

Clinical and Technical Review

Knochenspezifische alkalische Phosphatase (BAP)

Ein biochemischer Marker
für den Knochenaufbau

always your partner

Zusammenfassung

Die steigende Zahl der Medikamente zur Behandlung von Knochenerkrankungen erfordert den Einsatz von schnelleren und prädiktiven Methoden zur Bewertung der Therapieeffizienz. Während sich feststellbare und signifikante Veränderungen der Knochenmineraldichte (BMD) in einem Zeitraum von 18 bis 24 Monaten entwickeln, können durch die Messung der Knochenumsatzmarker Veränderungen im Knochengewebe nachweislich innerhalb von 3–6 Monaten nach Beginn einer antiresorptiven Therapie detektiert werden.

Daher wird die Messung der Knochenumsatzmarker in zunehmenden Maße als eine Schlüsselkomponente für das Therapiemanagement empfohlen: für die schnelle Erkennung von Therapie-Respondern und Non-Respondern, für die Bewertung der Therapieeffizienz und für die Festlegung der optimalen Therapie und Behandlungsdosis. Da biochemische Knochenmarker außerdem die Ganzkörperraten des Knochenumsatzes widerspiegeln, bietet die kombinierte Messung der Knochenmarker und der Knochenmineraldichte mehr Informationen über den Gesamtknochenverlust als eine alleinige BMD-Messung an spezifischen Stellen des Skeletts.

Diese Zusammenfassung bietet einen Überblick über alle relevanten klinischen und technischen Daten in Bezug auf die knochenspezifische alkalische Phosphatase (BAP), ein biochemischer Marker der Knochenbildung. Um beurteilen zu können, ob ein biochemischer Marker für die Bewertung des Knochenumsatzes und zur Therapiekontrolle geeignet ist, wurden sieben Schlüsselkriterien formuliert. Mit Hilfe dieser Kriterien wurde BAP mit anderen Markern verglichen, wobei sich BAP als einer der wirkungsvollsten Marker zur Messung des Knochenaufbaus zeigte.

Wichtige technische Aspekte wie die Kreuzreaktion mit der leberspezifischen alkalischen Phosphatase und die BAP-Messung in Aktivitätseinheiten (u/L) vs. Masseinheiten (g/L) werden umfassend diskutiert.

Zusammenfassungen der wichtigsten klinischen Studien zu BAP als Knochenaufbaumarker werden vorgestellt. Alle klinischen Daten wurden mit dem Quidel® BAP Assay erhoben. Klinische Studien zeigen folgende Ergebnisse:

Erhöhte BAP-Serumkonzentrationen sind bei medizinischen Situationen zu beobachten, die durch exzessiven Knochenumsatz gekennzeichnet sind, wie Postmenopause, Osteoporose, Paget-Krankheit, Hyperparathyreoidismus, Hyperthyreose und metastasierende Tumore, und werden mit raschem Knochenverlust assoziiert.

Die BAP-Konzentrationen sinken abhängig von der verabreichten Dosis infolge einer antiresorptiven Therapie. Diese rasch eintretenden Veränderungen korrelieren reziprok mit langfristigen Veränderungen der Knochenmineraldichte (BMD). Die BAP-Konzentrationen korrelieren mit dem Knochenwachstum bei Kindern und spiegeln pubertäre Wachstumsphasen wider.

Zusammengefasst zeigt sich, dass BAP zur Identifizierung eines raschen Knochenverlusts und zur präzisen Effizienzkontrolle von Hormonersatz-, Bisphosphonat-, PTH-Analoga- und Wachstumshormontherapien eingesetzt werden kann.

Autor:

Peter Haima, Ph. D.

Inhalt

1 Einleitung	5
1.1 Osteoporose und Knochenumbau	5
1.2 Klinische Situationen, die den Knochenumbau beeinflussen	5
1.3 Medikamentöse Therapien bei metabolischen Knochenerkrankungen	6
2 Diagnostische Methoden zur Erkennung metabolischer Knochenerkrankungen	7
2.1 Diagnose von metabolischen Knochenerkrankungen, Knochenmineraldichte (BMD)	7
2.2 Knochenumsatzmarker zur Erkennung von Knochenerkrankungen und zur Kontrolle der Therapieeffizienz	7
3 BAP als ein Marker zur Detektion von Veränderungen des Knochenumsatzes	9
3.1 Hintergrundinformationen zu BAP	9
3.2 Methoden zur Messung der alkalischen Phosphatase	9
3.3 Messung der BAP in Proteinmasse ($\mu\text{g/L}$) und Enzymaktivität (U/L)	10
3.4 BAP-Kreuzreaktion mit der leberspezifischen alkalischen Phosphatase	11
3.5 Tägliche, ernährungs- und altersbedingte Schwankungen von BAP	11
4 Klinische Daten zu BAP	12
4.1 Zusammenfassung	12
4.2 BAP-Reaktionen auf verschiedene klinische Krankheitsbilder und Therapien	12
4.2.1 BAP weist auf erhöhten Knochenumsatz hin	12
4.2.2 Assoziation zwischen BAP-Konzentrationen und rapidem Knochenverlust	13
4.2.3 BAP spiegelt die antiresorptive Wirkung der Hormontherapie (HRT) bei postmenopausalen Frauen wider	13
4.2.4 BAP-Veränderungen sind ein Prädiktor für Veränderungen der BMD bei Frauen, die mit HRT und Placebos behandelt wurden	13
4.2.5 BAP identifiziert nach kurzer Zeit mehr Hormontherapie-Responder als BMD	14
4.2.6 BAP spiegelt den antiresorptiven Effekt von Alendronat bei Frauen mit Osteoporose wider	14
4.2.7 Der Ausgangswert des Knochenumsatzes ist ein Prädiktor für die Turnoverreaktion auf Alendronat	15
4.2.8 Reaktion auf Alendronat wird durch BAP schneller identifiziert als durch BMD	15
4.2.9 BAP ist empfindlicher gegen Alendronat bei Osteoporose als Gesamt-AP	15
4.2.10 BAP reagiert auf antiresorptive Therapie bereits nach 8 Wochen	16
4.2.11 BAP reagiert empfindlicher gegen Bisphosphonate bei der Paget-Krankheit als Gesamt-AP	16
4.2.12 BAP und Strontiumranelat-Therapie	16
4.2.13 BAP und Parathormon-Therapie	17
4.2.14 BAP-Messung bei Tumorpatienten	17
4.2.15 BAP und Wachstumshormontherapie	18
4.2.16 BAP bei urämischen Patienten	18
4.2.17 BAP ist empfindlicher als Gesamt-AP bei primärem Hyperparathyreoidismus	18
4.2.18 BAP ist bei sekundärem Hyperparathyreoidismus erhöht	19
4.2.19 BAP ist bei der Paget-Krankheit erhöht	19
4.2.20 BAP-Bestimmung bei Patienten mit schwerer Lebererkrankung	19
4.3 BAP-Referenzdaten	20
4.3.1 BAP-Referenzbereichsdaten bei prämenopausalen Frauen	21
4.3.2 BAP-Referenzbereichsdaten bei postmenopausalen Frauen	21
4.3.3 BAP bei postmenopausalen Frauen mit Osteoporose unter Hormonersatz- oder Bisphosphonattherapie	22
4.3.4 BAP-Referenzdaten bei Männern	22
4.3.5 BAP-Referenzdaten bei Kindern	23
4.4 Pathologische BAP-Werte	23

Inhalt

5 Klinische Validierungsstudien des Quidel® BAP Assays	24
6 Spezielle Anwendungen des Quidel® BAP Assays	28
6.1 Verwendung von BAP mit Zellkulturüberstand	28
6.2 Verwendung des Monoklonalen BAP-Antikörpers bei der Western-Blotting-Methode, FACS-Sortierung und der Immunzytochemischen Färbung von Osteoblasten	28
6.3 BAP-Messung bei Tierspezies	29
7 Technische Zusammenfassung zum Quidel® BAP Assay	29
8 Messung der BAP in Proteinmasse (µg/L) und Enzymaktivität (U/L)	30
8.1 Analysenzertifikat	32
9 Literaturverweise	33

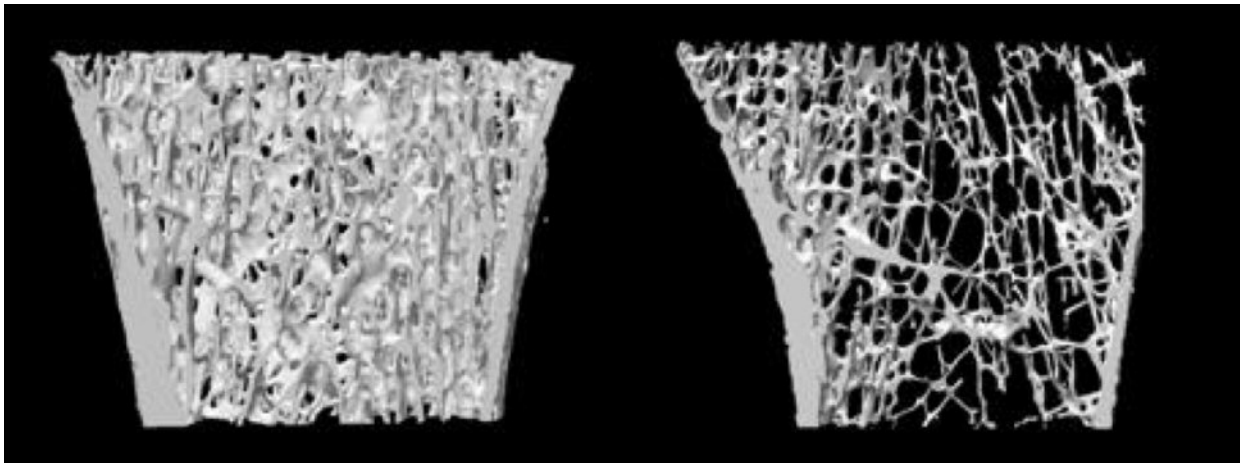
1 Einleitung

1.1 Osteoporose und Knochenumbau

Knochenremodellierung ist ein fortlaufender dynamischer Prozess, der Knochenresorption (Abbau des Typ-I-Kollagens durch Osteoklasten) und Knochenbildung (durch Osteoblasten) umfasst. Normalerweise stehen diese Prozesse im Gleichgewicht, was dazu führt, dass 10% des Skeletts jedes Jahr ersetzt werden. Aufgrund des Alterungsprozesses, einer Erkrankung oder anderer Bedingungen kann der Knochenumsatz jedoch aus dem Gleichgewicht geraten, so dass Knochenresorption und -bildung nicht mehr im Einklang stehen. Osteoporose ist eine altersbedingte Erkrankung, die durch geringe Knochenmasse und mikroarchitektonische Deterioration des Knochengewebes gekennzeichnet ist (siehe Abbildung 1). Die Erkrankung wird oftmals diagnostiziert, nachdem bereits ein schwerer Knochenverlust stattgefunden hat. In vielen Fällen führt eine Fraktur zur Initialdiagnose.

Abb. 1

Abbildungen wurden zur Verfügung gestellt von Dr. Daniel Chappard Université d'Angers, France



Normaler und osteoporotischer Knochen

1.2 Klinische Situationen, die den Knochenumbau beeinflussen

Osteoporose ist die am häufigsten auftretende Erkrankung, die den Knochenumbau beeinflusst. An ihr leiden schätzungsweise ein Drittel der Frauen im Alter von 60-70 Jahren und zwei Drittel der 80- bzw. über 80-jährigen. Durch gesunde Ernährung, Bewegung und die Eliminierung kontrollierbarer Risikofaktoren kann der Osteoporose vorgebeugt werden; sie kann mit antiresorptiven Therapien behandelt werden.

Zu den metabolischen Knochenerkrankungen zählen:

- Hyperparathyreoidismus
- Hyperthyreose
- Paget-Krankheit – eine Erkrankung mit abnormaler Knochenbildung
- metastasierender Knochenkrebs
- ernährungsbedingte Rachitis und Osteomalazie
- multiples Myelom
- Malabsorptionssyndrom
- durch Medikamententherapie verursachte Erkrankungen:
 - immunosuppressive Medikamente zur Behandlung von Krebs und Organtransplantaten
 - bei der Dialyse eingesetztes Heparin
 - Phenyto (Dilantin®) zur Behandlung von Epilepsie
 - Glukokortikoide (Kortikosteroide) zur Behandlung von rheumatoider Arthritis (RA), systemischem Lupus erythematodes (SLE) und Asthma
 - Aluminium enthaltende Antazide

1.3 Medikamentöse Therapie bei metabolischen Knochenerkrankungen

Ärzte behandeln routinemäßig Patienten mit metabolischen Knochenerkrankungen. Ein Überblick über allgemein verbreitete und erfolgversprechende neue Therapien sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1. Therapien zur Behandlung metabolischer Knochenerkrankungen.

Therapie	Anwendung	Literaturverweise
Antiresorptive Wirkstoffe:		
Östrogen (Hormonersatz)	Aufgrund der Nebenwirkungen nur für eine Übergangszeit während der Perimenopause geeignet.	1
Phytoöstrogen (Hormonersatz)	Natürliche Östrogenquelle wie sie in Soja vorkommt. Wird von Frauen als „sichere“ Alternative zur Hormonersatztherapie verwendet.	2
Kalzium	Zur Osteoporoseprävention.	3, 4
Selektive Östrogenrezeptormodulatoren	Beugen Knochenverlust und dem Risiko einer vertebralen Fraktur vor (<i>Raloxifen (Evista)</i>).	
Bisphosphonate	Beugen Knochenverlust vor und erhöhen BMD (<i>Alendronat (Fosamax); Risedronat (Actonel)</i>). Strenge Vorgaben für die Verabreichung stellen einen Nachteil dar.	5
Calcitonin	Zur Behandlung von Osteoporose und Paget-Krankheit; wird als weniger effektiv als Bisphosphonate betrachtet. Verminderte Verträglichkeit bei Langzeitanwendung.	6, 7
Vitamin D	Aktive Form des Vitamin D; wird postmenopausalen Frauen mit Osteoporose im Wirbelsäulenbereich verabreicht.	8, 9
Wirkstoffe, die die Knochenformation stimulieren:		
Natriumfluorid	Erhöht BMD; klinische Studien zeigten jedoch keinen Rückgang bei vertebralen Frakturen.	
Parathormon (PTH) (humanes rekombinantes PTH (1-34))	PTH stimuliert zunächst die Knochenformation und verstärkt später den Knochenumbau; erhöht BMD der Wirbelsäule. Empfohlen zur Behandlung von Patienten mit persistierender Osteoporose nach vorausgegangener Alendronat-Behandlung. (<i>Teriparatid (Forteo)</i>)	10
Wachstumsfaktoren	Wachstumshormontherapie (von der FDA zugelassen) wird zur Behandlung von Hypopituitarismus und Somatotropinmangel bei Kindern und Erwachsenen eingesetzt.	11, 12
Wirkstoffe, die Resorption verhindern und Formation stimulieren:		
Strontiumranelat	Inhibiert die Knochenresorption und stimuliert den Knochenaufbau.	13, 40

2 Diagnostische Methoden zur Erkennung metabolischer Knochenerkrankungen

2.1 Diagnose von metabolischen Knochenerkrankungen, Knochenmineraldichte (BMD)

Die Diagnose metabolischer Knochenerkrankungen kann durch die Messung der Knochenmasse, d.h. der Knochenmineraldichte (BMD) an Hüfte, Wirbelsäule oder anderer Stelle, gestellt werden. Die Knochenmineraldichte ist jedoch eine statische Messung der Knochenstruktur, die deren Geschichte widerspiegelt. Ein Basiswert der Knochenmineraldichte lässt keine Vorhersage in Bezug auf einen künftigen Knochenverlust oder Therapieerfolg zu. Da biochemische Knochenmarker außerdem die Ganzkörperraten des Knochenumsatzes widerspiegeln, bietet die kombinierte Messung von Knochenmarkern und Knochenmineraldichte mehr Informationen über den Gesamtknochenverlust als eine alleinige BMD-Messung an spezifischen Stellen des Skeletts. Schließlich kann die Knochenmineraldichte zwar auf den Knochenverlust hinweisen, sie vermittelt jedoch keine Informationen über eine Veränderung oder Deterioration der Knochengewebsstruktur.

Die steigende Zahl der Medikamente zur Behandlung der Osteoporose und anderer metabolischer Knochenerkrankungen erfordert den Einsatz von schnelleren und prädiktiven Methoden zur Bewertung der Therapieeffizienz. Während sich feststellbare und signifikante Veränderungen der BMD in einem Zeitraum von 18 bis 24 Monaten entwickeln, können durch die Messung der Knochenumsatzmarker Veränderungen im Knochengewebe nachweislich innerhalb von 3-6 Monaten nach Beginn einer anti-resorptiven Therapie detektiert werden.

Daher wird die Messung der Knochenumsatzmarker in zunehmenden Maße als eine Schlüsselkomponente für das Therapiemanagement empfohlen: für die schnelle Erkennung von Therapie-Respondern und Non-Respondern, für die Bewertung der Therapieeffizienz und für die Festlegung der optimalen Therapie und Behandlungsdosis.

