

Kemik Metastazlarının Saptanmasında Alkalen Fosfataz Kemik İzoenziminin Değeri ve Kemik Sintigrafisi İle Karşılaştırılması

THE VALUE OF SKELETAL ALKALINE PHOSPHATASE ISOENZYME IN THE DIAGNOSIS OF BONE METASTASES AND COMPARISON WITH BONE SCINTIGRAPHY

Hülya ORTAPAMUK*, Ali ARSLAN**, Seniha NALDÖKEN*, Ayşegül DOĞRAR***, Hulki GENÇ**, Mustafa ESEN**

* Uz.Dr., Ankara Numune Hastanesi Nükleer Tıp Bölümü

** Uz.Dr., Ankara Numune Hastanesi Dahiliye Kliniği

*** Uz.Dr., Ankara Numune Hastanesi Biyokimya Bölümü, ANKARA

Özet

Amaç: Kemik sintigrafisi kemik metastazlarının saptanmasında majör rolü oynamaktadır. Çeşitli kemik hastalıklarında kemik metabolizmasını yansıtan yeni biyokimyasal testlerin klinikte kullanımına ait araştırmalar sürmektedir. Bu çalışmada kemik metastazlarının tanısında kemik metabolizma belirleyicilerinin rolü kemik sintigrafisi ile karşılaştırmalı olarak araştırılmıştır.

Materyal-Method: Yeni kanser tanısı almış 40 hastada kemik sintigrafisi, total alkalen fosfataz ve kemik alkalen fosfataz izoenzim değerleri çalışılmıştır.

Bulgular: Kemik metastazlarının sintigrafik olarak gösterildiği tüm hastalarda total alkalen fosfataz ve kemik alkalen fosfataz izoenzim değerleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Kemik alkalen fosfataz iskelet sisteminin genel durumu hakkında ek bilgiler sağlayıcı olup yeni kanser tanısı almış hastalarda değerli bir yöntem olarak kullanılabilir.

Sonuç: Kemik metastazı düşünülen hastalarda kemik sintigrafisi ile kombine olarak kemik alkalen fosfataz izoenzim düzeyinin tayini kemik metastazlarının erken dönemde saptanmasında avantaj sağlayabilir görünmektedir. Ancak biz bu testlerin tümü ile kemik sintigrafisinin yerini alabileceğini düşünmemekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Kemik alkalen fosfataz izoenzimi, Kemik sintigrafisi, Kemik metastazları

T Klin Tıp Bilimleri 2001, 21:180-185

Summary

Purpose: Bone scintigraphy plays a major role in the diagnosis of bone metastases. The clinical utility of new biochemical markers of bone metabolism has recently been investigated in various bone diseases. This study evaluated the role of skeletal alkaline phosphatase that is one of the bone metabolism markers in comparison with bone scan in the diagnosis of bone metastases in cancer patients.

Material-Methods: Forty patients with newly diagnosed cancer were included in the study. Bone scanning and serum value of total alkaline phosphatase and skeletal alkaline phosphatase were obtained in all patients.

Results: In all patients who had bone metastases proven by scintigraphy had also significantly elevated total alkaline phosphatase and bone alkaline phosphatase values. We showed that skeletal alkaline phosphatase could become a useful marker in the evaluation of patients with newly diagnosed cancers as it seems to provide additional information about the skeletal status of these patients.

Conclusion: We thought that, when skeletal metastases are of concern in cancer patients, both bone scintigraphy and measurement of bone alkaline phosphatase seems to be advantageous for recognizing metastatic bone disease earlier. But, according to our findings, we believe that serum levels of the investigated markers cannot replace bone scintigraphy in cancer patients for the early detection of bone metastases.

Key Words: Skeletal alkaline phosphatase, Bone scintigraphy, Bone metastases

T Klin J Med Sci 2001, 21:180-185

Geliş Tarihi: 26.07.2000

Yazışma adresi: Dr.Hülya ORTAPAMUK
Ankara Numune Hastanesi
Nükleer Tıp Bölümü
ANKARA

Kanser ölüme yol açan nedenler arasında koroner arter hastalıklarını takiben ikinci sırada yer almaktadır. Primer hastalığın erken tanısı kadar metastazların erken dönemde saptanması, uygun tedavinin seçiminde ve tedavinin başarısında önemlidir. En sık metastazın olduğu sistemler-

den birisi iskelet sistemidir. İskelet metastazları sıklıkla yaşamı tehdit eden komplikasyonlarla beraberdir ve morbiditeyi artırıcı yönde etki ederler.

