF DAS GESAMTÜBERLEBEN BEI PATIENTEN MIT KNOCHENMETASTASEN

Auch hier konnte keine signifikant höhere Gesamtsterberate für PINP-Konzentrationen  $\geq$  dem Median gezeigt werden, HR = 1.52 (95 % KI, 0.86-2.72;  $p=0.1479$ ).

### III.3.2.7 BIVARIATE ANALYSE VON ICTP-RIA UND ICTP-ELISA

Die bivariate Anpassung der Testsysteme RIA und ELISA zeigten sich in der Bestimmung von ICTP übereinstimmend,  $r^2=0.77$ ;  $P < 0.0001$

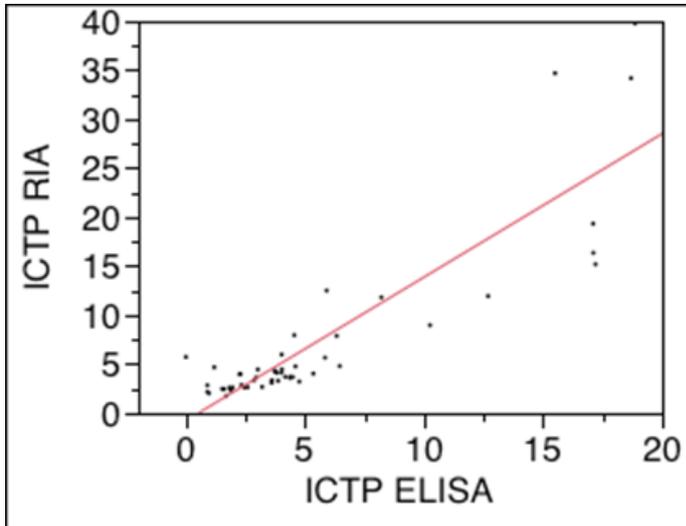


Abbildung 16: bivariate Anpassung der Testverfahren RIA und ELISA für ICTP

#### IV DISKUSSION

Beim Prostatakarzinom handelt es sich um die beim Mann am häufigsten vorkommende bösartige Tumorerkrankung (1). Trotz des zumeist langsamen Wachstums sowie der generell guten Behandelbarkeit, neigt das PC dazu im Krankheitsverlauf Knochenmetastasen zu entwickeln. So können ossäre Metastasen Jahre nach der Primärtherapie auftreten und die Prognose sowie die Lebensqualität der Patienten maßgeblich beeinflussen (99). Patienten mit Knochenmetastasen können lange Zeit asymptomatisch sein, im Verlauf jedoch an Schmerzen, pathologischen Frakturen, bis hin zur Querschnittssymptomatik leiden (71, 75). Dies macht die rechtzeitige Erkennung von Knochenmetastasen sowie die Beurteilung eines möglichen Progresses dieser Tumorherde zu einem zentralen Thema in der Behandlung des PC. Hierbei spielen sowohl die Bestimmung des PSA-Wertes im Serum als auch bildgebende Verfahren eine wichtige Rolle (25). Die Knochenszintigraphie sowie Computertomographie sind neben dem PSA-Wert weiterhin der Goldstandard in der Diagnose, Beurteilung sowie Verlaufskontrolle von ossären Metastasen (25). Ein Problem hierbei stellt jedoch der Zeitpunkt der Diagnosestellung dar. Es gilt nämlich zu beachten, dass die ossäre Metastasierung bereits Monate vor einer bildmorphologisch sichtbaren Läsion auftreten oder voranschreiten kann (26, 100).

Um derartige Prozesse rechtzeitig erkennen und behandeln zu können, ist die Entwicklung geeigneter Serummarker für den Knochenmetabolismus bereits Gegenstand der Forschung. Durch das Messen von Metaboliten des Knochenstoffwechsels soll auf verstärkte Um- und Abbauprozesse geschlossen werden können.

Der Stellenwert dieser Marker beim PC ist jedoch unzureichend geklärt. Die Entwicklung, Verbesserung und Verwendung derartiger Marker für den Knochenstoffwechsel könnte die bislang verwendeten Modalitäten wie PSA-Wert und Bildgebung maßgeblich unterstützen und deren Nutzbarkeit in der Entscheidungsfindung für den weiteren Therapieverlauf deutlich verbessern.

Die Serummarker für den Knochenstoffwechsel ICTP und PINP finden in der allgemeinen Onkologie bereits Verwendung. So konnte bei verschiedenen Tumorentitäten auch ein Zusammenhang zwischen ICTP und PINP sowie dem Vorliegen von ossären Metastasen gezeigt werden. Hierbei war auch ein möglicher Zusammenhang mit der Überlebenswahrscheinlichkeit gezeigt worden (85, 91). Einen festen Bestandteil im Algorithmus bei malignen Erkrankungen, insbesondere dem PC, bilden diese beiden Parameter jedoch nicht.

Ziel dieser Studie war es das diagnostische und prognostische Potential von ICTP und PINP am eigenen Kollektiv bei Patienten mit PC und BPH zu validieren sowie deren Zusammenhang mit dem onkologischen Outcome zu untersuchen.

Hierfür wurden 133 Patienten mit einem gesicherten PC retrospektiv in die Studie eingeschlossen und ein Follow-Up erhoben. Als Kontrollgruppe wurden 53 Patienten mit BPH verwendet. Diesen 186 Patienten wurde bis 2007 im Rahmen einer regulären urologischen Untersuchung die Bestimmung von ICTP und PINP angeboten und durchgeführt.

Es konnte von uns ein signifikanter Unterschied für ICTP und PINP (gemessen mit RIA) zwischen Patienten mit PC und BPH gezeigt werden. Auch schien ICTP (gemessen mit RIA) bei der Patientengruppe mit PC und ossären Metastasen signifikant höher zu sein, als bei der Patientengruppe ohne Knochenmetastasen. Ein ähnliches Ergebnis zeigte sich für PINP bei Patienten mit PC. Hier wies die Gruppe mit ossären Metastasen signifikant höhere Werte für PINP auf, als Patienten ohne nachgewiesene Knochenmetastasen.

Ebenso gezeigt werden konnte ein Zusammenhang von erhöhten ICTP-Konzentrationen (gemessen nach RIA) und dem krebsspezifischen Überleben. Die Überlebensraten für 2 und 5 Jahre lagen bei Patienten mit  $\text{ICTP} \geq$  dem Median bei 50% und 33% sowie bei Patienten mit  $\text{ICTP} <$  dem Median bei 75% und 52% und waren damit signifikant geringer. Ebenso für ICTP (gemessen nach RIA) und dem Gesamtüberleben trat ein signifikanter Unterschied auf.

#### IV.1 ASPEKTE DER UNTERSUCHTEN KOLLEKTIVE

Für die hier präsentierte Arbeit wurden insgesamt 133 Patienten mit PC sowie 53 Patienten mit histologisch gesicherter BPH retrospektiv rekrutiert.

Die Gruppe der Patienten mit PC beinhaltete 58 Patienten ohne, sowie 70 Patienten mit Knochenmetastasen. Hierbei war jeweils der Status der Knochenmetastasen zum Zeitpunkt der Blutentnahme für ICTP und PINP entscheidend.

Die von uns untersuchten Kollektive sind aufgrund der Patientenzahl sowie der Patientencharakteristika durchaus mit Kollektiven anderer Autoren vergleichbar. Eine im Jahr 2004 publizierte Studie untersuchte, neben anderen Markern für den Knochenstoffwechsel, auch ICTP und PINP bei Patienten mit PC. Hierbei wurden die Früherkennung von Knochenmetastasen und die krebsspezifische Mortalität für das PC evaluiert. Es wurden dabei retrospektiv 117 Patienten mit PC (davon 44 mit Metastasen) sowie 35 Patienten mit BPH in die Studie eingeschlossen. Darüber hinaus wurden noch 35 weitere gesunde Männer untersucht. Es konnte in dieser Studie gezeigt werden, dass ICTP und PINP Prädiktoren für die krebsspezifische Mortalität sowie von knochenspezifischen Komplikationen sind (73). Eine weitere Arbeitsgruppe untersuchte 58 Patienten mit PC und Knochenmetastasen, 112 Patienten mit PC jedoch ohne bildmorphologischen Nachweis ossärer Filiae und 52 Patienten ohne PC (97). Auch dieses Kollektiv ist, die Patientenzahlen, den Zeitraum des Follow-Up sowie die Patientencharakteristika betreffend, durchaus mit dem von uns hier untersuchten vergleichbar. Diese Arbeit zeigte ICTP als Prädiktor für Knochenmetastasen sowie unabhängigen prognostischen Faktor für die krebsspezifische Mortalität (97).

Bei nahezu allen Patienten unserer Kollektivs wurde die Bestimmung von ICTP und PINP mittels RIA durchgeführt. Die hierfür verwendeten Testverfahren sind überwiegend identisch mit jenen anderer Autoren (95).

Insbesondere für ICTP konnten Vorteile in der Diagnose und Prognose bei Patienten mit PC und Knochenmetastasen gezeigt werden. Auch PINP war durchaus in der Lage die Diagnose von Knochenmetastasen bei Patienten mit PC zu ermöglichen. Mittels des ELISA Testverfahrens konnten diesbezüglich keine signifikanten Erkenntnisse vorgewiesen werden. Die Interpretation des verwendeten ELISA Testverfahrens für ICTP könnte jedoch aufgrund der verhältnismäßig wenigen Daten eingeschränkt sein. Das Verfahren selbst schien dem RIA nicht unterlegen. Hier wären weitere Untersuchungen mit höheren Patientenzahlen hilfreich.

Die genannten Kollektive aus den diversen Studien lassen sich letztlich mit dem hier untersuchten Kollektiv durchaus vergleichen. Dies trifft sowohl für die verwendeten Patientenzahlen der präsentierten Kollektive, als auch für die Länge des erhobenen Follow-Up, die Patientencharakteristika und Bestimmungsmethode zu.

