

Journal für  
**Mineralstoffwechsel**

Zeitschrift für Knochen- und Gelenkerkrankungen

Orthopädie • Osteologie • Rheumatologie

**RANK und RANKL - Vom Knochen zum**

**Mammakarzinom**

Sigl V, Schramek D, Penninger JM

*Journal für Mineralstoffwechsel &  
Muskuloskelettale Erkrankungen*

2012; 19 (1), 27-32

**Homepage:**

**[www.kup.at/  
mineralstoffwechsel](http://www.kup.at/mineralstoffwechsel)**

**Online-Datenbank mit  
Autoren- und Stichwortsuche**

Member of the



Indexed in SCOPUS/EMBASE/Excerpta Medica  
[www.kup.at/mineralstoffwechsel](http://www.kup.at/mineralstoffwechsel)



Offizielles Organ der  
Österreichischen Gesellschaft  
zur Erforschung des Knochens  
und Mineralstoffwechsels



Österreichische Gesellschaft  
für Orthopädie und  
Orthopädische Chirurgie



Österreichische  
Gesellschaft  
für Rheumatologie

Krause & Pachernegg GmbH · VERLAG für MEDIZIN und WIRTSCHAFT · A-3003 Gablitz

P. b. b. GZ02Z031108M, Verlagspostamt: 3002 Purkersdorf, Erscheinungsort: 3003 Gablitz

# RANK und RANKL – Von Knochen zum Mammakarzinom

V. Sigl, D. Schramek, J. M. Penninger

**Kurzfassung:** RANK („Receptor Activator of NF- $\kappa$ B“) und sein Ligand RANKL sind Schlüssel-moleküle im Knochenmetabolismus und spielen eine essenzielle Rolle in der Entstehung von pathologischen Knochenveränderungen. Die Deregulation des RANK/RANKL-Systems ist zum Beispiel ein Hauptgrund für das Auftreten von postmenopausaler Osteoporose bei Frauen. Eine weitere wesentliche Funktion von RANK und RANKL liegt in der Entwicklung von milchsekretierenden Drüsen während der Schwangerschaft. Dabei regulieren Sexualhormone, wie zum Beispiel Progesteron, die Expression von RANKL und induzieren dadurch die Proliferation von epithelialen Zellen der Brust. Seit Längerem war schon bekannt, dass RANK und RANKL in der Metastasenbildung von Brustkrebszellen im Knochengewebe beteiligt sind. Wir konnten nun das RANK/RANKL-System auch als essenziellen Mechanismus in

der Entstehung von hormonellem Brustkrebs identifizieren. In diesem Beitrag werden wir daher den neuesten Erkenntnissen besondere Aufmerksamkeit schenken und diese kritisch in Bezug auf Brustkrebsentwicklung betrachten.

**Schlüsselwörter:** Knochen, Brustkrebs, Progesteron, Stammzellen

**Abstract: RANK and RANKL – From Bones to the Development of Breast Cancer.** RANK (Receptor Activator of NF- $\kappa$ B) and its ligand RANKL are essential molecules in bone metabolism and play a pivotal role in the development of pathologic bone disorders. The deregulation of the RANK/RANKL system is for example a major factor for the occurrence of postmenopausal osteoporosis. Another essential

function of RANK and RANKL is the development of a lactating mammary gland during pregnancy. Thereby female sex hormones like progesterone induce massive expression of RANKL in the mammary gland, which leads to proliferation and expansion of mammary epithelial cells. Furthermore, it has also been shown that RANK and RANKL are involved in the dissemination of breast cancer metastases in the bones. Recently we could identify the RANK/RANKL system as an essential mechanism involved in the development of hormone-driven breast cancer. In this report, we therefore will focus on these latest findings and critically review the role of RANK and RANKL in the development of breast cancer. **J Miner Stoffwechs 2012; 19 (1): 27–32.**

**Key words:** bones, breast cancer, progesterone, stem cells

## ■ Die Entdeckung von RANK, RANKL und Osteoprotegerin (OPG)

Unser ganzes Leben lang sind unsere Knochen durch die ausgewogene Aktivität von Osteoklasten und Osteoblasten einem ständigen Auf- und Abbau unterworfen. Die kleinste Störung dieses dynamischen Systems kann daher zu schwerwiegenden Krankheiten des Skeletts, wie zum Beispiel Osteoporose und Osteopetrose, führen [1–3].

Eine neue Ära der Knochenforschung begann vor > 10 Jahren mit der Entdeckung eines neuen Rezeptor-Liganden-Systems aus der Familie der Tumornekrosefaktoren (TNF). Dazu gehören RANK („Receptor Activator of NF- $\kappa$ B“), sein Ligand RANKL und der „Köderrezeptor“ Osteoprotegerin (OPG).

OPG (auch Osteoklastogenese-inhibitorischer Faktor [OICF] oder TNFRSF11B genannt) war das erste Molekül der Triade, welches entdeckt wurde. OPG inhibiert Osteoklastogenese *in vitro* und *in vivo*, wovon sich auch der Name Osteoprotegerin (Beschützer der Knochen) ableitet [4, 5]. Kurz darauf wurde RANKL, der Ligand für OPG und RANK, entdeckt. Im Gegensatz zu OPG induziert RANKL Osteoklastogenese *in vitro* und *in vivo*. Außerdem kann die Funktion von RANKL durch die Zugabe von OPG gehemmt werden [6, 7]. Weiters wurde RANKL auch mit Funktionen im Immunsystem assoziiert, da eine erhöhte Expression von RANKL in T-Zellen nach der

Stimulation des T-Zell-Rezeptors beobachtet werden konnte [8, 9]. Ungefähr zur selben Zeit wurde auch RANK (auch TNFRSF11A, OFE, ODFR, TRANCE-R, ODAR oder CD265) entdeckt und von mehreren Gruppen gleichzeitig kloniert. RANK wurde als ein Rezeptor für RANKL beschrieben, der in der Osteoklastogenese und im Überleben von dendritischen Zellen involviert ist [8, 10, 11].