2.2 Knochenumsatzmarker zur Erkennung von Knochenerkrankungen und zur Kontrolle der Therapieeffizienz

Um für die Bewertung der Knochenumsatzgeschwindigkeit und für die Therapieverlaufskontrolle von Nutzen zu sein, sollten Marker

- A. einen Unterschied in der Knochenumsatzgeschwindigkeit bei prä- und postmenopausalen Frauen aufzeigen
- B. eine minimale analytische Varianz aufweisen
- C. sich als Reaktion auf eine Behandlung signifikant verändern
- D. Veränderungen in Kurzzeitintervallen (Monaten) detektieren
- E. minimale intraindividuelle (biologische) Abweichungen aufzeigen
- F. vorzugsweise geringe Abweichungen im Tagesverlauf aufweisen
- G. vorzugsweise kein Einfluss durch Nahrungsaufnahme
- H. vorzugsweise eine hohe Stabilität in den biologischen Proben aufzeigen

Ein Überblick über bestehende und erfolgversprechende neue Tests zusammen mit der Wertung zu den o.a. Kriterien (übernommen von Caulfield et al. [14]) wird in Tabelle 2 gezeigt.

Auf der Grundlage dieser Kriterien wird die knochenspezifische alkalische Phosphatase (BAP) als einer der wirkungsvollsten Marker zur Messung des Knochenumsatzes beurteilt.

Tabelle 2. Knochenumsatzmarker und Leistungsmerkmale.

Biomarker	Methode	Haupt-probentyp	A ^(a)	B	C	D	E	F	G	H	
			prä- & post-menopausal	analy. Varianz	Reaktion auf Therapie	Kurzzeitveränderung	Intra-individuelle Schwankung	Schwankung im Tagesverlauf	Nahrungsaufnahme	Probenstabilität	
Formation											
BAP	ELISA	Serum	+	+	+	+	+	+	+	+	5 Tage 2–8 °C
Osteocalcin Intact	IRMA/ELISA	Serum	+	+	+	+	±	+	+	-	4 Std. 2–8 °C
Osteocalcin N-mid	ELISA	Serum	+	+	+	+	±	+	+	+	5 Tage 2–8 °C
PINP	RIA	Serum	+	+	+	+	±	+	+	+	5 Tage 2–8 °C
PICP = CICP	ELISA	Serum	NA	+	+	+	+	±	+	+	5 Tage 2–8 °C
Resorption											
TRAP (5b)	ELISA	Serum	±	+	±	±	NA	+	+	±	2 Tage 2–8 °C
DPD	ELISA	Urin	+	+	+	+	+	-	+	+	7 Tage 2–8 °C
NTx	ELISA	Serum	+	+	+	+	+	-	±	±	1 Tag 2–8 °C
		Urin	+	+	+	+	±	-	±	+	3 Tage 2–8 °C
CTX	ELISA	Serum	+	+	+	+	+	-	-	+	1 Tag 2–8 °C
		Urin	+	+	+	+	±	-	-	+	7 Tage 2–8 °C
ICTP = CTX-MMP	ELISA	Serum	-	+	-	-	NA	±	+	+	5 Tage 2–8 °C
Andere											
sRANKL	ELISA	Plasma	NA	+	± ^(b)	-	NA	NA	+	±	1 Tag 2–8 °C
Osteoprotegerin (OPG)	ELISA	Plasma	NA	+	+	-	NA	NA	+	±	1 Tag 2–8 °C
Cathepsin K	ELISA	Serum	NA ^(c)	+	NA	NA	NA	NA	+	±	2 Tage 2–8 °C

Scores sind: + (ja), - (nein), ± (fair/indeterminiert), NA (nicht verfügbar)

(a) Buchstaben entsprechen Folgendem. Die Marker:

- A. Zeigen eine Differenz in der Knochenumsatzgeschwindigkeit bei prä- und postmenopausalen Frauen.
- B. Zeigen minimale analytische Varianz.
- C. Ändern sich signifikant als Reaktion auf Therapie.
- D. Detektieren Veränderungen innerhalb von Kurzzeitintervallen (Monaten).
- E. Zeigen minimale intraindividuelle (biologische) Abweichungen.
- F. Zeigen vorzugsweise wenig Varianz im Tagesverlauf.
- G. Kein Einfluss durch Nahrungsaufnahme.

H. Zeigen vorzugsweise eine hohe Stabilität in der biologischen Probe.

- (b) Im Gegensatz zu OPG zeigte sRANKL keine Reaktion auf eine Bisphosphonattherapie bei menopausalen Frauen mit Osteoporose. Eine PTH-Behandlung führte jedoch bei Frauen mit Glukokortikoid-induzierter Osteoporose zu einer schnellen (1 Monat) und andauernden Erhöhung der sRANKL-Spiegel.
- (c) Cathepsin K ist bei Patienten mit etablierter rheumatoider Arthritis erhöht.

3 BAP als ein Marker zur Detektion von Veränderungen des Knochenumsatzes

3.1 Hintergrundinformationen zu BAP

Knochenspezifische alkalische Phosphatase (BAP) wird von Osteoblasten synthetisiert und ist vermutlich an der Kalzifikation der Knochenmatrix beteiligt, ihre genaue Rolle im Bildungsprozess ist jedoch nicht bekannt. BAP ist eines aus einer Reihe verschiedener Isoenzyme der alkalischen Phosphatase, die in Knochen, Leber, Niere, Darm und Plazenta vorkommen. Im Serum der meisten gesunden Personen überwiegen Knochen- und Leberisoenzyme des gewebeunspezifischen AP-Gens in nahezu gleichem Verhältnis. Der Unterschied in der Glykosylierung der Knochen- und Leberisoenzyme (Produkte des gleichen Gens) ist genutzt worden, um spezifische Antikörper gegen BAP zu entwickeln. BAP wird als ein hochspezifischer Marker für die knochenbildende Aktivität der Osteoblasten betrachtet.

3.2 Methoden zur Messung der alkalischen Phosphatase

Diagnostische Tests zur Detektion der alkalischen Phosphatase sind:

- **BAP ELISA** – Enzyme-linked-immunosorbent-Assay für das Routinelabor zur Messung der BAP-Enzymaktivität.
- **BAP IRMA** – Immunradiometrischer Assay für das Routinelabor zur BAP-Messung in Protein-Masseinheiten.
- **Gesamt-alkalische Phosphatase (TAP)** – automatisierter Test für das Routinelabor. Aufgrund der hohen Kreuzreaktion mit der leberspezifischen alkalischen Phosphatase ist diese Methode unspezifisch zur Diagnose von Knochenkrankungen.
- **Elektrophorese** – unterschiedliche In-House-Methoden. Nicht-standardisiert, erzielte Ergebnisse variieren von Labor zu Labor.
- **Weizenkeimlektin-Präzipitation** – unterschiedliche In-House-Methoden, erzielte Ergebnisse variieren von Labor zu Labor.

Korrelationen zwischen verschiedenen Methoden werden in Abbildung 2 aufgeführt.

Abb. 2. Korrelation zwischen BAP ELISA (Quidel®) und anderen Methoden zur BAP-Bestimmung.

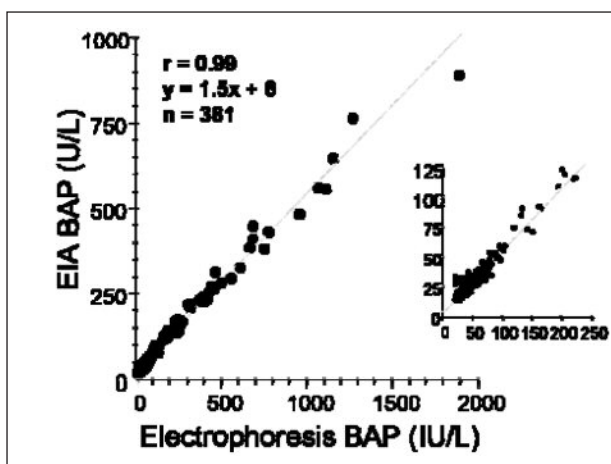


Abb. 2a. Korrelation mit Elektrophorese.
(Data on file, Quidel Biosystems36)

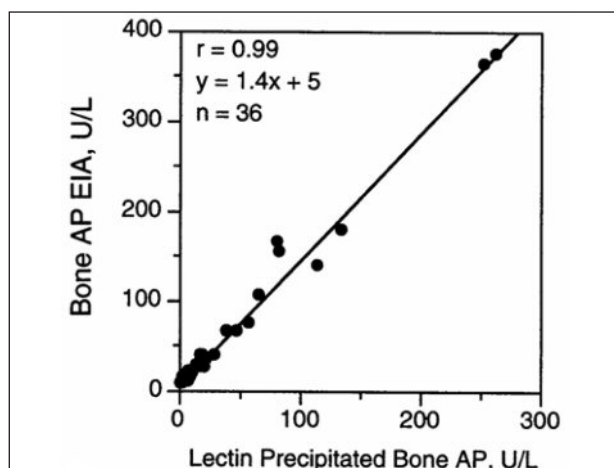


Abb. 2b. Korrelation mit Präzipitation.
(Übernommen von Gomez et. al.28)

Abb. 2. Korrelation zwischen BAP ELISA (Quidel®) und anderen Methoden zur BAP-Bestimmung.

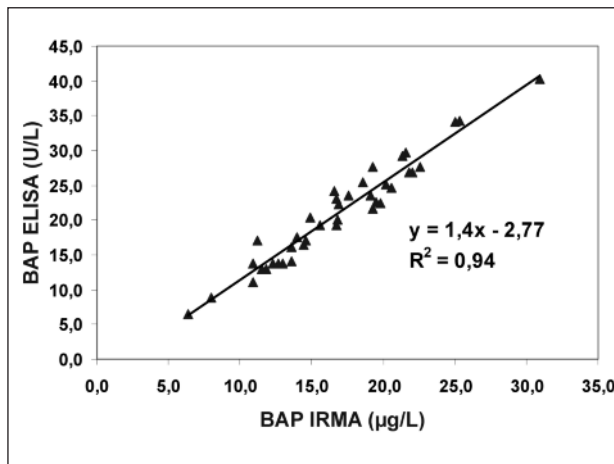


Abb. 2c. Korrelation mit IRMA. (Data on file, Quidel Biosystems36)

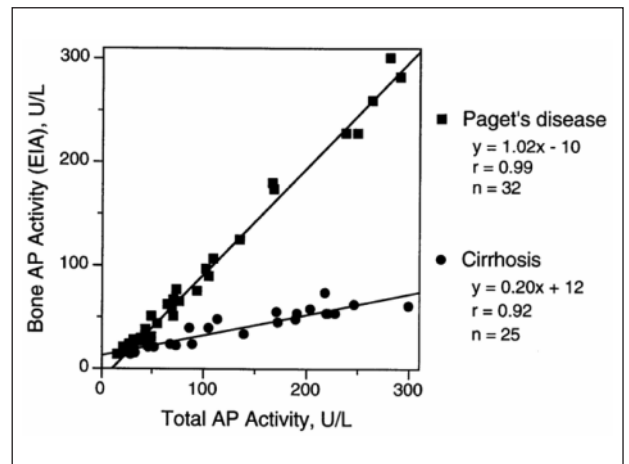


Abb. 2d. Korrelation mit TAP. (Übernommen von Gomez et. al.28)

3.3 Messung der BAP in Proteinmasse (µg/L) und Enzymaktivität (U/L)

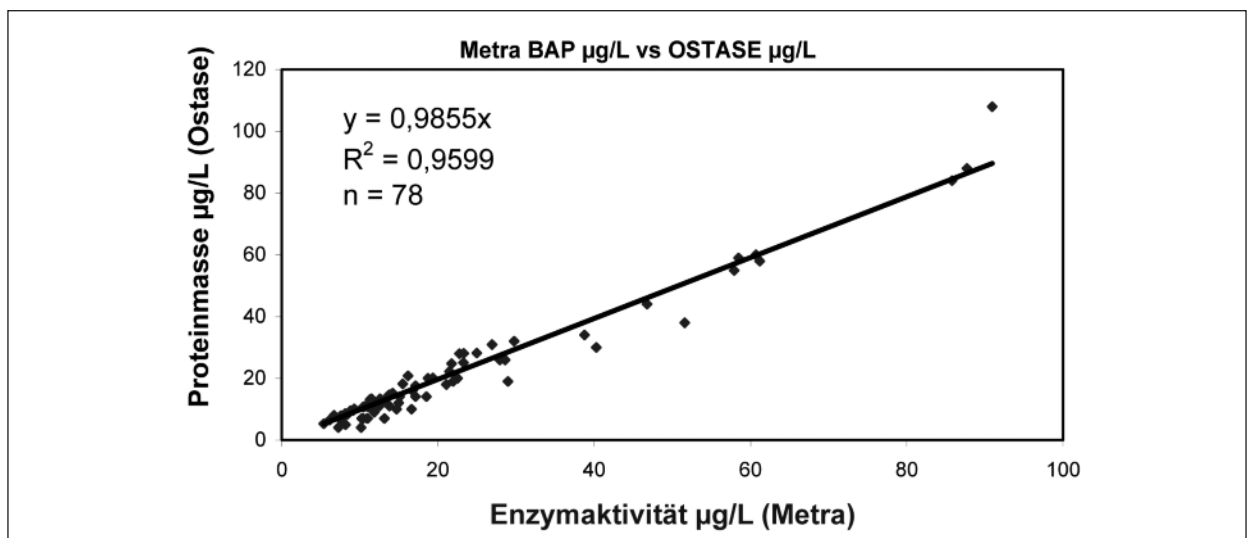
Enzymaktivität

Die BAP wird an einen monoklonalen Antikörper gebunden, der spezifisch für die im Knochen vorkommende Isoform ist. Andere Formen der alkalischen Phosphatase (z.B. Leber etc.) werden ausgewaschen. Die Aktivität der alkalischen Phosphatase wird anhand einer chromogenen chemischen Reaktion (Farbänderung) gemessen. Bei dem Quidel® BAP Assay werden die Ergebnisse direkt über diese Farbänderung bestimmt und als Einheiten pro Liter (U/L) angegeben. Da direkt die Enzymaktivität bestimmt wird, ist die bevorzugte Einheit U/L, es ist allerdings möglich, die Enzymaktivität U/L umzurechnen in µg/L.

Proteinmasse

Bei der IRMA-Methode wird das Enzymmolekül BAP direkt mit Hilfe von zwei monoklonalen Antikörpern (Sandwich-Assay), die zwei verschiedene Epitope erkennen, gemessen; die Angabe der Ergebnisse erfolgt in Masseinheiten (µg/L).

Korrelation der Proteinmasse und Enzymaktivität, angegeben in µg/L Die Messungen der BAP, die auf der Basis der Proteinmasse und der Enzymaktivität erfolgten, angegeben für beide Methoden in µg/L, weisen eine ausgezeichnete Korrelation auf.



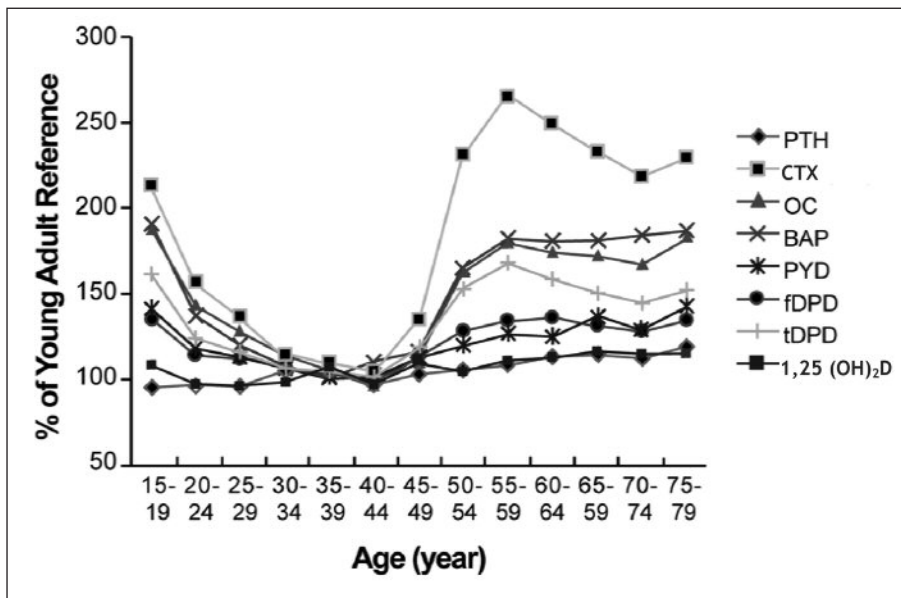
3.4 BAP-Kreuzreaktion mit der leberspezifischen alkalischen Phosphatase

Wie oben ausgeführt, passieren alle BAP-Assays die Aktivität der Gesamt-alkalischen-Phosphatase „durch ein Sieb“, wobei die Knochenisoform (BAP) durch den monoklonalen Antikörper zurückgehalten wird. Daher bestimmt die Spezifität des monoklonalen Antikörpers gegen BAP die Kreuzreaktion des Tests mit der leberspezifischen alkalischen Phosphatase (AP). Bei Patienten mit hoher Leber-AP (wenn Leber, Gallengänge oder das Gallenblasensystem nicht richtig funktionieren, z. B. aufgrund einer alkoholbedingten Lebererkrankung, Leberkarzinom) können die Ergebnisse der BAP-Messungen künstlich hoch sein. Im Falle einer gleichzeitig vorliegenden Knochenkrankung können künstlich hohe BAP-Werte die Reaktion des Patienten auf eine antiresorptive Therapie nicht korrekt widerspiegeln. In einer von Sokoll [45] durchgeführten Studie wurden BAP-Werte von Patienten mit Leber- und Knochenkrankung, die mit dem Quidel® BAP Assay und einem BAP-IRMA erzielt wurden, untersucht. Sie stellten fest, dass die Zahl der Patienten mit Lebererkrankung, die Werte über dem oberen Limit des gesunden Referenzbereichs aufwies, für den IRMA höher war als für den Quidel® BAP. Von allen Assays weist der Quidel® BAP Assay die geringste Kreuzreaktion von nur 6 bis 8 %, mit Leber AP auf.

