

Aus der  
Universitätsklinik für Urologie Tübingen

**Die Bedeutung der Rezeptoren IGF1-R, IL6-R und des  
Östrogenrezeptors  $\beta$  für die Progression des  
Prostatakarzinoms vor dem Hintergrund Diabetes-  
assoziierter Stoffwechselalterationen**

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

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

**vorgelegt von  
Alexander Wittan  
2024**

Aus der  
Universitätsklinik für Urologie Tübingen

**Die Bedeutung der Rezeptoren IGF1-R, IL6-R und des  
Östrogenrezeptors  $\beta$  für die Progression des  
Prostatakarzinoms vor dem Hintergrund Diabetes-  
assoziierter Stoffwechselalterationen**

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

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

**vorgelegt von  
Alexander Wittan  
2024**

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professor Dr. A. Stenzl  
2. Berichterstatter: Professorin Dr. E.-M. Grischke

Tag der Disputation: 23.07.2024

„Zu wissen, dass wir wissen, was wir wissen, und zu wissen, dass wir nicht wissen, was wir nicht wissen, ist wahres Wissen.“

Nicolaus Copernicus

# Inhaltsverzeichnis

<b>I. Einleitung</b> .....	<b>9</b>
<b>I.1 Das Organ Prostata</b> .....	<b>9</b>
I.1.1 Anatomie .....	9
I.1.2 Histologie.....	10
I.1.3 Physiologie.....	10
<b>I.2 Prostatakarzinom</b> .....	<b>11</b>
I.2.1 Pathologie .....	11
I.2.2 Risikofaktoren .....	11
I.2.3 Pathogenese.....	12
I.2.4 Pathomorphologie.....	12
<b>I.3 Klassifikation von Prostatakarzinomen</b> .....	<b>13</b>
I.3.1 Gleason Score.....	13
I.3.2 TNM.....	13
<b>I.4 Screening &amp; Diagnose</b> .....	<b>14</b>
I.4.1 Screening .....	14
I.4.2 Diagnose .....	15
<b>I.5 Behandlung</b> .....	<b>15</b>
I.5.1 Active Surveillance vs. Watch and Wait .....	16
I.5.2 Radikale Prostatektomie .....	16
I.5.3 Radiotherapie .....	17
I.5.4 Hormontherapie.....	17
I.5.5 Chemotherapie .....	18
<b>I.6 Diabetes Mellitus</b> .....	<b>19</b>
I.6.1 Einführung.....	19
I.6.2 Diabetes und Malignome .....	19
<b>I.7 Rezeptoren</b> .....	<b>20</b>
I.7.1 IGF-1-Rezeptor (IGF-1R).....	20
I.7.2 Östrogenrezeptor $\beta$ (ER- $\beta$ ).....	22
I.7.3 Interleukin-6R (IL-6R).....	22
I.7.4 IGF-1R und Malignome.....	24
I.7.5 ER- $\beta$ und Malignome.....	24
I.7.6 IL-6R und Malignome .....	25
I.7.7 Subzelluläre Rezeptorexpression des IGF-1R und Tumorprogression .....	26
I.7.8 Subzelluläre Rezeptorexpression des ER- $\beta$ und Tumorprogression .....	27
I.7.9 Subzelluläre Rezeptorexpression des Interleukin-6R und Tumorprogression.....	27
I.7.10 IGF-1R- und ER- $\beta$ Expression vor dem Hintergrund der Tumorprogression. ....	27
I.7.11 IGF-1R- und IL-6R-Expression vor dem Hintergrund der Tumorprogression.....	29
I.7.12 ER- $\beta$ und IL-6R Expression vor dem Hintergrund der Tumorprogression .....	30
I.7.13 Überlappung der Signalwegs-Kaskaden.....	30
<b>I.8 Fragestellung</b> .....	<b>31</b>
<b>II. Material und Methoden</b> .....	<b>32</b>
<b>II.1 Ethik</b> .....	<b>32</b>
<b>II.2 Datenschutz</b> .....	<b>32</b>

<b>II.3 Erhebung patientenbezogener Daten und Datenbanken.....</b>	<b>32</b>
<b>II.4 Ein- und Ausschlusskriterien.....</b>	<b>34</b>
<b>II.5 Patientenkollektiv .....</b>	<b>34</b>
<b>II.6 Aufarbeitung der Gewebeproben .....</b>	<b>35</b>
II.6.1 Benignes Gewebe .....	35
II.6.2 Prostataektomie .....	35
II.6.3 TURP .....	36
<b>II.7 Tissue Microarray Produktion.....</b>	<b>36</b>
<b>II.8 Immunhistochemische Färbung .....</b>	<b>38</b>
II.8.1 Direkte Immunhistochemie.....	39
II.8.2 Indirekte Immunhistochemie .....	40
<b>II.9 Durchführung der Immunhistochemie.....</b>	<b>40</b>
<b>II.10 Mikroskopie &amp; Ergebniserläuterung .....</b>	<b>43</b>
II.11 Statistische Auswertung.....	50
<b>III. Ergebnisse .....</b>	<b>51</b>
<b>III.1 Patienteneigenschaften .....</b>	<b>51</b>
<b>III.2 Vergleich der IGF-1R-Expression in den Subkomponenten der Zelle entlang der Tumorprogression .....</b>	<b>54</b>
III.2.1 Benignes und malignes Gewebe .....	54
III.2.2 Vergleich der IGF-1R-Expression in den Subkomponenten der Zelle zwischen benignem, M0- und M1-Gewebe.....	55
III.2.2.1 IGF-1R-Zellkern-Expression .....	55
III.2.2.2 IGF-1R-Zytoplasma-Expression .....	56
III.2.2.3 IGF-1R-Zellmembran-Expression.....	57
III.2.3 Vergleich der IGF-1R-Expression in den Subkomponenten der Zelle zwischen benignem, angrenzendem, Low Gleason, High Gleason, und M1-Gewebe.....	58
III.2.3.1 IGF-1R-Zellkern-Expression .....	58
III.2.3.2 IGF-1R-Zytoplasma-Expression .....	60
III.2.3.3. IGF1R Zellmembran Expression .....	61
<b>III.3 Vergleich der IGF-1R-Expression in den Subkomponenten der Zelle entlang der TNM-Klassifikation.....</b>	<b>61</b>
III.3.1 Korrelation zwischen TNM-Stadium und der IGF-1R-Zellkern-Expression.....	61
III.3.1.1 IGF-1R-Zellkern-Expression nach T-Stadium.....	61
III.3.1.2 IGF-R1-Zellkern-Expression mittlerer Score nach N-Stadium .....	63
III.3.1.2 IGF-R1-Zellkern-Expression nach M-Stadium.....	63
III.3.2 Korrelation zwischen TNM-Stadium und der IGF-1R-Zytoplasma-Expression .....	64
III.3.2.1 IGF-1R-Zytoplasma-Expression nach T-Stadium .....	64
III.3.2.3 IGF-R1-Zytoplasma-Expression nach M-Stadium .....	66
III.3.3. IGF-1R-Zellmembran-Expression nach TNM-Stadium .....	66
<b>III.4. Vergleich der ER-<math>\beta</math>-Expression in den Subkomponenten der Zelle entlang der Tumorprogression .....</b>	<b>67</b>
III.3.1. Benignes und malignes Gewebe .....	67
III.4.2 Vergleich der ER- $\beta$ -Expression in den Subkomponenten der Zelle zwischen benignem, M0- und M1-Gewebe.....	68
III.4.2.1 ER- $\beta$ -Zellkern-Expression.....	68
III.4.2.2 ER- $\beta$ -Zytoplasma-Expression .....	69
III.4.3.Vergleich der ER- $\beta$ -Expression in den Subkomponenten der Zelle zwischen benignem, angrenzendem, Low Gleason-, High Gleason- und M1-Gewebe .....	70
III.4.3.1. ER- $\beta$ -Zellkerns-Expression.....	70

III.4.3.2. ER- $\beta$ -Zytoplasma-Expression .....	71
<b>III.5 Vergleich der ER-<math>\beta</math>-Expression in den Subkomponenten der Zelle entlang der TNM-Klassifikation.....</b>	<b>72</b>
III.5.1 Korrelation zwischen TNM-Stadium und der ER- $\beta$ -Zellkern-Expression.....	72
III.5.1.1 ER- $\beta$ -Zellkern-Expression nach T-Stadium .....	72
III.5.1.2. ER- $\beta$ -Zellkern-Expression nach N-Stadium.....	73
III.5.1.3. ER- $\beta$ Zellkern-Expression nach M-Stadium.....	74
III.5.2 Korrelation zwischen TNM-Stadium und der ER- $\beta$ -Zytoplasma-Expression .....	75
III.5.2.1. Die Expression des ER- $\beta$ im Zytoplasma mittlerer Score nach TNM-Stadium.....	75
III.5.2.2. ER- $\beta$ -Zytoplasma-Expression nach N-Stadium .....	76
III.5.2.3. ER- $\beta$ -Zytoplasma-Expression nach M-Stadium .....	77
<b>III.6. Vergleich der IL-6R-Expression in den Subkomponenten der Zelle entlang der Tumorprogression.....</b>	<b>77</b>
III.6.1. Benignes und malignes Gewebe .....	77
III.6.2. Vergleich der Interleukin-6R-Expression in den Subkomponenten der Zelle zwischen benignem, M0- und M1-Gewebe.....	79
III.6.2.1. Interleukin-6R-Zytoplasma-Expression.....	79
III.6.2.2. Interleukin-6R-Zellmembran-Expression.....	80
III.6.3. Vergleich der IL-6R-Expression in den Subkomponenten der Zelle zwischen benignem, angrenzendem, Low Gleason-, High Gleason- und M1-Gewebe .....	80
III.6.3.1 Interleukin-6R-Zytoplasma-Expression.....	80
III.6.3.2 Interleukin-6R-Zellmembran-Expression .....	81
<b>III.7 Vergleich der IL-6R-Expression in den Subkomponenten der Zelle entlang der TNM-Klassifikation.....</b>	<b>82</b>
III.7.1 Korrelation zwischen TNM-Stadium und der Interleukin-6R-Zytoplasma-Expression.....	82
III.7.1.1. Interleukin-6R-Zytoplasma-Expression nach T-Stadium .....	82
III.7.1.2. Interleukin-6R-Zytoplasma-Expression nach N-Stadium.....	83
III.7.1.3. Interleukin-6R-Zytoplasma-Expression nach M-Stadium .....	84
III.7.2. IL-6R-Zellmembran-Expression nach TNM-Stadium.....	84
<b>III.8 Zusammenhänge zwischen den Rezeptoren-Typen .....</b>	<b>84</b>
III.7.1 Korrelation zwischen IGF-1R-Zytoplasma un .....	85
III.8.2 Korrelation zwischen ER- $\beta$ -Zellkern und IGF-R1-Zellkern-Expression.....	86
III.8.3 Korrelation zwischen ER- $\beta$ -Zytoplasma und IL-6R-Zytoplasma-Expression .....	87
III.8.4 Korrelation zwischen IGF-1R-Zytoplasma und ER- $\beta$ -Zytoplasma-Expression.....	88
III.8.5 Korrelation zwischen IGF-1R-Zellkern und ER- $\beta$ -Zytoplasma-Expression .....	89
III.8.6 Korrelation zwischen IGF-1R-Zellkern und IGF-1R-Zytoplasma-Expression. ....	90
III.8.7 Korrelation zwischen ER- $\beta$ -Zellkern und IL-6R-Zytoplasma-Expression. ....	91
III.8.8 Korrelation zwischen IL-6-Zytoplasma und IGF-1R-Zellkern-Expression. ....	92
<b>III.9 Vergleich zwischen Diabetiker und Nicht-Diabetiker.....</b>	<b>92</b>
III.9.1 Vergleich zur IGF-1R-Zellkern-Expression zwischen Patienten mit und ohne Diabetes ...	94
III.9.2 Vergleich zur ER- $\beta$ -Zellkern-Expression bei Patienten mit und ohne Diabetes .....	95
III.9.3 Vergleich zur IGF-1R-Zytoplasma-Expression bei Patienten mit und ohne Diabetes.....	97
III.9.4 Vergleich der ER- $\beta$ -Zytoplasma-Expression bei Patienten mit und ohne Diabetes .....	98
<b>IV. Diskussion.....</b>	<b>100</b>
<b>IV.1 Malignome und Prostatamalignome .....</b>	<b>100</b>
IV.1.1.1. IGF1R-Expression im Hinblick auf die Tumorprogression .....	100
IV.1.1.2 Vergleich mit anderen klinischen Studien .....	100
IV.1.1.3. Die Rolle des IGF1R bei der Pathogenese von Prostatamalignomen .....	101
IV.1.2.1. ER- $\beta$ -Expression im Hinblick auf die Tumorprogression.....	102
IV.1.2.2. Vergleich mit anderen klinischen Studien .....	103
IV.1.2.3. Die Rolle des ER- $\beta$ bei der Pathogenese von Prostatamalignomen.....	104
IV.1.3.1. IL-6R Expression mit Hinblick auf die Tumor-Progression .....	106

IV.1.3.2 Der Vergleich mit anderen klinischen Studien .....	107
IV.1.3.3. Die Rolle des IL-6R bei der Pathogenese von Prostatamalignomen .....	108
<b>IV.2 Die Relation der Rezeptoren zueinander.....</b>	<b>108</b>
IV.2.1. IGF1-R und ER- $\beta$ .....	108
IV.2.2. IGF1-R und IL-6R.....	109
IV.2.3. ER- $\beta$ und IL-6R. ....	109
<b>IV.3 Metastasierung und die EMT .....</b>	<b>110</b>
IV.3.1 IGF1R.....	110
IV.3.2 ER- $\beta$ .....	111
IV.3.3. IL-6R.....	112
<b>IV.4. Interaktion der Rezeptoren, Prostatakarzinom und Diabetes.....</b>	<b>113</b>
IV.4.1 IGF1R.....	113
IV.4.2 ER- $\beta$ .....	114
IV.4.3. IL-6R.....	114
<b>IV.5.Verwendung der Rezeptorexpressionen als diagnostische Marker .....</b>	<b>115</b>
IV.5.1. Methodik .....	115
IV.5.2. IGF1R.....	115
IV.5.3. ER- $\beta$ .....	115
IV.5.4 IL-6R.....	116
<b>IV.6. Die Rezeptoren als prognostische Marker.....</b>	<b>116</b>
IV.6.1 IGF1-R .....	116
IV.6.2 ER- $\beta$ .....	117
IV.6.3 IL-6R.....	117
<b>IV.7. Therapie.....</b>	<b>117</b>
IV.7.1. IGF1-R .....	117
IV.7.2. ER- $\beta$ .....	119
IV.7.3. IL-6R.....	119
<b>IV.8. Schlussfolgerung .....</b>	<b>120</b>
<b>IV.9 Limitation der vorliegenden Arbeit .....</b>	<b>121</b>
<b>V. Zusammenfassung .....</b>	<b>122</b>
<b>VI. Anhang.....</b>	<b>124</b>
<b>VI.1 Abkürzungen.....</b>	<b>124</b>
<b>VI.2 Tabellen und Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>127</b>
VI.2.1. Abbildungsverzeichnis.....	127
VI.2.2: Tabellenverzeichnis.....	130
<b>VI.3 Quellenangabe.....</b>	<b>132</b>
<b>VI.4 Erklärung zum Eigenanteil Dissertation.....</b>	<b>141</b>
<b>VI.5 Danksagung.....</b>	<b>143</b>
<b>VI.6. Lebenslauf.....</b>	<b>144</b>

# I. Einleitung

## I.1 Das Organ Prostata

### I.1.1 Anatomie

Die Prostata ist ein walnussgroßes, aus tubuloalveolären Drüsen bestehendes Organ und gehört zum urogenitalen System des Mannes (Aaron, 2016). Die Prostata befindet sich inferior zum Apex der Blase, vor dem Rektum (Ittmann, 2018) sowie hinter der *Symphysis Pubis*. Lateral zur Prostata befinden sich die beiden *Levator-Ani*-Muskeln (Singh, 2021). Die Samenbläschen befinden sich lateral an der Basis der Prostata. Eine nicht vergrößerte Prostata wiegt zwischen 15 und 20 Gramm. Die Prostata wird klassischerweise nach McNeal in drei verschiedene Zonen eingeteilt: die zentrale, die periphere und die Übergangszone. Die periphere Zone macht ungefähr 70 % der gesamten Masse der Prostata aus und ist der Teil der Prostata, der am häufigsten von Prostatakarzinomen betroffen ist. Die Übergangszone umschlingt die Urethra und macht in gesunden Männern 5 % des Prostata-Volumens aus. Die benigne prostatistische Hyperplasie tritt am häufigsten in der Übergangszone auf (Ittmann, 2018). Durch die Expansion des Gewebes in dieser Zone entstehen die mit BPH assoziierten Symptome sowie Probleme beim Wasserlassen, was durch die Nähe der Zone zur Urethra erklärt werden kann (Aaron et al., 2016). Die zentrale Zone macht die restlichen 25 % des Prostata-Volumens aus. Die Zone hat die Form eines Konus, wobei das breite Portio mit der Basis der Prostata einhergeht (Ittmann, 2018). Sie umschlingt die Ejakulationsgänge (Aaron et al., 2016). Die Prostata wird über dem hypogastrischen Nerv sympathetisch und parasymphatisch über dem Beckennerv innerviert (White et al., 2013).

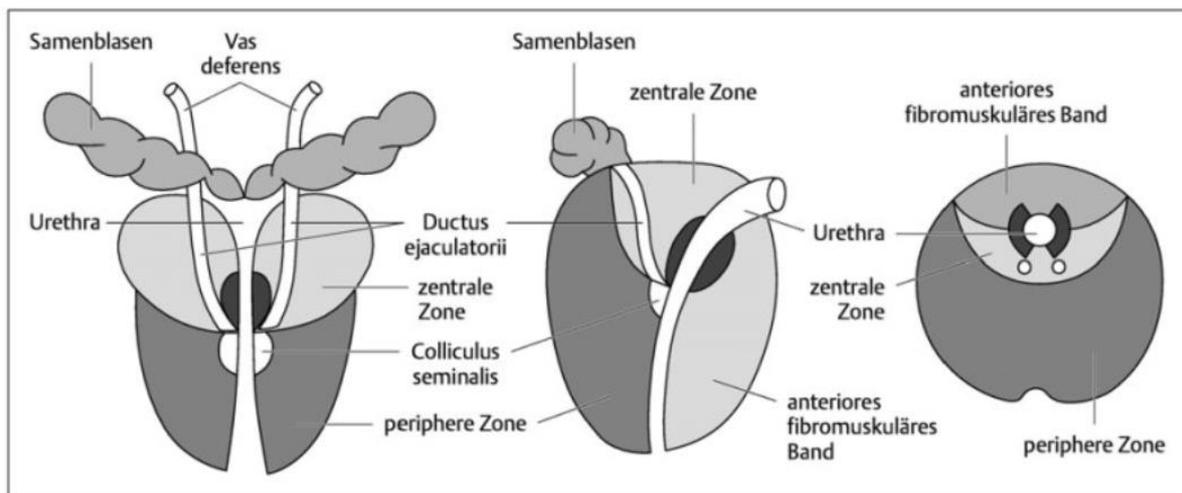


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Prostata (Hamm et al., 2007)

### I.1.2 Histologie

Die Histologie der Prostata umgreift drei verschiedene Arten von Zellen, aus denen die Azini und die Drüsen der Prostata bestehen: luminale, basale und neuroendokrine. Die Azini können vor allem in der zentralen Zone gefunden werden. Die luminalen Zellen sind säulenförmig und besitzen ein blasses, eosinophiles Zytoplasma sowie runde Nuklei, die an der Basis der Zelle zu finden sind. Die luminalen Zellen stellen einige Bestandteile der Samenflüssigkeit her sowie das PSA, das zur frühen Identifizierung von Prostatakarzinomen genutzt wird. Die Basalzellen grenzen an die Basalmembrane an, besitzen ovoide Nuklei sowie geringe Mengen Zytoplasma. Diese Zellen färben positiv auf nukleares p63 sowie High-Molecular-Cytokeratin. Neuroendokrine Zellen können über neuroendokrine Marker sowie Chromogranin und Synaptophysin immunhistochemisch identifiziert werden. Das prostatistische Stroma ist fibromuskulär, mit vielen glatten Muskelzellen sowie Fibroblasten, Blutgefäßen, und Nerven (Ittmann, 2018).

### I.1.3 Physiologie

Die Prostata besitzt im urogenitalen System des Mannes folgende physiologische Rollen: Sie agiert vor allem als Drüse, die wichtige Bestandteile des Ejakulates des Mannes produziert (Frick & Aulitzky, 1991). Die Sekretionen beinhalten Citrat, Zink (Costello & Franklin, 2013), Enzyme, Lipide und Amine, die einen wichtigen Bestandteil des Sekretes der männlichen Prostata ausmachen und für eine regelrechte Motilität der Spermatozoen sorgen (Kumar & Majumder, 1995). Während der Ejakulation ziehen sich die glatten Muskelzellen der Prostata zusammen, was die

prostatistischen Sekretionen in die Urethra drückt (Shafik et al., 2006). Teil des produzierten Sekrets ist auch das durch die Prostata produzierte PSA (Balk et al., 2003), das als Biomarker zur Erkennung von Prostatakarzinomen verwendet wird. Androgene spielen eine wesentliche Rolle bezüglich des Wachstums, der Funktion und der Entwicklung der Prostata. Das Testosteron wird durch die Leydig-Zellen der Hoden sowie durch die Nebennieren produziert. Dieses dringt in die Prostata ein, wobei es zum Dihydrotestosteron (DHT) reduziert wird und dadurch die Androgen-Rezeptoren mit einer höheren Affinität binden kann.

## I.2 Prostatakarzinom

### I.2.1 Pathologie

Weltweit ist Prostatakrebs die am zweithäufigsten vorkommende Malignität bei Männern (nach Lungenkrebs). Das Risiko, an Prostatakrebs zu erkranken, steigt mit dem Alter. So beträgt das Durchschnittsalter bei Diagnosestellung circa 66 Jahre. Afroamerikanische Männer besitzen ein höheres Risiko, an Prostatakrebs zu erkranken als weiße Männer. In Europa hat der skandinavische Raum die höchsten Inzidenzen von Prostatakrebs. Dies lässt sich auf verschiedene soziale, genetische, und Umweltfaktoren zurückführen. Prostatakrebs kann in den Anfangsphasen asymptomatisch sein. Die ersten Symptome sind auf eine Hyperplasie der Prostata zurückzuführen. Weitere Symptome sind ein schwacher Urinstrahl, Drängen beim Wasserlassen und Nykturie. In späteren Stadien kommen Symptome wie Urinretention sowie Knochenschmerzen dazu, da sich in Knochen am häufigsten Metastasen bilden (Rawla & Prasanth, 2019).

### I.2.2 Risikofaktoren

Verschiedene Risikofaktoren fördern die Entstehung von Prostatakarzinomen. So scheint eine westliche Diät prostatakrebsfördernd zu sein, während eine asiatische Prostatakrebs inhibierend zu sein scheint. Ein niedriger Vitamin-D-Spiegel bzw. wenig Sonnenexposition ist krebsfördernd, was die hohe Prostatakrebs-Rate in Skandinavien erklären könnte. Eine chronische Prostataentzündung (Prostatitis), Viren wie HPV-16 und Pilze sowie *Trichomonas Vaginalis* fördern ebenfalls die Entwicklung von Prostatakrebs. Eine wichtige genetische Komponente spielt ebenso eine große Rolle. 20 % aller Patienten mit Prostatakrebs sind erblich belastet. Ursache sind Mutationen im HPC1-Gen, die die Ribonuklease L kodiert – ein Enzym, das

wichtige antivirale sowie apoptose-regulierende Wirkungen hat (Rawla & Prasanth, 2019).

### I.2.3 Pathogenese

Die Pathogenese des Prostata-Karzinoms ist komplex und multifaktoriell. Jahrelange Forschung machen eine Kombination von genetischen und epigenetischen Faktoren für die maligne Transformation von prostaticem Epithel verantwortlich. Obwohl luminaire Zellen bis dato immer als die sich proliferierenden Zellen im Vordergrund standen, scheinen auch basale Zellen das nötige molekulare Werkzeug zu besitzen, um eine maligne Transformation zu verursachen (Schrecengost & Knutsen 2013). Das Wachstum des Prostatakarzinoms ist von der Aktion von Androgenen abhängig, weswegen die Androgen-Deprivation ein wichtiger Bestandteil der Behandlung von Patienten mit Prostata-Karzinomen ist. Bei weiter fortgeschrittenen Tumoren tritt durch bestimmte molekulare Faktoren, z. B. Transforming Growth Factor Beta, auch eine androgen-unabhängige Aktivierung des Androgen-Rezeptors ein (Velchetti et al., 2008).

### I.2.4 Pathomorphologie

Die pathomorphologische Veränderung des Prostataepithels kann durch den Gleason-Score quantifiziert werden. Das Zytoplasma in den Zellen des Prostatakarzinoms ist oftmals fein granular, kann aber durch die Einlagerungen von intrazellulären Lipiden auch klar bzw. schaumig sein. Es besteht ebenso eine nukleare sowie nukleolare Vergrößerung und eine Hyperchromasie. Mitotische Figuren treten erst in späteren Stadien auf. Typisch für eine maligne Transformation ist der Verlust von Basalzellen. Die Architektur des Prostataepithels verändert sich ebenso: Die Drüsenstruktur verkleinert sich, dabei sind kleine, dicht gepackte Drüsen mit irregulären Abgrenzungen, eine glatte laminare Fläche sowie eine Aufspaltung von Stroma-Fasern typisch. Makropathologisch tritt ein Prostatakarzinom als körnige, feste, grau-gelbliche Masse mit schlechter Demarkierung auf. Die Masse lässt sich durch reine makropathologische Inspektion nur in 63 % der Fälle als Prostatakrebs identifizieren. In 19 % werden die Massen fälschlich als Prostatakarzinome identifiziert (Iczkowski, 2016).

### I.3 Klassifikation von Prostatakarzinomen

#### I.3.1 Gleason Score

Der Gleason Score ist ein Punktesystem und wird als prognostisches Werkzeug zur Bewertung von prostatistischen Adenokarzinomen verwendet (Delahunt et al., 2012). Beim Gleason-Score-System ergeben sich durch die Begutachtung des histologischen Musters 1-5 Punkte, wobei eine höhere Punktezahl mit einem zunehmend malignem Zellmuster einhergeht. Da Prostatakarzinome oftmals ein heterogenes Muster aufweisen, werden die beiden am häufigsten auftretenden Muster genommen, ihre einzelne Punktegabe berechnet und anschließend zusammengezählt (Epstein et al., 2016). Um den genauen Gleason Score zu ermitteln, wird durch Pathologen vor allem die Architektur der Anordnung der malignen Zellen sowie die Stufe der Differenzierung erörtert (Munjal & Leslie, 2021). Mittels des Gleason Score kann der prognostische sowie der therapeutische Verlauf des Patienten ermittelt werden (Epstein et al., 2016).

#### I.3.2 TNM

Die Einteilung in ein Krankheitsstadium erfolgt mittels TNM Staging. Je nach Einteilung werden die Patienten mit unterschiedlichen Methoden behandelt. Die deutsche Krebsgesellschaft legt folgende TNM-Einteilung vor:

Tabelle 1: Einteilung von Prostatakarzinomen je nach Tumorausdehnung, Lymphknotenmetastasen und Fernmetastasen (Deutsche Krebsgesellschaft, 2021)

<b>Tumorausdehnung (T)</b>	
TX	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0	kein Hinweis auf einen Primärtumor
T1	klinisch unauffälliger, nicht-tastbarer Tumor
T1a	zufälliger Nachweis eines Tumors in der histologischen Untersuchung operativ entfernten Prostatagewebes, höchstens 5 % des Gewebes betroffen
T1b	zufälliger Nachweis eines Tumors in der histologischen Untersuchung operativ entfernten Prostatagewebes, mehr als 5 % des Gewebes betroffen
T1c	Tumornachweis durch Nadelbiopsie, die z. B. aufgrund eines erhöhten PSA-Wertes durchgeführt wurde
T2	tastbarer Tumor, der auf die Prostata beschränkt ist
T2a	maximal die Hälfte eines Prostatalappens betroffen
T2b	mehr als die Hälfte eines Prostatalappens betroffen, der andere Lappen ist nicht betroffen
T2c	beide Prostatalappen betroffen
T3	Ausdehnung des Tumors über die Prostatakapsel hinaus*

	*Die Ausbreitung eines Tumors bis in die Prostataspitze oder in die Prostatakapsel (aber nicht darüber hinaus) wird nicht als T3-, sondern als T2-Tumor gewertet.
T3a	Tumorausbreitung ein- oder beidseitig über Prostatakapsel hinaus, Samenblasen tumorfrei
T3b	Ausbreitung bis in die Samenblase(n)
T4	Tumor ist fixiert oder hat sich auf benachbarte Strukturen (außer der Samenblase), wie Schließmuskeln, Rektum und/oder Beckenboden, ausgebreitet
<b>Lymphknotenmetastasen (N)</b>	
NX	regionale Lymphknoten können nicht beurteilt werden
N0	keine regionalen Lymphknotenmetastasen nachweisbar
N1	regionale Lymphknotenmetastasen nachweisbar
<b>Fernmetastasen (M)</b>	
M0	keine Fernmetastasen nachweisbar
M1	Fernmetastasen nachweisbar
M1a	nichtregionale Lymphknoten betroffen
M1b	Knochenmetastasen nachweisbar
M1c	andere Organe betroffen

## I.4 Screening & Diagnose

### I.4.1 Screening

Um Prostatakrebs frühzeitig erkennen und behandeln zu können, werden digital-rektale Untersuchungen durchgeführt und der PSA-Wert bestimmt. Diese Untersuchungen finden im Rahmen der Vorsorgeuntersuchungen von Männern statt (Naji et al., 2018). Das prostataspezifische Antigen ist eine prostataspezifische Kallikrein-Serine-Protease, die durch das Epithel der Prostata produziert wird und im Blut gemessen werden kann. Das PSA wird bei Entzündung, nach Operation und bei Malignität der Prostata erhöht ausgeschüttet. Es handelt sich hierbei also um einen sensitiven, aber nicht-spezifischen Wert. Ein Schwellenwert von 4.0 ng/mL besitzt eine Sensitivität von 67.5-80.0 % bei Prostatakarzinomen (Harvey et al., 2012).

Bei der digital-rektalen Untersuchung wird mittels des Zeigefingers die Prostata auf Größe, Schmerzempfindlichkeit und Oberflächentextur untersucht (Muangpoon et al., 2020). Durch die Kombination von digital-rektaler Untersuchung und PSA-Wert konnten epidemiologisch mehr Männer mit einem frühen Stadium des Prostatakarzinoms erkannt und behandelt werden (Eastham et al., 2003).

#### I.4.2 Diagnose

Patienten mit einem erhöhten PSA-Wert und/oder einer auffälligen digital-rektalen Untersuchung sollten weiter auf ein Prostatakarzinom untersucht werden. (Boehm et al., 2023)

Zur weiteren Diagnostik kann eine MRT-Bildgebung eingesetzt werden. Die MRT hat eine gute Sensitivität für die Detektion und Lokalisation von Prostatakarzinomen mit einem ISUP Grad > 2, insbesondere wenn der Tumordurchmesser größer als 10 mm ist. In der Cochrane-Studie zeigte die MRT eine Sensitivität von 91% für die Erkennung von Prostatakarzinomen.

MRT-gezielte Biopsien können in zwei verschiedenen diagnostischen Pfaden eingesetzt werden: 1) der "kombinierte Pfad", bei dem Patienten mit positivem MRT-Befund einer kombinierten systematischen und gezielten Biopsie unterzogen werden und Patienten mit negativem MRT-Befund einer systematischen Biopsie unterzogen werden; oder 2) der "MRT-Pfad", bei dem Patienten mit positivem MRT-Befund nur einer gezielten MRT-gezielten Biopsie unterzogen werden und Patienten mit negativem MRT-Befund gar nicht biopsiert werden. (EAU Guidelines., 2023)

Generell können Biopsien entweder transrektal oder transperineal durchgeführt werden. Der transperineale Zugang zeigte weniger Komplikationen. (Xiang et al., 2019)

Je nach Land werden 10-18 Biopsien abgenommen. Die Biopsien werden anschließend mittels des Gleason Score ausgewertet (Harvey et al., 2012).

#### I.5 Behandlung

Der Behandlungsalgorithmus ist je nach Region und Land unterschiedlich und verändert sich je nach Studienlage. So gibt es in Europa die EAU-EANM-ESTRO-ESUR-ISUP-SIOG Guidelines on Prostate Cancer.

Es existieren verschiedene Therapien zur effektiven Behandlung von Prostatakarzinomen. Das Watch and Wait oder das Active-Surveillance-Verfahren kann bei einem wenig aggressiven Prostatakarzinom mit niedrigem PSA-Wert (<10 ng/L) und niedrigem Gleason Score (3+3) angewendet werden. Chirurgische Eingriffe (wie zum Beispiel die radikale Prostatektomie) sowie die Radiotherapie werden zur Behandlung von lokalen, nicht-metastasierten Prostatakarzinomen angewandt. Bei metastasiertem Prostatakarzinom wird häufig eine Kombination von Chemotherapie und Androgen-Deprivations-Therapie angewendet (Litwin et al.,

2017). Der aktuelle Behandlungsalgorithmus der European Society of Urology teilt die Behandlung des Prostatakarzinoms grob in 4 verschiedene Subkategorien ein. Diese sind die Behandlung des „intermediate risk“, „high risk localized“, „locally advanced“ und cN1 Prostatakarzinoms. Innerhalb dieser Subkategorien werden die Patienten nach weiteren Kriterien wie z.B. Prostatavolumen und Funktion der ableitenden Harnwege eingeteilt. (EAU Guidelines.,2023)

#### I.5.1 Active Surveillance vs. Watch and Wait

Das Prostatakrebs-Screening reduziert die Sterblichkeit an Prostatakrebs. Es kann jedoch auch zu einer „Überdiagnostik“ und einem zu aggressiven Vorgehen gegenüber indolenten Prostatakarzinomen kommen (Loeb et al., 2017). Diese kann zu einem unnötigem psychologischen sowie physiologischen Schaden führen (Kinsella et al., 2018). Die konservative Behandlung der Prostatakarzinome wird oftmals in „watchfull waiting (WW)“ und „active surveillance“ eingeteilt (Loeb et al., 2017). Bis dato bedeutet „watchful waiting“, den Patienten mit Prostatakarzinom erst dann zu behandeln, wenn Symptome auftreten (Xu et al., 2012).

Die „active surveillance“ des Prostatakarzinoms basiert bei niedrigem Progressionsrisiko auf einem strengen Kontrollprotokoll mit digital-rektaler Untersuchung (mindestens einmal jährlich), PSA-Titerbestimmung (mindestens alle 6 Monate), und wiederholter Biopsie (alle 2 bis 3 Jahre). (EAU Guidelines.,2023)

Wenn die Progressionsparameter auf eine Progredienz des Prostatakarzinoms deuten, kann dieser je nach Situation kurativ oder palliativ behandelt werden (Kinsella et al., 2018).

#### I.5.2 Radikale Prostatektomie

Bei der radikalen Prostatektomie wird die komplette Prostata, inklusive genügend Gewebe entfernt, um tumor-negative Margen zu erhalten. Das Ziel ist, das gesamte Tumorgewebe zu entfernen, ohne Komorbiditäten, z. B. verminderte sexuelle Funktion sowie Inkontinenz, hervorzurufen. Der dabei klassischerweise retropubisch verwendete Ansatz wird dabei mehr und mehr von der roboterassistierten laparoskopischen Behandlungsvariante verdrängt. Unabhängig vom Ansatz hängt der Erfolg der Operation stark von der Fähigkeit des Operateurs ab (Vernooij et al., 2020). Obwohl sich die onkologischen Resultate der restropubischen Tumorentfernung sowie

der laparoskopischen und roboterassistierten ähneln, weisen die letzteren Ansätze bessere Resultate bezüglich des Blutverlustes, der Rekonvaleszenz und der Ästhetik auf (Frota et al., 2008).

### I.5.3 Radiotherapie

Bei der Radiotherapie existieren – ähnlich wie bei der Prostatektomie – verschiedene Ansätze: die externe Strahlentherapie sowie die Brachytherapie. Bei der externen Strahlentherapie gibt es beispielsweise die Image Guided Intensity Modulated Radiation Therapy. Bei dieser werden multiple, sich überschneidende Strahlenbündel auf die Prostata gerichtet, wodurch es zu einer hohen Strahlungskonzentration im Tumorgewebe kommt. Bei der Protonstrahltherapie werden Protonen mit hoher Energie abgefeuert, die die gesamte Energie auf einmal abgeben, sobald sie eine spezifische Tiefe erreichen. Diese Form von Strahlentherapie wird oftmals bei Karzinomen benutzt, die in der Nähe lebenswichtiger Organe liegen.

Eine weitere Therapie ist die High Dose- und Low Dose-Brachytherapie. Bei der Low Dose-Variante werden niedrig-radioaktive Seeds permanent in die Prostata eingesetzt. Bei der High Dose-Variante werden hoch-radioaktive Seeds temporär in die Prostata eingesetzt (Gay & Michalski, 2018). Die Nebenwirkungen der Radiotherapie sind Probleme beim Wasserlassen sowie Inkontinenz, Verdauungsprobleme, Hämatochezie und Erektionsprobleme sowie Potenzschwund (Nguyen und Zagars, 1998).

### I.5.4 Hormontherapie

Das Wachstum der Prostata ist von der Stimulation durch Androgene abhängig. Daher ist die Deprivation von Androgenen durch die Kastration ein wichtiger Bestandteil der Behandlung von Prostatakarzinomen (Desai et al., 2021).

Die Androgen-Deprivationstherapie ist der „Gold Standard“ der Behandlung von neu diagnostiziertem metastasiertem Prostatakarzinom sowie bei wiederkehrendem Karzinom, das nicht durch die Salvage-Therapie behandelt werden kann. Die Kastration kann entweder medizinisch oder chirurgisch durchgeführt werden. In den USA war die chirurgische Kastration (bilaterale Orchiektomie oder subkapsuläre Orchiektomie) bis in die 1980er Jahre die am meisten durchgeführte Form von Kastration. Danach gab es dank den neu entdeckten, lang wirkenden GnRH-Analoga- (z. B. Goserelin und Histrelin) sowie den GnRH-Antagonisten (Degarelix) einen

Wandel. Diese Medikamente führen zu einem Testosteronspiegel wie nach Kastration (<50 ng/dL) und besitzen einen ähnlichen Wirkungsgrad wie die Kastration mit Hinblick auf die Tumorkontrolle (Garje et al., 2019). Die GnRH-Analoga binden sich mit einem spezifischen Rezeptor an den hypophysischen Gonadotropen. Die erhöhte Aktivierung des GnRH-Rezeptors führt zur Desensibilisierung und somit zu einer Inhibition der Gonadotropin-Sekretion. Die GnRH-Antagonisten inhibieren die GnRH-Signal-induzierte Transduktion und somit die Gonadotropin-Sekretion (Ortmann et al., 2002). Nebenwirkungen der Androgen-Deprivationstherapie sind die verminderte Insulin-Sensibilität, Fettleibigkeit, Dyslipidämie, Hypercholesterinämie, Hypertriglyceridämie, Osteoporose sowie ein erhöhtes Risiko, an Herzkrankheiten zu erkranken (Freedland & Abrahamsson, 2020).

#### I.5.5 Chemotherapie

Metastasierte Prostatakarzinome können kastrationssensitiv oder kastrationsresistent sein. Die meisten kastrationssensitiven Prostatakarzinome schreiten in das Stadium der kastrations-Resistenz fort. Eine Methode zur weiteren Behandlung des Prostatakarzinoms ist die Chemotherapie. Im Jahr 2004 wurde Docetaxel als die standardmäßige Chemotherapie für kastrationsresistente Prostatakarzinome festgelegt (Quinn et al. 2017). Docetaxel inhibiert die mikrotubuläre Depolymerisation und dämpft die BCL-2- sowie BCL-XL-Genexpression – dieser Mechanismus erhöht die Apoptose-Rate der Krebszellen (Pienta, 2001). Carbitaxel wurde entwickelt, um Patienten zu behandeln, die eine Doxetaxel-Resistenz entwickelt haben. Carbitaxel stimuliert die tubuläre Depolymerisation und inhibiert somit die Zellteilung (Nightingale et al., 2012). Neue Studien, wie die CHARTED-Studie, zeigten, dass das Überleben der Patienten mit einer Kombination von Hormon und Chemotherapie verbessert wird (Quinn et al., 2017).

Neben der klassischen Chemotherapie existieren neue Behandlungsmethoden, u. a. monoklonale Antikörper, die bestimmte Rezeptoren binden und Signalwegs-Kaskaden unterbrechen können. Monoklonale Antikörper können ebenso mit Radioisotopen, Immunotoxinen und Zytotoxinen konjugiert werden, um anschließend an Prostatakarzinom-spezifische Rezeptoren zu docken, sodass das maligne Prostatagewebe zerstört wird. Die aktuell erforschten Rezeptoren hierzu sind der EGFR und HER2/neu sowie die TAA's (tumor associated antigens) PSA, Mucin, und PSMA (Vieweg, 2007).

## I.6 Diabetes Mellitus

### I.6.1 Einführung

Diabetes Mellitus ist eine Gruppe von Stoffwechselkrankheiten. Diese charakterisiert sich durch eine Hyperglykämie aufgrund eines Defekts der Insulin-Sekretion, Insulin-Aktion oder beidem (Schuster, 2002). Zur Diagnose von Diabetes wird die Nüchtern-Glukose (Cut-off:  $\geq 126$  mg/dl (7.0 mmol/l)) und/oder die 2-Stunden postprandiale Glukose  $\geq 200$  mg/dl (11.1 mmol/l) bestimmt. Symptome einer Hyperglykämie sind Polydipsie, Gewichtsverlust sowie eine verschwommene Sicht. Chronische Hyperglykämie kann zu einer Ketoazidose oder zu einem nicht-ketotischen hyperosmolarem Syndrom führen.

Diabetes Mellitus wird in unterschiedliche Subtypen aufgeteilt: Diabetes Mellitus Typ 1, bei dem ein Verminderung der Insulin-Sekretion stattfindet, und 5-10 % aller Patienten mit Diabetes Mellitus ausmacht. Dieser Subtyp kann durch eine serologisch identifizierbare autoimmune Aktion an den Langerhans-Inseln sowie durch genetische Marker identifiziert werden (American Diabetes association, 2010). In der Regel erkranken Patientin mit Diabetes Mellitus Typ 1 im Kindes- oder im Jugendalter (Sapra & Bhandari, 2021).

90-95 % aller Patienten mit Diabetes Mellitus leiden an Diabetes Mellitus Typ 2. Bei diesem Subtyp besteht eine Resistenz der Zellen auf Insulin sowie eine relative (keine absolute) Verminderung des Insulinspiegels. Diese entsteht unter anderem durch Fettleibigkeit, falsche Ernährung und einem ungesunden Lebensstil. Es gibt auch andere Typen des Diabettes Mellitus, z. B. Diabetes durch genetische Defekte der Beta-Zellen, genetische Defekte der Insulin-Aktion, Diabetes der Schwangerschaft und medikamenteninduzierten Diabetes Mellitus (American Diabetes Association, 2010). Langfristig führt Diabetes zu einem erhöhten Risiko, an mikro- und makrovaskulären Krankheiten zu erkranken (Killilea, 2002).

### I.6.2 Diabetes und Malignome

Die Stoffwechselkrankheit Diabetes hat unterschiedliche Auswirkungen auf Malignome. Einige epidemiologische Studien suggerieren ein erhöhtes Risiko einer karzinomatösen Umwandlung der Organe Leber, Bauchspeicheldrüse, Magen, Kolon, Rektum, Nieren und Brust bei Patienten mit Diabetes Mellitus (Abudawood,

2019). Der Grund dafür lässt sich in komplexen Biomechanismen finden. Diabetiker (Typ 2) besitzen eine ausreichende Produktion an Insulin, die Insulinrezeptoren reagieren jedoch nicht adäquat darauf, was zu einem erhöhten Blutzucker führt. Insulinrezeptoren sind sehr wichtige Bestandteile des Stoffwechsels der Krebszellen und können die Mitogenese dieser auf molekularer Ebene beeinflussen, was zum Teil zu einem erhöhtem Krebsrisiko führen kann. Ein erhöhter Ausstoß von Insulin bei Diabetikern hat auch endokrine Folgen. So wird vermutet, dass die erhöhte Konzentration von Insulin bei Frauen eine höhere Östrogen- und Testosteron-Konzentration nach sich zieht. Dies beschleunigt die Pathogenese bei Brust- und Gebärmutterkrebs. Da Patienten mit Diabetes einen höheren Blutzucker haben, kommt bei dieser Verbindung ebenfalls die Warburg-Hypothese zum Tragen. Diese sagt voraus, dass Krebszellen einen höheren Verbrauch von Glukose beanspruchen als normale Zellen, was durch FDG-PET-Analysen von Krebspatienten deutlich wurde. So können sich die Krebszellen bei Diabetikern viel besser teilen, da sie die für die hohe Mitoserate wichtige Glukosekonzentration für sich beanspruchen können. Jedoch scheint die Konzentration der Insulinrezeptoren in diesem Fall wichtiger zu sein als die Warburg-Hypothese (Giovanucci et al., 2010). Ein ebenfalls sehr wichtiger Faktor bei der Verbindung zwischen Diabetes und Krebs sind die Entzündungsparameter. Diabetes steht mit Fettleibigkeit in Verbindung und fettleibige Menschen besitzen mehr adipöses Gewebe. Es produziert Zytokine sowie einige andere bioaktive Substanzen mit entzündungsstimulierender Wirkung sowie TNF-alpha, IL-1, IL-6, IL-10, Leptin, Adiponectin, Monocyte Chemoattractant Protein, Angiotensinogen, Resistin, Chemokine und Serum Amyloid-Proteine, die kollektiv als Adipokine bezeichnet werden (Tsalamandris et al., 2019). Inflammation ist bekanntermaßen auch ein pro-onkogener Prozess. So wurde zum Beispiel die TNF-Alpha-Aktivität mit Proliferation, Invasion und Metastasierung in Verbindung gebracht (Wang & Lin, 2008).

## I.7 Rezeptoren

### I.7.1 IGF-1-Rezeptor (IGF-1R)

Der Insulin-Growth-Factor-1-Rezeptor (IGF-1R) ist ein transmembraner Rezeptor in Zellmembran, Zytoplasma und Nukleus der Zellen. Er wird durch die Hormone Insulin-Growth-Factor-1 und Insulin-Growth-factor-2 aktiviert und gehört zur Klasse der Tyrosin-Kinase-Rezeptoren (Riedemann & Macualay, 2006). Die Aktivierung des

Rezeptors hat einen anabolen Effekt und beschleunigt das Wachstum verschiedener Gewebe sowie der Muskeln und Knochen (Locatelli & Bianchi, 2014). Dieser Rezeptor reguliert aber auch Metabolismus und die Differentiation von Zellen (Kavran et al., 2014).

Der IGF-1R besteht aus Single Pass Protein Subunits, die als Homodimere durch Di-Sulfid-Brücken verbunden sind. Durch eine Furin-artige Spaltung entstehen Alpha- und Beta-Ketten, die ebenfalls durch Di-Sulfid-Brücken verbunden sind. Diese formen sechs extrazelluläre Domains, eine transmembrane Region sowie eine juxtamembrane Region, eine Tyrosin-Kinase-Domain und ein C-Terminal. Die Bindung von Signalmolekülen stimuliert die Rezeptor-Kinase-Aktivität, was zu einer Phosphorylierung von multiplen Substraten und zu einer Initiation von bestimmten Signalwegs-Kaskaden führt (Kavran et al., 2014).

Die durch IGF-1R aktivierte Phosphorylierung von IRS aktiviert die Ras-Raf-Erk und die PI3K/AKT/mTOR-Kaskade (Yuan et al., 2018) Ebenso führt die Aktivierung von IGF-1R zu einer Hochregulierung von pro-mitogenen Faktoren wie Cyclin D1 und E, und zu einer Inhibierung von antimitogenen Faktoren, wie PTEN (Brahmkhatri et al., 2015).

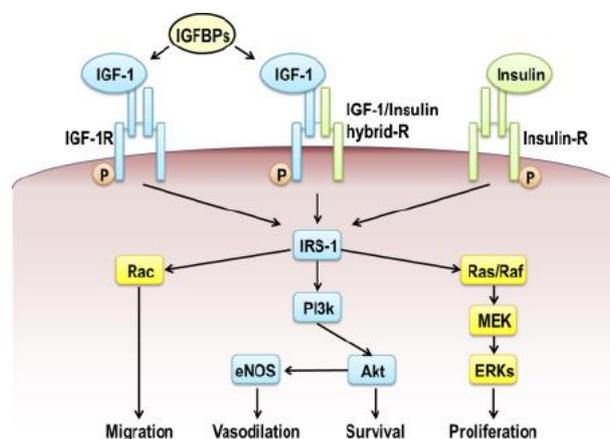


Abbildung 2: Exemplarische Darstellung der von Insulin-Like-Growth-Factor in Gang gesetzten Signalwegskaskade (Higashi, 2012)

Die Achse der Sekretion des IGF1R gliedert sich folgendermaßen: der GHRH des Hypothalamus stimuliert die Hypophyse zur Sekretion von GH, was die Leber zur Sekretion von IGF1R stimuliert. Der IGF1R beeinflusst die Hypophyse anschließend durch Feedback Inhibition zur Senkung der Sekretion des GH Volumens. (Blum et al., 2018)

### I.7.2 Östrogenrezeptor $\beta$ (ER- $\beta$ )

Es gibt drei verschiedene Arten von Östrogenrezeptoren (ER). Die ersten beiden Östrogenrezeptoren  $\alpha$  und  $\beta$  gehören zur Klasse der Nuklearrzeptoren, der dritte Östrogenrezeptor ist der membrangebundene Östrogenrezeptor. In dieser Arbeit wird lediglich der Effekt des Östrogenrezeptors  $\beta$  behandelt. Das Gen für den Östrogenrezeptor  $\beta$  wird auf dem Chromosom 14q23.2 gefunden. Der Östrogenrezeptor besteht aus einer N-Terminal Domain, einer DNA Binding Domain, einer ligandbindenden Domain und zwei Activation Function Domains (Kumar et al., 2011). Der Östrogenrezeptor  $\beta$  aktiviert durch DANN-Bindung in der DANN spezifische Gene – sogenannte „Estrogen Responsive Elements.“ Der Östrogenrezeptor  $\beta$  moduliert die Genaktivierung auch durch die Aktivierung von Transkriptionsfaktoren so wie durch Activating Protein 1 und Stimulating Protein 1 (Zhao et al. 2008). Der Östrogenrezeptor  $\beta$  besitzt ebenso einen antiproliferativen Effekt und adaptiert die Lunge während der Schwangerschaft (Weihua, 2000).

Die Testikel produzieren etwa 20 % des Östrogens bei Männern, während der Rest lokal in anderen Geweben (z. B. Hirn, Knochen, und Haut) durch Aromatase ein Enzym produziert, das Androgene in Östrogene umwandelt (Cooke et al., 2017).

Die Leydig-Zellen in den Testikeln produzieren unter Stimulation von LH Testosteron, das anschließend, wie in den anderen Geweben auch, durch Aromatase in Östrogen umgewandelt wird. Das Östrogen inhibiert die Aktion von LH auf Leydig-Zellen, was als Feedback-Kontrolle von Leydig-Zellen interpretiert werden kann (Schulster et al., 2016).

### I.7.3 Interleukin-6R (IL-6R)

Das Gen für den Interleukin-6-Rezeptor-1 befindet sich auf dem Chromosom 1q 21.3. Der Interleukin-6-Rezeptor ist ein Protein-Komplex, bestehend aus der Interleukin-6-Rezeptor-Subunit und dem Interleukin-6-Signal-Transducer GP130 (National Center for Biotechnology Information, 2022). Er befindet sich nur auf der Zellmembran und im Zytoplasma. Wenn sich das Zytokin Interleukin-6 mit dem Rezeptor bindet, kommt es zu einer Homodimerisierung, was zu einem hohen Affinitätskomplex aus IL-6, Interleukin-6-Rezeptor und GP130 führt. Diese aktivierte Kaskade führt zu einem sogenannten Cis-Signaling (Weidle et al., 2010). Dies aktiviert JAK durch Phosphorylierung, was wiederum zur Aktivierung zweier unterschiedlicher Kaskaden

führt: der SHP-2 ERK MAPK-Kaskade und der JAK/STAT-Kaskade (Mihara et al., 2012). Die Aktivierung von MEK/ERK resultiert in der Aktivierung von Serum Response Elements und Interleukin-6 Response Elements (Weidle et al., 2010). Durch diese Kaskaden werden Zellwachstum, Apoptose, Proliferation und Immunregulation kontrolliert (Li et al., 2014). Zudem brauchen die T- und B-Zellen Interleukin-6 zur normalen Proliferation und Funktion. Außerdem spielt Interleukin-6 eine Rolle bei der Regulation der Körpertemperatur. Interleukin-6 gilt auch als Mediator für Entzündungen bei einer Reihe von autoimmunen Krankheiten wie Multiple Sklerose und Morbus Crohn (Hong et al., 2014).

