

PROSTAT KANSERİNDE ANDROJEN SÜPRESYONU-OSTEOPOROZ İLİŞKİSİ ve TEDAVİDE BİFOSFONATLARIN ROLÜ

Dr. Atıf Akdaş, Dr. Hakan Özveri, Dr. İbrahim Çevik

Prostat kanseri erkekte görülen en sık kanser olma özelliğini taşımaktadır (1-2). Kemikler prostat kanserinin metastaz yaptığı bölgeler içerisinde öncelikli, hatta bazen tek bölgedir (3-4). Yapılan otopsi çalışmalarında prostat kanserine bağlı ölümlerin %80'inde kemik tutulumu bildirilmiştir (5-6). Kemik metastazlı prostat kanserinin tedavisinde temel tedavi tümör büyümesinin önlenmesi amacı ile androjen süpresyonudur. Bu amaçla hastaya orşiektomi yapılmakta ya da LH-RH analogları verilmektedir. Her iki tedavi de hastaların %80'inde objektif ve sübjektif iyileşmeler sağlamakta ancak bilindiği gibi küratif bir sonuç elde edilememektedir (7).

Erkeklerde androjenin, kadındaki östrojen gibi kemik yapının devamlılığında önemli rolü olduğu bilinen bir gerçektir (8). Erkeklerde hipogonadizmin sekonder osteoporoz ve kemik fraktürlerine neden olduğu pek çok çalışmada bildirilmiştir (8-9). Kemik tutulumu olmayan 2 prostat kanseri vakasında orşiektomiden 6 ay ve 4 yıl sonra patolojik kemik fraktürleri rapor edilmiştir (10). Prostat kanseri nedeni ile androjen süpresyonu uygulanan hastalarda oluşan kemik kayıpları literatürde değişik yazarlar tarafından bildirilmektedir. Örneğin androjen süpresyonu amacı ile LH-RH analogu kullanan hastalarda oluşan kemik mineral yoğunluğu kayıpları (11-12), intermittan LH-RH analogu kullanılan hastalarda süpresyon uygulanan dönemlerde kemik mineral yoğunluğunda azalma, tedavisiz dönemde ise kemik mineral yoğunluğunda stabilizasyon ve hatta artış bildiren araştırmalar dikkat çekicidir (13-14). Bu verilere ek olarak bir diğer önemli nokta da kemik "turnover" süresinde meydana gelen azalma nedeni ile kemikte oluşan yeniden şekillenmenin (remodeling), oransal olarak tam anlamı ile mineralize olamamış genç kemiğin sağlıklı kemik yapının yerini almasına neden olmasıdır. Bu durum kemik yapının bütünlüğün bozulmasına neden olmaktadır. Yüksek "Turnover"a bağlı kemik kütle kaybının teorik olarak geri döndürülebileceği bildi-

ilmektedir (15). Bu bilgiler kemik kaybı ile mücadelenin mümkün olan en erken dönemde başlatılması gerekliliğine işaret etmektedir.

Yeni biyokimyasal indeksler kullanılarak kemik tutulumu olan prostat kanserli hastalarda ve bazı diğer kemik metastazlı organ tümörlerinde (Meme Ca vb.) yapılan çalışmalarda kemik rezorpsiyonunun arttığı gösterilmiştir (16-19).

Metastatik kemik tutulumunun patofizyolojisi:

Erişkinde kemiklerde meydana gelen "turnover"ın %95'den fazlası kemiğin yeniden şekillenmesi (Remodeling) ile olmaktadır. Bu olay yaşlanmış kemik dokusunun yeni ve daha güçlü bir kemik ile yenilenmesini sağlar. Erişkinde herhangi bir zamanda kemiklerin ortalama %20'inde trabeküler yüzeyde yeniden yapılanma görülür. Bu yapılanma kemikte "Remodeling Unit" olarak adlandırılan bölümlerde gerçekleşmektedir (20). Başlangıçta osteoklast hücrelerin kemik yüzeyine olan hareketi ve burada "Howship's Lacuna" olarak bilinen rezorptif kaviteğin oluşması söz konusudur. Bu kaviteğin oluşumunu osteoblast ya da kemik yapımından sorumlu hücrelerin ortama gelmesini sağlayacak sinyallerin verilmesi izler ve kemik rezorpsiyonunu takiben kemik formasyonu oluşur ki bu proses "Coupling Phenomenon" olarak adlandırılmaktadır.

