

Aus der
Universitätsklinik für Urologie Tübingen

**Untersuchungen zur prognostischen Bedeutung von
Apo10 und Transketolase-like-1 in zirkulierenden
Makrophagen beim Prostatakarzinom**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

vorgelegt von

Löhr, Carsten Martin

2020

Dekan:	Professor Dr. B. Pichler
1. Berichterstatter:	Professor Dr. J. Bedke
2. Berichterstatter:	Privatdozent Dr. H. Löffler

Tag der Disputation:	30.09.2020
----------------------	------------

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	10
1.1	Das Prostatakarzinom	10
1.1.1	Epidemiologie.....	10
1.1.2	Ätiologie	11
1.1.3	Klinik	12
1.1.4	Stadieneinteilung	12
1.1.4.1	Staging.....	12
1.1.4.2	Grading.....	13
1.1.5	Diagnostik und Früherkennung	13
1.1.5.1	Digital-rektale Untersuchung	14
1.1.5.2	PSA-Bestimmung.....	14
1.1.5.3	Transrektaler Ultraschall	15
1.1.5.4	Bildgebende Verfahren	16
1.1.5.5	Prostatastanzbiopsie	16
1.1.5.6	Molekulare Marker.....	16
1.1.6	Therapie des lokalisierten Prostatakarzinoms	17
1.1.6.1	Active Surveillance	17
1.1.6.2	Radikale Prostatektomie.....	18
1.1.6.3	Radiotherapie	18
1.1.7	Therapie des fortgeschrittenen Prostatakarzinoms	19
1.1.7.1	Watchful Waiting	19
1.1.7.2	Hormonablative Therapie.....	19
1.1.7.3	Chemotherapie	20
1.1.7.4	Molekulare Therapien	20
1.1.8	Prognostik und Nachsorge.....	20
1.2	EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1	23
1.2.1	Apo10 (DNase X) als Marker für Apoptoseresistenz.....	23
1.2.1.1	Die Apoptose.....	23
1.2.1.2	DNasen	24
1.2.1.3	Die DNase I-Familie	24
1.2.1.4	DNase X/Apo10	25
1.2.1.5	Apo10-Expression in Malignomen	26
1.2.2	Transketolase-like 1 als Marker für Tumorstoffwechsel.....	26
1.2.2.1	Der Pentosephosphat-Weg	26
1.2.2.2	Der Warburg-Effekt	27
1.2.2.3	Die Entdeckung von TKTL1	28
1.2.2.4	TKTL1-Expression in Malignomen	29
1.2.3	Die EDIM-Technologie	31
1.2.3.1	Methodik	31
1.2.3.2	Die EDIM-Scores zur Detektion von Malignomen	31
1.2.3.3	Die EDIM-Scores im postoperativen Kontext	32
1.2.3.4	Die EDIM-Scores beim Prostatakarzinom.....	33
1.3	Ziel der Studie	34

2	Material und Methoden	35
2.1	Patientenkollektiv.....	35
2.1.1	Einschlusskriterien.....	35
2.1.2	Ausschlusskriterien.....	35
2.2	Ethikvotum.....	36
2.3	Erhebung der Krankheitsverläufe	36
2.3.1	Telefonischer Patientenkontakt	37
2.3.2	In-house Follow-Up.....	37
2.3.3	Ärztlicher Kontakt	37
2.3.4	Inhalt der Erhebungen.....	38
2.3.5	Verarbeitung der erhobenen Daten.....	38
2.4	Die Follow-Up-Blutentnahmen	39
2.4.1	Vereinbarung der Termine.....	39
2.4.2	Entnahme der Blutproben	40
2.4.3	Verarbeitung der Blutproben	40
2.4.4	Bestimmung der EDIM-Scores	41
2.4.5	Dokumentation	42
2.5	Statistische Analyse	43
2.5.1	Definition der Events.....	43
2.5.2	Allgemeine Gliederung der Auswertung.....	44
2.5.3	Gliederung der statistischen Analyse.....	44
2.5.4	Statistische Tests.....	45
2.5.5	Verwendete Cut-Offs.....	45
2.5.5.1	Cut-Offs zur Dichotomisierung der Entwicklung der EDIM-Scores.....	46
3	Ergebnisse	47
3.1	Erhobene Krankheitsverläufe.....	47
3.2	Erfasste Events	47
3.3	Ausgewertete Blutentnahmen	49
3.4	Charakteristika der Patientenkollektive	49
3.4.1	Das präoperative Grundkollektiv.....	49
3.4.1.1	Alter der Patienten.....	49
3.4.1.2	Erfasste EDIM-Scores.....	49
3.4.2	Das postoperative Kollektiv	50
3.4.2.1	Zeitlicher Abstand zur Operation und Alter der Patienten.....	50
3.4.2.2	Erfasste EDIM-Scores.....	50
3.4.2.3	Entwicklung der EDIM-Scores von prä- zu postoperativ	51
3.4.3	Das Follow-Up-Kollektiv	51
3.4.3.1	Zeitlicher Abstand zur Operation und Alter der Patienten.....	51
3.4.3.2	Erfasste EDIM-Scores.....	51
3.4.3.3	Entwicklung der EDIM-Scores von präoperativ zur Follow-Up-Blutentnahme	52

3.5	Die präoperativen EDIM-Scores im Vergleich zum Krankheitsverlauf.....	53
3.5.1	Stetige Messwerte.....	53
3.5.2	Dichotomisierung	53
3.5.3	Überlebenszeitanalysen	54
3.6	Die postoperativen EDIM-Scores im Vergleich zum Krankheitsverlauf.....	55
3.6.1	Stetige Messwerte.....	55
3.6.2	Dichotomisierung	55
3.6.3	Überlebenszeitanalysen	56
3.7	Die Entwicklung der EDIM-Scores von präoperativ zu postoperativ im Vergleich zum Krankheitsverlauf.....	57
3.7.1	Stetige Messwerte.....	57
3.7.2	Dichotomisierung (Anstieg/Rückgang).....	57
3.7.3	Überlebenszeitanalysen (Anstieg/Rückgang).....	58
3.7.4	Überlebenszeitanalysen (Einteilung nach Quartilen)	59
3.8	Die Follow-Up-EDIM-Scores im Vergleich zum Krankheitsverlauf.....	63
3.8.1	Stetige Messwerte.....	63
3.8.1.1	Logistische Anpassung.....	65
3.8.2	Dichotomisierung	65
3.8.3	Überlebenszeitanalysen	66
3.9	Die Entwicklung der EDIM-Scores von präoperativ zur Follow-Up-Blutentnahme im Vergleich zum Krankheitsverlauf ...	68
3.9.1	Stetige Messwerte.....	68
3.9.2	Dichotomisierung (Anstieg/Rückgang).....	69
3.9.3	Überlebenszeitanalysen (Anstieg/Rückgang).....	70
3.9.4	Überlebenszeitanalysen (Einteilung nach Quartilen)	71
4	Diskussion.....	73
4.1	Zielsetzung der vorliegenden Studie.....	73
4.2	Zusammenfassung der Ergebnisse	73
4.3	Methodische Aspekte	74
4.3.1	Anzahl der Studienteilnehmer	74
4.3.2	Homogenität des Grundkollektivs	75
4.3.3	Erhebung von Krankheitsverläufen	76
4.3.4	Durchführung der Follow-Up-Blutentnahmen	77
4.3.5	Bestimmung der EDIM-Scores	78
4.3.6	Definition der Cut-Offs.....	78

4.4	Bewertung der vorliegenden Ergebnisse	80
4.4.1	Die Aussagekraft der prä- und postoperativen EDIM-Scores	80
4.4.2	Die Entwicklung der EDIM-Scores von prä- zu postoperativ korreliert mit dem Auftreten von biochemischen Rezidiven und Metastasierungen.....	81
4.4.3	Die Höhe der Follow-Up-EDIM-Scores korreliert mit dem Auftreten von biochemischen Rezidiven.....	83
4.4.4	Die Entwicklung der EDIM-Scores von präoperativ zur Follow-Up-Blutentnahme korreliert mit dem Auftreten von biochemischen Rezidiven.....	85
4.4.5	Unterschiede in der Kinetik der EDIM-Scores.....	87
4.5	Die EDIM-Scores im Vergleich zu anderen Verfahren zur Detektion von Tumorrezidiven	89
4.5.1	PSA und PSA-Isoformen	89
4.5.2	Zirkulierende Tumorzellen	91
4.5.3	Molekulare Marker	91
4.5.4	Einordnung der Ergebnisse der vorliegenden Studie vor dem Hintergrund klinischer Anwendung	92
4.6	Limitationen der vorliegenden Studie.....	94
4.6.1	Erhebung der Krankheitsverläufe	94
4.6.2	Auswertung der erhobenen PSA-Werte.....	95
4.7	Schlussfolgerung.....	96
4.8	Weiterführende Fragestellungen.....	96
5	Zusammenfassung.....	98
6	Literaturverzeichnis.....	100
7	Erklärung zum Eigenanteil	112
8	Anhang.....	113
9	Veröffentlichung.....	115
10	Danksagung.....	116

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Flow-Chart über den Studienverlauf.....	39
Abbildung 2: Schematische Darstellung der Grundlagen der EDIM-Technologie (Biovis Diagnostik MVZ GmbH).....	41
Abbildung 3: Kaplan-Meier-Darstellung zum Auftreten einer Metastasierung (Met) in Abhängigkeit der Entwicklung der EDIM-Summe von präoperativ zu postoperativ (dichotomisiert nach Anstieg/Rückgang).	59
Abbildung 4: Kaplan-Meier-Darstellung zum Auftreten eines biochemischen Rezidivs (BCR) in Abhängigkeit der Entwicklung des Apo10-Scores von präoperativ zu postoperativ um > -13 und ≤ -13 (75%-Quartil der Differenz).	60
Abbildung 5: Kaplan-Meier-Darstellung zum Auftreten einer Metastasierung (Met) in Abhängigkeit der Entwicklung des Apo10-Scores von präoperativ zu postoperativ um > -13 und ≤ -13 (75%-Quartil der Differenz).	60
Abbildung 6: Kaplan-Meier-Darstellung zum Auftreten eines biochemischen Rezidivs (BCR) in Abhängigkeit der Entwicklung des TKTL1-Scores von präoperativ zu postoperativ um > -25 und ≤ -25 (Median der Differenz).	61
Abbildung 7: Kaplan-Meier-Darstellung zum Auftreten einer Metastasierung (Met) in Abhängigkeit der Entwicklung des TKTL1-Scores von präoperativ zu postoperativ um > -25 und ≤ -25 (Median der Differenz).	61
Abbildung 8: Kaplan-Meier-Darstellung zum Auftreten eines biochemischen Rezidivs (BCR) in Abhängigkeit der Entwicklung der EDIM-Summe von präoperativ zu postoperativ um $> -15,75$ und $\leq -15,75$ (75%-Quartil der Differenz). ...	62
Abbildung 9: Kaplan-Meier-Darstellung zum Auftreten einer Metastasierung (Met) in Abhängigkeit der Entwicklung der EDIM-Summe von präoperativ zu postoperativ um $> -15,75$ und $\leq -15,75$ (75%-Quartil der Differenz).	62
Abbildung 10: Vergleich der Follow-Up-Apo10-Scores (stetig) zwischen den Gruppen mit/ohne Auftreten von biochemischen Rezidiven (BCR).	63
Abbildung 11: Vergleich der Follow-Up-TKTL1-Scores (stetig) zwischen den Gruppen mit/ohne Auftreten von biochemischen Rezidiven (BCR).	64
Abbildung 12: Vergleich der Follow-Up-EDIM-Summen (stetig) zwischen den Gruppen mit/ohne Auftreten von biochemischen Rezidiven (BCR).	64
Abbildung 13: Kaplan-Meier-Darstellung zum Auftreten eines biochemischen Rezidivs (BCR) in Abhängigkeit des gemessenen Follow-Up-Apo10-Scores größer/kleiner-gleich Cut-Off.	66
Abbildung 14: Kaplan-Meier-Darstellung zum Auftreten eines biochemischen Rezidivs (BCR) in Abhängigkeit des gemessenen Follow-Up-TKTL1-Scores größer/kleiner-gleich Cut-Off.	67
Abbildung 15: Kaplan-Meier-Darstellung zum Auftreten eines biochemischen Rezidivs (BCR) in Abhängigkeit der gemessenen Follow-Up-EDIM-Summe größer/kleiner-gleich Cut-Off.	67

Abbildung 16: Vergleich der Entwicklung der EDIM-Summen von präoperativ zur Follow-Up-Blutentnahme (stetig) zwischen den Gruppen mit/ohne Auftreten von biochemischen Rezidiven (BCR).	69
Abbildung 17: Kaplan-Meier-Darstellung zum Auftreten eines biochemischen Rezidivs (BCR) in Abhängigkeit von Anstieg/Rückgang des Apo10-Scores von präoperativ zur Follow-Up-Blutentnahme.....	70
Abbildung 18: Kaplan-Meier-Darstellung zum Auftreten eines biochemischen Rezidivs (BCR) in Abhängigkeit der Entwicklung der EDIM-Summe von präoperativ zur Follow-Up-Blutentnahme um $> -33,5$ und $\leq -33,5$ (75%-Quartil der Differenz).....	71
Abbildung 19: Kaplan-Meier-Darstellung zum Auftreten eines biochemischen Rezidivs (BCR) in Abhängigkeit der Entwicklung des TKTL1-Scores von präoperativ zur Follow-Up-Blutentnahme um $> -21,5$ und $\leq -21,5$ (75%-Quartil der Differenz).....	72
Abbildung 20: FAX-Formular zur Kontaktierung der behandelnden Ärzte der Patienten.	113
Abbildung 21: Fragebogen zur Datenerhebung bei telefonischem Patientenkontakt.	114

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht über Publikationen zur Korrelation von erhöhter TKTL1-Expression im Tumorgewebe zu klinischen und histologischen Parametern.....	29
Tabelle 2: Zeitlicher Abstand der dokumentierten Events von der Operation.	48
Tabelle 3: Statistische Kennzahlen aller ausgewerteten Blutentnahmen (Übersicht). ..	49
Tabelle 4: Dichotomisierte EDIM-Scores der präoperativen Blutentnahme.....	50
Tabelle 5: Dichotomisierte EDIM-Scores der postoperativen Blutentnahme.	50
Tabelle 6: Entwicklung der EDIM-Scores von präoperativ zu postoperativ.....	51
Tabelle 7: Dichotomisierte EDIM-Scores der Follow-Up-Blutentnahme.....	51
Tabelle 8: Übersicht der ausgewerteten Apo10-Scores (alle Messzeitpunkte).	52
Tabelle 9: Übersicht der ausgewerteten TKTL1-Scores (alle Messzeitpunkte).	52
Tabelle 10: Übersicht der ausgewerteten EDIM-Summen (alle Messzeitpunkte).	52
Tabelle 11: Entwicklung der EDIM-Scores von präoperativ zur Follow-Up-Blutentnahme.....	52
Tabelle 12: Vergleich der präoperativen EDIM-Scores (stetig) zwischen den Gruppen mit/ohne Auftreten von biochemischen Rezidiven (BCR)/Metastasierungen.	53
Tabelle 13: Kontingenztafeln zum Vergleich des Auftretens von biochemischen Rezidiven (BCR) und Metastasierungen (Met) in Abhängigkeit der präoperativen EDIM-Scores (größer/kleiner-gleich Cut-Off), p-Werte der exakten Tests nach Fisher.	54
Tabelle 14: Vergleich des Auftretens von biochemischen Rezidiven (BCR) und Metastasierungen in Abhängigkeit der präoperativen EDIM-Scores (größer/kleiner-gleich Cut-Off).	54
Tabelle 15: Vergleich der postoperativen EDIM-Scores (stetig) zwischen den Gruppen mit/ohne Auftreten von biochemischen Rezidiven (BCR)/Metastasierungen.	55
Tabelle 16: Kontingenztafeln zum Vergleich des Auftretens von biochemischen Rezidiven (BCR) und Metastasierungen (Met) in Abhängigkeit der postoperativen EDIM-Scores (größer/kleiner-gleich Cut-Off), p-Werte der exakten Tests nach Fisher.	56
Tabelle 17: Vergleich des Auftretens von biochemischen Rezidiven (BCR) und Metastasierungen in Abhängigkeit der postoperativen EDIM-Scores (größer/kleiner-gleich Cut-Off).	56
Tabelle 18: Vergleich der Entwicklung der EDIM-Scores von präoperativ zu postoperativ (stetig) zwischen den Gruppen mit/ohne Auftreten von biochemischen Rezidiven (BCR)/Metastasierungen.	57
Tabelle 19: Kontingenztafeln zum Vergleich des Auftretens von biochemischen Rezidiven (BCR) und Metastasierungen (Met) in Abhängigkeit der Entwicklung der EDIM-Scores von präoperativ zu postoperativ (dichotomisiert nach Anstieg/Rückgang), p-Werte der exakten Tests nach Fisher.	58

Tabelle 20: Vergleich des Auftretens von biochemischen Rezidiven (BCR) und Metastasierungen in Abhängigkeit der Entwicklung der EDIM-Scores von präoperativ zu postoperativ (dichotomisiert nach Anstieg/Rückgang).	58
Tabelle 21: Vergleich des Auftretens von biochemischen Rezidiven (BCR) in Abhängigkeit der gemessenen Follow-Up-EDIM-Scores (stetig).....	65
Tabelle 22: Kontingenztafeln zum Vergleich des Auftretens von biochemischen Rezidiven (BCR) in Abhängigkeit der Follow-Up-EDIM-Scores (größer/kleiner-gleich Cut-Off), p-Werte der exakten Tests nach Fisher.	65
Tabelle 23: Vergleich der Entwicklung der EDIM-Scores von präoperativ zur Follow-Up-Blutentnahme (stetig) zwischen den Gruppen mit/ohne Auftreten von biochemischen Rezidiven (BCR).	68
Tabelle 24: Kontingenztafeln zum Vergleich des Auftretens von biochemischen Rezidiven (BCR) in Abhängigkeit der Entwicklung der EDIM-Scores von präoperativ zur Follow-Up-Blutentnahme (dichotomisiert nach Anstieg/Rückgang), p-Werte der exakten Tests nach Fisher.....	69
Tabelle 25: Vergleich des Auftretens von biochemischen Rezidiven (BCR) in Abhängigkeit der Entwicklung der EDIM-Scores von präoperativ zur Follow-Up-Blutentnahme (dichotomisiert nach Anstieg/Rückgang).....	70

Abkürzungsverzeichnis

BCR	Biochemisches Rezidiv
CAD	Caspase-aktivierte DNase
CD	Cluster of differentiation
CT	Computertomographie
CTC	Circulating tumor cells
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DRU	Digital-rektale Untersuchung
EDIM	Epitope detection in Monocytes
ESCC	Ösophageales Plattenepithelkarzinom
hK2	Human Kallikrein 2
IHC	Immunhistochemie
IL6	Interleukin 6
IL6-R	Interleukin 6 Rezeptor
ISUP	International Society of Urological Pathology
miR-141	MicroRNA 141
MRT	Magnetresonanztomographie
NSCLC	Nicht-kleinzelliges Bronchialkarzinom
OSCC	Orales Plattenepithelkarzinom
PCA3	Prostate cancer antigen 3
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PPW	Pentosephosphat-Weg
PSA	Prostata-spezifisches Antigen
PSMA	Prostata-spezifisches-Membran-Antigen
ROC	Receiver operating characteristic
TGF-β	Transforming growth factor beta
TKTL1	Transketolase-like-1
TKTL2	Transketolase-like-2
TRUS	Transrektaler Ultraschall
UICC	Union internationale contre le cancer
uPA	Urokinase-Plasminogenaktivator
uPA-R	Urokinase-Plasminogenaktivator Rezeptor

1 Einleitung

1.1 Das Prostatakarzinom

1.1.1 Epidemiologie

Das Prostatakarzinom gehört zu den häufigsten Krebserkrankungen der Welt. Die weltweite Inzidenz wird für das Jahr 2018 auf 1,3 Millionen Neuerkrankungen geschätzt. Damit stellt das Prostatakarzinom, global betrachtet, nach Lungenkrebs das zweithäufigste maligne Tumorleiden unter Männern dar (Bray et al., 2018). In mehr als der Hälfte aller Länder steht es sogar auf dem ersten Platz der häufigsten Malignome: Dies betrifft vor allem gut entwickelte Industrienationen in Nord- und Westeuropa, Australien, den amerikanischen Kontinent, sowie viele afrikanische Länder der Subsahara (Bray et al., 2018). Die weltweit niedrigsten Neuerkrankungsraten finden sich in Asien - dort vor allem im Süden und Südosten (Zhang et al., 2017). In Europa zeigt die altersstandardisierte Inzidenz von Prostatakarzinomen ein großes Nord-Süd-Gefälle: 2012 lag sie in Norwegen bei 193/100.000 Einwohnern, in Albanien jedoch lediglich bei 25/100.000 Einwohnern (Ferlay et al., 2013). Insgesamt ist weltweit eine deutlich steigende Neuerkrankungsrate von Prostatakarzinomen zu beobachten. Industrienationen verzeichnen besonders hohe Inzidenzen, die Mortalitätsraten sind dabei jedoch im Vergleich zu anderen Ländern nicht erhöht (Wong et al., 2016).

In Deutschland ist das Prostatakarzinom mit knapp 60.000 jährlichen Neuerkrankungen (Stand 2014), mit Ausnahme der nicht-melanotischen Hautkrebsformen, der häufigste maligne Tumor des Mannes. Im Jahr 2014 sind knapp 14.000 Menschen in Deutschland an den Folgen der Erkrankung verstorben (Hermann & Kraywinkel, 2019). Die große Diskrepanz zwischen der Anzahl diagnostizierter Prostatakarzinome und der assoziierten Mortalitätsrate zeigt, dass viele Prostatakarzinome nicht zum Tod der Patienten führen. Die Patienten sterben nicht wegen, sondern mit ihrem Karzinom (Hauri, 2000). Autopsiestudien belegen eine enorme Prävalenz dieser sog. insignifikanten Prostatakarzinome in der Bevölkerung (Jahn et al., 2015).

Zwischen den Jahren 1970 und 2003 stieg die altersstandardisierte Inzidenz des Prostatakarzinoms in Deutschland deutlich an, seitdem konnte eine Stagnation

beobachtet werden. Im Jahr 2013 lag sie bei 98/100.000 Einwohnern. Ähnliches gilt für die altersstandardisierte Mortalitätsrate: Diese stieg in Deutschland bis in die Mitte der 90er Jahre an, gefolgt von einem deutlichen Rückgang. Seit 2007 ist sie auf einem Niveau stabil geblieben und lag 2013 bei 20/100.000 Einwohnern. Betrachtet man diese Daten jedoch in absoluten Zahlen, so erleiden heute fünfmal so viele Patienten in Deutschland die Diagnose eines Prostatakarzinoms wie noch vor 40 Jahren. Im gleichen Zeitraum hat sich die absolute Zahl der assoziierten Todesfälle verdoppelt (Barnes et al., 2016).

1.1.2 Ätiologie

Die Ätiologie des Prostatakarzinoms ist weiterhin größtenteils unbekannt. In der aktuellen S3-Leitlinie zur Früherkennung, Diagnose und Therapie der verschiedenen Stadien des Prostatakarzinoms wird ein fortgeschrittenes Patientenalter als der wichtigste Risikofaktor für die Entstehung der Erkrankung genannt (Leitlinienprogramm Onkologie, 2019). Als gesichert gilt, dass Prostatakarzinome eine sehr große Heritabilität aufweisen: Eine positive Familienanamnese erhöht das Risiko einer Erkrankung deutlich (Rebbeck, 2017). Auch die ethnische Zugehörigkeit der Patienten beeinflusst das Erkrankungsrisiko. Afroamerikaner leiden weltweit unter der höchsten Inzidenz und besonders frühen Manifestationen von Prostatakarzinomen (Kheirandish & Chinegwundoh, 2011). Dies kann einerseits auf eine genetische Prädisposition für das Auftreten der Erkrankung (Robbins et al., 2011), andererseits aber auch auf sozioökonomische Zusammenhänge hindeuten (Hosain et al., 2011). Im Vergleich mit Afroamerikanern zeigt die dunkelhäutige Bevölkerung Afrikas deutlich niedrigere Inzidenz- und Mortalitätsraten, sodass eine westliche Lebensweise einen wesentlichen Risikofaktor darzustellen scheint (Chu et al., 2011). Diese Annahme wird durch eine steigende Inzidenz von Prostatakarzinomen bei Einwanderern aus Niedrigprävalenz-Ländern in Länder mit bestehender hoher Prävalenz gestützt (Grönberg, 2003). Ein gesunder Lebensstil, gekennzeichnet durch ausreichend Bewegung, fettarme Kost und ausreichend Zufuhr von Obst und Gemüse, scheint ein protektiver Faktor zu sein (Bostwick et al., 2004, Rawla, 2019) und wird zur Prävention von Malignomen von der American Cancer Society empfohlen (Kushi et al., 2012).

1.1.3 Klinik

Prostatakarzinom-Patienten äußern in lokal begrenzten Stadien oft keine Beschwerden, sodass das Fehlen einer Symptomatik leider keinen Rückschluss auf das Fehlen der Erkrankung zulässt. Erst bei lokal fortgeschrittenem Wachstum zeigt sich im Rahmen einer Einengung der Harnröhre eine typische obstruktive Symptomatik mit Harnverhalt. Diese kann jedoch auch bei der benignen Prostatahyperplasie und der Prostatitis auftreten. Bei der Bildung von Metastasen (i. d. R. ossär) zeigen sich häufig Knochenschmerzen. Mögliche Symptome des Prostatakarzinoms sind:

Allgemeinsymptome (wie Schwäche, Blässe, Gewichtsverlust, Anämie), obstruktive Symptomatik mit Harnverhalt, Hämaturie, Hämatospermie, Oligoanurie, Knochen-/Kreuzschmerzen bei ossären Metastasen, Urämie bei progressiver Niereninsuffizienz sowie Lymphödeme der unteren Extremität bei einer Infiltration des kleinen Beckens (Hauri, 2000).

1.1.4 Stadieneinteilung

1.1.4.1 Staging

Zur Einteilung von Größe und Ausdehnung des Prostatakarzinoms wird die TNM-Klassifikation verwendet: T bezeichnet dabei die Ausbreitung des Primärtumors, N das Fehlen oder Vorhandensein und die Ausbreitung von Lymphknotenmetastasen, M das Fehlen oder Vorhandensein von Fernmetastasen (Wittekind, 2017). Es ergibt sich eine „Kurzschrift“ zur Beschreibung einer malignen Erkrankung, die auch von der ‚Union internationale contre le cancer‘ (UICC) zur Einteilung in klinische Stadien genutzt wird. Diese Klassifikation ist allgemein anerkannt und wird in Studien und Leitlinien verwendet. Man spricht bei Vorliegen eines N1 und/oder M1-Stadiums von einem fortgeschrittenen bzw. metastasiertem Prostatakarzinom. Lokalisierte Formen werden anhand des T-Stadiums weiter unterteilt: T1/2 N0 M0 entspricht einem lokal begrenzten, T3/4 N0 M0 einem lokal fortgeschrittenen Prostatakarzinom (Wittekind, 2017).

1.1.4.2 Grading

Zur Einstufung der Aggressivität eines Prostatakarzinoms hat sich das histologische Grading nach Gleason etabliert (Gleason, 1992). Der Grad der Entdifferenzierung des Gewebes wird entsprechend einer Konsensuskonferenz der International Society of Urological Pathology (ISUP) im Jahre 2005 beurteilt (Epstein et al., 2005). Inzwischen liegt eine überarbeitete Version vor (Epstein et al., 2016). Es werden insgesamt fünf Wachstumsmuster unterschieden, der Gleason-Score ergibt sich dann durch Addition des primären (vorherrschenden) und sekundären (zweithäufigsten) Wachstumsmusters. Notiert werden die Einzelwertungen und die Summe beider. Ein höherer Gleason-Score entspricht einer geringeren Differenzierung des Ursprungsgewebes, ein niedrigerer Gleason-Score einer besseren Differenzierung (Gleason, 1992).

1.1.5 Diagnostik und Früherkennung

Das Prostatakarzinom unterliegt seit vielen Jahren einer kontroversen Diskussion über die Effektivität von Früherkennungsmaßnahmen und diagnostischen Mitteln. Laut aktueller S3-Leitlinie sollten Männer über 45 Jahren auf die Möglichkeit einer Früherkennung hingewiesen werden. Jeder Patient soll dabei über die bestehenden Vor- und Nachteile und die Aussagekraft der möglichen Ergebnisse aufgeklärt werden (Leitlinienprogramm Onkologie, 2019). Die Erkrankung hat eine Sonderstellung innerhalb der Onkologie inne: Die Mehrzahl aller Prostatakarzinome senkt zeitlebens weder die Lebensqualität noch die Lebenserwartung der Patienten (sog. insignifikante bzw. latente Tumore), durch eine sensitive Früherkennung werden diese Tumore dennoch detektiert und die betroffenen Patienten einer nebenwirkungsreichen Übertherapie zugeführt (Börgermann et al., 2014). Auf der anderen Seite ist eine kurative Behandlung des Prostatakarzinoms nur im organbegrenzten Stadium möglich. Da eine Symptomatik zumeist erst in fortgeschrittenen (und damit oft nicht mehr heilbaren) Stadien auftritt, ist eine Früherkennung zur rechtzeitigen Therapie dieser Patientenkohorte unverzichtbar. Die diagnostischen Mittel der Früherkennung sind jedoch bislang nicht in der Lage, eine sichere Unterscheidung zwischen insignifikanten und behandlungsbedürftigen Prostatakarzinomen zu treffen (Börgermann et al., 2014). Die aktuelle S3-Leitlinie rät zur Bestimmung des Prostata-spezifischen Antigens (PSA)

und zur kombinierten Durchführung einer digital-rektalen Untersuchung (DRU) (Leitlinienprogramm Onkologie, 2019).

1.1.5.1 Digital-rektale Untersuchung

Die digital-rektale Untersuchung stellt eine einfach durchführbare und kostengünstige diagnostische Maßnahme dar. Sie kann zur Grobabschätzung des T-Stadiums genutzt werden (Börgermann et al., 2014). Die DRU ist jedoch nicht geeignet, eine zuverlässige Früherkennung zu gewährleisten, und wird daher nicht als allein stehende Maßnahme empfohlen (Leitlinienprogramm Onkologie, 2019). Weder ein positives noch ein negatives Testergebnis der DRU reicht aus, um das Vorliegen eines Prostatakarzinoms zu bestätigen oder auszuschließen (Hoogendam et al., 1999). Bei suspekten Befunden in der DRU sind stets weitere diagnostische Schritte nötig. Die Kombination von DRU und PSA-Bestimmung erhöht die Spezifität der Früherkennung (Mistry & Cable, 2003).

1.1.5.2 PSA-Bestimmung

Das Prostata-spezifische Antigen wurde 1979 entdeckt und revolutionierte die Diagnostik und Behandlung des Prostatakarzinoms seit seiner klinischen Einführung in den 1980er Jahren (Wang et al., 1979, Börgermann et al., 2014). PSA ist eine Serinprotease, die hauptsächlich von der Prostata synthetisiert wird. In der Regel wird das totale PSA im Serum bestimmt, welches bei pathologischer Erhöhung übermäßig ins Blut sezerniert wird. Zwar konnte PSA in vielen menschlichen Geweben nachgewiesen werden, jedoch in weit geringeren Größenordnungen als in der Prostata, weshalb es effektiv einen organspezifischen Marker darstellt (Börgermann et al., 2014). PSA stellt jedoch keinen Tumormarker dar, da eine pathologische Erhöhung auf eine Vielzahl von Auslösern zurückzuführen sein kann. Dazu zählen benigne prostatistische Erkrankungen (Prostatitis, benigne Prostatahyperplasie), Manipulationen an der Prostata (DRU, transrektaler Ultraschall, transurethrale Katheter, Prostatastanziopsien), Medikamente (vor allem 5 α -Reduktasehemmer), aber auch nicht-medizinische Auslöser wie Radfahren oder sexuelle Aktivität (Price et al., 2001). Physiologische Eigenschaften wie Patientenalter und Ethnie können den PSA-Wert ebenfalls erheblich beeinflussen (Börgermann et al., 2014).

Über die Definition von Grenzwerten der PSA-Bestimmung wird seit Jahren kontrovers diskutiert: Je niedriger ein Cut-Off definiert wird, desto weniger Prostatakarzinome werden in der Diagnostik übersehen. Dafür steigt die Rate an detektierten klinisch irrelevanten Karzinomen (Thompson et al., 2004). In der Primärdiagnostik wird häufig ein Cut-Off von 4 ng/ml gewählt (Catalona et al., 1994). Da jedoch auch unterhalb dieses Grenzwertes von einem Karzinomrisiko auszugehen ist (Thompson et al., 2006), werden Patienten bei PSA-Werten unter 4 ng/ml gemäß ihres Alters und der Höhe des gemessenen PSA-Wertes in unterschiedlichen Intervallen (1 - 4 Jahre) nachkontrolliert (Leitlinienprogramm Onkologie, 2019). Ein jährlicher PSA-Anstieg um mehr als 0,75 ng/ml wird als malignitätsverdächtig eingestuft (Carter et al., 1992), wobei auch schon ein weniger deutlicher Anstieg auf ein Prostatakarzinom zurückzuführen sein kann (Berger et al., 2007). Die aktuelle S3-Leitlinie empfiehlt daher weitere diagnostische Maßnahmen bei einer Überschreitung des Cut-Offs von 4,0 ng/ml oder bei einem jährlichen PSA-Anstieg zwischen 0,35 ng/ml und 0,75 ng/ml (Leitlinienprogramm Onkologie, 2019).

Insgesamt unterliegt die PSA-Bestimmung einer kontroversen Diskussion um Einflussfaktoren, Grenzwerte, Messtechniken und die Aussagekraft der Ergebnisse. Die Folgen der PSA-basierten Diagnostik hingegen sind bekannt: Sie resultiert in einem deutlichen Anstieg der Inzidenz von Prostatakarzinomen durch eine Verschiebung der Detektion hin zu insignifikanten Tumoren. Dies ermöglicht zwar häufiger kurative Therapien in frühen Stadien, führt jedoch vor allem auch zu nebenwirkungsreicher Übertherapie. Bis zu 50 % aller durch Screening entdeckten und therapierten Prostatakarzinome werden unnötig behandelt (Börgermann et al., 2014).

1.1.5.3 Transrektaler Ultraschall

Der transrektale Ultraschall (TRUS) stellt lediglich ein optionales diagnostisches Verfahren dar (Leitlinienprogramm Onkologie, 2019). Die Spezifität der Untersuchung liegt, bei aufwendigerer und kostenintensiverer Durchführung, noch unter der Spezifität der DRU (Mettlin et al., 1996, Börgermann et al., 2014). Als Teil der sonographisch gesteuerten Stanzbiopsie und zur exakten Volumetrie der Prostata ist der TRUS jedoch etabliert (Heidenreich et al., 2014, Börgermann et al., 2014).

1.1.5.4 Bildgebende Verfahren

Bildgebende Verfahren (CT/MRT/Knochenszintigraphie) sind für die Diagnose eines Prostatakarzinoms nicht ausreichend geeignet (Börgermann et al., 2014). Sie spielen vor allem zur Ausbreitungsdiagnostik bei fortgeschrittenen Karzinomen eine Rolle. Patienten mit deutlichen Risikofaktoren (PSA-Wert > 10 ng/ml oder Gleason ≥ 8 oder T-Kategorie cT3/4 oder symptomatische Knochenschmerzen) werden vor allem zur Therapieplanung mittels Bildgebung untersucht (Leitlinienprogramm Onkologie, 2019).

1.1.5.5 Prostatastanzbiopsie

Die Prostatastanzbiopsie stellt einen operativen Eingriff dar und ist als nächste diagnostische Maßnahme bei Auffälligkeiten in der Primärdiagnostik indiziert (Leitlinienprogramm Onkologie, 2019). Sie wird unter Antibiotikaprophylaxe und Analgesie durchgeführt und kann zu Schmerzen und Infektionen führen (Börgermann et al., 2014). Sie sollte lediglich bei begründetem Verdacht auf ein Prostatakarzinom durchgeführt werden. Ein kontrollierter PSA-Wert von ≥ 4 ng/ml in der Früherkennungsuntersuchung, ein karzinomverdächtiges Ergebnis der DRU oder ein auffälliger individueller PSA-Anstieg gelten als Indikationen für die Durchführung (Leitlinienprogramm Onkologie, 2019). Dennoch können auch in der Stanzbiopsie Prostatakarzinome unentdeckt bleiben, sodass sie trotz Invasivität nicht immer definitive Aussagen zum Vorliegen der Erkrankung zulässt (Harris & Lohr, 2002).