3.5 Tägliche, ernährungs- und altersbedingte Schwankungen von BAP

Wie in vielen Studien belegt wird (zum Beispiel Tobiume et al. [37]) zeigt BAP keine signifikante tagesrhythmische Schwankung im Serum auf. Im Gegensatz zur Gesamt-alkalischen-Phosphatase (TAP) werden die BAP-Spiegel im Allgemeinen nicht durch die Ernährung beeinflusst [41, 42]. Eine altersbedingte Schwankung der BAP-Spiegel und anderer Knochenmarker bei Frauen ist in Abbildung 3 dargestellt. Werte steigen während der Menopause signifikant an (Iki et al. [38]).

Abb. 3. Werte der Knochenumsatzmarker als eine Funktion des Alters



Die Konzentrationen der Gesamt-AP im Serum sanken während LCHP-Diäten im Vergleich zu normaler Ernährung signifikant, die Konzentrationen der knochenspezifischen Phosphatase veränderten sich jedoch nicht.

4 Klinische Daten zu BAP

Alle dargestellten klinischen Daten wurden mit dem Quidel® BAP Assay gemessen.

4.1 Zusammenfassung

Erhöhte BAP-Serumkonzentrationen sind bei medizinischen Situationen zu beobachten, die durch exzessiven Knochenumsatz gekennzeichnet sind, wie z.B. Postmenopause, Osteoporose, Paget-Krankheit, Hyperparathyreoidismus, Hyperthyreose und metastasierende Tumore, und werden mit einem raschen Knochenverlust assoziiert [16]. BAP-Konzentrationen sinken abhängig von der verabreichten Dosis infolge einer antiresorptiven Therapie. Diese kurzfristigen Veränderungen korrelieren reziprok mit langfristigen Veränderungen der Knochenmineraldichte. BAP-Konzentrationen korrelieren mit dem Knochenwachstum bei Kindern und spiegeln pubertäre Wachstumsphasen wider.

4.2 BAP-Reaktionen auf verschiedene klinische Krankheitsbilder und Therapien

4.2.1 BAP weist auf höheren Knochenumsatz hin

BAP ist ein empfindlicher Indikator für den erhöhten Knochenumsatz, der bei postmenopausalen Frauen und Osteoporose auftritt. BAP wurde bei 107 postmenopausalen Frauen (im Alter von 44-88 Jahren) und 191 prämenopausalen Kontrollpersonen gemessen. Die Verteilung der BAP-Werte [28] zeigt, dass die Frauen der postmenopausalen Gruppe höhere BAP-Spiegel im Verhältnis zu ihren normalen prämenopausalen Pendanten aufwiesen, was auf eine verstärkte Knochenremodellierung in dieser Altersgruppe gegenüber normalen prämenopausalen Frauen schließen lässt.

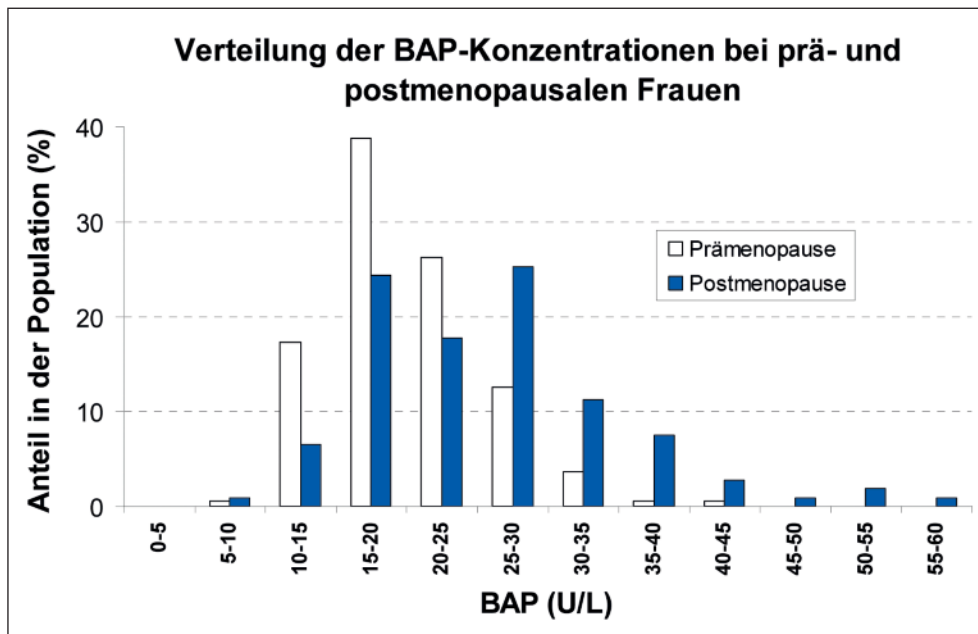
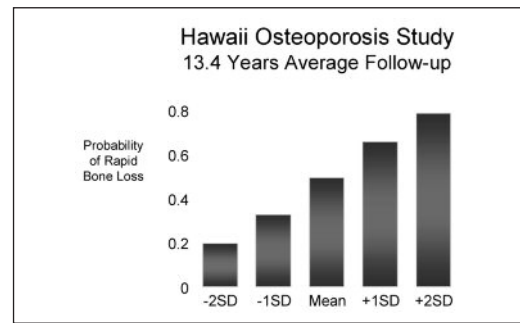


Abb. 2a. Korrelation mit Elektrophorese. (Data on file, Quidel Biosystems36)

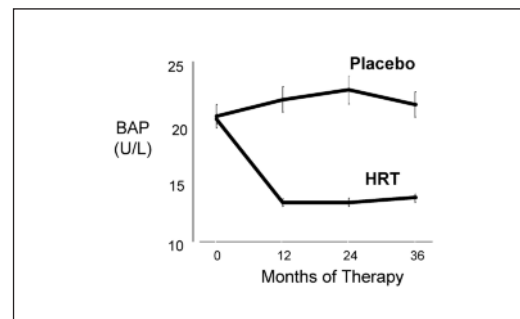
4.2.2 Assoziation zwischen BAP-Konzentrationen und rapidem Knochenverlust

Ein enger Zusammenhang zwischen BAP-Konzentrationen und rapidem Knochenverlust wurde in der Hawaii Osteoporosis Study (Kohortenstudie) festgestellt. Die rechts abgebildete Grafik stellt die Daten als die Wahrscheinlichkeit eines raschen Knochenverlusts in Verbindung mit einem BAP-Spiegel über oder unter dem Mittel der Kohorte dar. Frauen mit BAP-Konzentrationen von 2SD unter dem Mittelwert wiesen eine sehr geringe Wahrscheinlichkeit eines schnellen Verlusts auf, während bei Frauen mit den höchsten BAP-Konzentrationen eine 80 %ige Wahrscheinlichkeit eines rapiden Knochenverlusts vorlag. Das Verhältnis scheint kontinuierlich zu sein [16]. Die Assoziation zwischen BAP und Knochenverlust entspricht dem zwischen Knochenmineraldichte (BMD) und Fraktur und lässt vermuten, dass der Marker eine wertvolle Rolle bei der Risikobewertung spielen kann.



4.2.3 BAP spiegelt die antiresorptive Wirkung der Hormontherapie (HRT) bei postmenopausalen Frauen wider

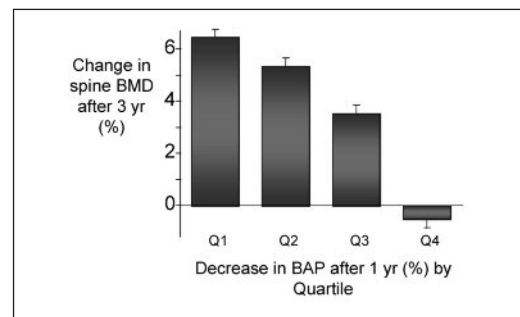
Bei dem multizentrisch angelegten "Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions"-Test (PEPI) erhielten 875 postmenopausale Frauen im Alter von 45 bis 64 Jahren durch eine Zufallsauswahl entweder Placebos oder konjugierte equine Östrogene. Progestin in 3 verschiedenen Dosen wurde einem Teil der Frauen im Rahmen eines Doppelblindtests zur Beurteilung der Wirksamkeit von Hormontherapie (HRT) zur Erhaltung oder Erhöhung der Knochenmasse verabreicht. Die Knochenmineraldichte der Lendenwirbelsäule zu Beginn und nach 1 und 3 Jahren Therapie erhöhte sich um bis zu 5,0 % in den HRT-Gruppen und sank um 1,8 % in der Placebo-Gruppe. Mittlere BAP-Konzentrationen sanken im Durchschnitt um 32 % zum Ausgangswert und erreichten einen Tiefpunkt nach 12 Monaten bei Frauen, die sich einer Hormontherapie unterzogen; dies ist ein signifikanter Unterschied zu den Frauen der Placebo-Gruppe. Über 4/5tel der mit Hormontherapie behandelten Frauen zeigten eine BAP-Verminderung von 20% oder mehr und faktisch alle wiesen Werte innerhalb des Referenzbereichs nach 12 Monaten auf [17].



Um Therapie-Responder und Non-Responder zu identifizieren, hat die International Osteoporosis Foundation (IOP) [47] folgende Empfehlung formuliert: Um eine 90%ige Spezifität einer positiven BMD-Reaktion (+3 %) vorherzusagen, sollte sich der BAP-Wert eines einzelnen Patienten ausgehend vom BAP-Ausgangswert um 20 bis 40 % vermindern.

4.2.4 BAP-Veränderungen sind ein Prädiktor für Veränderungen der BMD bei Frauen, die mit HRT und Placebos behandelt wurden

Die BAP-Daten der Frauen des PEPI-Tests wurden in Quartile geteilt, um den engen Zusammenhang zwischen Veränderungen im Knochenumsatz und der Knochenmineraldichte (BMD) der Lendenwirbelsäule zu zeigen. Die Frauen des ersten Quartils, deren BAP während eines Jahres am stärksten sank, wiesen die größte Erhöhung der Knochenmineraldichte auf. Die Frauen des vierten Quartils, deren BAP nur minimal sank oder sogar anstieg, zeigten eine Verminderung der Knochenmineraldichte. Die BAP-Konzentration ließ auch auf BMD Veränderungen an der Hüfte nach 3 Jahren und auf Veränderungen in der Wirbelsäule und der BMD nach einem Jahr schließen [17].



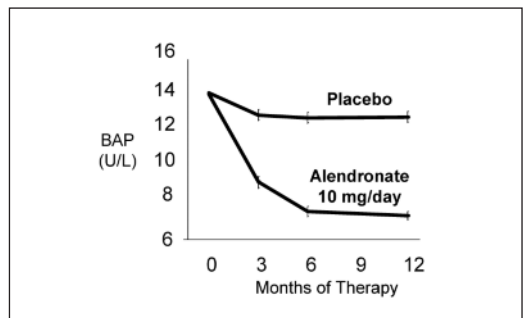
4.2.5 BAP identifiziert nach kurzer Zeit mehr Hormontherapie-Responder als BMD

Die Zweckmäßigkeit eines diagnostischen Tests zur Effizienzkontrolle einer Medikamententherapie hängt von der Fähigkeit des Tests ab, zwischen einer tatsächlichen biologischen Reaktion und der normalen Varianz, die bei Individuen auftritt, zu unterscheiden. Beim PEPI-Test wurde der durchschnittliche Langzeitintraindividuelle Variationskoeffizient (CV) in der Placebo-Gruppe bestimmt (BAP, 7,8 %; BMD, 1,0 %) und verwendet, um die Anzahl der tatsächlichen biologischen Hormontherapie-Responder zu bestimmen. Nach 12 Monaten Therapie waren die Testkonzentrationen um mehr als das Zweifache der Langzeitvariabilität bei 85 % der Frauen für BAP und bei 69 % der Frauen für die Knochenmineraldichte gesunken. Die BAP-Bestimmung stellt daher eine bessere und auch zeitlich früher einsetzende Möglichkeit dar, die Reaktion auf eine Hormontherapie bei postmenopausalen Frauen zu erkennen [17].

Time (months)	% Identified as Responders	
	12	36
%Δ BAP		
< 0	96	
< -1 x CV*	92	
< -2 x CV	85	
%Δ LS BMD		
> 0	91	93
> 1 x CV	80	86
> 2 x CV	69	78

4.2.6 BAP spiegelt den anti-resorptiven Effekt von Alendronat bei Frauen mit Osteoporose wider

Im Rahmen einer von Merck durchgeführten multizentrischen Studie wurden 994 postmenopausale Frauen mit Osteoporose untersucht. Als Definition für Osteoporose galt, dass die Knochenmineraldichte (DEXA) der Wirbelsäule gleich oder mehr als 2,5 Standardabweichungen unter der von gesunden jungen Frauen liegen musste. Durch eine Zufallsauswahl erhielten die Frauen im Rahmen eines Doppelblindtests zur Beurteilung der Wirksamkeit von Alendronat zur Erhaltung oder Erhöhung der Knochenmasse entweder Placebos oder eine von drei Alendronatdosen. Die Messung der Knochenmineraldichte der Lendenwirbelsäule zu Beginn und nach 12 Monaten Therapie ergab eine Erhöhung um 5,5 % in der Alendronat-Gruppe und eine Verminderung um 0,6 % in der Placebo-Gruppe. Serumproben standen von 180 Frauen der Placebo-Gruppe und 134 Frauen der Alendronat-Gruppe (10 mg/Tag) zur Verfügung.

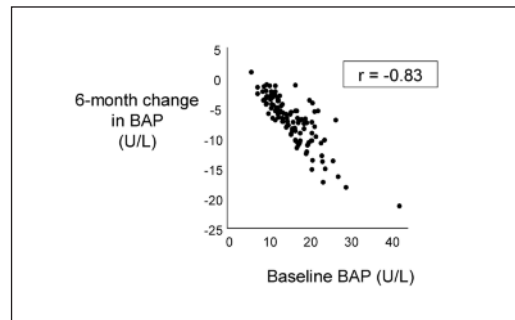


Die mittleren BAP-Konzentrationen sanken um 31 % ($p < 0,00001$ im Vergleich zur Placebo-Gruppe) nach 3 Monaten und 43 % nach 6 Monaten. 90 % der mit Alendronat behandelten Frauen zeigten eine BAP-Verminderung von 20 % oder mehr nach 6 Monaten.

Die BAP-Spiegel in der Placebo-Gruppe sanken im Vergleich zum Ausgangswert ($p < 0,01$) leicht, wahrscheinlich infolge der Zugabe von 500 mg/Tag Kalzium, die bei allen Testpersonen erfolgte [18].

4.2.7 Der Ausgangswert des Knochenumsatzes ist ein Prädiktor für die Turnoverreaktion auf Alendronat

Die Messung des Knochenumsatzes mit einem Marker wie BAP kann zeigen, welche Patienten auf eine antiresorptive Therapie zur Senkung des Knochenumsatzes am besten ansprechen werden. Da der Knochenumsatz ein unabhängiger Risikofaktor für Frakturen ist, ist eine Reduktion des Turnovers ein positives klinisches Ergebnis. Bei einer von Merck durchgeführten multizentrischen Studie erhielten 126 Frauen mit Osteoporose 10 mg/Tag Alendronat im Rahmen eines Placebo-kontrollierten Doppelblindtests zur Beurteilung der Wirksamkeit von Alendronat zur Erhaltung oder Erhöhung der Knochenmasse. Mittlere BAP-Konzentrationen sanken gemessen am Ausgangswert kontinuierlich und erreichten Tiefpunktkonzentrationen nach 6 Monaten. Ausgangskonzentrationen der BAP zeigten eine stark negative Korrelation ($r = -0,83$) mit der BAP-Veränderung, die nach 6 Monaten auftrat.



Bei Frauen mit höheren BAP-Ausgangskonzentrationen war die Wahrscheinlichkeit einer Verminderung des Knochenumsatzes höher als bei Frauen mit niedrigeren Ausgangskonzentrationen [18].