Klasik bilgi olarak kemikte Osteoklastik ve Osteoblastik aktivitenin ana düzenleyicileri Paratiroid Hormon (PTH), D Vitamini, Kalsitonin, Büyüme Hormonu, Glukokortikoidler, Androjen ve Östrojen hormonlarıdır. Ancak kemik dokuda meydana gelen bu prosesin günümüzde yukarıda yazılan hormonlar dışında lokal faktörler yardımı ile de düzenlendiği gösterilmiştir (21-22). Bu lokal faktörler ya kemik hücreleri tarafından ya da kemik matriksi veya mikroçevresindeki hücreler tarafından üretilmekte ve parakrin ya da otokrin etki ile düzenleyici rol oynamaktadırlar (Tablo 1)

Tablo 1: Kemik yapılandırma ve şekillendirmesinde etkili faktörler:

Kemik Rezorpsiyonunu Artıran Faktörler:

IL-1, IL-6 ve IL-11
Tumor Necrosis Factor alfa ve beta
Transforming Growth Factor alfa
Macrophage Colony Stimulating Factor
Stimulating Factor
Epidermal Growth Factor
Parathyroid Hormone Related Peptide
Prostaglandin
Procathepsin D

Kemik Formasyonunu Artıran Faktörler

Transforming Growth Factor Beta
Platelet Derived Growth Factor
Fibroblast Growth Factor
Bone Morphogenetic Protein
Insulin Like Growth Factor-1 ve 2

Bu faktörler kemik yapılanmasını kemik hücrelerinin diferansiyasyon ve proliferasyonunu etkileyerek gerçekleştirmektedirler. Osteoklastik hücrelerin oluşumu ve görevlendirilmesi, kemik iliği mikroçevresindeki stromal/osteoblastik hücre serileri tarafından üretilen "IL-1, IL-3, IL-6, IL-11", "Tumor Necrosis Factor", "Macrophage Colony-Stimulating Factor" gibi sitokinlere bağlıdır (23).

Her ne kadar değişik hormonal ve lokal faktörler osteoklastik hücreler üzerinde etkili olsa da, yakın zamanda yayınlanan bir çalışmada nihai 2 faktörün kemikte osteoklastik hücre formasyonunun düzenlenmesinde son sözü söylediğini göstermiştir (24). Bu faktörler "Receptor Activator of Nuclear Factor Ligand (RANKL)" ve "Osteoprotegerin" dir. Bu iki molekül Tümör Nekroz Faktörü ailesindedirler ve Osteoblastik seri hücreleri tarafından üretilmektedirler. RANKL aynı zamanda "Osteoklastik Hücre Diferansiyasyon Faktörü" olarak da adlandırılmaktadır. Hematopetik sistemde bulunan osteoklastik hücre prekürsörleri üzerinde bulunan reseptörüne (RANK) bağlanarak etki eden bu yapı, osteoklast pre-

kürsörlerinin matür osteoklast hücrelere farklılaşmasını indüklemektedir. Bu farklılaşmanın başlaması için ortamda "Macrophage Colony Stimulating Factor" bulunmalıdır. RANKL'in biyolojik aktivitesi Osteoprotegerine bağlanma ile nötraliye olmaktadır. Anlaşılabileceği gibi Osteoprotegerin/RANKL sistemi Osteoklast hücrelerin yapımının regülasyonunda major rol oynamaktadır(25). Howship Lakünalarında rezorpsiyon ve sonrasında oluşan kemik onarım prosesi çeşitli büyüme faktörlerinin belirli bir düzen içerisinde ortamdaki ekspresyonlarına bağlıdır (Transforming Growth Factor Beta Platelet Derived Growth Factor, Fibroblast Growth Factor, Bone Morphogenetic Protein).