## IV.2 WERTIGKEIT VON ICTP UND PINP IN DER DIAGNOSTIK DES PROSTATAKARZINOMS

Mit dem Ziel Patienten mit PC unabhängig von deren Erkrankungsstadium zu identifizieren, wurden Unterschiede zwischen Patienten mit BPH und PC hinsichtlich der Serumkonzentrationen von ICTP und PINP untersucht. Darüber hinaus sollen auch andere diagnostische Marker beim PC hier diskutiert werden.

### IV.2.1 ICTP UND PINP BEI PATIENTEN MIT PROSTATAKARZINOM UND BENIGNER PROSTATAHYPERPLASIE

Hierbei konnte an unserem Kollektiv gezeigt werden, dass es einen signifikanten Unterschied zwischen ICTP (gemessen mit RIA) beim PC und bei der BPH gibt ( $p=0.0195$ ). Ein signifikantes Ergebnis für ICTP (gemessen nach ELISA) sowie PINP konnte zwischen diesen beiden Gruppen nicht gezeigt werden.

Ein ähnliches Ergebnis für ICTP beim PC konnte Yoshida et al. zeigen. Hierbei waren sowohl Patienten mit PC als auch Patienten mit BPH untersucht worden. Die für ICTP gemessenen Serumkonzentrationen waren in der Gruppe der Patienten mit PC, unabhängig vom Status der Knochenmetastasierung, signifikant höher, als in der Gruppe der Patienten mit BPH (101). Eine weitere Arbeitsgruppe konnte ein ähnliches Ergebnis vorweisen. Auch hier waren die Konzentrationen von ICTP bei Patienten mit PC mit und ohne ossäre Filiae jeweils höher, als bei Patienten mit BPH (102).

Konträr zu bereits veröffentlichten Daten zu PINP beim PC konnten wir keinen signifikanten Unterschied zwischen Patienten mit PC und BPH feststellen. Die Literatur betrachtend konnte zwar auch kein signifikanter Unterschied zwischen BPH Patienten sowie Patienten mit nicht metastasiertem PC gefunden werden, jedoch für Patienten mit ossären Metastasen (94). Auch De la Piedra et al. beschrieb signifikant niedrigere Werte für PINP bei Patienten mit BPH sowie Patienten mit PC ohne ossäre Filiae im Vergleich zu Patienten mit PC und ossären Filiae. Aufgrund dieser Ergebnisse wurde PINP eine Sensitivität sowie

Spezifität für ossäre Filiae von 100% zugeschrieben (93). Warum der Nachweis eines Zusammenhangs zwischen PINP bei Patienten mit BPH und PC nicht möglich war bleibt zunächst unklar. Eine Erklärung wäre die Tatsache, dass sich einige der Patienten zum Zeitpunkt der Blutentnahme bereits unter einer krebsspezifischen Therapie befanden. Wenn auch hierfür die Studienlage kontrovers ist, könnte sich dies auf die Höhe der Serumkonzentration von PINP auswirken. Zum einen konnte in einer Studie gezeigt werden, dass sich eine AHT nicht auf die Konzentrationen von PINP und ICTP auszuwirken scheint (26), zum anderen scheint die Gabe von Zoledronsäure die Konzentration von PINP gegebenenfalls zu beeinflussen. Hier konnte Lein et al zeigen, dass ein Abfall der PINP Konzentration unter Therapie mit Zoledronsäure bei Patienten mit ossär metastasiertem PC mit einem erhöhten Risiko für das Auftreten von skelettspezifischen Komplikationen einhergeht (103).

Eine weitere Möglichkeit wären uns unbekannt, den Knochen betreffende Komorbiditäten der Kollektive. So könnte zum Beispiel das Vorhandensein einer Osteoporose eine Rolle in der Höhe Serumkonzentration von PINP spielen (104-106).

Um die Frage des Einflusses von unterschiedlichen Therapien auf die hier untersuchten Knochenbaumarker definitiv beantworten zu können, wären mehr Studien mit therapienaiven Patienten, unter Berücksichtigung von anderen Knochenerkrankungen notwendig.

## IV.2.2 VERGLEICH VON ICTP UND PINP MIT DEM PSA WERT IN DER DIAGNOSTIK DES PROSTATAKARZINOMS

In der klinischen Routine finden sich diverse diagnostische Möglichkeiten für die Untersuchung des PC. Hierunter fällt neben der digital-rektalen Untersuchung und dem Ultraschall, die Bestimmung des PSA Wertes (19, 21).

### IV.2.2.1 DAS PROSTATASPEZIFISCHE ANTIGEN

Das bislang wichtigste Werkzeug in der Diagnostik des PC stellt nach wie vor die PSA Messung im Serum dar (11). Man geht davon aus, dass die Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen eines PC bei steigendem PSA-Wert zunimmt (13). Aktuell gilt (unter Berücksichtigung des Alters) eine gemessene Serum-PSA-Konzentration von 4 ng/ml als auffällig und bedarf einer weiteren Abklärung. Hierbei besteht bereits ein 27%iges Risiko für das Vorliegen eines PC (13). Erhöhte Werte können jedoch auch auf das Vorhandensein einer Entzündung oder BPH hinweisen (12).

Zur Verbesserung der Diagnostik und Interpretation dieses Serummarkers wurde vielerlei Varianten und Berechnungsmöglichkeiten des PSA Wertes entwickelt. Die gängigsten hierunter sind die Ratio aus freiem und totalem PSA, welche insbesondere zur Unterscheidung von PC und BPH verwendet wird (13, 14).

### IV.2.2.2 RATIO FREIES/TOTALES PSA

Die Ratio aus freiem und totalem PSA ist der in der Routine am häufigsten verwendete Marker zur Unterscheidung zwischen der gutartigen Vergrößerung der Prostata sowie dem Prostatakarzinom. Diese Ratio wird bei PSA Werten zwischen 4 und 10 ng/ml sowie unauffälliger DRU oder nach bereits durchgeführter Biopsie verwendet (14). Ein freier PSA-Anteil von mehr als 20% spricht für eine gutartige Prostatavergrößerung (107). Jedoch zeigen sich auch hier Divergenzen und Variabilität, weshalb dieses Testverfahren teilweise angezweifelt wird (107).

Der Zusammenhang von freiem PSA sowie ICTP oder PINP wurde in Studien bislang unzureichend untersucht. Es konnte jedoch bereits gezeigt werden, dass Knochenumbaumarker bei Patienten mit PC höher sein können, als bei Patienten mit BPH (102, 108). Gerade bei Patienten mit BPH könnte diese Erkenntnis hilfreich sein. Oft können unspezifische PSA-Werterhöhungen nämlich zu weiteren unnötigen und aufwendigen Diagnoseverfahren führen, was wiederum eine Belastung für den Patienten bedeutet. Wenn auch der PSA Wert in der primären Diagnostik des PC weiterhin der Goldstandard ist, so könnte ein zusätzliches Testverfahren, wie die Bestimmung von ICTP, nützliche Informationen für die Beratung von Patienten hinsichtlich der weiteren Behandlung bringen.

#### IV.3 WERTIGKEIT VON ICTP UND PINP IN DER DIAGNOSTIK VON KNOCHENMETASTASEN BEIM PROSTATAKARZINOM

Zu jedem Zeitpunkt im Krankheitsverlauf des PC besteht ein unterschiedlich hohes Risiko bezüglich der Ansiedlung zirkulierender Tumorzellen im Knochen. Diese können dort zu Ab- und Umbauprozessen führen, welche erst zu einem deutlich späteren Zeitpunkt in Form von Knochenmetastasen sichtbar werden (100). Eine wichtige Eigenschaft neuer Serummarker sollte somit die verbesserte Früherkennung von solchen Umbauprozessen im Knochen sein, da diese auf eine Metastasierung hinweisen können. Des Weiteren können derartige Serummarker auch in der Verlaufsbeurteilung bei Patienten mit bereits bekannten ossären Metastasen verwendet werden, um eine Progression der Erkrankung rechtzeitig zu erkennen. Basierend darauf, könnte dann ein frühzeitiger Therapiewechsel eingeleitet werden. Deshalb wurden Marker für den Knochenstoffwechsel zuletzt immer häufiger hinsichtlich der Diagnostik von Knochenmetastasen untersucht (85, 91). Dadurch kann der Metabolismus im Knochen quantifiziert und überwacht werden (83, 84). Gerade bei ossär metastasierten Erkrankungen unterschiedlichster Entität werden solche Marker zur Einschätzung der Knochenmetastasierung sowie zur Therapiekontrolle teilweise eingesetzt (85).

Ein Ziel der von uns durchgeführten Studie war es, ob die von uns untersuchten Serummarker ICTP und PINP in der Lage sind, PC-Patienten mit von jenen ohne Knochenmetastasen zu unterscheiden.

#### IV.3.1 VERGLEICH DER KOLLEKTIVE VON PATIENTEN MIT UND OHNE KNOCHENMETASTASEN BEIM PROSTATAKARZINOM

Das Gesamtkollektiv der Patienten mit PC wurde für die Auswertung in Patienten ohne sowie in Patienten mit Knochenmetastasen zum Zeitpunkt der Blutentnahme unterteilt. Ziel war es, mögliche Unterschiede hinsichtlich der Konzentrationen von ICTP und PINP zwischen diesen beiden Kollektiven zu zeigen. Hierbei konnte ein signifikanter Unterschied von ICTP und PINP (jeweils gemessen mit RIA) zwischen Patienten mit und ohne Knochenmetastasen gezeigt werden.

##### IV.3.1.1 PINP BEI KNOCHENMETASTASEN

Für PINP konnte von Koizumi et al. ein ähnliches Ergebnis gezeigt werden. Hierbei war bei Patienten mit PC und Knochenmetastasen PINP signifikant höher als bei nicht ossär metastasierten Patienten (89). Auch eine weitere Arbeitsgruppe konnte einen signifikanten Zusammenhang von erhöhten PINP-Konzentrationen im Serum mit dem Vorhandensein von Metastasen beim PC nachweisen (73). Dies bestätigte auch Klepzig et al. in seiner durchgeführten Studie. Auch hier war PINP in der Lage zwischen Patienten mit und ohne Knochenmetastasen zu unterscheiden (94).

