

Untersuchungen zur klinischen Bedeutung von Apo10 und  
TKTL1 im Blut von Patienten mit organbezogenem  
Prostatakarzinom mittels der EDIM-Technologie unter  
Einbeziehung von Messungen nach erfolgter  
Prostatektomie

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard Karls Universität  
zu Tübingen

vorgelegt von

Keller, Gabriel Lennart

2017

Untersuchungen zur klinischen Bedeutung von Apo10 und  
TKTL1 im Blut von Patienten mit organbezogenem  
Prostatakarzinom mittels der EDIM-Technologie unter  
Einbeziehung von Messungen nach erfolgter  
Prostatektomie

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard Karls Universität  
zu Tübingen

vorgelegt von

Keller, Gabriel Lennart

2017

Dekan: Professor Dr. I.B. Autenrieth  
1. Berichterstatter: Professor Dr. J. Bedke  
2. Berichterstatter: Professor Dr. R. Handgretinger

## Vorwort

Am 10.04.2014 starb meine Mutter an den Folgen eines letztlich metastasierten AEG II. Ich war damals an der Schwelle zum neunten Fachsemester.

Humanmedizin ist eine Querschnittswissenschaft und die Wissensvermittlung ist sehr breit angelegt. Onkologie ist dabei nur eines von vielen Fächern. Bei uns war es schon gelesen und geprüft worden. Wie die anderen Prüfungen im Studium absolvierte ich auch diese nach einer organisierten Vorbereitung ohne Probleme.

In meinem privaten Umfeld bekam ich, nachdem ich nun über vier Jahre Medizin studiert hatte, immer mehr Vertrauen bei medizinischen Problemen entgegen gebracht. Manche hielten mich schon fast für einen Arzt. Wenn ich in den Semesterferien famulierte, spürte ich im Gegensatz dazu, dass ich doch eher ganz am Anfang war und noch sehr viel zu lernen hatte.

Zur selben Zeit hatte ich mich schon relativ umfangreich in die Themen der vorliegenden Dissertation eingelesen. Hierbei ging es natürlich um ein ganz anderes Karzinom und mir war im Studium schon früh bewusst geworden, dass Krebs nicht gleich Krebs ist. Dennoch fühlte ich mich immer wieder während der Erkrankung meiner Mutter so, als müsste ich doch irgendwie helfen können. Schließlich hatte meine Mutter ein medizinisches Problem und ich studierte Medizin. Darüber hinaus hatte sie Krebs und ich forschte gerade während meiner Promotion an einem Malignom.

Zum Zeitpunkt der Diagnosestellung war meine Mutter eine kräftige Frau im mittleren Alter. Meine Mutter wurde an einer angesehenen deutschen Universitätsklinik *lege artis* behandelt. Nach mehreren Operationen und Chemozyklen lebte sie trotzdem nur noch etwas mehr als ein Jahr.

Trotz meines beschränkten Wissens wage ich hier die Aussage, dass der *Status quo* bei den meisten Krebsentitäten so aussieht, dass wir noch ziemlich weit davon entfernt sind, deren ursächliche Entstehung sowie ihre biochemischen und physiologischen Eigenschaften gänzlich zu verstehen. Dementsprechend zielen die häufig indizierten Therapien Operation, Bestrahlung und die meisten Chemotherapie-Regimes auf eine Zerstörung des entarteten Gewebes von extern, wobei jedes Mal zu hoffen ist, dass das kranke Gewebe vollständig entfernt wurde und nicht rezidiert. Eine Therapie, die „an der Wurzel ansetzt“, das Tumorwachstum inhibiert, umkehrt und so zu einer Heilung führt, ist heute bei vielen Krebserkrankungen noch nicht in Sicht. Mitunter gibt es vielversprechende Ansätze, aber hier besteht nach wie vor großer Forschungsbedarf.