Kemik çeşitli büyüme faktörleri için iyi bir depo görevi gördüğünden, tümör hücrelerinin büyümesi için de çok elverişli bir mikroçevresel ortam sağlamaktadır. Metastatik kemik lezyonlarının normal kemik hücrelerinin aktivasyonu ile oluştuğu bilinmektedir(26). Kemikteki metastatik tümör hücreleri de normal kemik oluşumunda rol oynayan aynı hormonal ve parakrin faktörlerin etkisinde kalmakta ancak burada bu faktörlerin anormal salınımından söz edilmektedir(26-27). Kemiğin yeniden şekillendirilmesi sürecinde ciddi bozukluklar görülmekte ve bunun sonucunda yalnızca kemik rezorpsiyonunda artma değil ve/veya kemik formasyonunda da artma meydana gelmektedir.

Prostat kanserinde kemikte osteoblastik aktivitede artış görülmektedir. Diğer yandan osteoblastik metastazların oluşum mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Bunun en önemli nedeni uygun in vitro modellerin olmayışıdır. Prostat kanseri hücre serileri atimik erkek mice'a enjekte edildiğinde osteoblastik bir yanıt olmaksızın aşırı bir osteolitik yanıt görülmektedir (28). Metastatik prostat kanserinin erkekteki doğal seyrini taklit eden in-vivo modellerin yakın zamanda oluşturulması (29-30), yakın gelecekte prostat kanserinin kemikte oluşturduğu metastatik hastalığın anlaşılmasına yardım edecektir.

Osteoblastik metastazlar büyük olasılık-

la, metastatik kanser hücreleri tarafından üretilen ve osteoblastik aktiviteyi indükleyen faktörler tarafından meydana gelmektedir. Prostat kanserli dokularda çeşitli osteoblastik büyüme faktörleri saptanmıştır. Bunlar "Transforming Growth Factor Beta, Fibroblast Growth Factor" (31-35), "Plasminogen Activator Sequence"(36-37), "Bone Morphogenetic Protein"(38), "Prostate Specific Antigen(PSA)" (39), "Endothelin-1" (34) dir.

Osteolizin prostat kanserinin kemik metastazlarında önemli bir rolü olduğu, hatta tümör invazifliği için gerekli bir unsur olduğu düşünülmektedir(26). Hücresel düzeyde radyolojik olarak osteosklerotik görünüm oluşturan metastatik kanser hücreleri öncelikle osteoklastlar ile ilişkiye girmekte ve osteolize neden olmakta, sonrasında da osteoblastlar ile olan hücresel etkileşim sonucunda osteoskleroz gelişmektedir(40). Son veriler ışığında prostat kanser hücresinden salgılanan ve osteoklast aktivasyonunu sağlayan moleküllerin "IL-6" ve "Parathyroid Hormone Related Peptide" olduğu görüşü ağırlık kazanmaktadır(26). Bu moleküllerin aktivasyonu Osteoprotegerinin RANKL'a oranında değişiklikler meydana getirmekte bu da matür osteoklastların oluşumunu indüklemektedir.

Bifosfonatların Farmakodinamik ve Farmakokinetik Özellikleri:

Bifosfonatlar kemikte osteoklastik aktiviteyi engelleyerek osteoporozu önleyen preparatlardır. Tümöre bağlı hiperkalseminin tedavisinde, aşırı osteoklastik kemik rezorpsiyonu ile beraber giden kemik hastalıklarında (Örn: Paget Hastalığı) ve daha yeni bir kullanım alanı olarak Multipl Myelom, Meme Kanseri gibi hastalıklarda, kemik metastazlarına bağlı komplikasyonların sıklığının azaltılmasında kullanılmaktadırlar. (41-43)

Her ne kadar bifosfonatların kemik homeostazındaki etkileri iyi bilinse de, etki mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamıştır. Bifosfonatların dokusal, hücresel ve moleküler düzeyde etkileri olduğu bilinmektedir. Doku düzeyindeki etkileri kemik rezorpsiyonunu ve formasyonunu biyokimyasal parametrelerle de gösterildiği şekilde azaltmalarıdır (44-46). Hüc-

resel düzeyde bifosfonatların hedefi osteoklastik hücrelerdir. Bifosfonatlar, osteoklastik hücrelerin kemik yüzeyindeki faaliyetlerini inhibe etmektedirler. Moleküler düzeydeki etkilerine örnek olarak "Squalene Synthetase" ve "Protein Tyrosine Phosphatase" enzim inhibisyonları verilebilir(46).