1.1.5.6 Molekulare Marker

Die Limitationen der Früherkennung bergen großes Potenzial für neue prognostische Marker als klinische Entscheidungshilfen (Shariat et al., 2011). Molekulare Marker folgen dabei der Logik, dass sie biologische Prozesse auf molekularer Ebene (z.B. im Genom oder Proteom) detektieren und so behandlungsbedürftige Malignome möglichst frühzeitig identifizieren (Börgermann et al., 2014). Prognosebestimmende Merkmale einer Krebserkrankung, wie beispielsweise die Fähigkeit zur Metastasierung, scheinen bereits frühzeitig im Primärtumor detektierbar und damit potenziell auch therapierbar zu sein (Hanahan & Weinberg, 2011). Trotz über 10.000 publizierter Studien konnte sich bislang jedoch kein molekularer Marker in der klinischen Routine durchsetzen (Börgermann et al., 2014). Exemplarisch genannt werden sollen an dieser Stelle

TMPRSS2/ERG-Genfusion (Tomlins et al., 2009), PCA3 (Bussemakers et al., 1999), SelectMDx (Leyten et al., 2015) und die im Rahmen dieser Studie untersuchten Apo10 und TKTL1. Auch eine Kombination verschiedener Marker könnte prognostischen Nutzen zeigen (Hessels et al., 2007). Dieser läge vor allem in der Unterscheidung von klinisch insignifikanten, heilbaren und potenziell tödlichen Prostatakarzinomen (Kristiansen, 2012). Dazu bedürfen die vielfältigen molekularen Marker jedoch weiterer Forschung und Validierung, die aktuelle S3-Leitlinie berücksichtigt sie bislang nicht (Leitlinienprogramm Onkologie, 2019).

1.1.6 Therapie des lokalisierten Prostatakarzinoms

1.1.6.1 Active Surveillance

Aus dem Bewusstsein der unspezifischen Primärdiagnostik lokalisierter Prostatakarzinome heraus hat sich das Konzept der Active Surveillance (aktiven Überwachung) entwickelt. Dieses Konzept beinhaltet, bei Vorliegen geeigneter Tumorcharakteristika und unter Berücksichtigung von Patientenalter und Komorbiditäten, eine engmaschige Kontrolle der Patienten ohne definitive kurative Therapie und den Beginn einer solchen Intervention lediglich bei Progress der Erkrankung (Leitlinienprogramm Onkologie, 2019). Durch den abwartenden Ansatz können möglicherweise unnötige Therapien und ihre Nebenwirkungen verhindert werden (Parker, 2004). Auch nach fast 20 Jahren Beobachtungsdauer konnte der Active Surveillance, im Vergleich zur kurativen Therapie mittels Prostatektomie, keine erhöhte Gesamtmortalität oder prostata-spezifische Mortalität nachgewiesen werden. Zwar senkte die Durchführung der Operation die Anzahl der Behandlungen wegen eines Krankheitsprogresses, Patienten erlebten dadurch aber eben auch die Nebenwirkungen dieser Therapieform (Wilt et al., 2017). Die Active Surveillance erfordert eine intensive medizinische Betreuung und birgt die Gefahr einer verspäteten Intervention. Weiterhin kann die regelmäßige Kontrolle des PSA-Wertes zu vermehrten Sorgen und Ängsten beim Patienten führen (Dale et al., 2005).

1.1.6.2 Radikale Prostatektomie

Die radikale Prostatovesikulektomie (kurz: Prostatektomie) bezeichnet das operative Entfernen der gesamten Prostata inklusive der anhängenden Samenbläschen. Sie stellt derzeit für Patienten aller Risikogruppen, die eine Lebenserwartung von >10 Jahren aufweisen, die kurative Standardtherapie bei Vorliegen eines lokalisierten Prostatakarzinoms dar (Leitlinienprogramm Onkologie, 2019). Die radikale Prostatektomie senkt dabei in der Altersgruppe der Patienten unter 65 Jahren, im Vergleich zum abwartenden Vorgehen, signifikant die Häufigkeit der Progression der Erkrankung, das Risiko einer Fernmetastasierung, die tumorassoziierte Mortalität und die Gesamtmortalität (Bill-Axelson et al., 2011). Daher wird gerade jüngeren Patienten nach der Diagnose eines lokalisierten Prostatakarzinoms zur Durchführung der Operation geraten (Leitlinienprogramm Onkologie, 2019).

1.1.6.3 Radiotherapie

Bei Vorliegen eines lokalisierten Prostatakarzinoms (aller Risikogruppen) kann eine perkutane Strahlentherapie als alternative Form der kurativen Therapie durchgeführt werden (Grimm et al., 2012). Dabei unterscheidet sich im Vergleich zur radikalen Prostatektomie zwar das Spektrum der Nebenwirkungen, nicht jedoch die Frequenz des Auftretens. Am häufigsten treten Proktitis, Strikturen, Inkontinenz, Zystitis, Hämaturie und/oder chronische Diarrhoen auf (Börgermann et al., 2014). Patienten mit einem lokalisierten Prostatakarzinom und niedrigem Risikoprofil können alternativ mit einer Low-Dose-Rate Brachytherapie behandelt werden, Patienten mit mittlerem und hohem Risikoprofil wird eine perkutane Strahlentherapie empfohlen (Leitlinienprogramm Onkologie, 2019).

Bei lokal fortgeschrittenen Karzinomen und nach R1-Resektionen kann die perkutane Strahlentherapie auch adjuvant eingesetzt werden. Alternativ dazu hat sich, zur Reduktion der Gesamtzahl der durchgeführten Interventionen, das Vorgehen als sog. „Salvage-Strahlentherapie“ etabliert (Börgermann et al., 2014). Diese wird erst beim Auftreten von Rezidiven durchgeführt, wobei sie dann möglichst frühzeitig (PSA <0,5 ng/ml) erfolgen muss (Leitlinienprogramm Onkologie, 2019).

1.1.7 Therapie des fortgeschrittenen Prostatakarzinoms

1.1.7.1 Watchful Waiting

Im Gegensatz zur Active Surveillance (1.1.6.1) bezeichnet Watchful Waiting ein nicht-kuratives Therapiekonzept, das einen palliativen Ansatz verfolgt. Die Therapie richtet sich dabei nach den Symptomen der Patienten. Patienten mit einer Lebenserwartung von <10 Jahren (alte, multimorbide Patienten oder fortgeschrittenes Tumorstadium) profitieren am wenigsten von einer definitiven Therapie und kommen am ehesten für das Konzept des Watchful Waiting infrage (Bill-Axelsson et al., 2011, Leitlinienprogramm Onkologie, 2019).

1.1.7.2 Hormonablative Therapie

Die hormonablative Therapie wird, oft in Kombination mit einer Chemotherapie, zur primären Behandlung des hormonsensitiven, metastasierten oder lymphknotenpositiven Prostatakarzinoms eingesetzt. Auch beim lokal fortgeschrittenen Prostatakarzinom kann sie, dann meist in Kombination mit perkutaner Strahlentherapie, eingesetzt werden (Leitlinienprogramm Onkologie, 2019). Als rein palliative Maßnahme führt sie lediglich zur Verkleinerung der Tumormasse, nicht zur Heilung. Über eine Antiproliferation wird eine Senkung des Serum-Testosteronspiegels erzielt. Der Patient kann sowohl chirurgisch als auch medikamentös kastriert werden. Auch die hormonablative Therapie zeigt vielseitige Nebenwirkungen, vor allem Hitzewallungen (Sountoulides & Rountos, 2013). Weiterhin kann es durch den Entzug von Testosteron zum sog. Androgenentzugssyndrom kommen, das sich in Schwäche, Libidoverlust, erektiler Dysfunktion, Anämie und Osteoporose äußern kann (Börgermann et al., 2014). Unter hormonablativer Therapie entwickeln alle Patienten langfristig ein kastrationsresistentes Prostatakarzinom (Rini & Small, 2002).

1.1.7.3 Chemotherapie

Eine Chemotherapie wird von der aktuellen S3-Leitlinie zur palliativen Behandlung eines fortgeschrittenen Prostatakarzinoms vor allem in Kombination mit einer Hormontherapie empfohlen. Als Monotherapie wird sie nur dann eingesetzt, wenn Patienten unter hormonablativer Therapie ein kastrationsresistentes Karzinom entwickelt haben (Leitlinienprogramm Onkologie, 2019). Mittel der Wahl sind Taxane (v.a. Docetaxel) in Kombination mit Prednison (Berthold et al., 2008).

1.1.7.4 Molekulare Therapien

Neben ihrem potenziellen Nutzen in der Diagnostik können molekulare Marker eventuell auch Zielstrukturen für therapeutische Interventionen anzeigen und auf diesem Wege eine Rolle im Rahmen der Therapie des Prostatakarzinoms einnehmen. Durch Identifikation tumorspezifischer Oberflächenproteine könnten möglichst zielgerichtete Therapien entwickelt werden. Seit einigen Jahren werden beispielsweise das prostataspezifische Membranantigen (PSMA) (Donin & Reiter, 2018), Stathmin (Rana et al., 2008) und STEAP (Grunewald et al., 2012) untersucht. Es zeigen sich vielversprechende Ergebnisse in experimentellen Studien, wobei eine klinische Wertigkeit bislang noch nicht erreicht ist (Börgermann et al., 2014).

1.1.8 Prognostik und Nachsorge

Im klinischen Alltag haben sich prädiktive Modelle zur Risikostratifizierung des Prostatakarzinoms als Entscheidungshilfen etabliert (Shariat et al., 2008). Dabei sind vor allem die D'Amico-Klassifikation (D'Amico et al., 1998), der CAPRA-Score (Cooperberg et al., 2009), Partin-Tabellen (Partin et al., 1993) und eine Vielzahl an Nomogrammen (Campbell et al., 2017) zu nennen. Alle Modelle werden auf Basis von erhobenem PSA-Wert, Grading (Gleason-Score) und Staging (klinischem Stadium) berechnet und für unterschiedliche Fragestellungen genutzt. Die aktuelle S3-Leitlinie basiert die Einteilung in Risikogruppen zur Entwicklung eines Rezidivs beim lokal begrenzten Prostatakarzinom auf der Klassifikation nach D'Amico und empfiehlt zur Prognoseeinschätzung die Nomogramme der Arbeitsgruppe um Kattan et al. (Leitlinienprogramm Onkologie, 2019, Kattan et al., 1998).

Limitationen dieser Methodik entstehen durch die berücksichtigten Parameter: Die niedrige Spezifität der PSA-Bestimmung und die subjektive Einteilung in klinische Stadien und Gleason-Scores schwächen die Aussagekraft von prädiktiven Modellen deutlich (Börgermann et al., 2014). Allein die große Fülle an Nomogrammen zeigt, dass es keinen Konsens über optimale Modelle gibt.

Dessen ungeachtet hat die Klassifikation in unterschiedliche Risikogruppen große Tragweite für den weiteren Therapieverlauf der Patienten und sollte möglichst präzise sein. Es fehlt dabei nicht an sensiblen Verfahren zur Detektion, sondern vor allem an zuverlässigen Mitteln, um behandlungsbedürftige Prostatakarzinome von klinisch insignifikanten zu unterscheiden (Kristiansen, 2012). Daher überrascht es nicht, dass auch zur Verbesserung der prognostischen Einordnung von Prostatakarzinomen intensiv nach molekularen Markern geforscht wird. Dabei sind große Hürden wie die Multifokalität und intratumorale Heterogenität von Prostatakarzinomen zu berücksichtigen (Kristiansen, 2012). Sie bergen jedoch das Potenzial nicht nur die Primärdiagnostik, sondern vor allem auch die Nachsorge bereits operierter Patienten zu verbessern. Durch eine präzise prognostische Einordnung könnten Patienten eines Hochrisiko-Kollektivs im postoperativen Setting gezielter überwacht oder therapiert werden (Kristiansen, 2012).

Dies gewinnt in Zeiten der PSA-basierten Diagnostik an Bedeutung: Prostatakarzinome werden in immer früheren Stadien entdeckt, die Anzahl der detektierten fortgeschrittenen und metastasierten Prostatakarzinome nimmt stetig ab, die Anzahl junger Patienten mit Prostatakarzinomen in lokalisierten Stadien steigt an (Börgermann et al., 2014). Nach aktueller Studienlage profitiert gerade dieses Patientenkollektiv von einer operativen Entfernung des Karzinoms. Die aktuelle S3-Leitlinie empfiehlt allen Patienten mit mehr als zehn Jahren Lebenserwartung bei Vorliegen eines lokalisierten Prostatakarzinoms eine radikale Prostatektomie als Primärtherapie (siehe 1.1.6.2). Es ergibt sich ein wachsendes Patientenkollektiv, das einer langjährigen und intensiven Nachsorge nach der operativen Entfernung eines Prostatakarzinoms bedarf.

Gerade hier zeigen sich aktuell noch große Schwächen: Das Wiederkehren der Grunderkrankung (Rezidiv) wird gegenwärtig über den PSA-Wert festgelegt (sog. biochemisches Rezidiv, BCR). Die aktuelle S3-Leitlinie definiert das biochemische

Rezidiv nach Durchführung einer radikalen Prostatektomie allein durch einen in mindestens zwei Messungen bestätigten PSA-Wert $>0,2$ ng/ml (Leitlinienprogramm Onkologie, 2019). Die individuelle Zeit bis zum Auftreten eines biochemischen Rezidivs und die PSA-Verdopplungszeit können dabei Hinweise zur Differenzierung zwischen Lokalrezidiven und systemischen Rezidiven (Lymphknoten- und Fernmetastasierungen) geben (Freedland et al., 2005). Aus Mangel an zuverlässigen Prädiktoren werden so jedoch alle operierten Patienten in festgelegten Intervallen nachuntersucht, um den PSA-Wert und seine Kinetik zu beobachten. Dabei bleiben die bekannten Schwächen der primärdiagnostischen PSA-Bestimmung auch im postoperativen Setting Gegenstand von kontroversen Diskurs: Über die psychische Belastung häufiger Messungen (Meissner et al., 2017, Dale et al., 2005), die bekannten Einflussfaktoren der Messung (siehe 1.1.5.2), die tatsächliche Aussagekraft des Messwertes und die Findung eines geeigneten Grenzwertes zur Einleitung von weiterer Diagnostik und Therapie (Tourinho-Barbosa et al., 2018, Leitlinienprogramm Onkologie, 2019).

Das eventuelle Auftreten eines biochemischen Rezidivs impliziert für die betroffenen Patienten dann strenge Überwachung und erneute therapeutische Interventionen (Salvage-Bestrahlung, Hormontherapie), welche zusätzliche negative Folgen für die Lebensqualität bedeuten können (Leitlinienprogramm Onkologie, 2019). Es ergibt sich ein Dilemma: Nicht jeder Patient profitiert von der aktuellen postoperativen Überwachung, die Mehrheit der Patienten erfährt die negativen Folgen der Nachsorge ohne persönlichen Benefit. Andererseits ist die möglichst frühzeitige Detektion eines Rezidivs für diejenigen Patienten, die tatsächlich davon betroffen sind, von entscheidender Bedeutung.

Zur Verbesserung der medizinischen Versorgung von Prostatakarzinomen werden neuartige Parameter benötigt, die zuverlässige prognostische Aussagen über die Notwendigkeit einer Therapie, das Erreichen eines Therapieerfolgs und das Auftreten eines eventuellen Tumorprogresses erlauben. In diesem Zusammenhang wird aktuell intensiv an molekularen Markern geforscht (Kohaar et al., 2019). Auch die in dieser Studie untersuchten Marker EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 stellen solche dar und könnten mit vielversprechenden Ansätzen genau diese Problematik aufgreifen.

1.2 EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1

Malignome im Allgemeinen, und Prostatakarzinome im Speziellen, zeigen eine außerordentliche Heterogenität (Tolkach & Kristiansen, 2018). Die Kanzerogenese ist ein sehr komplexer, mehrschrittiger Prozess, der aus sehr unterschiedlichen Zellen hervorgehen kann. Um dennoch möglichst viele Malignome mit dem gleichen Test detektieren zu können, muss dieser die fundamentalen Mechanismen der Kanzerogenese untersuchen. Entsprechend werden in dieser Studie zwei Marker geprüft, die auf zwei der postulierten allgemeinen Grundeigenschaften von Krebserkrankungen zielen (Hanahan & Weinberg, 2011): Resistenz gegen den Zelltod (Apo10 bzw. DNase X) und die Fähigkeit zu Metastasierung und Invasion (TKTL1) (Coy, 2017).

1.2.1 Apo10 (DNase X) als Marker für Apoptoseresistenz

1.2.1.1 Die Apoptose

Apoptose bezeichnet den kontrollierten Zelltod und steht im Gegensatz zur Nekrose, dem akzidentellen Zelltod. Viele Gewebe führen die Apoptose physiologisch durch, um nicht mehr benötigte oder beschädigte Zellen abzubauen (Horn, 2018a). Die genauen Mechanismen, die schließlich zur Einleitung der Apoptose führen, sind bis heute Gegenstand zahlreicher Forschungen. Sicher ist, dass über verschiedene Auslöser (extrinsisch, intrinsisch, zytotoxische T-Zellen) eine Signalkaskade ausgelöst wird, die schließlich zum kontrollierten Zelltod führt (Igney & Krammer, 2002). Die meisten Signalkaskaden führen über die Aktivierung von sog. Caspasen zu einer gemeinsamen Endstrecke: Zur Aktivierung von DNasen für die Spaltung von DNA, zu Abbau und Reorganisation von Zellproteinen und Zytoskelett, zur Kondensation von Chromatin und Zytoplasma. Das Ende der Apoptose wird durch die Phagozytose der sog. Apoptosekörper markiert (Elmore, 2007).

1.2.1.2 DNasen

Der genaue Vorgang der apoptotischen DNA-Fragmentation ist sehr komplex und weiterhin Bestandteil aktiver Forschung und Diskussion (Errami et al., 2013). Seit der Entdeckung der Apoptose werden verschiedene Enzyme für die Aufspaltung der DNA verantwortlich gemacht. Am häufigsten genannt wird in diesem Zusammenhang die Caspase aktivierte DNase (CAD). Sie konnte 1998 nachgewiesen und der Mechanismus hinter ihrer Aktivierung im Rahmen der Apoptose erklärt werden (Enari et al., 1998). Seitdem wird der CAD eine zentrale Rolle bei der DNA-Fragmentation zugeschrieben (Larsen & Sørensen, 2017). Es konnte jedoch gezeigt werden, dass die CAD nur in spezifischen Geweben aktiv ist: Vor allem in Pankreas, Milz, Prostata und Eierstöcken (Mukae et al., 1998). Neben der CAD scheint es eine Vielzahl weiterer DNasen zu geben, die eine Rolle bei der Apoptose spielen - dabei werden auch die DNase I und diverse homologe Enzyme genannt (Samejima & Earnshaw, 2005).

1.2.1.3 Die DNase I-Familie

Die Fragmentation von DNA durch DNase I wurde zunächst in Verdauungsdrüsen von Säugetieren nachgewiesen, weshalb sie anfangs für ein Verdauungsenzym gehalten wurde (Kreuser et al., 1984). Weitere Analysen zeigten jedoch, dass DNase I in vielen Geweben (auch außerhalb des GI-Traktes) und vor allem auch im Rahmen der Apoptose exprimiert wird (Peitsch et al., 1993). Neben der DNase I konnten zudem weitere DNase-I-ähnliche Gene/Proteine entdeckt werden (Shiokawa & Tanuma, 2001):

Anfang der 90er Jahre unterzog der spätere Nobelpreisträger Harald zur Hausen die Genom-Region Xq28 einer molekularen Genom-Analyse (Coy, 2017). Im Zuge dessen wurde eine Gensequenz entdeckt, die für eine bis dato unbekannte Endonuklease kodierte. Diese ähnelte auf Gen- und Proteinlevel der bereits bekannten DNase I und war vor allem in Muskelgewebe nachweisbar (Parrish et al., 1995). Ein für 302 Aminosäuren kodierendes Transskript konnte isoliert werden - dieses wies zu 39% die gleiche Sequenz wie DNase I auf und hatte eine ähnliche Exon-Intron-Sequenz, sodass von einem gemeinsamen Ursprung auszugehen war (Coy et al., 1996a). Es stellte das erste entdeckte Homolog der DNase I dar (Shiokawa et al., 2005). Aufgrund der Lokalisation wurde es DNase X genannt (Los et al., 2000).

Bislang sind (nach Kenntnis des Autors der vorliegenden Studie) DNase I, DNase X (DNase-I-like 1), DNase γ (DNase-I-like 3) und DNAS1L2 (DNase-I-like 2) beschrieben worden (Shiokawa & Tanuma, 2001). Sie zeigen unterschiedliche Gewebsspezifität und erfüllen vermutlich einzigartige physiologische Funktionen. Alle DNasen der DNase I-Familie arbeiten als $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -abhängige Endonukleasen (Shiokawa & Tanuma, 2001).

1.2.1.4 DNase X/Apo10

Eine Sonderstellung innerhalb dieser Gruppe nimmt die DNase X ein, da sie vor allem in Muskelgewebe vorkommt, erstaunlicherweise jedoch auch in Tumorgeweben unterschiedlicher Genese nachgewiesen werden konnte (Los et al., 2000). Versuche mit rekombinanter DNase X deckten einen eindeutigen pro-apoptotischen Effekt auf: Durch Transfektion in gesunde Zellen konnte eine Apoptose ausgelöst werden, welche schließlich in DNA- und Chromatin-Fragmentation gipfelte (Los et al., 2000).

Zum Nachweis von DNase X können Antikörper genutzt werden, die an die Peptidsequenz der DNase X binden. Vielversprechende Ergebnisse konnten so mit dem monoklonalen Antikörper Apo10 erzielt werden: Er wies das gleichnamige Protein-Epitop sowohl in den Zellkernen benigner Zellen während der Apoptose als auch in den Zellkernen von nicht-apoptotischen Tumorzellen nach (Grimm et al., 2013). Grimm et al. erklärten diesen Sachverhalt mit einer durch Inhibitor-Proteine gestoppten Exekution der Apoptose in Tumorzellen, während benigne Zellen bei Vorliegen von Apo10 die Apoptose durchführen (Grimm et al., 2013). Obwohl die biochemischen Prozesse hinter der Apoptose nicht abschließend verstanden sind, könnte der Nachweis von Apo10 also ein Zeichen für eine gestoppte Apoptose im Rahmen einer malignen Erkrankung sein (Grimm et al., 2013). Die Reduktion der Aktivität von DNasen in malignen Geweben stellt dabei vermutlich eine frühe und aktive Rolle im Verlauf der malignen Transformation dar, und kein spätes sekundäres Ergebnis (Taper, 2008).

1.2.1.5 Apo10-Expression in Malignomen

Grimm et al. konnten Apo10 durch immunhistochemische Färbung (IHC) in der Mehrheit von 580 Proben von menschlichen Karzinomen (Lunge, Kolon, Blase, Brust) nachweisen (Grimm et al., 2013). Ein weiterer getesteter Antikörper, ab54750, wies eine schlechtere Spezifität zu Tumorgewebe auf. Für ein Kollektiv von 161 Patienten mit oralem Plattenepithelkarzinom (OSCC) konnte eine Korrelation zwischen einer erhöhten Apo10-Expression im Tumor und Outcome, Tumorgröße, UICC-Stadium und extrakapsulären Wachstum von Lymphknotenmetastasen hergestellt werden (Grimm et al., 2013). Schon Vorläuferläsionen des OSCC zeigten im Vergleich zu benignen Zellen der oralen Mukosa eine erhöhte Expression von Apo10. Dies könnte auf eine frühe und wichtige Rolle der Apoptose-Resistenz in der Kanzerogenese hindeuten (Grimm et al., 2015). In einer weiteren Studie konnten Grimm et al. eine erhöhte Expression von Apo10 mittels IHC in 89 von 92 untersuchten OSCC nachweisen (Grimm et al., 2016c). Jansen und Coy verweisen in einem Case-Report auf unveröffentlichte Daten, die ähnliche Ergebnisse für 25 verschiedene Tumorentitäten erbringen konnten (Jansen & Coy, 2013).

1.2.2 Transketolase-like 1 als Marker für Tumorstoffwechsel

1.2.2.1 Der Pentosephosphat-Weg

Glukose wird in den meisten menschlichen Zellen vor allem in zwei Stoffwechselwegen verwertet: Im Embden-Meyerhof-Parnas-Weg (der Glykolyse) und dem Pentosephosphatweg (PPW), der sich in einen oxidativen und einen regenerativen Teil gliedert (Horn, 2018b). Der erste und irreversible Teil des PPW (oxidativer Teil) dient der Bereitstellung von $\text{NADPH} + \text{H}^+$ für Biosynthesen und zur Regeneration von Glutathion zum Schutz vor freien Radikalen. Der zweite und reversible Teil des PPW wird u.a. durch eine Transketolase gesteuert (Horn, 2018c) und ermöglicht eine Sauerstoff-unabhängige Glucose-Verstoffwechslung zur Herstellung des für die Nukleotid-Biosynthese zentralen Ribose-5-Phosphats (Wittig & Coy, 2008). Krebszellen scheinen einen Großteil des benötigten Ribose-5-Phosphats durch den Transketolase-gesteuerten Teil des PPW zu gewinnen (Boros et al., 1997) und zeigen im Rahmen der erhöhten Proliferationsrate auch eine erhöhte Aktivität des PPW (Jin & Zhou, 2019).

1.2.2.2 Der Warburg-Effekt

1861 entdeckte Louis Pasteur, dass menschliche Zellen bei anaerober Stoffwechsellage die Zellatmung (oxidative Phosphorylierung) unterdrücken und vermehrt Glukose in der Glykolyse verstoffwechseln. Unter ausreichend Sauerstoff-Angebot hingegen wird die Glykolyse gedrosselt und vermehrt Zellatmung betrieben (sog. Pasteur-Effekt) (Coy, 2017). 1924 konnte Otto von Warburg eine außergewöhnliche Beobachtung machen: Karzinomzellen konsumierten auch bei ausreichend O₂-Angebot deutlich mehr Glukose und produzierten dabei deutlich mehr Laktat als benigne Zellen es tun. Dabei wird die Glukose in der sog. aeroben Glykolyse verwertet, anstatt Zellatmung zu betreiben (Warburg et al., 1924). Dieses Phänomen ist seitdem als „Warburg-Effekt“ bekannt.

Ein kausaler Defekt der Zellatmung, der die Umstellung erklären würde, konnte bisher nicht gefunden werden (Moreno-Sánchez et al., 2007). Daraus lässt sich schlussfolgern, dass die modifizierte Stoffwechsellage einen Nutzen für die Tumorzelle haben muss. Der Warburg-Effekt ist vermutlich sowohl für den Energiehaushalt als auch für die notwendigen Biosynthesen in Karzinomzellen von Vorteil (DeBerardinis et al., 2008). Entscheidend könnte vor allem sein, dass bei der aeroben Glykolyse viel Laktat als Endprodukt entsteht (Warburg et al., 1924). Dieses sorgt für ein saures Milieu außerhalb der Karzinomzellen und fördert so die Matrix-Degradation (Stern et al., 2002, Langbein et al., 2006). Auf diesem Wege könnte die Umstellung des Stoffwechsels entscheidend zur Steigerung der Invasivität von Malignomen und zur Bildung von Fernmetastasen beitragen (Gatenby & Gillies, 2004). Zusätzlich könnte eine Resistenz des Stoffwechsels gegen anaerobe Zustände einen wichtigen Selektionsvorteil bei der Migration von Metastasen darstellen (Gatenby & Gillies, 2004). Die Auswirkungen des Warburg-Effektes konnten in vielen malignen Tumoren nachgewiesen und oft mit einer schlechteren Prognose assoziiert werden (Langbein et al., 2006).

Der Warburg-Effekt konnte jedoch auch in Stamm- und Keimzellen, sowie in Zellen, die vermehrt freien Radikalen ausgesetzt sind (retinalen und endothelialen Zellen), beobachtet werden (Warburg et al., 1924). Dies könnte in einem nötigen Schutz vor freien Radikalen in den betreffenden Geweben begründet sein (Brand, 1997). Erstaunlicherweise konnten Untersuchungen genau in diesen nichtmalignen Geweben auch besonders hohe Konzentrationen von TKTL1 nachweisen (Coy et al., 2005).

1.2.2.3 Die Entdeckung von TKTL1

Die Genomanalyse von Harald zur Hausen führte zur Entdeckung eines weiteren, bis dato unbekanntes Gens (Coy, 2017). Es zeigte große Ähnlichkeit zum Gen der bereits bekannten Transketolase. In der Erstpublikation wurde es noch transketolase-related gene (TKR) genannt (Coy et al., 1996b), später Transketolase-like 1 (TKTL1) (Coy et al., 2005). Insgesamt konnten bisher drei Transketolase-Gene entdeckt und ihre Proteinexpression für verschiedene Gewebe quantifiziert werden. Alle drei Proteine scheinen als funktionelle Transketolasen zu arbeiten (Deshpande et al., 2019).

Die Transketolase liegt in gesunden Geweben im Mittel zwischen 60 und 1.000-mal höher konzentriert als ihre Homologe TKTL1 und TKTL2 vor (Coy et al., 2005). Beide Homologe zeigten, im Gegensatz zur Transketolase, in Untersuchungen jedoch eine deutliche Gewebsspezifität - TKTL1 lag beispielsweise in den Hoden über 12.000-mal stärker exprimiert vor als in Lunge, Eierstöcken oder Haut (Coy et al., 2005). Eine zentrale Entdeckung stellt dabei der Nachweis einer isolierten Steigerung der TKTL1-Expression in diversen Krebszellen dar, welcher mithilfe eines monoklonalen Antikörpers (JFC12T10) aufgezeigt werden konnte (Coy et al., 2005, Langbein et al., 2006, Chen et al., 2009). Auch in benignen Geweben mit nachgewiesener aerober Glykolyse-Aktivität (Hoden, Thymus, Retina) wurden auffallend hohe TKTL1-Level gemessen (Coy et al., 2005).

Daraufhin wurde ein Stoffwechselweg postuliert, der über eine erhöhte Expression von TKTL1 zur Umstellung des Stoffwechsels hin zur aeroben Glykolyse führen könnte (Langbein et al., 2006). TKTL1 könnte somit eine wichtige Rolle im veränderten Metabolismus von Krebszellen spielen und das Auftreten des Warburg-Effektes bei Tumorerkrankungen erklären (Coy, 2017). Eine derartige Stoffwechselumstellung würde dabei vermutlich kein frühes Ereignis im Rahmen der malignen Transformation darstellen (Gatenby & Gillies, 2004).

1.2.2.4 TKTL1-Expression in Malignomen

TKTL1 konnte seitdem in diversen Malignomen und Vorläuferläsionen nachgewiesen werden. Vorläuferläsionen des OSCC zeigten gleichzeitig sogar eine messbare Veränderung der Stoffwechsellage (Grimm et al., 2014). Das zentrale Ergebnis der bisherigen Forschung stellt allerdings der vielfache Nachweis einer Korrelation zwischen erhöhter TKTL1-Expression im Gewebe verschiedener maligner Tumorentitäten und diversen negativen klinischen Parametern dar. Eine kurze Übersicht ist Tabelle 1 zu entnehmen. Diese erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit und soll nur einige der bisherigen Publikationen übersichtlich zusammenfassen.

Tabelle 1: Übersicht über Publikationen zur Korrelation von erhöhter TKTL1-Expression im Tumorgewebe zu klinischen und histologischen Parametern (Langbein et al., 2006, Krockenberger et al., 2007, Zerilli et al., 2008, Kayser et al., 2011, Schwaab et al., 2011, Diaz-Moralli et al., 2011, Lange et al., 2012, Feyen et al., 2012, Grimm et al., 2013, Shi et al., 2015, Ricciardelli et al., 2015, Grimm et al., 2016b, Jayachandran et al., 2016, Ahopelto et al., 2016, da Costa et al., 2018).

	<i>TKTL1 ↑: Korrelation zu</i>	<i>Untersuchtes Tumorgewebe</i>	<i>Publikation</i>
2006	Prognose ↓	Kolon-, Urothelkarzinom	Langbein et al.
2007	Prognose ↓	Ovarialkarzinom	Krockenberger et al.
2008	N-Stadium ↑	Schilddrüsenkarzinom	Zerilli et al.
2011	Prognose ↓, Grading ↑	NSCLC	Kayser et al.
2011	Prognose ↓	Rektumkarzinom	Schwaab et al.
2011	N-Stadium ↑	Rektumkarzinom	Diaz-Moralli et al.
2012	Prognose ↓, Rezidive	Tumoren d. okulären Adnexe	Lange et al.
2012	T-Stadium ↑	NSCLC	Feyen et al.
2013	Prognose ↓, Rezidive	OSCC	Grimm et al.
2015	Grading ↑, N-Stadium ↑	ESCC	Shi et al.
2015	Prognose ↓	Ovarialkarzinom	Ricciardelli et al.
2016	EDIM-TKTL1 ↑	OSCC	Grimm et al.
2016	Invasion ↑ Proliferation ↑	Met. malignes Melanom	Jayachandran et al.
2016	Prognose ↓	Kolorektales Karzinom	Ahopelto et al.
2018	M1-Stadium	Prostatakarzinom	Da Costa et al.

Derartige Korrelationen konnten jedoch nicht in allen Untersuchungen zu TKTL1 entdeckt werden. In zwei Publikationen konnte zwar eine erhöhte Expression von TKTL1 in malignen Geweben (Bronchialkarzinom/Mammakarzinom) nachgewiesen, darüber hinaus jedoch kein Zusammenhang zu klinischen Parametern hergestellt werden: Eine erhöhte TKTL1-Expression war nicht mit TNM-Status, Staging, Grading oder Überleben (Fritz et al., 2012) bzw. Outcome und Überleben (Földi et al., 2007) der Patienten assoziiert. Weiterhin konnte bei in-vitro Untersuchungen sogar in nur zwei von 17 malignen Zellreihen überhaupt eine erhöhte Expression von TKTL1 nachgewiesen werden, wobei diese weder mit einer erhöhten Laktatproduktion noch mit erhöhter Resistenz gegen Chemotherapeutika oder ionisierende Strahlung assoziiert war (Kämmerer et al., 2015).

In der Gesamtbetrachtung konnte eine erhöhte TKTL1-Expression jedoch in einer Vielzahl von Malignomen nachgewiesen und dabei oft mit schlechteren Verläufen und negativen klinischen Parametern assoziiert werden. Sie könnte ein messbarer Hinweis auf erhöhte Malignität, invasives Wachstum, Therapieresistenz und ein gesteigertes Metastasierungsrisiko von Tumoren sein (Coy, 2017), wodurch sie sich zur Detektion und sogar gezielten Therapie behandlungsbedürftiger Tumore eignen könnte (Diaz-Moralli et al., 2016).

Auch in Prostatakarzinomen konnte eine erhöhte Expression von TKTL1 bereits nachgewiesen werden. Dabei zeigte sich, dass schon benignes peritumoröses Prostatagewebe, im Vergleich zum sonstigen prostatistischen Gewebe, vermehrt TKTL1 exprimiert. Die höchsten TKTL1-Level zeigten metastasierte Tumore (da Costa et al., 2018). Dies könnte gerade vor dem Hintergrund der schwierigen Unterscheidung von klinisch insignifikanten und behandlungsbedürftigen Prostatakarzinomen (siehe 1.1.8) eine wichtige Beobachtung darstellen.

1.2.3 Die EDIM-Technologie

1.2.3.1 Methodik

EDIM steht für „epitope detection in monocytes“ und bezeichnet die Detektion von Biomarkern in aktivierten Makrophagen (CD14⁺/CD16⁺). Sie wurde erstmals im Jahre 2004 zur intrazellulären Messung von PSA mittels Durchflusszytometrie in CD14⁺-Blutzellen beschrieben (Herwig et al., 2004). Die Untersuchung von Bestandteilen innerhalb dieser Immunzellen folgt dabei der Logik, dass aktivierte Makrophagen jede Region des Körpers erreichen können und vor Ort unerwünschte Zellen und Zellfragmente phagozytieren. Nach ihrer Rückkehr in den Blutstrom können diese Makrophagen dann erfasst und auf das Vorliegen von definierten Biomarkern/Tumorbestandteilen untersucht werden (Coy, 2017). Die EDIM-Methode ist reproduzierbar und untersucherunabhängig, die Proben sind 24 Stunden stabil und die biologische Variation der EDIM-Marker entspricht jener von Serummarkern (Japink et al., 2014). Als Standard hat sich aktuell die Untersuchung sog. proinflammatorischer Makrophagen (CD14⁺/CD16⁺) etabliert: Krebspatienten (OSCC) zeigten eine stabile Anzahl dieser Zellpopulation, sodass sie zur Detektion von intrazellulären Biomarkern bei Vorliegen maligner Erkrankungen geeignet sein könnte (Grimm et al., 2016a). Die EDIM-Methode öffnet vielfache weitere Anwendungsmöglichkeiten, Untersuchungen zu EDIM-PSA (Leers et al., 2008, Herwig et al., 2008) und EDIM-CEA (Japink et al., 2009, Faber et al., 2012) konnten dabei bereits vielversprechende Ergebnisse aufzeigen.