Kemik sintigrafisi, radyolojik tetkikler ve laboratuvar metodları kemik metastazlarının tayininde kullanılmaktadır. Ancak bu tetkiklerin duyarlılık ve özgüllüğünü etkileyen limitasyonlar mevcuttur.

Kemik sintigrafisi kemik metastazlarının tayininde önemli rol oynamaktadır (1). Kemik sintigrafisi yüksek sensitiviteye ve spesifiteye sahip olup, % 70'lere varan pozitif belirleyici değere ve % 99.8 negatif belirleyici değerlere sahiptir (2). Ancak dosimetri ve maliyetler asemptomatik hastaların takibinde tekrarlayan kemik sintigrafilerinin kullanımını kısıtlayabilir (3,4).

Konvansiyonel radyolojinin sensitivitesi düşük olup genellikle kemik sintigrafisi ile kombine olarak kullanılmaktadır (5). Laboratuvar testleri ise non-invazif, ucuz, kolay yapılabilir olup hasta tarafından rahat tolere edilirler. Çeşitli kemik hastalıklarında kemik metabolizmasındaki yeni biyokimyasal parametrelerin klinik kullanımına ait son yıllarda giderek artan sayıda araştırmalar dikkati çekmektedir (6-8).

Alkalen fosfataz (ALP) birçok doku tarafından sentezlenmektedir. Karaciğer (LALP) ve kemik (bALP) orijinli alkalen fosfataz; serum alkalen fosfataz düzeyinin büyük kısmını oluştururlar. bALP izoenzimi kemik dokusundaki osteoblastik aktiviteyi yansıtır ve serumda tayini kolaydır. Kemik metastazlarında artan osteoblastik aktivite sonucu serum total ALP (tALP) ve bALP izoenziminde artış beklenmektedir. Bu çalışmada yeni kanser tanısı almış, tedavi görmemiş olgularda kemik metastazlarının saptanmasında total ALP ve bALP izoenzim düzeylerinin değeri kemik sintigrafisi ile karşılaştırılmalı olarak değerlendirildi.

Method

Yeni tanı konmuş, radyoterapi ve/veya kemoterapi almamış yaşları 19-74 arasında değişen, 22 erkek ve 18 kadın hastadan oluşan toplam 40 kanser hastası çalışma grubuna dahil edildi.

Alkalen fosfataz düzeyleri için yaşları 25-70 arasında değişen 9 kadın ve 11 erkekten oluşan sağlıklı 20 birey kontrol grubu olarak kullanıldı.

Hastalara 20 mCi Tc-99m MDP'in intravenöz yolla verilmesinden 3 saat sonra tüm vücut kemik sintigrafisi yapıldı. Elscint SPX-6 gama kamera kullanılarak anterior ve posterior pozisyonlarda tüm vücut görüntüleri elde edildi. Gerekli görüldüğü takdirde ek spot görüntüler alındı. Sintigrafiler iki nükleer tıp uzmanı tarafından ayrı ayrı değerlendirildi. Uyumsuzluk gösteren olgular birlikte değerlendirilerek ortak bir sonuca varıldı. Sintigrafi sonuçlarına göre hastalar iki gruba ayrıldı:

Grup I: Sintigrafik olarak metastaz tesbit edilmeyen hastalar (non-metastatik grup),

Grup II: Sintigrafik olarak metastaz saptanan hastalar (metastatik grup)

Birinci gruptaki hastaların yaş sınırı 30-71 yıl olup bu grupta 10 erkek 10 kadın toplam 20 hasta yer almıştır. II. grupta yaş sınırları 19-74 yıl olup grup 12'si erkek 8'i kadın 20 hastadan oluşmuştur. Her iki gruptaki kanserlerin dağılımı tablo 1'de verilmiştir.

Alkalen fosfataz düzeylerinin ölçülmesi:

Hasta serumları 2500 rpm de 15 dakika santrifuj edildikten sonra çalışma zamanına kadar -20 derecede dondurularak saklandılar.