Ein Vorteil dieses für die osteoplastische Knochenaktivität spezifischen Markers scheint dessen Unabhängigkeit von lokalem Tumorgeschehen sowie vom Vorhandensein viszeraler Metastasen zu sein. Während der PSA-Wert und die alkalische Phosphatase durch ein lokales oder viszerales Tumorgeschehen beeinflusst werden, ist PINP diesbezüglich unabhängig und spiegelt somit lediglich das Tumorgeschehen des Knochens wieder (94). Ein weiterer Vorteil von PINP könnte die Fähigkeit der Früherkennung von ossären Metastasen sein. In diesem Zusammenhang konnte in einer von Koopmans et al. veröffentlichten Studie bewiesen werden, dass bei Patienten mit Knochenmetastasen erhöhte Werte für PINP bis zu 8 Monate vor einer knochenszintigraphisch feststellbaren Läsion auftreten können (26). Der Knochenumbau marker PINP scheint somit ein geeigneter Marker bei Patienten mit hohem Risiko für das Vorhandensein von Knochenmetastasen zu

sein. Darüber hinaus könnte PINP aufgrund der Datenlage auch in der Früherkennung von Knochenmetastasen eingesetzt werden.

#### IV.3.1.2 ICTP BEI KNOCHENMETASTASEN

Zusätzlich zu PINP konnte auch für erhöhte ICTP-Konzentrationen ein Zusammenhang mit dem Vorhandensein von Knochenmetastasen in unserem Kollektiv an Patienten mit PC demonstriert werden. Dies scheint sich auch mit den Daten anderer Autoren zu decken. Koopmans et al. konnte zeigen, dass ICTP in der Lage ist Patienten mit PC und Knochenmetastasen von jenen ohne Metastasen beziehungsweise jenen ohne PC zu unterscheiden. Darüber hinaus schien in seinem Kollektiv eine AHT dieses Ergebnis nicht zu beeinflussen (26). In einer weiteren Studie wurden neben ICTP und dem PSA-Wert auch die totale AP und die knochenspezifische AP untersucht und mit dem knochenszintigraphischen Ausmaß der Metastasierung korreliert. Zwar waren alle untersuchten Marker bei Patienten mit PC und ossären Metastasen signifikant erhöht, jedoch konnten nur ICTP und PSA in der multivariaten Analyse als Prädiktoren für Knochenmetastasen beim PC identifiziert werden. Hierbei zeigte sich ICTP als der verlässlichere Prädiktor für das Auftreten von ossären Filiae (97). Jedoch zeigen sich in der bisherigen Literatur auch widersprüchliche Daten. Hosoya et al. konnte keinen Unterschied bezüglich ICTP und dem Vorhandensein von Knochenmetastasen bei Patienten mit PC zeigen. Grund hierfür könnte das im Verhältnis relativ kleine Gesamtkollektiv von insgesamt 75 Patienten sein (102).

Letztlich unterstreichen diese Daten die These, dass beim Auftreten von ossären Filiae vermehrt Stoffwechselprodukte des Knochens im Serum anzufallen scheinen. Weiter scheinen die hier gezeigten Ergebnisse in diversen Patientenkollektiven reproduzierbar zu sein und unterstreichen damit die mögliche Nutzbarkeit dieser beiden Knochenmarker in der klinischen Routine. Ein mögliches Einsatzgebiet wären sowohl Patienten mit einem neu diagnostiziertem Hoch-Risiko Karzinom der Prostata und bildmorphologisch fehlendem Nachweis von Knochenmetastasen, als auch Patienten nach bereits durchgeführter Lokalthherapie, welche sich aktuell im biochemischen Progress befinden, jedoch bildmorphologisch keine Filiae aufweisen. Daten, welche zeigen konnten, dass bei Patienten mit Knochenmetastasen erhöhte Werte für PINP bis zu 8 Monate vor radiographisch sichtbaren Läsion auftreten können, unterstreichen diese These (26). In diesen Fällen könnte durch die Bestimmung von ICTP oder PINP eine Risikostratifizierung erfolgen und Patienten könnten hinsichtlich der Notwendigkeit einer weiteren Therapie besser beraten werden.

Die Daten betrachtend lassen die von uns bestimmten Konzentrationen für ICTP und PINP eine diagnostische Aussage bei Patienten mit PC zu. Eine Diskriminierung von Patienten mit und ohne Knochenmetastasen scheint mittels RIA hierbei möglich. Ob die hier genannten medianen Serumkonzentrationen als allgemein gültiger Cut-Off verwendet werden können, muss in weiteren Studien geprüft werden. Warum die Verwendung des ELISA diese Ergebnisse nicht bestätigen konnte, mag an der verhältnismäßig geringen Anzahl an durchgeführten Bestimmungen liegen. Diesbezüglich wären weiteren Studien notwendig.

#### IV.3.2 VERGLEICH VON ICTP UND PINP MIT ANDEREN DIAGNOSTISCHEN MARKERN FÜR KNOCHENMETASTASEN BEIM PROSTATAKARZINOM

Das rechtzeitige Erkennen und die Prävention von Knochenmetastasen haben einen hohen Stellenwert beim PC. In der klinischen Routine kommen deshalb bei Patienten mit einem hohen Risiko für das Vorliegen von Knochenmetastasen, PSA-Bestimmung, Bestimmung der alkalischen Phosphatase sowie die Knochenszintigraphie zum Einsatz (7, 38, 109).

Inwieweit die Serummarker ICTP und PINP diese bereits etablierten Verfahren unterstützen können oder ihnen überlegen sind, ist wenig untersucht.

##### IV.3.2.1 DER PSA-WERT

Der PSA-Wert ist der am häufigsten verwendete Serummarker beim PC. In der Diagnostik von Knochenmetastasen ist dieser Marker jedoch aufgrund fehlender Cut-Off Werte schwer einzuordnen (110). In diesem Zusammenhang wurden neben dem PSA-Wert weitere Knochenumbau-marker wie ICTP und PINP untersucht. Es konnte hierbei gezeigt werden, dass sowohl das PSA als auch ICTP bei Patienten mit ossären Filiae erhöht war und mit dem Ausmaß der Metastasierung in der Knochenszintigraphie signifikant korrelierte. Darüber hinaus schien ICTP jedoch der verlässlichste Prädiktor für das Auftreten von Knochenmetastasen zu sein (97). In der von uns durchgeführten Analyse von ICTP und PINP (gemessen mit RIA) bei Patienten mit PC, konnte klar gezeigt werden, dass beide Serummarker in der Lage sind zwischen Patienten mit und ohne Knochenmetastasen zu unterscheiden. Auch waren erhöhte ICTP-Konzentrationen mit einem schlechteren Outcome assoziiert. In Zusammenschau mit den von Kamiya et al. postulierten Daten scheint eine Kombination von insbesondere ICTP und dem totalen PSA als sinnvoll (97). Die Entwicklung eines solchen Multi-Panels könnte eine bessere Nachsorge für Patienten mit hohem Risiko für die Bildung von ossären Metastasen gewährleisten.

#### IV.3.2.2 DIE ALKALISCHE PHOSPHATASE

Einer der wohl am häufigsten untersuchten knochenspezifischen Serummarker beim PC ist die AP, welche beim Vorliegen von Knochenmetastasen erhöht sein kann (38). In einer von Klepzig et al. durchgeführten Studie zeigte sich ein Vorteil von PINP im Vergleich zu PSA und AP bezüglich der hohen Sensitivität und Spezifität in der Diagnostik von Knochenmetastasen (94). Die von uns dargelegten Daten zeigten für ICTP und PINP (gemessen mit RIA) ebenso eine deutliche Detektionsrate von ossären Metastasen im Kollektiv der Patienten mit PC. Da die AP in der von uns durchgeführten Studie nicht mitbeobachtet wurde, ist ein direkter Vergleich nicht möglich. Im Vergleich zu bereits vorliegenden Daten scheinen diese beiden Serummarker der AP jedoch nicht unterlegen und können ebenso auf ossäre Focae hinweisen (94). Ein Vorteil von ICTP und PINP könnte darüber hinaus sein, dass diese, konträr zur AP, nicht durch das Vorliegen von viszeralen Metastasen beeinflusst werden (94). Ähnlich wie beim PSA-Wert könnte die AP in ein multiparametrisches Panel mitsamt ICTP und PINP einfließen und Therapieentscheidungen maßgeblich beeinflussen.

#### IV.3.2.3 DIE SKELETTSZINTIGRAPHIE

Die Skelettszintigraphie ist ein etabliertes nuklearmedizinisches Verfahren in der Diagnose von Knochenmetastasen (7). So findet sich beim PC ein negativer prädiktiver Wert für ossäre Filiae von 87-100% (111, 112). Dennoch können Trauma, Infekt und Arthrose die Spezifität der Skelettszintigraphie beeinträchtigen (73, 84). Im Weiteren belegen Daten, dass bei Patienten mit Knochenmetastasen erhöhte Werte für PINP Monate vor radiographisch sichtbaren Läsion auftreten können (26).

In der hier durchgeführten Studie war ICTP und PINP in der Lage zwischen Patienten mit und ohne Knochenmetastasen zu unterscheiden. Unter diesem Aspekt könnte bei Hoch-Risikopatienten eine Kombination aus Knochenszintigraphie und ICTP oder PINP diagnostische Vorteile bringen. Auf diese Weise könnte die Knochenszintigraphie in ihrer Sensitivität und insbesondere Spezifität noch verbessert werden.