İlk jenerasyon bifosfonatların (Etidronate ve clodronate) kemik rezorpsiyonunu inhibe edici etkileri göreceli olarak zayıftır. Aminobifosfonatların geliştirilmesi ile (alifatik yan zincirde tek Nitrojen atomu) daha güçlü moleküller elde edilmiştir (Pamidronate, alendronate, ibandronate)(47). Terapötik yararlanım ve güç, nitrojen atomu heterosiklik imidazol halka yapısı içerisinde yer aldığı daha da artmaktadır(Risedronate). Bu halkaya kritik pozisyonlandırılmış ikinci bir nitrojen atomu eklendiğinde ise diğer bifosfonatlar ile kıyaslandığında hem in-vivo hem de in-vitro olarak daha potent bir molekül olan Zoledronic Asit elde edilmektedir(48).

Nitrojen içermeyen bifosfonatlar intraselüler olarak hücre için toksik maddelere metabolize olmaktadır(49). Buna karşılık nitrojen içeren bifosfonatlar mevalonat sentez yolundaki spesifik enzimleri inhibe ederek hücre içi haberleşme ve hücre bütünlüğünü sağlayan hücre iskelet yapısını etkilemekte ve bunun sonunda osteoklastik hücreler inaktif hale gelmekte ve daha erken apoptozise gitmektedirler(50-51)

Bazı yeni deneysel çalışmalar bifosfonatların yalnızca osteoklastik aktiviteyi engellemekle kalmadıklarını, aynı zamanda metastatik hücrelerin kemik içerisindeki davranışını da etkilediklerini işaret etmektedir. İn vitro çalışmalarda meme ve prostat kanseri hücrelerinin kemiğe tutunma kabiliyetlerinin azaldığı gösterilmiştir(52-53).

Pre-klinik çalışmalar sonrasında yapılan klinik çalışmalarda kemik metastazlı prostat kanserli hastalarda bifosfonat kullanımının kemik ağrılarına ve kemik mineral yoğunluğuna olan etkileri araştırılmıştır. Bazı non-randomize klinik çalışmalarda ağrıda azalma ve kemik metabolizmasında bozulmanın düzeldiği ra-

por edilirken (54-57), yapılan randomize çalışmalarda standart anti-neoplastik tedavi ile birlikte bifosfonat kullanımının ek bir fayda sağlamadığı rapor edilmiştir (58-61). Ancak bu randomize çalışmalarda çalışmanın dizaynı, hasta seçim kriterleri, seçilen bifosfonatın verilme şekli gibi konularda kritikler yapılmaktadır.

Bifosfonatlarla yapılan çalışmalara bakıldığında, pek çok çalışmanın hormon refrakter prostat kanserli hastalarda yapıldığı görülmektedir. Aslında hormona dirençli hastaların çoğunluğunda kemik metastazı yükünün hormonal tedaviye yanıt veren hastalara göre daha fazla olduğu rahatlıkla söylenebilir (11-12). Bir diğer önemli nokta da bu hastaların ortalama 2 sene hormonal tedavi almış olmaları ve bu nedenle tedavi ile oluşan hipogonadizm etkisi ile kemik mineral yoğunluğu kayıplarının daha fazla olmasıdır. Bu iki faktör hastalarda kemik instabilitesinin daha fazla olmasına neden olmaktadır. Bu düşünce Bifosfonatların prostat kanseri tedavisinin daha erken dönemlerinde verilebileceği ve faydalı olabileceği fikrini doğurmuştur. Yani özellikle endokrin tedavi planlanan hastalarda eş zamanlı Bifosfonat tedavisi araştırılması gereken bir konu olarak karşımıza çıkmaktadır. Smith ve ark. tarafından bifosfonat olarak Zoledronic asidin kullanıldığı randomize, çift kör, plasebo kontrollü yeni bir çalışmada non-metastatik prostat kanserli hastalarda 1 yıllık takipte kemik yoğunluğu kaybının plaseboya göre anlamlı olarak farklılık gösterdiği (Zoledronic Asit grubunda %5.6 artış, plasebo grubunda %2.2 azalma) bildirilmiştir (62).