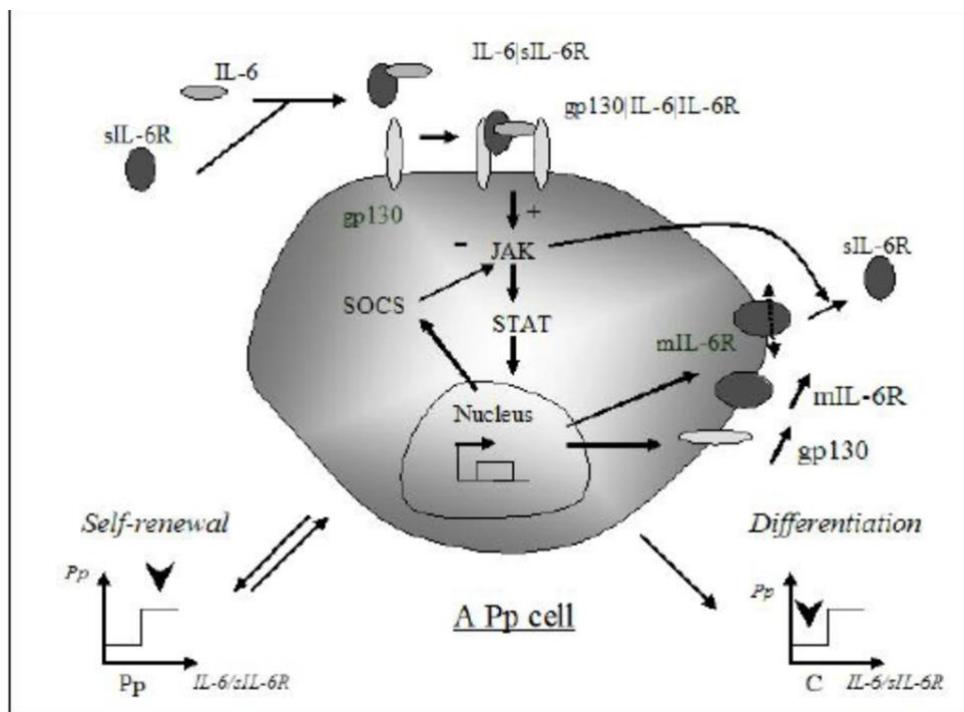


Abbildung 3: Darstellung der von Interleukin-6 in Gang gesetzten Rezeptorkaskade (Troncale et al, 2006)

Die Produktion von Interleukin-6 ist ein sehr komplexer Vorgang (Wu et al., 2017). Interleukin-6 wird zum Beispiel von Adipozyten ausgeschüttet, was zu einer Erhöhung des CRP-Spiegels führt (Anty, et al., 2006). Zudem wird es von Makrophagen ausgeschüttet, nachdem diese pathogene Moleküle erkannt haben (Tanaka et al., 2014). Interleukin-6 werden zahlreiche weitere physiologische Rollen zugeschrieben.

#### I.7.4 IGF-1R und Malignome

Die Signalwege des Insulin-Like-Growth-Factor-1-Receptor sind ein kontrolliertes und reguliertes Netzwerk. Der IGF-1R besitzt oftmals eine erhöhte Expression in malignen Tumorzellen, was unter anderem zu einer erhöhten Proliferation, Metastasen-Bildung, Invasion und Resistenz auf die Chemotherapie führen kann. Die IGF-1R-induzierte Proliferation wurde bereits in Karzinomen der Eierstöcke sowie in Rhabdomyosarkomen festgestellt. Eine höhere Expression des IGF-1R wurde zudem mit einem schlechteren Ansprechen auf die Chemotherapie bei Patienten mit Magenkrebs korreliert. Dabei scheinen die in Kapitel 1.7.1 beschriebenen und durch IGF-1R aktivierten Kaskaden eine relevante Rolle bezüglich des Tumorwachstums und der Inhibierung der Apoptose bei Chemotherapie-resistenten Zellen zu spielen (Yuan et al., 2018). Da die Expression des IGF-1R-Rezeptors bei einigen Krebsarten eine wichtige Rolle bei der Tumorbilogie zu spielen scheint, lässt sich vermuten, dass eine ähnliche Verbindung bei Prostatakarzinomen bestehen könnte.

#### I.7.5 ER- $\beta$ und Malignome

Die Relevanz des Östrogenrezeptor  $\beta$  auf die Tumorentstehung und Tumorüberleben wurde zum Teil bereits bei Brustkarzinomen entschlüsselt. Hierbei scheint der Östrogenrezeptor  $\beta$  ein wichtiger Rezeptor für das Zellwachstum zu sein (Palmieri et al., 2002). Er wird somit als ein neuer Rezeptor für eine potenzielle Therapie benannt, spezifisch für den Rezeptorblocker Tamoxifen (Hartmann et al., 2009). Andererseits stellten Song et al. fest, dass der Östrogenrezeptor  $\beta$  durch die Interaktion mit CLDN6 und Beclin 1 vor Krebs schützen könnte. Das steuert scheinbar insgesamt zu einer verringerten Zellmigration, Invasion und zu einer erhöhten Autophagie bei (Song et al., 2009). Zudem wurde bei Brust-, Lungen- und kolorektalem Karzinom eine verringerte Expression des Östrogenrezeptors  $\beta$  festgestellt. Der Östrogenrezeptor  $\beta$  scheint laut Lazennec eine tumorsuppressive Rolle bei Ovar-Karzinomen zu spielen. Dies lässt sich darauf zurückführen, dass bei diesem Krebs eine höhere Östrogenrezeptor- $\beta$ -Expression mit einer höheren Apoptose-Rate der Krebszellen einhergeht. Dies könnte mit der Aktivierung des für die Apoptose wichtigen Proteins Fas zusammenhängen. Zudem wurden bei den mit Östrogenrezeptor  $\beta$  behandelten Krebszellen eine geringere Invasion und ein geringerer Drang zur Metastasierung festgestellt (Lazennec et al., 2006). Es lässt sich durch vorherige Studien feststellen, dass sich die Rolle des Östrogenrezeptors  $\beta$  hinsichtlich der Tumorbilogie nicht klar

einordnen lässt. Die Rolle des Östrogenrezeptors  $\beta$  für die Biologie der Prostatakarzinome wurde ebenso nur spärlich beschrieben, weswegen es genauerer Untersuchungen bedarf, um eine präzisere Einordnung möglich zu machen.

#### I.7.6 IL-6R und Malignome

Die Effekte von Interleukin-6 und seinem Rezeptor auf Malignome sind sehr unterschiedlich. Spezifisch kommt es darauf an, über welche Art von Malignität gesprochen wird. So ist Interleukin-6 bei Brust- und Lungenkrebs zellwachstumshemmend, bei Melanomen zellwachstumshemmend, jedoch Metastasen-generierend und bei gastrointestinalem Krebs, Eierstock- und Nierenkrebs sowie multiplen Myelomen und in der Leukämie ein proliferierender Faktor. Bei Brustkrebs wurde eine höhere Metastasen-Rate aufgrund hoher Interleukin-6-Level festgestellt, da das Interleukin-6 die für die Metastasen wichtige VEGF hochreguliert. Bei Gliomen kommt es ebenfalls zu einer durch STAT3 aktivierten VEGF-Hochregulierung. Bei kolorektalen Karzinomen ist der Interleukin-6 ein proliferierender Faktor, da er durch die Stimulation von STAT3 die anti-apoptischen Gene der T-Zellen aktiviert, was zur chronischen Entzündung und somit zur Formation von Malignomen führt. Bei B- und T-Zellen in Non-Hodgkin-Lymphomen wurde festgestellt, dass die Zellen eine autokrine Stimulation durch Interleukin-6 vornehmen. Große B-Zell-Lymphome reagieren sensitiv auf eine Wachstumshemmung durch TGF-Beta. Dies kann jedoch durch die Stimulation von Interleukin-6 über STAT-Aktivierung überwunden werden. Bei Melanomen wird das Wachstum durch einen Arrest in der G0/G1-Phase des Zellzyklus durch Interleukin-6 gehindert. Diese können die Melanome jedoch durch eine SOCS-Aktivierung überbrücken. Bei multiplen Myelomen stimuliert die Interleukin-6-Kaskade durch STAT und BCL-2 das Überleben und die Chemotherapie-Resistenz der Krebszellen (Hong et al., 2007). Es wird deutlich, dass IL-6 und der durch IL-6 aktivierte IL-6R bei vielen Krebsarten eine pro-onkogene Rolle spielt. Deswegen lässt sich ebenso davon ausgehen, dass dieser Rezeptor auch mit Blick auf die Tumorbilogie des Prostatakarzinoms wichtig ist. Eine genaue Hypothese, ob der Interleukin-6R pro- oder anti-onkogene Wirkungen besitzt, lässt sich jedoch vor dem Hintergrund der verschiedenen Auswirkungen, die der IL-6R bei anderen Tumorarten hat, nicht aufstellen.

### I.7.7 Subzelluläre Rezeptorexpression des IGF-1R und Tumorprogression

Die Veränderung der subzellulären Lokalisation eines Rezeptors geht mit der Veränderung der zytophysiologicalen Rolle eines Rezeptors einher. Beim IGF-1R, der – wie bereits beschrieben – eine signifikante Rolle in der Tumorgenese spielen kann, gab es bereits einige Ansätze, diesen Rezeptor zu inhibieren und somit die Tumorprogression zu vermindern. Die meisten Ansätze scheiterten jedoch, weswegen die aktuelle Forschung versucht, die Rolle der Internalisation und der subzellulären Lokalisation des IGF-1R zu erörtern. Eine Rezeptor-Kinase, die internalisiert wurde, ist entweder an intrazelluläre Membrane, endosomal oder nuklear gebunden. Die Internalisation geschieht durch Vesikel-Formation. Die Produktion von „Clathrin Coated Pits“ ist hierbei die prädominante Form der Internalisation. Die weitere Translokation in den Golgi-Apparat könnte in der Tumorgenese eine wichtige Rolle spielen, denn eine hohe Konzentration von IGF-1R im Golgi-Apparat wurde mit migrierenden Krebszellen in Verbindung gebracht. E-Kadherin, ein Protein, das die Lokalisation des IGF-1R im Plasmamembran stabilisiert, geht bei Migration maligner Zellen verloren. Der Grund für die Translokation des IGF-1R in den Golgi-Apparat findet sich in der Rolle dieses Organells: Der Golgi-Apparat spielt eine wichtige Rolle bei der Synthese und Modifikation neuer Proteine und somit in der Migration, Polarisation und DNS-Reparatur. Durch die Translokation des IGF-1R in den Golgi-Apparat und verschiedener anderer für die Tumorgenese wichtiger Proteine entsteht somit ein effizientes Signalnetzwerk. Wie sehr die Translokation des IGF-1R in den Golgi-Apparat die vorbeschriebenen Signalwegs-Kaskaden mehr oder weniger amplifiziert, ist nicht erforscht.

Die Translokation des IGF-1R in den Nukleus wird durch die Bindung des IGF-1 in Gang gesetzt. Der IGF-1-gebundene IGF-1R wird mittels endosomalem Transport durch einen komplexen Mechanismus in den Nukleus transportiert. Der nukleare IGF-1R kann sich mit der DNA binden und somit die Transkription verstärken. In HeLa-Zellen erhöht IGF-1R durch die DANN-Bindung die Produktion von SNAI2, ein Protein, das E-Kadherin inhibiert und somit die EMT begünstigt. In Prostatakarzinomen erhöht der nukleare IGF-1R die Produktion von JUN und FAM21 – Proteine, die die Zellmigration, Wachstum und das Überleben von Prostatakarzinomen fördern (Rieger & O'Connor, 2021). Die erörterte Pathophysiologie des IGF-1R im Rahmen der Tumorprogression lässt darauf schließen, dass eine höhere zytoplasmatische und nukleare Expression mit einem höheren Tumorgrad einhergehen sollte.

### I.7.8 Subzelluläre Rezeptorexpression des ER- $\beta$ und Tumorprogression

Die subzelluläre Lokalisation des ER- $\beta$  wurde bereits bei anderen Tumorarten als signifikanter prognostischer Faktor festgestellt. So erörterten Stefano et al., dass bei Ovar-Karzinomen die zytoplasmatische Expression des ER- $\beta$  ein unabhängiger negativer prognostischer Faktor bezüglich des Disease Free Survival zu sein scheint (De Stefano et al., 2011).

Die verschiedenen Rezeptor Subtypen des ER- $\beta$  und ihre subzelluläre Lokalisation haben unterschiedliche prognostische Einflüsse auf Brustkarzinome. So wurde die nukleare Expression des ER- $\beta$  2 und ER- $\beta$  5 positiv mit dem Gesamtüberleben der Patienten korreliert und negativ mit der Metastasen-Bildung, während die zytoplasmatische Expression des ER- $\beta$ 2 signifikant mit einem kürzeren Überleben einherging (Shabaan et al., 2008).

Im metastatischen Adenokarzinom der Lunge wurde eine nukleare Expression des ER- $\beta$  positiv mit dem Grad der Differenzierung der Zellen korreliert, während eine zytoplasmatische Expression bei Patienten mit EGFR-Mutation mit einem vermindertem Patientenüberleben einherging (Ding et al., 2018).

Insgesamt lässt sich aus den bisherigen Studien bezüglich der Verbindung zwischen dem ER- $\beta$  und seiner subzellulären Lokalisation schließen, dass vor allem eine zytoplasmatische Expression eine pro-onkogene Wirkung nach sich zieht, während die nukleare Expression eher eine protektive Rolle zu haben scheint.

### I.7.9 Subzelluläre Rezeptorexpression des Interleukin-6R und Tumorprogression

Die Rolle des Interleukin-6R bezüglich der Tumorprogression wurde bereits weit erforscht. Jedoch ist die Veränderung der subzellulären Lokalisation des Interleukin-6-Rezeptors in Bezug auf die Tumorprogression kaum erörtert. Aus diesem Grund ist keine genaue Hypothese bezüglich der Verbindung zwischen subzellulärer Lokalisation und Tumorprogression des Interleukin-6R möglich.

### I.7.10 IGF-1R- und ER- $\beta$ Expression vor dem Hintergrund der Tumorprogression.

Die Korrelation der einzelnen Rezeptoren zueinander wurde bereits bei einigen Tumor-Arten erörtert. Es muss jedoch vorweggenommen werden, dass diese Korrelation auf einer eher zellulären, aber nicht subzellulären Ebene dargestellt wurde, wodurch sich eine Hypothesenstellung bezüglich der Korrelation der Rezeptorkonzentration auf subzellulärer Ebene schwierig gestaltet. Gleichzeitig ist es

jedoch interessant zu sehen, wie sich die vorbekannte zelluläre Korrelation auf subzellulärer Ebene widerspiegelt.

Die Insulin-Like-Growth-Faktor-Achse und die Östrogenrezeptor- $\beta$ -Achse besitzen einige Überlappungspunkte, die durch die Brustkrebsforschung zum Vorschein gekommen sind. So wurde festgestellt, dass das gemeinsame Binden von Insulin-Like-Growth-Factor 1&2 auf den Insulin-Like-Growth-Factor-1-Rezeptor zur Phosphorylierung des intrazellulären Östrogenrezeptors  $\beta$  führt und über die PI3/AKT-Kaskade die Transkription des Östrogenrezeptors  $\beta$  antreibt. Der IGF-1R und der ER- $\beta$  können die PI3K/Akt-Kaskade aktivieren. So aktiviert der IGF-1R die Proteinsynthese, Zellen-Proliferation und inhibiert die Apoptose, während ER- $\beta$  das Zellenüberleben fördert (Hamilton et al., 2015).

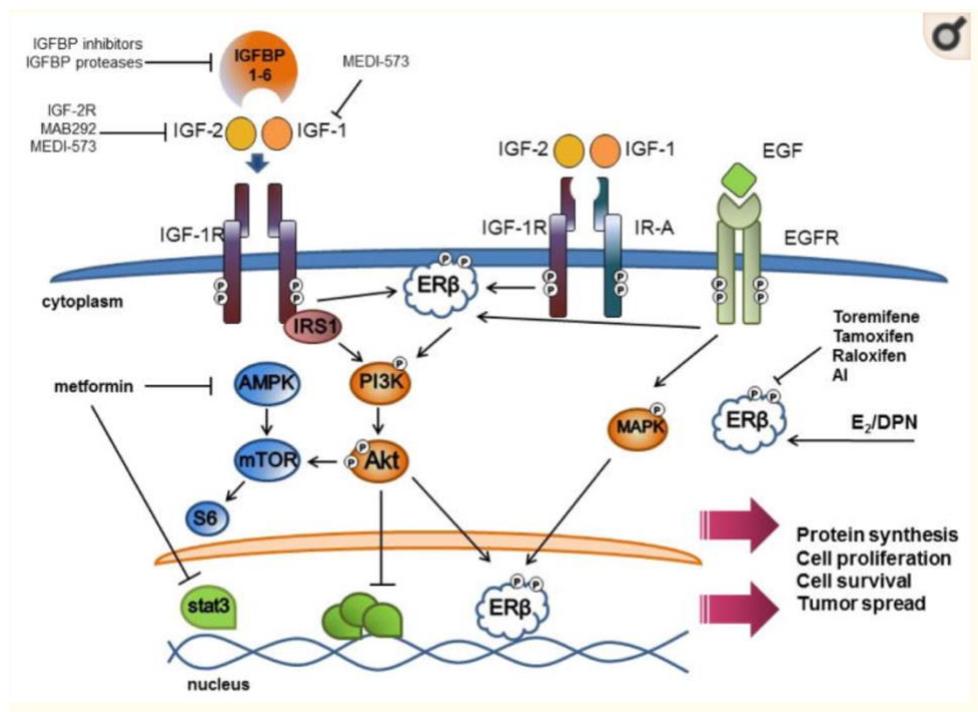


Abbildung 4: Darstellung der Schnittpunkte der von ER- $\beta$  und IGF-1R aktivierten Kaskaden (Hamilton et al, 2015)

In einer Studie von Cookmann und Belcher zeigte sich bei Medulloblastomen ein ebenso relevanter Zusammenhang zwischen der ER- $\beta$ -Expression und der IGF-1R-Expression. Hier wurden bei ER- $\beta$ -Knockout-Mäusen eine signifikant verminderte IGF-1R-Expression sowie eine erhöhte Apoptose-Rate festgestellt. Dieselbe Studie zeigte bei humanen D283Med-Zellen, dass bei einer Behandlung mit einem ER- $\beta$ -Agonisten der durch den Caspase-3 in Gang gesetzten Zelltod vermindert wird. Dies geschieht durch die Phosphorylierung des IGF-1R sowie durch die vermehrte

Aktivierung der Erk1/2 sowie Akt-Signale (Cookman et al., 2015). Es existieren zwar noch keine Studien, die den genauen Zusammenhang des ER- $\beta$  und IGF-1R auf einer sub-zellulären Ebene herstellen, es kann jedoch in Bezug auf vorherigen Studien die Hypothese aufgestellt werden, dass es eine positive Korrelation zwischen dem IGF-1R und dem ER- $\beta$  gibt, und dass dieser Zusammenhang mit einer pro-onkogenen Wirkung einhergeht.

#### I.7.11 IGF-1R- und IL-6R-Expression vor dem Hintergrund der Tumorprogression

Die Zusammenarbeit der Kaskaden dieser beiden Rezeptoren wurde unter anderem bei nicht-kleinzelligem Lungenkarzinom (NSCLC) festgestellt. Dort wurden synergistisch hohe Expressionen von IL-6, GP130, IGF1 und IGF1R festgestellt, zudem war die Überlebensrate der Patienten mit diesem Phänomen deutlich niedriger. Der IGF-1R kann via dem PI3-AKT-Pathway die Expression des Interleukin-6 via NF- $\kappa$  B erhöhen. NSCLC-Zellen, die mit IGF-1 und Interleukin-6 gleichzeitig behandelt wurden, hatten eine höhere Expression von p-AKT und p-ERK1/2, was auf eine gemeinsame Signalwegs-Kaskade hindeutet. Es wurde ebenso festgestellt, dass Interleukin-6 und IGF-1 synergistisch die Zellen-Apoptosen inhibieren und die Mitosen der Zellen fördern, was zu einem Wachstum des Tumors führt (Tang et al., 2019). Eine weitere Studie mit dem NSCLC durch Zheng et al. zeigte, dass, der IL-6 und IGF1 durch die Aktivierung des IL-6R und des IGF-1R die EMT des Karzinoms vorantreiben können, u. a. durch die gemeinsame Aktivierung der STAT3-Achse. Ebenso zeigte diese Studie, dass die erhöhte Sekretion des IL-6 zu einer erhöhten Aktivierung des IGF1R und des IL-6R via einer positiven Rückkopplungsschleife führt (Zheng et al., 2019). Zusätzlich besitzen der IGF1R und der IL-6R eine weitere gemeinsame Achse – die Ras-Raf-Mek-Erk-Achse (Johnson et al., 2018 & Mitsiades et al., 2004), die eine wichtige regulative Rolle bei der Differenzierung von Wachstum und Überleben einer Zelle spielen (Ufuk et al., 2020). In Anbetracht der vorliegenden Daten kann die Hypothese aufgestellt werden, dass die gemeinsamen Tumorkaskaden der beiden Rezeptoren eine pro-onkogene Wirkung nach sich ziehen, und dass, falls in Prostatakarzinomen ebenso ein positive Rückkopplungsschleife besteht, eine positive Korrelation zwischen den beiden Rezeptoren hinsichtlich der Tumorprogression existieren sollte.

### I.7.12 ER- $\beta$ und IL-6R Expression vor dem Hintergrund der Tumorprogression

Es wurde festgestellt, dass das proinflammatorische Zytokin Interleukin-6 durch die Aktivierung der Osteoklasten eine wichtige Rolle bei der Bildung von Osteoporose spielt. Die Östrogentherapie wird verwendet, um den Pathomechanismus der Osteoporose zu stoppen. Dabei wird ein Mechanismus in Gang gesetzt, bei dem die Aktion des Östrogenrezeptors  $\beta$  via NF- $\kappa$  B und C/EBP- $\beta$  auf die Transkription von Interleukin-6 vermindert wird (Stein & Yang, 1995). Ein weiteres wichtiges Zusammenspiel der beiden Faktoren lässt sich auch bei multiplen Myelomen erkennen. Interleukin-6 spielt eine wichtige Rolle in der Pathogenese von multiplen Myelomen. Das von IL-6R aktivierte STAT3 ist ein wichtiges Protein in dieser Kaskade. Es kann durch den PIAS3 (Protein Inhibitor of Activated STAT3) gebunden und die DANN-Bindung sowie Transaktivierung blockiert werden. Die PIAS3-Expression wird durch die Östrogenrezeptor- $\beta$ -Aktion vorangetrieben. Durch den Östrogenrezeptor  $\beta$  kann jedoch nicht die Phosphorylierung von JAK2 und STAT3 unterbunden werden. Der Östrogenrezeptor  $\beta$  unterbindet ebenfalls nicht die Expression von IL-6R und gp130 m-RNA (Wang et al., 2001). Aus den vorliegenden Daten kann die Hypothese aufgestellt werden, dass zwar die Transkription des IL-6R durch den ER- $\beta$  nicht vermindert, jedoch der Wirkmechanismus inhibiert wird. Dadurch kann auf eine negative Korrelation der beiden Rezeptoren vor dem Hintergrund der Tumorprogression geschlossen werden.

### I.7.13 Überlappung der Signalwegs-Kaskaden

In Bezug auf die vorliegende Literatur können zusammenfassend folgende Hypothesen bezüglich der Korrelationen der Rezeptoren zueinander mit Hinblick auf die Rezeptorexpression im Rahmen der Tumorprogression aufgestellt werden: Der IGF-1R kann die Phosphorylierung des ER- $\beta$  vorantreiben, ebenso haben der ER- $\beta$  und der IGF-1R gemeinsame Ziele in der Signalwegs-Kaskade, die eine pro-onkogene Wirkung nach sich ziehen. Hierdurch kann die Hypothese aufgestellt werden, dass sich mit einer zunehmenden Tumorprogression eine positive Korrelation zwischen den beiden Rezeptoren abzeichnen sollte. Ebenso haben der IGF-1R und der IL-6R einige gemeinsame Überlappungspunkte, die insgesamt eine pro-onkogene Rolle spielen. Somit kann auch hierbei eine positive Korrelation der beiden Rezeptoren zueinander mit zunehmender Tumorprogression angenommen werden. Zwischen dem IL-6R und dem ER- $\beta$  kann keine klare gemeinsame Signalwegs-

Kaskade erörtert werden. Jedoch stimuliert der ER- $\beta$  die Produktion des PIAS3, ein Inhibitor der Ziele der durch den IL-6R stimulierten Signalwegs-Kaskade des STAT3. Ob dies einen Einfluss auf die Rezeptorexpression des IL-6R hat, ist jedoch anzuzweifeln. Insgesamt lässt sich die Hypothese aufstellen, dass sich die Konzentration der Rezeptoren im Verlauf der Tumorprogression erhöhen wird – dies jedoch aufgrund des erhöhten Bedarfes der Zelle an Rezeptoren mit pro-onkogener Wirkung und nicht aufgrund eines epigenetischen Einflusses der aktivierten Rezeptoren, was zu einer erhöhten Produktion eines anderen Rezeptoren führt. Die gemeinsamen Signalwegs-Kaskaden sind im folgenden Bild zusammengefasst.

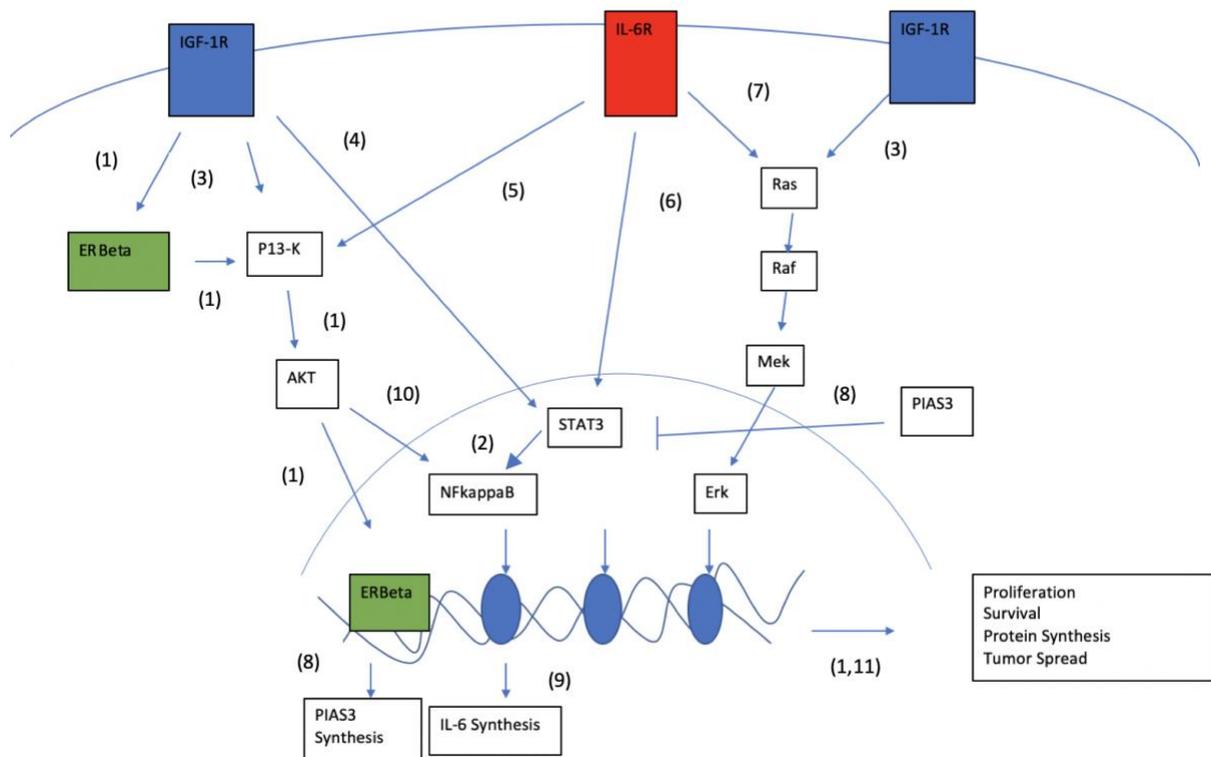


Abbildung 5: Darstellung der möglichen Überschneidungspunkte der Signalwegskaskaden der Rezeptoren IGF1R, ER- $\beta$  und IL-6R. Die Literaturangaben, die diese Signalwegskaskaden vorschlagen, sind folgend nummeriert: (1): Hamilton et al, 2015 (2): Grivennikov & Karin 2010 (3): Yuan et al. 2018 (4): Zheng et al. 2019, (5): Azevedo et al. 2011, (6): Cheteh et al. 2020, (7): Johnson et al. 2018 (8): Wang et al. 2001, (9): Xiao et al. 2019, (10): Tang et al. 2019 (11): Troncale et al. 2006.

### I.8 Fragestellung

Der IGF-1R, ER- $\beta$  und IL-6R sind zelluläre Rezeptoren, die scheinbar, wie in der Einführung bereits erörtert, eine wichtige Rolle in der Tumorbologie von

verschiedenen Arten von Karzinomen spielen. Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die zelluläre und subzelluläre Expression des IGF-1R, ER- $\beta$  und IL-6R entlang der Tumorprogression des Prostatakarzinoms zu erörtern. Anschließend wird ebenfalls der Grad der Interaktion der Rezeptoren untereinander durch die Errechnung der Korrelation der Rezeptoren in den einzelnen Tumorphasen diskutiert. Zuletzt werden diese Ergebnisse mit dem Diabetesstatus der Patienten verglichen.

## II. Material und Methoden

### II.1 Ethik

Aufgrund der Arbeit mit humanem Gewebe wurde ein Ethikantrag an die Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Universität Tübingen gestellt und unter folgendem Votum uneingeschränkt bestätigt: 842/2016BO2.

### II.2 Datenschutz

Der Datenschutz wurde durch die Verschlüsselung der Datenbank sowie durch das Benutzen der Pathologie-Nummern auf einer Array Map anstatt des Namens der Patienten gewährleistet. Lediglich Mitarbeiter, die zur Schweigepflicht verpflichtet waren, hatten Zugriff auf die patientenbezogenen Daten.

### II.3 Erhebung patientenbezogener Daten und Datenbanken

Das Erheben von patientenbezogenen Daten geschah retrospektiv und wurde bereits von einem vorherigen Doktoranden vollendet. Die Datenbank wurde mit einem Passwort gesichert, sodass nur an dem Projekt arbeitende Personen auf die Datenbank Zugriff hatten.

Die folgenden Patientendaten waren in der Datenbank enthalten:

- Gewebegruppe
- Patientengruppe
- Name/Vorname
- Pathologienummer
- Geburtsdatum
- Alter bei OP
- OP-Datum

- OP-Verfahren
- TNM-Status
- Gleason 1 und 2 sowie gesamt Gleason Score
- Angrenzender Gleason 1 und 2 sowie angrenzender Gleason Gesamtscore
- T von angrenzendem Tumor
- PSA zum Zeitpunkt der Gewebegewinnung oder der nächstmögliche Zeitpunkt davor
- Vorgeschichte bei PC-Patienten
- Art der antihormonellen Therapie/Dauer der antihormonellen Therapie
- Art des Array (regulär, Nachstanze)
- Anzahl und Art des Gewebes
- Zeile auf dem regulären Array
- Zeile auf dem Nachstanz-Array (11 und 12)
- Diabetes-Status
- Diabetes-Medikation
- Arztbrief-Zugänglichkeit
- Todesdatum
- Patientenadresse
- Patiententitel
- Patiententelefonnummer
- Hausarzt Name/Straße/Ort/Faxnummer
- Urologen-Name/Straße/Ort/Faxnummer

Das Gewebe der Patienten wurde in die folgenden Gruppen eingeteilt:

Tabelle 2: Gewebegruppen.

Benign
Palliativ
Low Gleason-Tumor
Low Gleason nah
Low Gleason fern
High Gleason-Tumor
High Gleason nah
High Gleason fern

Hierbei stellt die Gruppe „Benign“ alle Patienten dar, bei denen histologisch keine Malignität in der Prostata gefunden wurde. Die Gruppe „Palliativ“ umfasst alle Patienten, bei denen eine transurethrale palliative Entfernung des Tumors stattgefunden hat – unabhängig vom Gleason Score und Tumor-Stadium. Die Gruppe „Low Gleason“ sowie „High Gleason“ umfasst die Patienten, bei denen eine radikale Prostataektomie angewendet wurde, um einen Low Gleason- bzw. High Gleason-organbegrenzten Tumor zu entnehmen. Vom Tumor selbst wurde eine Biopsie vorgenommen sowie anschließend von tumornahem – nicht-malignem – und von tumorfernen – nicht-malignem – Gewebe, die die Gruppen Low/High Gleason-Tumor, Low/High Gleason nah und Low/High Gleason fern widerspiegeln.

#### II.4 Ein- und Ausschlusskriterien

Die folgenden Ein- und Ausschlusskriterien wurden verwendet, um das Patientenkollektiv zu erstellen: Der Paraffinblock, in dem sich das Gewebe befand, musste mindestens 3 mm dick sein. Das Gewebe durfte nicht zu hart, zu porös oder zu weich sein. Die Paraffinblöcke durften nicht beschädigt bzw. gebrochen sein. Ebenso durfte das Gewebe des Patienten nicht bereits für anderen Studien benutzt werden. Die Patientendaten mussten vollständig sein, damit das Gewebe für die Studie benutzt werden durfte, außerdem musste nach der Anwendung von Teilen des Gewebes für immunhistochemische Färbung noch genügend Gewebe für die gesetzlich vorgeschriebene Aufbewahrung des Routinepräparats zur Verfügung stehen.

Für Patienten mit radikalen Prostataektomien musste das Gewebe vorerst als Adenokarzinom von einem Pathologen begutachtet werden, bei multifokalem Tumor mussten die einzelnen Tumoreale klar voneinander abgrenzbar sein. Bei Patienten nach palliativem TURP musste das Gewebe als klar hormonsensibel oder hormonrefraktär eingeteilt werden.

#### II.5 Patientenkollektiv

Unter Berücksichtigung der Ein- und Ausschlusskriterien reduzierte sich die Anzahl des Patientenkollektivs von n=142 auf n=111. Von den 111 Patienten hatten 85 ein Prostatakarzinom, von denen 53 ein nicht-metastasiertes Prostatakarzinom hatten, das mit radikaler Prostataektomie entfernt werden konnte, und 32 ein bereits metastasiertes Prostatakarzinom, das palliativ mit einer transurethralen

Prostataresektion teilentfernt wurde. Von den 26 Patienten mit benignem Gewebe hatten 19 Patienten eine benigne prostatistische Hyperplasie, von denen bei acht das Gewebe mit einer transvesikalen TVP und bei 11 mit einer transurethralen Resektion entfernt wurde. Bei sieben Patienten wurde die Prostata routinemäßig wegen der Feststellung eines Harnblasenkarzinoms mitentfernt.

## II.6 Aufarbeitung der Gewebeproben

### II.6.1 Benignes Gewebe

Nach der Entnahme des Gewebes durch eine Operation wurden folgende Schritte vorgenommen: Bevor das Gewebe weiterverarbeitet wurde, musste es nach dem Entnehmen direkt in eine 4 %ige Formaldehyd-Lösung getan werden, damit seine Zersetzung (Autolyse) verhindert wird. Nachdem sich das Gewebe in Formalin befand, wurde das Gewebe in eine Form geschnitten, die in die Routine-Einbettkassetten der Firma Langenbrick (Emmendingen, Deutschland) für pathologische Zwecke passt. Die darauffolgende Entwässerung mit Alkohol sorgte dafür, dass die Proben in Paraffin eingelegt werden konnten. Zuvor wurde jedoch ein Intermedium verwendet (Xylol), das sich sowohl mit Paraffin als auch mit Alkohol mischt. Anschließend wurde das Gewebe mit flüssigem und erwärmtem Paraffin übergossen und auf einer Einbettkassette fixiert. Aus dem erkalteten und gehärteten Gewebe entstanden ein Block, aus dem anschließend ein HE-(Hematoxylin und Eosin)-gefärbter Schnitt zum Mikroskopieren angefertigt werden konnte. Das drüsenhaltige Gewebe wurde anschließend am Institut für Pathologie in Tübingen von Herr Dr. Scharpf mittels eines Folienstiftes gekennzeichnet, um dann gestanzt zu werden.

### II.6.2 Prostataektomie

Nach einer radikalen Prostataektomie wurde das unbearbeitete Prostata-Gewebe für 24 Stunden in 4,5 %, SAV-LP, Flintsbach Formal-Aldehydlösung (SAV-LP, Flintsbach, Deutschland) eingelegt. Daraufhin wurde die Prostata in Abständen von drei mm in Richtung des Rektums geschnitten, wobei jeder zweite Schnitt für die histologische Diagnostik verwendet wurde. Die ausgewählten Gewebeschnitte wurden dehydriert und in einer Einbettkaste für Gewebe (Mikroflow Mikrom, Waldorf) eingebettet. Der Apex und die Basis der Prostata sowie die Samenblasen wurden dabei entfernt. Aus diesem Gewebe wurden anschließend 5 µm dünne HE-Schnitte angefertigt. Diese Schnitte wurden anschließend vom pathologischen Institut auf Malignität untersucht, die malignen Stellen wurden anschließend mit Folienstift gekennzeichnet und der

Gleason Score an den jeweiligen Stellen angegeben. Die gekennzeichneten Stellen wurden anschließend zur Herstellung des Tissue Microarray verwendet.

### II.6.3 TURP

Bei einem palliativen TURP wurden mithilfe von einem Resektoskop Prostata-Späne entnommen. Diese wurden anschließend, wie das benigne Gewebe, mit Paraffin bearbeitet, woraus ein gehärteter Block mit dem beinhaltenden Gewebe resultierte. Aus diesem Block wurden anschließend HE-gefärbte Schnittpräparate angefertigt. Die malignen Stellen, die später zum Stanzen verwendet wurden, wurden ebenfalls von Herr Dr. Scharpf gekennzeichnet.

### II.7 Tissue Microarray Produktion

Der Tissue Microarray ist eine Methode, bei der eine große Anzahl von Gewebeproben nebeneinander aufgereiht werden können, um anschließend histologisch ausgewertet zu werden. Dies geschieht, indem einzelne geweberepräsentative Stanzen aus dem Gewebe entnommen werden. Diese werden auf spezifische DNA, RNA oder – wie bei diesem Versuch – auf Rezeptoren mittels Immunhistochemie getestet, wodurch die Quantifizierung bestimmter Moleküle möglich ist. Durch das Nebeneinanderaufreihen können die Gewebeproben direkt miteinander verglichen werden, wodurch eine Analyse von viel Gewebe in einer kurzen Zeit möglich ist.

Vor der Herstellung eines Tissue Microarray muss eine sogenannte Array Map erstellt werden. Dies ist ein mit Kästchen bedrucktes DIN-A3-Blatt. In den Kästchen stehen die Pathologie-Nummer sowie der Tumorstatus (Gleason Score Low oder High), ebenso wie die Distanz der Stanze zum Tumor (Tumor/nah/fern) sowie benign für Patienten ohne Karzinom oder palliativ für Patienten mit transurethraler palliativer Prostata-Entfernung. Die Array Map ist eine Vorlage für das Tissue Microarray in dem Sinne, dass die im Array Map generierte Reihenfolge von Patientenproben bei der Produktion des Tissue Microarray eingehalten wird. Beim Erstellen der Array Map muss auch das Einsetzen von Schweinshoden-Gewebe-Dots beachtet werden, die sich histologisch deutlich von humanem Gewebe unterscheiden. Diese sollen als Wegweiser bzw. als Bestätigung fungieren, dass die „Gewebe-Dots“ in der richtigen Orientierung auf den Empfängerblock übertragen wurden.

Um einen „Tissue Microarray“ zu produzieren, muss zuerst ein in Paraffin befindendes und mit Formalin fixiertes Gewebe ausgewählt werden. Dann muss die relevante Fläche, die zur Herstellung des „Tissue Microarray“ verwendet werden soll, markiert werden. Dies geschah in Tübingen unter der Aufsicht von Dr. Scharpf, der das Gewebe begutachtete und zwei Proben pro Patienten für BPH-benignes Drüsengewebe, zwei für tumorinternes Drüsengewebe, vier für tumornahes benignes Drüsengewebe, und zwei für tumorfernes benignes Drüsengewebe auswählte. Für Patienten, deren Gewebe mittels palliativer transurethraler Resektion gewonnen wurde, wurden entweder zwei oder vier Proben dieses Gewebes ausgewählt.

Bei der Vorbereitung des Empfängerblocks wurde das Paraffin auf 55-58 °C erhitzt. Dabei wurde es flüssig und konnte somit in die entsprechende Form gegossen werden. Anschließend wurden Kunststoffkassetten als Halterung in die Form gelegt und das Wachs bei Raumtemperatur zum Abkühlen und Erhärten gebracht. Im nächsten Schritt wurden Unebenheiten entfernt. Sobald der Block eingeschlossene Luftblasen aufwies, konnte der Block nicht verwendet werden. Bei dieser Studie wurde ein Maximum von 64 Gewebe-Dots pro Array eingehalten, wobei das empfohlene Maximum bei 700 Gewebe-Dots lag.

Es wurde ein Tissue Microarrayer (MTA-I, Beecher Instruments Inc., Sun Prairie, Wisconsin, USA) für den folgenden Vorgang benutzt. Der Tissue Microarrayer besitzt zwei Stanzen: eine, um Löcher in den Empfängerblock zu stanzen, und eine, um das Gewebe aus dem vorgefertigten Paraffinblock zu entnehmen, das anschließend in den Empfängerblock mittels der Stanze eingesetzt wurde. Dabei sollte der Spenderblock eine Stärke von mindestens 1 mm haben. Die besten Ergebnisse werden jedoch bei einer Stärke von 3-4 mm erzielt.

Der Empfängerblock wurde anschließend in eine Halterung eingespannt. Daraufhin wurde das erste Loch mit einem Durchmesser von 0,5-1 mm angelegt, was mit einer Einstellung des Tissue Microarrayers reguliert werden konnte. Nachdem die Spenderstanze das Loch gestanzt hat, wurde der Empfängerblock mithilfe des vorher angelegten und gekennzeichneten HE-Schnittes in Entnahmeposition gebracht. Sobald der HE-Schnitt mit dem Spenderblock in der Position übereinstimmte, konnte die Entnahmestanze in die Position des gekennzeichneten Feldes gebracht werden, sodass die Stanze direkt über dem gekennzeichneten Feld lag. Anschließend wurde

der HE-Schnitt entfernt, der Block gestanzt und die gewünschte Probe entnommen. Diese Probe wurde dann in das vorgestanzte Loch im Empfängerblock gesetzt. Der Abstand zwischen dem Mittelpunkt der Stanzen betrug 0.8 mm bei einer Verwendung von 0.6 mm Stanzen.

Nachdem alle Stanzen mit dieser Methodik in den Empfängerblock gesetzt wurden – unter Beachtung der Vorgaben der Array Map –, musste die Oberfläche des Empfängerblocks geglättet werden. Anschließend wurde der Empfängerblock in einem Ofen platziert, binnen 15 bis 20 Minuten von 37 °C bis 45 °C erhitzt und zwei bis drei Stunden im Ofen gelagert, was eine bessere Verbindung zwischen den Stanzen und dem Empfängerblock bewirkte. Der aufgewärmte Block konnte anschließend mit gleichmäßigem Druck vom Objektträger bearbeitet werden, um eine regelmäßige Oberfläche zu erzielen.

Für das Schneiden des Paraffinblocks wurde ein rotierendes Mikrotom (Leitz Rotationsmikrotom 1512, Ernst Leitz GmbH, Wetzlar, Deutschland) verwendet. Dieser fertigte 4-6 µm große Schnitte an, die anschließend in ein Wasserbad (TFB 45, Medite GmbH, Burgdorf, Deutschland) gelegt wurden. Um unter dem Mikroskop sichtbar gemacht zu werden, wurden die Schnitte des Empfängerblocks auf einen Objektträger (Superfrost Plus Lanenbrick, Emmendingen, Deutschland) aufgezogen. Zur Fixierung der Schnitte auf dem Objektträger wurde der Objektträger über Nacht bei einer Inkubationstemperatur von 37 °C in einem Wärmeschrank (ED 35 WTB Binder/Tuttlingen) gelagert.

## II.8 Immunhistochemische Färbung

Die Immunhistochemie besitzt eine Reihe von Anwendungen. In der Tumordiagnostik kann sie zur Bestimmung von tumorspezifischen Enzymen, Genen, Antigenen und Proliferationsmarkern verwendet werden. Diese prognostischen Marker bieten eine Verbesserung der konventionellen prognostischen Analyse durch klinisches Staging und histologisches Grading (Duraiyan et al., 2012).

Bei der direkten Immunfluoreszenz bindet ein einziger Fluorophor-konjugierter Antikörper das Molekül des Interesses. Bei der indirekten Methode gibt es zwei Antikörper: der erste ist nicht konjugiert und bindet das Molekül, während mehrere Fluorophore konjugierte sekundäre Antikörper den primären Antikörper binden. Die indirekte Methode hat den Vorteil, dass durch die höhere Quantität von gebundenen

Antikörpern ein stärkeres Signal entsteht. Dadurch ist diese Methode sensibler als die indirekte Methode (Becheva et al., 2018). Bei diesem Projekt wird je nach Rezeptortyp entweder die direkte oder die indirekte Methode verwendet.

### II.8.1 Direkte Immunhistochemie

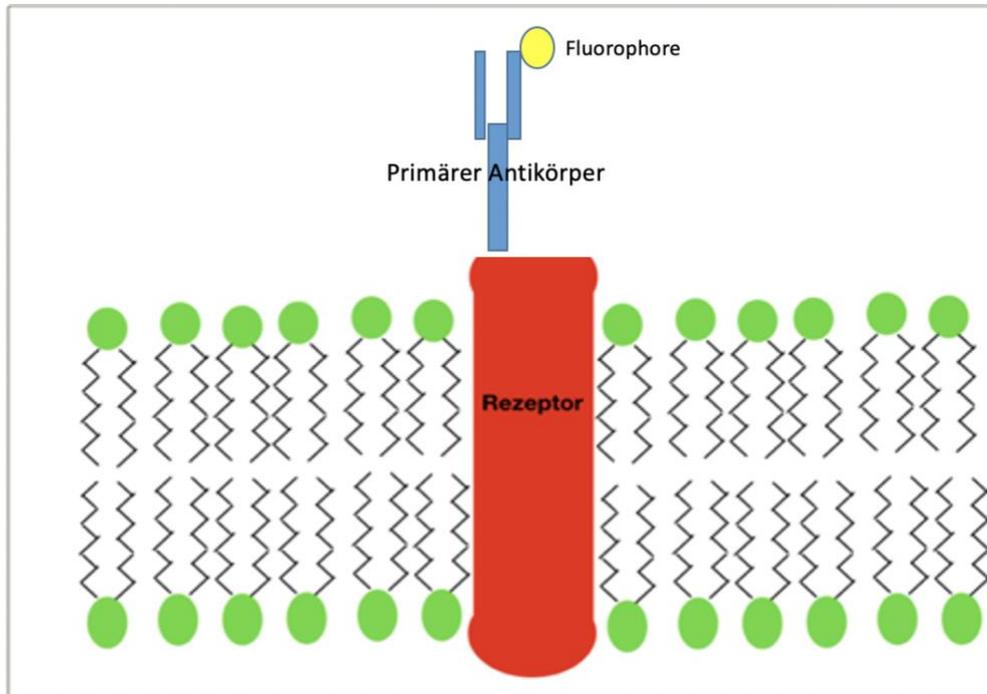


Abbildung 6: Darstellung eines mit fluoreszierendem Enzym konjugierten Antikörpers, der einen Rezeptor so bindet, wie es bei direkten Immunhistochemie der Fall ist (Eigene Darstellung, in Anlehnung an Im et al., 2019)

## II.8.2 Indirekte Immunhistochemie

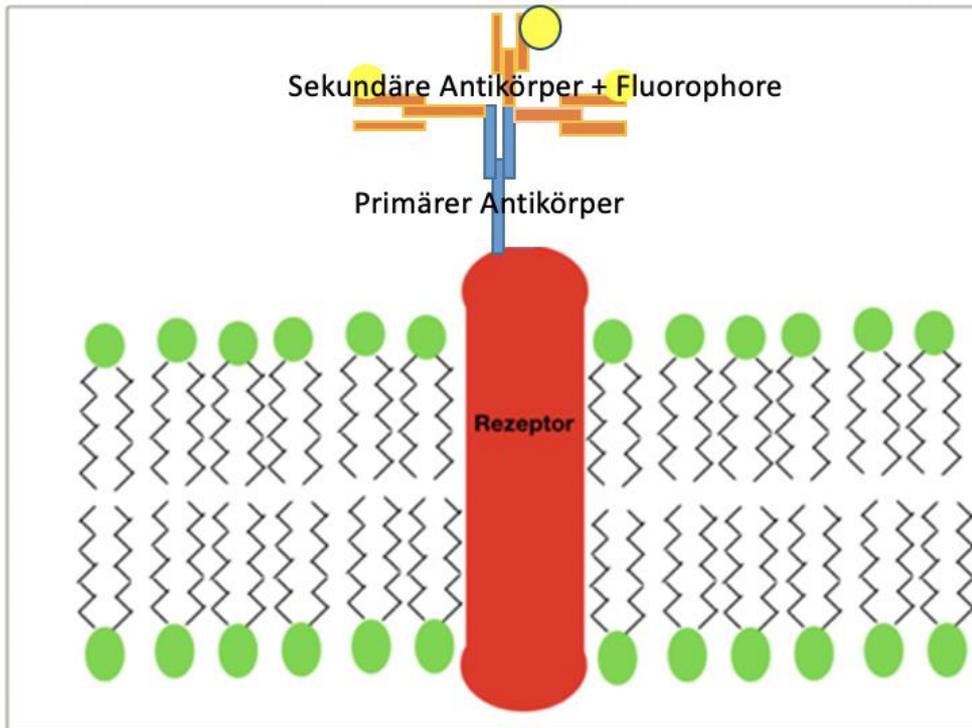


Abbildung 7: Darstellung eines Primärantikörpers, der den Rezeptor bindet. An diesen Primärantikörper bindet sich ein Sekundärantikörper, der mit einem fluoreszierenden Enzym so konjugiert ist, wie es bei indirekter Immunhistochemie der Fall ist (eigene Darstellung, in Anlehnung an Im et al., 2019)

## II.9 Durchführung der Immunhistochemie

Für die Studie wurden folgende Primärantikörper, Sekundärantikörper und Nachweismethoden verwendet:

### **IGF1R:**

Primärantikörper: IGF1R (3C8B)

Insulin-like growth factor I receptor

ABBIOTEC (Cat.Nr.: 252711) (Abbotec, San Diego, USA)

Sekundärantikörper: Fertig-Reagenz aus Kit

Nachweismethode: Dako REAL™ Detection System (Dako, Glustrup, Schweden)

Peroxidase/DAB+, Rabbit/Mouse

---

### **ER-β:**

Primärantikörper: Estrogen Receptor β Antibody (ER-β)

Thermo scientific PA1-313 (Thermo Scientific Waltham, USA)

Sekundärantikörper: Anti rabbit aus Kit

Nachweismethode: ADVANCE HRP, Dako (Code K4067) (Dako, Glustrup, Schweden)

---

## **Interleukin 6R:**

Primärantikörper: IL6-R

Interleukin 6 receptor

GeneTex Cat.Nr.: GTX54364 (GeneTex, Irvine, USA)

Sekundärantikörper: Fertig-Reagenz aus Kit

Nachweismethode: Dako REAL™ Detection System

Peroxidase/DAB+, Rabbit/Mouse (Dako, Glustrup, Schweden)

---

Damit ein Gewebe immunhistochemisch weiterverarbeitet werden kann, muss es für jeden Rezeptor (IL-6R, ER, und IGFR-1) entparaffiniert werden. Dazu wurde das Gewebe dreimal 10 Minuten lang mit Xylol bearbeitet. Anschließend wurde das Gewebe für jeden Rezeptor re-hydriert, indem es zweimal für fünf Minuten mit 100 % Ethanol, dann zweimal für fünf Minuten mit 96 % Ethanol und einmal für fünf Minuten mit 70 % Ethanol bearbeitet wurde. Im nächsten Schritt wurde die endogene Peroxidase für jeden Rezeptor reduziert, indem das Gewebe für 30 Minuten mit 3 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> inkubiert und für den IL-6R und IGFR-1 für fünf Minuten mit TBST (TRIS buffered Saline with Tween 20) und für den ER-β in destilliertem Wasser gewaschen wurde.

Zur Demaskierung wurde das Gewebe für den IL-6R und IGFR-1 dreimal fünf Minuten in einer Mikrowelle (Moulinex Micro Chef MO 500) in 10 mM Citratpuffer (pH6,0) gekocht und anschließend für 30 Minuten in Puffer zum Abkühlen stehengelassen. Für den ER-β wurde das Gewebe einmal 20 Minuten in einer Mikrowelle gekocht und anschließend für 30 Minuten zur Abkühlung stehengelassen. Nachfolgend wurde das Gewebe für den IL-6R und IGFR-1 für dreimal fünf Minuten in TBST gewaschen. Beim ER-β waren es zweimal fünf Minuten. Im darauffolgenden Schritt wurde das Gewebe für IL-6R und IGFR-1 in einer Avidin-Lösung für 15 Minuten präpariert, anschließend für zweimal fünf Minuten in TBST gewaschen und dann in eine Biotin-Lösung für eine Inkubationszeit von 15 Minuten gelegt. Hierfür kam ein Avidin/Biotin blocking Kit (Vector Blocking-Kit SP-2001, Vector Laboratories, Burlingame, USA) zur Anwendung.

Bevor das Gewebe den Antikörpern ausgesetzt werden konnte, musste es für die Rezeptoren IGFR-1 und IL-6R zuerst für zweimal fünf Minuten mit TBST gewaschen werden. Darauffolgend wurde das für den IL-6R bestimmte Gewebe dem IL6-R-Primärantikörper ausgesetzt – in einem Verdünnungsmedium von Dako

REAL™Antibody Diluent (Dako, Glustrup, Schweden) mit einer Verdünnung von 1:600 und über Nacht bei 4 °C in einem Kühlschrank inkubiert. Das für den IGFR-1 bestimmte Gewebe wurde mit dem Primärantikörper IGFR-1 mit einer Verdünnung von 1:1500 in einem Verdünnungsmedium Dako REAL™Antibody Diluent (Dako) behandelt und anschließend über Nacht bei 4 °C im Kühlschrank inkubiert. Für den ER-β wurde der ER-β-Antikörper mit einer Verdünnung von 1:200 im Verdünnungsmedium Dako real verdünnt verwendet und das Gewebe über Nacht bei 4 °C inkubiert.

Anschließend wurde das Gewebe für alle Rezeptoren dreimal fünf Minuten mit TBST gewaschen. Anschließend wurde an dem mit IL-6R und IGFR-1 primärantikörper-behandelten Gewebe ein Sekundärantikörper angewendet –ein Fertigreagenz aus Kit mit einer Inkubationszeit von 30 Minuten bei Raumtemperatur. Für das ER-β-Gewebe wurde ein Advance HRP link (anti rabbit SAK)-Sekundärantikörper verwendet. Dieses Gewebe wurde ebenfalls bei Raumtemperatur für 30 Minuten stengelassen. Im nachfolgenden Schritt wurde das Gewebe für alle Rezeptoren für dreimal fünf Minuten mit TBST gewaschen. Darauffolgend wurde für das IL-6R- und IGFR-1-Gewebe ein Streptavidin Biotin-Komplex als Fertigreagenz aus Kit mit einer Inkubationszeit von 30 Minuten angewendet. Beim ER-β-Gewebe waren es ADVANCE HRP-Enzyme – ebenfalls mit einer Inkubationszeit von 30 Minuten.