Gültstein, Oktober 2014

Promotionsstudent Gabriel L. Keller

Für meine Familie

ganz besonders

für meine Mutter

# Inhaltsverzeichnis

## **1 Einleitung ..... 1**

1.1 Prostatakarzinom .....	2
1.1.1 Epidemiologie .....	2
1.1.2 Früherkennung .....	5
1.1.2.1 Digital-Rektale-Untersuchung (DRU) .....	6
1.1.2.2 Prostata-spezifisches Antigen (PSA) .....	7
1.1.2.3 Kontroverse um die Früherkennung .....	8
1.1.3 Diagnostik .....	14
1.1.4 Therapie .....	19
1.1.5 Nachsorge .....	22
1.2 Apo10 .....	27
1.2.1 Was ist Apo10? .....	27
1.2.2 Der biochemische Ablauf der Apoptose .....	28
1.2.3 Bedeutung von DNase X bei der Apoptose .....	31
1.2.4 Möglicher Nutzen von Apo10 als medizinischer Marker bei Patienten mit Prostatakarzinom .....	33
1.3 Transketolase-like 1 (TKTL1) .....	36
1.3.1 Was ist TKTL1? .....	36
1.3.2 Die biochemische Funktion einer Transketolase im Glucose-Stoffwechsel .....	38
1.3.3 Veränderungen im Glucose-Stoffwechsel bei Tumoren – der Warburg-Effekt .....	42
1.3.4 Bedeutung von TKTL1 für den Glucose-Stoffwechsel und die gesamte Zelle .....	44
1.3.5 Möglicher Nutzen von TKTL1 als medizinischer Marker bei Patienten mit Prostatakarzinom .....	48
1.4 EDIM-Methode .....	52
1.5 Ziel der Studie .....	55

## **2 Methoden ..... 57**

2.1 Patientenkollektiv .....	57
2.1.1 Einschlusskriterien .....	57
2.1.2 Ausschlusskriterien .....	58
2.2 Ethik .....	58

2.3 Datenschutz.....	59
2.4 Klinische und experimentelle Datengewinnung .....	59
2.4.1 Präoperative Probenasservation .....	59
2.4.2 Erstellung der Datenbank .....	60
2.4.3 Vorbereitung der postoperativen Probenasservation.....	61
2.4.4 Postoperative Probenasservation .....	63
2.4.5 Verarbeitung der Blutproben am UKT.....	64
2.4.6 Bestimmung von Apo10 und TKTL1 mittels EDIM-Technologie.....	64
2.4.7 Abbruchkriterien .....	66
2.5 Statistischen Auswertung.....	66
2.5.1 Vorbereitung der Daten .....	66
2.5.2 Gliederung der statistischen Auswertung.....	69
2.5.3 Methoden der statistischen Analyse und graphische Darstellung .....	70
<b>3 Ergebnisse .....</b>	<b>72</b>
3.1 Charakterisierung des Patientenkollektivs .....	72
3.2 Präoperative Apo10- und TKTL1-Ergebnisse .....	75
3.3 Zusammenhänge der präoperativen Ergebnisse mit klinischen Daten .....	78
3.3.1 Präoperative Apo10-Zusammenhänge .....	78
3.3.1.1 Zusammenhänge von Apo10 mit Tumordaten.....	78
3.3.1.2 Zusammenhänge von Apo10 mit Daten des Differenzialblutbilds .....	81
3.3.1.3 Zusammenhänge von Apo10 mit individuellen Eigenschaften .....	84
3.3.2 Präoperative TKTL1-Zusammenhänge.....	84
3.3.2.1 Zusammenhänge von TKTL1 mit Tumordaten .....	84
3.3.2.2 Zusammenhänge von TKTL1 mit Daten des Differenzialblutbilds .....	89
3.3.2.3 Zusammenhänge von TKTL1 mit individuellen Eigenschaften .....	91
3.4 Zusammenhänge der Kombination von Apo10 und TKTL1 mit klinischen Daten .....	91
3.4.1 Zusammenhänge der EDIM Summe mit klinischen Daten .....	92
3.4.2 Zusammenhänge unseres EDIM Algorithmus mit klinischen Daten .....	94
3.5 Vergleich der präoperativen EDIM-Parameter bei unterschiedlichen prognostischen Gruppen.....	97
3.6 Charakterisierung des postoperativen Subkollektivs .....	101
3.7 Postoperative Apo10- und TKTL1-Ergebnisse.....	102