1.2.3.2 Die EDIM-Scores zur Detektion von Malignomen

Im Rahmen der Entwicklung von Tests auf Basis der EDIM-Methode wurden auch ein EDIM-Apo10- (Jansen & Coy, 2013) und ein EDIM-TKTL1-Test entwickelt (Feyen et al., 2012). Diese könnten einen „Pan-Tumor“-Bluttest zur frühen Detektion von Malignomen darstellen (Coy, 2017). Dabei ist die Methode im Vergleich zu anderen diagnostischen Verfahren ähnlich sensibel und spezifisch, aber weniger aufwendig und teuer (Grimm et al., 2016b). Die nach der EDIM-Methode bestimmten Messwerte der beiden Marker werden als Apo10- bzw. TKTL1-Score bezeichnet. Es konnte nachgewiesen werden, dass hohe Scores in den EDIM-Bluttests direkt mit einer hohen Expression von Apo10 und TKTL1 im Tumorgewebe (OSCC, n=92) korrelieren (Grimm et al., 2016c).

Über die Evaluation eines EDIM-Apo10-Tests an 10.000 Blutproben wurde 2013 berichtet. Dabei wurde eine signifikante Erhöhung des Apo10-Scores bei Patienten mit soliden Malignomen und Leukämien bestätigt. Leider sind die Daten dazu nicht öffentlich (Jansen & Coy, 2013). Der EDIM-TKTL1-Test wurde durch eine Untersuchung an Blutproben von 240 Krebspatienten und 117 gesunden Spendern evaluiert (Feyen et al., 2012). Im Zuge dieser Untersuchungen wurden erste Cut-Offs für beide sog. EDIM-Scores etabliert. Der TKTL1-Score zeigte eine Konkordanz von 90 % zur Detektion von diversen Malignomen (n=240) mittels 18F-Fluorodeoxyglukose-Positronen-Emissions-Tomographie/Computertomographie (FDG-PET/CT). In einem großen Subkollektiv von NSCLC-Patienten (n=139) korrelierte ein pathologisch hoher TKTL1-Score (hier: ≥ 119) sogar mit der Tumorgröße (Feyen et al., 2012). Hervorzuheben sind 15 Patienten mit negativem FDG-PET/CT-Ergebnis bei Vorliegen von pathologisch hohen TKTL1-Scores. Bei fünf dieser Patienten wurde in der Folge im CT ein Malignom nachgewiesen - der EDIM-TKTL1-Test war in diesen Fällen noch vor dem FDG-PET/CT korrekt positiv (Feyen et al., 2012).

Die diagnostischen Eigenschaften der EDIM-Tests wurden an 213 Patienten mit unterschiedlichen Malignomen (OSCC (n=50), Mammakarzinom (n=48), Prostatakarzinom (n=115)) getestet. Dabei konnten mittels Receiver-Operating-Characteristic-Analysen (ROC-Analysen) Cut-Offs etabliert werden, die eine sehr hohe Sensitivität und Spezifität zeigten. Dies galt sowohl für den Apo10-Score (92 % und 94,6 %) als auch für den TKTL1-Score (90,6 % und 95,9 %). Durch Addition beider Werte (die sog. EDIM-Summe) konnten die besten Ergebnisse erzielt werden (95,8 % und 97,3 %) (Grimm et al., 2013).

1.2.3.3 Die EDIM-Scores im postoperativen Kontext

Erste Hinweise auf einen Rückgang von EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 nach der operativen Entfernung eines Malignoms konnten 2013 an zwölf Patienten (OSCC, Mammakarzinom, Prostatakarzinom) erbracht (Grimm et al., 2013) und am Beispiel des OSCC in größerem Umfang (n=45) bestätigt werden. Präoperativ waren die EDIM-Scores bei fast allen untersuchten OSCC-Patienten erhöht, jedoch ohne nachweisbare Assoziation zu Tumorgröße, Lymphknotenstatus, Grading oder Staging (Grimm et al., 2016c).

Auch zwei publizierte Case-Reports konnten vielversprechende Beobachtungen dokumentieren: Im Jahr 2012 zeigte die mehrfache postoperative Erhebung von EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 die Metastase eines Kolonkarzinoms bereits neun Monate vor ihrer späteren Diagnose an, während etablierte Marker negativ blieben (Jansen & Coy, 2013). Ebenso konnte ein sekundäres OSCC, das durch etablierte Marker nicht angezeigt wurde, im Rahmen einer regelmäßigen postoperativen EDIM-Score-Bestimmung detektiert werden (Grimm et al., 2016b).

1.2.3.4 Die EDIM-Scores beim Prostatakarzinom

Die Limitationen der prognostischen Einordnung von Prostatakarzinomen bergen ein großes Potenzial für die klinische Anwendung neuer molekularer Marker (siehe 1.1.8). Im Rahmen der durchgeführten ROC-Analysen zur Etablierung von Cut-Offs für EDIM-Apo10, EDIM-TKTL1 und die EDIM-Summe stellten Prostatakarzinom-Patienten mit Abstand das größte Subkollektiv dar (n=115) (Grimm et al., 2013). Todenhöfer et al. konnten die vielversprechenden Ergebnisse, bei Anwendung der gleichen Cut-Offs, mit einem noch größerem Kollektiv bestätigen: 174 Prostatakarzinom-Patienten zeigten präoperativ in 93,6% bzw. 93,1% (Apo10- bzw. TKTL1-Score) der Fälle pathologisch hohe Messwerte (Todenhöfer et al., 2017). Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass die operative Entfernung von Prostatakarzinomen zu einem signifikanten Rückgang der Apo10- und TKTL1-Scores führte (n=72), oft sogar unter den Cut-Off (Todenhöfer et al., 2017). Erhöhte EDIM-Scores konnten also bereits mit dem Vorliegen von Prostatakarzinomen korreliert werden.

Das gegenwärtige Problem der Diagnostik des Prostatakarzinoms liegt jedoch nicht in einer möglichst sensiblen Detektion, sondern in einer möglichst spezifischen Unterscheidung von behandlungsbedürftigen Karzinomen von solchen, die keiner Therapie bedürfen (siehe 1.1.8). EDIM-Apo10, EDIM-TKTL1 und ihre individuelle Entwicklung im Rahmen einer durchgeführten Therapie könnten vor diesem Hintergrund wertvolle diagnostische Ergänzungen darstellen. Dazu gilt es jedoch zunächst, die gemessenen EDIM-Scores mit klinischen Verläufen zu korrelieren, um eine mögliche prognostische Aussagekraft der Marker zu prüfen.

1.3 Ziel der Studie

Ziel der vorliegenden Studie war die Untersuchung der prognostischen Aussagekraft von EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 im Kontext einer erfolgten radikalen Prostatektomie bei klinisch lokalisiertem Prostatakarzinom. Dazu wurde ein Patientenkollektiv, das sich prä- und postoperativen Blutentnahmen zur Bestimmung der EDIM-Scores unterzogen hatte, bezüglich des individuellen Krankheitsverlaufs nachbeobachtet. Die EDIM-Scores sollten so auf ihre potenzielle Aussagekraft über den späteren Krankheitsverlauf geprüft werden.

Durch den Aufbau als mehrjährige Längsschnittstudie sollte vor allem auch die individuelle Entwicklung der Scores auf mögliche Assoziationen zum Krankheitsverlauf geprüft werden. Das Augenmerk lag dabei auf einer zusätzlich durchgeführten Follow-Up-Blutentnahme. Insgesamt sollte die vorliegende Studie prüfen, ob ein Therapieerfolg mit niedrigen oder sinkenden EDIM-Scores korreliert und ob hohe oder steigende EDIM-Scores mit einem erhöhten Risiko für Krankheitsprogress einhergehen.

2 Material und Methoden

2.1 Patientenkollektiv

Das Patientenkollektiv der vorliegenden Arbeit rekrutierte sich ausschließlich durch Nachbeobachtung eines von Dr. med. Gabriel Keller im Rahmen seiner Dissertation erfassten Grundkollektivs (Keller, 2017). Insgesamt waren 174 Patienten mit klinisch lokalisierten Prostatakarzinomen in eine 2017 publizierte Studie zur Bestimmung von EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 vor der Durchführung einer radikalen Prostatektomie eingeschlossen worden. Ein Subkollektiv von 72 Patienten konnte zusätzlich einer postoperativen Bestimmung der EDIM-Scores unterzogen werden (Todenhöfer et al., 2017).

Im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit wurde versucht, alle Patienten des damaligen Grundkollektivs zu kontaktieren und zu ihrem individuellen postoperativen Krankheitsverlauf zu befragen. Neben diesen anamnestischen Befragungen waren auch erneute Blutentnahmen geplant. Dazu wurden die geeigneten Patienten nach bestimmten Kriterien ausgewählt:

2.1.1 Einschlusskriterien

Für das Patientenkollektiv der vorliegenden Studie eigneten sich alle 174 Patienten, die von Dr. med. Gabriel Keller präoperativ erfasst worden waren und die eine schriftliche Einverständniserklärung zur Teilnahme an der Studie unterschrieben hatten. Für die Durchführung der Follow-Up-Blutentnahme musste die ausdrückliche Zustimmung der Patienten gegeben sein.

In das Grundkollektiv waren nur Patienten aufgenommen worden, bei denen das Prostatakarzinom keine Nachbarstrukturen außer Blasen Hals und/oder Samenbläschen infiltriert hatte ($\leq T3$). Zusätzlich hatte weder eine Fernmetastasierung noch ein Zweitmalignom bestehen dürfen (Keller, 2017).

2.1.2 Ausschlusskriterien

Von der statistischen Auswertung der vorliegenden Studie wurden jene Patienten ausgeschlossen, bei denen eine schriftliche, unterschriebene Einverständniserklärung

fehlte oder zurückgezogen wurde. Weiterhin wurden all jene Patienten ausgeschlossen, bei denen es im postoperativen Verlauf zu keinem Abfall des PSA-Wertes unter die Nachweisgrenze ($<0,04$ ng/ml) kam.

Von der Durchführung der Follow-Up-Blutentnahme wurden alle Patienten ausgeschlossen, die außerhalb eines Radius von 50 km um die Universitätsklinik Tübingen wohnten oder deren terminliche Verpflichtungen keinen Besuch im Studienzeitraum zuließen.

2.2 Ethikvotum

Zur Durchführung dieser Studie wurde die Genehmigung der Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät des Universitätsklinikums Tübingen eingeholt. Zu den Forschungen von Dr. med. Gabriel Keller waren unter dem Titel „Untersuchungen zur klinischen Bedeutung von Apo10 und TKTL1 im Blut von Patienten mit organbezogenem Prostatakarzinom mittels der EDIM-Technologie unter Einbezug von Messungen nach erfolgter Prostatektomie“ am 19. März 2014 keine Bedenken seitens der Kommission geäußert worden (Projekt-Nummer 124/2014BO2). Im Rahmen des Verbundprojektes wurde die Studiengruppe des betreffenden Ethik-Antrages um Herrn cand. med. Carsten Löhr erweitert, den Antrag hierfür stellte Oberarzt Prof. Dr. J. Bedke. Die Leiterin der Geschäftsstelle der Ethik-Kommission, Frau Dr. med. O. Scheck, stimmte diesem Antrag am 07. Dezember 2016 per E-Mail zu.

2.3 Erhebung der Krankheitsverläufe

Die Datenerhebung wurde auf Grundlage der pseudonymisierten Microsoft Excel®-Datenbank von Dr. med. Gabriel Keller durchgeführt (Version 16.0, Microsoft Corporation, Redmond, USA). Alle 174 Patienten, die in dieser Datenbank eingetragen waren, wurden auf das Erfüllen der Einschlusskriterien überprüft. Danach wurden die betreffenden Personen nach einem festen Schema kontaktiert. Jene Patienten, über die durch keinen der nachfolgend erläuterten Schritte ausreichende Informationen erhoben werden konnten, wurden als „nicht erreichbar“ archiviert:

2.3.1 Telefonischer Patientenkontakt

Im Zeitraum von Juni 2016 bis Mai 2017 wurde versucht, alle in Frage kommenden Patienten telefonisch zu erreichen. Im Rahmen der Kontaktaufnahme konnte dann, bei Einverständnis seitens der Patienten, anamnestisch der individuelle postoperative Krankheitsverlauf erfragt werden. Dazu wurde ein standardisierter Fragebogen angelegt, der während des Telefonates ausgefüllt werden konnte. Dieser Fragebogen enthielt die zentralen Fragestellungen der vorliegenden Studie und zusätzlich genug Platz für Notizen und sonstige Dokumentationen. Einige Patienten waren auch nach vielfachen Kontaktversuchen zu unterschiedlichen Tages- bzw. Uhrzeiten nicht erreichbar. Auch dies wurde dokumentiert. Nach Abschluss der telefonischen Kontaktaufnahme wurden die Fragebögen sortiert und im Ordner der Studie gesammelt.

2.3.2 In-house Follow-Up

Um über Patienten, die telefonisch nicht erreicht werden konnten, dennoch ein Follow-Up des Krankheitsverlaufs erstellen zu können, wurde diese Kohorte mithilfe des klinikinternen SAP®-Systems auf Dokumente zu erfolgten Nachsorgeuntersuchungen im Universitätsklinikum Tübingen geprüft (SAP ERP 6.0, SAP SE, Walldorf, Deutschland). Auch nach lückenhafter telefonischer Auskunft konnten so noch Patientenangaben verifiziert oder vervollständigt werden. Die für diese Studie relevanten Eckdaten der so erhobenen Krankheitsverläufe wurden unmittelbar in die Excel®-Tabelle übertragen. Falls aus den Dokumenten ausreichend Informationen über den individuellen Verlauf gewonnen werden konnten, wurden die Patienten aus dem Kollektiv der noch zu erhebenden Krankheitsverläufe aussortiert.

2.3.3 Ärztlicher Kontakt

In einem letzten Schritt erfolgte die Kontaktaufnahme der behandelnden Urologen und/oder Hausärzte der Patienten. Dazu wurden all jene Patienten ausgewählt, die zwar die Einschlusskriterien dieser Studie erfüllten, über welche durch telefonische Kontaktaufnahme bzw. In-house Follow-Up jedoch keine oder nur unzureichende Auskünfte bezüglich des postoperativen Verlaufs erhoben werden konnten. Für die Kontaktaufnahme und Dokumentation wurde ein Form-Fragebogen angelegt, der mittels Fax an die Praxen geschickt wurde. Alle Faxe wurden planmäßig im Juli 2017

verschickt. Bei zwei Patienten ergaben sich in der Auswertung der erhobenen Daten noch offene Fragen, sodass die behandelnden Ärzte nachträglich am 30.11.2017 per Fax befragt wurden. Die erhaltenen Rückantworten wurden im Studienordner abgeheftet.

2.3.4 Inhalt der Erhebungen

Unabhängig von der Art Datenerhebung wurde bei jedem Patienten versucht, die zentralen Fragestellungen der vorliegenden Studie zu klären. Diese zentralen Fragestellungen waren:

- Wie hat sich der PSA-Wert nach der Operation entwickelt?
- Gab es biochemische Rezidive? (2-mal PSA-Wert $\geq 0,2$ ng/ml)
 - Wenn ja, wann? (Monat)
- Gab es Metastasierungen?
 - Wenn ja, wann? (Monat)
- Gab es andere Events? (z. B. Versterben)

2.3.5 Verarbeitung der erhobenen Daten

Alle erhobenen Angaben wurden in der Excel®-Tabelle einheitlich kodiert und nach Abschluss der Datenerhebung terminal anonymisiert zur Auswertung in das Statistikprogramm JMP® importiert (Versionen 13.2/14.1/14.2, SAS Corporation, Cary, USA). Zur Ermittlung der individuellen Nachbeobachtungszeiträume wurden alle Blutentnahme- und Beobachtungszeitpunkte notiert und die jeweiligen zeitlichen Abstände berechnet.

In der Auswertung konnten nur jene Patienten berücksichtigt werden, über deren individuellen Krankheitsverlauf ausreichende Angaben erhoben werden konnten. Die prä- und postoperativen Kollektive der vorliegenden Studie sind daher nicht identisch mit den prä- und postoperativen Kollektiven, die von Dr. med. Gabriel Keller im Rahmen seiner Dissertation rekrutiert worden waren, sondern stellen eine Subgruppenanalyse dieser dar (Keller, 2017).

2.4 Die Follow-Up-Blutentnahmen

Im Rahmen der vorliegenden Studie sollten, neben der Erhebung der individuellen Krankheitsverläufe, auch erneute venöse Blutentnahmen zur Verlaufsbestimmung der EDIM-Scores („Follow-Up-Blutentnahmen“) durchgeführt werden. Die Planung und Durchführung der Blutentnahmen verliefen nach einem festen Schema. Abbildung 1 zeigt den schematischen Aufbau des Studienverlaufs.

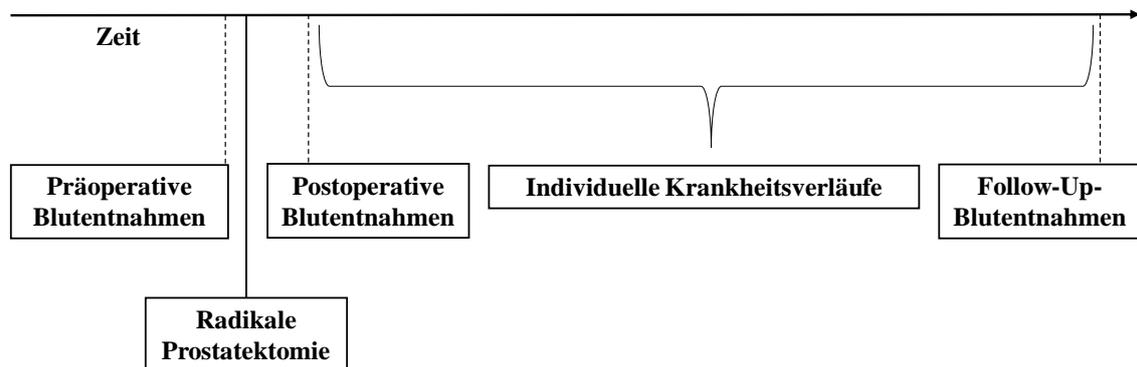


Abbildung 1: Flow-Chart über den Studienverlauf.

2.4.1 Vereinbarung der Termine

Die Organisation der durchzuführenden Blutentnahmen fand schon während der telefonischen Kontaktaufnahme (2.3.1) statt. Noch vor dem ersten Versuch der Kontaktaufnahme wurden die Patienten nach geografischer Lage in Gruppen eingeteilt. So konnten Routen erstellt werden, die sich für eine potenzielle Tagestour zur Entnahme der venösen Blutproben eigneten. Erst dann wurden die Patienten telefonisch kontaktiert. Falls sie erreicht werden konnten, wurden sie zunächst bezüglich ihres postoperativen Verlaufs befragt.

Jene Patienten, die keine Ausschlusskriterien aufwiesen, wurden im Anschluss zusätzlich nach ihrer Zustimmung zu einer erneuten venösen Blutentnahme und ihrer terminlichen Verfügbarkeit befragt. Ihnen wurde am Telefon die Zielsetzung der Studie erläutert und Raum für Rückfragen gelassen. Allen Patienten wurde am Telefon erläutert, dass neben den EDIM-Scores auch der aktuelle PSA-Wert bestimmt werden würde und ihnen die Ergebnisse der Blutuntersuchungen, falls erwünscht, mitgeteilt

würden. Die meisten Patienten wünschten sich eine Benachrichtigung bei Auffälligkeiten in der PSA-Bestimmung.

2.4.2 Entnahme der Blutproben

Die Blutentnahmen fanden dann im Rahmen von Hausbesuchen statt. Die betroffenen Patienten hatten bereits im Vorfeld telefonisch Auskünfte über Ihren postoperativen Krankheitsverlauf gegeben und der Blutentnahme zugestimmt. Alle Blutentnahmen wurden vom Autor der vorliegenden Arbeit in Kooperation mit Frau Jana Rokitzki nach entsprechender Einarbeitung durchgeführt und unter ärztlicher Aufsicht organisiert. Den Patienten wurde im persönlichen Gespräch erneut die Fragestellung und Zielsetzung der Studie erläutert und ausreichend Zeit für die Beantwortung von Rückfragen eingeplant. Zuletzt folgte eine Aufklärung über die Risiken der freiwilligen Blutentnahme und, nach erneuter Zustimmung der Patienten, schließlich die Entnahme der venösen Blutproben. Es wurden stets eine S-Monovette® (SARSTEDT AG & Co. KG, Nümbrecht, Deutschland) mit Kalium-EDTA (2,7 ml) zur Bestimmung der EDIM-Scores und eine S-Monovette® mit Silikat-beschichtetem Granulat zur Gerinnungsaktivierung (7,5 ml) für die Serum-PSA-Bestimmung entnommen.

2.4.3 Verarbeitung der Blutproben

Die asservierten Blutproben wurden, unter Vermeidung von direkter Sonneneinstrahlung, nach Beendigung der Tagesroute schnellstmöglich ins uro-onkologische Labor gebracht. Von dort wurde ein Logistikunternehmen beauftragt, die pseudonymisierten Kalium-EDTA-S-Monovetten® in das Hersteller-Labor (Biovis Diagnostik MVZ GmbH, Limburg, Deutschland) zu transportieren. Da alle Routen zur Blutentnahme so geplant waren, dass die asservierten Proben spätestens am Nachmittag im Universitätsklinikum Tübingen ankamen, geschah der Transport nach Limburg stets noch am selben Tag, nur wenige Stunden nach der Entnahme. Die Serum-PSA-Bestimmungen wurden im Zentrallabor des Universitätsklinikums Tübingen mittels Immulite2000®-Methode (Siemens Healthineers AG, Erlangen, Deutschland) durchgeführt. Wegen technischer Defekte im Zentrallabor mussten 6 PSA-Werte am 15.09.2016 außerplanmäßig im Labor der Tübinger Universitätsklinik für Kinderheilkunde bestimmt werden. Das Vorgehen entsprach damit in der Regel exakt dem

Vorgehen von Dr. med. Gabriel Keller, sodass die Auswertung der Blutproben möglichst keiner Verzerrung durch unterschiedliche Methodik unterlag (Keller, 2017).

2.4.4 Bestimmung der EDIM-Scores

Die Bestimmung von EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 wurde extern durchgeführt und entsprach der Methodik bisheriger Untersuchungen (Grimm et al., 2013, Todenhöfer et al., 2017, Keller, 2017). Abbildung 2 zeigt die schematische Darstellung der EDIM-Technologie aus den Fachinformationen des Hersteller-Labors.

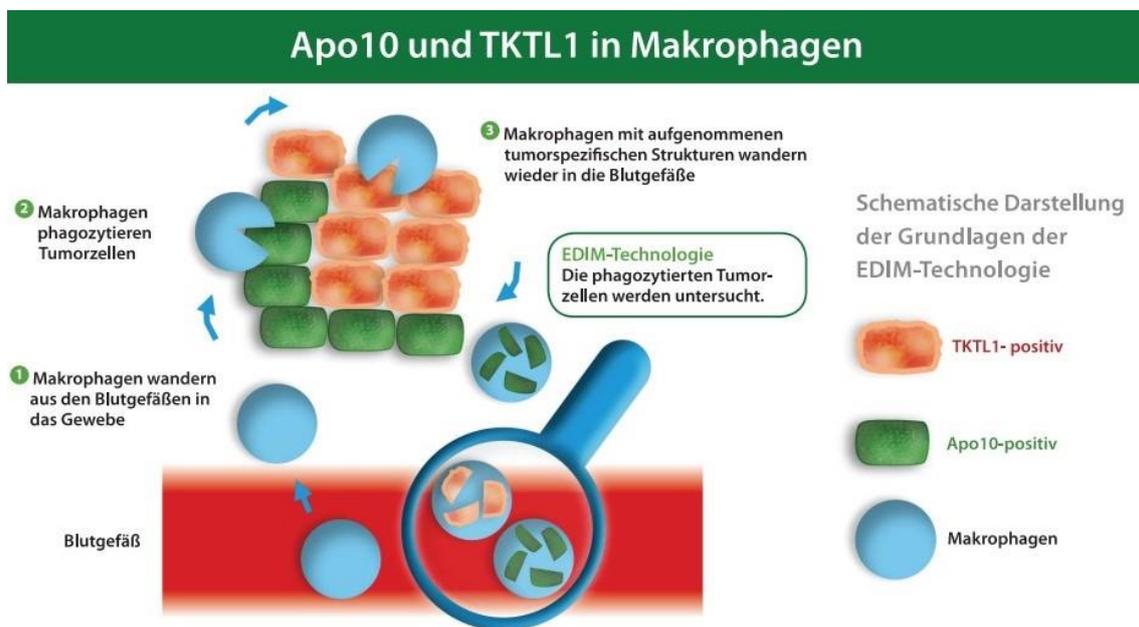


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Grundlagen der EDIM-Technologie (Biovis Diagnostik MVZ GmbH).

Den Blutproben wurden im Hersteller-Labor monoklonale Antikörper gegen CD14 (Allophycocyanin-konjugierter Klon M ϕ P9, BD Biosciences, Heidelberg, Deutschland) und CD16 (Fluoresceinisothiocyanat-konjugierter Klon NPK15, BD Biosciences, Heidelberg, Deutschland) zugesetzt, um Monozyten und aktivierte Makrophagen zu markieren (Japink et al., 2009). Es folgten Fixation (IntraPrep, Beckman Coulter GmbH, Krefeld, Deutschland), Waschung (CellWash, BD Biosciences, Heidelberg, Deutschland), Resuspension, Zusetzung eines Permeabilisierungsreagens (IntraPrep, Beckman Coulter GmbH, Krefeld, Deutschland) und Inkubation im Dunkeln (Keller, 2017).

Die bereits markierten aktivierten Makrophagen wurden durch eine Durchflusszytometrie (BD FACSCantoII, BD Biosciences, Heidelberg, Deutschland) von den ebenfalls markierten Monozyten und anderen Immunzellen unterschieden. Aktivierte Makrophagen zeigen sich als CD14⁺-CD16⁺-Zellen, Monozyten als CD14⁺-CD16⁻-Zellen (Japink et al., 2009). Die Detektion von intrazellulärem Apo10 und TKTL1 im Kollektiv der aktivierten Makrophagen wurde durch Anwendung von Antikörpern der Zyagnum AG (Pfungstadt, Deutschland) realisiert. Dazu wurden Fluorescein-isothiocyanat-konjugierte Apo10-Antikörper (Klon DJ28D4) und Phycoerythrin-konjugierte TKTL1-Antikörper (Klon JFC12T10) genutzt (Keller, 2017).

Mit diesem Vorgehen konnte der relative Anteil der Apo10-/TKTL1-positiven Zellen an der Gesamtheit der aktivierten Makrophagen detektiert werden. Zur endgültigen Bestimmung der EDIM-Scores wurde der gemessene Anteil dann mit dem Faktor 10 multipliziert. EDIM-Scores stellen keinen absoluten Wert dar, sondern eine relative Anzahl von detektierten Antikörper-positiven Zellen an der Gesamtheit der aktivierten Makrophagen. Sie werden daher ohne Einheit notiert.

2.4.5 Dokumentation

Nach der Auswertung der Blutproben wurde im Hersteller-Labor zu jedem Patienten ein mehrseitiger, pseudonymisierter Auswertungsbogen erstellt und dem uro-onkologischen Labor in Tübingen zugesandt. Diesem waren, neben diversen zytologischen Blutuntersuchungen, vor allem die gemessenen EDIM-Scores zu entnehmen. Auch die Ergebnisse der PSA-Wert-Bestimmungen im Universitätsklinikum Tübingen wurden dem uro-onkologischen Labor in pseudonymisierter Form zugestellt. Alle erhaltenen Auswertungsbögen und Ergebnisse wurden gesammelt und gemeinsam im Studienordner abgeheftet.

Die gemessenen EDIM-Scores und PSA-Werte wurden in die Excel®-Tabelle übertragen und anschließend zur statistischen Analyse in JMP® importiert.

2.5 Statistische Analyse

Die statistische Analyse und die grafische Darstellung der Ergebnisse wurde ausnahmslos mit JMP® durchgeführt.

2.5.1 Definition der Events

Für jeden Patienten ergab sich in der vorliegenden Studie ein individueller Zeitraum, der in jedem Fall mit der präoperativen Blutentnahme startete und je nach Krankheitsverlauf durch unterschiedliche Endpunkte („Events“) begrenzt wurde. Die Verlaufszeit („Time to event“) wurde als die Zeit zwischen der ersten Blutentnahme (im Rahmen der stationären Aufnahme im Universitätsklinikum Tübingen, einen bis drei Tage vor der radikalen Prostatektomie) und einem der definierten Endzeitpunkte festgelegt. Mögliche Events waren:

- **„Kein Event“**: Der letzte Beobachtungszeitpunkt bei Nicht-Auftreten von Events
- **„Biochemisches Rezidiv“**: Der Zeitpunkt des ersten Überschreitens des PSA-Grenzwertes von 0,2 ng/ml (gemäß aktueller S3-Leitlinie in mindestens zwei Messungen bestätigt (Leitlinienprogramm Onkologie, 2019))
- **„Ärztlich definiertes biochemisches Rezidiv“**: Der Zeitpunkt der therapeutischen Intervention seitens eines behandelnden Arztes (auch vor Überschreitung des definitionsgemäßen PSA-Grenzwertes)
- **„Metastasierung“**: Der Zeitpunkt des ersten Nachweises einer Metastasierung (nicht Lokalrezidive)

2.5.2 Allgemeine Gliederung der Auswertung

Die Auswertung der vorliegenden Studie wurde mit der statistischen Analyse der von Dr. med. Gabriel Keller prä- und postoperativ erhobenen EDIM-Scores begonnen. Zunächst wurden diese separiert betrachtet und in Relation zu den Krankheitsverläufen der Patienten gesetzt. In einem nächsten Schritt wurde dann die individuelle Entwicklung der EDIM-Scores zwischen den beiden Blutentnahmen auf mögliche Assoziationen zum Krankheitsverlauf geprüft.

Erst danach stand die Auswertung der neu erhobenen Follow-Up-EDIM-Scores im Fokus. Auch diese wurden auf Korrelationen zum individuellen Krankheitsverlauf untersucht, wobei Events zeitlich stets vor der Follow-Up-Blutentnahme auftraten. Die Follow-Up-EDIM-Scores wurden dazu ebenfalls, analog der Auswertung der prä- und postoperativen EDIM-Scores, zunächst separiert untersucht, bevor anschließend die individuelle Entwicklung der Scores im Langzeitverlauf betrachtet wurde.

2.5.3 Gliederung der statistischen Analyse

Die statistische Analyse wurde mit der deskriptiven Untersuchung der erhobenen Krankheitsverläufe und EDIM-Scores begonnen.

Die explorative Analyse der einzelnen Fragestellungen wurde nach einem einheitlichen Schema durchgeführt: Zunächst wurden die erhobenen EDIM-Scores als stetige Parameter betrachtet und auf eine mögliche Korrelation zum Auftreten der dokumentierten Events untersucht. Unabhängig vom Ergebnis dieser Auswertung wurden die Kollektive in einem nächsten Schritt durch Anwendung von Cut-Offs dichotomisiert. So konnte die Eingruppierung in „größer als Cut-Off“ und „kleiner als Cut-Off“ mit dem Auftreten von Events korreliert werden. Weiterhin wurde diese Eingruppierung dann auch genutzt, um Überlebenszeitanalysen durchzuführen. Auch die Untersuchungen zur Entwicklung der EDIM-Scores zwischen verschiedenen Messzeitpunkten wurden nach dieser Gliederung durchgeführt.

2.5.4 Statistische Tests

Zur Darstellung der stetigen Daten (Alter der Patienten, zeitliche Intervalle, erhobene EDIM-Scores) wurden Mittelwert, Median, Standardabweichung und Range genutzt. Die Testung auf Normalverteilung der Daten erfolgte, falls erforderlich, mittels Shapiro-Wilk-Test.

Um Zusammenhänge zwischen stetigen EDIM-Scores und kategorialen Events (Eingruppierung nach dem Auftreten oder Nicht-Auftreten von biochemischen Rezidiven/Metastasierungen) zu untersuchen, wurden einfaktorische Analysen mithilfe von Wilcoxon-Rangsummentests (Gehan, 1965) durchgeführt. Bei umgekehrter Anordnung wurde eine logistische Anpassung durchgeführt.

Bei Einteilung der EDIM-Scores gemäß definierter Cut-Offs ergaben sich für die Auswertung zwei kategoriale Größen - das Auftreten oder Nicht-Auftreten von Events und die Eingruppierung nach der Höhe der erhobenen EDIM-Scores (größer bzw. kleiner-gleich Cut-Off). In diesen Fällen wurden Kontingenzanalysen durchgeführt und mittels Fishers exaktem Test auf statistische Signifikanz geprüft. Zusätzlich wurden die Daten mittels Überlebenszeitanalysen anhand der Kaplan-Meier-Methode ausgewertet (Kaplan & Meier, 1958) und der Log-Rank-Test (Mantel, 1966) zur statistischen Testung genutzt.

Eine Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner als 5% ($p < 0,05$) wurde als statistisch signifikant gewertet. Zur besseren Anschaulichkeit wurden signifikante Ergebnisse mit einem Stern (*) markiert.

2.5.5 Verwendete Cut-Offs

Der Apo10-Score galt in der vorliegenden Studie bei Werten von >109 als pathologisch, der TKTL1-Score bei Werten von >117 . Die Kombination beider Scores, die sogenannte EDIM-Summe, wurde bei Werten von >227 als pathologisch hoch definiert. Diese Cut-Offs wurden von Grimm et al. 2013 mittels ROC-Analyse bestimmt und bereits von Todenhöfer et al. angewandt (Grimm et al., 2013, Todenhöfer et al., 2017).

2.5.5.1 Cut-Offs zur Dichotomisierung der Entwicklung der EDIM-Scores

Die zentralen Fragestellungen der vorliegenden Studie machten eine Betrachtung der Entwicklung der EDIM-Scores im individuellen Längsschnitt notwendig. Auch dabei sollte das Kollektiv, entsprechend der einheitlichen Vorgehensweise der statistischen Analyse, anhand von Cut-Offs dichotomisiert werden (siehe 2.5.3). Zunächst wurden die Differenzen der EDIM-Scores dazu stets nach Anstieg/Rückgang aufgeteilt und gemäß dieser Eingruppierung in Kontingenz- und Überlebenszeitanalysen auf Korrelationen zum Auftreten von Events im klinischen Verlauf geprüft.

Wenn sich im Rahmen dieser Auswertungen dann tendenzielle Zusammenhänge ohne das Erreichen statistischer Signifikanz zeigten, wurde die Entwicklung der EDIM-Scores in einem nächsten Schritt mittels einer sog. Einteilung nach Quartilen dichotomisiert. Dazu wurden die Quartile der Differenzen der EDIM-Scores zwischen den untersuchten Messzeitpunkten betrachtet und für die Durchführung erneuter Überlebenszeitanalysen als Cut-Offs definiert. Die dokumentierten Events wurden dabei jeweils der Eigenschaft „größer Cut-Off“ bzw. „kleiner-gleich Cut-Off“ gegenübergestellt.

3 Ergebnisse

3.1 Erhobene Krankheitsverläufe

Insgesamt konnten 150 von 174 möglichen postoperativen Verläufen nachvollzogen werden. Dies entspricht 86,2% der Ursprungskohorte. Erfolgreich durchgeführt wurden:

- 118 telefonische Befragungen (2.3.1)
- 15 In-house Follow-Up Erhebungen (2.3.2)
- 17 Erhebungen durch ärztlichen Kontakt (2.3.3)

Bei fünf Patienten stellte sich im Rahmen der Datenerhebung heraus, dass postoperativ kein PSA-Abfall unter die festgelegte Nachweisgrenze von $<0,04$ ng/ml erfolgt war. Sie wurden nachträglich aus der Auswertung dieser Arbeit ausgeschlossen.