Bifosfonatların kullanıldığı klinik çalışmalarda amaç; istenmeyen kemik komplikasyonlarının (Patolojik fraktür, hiperkalsemi, spinal stabilizasyon cerrahisi gereksinimi, radyoterapi gerektiren ağrı gibi) önlenmesidir. Saad ve ark. tarafından yapılan bir randomize, plasebo kontrollü çalışmada hormon refrakter prostat kanserli hastalarda 3 haftada bir 4mg Zoledronic acid tedavisi ile 15 aylık takipte kemiğe bağlı komplikasyonların azaldığı ve ilk kemiğe bağlı komplikasyona kadar geçen sürenin uzadığı bildirilmiştir (63).

Kullanılan Bifosfonatın gücü, veriliş şekli, dozaj ve uygulama süresi yapılan çalışmalarda alınan yanıtları etkileyebilmektedir. Yapılan randomize çalışmalarda genellikle oral ve zayıf etkili Bifosfonatların kullanıldığı dikkat çekmektedir. Gastrointestinal emilimin %2 düzeyinde olması nedeni ile bifosfonat kullanımının bu çalışmalarda anlamlı bir farklılık yaratmadığı düşünülebilir. Bazı çalışmalarda öncelikle intravenöz olarak yüksek dozlarda verilen güçlü Bifosfonatlar ile başarılı klinik yanıtlar elde edildiği bildirilmiştir (56). Bu çalışmalarda idame tedavisi olarak yine intravenöz ya da oral kullanım önerilmektedir.

Yan etkiler:

Bifosfonat tedavisinde dikkat edilmesi gereken noktalardan biri kanda oluşabilecek metabolik değişikliklerdir. Bunlardan en sık görülenleri hipokalsemi ve sekonder hiperparatiroidizmdir (64). İstenmeyen etkiler genellikle hafif ve geçicidir. Bazen ateş, titreme ve kemik ve/veya kas ağrıları ile grip benzeri bir sendrom bildirilmiştir(65). Olguların çoğunda spesifik bir tedavi gerekmez ve semptomlar birkaç saat/gün içinde geçer. Sıklıkla, böbrekten kalsiyum atılımının azalmasına serum fosfat düzeylerinde tedavi gerektirmeyen bir düşüş eşlik eder. Serum kalsiyumu asemptomatik hipokalsemik düzeylere düşebilir. Böbrek fonksiyon bozukluğu hastaların %10-15'inde görülebilen ve kullanılan bifosfonatın dozuna ve kullanım hızına bağlı olarak gelişebilen bir yan etkidir. İntravenöz kullanımda ilacın 15 dakikadan daha kısa sürede verilmemesi önemlidir.

Kaynaklar:

1. Parkin DM, Laara E, Muir CS. Estimates of the worldwide frequency of sixteen major cancers in 1980. *Int. J. Cancer* 1988; 41:184-97
2. Parker SL, Tong T, Bolden S, Wingo PA. *Cancer Statistics, 1996*. *CA Cancer J Clin* 1996;46:5-27.
3. Carlin BI, Andriole GL. The natural history, skeletal complications, and management of bone metastases in patients with prostatic carcinoma. *Cancer* 2000;88:2989-94.