Anschließend wurde das Gewebe für alle Rezeptoren für dreimal fünf Minuten mit TBST gewaschen, danach wurde für das IL-6R- und IGFR-1-Gewebe das Farbsubstrat DAB (1000 µl Substratpuffer. + 20 µl DAB) aus Kit für eine Inkubationszeit von drei Minuten angewandt. Beim ER-β war dies ein Dako Liquid DAB-Substrate Chromogen System K3467 (Dako, Glastrup, Schweden) (1000 µl Puffer + 20 µl DAB), das eine Inkubationszeit von zwei Minuten besaß. Anschließend wurde das Gewebe für den IL-6R und IGFR-1 für zweimal fünf Minuten mit destilliertem Wasser gewaschen, beim ER-β für zweimal fünf Minuten in TBST. Für die Gegenfärbung wurde Hämatoxylin nach Mayer verwendet. Die Gegenfärbung wurde für 45 Sekunden beim IL-6R-Gewebe, für 20 Sekunden beim IGF-R1-Gewebe und für 30 Sekunden beim ER-β durchgeführt. Darauffolgend wurde das Gewebe für alle Rezeptoren für sieben Minuten in Leitungswasser gebläut. Anschließend wurde das Gewebe für alle Rezeptoren für zweimal drei Minuten mit 96 % Ethanol, dann für zweimal fünf Minuten mit 100 % Ethanol und zuletzt für dreimal fünf Minuten mit Xylol

dehydriert. Im letzten Schritt wurden alle Rezeptoren mit dem permanenten Eindeckmedium VectaMount (Vector Laboratories, Burlingame, USA) bedeckt.

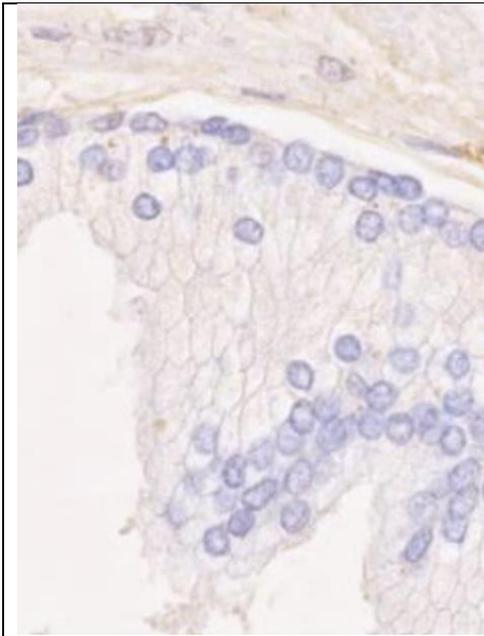
## II.10 Mikroskopie & Ergebniserläuterung

Die insgesamt 36 Präparate wurden mit einem Karl-Zeiss-Lichtmikroskop (Zeiss Universal, Carl Zeiss, Jena, Deutschland) mikroskopiert. Für die Auswertung wurde ein modifizierter H-Score verwendet. Der H-Score wurde je nach Rezeptor-Typ und bewerteten Zellstrukturen (Zytoplasma, Zellmembran oder Zellkern) modifiziert, um die Intensität der Färbung der einzelnen Zellstrukturen zu reflektieren. Für dieses Projekt wurde lediglich das Epithel und nicht das Stroma der jeweiligen Gewebeproben ausgewertet.

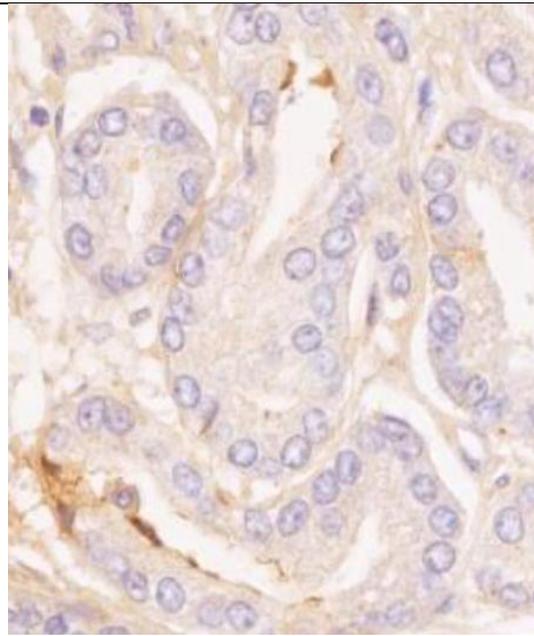
Tabelle 3: Darstellung der Zellstrukturen und der Einteilung des jeweiligen H-Score

	<b>IGF-1R</b>	<b>Östrogenrezeptor <math>\beta</math></b>	<b>Interleukin-6 Rezeptor</b>
Zytoplasma	0- nicht gefärbt 0,5- minimal gefärbt 1- wenig gefärbt 2- moderat gefärbt 3- stark gefärbt	0- nicht gefärbt 0,5- minimal gefärbt 1- wenig gefärbt 2- moderat gefärbt 3- stark gefärbt	0- nicht gefärbt 0,5- minimal gefärbt 1- wenig gefärbt 2- moderat gefärbt 3- stark gefärbt
Zellkern	0- nicht gefärbt 1- wenig gefärbt 2- stark gefärbt	0- nicht gefärbt 1- wenig gefärbt 2- stark gefärbt	-
Zellmembran	0- nicht gefärbt 1- wenig gefärbt 2- stark gefärbt	-	0- nicht gefärbt 1- wenig gefärbt 2- stark gefärbt

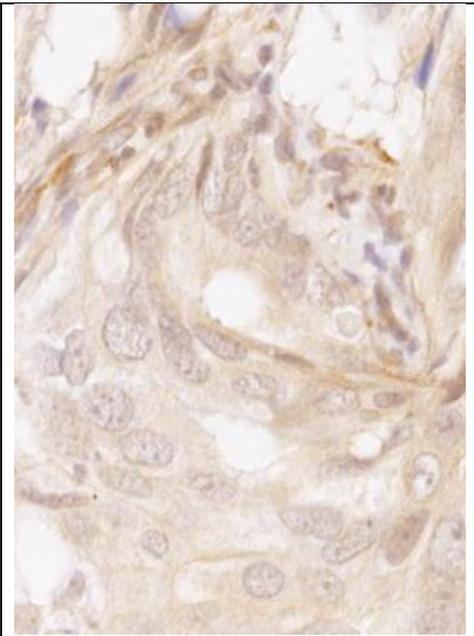
Folgende Grafiken zeigen repräsentativ die Intensität der Färbungen des Prostatagewebes, zusammen mit dem jeweiligen H-Score:



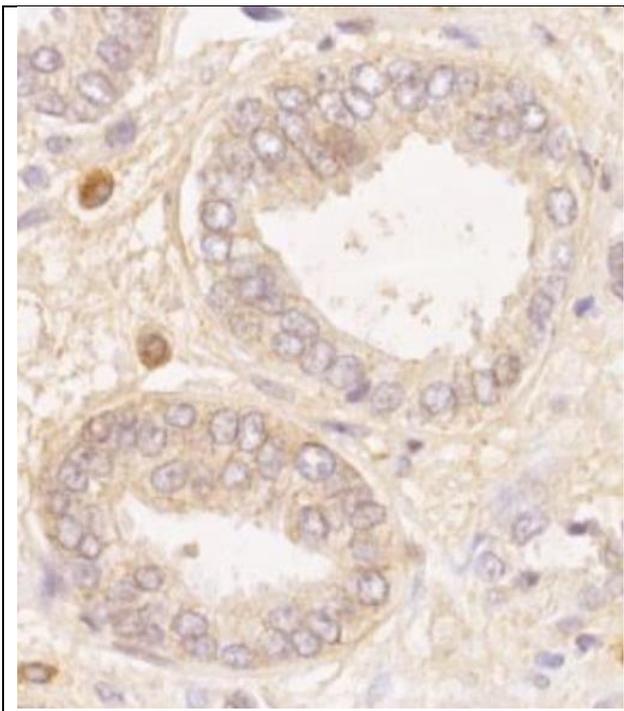
H-Score: 0



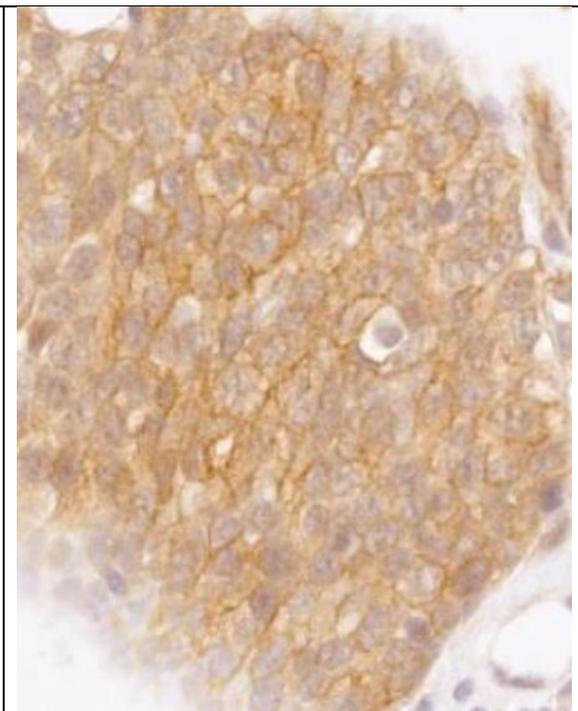
H-Score: 0.5



H-Score: 1



H-Score: 2



H-Score: 3

Abbildung 8: Darstellung der H-Score-Quantifizierung für das IGF-1R-Zytoplasma (Vergrößerung bei allen Abbildungen: x 16,99)

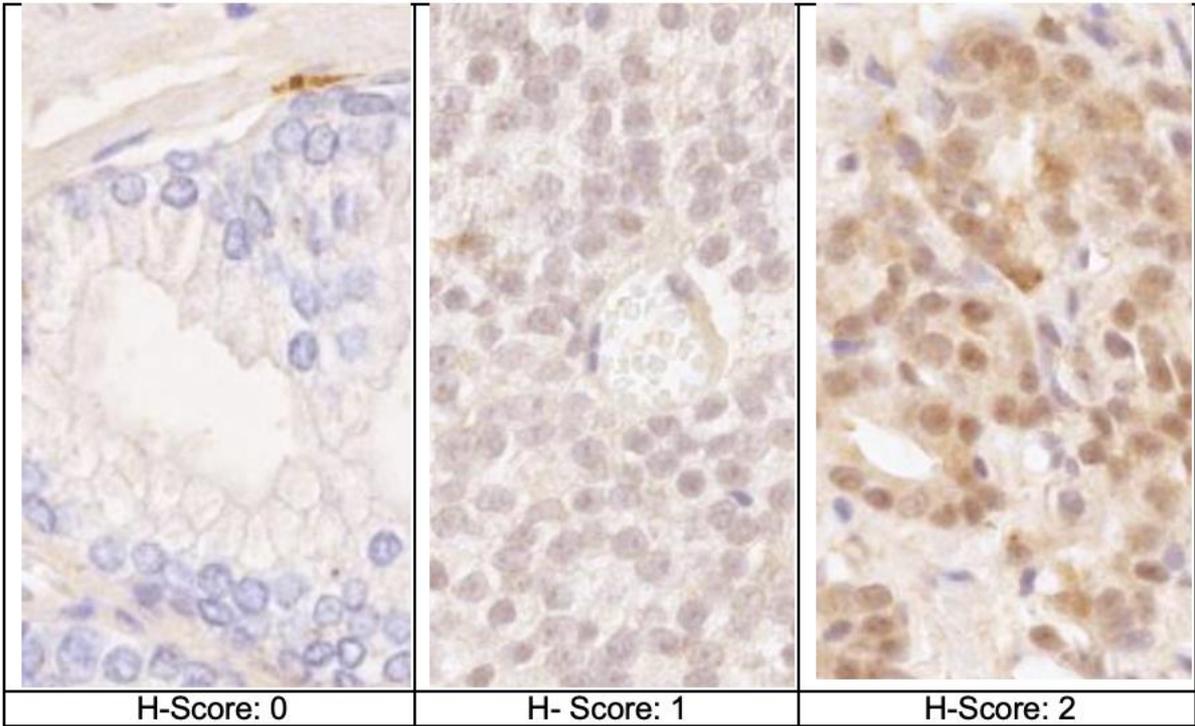


Abbildung 9: Darstellung der H-Score-Quantifizierung für die IGF-1R-Zellkerne (Vergrößerung bei allen Abbildungen: x 16,99)

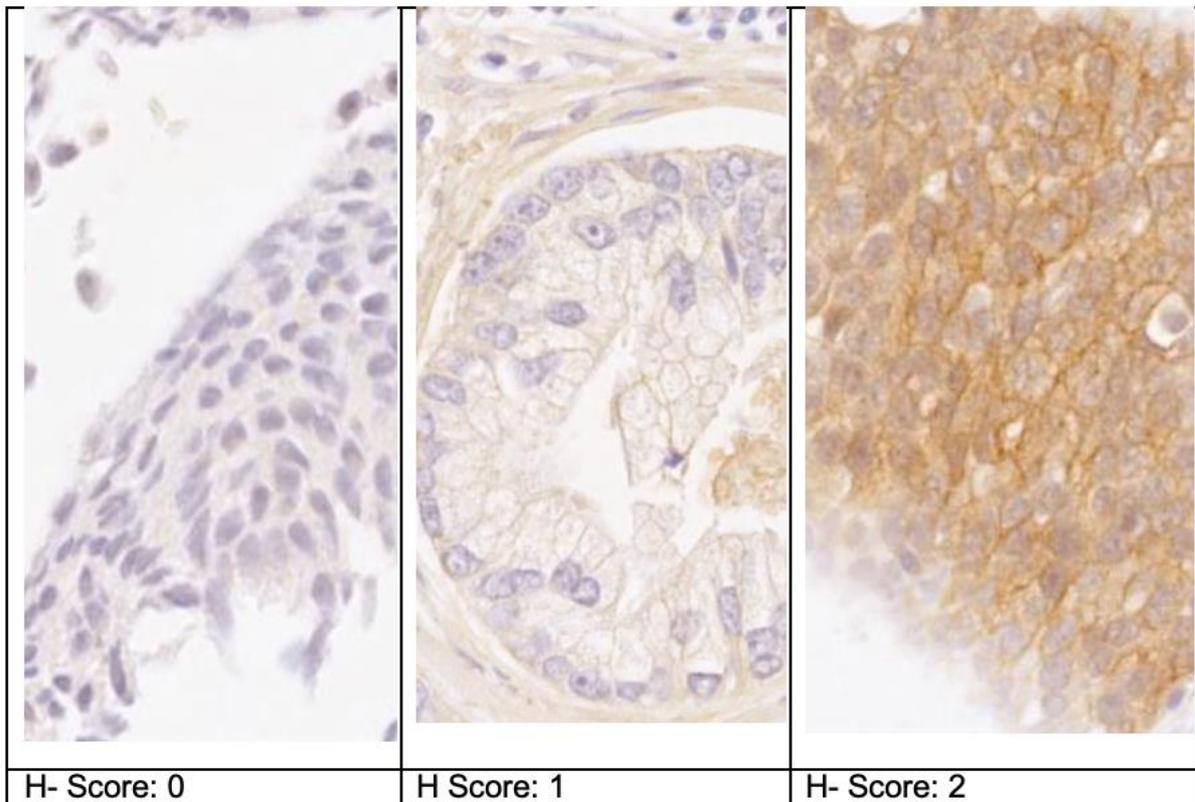


Abbildung 10: Darstellung der H-Score-Quantifizierung für das IGF-1R-Zellmembran. (Vergrößerung bei allen Abbildungen: x 16,99)

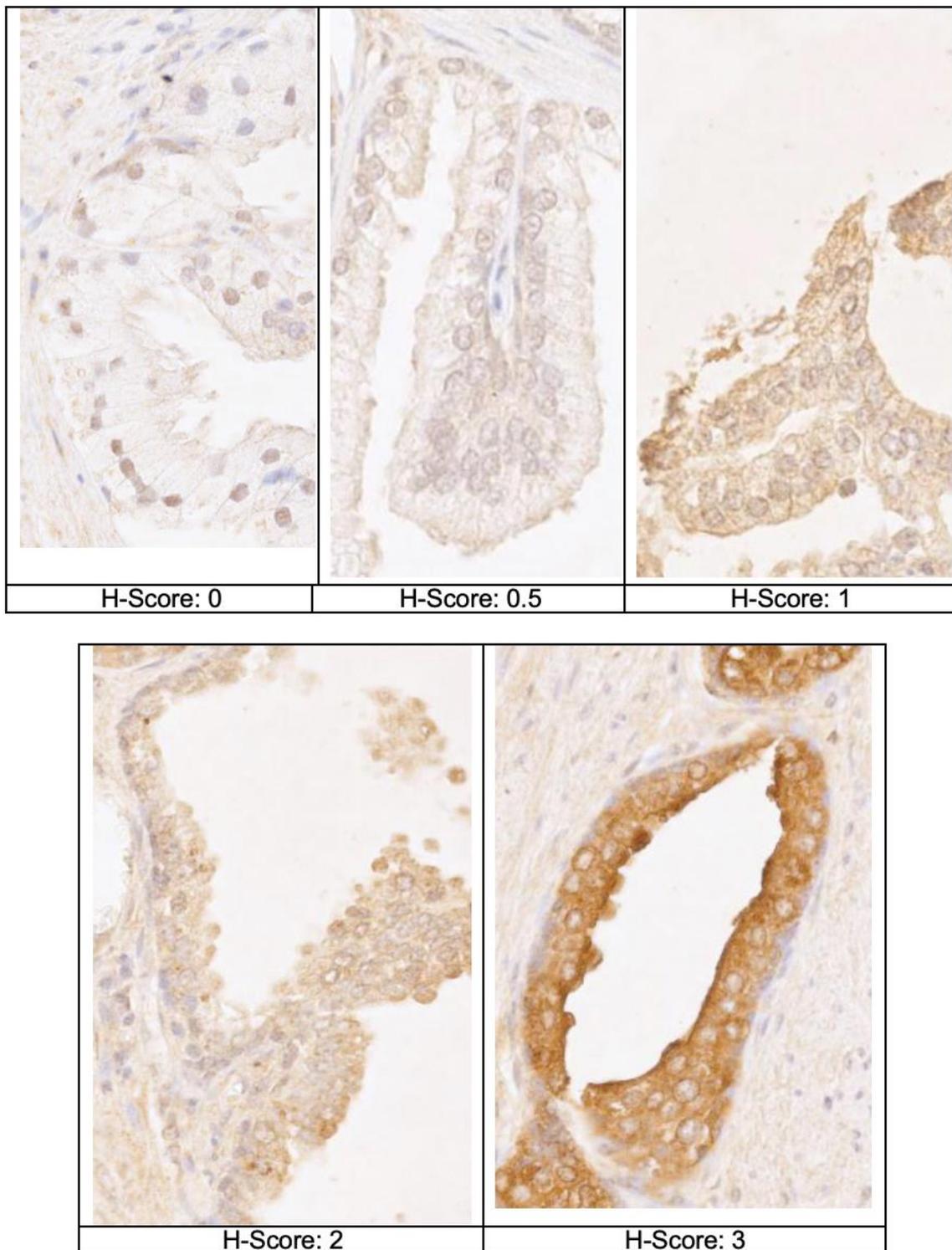


Abbildung 11: Darstellung der H-Score-Quantifizierung für das ER- $\beta$ -Zytoplasma (Vergrößerung bei allen Abbildungen: x 16,99)

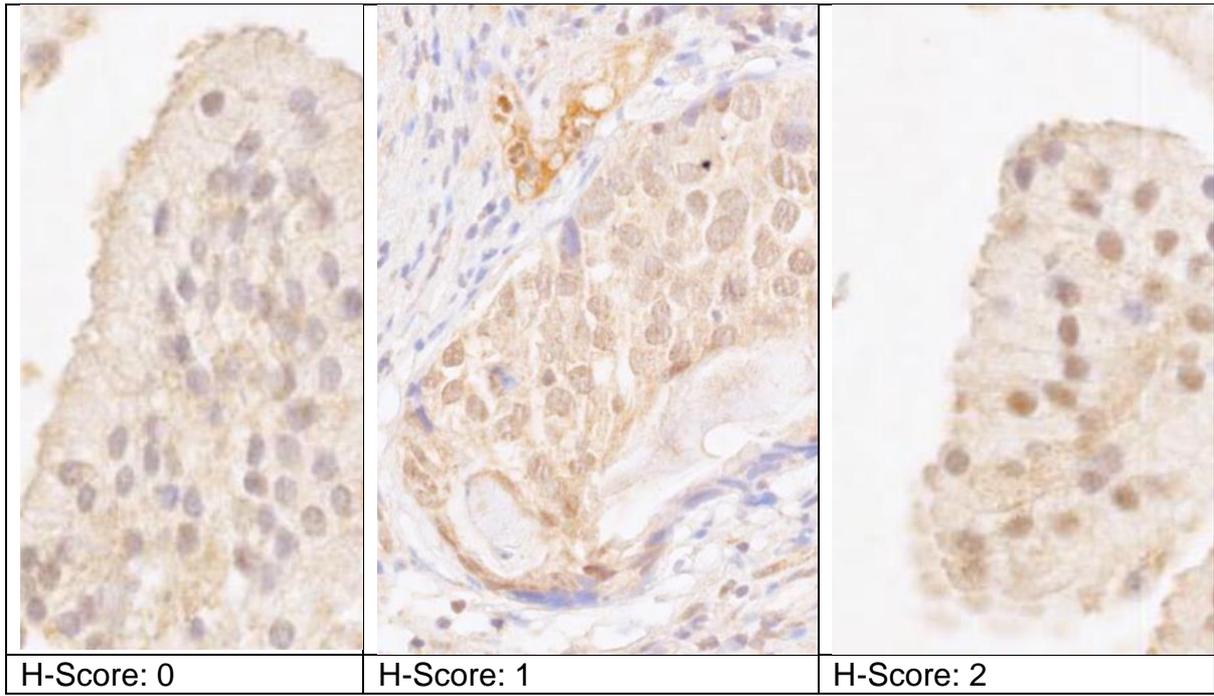
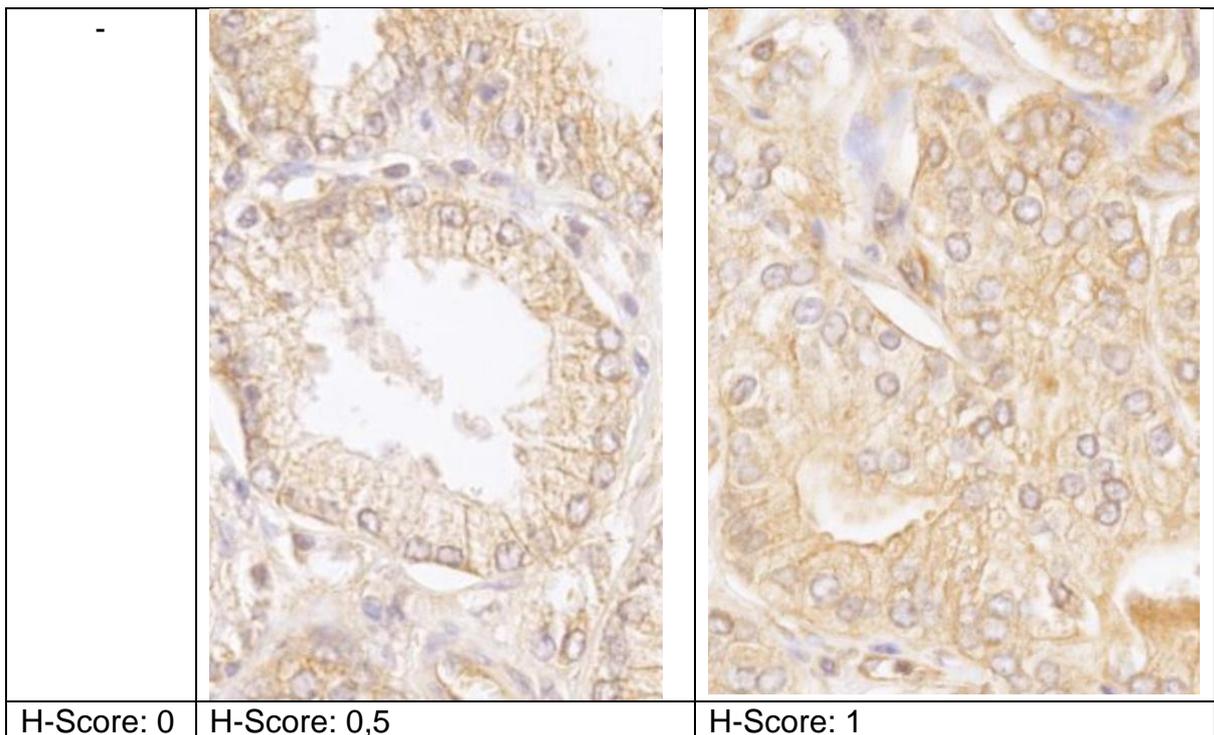


Abbildung 12: Darstellung der H-Score-Quantifizierung für die ER- $\beta$ -Zellkerne (Vergrößerung bei allen Abbildungen: x 16,99)



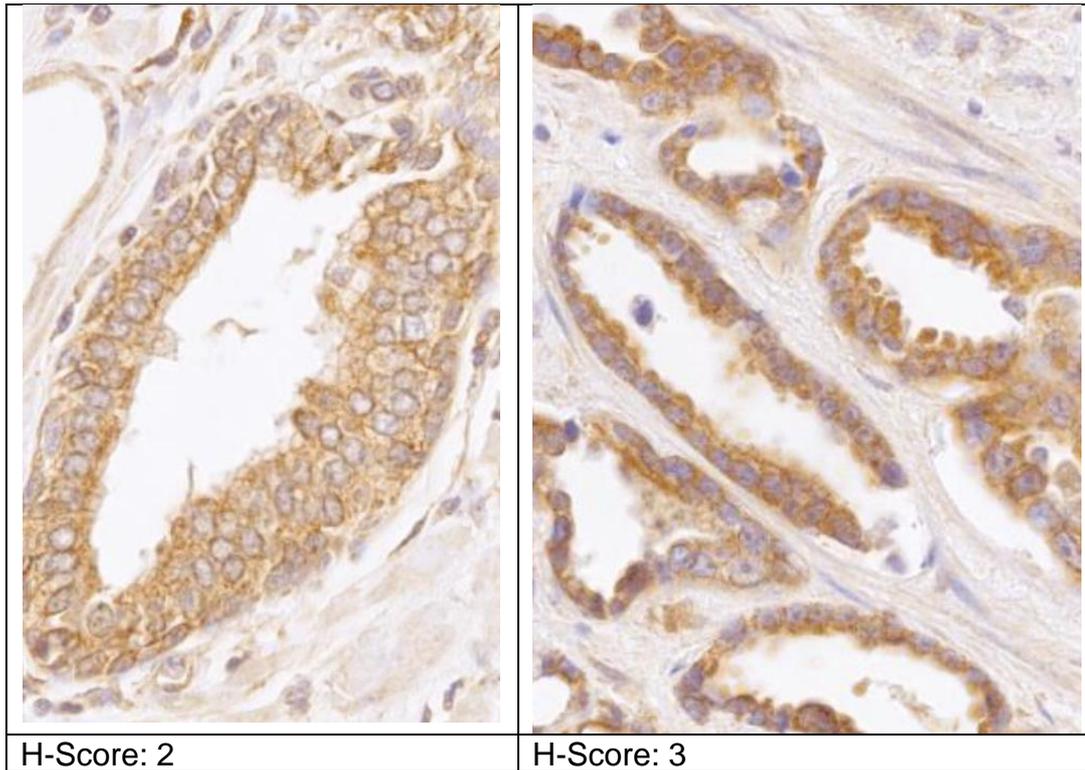


Abbildung 13: Darstellung der H-Score-Quantifizierung für das IL-6-Zytoplasma (Vergrößerung bei allen Abbildungen: x 16,99) Notiz: Es konnte kein Bild für einen Zytoplasma-H-Score von 0 gefunden werden.

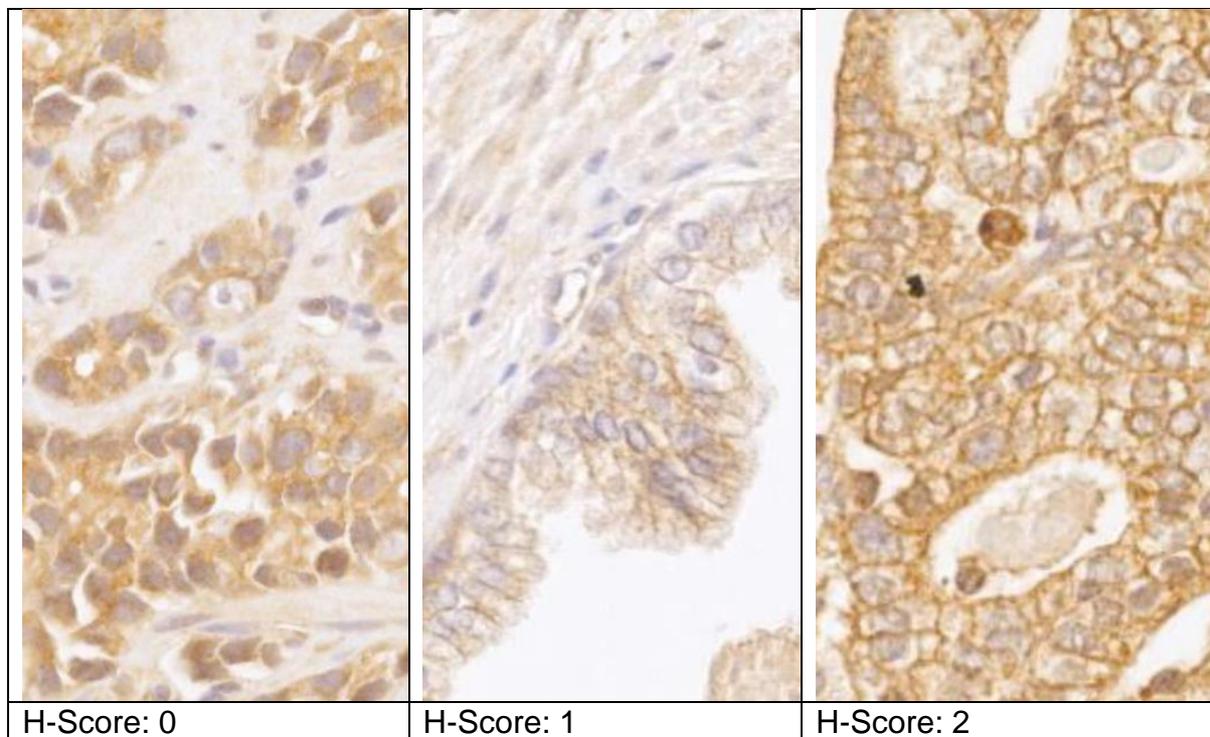


Abbildung 14: Darstellung der H-Score-Quantifizierung für IL-6R-Zellmembran (Vergrößerung bei allen Abbildungen: x 16,99)

Wie in der obigen Tabelle und den Grafiken zu sehen ist, wurde der Zellkern für IL-6R und die Zellmembran von ER- $\beta$  nicht gefärbt. Dies liegt daran, dass diese Zellkomponenten die jeweiligen Rezeptoren nicht tragen und somit nicht gefärbt werden. Da es in einem Gewebe-Dot oftmals keine homogene Verteilung der Farbstärke gab, wurden die Anteile mit einer bestimmten Farbstärke prozentual aufgeteilt, mit ihrer Farbstärke multipliziert und addiert. Zum Beispiel betrug bei einem Gewebe-Dot, bei dem 40 % der Fläche einen Zytoplasma-Färbescore von 1 hatte und 60 % der Fläche einen Färbescore von 2, der Gesamtscore ( $40 \times 1 + 60 \times 2$ ) – also insgesamt 160. Der maximale Wert für Zytoplasma war somit 300, für den Zellkern 200 und für Zellmembran ebenfalls 200.

Die Präparate wurden dreimal mikroskopiert – einmal am Mikroskop und zweimal an einem Toshiba Laptop Computer (Toshiba, Minato City, Japan). Um am Computer mikroskopieren zu können, wurden die Gewebe-Dots am Institut für Pathologie an einem Objektträger-Scanner (Leica Slide Scanner SCN400, Leica Biosystems GmbH, Nussloch, Deutschland) eingescannt. Die Dateien wurden dann auf einer Festplatte gespeichert, um dann am Laptop ausgewertet zu werden. Zur Sichtung der Dateien wurde die Software Ventana image viewer (Ventana medical systems, Oro, USA) eingesetzt.

Wenn der H-Score aller drei Ergebnisse pro Gewebe-Dot innerhalb von 50 Punkten lag, wurde der Mittelwert aller drei Ergebnisse genommen und als Schlusswert festgelegt. Wenn es eine Diskrepanz von mindestens 51 Punkten zwischen den Ergebnissen gab, wurde der Gewebe-Dot am Computer erneut mikroskopiert. Falls es hierdurch drei von vier Ergebnissen mit einer Diskrepanz von weniger als 50 Punkten gab, wurde der Durchschnitt dieser drei Ergebnisse als finaler Wert genommen. Wenn es immer noch eine Diskrepanz von mindestens 51 Punkten gab, wurde der Punkt so oft erneut mikroskopiert, bis es drei Ergebnisse mit einer Diskrepanz von weniger als 51 Punkten gab.

Die Ergebnisse wurden in sogenannte Array Maps eingetragen, d. h. mit 8 x 8-Kästchen bedruckte DIN-A3-Blätter, auf denen die Grundinformation (Patientencode und Gewebestatus) für den jeweiligen Gewebedot eingetragen war. Für die 12 Arrays pro Rezeptor gab es 12 DIN-A3-Blätter.

Das verwendete Mikroskop hatte die Vergrößerungen x 10, x 20, x 50. Jeder Gewebe-Dot wurde mit jeder der vorhandenen Vergrößerungen untersucht, um ein genaues

und repräsentatives Ergebnis zu produzieren. Die Lichtstärke von 0,1 wurde während der gesamten Untersuchung beibehalten. Beim Mikroskopieren mit dem Laptop wurde die Bildschirmhelligkeit konstant gehalten.

#### II.11 Statistische Auswertung

Alle Daten wurden in eine von der Abteilung für Urologie vorgefertigten Microsoft-Excel® 2016-Datenbank eingetragen, die alle patientenrelevanten Daten enthält. Für die statistische Auswertung wurde das Programm JMP 13.0.0® (SAS Institute, Cary, North Carolina, USA) verwendet.

Folgende statistische Tests kamen zum Einsatz:

Um die Rezeptoren-Expression zweier Gewebegruppen miteinander zu vergleichen, (Benign und Tumor, N0 und N1, M0 und M1), wurde der einfaktorielle Test, Chi Quadrat Approximation (Karl Pearson, 1900), verwendet, der berechnet, ob zwei Datensets einen signifikanten Unterschied aufweisen. Für drei oder mehr Datensets der Gewebegruppen wurden mittels des Tukey Kramer Tests (Tukey, 1949) homogene Gruppen gebildet, wobei alle Datensets in einer Gruppe keinen signifikanten Unterschied aufweisen, aber einen signifikanten Unterschied zu einer anderen Datengruppe. Die Gruppierung wurde durch die Ermittlung des p-Wertes zwischen den einzelnen Datensets ermittelt.

Um herauszufinden, ob es eine signifikante Korrelation zwischen zwei Rezeptor-Expressionen in einer bestimmten Gewebegruppe gab, wurde ein F-Test (Fisher, 1920) durchgeführt. Das Programm ermittelte ebenso alle Quantile, den Mittelwert und die oberen und unteren 95 % KI, die für den Vergleich der Datensets der Patienten mit und ohne Diabetes wichtig waren.

### III. Ergebnisse

#### III.1 Patienteneigenschaften

Im folgenden Abschnitt werden die Unterschiede der klinisch relevanten Eigenschaften der Patienten erläutert.

Tabelle 4: Anzahl der Patienten in den einzelnen Gewebekategorien

<b>Patiententyp</b>	<b>Anzahl</b>
alle Patienten	111
Patienten mit Normalgewebe	26
Patienten nach Prostatektomie (Low Gleason)	28
Patienten nach Prostatektomie (High Gleason)	25
Patienten nach TURP (Hormonsensitiv)	14
Patienten nach TURP (Hormonrefraktär)	18

Tabelle 5: Durchschnittsalter und Altersumfang der Patienten in den jeweiligen Kategorien.

<b>Patiententyp</b>	<b>Durchschnittsalter (Median)</b>	<b>Altersumfang (Range)</b>
Patienten mit Normalgewebe	75	51-82
Patienten mit Prostatakarzinom (Low Gleason)	63	51-70
Patienten mit Prostatakarzinom (High Gleason)	66	57-78
TURP-Patienten (hormonsensibel)	73,5	54-95
TURP-Patienten (hormonrefraktär)	71,5	56-94

Tabelle 5 zeigt, dass die Patienten mit Normalgewebe das höchste Durchschnittsalter hatten, während Patienten mit einem Low Gleason das niedrigste Durchschnittsalter aufwiesen. Die Gruppe mit dem kleinsten Altersumfang ist die Gruppe der Patienten mit Prostatakarzinom High Gleason, während die Gruppe mit dem größten Altersumfang die Gruppe TURP (hormonsensibel) ist.

Tabelle 6: Durchschnittlicher PSA-Wert pro Patientengruppe, ebenso wie der Mittelwert.

Patiententyp	PSA-Wert (am nächsten der Gewebegewinnung Mittelwert)	PSA-Wert (am nächsten der Gewebegewinnung Median)	Anzahl der ermittelten PSA-Werte
Patienten mit Normalgewebe	9,7±8,2	7.2±8,2;	20
Patienten mit Prostatakarzinom (Low Gleason)	8,6±5,7	6.3±5,7	28
Patienten mit Prostatakarzinom (High Gleason)	8,1±6,2	6.9±6,2	23
TURP-Patienten (hormonsensibel)	407,5±1257,6	15.6±1257,6	14
TURP-Patienten (hormonrefraktär)	207,9±251,1	125±251,1	16

Wie Tabelle 6 zeigt, hatten die Low-Gleason-Patienten den niedrigsten PSA-Medianwert, während die Gruppe „TURP hormonrefraktär“ den höchsten PSA-Medianwert aufwies. Die Gruppe „High Gleason“ zeigte den niedrigsten Mittelwert, während die Gruppe „TURP hormonsensibel“ den höchsten Mittelwert hatte. Beim Vergleich der einzelnen Gruppen wird deutlich, dass die TURP-Patienten einen signifikant höheren PSA-Wert zu verzeichnen hatten als die drei anderen Gruppen. Bei dieser Tabelle ist ebenfalls zu beachten, dass der PSA-Wert nicht von allen Patienten ermittelt wurde, was an der Anzahl der ermittelten PSA-Werte pro Gruppe zu sehen ist.

Tabelle 7: Alter der Patienten bei der Operation pro Gewebegruppe

Patiententyp	Medianes Alter der Operation	Mittelwert des Alters der Operation	Altersspanne
Patienten mit Normalgewebe	71	70.5	55-82
Patienten mit Prostatakarzinom (Low Gleason)	63	63.1	51-72
Patienten mit Prostatakarzinom (High Gleason)	66	65.8	57-78
TURP-Patienten (hormonsensibel)	73.5	73.8	54-95
TURP-Patienten (hormonrefraktär)	71.5	72.05	56-84

Diese Tabelle zeigt deutlich, dass die Low-Gleason-Patienten im Mittel und Durchschnitt das niedrigste Alter hatten, während die Gruppe „TURP (hormonsensibel)“ im Mittel und Durchschnitt das höchste Alter zu verzeichnen hatte. Die Gruppe „TURP (hormonsensibel)“ hatte die größte Altersspanne, während die Gruppe „Low Gleason“ und „High Gleason“ die niedrigste Altersspanne hatten.

Tabelle 8: Zeigt die Anzahl der Patienten pro Tumorstadium und Patientengruppe

<b>T-Stadium</b>	<b>Low Gleason</b>	<b>High Gleason</b>	<b>hormonsensibel</b>	<b>hormonrefraktär</b>
T1a	-	-	-	-
T1b	-	-	-	-
T1c	-	-	-	1
T2a	3	2	-	-
T2b	-	-	-	-
T2c	22	10	2	-
T3a	2	10	1	0
T3b	1	3	-	1
T4	-	-	5	5
Keine Angabe	-	-	6	11

Tabelle 9: Anzahl der Patienten pro Gleason Score und Patientengruppe.

<b>Gleason Score</b>	<b>Low Gleason</b>	<b>High Gleason</b>	<b>hormonsensibel</b>	<b>hormonrefraktär</b>
6	12	-		
7a	10	-	-	1
7b	6	-	-	-
8	-	11	2	1
9	-	13	7	14
10	-	1	2	1
keine Angabe	-	-	3	1

In den Tabellen 8 und 9 ist die zudem die Anzahl und Einteilung der Patientengruppen nach Gleason Score und T-Stadium zu sehen.

## III.2 Vergleich der IGF-1R-Expression in den Subkomponenten der Zelle entlang der Tumorprogression

### III.2.1 Benignes und malignes Gewebe

Der Vergleich zwischen benignem und malignem Tumorgewebe bezüglich der IGF-1R-Expression in den einzelnen Bestandteilen der Zelle zeigte folgendes Expressionsverhalten:

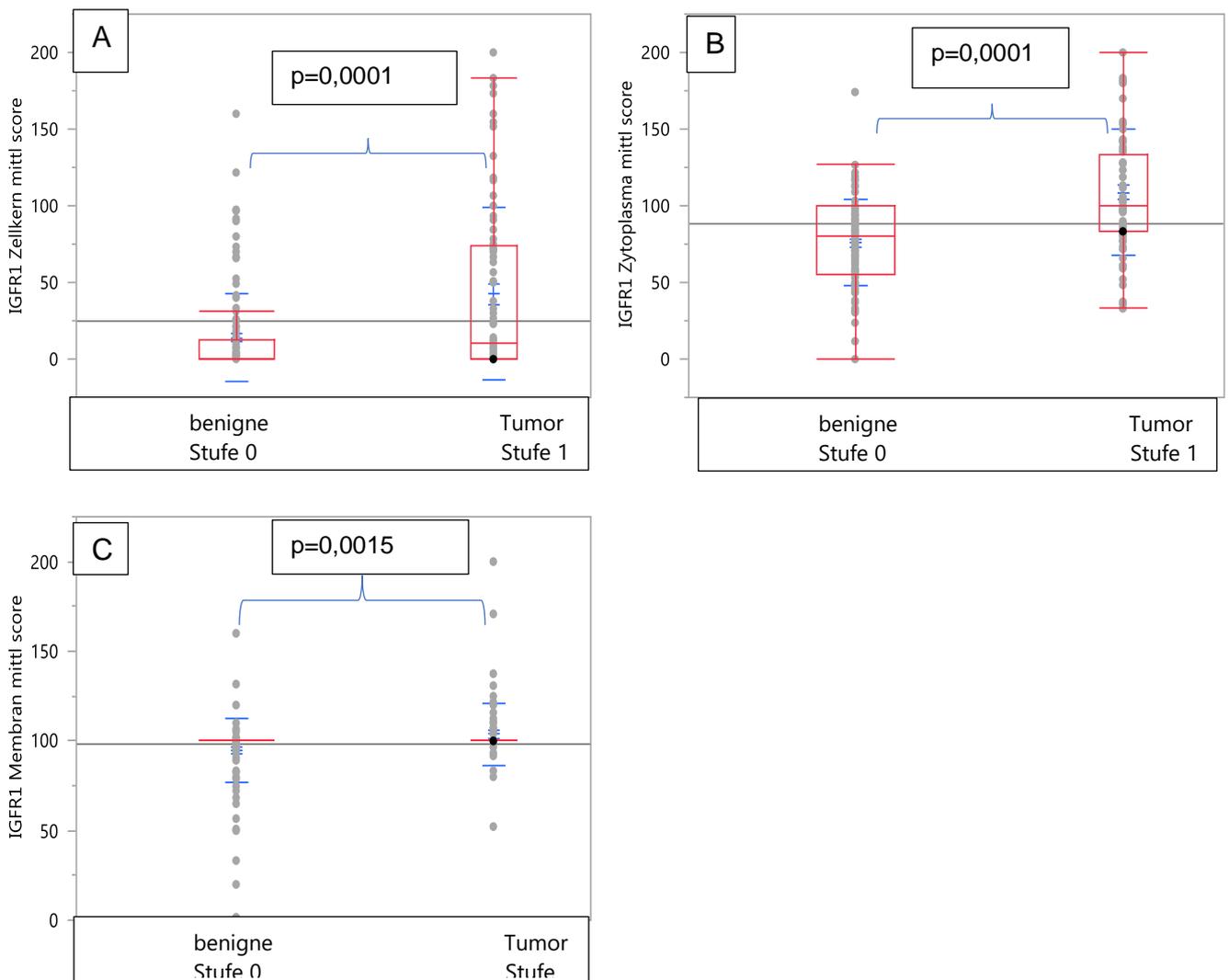


Abbildung 15: Einfaktorielle Analyse von IGF-1R-Zellkern/Zytoplasma/Zellmembran-Expression nach benignem (Stufe 0) und tumorösen (Stufe 1) Gewebe:

Tabelle 10: Vergleich des Medians der IGF-1R-Zellkern/Zytoplasma/Zellmembran-Expression zwischen benignem und tumorösem Gewebe

Stufe	IGF-1R-Zellkern Median	IGF-1R-Zytoplasma Median	IGF-1R-Zellmembran Median
<b>Benign</b>	0	80,525	100
<b>Tumor</b>	10,42	100	100

Es gab einen signifikanten Unterschied zwischen benignem und malignem Gewebe sowie IGF-1R-Expression im Zellkern ( $p=0,0001$ ), in der Zellmembran ( $p=0,0015$ ) sowie im Zytoplasma ( $p=0,0001$ ). Die Expression der IGF-1-Rezeptors ist im tumorösen Gewebe in den zellulären Subkomponenten höher als im benignen Gewebe. Der Median war in der Tumorgewebegruppe im Zellkern und Zytoplasma höher und gleich bei der Zellmembran.

### III.2.2 Vergleich der IGF-1R-Expression in den Subkomponenten der Zelle zwischen benignem, M0- und M1-Gewebe

#### III.2.2.1 IGF-1R-Zellkern-Expression

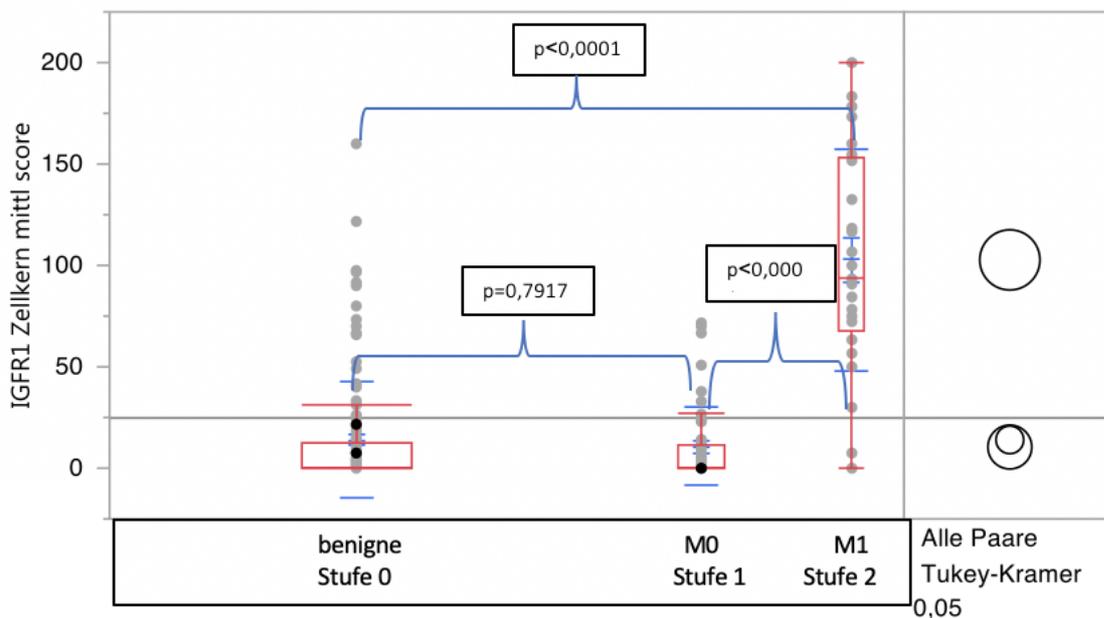


Abbildung 16: Vergleich des Expressionsverhaltens des IGF-1R-Zellkerns bei benignem (Stufe 0), M0- (Stufe 1) und M1- (Stufe 2)-Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer

Tabelle 11: Expressionsverhalten des IGF-1R im Zellkern der prostatistischen Zellen bei benignem (Stufe 0), M0- (Stufe 1)- und M1-(Stufe 2)-Gewebe.

Stufe	Gruppe	Anzahl	Median
0	B	118	0
1	B	47	0
2	A	25	93,34

Die Analyse des Expressionsverhaltens des IGF-1R im Zellkern der prostatistischen Zellen wies folgende Unterschiede zwischen benignem, M0- und M1-Gewebe auf: Die IGF-1R-Expression ergab keinen signifikanten Unterschied zwischen dem benignem und dem M0-Gewebe ( $p=0,7917$ ), während die Expression des M1-Gewebes signifikant höher war als die des benignen ( $p<0,0001$ ) und des M0-Gewebes ( $p<0,0001$ ). Nach Tukey Kramer-Paaren bilden somit das benigne und das M0-Gewebe eine homogene Gruppe und das M1-Gewebe eine homogene Gruppe.

### III.2.2.2 IGF-1R-Zytoplasma-Expression

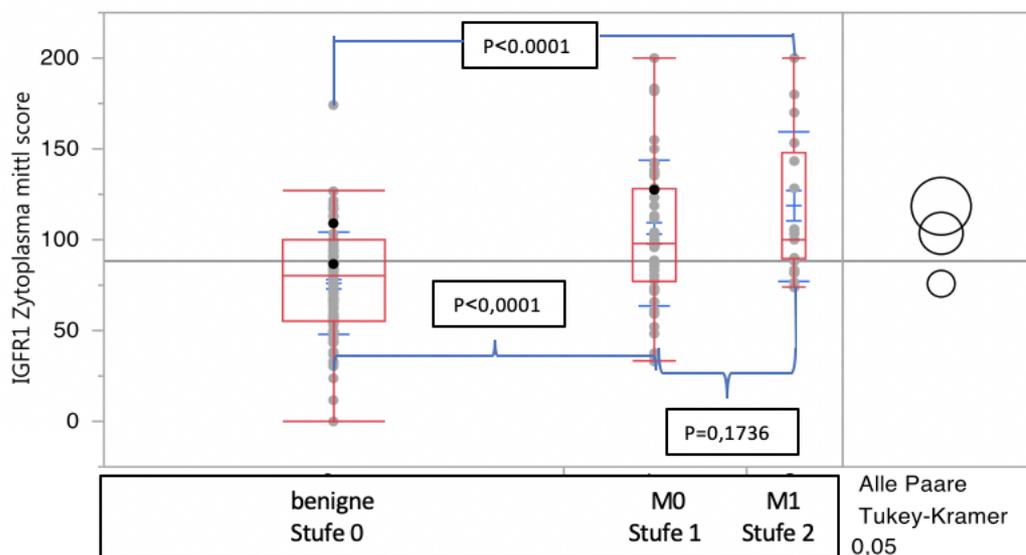


Abbildung 17: Vergleich des Expressionsverhaltens des IGF-1R-Zytoplasma bei benignem (Stufe 0), M0- (Stufe 1)- und M1-(Stufe 2)-Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer

Tabelle 12: Expressionsverhalten des IGF-1R im Zytoplasma bei benignem (Stufe 0), M0- (Stufe 1)- und M1-(Stufe 2)-Gewebe sowie Paarung nach Tukey-Kramer.

Stufe	Gruppe	Anzahl	Median
0	B	118	80,525
1	A	47	98,33
2	A	25	100

Die Analyse des Expressionsverhaltens des IGF-1R im Zellkern der prostatistischen Zellen zeigte folgende Unterschiede zwischen benignem ( $p < 0,0001$ ) und M0- und ( $p < 0,0001$ ) M1-Gewebe:

Das benigne Gewebe hat eine signifikant niedrigere Expression des IGF-1R im Zytoplasma als das M0- und M1-Gewebe, während das M0- und M1-Gewebe keine signifikanten Unterschiede bei der Expression des IGF-1R im Zytoplasma aufweisen ( $p = 0,1736$ ). Somit bilden nach Tukey Kramer-Paaren das M0- und M1-Gewebe eine homogene Gruppe und das benigne Gewebe eine homogene Gruppe.

### III.2.2.3 IGF-1R-Zellmembran-Expression

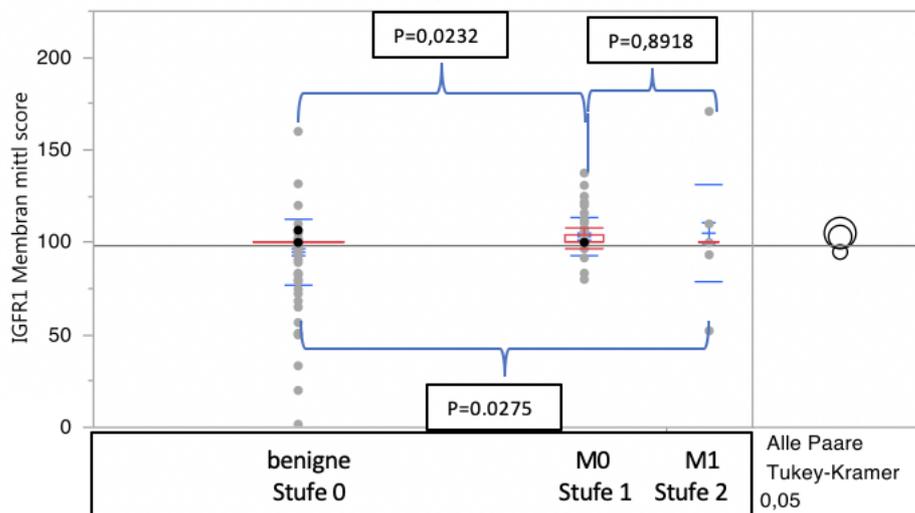


Abbildung 18: Vergleich des Expressionsverhaltens des IGFR1 im Zellmembran bei benignem (Stufe 0), M0-(Stufe 1)- und M1- (Stufe 2)-Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer

Tabelle 13: Expressionsverhalten der IGF-1R-Membran bei benignem (Stufe 0), M0- (Stufe 1)- und M1- (Stufe 2)-Gewebe sowie Paarung nach Tukey-Kramer

Stufe	Gruppe	Anzahl	Median
0	B	118	100
1	A	47	100
2	A	25	100

Die Analyse des Expressionsverhaltens des IGF-1R in der Zellmembran der prostatistischen Zellen zeigte folgende Unterschiede zwischen benignem, M0- und M1-Gewebe: Die Expression von IGF-1R war im benignem Gewebe signifikant niedriger als die im M0-( $p=0,0275$ )- und M1-( $p=0,0232$ )-Gewebe, während sie zwischen M0- und M1-Gewebe nicht signifikant unterschiedlich war ( $p=0,8918$ ). Somit bilden nach Tukey Kramer das M0- und M1-Gewebe homogene Gruppen und das benigne Gewebe eine homogene Gruppe.