Für die Auswertung der vorliegenden Studie ergab sich somit ein Grundkollektiv von 145 Patienten. Aus dem postoperativen Subkollektiv von Dr. med. Gabriel Keller konnten dabei 59 von 72 Patienten nachbeobachtet werden. Die mediane Nachbeobachtungszeit aller Patienten lag bei 44 Monaten, mit einer Range von 10 bis 59 Monaten und einem Mittelwert von 41,53 Monaten.

3.2 Erfasste Events

Erfreulicherweise war die Mehrzahl der postoperativen Verläufe frei vom Auftreten von Events. 108 der 145 ausgewerteten Verläufe blieben bis zum Zeitpunkt der Datenerhebung komplikationslos. Bei 37 Patienten wurden Auffälligkeiten festgestellt:

- 26 Patienten erlitten ein biochemisches Rezidiv, bei 10 davon wurde im weiteren Verlauf eine Metastasierung festgestellt (Alle Patienten mit nachgewiesenen Metastasierungen erlebten vorhergehend ein biochemisches Rezidiv).

- 3 Patienten wurden schon vor der Überschreitung des PSA-Grenzwertes von 0,2 ng/ml im Sinne eines biochemischen Rezidivs behandelt und im Rahmen dieser Studie als solches gewertet.
- Aus dem Metastasierungs-Kollektiv ausgeschlossen und als „Keine Metastasierung“ gewertet wurden 3 Patienten, bei denen ein Lokalrezidiv ohne Fernmetastasen nachgewiesen wurde. Alle 3 Patienten erlitten dabei ein biochemisches Rezidiv und wurden auch als solches kategorisiert.
- Als „Kein Event“ kategorisiert wurden 5 Patienten, die einen postoperativen PSA-Anstieg über die Nachweisgrenze erfuhren, ohne den Grenzwert von 0,2 ng/ml zum Zeitpunkt der Datenerhebung je überschritten zu haben, sowie ein Patient, dessen PSA-Wert lediglich einmalig über diesem Grenzwert lag.
- 3 Patienten des Grundkollektivs sind im Zeitraum zwischen Operation und Datenerhebung verstorben, einer davon tumorabhängig. Da diese Fallzahlen sehr niedrig waren, wurden die anfangs intendierten Event-Kategorien „verstorben“ und „tumorabhängig verstorben“ in der Auswertung der vorliegenden Studie nicht berücksichtigt. Die betroffenen Patienten wurden jedoch gemäß ihres sonstigen postoperativen Verlaufs in die entsprechenden Kategorien dieser Studie einsortiert.

Tabelle 2 zeigt die zeitlichen Kenndaten der dokumentierten Events dieser Studie.

Tabelle 2: Zeitlicher Abstand der dokumentierten Events von der Operation.

<i>TTE (Monate)</i>	<i>n</i>	<i>Mittelwert</i>	<i>Median</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>
Kein Event	116	44,2 ($\pm 07,8$)	45	10	59
Biochemisches Rezidiv	29	28,0 ($\pm 11,8$)	29	10	57
Metastasierung	10	30,4 ($\pm 10,3$)	32,5	13	42
Gesamtkollektiv	145	41,5 ($\pm 10,0$)	44	10	59

3.3 Ausgewertete Blutentnahmen

56 Patienten konnten für eine Follow-Up-Blutentnahme gewonnen werden. Bei zwei dieser Patienten konnten keine EDIM-Scores im Labor bestimmt werden, ein Patient wurde wegen postoperativer PSA-Persistenz im Nachhinein aus allen Auswertungen ausgeschlossen. Es ergab sich ein Follow-Up-Kollektiv von insgesamt 53 Patienten. Die Blutentnahmen fanden im Zeitraum von Juni bis Dezember 2016 statt. Die statistischen Kennzahlen aller ausgewerteten Blutentnahmen sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Tabelle 3: Statistische Kennzahlen aller ausgewerteten Blutentnahmen (Übersicht).

Blutentnahme	<i>n</i>	<i>Mittleres Patientenalter</i>	<i>Mittlerer Abstand zur OP</i>
Präoperativ	145	62,5 ($\pm 7,4$) Jahre	-
Postoperativ	59	62,9 ($\pm 6,4$) Jahre	8,4 ($\pm 4,8$) Monate
Follow-Up	53	68,4 ($\pm 6,0$) Jahre	41,0 ($\pm 4,2$) Monate

3.4 Charakteristika der Patientenkollektive

3.4.1 Das präoperative Grundkollektiv

3.4.1.1 Alter der Patienten

Die Patienten waren zum Zeitpunkt der präoperativen Blutentnahme im Mittel $62,5 \pm 7,4$ Jahre alt (Median 63 Jahre, Range 45 - 76 Jahre). Die präoperative Blutentnahme wurde stets einen bis drei Tage vor der Operation durchgeführt.

3.4.1.2 Erfasste EDIM-Scores

Die EDIM-Scores des Grundkollektivs waren bei der absoluten Mehrheit der Patienten deutlich erhöht. Die Daten waren nicht normalverteilt. Die Einteilung nach Cut-Offs ist Tabelle 4 zu entnehmen. Bei einem Patienten konnte kein präoperativer Apo10-Score (und damit auch keine EDIM-Summe) bestimmt werden. Zur besseren Vergleichbarkeit wird eine Übersicht über die erhobenen EDIM-Scores aller Blutentnahmezeitpunkte in den Tabellen 8 - 10 aufgeführt.

Tabelle 4: Dichotomisierte EDIM-Scores der präoperativen Blutentnahme.

Präoperative Blutentnahme	<i>n</i>	<i>> Cut-Off</i>	<i>≤ Cut-Off</i>
Apo10-Score ≤109	144	94,4 % (n= 136)	5,6 % (n= 08)
TKTL1-Score ≤117	145	92,4 % (n= 134)	7,6 % (n= 11)
EDIM-Summe ≤227	144	98,6 % (n= 142)	1,4 % (n= 02)

3.4.2 Das postoperative Kollektiv

3.4.2.1 Zeitlicher Abstand zur Operation und Alter der Patienten

Die postoperative Blutentnahme fand im Mittel 8,4 Monate nach der präoperativen Blutentnahme statt. Der Median lag bei 8 Monaten, die Standardabweichung bei 4,8 Monaten. Die Patienten waren im Mittel $62,9 \pm 6,4$ Jahre alt (Median 63 Jahre, Range 47 - 75 Jahre).

3.4.2.2 Erfasste EDIM-Scores

Knapp über 40 % der Patienten wiesen bei der postoperativen Blutentnahme pathologisch hohe EDIM-Scores auf (Tabelle 5). Die Daten waren nicht normalverteilt.

Tabelle 5: Dichotomisierte EDIM-Scores der postoperativen Blutentnahme.

Postoperative Blutentnahme	<i>n</i>	<i>> Cut-Off</i>	<i>≤ Cut-Off</i>
Apo10-Score ≤109	59	40,7 % (n= 24)	59,3 % (n= 35)
TKTL1-Score ≤117	59	44,0 % (n= 26)	56,0 % (n= 33)
EDIM-Summe ≤227	59	42,4 % (n= 25)	57,6 % (n= 34)

3.4.2.3 Entwicklung der EDIM-Scores von prä- zu postoperativ

Die überwiegende Mehrheit der Patienten konnte einen Rückgang der EDIM-Scores zwischen prä- und postoperativer Blutentnahme verzeichnen (Tabelle 6).

Tabelle 6: Entwicklung der EDIM-Scores von präoperativ zu postoperativ.

prä-/postOP	<i>n</i>	<i>Rückgang</i>	<i>Anstieg</i>	<i>Mittelwert</i>	<i>Median</i>	<i>Range</i>
Apo10-Score	58	81,0 % (n=47)	19,0 % (n=11)	-29,7 (±33,4)	-29	-105 bis +39
TKTL1-Score	59	89,3 % (n=53)	10,2 % (n=6)	-24,7 (±27,5)	-25	-73 bis +84
EDIM-Summe	58	88,0 % (n=51)	12,0 % (n=7)	-55,5 (±50,4)	-59	-160 bis +103

3.4.3 Das Follow-Up-Kollektiv

3.4.3.1 Zeitlicher Abstand zur Operation und Alter der Patienten

Die Follow-Up-Blutentnahme fand im Mittel 41 Monate (Median 41 Monate) nach der präoperativen Blutentnahme statt, mit einer Range von 32 - 48 Monaten. Das Kollektiv war im Mittel $68,4 \pm 6,0$ Jahre alt (Median 68 Jahre, Range 56 - 79 Jahre).

3.4.3.2 Erfasste EDIM-Scores

Bei der Follow-Up-Blutentnahme lag der Apo10-Score der knappen Mehrheit der Patienten oberhalb des definierten Cut-Offs, TKTL1-Score und EDIM-Summe lagen überwiegend darunter. Tabelle 7 zeigt die Einteilung nach Cut-Offs im Follow-Up-Kollektiv. Lediglich die TKTL1-Scores wiesen Normalverteilung auf.

Tabelle 7: Dichotomisierte EDIM-Scores der Follow-Up-Blutentnahme.

Follow-Up-Blutentnahme	<i>n</i>	<i>> Cut-Off</i>	<i>≤ Cut-Off</i>
Apo10-Score ≤109	53	50,9 % (n=27)	49,1 % (n=26)
TKTL1-Score ≤117	53	28,3 % (n=15)	71,7 % (n=38)
EDIM-Summe ≤227	53	34,0 % (n=18)	66,0 % (n=35)

Die statistischen Kenngrößen der stetigen Messergebnisse der EDIM-Scores aller Blutentnahmezeitpunkte sind den Tabellen 8 - 10 zu entnehmen.

Tabelle 8: Übersicht der ausgewerteten Apo10-Scores (alle Messzeitpunkte).

Apo10-Score	<i>n</i>	<i>Mittelwert</i>	<i>Median</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>
Präoperativ	144	139,8	137	103	254
Postoperativ	59	108,0	105	70	165
Follow-Up	53	114,2	110	72	197

Tabelle 9: Übersicht der ausgewerteten TKTL1-Scores (alle Messzeitpunkte).

TKTL1-Score	<i>n</i>	<i>Mittelwert</i>	<i>Median</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>
Präoperativ	145	142,6	139	102	216
Postoperativ	59	118,5	115	84	187
Follow-Up	53	108,7	106	81	153

Tabelle 10: Übersicht der ausgewerteten EDIM-Summen (alle Messzeitpunkte).

EDIM-Summe	<i>n</i>	<i>Mittelwert</i>	<i>Median</i>	<i>Minimum</i>	<i>Maximum</i>
Präoperativ	144	282,6	275,5	223	410
Postoperativ	59	226,6	223	159	352
Follow-Up	53	222,8	220	178	326

3.4.3.3 Entwicklung der EDIM-Scores von präoperativ zur Follow-Up-Blutentnahme

In der überwiegenden Mehrheit der Fälle konnte zwischen präoperativer- und Follow-Up-Blutentnahme ein Rückgang der EDIM-Scores festgestellt werden (Tabelle 11).

Tabelle 11: Entwicklung der EDIM-Scores von präoperativ zur Follow-Up-Blutentnahme.

präOP/Follow-Up	<i>n</i>	<i>Rückgang</i>	<i>Anstieg</i>	<i>Mittelwert</i>	<i>Median</i>	<i>Range</i>
Apo10-Score	53	79,2 % (n=42)	20,8 % (n=11)	-23,0 (±26,7)	-27	-82 bis 71
TKTL1-Score	53	92,5 % (n=49)	7,5 % (n=4)	-33,8 (±22,3)	-34	-93 bis 17
EDIM-Summe	53	94,3 % (n=50)	5,7 % (n=3)	-56,7 (±36,1)	-63	-125 bis 67

3.5 Die präoperativen EDIM-Scores im Vergleich zum Krankheitsverlauf

Zunächst wurden die präoperativ erhobenen EDIM-Scores mit dem Auftreten von biochemischen Rezidiven und Metastasierungen im individuellen Krankheitsverlauf der Patienten verglichen.

3.5.1 Stetige Messwerte

Zwischen der stetigen Messwerthöhe der präoperativen EDIM-Scores und dem Auftreten von biochemischen Rezidiven und Metastasierungen zeigte sich keine Korrelation (Tabelle 12).

Tabelle 12: Vergleich der präoperativen EDIM-Scores (stetig) zwischen den Gruppen mit/ohne Auftreten von biochemischen Rezidiven (BCR)/Metastasierungen.

Wilcoxon-Rangsummentest	<i>BCR</i>	<i>Metastasierung</i>
Apo10-Score präoperativ	p=0,9622	p=0,9592
TKTL1-Score präoperativ	p=0,8336	p=0,3177
EDIM-Summe präoperativ	p=0,6792	p=0,8442

3.5.2 Dichotomisierung

Nach Dichotomisierung der Messwerte wies präoperativ lediglich eine kleine Minderheit der Patienten keine pathologisch hohen EDIM-Scores auf (siehe 3.4.1.2). Es konnte kein Zusammenhang zwischen einer Cut-Off-Überschreitung und dem Auftreten von Events festgestellt werden (Tabelle 13).

Tabelle 13: Kontingenztafeln zum Vergleich des Auftretens von biochemischen Rezidiven (BCR) und Metastasierungen (Met) in Abhängigkeit der präoperativen EDIM-Scores (größer/kleiner-gleich Cut-Off), p-Werte der exakten Tests nach Fisher.

Apo10-Score präoperativ	BCR	Ø BCR	Summe	Apo10-Score präoperativ	Met	Ø Met	Summe
≤ 109	1	7	8	≤ 109	1	7	8
> 109	28	108	136	> 109	9	127	136
Summe	29	115	144	Summe	10	134	144
p = 1,0000				p = 0,4461			

TKTL1-Score präoperativ	BCR	Ø BCR	Summe	TKTL1-Score präoperativ	Met	Ø Met	Summe
≤ 117	1	10	11	≤ 117	1	10	11
> 117	28	106	134	> 117	9	125	134
Summe	29	116	145	Summe	10	135	145
p = 0,6940				p = 0,5576			

EDIM-Summe präoperativ	BCR	Ø BCR	Summe	EDIM-Summe präoperativ	Met	Ø Met	Summe
≤ 227	0	2	2	≤ 227	0	2	2
> 227	29	113	142	> 227	10	132	142
Summe	29	115	144	Summe	10	134	144
p = 1,0000				p = 1,0000			

3.5.3 Überlebenszeitanalysen

Auch in Überlebenszeitanalysen zeigte sich für keinen der getesteten EDIM-Scores eine Korrelation zwischen einer Cut-Off Überschreitung zum präoperativen Zeitpunkt und dem Auftreten von biochemischen Rezidiven und Metastasierungen (Tabelle 14).

Tabelle 14: Vergleich des Auftretens von biochemischen Rezidiven (BCR) und Metastasierungen in Abhängigkeit der präoperativen EDIM-Scores (größer/kleiner-gleich Cut-Off).

Log-Rank-Test	BCR	Metastasierung
Apo10-Score präoperativ	p=0,5247	p=0,6778
TKTL1-Score präoperativ	p=0,3290	p=0,8334
EDIM-Summe präoperativ	p=0,5022	p=0,6738

3.6 Die postoperativen EDIM-Scores im Vergleich zum Krankheitsverlauf

Die postoperativen EDIM-Scores wurden ebenfalls, analog zur statistischen Analyse der präoperativen EDIM-Scores, mit dem Auftreten von biochemischen Rezidiven und Metastasierungen korreliert.

3.6.1 Stetige Messwerte

Es ergab sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Höhe der postoperativen EDIM-Scores und dem Auftreten von Events im individuellen Krankheitsverlauf (Tabelle 15).

Tabelle 15: Vergleich der postoperativen EDIM-Scores (stetig) zwischen den Gruppen mit/ohne Auftreten von biochemischen Rezidiven (BCR)/Metastasierungen.

Wilcoxon-Rangsummentest	<i>BCR</i>	<i>Metastasierung</i>
Apo10-Score postoperativ	p=0,2929	p=0,2807
TKTL1-Score postoperativ	p=0,4381	p=0,2860
EDIM-Summe postoperativ	p=0,2503	p=0,2411

3.6.2 Dichotomisierung

Auch bei Anwendung der Cut-Offs zeigte sich kein statistischer Zusammenhang zwischen pathologisch erhöhten EDIM-Scores zum postoperativen Messzeitpunkt und dem Auftreten von Events (Tabelle 16).

Tabelle 16: Kontingenztafeln zum Vergleich des Auftretens von biochemischen Rezidiven (BCR) und Metastasierungen (Met) in Abhängigkeit der postoperativen EDIM-Scores (größer/kleiner-gleich Cut-Off), p-Werte der exakten Tests nach Fisher.

Apo10-Score postoperativ	<i>BCR</i>	\emptyset <i>BCR</i>	<i>Summe</i>	Apo10-Score postoperativ	<i>Met</i>	\emptyset <i>Met</i>	<i>Summe</i>
≤ 109	6	29	35	≤ 109	3	32	35
> 109	8	16	24	> 109	4	20	24
Summe	14	45	59	Summe	7	52	59
p = 0,2144				p = 0,4267			

TKTL1-Score postoperativ	<i>BCR</i>	\emptyset <i>BCR</i>	<i>Summe</i>	TKTL1-Score postoperativ	<i>Met</i>	\emptyset <i>Met</i>	<i>Summe</i>
≤ 117	7	26	33	≤ 117	3	30	33
> 117	7	19	26	> 117	4	22	26
Summe	14	45	59	Summe	7	52	59
p = 0,7596				p = 0,6881			

EDIM-Summe postoperativ	<i>BCR</i>	\emptyset <i>BCR</i>	<i>Summe</i>	EDIM-Summe postoperativ	<i>Met</i>	\emptyset <i>Met</i>	<i>Summe</i>
≤ 227	6	28	34	≤ 227	3	31	34
> 227	8	17	25	> 227	4	21	25
Summe	14	45	59	Summe	7	52	59
p = 0,2295				p = 0,4426			

3.6.3 Überlebenszeitanalysen

Die Überlebenszeitanalysen zeigten ebenfalls keine signifikanten Unterschiede im individuellen Krankheitsverlauf zwischen den Gruppen größer/kleiner-gleich Cut-Off (Tabelle 17).

Tabelle 17: Vergleich des Auftretens von biochemischen Rezidiven (BCR) und Metastasierungen in Abhängigkeit der postoperativen EDIM-Scores (größer/kleiner-gleich Cut-Off).

Log-Rank-Test	<i>BCR</i>	<i>Metastasierung</i>
Apo10-Score postoperativ	p=0,1361	p=0,2657
TKTL1-Score postoperativ	p=0,6489	p=0,5537
EDIM-Summe postoperativ	p=0,1858	p=0,3431

3.7 Die Entwicklung der EDIM-Scores von präoperativ zu postoperativ im Vergleich zum Krankheitsverlauf

Nachdem die isolierte Betrachtung der prä- und postoperativen EDIM-Scores keine Zusammenhänge zum Auftreten von Events zeigte, wurden als Nächstes die Differenzen der EDIM-Scores zwischen diesen beiden Messzeitpunkten auf Korrelationen zum Auftreten von Events im individuellen Krankheitsverlauf geprüft.

3.7.1 Stetige Messwerte

Dazu wurden zunächst die stetigen Differenzen der EDIM-Scores ausgewertet. Es konnte nachgewiesen werden, dass Patienten, die eine Metastasierung im Krankheitsverlauf erlebt hatten, signifikant geringere Rückgänge des TKTL1-Scores verzeichneten als der Rest des Kollektivs. Tabelle 18 zeigt, dass sich dies in der Tendenz auch für die EDIM-Summe und das Auftreten von biochemischen Rezidiven erkennen ließ, allerdings ohne das Erreichen statistischer Signifikanz.

Tabelle 18: Vergleich der Entwicklung der EDIM-Scores von präoperativ zu postoperativ (stetig) zwischen den Gruppen mit/ohne Auftreten von biochemischen Rezidiven (BCR)/Metastasierungen.

Wilcoxon-Rangsummentest	<i>BCR</i>	<i>Metastasierung</i>
Apo10-Score Prä-/PostOP	p=0,1268	p=0,1973
TKTL1-Score Prä-/PostOP	p=0,0677	p=0,0310*
EDIM-Summe Prä-/PostOP	p=0,0575	p=0,0577

3.7.2 Dichotomisierung (Anstieg/Rückgang)

Die Entwicklung der EDIM-Scores im Rahmen der Operation wurde daraufhin, gemäß dem in 2.5.5.1 erläuterten Vorgehen, nach Anstieg/Rückgang dichotomisiert. In den durchgeführten Kontingenzanalysen zeigten Patienten, die einen perioperativen Anstieg der EDIM-Summe erlebt hatten, signifikant häufiger eine Metastasierung im Krankheitsverlauf. In der Tendenz schien auch ein Anstieg des Apo10-Scores mit dem Auftreten von Events zu korrelieren (Tabelle 19).

Tabelle 19: Kontingenztafeln zum Vergleich des Auftretens von biochemischen Rezidiven (BCR) und Metastasierungen (Met) in Abhängigkeit der Entwicklung der EDIM-Scores von präoperativ zu postoperativ (dichotomisiert nach Anstieg/Rückgang), p-Werte der exakten Tests nach Fisher.

Apo10-Score Prä-/PostOP	<i>BCR</i>	\emptyset <i>BCR</i>	<i>Summe</i>	Apo10-Score Prä-/PostOP	<i>Met</i>	\emptyset <i>Met</i>	<i>Summe</i>
Anstieg	5	6	11	Anstieg	3	8	11
Rückgang	9	38	47	Rückgang	4	43	47
Summe	14	44	58	Summe	7	51	58
p = 0,1123				p = 0,1174			
TKTL1-Score Prä-/PostOP	<i>BCR</i>	\emptyset <i>BCR</i>	<i>Summe</i>	TKTL1-Score Prä-/PostOP	<i>Met</i>	\emptyset <i>Met</i>	<i>Summe</i>
Anstieg	0	6	6	Anstieg	0	6	6
Rückgang	14	39	53	Rückgang	7	46	53
Summe	14	45	59	Summe	7	52	59
p = 0,3195				p = 1,0000			
EDIM-Summe Prä-/PostOP	<i>BCR</i>	\emptyset <i>BCR</i>	<i>Summe</i>	EDIM-Summe Prä-/PostOP	<i>Met</i>	\emptyset <i>Met</i>	<i>Summe</i>
Anstieg	3	4	7	Anstieg	3	4	7
Rückgang	11	40	51	Rückgang	4	47	51
Summe	14	44	58	Summe	7	51	58
p = 0,3426				p = 0,0316*			

3.7.3 Überlebenszeitanalysen (Anstieg/Rückgang)

Auch in Überlebenszeitanalysen konnte gezeigt werden, dass ein perioperativer Anstieg der EDIM-Summe mit einem gehäuften Auftreten von Metastasierungen korrelierte (Abbildung 3). Weiterhin war vor allem ein Anstieg des Apo10-Scores in der Tendenz mit dem gehäuften Auftreten von biochemischen Rezidiven und Metastasierungen assoziiert, erreichte jedoch keine statistische Signifikanz (Tabelle 20).

Tabelle 20: Vergleich des Auftretens von biochemischen Rezidiven (BCR) und Metastasierungen in Abhängigkeit der Entwicklung der EDIM-Scores von präoperativ zu postoperativ (dichotomisiert nach Anstieg/Rückgang).

Log-Rank-Test	<i>BCR</i>	<i>Metastasierung</i>
Apo10-Score Prä-/PostOP	p=0,0583	p=0,0542
TKTL1-Score Prä-/PostOP	p=0,1599	p=0,2982
EDIM-Summe Prä-/PostOP	p=0,1652	p=0,0075*

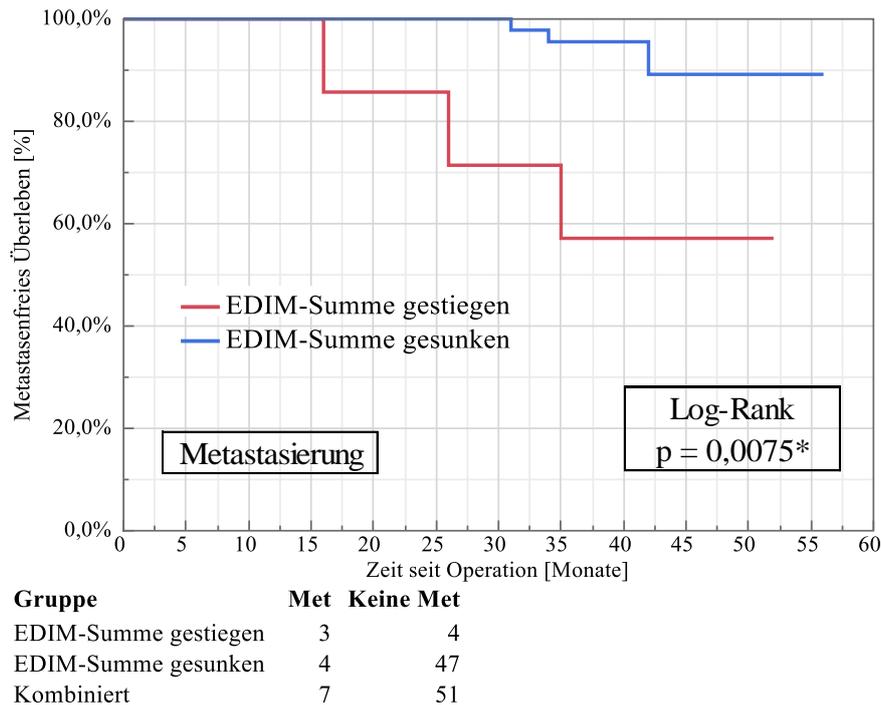


Abbildung 3: Kaplan-Meier-Darstellung zum Auftreten einer Metastasierung (Met) in Abhängigkeit der Entwicklung der EDIM-Summe von präoperativ zu postoperativ (dichotomisiert nach Anstieg/Rückgang).

3.7.4 Überlebenszeitanalysen (Einteilung nach Quartilen)

Die statistische Analyse konnte einige tendenzielle Zusammenhänge zwischen einem perioperativen Anstieg der EDIM-Scores und dem Auftreten von biochemischen Rezidiven und Metastasierungen aufzeigen. Die Überlebenszeitanalysen wurden daher, gemäß des in 2.5.5.1 beschriebenen Vorgehens, zusätzlich mit Cut-Offs durchgeführt, die mittels der sog. Einteilung nach Quartilen definiert wurden.

Mit diesem Vorgehen konnte gezeigt werden, dass alle dokumentierten Events (biochemische Rezidive und Metastasierungen) signifikant seltener stattfanden, wenn der perioperative Rückgang der EDIM-Scores einen definierten Grenzwert erreichte. Die Abbildungen 4 - 9 zeigen die Ergebnisse der Log-Rank-Tests und die dazugehörigen Kaplan-Meier-Diagramme. Diese stellen für alle untersuchten EDIM-Scores dar, wie das Erreichen (= Unterschreiten) der Cut-Offs im Rahmen der Operation zu einem verringerten Risiko für das spätere Auftreten der untersuchten Events führte.

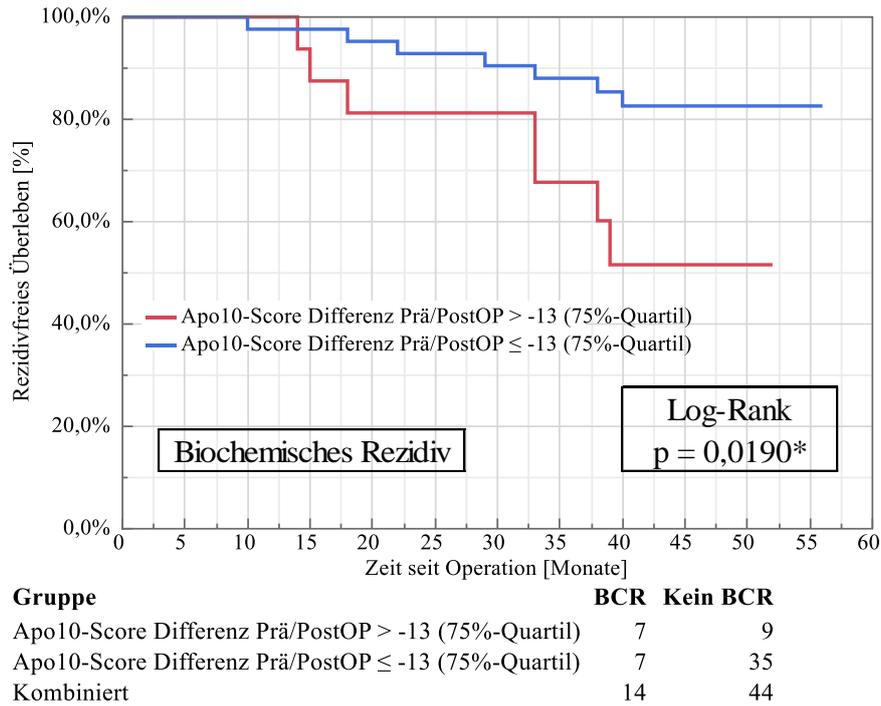


Abbildung 4: Kaplan-Meier-Darstellung zum Auftreten eines biochemischen Rezidivs (BCR) in Abhängigkeit der Entwicklung des Apo10-Scores von präoperativ zu postoperativ um >-13 und ≤-13 (75%-Quartil der Differenz).

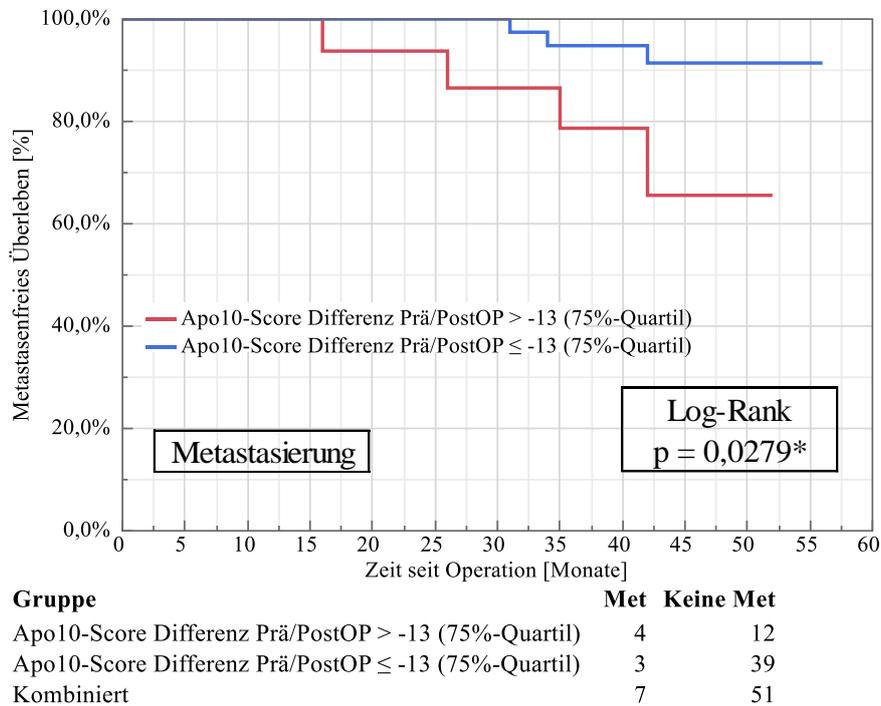
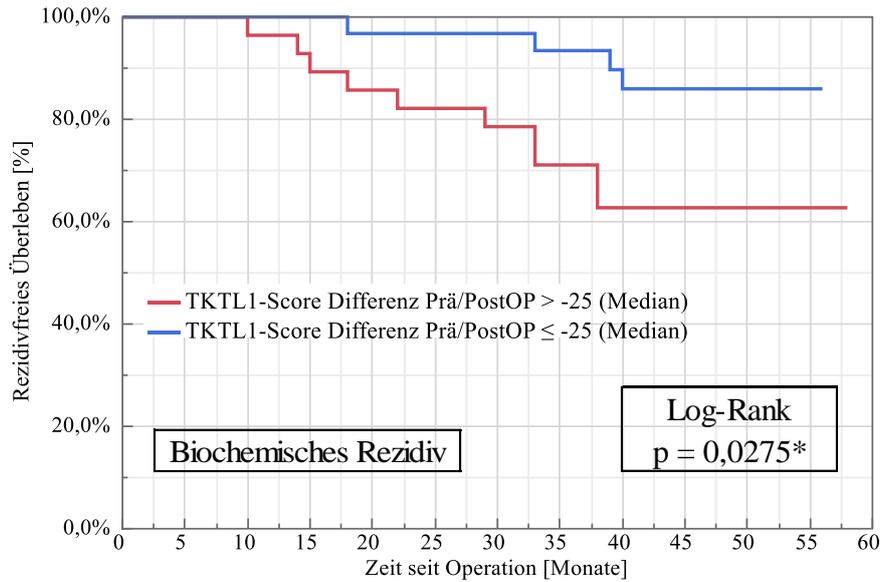
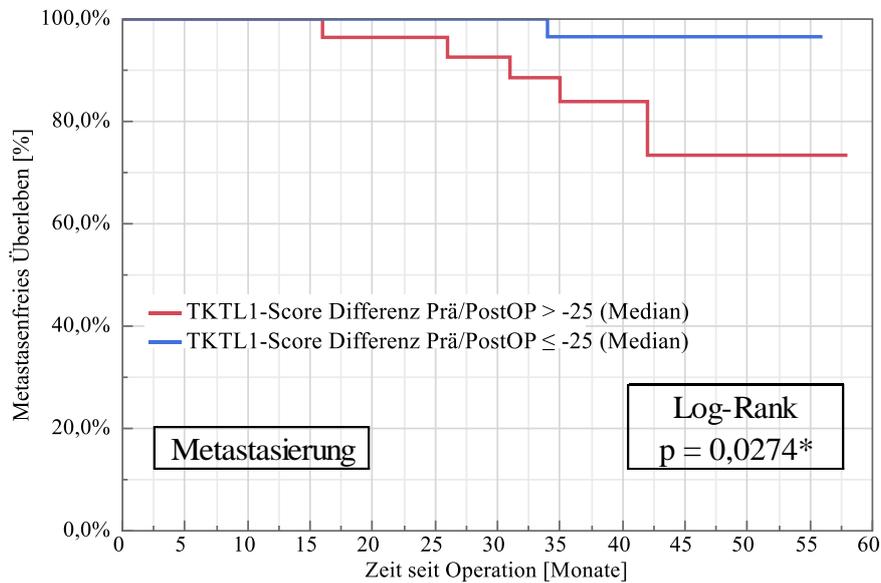


Abbildung 5: Kaplan-Meier-Darstellung zum Auftreten einer Metastasierung (Met) in Abhängigkeit der Entwicklung des Apo10-Scores von präoperativ zu postoperativ um >-13 und ≤-13 (75%-Quartil der Differenz).



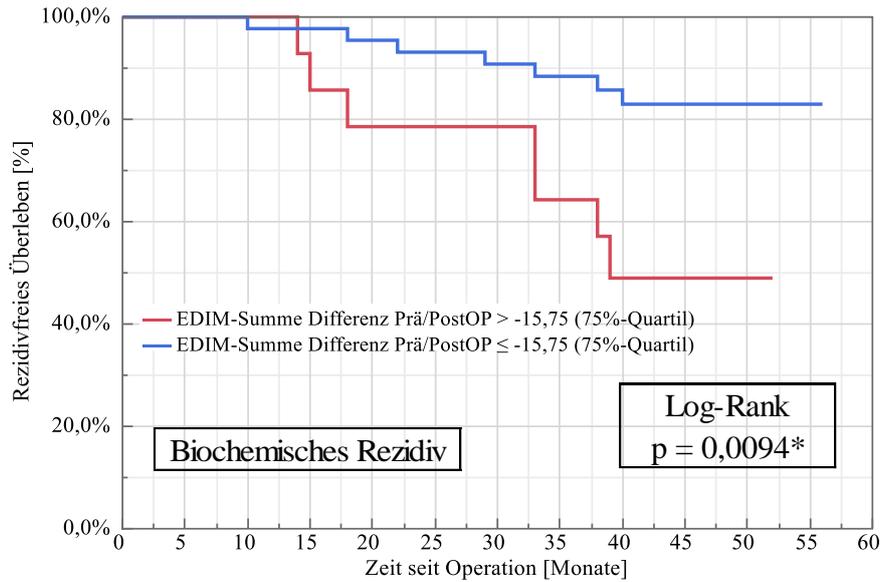
Gruppe	BCR	Kein BCR
TKTL1-Score Differenz Prä/PostOP > -25 (Median)	10	18
TKTL1-Score Differenz Prä/PostOP ≤ -25 (Median)	4	27
Kombiniert	14	45

Abbildung 6: Kaplan-Meier-Darstellung zum Auftreten eines biochemischen Rezidivs (BCR) in Abhängigkeit der Entwicklung des TKTL1-Scores von präoperativ zu postoperativ um >-25 und ≤-25 (Median der Differenz).