Neben der essenziellen Rolle von RANK und RANKL im Knochenmetabolismus konnten bis heute auch noch andere wichtige Funktionen dieser Moleküle geklärt werden. Eine überraschende Entdeckung war, dass RANK und RANKL wesentliche Faktoren für die Entwicklung der Brustdrüsen während der Schwangerschaft sind. Durch hormonelle Regulation induzieren RANK und RANKL dabei die Differenzierung und Proliferation von terminalen Endknospen zu milchsekretierenden, lobulo-alveolären Strukturen [12]. Zudem wurden RANK und RANKL als Schlüsselmoleküle in der Expansion von Bruststammzellen und in der Entstehung von hormonellem Brustkrebs identifiziert [13–15]. Wird RANK in weiblichen Mäusen spezifisch in der Brust ausgeknockt, kann die Entstehung von Progesteron-induziertem Brustkrebs im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen signifikant hinausgezögert werden [16]. Bemerkenswerterweise kann durch die Blockade von RANK mittels Verwendung eines anti-RANK-Antikörpers die Entstehung von MPA/DMBA-induziertem Brustkrebs von 100 % auf 10 % gesenkt werden [17].

## ■ Die Rolle von RANK und RANKL im Knochenmetabolismus

Studien an Knockout-Mäusen haben wesentlich zum besseren Verständnis der In-vivo-Funktionen von RANK, RANKL und OPG beigetragen. Der größte Durchbruch war die Erkenntnis,

Eingelangt am 19. Juli 2011; angenommen am 20. Juli 2011

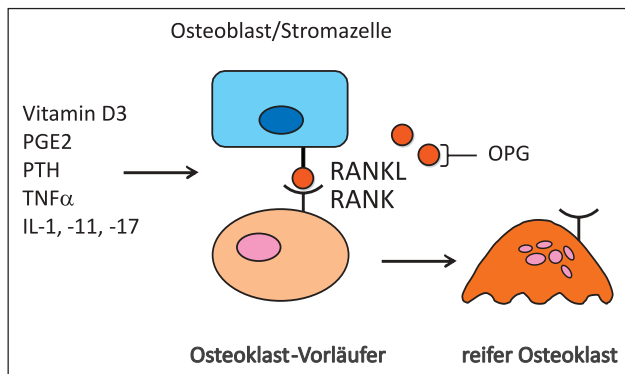
Aus dem Institute of Molecular Biotechnology of the Austrian Academy of Sciences (IMBA), Wien

**Korrespondenzadresse:** Mag. Verena Sigl, IMBA – Institute of Molecular Biotechnology GmbH, A-1030 Wien, Dr.-Bohr-Gasse 3; E-Mail: verena.sigl@imba.oeaw.ac.at

dass RANK, RANKL und OPG wesentlich für normalen und pathologischen Knochenabbau sind (Abb. 1). Mäuse, welchen funktionelles RANK oder RANKL fehlt, zeigen eine komplette Blockade in der Bildung von Osteoklasten und entwickeln daher schwerwiegende Osteopetrose [18, 19]. Im Gegensatz dazu leiden OPG-Knockout-Mäuse an Osteoporose [20]. Die funktionelle Rolle von RANK, RANKL und OPG ist im Menschen konserviert und Mutationen in diesen Genen können in Patienten mit Knochenerkrankungen gefunden werden. So konnten zum Beispiel in Patienten, die einer nordirischen Familie angehören und an Osteolyse leiden, heterozygote, aktivierende Mutationen in RANK identifiziert werden [21]. Umgekehrt dazu wurde von RANK-„Loss-of-function“-Mutationen in Osteoporose-Patienten berichtet und juveniles Paget-Syndrom wurde mit Mutationen in OPG assoziiert [22, 23].

Postmenopausale Osteoporose, woran Millionen von Frauen und Männern weltweit leiden, ist zum Großteil auf eine Hyperaktivierung von RANK und RANKL zurückzuführen [24, 25]. Dies kann durch Östrogen erklärt werden, welches eine Schlüsselfunktion bei der Induzierung der OPG-Expression spielt [26]. Das Beenden der Östrogen-Produktion in den Eierstöcken während der Wechseljahre führt zu verringerten OPG-Levels. Daraufhin steigt das RANKL/OPG-Verhältnis, was zu erhöhter Osteoklastenbildung und -aktivierung und in weiterer Folge zu Osteoporose führt [5].

Ein großer Erfolg hinsichtlich der Behandlung von Osteoporose war daher die Entwicklung des monoklonalen Antikörpers Denosumab, welcher an RANKL bindet und dessen Funktion blockiert. Durch die Verabreichung dieses neutralisierenden Antikörpers kann das normale Gleichgewicht zwischen Osteoblasten und Osteoklasten wiederhergestellt werden [24, 25]. Bis heute wurde Denosumab für die Behandlung postmenopausaler Osteoporose freigegeben. Außerdem wurde auch die Verabreichung an Patienten mit Prostatakrebs bewilligt, welche durch therapeutische Maßnahmen bedingt an Knochenveränderungen leiden. In den USA und Kanada steht Denosumab auch für die Behandlung von Krebsmetastasen solider Tumoren zur Verfügung. Somit hat die selektive Blockierung von RANKL das Potenzial, bei Millionen von Menschen Knochenschwund vorzubeugen und zu heilen.



**Abbildung 1:** Schematische Darstellung der Regulation der Osteoklastogenese. Im Knochen wird durch einige Zytokine, Hormone, Vitamin D<sub>3</sub> oder PGE<sub>2</sub> die Expression von RANKL in Osteoblasten/Stromazellen stimuliert. Membrangebundenes RANKL auf Osteoblasten/Stromazellen bindet an RANK auf Osteoklasten-Vorläuferzellen. Dadurch wird die Differenzierung der Osteoklasten-Vorläuferzellen in reife Osteoklasten ausgelöst. OPG, als Köderrezeptor, bindet an RANKL und kann diesen Differenzierungsprozess inhibieren. PGE<sub>2</sub>: Prostaglandin E<sub>2</sub>; PTH: Parathormon; TNF $\alpha$ : Tumornekrosefaktor alpha; IL: Interleukin; OPG: Osteoprotegerin.

## ■ Die Rolle von RANK und RANKL abseits der Knochen

Die detaillierte Analyse von RANK- und RANKL-Knockout-Mäusen hat andere, vollkommen unerwartete Funktionen dieser Moleküle ans Tageslicht gebracht. RANK- und RANKL-Knockout-Mäuse haben keine Lymphknoten [18, 27] und weisen auch ein komplettes Fehlen von AIRE-positiven medullären epithelialen Zellen im Thymus auf [28, 29]. RANK und RANKL sind daher essenziell für die Bildung von Lymphknoten und spielen eventuell auch eine Rolle in der Erstellung zentraler Toleranz im Thymus. RANKL ist auch in der Immunsuppression, die durch UVB-Strahlung in der Haut ausgelöst wird, beteiligt [30].