### III.2.3 Vergleich der IGF-1R-Expression in den Subkomponenten der Zelle zwischen benignem, angrenzendem, Low Gleason, High Gleason, und M1-Gewebe

#### III.2.3.1 IGF-1R-Zellkern-Expression

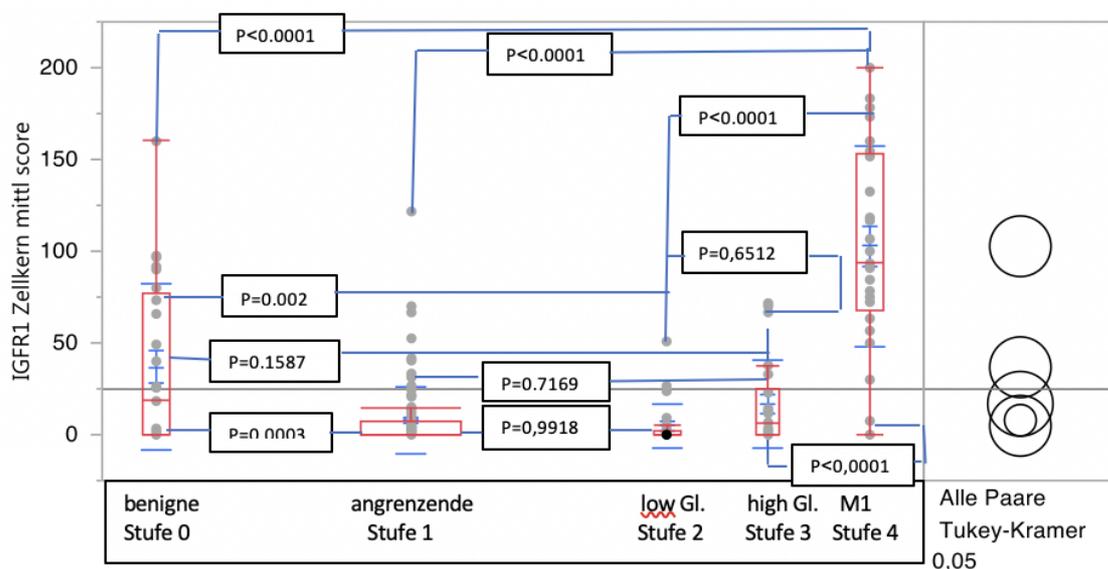


Abbildung 19: Vergleich des Expressionsverhaltens des IGF-R1 im Zellkern bei benignem (Stufe 0), angrenzenden (Stufe 1), Low Gleason (Stufe 2), High Gleason (Stufe 3) und M1-(Stufe 4)-Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer

Tabelle 14: Expressionsverhalten des IGF-1R im Zellkern bei benignem (Stufe 0), angrenzendem (Stufe 1), Low Gleason (Stufe 2), High Gleason (Stufe 3) und M1-(Stufe 4)-Gewebe sowie Paarung nach Tukey-Kramer

Stufe	Gruppe	Anzahl	Median
0	B	25	18,33
1	C	93	0
2	C	25	0
3	B und C	22	6,67
4	A	25	93,34

Die Analyse des Expressionsverhalten des IGF-1R im Zellkern der prostatistischen Zellen zeigte folgende Unterschiede zwischen benignem, angrenzendem, Low Gleason-Score, High Gleason-Score und M1-Gewebe:

Das benigne Gewebe besaß eine signifikant höhere IGF-1R-Expression als das angrenzende Gewebe ( $p=0,0003$ ). Das angrenzende Gewebe wies keine signifikant unterschiedliche IGF-1R-Expression auf als das Low ( $p=0,9918$ ) oder High ( $p=0,7169$ ) Gleason Score-Gewebe. Das maligne Gewebe hat eine signifikant höhere IGF-1R-Expression als alle anderen Gewebegruppen ( $p<0,0001$ ) und das benigne Gewebe besaß eine signifikant höhere IGF-1R-Expression als das angrenzende und Low Gleason-Gewebe ( $p=0,002$ ), während die Expression zwischen High Gleason und benignem Gewebe nicht signifikant unterschiedlich ist ( $p=0,1587$ ). Nach Tukey Kramer-Paaren bildet das angrenzende und Low Gleason-Gewebe eine homogene Gruppe, das benigne Gewebe eine homogene Gruppe und das maligne Gewebe eine homogene Gruppe, während das High Gleason-Gewebe in zwei homogenen Gruppen (B und C) vorzufinden ist.

### III.2.3.2 IGF-1R-Zytoplasma-Expression

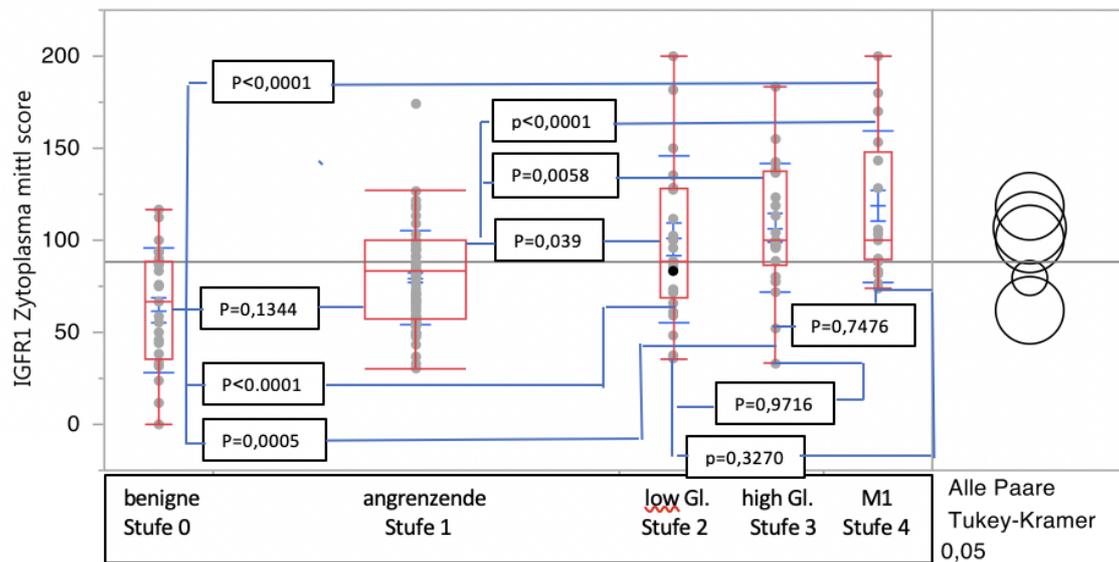


Abbildung 20: Vergleich des Expressionsverhaltens des IGF-R1 im Zytoplasma bei benignem (Stufe 0), angrenzenden (Stufe 1), Low Gleason (Stufe 2), High Gleason (Stufe 3) und M1-(Stufe 4)-Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer

Tabelle 15: Expressionsverhalten des IGF-1R-Zytoplasmas bei benignem (Stufe 0), angrenzenden (Stufe 1), Low Gleason (Stufe 2), High Gleason (Stufe 3) und M1-(Stufe 4)-Gewebe sowie Paarung nach Tukey-Kramer

Stufe	Gruppe	Anzahl	Median
0	B	25	66,65
1	B	93	83,33
2	A	25	88,67
3	A	22	100
4	A	25	100

Die Analyse des Expressionsverhaltens des IGF-1R in der Zellmembran der prostatistischen Zellen zeigte folgende Unterschiede zwischen benignem angrenzenden, Low Gleason, High Gleason und M1-Gewebe:

Es gab keine signifikanten Unterschiede in der IGF-1R-Expression zwischen benignem und angrenzendem Gewebe ( $p=0,1344$ ). Die IGF-1R-Expression war im Low Gleason-Gewebe signifikant höher als im angrenzenden ( $p=0,0393$ ) und benignen ( $p<0,0001$ ) Gewebe. Das High Gleason-Gewebe hatte eine signifikant höhere IGF-1R-Expression als das angrenzende ( $p=0,0058$ ) und benigne ( $p<0,0001$ ) Gewebe, zeigte jedoch keine signifikant unterschiedliche Expression im Vergleich zum Low Gleason- ( $p=0,9716$ )-Gewebe. Das M1-Gewebe hat eine signifikant höhere Expression als das benigne ( $p<0,0001$ ) und das angrenzende ( $p<0,0001$ ) Gewebe,

zeigte jedoch keine signifikant unterschiedliche Expression im Vergleich zum Low Gleason- ( $p=0,3270$ )- und High Gleason- ( $p=0,7476$ )-Gewebe. Somit bilden nach Tukey Kramer das benigne und angrenzende Gewebe eine homogene Gruppe, ebenso das Low Gleason, High Gleason und M1-Gewebe eine homogene Gruppe.

### III.2.3.3. IGF1R Zellmembran Expression

Die Analyse des Expressionsverhaltens des IGF1R in der Zellmembran der prostatistischen Zellen hat die folgenden Unterschiede zwischen benignem, angrenzendem, low Gleason, high Gleason, und M1 Gewebe aufgewiesen:

Es gab keine signifikanten Unterschiede außer zwischen benignem und M1 Gewebe, wobei das M1 Gewebe eine signifikant höhere Expression als das benigne hat.

## III.3 Vergleich der IGF-1R-Expression in den Subkomponenten der Zelle entlang der TNM-Klassifikation

### III.3.1 Korrelation zwischen TNM-Stadium und der IGF-1R-Zellkern-Expression

#### III.3.1.1 IGF-1R-Zellkern-Expression nach T-Stadium

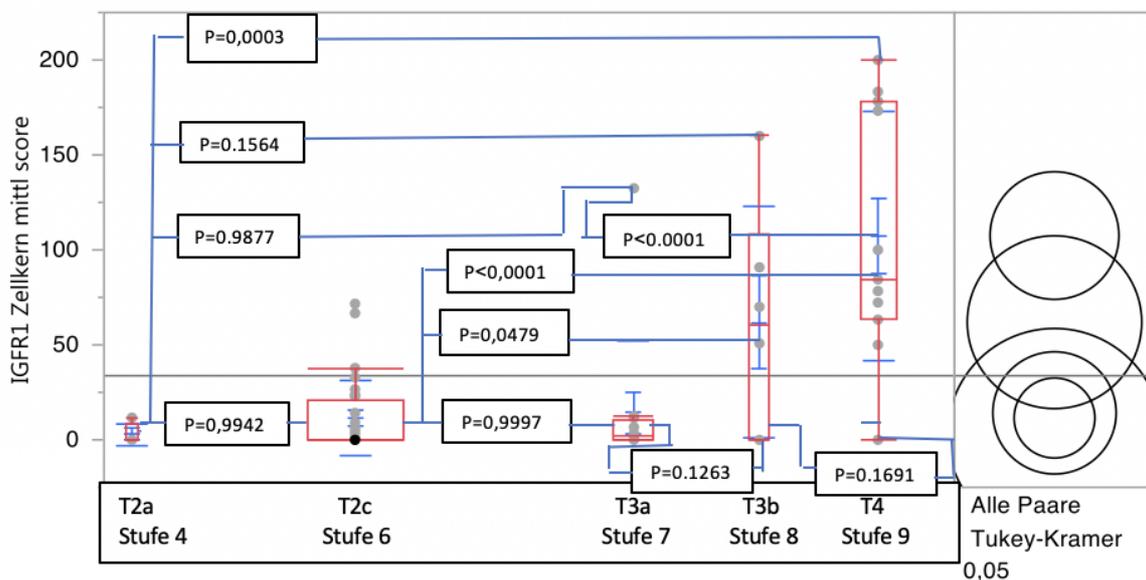


Abbildung 21: Vergleich des Expressionsverhaltens des IGF-R1 im Zellkern bei den Tumorstadien T2a, (Stufe 4) T2c (Stufe 6), T3a (Stufe 7), T3b (Stufe 8) und T4 (Stufe 9) sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer

Tabelle 16: Expressionsverhalten des IGF-1R-Zellkerns für die Tumorstadien T2a, (Stufe 4) T2c (Stufe 6), T3a (Stufe 7), T3b (Stufe 8) und T4 (Stufe 9) sowie Paarung nach Tukey Kramer.

Stufe	Gruppe	Anzahl	Median
4	B und C	4	0
6	C	28	0
7	B und C	12	1,76
8	A und B	6	60,42
9	A	11	84,45

Die Analyse des Expressionsverhaltens des IGF-1R-Zellkerns der prostatistischen Zellen wies folgende Unterschiede zwischen den einzelnen Tumorstadien auf: Beim Gewebe im T2a-Stadium gab es keinen signifikanten Unterschied zum T2c- ( $p=0,9942$ ), T3a- ( $p=0,9877$ ) und T3b- ( $p=0,1564$ )-Stadium. Das T4- ( $p=0,0003$ )-Stadium hatte eine signifikant höhere IGF-1R-Expression. Das T2c-Stadium besaß keine signifikant andere IGF-1R-Expression als das T3a- ( $p=0,9997$ )-Stadium, jedoch eine signifikant niedrigere Expression als das T3b- ( $p=0,0479$ )- und T4- ( $p<0,0001$ )-Stadium.

Das T3a zeigte keinen signifikanten Unterschied zum T3b- ( $p=0,1263$ )-Stadium, jedoch eine signifikant niedrigere IGF-R1-Expression als das T4-Stadium ( $p<0,0001$ ). Das T3b- und T4- ( $p=0,1691$ )-Stadium zeigten keine signifikanten Unterschiede in der IGF-1R-Expression. Nach Tukey Kramer kamen folgende Gruppen zustande: Gruppe C besteht aus dem T2a-, T2c- und T3a-Stadium. Gruppe B besteht aus dem T2a-, T3a-, und T3b-Stadium und Gruppe A aus dem T3b- und T4-Stadium.

### III.3.1.2 IGF-R1-Zellkern-Expression mittlerer Score nach N-Stadium

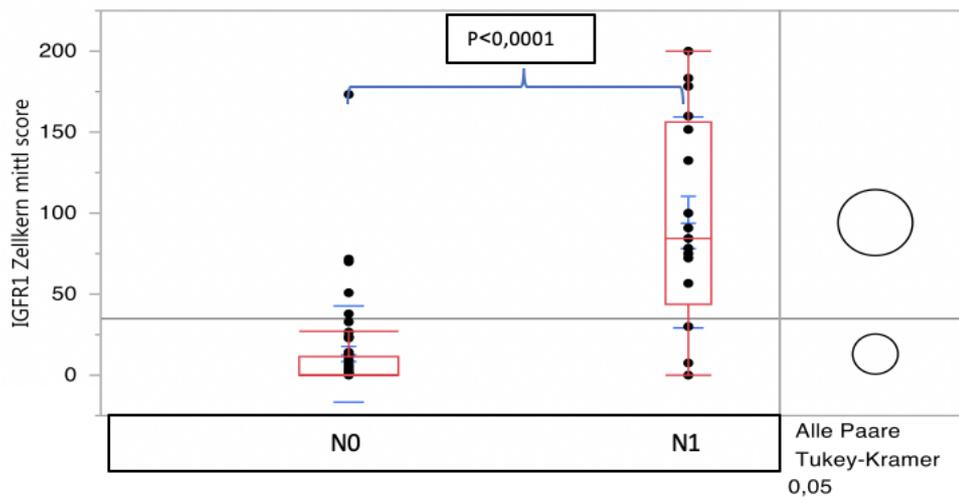


Abbildung 22: Vergleich des Expressionsverhaltens des IGF-R1 im Zellkern bei regionalen Lymphknoten N0 und N1 sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer

Wie Abbildung 22 zu entnehmen ist, hat ein Tumor mit nodalen Metastasen einen signifikant höheren ( $p = < 0,0001$ ) IGF-1R-Score als ein Tumor ohne Metastasen. Der Median und der Mittelwert sind bei N1 (Median: 84.45, Mittelwert: 15.73) ebenfalls höher als bei N0 (Median: 0 Mittelwert: 4.40).

### III.3.1.2 IGF-R1-Zellkern-Expression nach M-Stadium

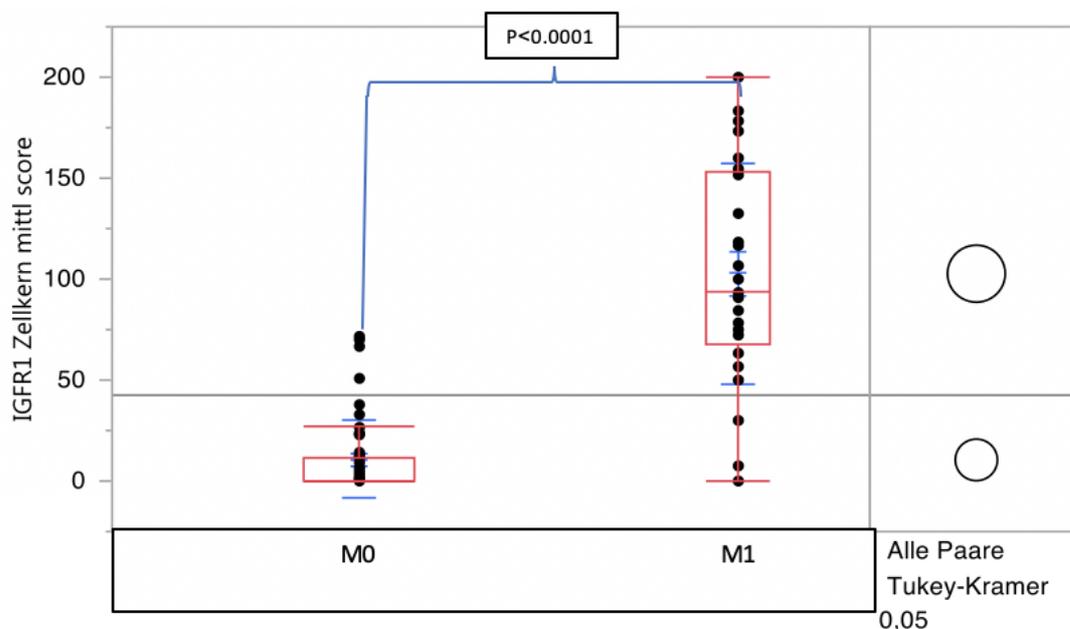


Abbildung 23: Vergleich des Expressionsverhaltens des IGF-R1 im Zellkern bei M0 und M1 Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer

Ebenso hat ein Tumor im M1-Stadium einen signifikant höheren ( $P = <0,0001$ ) IGF-1R-Zellkern-Score als im M0-Stadium. Der Median und der Mittelwert sind bei M1 (Median: 93.34, Mittelwert: 10.86) ebenfalls signifikant höher als bei M0 (Median: 0 Mittelwert: 2,81).

### III.3.2 Korrelation zwischen TNM-Stadium und der IGF-1R-Zytoplasma-Expression

#### III.3.2.1 IGF-1R-Zytoplasma-Expression nach T-Stadium

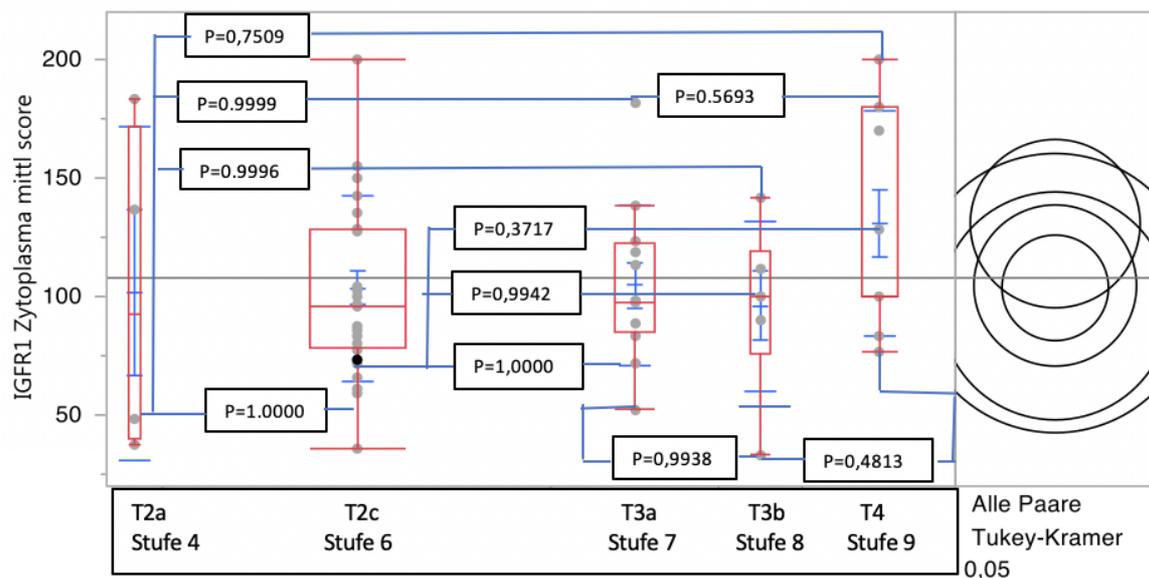


Abbildung 24: Vergleich des Expressionsverhaltens des IGF-R1 im Zytoplasma bei den Stadien T2a, (Stufe 4) T2c (Stufe 6), T3a (Stufe 7), T3b (Stufe 8) und T4 (Stufe 9) sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer

Tabelle 17: Expressionsverhalten des IGF-1R Zytoplasmas für die Tumorstadien T2a, (Stufe 4) T2c (Stufe 6), T3a (Stufe 7), T3b (Stufe 8) und T4 (Stufe 9) sowie Paarung nach Tukey Kramer

Stufe	Gruppe	Stufe	Anzahl	Median
4	A	4	4	92,49
6	A	6	28	96,24
7	A	7	12	97,915
8	A	8	6	100
9	A	9	11	100

Die Analyse des Expressionsverhaltens des IGF-1R-Zytoplasma der prostatichen Zellen zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen der IGF-1R-Expression im

Zytoplasma und dem T-Stadium. Alle T-Stadien befanden sich in derselben Tukey Kramer-Gruppe.

### III.3.2.2. IGF-R1-Zytoplasma-Expression nach N-Stadium

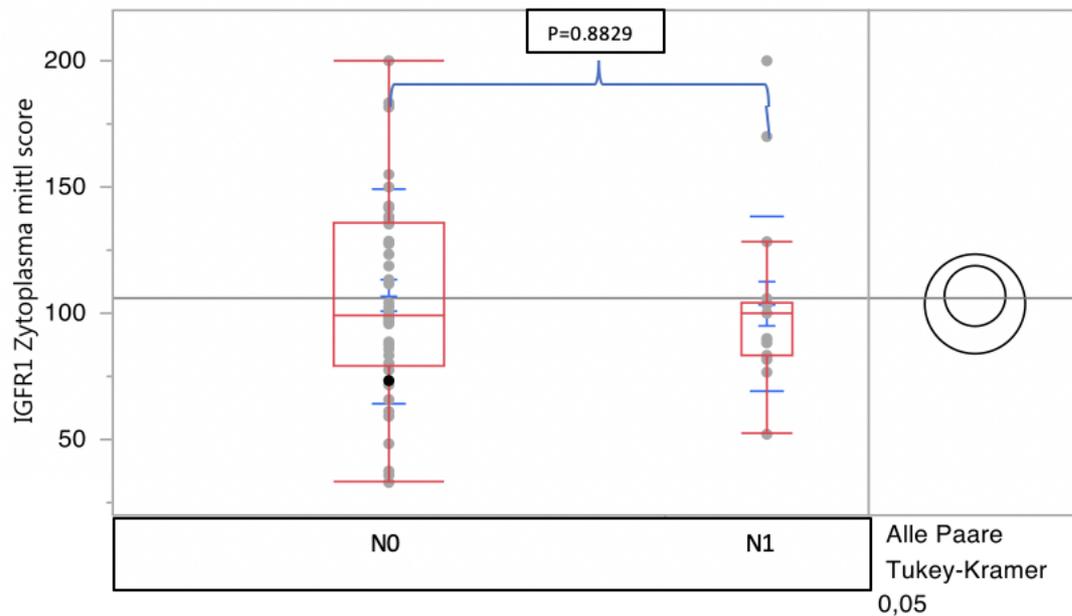


Abbildung 25: Vergleich des Expressionsverhaltens des IGF-R1 im Zytoplasma bei regionalen Lymphknoten N0 und N1 sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer

Das Expressionsverhalten des IGF-1R im Zytoplasma des prostatichen Epithels wies keine signifikanten Unterschiede ( $P=0,8829$ ) der IGF-1R-Expression hinsichtlich der N-Stadien auf. Der Median ( $N0=99.17$   $N1= 100$ ) und der Mittelwert ( $N0= 106,85$   $N1= 103,70$ ) ähnelten sich ebenfalls.

### III.3.2.3 IGF-R1-Zytoplasma-Expression nach M-Stadium

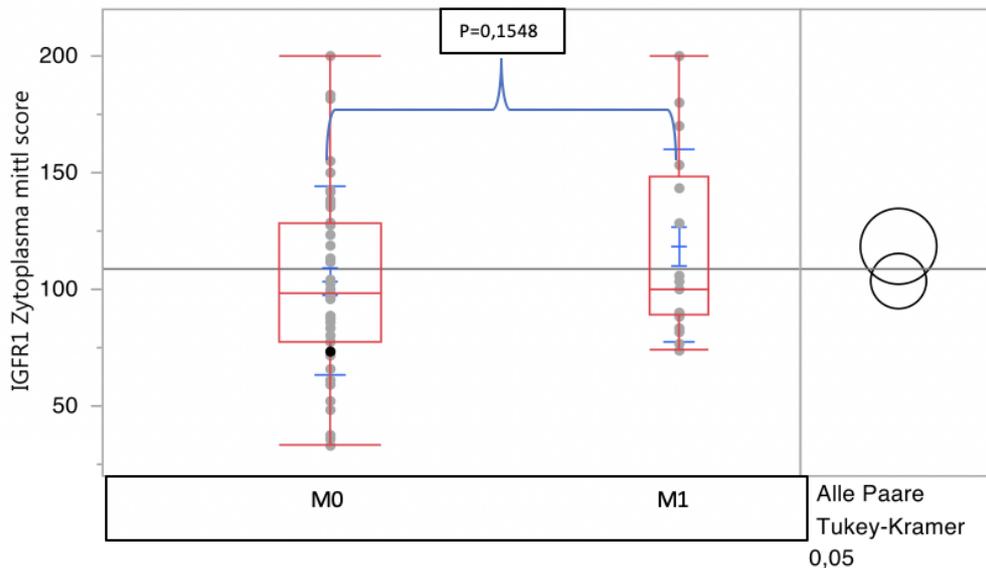


Abbildung 26: Vergleich des Expressionsverhaltens des IGF-R1-Zytoplasmas bei M0 und M1 Gewebe Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer

Das Expressionsverhalten des IGF-1R im Zytoplasma des prostatichen Epithels wies keine signifikanten Unterschiede ( $p=0,1548$ ) der IGF-1R-Expression mit Blick auf die M-Stadien auf. Der Median war ebenfalls ähnlich ( $N_0=98,33$   $N_1= 100$ ) und der Mittelwert höher bei  $N_1$  (118,45) als bei  $N_0$  (103,56).

### III.3.3. IGF-1R-Zellmembran-Expression nach TNM-Stadium

Hierbei wurden keine Zusammenhänge zwischen dem T-Stadium, N-Stadium, M-Stadium und dem IGF-1R-Score in der Membran gefunden.

### III.4. Vergleich der ER- $\beta$ -Expression in den Subkomponenten der Zelle entlang der Tumorprogression

#### III.3.1. Benignes und malignes Gewebe

Der Vergleich zwischen benignem und malignem Tumorgewebe mit Blick auf die ER- $\beta$ -Expression in den einzelnen Bestandteilen der Zelle hat das folgende Expressionsverhalten ergeben:

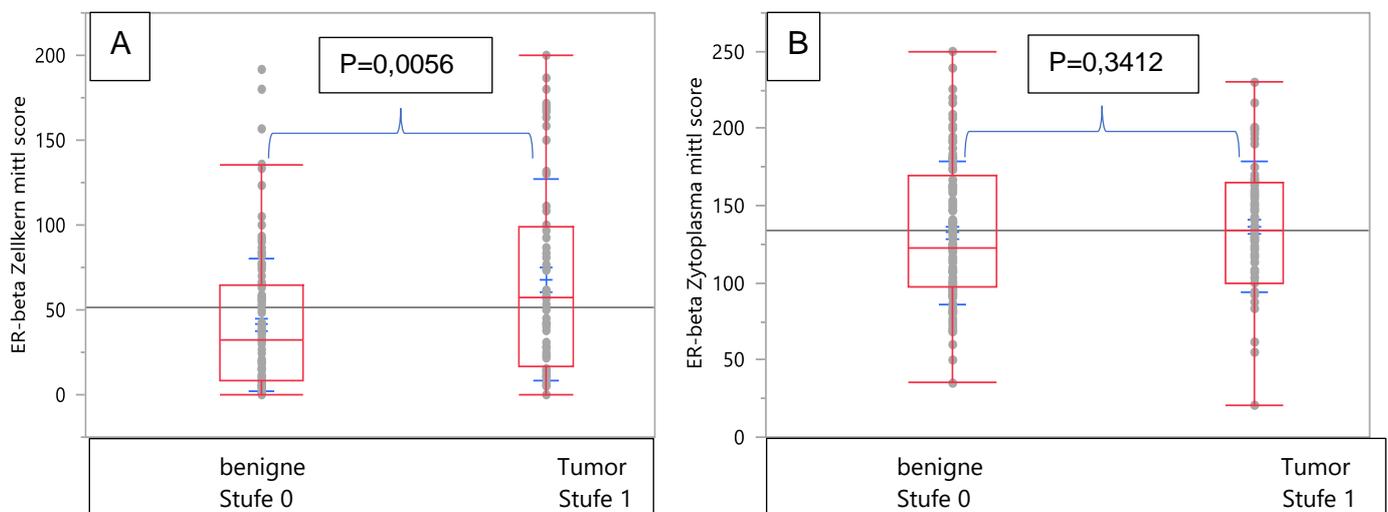


Abbildung 27: Vergleich des Expressionsverhaltens des ER- $\beta$  Zellkerns (A)/Zytoplasma(B) bei benignem und tumorösen Gewebe

Tabelle 18: Mediane für den ER- $\beta$ -Zellkern und Zytoplasma-Expression in benignem und Tumorgewebe

Stufe	ER- $\beta$ -Zellkern-Median	ER- $\beta$ -Zytoplasma-Median
<b>Benign</b>	31.83	122.86
<b>Tumor</b>	56.86	134.56

Es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen benignem und malignem Gewebe im Zytoplasma ( $p=0,3412$ ). Jedoch ist die ER- $\beta$ -Expression im Zellkern ( $p=0,0056$ ) in malignem Gewebe signifikant höher als in benignem. Zudem war der Median für die ER- $\beta$ -Expression in malignem Gewebe bei Zellkern und Zytoplasma höher als in benignem.

### III.4.2 Vergleich der ER-β-Expression in den Subkomponenten der Zelle zwischen benignem, M0- und M1-Gewebe

#### III.4.2.1 ER-β-Zellkern-Expression

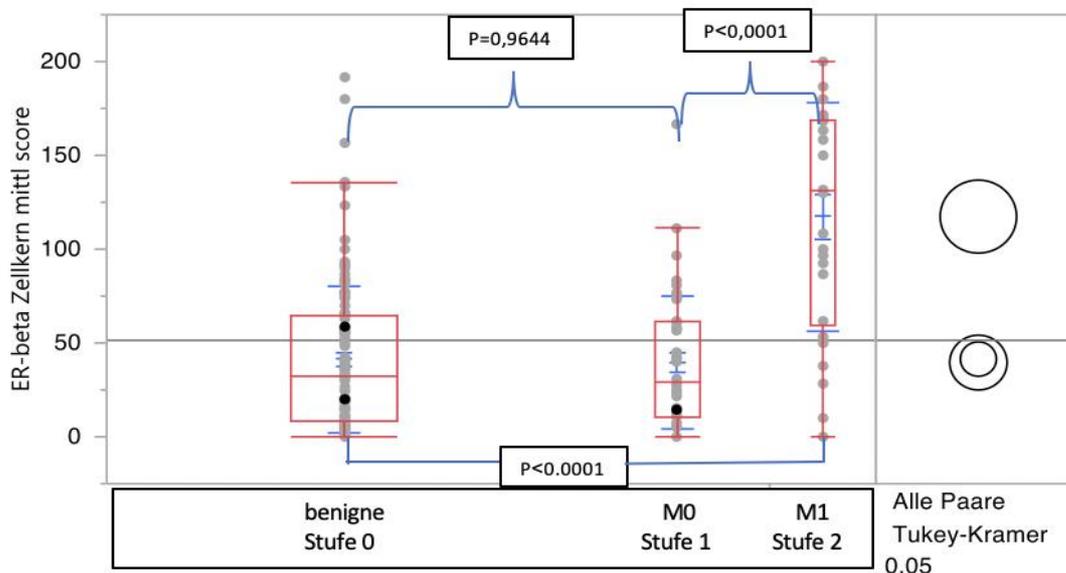


Abbildung 28: Vergleich des Expressionsverhaltens des ER-β im Zellkern bei benignem (Stufe 0), M0- (Stufe 1)- und M1- (Stufe 2)-Tumor-Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer

Tabelle 19: Expressionsverhalten des ER-β im Zellkern bei benignem, M0- und M1-Tumor-Gewebe sowie Paarung nach Tukey Kramer

Stufe	Gruppe	Anzahl	Median
0	B	117	31,83
1	B	46	29,25
2	A	26	130,835

Die Analyse des Expressionsverhaltens des ER-β im Zellkern der prostatistischen Zellen wies die folgenden Unterschiede zwischen benignem, M0- und M1-Gewebe auf:

Das M1-Gewebe hatte eine signifikant höhere ER-β-Expression als das benigne ( $p < 0,0001$ ) und das M0- ( $p < 0,0001$ )-Gewebe, während das M0- und das benigne Gewebe keinen signifikanten Unterschied in der ER-β-Expression aufwiesen ( $p = 0,9644$ ). Somit befinden sich nach Tukey Kramer das benigne und das M0-Gewebe in einer homogenen Gruppe, das M1-Gewebe bildet seine eigene homogene Gruppe.

### III.4.2.2 ER-β-Zytoplasma-Expression

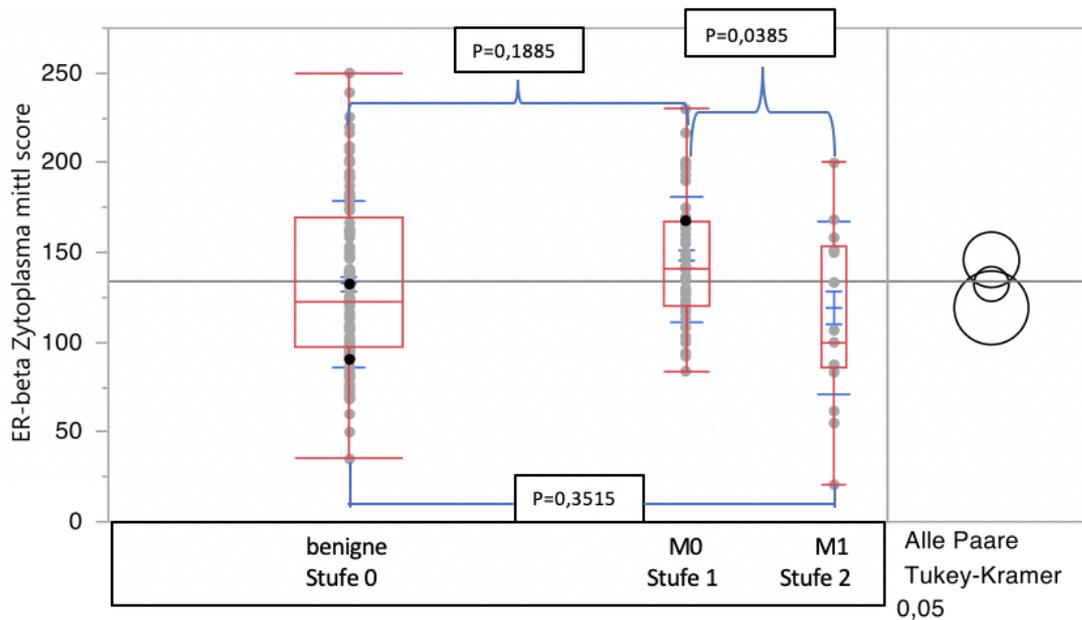


Abbildung 29: Vergleich des Expressionsverhaltens des ER-β-Zytoplasmas bei benignem, M0- und M1-Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer

Tabelle 20: Expressionsverhalten des ER-β im Zytoplasma bei benignem, M0- und M1-Tumor-Gewebe sowie Paarung nach Tukey Kramer

Stufe	Gruppe	Anzahl	Median
0	A und B	117	122,86
1	A	46	141,085
2	B	26	100

Die Analyse des Expressionsverhaltens des ER-β im Zytoplasma der prostatistischen Zellen wies die folgenden Unterschiede zwischen benignem, M0- und M1-Gewebe auf:

Das M1-Gewebe ( $p=0,0385$ ) hatte eine signifikant niedrigere ER-β-Expression als das M0-Gewebe, besaß jedoch keine signifikant unterschiedliche Expression zum benignen Gewebe ( $p=0,3515$ ). Die ER-β-Expression zwischen benignem und M0-Gewebe zeigte sich nicht signifikant unterschiedlich ( $p=0,1885$ ). Somit bildet nach Tukey Kramer das M0-Gewebe eine homogene Gruppe, das M1-Gewebe eine homogene Gruppe und das benigne Gewebe ist in beiden dieser homogenen Gruppen vertreten.

III.4.3. Vergleich der ER- $\beta$ -Expression in den Subkomponenten der Zelle zwischen benignem, angrenzendem, Low Gleason-, High Gleason- und M1-Gewebe  
 III.4.3.1. ER- $\beta$ -Zellkerns-Expression

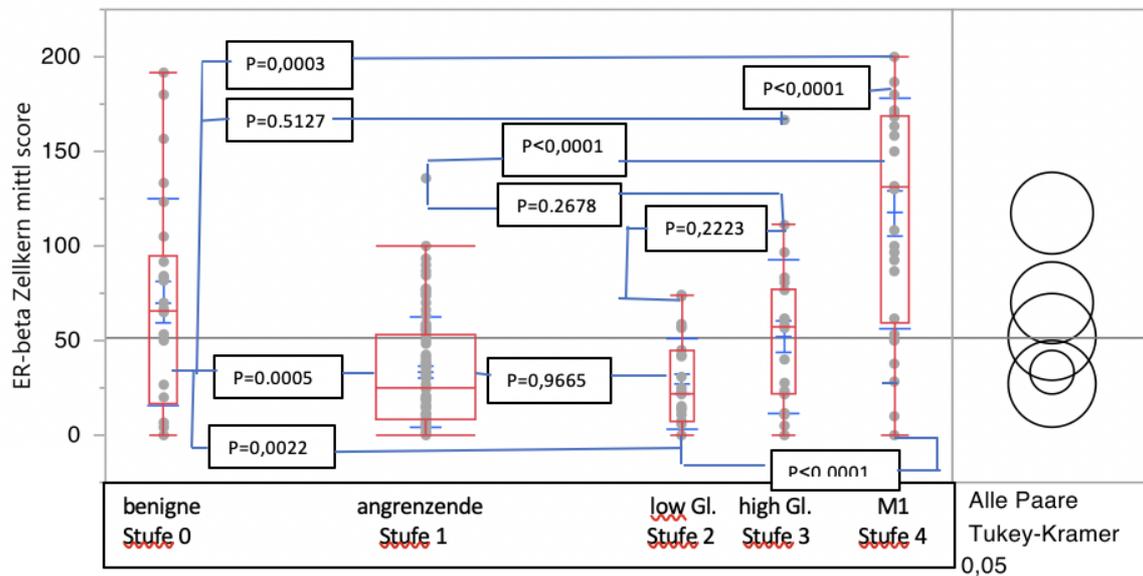


Abbildung 30: Vergleich des Expressionsverhaltens des ER- $\beta$  im Zellkern bei benignem (Stufe 0), angrenzenden (Stufe 1), Low Gleason-(Stufe 2)-, High Gleason- (Stufe 3)- und M1-(Stufe 4)-Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer

Tabelle 21: Expressionsverhalten des ER- $\beta$  im Zellkern bei benignem (Stufe 0), angrenzenden (Stufe 1), Low Gleason- (Stufe 2)-, High Gleason- (Stufe 3)- und M1-(Stufe 4)-Gewebe sowie Paarung nach Tukey Kramer

Stufe	Gruppe	Anzahl	Median
0	B	26	65,835
1	C	91	24,59
2	C	23	21,67
3	B und C	23	57,09
4	A	26	130,835

Die Analyse des Expressionsverhaltens des ER- $\beta$  im Zellkern der prostatistischen Zellen wies die folgenden Unterschiede zwischen benignem, angrenzendem, Low Gleason-, High Gleason- und M1-Gewebe aufgewiesen:

Das benigne Gewebe besaß eine signifikant höhere ER- $\beta$ -Expression als das angrenzende ( $p=0,0005$ ) und das Low Gleason-Gewebe ( $p=0,0022$ ). Das angrenzende und das Low Gleason-Gewebe haben keine signifikant unterschiedliche ER- $\beta$ -Expression ( $p=0,9665$ ). Das High Gleason-Gewebe zeigte keine signifikanten Unterschiede in der ER- $\beta$ -Expression, außer zum M1-Gewebe ( $p<0,0001$ ). Das M1-Gewebe hatte eine signifikant höhere ER- $\beta$ -Expression als alle anderen

Gewebetypen. Laut Tukey Kramer ergeben sich die folgenden Gruppen: Das angrenzende und Low Gleason-Gewebe bilden eine homogene Gruppe. Das benigne Gewebe bildet eine homogene Gruppe und das M1-Gewebe eine homogene Gruppe, während das High Gleason-Gewebe in zwei Gruppen (B und C) vertreten ist.

### III.4.3.2. ER-β-Zytoplasma-Expression

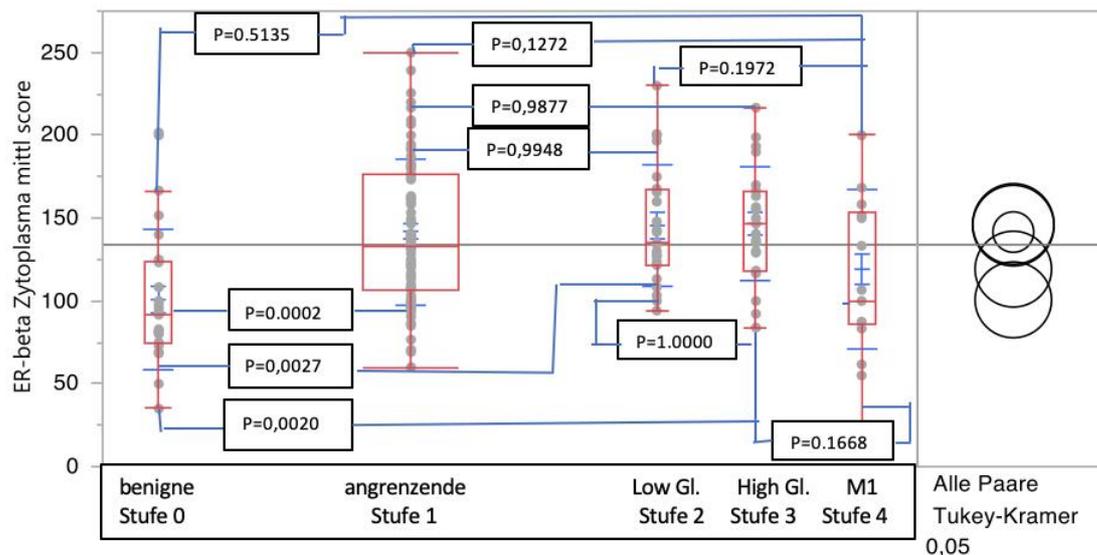


Abbildung 31: Vergleich des Expressionsverhaltens des ER-β im Zytoplasma bei benignem (Stufe 0), angrenzenden (Stufe 1), Low Gleason (Stufe 2), High Gleason (Stufe 3) und M1-(Stufe 4)-Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer

Tabelle 22: Expressionsverhalten des ER-β im Zytoplasma bei benignem (Stufe 0), angrenzendem (Stufe 1), Low Gleason (Stufe 2), High Gleason (Stufe 3) und M1-(Stufe 4)-Gewebe sowie Paarung nach Tukey Kramer

Stufe	Gruppe	Anzahl	Median
0	B	26	92,085
1	A	91	132,5
2	A	23	135
3	A	23	146,67
4	A und B	26	100

Die Analyse des Expressionsverhaltens des ER-β im Zytoplasma der prostatistischen Zellen hat die folgenden Unterschiede zwischen benignem, angrenzendem, Low Gleason, High Gleason und M1-Gewebe gezeigt:

Das benigne Gewebe besaß eine signifikant niedrigere ER-β-Expression als das angrenzende ( $p=0,0002$ ), Low- ( $p=0,0027$ )- und High ( $p=0,0020$ ) Gleason-Gewebe. Zwischen dem M1- und dem benignen ( $p=0,5135$ ) sowie allen anderen Geweben gab

es keine signifikanten Unterschiede. Somit befinden sich alle Gewebearten – bis auf das benigne – in der Tukey Kramer-Gruppe A, während das benigne Gewebe die Gruppe B bildet. Das M1-Gewebe ist in Gruppe A sowie in Gruppe B vorhanden.

### III.5 Vergleich der ER-β-Expression in den Subkomponenten der Zelle entlang der TNM-Klassifikation

#### III.5.1 Korrelation zwischen TNM-Stadium und der ER-β-Zellkern-Expression

##### III.5.1.1 ER-β-Zellkern-Expression nach T-Stadium

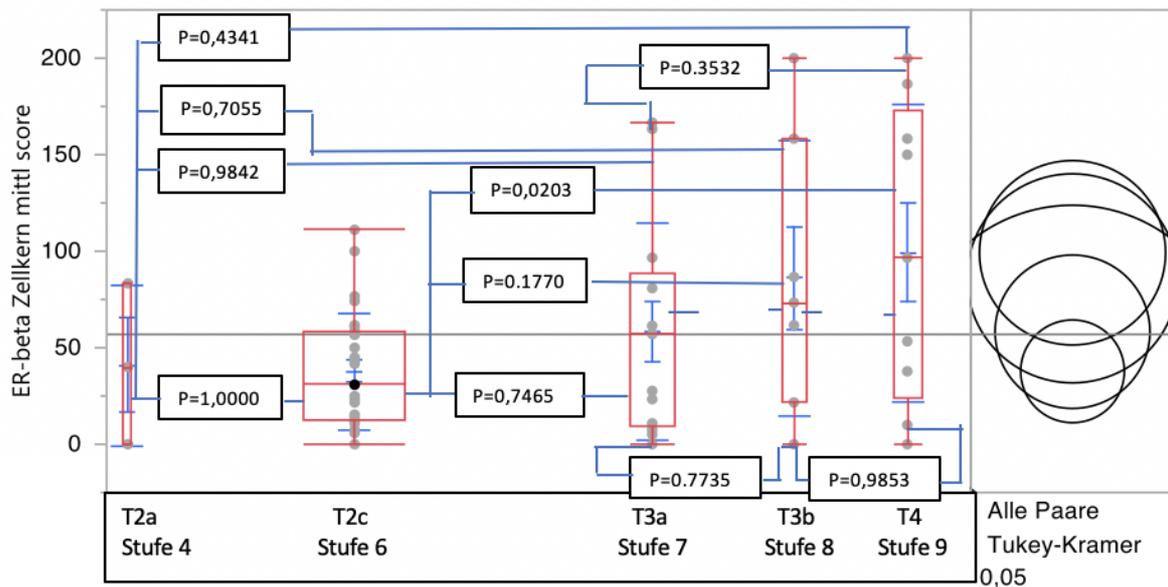


Abbildung 32: Vergleich des Expressionsverhalten des ER-β im Zellkern bei den Tumorstadien T2a, (Stufe 4) T2c (Stufe 6), T3a (Stufe 7), T3b (Stufe 8) und T4 (Stufe 9) sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer

Tabelle 23: Expressionsverhalten des ER-β im Zellkern für die Tumorstadien T2a, (Stufe 4) T2c (Stufe 6), T3a (Stufe 7), T3b (Stufe 8) und T4 (Stufe 9) sowie die Paarung nach Tukey-Kramer

Stufe	Gruppe	Anzahl	Median
4	A und B	3	40
6	B	29	30,84
7	A und B	13	57,09
8	A und B	7	73,34
9	A	9	96,67

Die Analyse des Expressionsverhaltens des ER-β im Zellkern der prostatistischen Zellen wies die folgenden Unterschiede zwischen den einzelnen T Stadien auf:

Es gab keine signifikanten Unterschiede bei der ER- $\beta$ -Expression im Hinblick auf die T-Stadien außer zwischen T2c und T4 ( $p=0,0203$ ), wobei T4 eine signifikant höhere ER- $\beta$ -Expression aufwies als das T2c-Stadium. Somit befinden sich nach Tukey Kramer alle Stadien außer T2c in Gruppe A und alle Stadien – außer T4 – in der Gruppe B.

### III.5.1.2. ER- $\beta$ -Zellkern-Expression nach N-Stadium

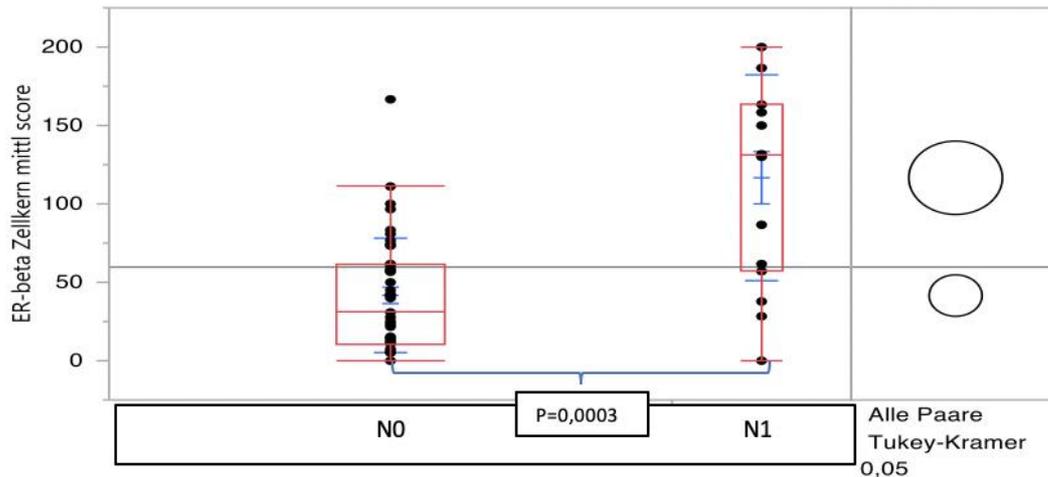


Abbildung 33: Vergleich des Expressionsverhaltens des ER- $\beta$  im Zellkern bei den regionalen Lymphknoten N0 und N1 sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer

Das Expressionsverhalten des ER- $\beta$  im Zellkern des prostatistischen Epithels besaß eine signifikant höhere ( $P=0,0003$ ) ER- $\beta$ -Expression im Zellkern des Gewebes mit nodalen Metastasen als in denen ohne. Der Median war bei N0 (30,84) ebenfalls höher als bei N1 (131,67).

### III.5.1.3. ER-β Zellkern-Expression nach M-Stadium

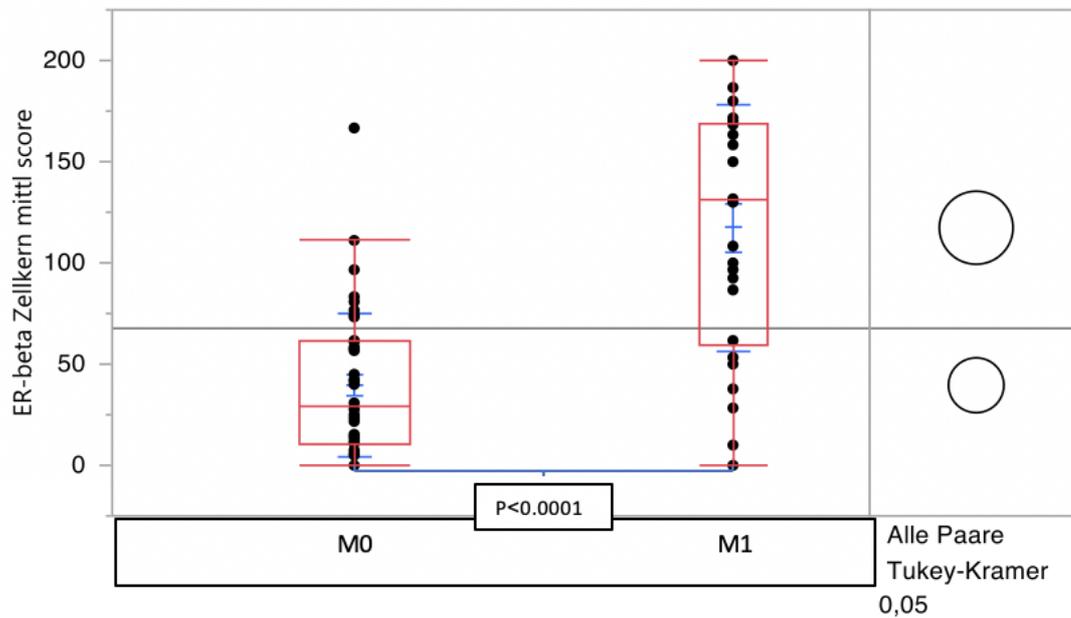


Abbildung 34: Vergleich des Expressionsverhaltens des ER-β im Zellkern bei M0 und M1 Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer

Das Expressionsverhalten des ER-β im Zellkern des prostatichen Epithels zeigte ebenfalls eine signifikant höhere ER-β-Expression im Zellkern des Gewebes mit nodalen Metastasen als in denen ohne. Der Median lag bei M0 (29,25) ebenfalls höher als bei M1 (130,84).