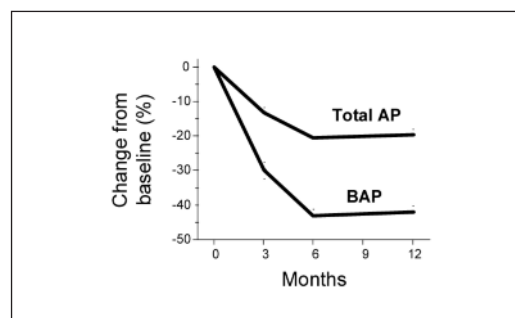
4.2.8 Reaktion auf Alendronat wird durch BAP schneller identifiziert als durch BMD

Die Zweckmäßigkeit eines diagnostischen Tests zur Effizienzkontrolle einer Medikamententherapie hängt von der Fähigkeit des Tests ab, zwischen einer tatsächlichen biologischen Reaktion und der normalen Abweichung, die bei Individuen auftritt, zu unterscheiden. Bei der Alendronat-Studie wurde der durchschnittliche Langzeit-intraindividuelle Variationskoeffizient (CV) in der Placebo-Gruppe bestimmt (BAP, 10,0 %; LWS BMD, 1,94 %) und verwendet, um die Anzahl der tatsächlichen biologischen Alendronat-Responder zu bestimmen. Nach 6 Monaten Therapie waren die BAP-Konzentrationen um mehr als das Zweifache der Langzeitvariabilität bei 90 % der Frauen gesunken. Unter Anwendung derselben Kriterien zeigten 80 % der Frauen nach 3 Jahren eine BMD-Veränderung im Bereich der Lendenwirbelsäule. Daher ist die BAP-Bestimmung eine bessere und zeitlich früher einsetzende Möglichkeit als die BMD-Messung, um eine Reaktion auf Alendronat bei Frauen mit Osteoporose festzustellen [18].

Time (months)	% Identified as Responders					
	3	6	12	18	24	36
%Δ BAP						
< 0	95	99	98			
< -1 x CV*	94	96	96			
< -2 x CV	75	90	86			
%Δ LS BMD						
> 0	72	87	91	92	95	96
> 1 x CV*	56	72	83	83	90	91
> 2 x CV	33	49	65	73	77	80

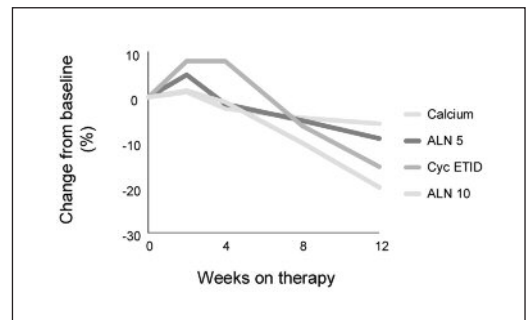
4.2.9 BAP ist empfindlicher gegen Alendronat bei Osteoporose als Gesamt-AP

BAP bietet aufgrund ihrer hohen Spezifität für Knochen eine empfindlichere Messung der Veränderungen im Knochenumsatz als die Gesamt-AP (TAP). Dies wird in einer Studie über 121 Frauen mit Osteoporose, die über ein Jahr mit 10 mg/Tag Alendronat behandelt wurden, veranschaulicht. BAP sank um mehr als das Zweifache als die Gesamt-AP an allen gemessenen Zeitpunkten. Die Unterschiede in den Konzentrationsveränderungen von BAP und Gesamt AP waren an allen Zeitpunkten statistisch hoch signifikant ($p < 0,00001$).



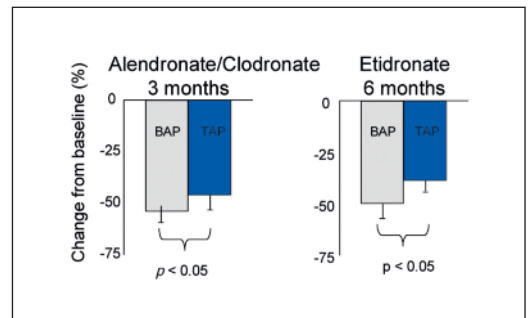
4.2.10 BAP reagiert auf antiresorptive Therapie bereits nach 8 Wochen

Eine Studie über zwei Bisphosphonate wurde durchgeführt, um die Kurzzeitveränderungen bei Knochenumsatzmarkern zu evaluieren. Durch eine Zufallsauswahl erhielten 74 postmenopausale Frauen mit Osteopenie Kalziumkarbonat (500 mg/Tag), zyklisches Etidronat (cyc ETID) oder 5 bzw. 10 mg/Tag Alendronat (ALN 5, ALN 10). Die BAP-Konzentrationen wurden zu Beginn der Studie und nach 2, 4, 8 und 12 Wochen Therapie bestimmt. Im Vergleich zu Knochenresorptionsmarkern existiert eine zeitliche Verzögerung in der Reaktion von Knochenbildungsmarkern wie BAP auf antiresorptive Therapien. Dies steht in Zusammenhang mit dem Knochenremodellierungszyklus. Eine Verminderung der Osteoblastenaktivität kann sich erst zeigen, wenn die primäre Wirkung auf Osteoklasten durch antiresorptive Therapien stattgefunden hat. Trotz dieser zeitlichen Verzögerung zeigte BAP bereits nach 8 Wochen eine Empfindlichkeit gegen die höhere Alendronatdosis. Nach 12 Wochen war BAP als Reaktion auf Alendronat (10 mg/Tag) und zyklisches Etidronat signifikant gesunken ($p < 0,05$) [19].



4.2.11 BAP reagiert empfindlicher gegen Bisphosphonate bei der Paget-Krankheit als Gesamt-AP

BAP bietet eine empfindlichere Messung der Veränderungen im Knochenumsatz als Gesamt-AP (TAP). Dies trifft sogar bei der Paget-Krankheit zu, wo die Gesamt-AP-Erhöhungen fast ausschließlich dem Knochenisoenzym zuzuschreiben sind. Bisphosphonat supprimiert rasch den hohen Knochenturnover, der bei der Paget-Krankheit auftritt. Dies zeigt sich in den signifikanten Abnahmen von BAP als auch Gesamt-AP. Diese Daten sind zwei Studien entnommen [15, 23]. Eine Studie umfasste 12 zuvor nicht behandelte Patienten. Messungen wurden zu Beginn der Studie und 3 Monate nach intravenöser Verabreichung von Clodronat oder Alendronat vorgenommen. Die zweite Studie umfasste 13 zuvor unbehandelte Patienten mit einer leichten Form der Erkrankung. Sie erhielten eine Dosis von 400 mg/Tag Etidronat.



4.2.12 BAP und Strontiumranelat-Therapie

Strontiumranelat ist ein erfolgversprechendes neues Medikament, das die Knochenresorption inhibiert und die Knochenformation stimuliert [40]. Im Rahmen einer von Meunier [13] durchgeführten Studie wurden 1649 an Osteoporose erkrankte Frauen mit geringer Knochendichte und mindestens einer Fraktur täglich mit 2 g oralem Strontiumranelat behandelt. Eine Erhöhung der Knochenmineraldichte (14,4 % an LWS) und eine geringere Anzahl von Frakturen (Reduktion von 41 %) wurden im Vergleich zu einer Placebo-Gruppe nach 3 Jahren Behandlung beobachtet. Die Dissoziation von Knochenresorption und Knochenformation wurde mit den biochemischen Markern CTX-1 und BAP nachgewiesen. In der Strontiumranelat-Gruppe waren die BAP-Spiegel höher (therapiebedingter Anstieg von 8,1 %) und die CTX-I-Konzentrationen niedriger (therapiebedingte Verminderung um 12,2 %) als in der Placebo-Gruppe.

Diese relativ geringen Veränderungen der Knochenmarker als Reaktion auf die Strontiumranelat-Therapie legen jedoch die Vermutung nahe, dass sie für die Effizienzkontrolle dieser Therapie nicht optimal geeignet sind.

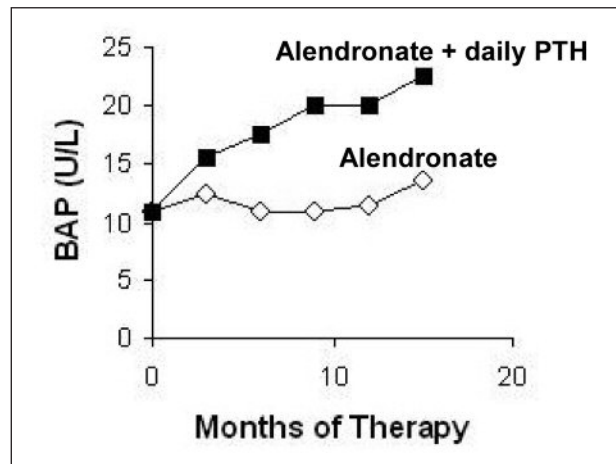
4.2.13 BAP und Parathormon-Therapie

Im Gegensatz zu antiresorptiven Wirkstoffen, die den Knochenumbau reduzieren, stimuliert PTH zunächst die Knochenbildung und erhöht später den Knochenumbau.

Knochenformationsmarker steigen innerhalb eines Monats an, während sich Knochenresorptionsmarker innerhalb von 6 Monaten erhöhen.

In einer neueren Studie [10] wurde an Osteoporose erkrankten Patienten unter Langzeit-Alendronat Therapie auch rekombinantes humanes PTH (1-34) verabreicht. Die tägliche PTH-Behandlung induzierte einen Zuwachs der spinalen BMD von 6,1 %. Ein Anstieg der Knochenurnovermarker von > 30 % nach 3 Monaten entsprach

einem prognostischen Wert von mehr als 73 % für eine Erhöhung der spinalen BMD um mindestens 3 %. Nach über 15 Monate Therapie hatten sich die BAP-Werte mehr als verdoppelt (+116 %, siehe Abbildung). Der Knochenresorptionsmarker NTX stieg langsamer und in geringerem Ausmaß an.

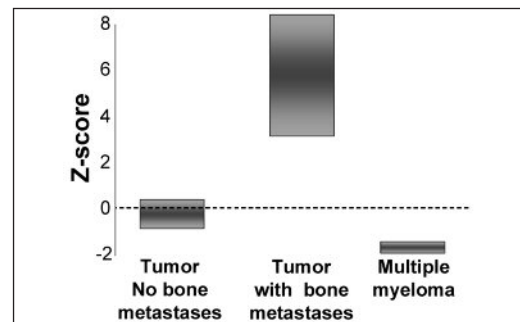


4.2.14 BAP-Messung bei Tumorpatienten

BAP kann zwischen Tumorpatienten mit und ohne Knochenmetastasen differenzieren.

Die BAP-Konzentrationen von insgesamt 39 Tumorpatienten wurden in einer von Withold et al. durchgeführten Studie untersucht [27]. Bei Patienten mit Knochenmetastasen (15) waren die BAP-Konzentrationen im Vergleich zur geschlechtsentsprechenden Referenzgruppe (Z-Score: 7,3) stark erhöht, während sich bei Tumorpatienten ohne Knochenmetastasen die BAP-Spiegel nicht signifikant von denen der Referenzgruppe unterschieden (Z-Score: -0,3).

Patienten mit multipltem Myelom zeigten merklich verminderte BAP-Werte (Z-Score: -1,5). (Z-Scores wurden gemäß der Formel $(x_i - M)/SD$ berechnet. x_i ist der Wert eines einzelnen Patienten, M steht für den Mittelwert Referenzgruppe und SD für die Standardabweichung der Referenzgruppe.)



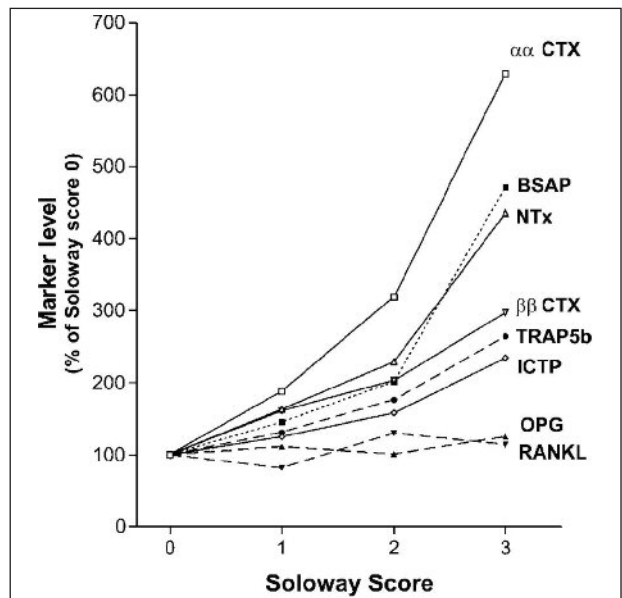
Prostatakarzinom: BAP ist nützlich für das Monitoring von Patienten mit Knochenmetastasen.

In einer retrospektiven Studie [34] über die Wechselbeziehung der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase (BAP) im Serum und dem prostataspezifischen Antigen (PSA) bei 156 Patienten mit Prostatakarzinom M0 und M1 erwies sich die BAP-Bestimmung als eine empfindlichere und spezifischere Methode zur Messung der Osteoblastenaktivität als die Gesamt-AP (TAP). Ein erhöhter BAP-Wert wurde bei 86,4 % der M1-Erkrankungen nach Diagnosestellung vor einer Therapie beobachtet. Die BAP-Veränderung war konkordant mit PSA in 69 % von 49 Fällen mit M1-Erkrankung.

Brust-, Prostata- und Lungenkarzinom: BAP ist nützlich für die Erkennung von Knochenmetastasen.

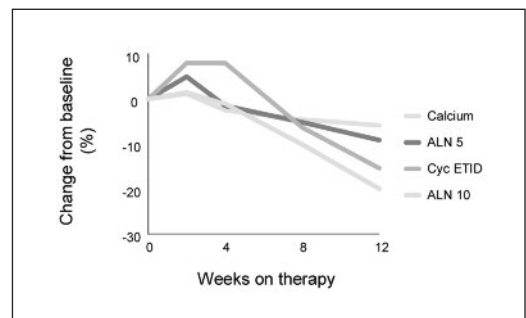
Eine neue Studie von Leeming et al. [39] untersuchte den relativen Nutzen biochemischer Knochenmarker zur Erkennung von Knochenmetastasen bei Krebsformen, die sich häufig im Skelett ausbreiten. Teilnehmer waren 161 Patienten mit Brust-, Prostata- oder Lungenkrebs. Erfolgt die Angabe der Sensitivität als der prozentuale Anstieg des Markerwerts im Verhältnis zu Patienten ohne Knochenmetastasen (Soloway Score 0), zeigte CTX die größten relativen Anstiege in jedem Stadium der metastatischen Erkrankung.

Der Knochenformationsmarker BAP erwies sich als der beste Indikator für die Präsenz von Knochenmetastasen bei Prostatakarzinompatienten.



4.2.15 BAP und Wachstumshormontherapie

Elmlinger et al. [25] zeigten, dass Patienten mit Erkrankungen wie Wachstumshormonmangel, idiopathischem Minderwuchs und Ullrich-Turner-Syndrom signifikant verminderte BAP- und PICP/CICP-Serumkonzentrationen vor einer Wachstumshormontherapie aufwiesen. Die Knochenparameter erhöhten sich bis zu Normalkonzentrationen nach 12 Monaten Wachstumshormontherapie. Daraus lässt sich ableiten, dass BAP und PICP wirksame Parameter zur Effizienzkontrolle der Wachstumshormontherapie darstellen. Walmsley et al. [26] beobachteten erhöhte BAP-Konzentrationen nach dreimonatiger Wachstumshormontherapie bei erwachsenen Patienten mit Hypopituitarismus. In dieser frühen Behandlungsphase wurde keine Veränderung der Knochenmineraldichte festgestellt.



4.2.16 BAP bei urämischen Patienten

Chronisches Nierenversagen wird oft mit Knochenerkrankungen wie etwa sekundärem Hyperparathyreoidismus, Aluminium induzierten Knochenerkrankungen mit erniedrigtem Knochenumsatz, Osteomalazie, adynamischer Osteopathie, Osteoporose und skelettalen beta-2-Mikroglobulin-Amyloidablagerungen assoziiert.

Urena et al. [29] überprüften eingehend den diagnostischen Wert von Serummarkern für den Knochenmetabolismus bei Patienten mit chronischem Nierenversagen. Die Untersuchung umfasste BAP, Prokollagen-I-carboxyterminales Propeptid (PICP), carboxyterminales Telopeptid des Typ-I-Kollagens (ICTP), Pyridinolin (PYD), Osteocalcin und tartratresistente saure Phosphatase (TRAP5b).

Die meisten Beobachtungen mehrerer Arbeitsgruppen legen den Schluss nahe, dass Serum-BAP einer der empfindlichsten und spezifischsten Marker zur Evaluierung des Grades der Knochenremodellierung bei urämischen Patienten ist.

4.2.17 BAP ist empfindlicher als Gesamt-AP bei primärem Hyperparathyreoidismus

Gesamt-AP (TAP) ist nicht empfindlich genug bei primärem Hyperparathyreoidismus, insbesondere bei asymptomatischen Fällen. Im Gegensatz dazu sind die BAP-Konzentrationen sowohl bei symptomatischem als auch asymptomatischem primärem Hyperparathyreoidismus signifikant erhöht [48].

4.2.18 BAP ist bei sekundärem Hyperparathyreoidismus erhöht

BAP wird nicht über die Niere abgebaut. Dennoch sind bei sekundärem Hyperparathyreoidismus, der durch chronisches Nierenversagen hervorgerufen wird, die BAP-Konzentrationen bis zum Dreifachen erhöht. Darüber hinaus stehen die BAP- und Parathormonkonzentrationen in Korrelation [31]. BAP ist daher ein nutzbringender Marker für den Knochenumsatz bei sekundärem Hyperparathyreoidismus, der durch chronisches Nierenversagen verursacht wird. Dies ist von besonderer Relevanz bei Dialyse-Patienten.