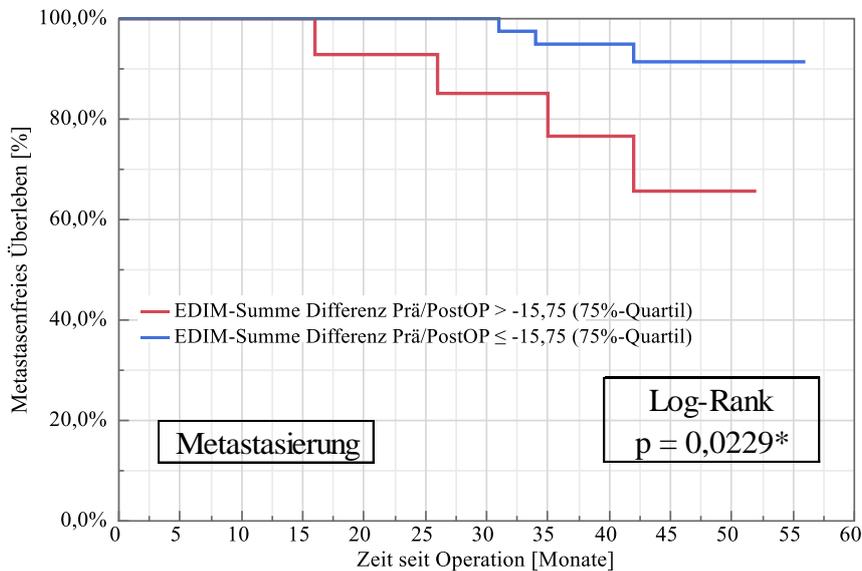
Gruppe	Met	Keine Met
TKTL1-Score Differenz Prä/PostOP > -25 (Median)	6	22
TKTL1-Score Differenz Prä/PostOP ≤ -25 (Median)	1	30
Kombiniert	7	52

Abbildung 7: Kaplan-Meier-Darstellung zum Auftreten einer Metastasierung (Met) in Abhängigkeit der Entwicklung des TKTL1-Scores von präoperativ zu postoperativ um >-25 und ≤-25 (Median der Differenz).



Gruppe	BCR	Kein BCR
EDIM-Summe Differenz Prä/PostOP > -15,75 (75%-Quartil)	7	7
EDIM-Summe Differenz Prä/PostOP ≤ -15,75 (75%-Quartil)	7	37
Kombiniert	14	44

Abbildung 8: Kaplan-Meier-Darstellung zum Auftreten eines biochemischen Rezidivs (BCR) in Abhängigkeit der Entwicklung der EDIM-Summe von präoperativ zu postoperativ um >-15,75 und ≤-15,75 (75%-Quartil der Differenz).



Gruppe	Met	Keine Met
EDIM-Summe Differenz Prä/PostOP > -15,75 (75%-Quartil)	4	10
EDIM-Summe Differenz Prä/PostOP ≤ -15,75 (75%-Quartil)	3	41
Kombiniert	7	51

Abbildung 9: Kaplan-Meier-Darstellung zum Auftreten einer Metastasierung (Met) in Abhängigkeit der Entwicklung der EDIM-Summe von präoperativ zu postoperativ um >-15,75 und ≤-15,75 (75%-Quartil der Differenz).

3.8 Die Follow-Up-EDIM-Scores im Vergleich zum Krankheitsverlauf

Im Anschluss an die Analyse der prä- und postoperativen Messwerte wurden die neu erhobenen Follow-Up-EDIM-Scores auf Zusammenhänge zum individuellen Krankheitsverlauf untersucht. Im Falle eines Auftretens von Events lagen diese zeitlich stets vor der Follow-Up-Blutentnahme. Im Follow-Up-Kollektiv wurden lediglich drei Fälle von Metastasierungen erfasst, sodass keine signifikanten Zusammenhänge aufgezeigt werden konnten. Nachfolgend werden daher nur die Auswertungen zum Auftreten von biochemischen Rezidiven aufgeführt.

3.8.1 Stetige Messwerte

Bei der Auswertung der stetigen Messwerte der Follow-Up-Blutentnahme konnte gezeigt werden, dass Apo10-Score, TKTL1-Score und EDIM-Summe bei Patienten mit vorhergehenden biochemischen Rezidiven signifikant erhöht waren. Die Abbildungen 10 - 12 zeigen Ergebnisse der statistischen Analyse.

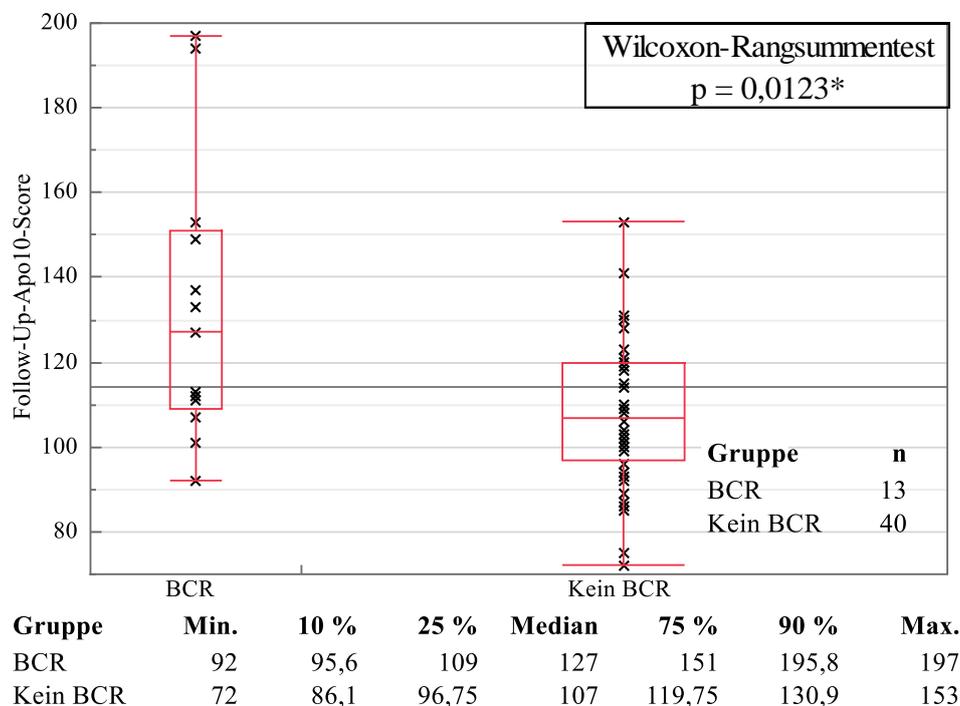


Abbildung 10: Vergleich der Follow-Up-Apo10-Scores (stetig) zwischen den Gruppen mit/ohne Auftreten von biochemischen Rezidiven (BCR).

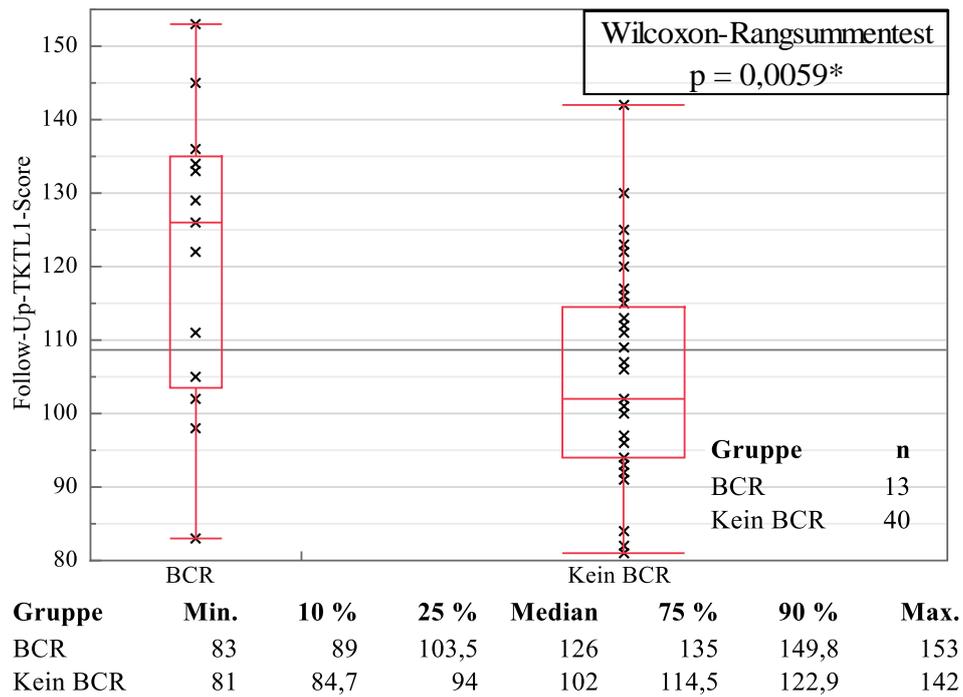


Abbildung 11: Vergleich der Follow-Up-TKTL1-Scores (stetig) zwischen den Gruppen mit/ohne Auftreten von biochemischen Rezidiven (BCR).

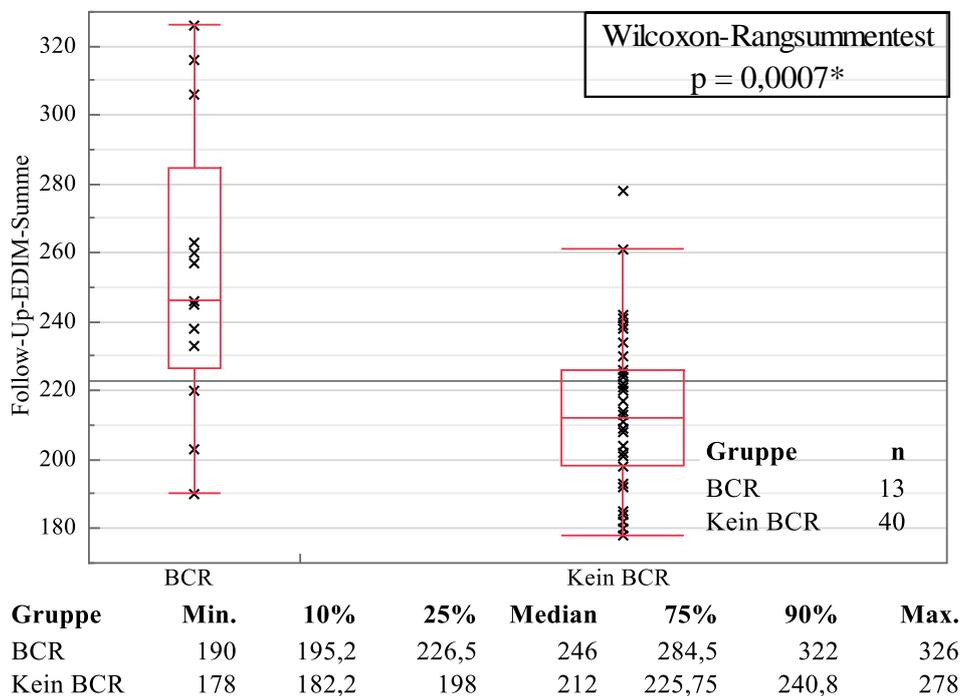


Abbildung 12: Vergleich der Follow-Up-EDIM-Summen (stetig) zwischen den Gruppen mit/ohne Auftreten von biochemischen Rezidiven (BCR).

3.8.1.1 Logistische Anpassung

Aufgrund der deutlichen Ergebnisse wurde die statistische Analyse zusätzlich durch eine logistische Anpassung ergänzt. Auch dort ergaben sich sehr kleine p-Werte im Vergleich der Gruppen mit/ohne Auftreten biochemischer Rezidive (Tabelle 21). Zu beachten ist, dass mit lediglich 13 biochemischen Rezidiven in insgesamt 53 analysierten Fällen nur eingeschränkt Felderbelegungen gegeben waren.

Tabelle 21: Vergleich des Auftretens von biochemischen Rezidiven (BCR) in Abhängigkeit der gemessenen Follow-Up-EDIM-Scores (stetig).

Logistische Anpassung	BCR
Follow-Up-Apo10-Score	p=0,0016*
Follow-Up-TKTL1-Score	p=0,0018*
Follow-Up-EDIM-Summe	p=<0,001*

3.8.2 Dichotomisierung

Patienten, die ein biochemisches Rezidiv in ihrem postoperativen Krankheitsverlauf erlebt hatten, zeigten in der Follow-Up-Blutentnahme häufiger pathologisch erhöhte TKTL1-Scores und EDIM-Summen als die eventfreie Vergleichskohorte. Tabelle 22 zeigt die eindeutig signifikanten Ergebnisse der durchgeführten Kontingenzanalysen.

Tabelle 22: Kontingenztafeln zum Vergleich des Auftretens von biochemischen Rezidiven (BCR) in Abhängigkeit der Follow-Up-EDIM-Scores (größer/kleiner-gleich Cut-Off), p-Werte der exakten Tests nach Fisher.

Follow-Up-Apo10-Score	BCR	Ø BCR	Summe	Follow-Up-TKTL1-Score	BCR	Ø BCR	Summe
≤ 109	3	23	26	≤ 117	5	33	38
> 109	10	17	27	> 117	8	7	15
Summe	13	40	53	Summe	13	40	53
p = 0,0537				p = 0,0043*			
Follow-Up-EDIM-Summe	BCR	Ø BCR	Summe				
≤ 227	3	32	35				
> 227	10	8	18				
Summe	13	40	53				
p = 0,0004*							

3.8.3 Überlebenszeitanalysen

In den Überlebenszeitanalysen konnte ebenfalls ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen über/unter Cut-Off bestätigt werden: Patienten, die zum Zeitpunkt der Follow-Up-Blutentnahme pathologisch hohe EDIM-Scores zeigten, erlebten im vorhergehenden Krankheitsverlauf häufiger biochemische Rezidive als die Vergleichskohorte. Die Abbildungen 13 - 15 zeigen die Ergebnisse der durchgeführten Log-Rank-Tests und die dazugehörigen Kaplan-Meier-Diagramme.

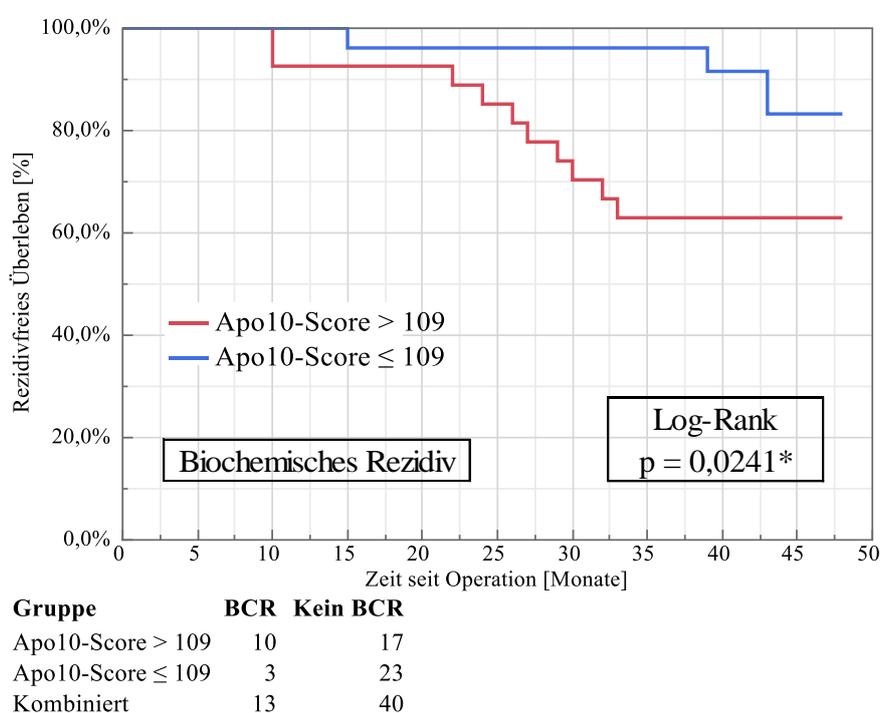


Abbildung 13: Kaplan-Meier-Darstellung zum Auftreten eines biochemischen Rezidivs (BCR) in Abhängigkeit des gemessenen Follow-Up-Apo10-Scores größer/kleiner-gleich Cut-Off.

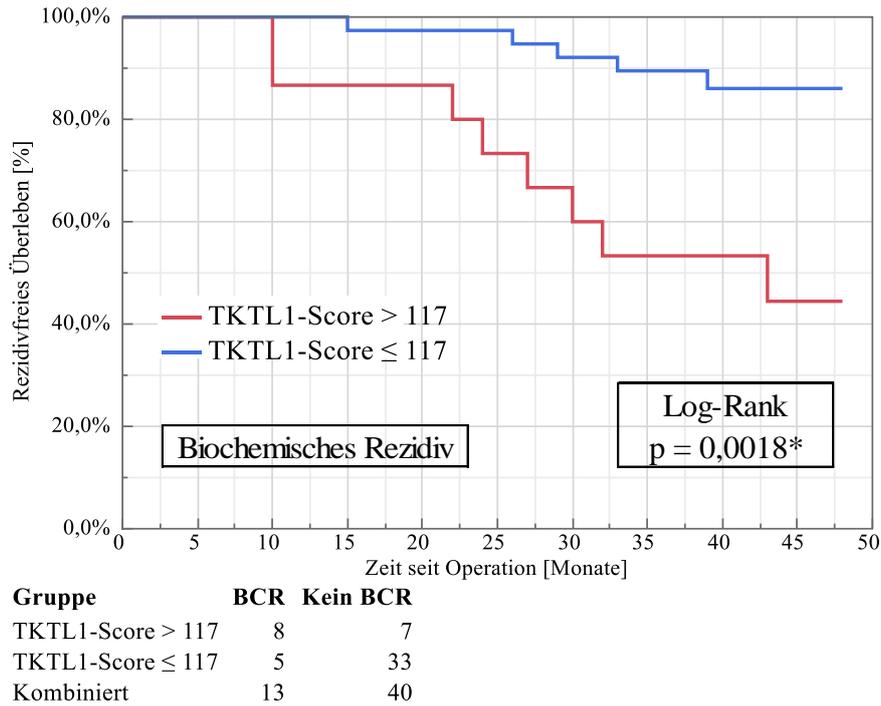


Abbildung 14: Kaplan-Meier-Darstellung zum Auftreten eines biochemischen Rezidivs (BCR) in Abhängigkeit des gemessenen Follow-Up-TKTL1-Scores größer/kleiner-gleich Cut-Off.

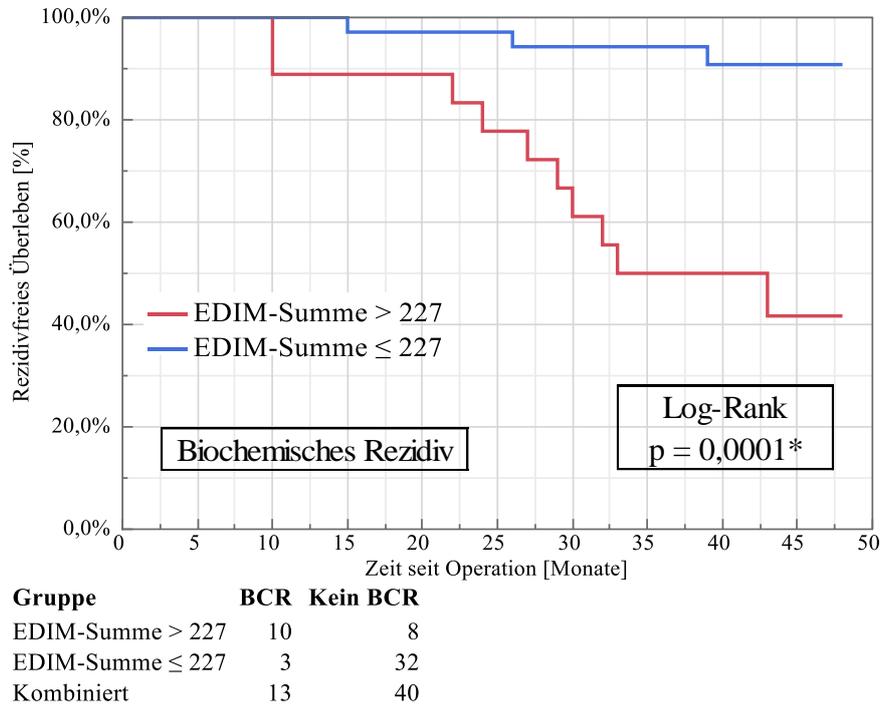


Abbildung 15: Kaplan-Meier-Darstellung zum Auftreten eines biochemischen Rezidivs (BCR) in Abhängigkeit der gemessenen Follow-Up-EDIM-Summe größer/kleiner-gleich Cut-Off.

3.9 Die Entwicklung der EDIM-Scores von präoperativ zur Follow-Up-Blutentnahme im Vergleich zum Krankheitsverlauf

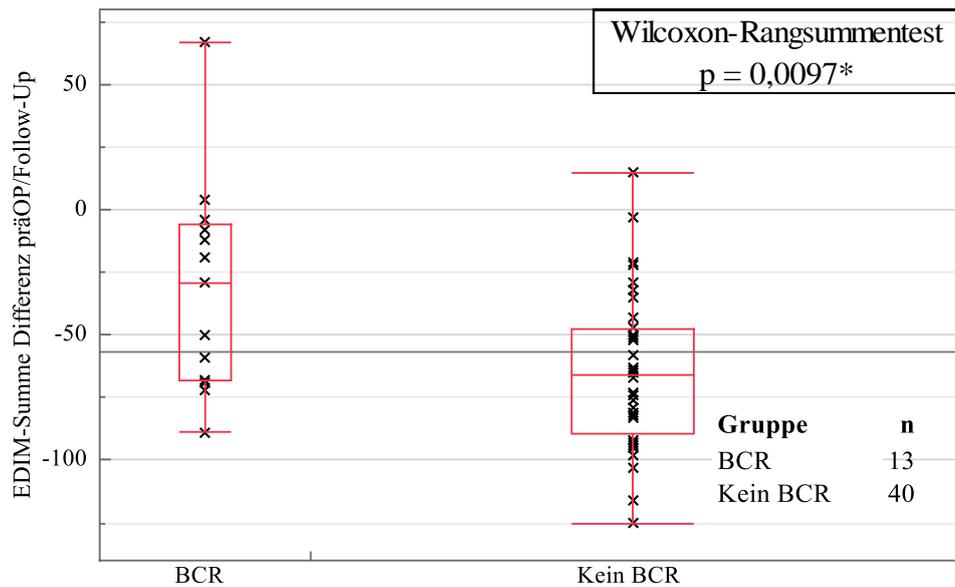
Zusätzlich zu den bisherigen Auswertungen wurde die Entwicklung der EDIM-Scores im individuellen Langzeitverlauf, also zwischen präoperativer Blutentnahme und Follow-Up-Blutentnahme, mit den klinischen Verläufen der Patienten korreliert. Dies stellt den größtmöglichen Abstand zwischen konsekutiven EDIM-Score-Bestimmungen im Rahmen der vorliegenden Studie dar. Erneut konnte für das Auftreten von Metastasierungen, wegen der geringen Fallzahl im Follow-Up-Kollektiv, in keiner Analyse ein Zusammenhang aufgezeigt werden. Nachfolgend werden daher nur die Ergebnisse der statischen Auswertungen zum Auftreten von biochemischen Rezidiven dargestellt.

3.9.1 Stetige Messwerte

Es konnte nachgewiesen werden, dass von biochemischen Rezidiven betroffene Patienten im Langzeitverlauf einen signifikant geringeren Rückgang der EDIM-Summe verzeichneten als die eventfreie Vergleichskohorte (Abbildung 16). Auch für die Entwicklung von Apo10- und TKTL1-Score ließ sich diese Tendenz erkennen, allerdings ohne das Erreichen statistischer Relevanz (Tabelle 23).

Tabelle 23: Vergleich der Entwicklung der EDIM-Scores von präoperativ zur Follow-Up-Blutentnahme (stetig) zwischen den Gruppen mit/ohne Auftreten von biochemischen Rezidiven (BCR).

Wilcoxon-Rangsummentest	BCR
Apo10-Score PräOP/Follow-Up	p=0,0545
TKTL1-Score PräOP/Follow-Up	p=0,1160
EDIM-Summe PräOP/Follow-Up	p=0,0097*



Gruppe	Min	10 %	25 %	Median	75 %	90 %	Max.
BCR	-89	-82,2	-68,5	-29	-6	41,8	67
Kein BCR	-125	-97,7	-89,75	-66	-47,75	-22,7	15

Abbildung 16: Vergleich der Entwicklung der EDIM-Summen von präoperativ zur Follow-Up-Blutentnahme (stetig) zwischen den Gruppen mit/ohne Auftreten von biochemischen Rezidiven (BCR).

3.9.2 Dichotomisierung (Anstieg/Rückgang)

Bei Einteilung des Kollektivs nach Anstieg/Rückgang der gemessenen EDIM-Scores korrelierte ein Anstieg des Apo10-Scores im individuellen Langzeitverlauf signifikant mit dem Auftreten biochemischer Rezidive (Tabelle 24).

Tabelle 24: Kontingenztafeln zum Vergleich des Auftretens von biochemischen Rezidiven (BCR) in Abhängigkeit der Entwicklung der EDIM-Scores von präoperativ zur Follow-Up-Blutentnahme (dichotomisiert nach Anstieg/Rückgang), p-Werte der exakten Tests nach Fisher.

Apo10-Score				TKTL1-Score			
PräOP/Follow-Up	BCR	Ø BCR	Summe	PräOP/Follow-Up	BCR	Ø BCR	Summe
Anstieg	6	5	11	Anstieg	2	2	4
Rückgang	7	35	42	Rückgang	11	38	49
Summe	13	40	53	Summe	13	40	43

p = 0,0170* p = 0,2493

EDIM-Summe			
PräOP/Follow-Up	BCR	Ø BCR	Summe
Anstieg	2	1	3
Rückgang	11	39	50
Summe	13	40	53

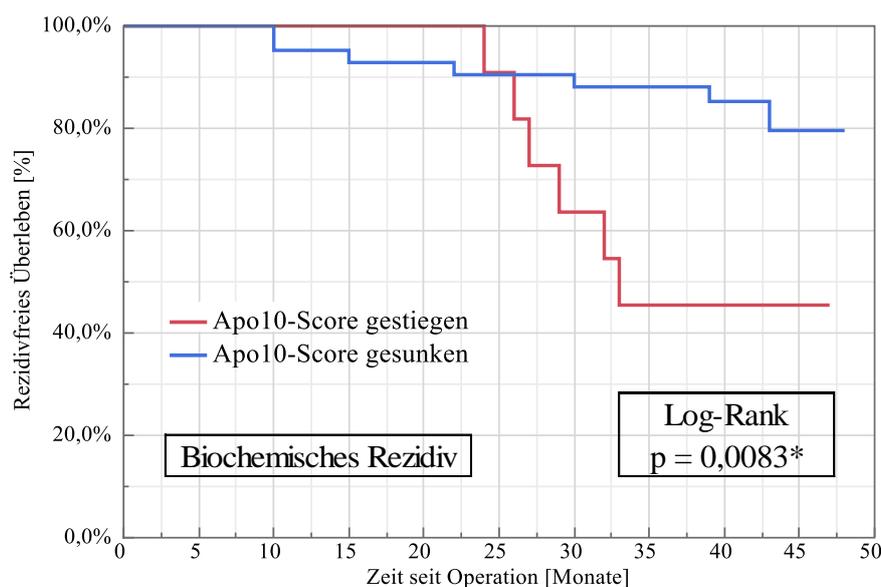
p = 0,1454

3.9.3 Überlebenszeitanalysen (Anstieg/Rückgang)

Die Überlebenszeitanalysen bestätigten das signifikant gehäufte Auftreten von biochemischen Rezidiven bei jenen Patienten, die einen Anstieg des Apo10-Scores im Langzeitverlauf erlebt hatten (Abbildung 17). TKTL1-Score und EDIM-Summe zeigten eine ähnliche Tendenz, statistische Signifikanz wurde jedoch nicht erreicht (Tabelle 25).

Tabelle 25: Vergleich des Auftretens von biochemischen Rezidiven (BCR) in Abhängigkeit der Entwicklung der EDIM-Scores von präoperativ zur Follow-Up-Blutentnahme (dichotomisiert nach Anstieg/Rückgang).

Log-Rank-Test	BCR
Apo10-Score PräOP/Follow-Up	p=0,0083*
TKTL1-Score PräOP/Follow-Up	p=0,1319
EDIM-Summe PräOP/Follow-Up	p=0,0629



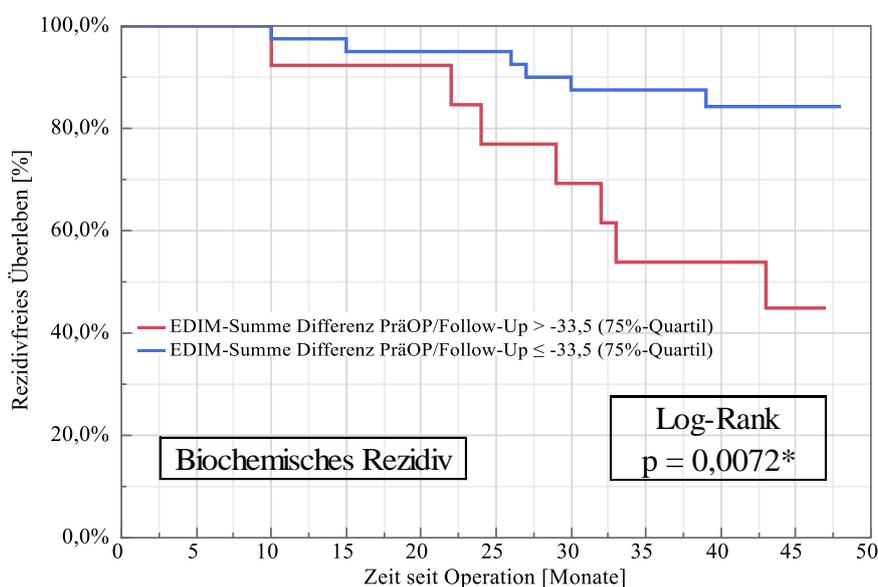
Gruppe	BCR	Kein BCR
Apo10-Score gestiegen	6	5
Apo10-Score gesunken	7	35
Kombiniert	13	40

Abbildung 17: Kaplan-Meier-Darstellung zum Auftreten eines biochemischen Rezidivs (BCR) in Abhängigkeit von Anstieg/Rückgang des Apo10-Scores von präoperativ zur Follow-Up-Blutentnahme.

3.9.4 Überlebenszeitanalysen (Einteilung nach Quartilen)

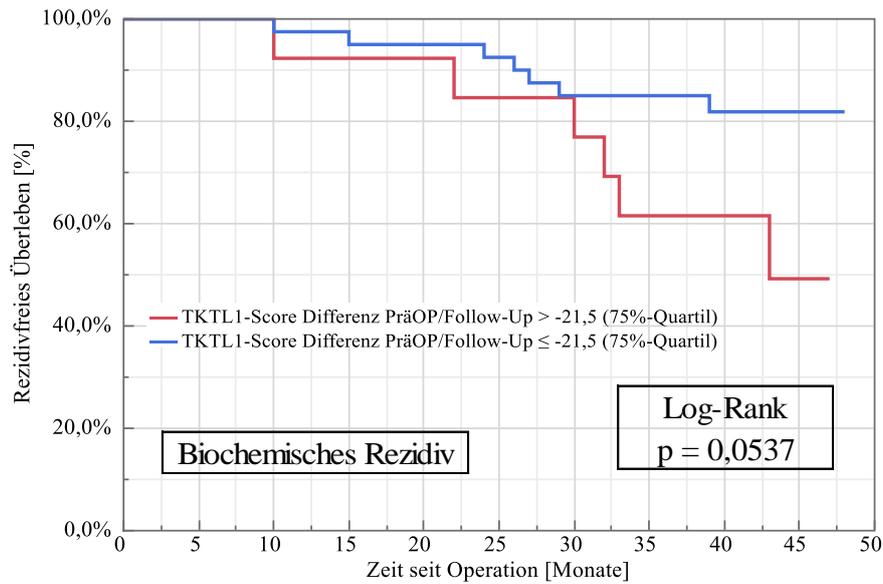
Sowohl ein Anstieg des TKTL1-Scores als auch der EDIM-Summe war in der Tendenz mit einem gehäuften Auftreten von biochemischen Rezidiven assoziiert, erreichte jedoch keine statistische Signifikanz. Entsprechend des in 2.5.5.1 beschriebenen Vorgehens wurden die Überlebenszeitanalysen daher mit Cut-Offs wiederholt, die mittels der sog. Einteilung nach Quartilen definiert wurden.

Dabei konnte ein weiterer signifikanter Zusammenhang aufgezeigt werden: Patienten, die im individuellen Langzeitverlauf einen Rückgang der EDIM-Summe um mindestens 33,5 (75%-Quartil) verzeichnen konnten, erlebten signifikant seltener biochemische Rezidive als das Vergleichskollektiv. Für die Entwicklung des TKTL1-Scores zeigte sich mit dieser Methodik erneut lediglich eine tendenzielle Korrelation. Die Abbildungen 18 und 19 zeigen die Ergebnisse der Log-Rank-Tests und die dazugehörigen Kaplan-Meier-Diagramme.



Gruppe	BCR	Kein BCR
EDIM-Summe Differenz PräOP/Follow-Up > -33,5 (75%-Quartil)	7	6
EDIM-Summe Differenz PräOP/Follow-Up ≤ -33,5 (75%-Quartil)	6	34
Kombiniert	13	40

Abbildung 18: Kaplan-Meier-Darstellung zum Auftreten eines biochemischen Rezidivs (BCR) in Abhängigkeit der Entwicklung der EDIM-Summe von präoperativ zur Follow-Up-Blutentnahme um >-33,5 und ≤-33,5 (75%-Quartil der Differenz).



Gruppe	BCR	Kein BCR
TKTL1-Score Differenz PräOP/Follow-Up > -21,5 (75%-Quartil)	6	7
TKTL1-Score Differenz PräOP/Follow-Up ≤ -21,5 (75%-Quartil)	7	33
Kombiniert	13	40

Abbildung 19: Kaplan-Meier-Darstellung zum Auftreten eines biochemischen Rezidivs (BCR) in Abhängigkeit der Entwicklung des TKTL1-Scores von präoperativ zur Follow-Up-Blutentnahme um >-21,5 und ≤-21,5 (75%-Quartil der Differenz).

4 Diskussion

4.1 Zielsetzung der vorliegenden Studie

Die vorliegende Studie prüfte die molekularen Marker EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 in Bezug auf ihre prognostische Wertigkeit beim Prostatakarzinom. Durch Bestimmungen zu unterschiedlichen Messzeitpunkten (präoperativ, postoperativ, Follow-Up-Zeitpunkt) wurden Zusammenhänge zwischen der Höhe der EDIM-Scores oder ihrer Entwicklung im individuellen Verlauf und dem Auftreten von biochemischen Rezidiven und Metastasierungen untersucht.

4.2 Zusammenfassung der Ergebnisse

Es konnte nachgewiesen werden, dass die individuelle Entwicklung von EDIM-Apo10, EDIM-TKTL1 und der EDIM-Summe im Rahmen der Therapie, also zwischen präoperativer- und postoperativer Blutentnahme, eine prognostische Aussage über das spätere Auftreten von Events zuließ. Das Erreichen eines definierten Mindestrückgangs korrelierte mit einem verminderten Risiko für das Auftreten von biochemischen Rezidiven und Metastasierungen.

Weiterhin ließ sich vor allem eine eindeutige Korrelation zwischen den EDIM-Scores der deutlich späteren Follow-Up-Blutentnahme und dem Auftreten von biochemischen Rezidiven aufzeigen. Patienten, die postoperativ ein biochemisches Rezidiv erlebt hatten, zeigten in der Follow-Up-Blutentnahme signifikant höhere Scores von EDIM-Apo10, EDIM-TKTL1 und der EDIM-Summe. Durch Anwendung von bereits bekannten Cut-Offs konnte vor allem in Überlebenszeitanalysen ein eindeutiger Zusammenhang zwischen pathologisch hohen EDIM-Scores und signifikant schlechteren klinischen Verläufen aufgezeigt werden. Auch die individuelle Entwicklung der EDIM-Scores im Langzeitverlauf korrelierte mit dem Auftreten von biochemischen Rezidiven.