#### IV.4 WERTIGKEIT VON ICTP UND PINP FÜR DIE BEURTEILUNG DES KRANKHEITSVERLAUFS VON PATIENTEN MIT KNOCHENMETASTASEN

Häufig untersucht wird die Prognose von Patienten mit einer malignen Erkrankung. Beim PC ist die Prognose insgesamt als günstig einzuschätzen, hängt jedoch stark von der Ausprägung des Tumors und der Metastasen ab (5). So haben Patienten mit einer geringen Metastasenlast eine bessere Überlebensrate als Patienten mit ausgeprägten viszeralen oder multiplen Knochenmetastasen (5). Die Knochenmetastasen betrachtend, konnte beim PC gezeigt werden, dass bei 85% der Männer welche am PC versterben eine ossäre Metastasierung vorliegt. Ein Zusammenhang zwischen ossären Filiae, Knochenmarkern und dem Überleben wäre also durchaus denkbar (99). Inwieweit Marker für den Knochenstoffwechsel die Prognose bei Patienten mit Knochenmetastasen vorhersagen können ist unklar. Zwar konnte für ICTP und PINP in diversen Studien eine Korrelation mit dem Überleben nachgewiesen werden, jedoch ist der Bezug zur klinischen Routine noch limitiert (97, 113).

Ein wichtiger Vorteil von ICPT und PINP in der Beurteilung des Krankheitsverlaufs könnte die Unabhängigkeit dieser Marker vom lokalen Tumorgeschehen sowie von Lymphknotenmetastasen oder viszeralen Metastasen sein. Auch könnte damit ein eventuelles Ansprechen auf eine durchgeführte Radiotherapie nachgewiesen werden (108).

Mit dem Ziel Komplikationen zu verhindern sowie das Überleben zu verbessern, könnten solche Marker hilfreich für den rechtzeitigen Behandlungsbeginn oder den Therapiewechsel beim metastasierten PC sein.

#### IV.4.1 ZUSAMMENHANG ZWISCHEN ICTP, PINP UND DEM KREBSSPEZIFISCHEN VERSTERBEN

Aufgrund des erhöhten Risikos beim metastasierten PC daran zu versterben, wurden ICTP und PINP bei Patienten mit ossären Metastasen diesbezüglich untersucht. Hierbei war die Zeit bis zum krebsspezifischen Versterben bei Patienten mit Knochenmetastasen mit höheren ICTP-Konzentrationen (gemessen mittels RIA) assoziiert,  $p=0.0372$ . Für ICTP gemessen mittels ELISA sowie für das Peptid PINP konnte keine Korrelation gezeigt werden.

##### IV.4.1.1 ICTP UND DAS KREBSSPEZIFISCHE VERSTERBEN

Um eine mögliche Korrelation von ICTP mit dem krebsspezifischen Versterben zu untersuchen, wurde dieser Marker sowie die AP bei Patienten mit PC und Knochenmetastasen von Kylmala et al. untersucht. Hier konnte neben der diagnostischen Relevanz von ICTP und der AP gezeigt werden, dass lediglich ICTP in der Lage war die Prognose hinsichtlich des krebsspezifischen Überlebens vorherzusagen (96). Eine weitere retrospektive Studie untersuchte neben ICTP auch PSA sowie die knochenspezifische AP. Lediglich ICTP sowie PSA waren hierbei signifikante Prädiktoren für das Auftreten von Knochenmetastasen. Die multivariate Analyse konnte nur ICTP als unabhängiger Risikofaktor für das krebsspezifische Versterben identifizieren. Die Autoren schlussfolgerten hieraus, dass ICTP als verlässlichster Marker für die Detektion von Metastasen zu werten ist und als einziger das krebsspezifische Überleben vorhersagen kann (97).

Auch in unserer Studie konnte ein ähnliches Ergebnis gezeigt werden. Durch diese Erkenntnis kann bei Patienten mit erhöhten ICTP Konzentrationen im Serum durchaus auf eine insgesamt schlechtere Prognose geschlossen werden. Ob sich der von uns gezeigte Median für ICTP von  $\geq 6.04 \mu\text{g/l}$  als generell gültiger Cut-Off Wert verwenden lässt, muss in weiteren Studien geprüft werden. Damit wäre jedoch definitiv eine Risikostratifizierung möglich und solche Patienten könnten einer aggressiveren Therapie unterzogen werden.

#### IV.4.1.2 PINP UND DAS KREBSSPEZIFISCHE VERSTERBEN

Die Untersuchung von PINP (gemessen mittels RIA) hat in unserer Kohorte keinen Zusammenhang mit dem krebsspezifischen Versterben gezeigt. Dies widerspricht zum Teil der bisher bekannten Literatur. Jung et al. untersuchte an einer Kohorte von 117 Patienten mit PC sowie 70 gesunden Männern neben der totalen und knochenspezifischen AP auch PINP. Dabei konnte er für nahezu alle untersuchten Marker signifikant erhöhte Werte bei jenen Patienten mit ossären Metastasen feststellen. Darüber hinaus waren Werte über dem Cut-Off von unter anderem PINP mit einem schlechteren krebsspezifischen Überleben assoziiert. Die Autoren konnten damit die Aussagekraft derartiger Marker, alleine oder in Kombination, hinsichtlich des krebsspezifischen Überlebens demonstrieren (73).

Der Grund warum dies in der von uns durchgeführten Studie nicht gezeigt werden konnte ist nicht vollständig erklärbar. Eine mögliche Theorie könnte die bereits begonnene Therapie mittels AHT oder Zoledronsäure zum Zeitpunkt der Blutentnahme bei einigen Patienten sein. Insbesondere eine Bisphosphonattherapie könnte zu Veränderung der PINP Konzentration führen (87, 103).

Eine weitere Erklärung könnten die physiologischen Tageschwankungen sein, welchen PINP unterliegt (114) sowie andere, uns nicht bekannte, Knochenerkrankungen (106).

#### IV.4.2 ZUSAMMENHANG ZWISCHEN ICTP, PINP UND DEM GESAMTVSTERBEN

Bezüglich der Zeit bis zum Gesamtversterben konnten wir lediglich für ICPT gemessen mit RIA einen signifikanten Zusammenhang mit erhöhten Serumkonzentrationen zeigen,  $p=0.0199$ . Hinsichtlich des Gesamtüberlebens wurden bei Patienten mit ossären Metastasen, allerdings unter Therapie mit Bisphosphonaten, ICTP und PINP bereits prospektiv untersucht. Die hierfür durchgeführte Studie konnte bei 34 von 52 Patienten ein Versterben feststellen. Diese Patienten hatten signifikant höhere ICTP und PINP Konzentrationen im Serum als die überlebenden Patienten. ICTP und PINP wiesen einen hohen Prädiktionwert für die Mortalität sowie für das Auftreten von SRE's auf (113). PINP betrachtend, konnte eine weitere Studie zeigen, dass dieser Marker sich durchaus auch bei anderen ossäre metastasierte Erkrankungen, wie das Mammakarzinom anwenden lässt. So hatten in dieser Studie Patienten mit PINP-Konzentrationen von mindestens 75 ng/ml ein höheres Risiko für Knochenmetastasen sowie ein schlechteres Gesamtüberleben (115). Eine weitere Studie konnte dies neben dem PC und dem Mammakarzinom auch für das Bronchialkarzinom zeigen (95).

Warum dies an unserem Kollektiv für PINP nicht gezeigt werden konnte, kann neben dem möglichen Einfluss der Therapie auch an der geringen Anzahl an Ereignissen sowie dem insgesamt kleinen Kollektiv liegen. Letztlich scheint ICTP diesbezüglich jedoch der verlässlichere Marker zu sein.

#### IV.5 AUSBLICK: KLINISCHE VERWENDUNG VON ICTP UND PINP BEIM PROSTATAKARZINOM

ICTP und PINP wurden beim metastasierten PC bereits mehrfach hinsichtlich ihrer klinischen Anwendbarkeit untersucht. In der hier präsentierten Arbeit konnte ein Zusammenhang von erhöhten Konzentrationen dieser beiden Peptide im Serum mit unterschiedlichen Aspekten dieser Erkrankung gezeigt werden. Die wohl wichtigsten Eigenschaften dieser Marker liegen in der Diagnostik von Knochenmetastasen bei Patienten mit PC sowie in einer möglichen Prognoseeinschätzung von Patienten, welche bereits Knochenmetastasen haben. Die hier gezeigten Daten weisen bereits auf Cut-Off Werte hin, bei denen ein erhöhtes Risiko für die Patienten besteht. Weitere Studien sind jedoch notwendig, um diese Werte zu bestätigen. So könnte ein allgemein gültiger Algorithmus im Management dieser Erkrankung entwickelt werden. Bei erhöhten Konzentrationen könnte somit eine Bildgebung früher als geplant erfolgen oder ein Therapiewechsel angestrebt werden. Darüber hinaus können diese Marker in Zukunft auch eine große Rolle im Therapiemonitoring bei Patienten mit PC sowie laufender antiresorptiver Therapie spielen (116). Hierbei scheint jedoch PINP durch die verwendete Zoledronsäure beeinflusst zu werden (87). Heute können vielerlei neue Therapieformen beim PC angeboten werden, jedoch ist das Monitoring noch nicht optimiert und ein Progress kann erst ab einer bildmorphologischen Zunahme der Tumormassen oder einem deutlichen PSA-Anstieg festgestellt werden. Insbesondere der Zusammenhang von Serummarker für den Knochenstoffwechsel und einer Bisphosphonattherapie wurden bereits in der Vergangenheit mehrfach untersucht (71, 76). Hierbei konnte gezeigt werden, dass bei Patienten mit einem Fortschreiten der ossären Metastasierung PINP, ICTP und auch AP signifikant höher waren als bei Patienten ohne nachgewiesenem Progress (76).

Letztlich spielen sowohl ICTP als PINP eine wichtige Rolle beim ossär metastasierten PC. Es werden jedoch weitere Studien notwendig sein, um diese beiden Metaboliten als diagnostische und prognostische Marker beim PC etablieren zu können.

#### IV.6 PHYSIOLOGISCHE LIMITATIONEN DER SERUMMARKER ICTP UND PINP

Aufgrund der physiologischen Eigenschaften von ICTP und PINP können Schwankungen im Serum auftreten.