Total ALP ölçümü Olympus AU 800 otoanalizöründe Randox Alkaline Phosphatase kiti kullanılarak yapıldı.

ALP izoenzimlerinin fraksiyonlanması ise Beckman Paragon Isopal ALP izoenzim kiti ile Agaroz Jel Elektroferez tekniği kullanılarak yapıldı. Agaroz Jel plaklar tampon ile işleme sokulduktan sonra, hasta örnekleri aplike edilip 150 voltta 25 dakika yürütüldü. Substrat ile etkileştirilen plaklar Beckman Appraise Densitometer System yardımıyla 600-640 nm de okutularak izoenzim fraksiyonlarının kantitatif tayinleri yapıldı. Referans aralıkları tALP için 45-132U/L, bALP için 20-56 U/L (24-52 %) olarak alındı.

İstatistiksel Analiz: Elde edilen verilerin değerlendirilmesinde tek yönlü varyans analizi, Duncan testi, ki-kare ve Fisher exact testleri kullanıldı.

Bulgular

Kontrol grubu, non-metastatik ve metastatik gruplarda yaş ortalamaları sırası ile 49.2±12.1, 53.8±10.9 ve 49.95±15.3 yıldır; kontrol grubunun %55'i erkek, %45'i kadınlardan oluşmaktadır, non-metastatik grupta erkekler

Tablo 1. Metastatik ve non-metastatik gruplarda kanserlerin dağılımı

Kanser tipleri	Grup I (non-metastatik grup) n=20	Grup II (metastatik grup) n=20
Meme ca	7	4
Akciğer ca	5	4
Pankreas ca	1	-
Mide ca	1	1
Kolon ca	1	-
Rektum ca	1	1
Tiroid ca	1	-
Renal ca	1	1
Primeri bilinmeyen	-	4
Prostat ca	2	5

Tablo 2. Kontrol grubunda serum alkalen fosfataz değerleri

Hasta	tALP	bALP		LALP	
		%	U/L	%	U/L
1	112	49	54	51	58
2	80	40	32	60	48
3	91	35	31	65	60
4	104	42	44	58	60
5	65	47	31	53	34
6	78	38	30	62	48
7	113	45	51	55	62
8	91	50	45	50	46
9	85	48	41	52	44
10	82	42	35	58	47
11	129	49	63	51	66
12	91	41	37	59	54
13	102	40	41	60	61
14	78	46	36	54	42
15	94	46	43	54	51
16	91	40	36	60	54
17	103	40	41	60	62
18	115	40	46	60	69
19	96	42	40	58	56
20	104	34	36	66	68

tALP:total alkalen fosfotaz, bALP: kemik alkalen fosfotaz izoenzimi, LALP karaciğer alkalen fosfotaz izoenzimi.

grubun %50'sini oluşturmaktadır, metastatik grupta erkekler %60, kadınlar %40 oranında olup her üç grup arasında yaş ve cinsiyet dağılımı açısından istatistiksel olarak fark yoktur.

Tablo 2 ,3 ve 4 kontrol grubu ve hasta gruplarına ait serum tALP ve bALP kan değerleri verilmiştir. Kontrol grubunda serum tALP düzeyi ortalama değeri 95.20±15.35 U/L (65-129 U/L) iken, non-metastatik grupta (grup I) serum tALP değerleri 99.00±19.23 U/L (67-130 U/L) bulunmuştur. Her iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Kontrol grubunda bALP düzeyi 40.65±8.38 U/L (31-63 U/L) olup non-metastatik grupta bu değer 41.70±11.98 U/L (26-55 U/L)'dir ve her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Kontrol grubu tALP ve bALP değerleri ile metastatik gruba ait tALP ve bALP değerleri ile karşılaştırıldığında fark anlamlı bulunmuştur (p<0.001).