4. Pentyla SN, Lee J, Hsieh K, Walter WC, Trocchia A, Musacchia L, et al. Prostate cancer: a comprehensive review. *Med. Oncol* 2000; 17:85-105
5. Jacobs SC: Spread of prostatic cancer to bone. *Urology* 1983; 21: 337.
6. Galasko CBS. The anatomy and pathway of skeletal metastases. In: *Bone Metastases*. Edited by L. Weiss and A.H. Gilbert. Boston: G.H. Hall, s. 49, 1981.
7. Denis L: Prostate cancer. Primary hormonal treatment. *Cancer suppl.*, 1993; 71:1050.
8. Seeman E, Melton LJ, O'Fallon WM et al. Risk factors for spinal osteoporosis in men. *Am. J. Med.* 1983; 75:977.
9. Baillie SP, Davison CE, Johnson FJ, et al. Pathogenesis of vertebral crush fractures in men. *Age Ageing*, 1992; 21:139.
10. Mc Grath SA, and Diamond T.: Osteoporosis as a complication of orchietomy in 2 elderly men with prostate cancer. *J. Urol.*, 1995; 154: 535.
11. Berruti A, Cerutti S, Mari M, et al. Dual energy x-ray absorptiometry (DEXA) in detecting bone loss during androgen deprivation in prostate cancer patients. *Proc ASCO*, 2000; 1311:333a.
12. Daniell HW, Dunn SR, Ferguson DW, et al. Progressive osteoporosis during androgen deprivation therapy for prostate cancer. *J. Urol.*, 2000; 163:181.
13. Diamond T, Campell J, Bryant C. et al. The effect of combined androgen blockade on bone turnover and bone mineral densities in men treated for prostate carcinoma: longitudinal evaluation and response to intermittent cyclic etidronate therapy. *Cancer*, 1998; 83:1561.
14. Higano CS, Stephens C, Nelson P, et al. Prospective serial measurements of bone mineral density(BMD) in prostate cancer patients without bone metastases treated with intermittent androgen suppression(IAS). *Proc. ASCO*, 1999; 1207:314a.