4.2.19 BAP ist bei der Paget-Krankheit erhöht

Bei Patienten mit Paget-Krankheit können die BAP-Konzentrationen bis zum 16-fachen im Vergleich zu den Werten vor der Erkrankung erhöht sein [31]. In einer von Deftos et al. durchgeführten Studie wurde nachgewiesen, dass BAP im Serum von Patienten mit Paget-Krankheit erhöht war. Vergleiche mit Gesamt-AP und Osteocalcin-Messungen deckten auf, dass BAP mit Gesamt-AP ($r = 0,92$) besser korrelierte als mit Osteocalcin ($r = 0,51$); die Korrelation zwischen Osteocalcin und Gesamt-AP lag bei nur ($r = 0,26$). Bei Patienten mit Lebererkrankung zeigte BAP keine Abweichung gegenüber Gesunden, während Gesamt-AP erhöht war [31, 32].

Die BAP-Bestimmung wird von der Deutschen Gesellschaft für Endokrinologie zur Diagnose der Paget-Krankheit empfohlen [33].

4.2.20 BAP-Bestimmung bei Patienten mit schwerer Lebererkrankung

Aufgrund der Kreuzreaktion des BAP-Antikörpers mit dem Leberisoenzym (6–8 %) können die gemessenen BAP-Konzentrationen im Falle einer schweren Lebererkrankung (z. B. bei Leberkarzinom oder Leberzirrhose, wenn die leberspezifische alkalische Phosphatase stark erhöht ist, siehe auch Abb. 2d) [35] fälschlicherweise erhöht sein. Dies kann auch bei Gallengangkrebs der Fall sein. Um den Knochenumsatz in diesen klinischen Situationen zu beurteilen (Gesamt-AP-Konzentrationen über 270 U/L), wird empfohlen, die Osteocalcin-Spiegel zu bestimmen [31].

4.3 BAP-Referenzdaten

Der Quidel® BAP Immunoassay ermöglicht die quantitative Messung der Aktivität der knochenspezifischen alkalischen Phosphatase (BAP) im Serum als ein Indikator der osteoblastischen Aktivität.

Die Messung der BAP dient zur Unterstützung

- des Managements der postmenopausalen Osteoporose und der Paget-Krankheit
- des Monitorings postmenopausaler Frauen unter Hormon- oder Bisphosphonattherapie
- der Prognose der skelettalen Reaktion auf Hormontherapien bei postmenopausalen Frauen

Die Referenzdaten für den Quidel® BAP EIA wurden auf der Basis der Daten von sorgfältig ausgewählten Probanden erstellt. Altersbezogene BAP-Werte für prä- und postmenopausale Frauen [46] werden in Abb. 1 dargestellt. Die Verteilung der BAP-Werte in beiden Gruppen [28] geht aus Abb. 2 hervor. Im Allgemeinen wiesen Frauen der postmenopausalen Gruppe im Verhältnis zu ihren normalen prämenopausalen Pendanten höhere BAP-Konzentrationen auf.

Abb. 1. BAP-Werte bei prä- und postmenopausalen Frauen

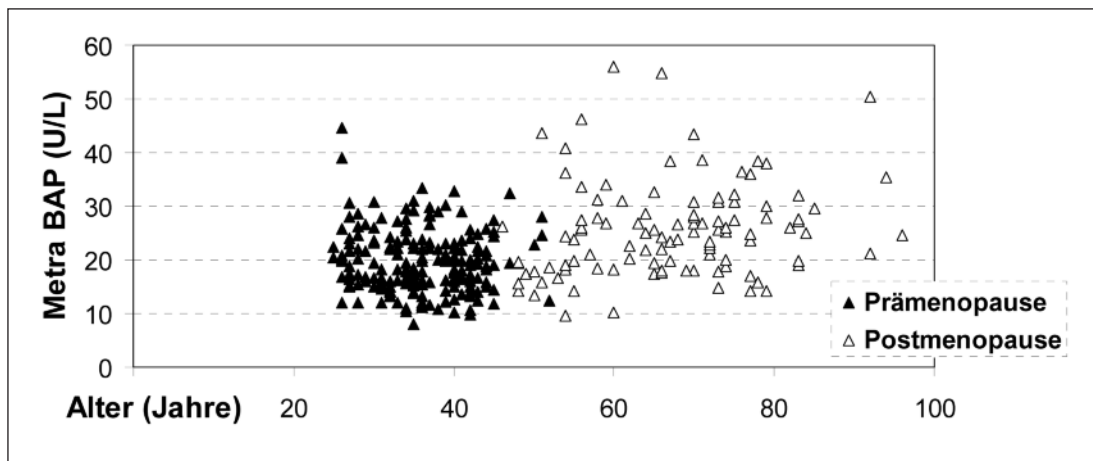
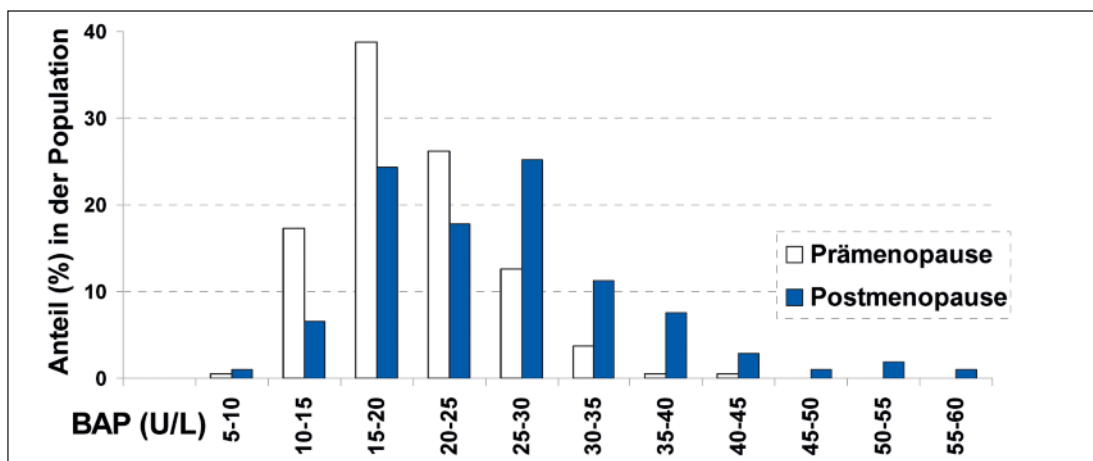


Abb. 2. Verteilung der BAP-Konzentrationen bei prä- und postmenopausalen Frauen



N			
178	Frauen (Alter: 25–44 Jahre)	prämenopausal	11,6–29,6 U/L
107	Frauen (Alter: ≥ 45 Jahre)	postmenopausal	14,2–42,7 U/L
178	Männer (Alter: ≥ 25 Jahre)	N/A	15,0–41,3 U/L

Tabelle 1. Referenzbereiche für BAP (nicht-parametrisch, 90 %-Konfidenzintervalle).

4.3.1 BAP-Referenzbereichsdaten bei prämenopausalen Frauen

Die Daten der Referenzbereiche für den Quidel® BAP EIA wurden auf der Basis der Daten von sorgfältig ausgewählten Probandinnen ohne Knochen-, endokrine oder andere Störungen, die nachweislich den Knochenmetabolismus beeinflussen, erstellt. Wie bei anderen Knochenmarkern wurden Daten prämenopausaler Frauen für normale Vergleichszwecke erhoben. 191 Prämenopausale Frauen zwischen 25 und 44 Jahren, die den oben aufgeführten Kriterien entsprachen, wurden getestet; die Ergebnisse sind in Tabelle 1 und Abb. 3 dargestellt. Diesem Referenzbereich zufolge läge der **normale prämenopausale Cut-off-Wert für BAP bei 30 U/L oder 15 µg/L**. Bei Probandinnen am unteren und oberen Ende des Altersbereichs ist eine Erhöhung des BAP-Mittelwerts wie erwartet zu erkennen.

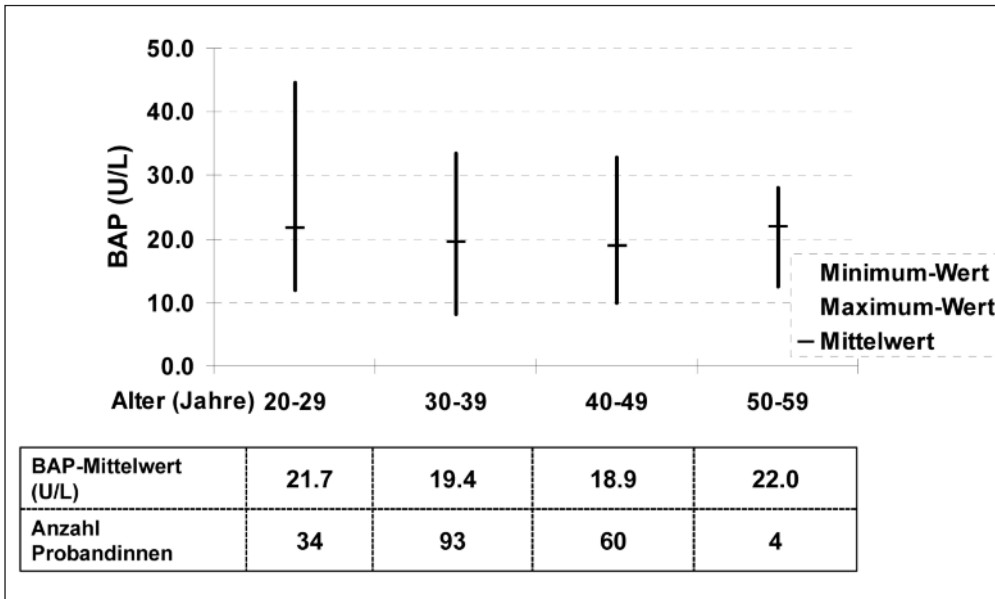


Abb. 3.
BAP-Werte bei prämenopausalen Frauen

4.3.2 BAP-Referenzbereichsdaten bei postmenopausalen Frauen

BAP wurde bei 107 postmenopausalen Frauen zwischen 44 und 88 Jahren gemessen; die Ergebnisse sind in Tabelle 1 und Abb. 4 dargestellt. Die BAP-Mittelwerte waren wesentlich höher, was verglichen mit normalen prämenopausalen Kontrollen auf eine verstärkte Knochenremodellierung in dieser Altersgruppe schließen lässt (siehe Abb. 1 und 2).

Jedoch lässt eine einzelne BAP-Messung, unabhängig davon, ob ein Wert innerhalb oder oberhalb des prämenopausalen Referenzbereichs liegt, nicht notwendigerweise auf das Vorliegen oder Nichtvorliegen einer Osteoporose bei postmenopausalen Frauen schließen. Osteoporose sollte immer in Verbindung mit Messungen der Knochenmineraldichte (BMD) diagnostiziert werden.

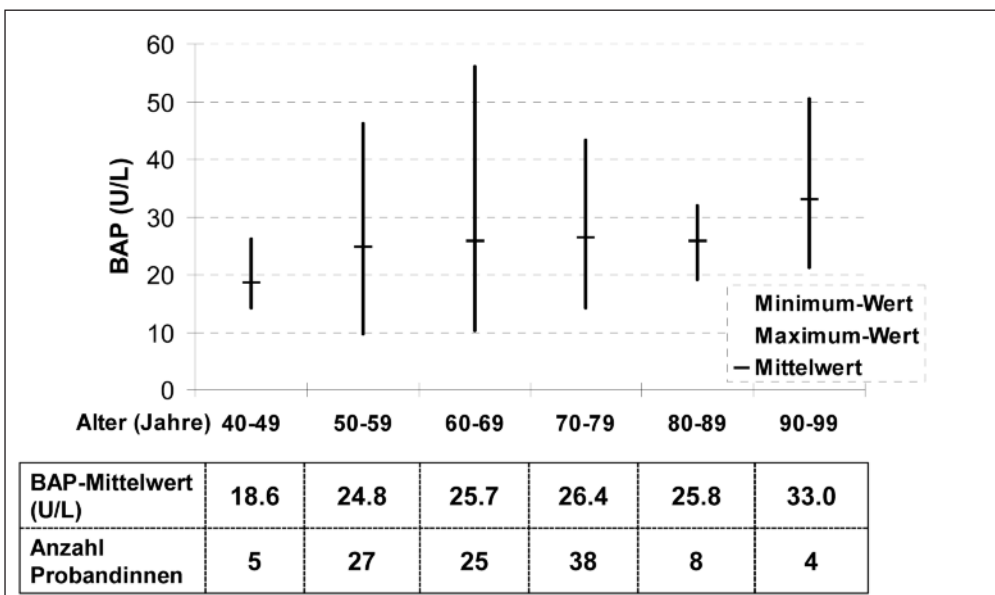


Abb. 4.
BAP-Werte bei postmenopausalen Frauen

4.3.3 BAP bei postmenopausalen Frauen mit Osteoporose unter Hormonersatz- oder Bisphosphonattherapie

Postmenopausale Frauen mit diagnostizierter Osteoporose können mit Hormonersatz- (HRT) oder Bisphosphonattherapie behandelt werden. Um Therapie-Responder und Non-Responder zu identifizieren, hat die International Osteoporosis Foundation [47] folgende Empfehlung formuliert:

Um eine 90 %ige Spezifität einer positiven BMD-Reaktion (+3 %) vorherzusagen, sollte sich der BAP-Wert eines einzelnen Patienten ausgehend vom BAP-Ausgangswert um 20 bis 40 % vermindern (siehe Abb. 5) [17]. Um die Therapieeffizienz zu kontrollieren, sollte BAP in regelmäßigen Abständen gemessen werden.

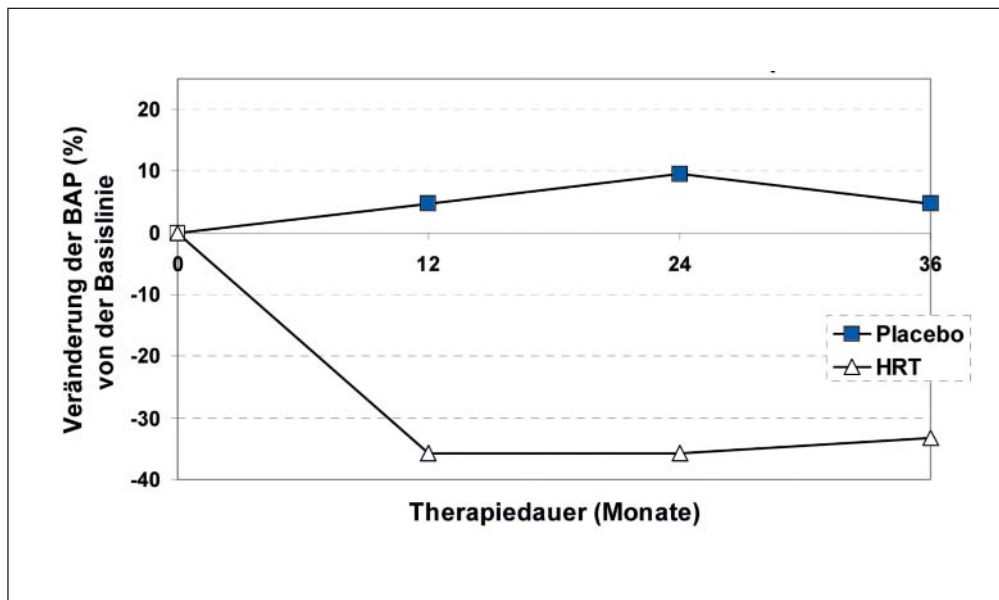


Abb. 5. BAP-Reaktion bei postmenopausalen Frauen unter Hormonersatztherapie

4.3.4 BAP-Referenzdaten bei Männern

BAP wurde bei 126 Männern zwischen 25 und 91 Jahren gemessen; die Ergebnisse sind in Tabelle 1 und Abb. 6 dargestellt. Bei Männern weisen die BAP-Werte mit zunehmendem Alter geringere Veränderungen auf als bei Frauen und sie sind im Allgemeinen etwas höher als die der prämenopausalen weiblichen Kontrollpersonen.