Non-metastatik ve metastatik gruplar karşılaştırıldığında: I.grupta tALP 99.00±19.23 U/L (67-130 U/L), grup II'de 426.40±251.38 U/L (153-1111 U/L) olup fark anlamlıdır (p<0.001). bALP I. grupta 41.70±11.98 U/L (26-55 U/L) ve II. grupta 247.95±128.28 U/L (101-540 U/L) dir,

Tablo 3. Metastaz saptanmayan grup I'e ait total alkalen fosfataz (tALP) ve kemik alkalen fosfataz izoenzimi (bALP)değerleri

Hasta	Malignite	tALP	bALP	
			%	U/L
1	Meme ca	70	26	18
2	Meme ca	104	42	44
3	Kolon ca	106	45	48
4	Meme ca	101	37	38
5	Mide ca	85	32	29
6	Pankreas ca	110	48	53
7	Akciğer ca	115	44	51
8	Meme ca	71	48	34
9	Akciğer ca	104	42	44
10	Meme ca	90	28	25
11	Meme ca	87	38	33
12	Prostat ca	67	42	28
13	Akciğer ca	130	49	64
14	Meme ca	109	30	33
15	Rektum ca	90	55	50
16	Tiroid ca	75	53	40
17	Akciğer ca	98	51	55
18	Akciğer ca	130	45	58
19	Renal ca	120	40	48
20	Prostat ca	118	35	41

Tablo 4. Metastaz saptanan II.grupta total alkalen fosfataz ve kemik alkalen fosfotaz izoenzim değerleri

Hasta	Malignite	tALP	bALP	
			%	U/L
1	Renal ca	227	56	127
2	Prostat ca	308	68	209
3	Primeri bilinmeyen	635	59	375
4	Prostat ca	730	74	540
5	Primeri bilinmeyen	745	63	469
6	Prostat ca	243	66	160
7	Mide ca	472	45	212
8	Rektum ca	542	53	287
9	Prostat ca	513	74	380
10	Akciğer ca	632	44	278
11	Akciğer ca	184	57	105
12	Akciğer ca	1111	35	378
13	Meme ca	191	89	170
14	Meme ca	429	76	326
15	Meme ca	435	60	261
16	Akciğer ca	350	49	172
17	Primeri bilinmeyen	153	78	19
18	Primeri bilinmeyen	272	66	180
19	Meme ca	187	59	110
20	Prostat ca	169	60	101

Tablo 5. Kontrol ve hasta gruplarının ortalama total alkalen fosfataz ve kemik alkalen fosfataz izoenzim değerleri

	tALP U/L	bALP U/L	bALP %
Kontrol n:20	95.20±15.35 (65-129)	40.65±8.38 (30-63)	42.70±4.61 (34-50)
Grup I n:20	99.00±19.23 (67-130) p>0.05	41.70±11.98 (18-64) p>0.05	41.60±8.15 (26-55) p>0.05
Grup II n:20	426.40±251.38 (153-1111) p<0.001	247.95±128.28 (101-504) p<0.001	61.50±13.11 (34-89) p<0.001

fark anlamlıdır. Tablo 5'de istatistiksel sonuçlar özetlenmiştir. tALP için cut-off değeri 130 U/L, bALP için 64 U/L olarak alınmıştır.

Kontrol grubunda total alkalen fosfataz düzeyine bALP'nin katkısı %43, non-metastatik grupta %42'dir. Metastatik grupta bu değer (%62) anlamlı olarak yüksek bulunmuştur.

Tartışma

Kemik metastazlarının saptanmasında kemik sintigrafisi en duyarlı yöntem olarak bilinmektedir (1,2). Sintigrafiye göre daha ucuz, daha az zaman alacak ve daha kolay elde edilebilir metodların arayışı ise yıllardır sürmektedir.

Alkalen fosfataz, molekül ağırlıkları 65.000 Dalton olan monomerlerden oluşan dimerik bir glikoproteindir ve alkalen pH'da organik fosfat esterlerinin hidrolizini katalize eder. Alkalen fosfataz enzimi hemen hemen tüm dokularda bulunmakla beraber en sık karaciğer parankim dokusunda, kemikte osteoblastlarda, intestinal epitelde, böbrek tubulus hücrelerinde ve plasentada bulunmaktadır. ALP endoplazmik retikulumda sentezlenerek, Golgi cisimciğinde glikozillenir ve hücre yüzeyine ulaşır. ALP'nin spesifik bir substratı yoktur. Hücreler arası fosfat transportunda görev alır, organik fosfat esterlerini hidrolize ederek inorganik fosfat iyonlarını meydana getirir. Enzimin biyolojik yarı ömrü 7 gündür. 18-60 yaşları arasında erkeklerde düzeyi daha yüksektir, 60 yaştan sonra her iki cinsten ALP düzeyinde artış gözlenir ve bu yaş grubunda kadınlardaki düzeyi erkeklerden daha yüksek olabilir. Kemik büyümesinin çok hızlı olduğu 18 yaş öncesi dönemde ALP değerleri normal erişkinin yaklaşık 3 katı kadardır.