4.3 Methodische Aspekte

4.3.1 Anzahl der Studienteilnehmer

Die vorliegende Studie konnte die individuellen Krankheitsverläufe der Patienten mit insgesamt 145 präoperativen-, 59 postoperativen- und 53 Follow-Up-Messungen von EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 vergleichen. Diese Kollektive wurden im Rahmen des Verbundprojektes aus dem Grundkollektiv von Todenhöfer et al. rekrutiert, welches mit 174 Patienten die bisher größte Untersuchung der EDIM-Scores bei Vorliegen eines Prostatakarzinoms darstellt (Todenhöfer et al., 2017). Sogar unabhängig von der untersuchten Krebsentität gab es bislang, bei einer insgesamt begrenzten Studienlage, nur wenige Studien mit größeren Patientenkollektiven. Feyen et al. konnten 2012 eine experimentelle Bestimmung von EDIM-TKTL1 an insgesamt 240 Malignompatienten durchführen, das mit Abstand größte Subkollektiv bildeten 139 NSCLC-Patienten. Lediglich ein Patient hatte ein Prostatakarzinom (Feyen et al., 2012). Eine weitere Studie konnte im darauffolgenden Jahr 213 Patienten für eine experimentelle Bestimmung von EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 gewinnen. Prostatakarzinom-Patienten bildeten das größte Subkollektiv der Untersuchung (OSCC n=50, Mammakarzinom n=48, Prostatakarzinom n=115) (Grimm et al., 2013). Umfangreichere Publikationen zu diesem Themenkomplex erfolgten, nach Kenntnis des Autors dieser Arbeit, bisher nicht. Untersuchungen zur Höhe von EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 bei Vorliegen eines Prostatakarzinoms beschränken sich somit bisher auf zwei Studien mit 115 Patienten (Subkollektiv von Grimm et al. 2013) bzw. 174 Patienten (Todenhöfer et al. 2017).

Zentraler Forschungsaspekt der vorliegenden Studie war jedoch vor allem die mehrfache Messung von EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 im Verlauf des individuellen Krankheitsverlaufs. Grimm et al. hatten 2013 durch prä- und postoperative Blutentnahmen bei 12 Patienten (Prostatakarzinom n=6, OSCC n=3, Mammakarzinom n=3) erste Hinweise auf einen Rückgang der EDIM-Scores nach der operativen Entfernung von Malignomen erbringen können (Grimm et al., 2013). Im Jahr 2016 konnte dies von Grimm et al. anhand von 45 Blutentnahmen nach operativer Entfernung eines OSCC bestätigt werden (Grimm et al., 2016c). Das bisher größte Kollektiv zum

Nachweis eines solchen Rückgangs (n=72) konnten Todenhöfer et al. nach Durchführung einer radikalen Prostatektomie rekrutieren (Todenhöfer et al., 2017).

Im Rahmen dieser Studie wurden also die bislang größten Patientenkollektive zur Untersuchung der Höhe der EDIM-Scores bei Vorliegen und nach Entfernung eines Prostatakarzinoms nachbeobachtet. Dabei konnte die absolute Mehrheit der ursprünglichen Patienten erreicht werden, sodass sich mit 145 Patienten (präoperativ) bzw. 59 Patienten (postoperativ) wieder vergleichsweise große Kollektive ergaben. Auch die 53 ausgewerteten Follow-Up-Blutentnahmen sind im Kontext der bisherigen Publikationen zu EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 als eine ausreichend große Menge zu bewerten.

4.3.2 Homogenität des Grundkollektivs

Das Grundkollektiv war zum Zeitpunkt der Operation im Mittel $62,5 \pm 7,4$ Jahre alt (Median 63 Jahre, Range 45 - 76 Jahre). Dies deckt sich mit epidemiologischen Daten, gemäß denen das Prostatakarzinom unter einem Alter von 40 Jahren eine Seltenheit ist und fortschreitendes Alter einen der zentralen Risikofaktoren darstellt (Börgermann et al., 2014).

Todenhöfer et al. hatten jene Patienten vom Grundkollektiv ausgeschlossen, bei denen ein fortgeschrittenes Tumorwachstum (T4-Stadium), eine Fernmetastasierung (M1) oder ein bekanntes Zweitmalignom vorlagen (siehe 2.1.1). Diese Selektion stellte eine gute Vergleichbarkeit des Patientenkollektivs sicher. 58 von 145 Patienten des präoperativen Grundkollektivs (40 %) zeigten identische Tumoreigenschaften: pT2c, pN0, pM0, Gleason-Summe 7a. Dies bestätigte sich auch durch Anwendung der Risikoklassifikation nach D'Amico (D'Amico et al., 1998), der zufolge 129 von 145 Patienten (89 %) dem „high risk“-Kollektiv zuzuordnen waren. Gerade im Hinblick auf eine eventuelle klinische Anwendbarkeit der Ergebnisse dieser Arbeit ist dies relevant: Möglicherweise könnten EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 dort eine Differenzierung im Risikoprofil bewirken, wo etablierte Methoden bis dato keine Unterscheidung mehr anzuzeigen vermögen.

4.3.3 Erhebung von Krankheitsverläufen

Ein zentraler Unterschied zwischen der vorliegenden Studie und bisherigen Publikationen zu den genannten Markern liegt in der Erhebung von langjährigen individuellen Krankheitsverläufen und der Korrelation dieser zu (oft mehrfachen) Messungen von EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1. Dies wurde bisher, bis auf wenige Ausnahmen, kaum untersucht:

Grimm et al. konnten 45 OSCC-Patienten nach der Durchführung einer prä- und postoperativen Bestimmung von EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 im Mittel 22,2 Monate nachbeobachten. Die Patienten wurden dabei entsprechend einer Risikostratifizierung auf Basis der erhobenen EDIM-Scores in Gruppen eingeteilt. 39 Patienten zeigten sinkende oder als niedrig definierte EDIM-Scores, ein Patient moderate EDIM-Scores und fünf Patienten stark positive EDIM-Scores. Insgesamt konnten im Rahmen der Studie drei Tumorrezidive identifiziert werden (Grimm et al., 2016c). Weiterhin sind an dieser Stelle zwei Case-Reports zu nennen: Beide erhoben EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 im Rahmen der postoperativen Nachsorge eines Malignoms zu mehreren Zeitpunkten, wodurch die frühzeitige Detektion von Tumorrezidiven ermöglicht wurde. Jansen und Coy bestimmten die EDIM-Scores nach operativer Entfernung eines Kolonkarzinoms fünfmal in 13 Monaten, Grimm et al. nach operativer Entfernung eines OSCC fünfmal in 8 Monaten (Jansen & Coy, 2013, Grimm et al., 2016b). Weitere Untersuchungen eines ähnlichen Studiendesigns sind dem Autor dieser Arbeit nicht bekannt.

Die Endpunkte des Beobachtungszeitraums der vorliegenden Studie lagen im Mittel 41,5 Monate nach der Operation, mit einer Range von 10 bis 59 Monaten. Die stellt, im Vergleich zu bisherigen Publikationen zu EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1, sehr umfangreiche Beobachtungszeiträume dar. Durch den mehrschrittigen Prozess der Erhebung des Krankheitsverlaufs (siehe 2.3) sollten dabei möglichst viele Patienten erreicht werden, die untersuchten Zeiträume schwankten dadurch jedoch oft. Zusätzlich führte die Definition der Events als Endpunkt des Beobachtungszeitraums teils zur Auswertung relativ kurzer postoperativer Zeiträume. Um eine möglichst große Aussagekraft der Daten zu generieren, wurde dieser variablen Dauer durch Anwendung von zensierten Daten Rechnung getragen.

Die Erhebung der Krankheitsverläufe konnte in dieser Studie von der untersuchten Tumorentität profitieren: Zur postoperativen Überwachung auf Rezidive des Prostatakarzinoms ist bereits eine standardmäßige, engmaschige Intervallmessung des PSA-Wertes in der klinischen Routine etabliert. Jeder Studienteilnehmer erfuhr in der Regel die gleiche sensitive Nachsorge, sodass der vorliegenden Auswertung eine standardisierte Kontrolle auf Progress der Grunderkrankung zugrunde liegt. Es bedurfte keiner stichprobenartigen Durchführung von bildgebenden oder histologischen Untersuchungen, wie es bei anderen Tumorentitäten der Fall gewesen wäre. Die EDIM-Scores konnten also mit besonders zuverlässigen Informationen aus der Nachsorge korreliert werden. Dies führt zu einer gesteigerten Aussagekraft der vorliegenden Ergebnisse, da von einer nahezu vollständigen Detektion von biochemischen Rezidiven und Metastasierungen bei allen in diese Studie inkludierten Patienten auszugehen ist.

4.3.4 Durchführung der Follow-Up-Blutentnahmen

Die Follow-Up-Blutentnahmen wurden im Mittel $41 \pm 4,2$ Monate (Median 41 Monate) nach der Operation durchgeführt. Verglichen mit bisherigen Publikationen stellt dies einen großen Zeitraum dar: Grimm et al. hatten die postoperativen Blutentnahmen im Mittel 9,8 Monate nach der Operation durchgeführt, Todenhöfer et al. Median 274 Tage nach der Operation (Grimm et al., 2016c, Todenhöfer et al., 2017). Das Follow-Up-Kollektiv dieser Studie bildet damit den bislang größten Zeitraum zwischen konsekutiven Blutentnahmen zur Bestimmung von EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 ab.

Die Follow-Up-Blutentnahmen wurden dabei über ein halbes Jahr verteilt durchgeführt. In Anbetracht des großen zeitlichen Abstands zur OP sollte der daraus resultierende Bias jedoch als gering zu bewerten sein - das kürzeste Intervall zwischen Operation und Follow-Up-Blutentnahme betrug 32 Monate, der längste Zeitraum 48 Monate.

4.3.5 Bestimmung der EDIM-Scores

Im Hinblick auf die Vergleichbarkeit wurden die EDIM-Scores in der vorliegenden Studie nach exakt derselben Methodik wie durch Todenhöfer et al. erhoben. Dies schließt eine Verzerrung der Ergebnisse durch Unterschiede im Vorgehen bei der Probenasservation oder der Bestimmung im Labor aus (Todenhöfer et al., 2017, Keller, 2017)

4.3.6 Definition der Cut-Offs

Die Dichotomisierung der untersuchten Patientenkollektive war für viele Fragestellungen der vorliegenden Studie wichtig. Die Definition der angewendeten Cut-Offs orientierte sich dabei an bisherigen Publikationen zur Bestimmung der EDIM-Scores.

Das Hersteller-Labor (Biovis) schlägt auf den EDIM-Auswertungsbögen für den Apo10-Score ein zweistufiges Modell gemäß einem Normbereich bei Werten <100 , einem Risikobereich von 100 und bis 129 und einer pathologischen Erhöhung bei Werten ≥ 130 vor. Für den TKTL1-Score definiert Biovis den pathologischen Bereich bei Werten ≥ 119 . Diese Grenzwerte stehen im Einklang mit Angaben aus dem Case-Report von Jansen und Coy aus dem Jahr 2013 (Jansen & Coy, 2013). Der Cut-Off des TKTL1-Scores wurde durch den Vergleich mit FDG-PET/CT-Ergebnissen ($n=240$) gebildet (Feyen et al., 2012), der Cut-Off des Apo10-Scores durch Untersuchungen der Normalverteilung gesunder Patienten im Vergleich zu Krebspatienten ($n=10.000$). Nähere Angaben zur genauen Anzahl der unterschiedlichen Krebsentitäten sind leider nicht öffentlich, auch die genaue Methodik hinter der Untersuchung wurde nicht beschrieben (Jansen & Coy, 2013).

Der Autor der vorliegenden Arbeit entschied sich jedoch zur Anwendung anderer Cut-Offs (siehe 2.5.5). Diese wurden 2013 von Grimm et al. publiziert: Der Apo10-Score galt erst bei Werten von >109 als pathologisch, der TKTL1-Score bei Werten >117 , die EDIM-Summe bei Werten >227 . Die Festlegung dieser Cut-Offs fand im Rahmen von klinischen Untersuchungen zwischen gesunden Blutspendern und 213 Tumorpatienten statt, wobei 115 Patienten mit nachgewiesenen Prostatakarzinomen die größte Kohorte der Untersuchung bildeten (OSCC $n=50$, Mammakarzinom $n=48$, Prostatakarzinom $n=115$). Durch ROC-Analysen (Zweig & Campbell, 1993) wurde der Punkt mit der

höchsten Sensitivität und Spezifität, also der höchsten diagnostischen Genauigkeit, errechnet (Grimm et al., 2013). Dabei wurden sehr gute Werte für die Sensitivität und Spezifität des Apo10-Scores (92%/94,6%), des TKTL1-Scores (90,6%/95,9%) und der EDIM-Summe (95,8%/97,3%) erzielt (Grimm et al., 2013).

Nachfolgende Publikationen verwendeten in der überwiegenden Mehrheit diese Cut-Offs (Grimm et al., 2016a, Grimm et al., 2016b, Todenhöfer et al., 2017). Auch eine Übersichtsarbeit von Coy verwies auf die ROC-Analysen von Grimm et al. (Coy, 2017). Lediglich eine Untersuchung hat, nach Kenntnis des Autors dieser Arbeit, seither andere Cut-Offs verwendet: Zur Nachbeobachtung von Patienten nach operativer Entfernung eines OSCC teilten Grimm et al. das Kollektiv mittels leicht modifizierter Methodik, jedoch weiterhin auf Basis der ROC-Analyse von 2013 ein. Der pathologische Bereich wurde bei etwas höheren Werten definiert. Im Rahmen der Diskussion wurde dies mit einer verringerten Gesundheit der kürzlich operierten Tumorpatienten im Vergleich zu einem gesunden Vergleichskollektiv begründet, sodass etwas höhere Cut-Offs diesem Umstand gerecht werden könnten (Grimm et al., 2016c). Dabei wurde jedoch von Grimm et al. explizit die operative Entfernung eines Prostatakarzinoms als Beispiel für eine Operation mit einer schnellen Wundheilung aufgeführt. Weiterhin macht es gerade der große zeitliche Abstand der Follow-Up-Blutentnahmen von der Entfernung der Prostatakarzinome zusätzlich unwahrscheinlich, dass noch mit Auswirkungen der Nebeneffekte der Operationen auf die EDIM-Scores zu rechnen ist.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass für die Anwendung der Cut-Offs von Grimm et al. 2013 mehrere Gründe sprachen: Zum einen konnte ihnen bereits eine sehr gute Sensitivität und Spezifität zur Detektion von Prostatakarzinomen nachgewiesen werden, zum anderen wurden sie in den meisten aktuellen Publikationen zur Bestimmung der EDIM-Scores verwendet. Da sie daher eine besonders gute Vergleichbarkeit im Rahmen der gegenwärtigen Forschung boten, wurden sie auch in der vorliegenden Studie angewandt.

4.4 Bewertung der vorliegenden Ergebnisse

4.4.1 Die Aussagekraft der prä- und postoperativen EDIM-Scores

Die isolierte Betrachtung der EDIM-Scores der prä- bzw. postoperativen Messung ließ keine prognostischen Aussagen über das Auftreten von biochemischen Rezidiven und Metastasierungen im postoperativen Verlauf der Patienten zu.

Bisherige Publikationen konnten eine deutliche Assoziation zwischen einer erhöhten Expression von TKTL1 im Tumorgewebe und verschiedenen pathologischen und klinischen Parametern belegen (siehe 1.2.2.4). Die aktuelle Studienlage zu Apo10 ist weniger umfassend, konnte aber bereits ähnliche Zusammenhänge aufzeigen (siehe 1.2.1.5). Da durch Grimm et al. 2016 zusätzlich ein Zusammenhang zwischen einer Erhöhung von EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 und einer erhöhten Expression der betreffenden Marker im Tumorgewebe (OSCC) nachgewiesen wurde (Grimm et al., 2016c), lag die Schlussfolgerung nahe, dass auch erhöhte EDIM-Scores eventuell eine Aussage über klinische oder histologische Eigenschaften eines malignen Tumors zulassen könnten.

Dies konnte bislang jedoch nicht belegt werden: Grimm et al. konnten keine Assoziation zwischen der Höhe der präoperativen Apo10-/TKTL1-Scores und Tumorgröße, N-Stadium, Grading oder Staging (OSCC) feststellen (Grimm et al., 2016c). Todenhöfer et al. konnten ebenfalls keine Korrelation zwischen der Höhe der präoperativen EDIM-Scores und klinischen oder pathologischen Parametern des Prostatakarzinoms nachweisen (Todenhöfer et al., 2017). Sie argumentierten infolgedessen mit möglichen Saturierungseffekten durch eine begrenzte Anzahl an Makrophagen. Zusätzlich wurde darauf hingewiesen, dass ein positiver Lymphknotenstatus oder ein extrakapsuläres Wachstum des Tumors nicht unbedingt mit einer größeren Tumormasse einhergehen müsse (Todenhöfer et al., 2017). In ähnlicher Weise war auch die vorliegende Studie nicht in der Lage, Zusammenhänge zwischen der Höhe der prä- und postoperativ erhobenen EDIM-Scores und dem späteren Auftreten von Events herzustellen. Es bleibt abzuwarten, ob zukünftige Studien solche Zusammenhänge noch aufzeigen werden.

4.4.2 Die Entwicklung der EDIM-Scores von prä- zu postoperativ korreliert mit dem Auftreten von biochemischen Rezidiven und Metastasierungen

Grimm et al. stellten nach der operativen Entfernung des Tumorgewebes (OSCC) bei 71 % der Patienten weiterhin erhöhte EDIM-Scores fest, obwohl statistisch nur mit einer Rezidiv-Wahrscheinlichkeit von 25 % zu rechnen sei. Sie erklärten diese Diskrepanz mit dem reduzierten Gesundheitszustand der Patienten durch die Operation. Besonders war jedoch die Beobachtung, dass der Großteil der Patienten postinterventionell dennoch einen signifikanten Rückgang von EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 verzeichnen konnte. Nach der Argumentation der Autoren könnte dies auf eine prognostische Bedeutung der Betrachtung des individuellen Verlaufs der EDIM-Scores hindeuten (Grimm et al., 2016c). Auch Todenhöfer et al. konnten einen Rückgang von EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 nach der Durchführung einer radikalen Prostatektomie feststellen, oft wurde dabei sogar der pathologische Bereich verlassen. Sie formulierten daraufhin ebenfalls einen möglichen prognostischen Nutzen der EDIM-Scores, der sich durch Betrachtung der individuellen Entwicklung ergeben könnte (Todenhöfer et al., 2017).

Genau diese Fragestellung hat die vorliegende Studie nun anhand der Erhebung der individuellen Krankheitsverläufe nachuntersuchen können. Dabei konnte sie als erste Längsschnittstudie ihrer Art, bei ausreichend langem Beobachtungszeitraum, einen deutlichen Zusammenhang zwischen einem unzureichenden perioperativen Rückgang der EDIM-Scores und einem schlechteren Krankheitsverlauf aufzeigen (siehe 3.7). Bei Nicht-Erreichen eines über die Quartile der Differenz definierten Mindestrückganges der EDIM-Scores zwischen prä- und postoperativer Blutentnahme (sog. Einteilung nach Quartilen, siehe 2.5.5.1) zeigten sich in Überlebenszeitanalysen deutlich häufiger biochemische Rezidive und Metastasierungen als im Vergleichskollektiv. Dies stellt eines der zentralen Ergebnisse der Studie dar. Zusätzlich zeigten jene Patienten, die im späteren Verlauf Metastasen erlebten, signifikant geringere Rückgänge des TKTL1-Scores. Auch eine signifikante Korrelation zwischen einem perioperativen Anstieg der EDIM-Summe und dem Auftreten von Metastasierungen im späteren Verlauf konnte aufgezeigt werden.

Die Untersuchung auf diesen Zusammenhang folgte dabei der Logik, dass die operative Entfernung der Tumormasse zu einem deutlichen Rückgang von EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 führen sollte. Fällt dieser Rückgang nicht stark genug aus, so könnte von einem erhöhten Rezidivrisiko auszugehen sein.

Als Besonderheit ist hervorzuheben, dass alle Patienten, die in die Auswertung der vorliegenden Studie eingeflossen waren, postoperativ einen Abfall des PSA-Wertes unter die Nachweisgrenze verzeichnet hatten. Das Fehlen dieses Umstandes war als Ausschlusskriterium definiert worden (siehe 2.1.2). Retrospektiv konnte nun nachgewiesen werden, dass bereits die frühzeitig erhobenen prä- und postoperativen EDIM-Scores eine prognostische Aussage über das spätere Auftreten eines PSA-Anstiegs (im Sinne eines biochemischen Rezidivs) zuließen. Dies deutet möglicherweise auf eine zentrale Anwendungsmöglichkeit der EDIM-Scores hin: Eventuell sind EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 in der Lage einen Tumorprogress anzuzeigen, noch bevor er von etablierten Verfahren wie der PSA-Bestimmung detektiert wird. Gerade in Anbetracht der Wichtigkeit frühzeitiger Therapieentscheidungen könnte dies einen wertvollen klinischen Nutzen in der postoperativen Versorgung von Prostatakarzinom-Patienten implizieren.

Die einzig vergleichbare Studie zu dieser Fragestellung stellt die bereits mehrfach erwähnte Publikation von Grimm et al. 2016 dar, in der prä- und postoperative EDIM-Score-Bestimmungen an 44 Patienten mit OSCC-Patienten durchgeführt werden konnten (Grimm et al., 2016c). Die Patienten wurden dabei von Grimm et al. anhand der Ergebnisse der EDIM-Tests in Risikokollektive eingeteilt und dementsprechend nachuntersucht. Im Follow-Up zeigten sich dann, bei deutlich kürzerem Beobachtungszeitraum (im Mittel 22,2 Monate), lediglich drei Tumorrezidive. Die Studie ist somit, sowohl in der Anzahl der untersuchten Events als auch in der zeitlichen Dimension der Nachbeobachtung, zur Beantwortung der Frage nach dem prognostischen Nutzen der EDIM-Scores nicht mit der vorliegenden Studie vergleichbar.

Insgesamt lässt sich zur perioperativen Entwicklung von EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 sagen, dass deutliche Hinweise auf eine mögliche prognostische Bedeutung aufgezeigt werden konnten. Patienten, die prä- und postoperativen Blutentnahmen unterzogen werden, könnten durch Untersuchung der individuellen Entwicklung der EDIM-Scores eventuell in ein Risikokollektiv für eine intensivierete Überwachung eingeteilt werden. Sollte weiterhin belegt werden können, dass die Betrachtung der perioperativen Entwicklung der EDIM-Scores in der Lage ist, frühzeitig den Tumorprogress anzuzeigen, könnte sie einen wertvollen Indikator für die Einleitung einer adjuvanten Therapie (Bestrahlung, Immuntherapie, Chemotherapie) darstellen.

4.4.3 Die Höhe der Follow-Up-EDIM-Scores korreliert mit dem Auftreten von biochemischen Rezidiven

Als weiteres zentrales Ergebnis der vorliegenden Studie konnte erstmals nachgewiesen werden, dass das Auftreten biochemischer Rezidive mit erhöhten EDIM-Scores korrelierte (siehe 3.8). Patienten, die im postoperativen Verlauf ein biochemisches Rezidiv erfahren hatten, zeigten in der Follow-Up-Blutentnahme signifikant höhere EDIM-Scores. Zusätzlich erlebten jene Patienten, die den definierten Cut-Off der EDIM-Scores zu diesem Messzeitpunkt überschritten, signifikant häufiger biochemische Rezidive als das Vergleichskollektiv. Hinweise darauf konnten bisher erst in Einzelfällen erbracht werden:

2016 zeigten alle drei von Grimm et al. nachbeobachteten Tumorrezidive eines OSCC im Zusammenhang mit ihrem Auftreten auch erhöhte Scores von EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 (Grimm et al., 2016c). Weiterhin konnten sowohl Jansen und Coy als auch Grimm et al. in den bereits erwähnten Case-Reports einen Tumorprogress (Metastase eines Kolonkarzinoms bzw. sekundäres OSCC) durch den Nachweis pathologisch hoher EDIM-Scores anzeigen, während etablierte Marker negativ blieben (Jansen & Coy, 2013, Grimm et al., 2016b). Die vorliegende Studie konnten diese Beobachtungen nun für das Rezidiv eines Prostatakarzinoms bestätigen.

Dabei ist jedoch das Studiendesign zu beachten: Die Messung von EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 erfolgte zeitlich nach dem Erstaufreten der biochemischen Rezidive, meist viele Monate später. Einige der Patienten wurden daher bereits nachbehandelt. Dies bedeutet, dass die erhöhten EDIM-Scores zeitlich nach dem Erstaufreten der biochemischen Rezidive gemessen wurden, in einigen Fällen sogar nach bereits erfolgter Salvage-Therapie.

Die Konsequenz aus dieser Beobachtung ist mit den vorliegenden Daten nicht sicher einzuordnen. Eine mögliche, und im Rahmen dieser Studie auch die naheliegendste Erklärung könnte sein, dass die betroffenen Patienten weiterhin Zellen eines Prostatakarzinoms in sich tragen, welche vermehrt Apo10 und TKTL1 exprimieren. Die erhöhten EDIM-Scores könnten jedoch beispielsweise auch Ausdruck eines verminderten Gesundheitszustandes der Patienten durch ihre Grunderkrankung sein. Weiterhin muss bei jenen Patienten, die eine Salvage-Therapie erhalten hatten, auch an mögliche Auswirkungen der erfolgten Therapie, wie beispielsweise Inflammationen im Bestrahlungsgebiet, gedacht werden. Um eine Aussage über die Gründe für die nachgewiesene Erhöhung der EDIM-Scores nach dem Auftreten von biochemischen Rezidiven treffen zu können, sind weitere und umfangreichere Studien nötig, wobei auch eine umfassende Klärung der Pathophysiologie eines Anstiegs der Marker Apo10 und TKTL1 nötig sein wird.

Das hier angewandte Studiendesign lässt zudem leider keine Aussage zum Zeitpunkt des Erstaufretens der pathologisch hohen EDIM-Scores zu. Sicher ist lediglich, dass Patienten, die ein biochemisches Rezidiv erfahren hatten, nachfolgend erhöhte EDIM-Scores im Vergleich zur komplikationslosen Vergleichskohorte zeigten. Zur Klärung dieser Fragestellung bedarf es prospektiver Studien, die ein Patientenkollektiv in definierten zeitlichen Intervallen nachbeobachten und einer Bestimmung der EDIM-Scores unterziehen.

Die genannten Zusammenhänge konnten zudem lediglich für das Auftreten von biochemischen Rezidiven belegt werden. Im Kollektiv der Patienten, die sich einer Follow-Up-Blutentnahme unterzogen hatten, waren lediglich drei Metastasierungen aufgetreten. Für eine aussagekräftige Auswertung war dies leider nicht ausreichend.

Insgesamt lässt sich festhalten, dass die vorliegende Studie erstmalig eindeutige Nachweise über eine signifikante Erhöhung von EDIM-Apo10, EDIM-TKTL1 und der EDIM-Summe bei Auftreten von biochemischen Rezidiven nach der operativen Entfernung eines Prostatakarzinoms erbringen konnte. Zur Beantwortung der daraus resultierenden und weiterhin unbeantworteten Fragen sind weitere, umfangreichere und prospektive Studien nötig.

4.4.4 Die Entwicklung der EDIM-Scores von präoperativ zur Follow-Up-Blutentnahme korreliert mit dem Auftreten von biochemischen Rezidiven

Der Abstand zwischen der präoperativen- und der Follow-Up-Blutentnahme im Rahmen dieser Studie stellt die bisher größte Zeitspanne zwischen zwei konsekutiv durchgeführten Blutentnahmen zur Bestimmung von EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 dar (siehe 4.3.4). Dies wurde genutzt, um die Entwicklung der EDIM-Scores zwischen diesen beiden möglichst weit auseinander liegenden Messzeitpunkten mit dem Auftreten von Events zu assoziieren.

Dabei konnten weitere Zusammenhänge festgestellt werden (siehe 3.9): Jene Patienten, die ein biochemisches Rezidiv erfahren hatten, zeigten im Langzeitverlauf einen signifikant geringeren Rückgang der EDIM-Summe als die eventfreie Vergleichskohorte. Apo10- und TKTL1-Score zeigten ähnliche Tendenzen, jedoch ohne das Erreichen statistischer Signifikanz. Bei Dichotomisierung nach Anstieg/Rückgang korrelierte ein Anstieg des Apo10-Scores in Kontingenz- und Überlebenszeitanalysen mit einem gehäuften Auftreten von biochemischen Rezidiven. Zusätzlich konnte durch die sog. Einteilung nach Quartilen belegt werden, dass ein unzureichender Rückgang der EDIM-Summe mit dem gehäuften Auftreten von biochemischen Rezidiven zusammenhing.

Damit konnte die vorliegende Studie zum ersten Mal den Nachweis erbringen, dass der individuelle Langzeitverlauf von EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 eine Aussagekraft über den klinischen Verlauf der Patienten haben könnte. Dies deckt sich mit den Ergebnissen zur perioperativen, also zeitlich deutlich kürzeren Entwicklung der EDIM-Scores (siehe 4.4.2). Drei Publikationen hatten eine Betrachtung der EDIM-Scores im

individuellen Längsschnitt bereits als mögliches Anwendungsgebiet der Tests aufgeführt (Grimm et al., 2016c, Grimm et al., 2016b, Todenhöfer et al., 2017). Die vorliegende Studie bestätigt einen solchen potenziellen Nutzen sowohl für die kurzfristige (=perioperative) Therapiekontrolle als auch für den langfristigen individuellen Verlauf.

Eine Besonderheit stellt dabei eine auffällige Häufung von Anstiegen des Apo10-Scores im Langzeitverlauf dar. Wie bereits beschrieben, zeigten über 50 % der Patienten in der Follow-Up-Blutentnahme einen pathologisch hohen Apo10-Score (siehe 3.4.3.2). Elf Patienten (20,8 %) wiesen dabei sogar noch höhere Apo10-Scores als vor der operativen Entfernung ihres Prostatakarzinoms auf (siehe 3.4.3.3). Gerade diese Patienten erlitten gleichzeitig auch signifikant häufiger biochemische Rezidive als das Vergleichskollektiv. Von den genannten elf Patienten waren insgesamt sechs von biochemischen Rezidiven betroffen, drei hatten zum Zeitpunkt der Follow-Up-Blutentnahme bereits eine Rezidivtherapie abgeschlossen. Dennoch war der Apo10-Score in diesen Fällen, im Vergleich zum präoperativen Messzeitpunkt, sogar gestiegen. Diese außerordentliche Beobachtung widerspricht der Erwartung eines deutlichen Rückganges der EDIM-Scores durch die operative Entfernung des Tumorgewebes und, im Falle des Auftretens von biochemischen Rezidiven, erfolgter Rezidivtherapie.

Leider reichen die erhobenen Daten der vorliegenden Studie nicht aus, um die Hintergründe dieser Entwicklung zu erforschen. Da jedoch eine signifikante Korrelation zum Auftreten von biochemischen Rezidiven beim Anstieg des Apo10-Scores aufgezeigt werden konnte, könnte vor allem eine residuale Tumorbelastung als naheliegende Ursache angeführt werden. Natürlich ist dennoch eine Vielzahl nicht-prostatischer Einflussfaktoren denkbar, sodass es weiterer und umfangreicherer Forschung bedarf. Dabei werden umfassende anamnestische Erhebungen und eventuell auch regelmäßige Kontrolluntersuchungen der Studienteilnehmer nötig werden.

4.4.5 Unterschiede in der Kinetik der EDIM-Scores

Die Mechanismen hinter einer Überexpression der Marker Apo10 und TKTL1 im Tumorgewebe sind weiterhin Bestandteil klinischer Forschung, die gegenwärtig postulierten pathophysiologischen Zusammenhänge unterscheiden sich jedoch deutlich: Eine Überexpression von Apo10 im Tumorgewebe wird mit einer gestoppten Exekution der Apoptose in Tumorzellen assoziiert, wodurch es eine frühe Rolle im Rahmen der Kanzerogenese einnehmen würde (siehe 1.2.1.4). Im Gegensatz dazu wird eine Überexpression von TKTL1 mit einer Umstellung des Tumorstoffwechsels und dem Auftreten des Warburg-Effekts assoziiert. Dies könnte, als spätes Ereignis im Rahmen der malignen Transformation, gesteigerte Invasivität und erhöhte Metastasierungsgefahr implizieren (siehe 1.2.2.3). Folgt man dieser Logik, so wären aufgrund der fundamentalen Unterschiede der postulierten pathophysiologischen Mechanismen beider Marker, je nach klinischem Verlauf, auch Unterschiede in der individuellen Kinetik der EDIM-Scores der Patienten zu erwarten. Einige der Auswertungen der vorliegenden Studie scheinen einen solchen Zusammenhang zu bestätigen:

Patienten, die im späteren Krankheitsverlauf das Auftreten von Metastasierungen erlebten, zeigten zwischen prä- und postoperativer Messung signifikant geringere Rückgänge der TKTL1-Scores als das Vergleichskollektiv. Die Apo10-Scores unterschieden sich hierbei nicht signifikant zwischen den Gruppen (siehe 4.4.2). Diese Beobachtung deckt sich mit der postulierten Pathophysiologie einer Überexpression von TKTL1 und kann als früher Hinweis auf eine gesteigerte Gefahr postoperativer Metastasierungen bei geringen Rückgängen der gemessenen TKTL1-Scores nach der operativen Entfernung des Tumors gedeutet werden.

Weiterhin war bei Betrachtung der Langzeitverläufe (von präoperativ zur Follow-Up-Blutentnahme) ein Anstieg der Apo10-Scores signifikant mit dem Auftreten von biochemischen Rezidiven assoziiert, wobei auffällig viele Patienten einen solchen Anstieg verzeichneten (siehe 4.4.4). Die TKTL1-Scores waren deutlich seltener und ohne signifikante Korrelationen zum Auftreten von Events angestiegen. Insgesamt wurden im Follow-Up-Kollektiv 13 biochemische Rezidive und drei Metastasierungen erfasst. Entsprechend der postulierten Pathophysiologie einer Überexpression von Apo10 könnte der überproportional häufige Anstieg der Apo10-Scores ein Hinweis auf das

Vorliegen von Karzinomzellen sein, die sich in einer frühen Phase der malignen Transformation befinden und im weiteren Krankheitsverlauf eventuell als biochemische Rezidive in Erscheinung treten könnten. Das Fehlen eines äquivalenten Anstieges der TKTL1-Scores deckt sich mit der niedrigen Fallzahl an Metastasierungen.

Die vorliegende Studie liefert somit erste Hinweise auf Unterschiede in der Kinetik der untersuchten EDIM-Scores bei unterschiedlichen postoperativen Verläufen der Patienten. Dies könnte auf vielversprechende klinische Anwendungsmöglichkeiten hindeuten, bedarf jedoch weiterer Forschung und insbesondere einer wissenschaftlichen Klärung der pathophysiologischen Mechanismen einer Erhöhung der Parameter.

In vielen statistischen Analysen der vorliegenden Studie konnten Apo10-Score und TKTL1-Score jedoch in ähnlichem Maße mit dem Auftreten von Events korreliert werden. Hervorzuheben ist dabei die besondere Rolle der EDIM-Summe, also der Summe aus Apo10-Score und TKTL1-Score. Sie hat sich, ungeachtet der fundamentalen Unterschiede in der Pathophysiologie der beiden Marker, durch besonders deutliche Ergebnisse in den statistischen Auswertungen hervorgetan. Ähnliches konnte bereits von Grimm et al. 2013 aufgezeigt werden – in den seinerzeit durchgeführten ROC-Analysen ließen sich, bei Vorliegen verschiedener maligner Tumorentitäten und insbesondere auch im Subkollektiv der Prostatakarzinom-Patienten, die besten Werte für Sensitivität und Spezifität im Rahmen der Cut-Off-Bestimmung der EDIM-Summe feststellen (Grimm et al., 2013). Die vorliegende Untersuchung scheint diese Tendenz in einer Vielzahl von statistischen Auswertungen zu bestätigen: Die EDIM-Summe zeigte, bis auf wenige Ausnahmen, in den meisten der statistischen Auswertungen dieser Studie eine Überlegenheit gegenüber der isolierten Betrachtung von EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1.