15. Kanis JA, and Mc Closkey EV. Bone turnover and biochemical markers in malignancy. *Cancer*, suppl., 1997; 80:1538.
16. Berruti A, Piovesan A, Torta M, et al. Biochemical evaluation of bone turnover in cancer patients with bone metastasis: relationship with radiograph appearances and disease extension. *Br. J. Cancer*, 1996; 73:1581.
17. Piovesan A, Berruti A, Torta M, et al: Comparison of assay of total and bone-specific alkaline phosphatase in the assessment of osteoblast activity in patients with metastatic bone disease. *Calcif. Tissue Int*, 1997; 61:362.
18. Sano M, Kushida K, Takahashi M, et al. Urinary pyridinoline and deoxypyridinoline in prostate carcinoma patients with bone metastasis. *Br. J. Cancer*, 1994; 70:701.
19. Maeda H, Koizumi M, Yoshimura K et al. Correlation between bone metabolic markers and bone scan in prostatic cancer. *J. Urol*, 1997; 157:539.
20. Frost HM.: The origin and nature of transients in human bone remodeling dynamics. In: *Clinical Aspects of Metabolic Bone Disease*. Edited by B. Frame, A.M. Parfitt and H. Duncan. Amsterdam. Excerpta Medica, sayfa. 124, 1973.
21. Canalis E, Mc Carthy TL, and Centrella M. Growth factors and the skeletal system. *J Endocrinol Invest.*, 1989;12:577.
22. Parfitt AM, Mundy GR, Roodman GD, et al. A new model for the regulation of bone resorption with particular reference to the effects of bisphosphonates. *J. Bone Miner. Res.*, 1996; 11:150.
23. Manolagas SC. Role of cytokines in bone resorption. *Bone*, suppl., 1995; 17:635.
24. Teitelbaum SL. Bone resorption by osteoclasts. *Science*, 2000; 17:635.
25. Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, et al. The roles of osteoprotegerin ligand in the paracrine regulation of bone resorption. *J. Bone Miner. Res.*, 2000; 15:2.
26. Guise TA ve Mundy GR. *Cancer and Bone*, 1998; 19:18.
27. Dodwell DJ. Malignant bone resorption: cellular and biochemical mechanisms. *Ann. Oncol*, 1992; 3:257.
28. Papapoulos SE, Hamdy NA, and van der Pluijm G. Bisphosphonates in the management of prostate carcinoma metastatic to the skeleton. *Cancer*, suppl., 2000; 88:3047.
29. Nemeth JA, Harb JF, Barroso U, et al. Severe combined immunodeficient-hu model of human prostate cancer metastasis to human bone. *Cancer Res.*, 1999; 59:1987.
30. Thalmann GN, Sikes RA, Wu TT, et al. LNCaP progression model of human prostate cancer: androgen independence and osseous metastasis. *Prostate*, 2000; 44:91.
31. Matuo Y, Nishi N, Matsui S, et al. Heparin binding affinity of rat prostate growth factor in normal and cancerous prostates: partial purification and characterization of rat prostatic growth factor in the Dunning tumor. *Cancer Res*, 1987; 47:188.
32. Canalis E, Lorenzo J, Burgess WH, et al. Effects of endothelial cell growth factor on bone remodeling in vitro. *J. Clin. Invest.*, 1988; 81:1572.
33. Mayahara H, Ito T, Nagai H et al. In-vivo stimulation of endosteal bone formation by basic fibroblast growth factor in rats. *Growth Factors*, 1993; 9:73.
34. Izbicka E, Dunstan C, Esperza J, et al. Human amniotic tumor that induces new bone formation in vivo produces a growth regulatory activity in vitro for osteoblasts identified as an extended form of basic fibroblast growth factor(bfgf). *Cancer Res*, 1996; 56:633.
35. Dunstan C, Boyce R, Boyce BF, et al. Systemic administration of acid fibroblast growth factor (FGF-1) prevents bone loss and increases new bone formation in ovariectomized rats. *J. Bone Miner. Res.*, 1999; 14:953.
36. Achbarou A, Kaiser S, Tremblay G, et al. Urokinase over production results in increased skeletal metastasis by prostate cancer cells in vivo. *Cancer Res.*, 1994; 54:2372.
37. Rabbani SA, Mazar AP, Bernier SM, et al. Identification of a new osteoblast mitogen from a human prostate cancer line, PC-3. *J. Bone Miner. Res.*, 1990;5:549.
38. Harris SE, Bonewald LF, Harris MA, et al. Effects of transforming growth factor beta on bone nodule formation and expression of bone morphogenetic protein 2, osteocalcin, osteopontin, alkaline phosphatase, and type I collagen mRNA in long term cultures of fetal rat calvarial osteoblasts. *J. Bone Miner. Res.*, 1994; 9:855.
39. Koeneman KS, Yeung F, and Chung LW. Osteomimetic properties of prostate cancer cells: a hypothesis supporting the predilection of prostate cancer metastasis and growth in the bone environment. *Prostate*, 1999, 39:246.
40. Yoneda T. Cellular and molecular mechanisms of breast and prostate cancer metastasis to bone. *Eur J. Cancer*, 1998; 34:240.
41. Kanis JA, Mc Kloskey EV, O'Doherty D. Treatment of Paget's disease with the new bisphosphonates. In: *Paget's Disease of Bone: Clinical Assessment Present and Future Therapy*. Edited by F.R. Singer and S. Wallach. New York: Elsevier, s. 112, 1991.
42. Berenson JR, Linchtenstein A, Porter L, et al. Efficacy of pamidronate in reducing skeletal events in patients with advanced multiple myeloma. Myeloma Aredia Study Group. *N. Engl. J. Med.*, 1996; 334:488.
43. Hortobagyi GN, Theriault RL, Porter L, et al. Efficacy of pamidronate in reducing skeletal complications in patients with breast cancer and lytic metastases. Protocol 19. Aredia Breast Cancer Study Group. *N. Engl. J. Med.*, 1996; 335:1785.
44. Vinholes J, Coleman R, and Eastell R. Effects of bone metastases on bone metabolism: implications for diagnosis, imaging and assessment of response to cancer treatment. *Cancer Treat Rev.*, 1996; 22:289.
45. Piovesan A, Berruti A, Torta M, et al. Comparison of assay of total and bone specific alkaline phosphatase in the assessment of osteoblast activity in patients with metastatic bone disease. *Calcif. Tissue Int.*, 1997;61:362.
46. Rodan GA, and Fleish HA. Bisphosphonates: mechanism of action. *J. Clin. Invest.*, 1996; 97: 2692.
47. Fleisch H. Bisphosphonates. Pharmacology and use in the treatment of tumor induced hypercalcemic and metastatic bone disease. *Drugs*, 1991; 42: 919.