Alkalen fosfataz osteoblast fonksiyonunun serumdaki göstergesi olarak yaygın olarak kullanılmakla beraber yeterli spesifitesinin olmaması en önemli dezavantajdır. Plazma ALP'nin esas olarak karaciğer ve kemik izoenzimleri oluşturmaktadır. Kemik ve karaciğer ile ilgili patolojilerde total ALP değerinin yükselmesi beklenir.

Hiperparatiroidide, rickets, osteomalasi, neoplastik kemik hastalıkları, myositis ossifikans, Paget hastalığında, safra kanallarının tıkanmasında, ilaçlara bağlı karaciğer hastalıklarında, hamilelikte serum ALP düzeyi artmaktadır ALP izoenzimleri farklı yapısal genlerle kodlandıkları için molekül yapıları farklıdır ancak enzimin tüm özelliklerini gösterirler.

Kemik metastazlarında artan osteoblastik aktivite beraberinde kemik ALP izoenziminin artışı da getirir (9,10). Kemik ALP izoenziminin kantitatif ölçümünün kemik metastazlarının ortaya konması, takip ve tedaviye cevabın değerlendirilmesinde kullanımına dair çalışmalar mevcuttur (11-24).

Nguyen ve arkadaşları kemik metastazlı meme kanseri olgularında kemik izoenziminin total aktiviteye olan katkısının % 72, metastaz olmayanlarda ise % 45 olduğunu göstermişlerdir (11). Bu değerler bizim çalışmamızda bulduğumuz kemik ALP izoenziminin metastazlı hastalarda total aktiviteye katkı yüzdesi ile uyumludur. Prostat kanserli 32 hastada Chen ve grubu bALP düzeyinin kemik metastazlarında tALP'a göre daha yüksek spesifiteye ve pozitif belirleyici değere sahip olduğunu rapor etmişlerdir (12).

Zannito ve arkadaşları kemik, karaciğer ve lenf nodu metastazı olan 64 kanser olgusunun hepsinde total ALP'nin artarken, kemik izoenziminin sadece kemik metastazı olan hastalarda artmış olduğunu göstererek alkalen fosfataz izoenziminin total enzimatik aktiviteden daha spesifik olduğunu rapor etmişlerdir (13). Reale kemik alkalen fosfataz izoenziminin meme kanserli olgularda erken metastazların saptanmasında spesifitesini %86.5 ve sensitivitesini %78.6 olarak bulmuş ve meme kanserli hastaların takibinde kullanımını önermiştir(14).

Ritzke ve arkadaşları kemik alkalen fosfataz izoenziminin tümör belirleyiciler ile beraber kullanılması ile kemik metastazlarının saptanmasında %85 spesifiteye ulaşmışlardır (15).

Çalışmamızda metastatik grupta serum alkalen fosfataz değerleri non-metastatik gruptan anlamlı olarak yüksektir, kemik metastazı saptanan tüm hastalarda tALP ve bALP düzeyleri cut-off değerlerinin üstünde bulunmuştur. Metastatik grupta yeralan hiçbir hastaya ait serum tALP ve bALP değerleri nonmetastatik grup değerleri içinde yeralmamıştır. Elde ettiğimiz biyokimyasal sonuçlara dayanarak total alkalen fosfataz ve kemik alkalen fosfataz izoenziminin metastatik ve nonmetastatik grupların ayırımında değerli olduğu sonucuna ulaştık ancak biz kemik metastazlarının tanısında kemik izoenziminin total alkalen fosfataza anlamlı üstünlüğünü gösteremedik. Bu, çalışma grubundaki hasta sayısının az olmasına ve hastaların tALP düzeyini arttıracak başta karaciğer olmak üzere bilinen başka hastalıklarının olmamasına bağlı olabilir. Ancak yine de total ALP düzeyinin yüksek bulunduğu hastalarda bALP düzeyinin de çalışılması gerektiği düşünürsek total ALP yerine sadece bALP'nin çalışılmasının daha ucuz ve daha çok bilgi sağlayıcı olduğu sonucuna varabiliriz.