4.5 Die EDIM-Scores im Vergleich zu anderen Verfahren zur Detektion von Tumorrezidiven

Biochemische Rezidive treten oft noch viele Jahre nach der operativen Entfernung eines Prostatakarzinoms auf. Die betroffenen Patienten laufen auch dann noch Gefahr, an den Folgen des Prostatakarzinoms zu versterben (Liesenfeld et al., 2017). Bedingt durch die steigende Anzahl an jungen Patienten, die sich einer Operation unterziehen, ergibt sich ein immer größer werdendes Kollektiv, das postoperativ auf eine Rückkehr der Erkrankung überwacht werden muss. Aktuell fehlt es genau in diesem Setting an geeigneten diagnostischen Verfahren (siehe 1.1.8). Dabei hat die frühzeitige Detektion eines Tumorrezidivs gerade in Anbetracht neuer therapeutischer Möglichkeiten weitreichende Folgen:

Im postoperativen Setting könnten langsam wachsende Malignome wie das Prostatakarzinom bereits bei ausgesprochen kleiner Tumorlast als Therapieindikation dienen. Die frühe Detektion von Tumorrezidiven nach radikaler Prostatektomie stellt somit ein optimales Szenario zur Anwendung neuer Therapieformen dar. Dafür ist jedoch eine möglichst zuverlässige und vor allem frühzeitige Diagnose vonnöten. Es verwundert also nicht, dass aktuell intensiv an innovativen Verfahren zur Detektion von Tumorrezidiven des Prostatakarzinoms geforscht wird. Unterschiedliche Ansätze bieten dabei auch unterschiedliche Vor- und Nachteile.

4.5.1 PSA und PSA-Isoformen

Die PSA-Bestimmung wird mit Überdiagnostik und Übertherapie klinisch insignifikanter Prostatakarzinome in Verbindung gebracht (siehe 1.1.5.2). Viele der bekannten Schwächen der PSA-basierten Diagnostik beeinflussen auch die postoperative Detektion von Rezidiven. Der entscheidende Mangel könnte jedoch in einer geringen Sensitivität der PSA-Bestimmung bei niedriger Tumorlast liegen:

Auch ein unauffälliger PSA-Test birgt noch ein signifikantes Risiko für das Vorliegen eines Prostatakarzinoms. Es gibt keinen etablierten Cut-Off, der eine Tumorfreiheit garantiert. Bei bis zu 15 % der Patienten, die einen PSA-Wert unter 4 ng/ml aufwiesen, können dennoch Prostatakarzinome nachgewiesen werden (Thompson et al., 2004). Die

PSA-Bestimmung scheint eine nicht unerhebliche Anzahl an PSA-produzierenden Zellen zu benötigen, um eine verlässliche Detektion zu garantieren. Gerade zum Nachweis kleinster Tumormengen ist sie daher kaum geeignet. Genau dies ist im postoperativen Setting jedoch nötig, da die größten Tumormassen bereits operativ entfernt worden sind.

Hinzu kommt, dass alle Serummessungen von Biomarkern einem großen Verdünnungseffekt unterliegen (Coy, 2017). Da auch die PSA-Bestimmung aus dem Serum von Patienten erfolgt, könnte dies zu einer weiteren Vergrößerung der diagnostischen Lücke führen, in der bereits Tumorwachstum stattfindet, ohne dass der PSA-Wert dies anzuzeigen vermag. Da PSA einen Organmarker darstellt, wäre ein eventueller postoperativer PSA-Anstieg dann sogar nicht zwangsläufig auf einen Tumorprogress zurückzuführen. Auch verbliebenes benignes Prostatagewebe könnte beispielsweise für einen PSA-Anstieg verantwortlich sein.

Im Bewusstsein dieser Problematik wird seit langem an diversen PSA-Isoformen geforscht (Roddam et al., 2005). Auf der Grundlage der Messung dieser Isoformen wurden Scores und Modelle, wie beispielsweise der 4K-Score und der Prostate Health Index (PHI), zur Verbesserung der PSA-basierten Diagnostik entwickelt. Sie könnten einen diagnostischen Nutzen haben, benötigen jedoch weitere Forschung und klinische Validierung (Hatakeyama et al., 2017).

Die aktuelle S3-Leitlinie empfiehlt zur Einschätzung der Genese eines biochemischen Rezidivs die Untersuchung der PSA-Kinetik: Je kürzer die individuelle PSA-Verdopplungszeit und je kürzer die zeitliche Differenz zur Operation, desto eher liegt ein systemisches Rezidiv und kein Lokalrezidiv vor. Auch ein Gleason-Score >7 deutet eher auf ein systemisches Rezidiv hin (Leitlinienprogramm Onkologie, 2019). Dies stellt jedoch lediglich eine Wahrscheinlichkeitskalkulation dar und keine definitive Diagnose, wie sich auch im Evidenzgrad 4 der Empfehlung widerspiegelt.

4.5.2 Zirkulierende Tumorzellen

Als weitere Möglichkeit zur Detektion eines postoperativen Krankheitsprogresses werden zirkulierende Tumorzellen („circulating tumor cells“, CTCs) erforscht. Diese können in einer venösen Blutprobe entdeckt werden. Lokalisierte Prostatakarzinome wurden dabei bisher lediglich in einer sehr limitierten Anzahl von Studien untersucht (Maas et al., 2017). CTCs konnten bei Vorliegen eines lokalisierten Prostatakarzinoms präoperativ oft nur bei einer Minderheit der Patienten nachgewiesen werden, wobei sich keine Korrelation zum Auftreten von biochemischen Rezidiven zeigte (Meyer et al., 2016). Die Testergebnisse variierten zusätzlich vor allem beim lokalisierten Prostatakarzinom zwischen unterschiedlichen Testmethoden deutlich (Russo et al., 2018). CTCs sind allgemein nicht bei jedem Patienten nachweisbar und besitzen keine Langlebigkeit, während die Untersuchung aktuell sehr kostspielig und spezialisierten Labors vorbehalten ist (Hatakeyama et al., 2017).

4.5.3 Molekulare Marker

Die Mehrheit aller Publikationen zur Erforschung von molekularen Markern untersucht einmalige Messungen auf eventuelle Zusammenhänge zum Krankheitsverlauf. Dies betrifft Urinmarker (z.B. Progenesa-PCA3, SelectMDx), Serummarker (z.B. PCA3, hK2, miR-141) und die Untersuchung von histologischen Präparaten. Oftmals konnten vielversprechende Ergebnisse zur Primärdiagnostik und Risikostratifizierung des Prostatakarzinoms erzielt werden (Mao et al., 2018, Neuhaus & Yang, 2018, Saini, 2016, Shariat et al., 2011). In der klinischen Routine findet sich in Deutschland jedoch bislang keiner der untersuchten molekularen Marker, da es oftmals noch an ausreichenden Nachweisen und aussagekräftigen Studienergebnissen zu den optimalen Einsatzgebieten mangelt (Carneiro et al., 2018). Nach Kenntnis des Autors der vorliegenden Arbeit existieren bislang kaum Untersuchungen, die die Auswirkungen der operativen Entfernung eines lokalisierten Prostatakarzinoms auf die Messung molekularer Marker erforscht haben. Lediglich zwei Publikationen sind zu nennen:

Ein Rückgang des Plasmaspiegels von Urokinase-Plasminogenaktivator (uPA) und dessen löslichem Rezeptor (uPA-R) nach radikaler Prostatektomie konnte 2007 belegt werden. Dabei wurde zusätzlich eine Korrelation der präoperativen Messwerte zu histopathologischen und klinischen Parametern aufgezeigt, die postoperativen

Messungen ließen einen solchen Schluss jedoch nicht zu (Shariat et al., 2007). Weiterhin konnte auch eine Assoziation zwischen präoperativ gemessenen Plasmaspiegeln von Transforming growth factor beta (TGF- β), Interleukin 6 (IL6) und dessen löslichem Rezeptor (IL6-R) zu Tumorgröße, Gleason-Score und Lymphknotenmetastasen von Prostatakarzinomen hergestellt werden. Nach radikaler Prostatektomie verzeichneten alle drei Marker einen Rückgang. Patienten mit späterem Tumorprogress (Beobachtungszeit Median 50,7 Monate) verzeichneten einen signifikant geringeren Rückgang von TGF- β als die eventfreie Vergleichskohorte. IL6 und IL6-R zeigten keine derartigen Zusammenhänge (Shariat et al., 2004).

Auch TKTL1 wurde bereits auf seine Eignung als Serummarker untersucht, wobei sich im Serum von 66 Prostatakarzinom-Patienten sogar niedrigere TKTL1-Spiegel als im Serum eines gesunden Vergleichskollektivs zeigten. Es konnte kein Zusammenhang zwischen Serum-TKTL1, PSA, Gleason-Score, Tumorstadium und sonstigen klinischen oder pathologischen Parametern hergestellt werden (Tsauro et al., 2016). Dies könnte die These bekräftigen, dass die Verdünnung von molekularen Markern im Blut die Detektion von Malignomen erschweren könnte (Coy, 2017) und als Hinweis auf den möglichen Nutzen der EDIM-Methode gewertet werden.

4.5.4 Einordnung der Ergebnisse der vorliegenden Studie vor dem Hintergrund klinischer Anwendung

Apo10 und TKTL1 unterliegen weiterhin klinischer Forschung und teilweise kontroversen Diskurs. Zur Rolle von Apo10 im Rahmen der Kanzerogenese und den daraus resultierenden klinischen Implikationen gibt es bislang nur relativ wenige Forschungsergebnisse, sodass weitere Studien dazu nötig werden (siehe 1.2.1.5). Im Vergleich dazu war TKTL1 bereits deutlich häufiger Forschungsgegenstand (siehe 1.2.2.4). Es äußerten sich jedoch bereits kritische Stimmen, die keine Assoziation zwischen TKTL1 und malignen Tumoren nachweisen konnten und die Spezifität des verwendeten Antikörpers anzweifelten (Kämmerer et al., 2015). Auch die Funktion von TKTL1 wird kontrovers diskutiert (Schneider et al., 2012, Diaz-Moralli et al., 2016). Insgesamt bleiben gerade bezüglich der Pathophysiologie der beiden Marker viele offene Fragen.

Im Fokus der vorliegenden Studie stand jedoch nicht die Debatte um die postulierte Funktion der Marker oder die Expression von Apo10 und TKTL1 im Gewebe, sondern die klinische Relevanz einer Bestimmung der Marker aus venösen Blutproben von Patienten mittels EDIM-Methode. Hierbei konnte nachgewiesen werden, dass die Betrachtung des individuellen Verlaufs, ebenso wie die EDIM-Scores der Follow-Up-Blutentnahme, vielfältige Korrelationen zum Auftreten von Events (vor allem zum Auftreten von biochemischen Rezidiven) zeigten.

Bemerkenswert ist, dass dazu lediglich 2,7 ml Blut aus einfachen venösen Blutproben nötig waren. Die EDIM-Methode könnte also in der Lage sein, anhand einer ausgesprochen geringen Anzahl untersuchter Zellen, weitreichende klinische Aussagen zu treffen. Die Anzahl der untersuchten Zellen liegt deutlich unter der Menge, die etablierte diagnostische Mittel (wie die PSA-Bestimmung aus dem Serum oder bildgebende Verfahren) für die Detektion eines Tumorrezidivs benötigen. Sollten sich die vielversprechenden Ergebnisse in nachfolgenden Untersuchungen bestätigen und weiterführende Fragestellungen ausreichend geklärt werden können, könnte die Bestimmung von Apo10 und TKTL1 mittels EDIM-Methode eventuelle biochemische Rezidive möglicherweise bereits bei einer besonders geringen Tumorlast detektieren.

Da lediglich eine venöse Blutentnahme vorausgesetzt wird, könnte der Test im klinischen Alltag zudem leicht verfügbar sein. Antikörpermarkierung und Durchflusszytometrie ermöglichen dabei eine zielgerichtete Detektion, die im Vergleich zu Serummarkern sogar eine erhöhte Sensitivität und Spezifität erreichen könnte (Coy, 2017). Untersuchungen zum Vergleich von Serum-PSA und EDIM-PSA legten dies bereits nahe (Herwig et al., 2008).

Einen potenziellen Nachteil der Methode stellt die Abhängigkeit vom Immunsystem der Patienten dar. Da der Test das Immunsystem der Patienten zur Detektion von Tumorbestandteilen/Biomarkern nutzt, könnte jede Veränderung des Immunsystems die Testergebnisse beeinflussen. Autoimmunkrankheiten, immunsuppressive Therapien, Radio- und Chemotherapie könnten deutliche Effekte auf die Ergebnisse haben (Feyen et al., 2012). Dies gilt es zu erforschen.

4.6 Limitationen der vorliegenden Studie

4.6.1 Erhebung der Krankheitsverläufe

Die Datenerhebung wurde nach einem einheitlichen Schema durchgeführt. Dabei wurden die Patienten stets explizit nach dem aktuellen PSA-Wert, der Entwicklung des PSA-Wertes seit der Operation, biochemischen Rezidiven, Metastasierungen und (tumorabhängigem) Versterben gefragt. Zwar wurde Raum für Rückfragen und sonstige Anmerkungen gelassen, der Fokus lag jedoch hauptsächlich auf dem direkten Bezug zum Prostatakarzinom. Hierbei möglicherweise nicht erfasste Daten könnten eine Schwäche der vorliegenden Studie darstellen:

Gerade die möglichen nicht-kanzerösen Ursachen für eine Erhöhung der EDIM-Scores sind aktuell noch kaum untersucht. Coy et al. ordneten TKTL1 2005 eine zentrale Rolle im Rahmen der Umstellung des Stoffwechsels nicht nur in der Kanzerogenese, sondern auch bei der Entstehung von Diabetes und neurodegenerativen Krankheiten wie Alzheimer zu (Coy et al., 2005). Weiterhin exprimieren nicht nur Krebszellen, sondern beispielsweise auch benignes peritumoröses Gewebe TKTL1 (da Costa et al., 2018). Grimm et al. erwähnten 2016 bislang unveröffentlichte Daten, wonach bei Patienten mit entzündlichen Krankheiten oder großen, benignen Tumoren normale bis leicht erhöhte EDIM-Scores gemessen wurden (Grimm et al., 2016c).

Bislang konnte zwar eine eindeutige Korrelation zwischen erhöhten Apo10-/TKTL1-Scores und einer immunhistochemisch nachweisbaren Expression im Tumorgewebe (Tumorentität OSCC) erbracht werden (Grimm et al., 2016c), dies schließt jedoch keine anderen Faktoren als Ursachen einer Erhöhung der EDIM-Scores aus. In derselben Studie konnte bei keinem der von besonders hohen postoperativen EDIM-Scores betroffenen Patienten (n=5) ein Tumorrezidiv in der Nachsorge entdeckt werden. Erklärt wurde dies mit möglichen Störvariablen wie Entzündungen oder einer kürzlich erfolgten Zahnextraktion (Grimm et al., 2016c). Auch Art und Umfang der durchgeführten Operation könnte Einfluss haben. Grimm et al. argumentierten, dass gerade komplizierte Operationen durch die große Gewebeverletzung zu erhöhten EDIM-Scores führen könnten (Grimm et al., 2016c).

Hohe postoperative Apo10- und TKTL1-Scores könnten also nicht nur durch Tumorrezidive bedingt sein, sondern möglicherweise auch durch benigne Erkrankungen, chronische Inflammationen, operative Eingriffe oder Zweitmalignome. Eine Vielzahl von möglichen Einflussfaktoren könnte die Untersuchungsergebnisse maßgeblich beeinflussen - im Rahmen der vorliegenden Studie wurden jedoch keine Daten zu extraprostatatischen Auslösern einer Erhöhung der EDIM-Scores erhoben.

4.6.2 Auswertung der erhobenen PSA-Werte

Die vorliegende Studie untersuchte die gemessenen EDIM-Scores nicht auf eventuelle Zusammenhänge zu den stetigen PSA-Werten der Patienten. Eine solche Auswertung war für die prä- und postoperativen Patientenkollektive bereits von Todenhöfer et al. durchgeführt worden, ohne einen signifikanten Zusammenhang aufzuzeigen (Todenhöfer et al., 2017).

Die durchgeführte anamnestische Erhebung der individuellen PSA-Verläufe der Patienten wurde ausschließlich zur Festlegung des Auftretens von biochemischen Rezidiven verwendet. Ein solches Auftreten wurde, neben drei Fällen eines sog. „ärztlich definierten biochemischen Rezidivs“ (siehe 2.5.1), strikt nach den Vorgaben der aktuellen S3-Leitlinie zur Früherkennung, Diagnose und Therapie der verschiedenen Stadien des Prostatakarzinoms definiert (Leitlinienprogramm Onkologie, 2019). Eben jene Vorgaben sind jedoch nicht unumstritten und weiterhin Gegenstand wissenschaftlicher Diskussion um die Festlegung und Konsequenz verschiedener PSA-Grenzwerte (Toussi et al., 2016). Auch die aktuelle S3-Leitlinie thematisiert diese Kontroverse und vergibt den verfügbaren Publikationen, die zur Definition des biochemischen Rezidivs beim Prostatakarzinom herangezogen werden konnten, lediglich den Evidenzgrad 4 (Leitlinienprogramm Onkologie, 2019). Obwohl die vorliegende Studie sich also an aktuelle klinische Vorgaben hält, kann die dichotomisierte Auswertung der PSA-Verläufe zur Definition des biochemischen Rezidivs als Limitation im Studiendesign genannt werden.

4.7 Schlussfolgerung

EDIM-Apo10, EDIM-TKTL1 und die EDIM-Summe könnten sich als wertvolle Marker für die postoperative Nachsorge des lokalisierten Prostatakarzinoms erweisen. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit legen nahe, dass die untersuchten Marker, vor allem durch mehrfache Messung im individuellen Längsschnitt, eine prognostische Aussage über den Krankheitsverlauf der Patienten zulassen. Durch Einsatz der EDIM-Methode könnte zudem eine gute klinische Anwendbarkeit zur postoperativen Erfolgskontrolle und langfristigen Überwachung auf Tumorprogress ermöglicht werden.

4.8 Weiterführende Fragestellungen

Die vorliegende Studie konnte Zusammenhänge zwischen einem unzureichenden perioperativem Rückgang der EDIM-Scores und dem Auftreten von biochemischen Rezidiven und Metastasierungen aufzeigen (siehe 4.4.2). Im Hinblick auf eine mögliche frühzeitige prognostische Wertigkeit der EDIM-Scores sollte dieser Sachverhalt in weiteren Studien überprüft und bestätigt werden.

Weiterhin konnte eine Erhöhung der EDIM-Scores nach dem Auftreten von biochemischen Rezidiven nachgewiesen werden (siehe 4.4.3). Dies könnte eine wichtige Grundvoraussetzung für postoperative Verlaufsuntersuchungen auf Basis der EDIM-Methode darstellen. Hierzu sollte vor allem der Zeitpunkt des Erstauftretens pathologisch erhöhter EDIM-Scores in zukünftigen Studien dokumentiert und in Korrelation zu klinischen Daten der Patienten gesetzt werden. Möglicherweise könnten die EDIM-Scores in der Lage sein, einen Tumorprogress sogar noch vor anderen diagnostischen Verfahren anzuzeigen. Zur Beantwortung dieser Fragestellung werden jedoch prospektive Studien mit festgesetzten Messintervallen und langfristigen Beobachtungszeiträumen nötig sein.

Einige Patienten erfuhren einen Anstieg der EDIM-Scores (vor allem des Apo10-Scores) zwischen präoperativem Messzeitpunkt und Follow-Up-Blutentnahme (siehe 4.4.4). In Anbetracht der erfolgten Entfernung der Tumormasse stellt dies eine außergewöhnliche Beobachtung dar und macht Untersuchungen zu möglichen nicht-kancerösen Einflussfaktoren erhöhter EDIM-Scores nötig.

Die statistische Analyse einiger Fragestellungen zeigte für die Marker EDIM-Apo10, EDIM-TKTL1 und die EDIM-Summe unterschiedliche Ergebnisse. Zukünftige Untersuchungen sollten sich daher auch mit den postulierten pathophysiologischen Mechanismen hinter einer Erhöhung der entsprechenden Marker im Tumorgewebe und der Kinetik ihrer entsprechenden EDIM-Scores auseinandersetzen.

Im Rahmen der vorliegenden Studie konnten relativ viele biochemische Rezidive ausgewertet werden, die Anzahl detektierter Metastasierungen war jedoch vor allem im Follow-Up-Kollektiv begrenzt. Weitere Untersuchungen könnten, bei einer ausreichend großen Anzahl an Studienteilnehmern, möglicherweise zusätzliche Zusammenhänge für das Auftreten von Metastasierungen und weiterer Events im individuellen Krankheitsverlauf aufzeigen.

Zuletzt bleibt festzuhalten, dass die vorliegende Studie ein stark selektiertes Kollektiv von Patienten untersucht hat, welches sich einer radikalen Prostatektomie bei Vorliegen eines klinisch lokalisierten Prostatakarzinoms unterzogen hatte. Dies war für die Auswertung der Fragestellungen, wegen der großen Homogenität des Patientenkollektivs, von Vorteil, beschränkt jedoch die Anwendbarkeit der vorliegenden Ergebnisse auf ein einziges klinisches Szenario. In Anbetracht des postulierten, sehr allgemeinen Ansatzes der EDIM-Scores als „Pan-Tumor“-Bluttest (Coy, 2017) gilt es, weitere klinische Anwendungsgebiete zu definieren und nachfolgend zu untersuchen.

5 Zusammenfassung

Die prognostische Klassifikation von Prostatakarzinomen unterliegt seit Jahren einer kontroversen Diskussion. Es liegen nur eingeschränkt geeignete Mittel zur frühzeitigen Detektion behandlungsbedürftiger Prostatakarzinome und zur postoperativen Bestätigung und Überwachung des Therapieerfolgs vor. Diese Problematik äußert sich u. a. in einer intensiven Suche nach molekularen Markern. Die kürzlich in den klinischen Einsatz eingeführten Proteine Apo10 und TKTL1 könnten als Marker für eine gestörte Apoptose (Apo10) bzw. Metabolismus (TKTL1) eine Ergänzung zur etablierten Diagnostik darstellen. Durch die Anwendung der „epitope detection in monocytes“ (EDIM-Methode) können sie intrazellulär in Makrophagen nachgewiesen werden. Ziel der vorliegenden Studie war die Untersuchung von EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 auf ihre prognostische Aussagekraft beim Prostatakarzinom. Dazu wurde ein Kollektiv von 145 Patienten mit histologisch gesichertem Prostatakarzinom (pT2-3, pN0-1, M0), das sich in der Tübinger Universitätsklinik für Urologie einer radikalen Prostatektomie unterzogen hatte, nachbeobachtet.

Die mediane Nachbeobachtungszeit lag bei 44 Monaten (MW 41,53 Monate). Bereits durchgeführte prä- und postoperative Messungen der EDIM-Scores (n=145 bzw. n=59) wurden im Mittel $41 \pm 4,2$ Monate (Median 41 Monate) nach der Operation durch eine Follow-Up-Blutentnahme (n=53) ergänzt. Apo10-Score (Antikörper DJ28D4) und TKTL1-Score (Antikörper JFC12T10) wurden mittels EDIM-Methode bestimmt. Die gemessenen EDIM-Scores und ihre individuelle Entwicklung zwischen den Messzeitpunkten wurden mit den klinischen Verlaufsdaten der Patienten verglichen. Darüber hinaus wurde die Summe beider Scores, die sog. EDIM-Summe, in allen Auswertungen berücksichtigt.

Als Ergebnis dieser Arbeit zeigte sich, dass ein geringerer postoperativer Rückgang von EDIM-Apo10, EDIM-TKTL1 und der EDIM-Summe signifikant mit einem gehäuften Auftreten von biochemischen Rezidiven und Metastasierungen korrelierte. Bei isolierter Betrachtung der prä- oder postoperativen Messwerte konnte allerdings keine derartige Assoziation aufgezeigt werden. In den neu durchgeführten Follow-Up-Blutentnahmen zeigten sich signifikant höhere EDIM-Scores bei jenen Patienten, die ein biochemisches Rezidiv im postoperativen Verlauf erlebt hatten. Weiterhin korrelierte auch im

individuellen Längsschnitt, zwischen präoperativer- und Follow-Up-Blutentnahme, ein insuffizienter Rückgang der EDIM-Summe oder sogar ein Anstieg des Apo10-Scores mit dem gehäuften Auftreten von biochemischen Rezidiven.

Die vorliegende Studie konnte erstmalig einen Nachweis über signifikante Zusammenhänge zwischen erhöhten EDIM-Scores und dem Auftreten von postoperativen Events beim Prostatakarzinom aufzeigen. Die Ergebnisse deuten auf einen möglichen klinischen Nutzen der Marker EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 zur Erfolgskontrolle nach operativer Tumorentfernung und zur postoperativen Überwachung auf Tumorprogress beim Prostatakarzinom hin.

6 Literaturverzeichnis

- AHOPELTO, K., BÖCKELMAN, C., HAGSTRÖM, J., KOSKENSALO, S. & HAGLUND, C. 2016. Transketolase-like protein 1 expression predicts poor prognosis in colorectal cancer. *Cancer biology & therapy*, 17, 163-168.
- BARNES, B., KRAYWINKEL, K., NOWOSSADECK, E., SCHÖNFELD, I., STARKER, A., WIENECKE, A. & WOLF, U. 2016. Bericht zum Krebsgeschehen in Deutschland 2016. Robert Koch-Institut.
- BERGER, A.P., DEIBL, M., STRASAK, A., BEKTIC, J., PELZER, A.E., KLOCKER, H., STEINER, H., FRITSCH, G., BARTSCH, G. & HORNINGER, W. 2007. Large-Scale Study of Clinical Impact of PSA Velocity: Long-Term PSA Kinetics as Method of Differentiating Men with from Those without Prostate Cancer. *Urology*, 69, 134-138.
- BERTHOLD, D.R., POND, G.R., SOBAN, F., WIT, R.D., EISENBERGER, M. & TANNOCK, I.F. 2008. Docetaxel Plus Prednisone or Mitoxantrone Plus Prednisone for Advanced Prostate Cancer: Updated Survival in the TAX 327 Study. *Journal of Clinical Oncology*, 26, 242-245.
- BILL-AXELSON, A., HOLMBERG, L., RUUTU, M., GARMO, H., STARK, J.R., BUSCH, C., NORDLING, S., HÄGGMAN, M., ANDERSSON, S.-O., BRATELL, S., SPÅNGBERG, A., PALMGREN, J., STEINECK, G., ADAMI, H.-O. & JOHANSSON, J.-E. 2011. Radical Prostatectomy versus Watchful Waiting in Early Prostate Cancer. *New England Journal of Medicine*, 364, 1708-1717.
- BIOVIS DIAGNOSTIK MVZ GMBH. *Neue diagnostische Möglichkeiten in der Onkologie durch die EDIM-Technologie* [Online]. Fachinformationen des Biovis-Labors. Available: <http://www.biovis-diagnostik.eu/wp-content/uploads/biovis-EDIM.pdf> [Accessed 11.08.2019].
- BÖRGERMANN, C., CHUN, F.K.-H., BASTIAN, P.J., FISCHER, K., FORNARA, P. & FRÖHNER, M., GRAEFEN, M., HAESE, A., HAMMERER, P., HEINE, K., HEß, J., HODA, M.R., HULAND, H., KÖLLERMANN, J., LOERTZER, H., LUBOLDT, H.-J., MILLER, K., RÜBBEN, H., SCHLOMM, T., SCHOSTAK, M., SCHRADER, M., SCHWARZ, R., THEDERAN, I., WIRTH, M., WOLFF, J.M. & HANSEN, J. 2014. 'Prostatakarzinom'. in *H. Rübber (Hrsg.), Uroonkologie*. Heidelberg: Springer-Verlag. pp. 514 - 676.
- BOROS, L.G., PUIGJANER, J., CASCANTE, M., LEE, W.-N.P., BRANDES, J.L., BASSILIAN, S., YUSUF, F.I., WILLIAMS, R.D., MUSCARELLA, P., MELVIN, W.S. & SCHIRMER, W.J. 1997. Oxythiamine and Dehydroepiandrosterone Inhibit the Nonoxidative Synthesis of Ribose and Tumor Cell Proliferation. *Cancer Research*, 57, 4242-4248.
- BOSTWICK, D.G., BURKE, H.B., DJAKIEW, D., EULING, S., HO, S.-M., LANDOLPH, J., MORRISON, H., SONAWANE, B., SHIFFLETT, T., WATERS, D.J. & TIMMS, B. 2004. Human prostate cancer risk factors. *Cancer*, 101, 2371-2490.
- BRAND, K. 1997. Aerobic Glycolysis by Proliferating Cells: Protection against Oxidative Stress at the Expense of Energy Yield. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 29, 355-364.

- BRAY, F., FERLAY, J., SOERJOMATARAM, I., SIEGEL, R.L., TORRE, L.A. & JEMAL, A. 2018. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 68, 394-424.
- BUSSEMAKERS, M.J.G., VAN BOKHOVEN, A., VERHAEGH, G.W., SMIT, F.P., KARTHAUS, H.F.M., SCHALKEN, J.A., DEBRUYNE, F.M.J., RU, N. & ISAACS, W.B. 1999. DD3: A New Prostate-specific Gene, Highly Overexpressed in Prostate Cancer. *Cancer Research*, 59, 5975-5979.
- CAMPBELL, J.M., RAYMOND, E., O'CALLAGHAN, M.E., VINCENT, A.D., BECKMANN, K.R., RODER, D., EVANS, S., MCNEIL, J., MILLAR, J., ZALCBERG, J., BORG, M. & MORETTI, K.L. 2017. Optimum Tools for Predicting Clinical Outcomes in Prostate Cancer Patients Undergoing Radical Prostatectomy: A Systematic Review of Prognostic Accuracy and Validity. *Clinical Genitourinary Cancer*, 15, e827-e834.
- CARNEIRO, A., PRIANTE KAYANO, P., GOMES BARBOSA, Á.R., LANGER WROCLAWSKI, M., KO CHEN, C., CAVLINI, G.C., RECHE, G.J., SANCHEZ-SALAS, R., TOBIAS-MACHADO, M., SOWALSKY, A.G. & BIANCO, B. 2018. Are localized prostate cancer biomarkers useful in the clinical practice? *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine*, 40, 1010428318799255-1010428318799255.
- CARTER, H.B., PEARSON, J.D., METTER, E.J., BRANT, L.J., CHAN, D.W., ANDRES, R., FOZARD, J.L. & WALSH, P.C. 1992. Longitudinal evaluation of prostate-specific antigen levels in men with and without prostate disease. *JAMA*, 267, 2215-2220.
- CATALONA, W.J., RICHIE, J.P., AHMANN, F.R., HUDSON, M.L.A., SCARDINO, P.T., FLANIGAN, R.C., DEKERNION, J.B., RATLIFF, T.L., KAVOUSSI, L.R., DALKIN, B.L., WATERS, W.B., MACFARLANE, M.T. & SOUTHWICK, P.C. 1994. Comparison of Digital Rectal Examination and Serum Prostate Specific Antigen in the Early Detection of Prostate Cancer: Results of a Multicenter Clinical Trial of 6,630 Men. *The Journal of Urology*, 151, 1283-1290.
- CHEN, H., YUE, J.-X., YANG, S.-H., DING, H., ZHAO, R.-W. & ZHANG, S. 2009. Overexpression of transketolase-like gene 1 is associated with cell proliferation in uterine cervix cancer. *Journal of experimental & clinical cancer research : CR*, 28, 43-43.
- CHU, L.W., RITCHEY, J., DEVESA, S.S., QURAIISHI, S.M., ZHANG, H. & HSING, A.W. 2011. Prostate cancer incidence rates in Africa. *Prostate cancer*, 2011, 947870-947870.
- COOPERBERG, M.R., BROERING, J.M. & CARROLL, P.R. 2009. Risk assessment for prostate cancer metastasis and mortality at the time of diagnosis. *Journal of the National Cancer Institute*, 101, 878-887.
- COY, J.F. 2017. EDIM-TKTL1/Apo10 Blood Test: An Innate Immune System Based Liquid Biopsy for the Early Detection, Characterization and Targeted Treatment of Cancer. *Int J Mol Sci*, 18.
- COY, J.F., DRESSLER, D., WILDE, J. & SCHUBERT, P. 2005. Mutations in the Transketolase-like Gene TKTL1: Clinical Implications for Neurodegenerative Diseases, Diabetes and Cancer *Clin. Lab.*, 51, 257-273.

- COY, J.F., VELHAGEN, I., HIMMELE, R., DELIUS, H., POUSTKA, A. & ZENTGRAF, H. 1996a. Isolation, differential splicing and protein expression of a DNase on the human X chromosome. *Cell death and differentiation*, 3, 199-206.
- COY, J.F., DÜBEL, S., KIOSCHIS, P., THOMAS, K., MICKLEM, G., DELIUS, H. & POUSTKA, A. 1996b. Molecular Cloning of Tissue-Specific Transcripts of a Transketolase-Related Gene: Implications for the Evolution of New Vertebrate Genes. *Genomics*, 32, 309-316.
- D'AMICO, A.V., WHITTINGTON, R., MALKOWICZ, S.B., SCHULTZ, D., BLANK, K., BRODERICK, G.A., TOMASZEWSKI, J.E., RENSHAW, A.A., KAPLAN, I., BEARD, C.J. & WEIN, A. 1998. Biochemical Outcome After Radical Prostatectomy, External Beam Radiation Therapy, or Interstitial Radiation Therapy for Clinically Localized Prostate Cancer. *JAMA*, 280, 969-974.
- DA COSTA, I.A., HENNENLOTTER, J., STÜHLER, V., KÜHS, U., SCHARPF, M., TODENHÖFER, T., STENZL, A. & BEDKE, J. 2018. Transketolase like 1 (TKTL1) expression alterations in prostate cancer tumorigenesis. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, 36, 472.e21-472.e27.
- DALE, W., BILIR, P., HAN, M. & MELTZER, D. 2005. The role of anxiety in prostate carcinoma: a structured review of the literature. *Cancer*, 104, 467-478.
- DEBERARDINIS, R.J., LUM, J.J., HATZIVASSILIOU, G. & THOMPSON, C.B. 2008. The Biology of Cancer: Metabolic Reprogramming Fuels Cell Growth and Proliferation. *Cell Metabolism*, 7, 11-20.
- DESHPANDE, G.P., PATTERTON, H.-G. & FAADIEL ESSOP, M. 2019. The human transketolase-like proteins TKTL1 and TKTL2 are bona fide transketolases. *BMC structural biology*, 19, 2-2.
- DIAZ-MORALLI, S., AGUILAR, E., MARIN, S., COY, J.F., DEWERCHIN, M., ANTONIEWICZ, M.R., MECA-CORTÉS, O., NOTEBAERT, L., GHESQUIÈRE, B., EELEN, G., THOMSON, T.M., CARMELIET, P. & CASCANTE, M. 2016. A key role for transketolase-like 1 in tumor metabolic reprogramming. *Oncotarget*, 7, 51875-51897.
- DIAZ-MORALLI, S., TARRADO-CASTELLARNAU, M., ALENDA, C., CASTELLS, A. & CASCANTE, M. 2011. Transketolase-like 1 expression is modulated during colorectal cancer progression and metastasis formation. *PLoS one*, 6, e25323-e25323.
- DONIN, N.M. & REITER, R.E. 2018. Why Targeting PSMA Is a Game Changer in the Management of Prostate Cancer. *Journal of Nuclear Medicine*, 59, 177-182.
- ELMORE, S. 2007. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic pathology*, 35, 495-516.
- ENARI, M., SAKAHIRA, H., YOKOYAMA, H., OKAWA, K., IWAMATSU, A. & NAGATA, S. 1998. A caspase-activated DNase that degrades DNA during apoptosis, and its inhibitor ICAD. *Nature*, 391, 43-50.
- EPSTEIN, J., EGEVAD, L., AMIN, M., DELAHUNT, B., SRIGLEY, J. & HUMPHREY, P. 2016. The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma: Definition of Grading Patterns and Proposal for a New Grading System. *Am J Surg Pathol* 40, 244-252.
- EPSTEIN, J.I., ALLSBROOK, W.C., JR., AMIN, M.B. & EGEVAD, L.L. 2005. The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. *Am J Surg Pathol*, 29, 1228-1242.