Zudem kann RANKL-Produktion von aktivierten T-Zellen auch direkt Osteoklastendifferenzierung und -aktivierung regulieren [27]. Diese Erkenntnisse haben gezeigt, dass Zellen des Immunsystems auch als direkte Regulatoren im Knochenmetabolismus agieren. Beispielsweise wird Knochenschwund bei Arthritis-Patienten durch RANKL-exprimierende T-Zellen an den entzündeten Gelenken verursacht [27]. Auch der Knochenabbau in Parodontitis, einer führenden Ursache für Zahnverlust in Menschen, ist auf RANKL-exprimierende T-Zellen zurückzuführen [31]. Eine weitere überraschende Funktion von RANK und RANKL konnte außerdem im zentralen Nervensystem gefunden werden. Dort sind RANK und RANKL wesentliche Komponenten in der Regulation von Fieber und, zumindest in Versuchen mit mutierten Mäusen, von den zyklischen Schwankungen der weiblichen Körpertemperatur [32]. Wie Osteoporose sind auch Hitzewallungen eine Konsequenz des Abfalls der Östrogenproduktion während der Wechseljahre, was durch RANKL/RANK-Funktionen im Gehirn erklärt werden könnte.

## ■ Die Verbindung zwischen RANK, RANKL, Brustentwicklung und Brustkrebsentstehung

RANK- und RANKL-Knockout-Mäuse zeigen noch einen weiteren dramatischen Phänotyp. Obwohl diese mutanten Mäuse eine normale Entwicklung der Brust nach der Geburt und während der Pubertät durchlaufen, ist die Entwicklung von laktierendem Brustgewebe während der Schwangerschaft vollständig blockiert [12]. Aufgrund eines zellautonomen Defekts können RANK- oder RANKL-defiziente epitheliale Zellen in der Brust während der Schwangerschaft keine so genannten lobulo-alveolären, milchsekretierenden Strukturen ausbilden. RANKL-Expression in der Brust wird während der Schwangerschaft von Progesteron, Prolaktin und dem mit Parathormon verwandten Peptid hervorgerufen und obliegt daher einem strengen hormonellen Regulationsmechanismus [12, 33].

RANKL-mRNA kann im Brustgewebe von nicht-schwangeren weiblichen Mäusen nicht nachgewiesen werden, sondern wird erst am Schwangerschaftstag 12,5 (P12,5) induziert. Ungefähr am Tag 19,5 der Schwangerschaft sinkt die RANKL-mRNA-Produktion wieder auf einen nicht messbaren Pegel ab [12, 34]. RANK-mRNA wird konstitutiv in kleinen Mengen in der Brust von nulliparen und schwangeren weiblichen Mäusen exprimiert [12, 34]. Ähnlich wie RANKL ist auch RANK-Protein, nicht



aber RANK-mRNA ab Tag 15,5 der Schwangerschaft massiv erhöht. Bis zum 1. Tag der Laktation normalisiert sich die RANK-Protein-Expression aber wieder auf das Niveau von nulliparen Weibchen [14]. RANKL-Protein ist vorwiegend im luminalen Kompartiment lokalisiert, wohingegen RANK-Protein hauptsächlich in basalen Zellen detektiert werden kann [14]. Studien an transgenen Mäusen, welche RANK im Brustgewebe überexprimieren, haben weiters gezeigt, dass RANK- und RANKL-Expression in der Brust auf eine strikte zeitliche und räumliche Regulation angewiesen ist. Somit hat jegliche Störung dieses feinen Regulationsmusters erhebliche Konsequenzen.

Weibchen mit erhöhter RANK-Expression in der Brust können genauso wie Knockout-Weibchen keine laktierende Brust ausbilden. Durch die massive Überexpression von RANK entwickeln diese Mäuse im Laufe der Zeit auch Hyperplasien des Brustgewebes [14]. Um den genauen Mechanismus zu verstehen, wie RANK und RANKL die Entwicklung der Brust während der Schwangerschaft steuern, haben auch Studien an anderen Knockout-Mäusen einen großen Beitrag geleistet. Ein sehr ähnlicher Defekt in der Bildung von laktierendem Brustgewebe kann in Progesteron-Rezeptor-B- (PRB-) Knockout-Mäusen beobachtet werden. Genauso wie RANK- und RANKL-Knockout-Mäuse können PRB-Knockout-Mäuse keine lobulo-alveolären Strukturen bilden und die RANKL-Expression ist in diesen Mäusen verringert [33]. Interessanterweise kann ektopische RANKL-Expression den Phänotyp der PRB-Knockout-Mäuse kompensieren [35, 36]. Somit ist PRB eindeutig ein wichtiges Upstream-Molekül in RANK/RANKL-abhängiger Bildung einer laktierenden Brust. Der genaue Mechanismus ist aber noch unbekannt und erfordert weitere, detaillierte Forschungsarbeiten.

Neben Progesteron ist auch Prolaktin essenziell für die Entwicklung einer laktierenden Brust während der Schwangerschaft. Genauso wie PRB-Knockout-Mäuse können auch Prolaktin- und Prolaktin-Rezeptor- (PRLR-) Knockout-Mäuse keine milchsekretierenden, lobulo-alveolären Strukturen bilden [37, 38]. Auch dieser Phänotyp basiert auf einer verminderten RANKL-Expression. Prolaktin bewirkt die Proliferation von Brustgewebe via Stat5 und RANKL. Stat5-Knockout-Mäuse zeigen daher auch eine Blockade in der Entwicklung von lobulo-alveolären Strukturen während der Schwangerschaft [29, 39]. Neben PRB, PRLR und Stat5 gibt es weitere Knockout-Mäuse, die einen ähnlichen Brust-Phänotyp wie RANK- und RANKL-Knockout-Mäuse zeigen. Dies sind NF- $\kappa$ B-Kinase-Subunit-alpha- (IKK $\alpha$ -), Inhibitor-of-DNA-binding-protein-2 (Id2-) und Cyclin-D1- (CCND1-) Knockout-Mäuse [40, 41].