Oremek 64 kişilik çalışma grubunda kemik ALP, total ALP ve kemik sintigrafisini karşılaştırmış ve kemik izoenzim ALP'nin kemik sintigrafisi ile kombine olarak erken dönemde metastazlarının saptanmasında yararlı olduğunu rapor etmiştir (15).

Seaman ve arkadaşları renal cell kanserlerinde metastaz açısından yüksek risk taşıyan grupta çalışmışlar; hastaların % 31'inde kemik metastazı tesbit etmişler ve artmış ALP düzeyinin, kemik ağrılarının varlığında bir hasta hariç tüm hastalarda kemik metastazlarını doğrulukla belirleyebildiğini göstermişlerdir (16). Sonuç olarak kemik ağrısı şikayeti olmayan ve normal bALP değerleri olan olgularda kemik sintigrafisinin bu değerlere güvenilerek ertelenebileceğini öne sürmüşlerdir. Ancak kemik ağrılarının tanımlanmasındaki subjektiviteden yeterince söz etmemişlerdir.

Çalışma grubumuzda kontrol grubu ile non-metastatik grup arasında tALP ve bALP değerleri açısından fark bulunmamıştır. Kemik metastazı olan grupla kontrol ve non-metastatik grup değerleri arasında anlamlı fark bulunmuştur ve sintigrafik olarak metastaz saptanan tüm hastalarda bALP değeri yüksek olup sintigrafide metastaz saptanan hastalarda yüksek bALP değerine rastlanmamıştır.

Alkalen fosfataz kemik izoenzimi total alkalen fosfataza göre daha sensitif ve spesifiktir. Hastaların takibinde, rekürrens ve relapsta, tedaviye cevabın değerlendirilmesinde değerli bir yöntem olarak kabul edilebilir. Ucuz ve kolay tekrarlanabilir olması diğer avantajlarını oluşturmaktadır.

Bombardieri neoplastik kemik lezyonlarının varlığının yanında, visceral metastazların ve postmenopozal durumun bu parametrelerin düzeyini etkilediğini göstermiştir, bALP'nin metastazın yüksek olasılıklı olduğu bu grupta kemik metastazlarının tanısında yeterli tanısallı doğruluğa sahip olmadığını vurgulamıştır (21).

Kemik metastazlarının saptanmasında duyarlı bir metot olarak karşımıza çıkan alkalen fosfataz izoenziminin kemik sintigrafisinin yerini alması beklenemez. Kemik sintigrafisi normal olan hastalarda bir dahaki görüntüleme zamanının tayininde uyarıcı bir parametre olarak kullanılabilir, ani yükselen kan değerleri sintigrafik çalışmanın öncelikli programlanmasını sağlayabilir. Radyoterapi ve kemoterapi almış hasta gruplarında alkalen fosfatazın kullanımı ile ilgili çalışmalar mevcut değildir, ayrıca postmenopozal hastalarda kullanımına dair çelişkili raporlar vardır.