### III.5.2 Korrelation zwischen TNM-Stadium und der ER-β-Zytoplasma-Expression

#### III.5.2.1. Die Expression des ER-β im Zytoplasma mittlerer Score nach TNM-Stadium

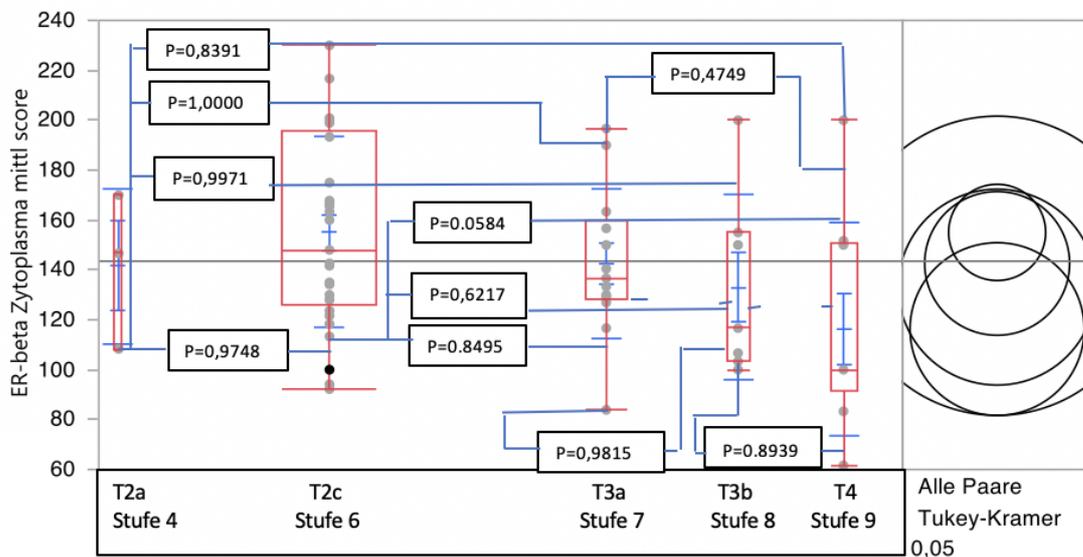


Abbildung 34: Vergleich des Expressionsverhaltens des ER-β im Zytoplasma bei den Tumorstadien T2a, (Stufe 4) T2c (Stufe 6), T3a (Stufe 7), T3b (Stufe 8) und T4 (Stufe 9) sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer

Tabelle 24: Expressionsverhalten des ER-β im Zytoplasma für die Primärtumorstadien T2a, (Stufe 4) T2c (Stufe 6), T3a (Stufe 7), T3b (Stufe 8) und T4 (Stufe 9) sowie Paarung nach Tukey Kramer

Stufe	Gruppe	Anzahl	Median
4	A	3	146,67
6	A	29	148
7	A	13	136,67
8	A	7	116,67
9	A	9	100

Die Analyse des ER-β im Zytoplasma der prostatistischen Zellen wies keine signifikanten Unterschiede auf. Alle Primärtumorstadien T befinden sich in derselben Tukey Kramer-Gruppe.

### III.5.2.2. ER-β-Zytoplasma-Expression nach N-Stadium

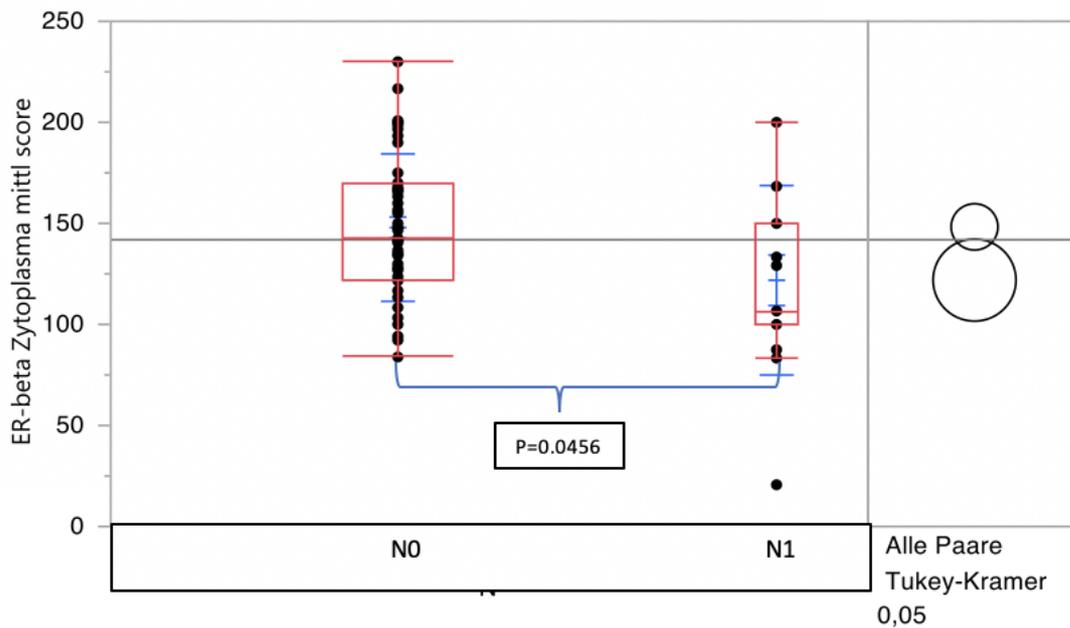


Abbildung 35: Vergleich des Expressionsverhaltens des ER-β im Zytoplasma bei den regionären Lymphknoten N0 und N1 sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer

Das Expressionsverhalten des ER-β im Zellkern des prostatischen Epithels besaß eine signifikant niedrigere ( $P=0,0456$ ) ER-β-Expression im Zytoplasma des Gewebes mit nodalen Metastasen als in denen ohne. Der Median lag bei N0 (142,62) ebenfalls höher als bei N1 (106,67).

### III.5.2.3. ER-β-Zytoplasma-Expression nach M-Stadium

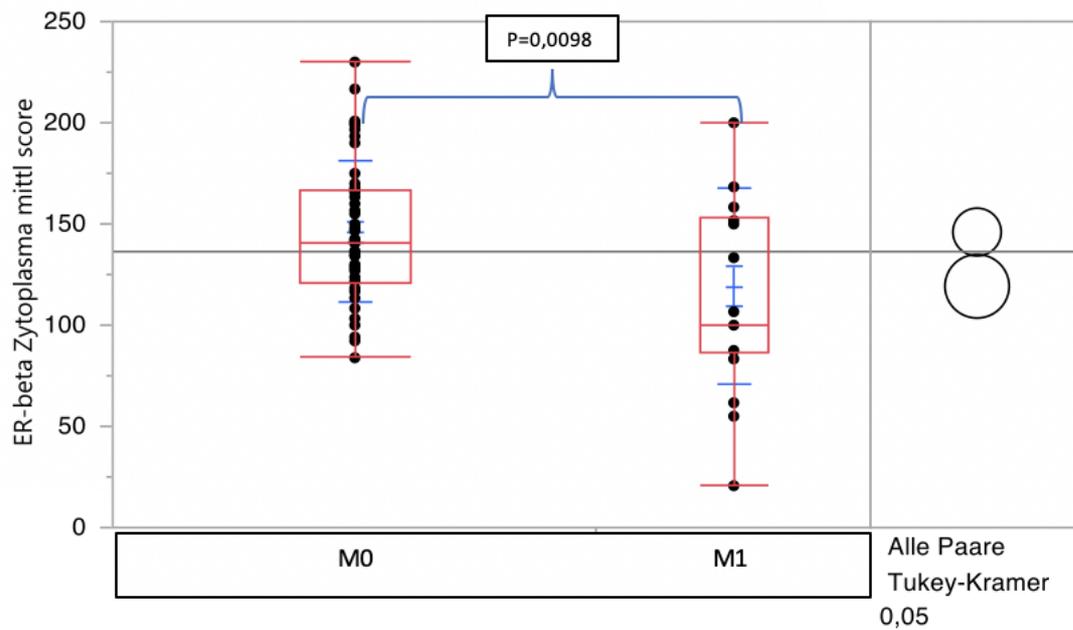


Abbildung 36: Vergleich des Expressionsverhaltens des ER-β-Zytoplasmas bei M0 und M1 Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer

Das Expressionsverhalten des ER-β im Zellkern des prostatistischen Epithels besitzt eine signifikant niedrigere ( $p=0,0098$ ) ER-β-Expression im Zellkern des Gewebes mit Metastasen als in denen ohne. Der Median war bei M0 ebenfalls höher (141,09) als bei M1 (100).

### III.6. Vergleich der IL-6R-Expression in den Subkomponenten der Zelle entlang der Tumorprogression

#### III.6.1. Benignes und malignes Gewebe

Der Vergleich zwischen benignem und malignem Tumor-Gewebe in Bezug auf die Interleukin-6R-Expression in den einzelnen Bestandteilen der Zelle ergab folgendes Expressionsverhalten:

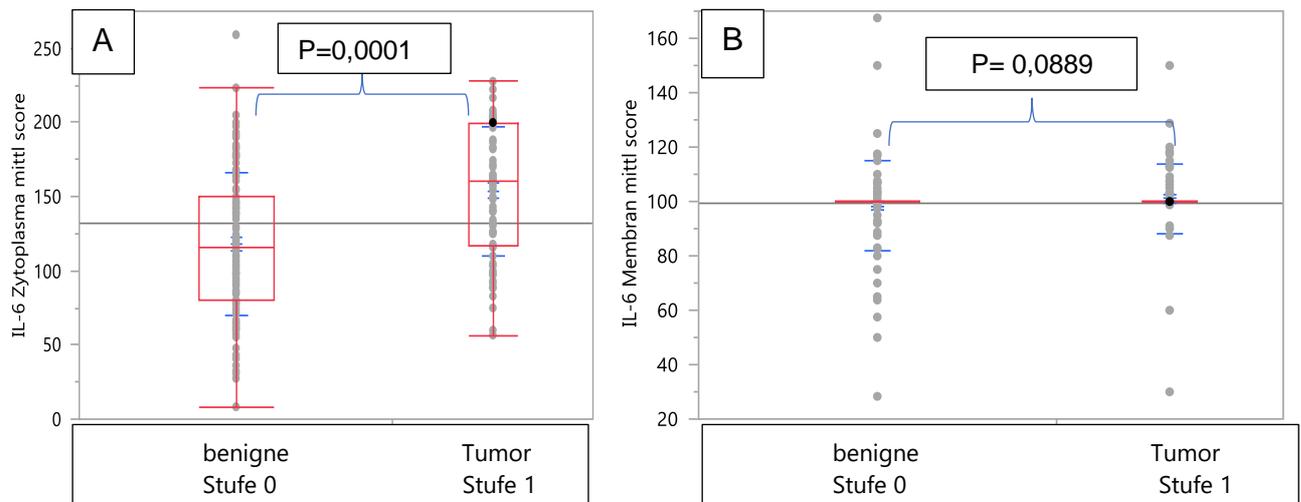


Abbildung 37: Vergleich des Expressionsverhaltens des Interleukin-6R im Zytosol/Zellmembran bei benignem und tumorösem Gewebe

Tabelle 25: Vergleich des IL-6R-Zytosols und der Zellmembran-Expression zwischen benignem und Tumorgewebe

Stufe	Interleukin-6R-Zytosol-Median	Interleukin-6R-Zellmembran-Median
Benigne	115,84	100
Tumor	160	100

Es wurde in malignem Gewebe eine signifikant höhere Interleukin-6R-Expression im Zytosol ( $p=0,0001$ ) festgestellt als in benignem Gewebe. Die Interleukin-6R-Expression in der Zellmembran ( $p=0,0889$ ) war jedoch nicht signifikant unterschiedlich. Der Median war bei der Zytosol-Interleukin-6R-Expression im Tumorgewebe höher als die im benignen, während er in der Zellmembran gleich war.

### III.6.2. Vergleich der Interleukin-6R-Expression in den Subkomponenten der Zelle zwischen benignem, M0- und M1-Gewebe

#### III.6.2.1. Interleukin-6R-Zytoplasma-Expression

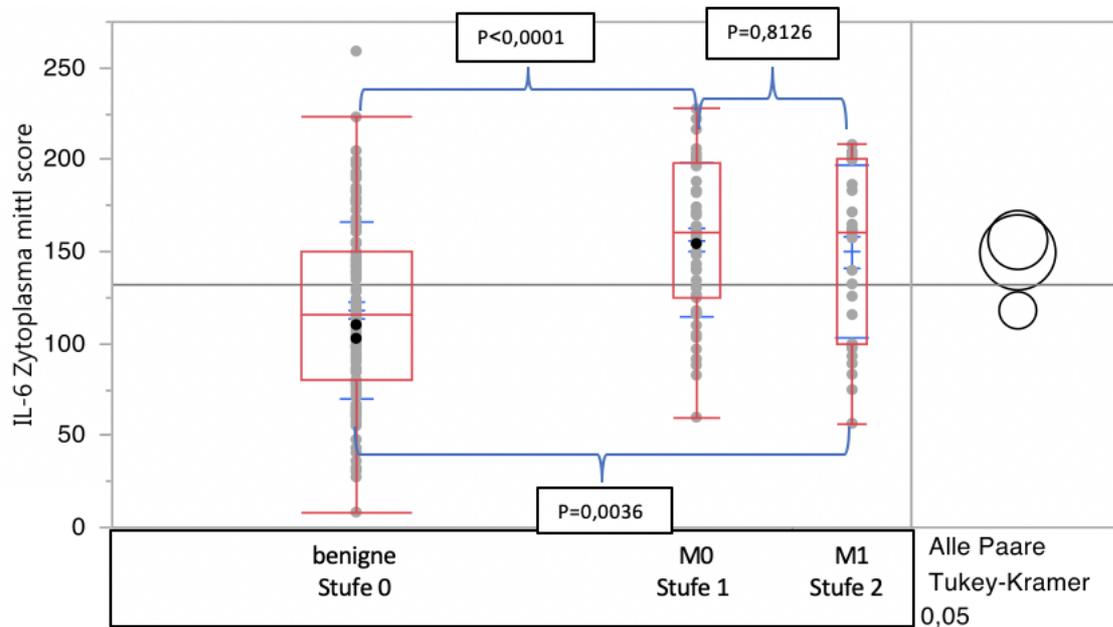


Abbildung 38: Vergleich des Expressionsverhaltens von Interleukin-6R im Zytoplasma bei benignem, M0- und M1-Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer

Tabelle 26: Expressionsverhalten des Interleukin-6R im Zytoplasma bei benignem (Stufe 0), M0 (Stufe 1) und M1 (Stufe 2) sowie Paarung nach Tukey-Kramer

Stufe	Gruppe	Anzahl	Median
0	B	118	115,84
1	A	46	160
2	A	29	160

Die Interleukin-6R-Expression in benignem Gewebe war signifikant niedriger als im M0-( $p < 0,0001$ )- und M1-( $p = 0,0036$ )-Gewebe. Zwischen M0- und M1-Gewebe gab es keinen signifikanten Unterschied ( $p = 0,8126$ ) zur Interleukin-6R-Expression. Nach Tukey Kramer bildet die benigne Gewebegruppe die homogene Gruppe B und das M0- und M1-Gewebe die homogene Gruppe A.

### III.6.2.2. Interleukin-6R-Zellmembran-Expression

Bei der Analyse der Interleukin-6R-Expression in der Zellmembran zwischen benignem, M0 und M1 sind keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gewebegruppen aufgefallen.

### III.6.3. Vergleich der IL-6R-Expression in den Subkomponenten der Zelle zwischen benignem, angrenzendem, Low Gleason-, High Gleason- und M1-Gewebe

#### III.6.3.1 Interleukin-6R-Zytoplasma-Expression

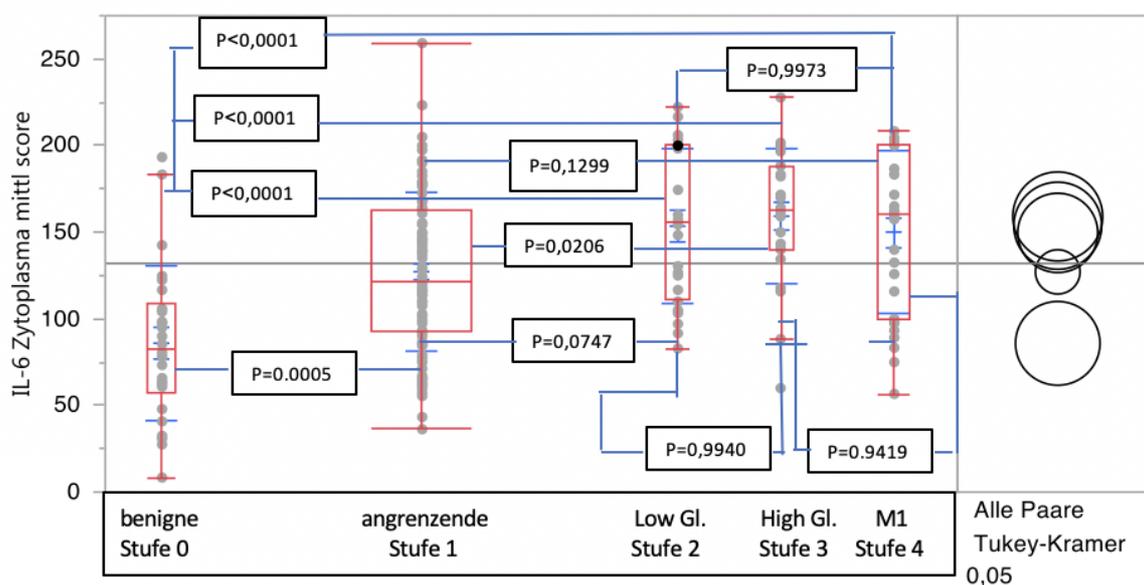


Abbildung 39: Vergleich des Expressionsverhaltens des Interleukin-6R im Zytoplasma bei benignem (Stufe 0), angrenzendem (Stufe 1), Low Gleason (Stufe 2), High Gleason (Stufe 3) und M1 (Stufe 4)-Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer

Tabelle 27: Expressionsverhalten des Interleukin-6R-Zytoplasmas bei benignem (Stufe 0), angrenzendem (Stufe 1), Low Gleason (Stufe 2), High Gleason (Stufe 3) und M1-(Stufe 4)-Gewebe sowie Paarung nach Tukey-Kramer

Stufe	Gruppe	Anzahl	Median
0	C	26	82,92
1	B	93	121,25
2	A und B	24	155,76
3	A	23	162,22
4	A und B	29	160

Die Interleukin-6R-Expression in benignem Gewebe war signifikant niedriger als die Expression der restlichen Gewebegruppen ( $p=0,0005$  oder niedriger). Zudem war die

Expression im High Gleason-Gewebe ( $p=0,0206$ ) signifikant niedriger als die im angrenzenden Gewebe. Alle anderen zeigten unter sich keine signifikanten Expressionsunterschiede. Nach Tukey Kramer stellen sich somit folgende Gruppen zusammen: In Gruppe A sind die Low Gleason-, High Gleason- und M1-Gewebe, in Gruppe B befinden sich die Low Gleason-, M1- und das angrenzende Gewebe. In Gruppe C ist das benigne Gewebe.

### III.6.3.2 Interleukin-6R-Zellmembran-Expression

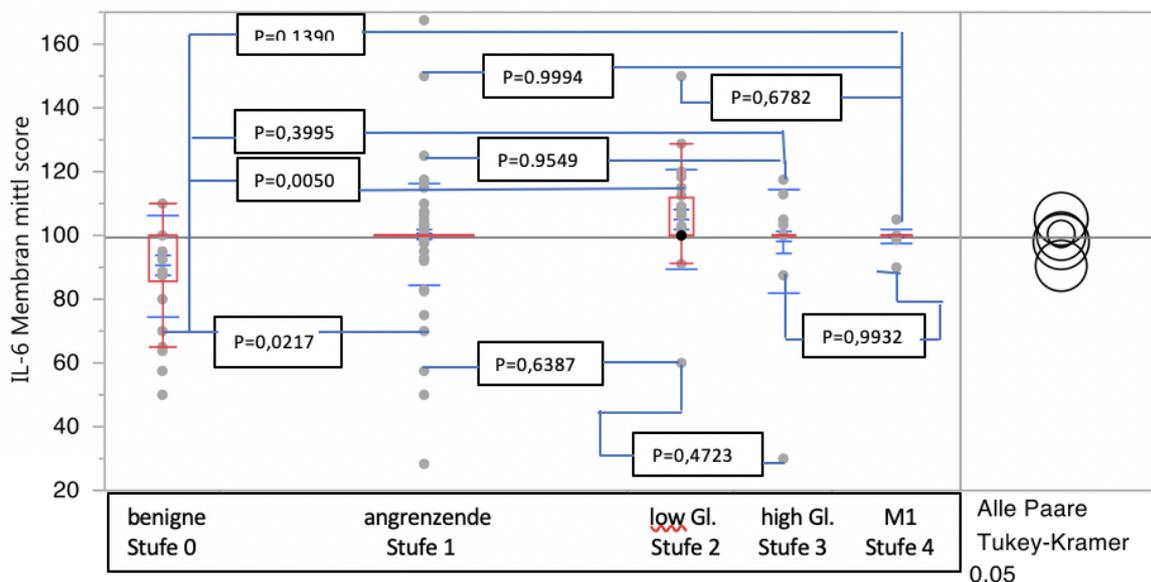


Abbildung 40: Vergleich des Expressionsverhaltens des Interleukin-6R in der Zellmembran bei benignem (Stufe 0), angrenzenden (Stufe 1), Low Gleason (Stufe 2), High Gleason (Stufe 3) und M1-Tumor-Gewebe (Stufe 4) sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer

Tabelle 28: Expressionsverhalten der Interleukin-6R in der Zellmembran der prostatistischen Zellen bei benignem (Stufe 0), angrenzenden (Stufe 1), Low Gleason (Stufe 2), High Gleason (Stufe 3) und M1-Tumor-Gewebe (Stufe 4) sowie Paarung nach Tukey-Kramer

Stufe	Gruppe	Anzahl	Median
0	B	26	100
1	A	92	100
2	A	24	100
3	A und B	22	100
4	A und B	29	100

Die benigne Gewebegruppe zeigte eine signifikant niedrigere Interleukin-6-Konzentration als die angrenzende ( $p=0,0217$ ) und Low Gleason- ( $p=0,0050$ )- Gewebegruppen. Ansonsten gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gewebegruppen. Nach Tukey Kramer gibt es somit folgende Gruppen: In der Gruppe A befinden sich alle Gewebegruppen, außer die benigne Gewebegruppe. In der Gruppe B befinden sich das benigne Gewebe, das High Gleason-Gewebe und die M1-Gewebegruppe.

### III.7 Vergleich der IL-6R-Expression in den Subkomponenten der Zelle entlang der TNM-Klassifikation

#### III.7.1 Korrelation zwischen TNM-Stadium und der Interleukin-6R-Zytoplasma-Expression

##### III.7.1.1. Interleukin-6R-Zytoplasma-Expression nach T-Stadium

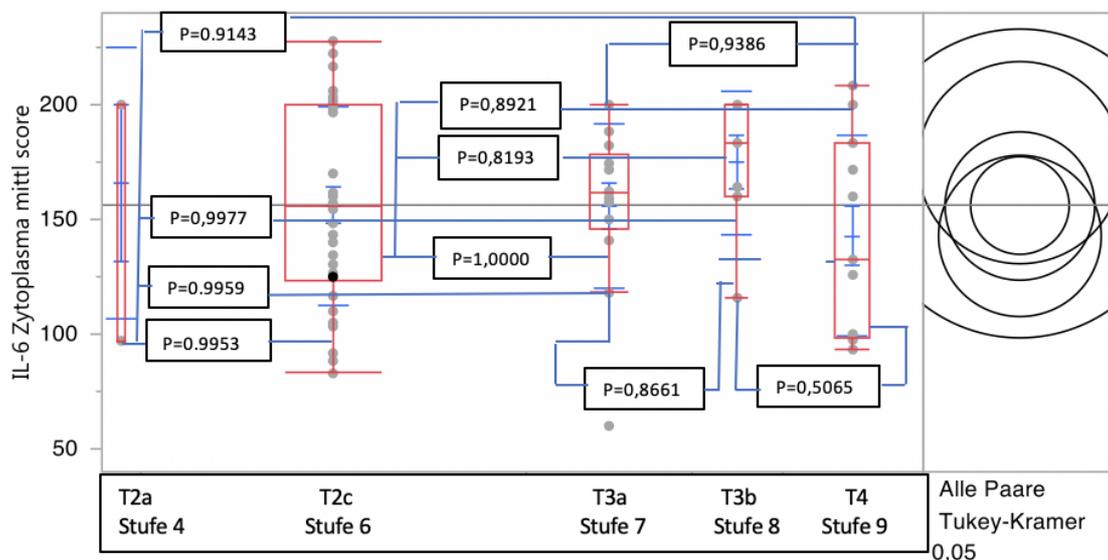


Abbildung 41: Vergleich des Expressionsverhaltens des Interleukin-6R im Zytoplasma bei Primärtumorstadien T2a, (Stufe 4) T2c (Stufe 6), T3a (Stufe 7), T3b (Stufe 8) und T4 (Stufe 9) sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer

Tabelle 29: Expressionsverhalten des Interleukin-6R im Zytoplasma für die Primärtumorstadien T2a, (Stufe 4) T2c (Stufe 6), T3a (Stufe 7), T3b (Stufe 8) und T4 (Stufe 9) sowie Paarung nach Tukey Kramer

Stufe	Gruppe	Anzahl	Median
4	A	3	200
6	A	30	155,76
7	A	13	161,67
8	A	7	183,34
9	A	11	132,5

Die Analyse des Interleukin-6R im Zytoplasma der prostatistischen Zellen wies keine signifikanten Unterschiede auf. Alle T-Stadien befinden sich in derselben Tukey Kramer-Gruppe.

### III.7.1.2. Interleukin-6R-Zytoplasma-Expression nach N-Stadium

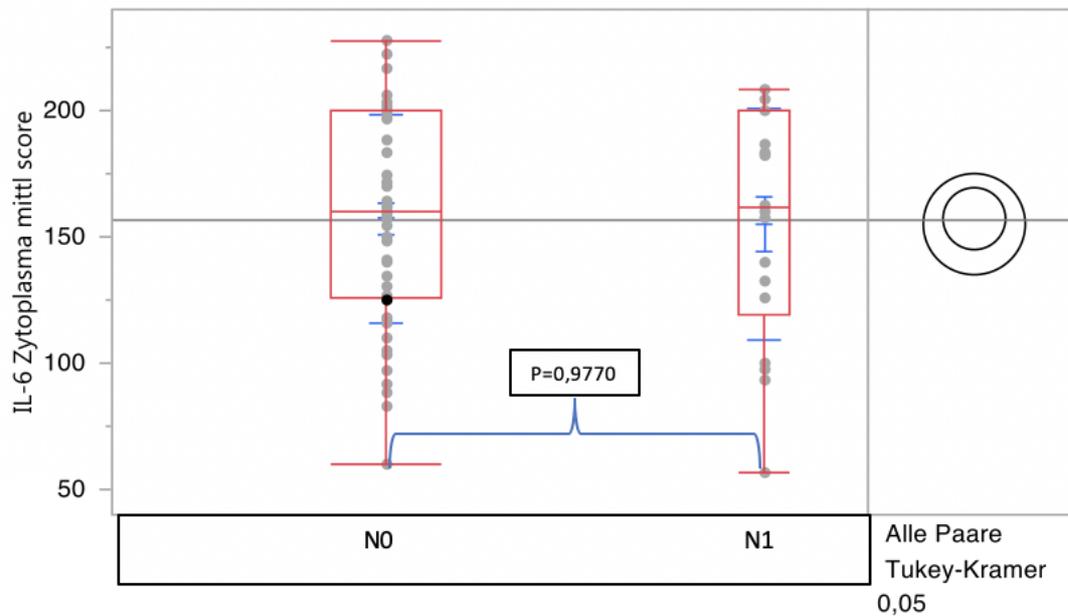


Abbildung 42: Vergleich des Expressionsverhaltens des Interleukin-6R im Zytoplasma bei regionalen Lymphknoten N0 und N1 sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer

Das Expressionsverhalten des Interleukin-6R im Zytoplasma des prostatistischen Epithels zeigte keinen signifikanten ( $p=0,977$ ) Unterschied zwischen nodal-metastasierten und nicht-nodal-metastasierten Tumor-Gewebe. Die Mediane ähnelten sich ebenfalls sehr ( $N0=160,17$   $N1=161,25$ ).

### III.7.1.3. Interleukin-6R-Zytoplasma-Expression nach M-Stadium

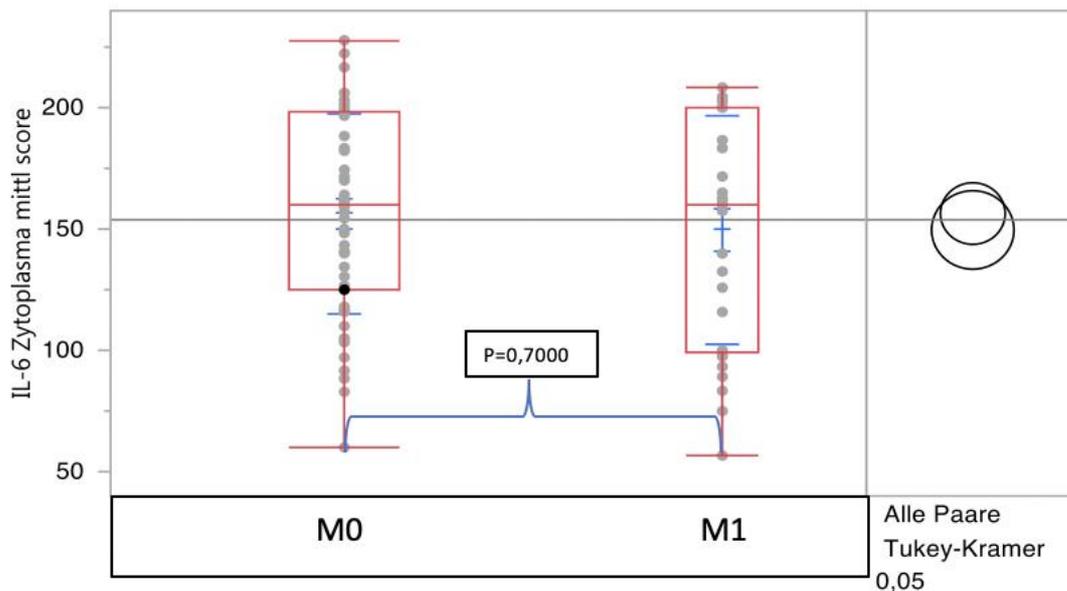


Abbildung 43: Vergleich des Expressionsverhaltens des Interleukin-6R im Zytoplasma bei M0 und M1 Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer

Das Expressionsverhalten des Interleukin-6R im Zytoplasma des prostatichen Epithels zeigte keinen signifikanten ( $p=0,70$ ) Unterschied zwischen metastasierten, und nicht-metastasierten Tumor-Gewebe. Die Mediane betragen bei beiden Gruppen 160.

### III.7.2. IL-6R-Zellmembran-Expression nach TNM-Stadium

Die Analyse des Interleukin-6R in der Zellmembran der prostatichen Zellen wies keine signifikanten Unterschiede auf. Alle T-Stadien befinden sich in derselben Tukey Kramer-Gruppe. Es gab ebenfalls keinen signifikanten Zusammenhang zwischen den N- und M-Stadien.

### III.8 Zusammenhänge zwischen den Rezeptoren-Typen

Aufgrund der hohen Menge an ermittelten Daten wurden nur Korrelationen dargestellt, bei der mindestens eine Datengruppe einen signifikanten Zusammenhang zwischen Rezeptorexpression aufweist. Die restlichen Daten können in der Datenbank nachgelesen werden.

### III.7.1 Korrelation zwischen IGF-1R-Zytoplasma und IL-6R-Zytoplasma-Expression

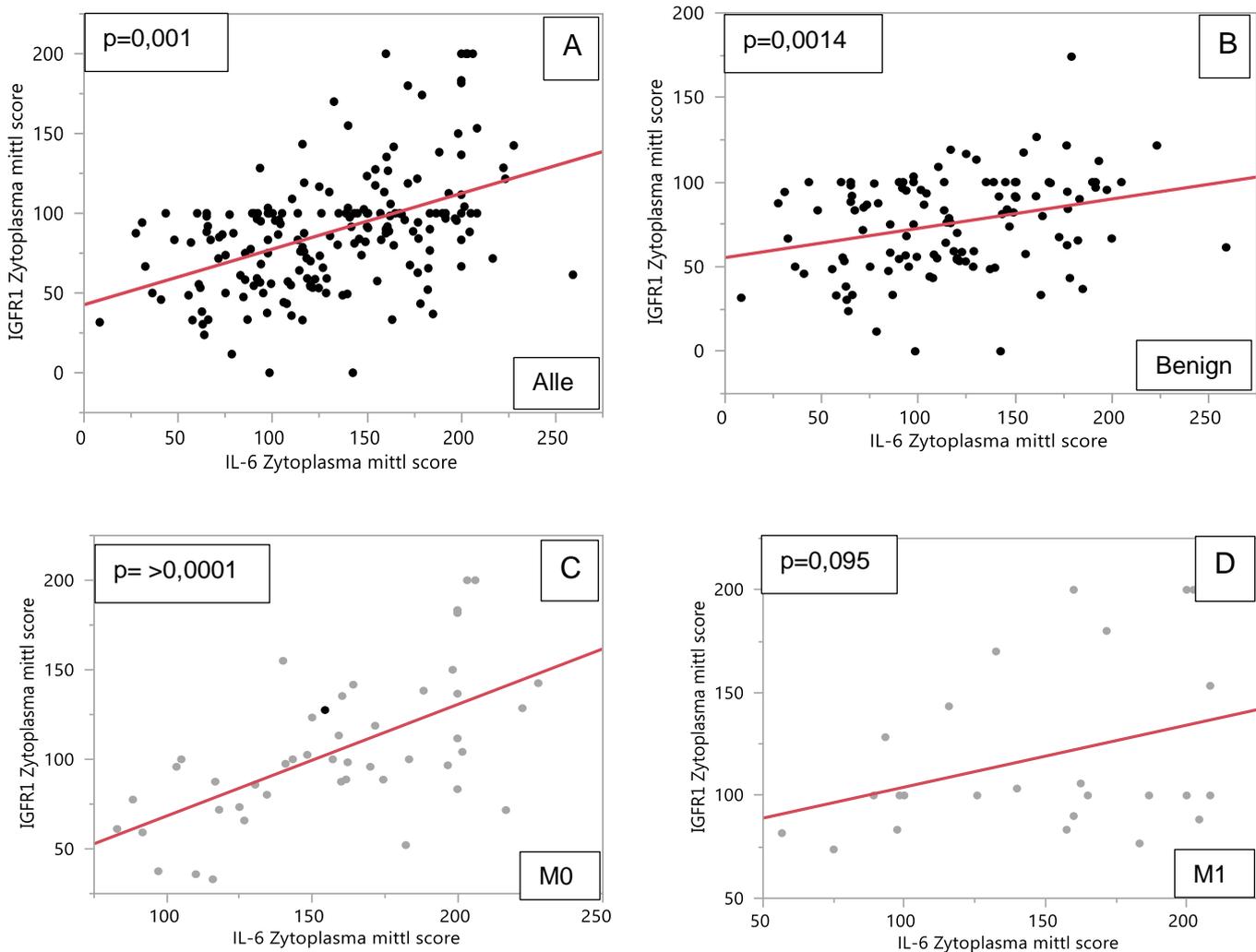


Abbildung 44: Zusammenhang zwischen dem Expressionsverhalten des IGF-R1 im Zytoplasma und Interleukin-6R im Zytoplasma mittlerer Score bei den Gewebegruppen Alle (A), Benign (B), M0 (C) und M1 (D). (Lineare Regression rot dargestellt)

Abbildung 45 zeigt die linearen Zusammenhänge zwischen IGF-1R-Zytoplasma mittlerer Score und IL-6R-Zytoplasma mittlerer Score. Es wird deutlich, dass eine positive Korrelation zwischen den beiden Rezeptoren existiert. Einen signifikanten Zusammenhang gibt es bei der Betrachtung aller Datenpunkte ( $p=0,001$ ) sowie der Datenpunkte der benignen ( $p=0,0014$ ) und malignen M0- ( $p>0,0001$ )-Gewebe getrennt voneinander. Bei der M1-Gruppe gibt es keine signifikante Korrelation ( $p=0,095$ ).

### III.8.2 Korrelation zwischen ER- $\beta$ -Zellkern und IGF-R1-Zellkern-Expression

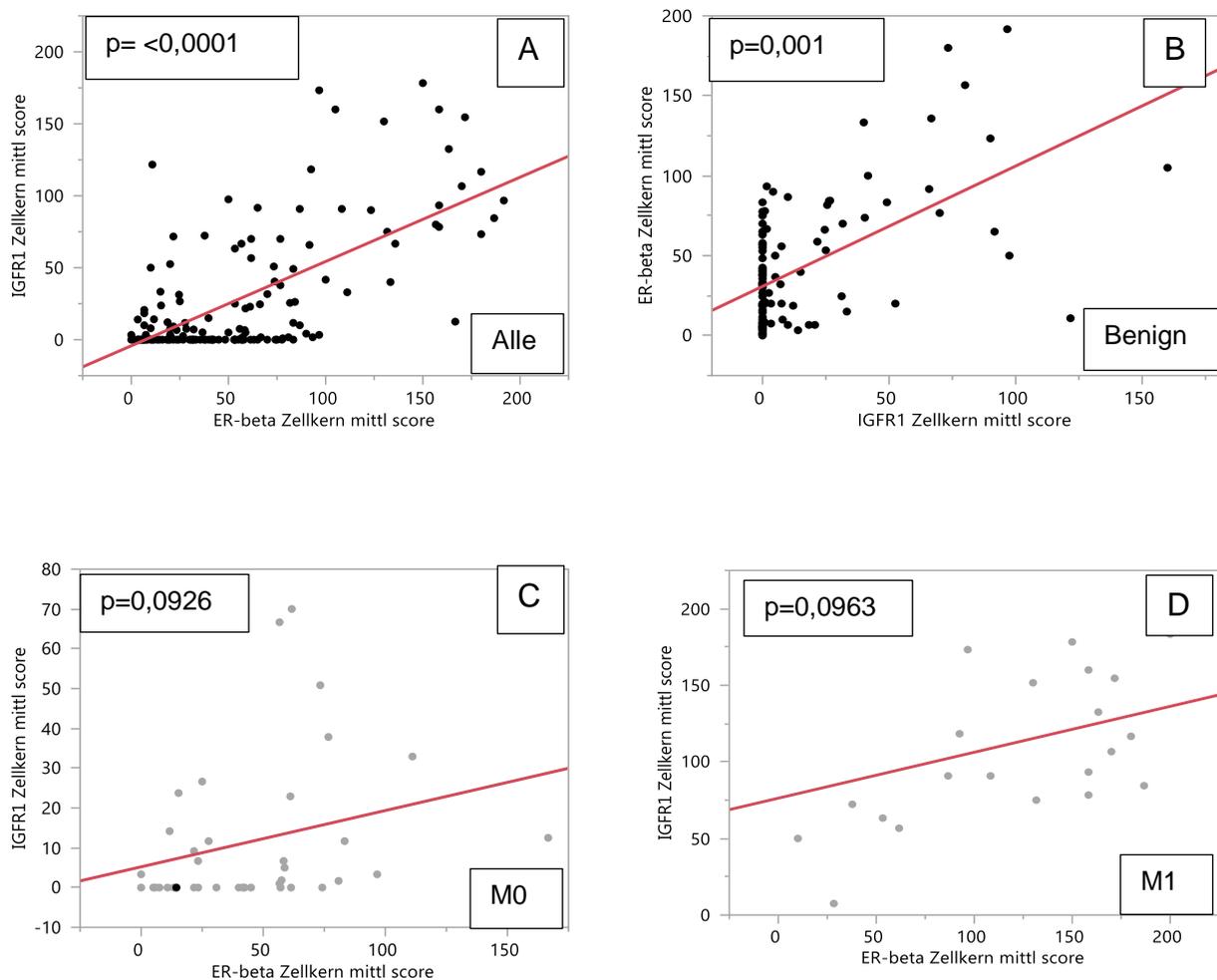


Abbildung 45: Zusammenhang zwischen dem Expressionsverhalten des IGF-1R im Zellkern und ER- $\beta$  im Zellkern bei den Gewebegruppen Alle (A), Benign (B), M0 (C) und M1 (D)

Abbildung 46 stellt die linearen Zusammenhänge zwischen IGF-1R-Zellkern mittlerer Score und ER- $\beta$ -Zellkern mittlerer Score dar. Hierbei zeigte sich bei allen Gewebegruppen eine positive Korrelation. Einen signifikanten Zusammenhang gab es bei der Betrachtung aller Datenpunkte ( $p < 0,0001$ ) oder der Datenpunkte des benignen Gewebes ( $p = 0,001$ ). Bei den Datenpunkten für das tumorbehaftete (M0 und M1) Gewebe gab es keine signifikante Korrelation ( $p = 0,0926$ ,  $p = 0,0963$ ).

### III.8.3 Korrelation zwischen ER- $\beta$ -Zytoplasma und IL-6R-Zytoplasma-Expression

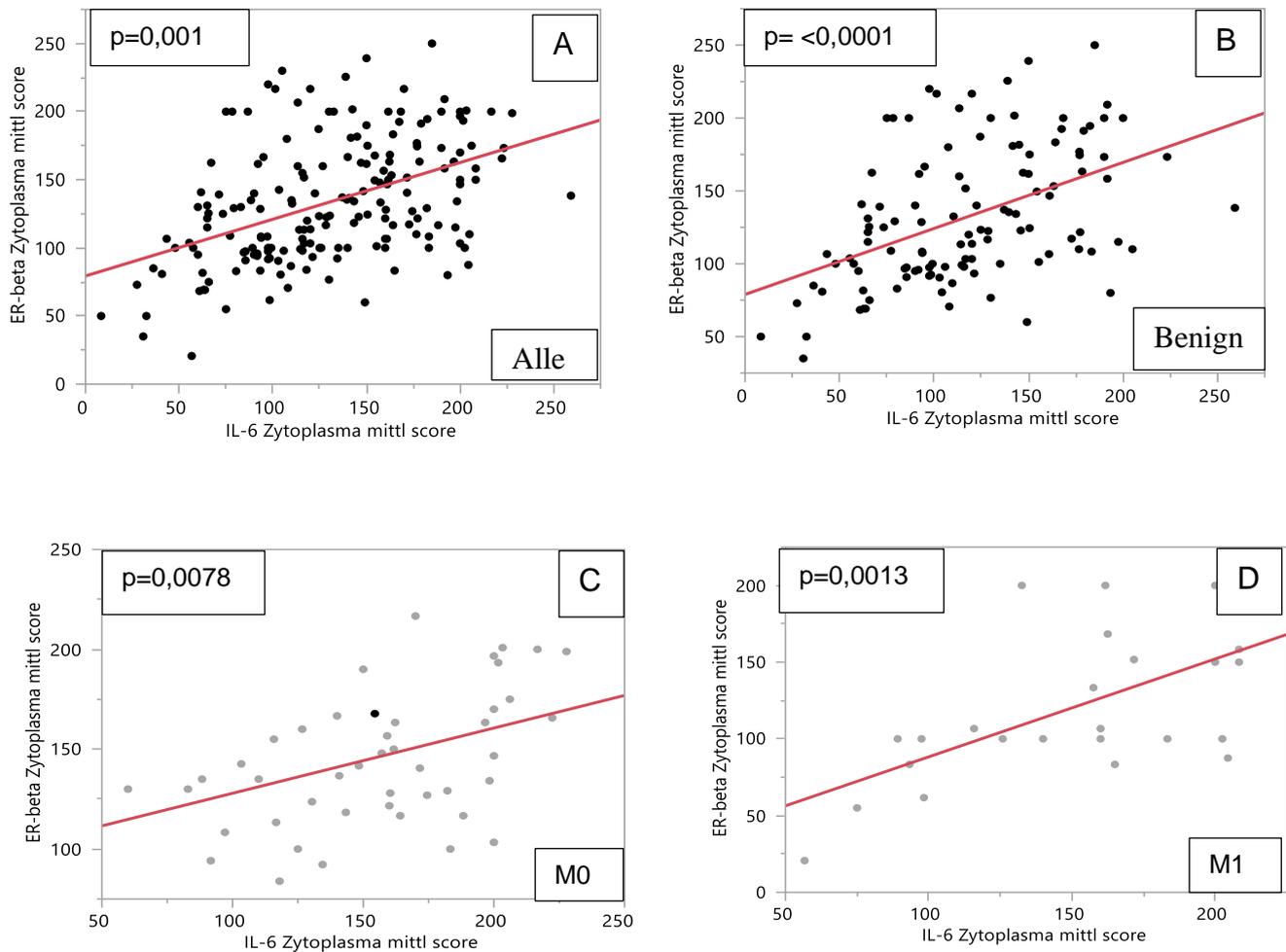


Abbildung 46: Zusammenhang zwischen dem Expressionsverhalten des ER- $\beta$  im Zytoplasma und Interleukin-6R im Zytoplasma bei den Gewebegruppen Alle (A), Benign (B), M0 (C) und M1 (D)

Abbildung 47 zeigt die linearen Zusammenhänge zwischen ER- $\beta$ -Zytoplasma mittlerer Score und IL-6R-Zytoplasma mittlerer Score. Zwischen den beiden Rezeptoren ist die positive Korrelation deutlich erkennbar.

Einen signifikanten Zusammenhang zeigte sich bei der Betrachtung aller Datenpunkte ( $p=0,001$ ) oder bei der einzelnen Betrachtung des benignen Gewebes ( $p<0,0001$ ), des M0- ( $p=0,0078$ )- und M1- ( $p=0,0013$ )-Gewebes.

### III.8.4 Korrelation zwischen IGF-1R-Zytoplasma und ER- $\beta$ -Zytoplasma-Expression

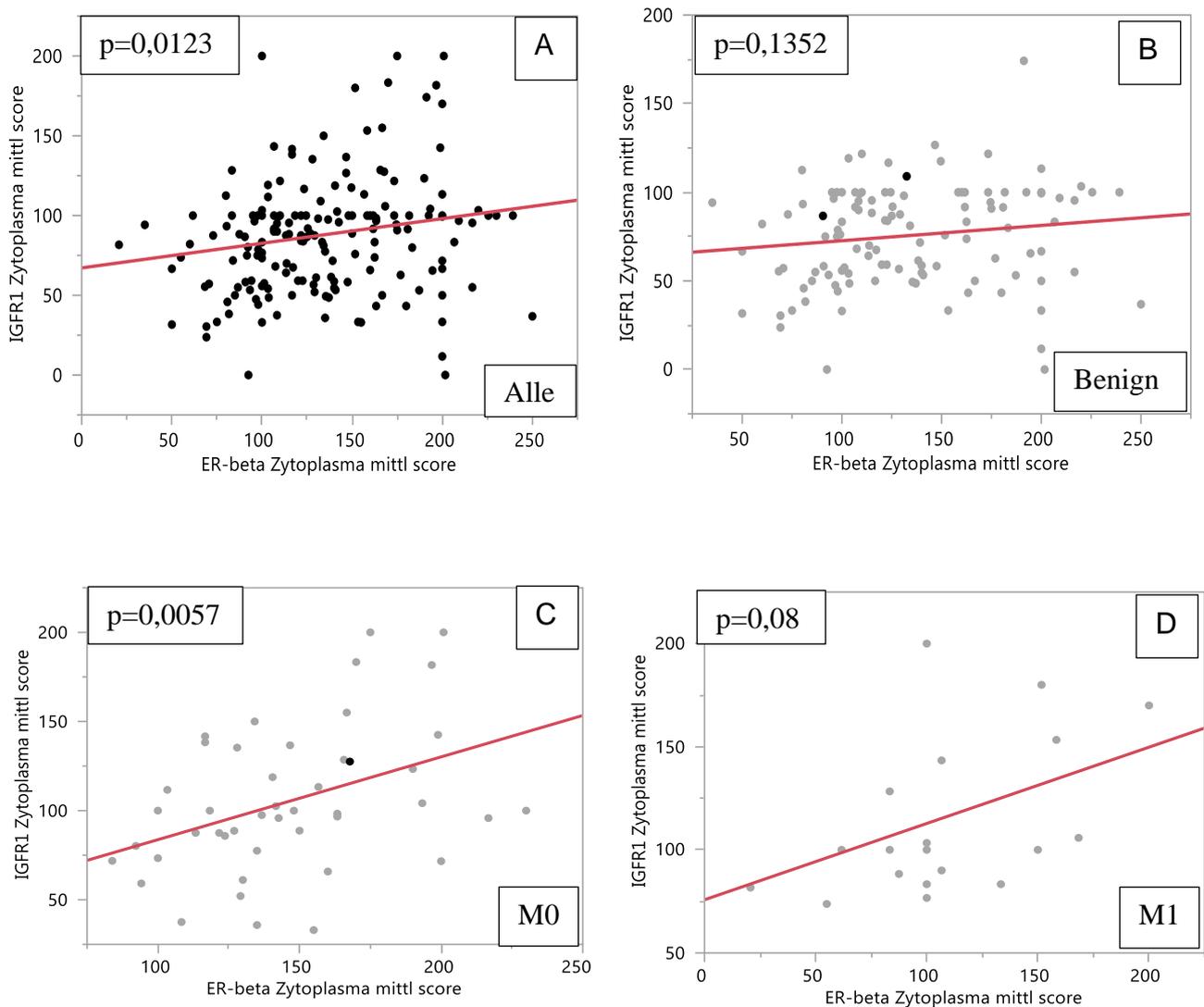


Abbildung 47: Zusammenhang zwischen dem Expressionsverhalten des IGF-R1 im Zytoplasma und ER- $\beta$  im Zytoplasma bei den Gewebegruppen Alle (A), Benign (B), M0 (C) und M1 (D)

Abbildung 48 zeigt die linearen Zusammenhänge zwischen IGF-1R-Zytoplasma mittlerer Score und ER- $\beta$ -Zytoplasma mittlerer Score. Auch hier gibt es eine positive Korrelation zwischen den beiden Rezeptoren. Eine signifikante Korrelation zeigte sich bei einer Betrachtung aller Datenpunkte ( $p=0,0123$ ) oder der Gewebegruppe M0 ( $p=0,0057$ ). Bei den Gewebegruppen Benign und M1 gab es keine signifikante Korrelation ( $p=0,1352$ ,  $p=0,08$ ).

### III.8.5 Korrelation zwischen IGF-1R-Zellkern und ER- $\beta$ -Zytoplasma-Expression

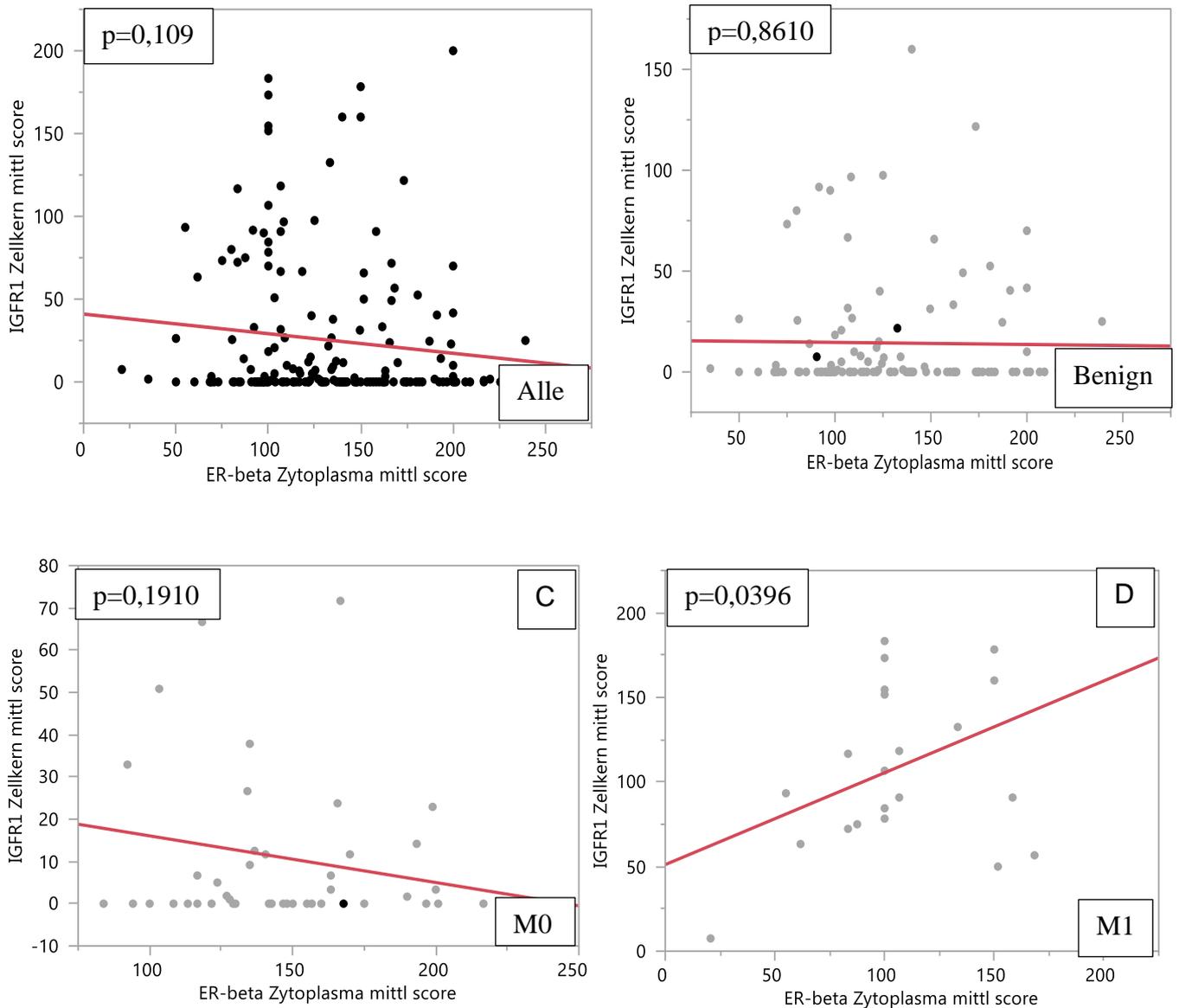


Abbildung 48: Zusammenhang zwischen dem Expressionsverhalten des IGF-R1 im Zellkern und ER- $\beta$  im Zytoplasma bei den Gewebegruppen Alle (A), Benign (B), M0 (C) und M1 (D)

Eine signifikant positive Korrelation zwischen IGF-1R-Zellkern mittlerer Score und ER- $\beta$ -Zytoplasma mittlerer Score wurde nur in der Gewebegruppe M1 festgestellt ( $p=0,0396$ ). Bei den anderen Gewebegruppen gab es keine signifikanten Zusammenhänge. Es ist außerdem auffällig, dass bei den anderen Gewebegruppen eine negative Korrelation zu bemerken ist.