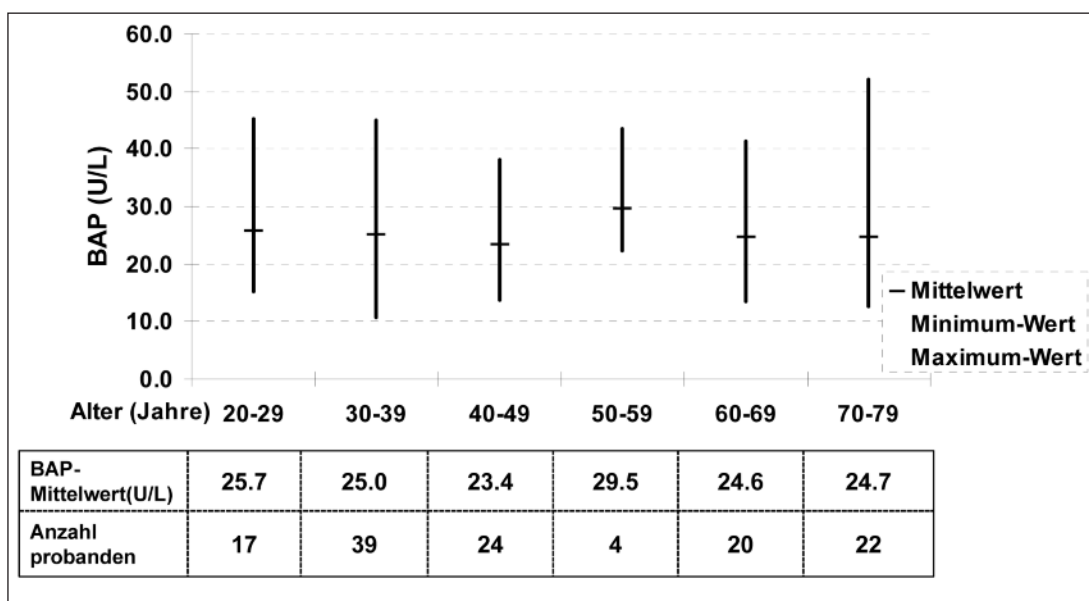


Abb. 6. BAP Werte bei Männern

4.3.5 BAP-Referenzdaten bei Kindern

Wie bei anderen Knochenmarkern liegen die Werte für BAP bei Kinder über denen von normalen prämenopausalen Kontrollpersonen.

Kinder, weiblich		
N	Alter	Bereich U/L ± SD
20	0–2	122 ± 19
43	3–8	106 ± 16
37	9–12	112 ± 16
10	13–17	39 ± 23

Kinder, männlich		
N	Alter	Bereich U/L ± SD
20	0–2	104 ± 21
50	3–9	94 ± 17
41	10–14	114 ± 21
9	15–18	59 ± 19

Kinder, Tanner Stage						
	N	Tanner I U/L ± SD	N	Tanner II & III U/L ± SD	N	Tanner IV & V U/L ± SD
Männlich	30	95 ± 22	18	114 ± 35	10	121 ± 37
Weiblich	26	84 ± 23	19	113 ± 43	14	79 ± 46

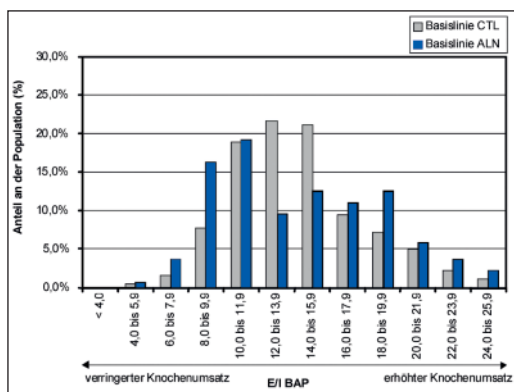
4.4 Pathologische BAP-Werte

Erkrankung	BAP-Konzentrationen im Vergleich zur normalen Referenzgruppe	Kommentar
Osteoporose	↑	Median 18 U/L (25.-75. Perzentile: 16-22 U/L) [24]
Primärer Hyperparathyreoidismus	↑	NA
Paget-Krankheit	↑	Median 91 U/L (25.-75. Perzentile: 45-217 U/L) [24]
Osteomalazie	↑	Median 65 U/L [30]
Knochenmetastasen	↑	Z-Score-Wert liegt bei 7,3 + 1,9 (SD) [29]
Wachstumshormonmangel	↓	Mehrheit unter 50. Perzentil der normalen Altersgruppe, Mehrheit der Mädchen mit Ullrich-Turner-Syndrom liegt unter 5. Perzentil [27]
Rheumatoide Arthritis bei postmenopausalen Frauen	↓	Vermindert im Vergleich zu normalen postmenopausalen Frauen
Nierentransplantation	↑	Erhöhte Werte innerhalb von 3 Monaten nach Transplantation
Therapie	BAP-Konzentrationen im Vergleich zur Referenzgruppe vor Therapie	Kommentar
Hormonersatz	↓	
Bisphosphonate	↓	
PTH-Analoga	↑	Bei postmenopausalen Frauen mit Glukokortikoid induzierter Osteoporose [23]
Wachstumshormon	↑	Im Vergleich zu niedrigen Konzentrationen vor Beginn der Wachstumshormontherapie [27]
Strontiumranelat	↑	

5 Klinische Validierungsstudien des Quidel® BAP Assays

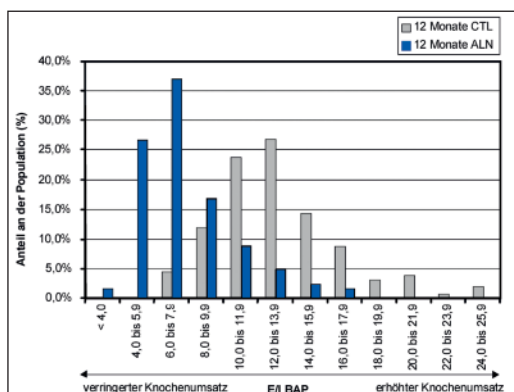
Klinische Studien. Überwachung der Wirksamkeit antiresorptiver Therapien bei Osteoporose mit dem Quidel® BAP Assay

Zur Bestimmung der Zuverlässigkeit und Wirksamkeit des Quidel® BAP Assays bei der Überwachung von Änderungen der BAP-Konzentrationen in Serum, die bei antiresorptiven Bisphosphonat-(Alendronat)-Therapien auftreten, wurde eine randomisierte, kontrollierte Multizenterstudie durchgeführt. Die Probanden, die von einer größeren Studie über die Wirksamkeit von Alendronat bei der Behandlung von Osteoporose stammten [7], waren postmenopausale Frauen im Alter zwischen 45 und 84 Jahren (Mittel 64 ± 7 Jahre), bei denen Osteoporose diagnostiziert wurde (beruhend auf der klinischen oder Basislinien-Knochenmineraldichte der Lendenwirbelsäule [LSBMD], über 2,5 Standardabweichungen unter dem Mittelwert für reife, prämenopausale Frauen). Die geeigneten Probanden wurden an der Basislinie randomisiert und erhielten entweder 10 mg Alendronat und 500 mg Kalzium täglich (ALN) oder ein Placebo und 500 mg Kalzium täglich (CTL). Die Serumproben wurden von allen Probanden an der Basislinie sowie nach 3, 6 und 12 Monaten entnommen. Die mittlere (± 1 SD) BAP-Basislinienkonzentration ($14,6 \pm 5,4$ vs. $14,6 \pm 4,6$, $p = 0,900$) und LSBMD ($0,74 \pm 0,10$ vs. $0,75 \pm 0,09$, $p = 0,751$) waren vergleichbar für ALN und CTL. In der folgenden Abbildung ist die Verteilung der BAP-Basislinienwerte in der ALN- und CTL-Gruppe als prozentualer Anteil der Studienpopulation dargestellt.



Verteilung der BAP-Werte (Basislinie)

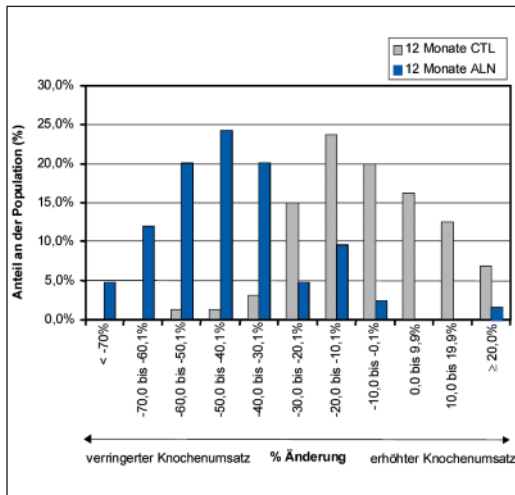
Nach 3 ($9,6 \pm 3,5$ vs. $13,4 \pm 4,0$, $p < 0,00001$), 6 ($8,0 \pm 3,0$ vs. $13,2 \pm 3,8$, $p < 0,00001$) und 12 Monaten ($7,8 \pm 2,6$ vs. $13,3 \pm 3,9$, $p < 0,00001$) waren die BAP-Werte in der ALN-Gruppe im Vergleich zur CTL-Gruppe signifikant niedriger. In der folgenden Abbildung sind die Verteilungen der BAP-Werte in der ALN- und CTL-Gruppe nach 12 Monaten dargestellt.



Verteilung der BAP-Werte nach 12 Monaten Therapie mit Alendronat (ALN) oder Kalzium (CTL)

Die mittlere (± 1 SD) BAP-Konzentration nahm nach 12 Monaten in den Probanden der CTL-Gruppe von der Basislinie leicht zu $-5,4$ % ($\pm 19,1$ %) ab ($p = 0,00004$), was sich u. a. auf die beschränkte knochenerhaltende Wirkung des Kalziums zurückführen lässt [13]. Die mittleren BAP-Konzentrationen nahmen in den Probanden der ALN-Gruppe nach 3 Monaten um $30,5 \pm 24,6$ %, nach 6 Monaten um $42,8 \pm 17,3$ % und nach 12 Monaten um $42,2 \pm 19,2$ % ab. Bei den Probanden der ALN-Gruppe traten im Vergleich zur CTL-Gruppe mit einer höheren Wahrscheinlichkeit BAP-Abnahmen auf, die über einer prozentualen Mindeständerung [14] lagen (ALN: 68,5 %, 83,9 % und 86,1 %; CTL: 9,5 %, 15,9 % und 9,0 %; Abnahme um ≥ 25 % nach 3, 6 und 12 Monaten).

In der Abbildung sind die Verteilungen der prozentualen BAP-Änderungen von der Basislinie in der ALN- und CTL-Gruppe nach 12 Monaten dargestellt.



Verteilung der prozentualen BAP-Änderungen nach 12 Monaten Therapie mit Alendronat (ALN) oder Kalzium (CTL)

Wie in der folgenden Abbildung dargestellt, trat bei den Probanden der ALN-Gruppe im Vergleich zur CTL-Gruppe nach 12 Monaten eine LSBMD-Zunahme auf ($p < 0,00001$).

LSBMD-Änderungen (Mittelwert \pm SA)

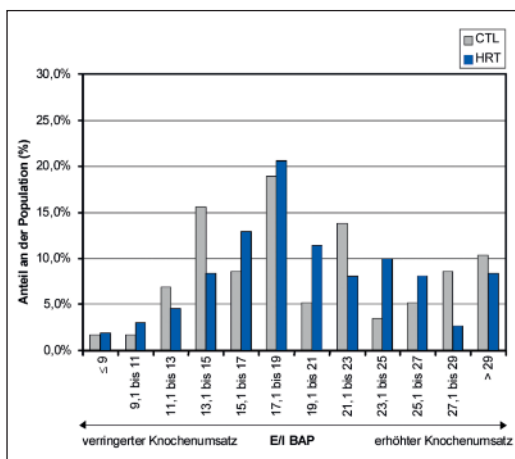
	N	Basislinie (g/cm ²)	12 Monate (g/cm ²)	Δ (%)
CTL	159	0,75 \pm 0,09	0,74 \pm 0,09	-0,6 \pm 3,4
ALN	121	0,74 \pm 0,10	0,79 \pm 0,10	5,5 \pm 4,1

Diese Ergebnisse zeigen, dass der Quidel® BAP Assay zur Überwachung der anti-resorptiven Wirkung von Aminobisphosphonat-(Alendronat-)-Therapien bei Probanden mit diagnostizierter Osteoporose zuverlässig und wirksam ist.

Überwachung anti-resorptiver Hormontherapien und Prognose der skelettalen Reaktion (Knochenmineraldichte) bei postmenopausalen Frauen mit Hilfe des Quidel® BAP Assays

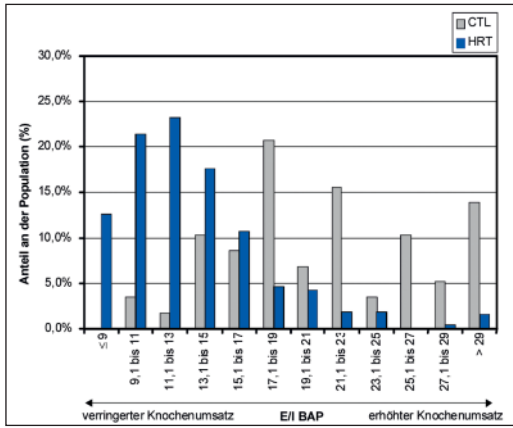
Überwachung der Therapie:

Zur Bestimmung der Zuverlässigkeit und Wirksamkeit des Quidel® BAP Assays für die Überwachung von Änderungen der BAP-Konzentrationen in Serum, die bei anti-resorptiven Östrogen-/Progesterin-Therapien auftreten, wurde eine randomisierte, kontrollierte Multizenterstudie durchgeführt. Ein postmenopausaler Östrogenmangel geht häufig mit einem erhöhten Knochenumsatz und einem signifikanten Knochenschwund einher. Es wurde gezeigt, dass durch eine Östrogensatztherapie der Knochenumsatz wirksam gesenkt und die vorhandene Knochenmasse geschützt werden kann [3, 6]. Bei den Probanden handelte es sich um postmenopausale Frauen im Alter zwischen 45 und 64 Jahren (Mittelwert 56 ± 4 Jahre) mit natürlicher oder chirurgischer Menopause in den letzten 10 Jahren. Die geeigneten Probanden wurden an der Basislinie randomisiert und entweder einer aktiven Behandlungsgruppe (HRT) (Premarin® [0,625 mg täglich] mit Plazebo-Progesterin, Premarin® [0,625 mg täglich] und aktivem Progesterin [Provera® 2,5 mg/Tag und kontinuierlich, Provera® 10 mg/Tag zyklisch oder mikronisiertes Progesteron 200 mg/Tag zyklisch] oder der Kontrollgruppe (CTL) (Plazebo-Östrogen und Plazebo-Progesterin) zugewiesen. Die Serumproben wurden von allen Probanden an der Basislinie und nach 12 Monaten entnommen. Die mittlere (± 1 SD) BAP-Basislinienkonzentration ($20,7 \pm 7,6$ vs. $20,3 \pm 6,8$ E/L, $p = 0,704$) und LSBMD ($0,97 \pm 0,17$ vs. $0,97 \pm 0,15$ g/cm², $p = 0,970$) waren in der HRT- und CTL-Gruppe ähnlich. In der folgenden Abbildung ist die Verteilung der BAP-Basislinienwerte in der HRT- und CTL-Gruppe als prozentualer Anteil der Studienpopulation dargestellt.



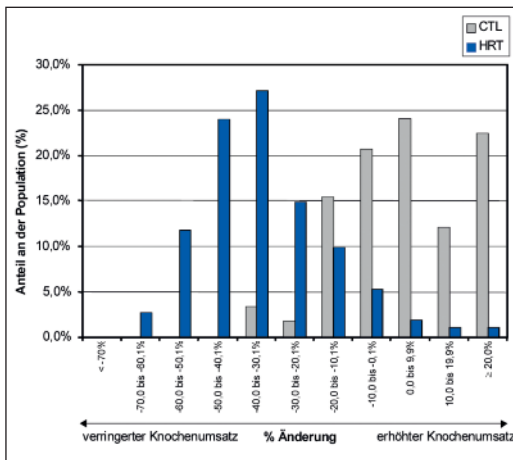
Verteilung der BAP-Werte (Basislinie)

Die BAP-Werte waren in der HRT-Gruppe nach 12 Monaten signifikant niedriger als in der CTL-Gruppe ($13,3 \pm 5,0$ vs. $21,9 \pm 7,9$ E/L, $p < 0,00001$). In der folgenden Abbildung sind die Verteilungen der BAP-Werte in der HRT- und CTL-Gruppe nach 12 Monaten dargestellt.



Verteilung der BAP-Werte nach 12 Monaten Therapie mit Östrogen/Progesteron (HRT) oder Placebo (CTL)

Die mittlere (± 1 SA) BAP-Konzentration nahm in den Probanden der CTL-Gruppe nach 12 Monaten von der Basislinie etwas auf +9,8 % ($\pm 33,2$ % zu ($p=0,00004$), wogegen die BAP-Konzentrationen in den Probanden der HRT-Gruppe im gleichen Zeitraum von der Basislinie auf -32,4 ($\pm 21,5$ %) abnahm ($p < 0,00001$). Bei den Probanden der HRT-Gruppe traten im Vergleich zur CTL-Gruppe mit einer höheren Wahrscheinlichkeit BAP-Abnahmen auf, die über einer prozentualen Mindeständerung [12] lagen (73,3 % in der HRT-Gruppe und 3,4 % in der CTL-Gruppe, Abnahme um ≥ 25 % nach 12 Monaten). In der folgenden Abbildung sind die Verteilungen der prozentualen BAP-Änderungen von der Basislinie in der HRT- und CTL-Gruppe nach 12 Monaten dargestellt.