Alınacak cut off değeri ile ilgili kesin bir yaklaşım mevcut değildir. Enzim değeri hastalığın evrelendirmesi için yeterli olabilirken lezyonun yeri, büyüklüğü ve sayısı tedavinin planlanmasında, prognoz tayininde vazgeçilmez görünmektedir. Mevcut bazal bir kemik sintigrafisi ALP değeri ne olursa olsun hastanın takibinde önemli bir parametreyi oluşturmaktadır. Bu konu tartışmaya açık olup daha çok sayıda ve detayda çalışmaya ihtiyaç olduğu anlaşılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Kamby C. The pattern of metastases in human breast cancer methodological aspects and influence of prognostic factors. *Cancer Treat Rev* 1990;17:37-61.
2. Crippa F, Seregni E, Agresti R et al. Bone scintigraphy in breast cancer: a ten year follow-up study. *J Nucl Biol Med* 1993;37: 57-61.
3. Loprinzi CL. It is now the age to define the appropriate follow-up of primary breast cancer patients. *J Clin Oncol* 1994;12: 881-3.
4. Rosselli TM, Palli D, Cariddi A et al. Intensive diagnostic follow-up after treatment of primary breast cancer. *JAMA* 1994;271:1593-7.
5. Rankin S, Rubens RD, Fogelman I et al. Bone metastases: diagnosis and treatment. Berlin Heidelberg New York: Springer: 1991; 63-81.
6. Hortobagyi GN, Libshitz HI, Seabold JE. Osseous metastases of breast cancer: clinical, biochemical, radiographic and stenographic evaluation of response to therapy. *Cancer* 1984;53:577-82.
7. Coombes RC, Dady P, Oarsons C et al. Assessment of response of bone metastases to systemic treatment in patients with breast cancer. *Cancer* 1983;52:610-4.
8. Gasser AB, Depierre D, Mermillod B, Courvoisier B. Free serum hydroxyproline and total urinary hydroxyproline for the detection of skeletal metastases. *Br J Cancer* 1982; 45: 477-81.
9. Delmans PD. Clinical use of biochemical markers of bone remodeling in osteoporosis. *Bone* 1992;13:17-21.
10. Risteli L, Risteli J. Biochemical markers of bone metabolism. *Ann Med* 1993;25:385-96.
11. Nguyen M, Bonnetterre J, Hecquet B et al. Plasma acid and alkaline phosphatase in patients with breast cancer. *Anticancer Res* 1991 11(2):831-3.
12. Chen SS, Chen KK, Lin AT et al. The significance of serum alkaline phosphatase bone isoenzyme in prostatic carcinoma with bony metastasis. *Br J Urol*, 1997 79(2): 217-20.
13. Zaninotto M, Secchiero S, Rubin L et al. Serum bone alkaline phosphatase in the follow-up of skeletal metastases. *Anticancer Res*, 1995; 15:2223-8.
14. Reale MG; Santini D; Marchei GG et al. Skeletal alkaline phosphatase as a serum marker of bone metastases in the follow-up of patients with breast cancer. *Int J Biol Markers*, 1995; 10(1): 42-6.
15. Oremek GM, Kramer W, Seiffert UB et al. Diagnostic value of skeletal AP and PSA with respect to skeletal scintigram in patients with prostatic disease. *Anticancer Res*, 1997; 17:3035-6.
16. Seaman E, Goluboff ET, Ross S. Association of radionuclide bone scan and serum alkaline phosphatase in patients with metastatic renal cell carcinoma. *Urology*, 1996; 48: 692-5.
17. Wolff JM, Ittel TH, Boeckmann W et al. Metastatic workup of patients with prostate cancer employing skeletal alkaline phosphatase. *Anticancer Res*, 1997; 17: 2995-7.
18. Liu PP, Leung KS, Kumta SM et al. Bone-specific alkaline phosphatase in plasma as tumour marker for osteosarcoma. *Oncology*, 1996; 53: 275-80.
19. Burlina A, Rubin D, Secchiero S et al. Monitoring skeletal cancer metastases with the bone isoenzyme of tissue unspecific alkaline phosphatase. *Clin Chim Acta*, 1994; 226:151-81.
20. Berruti A, Piovesan A, Torta M et al. Biochemical evaluation of bone turnover in cancer patients with bone metastases: relationship with radiograph appearances and disease extension. *Br J Cancer*, 1996; 73:1581-7.

21. Bombardieri E, Martinetti A, Miceli R et al. Can bone metabolism markers be adopted as an alternative to scintigraphic imaging in monitoring bone metastases from breast cancer? *Eur J Nucl Med*, 1997; 24:1349-55.
22. Wolff JM, Ittel T, Boeckmann W et al. Skeletal alkaline phosphatase in the metastatic workup of patients with prostate cancer. *Eur Urol* 1996; 30: 302-6.
23. Ritzke C, Stieber P, Ntch M et al.. Alkaline phosphatase isoenzymes in detection and follow up of breast cancer metastases. *Anticancer Res*, 1998;18:1243-9.
24. Stokkel M, Winderman A, Zwartendijk J et al. The value of pre-treatment clinical and biochemical parameters in patients with newly diagnosed untreated prostate carcinoma and no indications for bone metastases on the bone scintigram. *Eur J Nucl Med*, 1997; 24; 1215-20.