### III.8.6 Korrelation zwischen IGF-1R-Zellkern und IGF-1R-Zytoplasma-Expression.

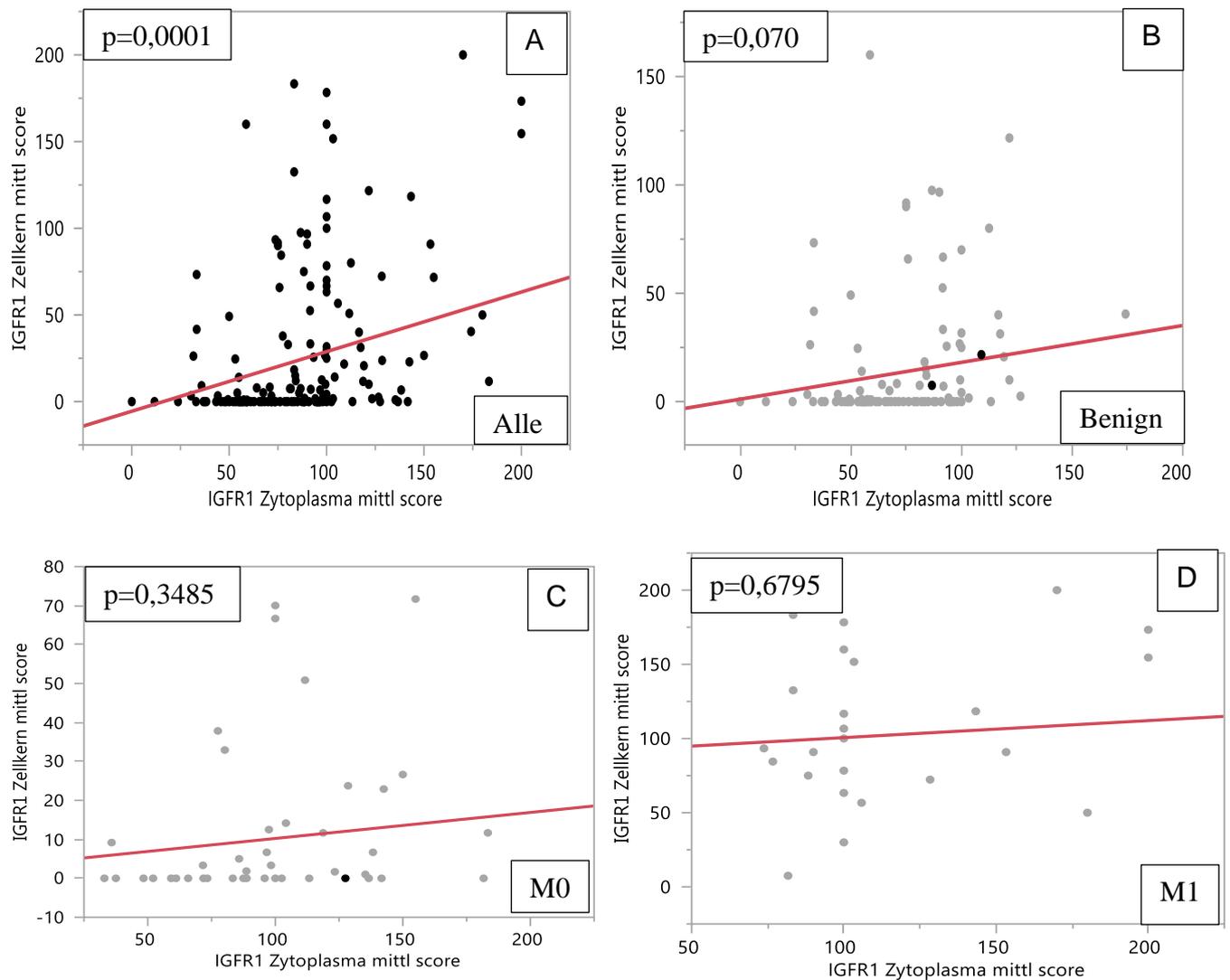


Abbildung 49: Zusammenhang zwischen dem Expressionsverhalten IGF-R1 im Zellkern und IGF-1R im Zytoplasma bei den Gewebegruppen Alle (A), Benign (B), M0 (C) und M1 (D)

Ein signifikanter linearer Zusammenhang einer positiven Korrelation zwischen IGF-1R-Zellkern mittlerer Score und IGF-1R-Zytoplasma mittlerer Score wurde in der Gewebegruppe „Alle“ festgestellt ( $p=0,0001$ ), während sich in den anderen Gewebegruppen keine signifikante Korrelation zeigte.

### III.8.7 Korrelation zwischen ER- $\beta$ -Zellkern und IL-6R-Zytoplasma-Expression.

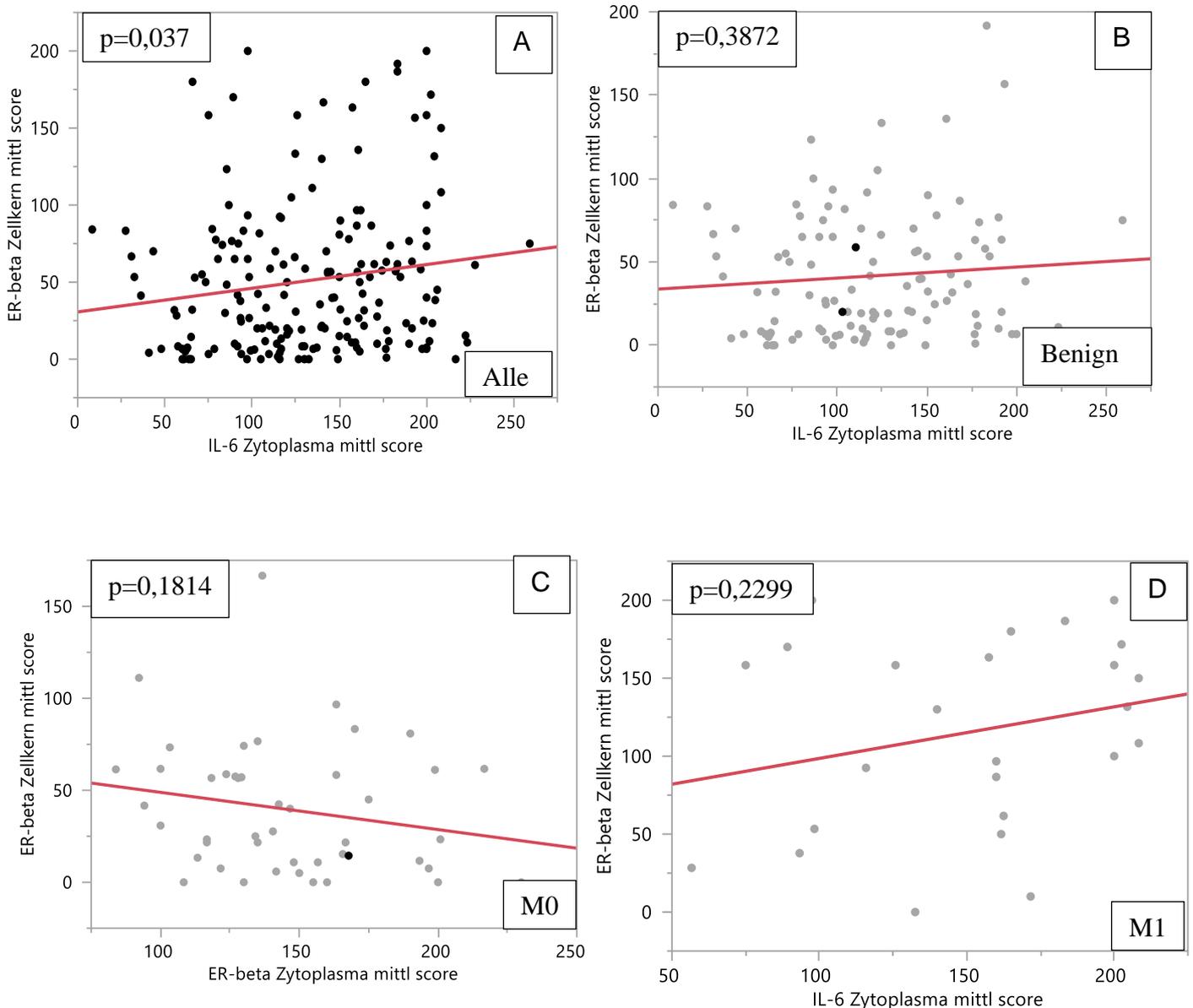


Abbildung 50: Zusammenhang zwischen dem Expressionsverhalten ER- $\beta$  im Zellkern und ER- $\beta$  im Zytoplasma bei den Gewebegruppen Alle (A), Benign (B), M0 (C) und M1 (D).

Ein signifikanter linearer Zusammenhang einer positiven Korrelation zwischen ER- $\beta$ -Zellkern mittlerer Score und IL-6R-Zytoplasma mittlerer Score wurde nur in der Gewebegruppe „Alle“ festgestellt ( $P=0,037$ ).

### III.8.8 Korrelation zwischen IL-6-Zytoplasma und IGF-1R-Zellkern-Expression.

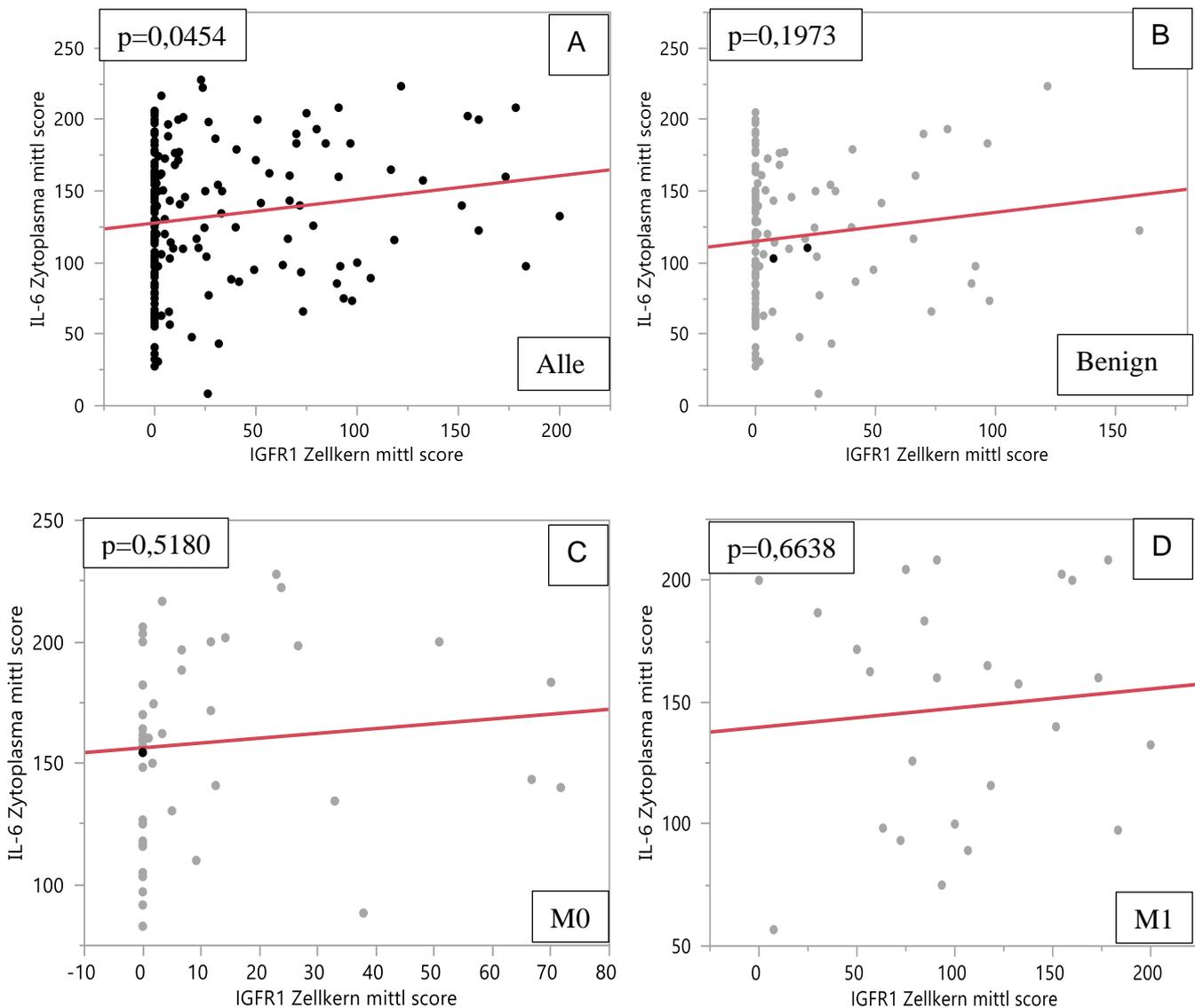


Abbildung 51: Zusammenhang zwischen dem Expressionsverhalten IL-6 im Zytoplasma und IGF-1R im Zellkern bei den Gewebegruppen Alle (A), Benign (B), M0 (C) und M1 (D)

Ein signifikanter linearer Zusammenhang einer positiven Korrelation zwischen IL-6-Zytoplasma mittlerer Score und IGF-1R-Zellkern mittlerer Score wurde nur in der Gewebegruppe „Alle“ festgestellt ( $P=0,0454$ ).

### III.9 Vergleich zwischen Diabetiker und Nicht-Diabetiker

Der Vergleich zwischen dem Gewebe der Patienten mit Diabetes mit dem Gewebe der Patienten ohne Diabetes zeigte folgende Muster. Im Vergleich der Korrelation der

Rezeptorexpression zueinander wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen Diabetikern und Nicht-Diabetikern festgestellt. Ebenso war die Expression der Rezeptoren in den verschiedenen Tumorstadien zwischen Diabetikern und Nicht-Diabetikern ähnlich.

Als Beispiel dafür dient die Analyse der IGF-1R-Expression im Zellkern, im Vergleich zwischen benignem, angrenzendem, M0- und M1-Gewebe sowie zwischen Diabetikern und Nicht-Diabetikern. Es wird deutlich, dass es ein sehr ähnliches Profil der Expression gab, wobei die Expression in der Progression von benign zu M0 sinkt, jedoch von M0 zu M1 wieder steigt. Der einzige Unterschied zwischen den beiden Datensätzen ist, dass der Unterschied zwischen benignem und angrenzendem sowie benignem und M0 bei der Gewebegruppe der Nicht-Diabetiker einen signifikanten Unterschied aufwies, was bei der Gewebegruppe der Diabetiker nicht der Fall war. Jedoch muss berücksichtigt werden, dass die Gewebegruppe Diabetiker viel kleiner war als die Gewebegruppe Nicht-Diabetiker, was diesen Unterschied erklären könnte.

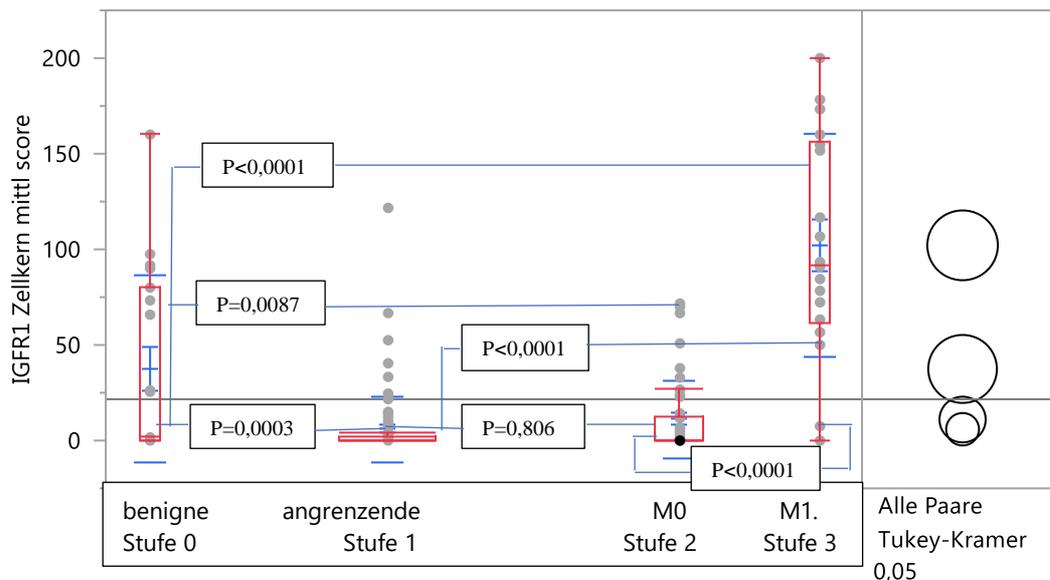


Abbildung 52: Vergleich des Expressionsverhaltens des IGF-R1 im Zellkern bei benignem (Stufe 0) angrenzenden (Stufe 1), M0-(Stufe 2)- und M1-Gewebe (Stufe 3) sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer für die Gewebegruppe Nicht-Diabetiker

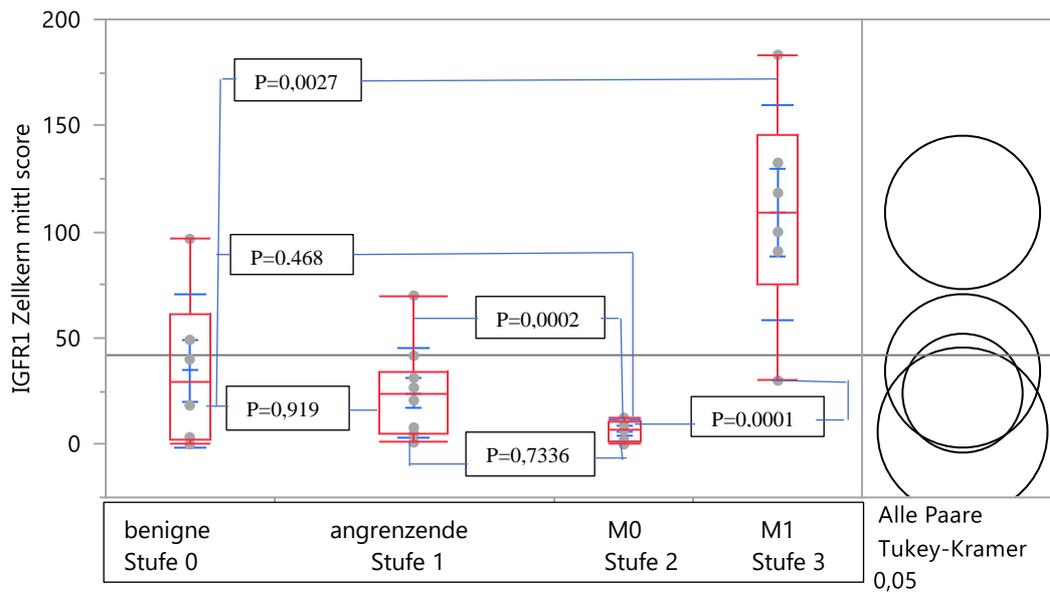


Abbildung 53: Vergleich des Expressionsverhalten des IGF-R1 im Zellkern bei benignem (Stufe 0), angrenzenden (Stufe 1), M0-(Stufe 2)- und M1-(Stufe 3)-Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer für die Gewebegruppe Diabetiker

Der Unterschied zwischen Gewebe der Diabetiker und Nicht-Diabetiker zeichnet sich an einigen Stellen an der Rohen-Rezeptor-Expression ab. Hier konnten Unterschiede festgestellt werden. Dabei wurden der Mittelwert und der Standardfehler bzw. die durch diese Werte entstehende obere und untere Grenze als Anhaltspunkt genommen.

Wenn sich die Grenzwerte der beiden Rezeptorgruppen nicht überlappen, ist sicher, dass die Mittelwerte und somit die Grundgesamtheit beider Patientengruppen unterschiedlich sind und somit ein signifikanter Unterschied vorliegt. Aussagen über die Gaus-Verteilung können aufgrund der wenigen Daten nicht getroffen werden. Nicht-signifikante Unterschiede wurden nicht beschrieben, können jedoch in der Datenbank nachgelesen werden.

### III.9.1 Vergleich zur IGF-1R-Zellkern-Expression zwischen Patienten mit und ohne Diabetes

Der erste Unterschied lässt sich zwischen der IGF-1R-Expression im Zellkern der benignen Patientengruppe mit Diabetes sowie ohne Diabetes feststellen. Hierbei lag die obere Grenze bei Patienten ohne Diabetes bei 14.6 und die untere Grenze bei 8.97. Bei Patienten mit Diabetes betrug die obere Grenze 34.8 und die untere Grenze

21.2. Somit ist ein signifikanter Unterschied festzustellen. Der Abstand der beiden Patientengruppen nach oberer und unterer Grenze beträgt 6.62

Tabelle 30: Vergleich der benignen Patientengruppe im Sinne der IGF-1R-Zellkern und ER- $\beta$ -Zellkern-Expression, getrennt durch einen positiven oder negativen Diabetes-Status

	Mittelwert	Std. Abw.	Standardfehler Mittelwert	obere Grenze	untere Grenze
<b>IGFR1 Zellkern ohne Diabetes benigne</b>	11.80	28.55	2.83	14.60	8.97
<b>IGFR1 Zellkern mit Diabetes benigne</b>	28.02	27.10	6.77	34.80	21.25
<b>ER-<math>\beta</math> Zellkern ohne Diabetes benigne</b>	38.12	36.30	3.61	41.73	34.51
<b>ER-<math>\beta</math> Zellkern mit Diabetes benigne</b>	62.42	50.90	12.73	75.14	49.69

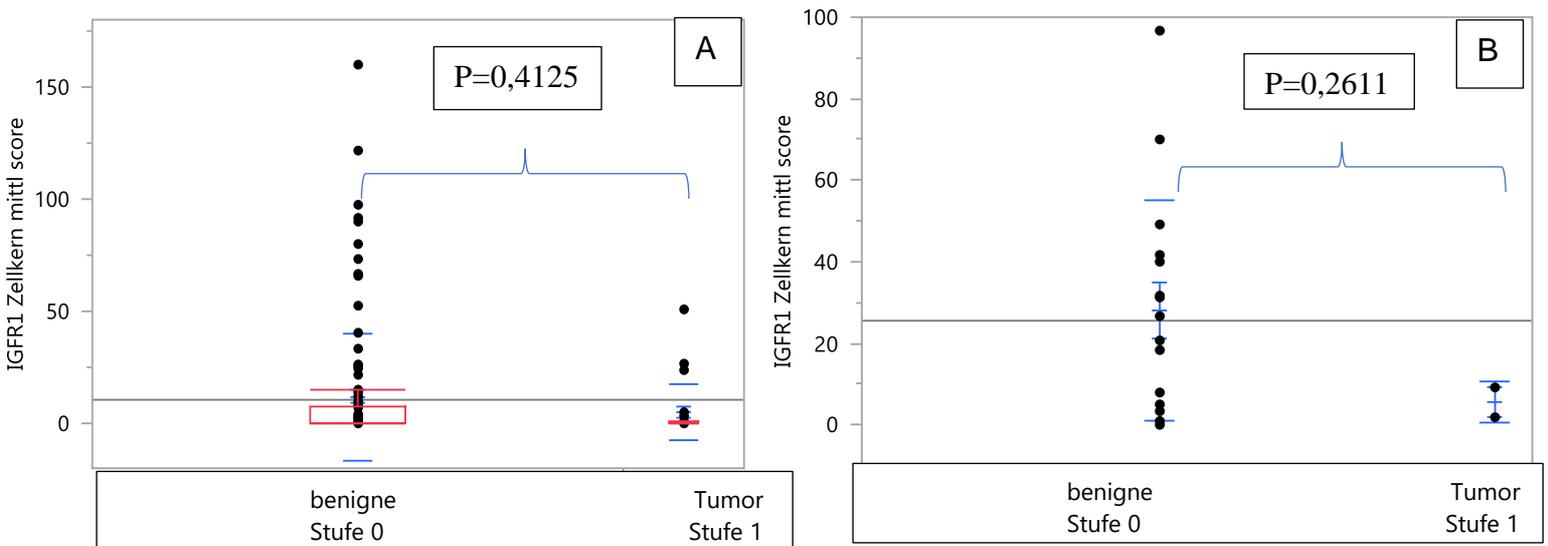


Abbildung 54: Vergleich zwischen IGF-1R-Zellkern-Expression in benignem (Stufe 0) und tumorösen (Stufe 1) Gewebe für Gewebegruppe Nicht-Diabetiker (A) und Diabetiker (B))

Anhand von der Abbildung 55 lässt sich erkennen, dass sich viele Datenpunkte für die IGF-1R-Zellkern-Expression bei Patienten ohne Diabetes unter der 10-Punkte-Marke befinden, während sie bei den Patienten mit Diabetes eher diffus verteilt sind.

### III.9.2 Vergleich zur ER- $\beta$ -Zellkern-Expression bei Patienten mit und ohne Diabetes

Ebenso gab es einen signifikanten Unterschied zwischen ER- $\beta$ -Zellkern in der benignen Gruppe zwischen Patienten mit und ohne Diabetes. Dabei lag die obere Grenze beim ER- $\beta$ -Zellkern mit Diabetes bei 75.1 und die untere Grenze bei 49.7. Bei ER- $\beta$  in der Patienten-Gruppe ohne Diabetes lag die obere Grenze bei 41.7 und die untere Grenze bei 34.5. Der Abstand der beiden Patientengruppen zueinander lag bei 7.96.

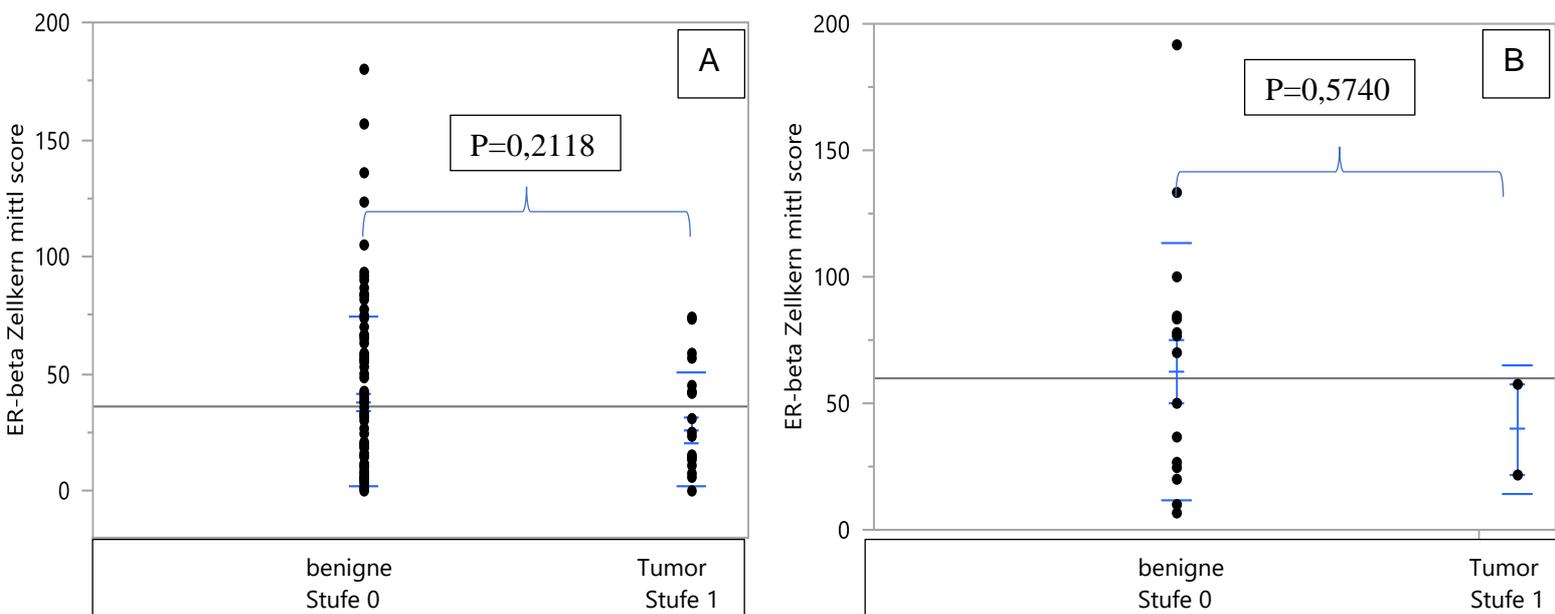


Abbildung 55: Vergleich zwischen ER- $\beta$ -Zellkern-Expression in benignem (Stufe 0) und tumorösen (Stufe 1) Gewebe für die Gewebegruppe Nicht-Diabetiker (A) und Diabetiker (B)

Grafik 56 zeigt, dass sich die Expressionswerte bei der Patientengruppe ohne Diabetes unter der 100 Marke konzentrieren. Dasselbe ist auch bei der Patientengruppe mit Diabetes feststellbar.

Somit kann zusammenfassend gesagt werden, dass die IGF-1R- und ER- $\beta$ -Expression im Zellkern bei Patienten mit benignem Gewebe und Diabetes höher ist als bei Patienten ohne Diabetes.

Bei den Geweben mit nicht-metastasiertem Tumor wurde ein Unterschied zwischen Patienten mit Diabetes und ohne Diabetes mit Blick auf die Rezeptorexpression gefunden.

### III.9.3 Vergleich zur IGF-1R-Zytoplasma-Expression bei Patienten mit und ohne Diabetes

Tabelle 31: Vergleich der Tumor Patientengruppe im Sinne der IGF-1R-Zytoplasma und ER- $\beta$ -Zytoplasma-Expression, getrennt durch einen positiven oder negativen Diabetes-Status

	Mittelwert	Std. Abw.	Standardfehler Mittelwert	obere Grenze	untere Grenze
<b>IGF-R1-Zytoplasma ohne Diabetes-Tumor</b>	106.52	39.41	6.08	112.60	100.44
<b>IGF-R1-Zytoplasma mit Diabetes-Tumor</b>	78.66	44.53	19.91	98.57	58.75
<b>ER-<math>\beta</math>-Zytoplasma ohne Diabetes-Tumor</b>	147.47	36.47	5.70	155.10	138.70
<b>ER-<math>\beta</math>-Zytoplasma mit Diabetes-Tumor</b>	134.05	14.13	6.32	140.37	127.73

Es wurde ein signifikanter Unterschied zwischen der IGF-1R-Expression im Zytoplasma der Patientengruppe Tumor M0 mit Diabetes sowie ohne Diabetes festgestellt. Hier betrug die obere Grenze bei Patienten ohne Diabetes 112,6 und die untere Grenze 100,44. Bei Patienten mit Diabetes lag die obere Grenze bei 98,57 und die untere Grenze bei 58,75. Somit ist ein signifikanter Unterschied festzustellen. Der Abstand der beiden Patientengruppen nach oberer und unterer Grenze beträgt 1.87.

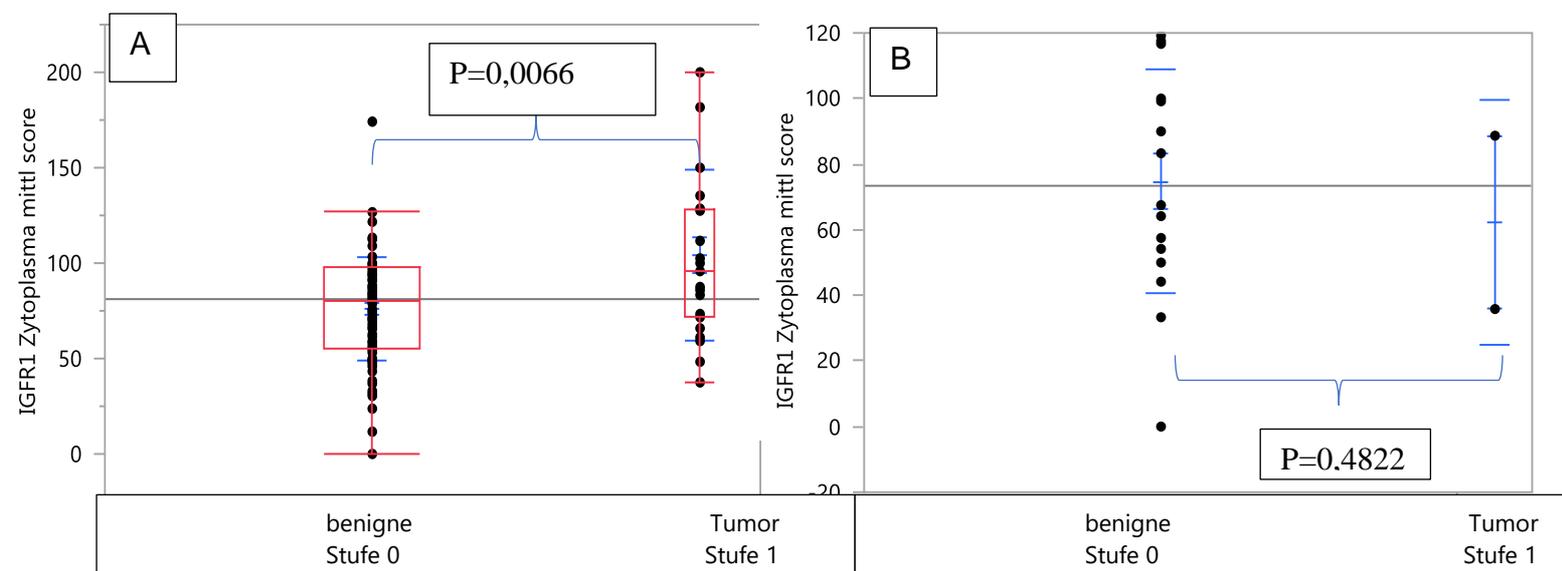


Abbildung 56: Vergleich zwischen IGF-1R-Zytoplasma-Expression in benignem (Stufe 0) und tumorösen (Stufe 1) Gewebe für die Gewebegruppe Nicht-Diabetiker (A) und Diabetiker (B)

Wie Abbildung 57 zu entnehmen ist, ist die Expression der Gewebegruppe Tumor beider Patientengruppen schwer miteinander vergleichbar, da es bei der Gruppe Tumor bei Diabetikern nur zwei Datenpunkte gibt.

### III.9.4 Vergleich der ER-β-Zytoplasma-Expression bei Patienten mit und ohne Diabetes

Es gab ebenso einen signifikanten Unterschied zwischen ER-β-Zytoplasma in der Tumor-Gruppe M0 zwischen Patienten mit und ohne Diabetes. Dabei betrug die obere Grenze bei ER-β-Zytoplasma mit Diabetes 140.37 und die untere Grenze 127.73. Bei ER-β in der Patienten-Gruppe ohne Diabetes lag die obere Grenze bei 153.17 und die untere Grenze bei 141.78. Der Abstand der beiden Patientengruppen zueinander lag bei 1.41.

Bei der Tumorgruppe M1, also bei den Patienten mit Metastasen, konnten keine signifikanten Unterschiede gefunden werden.

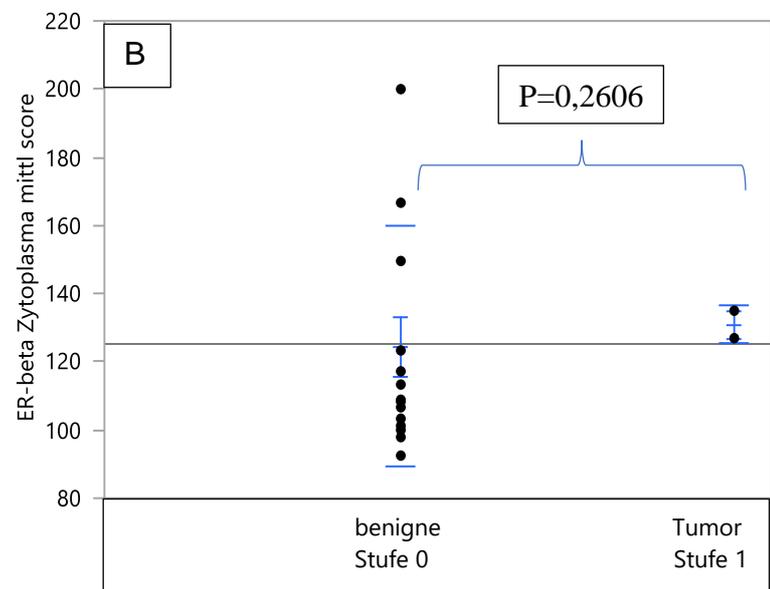
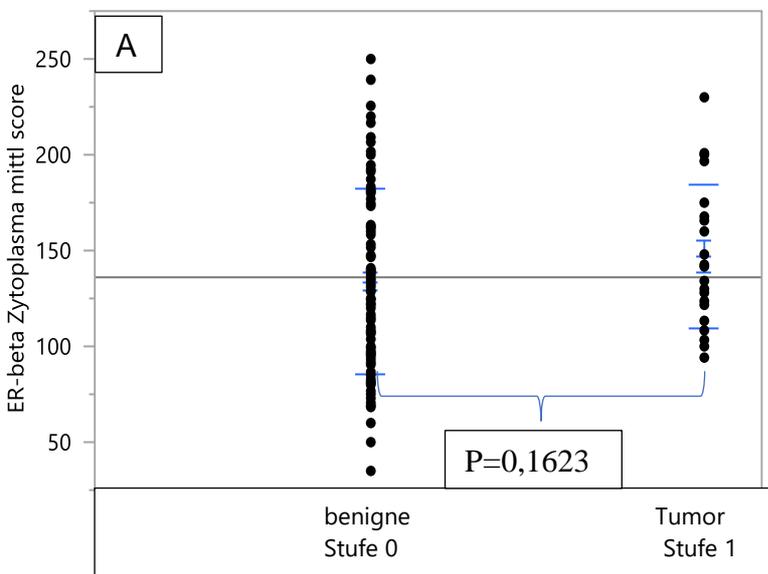


Abbildung 57: Vergleich zwischen der ER- $\beta$ -Zytoplasma-Expression in benignem (Stufe 0) und tumorösen (Stufe 1) Gewebe für die Gewebegruppen Nicht-Diabetiker (A) und Diabetiker (B)

Wie der oberen Grafik zu entnehmen ist, sind die Tumor-Expressionswerte beider Patientengruppen schwer miteinander vergleichbar, da es bei der Patientengruppe Tumor nur zwei Datenpunkte gibt.

## IV. Diskussion

### IV.1 Malignome und Prostatamalignome

#### IV.1.1.1. IGF1R-Expression im Hinblick auf die Tumorprogression

Bei der IGF1R-Expression muss zwischen der Expression im Zellkern und im Zytoplasma unterschieden werden. Während eine höhere Expression im Zytoplasma eine höhere Malignität darstellt, scheint die Expression im Zellkern in der Tumorprogression von benignem zu malignem Gewebe abzunehmen. Interessanterweise steigt die IGF1R-Expression im Zellkern zwischen malignem, nicht-metastasiertem, bis hin zu malignem metastasiertem Gewebe wieder an, was auf eine Veränderung der Rolle des IGF1R bei der Metastasierung des Gewebes deuten könnte.



Abbildung 58: Bildlicher Vergleich zwischen einer benignen, Low Gleason- und M1-Zelle mit Blick auf die IGF-1R-Expression

#### IV.1.1.2 Vergleich mit anderen klinischen Studien

Hellawell et al. und Ahearn et al. haben im malignen Gewebe eine höhere Rezeptor-Expression festgestellt als in benignem Gewebe. Die vorliegenden Ergebnisse zeigen die gleiche Korrelation in Bezug auf IGF1R im Zytoplasma, Zellkern und Zellmembran. Die Ergebnisse von Hellawell et al. (Hellawell et al., 2002) zeigten keine Korrelation zwischen Tumor-Stadium und IGF1R-Expression, jedoch hatte prostatishes Gewebe mit einem hohen Gleason-Score eine höhere IGF1R-Konzentration als die mit niedrigem Gleason-Score. Bei den vorliegenden Ergebnissen gibt es keine Korrelation zwischen dem Gleason Score und der IGF1R-Konzentration im Zytoplasma und

Zellkern. Zwischen T-Stadium und IGF1R-Konzentration gab es nur bei der Datengruppe Zellkern eine signifikante Korrelation. Es gab keine Korrelation zwischen der IGF1R-Konzentration im Zytoplasma und dem T-Stadium.

Hellawell et al. fanden keine Korrelation zwischen der nuklearen und der zytoplasmatischen IGF1R-Expression sowie der Metastasierung. Aus den vorliegenden Ergebnissen kann geschlossen werden, dass die Metastasen bei Patienten eine höhere IGF1R-Expression haben (bezieht sich auf N und M staging M1). Hellawell fand eine positive Korrelation zwischen der IGF1R-Zytoplasma-Konzentration und dem Risiko auf Rückfälle. Ahearn et al. stellten keine Korrelation zwischen dem Tumor-Stadium und dem Gleason Score fest (Ahearn et al., 2018).

#### IV.1.1.3. Die Rolle des IGF1R bei der Pathogenese von Prostatamalignomen

Bei Patienten mit Prostatakrebs wurde ein höherer Anteil von Insulin-Like-Growth-Factor im Blut festgestellt (Wolk et al., 1998). Prostata-Tumore mit einer hohen Expression von Insulin-Like-Growth-Factor-1-Rezeptor wurden mit einer höheren Tumorproliferation und weniger Apoptosen in Verbindung gebracht (Ahearn et al., 2018). Die von IGF1R-aktivierten Kaskaden, die eine Tumor-Progression, Apoptosen-Inhibition und ein erhöhtes Zell-Überleben nach sich ziehen, sind die PI3K/Akt- (Da Silva et al., 2012) und die Ras-Raf-Erk Kaskade, die ebenfalls durch den IGF-1R aktiviert wird (Heidegger et al., 2014). Der IGF-1R stimuliert zudem auch Angiogenese durch die Aktivierung von VEGF (Hua et al., 2020). Die durch den Rezeptor aktivierte Kaskade hat einen größeren Effekt bei Patienten mit dem *TMPRSS2:ERG*-Fusion-Gen, da ERG-positive Zellen sensitiver auf das durch Insulin-Like-Growth-Factor 1 in Gang gesetzte Zellwachstum reagieren (Mancarella et al., 2017). Es wurde auch ein Zusammenspiel zwischen dem Androgen-Rezeptor und dem Insulin-Like-Growth-Factor gefunden: Es gibt eine durch den Androgen-Rezeptor (AR) meditierte Hochregulierung von IGF1R-Expression bei Prostatazellen (Wu & Yu, 2014). Dies ist wichtig, da der AR in der Krebs-Progression bei malignem Prostatagewebe eine signifikante Rolle spielt und somit angenommen werden kann, dass die durch AR in Gang gesetzte Hochregulierung von IGF1R mit der pro-malignen Rolle des AR in Verbindung stehen könnte. Zudem ist die Sterberate bei Patienten mit Prostatakrebs und einer hohen Expression von den oben genannten Rezeptoren signifikanter als bei denen ohne (Ahearn et al., 2018). Die oben genannten Prozesse, die die Pathogenität des IGF1R im Zusammenhang mit dem Prostatakarzinom nahelegen, erklären

ebenfalls, warum die Expression des IGF1R bei malignem Gewebe höher ist als bei benignem. Laut den Ergebnissen scheint dabei der IGF1R im Zytoplasma eine wichtigere Rolle zu spielen als der im Zellkern. Dieser scheint von benignem über angrenzendes, bis hin zu malignem und metastasiertem Gewebe kontinuierlich zu steigen. Der Grund dafür könnte der in Kapitel 1.7.7 beschriebene Mechanismus der Translokation in das Cytoplasma sein. Vor dem Hintergrund einer erhöhten Effizienz der Proteinproduktion macht eine Verlegung des IGF1R in das Zytoplasma durchaus Sinn. Die IGF-1R-Expression steigt vor allem im initialen Tumorstadium und bleibt daraufhin kontinuierlich hoch. Der höhere Bedarf der Zelle an den durch PI3/K und Ras-Raf-Mek in Gang gesetzten zytophysiologicalen Auswirkungen bietet hierfür eine plausible Erklärung. Die IGF1R-Expression im Zellkern sinkt im initialen Tumorstadium, während sie in metastasiertem Gewebe signifikant ansteigt. Somit scheint die in Kapitel 1.7.7 beschriebene Translokation in den Nukleus und die damit verbundenen epigenetischen Einflüsse erst in spätem Stadium des Prostatakarzinoms eine Rolle zu spielen.

#### IV.1.2.1. ER- $\beta$ -Expression im Hinblick auf die Tumorpheression

Der ER- $\beta$  hat ebenso wie der IGF1R eine signifikant höhere Expression im Zellkern in metastasiertem Gewebe als im High-Gleason-Gewebe. Die Expression im Zytoplasma ist jedoch nicht erhöht. Zudem waren die ER- $\beta$ -Werte im Zellkern bei M1- und N1-Gewebe höher als die der M0- und N0-Gewebe. Im Zytoplasma waren die ER- $\beta$ -Werte im M1- und N1-Gewebe signifikant niedriger als im M0- und N0-Gewebe.



Abbildung 59: Bildlicher Vergleich zwischen einer benignen, Low Gleason- und M1-Zelle mit Hinblick auf die ER-β-Expression

#### IV.1.2.2. Vergleich mit anderen klinischen Studien

Asgari und Morakabati erhielten in einer klinischen Studie zur ER-β-Expression in Prostatamalignomen folgende Ergebnisse. Hierbei mussten mindestens 10 % der Fläche der einzelnen Proben positiv auf ER-β färben, um als „positiv“ getestet zu werden, wobei 29/29- (100 %) Proben von Low- und Intermediate-Grade-Tumoren positiv auf den ER-β getestet, aber nur 19/23 (83 %) der High-Grade-Tumoren positiv getestet wurden. Hierbei wurde nur die nukleare Färbung in Betracht gezogen (Asgari & Morakabati, 2014). Diese Studie steht somit im kompletten Kontrast zu den vorliegenden Ergebnissen, da die gemessene ER-β-Expression im Zellkern bei High-Grade-Tumoren höher war als bei Low- und Intermediate-Grade-Tumoren.

Linja et al., die die ER-β- und ER-α-Expression in den benignen Zellen (BPH) Prostatazellen sowie hormon-refraktären PCa-Zellen via RT-PCR gemessen haben, zeigten im Vergleich zu hormon-refraktären Zellen eine doppelt so hohe ER-β-Expression in den benignen Zellen. Die Unterschiede waren jedoch nicht signifikant (Linja, et al., 2003). Trotzdem zeigt diese Studie ein anderes Muster als die hier vorliegenden Ergebnisse.

Horvath et al. führten eine Studie zur Expression des ER-β durch. Mithilfe der Immunhistochemie wurden die folgenden Ergebnisse vorgelegt (Es wurde nur eine nukleare Färbung in Betracht gezogen.): In normalem prostatischem Epithel wurden alle Gewebeproben positiv auf ER-β getestet. In BPH-Gewebe wurden 38/157-Proben

mit mehr als 5 % auf ER- $\beta$  positiv gefärbten Zellen gefunden. Bei der Untersuchung der ER- $\beta$ -Expression bei Prostata-Malignomen wurden nur 18 von 159 positiv auf ER- $\beta$  getestet. Es wurde ebenso eine Verminderung des krankheitsfreien Überleben bei Patienten mit ER- $\beta$ -negativen Prostatakarzinomen festgestellt. Somit zeigt diese Studie ebenso einen entgegengesetzten Trend zu den unserer Studie ermittelten Ergebnissen (Horvath et al., 2001).

Schade et al. führten eine Studie zur subzellulären Lokalisation der ER- $\beta$ -Subtypen bei Prostatakarzinomen durch. Sie fanden heraus, dass Tumor-Gewebe auf ER- $\beta$ 1 zu 95,7 %, ER- $\beta$  2 zu 97,5 % und ER- $\beta$  5 zu 22,9 % positiv getestet wurde.

Bei ER- $\beta$  1 betrug die nukleare Expression 62,1 %, die zytoplasmatische 8,5 % und 25,1 % besaßen sowohl eine zytoplasmatische als auch nukleare Expression. Für ER- $\beta$  2 waren diese Werte 1 %, 72 % und 23,9 %. ER- $\beta$  5 hatte praktisch nur zytoplasmatische Expression.

ER- $\beta$ 1-Expression wurde positiv mit einer kurzen Rezidiv-Zeit korreliert. ER- $\beta$  2 wurde negativ mit einer 5-Jahres-rezidiv-freien Zeit korreliert. Eine intensive Färbung des ER- $\beta$  1 und 2 wurde außerdem mit einer höheren Mortalität bei den Prostatakrebs-Patienten korreliert (Schade et al., 2014).

Verglichen mit unseren Ergebnissen wurde bei dieser Studie eine höhere zytoplasmatische Expression und eine niedrigere nukleare Expression bei Low-Grade-Tumoren gefunden. Jedoch wurde bei M1-Tumoren eine höhere nukleare und niedrigere zytoplasmatische Expression gefunden als bei Low-Grade-Tumoren.

#### IV.1.2.3. Die Rolle des ER- $\beta$ bei der Pathogenese von Prostata malignomen

Es gibt zwei verschiedene Östrogenrezeptoren,  $\alpha$  und  $\beta$ . Bis vor kurzem wurde angenommen, dass der Östrogenrezeptor  $\alpha$  eine pro-onkogene Rolle und der Östrogenrezeptor  $\beta$  eine anti-onkogene Rolle bei Prostatakrebs spielt. Die folgenden anti-onkogenen Rollen wurden dem ER- $\beta$  zugesprochen. Der ER- $\beta$  führt über die Aktivierung von Tumor Necrosis Factor Alpha über den Extrinsic Pathway, kann aber auch durch FOXO3a und PTEN über den Intrinsic Pathway zu einer erhöhten Apoptose führen und hat somit unter diesem Gesichtspunkt eine tumor-unterdrückende Wirkung (Dey et al., 2014). Ein wichtiger Faktor bei der Prostatakrebs-Progression ist der oxidative Stress. Dieser wird unter anderem durch Entzündungen

erhöht und mit einer erhöhten Aggressivität des Prostatakarzinoms in Verbindung gebracht. Eine höhere Expression von ER- $\beta$  wurde mit einer erhöhten Produktion von Antioxidanten korreliert, eine tumor-suppressive Funktion, während oxidativer Stress die Produktion von ER- $\beta$  nachweislich mindert (Christoforou et al., 2014). Laut Xiao et al. ist die Wirkung des ER- $\beta$  in normalen Prostata-Zellen tumor-suppressiv, unter anderem durch seine inhibierende Wirkung am NF $\kappa$ B, da es diesen und seine pro-inflammatorische und somit pro-onkogene Wirkungen hindert (Xiao et al., 2019). In Bezug auf die Ergebnisse könnten die initial erhöhten Entzündungswerte des Tumors damit zu erklären sein (erhöhter IL-6R), da möglicherweise die inhibierende Wirkung des ER- $\beta$  vor allem im Zellkern zustande kommt, und da sich der Zellkern bei der initialisierten Tumor-Progression in das Zytoplasma verlagert und somit seine inhibierende Wirkung verlorenght. Außer dieser antientzündlichen Wirkung hat der ER- $\beta$  auch eine Auswirkung auf eine Reihe von anderen Proteinen, die eine anti-onkogene Wirkung haben. So wird zum Beispiel das E-Cadherin-Gen, das für die epitheliale Integrität eine wichtige Rolle spielt, von ER- $\beta$  hochreguliert. Zudem reguliert der ER- $\beta$  den PHD2 hoch, was für die VHL-Markierung und Zersetzung von HIF-alpha, einem Onkogen, nötig ist (Christoforou et al., 2014). Die anti-onkogene Wirkung des ER- $\beta$ , die hier dargestellt wurde, könnte erklären, wieso der Verlust dieses Rezeptors die initiale Tumor-Progression vorantreibt, was in der kontinuierlich sinkenden Expression zwischen benignem, angrenzendem und Low-Gleason-Gewebe der Fall ist. Interessanterweise ist der Abfall der ER- $\beta$ -Expression zwischen benignem und angrenzendem Gewebe am höchsten, was andeuten könnte, dass der Verlust des nuklearen ER- $\beta$  ein Auslöser der initialen Tumorentstehung sein könnte.

Es wurde jedoch auch eine „Switching Role Theory“ in Bezug auf Prostatakrebs aufgestellt, also eine Hypothese, die besagt, dass die Rolle des Östrogenrezeptor  $\beta$  anfänglich auf den Tumor unterdrückend wirkt, jedoch bei Tumor-Progression eine tumor-stimulierende Wirkung hat. Diese Beobachtung scheint über die Kaskade, die den Serin210-phosphorilierten Androgen-Rezeptor beinhaltet, zu laufen, die beim Fortschreiten des Prostatakarzinoms inhibiert wird (Christoforou et al., 2014). Dies könnte erklären, warum die nukleare Konzentration des ER- $\beta$  zwischen benignem Gewebe und Low-Gleason-Gewebe abfällt, jedoch anschließend von Low-Gleason-bis hin zu M1-Gewebe wieder ansteigt.

Eine weitere Hypothese, die weiter untersucht werden könnte, ist die Rolle der verschiedenen Subrezeptoren des ER- $\beta$  (ER- $\beta$  1- ER- $\beta$  5) bzw. dass es keine

Rezeptor-Verlagerung, sondern eine Aktivierung verschiedener Subrezeptoren war, die so ein Muster zustande gebracht haben. Die Subtypen des ER- $\beta$  – ER- $\beta$  2 und ER- $\beta$  5 – agieren anscheinend als pro-onkogene Rezeptoren, die die Zellen-Migration und Invasion fördern. So kann der ER- $\beta$  2 die Aktion des ER- $\beta$  1 ausschalten und somit die empfindlich-mesenchymale Transition vorantreiben (Christoforou et al., 2014). Diese beiden Subtypen (ER- $\beta$ 2 und ER- $\beta$ 5) sind vor allem im Zytoplasma vorhanden (Schade et al., 2016), was ihre erhöhte Konzentration im initialen Tumorstadium erklären könnte (angrenzendes Gewebe und Low Gleason). Die andere wichtige Subform des ER- $\beta$  ist die ER- $\beta$ 1, die vor allem im Zellkern lokalisiert ist. Dieser Rezeptor wurde als anti-onkogener Rezeptor beschrieben, der unter anderem einen Zell-Zyklus-Stop in früher G1-Phase in LNCaP-Zellen hervorrufen konnte (Hurtado et al., 2008). Da, wie bereits beschrieben, der ER- $\beta$  2 den ER- $\beta$  1 binden und inhibieren kann, kann davon ausgegangen werden, dass in benignem Gewebe eine hohe Expression von ER- $\beta$ 1 überwiegt, während bei der Tumor-Progression die Expression von ER- $\beta$  2 und ER- $\beta$  5 überwiegt, was unter anderem die Aktion des tumor-unterdrückende ER- $\beta$  1 nach sich zieht.