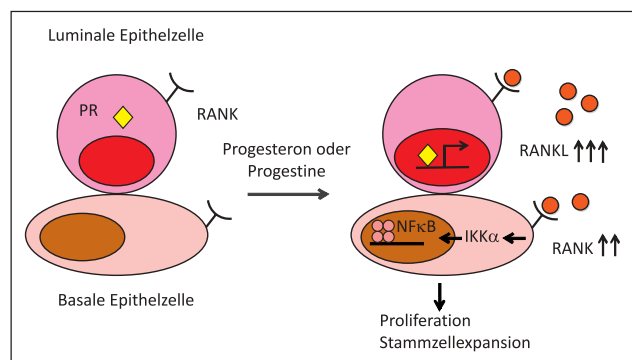
Die Proliferation des Brustepithels nach einem Hormonstimulus wird in 2 Phasen unterteilt [35]. Cyclin D1 ist bedeutend für die unmittelbare, in den ersten 24 Stunden erfolgende Proliferation von epithelialen Brustzellen nach einem Progesteron-Stimulus. Die weitere, über ca. 8 Tage anhaltende Proliferationsphase ist Cyclin-D1-unabhängig und basiert auf RANKL-induzierter Proliferation [35]. Der Defekt in der Ausbildung von lobulo-alveolären Strukturen in IKK $\alpha$ - (IKK<sup>ΔA</sup>-) Knockin-Mäusen, in denen die Kinasefunktion von IKK $\alpha$  inaktiviert ist, kann mit einer Überexpression von Cyclin D1 gerettet werden [40]. Dies lässt darauf schließen, dass RANK und RANKL die Differenzierung und Proliferation im Brustgewebe durch die NF- $\kappa$ B-Cyclin-D1-Achse induzieren. Erwäh-

nenswert ist auch die Tatsache, dass IKK $\alpha$ -Knockin-Mäuse später als Kontrollmäuse NeuT- und hormonell induzierten Brustkrebs entwickeln [40]. Das heißt, dass die Kinasefunktion von IKK $\alpha$  wichtig für die Entstehung von Brustkrebs in diesen beiden Modellsystemen ist.

Da in RANK- und RANKL-Knockout-Mäusen keine Deregulation der Cyclin-D1-Expression beobachtet werden kann, scheint dies nicht der einzige Weg zu sein, um Proliferation und Differenzierung von Brustgewebe hervorzurufen [41]. In der Brust von RANK- und RANKL-Knockout-Mäusen ist die Translokation von Id2 in den Nukleus defekt [41]. Auch die Inaktivierung von Id2 in Mäusen rekapituliert den Laktationsdefekt von RANK- und RANKL-Mäusen. Mechanistisch vermindert RANKL die Expression des Zellzyklus-Inhibitors p21, was in der Proliferation von epithelialen Brustzellen in Wildtyp-Mäusen resultiert [41]. Daher ist neben dem RANK-IKK $\alpha$ -Cyclin-D1-Signalweg auch RANK-Id2-p21-Signaltransduktion wesentlich für die Regulation der Proliferation von Brustgewebe (Abb. 2).

Kürzlich wurden RANK und RANKL auch eine bedeutende Funktion in der Bruststammzellbiologie zugeschrieben [13, 15]. Eine einzige Bruststammzelle hat die Kapazität, eine komplette Brust mit allen vorkommenden Zelltypen zu regenerieren. Bruststammstellen sind im basalen (myoepithelialen) Kompartiment der Brust angesiedelt und bilden von dort aus die verschiedenen Zelltypen [42]. Die Anzahl der Bruststammzellen ist aber nicht konstant, sondern verändert sich im Alter, während des menstruellen Zyklus und bei Schwangerschaft [43]. In der Gelbkörperphase des menstruellen Zyklus erreichen die Progesteronlevel den höchsten Punkt. In Mäusenweibchen führt dies zu einer bis zu 14-fachen Expansion der Bruststammzellen [15]. Während der Schwangerschaft werden Bruststammzellen bis zu 11-fach expandiert [13]. Im Gegensatz dazu ist die Anzahl der Bruststammzellen in ovariektomierten Mäusen stark reduziert [13, 15]. RANK und RANKL spielen in diesen Vorgängen eine wichtige Rolle.

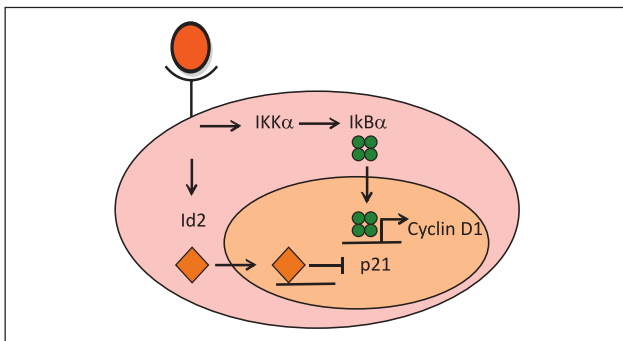
Während der Schwangerschaft als auch durch die Behandlung mit Progesteron wird RANK selektiv im basalen Zellkompar-



**Abbildung 2:** Modell für den Progesteron-RANKL-Signalweg in Epithelzellen der Brust. RANK wird konstitutiv in geringen Mengen auf der Oberfläche von luminalen und basalen Epithelzellen exprimiert. Der Progesteronrezeptor wird nur im luminalen Kompartiment exprimiert. Durch Stimulation mit Progesteron oder synthetischen Progesteronderivaten translokiert der Progesteronrezeptor in den Nukleus der luminalen Zelle und löst die Expression von RANKL aus. RANKL bindet in einem autokrinen Mechanismus an RANK auf luminalen Zellen und in einer parakrinen Weise an RANK auf basalen Zellen. Basale Zellen erhöhen daraufhin die Expression von RANK und aktivieren die IKK $\alpha$ -NF- $\kappa$ B-Cyclin-D1-Achse, was zur Proliferation und Expansion der Stammzellen in der Brust führt. IKK $\alpha$ : inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit alpha; NF $\kappa$ B: nuclear factor kappa-B; PR: progesterone receptor.

timent erhöht exprimiert. RANKL-Expression hingegen wird im luminalen Kompartiment hervorgerufen [13, 15] (Abb. 3). Obwohl der genaue Mechanismus noch nicht im Detail verstanden wird, deuten die bisherigen Daten darauf hin, dass RANK und RANKL die Expansion von Bruststammzellen während der Schwangerschaft und im menstruellen Zyklus steuern. Bestätigung bekommt diese Vermutung dadurch, dass die Verabreichung von einem anti-RANKL-Antikörper in schwangeren Mäusen die Koloniebildung von Bruststammzellen *in vitro* hemmt [13] und dass Progesteron-induzierte Bruststammzell-expansion von RANK abhängig ist [16]. Weiters wird diese Vermutung dadurch gestärkt, dass durch die Blockade von RANK im basalen Kompartiment, in dem die Bruststammzellen lokalisiert werden, der Defekt in der Ausbildung von lobulo-alveolären Strukturen reproduziert werden kann. Wird allerdings RANK im luminalen Kompartiment gehemmt, ist die Entwicklung der Brust während der Schwangerschaft nicht beeinträchtigt [16]. Dies weist darauf hin, dass das basale Kompartiment und somit die Stammzellen und nicht die luminalen Zellen essenziell für die Entwicklung der laktierenden Brust sind.