Ein wichtiger Aspekt hierbei sind die Tageschwankungen, welchen ICTP und PINP unterliegen. Die Konzentration dieser Abbauprodukte ist nämlich nachts höher als am Tag.

Im Weiteren kann eine Niereninsuffizienz mit einer glomerulären Filtrationsrate von 50 ml/min/1.73m<sup>2</sup> oder weniger zu einer Elevation der gemessenen Konzentration im Blut führen (82). Da PINP zudem in der Leber verstoffwechselt wird, können bei schwerer Leberinsuffizienz erhöhte Werte für PINP auftreten (114).

Neben Erkrankungen der Leber und Niere, können jedoch auch Erkrankungen des Knochens oder Bewegungssystems einen Einfluss auf die Konzentration von ICTP und PINP im Serum nehmen. Besonders bei Patienten mit Osteoporose oder auch rheumatoider Arthritis wären Änderungen in der Serumkonzentration dieser Marker denkbar (104, 117).

Eine weitere Limitation ist die Tatsache, dass einige Patienten zum Zeitpunkt der Bestimmung von ICTP und PINP bereits eine antihormonelle Therapie oder eine Therapie mit Zoledronsäure erhielten. Insbesondere eine Bisphosphonattherapie kann die Serumkonzentration des Marker fürs Osteoblasten PINP beeinflussen (87).

#### IV.7 LIMITATIONEN DER STUDIE

Limitationen der durchgeführten Studie zur Verwendung von ICTP und PINP beim PC sind neben dem retrospektiven Studiendesign die niedrige Patientenzahl sowie das heterogene Patientenkollektiv.

Darüber hinaus erhielten die Patienten im Laufe der Jahre unterschiedliche Formen der Tumorthherapie, welche die Serumkonzentrationen von ICTP und PINP beeinflussen können.

Auch wurden mögliche Komorbiditäten oder andere Tumorerkrankungen, welche die Konzentration von ICTP und PINP beeinflussen, in den einzelnen Kollektiven nicht erfasst und berücksichtigt.

Zuletzt ist auch für die Interpretation der Messmethode für ICTP mittels ELISA eine kontinuierliche Bestimmung notwendig. Die limitiert vorhandenen Daten hierzu, lassen eine endgültige Aussage nicht zu. Auch können dadurch die Messmethoden ELISA und RIA hinsichtlich der Diagnose und Prognose von Patienten mit Knochenmetastasen nur schwer miteinander verglichen werden.

#### IV.8 SCHLUSSFOLGERUNG

Die Bestimmung der Serumkonzentrationen von ICTP und PINP ist, unter Berücksichtigung der Limitationen, ein zuverlässiges Verfahren für die Detektion von Knochenmetastasen beim PC. Zudem scheint ICTP eine Aussage hinsichtlich des Gesamtüberlebens sowie des krebspezifischen Überlebens zuzulassen.

Somit kann sowohl ICTP als auch PINP für eine Risikoeinschätzung bei Patienten mit fortgeschrittenem PC zu den sonst üblichen diagnostischen Modalitäten hinzugezogen werden, um somit eine individuelle Therapie planen zu können.

Zur Prüfung der klinischen Verwendbarkeit derartiger prädiktiver Marker sind jedoch weitere Studien notwendig. Ziel muss es sein, optimale Patientenkriterien zu definieren, um Patienten mit einem hohen Risiko für Knochenmetastasen sowie deren Progress rechtzeitig zu identifizieren.

#### IV.9 ZUSAMMENFASSUNG

Patienten mit PC können im Verlauf Knochenmetastasen entwickeln, welche die Prognose sowie die Lebensqualität maßgeblich beeinflussen (4). Um derartige Prozesse rechtzeitig erkennen und behandeln zu können, ist die Entwicklung geeigneter Serummarker für den Knochenmetabolismus von Bedeutung (94). Marker wie PINP und ICTP wurden diesbezüglich mehrfach untersucht. Ihr Stellenwert in der klinischen Routine des PC bleibt jedoch weiterhin unklar.

Ziel dieser Studie war es deshalb, das diagnostische und prognostische Potential der Serummarker für den Knochenstoffwechsel ICTP und PINP am eigenen Kollektiv bei Patienten mit PC zu untersuchen sowie deren Zusammenhang mit dem onkologischen Outcome zu validieren. Hierfür wurden diese Serummarker mittels RIA und ELISA (Firma Orion Diagnostica Oy, Finnland) bei insgesamt 133 Prostatakarzinompatienten mit und ohne Knochenmetastasen retrospektiv untersucht. Die Kontrollgruppe bestand aus 53 Patienten mit BPH. Es konnte von uns ein signifikanter Unterschied zwischen ICTP beim PC und bei der BPH gezeigt werden. Auch schienen die Konzentrationen von ICTP und PINP (RIA) bei Patienten mit PC und Knochenmetastasen signifikant höher zu sein, als bei der Patientengruppe ohne Knochenmetastasen. Ebenso konnte ein Zusammenhang von ICTP (RIA) und dem krebsspezifischen Überleben gezeigt werden. Die Überlebensraten für 2 und 5 Jahre lagen bei Patienten mit ICTP-Konzentrationen  $\geq$  dem Median bei 50% und 33% sowie bei Patienten mit ICTP-Konzentrationen  $<$  dem Median bei 75% und 52% und waren damit signifikant geringer. Es konnte Ebenso für ICTP (RIA) und dem Gesamtüberleben ein signifikanter Unterschied gezeigt werden.

Somit können ICTP und PINP für die Detektion von Knochenmetastasen beim PC verwendet werden, wobei ICTP zusätzlich eine Aussage hinsichtlich des Gesamtüberlebens sowie des krebsspezifischen Überlebens zulässt. Mit dieser Erkenntnis könnten sowohl ICTP als auch PINP bei Patienten mit fortgeschrittenem PC zu den herkömmlichen diagnostischen Modalitäten hinzugezogen werden.

Für die klinische Verwendbarkeit dieser Marker sind jedoch weitere Studien notwendig. Dadurch können Patienten mit einem hohen Risiko für Knochenmetastasen sowie deren Progress rechtzeitig identifiziert und entsprechend therapiert werden.

#### IV.10 LITERATURVERZEICHNIS

1. Haberland J, Bertz J, Wolf U, Ziese T, Kurth BM. German cancer statistics 2004. *BMC Cancer*. 2010;10:52. Epub 2010/02/24.
2. Arnold M, Karim-Kos HE, Coebergh JW, Byrnes G, Antilla A, Ferlay J, et al. Recent trends in incidence of five common cancers in 26 European countries since 1988: Analysis of the European Cancer Observatory. *Eur J Cancer*. 2015;51(9):1164-87. Epub 2013/10/15.
3. De Angelis R, Sant M, Coleman MP, Francisci S, Baili P, Pierannunzio D, et al. Cancer survival in Europe 1999-2007 by country and age: results of EURO CARE-5-a population-based study. *The lancet oncology*. 2014;15(1):23-34. Epub 2013/12/10.
4. Glass TR, Tangen CM, Crawford ED, Thompson I. Metastatic carcinoma of the prostate: identifying prognostic groups using recursive partitioning. *J Urol*. 2003;169(1):164-9. Epub 2002/12/13.
5. Eisenberger MA, Blumenstein BA, Crawford ED, Miller G, McLeod DG, Loehrer PJ, et al. Bilateral orchiectomy with or without flutamide for metastatic prostate cancer. *N Engl J Med*. 1998;339(15):1036-42. Epub 1998/10/08.
6. Denosumab for the prevention of skeletal complications in metastatic castration-resistant prostate cancer: comparison of skeletal-related events and symptomatic skeletal events. *Ann Oncol*. 2015;26(6):1274. Epub 2015/05/25.
7. Zafeirakis A. Scoring systems of quantitative bone scanning in prostate cancer: historical overview, current status and future perspectives. *Hellenic journal of nuclear medicine*. 2014;17(2):136-44. Epub 2014/07/06.
8. Partin AW, Carter HB, Chan DW, Epstein JI, Oesterling JE, Rock RC, et al. Prostate specific antigen in the staging of localized prostate cancer: influence of tumor differentiation, tumor volume and benign hyperplasia. *J Urol*. 1990;143(4):747-52. Epub 1990/04/01.
9. Okotie OT, Roehl KA, Han M, Loeb S, Gashti SN, Catalona WJ. Characteristics of prostate cancer detected by digital rectal examination only. *Urology*. 2007;70(6):1117-20. Epub 2007/12/26.
10. Gosselaar C, Roobol MJ, Roemeling S, Schroder FH. The role of the digital rectal examination in subsequent screening visits in the European randomized study of screening for prostate cancer (ERSPC), Rotterdam. *Eur Urol*. 2008;54(3):581-8. Epub 2008/04/22.