#### IV.1.3.1. IL-6R Expression mit Hinblick auf die Tumor-Progression

Beim IL-6R konnte ein signifikanter Anstieg in der zytoplasmatischen Rezeptorexpression zwischen benignem und angrenzendem sowie benignem und Low-Gleason-Gewebe festgestellt werden. In der darauffolgenden Tumor-Progression gab es keine signifikanten Veränderungen.

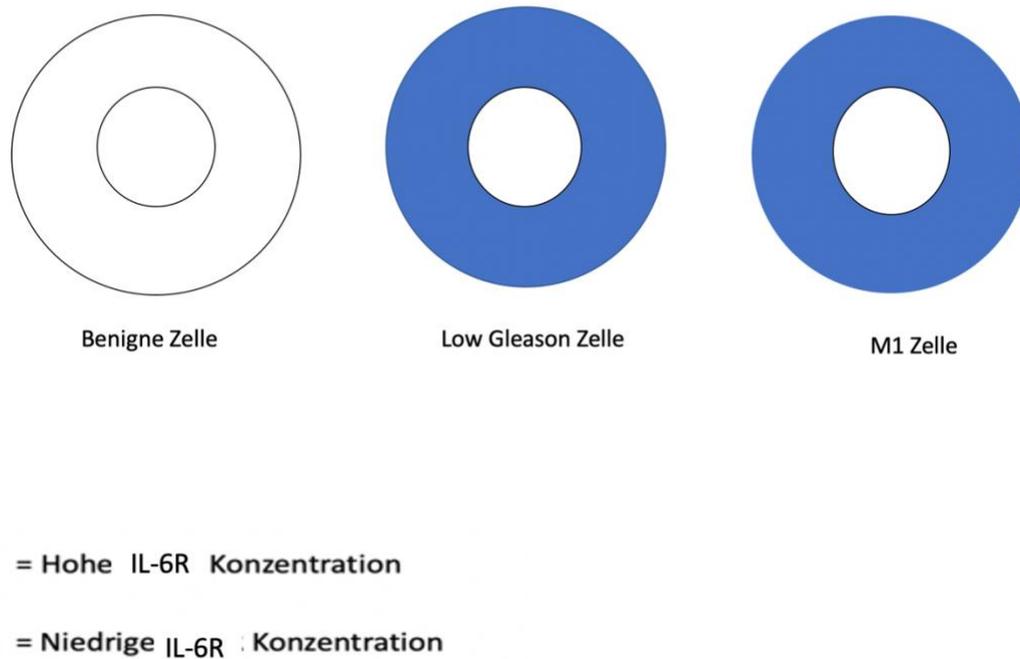


Abbildung 60: Bildlicher Vergleich zwischen einer benignen, Low-Gleason- und M1-Zelle im Hinblick auf die IL-6R-Expression

#### IV.1.3.2 Der Vergleich mit anderen klinischen Studien

Eine Studie von Hobisch et al. zeigte ähnliche Ergebnisse wie unsere Studie, wobei ebenfalls eine hohe Expression von Interleukin-6R in malignem Gewebe festgestellt werden konnte (Hobisch et al., 2000). In einer Studie von Tozawa et al. wurde eine Korrelation zwischen der Interleukin-6R-Expression und dem Gleason-Score demonstriert. Die Interleukin-6R-Expression war in High Gleason signifikant höher als in Low Gleason und BPH-Gewebe (Tozawa et al., 2016). In der vorliegenden Studie wurde zwar kein signifikanter Unterschied zwischen Low Gleason und High Gleason entdeckt, jedoch ein signifikanter Unterschied zwischen Low Gleason und benignem Gewebe. Ansonsten existieren nur unzureichende Studien, die durch Immunhistochemie die Expression von IL-6R analysieren. Eine weitere Möglichkeit, die Expression von Interleukin-6R zu analysieren, ist ELISA. Bei einer solchen Studie von Giri et al. wurde eine signifikant höhere Interleukin-6R-Expression im malignen als in benignen Gewebe festgestellt (Giri et al., 2001).

#### IV.1.3.3. Die Rolle des IL-6R bei der Pathogenese von Prostatamalignomen

Die von der Studie erzeugten Daten zeigen eine klare pro-onkogene Rolle des IL-6R, vor allem bei der initialen Phase der Tumorentstehung. So gibt es einen stetigen Anstieg in der zytoplasmatischen IL-6R-Expression von benignem Gewebe bis hin zum Low-Gleason-Gewebe. Anschließend gab es keine signifikanten Veränderungen bezüglich der IL-6R-Expression zwischen dem Low-Gleason-, High-Gleason- und M1-Gewebe. In Bezug darauf muss angemerkt werden, dass die Expression des Rezeptors auf konstantem Level bleibt, was die Signifikanz der Rezeptorexpression in allen Phasen der Tumorsequenz unterstreicht. Die Expression der Zellmembran-gebundenen IL-6R verändert sich nicht signifikant. Die erhöhten zytoplasmatischen Interleukin-6-Rezeptor-Werte sind wichtig für die Tumorbilogie, da dieser Rezeptor durch seine GP130-Subunit den JAK aktiviert, was zu einer STAT3-Dimerisierung und einer Translokation im Zellkern führt. Ein erhöhter Level des STAT3 wirkt durch die Aktivierung der folgenden Gene onkogen: Myc, Bcl-2, und Survivin (Cheteh et al., 2020). Außerdem kann STAT3 auch die Expression des NFκB erhöhen, was anti-apoptotische und pro-proliferative Wirkungen haben kann (Grivennikov & Karin., 2010). Zudem wird durch die e-IL-6R-aktivierte PI3K/Akt-Kaskade das Überleben von Zellen gefördert und durch die aktivierte MAPK das Zellwachstum und die Mitose (Azevedo et al., 2011). Diese Eigenschaften des IL6-R machen ihn zu einem idealen Rezeptor für Tumorwachstum. Somit sind die erhöhten Werte bei maligner Transformation in den vorliegenden Daten gut erklärbar. Interleukin-6 wurde zudem generell mit einer höheren Tumor-Aggressivität in Verbindung gebracht (Curlig, 2014). In einigen Studien wurden jedoch ebenfalls tumorwachstums-inhibierende Wirkungen des IL-6R festgestellt (Hobisch et al., 2000). Eine Erklärung, warum sich gerade die zytoplasmatische Expression des IL-6R signifikant verändert, während die membranöse IL-6R-Expression gleich bleibt, ist nicht zu erklären.

#### IV.2 Die Relation der Rezeptoren zueinander

##### IV.2.1. IGF1-R und ER-β

Möglicherweise gibt es bei der Entstehung von Prostatakarzinomen einen ähnlichen Pathomechanismus wie bei Brustkrebs. In den Ergebnissen konnte eine positive Korrelation zwischen den beiden Rezeptoren im Zellkern bei benignem Gewebe und im Zytoplasma bei malignem, nicht-metastasiertem Gewebe festgestellt werden. Aus diesem Muster kann geschlossen werden, dass sich das biologische Zusammenspiel

beider Rezeptoren je nach Tumor-Progression verändert und sich vielleicht vom Zellkern in das Zytoplasma verlagert. Die beiden Rezeptoren haben nicht nur, wie bereits beschrieben, eine gemeinsame Schnittstelle in den Phosphorylierungskaskaden, sie könnten auch ihre gegenseitige Expression beeinflussen. Pandini et. al. haben einen möglichen Grund für diese Korrelation gefunden. In ihrer Studie wurde die Hochregulierung von IGF1R durch Östrogene untersucht. Dabei hat sich herausgestellt, dass sich die Expression von IGF1R in Prostatakrebszellen nach Behandlung mit Östrogenen erhöht. Als möglichen Grund dafür wurde die Src-ERK1/2-Kaskade genannt, die nach Aktivierung die Gen-Promotor-Aktivität sowie Gen-Transkription erhöht (Pandini et al., 2009).

#### IV.2.2. IGF1-R und IL-6R

Laut den Ergebnissen gibt es eine signifikante positive Korrelation der beiden Rezeptoren im Zytoplasma von benignem sowie malignem Gewebe. Die beiden Rezeptoren könnten nicht nur, wie beschrieben, eine synergistische Aktion haben, sie könnten ebenfalls ihre Expression gegenseitig hochregulieren. Eine Studie von Zhang et al. entdeckte einen möglichen Grund dafür bei Docetaxel-resistenten Prostatakarzinomzellen. So scheinen hohe Konzentrationen von IL-6 zu einer erhöhten Expression von SOD2 zu führen. Dies geschieht durch den von IL-6R-aktivierten STAT3 (Jung et al., 2011). Dadurch kommt es zu einer Reduktion von reaktiven Sauerstoffspezies, was eine Reduktion von Beta Arrestin 1 und somit eine Hochregulierung von IGF1R verursacht. Dieser Mechanismus ist auch klinisch relevant, da eine erhöhte Konzentration von SOD2 mit einer erhöhten Docetaxel-Resistenz korreliert wurde (Zhang et al., 2014). Zwar zeigen die vorliegenden Daten keine Korrelation bei M1-Gewebe, dies könnte jedoch auch an der geringeren Datenmenge liegen, da trotzdem eine klar positive Korrelation zu verzeichnen ist. Derselbe Mechanismus könnte ebenso bei nicht-metastasiertem Gewebe zu einer solch positiven Korrelation führen.

#### IV.2.3. ER- $\beta$ und IL-6R.

Ähnlich wie bei Osteoporose (Kapitel I.7.12) wurde in der Pathogenese von Prostatakarzinomen auch eine Schnittstelle zwischen dem Interleukin-6R und dem ER- $\beta$  gefunden. Diese ist jedoch indirekt; so wird die Expression von NF $\kappa$ B und p65

durch die Aktion von ER- $\beta$  herunterreguliert. Durch diese beiden Proteine wird die Interleukin-6-Gen-Transkription normalerweise hochreguliert. Daher sorgt die vom ER- $\beta$  getriebene Inhibition für eine Verminderung der IL-6-Produktion und führt somit auch zu einer Verminderung der IL-6R-Aktivierung. Eine erhöhte ER- $\beta$ -Expression führte in dieser Studie zu einer erhöhten Apoptose-Rate und zu einer geringeren Zellmigration (Xiao et al., 2019). Zu einem direkten Link zwischen der ER- $\beta$ -Expression und der IL-6R-Expression konnten jedoch keine Studien gefunden werden. Dies ist merkwürdig, da es in den vorliegenden Ergebnissen eine signifikante positive Korrelation zwischen den beiden Rezeptoren gab. So wurde bei benignen, malignem und M1-Gewebe eine positive Korrelation gefunden. Ob dieser Zusammenhang rein zufällig ist, oder ob es tatsächlich einen konkreten Link gibt, ist noch zu erforschen

### IV.3 Metastasierung und die EMT

Die untersuchten Rezeptoren haben unterschiedliche Auswirkungen auf die Metastasierung und potenziell auf die EMT eines Tumorgewebes. Diese werden im folgenden Abschnitt einzeln untersucht.

#### IV.3.1 IGF1R

Mit Blick auf die Werte des IGF1R in der Tumorsequenz wird deutlich, dass es einen signifikanten Unterschied zwischen dem High-Gleason-Tumorgewebe und dem metastasierten Gewebe in Bezug auf die IGF1R-Zellkern-Expression gibt. Bei der Expression im Zytoplasma gibt es keine signifikanten Unterschiede zwischen High-Gleason- und M1-Gewebe zu erkennen. Zudem waren die IGF1R-Werte im Zellkern bei M1- und N1-Gewebe signifikant höher als im M0- und N0-Gewebe.

Die erhöhte Expression des IGF1R könnte folgendermaßen über eine IGF1R-Translokation erklärt werden. Die Translokation des IGF1R in den Zellkern wurde bereits als ein potenzieller pro-onkogener Prozess dargestellt. So wurde eine hohe nukleare Expression von IGF1R mit einem schlechten klinischen Ergebnis korreliert (Poreba & Durzynska., 2020). Der Rezeptor bindet spezifische Regionen im Genom und benimmt sich dadurch wie ein Transkriptionsfaktor. Zudem bindet IGF1R verschiedene Transkriptionsfaktoren und Ko-Aktivatoren so wie in etwa LEF1, was zu einer erhöhten Konzentration von Cyclin D1 führt (Solomon-Zemler et al., 2017).

Cyclin D1 aktiviert die Proliferation von Zellen (Musgrove et al., 2011). Ein möglicher Mechanismus für die Translokalisierung der Rezeptoren wurde bereits im Abschnitt I.7.7 erläutert.

Der beschriebene Prozess könnte der Grund sein, warum das metastasierende Gewebe eine signifikant höhere nukleare IGF1R-Expression hat als das nicht-metastasierende. Es könnte jedoch genauso gut sein, dass einfach mehr IGF1R hergestellt wird, und dass es keine nukleare Translokalisierung gibt. Aleksic et. al. brachten eine hohe Gesamtexpression (nukleare+ zytoplasmatische) mit einem erhöhten Risiko für Metastasen in Verbindung (Aleksic et al, 2017). Dieselbe Studie wies auch darauf hin, dass der zytoplasmatische IGF1R der stärkere Treiber der Metastasierung ist als der nukleare IGF1R. Genaue Pathomechanismen könnte anhand von anderen Tumoren ebenfalls erklärt werden. Hierbei könnten Parallelen zu Brustkrebs gezogen werden, da der IGF1R dort eine wichtige Rolle beim Prozess der Metastasierung zu spielen scheint. Kucab und Dunn stellen die Hypothese, dass der IGF1R bei der Metastasierung in Brustkrebs die Angiogenese und die Lymphangiogenese durch die erhöhte Expression des VEGF 165 und des VEGF 121 fördert (Kucab & Dunn, 2003). Wie bereits in der Einleitung beschrieben, wurde die erhöhte Angiogenese und Lymphangiogenese bei Prostatazellen bei erhöhter IGF1R-Expression ebenfalls beschrieben. Die jetzigen Publikationen zu diesem Thema beschreiben den EGF und den VEGF jedoch als durch den Membran gebundenen IGF1R aktiviert, der anschließend die beiden Faktoren über den PI3K/AKT, MAPK, EGFR (Yeo et al., 2017) und den VEGFR (Karar & Maity, 2011) aktiviert und nicht durch einen direkten epigenetischen Einfluss.

#### IV.3.2 ER- $\beta$

Mit Blick auf Metastasen ist die Rolle des ER- $\beta$  ebenfalls kompliziert. Es wurde in den Ergebnissen eine signifikant positive Korrelation zwischen der ER- $\beta$ -Zellkern-Expression und der Metastasierung festgestellt, ebenso wie ein eindeutiger Abfall der ER- $\beta$ -Zytoplasma-Expression. Dies kann nicht mit der „Switching Role Theory“ erklärt werden. Interessanterweise haben Lai und Kollegen eine erhöhte nukleare ER- $\beta$  Färbung bei Knochenmetastasen des Prostata Karzinoms entdeckt (Lai et al., 2004). Leav et al. haben die Hypothese aufgestellt, dass die erhöhten ER- $\beta$ -Werte bei metastasierten Zellen an der biologischen Aktion von umgebendem Gewebe hängen könnte (Leav et al., 2001). Laut Zhu et. al. scheinen die ER- $\beta$ -positiven Sub-Klone

einen Vorteil beim Prozess der Metastasierung zu haben. Dey et. al. zufolge wurde eine erhöhte Expression von ER- $\beta$  2 bei metastasierendem Prostatakrebs festgestellt (Nelson et al., 2014). Der ER- $\beta$  2 ist aber vor allem ein zytoplasmatischer Rezeptor. In den vorliegenden Ergebnissen ist die zytoplasmatische Expression des ER- $\beta$  bei metastasierendem Gewebe vermindert. Möglicherweise könnten zur Findung von genauen Pathomechanismen andere Tumorarten untersucht werden: In nicht-kleinzelligem Lungenkrebs (NSMLC) wurde eine Regulierung des MMP2 durch den Östrogen-Rezeptor  $\beta$  festgestellt, was natürlich auch bei Prostatakrebs der Fall sein könnte. Hierbei wurde eine Korrelation zwischen den Expressionsgraden von ER- $\beta$  und MMP2 und bei ER- $\beta$ -Knockout-Mäusen eine geringere Menge von MMP2 festgestellt. In derselben Studie wurde ebenso festgestellt, dass ER- $\beta$ -Agonisten eine höhere NSMLC-Aggressivität und einen höheren Grad der Metastasierung nach sich zogen. Diese Regulierung scheint über die p38MAPK/Akt-Kaskade zu laufen, der durch den ER- $\beta$  aktiviert wird (Fan et al., 2017).

Im Gegensatz dazu steht eine Studie von Zhao et al., bei der eine Inhibition der Metastasen bei Hautkrebs und triple-negativen Brustkrebs durch den ER- $\beta$  festgestellt wurde. So stimuliert die Aktivierung des ER- $\beta$  in den Tumor-Zellen die Ausschüttung von IL-1 $\beta$ , was die Migration von neutrophilen Zellen an den Tumor stimuliert. Dieser Effekt wurde jedoch nur bei bereits metastasierten Zellen festgestellt (Fan et al., 2017). Eine Antwort darauf, warum sich der ER- $\beta$  bei metastasierendem Gewebe in den Zellkern verlagern sollte, bieten diese Studien nicht. Anhand der Ergebnisse könnte die Hypothese aufgestellt werden, dass sich bei der Metastasierung die Rolle des ER- $\beta$  erneut verändert – diesmal durch eine Verlagerung des ER- $\beta$  in den Nukleus – und somit neue epigenetische Auswirkung nach sich zieht.

#### IV.3.3. IL-6R

Zwar gibt es keinen signifikanten Unterschied zwischen der Konzentration des Interleukin-6-Rezeptor in High-Gleason- und M1-Gewebe, das bedeutet jedoch nicht, dass der Interleukin-6-Rezeptor bei der Metastasierung keine Rolle spielt.

In einer Studie nach Noda et al. wurde in einem Tier-Modell das Zusammenspiel von Astrozyten und den SCC-Zellen in Lungen-SCC-Metastasen im Gehirn beobachtet. Dabei wurde festgestellt, dass der IL-6R der einzige Rezeptor war, der während der Botenstoff-Ausschüttung der Astrozyten hochreguliert war. Nach der Applikation von

Tocilizumab, einem IL-6R Inhibitor, wurde eine signifikante Inhibierung des Metastasen-Wachstums der SCC-Zellen festgestellt (Noda et al., 2012).

In einer Studie von Ara und DeClerck wurde die Rolle des sIL-6R bei Knochenmetastasen untersucht. Dabei wurde herausgefunden, dass dieser Rezeptor durch die Aktivierung des Jak/Stat-3, PI3K, und MAPK eine aktive Rolle bei der Metastasierung spielt. Zudem können die Tumor-Zellen der Prostata diesen Rezeptor Autokrin aktivieren. Die Aktivierung von STAT-3 durch Interleukin-6 in Melanom-Zellen zieht eine Überexpression von bFGF, MMP-2, und VEGF nach sich, was zur Invasion und Angiogenese bei Tumoren beiträgt (Ara & DeClerck, 2010).

Eine weitere Rolle, die der Interleukin-6-Rezeptor bei der Prostata-Krebs-Metastasierung spielen könnte, ist an seine Hochregulierung des MMP-9 geknüpft, der durch die Pi3-Akt-Kaskade aktiviert wird. Zudem wird durch die Interleukin-6-Rezeptor-Kaskade das Protein Maspin, ein Tumoregulator, der die Zellen-Adhäsion kontrolliert, herunterreguliert. Mit IL-6 behandelte LNCaP-Zellen geraten in die Epithelial-Mesenchymale Transition (Nguyen & Tewari, 2014). Die Ergebnisse lassen vermuten, dass die in der Tumor-Progression konstant erhöhten IL-6R-Expressionen konstant mit einer pro-onkogenen und EMT-fördernden Wirkung einhergehen.

#### IV.4. Interaktion der Rezeptoren, Prostatakarzinom und Diabetes

##### IV.4.1 IGF1R

Der IGF1R könnte auch eine maßgebliche Rolle in der Tumorprogression bei Patienten mit Diabetes und Prostata-Karzinom spielen. Dies liegt daran, dass der IGF1R durch Insulin gebunden und somit aktiviert werden kann. Dies ist ein Problem, da Patienten mit Diabetes Typ 2 einen erhöhten Insulinspiegel haben und damit mehr IGF1-Rezeptoren aktiviert werden. Dies führt über die Src/Erk-1/2-Kaskade zu einer erhöhten Expression von Androgen-Rezeptoren und somit zur Proliferation des Tumors. Diese Erkenntnis ist wichtig für die Therapie der Patienten mit Diabetes und Prostatakarzinom, da es indiziert, dass eine Insulin-unabhängige Therapie diesen Mechanismus nicht aktiviert. Es begünstigt auch die Nutzung von Metformin, da es die Insulin-Rezeptoren auf Insulin sensibilisiert und somit den Insulin-Spiegel senkt (Lutz et al., 2018). Um auf die vorliegenden Ergebnisse zurückzukommen: Es entsteht die Frage, warum die IGF1R-Zellkern-Expression in benignem Gewebe bei Patienten mit Diabetes höher zu sein scheint als bei Patienten ohne Diabetes, und warum die IGF1R-Zytoplasma-Konzentration bei Patienten mit malignem Gewebe und Diabetes

niedriger ist als die ohne Diabetes. Zu diesem Thema scheint es aktuell noch keine Erkenntnisse zu geben.

#### IV.4.2 ER- $\beta$

Laut den Ergebnissen scheint bei Patienten mit benignem Gewebe und Diabetes im Vergleich zu Patienten ohne Diabetes eine erhöhte Konzentration von ER  $\beta$  im Nukleus vorhanden zu sein. Dies könnte zumindest theoretisch erklären, warum die Patienten mit Diabetes ein geringeres Risiko haben, an Prostatakrebs zu erkranken, da – wie bereits erklärt – der ER  $\beta$  eine teils schützende Wirkung vor Prostatakrebs hat. Die ER- $\beta$ -Zellkern-Expression war bei Prostatakrebs-Patienten mit und ohne Diabetes niedriger als bei Patienten mit benignem Gewebe. Interessanterweise war die ER- $\beta$ -Expression in Zytoplasma im tumorösen Gewebe höher bei Patienten ohne Diabetes als bei Patienten mit Diabetes. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, warum Patienten mit Diabetes einen schwereren Verlauf haben, da sie einen niedrigeren schützenden Effekt durch ER  $\beta$  haben als Patienten ohne Diabetes. Jedoch sollten die hier gemachten Aussagen kritisch gesehen werden, da für die Patientengruppe mit Tumor und Diabetes leider nur zwei Datenpunkte zur Verfügung standen.

#### IV.4.3. IL-6R

Der Interleukin-6R spielt bei der Pathogenese bei Diabetikern mit Hinblick auf Prostatakrebs zwar nur eine untergeordnete Rolle, was bei den vorhandenen Daten klar wurde, da es keine signifikanten Unterschiede in der Interleukin-6R-Expression zwischen Diabetikern und Nicht-Diabetikern gab. Jedoch sollte nicht vergessen werden, dass der Entzündungsmarker IL-6R dennoch wichtig ist. So wurden durch Esposito et al. höhere Interleukin-6-Werte bei Patienten mit Diabetes festgestellt (Esposito et al, 2002). Da Interleukin-6 den Interleukin-6R aktiviert und dieser Effekt, wie bereits erklärt, tumorgenerierend ist, kann davon ausgegangen werden, dass, obwohl die Konzentration von Interleukin-6R bei Diabetikern nicht signifikant erhöht ist, die von Interleukin-6 aktivierte Kaskade trotzdem stärker in Aktion tritt als bei Patienten ohne Diabetes.

## IV.5. Verwendung der Rezeptorexpressionen als diagnostische Marker

### IV.5.1. Methodik

In dieser Studie wurde nicht nur das Gewebe von benignem und malignem Gewebe entnommen, sondern auch von tumor-angrenzendem Gewebe. So soll festgestellt werden, ob es bereits Veränderungen in der Rezeptor-Expression in tumor-angrenzendem Gewebe gibt, bevor eine morphologische maligne Veränderung vorliegt. Dies könnte ebenfalls Implikationen für die Diagnostik der Prostatakarzinome haben, da durch eine erhöhte Konzentration eines Rezeptors eine angehende maligne Transformation vermutet wird, der somit vorgebeugt werden kann. Es wurden tumor-nahes sowie tumor-fernes benignes Gewebe biopsiert. Tumor-nahes Gewebe wurde als Gewebe, das 0-5 mm vom Tumorgewebe entfernt wurde, und tumor-fernes Gewebe, das 1 cm oder mehr dem Tumor entnommen wurde. Die folgenden Vergleiche zwischen benignem und tumor-angrenzendem Gewebe können bestimmt werden.

### IV.5.2. IGF1R

Hierbei können die Expression im Zellkern und das Zytoplasma als mögliche Indikatoren für eine bevorstehende maligne Transformation verwendet werden. Die Konzentration des IGF1R in den Zellkernen in benignem Gewebe ist signifikant niedriger als die im angrenzenden Gewebe und die Konzentration des IGF1R im Zytoplasma ist im angrenzenden Gewebe signifikant höher als im benignem. So könnten Patienten mit einer Kombination der beiden Veränderungen in der IGF1R-Konzentration eine potenzielle maligne Transformation vermuten. Natürlich sind diese Veränderungen nur relativ und da sich die Werte der IGF1R-Konzentration zwischen benignem und angrenzendem Gewebe überlappen, wäre diese prognostische Möglichkeit nur bei einer wiederholten Gewebeprobe-Biopsie sinnvoll, wobei eine initiale Biopsie vorgenommen werden müsste, um eine Gewebeprobe zum Vergleich mit den spezifischen Patienten zu haben.

### IV.5.3. ER- $\beta$

Dasselbe Muster wie beim IGF1R gibt es ebenso beim ER- $\beta$ , wobei ebenfalls die Konzentration des ER- $\beta$  in den Zellkernen in benignem Gewebe signifikant höher und die Konzentration des ER- $\beta$  im Zytoplasma in benignem Gewebe signifikant tiefer war als die in angrenzendem Gewebe. Somit ist der ER- $\beta$  ein ebenso möglicher Marker für eine bevorstehende maligne Transformation wie der IGF1R.

#### IV.5.4 IL-6R

Der Interleukin-6R könnte ebenfalls potenziell zur Diagnostik des Prostatakarzinoms verwendet werden, da die Konzentration des Rezeptors im Zytoplasma in angrenzendem Gewebe signifikant höher ist als in benignem Gewebe. Entzündung ist bekanntermaßen ein wichtiger Bestandteil der malignen Transformation von Gewebe, was diesen Marker für die Diagnostik, vor allem in der Kombination mit den anderen Markern sehr interessant macht, da eine Erhöhung von Entzündungsmarkern allein durch benigne Prozesse entstehen kann.

#### IV.6. Die Rezeptoren als prognostische Marker

Prognostische Marker besitzen eine hohe Signifikanz, damit Patienten mit Karzinomen nicht unnötig intensiv behandelt werden. Die wichtigsten prognostischen Marker des Prostatakarzinom sind der Gleason Score und der PSA. Je mehr prognostische Marker erörtert und hinzugezogen werden können, desto spezifischer kann ein Patient eingeordnet und behandelt werden.

##### IV.6.1 IGF1-R

Eine hohe Expression des IGF1R wurde von Mancarella et al. in Verbindung mit einem kumulativ längerem Patientenüberleben in Verbindung gebracht (Mancarella et al., 2017). Andererseits zeigte sich eine positive Korrelation zwischen der IGF1-Konzentration und dem Risiko, an Prostatakrebs zu erkranken (Wolk et al., 1998). Hellawell et al. sowie die vorliegende Studie zeigten eine höhere IGF-1R-Expression in malignen Prostatakrebszellen. Hierdurch ist der Nutzen des IGF1R als prognostischer Marker eher unklar. Die vorliegenden Daten zeigen, dass eine starke zytoplasmatische Expression des IGF-1R gekoppelt mit einer verstärkten nuklearen Expression des IGF1R mit einem erhöhten Potential zur Metastasierung einhergeht. Somit kann angenommen werden, dass ein Patient mit dieser Kombination bereits Metastasen hat oder kurz davor steht, zu metastasieren, weswegen bei solchen Patienten gegebenenfalls andere therapeutische und diagnostische Maßnahmen angewendet werden können.

#### IV.6.2 ER- $\beta$

In einer Studie mit Mäusen zeigten ER- $\beta$ -Knockout-Mäuse, die mit Testosteron behandelt wurden, eine Neigung dazu, Prostatakrebs zu entwickeln, während Gallard et al., Gabal et al. und Bardin et al. einen Verlust des ER- $\beta$  bei High-Grade-Prostatakarzinomen vorschlugen. Aufgrund dessen schlugen Christopherou et al. die ER- $\beta$ -Expression als prognostischen Marker vor (Christopherou et al., 2014). Vor dem Hintergrund der Ergebnisse kann der ER- $\beta$  tatsächlich als prognostischer Marker vorgeschlagen werden, jedoch nicht aufgrund eines Verlustes des ER- $\beta$ , sondern aufgrund der Verlagerung. Bei Patienten mit bereits vorbekanntem, nicht-metastasiertem Prostatakarzinom kann eine Veränderung der ER- $\beta$ -Expression im Sinne einer erhöhten nuklearen Konzentration und einer verminderten zytoplasmatischen Konzentration auf eine bevorstehende oder eine bereits gelaufene Metastasierung hindeuten.

#### IV.6.3 IL-6R

Einige Studien brachten bereits eine hohe IL-6-Konzentration und eine erhöhte sIL-6R-Expression mit einem aggressiveren Prostatakarzinom sowie einem schlechteren Outcome in Verbindung (Azevedo et al., 2011). Jedoch zeigen die vorliegenden Daten keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Tumorstadien. Lediglich die initiale Tumorentstehung kann mit einer signifikanten Erhöhung der IL-6R-Expression korreliert werden. Somit sprechen die Ergebnisse eher gegen eine Verwendung des IL-6R als prognostischen Marker.

### IV.7. Therapie

Die erläuterten Ergebnisse zeigen, dass die drei behandelten Rezeptoren einen relevanten, eher pro-onkogenen Effekt auf die Tumorbilogie des Prostatakarzinoms haben. Moderne biologische Therapie mithilfe von monoklonalen Antikörpern ermöglicht entweder die Aktivierung oder Blockierung von Rezeptoren, was die Signalwege und somit die Biologie von benignen und malignen Zellen beeinflussen kann.

#### IV.7.1. IGF1-R

Da der Effekt des IGF1-R, wie diese Daten belegen, meist tumorfördernd ist, ist die Blockierung des IGF1-R ein logischer Schritt, um zu versuchen, das Patientenüberleben mittels eines monoklonalen Antikörpers zu entwickeln, der den

IGF1R blockt. Ein solcher Antikörper ist zum Beispiel Cixutumumab. Dieser Antikörper wurde unter anderem für metastasierten Prostatakrebs, jedoch auch für Bauchspeicheldrüsenkrebs und Rhabdomyosarkom in einigen Phase-II-klinischen Studien getestet. Der monoklonale Antikörper wurde unter anderem mit Temserolimus, einem mTOR-Blocker, kombiniert, um unter anderem die paradoxische Aktivierung der IGF/AKT-Achse zu unterbinden, die durch Inhibition des PI3K/AKT/mTOR-Signalweges zustande kommt (Wu & Yu, 2014). Eli Lilly und Co (Indianapolis, USA), der Hersteller des Antikörpers, führte jedoch keine Phase-III-Studien durch und weitere Versuche mit dem monoklonalen Antikörper wurden nicht vorgenommen.

Ein weiterer getesteter monoklonaler Antikörper ist Figitumumab. Der auf IGF1R-spezifische IgG2-monoklonale Antikörper wurde unter anderem bei Männern mit kastrationssensitiven Prostatakarzinomen getestet. Dabei wurde in einer kleinen Phase II ein Versuch mit 14 Personen durchgeführt und dabei festgestellt, dass sich die durch Immunhistochemie festgestellte IGF1R-Expression sowie die AR-Expression signifikant verminderte. Bei einem anderen Versuch waren die PSA-Werte um 25 %-50 % nach der Einnahme von Figitumumab gesunken (Wu & Yu, 2014). Trotz dieser vielversprechenden Ergebnisse wurde die Entwicklung durch den Hersteller Pfizer (New York, USA) 2011 eingestellt (Pfizer Inc., 2010).

Ein monoklonaler Antikörper, der sich bereits in der Phase-III-Studie befand, ist Linsitinib. Der Antikörper bindet und blockiert nicht nur den IGF1R, sondern auch den Insulin-Rezeptor. In der Phase-III-Studie wurde jedoch kein signifikanter Unterschied im Patientenüberleben zwischen Placebo und Nicht-Placebo-Gruppe entdeckt. Bei der Interpretation der Ergebnisse wurde besonders auf die genetischen Unterschiede zwischen den Patienten geachtet, da diese die Wirksamkeit des Medikaments beeinträchtigen können. So reagierten zum Beispiel im Phase-III-Versuch drei Patienten teilweise auf den monoklonalen Antikörper. Alle Drei litten an einem Low-Grade-Tumor, die zu 3 %, 10 %, und 20 % Ki67-Positivität aufzeigten (Fassnacht et al., 2014). Insgesamt kann aus den gescheiterten Versuchen, den IGF1R zu blockieren und damit die Tumorbilologie zu beeinflussen, geschlossen werden, dass die sich in der Tumorprogression verändernde Rolle und subzelluläre Lokalisation einen erheblichen Einfluss auf die Nutzbarkeit des IGF-1R als therapeutisches Ziel hat.

#### IV.7.2. ER- $\beta$

Der Östrogen-Rezeptor  $\beta$  spielt, genau wie der IGF1R, eine sehr wichtige Rolle in der Tumorbilogie bei Prostatakarzinomen. Obwohl die Rolle des ER- $\beta$  immer noch umstritten ist, da noch nicht zu 100 % entschlüsselt wurde, welche Rolle der Rezeptor bei welchem Tumorstadium spielt, wurde der Rezeptor bereits als Ziel biologischer Therapien angewandt. So wurden zum Beispiel mit den antiproliferativen Funktionen des ER- $\beta$  im Hinterkopf ER- $\beta$ -Agonisten entwickelt und ein ER- $\beta$ -Agonist bei AR-Knockout-Mäusen angewandt, was zu einer TNF- $\alpha$ -induzierten Androgen-unabhängigen Apoptose bei Prostatakrebszellen geführt haben soll. Phytoöstrogene können ebenfalls den ER- $\beta$  aktivieren und hochregulieren. So wurde in-vitro eine Re-Expression von ER- $\beta$  durch Phytoöstrogene festgestellt, was ebenso zur Herabregulierung von AR führte (Christoforou et al., 2014). Kim et. al entwarfen eine Studie, bei denen Prostatakrebs-Zelllinien mit dem Agonisten/Antagonisten Raloxifene behandelt wurden. Die Ergebnisse waren vielversprechend, da die Apoptose-Raten bei Androgen-unabhängigen Zelllinien signifikant erhöht waren. Andere Studien zeigten jedoch andere Ergebnisse, da andere Zelllinien verwendet wurden. Ein Problem ist, dass das komplexe Zusammenspiel zwischen Stroma und Epithel sowie ER- $\alpha$  und ER- $\beta$  nicht durch isolierte Zelllinien wiedergegeben werden kann. Eine weitere Forschung, vor allem mit ex-vivo-menschlichem Gewebe, ist somit wichtig, um die genaue Rolle des ER- $\beta$  zu entschlüsseln und somit zu einem nützlichen Kandidaten von gezielter Therapie zu machen (Nelson et al., 2014). Vor dem Hintergrund der Ergebnisse ist eine Nutzung der ER- $\beta$  als therapeutisches Ziel aufgrund seiner sich ändernden Rolle in der Tumorprogression fragwürdig.

#### IV.7.3. IL-6R

Da der Interleukin-6R eine ganz klare pro-onkogene Rolle bei der Tumorprogression von Prostatakrebs und anderen Tumoren spielt, wurden monoklonale Antikörper entwickelt, um diesen zu inhibieren. Ein Beispiel dafür ist Tocilizumab. Tocilizumab wird aufgrund der entzündungsmindernden Wirkung primär als Medikament gegen rheumatoide Arthritis verwendet. Für die Therapie von Ovarialkarzinomen befindet sich dieses Medikament nun in Phase II der Studien. In einer Phase-I-Studie mit Siltuximab, einem Interleukin-6-Agonisten, wurde eine Verminderung der Phosphorylierung des STAT3-Transkription-Faktors sowie des p44/p42 MAPK mit

genetischer Runterregulierung der Genexpression in der IL-6- und AR-Signalwegs-Kaskade festgestellt. Eine Phase-II-Studie mit demselben Medikament bei Patienten mit kastrationsresistentem Prostatakarzinom zeigte jedoch keinen klinisch relevanten Unterschied zwischen der Chemotherapie mit Siltuximab und der Chemotherapie ohne Siltuximab. Die niedrige Effektivität der Anti-IL6-Antikörper kann durch die Plastizität der Tumorzellen in Vivo erklärt werden. So werden durch die Anwendung von Anti-IL-6-monoklonalen-Antikörpern die IL-6-sensitiven Klone ausgelöscht, während die resistenten Klone überleben und sich multiplizieren, was eine Resistenz des gesamten Tumors nach sich zieht (Rossi et al., 2015). Es gibt nur sehr wenig Information über die direkte IL-6R-Inhibition bei Patienten mit Prostatakarzinom. Laut Economides et al. jedoch könnte die Inhibition des IL-6R durch IL-6R-Antagonisten eine Verminderung des Tumor-Wachstumes nach sich ziehen und somit die Krankheitsprogression stoppen. Für Prostatakarzinome wurde vor allem die Inhibition von STAT3, dem Target des IL-6R in der Phosphorylierungs-Kaskade untersucht (Azevedo et al., 2011).

#### IV.8. Schlussfolgerung

Aufgrund der Daten sowie der bereits vorhandenen Informationen aus vorherigen Studien können die folgenden Schlussfolgerungen zu den analysierten Rezeptoren gezogen werden. Die Expression des IGF1R verändert sich je nach Tumorstadium und Subkomponente der Zelle maßgeblich. Der Anstieg des IGF1R im Zytoplasma durch die gesamte Tumorprogression spielt eine klar pro-onkogene Rolle, da die Expression des IGF1R im initialen Stadium ansteigt und hoch bleibt. Dies macht vor dem Hintergrund der bereits beschriebenen Phosphorylierungskaskaden Sinn, da diese den Einfluss von IGF1R-Expression auf die Tumor-Aggressivität unterstreichen und die Rezeptorexpression im Zytoplasma als potentiellen diagnostischen Marker, aber auch als Ziel von potentiellen biologischen Therapien darstellen. Anderweitig scheint der Verlust des IGF1R im Zellkern im initialen Stadium der Tumorprogression pro-onkogen zu sein, bei der Progression zur Gewebemetastasierung erhöht sich jedoch die IGF1R-Expression im Zellkern wieder. Dies birgt ein Potential des IGF1R als diagnostischen Marker für bevorstehende Metastasierung.

Die genaue Rolle des ER- $\beta$  bei der Tumorprogression von Prostatakarzinomen ist vor dem Hintergrund der Daten und der bereits bestehenden Hypothesen noch nicht genau zu entschlüsseln, jedoch verstärken die vorhandenen Daten die Theorie, dass

der ER- $\beta$  nicht nur anti-onkogene Rollen hat, sich aber je nach Tumorstadium und subzellulärer Lokalisation in Bezug auf seine genaue biologische Aktivität verändert. So scheint laut den Ergebnissen ein initialer Verlust des ER- $\beta$  eine klare Rolle in den ersten Schritten der Tumorprogression zu spielen, wobei der initiale Anstieg des ER- $\beta$  im Zytoplasma eine klar pro-onkogene Rolle hat. Der Verlust des ER- $\beta$  im Zellkern und der gleichzeitige Anstieg im Zytoplasma könnte ein guter Hinweis auf eine maligne Transformation sein, trotzdem muss das Potential des Rezeptors für biologische Therapie hinsichtlich der Ergebnisse in Frage gestellt werden.

Der Interleukin-6R hat von allen Rezeptoren die eindeutigste Rolle bei der Tumorprogression, da sein Anstieg im Zytoplasma in der initialen Tumorprogression eindeutig pro-onkogene Wirkungen zeigt, was durch die vom IL-6R aktivierte Kaskade nochmals unterstrichen wird. Der IL-6R könnte somit als potenzieller diagnostischer Marker und als Target für biologische Therapien in Betracht gezogen werden.

#### IV.9 Limitation der vorliegenden Arbeit

Wie bereits in der Einleitung erklärt, erkrankten Diabetiker seltener an Prostatakarzinomen als Nicht-Diabetiker. Dadurch gab es weniger Patienten, die für die Patientengruppe Diabetes berücksichtigt werden konnten. Aus diesem Grund ist ein Vergleich zwischen der Patientengruppe Diabetes und Nicht-Diabetes schwieriger (siehe Sektion „Vergleich zwischen Diabetikern und nicht-Diabetikern“). Hier gab es oftmals dasselbe generelle Muster, jedoch waren die Unterschiede bei der Gruppe der Diabetes-Patienten aufgrund der geringen Datenmenge oftmals nicht signifikant.

Eine weitere Limitation ist die TMA-Technik, da für die Gewebedots nur ein kleiner Teil der Prostata als Repräsentative der kompletten Prostata genutzt wurde. Es wurde während der Auswertung der Dots klar, dass die Expression der einzelnen Rezeptoren im Gewebe sehr heterogen ist und sich somit signifikant von Dot zu Dot verändern kann. Um dieses Problem zu mindern, wurden mehrere Dots als Proben des Prostatagewebes entnommen, um so einen repräsentativen Datensatz wiederzugeben. Dabei gab es jedoch eine weitere Limitation: Zwar sind einige Gewebe-Dots weggefallen, was durch ein Abschwimmen der Proben während der Färbung zu erklären sein könnte. Andere hingegen waren gefaltet oder beschädigt, was in manchen Fällen die Bewertung unmöglich machte. Eine solche Beschädigung könnte auf die Schneidetechnik mittels des Mikrotoms zurückzuführen sein. In seltenen Fällen beinhalteten die Dots nur Bindegewebe und kein Epithel.

Eine weitere Limitation war die Bewertung der Gewebedots. Das Problem hierbei war, dass die Bewertung manuell und nicht maschinell durchgeführt wurde. Somit war die Bewertung subjektiv und nicht objektiv. Diese Limitation wurde durch eine Probenrunde des Auswertens am Mikroskop minimiert. Hierdurch wurden die vorliegenden Ergebnisse erst nach einiger Erfahrung in der Gewebedot-Auswertung in Betracht gezogen. Die Bewertung konnte durch unterschiedliche Lichtverhältnisse (morgens, mittags, abends) ebenfalls verzerrt werden. Eine Veränderung des Winkels zwischen Monitor und Augen konnte die Bewertung ebenfalls verzerren, was durch eine konstante Haltung des Laptop-Monitor-Winkels minimiert wurde.

Eine weitere nicht kontrollierte Variable ist, dass die Gewebedots einmal am Mikroskop und zweimal am Laptop ausgewertet wurden. Am Mikroskop schienen die Gewebedots leichter gefärbt zu sein als am Laptop. Diese Variable wurde dadurch kontrolliert, dass alle Dots gleich oft am Laptop (2 x) sowie am Mikroskop (1 x) betrachtet wurden. Da die einzelnen Scores am Schluss zusammengezählt und ein Mittelwert gebildet wurde, sind die vorliegenden Ergebnisse repräsentativ.

## V. Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Expressionen des Insulin-like-Growth-Factor-1-Rezeptors, Östrogenrezeptor  $\beta$  und Interleukin-6-Rezeptor entlang der Tumorprogression des Prostatakarzinoms zu ermitteln. Um eine solche Studie zu entwickeln, wurde ein umfassendes Patientenkollektiv gebildet. Dieses Projekt war ein Teil des Verbundprojektes "Diabetes und Prostata Karzinom". Aus diesem Grund können bereits erhobene Daten des Patientenkollektivs benutzt werden, aber auch der Diabetes-Status von früheren Doktorarbeiten, wobei diese Daten freundlicherweise von den Doktoranten zur Verfügung gestellt wurden. Die routinemäßig asservierten Proben wurden mittels der Tissue Microarray-Technik zum direkten Vergleich zwischen Patientengewebe auf die Objektträger aufgezogen und anschließend mittels Immunhistochemie gefärbt. Diese wurden daraufhin

mikroskopiert, um eine subjektive Observation der Farbstärken unter dem Mikroskop festzustellen, die als Indikation für die Expression der Rezeptoren galt.

Dabei konnten die Ergebnisse des Mikroskopierens mit dem Diabetes-Status verglichen werden. Mit dieser Dissertation sollte nun ein weiterer Teilabschnitt des Verbundprojekts vervollständigt werden, der zum Ziel hatte, die Tumorbilogie des Prostatakarzinoms besser zu erklären.

Hierbei zeigte sich, dass die zytoplasmatische Expression des IGF1R vor allem in der initialen Tumor-Entstehung signifikant ansteigt, während die nukleare IGF1R-Expression in diesem Stadium sinkt. In metastasiertem Gewebe erhöht sich jedoch die nukleare IGF-1R-Konzentration parallel zu einer hohen zytoplasmatischen IGF-1R-Konzentration. Die Studie unterstreicht die Fragwürdigkeit des ER- $\beta$  als protektiver Faktor in der Tumorentstehung. Zwar scheint der nukleare ER- $\beta$  in benignem Gewebe protektiv zu wirken, was durch die hohe Expression und den Verlust dieser in der anfänglichen Tumorentstehung deutlich wird. Jedoch erhöht sich die zytoplasmatische Expression in der Transition von benignem zu malignem Gewebe. In metastasiertem Gewebe erhöht sich die nukleare ER- $\beta$ -Konzentration wieder. Insgesamt weisen die Ergebnisse auf eine Veränderung der biologischen Rolle des IGF-1R & ER- $\beta$  zwischen benignem, malignem, und metastasiertem Gewebe durch eine Veränderung der subzellulären Lokalisation hin. Die Ergebnisse suggerieren eine signifikante Rolle des IL-6R bei der initialen Tumorentstehung.

Bei einem Vergleich der Proben der Patienten mit und ohne Diabetes zeigte sich eine erhöhte nukleare Konzentration des ER- $\beta$  bei Patienten mit Diabetes. Interessant war, dass die zytoplasmatische ER- $\beta$ -Expression bei Patienten ohne Diabetes höher war als bei Patienten mit Diabetes. Die Ergebnisse könnten erklären, warum Patienten mit Diabetes ein geringeres Risiko haben, an Prostatakarzinomen zu erkranken, während bereits erkrankte Patienten mit Diabetes einen schlechteren Verlauf vorweisen.