Betrachten wir nun zusammenfassend die verschiedenen Funktionen von RANK und RANKL sowohl im Knochen als auch in der Brust, kann eine evolutionär logische Schlussfolgerung gezogen werden: Als vor rund 200 Millionen Jahren die ersten Säugetiere unseren Planeten besiedelten, entstand gleichzeitig ein System, das den Muttertieren erlaubte, ihren Nachwuchs mit Muttermilch zu versorgen [44]. Zu diesem Zeitpunkt war vermutlich das RANK/RANKL-System schon etabliert, um den Knochenumbau zu regulieren. Eine wichtige Funktion der Muttermilch ist die Versorgung des Nachwuchses mit Kalzium [2]. Durch den Abbau von Knochen durch die Aktivierung von RANK/RANKL wird Kalzium frei. Dabei erscheint es logisch, dass dasselbe System, das dafür verwendet wird, um den Knochen umzubauen, auch die Funktion übernimmt, eine milchsekretierende Brust zu formen. Damit geht einher, dass RANK und RANKL unter der Regulation von Sexualhormonen stehen [12]. Eine der Konsequenzen, die aus diesem System entstehen, ist zum Beispiel die Deregulation von RANK und RANKL nach der Menopause, wenn Östrogen als Schlüsselregulator für den Köderrezeptor OPG wegfällt. Ein Sinken der OPG-Expression führt gleichzeitig zu einem Anstieg von RANKL und somit zu erhöhter Osteoklastogenese [26]. Der Anstieg von Osteoporose in ovariectomierten Mäusen und in Millionen postmenopausaler Frauen kann daher auch evolutionär erklärt werden.



**Abbildung 3:** Schematische Darstellung der RANK/RANKL-Signalwege in Epithelzellen der Brust. Die Aktivierung der Signalwege führt zur Proliferation in Brustepithelzellen. IKK $\alpha$ : inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit alpha; IKB $\alpha$ : inhibitor kappa-B alpha.

## ■ Knochenmetastasen

Bestimmte Tumoren, im Speziellen Brust- und Prostatakrebs, befallen oft auch Knochengewebe und ziehen schwere Konsequenzen für das Skelett mit sich [45]. Diese bevorzugte Wanderung der Tumorzellen zu den Knochen wird Osteotropismus genannt und kann sehr häufig beobachtet werden. So wurden zum Beispiel in 75 % der Brust- und Prostatakrebspatienten zum Zeitpunkt der Autopsie auch Knochenmetastasen festgestellt [46–48]. Basierend auf der Rolle von RANK und RANKL im Knochen und in der Entwicklung der Brustdrüsen während der Schwangerschaft entstand die Hypothese, dass das RANK/RANKL-System ein so genannter wichtiger „Soil“-Faktor ist und daher die Metastasenbildung in den Knochen begünstigt. Tatsächlich wurde berichtet, dass RANKL die Migration von humanen und murinen Brustepithel-, Prostatakarzinom- und Melanomzellen gezielt in die Richtung einer RANKL-Quelle stimulieren kann [49]. Dies bedeutet, dass RANK-positive Tumorzellen RANKL als einen Lockstoff („attractant“) wahrnehmen können und daher gezielt auf eine RANKL-Quelle im Knochen zuwandern [49]. Dieser Mechanismus könnte die bevorzugte Metastasenbildung von Prostata- und Brustkrebs in Knochengewebe erklären. Weiters konnte in einem In-vivo-Modell gezeigt werden, dass durch das Blockieren von RANKL mit OPG die Migration von Melanomzellen in den Knochen stark vermindert und die Tumorlast in den Knochen um 50 % reduziert wird [49]. Außerdem konnten durch die Blockade von RANKL durch Knochenmetastasen bedingte Lähmungserscheinungen gänzlich ausgesetzt werden, wobei jedoch die Ausbreitung der Melanomzellen in andere Organe nicht vermindert war [49]. In weiteren Studien konnte gezeigt werden, dass die Blockade von RANKL auch die Bildung von Knochenmetastasen in Modellen für Brust-, Prostata- und Darmkrebs reduziert und die Lebensdauer verlängert [50–52].

In einer klinischen Phase-III-Studie erwies sich die Behandlung von Brust- und Prostatakrebspatienten mit Denosumab als vielversprechend, um die Entstehung von knochenbezogenen pathologischen Veränderungen zu verzögern [53, 54]. Aufgrund dessen wurde Denosumab nun auch von der FDA für Brust- und Prostatakrebspatienten bewilligt, die schon Knochenmetastasen entwickelt haben, um pathologische Veränderungen der Knochen hinauszuzögern. In einer anderen klinischen Studie erwies sich die Denosumab-Behandlung auch zur Vorbeugung von Knochenmetastasen als aussichtsreich. Das Auftreten von Knochenmetastasen in Prostatakrebspatienten konnte dabei um > 4 Monate verzögert werden. Des Weiteren wurde kürzlich gezeigt, dass RANKL die Metastasierung von primären Brusttumoren in Lungengewebe beeinflusst [17, 55]. Diese Erkenntnis stärkt ebenso die Idee, dass die Blockade von RANKL zur Behandlung von Metastasenbildung verwendet werden kann.