11. Stamey TA, Yang N, Hay AR, McNeal JE, Freiha FS, Redwine E. Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. *N Engl J Med.* 1987;317(15):909-16. Epub 1987/10/08.
12. Catalona WJ, Richie JP, Ahmann FR, Hudson MA, Scardino PT, Flanigan RC, et al. 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. *J Urol.* 1994;151(5):1283-90. Epub 1994/05/01.
13. Thompson IM, Pauler DK, Goodman PJ, Tangen CM, Lucia MS, Parnes HL, et al. Prevalence of prostate cancer among men with a prostate-specific antigen level  $<$  or  $=4.0$  ng per milliliter. *N Engl J Med.* 2004;350(22):2239-46. Epub 2004/05/28.
14. Stephan C, Lein M, Jung K, Schnorr D, Loening SA. The influence of prostate volume on the ratio of free to total prostate specific antigen in serum of patients with prostate carcinoma and benign prostate hyperplasia. *Cancer.* 1997;79(1):104-9. Epub 1997/01/01.
15. Schmid HP, McNeal JE, Stamey TA. Observations on the doubling time of prostate cancer. The use of serial prostate-specific antigen in patients with untreated disease as a measure of increasing cancer volume. *Cancer.* 1993;71(6):2031-40. Epub 1993/03/15.
16. Arlen PM, Bianco F, Dahut WL, D'Amico A, Figg WD, Freedland SJ, et al. Prostate Specific Antigen Working Group guidelines on prostate specific antigen doubling time. *J Urol.* 2008;179(6):2181-5; discussion 5-6. Epub 2008/04/22.
17. Abuzallouf S, Dayes I, Lukka H. Baseline staging of newly diagnosed prostate cancer: a summary of the literature. *J Urol.* 2004;171(6 Pt 1):2122-7. Epub 2004/05/06.
18. Smith MR, Coleman RE, Klotz L, Pittman K, Milecki P, Ng S, et al. Denosumab for the prevention of skeletal complications in metastatic castration-resistant prostate cancer: comparison of skeletal-related events and symptomatic skeletal events. *Ann Oncol.* 2015;26(2):368-74. Epub 2014/11/27.
19. Lee F. Transrectal ultrasound in the diagnosis, staging, guided needle biopsy, and screening for prostate cancer. *Progress in clinical and biological research.* 1987;237:73-109. Epub 1987/01/01.
20. Hsu CY, Joniau S, Oyen R, Roskams T, Van Poppel H. Detection of clinical unilateral T3a prostate cancer - by digital rectal examination or transrectal ultrasonography? *BJU Int.* 2006;98(5):982-5. Epub 2006/09/02.
21. Roobol MJ, Steyerberg EW, Kranse R, Wolters T, van den Bergh RC,

Bangma CH, et al. A risk-based strategy improves prostate-specific antigen-driven detection of prostate cancer. *Eur Urol.* 2010;57(1):79-85. Epub 2009/09/08.

22. Hara R, Jo Y, Fujii T, Kondo N, Yokoyama T, Miyaji Y, et al. Optimal approach for prostate cancer detection as initial biopsy: prospective randomized study comparing transperineal versus transrectal systematic 12-core biopsy. *Urology.* 2008;71(2):191-5. Epub 2008/03/01.

23. Damle NA, Bal C, Bandopadhyaya GP, Kumar L, Kumar P, Malhotra A, et al. The role of 18F-fluoride PET-CT in the detection of bone metastases in patients with breast, lung and prostate carcinoma: a comparison with FDG PET/CT and 99mTc-MDP bone scan. *Jpn J Radiol.* 2013;31(4):262-9. Epub 2013/02/05.

24. Slack NH, Karr JP, Chu TM, Murphy GP. An assessment of bone scans for monitoring osseous metastases in patients being treated for prostate carcinoma. *The Prostate.* 1980;1(2):259-70. Epub 1980/01/01.

25. 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. *BJU Int.* 2001;88(3):226-30. Epub 2001/08/08.

26. Koopmans N, de Jong IJ, Breeuwsma AJ, van der Veer E. Serum bone turnover markers (PINP and ICTP) for the early detection of bone metastases in patients with prostate cancer: a longitudinal approach. *J Urol.* 2007;178(3 Pt 1):849-53; discussion 53; quiz 1129. Epub 2007/07/17.

27. Wilt TJ, Brawer MK, Jones KM, Barry MJ, Aronson WJ, Fox S, et al. Radical prostatectomy versus observation for localized prostate cancer. *N Engl J Med.* 2012;367(3):203-13. Epub 2012/07/20.

28. Rana A, Chisholm GD, Khan M, Rashwan HM, Elton RA. Conservative management with symptomatic treatment and delayed hormonal manipulation is justified in men with locally advanced carcinoma of the prostate. *British journal of urology.* 1994;74(5):637-41. Epub 1994/11/01.

29. Wittekind C, Oberschmid B. [TNM classification of malignant tumors 2010: General aspects and amendments in the general section]. *Pathologe.* 2010;31(5):333-4, 6-8. Epub 2010/08/17. TNM-Klassifikation maligner Tumoren 2010 : Allgemeine Aspekte und Anderungen im allgemeinen Teil.

30. Bader P, Burkhard FC, Markwalder R, Studer UE. Is a limited lymph node dissection an adequate staging procedure for prostate cancer? *J Urol.* 2002;168(2):514-8; discussion 8. Epub 2002/07/20.

31. Partin AW, Mangold LA, Lamm DM, Walsh PC, Epstein JI, Pearson JD. Contemporary update of prostate cancer staging nomograms (Partin

Tables) for the new millennium. *Urology*. 2001;58(6):843-8. Epub 2001/12/18.

32. Eifler JB, Feng Z, Lin BM, Partin MT, Humphreys EB, Han M, et al. An updated prostate cancer staging nomogram (Partin tables) based on cases from 2006 to 2011. *BJU Int*. 2013;111(1):22-9. Epub 2012/07/28.

33. Stone NN, Stock RG, Parikh D, Yeghiayan P, Unger P. Perineural invasion and seminal vesicle involvement predict pelvic lymph node metastasis in men with localized carcinoma of the prostate. *J Urol*. 1998;160(5):1722-6. Epub 1998/10/23.

34. Pisansky TM, Zincke H, Suman VJ, Bostwick DG, Earle JD, Oesterling JE. Correlation of pretherapy prostate cancer characteristics with histologic findings from pelvic lymphadenectomy specimens. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1996;34(1):33-9. Epub 1996/01/01.

35. Borley N, Fabrin K, Sriprasad S, Mondaini N, Thompson P, Muir G, et al. Laparoscopic pelvic lymph node dissection allows significantly more accurate staging in "high-risk" prostate cancer compared to MRI or CT. *Scandinavian journal of urology and nephrology*. 2003;37(5):382-6. Epub 2003/11/05.

36. Hricak H, Doms GC, Jeffrey RB, Avallone A, Jacobs D, Benton WK, et al. Prostatic carcinoma: staging by clinical assessment, CT, and MR imaging. *Radiology*. 1987;162(2):331-6. Epub 1987/02/01.

37. Heidenreich A, Varga Z, Von Knobloch R. Extended pelvic lymphadenectomy in patients undergoing radical prostatectomy: high incidence of lymph node metastasis. *J Urol*. 2002;167(4):1681-6. Epub 2002/03/26.

38. Wolff JM, Ittel TH, Borchers H, Boekels O, Jakse G. Metastatic workup of patients with prostate cancer employing alkaline phosphatase and skeletal alkaline phosphatase. *Anticancer Res*. 1999;19(4A):2653-5. Epub 1999/09/02.

39. Sharma U, Pal D, Prasad R. Alkaline phosphatase: an overview. *Indian journal of clinical biochemistry : IJCB*. 2014;29(3):269-78. Epub 2014/06/27.

40. Poon M, Zeng L, Zhang L, Lam H, Emmenegger U, Wong E, et al. Incidence of skeletal-related events over time from solid tumour bone metastases reported in randomised trials using bone-modifying agents. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 2013;25(7):435-44. Epub 2013/04/16.

41. Gleason DF. Histologic grading of prostate cancer: a perspective. *Human pathology*. 1992;23(3):273-9. Epub 1992/03/01.

42. Epstein JI, Allsbrook WC, Jr., Amin MB, Egevad LL. The 2005

International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2005;29(9):1228-42. Epub 2005/08/13.

43. Adolfsson J. Watchful waiting and active surveillance: the current position. *BJU Int*. 2008;102(1):10-4. Epub 2008/04/22.

44. Bill-Axelson A, Holmberg L, Ruutu M, Garmo H, Stark JR, Busch C, et al. Radical prostatectomy versus watchful waiting in early prostate cancer. *N Engl J Med*. 2011;364(18):1708-17. Epub 2011/05/06.

45. Walsh PC. Results of conservative management of clinically localized prostate cancer. *J Urol*. 1994;152(1):255-6. Epub 1994/07/01.

46. Middleton RG, Thompson IM, Austenfeld MS, Cooner WH, Correa RJ, Gibbons RP, et al. Prostate Cancer Clinical Guidelines Panel Summary report on the management of clinically localized prostate cancer. The American Urological Association. *J Urol*. 1995;154(6):2144-8. Epub 1995/12/01.

47. Bianco FJ, Jr., Scardino PT, Eastham JA. Radical prostatectomy: long-term cancer control and recovery of sexual and urinary function ("trifecta"). *Urology*. 2005;66(5 Suppl):83-94. Epub 2005/10/01.

48. de Bono JS, Oudard S, Ozguroglu M, Hansen S, Machiels JP, Kocak I, et al. Prednisone plus cabazitaxel or mitoxantrone for metastatic castration-resistant prostate cancer progressing after docetaxel treatment: a randomised open-label trial. *Lancet*. 2010;376(9747):1147-54. Epub 2010/10/05.

49. Roscigno M, Sangalli M, Mazzoccoli B, Scattoni V, Da Pozzo L, Rigatti P. Medical therapy of prostate cancer. A review. *Minerva urologica e nefrologica = The Italian journal of urology and nephrology*. 2005;57(2):71-84. Epub 2005/06/14.

50. Desmond AD, Arnold AJ, Hastie KJ. Subcapsular orchiectomy under local anaesthesia. Technique, results and implications. *British journal of urology*. 1988;61(2):143-5. Epub 1988/02/01.

51. Naito S, Shiota M. [The concept and mechanisms of castration-resistant prostate cancer]. *Nihon Rinsho*. 2014;72(12):2090-4. Epub 2014/12/19.

52. Corona G, Rastrelli G, Forti G, Maggi M. Update in testosterone therapy for men. *The journal of sexual medicine*. 2011;8(3):639-54; quiz 55. Epub 2011/06/30.

53. Sandow J, von Rechenberg W, Engelbart K. Pharmacological studies on androgen suppression in therapy of prostate carcinoma. *Am J Clin Oncol*. 1988;11 Suppl 1:S6-10. Epub 1988/01/01.