- ERRAMI, Y., NAURA, A.S., KIM, H., JU, J., SUZUKI, Y., EL-BAHRAWY, A.H., GHONIM, M.A., HEMEIDA, R.A., MANSY, M.S., ZHANG, J., XU, M., SMULSON, M.E., BRIM, H. & BOULARES, A.H. 2013. Apoptotic DNA fragmentation may be a cooperative activity between caspase-activated deoxyribonuclease and the poly(ADP-ribose) polymerase-regulated DNAS1L3, an endoplasmic reticulum-localized endonuclease that translocates to the nucleus during apoptosis. *The Journal of biological chemistry*, 288, 3460-3468.
- FABER, T.J.E., JAPINK, D., LEERS, M.P.G., SOSEF, M.N., VON MEYENFELDT, M.F. & NAP, M. 2012. Activated macrophages containing tumor marker in colon carcinoma: immunohistochemical proof of a concept. *Tumor Biology*, 33, 435-441.
- FERLAY, J., STELIAROVA-FOUCHER, E., LORTET-TIEULENT, J., ROSSO, S., COEBERGH, J.W.W., COMBER, H., FORMAN, D. & BRAY, F. 2013. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: Estimates for 40 countries in 2012. *European Journal of Cancer*, 49, 1374-1403.
- FEYEN, O., COY, J.F., PRASAD, V., SCHIERL, R., SAENGER, J. & BAUM, R.P. 2012. EDIM-TKTL1 blood test: a noninvasive method to detect upregulated glucose metabolism in patients with malignancies. *Future Oncol*, 8, 1349-59.
- FÖLDI, M., STICKELER, E., BAU, L., KRETZ, O., WATERMANN, D., GITSCH, G., KAYSER, G., ZUR HAUSEN, A. & COY, J. 2007. Transketolase protein TKTL1 overexpression: A potential biomarker and therapeutic target in breast cancer. *Oncology reports*, 17, 841 - 845.
- FREEDLAND, S.J., HUMPHREYS, E.B., MANGOLD, L.A., EISENBERGER, M., DOREY, F.J., WALSH, P.C. & PARTIN, A.W. 2005. Risk of Prostate Cancer-Specific Mortality Following Biochemical Recurrence After Radical Prostatectomy. *JAMA*, 294, 433-439.
- FRITZ, P., COY, J.F., MURDTER, T.E., OTT, G., ALSCHER, M.D. & FRIEDEL, G. 2012. TKTL-1 expression in lung cancer. *Pathol Res Pract*, 208, 203-209.
- GATENBY, R.A. & GILLIES, R.J. 2004. Why do cancers have high aerobic glycolysis? *Nature Reviews Cancer*, 4, 891-899.
- GEHAN, E.A. 1965. A Generalized Wilcoxon Test for Comparing Arbitrarily Singly-Censored Samples. *Biometrika*, 52, 203-223.
- GLEASON, D.F. 1992. Histologic grading of prostate cancer: A perspective. *Human Pathology*, 23, 273-279.
- GRIMM, M., CETINDIS, M., LEHMANN, M., BIEGNER, T., MUNZ, A., TERIETE, P., KRAUT, W. & REINERT, S. 2014. Association of cancer metabolism-related proteins with oral carcinogenesis – indications for chemoprevention and metabolic sensitizing of oral squamous cell carcinoma? *Journal of Translational Medicine*, 12, 208.
- GRIMM, M., CETINDIS, M., LEHMANN, M., BIEGNER, T., MUNZ, A., TERIETE, P. & REINERT, S. 2015. Apoptosis resistance-related ABCB5 and DNaseX (Apo10) expression in oral carcinogenesis. *Acta Odontol Scand*, 73, 336-42.
- GRIMM, M., FEYEN, O., COY, J.F., HOFMANN, H., TERIETE, P. & REINERT, S. 2016a. Analysis of circulating CD14+/CD16+ monocyte-derived macrophages (MDMs) in the peripheral blood of patients with oral squamous cell carcinoma. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 121, 301-6.
- GRIMM, M., HOEFERT, S., KRIMMEL, M., BIEGNER, T., FEYEN, O., TERIETE, P. & REINERT, S. 2016b. Monitoring carcinogenesis in a case of oral squamous

- cell carcinoma using a panel of new metabolic blood biomarkers as liquid biopsies. *Oral and Maxillofacial Surgery*, 20, 295-302.
- GRIMM, M., KRAUT, W., HOEFERT, S., KRIMMEL, M., BIEGNER, T., TERIETE, P., CETINDIS, M., POLLIGKEIT, J., KLUBA, S., MUNZ, A. & REINERT, S. 2016c. Evaluation of a biomarker based blood test for monitoring surgical resection of oral squamous cell carcinomas. *Clinical Oral Investigations*, 20, 329-338.
- GRIMM, M., SCHMITT, S., TERIETE, P., BIEGNER, T., STENZL, A., HENNENLOTTER, J., MUHS, H.-J., MUNZ, A., NADTOTSCHI, T., KÖNIG, K., SÄNGER, J., FEYEN, O., HOFMANN, H., REINERT, S. & COY, J.F. 2013. A biomarker based detection and characterization of carcinomas exploiting two fundamental biophysical mechanisms in mammalian cells. *BMC cancer*, 13, 569.
- GRIMM, P., BILLIET, I., BOSTWICK, D., DICKER, A.P., FRANK, S., IMMERZEEL, J., KEYES, M., KUPELIAN, P., LEE, W.R., MACHTENS, S., MAYADEV, J., MORAN, B.J., MERRICK, G., MILLAR, J., ROACH, M., STOCK, R., SHINOHARA, K., SCHOLZ, M., WEBER, E., ZIETMAN, A., ZELEFSKY, M., WONG, J., WENTWORTH, S., VERA, R. & LANGLEY, S. 2012. Comparative analysis of prostate-specific antigen free survival outcomes for patients with low, intermediate and high risk prostate cancer treatment by radical therapy. Results from the Prostate Cancer Results Study Group. *BJU International*, 109, 22-29.
- GRÖNBERG, H. 2003. Prostate cancer epidemiology. *The Lancet*, 361, 859-864.
- GRUNEWALD, T.G.P., BACH, H., COSSARIZZA, A. & MATSUMOTO, I. 2012. The STEAP protein family: Versatile oxidoreductases and targets for cancer immunotherapy with overlapping and distinct cellular functions. *Biology of the Cell*, 104, 641-657.
- HANAHAN, D. & WEINBERG, ROBERT A. 2011. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*, 144, 646-674.
- HARRIS, R. & LOHR, K.N. 2002. Screening for Prostate Cancer: An Update of the Evidence for the U.S. Preventive Services Task Force. *Annals of Internal Medicine*, 137, 917-929.
- HATAKEYAMA, S., YONEYAMA, T., TOBISAWA, Y. & OHYAMA, C. 2017. Recent progress and perspectives on prostate cancer biomarkers. *International journal of clinical oncology*, 22, 214-221.
- HAURI, D. 2000. Maligne Tumoren der Prostata. In: HAURI, D. & JÄGER, P. (eds.) *Checkliste Urologie*. 4., völlig neu bearbeitete und erweiterte Auflage ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- HEIDENREICH, A., BASTIAN, P.J., BELLMUNT, J., BOLLA, M., JONIAU, S., VAN DER KWAST, T., MASON, M., MATVEEV, V., WIEGEL, T., ZATTONI, F. & MOTTET, N. 2014. EAU Guidelines on Prostate Cancer. Part 1: Screening, Diagnosis, and Local Treatment with Curative Intent—Update 2013. *European Urology*, 65, 124-137.
- HERMANN, S. & KRAYWINKEL, K. 2019. Epidemiologie des Prostatakarzinoms in Deutschland. *Der Onkologe*, 25, 294-303.
- HERWIG, R., MITTEREGGER, D., DJAVAN, B., KRAMER, G., MARGREITER, M., LEERS, M.P., GLODNY, B., HAIDER, D.G., HÖRL, W.H. & MARBERGER, M. 2008. Detecting prostate cancer by intracellular macrophage prostate-specific antigen (PSA): a more specific and sensitive marker than

- conventional serum total PSA. *European Journal of Clinical Investigation*, 38, 430-437.
- HERWIG, R., PELZER, A., HORNINGER, W., REHDER, P., KLOCKER, H., RAMONER, R., PINGGERA, G.M., GOZZI, C., KONWALINKA, G. & BARTSCH, G. 2004. Measurement of Intracellular Versus Extracellular Prostate-Specific Antigen Levels in Peripheral Macrophages: A New Approach to Noninvasive Diagnosis of Prostate Cancer. *Clinical Prostate Cancer*, 3, 184-188.
- HESSELS, D., SMIT, F.P., VERHAEGH, G.W., WITJES, J.A., CORNEL, E.B. & SCHALKEN, J.A. 2007. Detection of TMPRSS2-ERG Fusion Transcripts and Prostate Cancer Antigen 3 in Urinary Sediments May Improve Diagnosis of Prostate Cancer. *Clinical Cancer Research*, 13, 5103-5108.
- HOOGENDAM, A., BUNTINX, F. & DE VET, H.C. 1999. The diagnostic value of digital rectal examination in primary care screening for prostate cancer: a meta-analysis. *Family Practice*, 16, 621-626.
- HORN, F. 2018a. Apoptose – der programmierte Zelltod. In: HORN, F. (ed.) *Biochemie des Menschen*. 7., korrigierte Auflage ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- HORN, F. 2018b. Die Wege des Glukose-6-Phosphats. In: HORN, F. (ed.) *Biochemie des Menschen*. 7., korrigierte Auflage ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- HORN, F. 2018c. Der Pentosephosphatweg. In: HORN, F. (ed.) *Biochemie des Menschen*. 7., korrigierte Auflage ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- HOSAIN, G.M.M., SANDERSON, M., DU, X.L., CHAN, W. & STROM, S.S. 2011. Racial/ethnic differences in predictors of PSA screening in a tri-ethnic population. *Central European journal of public health*, 19, 30-34.
- IGNEY, F.H. & KRAMMER, P.H. 2002. Death and anti-death: tumour resistance to apoptosis. *Nature Reviews Cancer*, 2, 277-288.
- JAHN, J.L., GIOVANNUCCI, E.L. & STAMPFER, M.J. 2015. The high prevalence of undiagnosed prostate cancer at autopsy: implications for epidemiology and treatment of prostate cancer in the Prostate-specific Antigen-era. *International journal of cancer*, 137, 2795-2802.
- JANSEN, N. & COY, J.F. 2013. Diagnostic use of epitope detection in monocytes blood test for early detection of colon cancer metastasis. *Future Oncol*, 9, 605-9.
- JAPINK, D., LEERS, M.P., SOSEF, M.N. & NAP, M. 2009. CEA in activated macrophages. New diagnostic possibilities for tumor markers in early colorectal cancer. *Anticancer Res*, 29, 3245-51.
- JAPINK, D., NAP, M., SOSEF, M.N., NELEMANS, P.J., COY, J.F., BEETS, G., VON MEYENFELDT, M.F. & LEERS, M.P. 2014. Reproducibility studies for experimental epitope detection in macrophages (EDIM). *J Immunol Methods*, 407, 40-47.
- JAYACHANDRAN, A., LO, P.-H., CHUEH, A.C., PRITHVIRAJ, P., MOLANIA, R., DAVALOS-SALAS, M., ANAKA, M., WALKIEWICZ, M., CEBON, J. & BEHREN, A. 2016. Transketolase-like 1 ectopic expression is associated with DNA hypomethylation and induces the Warburg effect in melanoma cells. *BMC cancer*, 16, 134.
- JIN, L. & ZHOU, Y. 2019. Crucial role of the pentose phosphate pathway in malignant tumors. *Oncology letters*, 17, 4213-4221.
- KÄMMERER, U., GIRES, O., PFETZER, N., WIEGERING, A., KLEMENT, R.J. & OTTO, C. 2015. TKTL1 expression in human malign and benign cell lines. *BMC cancer*, 15, 2.

- KAPLAN, E.L. & MEIER, P. 1958. Nonparametric Estimation from Incomplete Observations. *Journal of the American Statistical Association*, 53, 457-481.
- KATTAN, M.W., EASTHAM, J.A., STAPLETON, A.M.F., WHEELER, T.M. & SCARDINO, P.T. 1998. A Preoperative Nomogram for Disease Recurrence Following Radical Prostatectomy for Prostate Cancer. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 90, 766-771.
- KAYSER, G., SIENEL, W., KUBITZ, B., MATTERN, D., STICKELER, E., PASSLICK, B., WERNER, M. & HAUSEN, A.Z. 2011. Poor outcome in primary non-small cell lung cancers is predicted by transketolase TKTL1 expression. *Pathology*, 43, 719-724.
- KELLER, G.L. 2017. *Untersuchungen zur klinischen Bedeutung von Apo10 und TKTL1 im Blut von Patienten mit organbezogenem Prostatakarzinom mittels der EDIM-Technologie unter Einbeziehung von Messungen nach erfolgter Prostatektomie*. Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin, Eberhard Karls Universität Tübingen, <http://dx.doi.org/10.15496/publikation-15356> [accessed 10.11.2019].
- KHEIRANDISH, P. & CHINEGWUNDOH, F. 2011. Ethnic differences in prostate cancer. *British journal of cancer*, 105, 481-485.
- KOHAAR, I., PETROVICS, G. & SRIVASTAVA, S. 2019. A Rich Array of Prostate Cancer Molecular Biomarkers: Opportunities and Challenges. *International journal of molecular sciences*, 20, 1813.
- KREUSER, V., DIECKHOFF, J., SITTING, M. & MANNHERZ, H.G. 1984. Isolation, characterisation and crystallization of deoxyribonuclease I from bovine and rat parotid gland and its interaction with rabbit skeletal muscle actin. *European Journal of Biochemistry*, 139, 389-400.
- KRISTIANSEN, G. 2012. Diagnostic and prognostic molecular biomarkers for prostate cancer. *Histopathology*, 60, 125-141.
- KROCKENBERGER, M., HONIG, A., RIEGER, L., COY, J.F., SUTTERLIN, M., KAPP, M., HORN, E., DIETL, J. & KAMMERER, U. 2007. Transketolase-like 1 expression correlates with subtypes of ovarian cancer and the presence of distant metastases. *International Journal of Gynecologic Cancer*, 17, 101-106.
- KUSHI, L.H., DOYLE, C., MCCULLOUGH, M., ROCK, C.L., DEMARK-WAHNEFRIED, W., BANDERA, E.V., GAPSTUR, S., PATEL, A.V., ANDREWS, K., GANSLER, T., NUTRITION, T.A.C.S. & COMMITTEE, P.A.G.A. 2012. American Cancer Society guidelines on nutrition and physical activity for cancer prevention. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 62, 30-67.
- LANGBEIN, S., ZERILLI, M., ZUR HAUSEN, A., STAIGER, W., RENSCH-BOSCHERT, K., LUKAN, N., POPA, J., TERNULLO, M.P., STEIDLER, A., WEISS, C., GROBHOLZ, R., WILLEKE, F., ALKEN, P., STASSI, G., SCHUBERT, P. & COY, J.F. 2006. Expression of transketolase TKTL1 predicts colon and urothelial cancer patient survival: Warburg effect reinterpreted. *British journal of cancer*, 94, 578-585.
- LANGE, C.A., TISCH-ROTTENSTEINER, J., BÖHRINGER, D., MARTIN, G., SCHWARTZKOPFF, J. & AUW-HAEDRICH, C. 2012. Enhanced TKTL1 Expression in Malignant Tumors of the Ocular Adnexa Predicts Clinical Outcome. *Ophthalmology*, 119, 1924-1929.
- LARSEN, B.D. & SØRENSEN, C.S. 2017. The caspase-activated DNase: apoptosis and beyond. *The FEBS Journal*, 284, 1160-1170.

- LEERS, M.P.G., NAP, M., HERWIG, R., DELAERE, K. & NAUWELAERS, F. 2008. Circulating PSA-Containing Macrophages as a Possible Target for the Detection of Prostate Cancer: A Three-Color/Five-Parameter Flow Cytometric Study on Peripheral Blood Samples. *American Journal of Clinical Pathology*, 129, 649-656.
- LEITLINIENPROGRAMM ONKOLOGIE, (DEUTSCHE KREBSGESELLSCHAFT, DEUTSCHE KREBSHILFE, AWMF) 2019. Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur Früherkennung, Diagnose und Therapie der verschiedenen Stadien des Prostatakarzinoms, Langversion 5.1, AWMF Registernummer: 043/022OL. <http://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/prostatakarzinom/> [accessed 16.06.2019].
- LEYTEN, G.H.J.M., HESSELS, D., SMIT, F.P., JANNINK, S.A., DE JONG, H., MELCHERS, W.J.G., CORNEL, E.B., DE REIJKE, T.M., VERGUNST, H., KIL, P., KNIPSCHER, B.C., HULSBERGEN-VAN DE KAA, C.A., MULDER, P.F.A., VAN OORT, I.M. & SCHALKEN, J.A. 2015. Identification of a Candidate Gene Panel for the Early Diagnosis of Prostate Cancer. *Clinical Cancer Research*, 21, 3061-3070.
- LIESENFELD, L., KRON, M., GSCHWEND, J.E. & HERKOMMER, K. 2017. Prognostic Factors for Biochemical Recurrence More than 10 Years after Radical Prostatectomy. *Journal of Urology*, 197, 143-148.
- LÖHR, C., TODENHÖFER, T., HENNENLOTTER, J., ANSELMO DA COSTA, I., STENZL, A. & BEDKE, J. 2018. Value of cancer related epitopes TKTL1 and APO10 in circulating macrophages for the prognosis of prostate cancer. *Der Urologe*, 57, 6-126.
- LOS, M., NEUBÜSER, D., COY, J.F., MOZOLUK, M., POUSTKA, A. & SCHULZE-OSTHOFF, K. 2000. Functional Characterization of DNase X, a Novel Endonuclease Expressed in Muscle Cells. *Biochemistry*, 39, 7365-7373.
- MAAS, M., HEGEMANN, M., RAUSCH, S., BEDKE, J., STENZL, A. & TODENHÖFER, T. 2017. Circulating tumor cells and their role in prostate cancer. *Asian journal of andrology*, 21, 24-31.
- MANTEL, N. 1966. Evaluation of survival data and two new rank order statistics arising in its consideration. *Cancer Chemother Rep*, 50, 163-70.
- MAO, Z., JI, A., YANG, K., HE, W., HU, Y., ZHANG, Q., ZHANG, D. & XIE, L. 2018. Diagnostic performance of PCA3 and hK2 in combination with serum PSA for prostate cancer. *Medicine*, 97, e12806.
- MEISSNER, V.H., HERKOMMER, K., MARTEN-MITTAG, B., GSCHWEND, J.E. & DINKEL, A. 2017. Prostate cancer-related anxiety in long-term survivors after radical prostatectomy. *Journal of Cancer Survivorship*, 11, 800-807.
- METTLIN, C., MURPHY, G.P., BABAIAN, R.J., CHESLEY, A., KANE, R.A., LITTRUP, P.J., MOSTOFI, F.K., RAY, P.S., SHANBERG, A.M. & TOI, A. 1996. The results of a five-year early prostate cancer detection intervention. *Cancer*, 77, 150-159.
- MEYER, C.P., PANTEL, K., TENNSTEDT, P., STROELIN, P., SCHLOMM, T., HEINZER, H., RIETHDORF, S. & STEUBER, T. 2016. Limited prognostic value of preoperative circulating tumor cells for early biochemical recurrence in patients with localized prostate cancer. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, 34, 235.e11-235.e16.

- MISTRY, K. & CABLE, G. 2003. Meta-Analysis of Prostate-Specific Antigen and Digital Rectal Examination as Screening Tests for Prostate Carcinoma. *The Journal of the American Board of Family Practice*, 16, 95.
- MORENO-SÁNCHEZ, R., RODRÍGUEZ-ENRÍQUEZ, S., MARÍN-HERNÁNDEZ, A. & SAAVEDRA, E. 2007. Energy metabolism in tumor cells. *The FEBS Journal*, 274, 1393-1418.
- MUKAE, N., ENARI, M., SAKAHIRA, H., FUKUDA, Y., INAZAWA, J., TOH, H. & NAGATA, S. 1998. Molecular cloning and characterization of human caspase-activated DNase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95, 9123-9128.
- NEUHAUS, J. & YANG, B. 2018. Liquid Biopsy Potential Biomarkers in Prostate Cancer. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, 8, 68.
- PARKER, C. 2004. Active surveillance: towards a new paradigm in the management of early prostate cancer. *The Lancet Oncology*, 5, 101-106.
- PARRISH, J.E., CICCODICOLA, A., WEHNERT, M., COX, G.F., CHEN, E. & NELSON, D.L. 1995. A muscle-specific DNase I-like gene in human Xq28. *Human Molecular Genetics*, 4, 1557-1564.
- PARTIN, A.W., YOO, J., CARTER, H.B., PEARSON, J.D., CHAN, D.W., EPSTEIN, J.I. & WALSH, P.C. 1993. The Use of Prostate Specific Antigen, Clinical Stage and Gleason Score to Predict Pathological Stage in Men with Localized Prostate Cancer. *Journal of Urology*, 150, 110-114.
- PEITSCH, M.C., POLZAR, B., STEPHAN, H., CROMPTON, T., MACDONALD, H.R., MANNHERZ, H.G. & TSCHOPP, J. 1993. Characterization of the endogenous deoxyribonuclease involved in nuclear DNA degradation during apoptosis (programmed cell death). *The EMBO journal*, 12, 371-377.
- PRICE, C., ALLARD, J., DAVIES, G., DAWNAY, A., DUFFY, M., FRANCE, M., MANDARINO, G., WARD, A., PATEL, B., SIBLEY, P. & STURGEON, C. 2001. Pre- and post-analytical factors that may influence use of serum prostate specific antigen and its isoforms in a screening programme for prostate cancer. *Annals of Clinical Biochemistry*, 38(3), 188-216.
- RANA, S., MAPLES, P.B., SENZER, N. & NEMUNAITIS, J. 2008. Stathmin 1: a novel therapeutic target for anticancer activity. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 8, 1461-1470.
- RAWLA, P. 2019. Epidemiology of Prostate Cancer. *World journal of oncology*, 10, 63-89.
- REBBECK, T.R. 2017. Prostate Cancer Genetics: Variation by Race, Ethnicity, and Geography. *Seminars in radiation oncology*, 27, 3-10.
- RICCIARDELLI, C., LOKMAN, N.A., CHERUVU, S., TAN, I.A., WEEN, M.P., PYRAGIUS, C.E., RUSZKIEWICZ, A., HOFFMANN, P. & OEHLER, M.K. 2015. Transketolase is upregulated in metastatic peritoneal implants and promotes ovarian cancer cell proliferation. *Clinical & Experimental Metastasis*, 32, 441-455.
- RINI, B.I. & SMALL, E.J. 2002. Hormone-Refractory prostate cancer. *Current Treatment Options in Oncology*, 3, 437-446.
- ROBBINS, C.M., HOOKER, S., KITTLES, R.A. & CARPTEN, J.D. 2011. EphB2 SNPs and sporadic prostate cancer risk in African American men. *PloS one*, 6, e19494.

- RUSSO, G.I., BIER, S., HENNENLOTTER, J., BEGER, G., PAVLENCO, L., VAN DE FLIERDT, J., HAUCH, S., MAAS, M., WALZ, S., RAUSCH, S., BEDKE, J., MORGIA, G., STENZL, A. & TODENHÖFER, T. 2018. Expression of tumour progression-associated genes in circulating tumour cells of patients at different stages of prostate cancer. *BJU International*, 122, 152-159.
- SAINI, S. 2016. PSA and beyond: alternative prostate cancer biomarkers. *Cellular oncology (Dordrecht)*, 39, 97-106.
- SAMEJIMA, K. & EARNSHAW, W.C. 2005. Trashing the genome: the role of nucleases during apoptosis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 6, 677-688.
- SCHNEIDER, S., LÜDTKE, S., SCHRÖDER-TITTMANN, K., WECHSLER, C., MEYER, D. & TITTMANN, K. 2012. A $\delta 38$ deletion variant of human transketolase as a model of transketolase-like protein 1 exhibits no enzymatic activity. *PLoS one*, 7, e48321.
- SCHWAAB, J., HORISBERGER, K., STRÖBEL, P., BOHN, B., GENCER, D., KÄHLER, G., KIENLE, P., POST, S., WENZ, F., HOFMANN, W.-K., HOFHEINZ, R.-D. & ERBEN, P. 2011. Expression of Transketolase like gene 1 (TKTL1) predicts disease-free survival in patients with locally advanced rectal cancer receiving neoadjuvant chemoradiotherapy. *BMC cancer*, 11, 363.
- SHARIAT, S.F., KARAKIEWICZ, P.I., ROEHRBORN, C.G. & KATTAN, M.W. 2008. An updated catalog of prostate cancer predictive tools. *Cancer*, 113, 3075-3099.
- SHARIAT, S.F., KATTAN, M.W., TRAXEL, E., ANDREWS, B., ZHU, K., WHEELER, T.M. & SLAWIN, K.M. 2004. Association of Pre- and Postoperative Plasma Levels of Transforming Growth Factor β_{1} and Interleukin 6 and Its Soluble Receptor with Prostate Cancer Progression. *Clinical Cancer Research*, 10, 1992-1999.
- SHARIAT, S.F., ROEHRBORN, C.G., MCCONNELL, J.D., PARK, S., ALAM, N., WHEELER, T.M. & SLAWIN, K.M. 2007. Association of the Circulating Levels of the Urokinase System of Plasminogen Activation With the Presence of Prostate Cancer and Invasion, Progression, and Metastasis. *Journal of Clinical Oncology*, 25, 349-355.
- SHARIAT, S.F., SEMJONOW, A., LILJA, H., SAVAGE, C., VICKERS, A.J. & BJARTELL, A. 2011. Tumor markers in prostate cancer I: blood-based markers. *Acta oncologica (Stockholm, Sweden)*, 50 Suppl 1, 61-75.
- SHI, Z., TANG, Y., LI, K. & FAN, Q. 2015. TKTL1 expression and its downregulation is implicated in cell proliferation inhibition and cell cycle arrest in esophageal squamous cell carcinoma. *Tumor Biology*, 36, 8519-8529.
- SHIOKAWA, D., SHIKA, Y., SAITO, K., YAMAZAKI, K. & TANUMA, S.-I. 2005. Physical and biochemical properties of mammalian DNase X proteins: non-AUG translation initiation of porcine and bovine mRNAs for DNase X. *The Biochemical journal*, 392, 511-517.
- SHIOKAWA, D. & TANUMA, S.-I. 2001. Characterization of Human DNase I Family Endonucleases and Activation of DNase γ during Apoptosis. *Biochemistry*, 40, 143-152.
- SOUNTOULIDES, P. & ROUNTOS, T. 2013. Adverse effects of androgen deprivation therapy for prostate cancer: prevention and management. *ISRN urology*, 2013, 240108.

- STERN, R., SHUSTER, S., NEUDECKER, B.A. & FORMBY, B. 2002. Lactate Stimulates Fibroblast Expression of Hyaluronan and CD44: The Warburg Effect Revisited. *Experimental Cell Research*, 276, 24-31.
- TAPER, H.S. 2008. Altered Deoxyribonuclease Activity in Cancer Cells and its Role in Non Toxic Adjuvant Cancer Therapy with Mixed Vitamins C and K3. *Anticancer Research*, 28, 2727-2732.
- THOMPSON, I.M., ANKERST, D.P., CHI, C., GOODMAN, P.J., TANGEN, C.M., LUCIA, M.S., FENG, Z., PARNES, H.L. & COLTMAN, C.A., JR. 2006. Assessing Prostate Cancer Risk: Results from the Prostate Cancer Prevention Trial. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 98, 529-534.
- THOMPSON, I.M., PAULER, D.K., GOODMAN, P.J., TANGEN, C.M., LUCIA, M.S., PARNES, H.L., MINASIAN, L.M., FORD, L.G., LIPPMAN, S.M., CRAWFORD, E.D., CROWLEY, J.J. & COLTMAN, C.A. 2004. Prevalence of Prostate Cancer among Men with a Prostate-Specific Antigen Level ≤ 4.0 ng per Milliliter. *New England Journal of Medicine*, 350, 2239-2246.
- TODENHÖFER, T., HENNENLOTTER, J., KELLER, G., NEUMANN, T., STENZL, A. & BEDKE, J. 2017. Effect of radical prostatectomy on levels of cancer related epitopes in circulating macrophages of patients with clinically localized prostate cancer. *Prostate*, 77, 1251-1258.
- TOLKACH, Y. & KRISTIENSEN, G. 2018. The Heterogeneity of Prostate Cancer: A Practical Approach. *Pathobiology*, 85, 108-116.
- TOMLINS, S.A., BJARTELL, A., CHINNAIYAN, A.M., JENSTER, G., NAM, R.K., RUBIN, M.A. & SCHALKEN, J.A. 2009. ETS Gene Fusions in Prostate Cancer: From Discovery to Daily Clinical Practice. *European Urology*, 56, 275-286.
- TOURINHO-BARBOSA, R., SROUGI, V., NUNES-SILVA, I., BAGHDADI, M., REMBEYO, G., EIFFEL, S.S., BARRET, E., ROZET, F., GALIANO, M., CATHELINÉAU, X. & SANCHEZ-SALAS, R. 2018. Biochemical recurrence after radical prostatectomy: what does it mean? *International braz j urol : official journal of the Brazilian Society of Urology*, 44, 14-21.
- TOUSSI, A., STEWART-MERRILL SUZANNE, B., BOORJIAN STEPHEN, A., PSUTKA SARAH, P., THOMPSON, R.H., FRANK, I., TOLLEFSON MATTHEW, K., GETTMAN MATTHEW, T., CARLSON RACHEL, E., RANGEL LAUREANO, J. & KARNES, R.J. 2016. Standardizing the Definition of Biochemical Recurrence after Radical Prostatectomy—What Prostate Specific Antigen Cut Point Best Predicts a Durable Increase and Subsequent Systemic Progression? *Journal of Urology*, 195, 1754-1759.
- TSAUR, I., THURN, K., JUENGEL, E., OPPERMAN, E., NELSON, K., THOMAS, C., BARTSCH, G., OREMEK, G.M., HAFERKAMP, A., RUBENWOLF, P. & BLAHETA, R.A. 2016. Evaluation of TKTL1 as a biomarker in serum of prostate cancer patients. *Central European journal of urology*, 69, 247-251.
- WANG, M.C., VALENZUELA, L.A., MURPHY, G.P. & CHU, T.M. 1979. Purification of a human prostate specific antigen. *Investigative urology*, 17, 159-163.
- WARBURG, O., POSENER, K. & NEGELEIN, E. 1924. Über den Stoffwechsel der Carcinomzelle. *Biochem Z*, 319-344.
- WILT, T.J., JONES, K.M., BARRY, M.J., ANDRIOLE, G.L., CULKIN, D., WHEELER, T., ARONSON, W.J. & BRAWER, M.K. 2017. Follow-up of

- Prostatectomy versus Observation for Early Prostate Cancer. *New England Journal of Medicine*, 377, 132-142.
- WITTEKIND, C. 2017. *TNM: Klassifikation maligner Tumoren*, Weinheim, Wiley-VCH.
- WITTIG, R. & COY, J.F. 2008. The role of glucose metabolism and glucose-associated signalling in cancer. *Perspectives in medicinal chemistry*, 1, 64-82.
- WONG, M.C., GOGGINS, W.B., WANG, H.H., FUNG, F.D., LEUNG, C., WONG, S.Y., NG, C.F. & SUNG, J.J. 2016. Global Incidence and Mortality for Prostate Cancer: Analysis of Temporal Patterns and Trends in 36 Countries. *Eur Urol*, 70, 862-874.
- ZERILLI, M., AMATO, M.C., MARTORANA, A., CABIBI, D., COY, J.F., CAPPELLO, F., POMPEI, G., RUSSO, A., GIORDANO, C. & RODOLICO, V. 2008. Increased expression of transketolase-like-1 in papillary thyroid carcinomas smaller than 1.5 cm in diameter is associated with lymph-node metastases. *Cancer*, 113, 936-944.
- ZHANG, K., BANGMA, C.H. & ROOBOL, M.J. 2017. Prostate cancer screening in Europe and Asia. *Asian Journal of Urology*, 4, 86-95.
- ZWEIG, M.H. & CAMPBELL, G. 1993. Receiver-operating characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine. *Clin Chem*, 39, 561-77.

7 Erklärung zum Eigenanteil

Die vorliegende Arbeit wurde in der Universitätsklinik für Urologie in Tübingen unter Betreuung von Prof. Dr. med. Jens Bedke durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit Herrn Dipl.-Biol. Jörg Hennenlotter. Er unterstützte mich während der Erhebung und statistischen Auswertung der Studiendaten, sowie bei der schriftlichen Ausarbeitung der Dissertationsschrift mit Hilfestellungen und Korrekturen.

Die von Herrn Dr. med. Gabriel Keller im Rahmen seiner Dissertation erstellte Datenbank habe ich zur Planung und Dokumentation der vorliegenden Studie übernommen und weitergeführt.

Die Planung und Durchführung der telefonischen Kontaktaufnahme mit den Patienten und die Entnahme der Blutproben im Rahmen von Hausbesuchen wurden von mir in Kooperation mit Frau Jana Rokitzki durchgeführt. Die Datenerhebung im Rahmen der In-House-Follow-Ups und die Kontaktaufnahme mit den behandelnden Ärzten der Patienten wurden von mir durchgeführt. Die verwendeten Fragebögen zur telefonischen Erhebung und die versandten FAX-Formulare wurden von mir erstellt.

Die Bestimmung der EDIM-Scores wurde extern durch das Labor Biovis´ Diagnostik MVZ GmbH in Limburg durchgeführt.

Die statistische Auswertung der erhobenen Daten erfolgte eigenständig durch mich. Alle dargestellten Grafiken und Tabellen wurden von mir selbst entworfen. Für Rückfragen standen mir Herr Dipl.-Biol. Jörg Hennenlotter und cand. inform. Tim Neumann als Ansprechpartner zur Seite.

Ich versichere, das Manuskript selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Name _____

Datum:

Erreicht? [] Uhrzeit: _____

Tumorabhängig verstorben []

Verstorben []

Vorstellung – Urologische Klinik Tübingen,
wissenschaftliches Follow-Up der Studie von 2013/14 (Gabriel Keller)
Grund des Anrufs – Px vor Jahren, Bestimmung experimenteller Tumormarker, Verlaufskontrolle

Einverständnis Krankengeschichte? []

Krankengeschichte: Krankheit wiedergekommen? _____

PSA-Wert mal erhöht gewesen? _____

Metastasen? _____

Einverständnis Blutabnahme? []

Einmalige PSA-Wert-Bestimmung mit ärztlicher Interpretation? []

Bei Wunsch auch die studienbezogenen Daten (Apo10-Score etc.) []

Tel Nr. des Pat: _____ (für Rückruf von Prof. Bedke)

Termin für Blutabnahme: _____

Notizen:

Abbildung 21: Fragebogen zur Datenerhebung bei telefonischem Patientenkontakt.

9 Veröffentlichung

Teile der Ergebnisse wurden vom Autor der vorliegenden Arbeit am 27. September 2018 auf dem 70. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Urologie e.V. in Dresden vorgestellt. In diesem Zuge ist ein Abstract unter dem Titel „Value of cancer related epitopes TKTL1 and APO10 in circulating macrophages for the prognosis of prostate cancer“ von den Autoren C. Löhr, T. Todenhöfer, J. Hennenlotter, I. Anselmo da Costa, A. Stenzl, J. Bedke verfasst worden (Löhr et al., 2018).

10 Danksagung

Als Erstes möchte ich dem ärztlichen Direktor der Universitätsklinik für Urologie in Tübingen, Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. Arnulf Stenzl, für die Möglichkeit der Forschung am vorliegenden Thema und der Promotion in einem so interessanten Feld danken.

Weiterhin gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. med. Jens Bedke für die Betreuung bei der Arbeit und die Unterstützung im Rahmen des DGU-Kongresses.

Besonderen Dank möchte ich Herrn Dipl.-Biol. Jörg Hennenlotter aussprechen, da er mir zu jeder Zeit mit schnellen und konstruktiven Ratschlägen zur Seite stand. Durch seine offene und herzliche Art, die er trotz aller Widrigkeiten stets beibehalten hat, sorgte er immer für eine äußerst angenehme und wertschätzende Arbeitsatmosphäre. Ohne seine zuverlässige Hilfe wäre die Arbeit in der vorliegenden Form nicht realisierbar gewesen.

Auch dem gesamten Team des uro-onokologischen Labors danke ich für die stets angenehme Arbeitsatmosphäre und den freundlichen Umgang.

Ebenso danke ich Frau Jana Rokitzki für die Unterstützung während der Datenerhebung und cand. inform. Tim Neumann für die Ratschläge zur statistischen Auswertung der Daten.

Frau Dr. med. Inês Anselmo da Costa danke ich für die kurzfristige Hilfe im Rahmen des DGU-Kongresses.

Natürlich gilt mein tiefer Dank allen Freunden, die mich während der oft anstrengenden Zeit unterstützt oder zumindest wohlwollend ertragen haben.

Nicht zuletzt möchte ich meinen Eltern einen großen Dank aussprechen: Danke für die liebevolle Unterstützung, die mir Vieles im Leben so viel leichter gemacht hat. Euer unerschütterlicher Glaube an mich war mir immer ein gewaltiger Antrieb. Ich danke euch für all die Zeit und die Mühe, die ihr zeitlebens in mich investiert habt.