Verteilung der prozentualen BAP-Änderungen nach 12 Monaten Therapie mit Östrogen/Progesteron (HRT) oder Placebo (CTL)

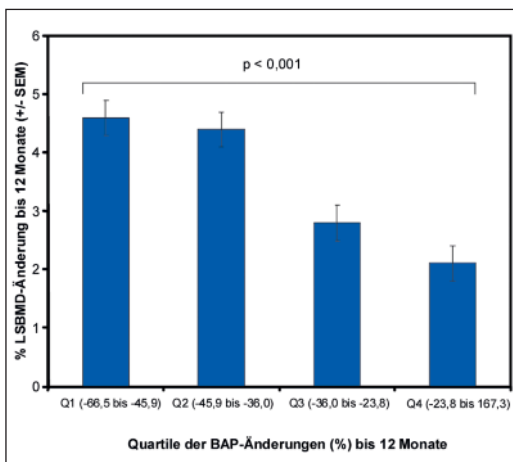
Wie in der folgenden Abbildung dargestellt, trat bei den Probanden der HRT-Gruppe im Vergleich zur CTL-Gruppe nach 12 Monaten eine LSBMD-Zunahme auf ($p < 0,00001$).

	N	Basislinie (g/cm ²)	12 Monate (g/cm ²)	Δ (%)
CTL	58	0,97 \pm 0,17	0,95 \pm 0,16	-1,6 \pm 2,8
HRT	262	0,97 \pm 0,15	1,00 \pm 0,15	3,5 \pm 2,8

Diese Ergebnisse zeigen, dass der Quidel® BAP Assay zur Überwachung der antiresorptiven Wirkung von Hormonersatztherapien bei postmenopausalen Frauen zuverlässig und wirksam ist.

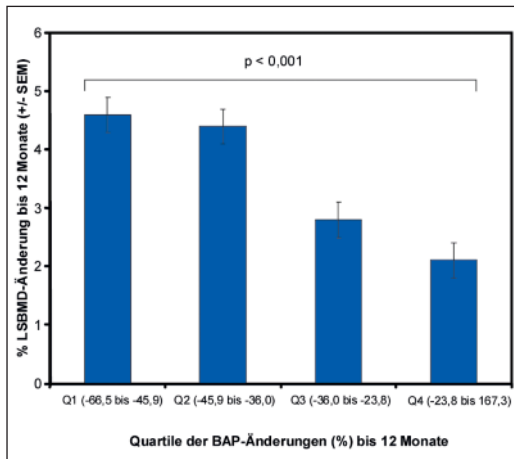
Prognose der skelettalen Reaktion:

Die prozentuale Abnahme der BAP-Werte von der Basislinie zum 12-Monate-Zeitpunkt ist in der folgenden Abbildung nach Quartil für die HRT-Gruppe dargestellt. Die Probanden im höchsten Quartil (Q1: größte prozentuale Abnahme) zeigten den größten LSBMD-Anstieg als Reaktion auf die HRT-Therapie.



HRT-Gruppe – prozentuale BAP-Änderung nach 12 Monaten nach Quartil und die entsprechende prozentuale LSBMD-Änderung über den gleichen Zeitraum

Die lineare Regression ($y = -0,060x + 0,011$, $r = -0,51$, $p < 0,001$) zwischen der prozentualen BAP-Änderung von der Basislinie bis zum 12-Monate-Zeitpunkt und der prozentualen BMD-Änderung von der Basislinie bis zum 12-Monate-Zeitpunkt ist für alle Probanden der Studie (Placebo und Behandlung) in der folgenden Abbildung dargestellt.



HRT-Studie – lineare Regression der prozentualen LSBMD- und BAP-Änderungen von der Basislinie bis zum 12-Monate-Zeitpunkt

Eine auf Kontingenz-Tabellen beruhende Analyse hat gezeigt, dass zwischen einer BAP-Abnahme $\geq 25\%$ nach 12 Monaten und einer positiven skelettalen Reaktion auf HRT (BMD-Zunahme) über den gleichen Zeitraum ein signifikanter ($p < 0,0001$) Zusammenhang besteht. Die binomialen (Approximation 2. Ordnung) 85%-Konfidenzintervalle für die Sensitivität und Spezifität einer 25 %igen BAP-Abnahme lauten zum Prognostizieren der Reaktion auf HRT wie folgt: Sensitivität = 77 % (95 % KI 75 %, 82 %); Spezifität = 61 % (95 % KI 41 %, 78 %). Diese Ergebnisse zeigen,

dass die skelettale Reaktion (BMD) auf die HRT-Behandlung anhand der prozentualen Änderung der BAP-Konzentration prognostiziert werden kann.

Literaturverweise zu Teil 5

- [1] Price CP.
Multiple forms of human serum alkaline phosphatase: detection and quantitation.
Ann.Clin.Biochem. 1993;30:355-372.
- [2] Whyte MP.
Hypophosphatasia and the role of alkaline phosphatase in-skeletal mineralization.
Endocr.Rev. 1994;15:439-461.
- [3] Riggs BL.
Overview of osteoporosis.
West.J.Med. 1991;154:63-77.
- [4] Garnero P, Delmas PD.
Clinical usefulness of markers of bone remodeling in osteoporosis.
In: Meunier PJ (ed.). Osteoporosis: Diagnosis and management. London: Martin Dunitz, 1998:79-101.
- [5] Singer FR, Roodman GD.
Paget's disease of bone.
In: Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA (ed.). Principles of bone biology. San Diego: Academic Press, 1996:969-977.
- [6] Consensus Development Statement.
Who are candidates for prevention and treatment for osteoporosis?
Osteoporos.Int. 1997;7:1-6.
- [7] Liberman UA, Weiss SR, Bröll J, et al.
Effect of oral alendronate on bone mineral density and the incidence of fractures in postmenopausal osteoporosis.
N.Engl.J.Med. 1995;333:1437-1443.
- [8] Price CP, Thompson PW.
The role of biochemical tests in the screening and monitoring of osteoporosis.
Ann.Clin.Biochem. 1995;32:244-260.
- [9] Meunier PJ, Vignot E. ^
Therapeutic strategy in Paget's disease of bone.
Bone 1995; 17(Suppl.):489S-491S.
- [10] Gomez B, Jr., Ardakani S, Ju J, et al.
Monoclonal antibody assay for measuring bone-specific alkaline phosphatase activity in serum.
Clin.Chem. 1995;41:1560-1566.
- [11] Pedrazzoni M, Alfano FS, Girasole G, et al.
Clinical observations with a new specific assay for bone alkaline phosphatase: A cross-sectional study in osteoporotic and pagetic subjects and a longitudinal evaluation of the response to ovariectomy, estrogens, and bisphosphonates.
Calcif.Tissue Int. 1996;59:334-338.
- [12] Garnero P, Shih WJ, Gineyts E, Karpf DB, Delmas PD.
Comparison of new biochemical markers of bone turnover in late postmenopausal osteoporotic women in response to alendronate treatment.
J.Clin.Endocrinol.Metab. 1994;79:1693-1700.
- [13] Reid IR, Ames RW, Evans MC, Gamble GD, Sharpe SJ.
Long-term effects of calcium supplementation on bone loss and fractures in postmenopausal women: A randomized controlled trial.
Am.J.Med. 1995;98:331-335.
- [14] Fraser CG.
Data on biological variation: essential prerequisites for introducing new procedures? [Editorial]
Clin.Chem. 1994;40:1671-1673.
- [15] Centers for Disease Control.
Recommendations for prevention of HIV transmission in health-care settings.
MMWR 1987;36 (suppl no. 2S):001.

6 Spezielle Anwendungen des Quidel® BAP Assays

6.1 Verwendung von BAP mit Zellkulturüberstand

Empfehlung: ein Kulturmedium mit folgenden Komponenten:

- **DMEM oder äquivalentes handelsübliches Medium**
- **Fetales Rinder- oder Kalbsserum**
- **L-Glutamin oder Ascorbat**
- **Antibiotikum**

Die Zellen können in einem serumhaltigen Medium gezüchtet werden, BAP muss jedoch aus serumfreiem Gewebekulturüberstand entnommen werden, da der Antikörper diesen Analyt auch im Serum detektiert. Komplexbildner wie EDTA sollten im Medium nicht verwendet werden, da Komplexbildner das BAP-Enzym inhibieren. Schafs- und humane Zellen können für diesen Zweck verwendet werden, jedoch keine Mauszellen, da der Antikörper mit dieser Spezies nicht kreuzreagiert. Die knochenspezifische alkalische Phosphatase ist membrangebunden und muss in der Kultur aus Zellysat wie nachfolgend beschrieben gemessen werden [30]:

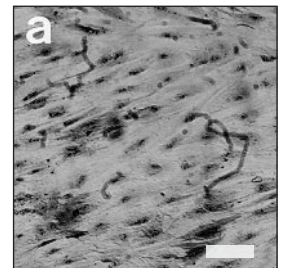
Nach der Inkubation werden die Zellschichten zweimal mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und durch abschaben mit einem Gummispatel in TMN-Puffer geerntet (20 mM Tris-HCL, pH 7,4; 2 mM MgCl₂; 150 mM NaCl). Die Zellenanzahl kann mit einem Coulter Counter (Modell F) bestimmt werden, danach werden die Zellen durch die Zugabe von Triton X-100 in eine Endkonzentration von 1 % aufgelöst. Die Proben werden bei 70.000 g 60 Minuten lang zentrifugiert. Aliquote des Überstands auf BAP testen.

6.2 Verwendung des monoklonalen BAP-Antikörpers bei der Western-Blotting-Methode, FACS-Sortierung und der immunzytochemischen Färbung von Osteoblasten

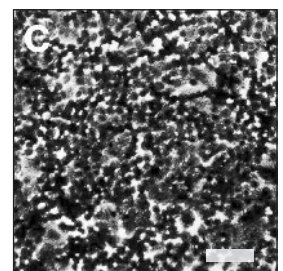
Der monoklonale BAP-Antikörper des Quidel® BAP Assays kann für verschiedene Forschungsmethoden wie Western Blotting, FACS (Fluorescence Activated Cell Sorter) und immunzytochemische und histochemische Färbung von knochenspezifischer alkalischer Phosphatase in Osteoblasten verwendet werden.

Enzymhistochemische Ergebnisse für knochenspezifische alkalische Phosphatase in sub-konfluenten primären humanen Osteoblasten (a) und HOS 58 Osteosarkomzellen (c).

Die Daten wurden freundlicherweise zur Verfügung gestellt von: Privatdozentin Frau Dr. med. Heide Siggelkow, Fachärztin für Innere Medizin/Endokrinologie, Universitätsklinik Göttingen.

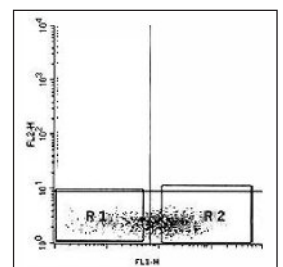


100-fache Vergrößerung
(Balken = 12 µm).



FACS-Sortierung und -Analyse.

Subpopulationen von humanen osteoblastischen Zellkulturen wurden mit Hilfe der FACS-Sortierung isoliert. Die Reinheit der Fraktionen wurden durch die FACS-Analyse überprüft. Die Färbung wurde unter Verwendung des monoklonalen BAP-Antikörpers von Quidel®/Quidel durchgeführt. Intakte Zellen der Startpopulation wurden in einem Dot-Plot sichtbar gemacht (R1: BAP-negativ, R2: BAP-positiv).



6.3 BAP-Messung bei Tierspezies

Der BAP Assay zeigt Kreuzreaktion bei folgenden Tierspezies:

- Rind
- Katze
- Hund
- Pferd
- Ziege
- Schwein
- Makake
- Kaninchen
- Schaf

BAP bei Katzen - Serum	
< 2 Jahre	10–70 U/L
> 2 Jahre	2–15 U/L

BAP bei Hunden ²¹ - Serum	
< 1 Jahr	56,3 (± 9,8) U/L
1–2 Jahre	10,7 (± 4,5) U/L
2–3 Jahre	7,0 (± 2,5) U/L
3–7 Jahre	6,7 (± 3,6) U/L
> 8 Jahre	7,0 (± 2,9) U/L

BAP bei Ziegen	
Serum	12 (± 4) U/L

BAP bei Schafen	
Serum	13 (± 4) U/L

BAP bei Pferden	
Serum	12,2–25,5 U/L
Plasma	12,6–22,7 U/L

7 Technische Zusammenfassung zum Quidel® BAP Assay



(BAP) knochenspezifische alkalische Phosphatase

Für die In-Vitro-Diagnostik

ELISA

CE/FDA

Enzymaktivität der gebundenen BAP wird gemessen

Katalognummer	8012	96 Tests
Bereich	2 –140 U/L resp. 1 – 70 µl	
Sensitivität	0,7 U/L	
Inkubationszeit	3,5 Stunden	
Probenvolumen	20 µl	
Pipettierschritte	2	
Probentyp	Heparin-Plasma, Serum, Zellkultur	
Probenvorbehandlung	Plasmaproben sollten nicht mit EDTA oder Zitrat behandelt werden. Probenlagerung für maximal 5 Tage bei 2–8 °C. Bei längerer Lagerung sollten die Proben bei -20 °C oder tiefer eingefroren werden.	
Kreuzreaktion	Minimale Kreuzreaktion (6–8 %) mit leberspezifischeralkalischer Phosphatase	

8 Messung der BAP in Proteinmasse (µg/L) und Enzymaktivität (U/L)

Die knochenspezifische alkalische Phosphatase (BAP) ist ein Marker für die osteoblastische Aktivität in vitro. Zur Bestimmung der BAP werden typischerweise zwei Methoden verwendet – die Messung der Proteinmasse oder der Enzymaktivität.

Enzymaktivität

Die BAP wird an einen monoklonalen Antikörper gebunden, der spezifisch für die im Knochen vorkommende Isoform ist. Andere Formen der alkalischen Phosphatase (z.B. Leber etc.) werden ausgewaschen. Die Aktivität der alkalischen Phosphatase wird anhand einer chromogenen chemischen Reaktion (Farbänderung) gemessen. Bei dem Quidel® BAP Assay werden die Ergebnisse direkt über diese Farbänderung bestimmt und als Einheiten pro Liter (U/L) angegeben.

Referenzwerte	Alter	Bereich U/L	Median
prämenopausal	25–44	11,6–29,6	18,3
postmenopausal	≥ 45	14,2–42,7	25,0
Männer	≥ 25	15,0–41,3	23,2

nicht-parametrisch, 90 %-Konfidenzintervalle

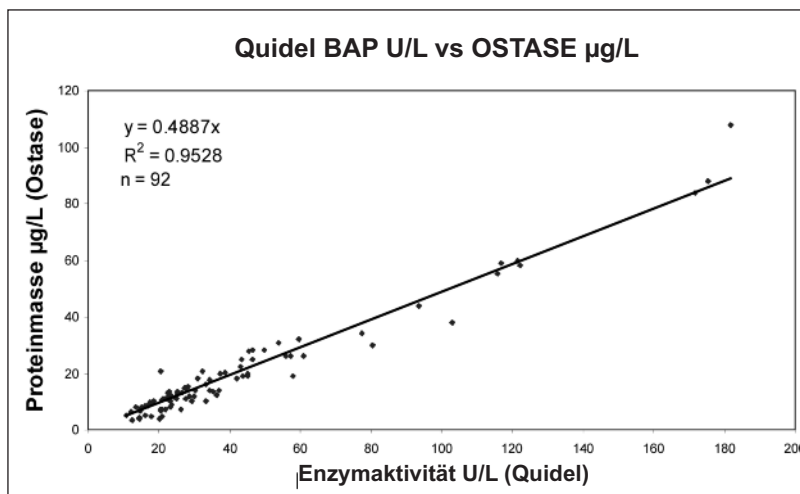
Proteinmasse

Bei der IRMA-Methode wird das Enzymmolekül BAP direkt mit Hilfe von zwei monoklonalen Antikörpern (Sandwich-Assay), die zwei verschiedene Epitope erkennen, gemessen; die Angabe der Ergebnisse erfolgt in Masseinheiten (µg/L).

Referenzwerte	Mittelwert µg/L	S.D.	Median µg/L	95. Perzentil µg/L
prämenopausal	8,7	2,9	8,5	14,3
postmenopausal	13,2	4,7	12,5	22,4
Männer	12,3	4,3	11,6	20,1

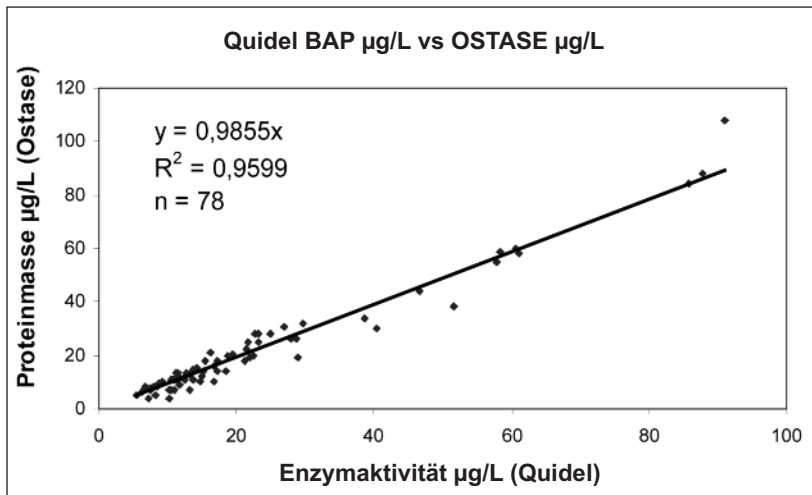
Korrelation der Enzymaktivität und Proteinmasse, angegeben in U/L und µg/L

Um die Korrelation zwischen den beiden Methoden (Bestimmung von Masse und Enzymaktivität) zu ermitteln, wurden Serumproben mit beiden Assays in verschiedenen unabhängigen Referenzzentren gemessen. In allen Fällen zeigten die Proben eine sehr gute Korrelation zwischen beiden Assays über den dynamischen Bereich der zwei Methoden.