54. Qayum A, Gullick WJ, Waxman J. Gonadotrophin-releasing hormone: physiological significance and relevance to cancer. *Progress in growth factor research*. 1991;3(2):115-30. Epub 1991/01/01.
55. Berkovitz GD, Brown TR, Migeon CJ. Androgen receptors. *Clinics in endocrinology and metabolism*. 1983;12(1):155-73. Epub 1983/03/01.
56. Voigt KD, Bartsch W. [The role of tissue steroids in benign hyperplasia and prostate cancer]. *Urologe A*. 1987;26(6):349-57. Epub 1987/11/01. Zur Rolle der Gewebssteroiden bei benigner Hyperplasie und Prostatakarzinom.
57. Morote-Robles J. [Hormone therapy in prostate cancer: clinical results]. *Revista española de fisiología*. 1990;46(1):59-62. Epub 1990/03/01. Hormonoterapia en el cancer de prostata: resultados clinicos.
58. Raynaud JP. Antiandrogens in combination with LH-RH agonists in prostate cancer. *Am J Clin Oncol*. 1988;11 Suppl 2:S132-47. Epub 1988/01/01.
59. Miller K. [Castration resistant prostate cancer 2011]. *Aktuelle Urologie*. 2011;42(2):95-102. Epub 2011/03/26. Kastrationsresistentes Prostatakarzinom 2011.
60. Klotz L, Boccon-Gibod L, Shore ND, Andreou C, Persson BE, Cantor P, et al. The efficacy and safety of degarelix: a 12-month, comparative, randomized, open-label, parallel-group phase III study in patients with prostate cancer. *BJU Int*. 2008;102(11):1531-8. Epub 2008/11/28.
61. Heidenreich A, Aus G, Bolla M, Joniau S, Matveev VB, Schmid HP, et al. EAU guidelines on prostate cancer. *Eur Urol*. 2008;53(1):68-80. Epub 2007/10/09.
62. Beer TM, Armstrong AJ, Rathkopf DE, Loriot Y, Sternberg CN, Higano CS, et al. Enzalutamide in metastatic prostate cancer before chemotherapy. *N Engl J Med*. 2014;371(5):424-33. Epub 2014/06/03.
63. Crawford S. Is it time for a new paradigm for systemic cancer treatment? Lessons from a century of cancer chemotherapy. *Frontiers in pharmacology*. 2013;4:68. Epub 2013/06/28.
64. Hofbauer LC, Rachner TD, Coleman RE, Jakob F. Endocrine aspects of bone metastases. *The lancet Diabetes & endocrinology*. 2014;2(6):500-12. Epub 2014/06/02.
65. Roodman GD. Mechanisms of bone metastasis. *Discov Med*. 2004;4(22):144-8. Epub 2004/06/01.
66. Thurairaja R, Iles RK, Jefferson K, McFarlane JP, Persad RA. Serum amino-terminal propeptide of type 1 procollagen (P1NP) in prostate cancer:

a potential predictor of bone metastases and prognosticator for disease progression and survival. *Urol Int.* 2006;76(1):67-71. Epub 2006/01/13.

67. Guise TA, Mohammad KS, Clines G, Stebbins EG, Wong DH, Higgins LS, et al. Basic mechanisms responsible for osteolytic and osteoblastic bone metastases. *Clin Cancer Res.* 2006;12(20 Pt 2):6213s-6s. Epub 2006/10/26.

68. Todenhofer T, Stenzl A, Hofbauer LC, Rachner TD. Targeting bone metabolism in patients with advanced prostate cancer: current options and controversies. *International journal of endocrinology.* 2015;2015:838202. Epub 2015/03/25.

69. Oster G, Lamerato L, Glass AG, Richert-Boe KE, Lopez A, Chung K, et al. Natural history of skeletal-related events in patients with breast, lung, or prostate cancer and metastases to bone: a 15-year study in two large US health systems. *Supportive care in cancer : official journal of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer.* 2013;21(12):3279-86. Epub 2013/07/26.

70. Saad F, Gleason DM, Murray R, Tchekmedyian S, Venner P, Lacombe L, et al. Long-term efficacy of zoledronic acid for the prevention of skeletal complications in patients with metastatic hormone-refractory prostate cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2004;96(11):879-82. Epub 2004/06/03.

71. Fizazi K, Carducci M, Smith M, Damiao R, Brown J, Karsh L, et al. Denosumab versus zoledronic acid for treatment of bone metastases in men with castration-resistant prostate cancer: a randomised, double-blind study. *Lancet.* 2011;377(9768):813-22. Epub 2011/03/01.

72. Park YH, Hwang IS, Jeong CW, Kim HH, Lee SE, Kwak C. Prostate specific antigen half-time and prostate specific antigen doubling time as predictors of response to androgen deprivation therapy for metastatic prostate cancer. *J Urol.* 2009;181(6):2520-4; discussion 5. Epub 2009/04/18.

73. Jung K, Lein M, Stephan C, Von Hosslin K, Semjonow A, Sinha P, et al. Comparison of 10 serum bone turnover markers in prostate carcinoma patients with bone metastatic spread: diagnostic and prognostic implications. *Int J Cancer.* 2004;111(5):783-91. Epub 2004/07/15.

74. Hussain M, Tangen CM, Higano C, Schelhammer PF, Faulkner J, Crawford ED, et al. Absolute prostate-specific antigen value after androgen deprivation is a strong independent predictor of survival in new metastatic prostate cancer: data from Southwest Oncology Group Trial 9346 (INT-0162). *J Clin Oncol.* 2006;24(24):3984-90. Epub 2006/08/22.

75. de la Piedra C, Alcaraz A, Bellmunt J, Meseguer C, Gomez-Caamano A, Ribal MJ, et al. Usefulness of bone turnover markers as predictors of

mortality risk, disease progression and skeletal-related events appearance in patients with prostate cancer with bone metastases following treatment with zoledronic acid: TUGAMO study. *British journal of cancer*. 2013;108(12):2565-72. Epub 2013/06/01.

76. Lein M, Wirth M, Miller K, Eickenberg HU, Weissbach L, Schmidt K, et al. Serial markers of bone turnover in men with metastatic prostate cancer treated with zoledronic Acid for detection of bone metastases progression. *Eur Urol*. 2007;52(5):1381-7. Epub 2007/02/27.

77. Guise T. Examining the metastatic niche: targeting the microenvironment. *Seminars in oncology*. 2010;37 Suppl 2:S2-14. Epub 2010/11/30.

78. Bachmeier BE, Nerlich AG, Lichtinghagen R, Sommerhoff CP. Matrix metalloproteinases (MMPs) in breast cancer cell lines of different tumorigenicity. *Anticancer Res*. 2001;21(6A):3821-8. Epub 2002/03/26.

79. Mundy GR. Metastasis to bone: causes, consequences and therapeutic opportunities. *Nature reviews Cancer*. 2002;2(8):584-93. Epub 2002/08/03.

80. Upadhyay J, Shekarriz B, Nemeth JA, Dong Z, Cummings GD, Fridman R, et al. Membrane type 1-matrix metalloproteinase (MT1-MMP) and MMP-2 immunolocalization in human prostate: change in cellular localization associated with high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Clin Cancer Res*. 1999;5(12):4105-10. Epub 2000/01/13.

81. Boucharaba A, Serre CM, Gres S, Saulnier-Blache JS, Bordet JC, Guglielmi J, et al. Platelet-derived lysophosphatidic acid supports the progression of osteolytic bone metastases in breast cancer. *The Journal of clinical investigation*. 2004;114(12):1714-25. Epub 2004/12/16.

82. Polak-Jonkisz D, Zwolinska D, Bednorz R, Owczarek H, Szymanska A, Nahaczewska W. Procollagen I carboxyterminal propeptide (PICP) as a bone formation marker and carboxyterminal telopeptide of type I collagen (ICTP) as a bone degradation marker in children with chronic renal failure under conservative therapy. *Med Sci Monit*. 2003;9(1):CR19-23. Epub 2003/01/29.

83. Coleman R, Costa L, Saad F, Cook R, Hadji P, Terpos E, et al. Consensus on the utility of bone markers in the malignant bone disease setting. *Critical reviews in oncology/hematology*. 2011;80(3):411-32. Epub 2011/03/18.

84. Lipton A, Costa L, Ali SM, Demers LM. Bone markers in the management of metastatic bone disease. *Cancer Treat Rev*. 2001;27(3):181-5. Epub 2001/06/22.

85. Kong QQ, Sun TW, Dou QY, Li F, Tang Q, Pei FX, et al. Beta-CTX and ICTP act as indicators of skeletal metastasis status in male patients with non-small cell lung cancer. *Int J Biol Markers*. 2007;22(3):214-20. Epub 2007/10/09.
86. Berruti A, Torta M, Piovesan A, Raucci CA, Orlandi F, Panero A, et al. Biochemical picture of bone metabolism in breast cancer patients with bone metastases. *Anticancer Res*. 1995;15(6B):2871-5. Epub 1995/11/01.
87. Liberman UA, Weiss SR, Broll J, Minne HW, Quan H, Bell NH, et al. Effect of oral alendronate on bone mineral density and the incidence of fractures in postmenopausal osteoporosis. The Alendronate Phase III Osteoporosis Treatment Study Group. *N Engl J Med*. 1995;333(22):1437-43. Epub 1995/11/30.
88. Orum O, Hansen M, Jensen CH, Sorensen HA, Jensen LB, Horslev-Petersen K, et al. Procollagen type I N-terminal propeptide (PINP) as an indicator of type I collagen metabolism: ELISA development, reference interval, and hypovitaminosis D induced hyperparathyroidism. *Bone*. 1996;19(2):157-63. Epub 1996/08/01.
89. 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. *BJU Int*. 2001;87(4):348-51. Epub 2001/03/17.
90. Risteli J, Elomaa I, Niemi S, Novamo A, Risteli L. Radioimmunoassay for the pyridinoline cross-linked carboxy-terminal telopeptide of type I collagen: a new serum marker of bone collagen degradation. *Clinical chemistry*. 1993;39(4):635-40. Epub 1993/04/01.
91. Tahtela R, Tholix E. Serum concentrations of type I collagen carboxyterminal telopeptide (ICTP) and type I procollagen carboxy- and aminoterminal propeptides (PICP, PINP) as markers of metastatic bone disease in breast cancer. *Anticancer Res*. 1996;16(4B):2289-93. Epub 1996/07/01.
92. Spick C, Polanec SH, Mitterhauser M, Wadsak W, Anner P, Reiterits B, et al. Detection of Bone Metastases Using <sup>11</sup>C-Acetate PET in Patients with Prostate Cancer with Biochemical Recurrence. *Anticancer Res*. 2015;35(12):6787-91. Epub 2015/12/08.
93. de la Piedra C, Castro-Errecaborde NA, Traba ML, Mendez-Davila C, Garcia-Moreno C, Rodriguez de Acuna L, et al. Bone remodeling markers in the detection of bone metastases in prostate cancer. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2003;331(1-2):45-53. Epub 2003/04/15.
94. Klepzig M, Jonas D, Oremek GM. Procollagen type 1 amino-terminal propeptide: a marker for bone metastases in prostate carcinoma. *Anticancer*

Res. 2009;29(2):671-3. Epub 2009/04/01.