## ■ RANKL und RANK bei Brustkrebs

Brustkrebs ist die häufigste Krebsart weltweit und betrifft 1 von 8 Frauen in Nordamerika und Europa [56, 57]. Die Tatsache, dass RANK und RANKL Proliferation und Differenzierung in der Brust regulieren, ließ den Verdacht naheliegen, dass diese beiden Moleküle auch eine Rolle in der Entstehung von Brust-

krebs spielen könnten. RANKL-Expression in der Brust wird von Progesteron, Prolaktin und PTHrP induziert [12]. Sowohl Progesteron als auch Prolaktin werden nicht nur mit normaler Brustentwicklung in Verbindung gebracht, sondern auch mit malignen Veränderungen des Brustgewebes [58, 59]. Zum einen korrelieren erhöhte Prolaktin-Spiegel mit einem 2-fachen Anstieg des Risikos, an Brustkrebs zu erkranken, zum anderen konnte in Mäusen gezeigt werden, dass die Überexpression von Prolaktin zur Entstehung von Brustkrebs führt. Ebenfalls wird durch eine erhöhte Exposition zu Progesteron das Risiko, an Brustkrebs zu erkranken, erhöht. Eine heutzutage häufig angewandte Therapie ist die kombinierte Hormonersatztherapie [60]. Dabei wird Frauen ein Kombinationspräparat aus Östrogen und Progesteron verabreicht, um typische Symptome während des Wechsels, wie allgemeines Unwohlsein, Hitzewallungen, nächtliche Schweißausbrüche, Schlafbeschwerden, Depression oder Angstzustände, zu lindern. Demgegenüber steht eine nur auf Östrogen basierende Hormonersatztherapie, die ohne Progesteron auskommt, allerdings das Endometriose-Risiko erhöht [60].

Wie von der „Million Women“-Studie und der „Women’s Health Initiative“-Studie berichtet, erkranken Frauen, welche kombinierte Hormonersatztherapie zu sich nehmen, zweimal häufiger an Brustkrebs als Frauen, welche sich nur einer Östrogentherapie unterziehen [61, 62]. Um zu untersuchen, ob RANK und RANKL eine Rolle in der Entstehung von hormonellem Brustkrebs spielen, wurde daher in RANK-Knockout-Mäusen mithilfe des Progesteron-Derivates Medroxyprogesteronazetat (MPA), welches auch häufig in HRT und zur hormonellen Kontrazeption verwendet wird, Brustkrebs induziert [63, 64]. Tatsächlich wurde beobachtet, dass RANK und RANKL die Inzidenz für Progesterin-induzierten Brustkrebs erhöhen. Mechanistisch bewirkt MPA eine massive Expression von RANKL in Progesteronrezeptor-positiven luminalen Zellen in der Brust. Dies führt im Weiteren zur Aktivierung der RANK/RANKL-Signalkaskade im Brustgewebe, was in Proliferation und Expansion von Bruststammzellen resultiert [16]. Außerdem schützt MPA-induzierte RANKL-Expression auch vor durch DNA-Schaden hervorgerufenen programmierten Zelltod [16]. Dessen Vermeidung stellt eine weitere Voraussetzung für die Entstehung von malignen Tumoren dar [65]. Beeindruckenderweise kann durch die Blockade von RANK sowohl die Entstehung von MPA-induzierten Tumoren als auch Metastasen massiv reduziert werden [17]. Durch diese Studien konnte klar gezeigt werden, dass RANK und RANKL maßgeblich an der Entstehung von hormonellem Brustkrebs beteiligt sind.

Als Downstream-Signalmolekül, das an der Entstehung von MPA/DMBA-induziertem Brustkrebs beteiligt ist, konnte IKK $\alpha$  identifiziert werden. Brustspezifische Deletion von IKK $\alpha$  verzögert auch die Entstehung von MPA-induziertem Brustkrebs [16]. Ob weitere RANK/RANKL-Downstream-Signalwege in der Entstehung von hormonellem Brustkrebs eine Rolle spielen, bedarf noch weiterer Forschung.

## ■ Interessenkonflikt

Die korrespondierende Autorin gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

## ■ Zusammenfassung/Relevanz für die Praxis

Vor > 10 Jahren wurden RANK und RANKL als Schlüsselmoleküle im Knochenmetabolismus identifiziert. Heute blicken wir auf ein Molekül, das in viel mehr Prozessen als im Knochenumbau involviert ist. RANK und RANKL spielen eine wichtige Rolle in der Entwicklung von Lymphknoten, in der Entwicklung milchsekretierender Strukturen in der Schwangerschaft, in der Entstehung von Knochenmetastasen, in der Regulation von Fieber und in der Entstehung von hormonellem Brustkrebs.

Da Millionen von Frauen synthetisches Progesteron in Form von hormonellen Kontrazeptiva und Hormonersatztherapie zu sich nehmen, sollte der Tatsache, dass RANK und RANKL die Verbindung zu Progesterin-induziertem Brustkrebs darstellen, erhöhte Bedeutung beigemessen werden. Zum Beispiel könnte die Inhibierung von RANKL als ein neuer Ansatz zur Therapie bzw. Prophylaxe für Brustkrebs in Betracht gezogen werden. Somit könnte das Fortschreiten bzw. sogar das Auftreten eines Mammakarzinoms verhindert werden. Außerdem könnte sich eine anti-RANKL-Therapie auch als nützlich erweisen, um die Sensitivität von Brustkrebszellen gegenüber Bestrahlungstherapie oder DNA-beinträchtigenden Medikamenten zu erhöhen. Da 2010 Denosumab, ein anti-RANKL-Antikörper, zur Behandlung von Osteoporose auf dem europäischen und amerikanischen Markt zugelassen wurde, könnten Ansätze in diese Richtung umgehend in Angriff genommen werden [24, 25].

Ein weiterer interessanter Aspekt ist, dass in Mammographien als früheste Anzeichen von Brustkrebs winzige Mineralisierungen, so genannte Mikro-Kalzifizierungen, festgestellt werden können [66]. Da RANK und RANKL eine wichtige Rolle in der Mineralisierung des Skeletts spielen, könnten weitere Forschungsarbeiten in die Richtung gehen, um einen eventuellen Zusammenhang zwischen diesen frühen Kennzeichen von Brustkrebs und dem RANK/RANKL-System herzustellen. Außerdem könnte überlegt werden, ob sich das Verhältnis zwischen OPG und RANKL als diagnostische Marker eignet, um Brustkrebs bereits kurz vor der Entstehung zu diagnostizieren. Doch nicht nur in primären Tumoren könnte sich eine anti-RANKL-Therapie als vorteilhaft erweisen; da RANK und RANKL auch eine wichtige Rolle in der Entstehung von Metastasen spielen, könnten durch die Blockade von RANKL auch Patienten in späteren Stadien davon profitieren.