## VI. Anhang

### VI.1 Abkürzungen

%	Prozent
°C	Grad celsius
AJCC	American Joint Committee on Cancer
Akt	Proteinkinase B
AR	Androgen Receptor
ATP	Adenosine triphosphate
ATP	Adenosine triphosphate
Bcl-2	B-cell lymphoma 2
bFGF	basic fibroblast growth factor
BMI	Body mass index
BPH	Benigne Prostatistische Hyperplasie
C/EBP $\beta$	CCAAT-enhancer-binding protein $\beta$
CLDN6	Claudin 6
CYP	Cytochrome
DAB	Diaminobenzidine
DIN	Deutsches Institut für normung
DNA	Deoxyribonucleic acid
EGFR	Epidermal growth factor receptor
ER- $\beta$	Estrogen Receptor beta
<i>ERG</i>	<i>ETS-related gene</i>
ERK	extracellular signal-regulated kinases
ETS	Erythroblast Transformation Specific
FDG-PET	fluorodeoxyglucose - positron emission tomography
FDGPET	fluorodeoxyglucose-positron emission tomography
FFA	Free Fatty acids
FOXO3	Forkhead box O3,
FSH	Follicle-stimulating hormone

GH	Growth Hormone
GLUT 4	Glucose transporter type 4
GmbH –	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
GnRH	Gonadotropin-Releasing-Hormone
GP 130	Glycoprotein 130
HE	Hematoxylin and eosin
HER2	human epidermal growth factor receptor 2
HIF-alpha	Hypoxia inducible factor alpha
IGF1	Insulin like Growth factor 1
IGF1R	Insulin like Growth factor 1 Receptor
IgG2	Immunoglobulin G2
IL-6	Interleukin 6
IL-6R	Interleukin 6 Rezeptor
JAK2	Janus Kinase 2
LH	Luteinizing Hormone
LHRH	Luteinizing Hormone releasing hormone
LNCaP	Lymph Node Carcinoma of the Prostate
M	Metastases
MAPK	mitogen-activated protein kinase
MCL 1	Myeloid cell leukemia 1
MEK	MAPK/ERK Kinase
ml	milliliter
mM	millimol
mm	Millimeter
MMP	matrix metalloproteinase
mTOR	mammalian Target of Rapamycin
mTORC1	mammalian target of rapamycin complex 1
MYC	Myelocytomatosis
N	Nodes
NF-κB	nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
NSCLC	Non Small Cell Lung cancer
OP	Operation

p38MAPK	p38 mitogen-activated protein kinase
PELP1	Proline-, glutamic acid- and leucine-rich protein 1
pH	potential of hydrogen
PHD2	prolyl hydroxylase domain-2
PI3K	Phosphoinositide 3-kinase
PIAS3	Protein Inhibitor of Activated STAT3
PSA	Prostate Specific Antigen
PSMA	Prostata-spezifisches Membranantigen
PTEN	Phosphatase and tensin homolog
RANBP2	RAS-related Nuclear protein binding protein 2
RNA	Ribonucleic acid
RT-PCR	real time reverse transcription–polymerase chain reaction
SCC	Squamous cell carcinoma
SOCS-3	Suppressor of Cytokine Signaling- 3
SrcERK	Sarcoma extracellular signal-regulated kinase.
STAT3	signal transducer and activator of transcription proteins 3
SUMO	Small Ubiquitin-like Modifier
SOD2	Superoxide-Dismutase 2
T	Tumor
TAA	Tumor associated antigen
TBST	TRIS buffered Saline with Tween 20
TMPRSS2	Transmembrane protease, serine 2
TNF	Tumor necrosis factor
TNF alpha	Tumor necrosis factor alpha
TNM	Tumor Nodes Metastasis
TURP	transurethrale Prostataresektion
USA	United States of America
VEGF	Vascular endothelial growth factor
VHL	Von-Hippel Lindau

## VI.2 Tabellen und Abbildungsverzeichnis

### VI.2.1. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung der Prostata (Hamm et al., 2007) .....	10
Abbildung 2: Exemplarische Darstellung der von Insulin-Like-Growth-Factor in Gang gesetzten Signalwegskaskade (Higashi, 2012).....	21
Abbildung 3: Darstellung der von Interleukin-6R in Gang gesetzten Rezeptorkaskade (Troncale et al, 2006) .....	23
Abbildung 4: Darstellung der Schnittpunkte der von ER- $\beta$ und IGF-1R aktivierten Kaskaden (Hamilton et al, 2015).....	28
Abbildung 5: Darstellung der möglichen Überschneidungspunkte der Signalwegskaskaden der Rezeptoren IGF1R, ER- $\beta$ und IL-6R. Die Literaturangaben, die diese Signalwegskaskaden vorschlagen, sind folgend nummeriert: (1): Hamilton et al, 2015 (2): Grivennikov & Karin 2010 (3): Yuan et al. 2018 (4): Zheng et al. 2019, (5): Azevedo et al. 2011, (6): Cheteh et al. 2020, (7): Johnson et al. 2018 (8): Wang et al. 2001, (9): Xiao et al. 2019, (10): Tang et al. 2019 (11): Troncale et al. 2006. .	31
Abbildung 6: Darstellung eines mit fluoreszierendem Enzym konjugierten Antikörpers, der einen Rezeptor so bindet, wie es bei direkten Immunhistochemie der Fall ist (Eigene Darstellung, in Anlehnung an Im et al., 2019).....	39
Abbildung 7: Darstellung eines Primärantikörpers, der den Rezeptor bindet. An diesen Primärantikörper bindet sich ein Sekundärantikörper, der mit einem fluoreszierenden Enzym so konjugiert ist, wie es bei indirekter Immunhistochemie der Fall ist (eigene Darstellung, in Anlehnung an Im et al., 2019) .....	40
Abbildung 8: Darstellung der H-Score-Quantifizierung für das IGF-1R-Zytoplasma (Vergrößerung bei allen Abbildungen: x 16,99).....	44
Abbildung 9: Darstellung der H-Score-Quantifizierung für die IGF-1R-Zellkerne (Vergrößerung bei allen Abbildungen: x 16,99).....	45
Abbildung 10: Darstellung der H-Score-Quantifizierung für das IGF-1R-Zellmembran. (Vergrößerung bei allen Abbildungen: x 16,99).....	45
Abbildung 11: Darstellung der H-Score-Quantifizierung für das ER- $\beta$ -Zytoplasma (Vergrößerung bei allen Abbildungen: x 16,99).....	46
Abbildung 12: Darstellung der H-Score-Quantifizierung für die ER- $\beta$ -Zellkerne (Vergrößerung bei allen Abbildungen: x 16,99).....	47
Abbildung 13: Darstellung der H-Score-Quantifizierung für das IL-6-Zytoplasma (Vergrößerung bei allen Abbildungen: x 16,99) Notiz: Es konnte kein Bild für einen Zytoplasma-H-Score von 0 gefunden werden.....	48
Abbildung 14: Darstellung der H-Score-Quantifizierung für IL-6R-Zellmembran (Vergrößerung bei allen Abbildungen: x 16,99).....	48
Abbildung 15: Einfaktorielle Analyse von IGF-1R-Zellkern/Zytoplasma/Zellmembran-Expression nach benignem (Stufe 0) und tumorösen (Stufe 1) Gewebe: .....	54
Abbildung 16: Vergleich des Expressionsverhaltens des IGF-1R-Zellkerns bei benignem (Stufe 0), M0-(Stufe 1) und M1-(Stufe 2)-Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer .....	55
Abbildung 17: Vergleich des Expressionsverhaltens des IGF-1R-Zytoplasma bei benignem (Stufe 0), M0- (Stufe 1)- und M1-(Stufe 2)-Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer .....	56

Abbildung 18: Vergleich des Expressionsverhaltens des IGFR1 im Zellmembran bei benignem (Stufe 0), M0-(Stufe 1)- und M1- (Stufe 2)-Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer .....	57
Abbildung 19: Vergleich des Expressionsverhaltens des IGF-R1 im Zellkern bei benignem (Stufe 0), angrenzenden (Stufe 1), Low Gleason (Stufe 2), High Gleason (Stufe 3) und M1-(Stufe 4)-Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer .....	58
Abbildung 20: Vergleich des Expressionsverhaltens des IGF-R1 im Zytoplasma bei benignem (Stufe 0), angrenzenden (Stufe 1), Low Gleason (Stufe 2), High Gleason (Stufe 3) und M1-(Stufe 4)-Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer .....	60
Abbildung 21: Vergleich des Expressionsverhaltens des IGF-R1 im Zellkern bei den Tumorstadien T2a, (Stufe 4) T2c (Stufe 6), T3a (Stufe 7), T3b (Stufe 8) und T4 (Stufe 9) sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer .....	61
Abbildung 22: Vergleich des Expressionsverhaltens des IGF-R1 im Zellkern bei regionalen Lymphknoten N0 und N1 sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer .....	63
Abbildung 23: Vergleich des Expressionsverhaltens des IGF-R1 im Zellkern bei M0 und M1 Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer .....	63
Abbildung 24: Vergleich des Expressionsverhaltens des IGF-R1 im Zytoplasma bei den Stadien T2a, (Stufe 4) T2c (Stufe 6), T3a (Stufe 7), T3b (Stufe 8) und T4 (Stufe 9) sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer .....	64
Abbildung 25: Vergleich des Expressionsverhaltens des IGF-R1 im Zytoplasma bei regionalen Lymphknoten N0 und N1 sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer .....	65
Abbildung 26: Vergleich des Expressionsverhaltens des IGF-R1-Zytoplasmas bei M0 und M1 Gewebe Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer .....	66
Abbildung 28: Vergleich des Expressionsverhaltens des ER- $\beta$ Zellkerns (A)/Zytoplasma(B) bei benignem und tumorösen Gewebe .....	67
Abbildung 28: Vergleich des Expressionsverhaltens des ER- $\beta$ im Zellkern bei benignem (Stufe 0), M0-(Stufe 1)- und M1-(Stufe 2)-Tumor-Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer .....	68
Abbildung 29: Vergleich des Expressionsverhaltens des ER- $\beta$ -Zytoplasmas bei benignem, M0- und M1-Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer .....	69
Abbildung 30: Vergleich des Expressionsverhaltens des ER- $\beta$ im Zellkern bei benignem (Stufe 0), angrenzenden (Stufe 1), Low Gleason-(Stufe 2)-, High Gleason-(Stufe 3)- und M1-(Stufe 4)-Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer .....	70
Abbildung 31: Vergleich des Expressionsverhaltens des ER- $\beta$ im Zytoplasma bei benignem (Stufe 0), angrenzenden (Stufe 1), Low Gleason (Stufe 2), High Gleason (Stufe 3) und M1-(Stufe 4)-Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer .....	71
Abbildung 32: Vergleich des Expressionsverhalten des ER- $\beta$ im Zellkern bei den Tumorstadien T2a, (Stufe 4) T2c (Stufe 6), T3a (Stufe 7), T3b (Stufe 8) und T4 (Stufe 9) sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer .....	72
Abbildung 33: Vergleich des Expressionsverhaltens des ER- $\beta$ im Zellkern bei den regionalen Lymphknoten N0 und N1 sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer .....	73

Abbildung 34: Vergleich des Expressionsverhaltens des ER- $\beta$ im Zellkern bei M0 und M1 Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer .....	74
Abbildung 35: Vergleich des Expressionsverhaltens des ER- $\beta$ im Zytoplasma bei den regionären Lymphknoten N0 und N1 sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer .....	76
Abbildung 36: Vergleich des Expressionsverhaltens des ER- $\beta$ -Zytoplasmas bei.....	77
Abbildung 38: Vergleich des Expressionsverhaltens des Interleukin-6R im Zytoplasma/Zellmembran bei benignem und tumorösen Gewebe .....	78
Abbildung 38: Vergleich des Expressionsverhaltens von Interleukin-6R im Zytoplasma bei benignem, M0- und M1-Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer .....	79
Abbildung 39: Vergleich des Expressionsverhaltens des Interleukin-6R im Zytoplasma bei benignem (Stufe 0), angrenzendem (Stufe 1), Low Gleason (Stufe 2), High Gleason (Stufe 3) und M1 (Stufe 4)-.....	80
Abbildung 40: Vergleich des Expressionsverhaltens des Interleukin-6R in der Zellmembran bei benignem (Stufe 0), angrenzenden (Stufe 1), Low Gleason (Stufe 2), High Gleason (Stufe 3) und M1-Tumor-Gewebe (Stufe 4) sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer .....	81
Abbildung 41: Vergleich des Expressionsverhaltens des Interleukin-6R im Zytoplasma bei Primärtumorstadien T2a, (Stufe 4) T2c (Stufe 6), T3a (Stufe 7), T3b (Stufe 8) und T4 (Stufe 9) sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer .....	82
Abbildung 42: Vergleich des Expressionsverhaltens des Interleukin-6R im Zytoplasma bei regionalen Lymphknoten N0 und N1 sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer .....	83
Abbildung 43: Vergleich des Expressionsverhaltens des Interleukin-6R im Zytoplasma bei M0 und M1 Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer .....	84
Abbildung 45: Zusammenhang zwischen dem Expressionsverhalten des IGF-R1 im Zytoplasma und Interleukin-6R im Zytoplasma mittlerer Score bei den Gewebegruppen Alle (A), Benign (B), M0 (C) und M1 (D). (Lineare Regression rot dargestellt) .....	85
Abbildung 46: Zusammenhang zwischen dem Expressionsverhalten des IGF-1R im Zellkern und ER- $\beta$ im Zellkern bei den Gewebegruppen Alle (A), Benign (B), M0 (C) und M1 (D).....	86
Abbildung 47: Zusammenhang zwischen dem Expressionsverhalten des ER- $\beta$ im Zytoplasma und Interleukin-6R im Zytoplasma bei den Gewebegruppen Alle (A), Benign (B), M0 (C) und M1 (D) .....	87
Abbildung 48: Zusammenhang zwischen dem Expressionsverhalten des IGF-R1 im Zytoplasma und ER- $\beta$ im Zytoplasma bei den Gewebegruppen Alle (A), Benign (B), M0 (C) und M1 (D).....	88
Abbildung 49: Zusammenhang zwischen dem Expressionsverhalten des IGF-R1 im Zellkern und ER- $\beta$ im Zytoplasma bei den Gewebegruppen Alle (A), Benign (B), M0 (C) und M1 (D).....	89
Abbildung 50: Zusammenhang zwischen dem Expressionsverhalten IGF-R1 im Zellkern und IGF-1R im Zytoplasma bei den Gewebegruppen Alle (A), Benign (B), M0 (C) und M1 (D).....	90
Abbildung 51: Zusammenhang zwischen dem Expressionsverhalten ER- $\beta$ im Zellkern und ER- $\beta$ im Zytoplasma bei den Gewebegruppen Alle (A), Benign (B), M0 (C) und M1 (D).....	91

Abbildung 52: Zusammenhang zwischen dem Expressionsverhalten IL-6 im Zytoplasma und IGF-1R im Zellkern bei den Gewebegruppen Alle (A), Benign (B), M0 (C) und M1 (D).....	92
Abbildung 52: Vergleich des Expressionsverhaltens des IGF-R1 im Zellkern bei benignem (Stufe 0) angrenzenden (Stufe 1), M0-(Stufe 2)- und M1-Gewebe (Stufe 3) sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer für die Gewebegruppe Nicht-Diabetiker .....	93
Abbildung 53: Vergleich des Expressionsverhalten des IGF-R1 im Zellkern bei benignem (Stufe 0), angrenzenden (Stufe 1), M0-(Stufe 2)- und M1-(Stufe 3)-Gewebe sowie die entsprechende Darstellung nach Tukey Kramer für die Gewebegruppe Diabetiker .....	94
Abbildung 55: Vergleich zwischen IGF-1R-Zellkern-Expression in benignem (Stufe 0) und tumorösen (Stufe 1) Gewebe für Gewebegruppe Nicht-Diabetiker (A) und Diabetiker (B)).....	95
Abbildung 56: Vergleich zwischen ER- $\beta$ -Zellkern-Expression in benignem (Stufe 0) und tumorösen (Stufe 1) Gewebe für die Gewebegruppe Nicht-Diabetiker (A) und Diabetiker (B).....	96
Abbildung 57: Vergleich zwischen IGF-1R-Zytoplasma-Expression in benignem (Stufe 0) und tumorösen (Stufe 1) Gewebe für die Gewebegruppe Nicht-Diabetiker (A) und Diabetiker (B).....	97
Abbildung 58: Vergleich zwischen der ER- $\beta$ -Zytoplasma-Expression in benignem (Stufe 0) und tumorösen (Stufe 1) Gewebe für die Gewebegruppen Nicht-Diabetiker (A) und Diabetiker (B).....	99
Abbildung 58: Bildlicher Vergleich zwischen einer benignen, Low Gleason- und M1-Zelle mit Blick auf die IGF-1R-Expression.....	100
Abbildung 59: Bildlicher Vergleich zwischen einer benignen, Low Gleason- und M1-Zelle mit Hinblick auf die ER- $\beta$ -Expression .....	103
Abbildung 60: Bildlicher Vergleich zwischen einer benignen, Low-Gleason- und M1-Zelle im Hinblick auf die IL-6R-Expression.....	107

## 6.2.2: Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Einteilung von Prostatakarzinomen je nach Tumorausdehnung, Lymphknotenmetastasen und Fernmetastasen (Deutsche Krebsgesellschaft, 2021) .....	13
Tabelle 2: Gewebegruppen.....	33
Tabelle 3: Darstellung der Zellstrukturen und der Einteilung des jeweiligen H-Score .....	43
Tabelle 4: Anzahl der Patienten in den einzelnen Gewebekategorien .....	51
Tabelle 5: Durchschnittsalter und Altersumfang der Patienten in den jeweiligen Kategorien. ....	51
Tabelle 6: Durchschnittlicher PSA-Wert pro Patientengruppe, ebenso wie der Mittelwert.....	52
Tabelle 7: Alter der Patienten bei der Operation pro Gewebegruppe .....	52
Tabelle 8: Zeigt die Anzahl der Patienten pro Tumorstadium und Patientengruppe	53
Tabelle 9: Anzahl der Patienten pro Gleason Score und Patientengruppe.....	53
Tabelle 10: Vergleich des Medians der IGF-1R-Zellkern/Zytoplasma/Zellmembran-Expression zwischen benignem und tumorösen Gewebe .....	55

Tabelle 11: Expressionsverhalten des IGF-1R im Zellkern der prostatiscen Zellen bei benignem (Stufe 0), M0- (Stufe 1)- und M1-(Stufe 2)-Gewebe. ....	56
Tabelle 12: Expressionsverhalten des IGF-1R im Zytoplasma bei benignem (Stufe 0), M0- (Stufe 1)- und M1-(Stufe 2)-Gewebe sowie Paarung nach Tukey-Kramer...	57
Tabelle 13: Expressionsverhalten der IGF-1R-Membran bei benignem (Stufe 0), M0- (Stufe 1)- und M1-(Stufe 2)-Gewebe sowie Paarung nach Tukey-Kramer .....	58
Tabelle 14: Expressionsverhalten des IGF-1R im Zellkern bei benignem (Stufe 0), angrenzendem (Stufe 1), Low Gleason (Stufe 2), High Gleason (Stufe 3) und M1- (Stufe 4)-Gewebe sowie Paarung nach Tukey-Kramer .....	59
Tabelle 15: Expressionsverhalten des IGF-1R-Zytoplasmas bei benignem (Stufe 0), angrenzenden (Stufe 1), Low Gleason (Stufe 2), High Gleason (Stufe 3) und M1- (Stufe 4)-Gewebe sowie Paarung nach Tukey-Kramer .....	60
Tabelle 16: Expressionsverhalten des IGF-1R-Zellkerns für die Tumorstadien T2a, (Stufe 4) T2c (Stufe 6), T3a (Stufe 7), T3b (Stufe 8) und T4 (Stufe 9) sowie Paarung nach Tukey Kramer. ....	62
Tabelle 17: Expressionsverhalten des IGF-1R Zytoplasmas für die Tumorstadien T2a, (Stufe 4) T2c (Stufe 6), T3a (Stufe 7), T3b (Stufe 8) und T4 (Stufe 9) sowie Paarung nach Tukey Kramer .....	64
Tabelle 18: Mediane für den ER- $\beta$ -Zellkern und Zytoplasma-Expression in benignem und Tumorgewebe.....	67
Tabelle 19: Expressionsverhalten des ER- $\beta$ im Zellkern bei benignem, M0- und M1-Tumor-Gewebe sowie Paarung nach Tukey Kramer .....	68
Tabelle 20: Expressionsverhalten des ER- $\beta$ im Zytoplasma bei benignem, M0- und M1-Tumor-Gewebe sowie Paarung nach Tukey Kramer.....	69
Tabelle 21: Expressionsverhalten des ER- $\beta$ im Zellkern bei benignem (Stufe 0), angrenzenden (Stufe 1), Low Gleason- (Stufe 2)-, High Gleason- (Stufe 3)- und M1- (Stufe 4)-Gewebe sowie Paarung nach Tukey Kramer.....	70
Tabelle 22: Expressionsverhalten des ER- $\beta$ im Zytoplasma bei benignem (Stufe 0), angrenzendem (Stufe 1), Low Gleason (Stufe 2), High Gleason (Stufe 3) und M1- (Stufe 4)-Gewebe sowie Paarung nach Tukey Kramer.....	71
Tabelle 23: Expressionsverhalten des ER- $\beta$ im Zellkern für die Tumorstadien T2a, (Stufe 4) T2c (Stufe 6), T3a (Stufe 7), T3b (Stufe 8) und T4 (Stufe 9) sowie die Paarung nach Tukey-Kramer .....	72
Tabelle 24: Expressionsverhalten des ER- $\beta$ im Zytoplasma für die Primärtumorstadien T2a, (Stufe 4) T2c (Stufe 6), T3a (Stufe 7), T3b (Stufe 8) und T4 (Stufe 9) sowie Paarung nach Tukey Kramer.....	75
Tabelle 25: Vergleich des IL-6R-Zytoplasmas und der Zellmembran-Expression zwischen benignem und Tumorgewebe .....	78
Tabelle 26: Expressionsverhalten des Interleukin-6R im Zytoplasma bei benignem (Stufe 0), M0 (Stufe 1) und M1 (Stufe 2) sowie Paarung nach Tukey-Kramer .....	79
Tabelle 27: Expressionsverhalten des Interleukin-6R-Zytoplasmas bei benignem (Stufe 0), angrenzendem (Stufe 1), Low Gleason (Stufe 2), High Gleason (Stufe 3) und M1-(Stufe 4)-Gewebe sowie Paarung nach Tukey-Kramer.....	80
Tabelle 28: Expressionsverhalten der Interleukin-6R in der Zellmembran der prostatiscen Zellen bei .....	81
Tabelle 29: Expressionsverhalten des Interleukin-6R im Zytoplasma für die Primärtumorstadien T2a, (Stufe 4) T2c (Stufe 6), T3a (Stufe 7), T3b (Stufe 8) und T4 (Stufe 9) sowie Paarung nach Tukey Kramer.....	82

Tabelle 30: Vergleich der benignen Patientengruppe im Sinne der IGF-1R-Zellkern und ER- $\beta$ -Zellkern-Expression, getrennt durch einen positiven oder negativen Diabetes-Status .....	95
Tabelle 31: Vergleich der Tumor Patientengruppe im Sinne der IGF-1R-Zytoplasma und ER- $\beta$ -Zytoplasma-Expression, getrennt durch einen positiven oder negativen Diabetes-Status .....	97

### VI.3 Quellenangabe

- Aaron, L., Franco, O. E., & Hayward, S. W. 2016. Review of Prostate Anatomy and Embryology and the Etiology of Benign Prostatic Hyperplasia. *The Urologic clinics of North America*, 43(3), 279–288.
- Abudawood M. 2019. Diabetes and cancer: A comprehensive review. *J Res Med Sci*. 25(24) 94.
- Ahearn TU, Peisch S, Pettersson A, Ebot EM, Zhou CK, Graff RE, Sinnott JA, Fazli L, Judson GL, Bismar TA, Rider JR, Gerke T, Chan JM, Fiorentino M, Flavin R, Sesso HD, Finn S, Giovannucci EL, Gleave M, Loda M, Li Z, Pollak M, Mucci LA; 2018. Transdisciplinary Prostate Cancer Partnership (ToPCaP). Expression of IGF/insulin receptor in prostate cancer tissue and progression to lethal disease. *Carcinogenesis*. 39(12): 1431-1437
- Aleksic T, Verrill C, Bryant RJ, Han C, Worrall AR, Brureau L, Larré S, Higgins GS, Fazal F, Sabbagh A, Haider S, Buffa FM, Cole D, Macaulay VM. 2017. IGF-1R associates with adverse outcomes after radical radiotherapy for prostate cancer. *Br J Cancer*. 117(11):1600-1606.
- American Diabetes Association 2010. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*, 33 (1) 62-69.
- Anty R, Bekri S, Luciani N, Saint-Paul MC, Dahman M, Iannelli A, Amor IB, Staccini-Myx A, Huet PM, Gugenheim J, Sadoul JL, Le Marchand-Brustel Y, Tran A, Gual P. 2006. The inflammatory C-reactive protein is increased in both liver and adipose tissue in severely obese patients independently from metabolic syndrome, Type 2 diabetes, and NASH. *Am J Gastroenterol*. 101(8):1824-1833.
- Ara, T., & Declerck, Y. A. 2010. Interleukin-6 in bone metastasis and cancer progression. *European journal of cancer*. 46(7). 1223–1231.
- Asgari, M., Morakabati, A. 2011. Estrogen receptor beta expression in prostate adenocarcinoma. 6, 61
- Azevedo A, Cunha V, Teixeira AL, Medeiros R. 2011. IL-6/IL-6R as a potential key signaling pathway in prostate cancer development. *World J Clin Oncol*. 2(12). 384-396.
- Azevedo, A., Cunha, V., Teixeira, A. L., & Medeiros, R. 2011. IL-6/IL-6R as a potential key signaling pathway in prostate cancer development. *World journal of clinical oncology*, 2(12), 384–396.
- Balk SP, Ko YJ, Bubley GJ. 2003. Biology of prostate-specific antigen. *J Clin Oncol*. 2003 21(2), 383-91.
- Becheva, Z.R., Gabrovska, K.I. & Godjevargova, T.I. 2018. Comparison between direct and indirect immunofluorescence method for determination of somatic cell count. *Chem. Pap.* 72, 1861–1867

- Blum WF, Alherbish A, Alsagheir A, El Awwa A, Kaplan W, Koledova E, Savage MO. 2018 The growth hormone-insulin-like growth factor-I axis in the diagnosis and treatment of growth disorders. *Endocr Connect.* 7(6) 212-222.
- Boehm, B.E.; York, M.E.; Petrovics, G.; Kohaar, I.; Chesnut, G.T. 2023, Biomarkers of Aggressive Prostate Cancer at Diagnosis. *Int. J. Mol. Sci.* 24, 2185.
- Brahmkhatri, V. P., Prasanna, C., & Atreya, H. S. 2015. Insulin-like growth factor system in cancer: novel targeted therapies. *BioMed research international*, 538019.
- Cheteh EH, Sarne V, Ceder S, Bianchi J, Augsten M, Rundqvist H, Egevad L, Östman A, Wiman KG. 2020. Interleukin-6 derived from cancer-associated fibroblasts attenuates the p53 response to doxorubicin in prostate cancer cells. *Cell Death Discov.* 6.42.
- Christoforou, P., Christopoulos, P. F., & Koutsilieris, M. 2014. The role of estrogen receptor  $\beta$  in prostate cancer. *Molecular medicine (Cambridge, Mass.)*, 20(1), 427–434.
- Clegg. 1955. "The arterial supply of the human prostate and seminal vesicles." *Journal of anatomy* vol. 89,2, 209-16.
- Cooke PS, Nanjappa MK, Ko C, Prins GS, Hess RA. 2017. Estrogens in Male Physiology. *Physiol Rev.* 1;97(3). 995-1043.
- Cookman, Clifford J, and Scott M Belcher. 2015 "Estrogen Receptor- $\beta$  Up-Regulates IGF1R Expression and Activity to Inhibit Apoptosis and Increase Growth of Medulloblastoma." *Endocrinology* vol. 156,(7) 2395-2408.
- Costello, L C, and R B Franklin. 2009. Prostatic fluid electrolyte composition for the screening of prostate cancer: a potential solution to a major problem. *Prostate cancer and prostatic diseases* vol. 12,1, 17-24.
- Culig Z. 2014. Proinflammatory cytokine interleukin-6 in prostate carcinogenesis. *American journal of clinical and experimental urology*, 2(3), 231–238.
- DaSilva, J. O., Amorino, G. P., Casarez, E. V., Pemberton, B., & Parsons, S. J. 2013. Neuroendocrine-derived peptides promote prostate cancer cell survival through activation of IGF-1R signaling. *The Prostate*, 73(8), 801–812.
- De Visschere P, Oosterlinck W, De Meerleer G, Villeirs G. 2010. Clinical and imaging tools in the early diagnosis of prostate cancer, a review. *JBR-BTR.* 93(2):62-70.
- Degirmenci, Ufuk et al. 2020 "Targeting Aberrant RAS/RAF/MEK/ERK Signaling for Cancer Therapy." *Cells* vol. 9(1) 198.
- Delahunt B, Miller RJ, Srigley JR, Evans AJ, Samaratunga H. 2012 Gleason grading: past, present and future. *Histopathology.* 60(1), 75-86.
- Dey P, Ström A, Gustafsson JÅ. 2014. Estrogen receptor  $\beta$  upregulates FOXO3a and causes induction of apoptosis through PUMA in prostate cancer. *Oncogene.* 33(33):4213-4225.
- De Stefano I, Zannoni GF, Prisco MG, Fagotti A, Tortorella L, Vizzielli G, Mencaglia L, Scambia G, Gallo D. 2011. Cytoplasmic expression of estrogen receptor beta (ER- $\beta$ ) predicts poor clinical outcome in advanced serous ovarian cancer. *Gynecol Oncol.* 122(3):573-579.
- Ding, X., Li, L., Tang, C., Meng, C., Xu, W., Wei, X., Guo, Z., Zhang, T., Fu, Y., Zhang, L., Wang, X., Lin, L., Liang, J. 2018 "Cytoplasmic expression of estrogen receptor  $\beta$  may predict poor outcome of EGFR-TKI therapy in metastatic lung adenocarcinoma". *Oncology Letters* 16.(2) 2382-2390.

- Duraiyan, J., Govindarajan, R., Kaliyappan, K., & Palanisamy, M. 2012. Applications of immunohistochemistry. *Journal of pharmacy & bioallied sciences*, 4(2), 307–309.
- Eastham JA, Riedel E, Scardino PT, et al. 2003. Variation of Serum Prostate-Specific Antigen Levels: An Evaluation of Year-to-Year Fluctuations. *JAMA*. 289(20):2695–2700.
- EAU Guidelines. Edn. presented at the EAU Annual Congress Milan 2023. ISBN 978-94-92671-19-6.
- Epstein, J. I., Zelefsky, M. J., Sjoberg, D. D., Nelson, J. B., Egevad, L., Magi-Galluzzi, C., Vickers, A. J., Parwani, A. V., Reuter, V. E., Fine, S. W., Eastham, J. A., Wiklund, P., Han, M., Reddy, C. A., Ciezki, J. P., Nyberg, T., & Klein, E. A. 2016. A Contemporary Prostate Cancer Grading System: A Validated Alternative to the Gleason Score. *European urology*, 69(3), 428–435.
- Esposito K, Nappo F, Marfella R, Giugliano G, Giugliano F, Ciotola M, Quagliario L, Ceriello A, Giugliano D. 2002. Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: role of oxidative stress. *Circulation*. 106(16):2067-2072.
- Fan, S., Liao, Y., Liu, C., Huang, Q., Liang, H., Ai, B., Fu, S., & Zhou, S. 2017. Estrogen promotes tumor metastasis via estrogen receptor beta-mediated regulation of matrix-metalloproteinase-2 in non-small cell lung cancer. *Oncotarget*, 8(34). 56443–56459.
- Fassnacht M, Berruti A, Baudin E, Demeure MJ, Gilbert J, Haak H, Kroiss M, Quinn DI, Hesselstine E, Ronchi CL, Terzolo M, Choueiri TK, Poondru S, Fleege T, Rorig R, Chen J, Stephens AW, Worden F, Hammer GD. 2015. Linsitinib (OSI-906) versus placebo for patients with locally advanced or metastatic adrenocortical carcinoma: a double-blind, randomised, phase 3 study. *Lancet Oncol*. 16(4). 426-435.
- Freedland, S. J., & Abrahamsson, P. A. 2021. Androgen deprivation therapy and side effects: are GnRH antagonists safer?. *Asian journal of andrology*, 23(1), 3–10.
- Frick J, Aulitzky W. Physiology of the prostate. *Infection*. 1991;19 Suppl 3: S115-8.
- Frota R, Turna B, Barros R, Gill IS. Comparison of radical prostatectomy techniques: open, laparoscopic and robotic assisted. 2008. *Int Braz J Urol*. 34(3):259-68;
- Garje, R., Chennamadhavuni, A., Mott, S. L., Chambers, I. M., Gellhaus, P., Zakharia, Y., & Brown, J. A. 2020. Utilization and Outcomes of Surgical Castration in Comparison to Medical Castration in Metastatic Prostate Cancer. *Clinical genitourinary cancer*, 18(2), e157–e166.
- Gay, H. A., & Michalski, J. M. 2018. Radiation Therapy for Prostate Cancer. *Missouri medicine*, 115(2), 146–150.
- Giovannucci, E., Harlan, D. M., Archer, M. C., Bergenstal, R. M., Gapstur, S. M., Habel, L. A., Pollak, M., Regensteiner, J. G., & Yee, D. 2010. Diabetes and cancer: a consensus report. *Diabetes care*, 33(7), 1674–1685.
- Giri D, Ozen M, Ittmann M. 2001. Interleukin-6 is an autocrine growth factor in human prostate cancer. *Am J Pathol*. 159(6). 2159-2165.
- Grivennikov, S. I., & Karin, M. 2010. Dangerous liaisons: STAT3 and NF-kappaB collaboration and crosstalk in cancer. *Cytokine & growth factor reviews*, 21(1), 11–19.

- Halpern, J. A., Oromendia, C., Shoag, J. E., Mittal, S., Cosiano, M. F., Ballman, K. V., Vickers, A. J., & Hu, J. C. 2018. Use of Digital Rectal Examination as an Adjunct to Prostate Specific Antigen in the Detection of Clinically Significant Prostate Cancer. *The Journal of urology*, 199(4), 947–953.
- Hamm Et Al. (2007). Prostata und Samenblase. In *MRT von Abdomen und Becken* (2nd ed., p. 231). Thieme.
- Hamilton, N., Marquez-Garban, D., Mah, V. H., Elshimali, Y., Elashoff, D., Garon, E. B., Vadgama, J., & Pietras, R. 2015. Estrogen Receptor- $\beta$  and the Insulin-Like Growth Factor Axis as Potential Therapeutic Targets for Triple-Negative Breast Cancer. *Critical reviews in oncogenesis*, 20(5-6), 373–390.
- Hartman J, Ström A, Gustafsson JA. 2009. Estrogen receptor beta in breast cancer--diagnostic and therapeutic implications. *Steroids*. 74(8). 635-641.
- Harvey, C. J., Pilcher, J., Richenberg, J., Patel, U., & Frauscher, F. 2012. Applications of transrectal ultrasound in prostate cancer. *The British journal of radiology*, 85 Spec No 1(Spec Iss 1), S3–S17. <https://doi.org/10.1259/bjr/56357549>
- Heidegger, I., Kern, J., Ofer, P., Klocker, H., & Massoner, P. 2014. Oncogenic functions of IGF1R and INSR in prostate cancer include enhanced tumor growth, cell migration and angiogenesis. *Oncotarget*, 5(9), 2723–2735.
- Hellawell GO, Turner GD, Davies DR, Poulsom R, Brewster SF, Macaulay VM. 2002 Expression of the type 1 insulin-like growth factor receptor is up-regulated in primary prostate cancer and commonly persists in metastatic disease. *Cancer Res*. 62(10) 2942-50.
- Higashi Y, Sukhanov S, Anwar A, Shai SY, Delafontaine P. 2012 Aging, atherosclerosis, and IGF-1. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 67(6):626-39.
- Hobisch A, Rogatsch H, Hittmair A, Fuchs D, Bartsch G Jr, Klocker H, Bartsch G, Culig Z. 2000. Immunohistochemical localization of interleukin-6 and its receptor in benign, premalignant and malignant prostate tissue. *J Pathol*. 191(3):239-244.
- Hong DS, Angelo LS, Kurzrock R. 2007. Interleukin-6 and its receptor in cancer: implications for translational therapeutics. *Cancer*. 110(9). 1911-1928.
- Horvath LG, Henshall SM, Lee CS, Head DR, Quinn DI, Makela S, Delprado W, Golovsky D, Brenner PC, O'Neill G, Kooner R, Stricker PD, Grygiel JJ, Gustafsson JA, Sutherland RL. 2001. Frequent loss of estrogen receptor-beta expression in prostate cancer. *Cancer Res*. 61(14):5331-5335.
- Deutsche Krebsgesellschaft e.V. "Klassifikation des Krankheitsstadiums." *Krebsgesellschaft*, <https://www.krebsgesellschaft.de/onko-internetportal/basis-informationen-krebs/krebsarten/prostatakrebs/klassifikation-des-krankheitsstadiums.html>. Accessed: 10.02.2022
- Hua H, Kong Q, Yin J, Zhang J, Jiang Y. 2020. Insulin-like growth factor receptor signaling in tumorigenesis and drug resistance: a challenge for cancer therapy. *J Hematol Oncol*. 13(1) 64.
- Hurtado A, Pinós T, Barbosa-Desongles A, López-Avilés S, Barquinero J, Petriz J, Santamaria-Martínez A, Morote J, de Torres I, Bellmunt J, Reventós J, Munell F. 2008. Estrogen receptor beta displays cell cycle-dependent expression and regulates the G1 phase through a non-genomic mechanism in prostate carcinoma cells. *Cell Oncol*. 30(4):349-365.
- Iczkowski KA. 2016. Adenocarcinoma. *PathologyOutlines.com website*. <https://www.pathologyoutlines.com/topic/prostateadenoNOS.html>. Accessed January 27th, 2022.

- Im K, Mareninov S, Diaz MFP, Yong WH. 2019. An Introduction to Performing Immunofluorescence Staining. *Methods Mol Biol.* 1897 299-311.
- Iltmann, Michael. 2018. Anatomy and Histology of the Human and Murine Prostate." *Cold Spring Harbor perspectives in medicine* vol. 8,5
- Jung JE, Kim GS, Chan PH. 2011. Neuroprotection by interleukin-6 is mediated by signal transducer and activator of transcription 3 and antioxidative signaling in ischemic stroke. *Stroke.* 42(12):3574-3579.
- Johnson, Daniel E et al. "Targeting the IL-6/JAK/STAT3 signalling axis in cancer." *Nature reviews. Clinical oncology* vol. 15,4 (2018): 234-248. doi:10.1038/nrclinonc.2018.8
- Karar J, Maity A. 2011. PI3K/AKT/mTOR Pathway in Angiogenesis. *Front Mol Neurosci.* 4. 51.
- Kavran JM, McCabe JM, Byrne PO, Connacher MK, Wang Z, Ramek A, Sarabipour S, Shan Y, Shaw DE, Hristova K, Cole PA, Leahy DJ. 2014. How IGF-1 activates its receptor. *Elife* .3 e03772.
- Killilea T. 2002. Long-term consequences of type 2 diabetes mellitus: economic impact on society and managed care. *Am J Manag Care.* 2002 8(16): 441-449.
- Kinsella, N., Helleman, J., Bruinsma, S., Carlsson, S., Cahill, D., Brown, C., & Van Hemelrijck, M. 2018. Active surveillance for prostate cancer: a systematic review of contemporary worldwide practices. *Translational andrology and urology*, 7(1), 83–97.
- Kucab JE, Dunn SE. 2003. Role of IGF-1R in mediating breast cancer invasion and metastasis. *Breast Dis.* 17. 41-47.
- Kumar VL, Majumder PK. 1995. Prostate gland: structure, functions and regulation. *Int Urol Nephrol.* 27(3), 231-43.
- Kumar, R., Zakharov, M. N., Khan, S. H., Miki, R., Jang, H., Toraldo, G., Singh, R., Bhasin, S., & Jasuja, R. 2011. The dynamic structure of the estrogen receptor. *Journal of amino acids.* 812540.
- Kunal Desai, Jeffrey M McManus, Nima Sharifi, 2021. Hormonal Therapy for Prostate Cancer, *Endocrine Reviews*, 42 (3), 354-373,
- Lai JS, Brown LG, True LD, Hawley SJ, Etzioni RB, Higano CS, Ho SM, Vessella RL, Corey E. 2004. Metastases of prostate cancer express estrogen receptor-beta. *Urology.* 4(4) 814-820.
- Leav I, Lau KM, Adams JY, McNeal JE, Taplin ME, Wang J, Singh H, Ho SM. 2001. Comparative studies of the estrogen receptors beta and alpha and the androgen receptor in normal human prostate glands, dysplasia, and in primary and metastatic carcinoma. *Am J Pathol.* 159(1). 79-92.
- Li H, Xiao H, Lin L, Jou D, Kumari V, Lin J, Li C. 2014. Drug design targeting protein-protein interactions (PPIs) using multiple ligand simultaneous docking (MLSD) and drug repositioning: discovery of raloxifene and bazedoxifene as novel inhibitors of IL-6/GP130 interface. *J Med Chem.* 57(3):632-641.
- Lilja H. 1988. Structure and function of prostatic- and seminal vesicle-secreted proteins involved in the gelation and liquefaction of human semen. *Scand J Clin Lab Invest Suppl.* 191, 13-20.
- Linja MJ, Savinainen KJ, Tammela TL, Isola JJ, Visakorpi T. 2003. Expression of ERalpha and ER-beta in prostate cancer. *Prostate.* 55(3):180-186.
- Litwin MS, Tan H. 2017. The Diagnosis and Treatment of Prostate Cancer: A Review. *JAMA.* 317(24):2532–2542.
- Locatelli V, Bianchi VE. 2014. Effect of GH/IGF-1 on Bone Metabolism and Osteoporosis. *Int J Endocrinol.* 23. 5-6.

- Loeb, S., Zhou, Q., Siebert, U., Rochau, U., Jahn, B., Mühlberger, N., Carter, H. B., Lepor, H., & Braithwaite, R. S. 2017. Active Surveillance Versus Watchful Waiting for Localized Prostate Cancer: A Model to Inform Decisions. *European urology*, 72(6), 899–907.
- Lutz SZ, Hennenlotter J, Scharpf MO, Sailer C, Fritsche L, Schmid V, Kantartzis K, Wagner R, Lehmann R, Berti L, Peter A, Staiger H, Fritsche A, Fend F, Todenhöfer T, Stenzl A, Häring HU, Heni M. 2018. Androgen receptor overexpression in prostate cancer in type 2 diabetes. *Mol Metab*. 8. 158-166.
- Malone, S., Shayegan, B., Basappa, N. S., Chi, K., Conter, H. J., Hamilton, R. J., Hotte, S. J., Saad, F., So, A. I., Park-Wyllie, L., Hew, H., McLeod, D., & Gotto, G. 2019. Management algorithms for metastatic prostate cancer. *Canadian Urological Association journal = Journal de l'Association des urologues du Canada*, 14(2), 50–60.
- Mancarella C, Casanova-Salas I, Calatrava A, García-Flores M, Garofalo C, Grilli A, Rubio-Briones J, Scotlandi K, López-Guerrero JA. 2017. Insulin-like growth factor 1 receptor affects the survival of primary prostate cancer patients depending on TMPRSS2-ERG status. *BMC Cancer*. 17(1). 367.
- Mihara M, Hashizume M, Yoshida H, Suzuki M, Shiina M. 2012 IL-6/IL-6 receptor system and its role in physiological and pathological conditions. *Clin Sci (Lond)*. 122(4). 143-59.
- Mitsiades CS, Mitsiades NS, McMullan CJ, Poulaki V, Shringarpure R, Akiyama M, Hideshima T, Chauhan D, Joseph M, Libermann TA, García-Echeverría C, Pearson MA, Hofmann F, Anderson KC, Kung AL. Inhibition of the insulin-like growth factor receptor-1 tyrosine kinase activity as a therapeutic strategy for multiple myeloma, other hematologic malignancies, and solid tumors. *Cancer Cell*. 2004 Mar;5(3):221-30. doi: 10.1016/s1535-6108(04)00050-9. PMID: 15050914.
- Muangpoon, T., Haghghi Osgouei, R., Escobar-Castillejos, D., Kontovounisios, C., & Bello, F. 2020. Augmented Reality System for Digital Rectal Examination Training and Assessment: System Validation. *Journal of medical Internet research*, 22(8), e18637.
- Munjal A, Leslie SW. Gleason Score. [Updated 2021 Jun 29]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK553178/>
- Musgrove EA, Caldon CE, Barraclough J, Stone A, Sutherland RL. 2011. Cyclin D as a therapeutic target in cancer. *Nat Rev Cancer*. 11(8):558-572.
- Naji, L., Randhawa, H., Sohani, Z., Dennis, B., Lautenbach, D., Kavanagh, O., Bawor, M., Banfield, L., & Profetto, J. 2018. Digital Rectal Examination for Prostate Cancer Screening in Primary Care: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Annals of family medicine*, 16(2), 149–154.
- National Center for Biotechnology Information, 2022 U.S. National Library of Medicine IL6R Interleukin 6 Receptor [Homo Sapiens (Human)] - Gene - NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=DetailsSearch&Term=3570>. Accessed 5 Feb. 2022.
- Nelson AW, Tilley WD, Neal DE, Carroll JS. 2014. Estrogen receptor beta in prostate cancer: friend or foe? *Endocr Relat Cancer*. 1(4). 219-234.
- Nguyen DP, Li J, Tewari AK. 2014. Inflammation and prostate cancer: the role of interleukin 6 (IL-6). *BJU Int*. 113(6) 986-992.

- Nguyen LN, Pollack A, Zagars GK. 1998. Late effects after radiotherapy for prostate cancer in a randomized dose-response study: results of a self-assessment questionnaire. *Urology*. 51(6):991-7.
- Nightingale, G., & Ryu, J. 2012. Cabazitaxel (jevtana): a novel agent for metastatic castration-resistant prostate cancer. *P & T : a peer-reviewed journal for formulary management*, 37(8), 440–448.
- Noda M, Yamakawa Y, Matsunaga N, Naoe S, Jodoi T, Yamafuji M, Akimoto N, Teramoto N, Fujita K, Ohdo S, Iguchi H. 2012. IL-6 receptor is a possible target against growth of metastasized lung tumor cells in the brain. *Int J Mol Sci*. . 14(1):515-526.
- Oesterling JE, Jacobsen SJ, Chute CG, Guess HA, Girman CJ, Panser LA, Lieber MM. 1993 Serum prostate-specific antigen in a community-based population of healthy men. Establishment of age-specific reference ranges. *JAMA*. 18;270(7): 860-4.
- Ortmann O, Weiss JM, Diedrich K. Gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) and GnRH agonists: mechanisms of action. 2002. *Reprod Biomed Online*. 5(1) 1-7.
- Packham S, Warsito D, Lin Y, Sadi S, Karlsson R, Sehat B, Larsson O 2015. Nuclear translocation of IGF-1R via p150(Glued) and an importin- $\beta$ /RanBP2-dependent pathway in cancer cells. *Oncogene*. 34(17):2227-2238.
- Palmieri C, Cheng GJ, Saji S, Zelada-Hedman M, Wärrri A, Weihua Z, Van Noorden S, Wahlstrom T, Coombes RC, Warner M, Gustafsson JA. 2002 Estrogen receptor beta in breast cancer. *Endocr Relat Cancer*. 9(1):1-13.
- Pfizer Inc.. (2010, March 11). pfizer.com. [https://www.Pfizer.Com/News/Press-Release/Press-Release\\_Detail/Pfizer\\_discontinues\\_a\\_phase\\_3\\_study\\_of\\_figitumumab\\_in\\_previously\\_treated\\_patients\\_with\\_advanced\\_non\\_small\\_cell\\_lung\\_cancer](https://www.Pfizer.Com/News/Press-Release/Press-Release_Detail/Pfizer_discontinues_a_phase_3_study_of_figitumumab_in_previously_treated_patients_with_advanced_non_small_cell_lung_cancer). Retrieved February 5, 2022,
- Pienta KJ. Preclinical mechanisms of action of docetaxel and docetaxel combinations in prostate cancer. 2001. *Semin Oncol*. 4 (15). 3-7.
- Poreba E, Durzynska J. 2020 Nuclear localization and actions of the insulin-like growth factor 1 (IGF-1) system components: Transcriptional regulation and DNA damage response. *Mutat Res Rev Mutat Res*. 108307.
- Quinn DI, Sandler HM, Horvath LG, Goldkorn A, Eastham JA. 2017. The evolution of chemotherapy for the treatment of prostate cancer. *Ann Oncol*. 1;28(11):2658-2669.
- Rawla, Prashanth. 2019. Epidemiology of Prostate Cancer. *World journal of oncology* vol. 10,2. 63-89.
- Riedemann J, Macaulay VM. 2006. IGF1R signalling and its inhibition. *Endocr Relat Cancer*. 1. 33-43
- Rieger L, O'Connor R. 2021 Controlled Signaling-Insulin-Like Growth Factor Receptor Endocytosis and Presence at Intracellular Compartments. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 11:620013
- Rossi JF, Lu ZY, Jourdan M, Klein B. 2015. Interleukin-6 as a therapeutic target. *Clin Cancer Res*. 21(6):1248-1257.
- Sapra A, Bhandari P. 2021. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing;
- Schade GR, Holt SK, Zhang X, Song D, Wright JL, Zhao S, Kolb S, Lam HM, Levin L, Leung YK, Ho SM, Stanford JL. 2016. Prostate Cancer Expression Profiles of Cytoplasmic ER- $\beta$ 1 and Nuclear ER- $\beta$ 2 are Associated with Poor Outcomes following Radical Prostatectomy. *J Urol*. 195(6):1760-1766.

- Schrecengost, Randy, and Karen E Knudsen. 2013 "Molecular pathogenesis and progression of prostate cancer." *Seminars in oncology* vol. 40,3 244-58.
- Schulster, M., Bernie, A. M., & Ramasamy, R. 2016. The role of estradiol in male reproductive function. *Asian journal of andrology*, 18(3), 435–440.
- Schuster DP, Duvuuri V. 2002 Diabetes mellitus. *Clin Podiatr Med Surg*. 19(1):79-107
- Shaaban AM, Green AR, Karthik S, Alizadeh Y, Hughes TA, Harkins L, Ellis IO, Robertson JF, Paish EC, Saunders PT, Groome NP, Speirs V. 2008 Nuclear and cytoplasmic expression of ER- $\beta$ 1, ER- $\beta$ 2, and ER- $\beta$ 5 identifies distinct prognostic outcome for breast cancer patients. *Clin Cancer Res*. 15;14(16):5228-5235.
- Shafik A, Shafik AA, El Sibai O, Shafik IA. 2005. Contractile activity of the prostate at ejaculation: an electrophysiologic study. *Urology*. 67(4), 793-6.
- Singh O, Bolla SR. Anatomy, Abdomen and Pelvis, Prostate. Updated 2021 Jul 26. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan
- Solomon-Zemler, R., Sarfstein, R., & Werner, H. 2017. Nuclear insulin-like growth factor-1 receptor (IGF1R) displays proliferative and regulatory activities in non-malignant cells. *PLoS one*, 12(9), e0185164.
- Song P, Li Y, Dong Y, Liang Y, Qu H, Qi D, Lu Y, Jin X, Guo Y, Jia Y, Wang X, Xu W, Quan C. 2019. Estrogen receptor  $\beta$  inhibits breast cancer cells migration and invasion through CLDN6-mediated autophagy. *J Exp Clin Cancer Res*. 38(1):354.
- Stein B, Yang MX. 1995. Repression of the interleukin-6 promoter by estrogen receptor is mediated by NF-kappa B and C/EBP beta. *Mol Cell Biol*. 15(9). 4971-4979.
- Stenman UH, Leinonen J, Zhang WM, Finne P. 1999 Prostate-specific antigen. *Semin Cancer Biol*. 9(2), 83-93.
- Tanaka, T., Narazaki, M., & Kishimoto, T. 2014. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 6(10), a016295.
- Tang H, Bai Y, Pan G, Wang X, Wei Y, Yang Z, Zhao J. 2019. Interleukin-6 and insulin-like growth factor-1 synergistically promote the progression of NSCLC. *Autoimmunity*. 51(8). 399-407.
- Tozawa K, Kawai N, Ando R, Naiki T, Iida K, Yasui T. 2016. The Role of Interleukin-6 and Interleukin-6 Receptor as Prognostic Biomarkers in Prostate Cancer. *Clin Oncol*. 1. 1124.
- Troncale S, Tahi F, Campard D, Vannier JP, Guespin J. Modeling and simulation with Hybrid Functional Petri Nets of the role of interleukin-6 in human early haematopoiesis. *Pac Symp Biocomput*. 2006:427-38. PMID: 17094258.
- Tsalamandris, S., Antonopoulos, A. S., Oikonomou, E., Papamikroulis, G. A., Vogiatzi, G., Papaioannou, S., Deftereos, S., & Tousoulis, D. 2019. The Role of Inflammation in Diabetes: Current Concepts and Future Perspectives. *European cardiology*, 14(1), 50–59.
- Velcheti V, Karnik S, Bardot SF, Prakash O. 2008 Pathogenesis of prostate cancer: lessons from basic research. *Ochsner J*. 8(4), 213-8.
- Vernooij, R. W., Lancee, M., Cleves, A., Dahm, P., Bangma, C. H., & Aben, K. K. 2020. Radical prostatectomy versus deferred treatment for localised prostate cancer. *The Cochrane database of systematic reviews*, 6(6), CD006590.
- Vieweg J. 2007. Immunotherapy for advanced prostate cancer. *Reviews in urology*, 9 (1) 29-38.
- Wang LH, Yang XY, Mihalic K, Xiao W, Li D, Farrar WL. 2001. Activation of estrogen receptor blocks interleukin-6-inducible cell growth of human multiple myeloma

- involving molecular cross-talk between estrogen receptor and STAT3 mediated by co-regulator PIAS3. *J Biol Chem.* 276(34). 31839-31844.
- Wang, X., & Lin, Y. 2008. Tumor necrosis factor and cancer, buddies or foes?. *Acta pharmacologica Sinica*, 29(11), 1275–1288.
- Weidle UH, Klostermann S, Eggle D, Krüger A. 2010 Interleukin 6/interleukin 6 receptor interaction and its role as a therapeutic target for treatment of cachexia and cancer. *Cancer Genomics Proteomics.* 7(6):287-302.
- Weihua, Z., Saji, S., Mäkinen, S., Cheng, G., Jensen, E. V., Warner, M., & Gustafsson, J. A. .2000. Estrogen receptor (ER) beta, a modulator of ERalpha in the uterus. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(11), 5936–5941.
- White, C. W., Xie, J. H., & Ventura, S. 2013. Age-related changes in the innervation of the prostate gland: implications for prostate cancer initiation and progression. *Organogenesis*, 9(3), 206–215.
- Wolk A, Mantzoros CS, Andersson SO, Bergström R, Signorello LB, Lagiou P, Adami HO, Trichopoulos D. 1998. Insulin-like growth factor 1 and prostate cancer risk: a population-based, case-control study. *J Natl Cancer Inst.* 90(12):911-915.
- Wu Q, Zhou X, Huang D, Ji Y, Kang F. 2017. IL-6 Enhances Osteocyte-Mediated Osteoclastogenesis by Promoting JAK2 and RANKL Activity In Vitro. *Cell Physiol Biochem.* 41(4):1360-1369.
- Wu, J., & Yu, E. 2014. Insulin-like growth factor receptor-1 (IGF-IR) as a target for prostate cancer therapy. *Cancer metastasis reviews*, 33(2-3), 607–617.
- Xiang, J., Yan, H., Li, J. et al. 2019. Transperineal versus transrectal prostate biopsy in the diagnosis of prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *World J Surg Oncol* 17, 31
- Xiao L, Luo Y, Tai R, Zhang N. 2019. Estrogen receptor  $\beta$  suppresses inflammation and the progression of prostate cancer. *Mol Med Rep.* 19(5). 3555-3563.
- Xu, J., Neale, A. V., Dailey, R. K., Eggly, S., & Schwartz, K. L. 2012. Patient perspective on watchful waiting/active surveillance for localized prostate cancer. *Journal of the American Board of Family Medicine : JABFM*, 25(6), 763–770.
- Yeo CD, Kim YA, Lee HY, Kim JW, Lee SH, Kim SJ, Kwon SS, Kim YH, Kim SC. 2017. Inhibiting IGF-1R attenuates cell proliferation and VEGF production in IGF-1R over-expressing EGFR mutant non-small cell lung cancer cells. *Exp Lung Res.* 43(1). 29-37.
- Yuan, J., Yin, Z., Tao, K., Wang, G., & Gao, J. 2018. Function of insulin-like growth factor 1 receptor in cancer resistance to chemotherapy. *Oncology letters*, 15(1), 41–47.
- Zhang D, Cui Y, Niu L, Xu X, Tian K, Young CY, Lou H, Yuan H. 2014. Regulation of SOD2 and  $\beta$ -arrestin1 by interleukin-6 contributes to the increase of IGF-1R expression in docetaxel resistant prostate cancer cells. *Eur J Cell Biol.* 93(7). 289-298.
- Zheng, Xianan et al. 2019. An Autocrine IL-6/IGF-1R Loop Mediates EMT and Promotes Tumor Growth in Non-small Cell Lung Cancer.” *International journal of biological sciences* 15(9) 1882-1891.
- Zhao, C., Dahlman-Wright, K., & Gustafsson, J. A. 2008. Estrogen receptor beta: an overview and update. *Nuclear receptor signaling*, 6, e003.

#### VI.4 Erklärung zum Eigenanteil Dissertation

Die vorliegende Arbeit wurde in der Klinik für Urologie des Universitätsklinikum Tübingen unter der Leitung von Prof. Dr. med h.c Arnulf Stenzl durchgeführt. Die Betreuung der Dissertationschrift übernahmen Herrn Prof. Dr. med h.c Arnulf Stenzl und der Leiter des wissenschaftlichen Labors der Klinik für Urologie des Universitätsklinikums Tübingen Dipl. Biol. Jörg Hennenlotter.

Die vorliegende Arbeit entstand innerhalb des Verbundprojekts „Diabetes und Prostata Karzinom“ mit weiteren Doktoranden und wissenschaftlichen Arbeitern des Universitätsklinikums Tübingen, um die Progression des Prostatakarzinoms anhand der Tissue-Mikroarray Technik auf diverse Stoffwechselfparameter zu untersuchen.

Die Erstellung des Patientenkollektives, das Zusammentragen und Sortieren der Gewebelöcke und HE-Schnittpräparate, die Durchschau und das Circeln der Schnittpräparate in Zusammenarbeit mit dem Pathologen Herrn OA Dr. med. Marcus Scharpf, die Erstellung der Array-Listen, die Erstellung der Tissue-Microarrays, die Durchschau der Tissue-Microarrays und Evaluierung von nicht-verwertbaren Dots mit Herrn Dr. med. M. Scharpf, das Nachstanzen spezifischer Gewebedots sowie die Erstellung einer vorläufigen Datenbank wurden in Zusammenarbeit mit Herrn David Rodriguez-Hauviller durchgeführt.

Die histopathologische Begutachtung der Schnitte sowie das Circeln der tumorfreen und tumortragenden Anteile übernahm Dr. med. Marcus Scharpf (Oberarzt des Pathologischen Instituts der Universitätsklinik Tübingen).

Die Aufarbeitung des Micro-Tissue Array und die anschließende immunhistochemische Färbung fand unter der Leitung von Frau Ursula Kühs (Medizinisch-Technische Assistentin des Labors der Klinik für Urologie des Universitätsklinikums Tübingen) statt.

Die Anpassung des Auswerte-Scores und die Analyse der Expressionen der vorliegenden Arbeit sowie die statistische Auswertung wurde nach Einarbeitung durch Jörg Hennenlotter (Leiter des wissenschaftlichen Labors der Klinik für Urologie des Universitätsklinikums Tübingen) selbstständig durchgeführt.

Hiermit versichere ich, Alexander Wittan, das Manuskript selbstständig nach Anleitung des Betreuers Prof. Dr. med h.c Arnulf Stenzl verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben. Alle wörtlich und inhaltlich übernommenen Stellen aus anderen Arbeiten habe ich als solche gekennzeichnet

---

Ort/Datum

---

Unterschrift

## VI.5 Danksagung

Zuerst möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. Stenzl für die Betreuung und Bereitstellung der notwendigen Materialien sowie die Möglichkeit, als externer Doktorand ein hochspannendes Thema zu behandeln, bedanken. Ebenso danke ich Herrn Prof. Dr. med. Stephan Rausch für die hilfreiche Zusammenarbeit, die wertvollen Hinweise und die Wegweisung während dieser Arbeit.

Dr. Marcus Scharpf danke ich für Einweisung in die Arbeit mit dem Objektträger-Scanner sowie für das Bereitstellen der Software und die Einweisung in die Arbeit mit dem Ventana Image Viewer, wodurch ich die Daten extern generieren konnte.

Ein herzliches Dankeschön geht an Herrn Hennenlotter für die vielen Stunden Einleitung in die Themen und Methodik der Arbeit sowie für die Hilfe an allen Ecken und Kanten der Dissertation bis zur Fertigstellung. Ohne ihn wäre die Arbeit nicht möglich gewesen.

Dem gesamten Labor der Urologie möchte ich ebenfalls für die Anleitung für die Arbeit mit dem Mikroskop und die zahlreichen Tipps bei der Ergebnis-Auswertung danken.

Ein Dankeschön geht auch an die Doktoranden der Universität Tübingen, die durch ihr vorheriges Wirken im Verbundprojekt „Diabetes und Prostata“ den Grundstein bzw. die Grundsteine gelegt haben, auf denen diese Arbeit aufbauen konnte.

Ebenso möchte ich meinen ehemaligen Kommilitonen der medizinischen Universität Warschau für die vielen aufmunternden Worte nach langen Stunden des Mikroskopierens danken.

Zuletzt danke ich meiner Mutter, die mich bis zum Ende motiviert hat, und meinem Vater, der das Ende meiner Doktorarbeit leider nicht miterleben kann, mich jedoch vor allem in der Anfangsphase mit allen Mitteln unterstützt hat.