48. Green JR, Müller K, and Jaeggi KA. Preclinical pharmacology of CGP 42'446, a new potent, heterocyclic bisphosphonate compound, *J. Bone Miner. Res.*; 1994 9:745.
49. Russell RG, Rogers MJ, Frith JC, et al. The pharmacology of bisphosphonates and new insights into their mechanism of action. *J. Bone Miner Res.*, supp; 1999; 14:53.
50. Luckman SP, Huges DE, Coxon FP, et al. Nitrogen containing bisphosphonates inhibit the mevalonate pathway and prevent post-translational prenylation of GTP binding proteins including Ras. *J. Bone Miner. Res.*, 1998; 13:581.
51. Van Beek E, Lowik C, van der Pluijm G, et al. The role of geranylgeranylation in bone resorption and its suppression by bisphosphonates in fetal bone explants in vitro: a clue to the mechanism of action of nitrogen containing bisphosphonates. *J. Bone Miner. Res.*, 1999; 14: 722.
52. Van der Pluijm G, Vloedgraven H, van Beek E, et al. Bisphosphonates inhibit the adhesion of breast cancer cells to bone matrices in vitro. *J. Clin. Invest.*, 1996;98:698.
53. Boissier S, Magnetto S, Frappart L, et al. Bisphosphonates inhibit prostate and breast carcinoma cell adhesion to unmineralized and mineralized bone extracellular matrices. *Cancer Res.*, 1997; 57:3890.
54. Cresswell SM, English PJ, Hall RR, et al. Pain relief and quality of life assessment following intravenous and oral clodronate in hormone-escaped metastatic prostate cancer. *Br. J. Urol.*, 1995; 76:360.
55. Adami S. Bisphosphonates in prostate carcinoma, 1997; 80: 1674.
56. Pelger RC, Hamdy NA, Zwinderman AH., et al. Effects of bisphosphonate olpadronate in patients with carcinoma of the prostate metastatic to the skeleton. *Bone*, 1998; 22:403.
57. Voreuther R, Heidenreich A, Engelmann UH. Bisphosphonates in the treatment of bone metastases in prostate cancer (PCA). *J. Urol*, suppl., abstract 1286, 1998; 159:335.
58. Smith JA. Palliation of painful bone metastases from prostate cancer using sodium etidronate: results of a randomized, prospective, double blind study. *J. Urol.*, 1989; 141:85.
59. Elomaa L, Kylmala T, Tammela T, et al. Effect of oral clodronate on bone pain. A controlled study in patients with metastatic prostate cancer. *Int. Urol. Nephrol.*, 1992; 24: 159.
60. Strang P, Nilsson S, Brandstedt S, et al. The analgesic efficacy of clodronate compared with placebo in patients with painful bone metastases from prostate cancer. *Anticancer Res.*, 1997; 17:4717.
61. Kylmala T, Taube T, Tammela TL, et al. Concomitant iv and oral clodronate in the relief of bone pain a double blind placebo controlled study in patients with prostate cancer. *Br. J. Cancer*, 1997; 76:939.
62. Smith MR, Eastham J, Gleason DM, Shasha D, et al. Randomized controlled trial of Zoledronic acid to prevent bone loss in men receiving androgen deprivation therapy for nonmetastatic prostate cancer. *J. Urol.*, 2003;169:2008.
63. Saad F, Gleason DM, Murray R, Tchekmedyian S, et al. A randomized, placebo-controlled trial of Zoledronic acid in patients with hormone refractory metastatic prostate carcinoma. *J. Nat. Cancer Inst.*, 2002; 94: 1458.
64. Vinholes J, Guo CY, Purohit OP, et al. Metabolic effects of pamidronate in patients with metastatic bone disease, 1996; 73:1089.
65. Adami S, Zamberlan N. Adverse effects of bisphosphonates. A comparative review. *Drug Saf*, 1996; 14:158.