## Literatur:

1. Karsenty G, Wagner EF. Reaching a genetic and molecular understanding of skeletal development. *Dev Cell* 2002; 2: 389–406.
2. Theill LE, Boyle WJ, Penninger JM. RANK-L and RANK: T cells, bone loss, and mammalian evolution. *Annu Rev Immunol* 2002; 20: 795–823.
3. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature* 2003; 423: 337–42.
4. Tsuda E, Goto M, Mochizuki S, et al. Isolation of a novel cytokine from human fibroblasts that specifically inhibits osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 234: 137–42.
5. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997; 89: 309–19.
6. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, et al. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 3597–602.



7. Lacey DL, Timms E, Tan HL, et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 1998; 93: 165–76.
8. Anderson DM, Maraskovsky E, Billingsley WL, et al. A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function. *Nature* 1998; 390: 175–9.
9. Wong BR, Rho J, Arron J, et al. TRANCE is a novel ligand of the tumor necrosis factor receptor family that activates c-Jun N-terminal kinase in T cells. *J Biol Chem* 1997; 272: 25190–4.
10. Williamson E, Bilsborough JM, Viney JL. Regulation of mucosal dendritic cell function by receptor activator of NF- $\kappa$ B (RANK)/RANK ligand interactions: impact on tolerance induction. *J Immunol* 2002; 169: 3606–12.
11. Wong BR, Josien R, Lee SY, et al. TRANCE (tumor necrosis factor [TNF]-related activation-induced cytokine), a new TNF family member predominantly expressed in T cells, is a dendritic cell-specific survival factor. *J Exp Med* 1997; 186: 2075–80.
12. Fata JE, Kong YY, Li J, et al. The osteoclast differentiation factor osteoprotegerin-ligand is essential for mammary gland development. *Cell* 2000; 103: 41–50.
13. Asselin-Labat ML, Vaillant F, Sheridan JM. Control of mammary stem cell function by steroid hormone signalling. *Nature* 2010; 465: 798–802.
14. Gonzalez-Suarez E, Brandstetter D, Armstrong A, et al. RANK overexpression in transgenic mice with mouse mammary tumor virus promoter-controlled RANK increases proliferation and impairs alveolar differentiation in the mammary epithelia and disrupts lumen formation in cultured epithelial acini. *Mol Cell Biol* 2007; 27: 1442–54.
15. Joshi PA, Jackson HW, Beristain AG, et al. Progesterone induces adult mammary stem cell expansion. *Nature* 2010; 465: 803–7.
16. Schramek D, Leibbrandt A, Sigl V, et al. Osteoclast differentiation factor RANKL controls development of progesterin-driven mammary cancer. *Nature* 2010; 468: 98–102.
17. Gonzalez-Suarez E, Jacob AB, Jones J, et al. RANK ligand mediates progesterin-induced mammary epithelial proliferation and carcinogenesis. *Nature* 2010; 468: 103–7.
18. Dougall WC, Glaccum M, Charrier K, et al. RANK is essential for osteoclast and lymph node development. *Genes Dev* 1999; 13: 2412–24.
19. Kong YY, Yoshida H, Sarosi I, et al. OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature* 1999; 397: 315–23.
20. Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, et al. Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev* 1998; 12: 1260–8.
21. Hughes AE, Ralston SH, Marken J, et al. Mutations in TNFRSF11A, affecting the signal peptide of RANK, cause familial expansile osteolysis. *Nat Genet* 2000; 24: 45–8.
22. Guerrini MM, Sobacchi C, Cassani B, et al. Human osteoclast-poor osteopetrosis with hypogammaglobulinemia due to TNFRSF11A (RANK) mutations. *Am J Hum Genet* 2008; 83: 64–76.
23. Whyte MP, Obrecht SE, Finnegan PM, et al. Osteoprotegerin deficiency and juvenile Paget's disease. *N Engl J Med* 2002; 347: 175–84.
24. Cummings SR, San Martin J, McClung MR, et al.; FREEDOM Trial. Denosumab for prevention of fractures in postmenopausal women with osteoporosis. *N Engl J Med* 2009; 361: 756–65.
25. Smith MR, Egerdie B, Hernández Toriz N, et al.; Denosumab HALT Prostate Cancer Study Group. Denosumab in men receiving androgen-deprivation therapy for prostate cancer. *N Engl J Med* 2009; 361: 745–55.
26. Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, et al. Estrogen stimulates gene expression and protein production of osteoprotegerin in human osteoblastic cells. *Endocrinology* 1999; 140: 4367–70.
27. Kong YY, Feige U, Sarosi I, et al. Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand. *Nature* 1999; 402: 304–9.
28. Akiyama T, Shimo Y, Yanai H, et al. The tumor necrosis factor family receptors RANK and CD40 cooperatively establish the thymic medullary microenvironment and self-tolerance. *Immunity* 2008; 29: 423–37.
29. Hikosaka Y, Nitta T, Ohigashi I, et al. The cytokine RANKL produced by positively selected thymocytes fosters medullary thymic epithelial cells that express autoimmune regulator. *Immunity* 2008; 29: 438–50.
30. Loser K, Mehling A, Loeser S, et al. Epidermal RANKL controls regulatory T-cell numbers via activation of dendritic cells. *Nat Med* 2006; 12: 1372–9.
31. Teng YT, Nguyen H, Gao X, et al. Functional human T-cell immunity and osteoprotegerin ligand control alveolar bone destruction in periodontal infection. *J Clin Invest* 2000; 106: R59–67.
32. Hanada R, Leibbrandt A, Hanada T, et al. Central control of fever and female body temperature by RANKL/RANK. *Nature* 2009; 462: 505–9.
33. Mulac-Jericevic B, Lydon JP, DeMayo FJ, et al. Defective mammary gland morphogenesis in mice lacking the progesterone receptor B isoform. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 9744–9.
34. Srivastava S, Matsuda M, Hou Z, et al. Receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand induction via Jak2 and Stat5a in mammary epithelial cells. *J Biol Chem* 2003; 278: 46171–8.
35. Beleut M, Rajaram RD, Caikovski M, et al. Two distinct mechanisms underlie progesterone-induced proliferation in the mammary gland. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 2989–94.
36. Mukherjee A, Soyol SM, Li J, et al. Targeting RANKL to a specific subset of murine mammary epithelial cells induces ordered branching morphogenesis and alveologensis in the absence of progesterone receptor expression. *FASEB J* 2010; 107: 4408–19.
37. Brisken C, Kaur, Chavarria TE, et al. Prolactin controls mammary gland development via direct and indirect mechanisms. *Dev Biol* 1999; 210: 96–106.
38. Ormandy CJ, Binart N, Kelly PA. Mammary gland development in prolactin receptor knockout mice. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 1997; 2: 355–64.
39. Liu X, Robinson GW, Wagner KU, et al. Stat5a is mandatory for adult mammary gland development and lactogenesis. *Genes Dev* 1997; 11: 179–86.
40. Cao Y, Bonizzi G, Seagroves TN, et al. IKK $\alpha$  provides an essential link between RANK signaling and cyclin D1 expression during mammary gland development. *Cell* 2001; 107: 763–75.
41. Kim NS, Kim HJ, Koo BK, et al. Receptor activator of NF- $\kappa$ B ligand regulates the proliferation of mammary epithelial cells via Id2. *Mol Cell Biol* 2006; 26: 1002–13.
42. Tiede B, Kang Y. From milk to malignancy: the role of mammary stem cells in development, pregnancy and breast cancer. *Cell Res* 2011; 21: 245–57.
43. Luo J, Yin X, Ma T, et al. Stem cells in normal mammary gland and breast cancer. *Am J Med Sci* 2010; 339: 366–70.
44. Kovacs CS, Kronenberg HM. Maternal-fetal calcium and bone metabolism during pregnancy, puerperium, and lactation. *Endocr Rev* 1997; 18: 832–72.
45. Mundy GR. Metastasis to bone: causes, consequences and therapeutic opportunities. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 584–93.
46. Fidler IJ. The pathogenesis of cancer metastasis: the 'seed and soil' hypothesis revisited. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 453–8.
47. Weigelt B, Peterse JL, van 't Veer LJ. Breast cancer metastasis: markers and models. *Nat Rev Cancer* 2005; 5: 591–602.
48. Dougall WC, Chaisson M. The RANK/RANKL/OPG triad in cancer-induced bone diseases. *Cancer Metastasis Rev* 2006; 25: 541–9.
49. Jones DH, Nakashima T, Sanchez OH, et al. Regulation of cancer cell migration and bone metastasis by RANKL. *Nature* 2006; 440: 692–6.
50. Morony S, Capparelli C, Sarosi I, et al. Osteoprotegerin inhibits osteolysis and decreases skeletal tumor burden in syngeneic and nude mouse models of experimental bone metastasis. *Cancer Res* 2001; 61: 4432–6.
51. Miller RE, Roudier M, Jones J, et al. RANK ligand inhibition plus docetaxel improves survival and reduces tumor burden in a murine model of prostate cancer bone metastasis. *Mol Cancer Ther* 2008; 7: 2160–9.
52. Ignatowski KM, Escara-Wilke JF, Dai JL, et al. RANKL inhibition is an effective adjuvant for docetaxel in a prostate cancer bone metastases model. *Prostate* 2008; 68: 820–9.
53. Stopeck AT, Lipton A, Body JJ, et al. Denosumab compared with zoledronic acid for the treatment of bone metastases in patients with advanced breast cancer: a randomized, double-blind study. *J Clin Oncol* 2010; 28: 5132–9.
54. Fizazi K, Carducci M, Smith M, et al. Denosumab versus zoledronic acid for treatment of bone metastases in men with castration-resistant prostate cancer: a randomized, double-blind study. *Lancet* 2011; 337: 813–22.
55. Tan W, Zhang W, Strasner A, et al. Tumor-infiltrating regulatory T cells stimulate mammary cancer metastasis through RANKL-RANK signalling. *Nature* 2011; 470: 548–53.
56. Ferlay J, Autier P, Boniol M, et al. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Ann Oncol* 2007; 18: 581–92.
57. Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin* 2009; 59: 225–49.
58. Oakes SR, Robertson FG, Kench JG, et al. Loss of mammary epithelial prolactin receptor delays tumor formation by reducing cell proliferation in low-grade preinvasive lesions. *Oncogene* 2007; 26: 543–53.
59. Conneely OM, Jericevic BM, Lydon JP. Progesterone receptors in mammary gland development and tumorigenesis. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2003; 8: 205–14.
60. Pike MC, Peters RK, Cozen W, et al. Estrogen-progestin replacement therapy and endometrial cancer. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 1110–6.
61. Rossouw JE, Anderson GL, Prentice RL, et al.; Writing Group for the Women's Health Initiative Investigators. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women: principal results From the Women's Health Initiative randomized controlled trial. *JAMA* 2002; 288: 321–33.
62. Beral V. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet* 2003; 362: 419–27.
63. Cummings JA, Brizendine L. Comparison of physical and emotional side effects of progesterone or medroxyprogesterone in early postmenopausal women. *Menopause* 2002; 9: 253–63.
64. Mishell DR jun. Pharmacokinetics of depot medroxyprogesterone acetate contraception. *J Repr Med* 1996; 41 (5 Suppl): 381–90.
65. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144: 646–74.
66. Winchester DP, Jeske JM, Goldschmidt RA. The diagnosis and management of ductal carcinoma in-situ of the breast. *CA Cancer J Clin* 2000; 50: 184–200.