Korrelation der Proteinmasse und Enzymaktivität, angegeben in µg/L

Die Messungen der BAP, die auf der Basis der Proteinmasse und der Enzymaktivität erfolgten, angegeben für beide Methoden in µg/L, weisen eine ausgezeichnete Korrelation auf.



Referenzwerte des Quidel BAP in U/L und µg/L

Weiblich

N	Alter	Bereich U/L ± 2SD	Bereich µg/L ± 2SD
20	0–2	84–160	42–80
43	3–8	74–128	37–69
37	9–12	80–144	40–72
10	13–17	16–85	8–42,5
15	18–24	13–22,6	6,5–16,3
178	25–44 prämenopausal	11,6–29,6	5,8–14,8
107	≥ 45 postmenopausal	14,2–42,6	7,1–21,3

Männlich

N	Alter	Bereich U/L ± 2SD	Bereich µg/L ± 2SD
20	0–2	62–146	31,0–73,0
50	3–9	60–128	30,0–64,0
41	10–14	72–156	36,0–78,0
9	15–18	21–97	10,5–48,5
15	19–24	18–51,6	9–25,8
178	≥ 25	15–41,2	7,5–20,6

Kinder, Tanner Stage

	N	Tanner I		N	Tanner II und III		N	Tanner IV und V	
		U/L ± SD	µg/L ± SD		U/L ± SD	µg/L ± SD		U/L ± SD	µg/L ± SD
m	30	95 ± 22	47,5 ± 11,0	18	114 ± 35	57,0 ± 17,5	10	121 ± 37	60,5 ± 18,5
w	26	84 ± 23	42,0 ± 11,5	19	113 ± 43	56,5 ± 21,5	14	79 ± 46	39,5 ± 23,0

8.1 Certificate of Analysis / Analysezertifikat / Certificat d'analyse

METRA® BAP Kit

Ref. 8012

LOT 904151 Exp. 2008-10

Refer to Product Insert for further information.

Weitere Informationen hierzu finden Sie in der Packungsbeilage des Produkts.

Se référer à la Notice produit pour plus d'information.

Standard Curve / Eichkurve / Courbe étalon		
BAP (U/L)	BAP µg/L	A ₄₀₅
0	0	0,131
2	1	0,163
20	10	0,365
50	25	0,730
80	40	1,238
140	70	2,103

BAP Control				
	Mean, U/L	Range, U/L	Mean, µg/L	Range, µg/L
L	15,2	11,5–18,9	7,6	5,75–9,45
H	64,9	49,4–80,5	33,6	24,7–40,25

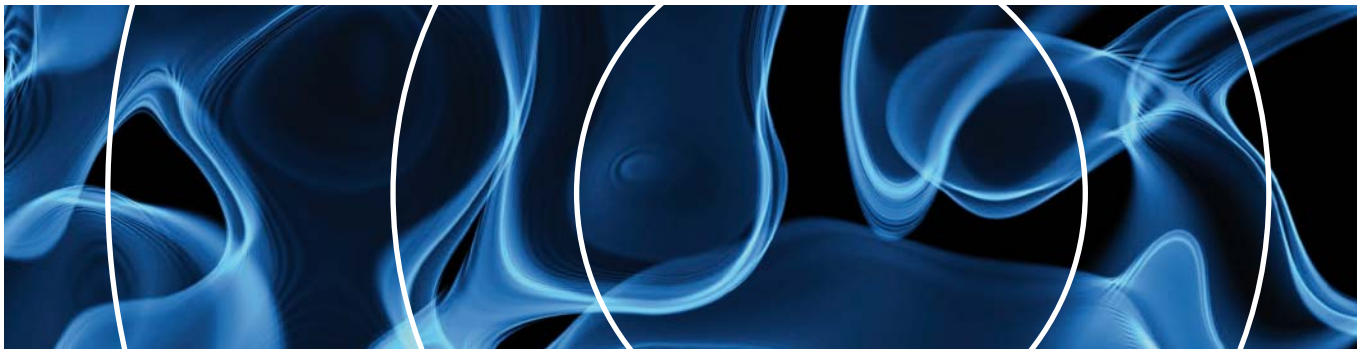
	ITEM	LOT	EXP
1	4660	903935	2008-11
2	4702	903653	2010-01
3	4703	903654	2010-02
4	4403	903932	2008-10
5	4404	903933	2008-10
6	0012	056K-8258	2009-06
A	4395	903924	2008-10
B	4396	903925	2008-10
C	4397	903926	2008-10
D	4398	903927	2008-10
E	4399	904145	2008-12
F	4400	904146	2008-12
L	4401	903930	2008-10
H	4402	903931	2008-10

9 Literaturverweise

- [1] Brubaker KL.
Effects of estrogen-only treatment in postmenopausal women.
JAMA. 2004 Aug 11; 292(6):686.
- [2] Hanna K, Wong J, Patterson C, O'Neill S, Lyons-Wall P.
Phytoestrogen intake, excretion and markers of bone health in Australian women.
Asia Pac J Clin Nutr. 2004; 13(Suppl): S74
- [3] Vatanparast H, Whiting SJ.
Early milk intake, later bone health: results from using the milk history questionnaire.
Nutr Rev. 2004 Jun; 62(6 Pt 1): 256-60.
- [4] Newmark HL, Heaney RP, Lachance PA.
Should calcium and vitamin D be added to the current enrichment program for cereal-grain products?
Am J Clin Nutr. 2004 Aug; 80(2):264-70.
- [5] Fontana A, Delmas PD.
Selective estrogen receptors modulators in the prevention and treatment of postmenopausal osteoporosis.
Endocrinol Metab Clin North Am. 2003 Mar; 32(1): 219-32.
- [6] Mehta NM, Malootian A, Gilligan JP.
Calcitonin for osteoporosis and bone pain.
Curr Pharm Des. 2003; 9(32):2659-76.
- [7] Zaidi M, Inzerillo AM, Moonga BS, Bevis PJ, Huang CL.
Forty years of calcitonin – where are we now? A tribute to the work of Iain Macintyre.
Bone. 2002 May; 30(5):655-63.
- [8] Ringe JD, Schacht E.
Prevention and therapy of osteoporosis: the roles of plain vitamin D and alfacalcidol.
Rheumatol Int. 2004 Jul; 24(4):189-97.
- [9] Gallagher JC.
The effects of calcitriol on falls and fractures and physical performance tests.
J Steroid Biochem Mol Biol. 2004 May; 89-90(1-5):497-501.
- [10] Cosman F, Nieves J, Zion M, Woelfert L, Luckey M, Lindsay R.
Daily and cyclic parathyroid hormone in women receiving alendronate.
NEJM 2005; 353(6):566-75.
- [11] O'Halloran DJ, Tsatsoulis A, Whitehouse RW et al.
Increased Bone Density after Growth Hormone (HGH) Therapy in Adults with Isolated HGH Deficiency.
J Clin Endo Metab 1993; 76:1344-48.
- [12] Saggese G, Baroncelli GI, Bertelloni S, Cinquanta L, Di Nero G.
Effects of long-term treatment with growth hormone on bone and mineral metabolism in children with growth hormone deficiency.
J. Pediatr. 1993; 122:37-45
- [13] Meunier PJ, Roux C, Seeman E, Ortolani S, Badurski JE, Spector TD, Cannata J, Balogh A, Lemmel EM, Pors-Nielsen S, Rizzoli R, Genant HK, Reginster JY.
The effects of strontium ranelate on the risk of vertebral fracture in women with postmenopausal osteoporosis.
N Engl J Med. 2004 Jan 29; 350(5):459-68.
- [14] Caulfield MP, Reitz RE.
Biochemical markers of bone turnover and their utility in osteoporosis.
MLO-online April 2004.
- [15] Pedrazzoni M, Alfano FS, Girasole G, et al.
Clinical observations with a new specific assay for bone alkaline phosphatase: A cross-sectional study in osteoporotic and pagetic subjects and longitudinal evaluation of the response to ovariectomy, estrogens, and bisphosphonates.
Calcif. Tissue Int. 1996;59:334-8.)
- [16] Ross PD, Knowlton W.
Rapid bone loss is associated with increased levels of biochemical markers.
J Bone Miner Res 1998; 13:297-302
- [17] Data on file, Quidel Biosystems; source: Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions (PEPI) trial.
- [18] Data on file, Quidel Biosystems; source: Merck Research Laboratories.
- [19] Bettica P, Bevilacqua M, Vago T, et al.
Short-term variations in bone remodeling biochemical markers: cyclical etidronate and alendronate effects compared.
J Clin Endocrinol Metab 1997; 82:3034-9

- [20] Tsai et al.
Bone Alkaline Phosphatase Isoenzyme and Carboxy-Terminal Propeptide of Type-I Pro-collagen in Healthy Chinese Girls and Boys.
Clinical Chemistry 45, No. 1, 1999.
- [21] Allen, LC et al.
A comparison of two techniques for the determination of serum bone-specific alkaline phosphatase activity in dogs.
Research in Vet. Sci. 2000, 68, 231-235.
- [22] Lane NE, Sanchez S, Genant HK, Jenkins DK, Arnaud CD.
Short-term increases in bone turnover markers predict parathyroid hormone-induced spinal bone mineral density gains in postmenopausal women with glucocorticoid-induced osteoporosis.
Osteoporos Int. 2000; 11(5):434-42.
- [23] Blumsohn A, Naylor KE, Assiri AMA, Eastell R.
Effect of etidronate therapy on bone turnover and bone density in mild Paget's disease.
Bone 1995; 17:608
- [24] Takahashi S, Koizumi M, Aiba K, Horikoshi N, Ogata E.
Efficacy of biochemical markers of bone metabolism to detect and follow bone metastases of breast cancer.
J Bone Miner Res 1996; 11(suppl.): S482 (abst.).
- [25] Elmlinger MW, Ackermann S, Wolfman HA, Heitz M, Ösme A, Ranke MB.
Significance of bone specific alkaline phosphatase and procollagen-I-peptide as diagnostic markers of bone formation for monitoring growth hormone therapy.
German society for endocrinology „Congress on Calcium Regulating Hormones and Bone Metabolism” Giessen, Germany September 29-30 1995 (abst.)
- [26] Walmsley T, Florkowski CM, George PM et al.
Effect of growth hormone on biochemical parameters of bone turnover and bone density in adult hypopituitarism: a six month cross-over trial.
XVI International congress of Clinical Chemistry, London UK, July 12-18 1996 (abst.)
- [27] Withold W, Schulte U and Reinauer H.
Method for determination of bone alkaline phosphatase activity: analytical performance and clinical usefulness in patients with metabolic and malignant bone diseases.
Clinical Chemistry 1996, 42:210-217
- [28] Gomez B Jr, Ardakani S, Ju J, Jenkins D, Cerelli MJ, Daniloff GY, Kung VT.
Monoclonal antibody assay for measuring bone-specific alkaline phosphatase activity in serum.
Clin Chem. 1995, 41(11):1560-6.
- [29] Urena P, De Vernejoul MC.
Circulating biochemical markers of bone remodeling in uremic patients.
Kidney Int. 1999, 55(6):2141-56.
- [30] Kaspar D, Seidl W, Neidlinger-Wilke C, Ignatius A, Claes L.
Dynamic cell stretching increases human osteoblast proliferation and C1CP synthesis but decreases osteocalcin synthesis and alkaline phosphatase activity.
J Biomech. 2000, 33(1):45-51.
- [31] Garnero P, Delmas PD.
Assessment of the serum levels of Bone Alkaline Phosphatase with a new immunoradiometric assay in patients with metabolic bone disease.
1993 J. Clin. End. and Met. 77, 1046-1053
- [32] Deftos LJ, Wolfert RL, Hill CS.
Bone Alkaline phosphatase in Paget's disease.
1991 Horm. Metab. Res. 23, 559-561
- [33] Ziegler et al.
Rationelle Diagnostik in der Endokrinologie.
Thieme Verlag. 1993, 100-102
- [34] Cooper EH et al.
Bone Alkaline Phosphatase and Prostate Specific Antigen in the monitoring of prostate cancer.
The Prostate. 1994, 25, 236-242
- [35] Seibel JM et al.
Einfluss nicht ossärer Systemerkrankungen auf biochemische Marker des Knochenstoffwechsels.
1994. Klin. Lab. 40, 371-375
- [36] Correlation data on file, Quidel Biosystems.
- [37] Tobiume H, Kanzaki S, Hida S, Ono T, Moriwake T, Yamauchi S, Tanaka H, Seino Y.T
Serum bone alkaline phosphatase isoenzyme levels in normal children and children with growth hormone (GH) deficiency: a potential marker for bone formation and response to GH therapy.
J Clin Endocrinol Metab. 1997; 82(7):2056-61

- [38] Iki M, Akiba T, Matsumoto T, Nishino H, Kagamimori S, Kagawa Y, Yoneshima H
Reference database of biochemical markers of bone turnover for the Japanese female population. Japanese Population-based Osteoporosis (JPOS) Study.
 Osteoporos Int. 2004; 15(12):981-91
- [39] Leeming DJ, Koizumi M, Byrjalsen I, Li B, Qvist P, Tanko LB.
The relative use of eight collagenous and noncollagenous markers for diagnosis of skeletal metastases in breast, prostate, or lung cancer patients.
 Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2006; 15(1):32-8.
- [40] Ringe JD
Strontiumranelat, neues ostoporose-therapeutikum mit dualem Wirkungsprinzip.
 Arzneimitteltherapie 2005; (23):147-152
- [41] Shalini T. Reddy, Chia-Ying Wang, Khashayar Sakhaee, Linda Brinkley, and Charles Y.C. Pak
Effect of Low-Carbohydrate High-Protein Diets on Acid-Base Balance, Stone-Forming Propensity, and Calcium Metabolism.
 American Journal of Kidney Diseases 2002 (40): 265.
- [42] Ginty F, Flynn A, Cashman K
The effect of dietary sodium intake on biochemical markers of bone metabolism in young women
 British Journal of Nutrition 1998 (79): 343-350.
- [43] Dobnig H, Hofbauer LC, Viereck V, Obermayer-Pietsch B, Fahrleitner-Pammer A.
Changes in the RANK ligand/osteoprotegerin system are correlated to changes in bone mineral density in bisphosphonate-treated osteoporotic patients
 Osteoporos Int. 2006 (25): 1-11.
- [44] Buxton EC, Yao W, Lane NE.
Changes in serum receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand, osteoprotegerin, and interleukin-6 levels in patients with glucocorticoid-induced osteoporosis treated with human parathyroid hormone (1-34).
 J Clin Endocrinol Metab. 2004 89(7):3332.
- [45] Sokoll LJ, Kroll MH, Levine MA, Poordad FF, Chan DW.
Bone to total alkaline phosphatase ratios improve sensitivity and specificity of bone alkaline phosphatase immunoassays.
 Clin Biochem. 1997 30(8):625-9
- [46] Shepard K, Jenkins D.
Bone-specific alkaline phosphatase truly reflects increased bone turnover in postmenopausal women.
 Bone 1997; 20(4,Suppl.):54S.
- [47] Delmas PD, Eastell R, Garnero P, Seibel MJ, Stephan J
The use of biochemical markers of bone turnover in osteoporosis.
 Osteoporos Int. 2000;11 Suppl 6:S2-17.
- [48] Woitge HW, Seibel MJ and Ziegler R
Comparison of total and bone-specific alkaline phosphatase in patients with nonskeletal disorder or metabolic bone diseases
 Clinical Chemistry 1996 42: 1796-1804.



The Specialist for Biochemical Markers

For further information please contact: / Für weitere Informationen wenden Sie sich bitte an: / Pour plus d'informations, vous pouvez contacter:

Exclusive Strategic Partnership in Europe:



TECOmedical Group

Headquarters
Switzerland/International

TECOmedical AG

Gewerbestrasse 10
4450 Sissach
Switzerland

phone +41 (0) 61 985 81 00

fax +41 (0) 61 985 81 09

mail info@tecomedical.com

web www.tecomedical.com



• Certified Management
Systems
• EN ISO 9001
• EN ISO 13485

Germany

TECOmedical GmbH

Wasserbreite
32257 Bünde
Germany

phone +49 (0) 52 23 985 99 99

fax +49 (0) 52 23 985 99 98

mail info@tecomedical.com

web www.tecomedical.com

France

TECOmedical SARL

20 rue du Bois Chaland
91090 Lisses
France

phone 0800 100 437

fax 0800 100 480

mail chdu@tecomedical.com

web www.tecomedical.com

Benelux

TECOmedical NL

't Hazeveld 34
3862 XB Nijkerk
The Netherlands

phone +31 (0) 33 4951 473

fax +31 (0) 33 4951 635

mail sbk@tecomedical.com

web www.tecomedical.com