95. Zhao H, Han KL, Wang ZY, Chen Y, Li HT, Zeng JL, et al. Value of C-telopeptide-cross-linked Type I collagen, osteocalcin, bone-specific alkaline phosphatase and procollagen Type I N-terminal propeptide in the diagnosis and prognosis of bone metastasis in patients with malignant tumors. *Med Sci Monit.* 2011;17(11):CR626-33. Epub 2011/11/01.

96. Kymala T, Tammela TL, Risteli L, Risteli J, Kontturi M, Elomaa I. Type I collagen degradation product (ICTP) gives information about the nature of bone metastases and has prognostic value in prostate cancer. *British journal of cancer.* 1995;71(5):1061-4. Epub 1995/05/01.

97. Kamiya N, Suzuki H, Yano M, Endo T, Takano M, Komaru A, et al. Implications of serum bone turnover markers in prostate cancer patients with bone metastasis. *Urology.* 2010;75(6):1446-51. Epub 2010/03/09.

98. Solberg HE. The theory of reference values Part 5. Statistical treatment of collected reference values. Determination of reference limits. *Journal of clinical chemistry and clinical biochemistry Zeitschrift fur klinische Chemie und klinische Biochemie.* 1983;21(11):749-60. Epub 1983/11/01.

99. Whitmore WF, Jr. Natural history and staging of prostate cancer. *Urol Clin North Am.* 1984;11(2):205-20. Epub 1984/05/01.

100. Clezardin P, Teti A. Bone metastasis: pathogenesis and therapeutic implications. *Clinical & experimental metastasis.* 2007;24(8):599-608. Epub 2007/11/17.

101. Yoshida K, Sumi S, Arai K, Koga F, Umeda H, Hosoya Y, et al. Serum concentration of type I collagen metabolites as a quantitative marker of bone metastases in patients with prostate carcinoma. *Cancer.* 1997;80(9):1760-7. Epub 1997/11/14.

102. Hosoya Y, Arai K, Honda M, Sumi S, Yoshida K. Serum levels of the carboxy-terminal propeptide of type I procollagen and the pyridinoline cross-linked carboxy-terminal telopeptide of type I collagen as markers of bone metastases in patients with prostate carcinoma. *Eur Urol.* 1997;31(2):220-3. Epub 1997/01/01.

103. Lein M, Miller K, Wirth M, Weissbach L, May C, Schmidt K, et al. Bone turnover markers as predictive tools for skeletal complications in men with metastatic prostate cancer treated with zoledronic acid. *The Prostate.* 2009;69(6):624-32. Epub 2009/01/15.

104. Garnero P, Delmas PD. [Biochemical markers of bone turnover : clinical usefulness in osteoporosis]. *Annales de biologie clinique.* 1999;57(2):137-48. Epub 1999/04/22. Les marqueurs biochimiques du remodelage osseux: application a l'exploration des osteoporoses.

105. Pluskiewicz W, Stempniewicz E. [Usefulness of biochemical markers of bone turnover in diagnosis of osteoporosis]. *Przegl Lek.* 1994;51(3):149-51. Epub 1994/01/01. Przydatnosc oznaczania biochemicznych markerow obrotu kostnego w diagnostyce osteoporozy.
106. Yano S. [Clinical usefulness of bone turnover markers in the management of osteoporosis]. *Rinsho byori The Japanese journal of clinical pathology.* 2013;61(9):852-9. Epub 2013/12/29.
107. Polascik TJ, Oesterling JE, Partin AW. Prostate specific antigen: a decade of discovery--what we have learned and where we are going. *J Urol.* 1999;162(2):293-306. Epub 1999/07/20.
108. Akimoto S, Akakura K, Shimazaki J. Clinical usefulness of serum carboxyterminal propeptide of type I procollagen and pyridinoline cross-linked carboxyterminal telopeptide of type I collagen in patients with prostate cancer. *Jpn J Clin Oncol.* 1996;26(3):157-63. Epub 1996/06/01.
109. Mottet N, Bellmunt J, Bolla M, Joniau S, Mason M, Matveev V, et al. EAU guidelines on prostate cancer. Part II: Treatment of advanced, relapsing, and castration-resistant prostate cancer. *Eur Urol.* 2011;59(4):572-83. Epub 2011/02/15.
110. Mottet N, Bellmunt J, Bolla M, Joniau S, Mason M, Matveev V, et al. [EAU guidelines on prostate cancer. Part II: treatment of advanced, relapsing, and castration-resistant prostate cancer]. *Actas urologicas espanolas.* 2011;35(10):565-79. Epub 2011/07/16. Guia de la EAU sobre el cancer de prostata. Parte II: tratamiento del cancer de prostata avanzado, recidivante y resistente a la castracion.
111. Gleave ME, Coupland D, Drachenberg D, Cohen L, Kwong S, Goldenberg SL, et al. Ability of serum prostate-specific antigen levels to predict normal bone scans in patients with newly diagnosed prostate cancer. *Urology.* 1996;47(5):708-12. Epub 1996/05/01.
112. Andriole GL, Catalona WJ, Becich M. Re: Predicting radionuclide bone scan findings in patients with newly diagnosed, untreated prostate cancer: prostate specific antigen is superior to all other clinical parameters. *J Urol.* 1992;147(2):474. Epub 1992/02/01.
113. Jung K, Miller K, Wirth M, Albrecht M, Lein M. Bone turnover markers as predictors of mortality risk in prostate cancer patients with bone metastases following treatment with zoledronic acid. *Eur Urol.* 2011;59(4):604-12. Epub 2010/12/31.
114. Melkko J, Hellevik T, Risteli L, Risteli J, Smedsrod B. Clearance of NH2-terminal propeptides of types I and III procollagen is a physiological function of the scavenger receptor in liver endothelial cells. *The Journal of experimental medicine.* 1994;179(2):405-12. Epub 1994/02/01.

115. Dean-Colomb W, Hess KR, Young E, Gornet TG, Handy BC, Moulder SL, et al. Elevated serum P1NP predicts development of bone metastasis and survival in early-stage breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2013;137(2):631-6. Epub 2012/12/18.

116. Joerger M, Huober J. Diagnostic and prognostic use of bone turnover markers. Recent results in cancer research *Fortschritte der Krebsforschung Progres dans les recherches sur le cancer.* 2012;192:197-223. Epub 2012/02/07.

117. Briot K, Rouanet S, Schaefferbeke T, Etchepare F, Gaudin P, Perdriger A, et al. The effect of tocilizumab on bone mineral density, serum levels of Dickkopf-1 and bone remodeling markers in patients with rheumatoid arthritis. *Joint, bone, spine : revue du rhumatisme.* 2015;82(2):109-15. Epub 2015/01/06.

#### IV.11 ERKLÄRUNG ZUM EIGENANTEIL

Hiermit erkläre ich, Stefan Aufderklamm, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel genutzt habe. Alle wörtlich oder inhaltlich übernommenen Stellen habe ich als solche gekennzeichnet.

Die Idee zur Konzeption dieser Studie wurde im Bereich Uro-Onkologie der Universitätsklinik für Urologie Tübingen entwickelt. Daran beteiligt waren Prof. Dr. med. Arnulf Stenzl, Prof. Dr. med. Christian Schwentner, Dr. med. Tilman Todenhöfer und Dipl.-Biol. Jörg Hennenlotter.

Alle weiteren Daten wurden von mir selbst erhoben. Die Auswertung und Interpretation der Daten geschah durch mich.

Herr Prof. Dr. med. Christian Schwentner, Herr Dipl.-Biol. Jörg Hennenlotter und Herr Dr. med. Tilman Todenhöfer aus der der Universitätsklinik für Urologie Tübingen haben diese Arbeit aktiv betreut, gaben Hilfestellung bei der statistischen Auswertung sowie Inspirationen und Korrekturvorschläge bei der schriftlichen Ausarbeitung der Dissertationsschrift.

Stefan Aufderklamm

#### IV.12 DANKSAGUNG

Zuerst möchte ich dem ärztlichen Direktor der urologischen Klinik, Herrn Prof. Dr. med. Arnulf Stenzl, danken, für die Überlassung des Themas, seine Bereitschaft bei Fragen stets persönlich als Ansprechpartner zur Verfügung zu stehen und die Begleitung der vorliegenden Arbeit als Betreuer.

Ebenso möchte ich Herrn Prof. Dr. Christian Schwentner meinen Dank für die Betreuung bei dieser Arbeit aussprechen.

Ein besonderer Dank gilt meinen beiden Kollegen Herrn Dr. Tilman Todenhöfer und Herrn Dipl.-Biol. Jörg Hennenlotter für deren fachkundige Hilfe in allen Fragen und Belangen und deren Begleitung beim Schreiben der Dissertation.

Außerdem möchte ich dem ganzen Team des urologischen Labors für die Unterstützung und Hilfsbereitschaft danken.

Ein außerordentlich großes Dankeschön gilt jedoch meiner gesamten Familie, die mich in meinem Tun stets unterstützt und motiviert.