# Mitteilungen aus der Redaktion

## Besuchen Sie unsere zeitschriftenübergreifende Datenbank

[Bilddatenbank](#)

[Artikeldatenbank](#)

[Fallberichte](#)

## e-Journal-Abo

Beziehen Sie die elektronischen Ausgaben dieser Zeitschrift hier.

Die Lieferung umfasst 4–5 Ausgaben pro Jahr zzgl. allfälliger Sonderhefte.

Unsere e-Journale stehen als PDF-Datei zur Verfügung und sind auf den meisten der marktüblichen e-Book-Readern, Tablets sowie auf iPad funktionsfähig.

[Bestellung e-Journal-Abo](#)

## Haftungsausschluss

Die in unseren Webseiten publizierten Informationen richten sich **ausschließlich an geprüfte und autorisierte medizinische Berufsgruppen** und entbinden nicht von der ärztlichen Sorgfaltspflicht sowie von einer ausführlichen Patientenaufklärung über therapeutische Optionen und deren Wirkungen bzw. Nebenwirkungen. Die entsprechenden Angaben werden von den Autoren mit der größten Sorgfalt recherchiert und zusammengestellt. Die angegebenen Dosierungen sind im Einzelfall anhand der Fachinformationen zu überprüfen. Weder die Autoren, noch die tragenden Gesellschaften noch der Verlag übernehmen irgendwelche Haftungsansprüche.

Bitte beachten Sie auch diese Seiten:

[Impressum](#)

[Disclaimers & Copyright](#)

[Datenschutzerklärung](#)