3.8 Zusammenhänge der postoperativen Ergebnisse mit der zeitlichen Distanz zur Operation.....	109
3.9 Zusammenhänge der postoperativen Ergebnisse mit dem postoperativen PSA .....	111
3.10 Zusammenhänge der postoperativen Ergebnisse mit tumorbezogenen Patientendaten .....	113
3.11 Untersuchung der Kombination aus prä- und postoperativen EDIM-Ergebnissen .....	117
<b>4 Diskussion .....</b>	<b>119</b>
4.1 Der Stellenwert von Apo10 und TKTL1.....	119
4.2 Bewertung der Methodik .....	121
4.2.1 Patientenkollektiv .....	121
4.2.2 Erfassung der klinischen Bedeutung.....	123
4.3 Bewertung der vorliegenden Ergebnisse .....	123
4.3.1 Bewertung der präoperativen Sensitivitäten von Apo10 und TKTL1 .....	124
4.3.2 Bewertung der Zusammenhänge der präoperativen Apo10- und TKTL1 Ergebnisse mit Patientendaten.....	125
4.3.3 Bewertung EDIM Summe und EDIM Algorithmus.....	128
4.3.4 Bewertung der postoperativen Entwicklung von Apo10 und TKTL1 .....	130
4.4 Vergleich der Apo10- und TKTL1-Ergebnisse mit dem 2-Stufen-Modell nach Tavarlin .	133
4.5 Schlussfolgerung.....	136
4.6 Limitationen der Arbeit und weiterführende Fragestellungen .....	138
<b>5 Zusammenfassung .....</b>	<b>141</b>
<b>6 Literaturverzeichnis .....</b>	<b>143</b>
<b>Erklärung zum Eigenanteil .....</b>	<b>154</b>
<b>Danksagungen.....</b>	<b>155</b>
<b>Lebenslauf .....</b>	<b>156</b>



# Abbildungsverzeichnis

Abb. 1 Prozentuale Verteilung aller Krebsneuerkrankungen auf die häufigsten Tumorlokalisationen im Jahr 2008 in Deutschland.....	3
Abb. 2 Prozentuale Verteilung aller Krebssterbefälle auf die häufigsten Tumorlokalisationen im Jahr 2008 in Deutschland.....	4
Abb. 3 Initiierung der Apoptose mit dem extrinsischen und dem intrinsischen Weg, die in einer gemeinsamen Endstrecke inklusive der Aktivierung der Caspase-aktivierten DNase münden .	30
Abb. 4 Vereinfachte Darstellung des Glucose-Stoffwechsels in Zytosol und Mitochondrium wie er in Lehrbüchern beschrieben ist mit Darstellung der dort beschriebenen Funktion einer Transketolase .....	40
Abb. 5 Vereinfachte Darstellung des Glucose-Stoffwechsels bei Tumoren unter Einbeziehung der von Coy et al. (2005) entdeckten 1-Substrat-Reaktion von TKTL1 .....	46
Abb. 6 Schematische Darstellung der postulierten Tumorgenese im 2-Stufen-Modell anhand der Expression der Marker Apo10 und TKTL1 .....	54
Abb. 7 Schematische Darstellung des EDIM-Prinzips der Entstehung von Apo10- und TKTL1-positiven Zellen im venösen Blut.....	65
Abb. 8 Histogramm und präoperative Verteilung der Apo10-Scores im Gesamtkollektiv.....	75
Abb. 9 Histogramm und präoperative Verteilung der TKTL1-Scores im Gesamtkollektiv .....	75
Abb. 10 Apo10-Mediane und –Maxima nach TKTL1-Scores.....	77
Abb. 11 TKTL1-Scores aufgetragen nach Gleason-Scores.....	85
Abb. 12 Präoperative Verteilung der EDIM Summe-Werte im Gesamtkollektiv .....	92
Abb. 13 Präoperative Verteilung der EDIM Algorithmus-Werte im Gesamtkollektiv.....	92
Abb. 14 Verteilung von pT-Stadien, pN-Stadien und Gleason-Scores nach EDIM Algorithmus-Scores .....	95
Abb. 15 Verteilung der prognostischen Gruppen nach EDIM Algorithmus-Scores .....	100
Abb. 16 Vergleich der Apo10-Scores vor und nach radikaler Prostatektomie .....	103
Abb. 17 Verteilung der Apo10-Entwicklungen.....	103
Abb. 18 Darstellung der signifikanten linearen Abhängigkeit der Apo10-Entwicklung vom präoperativen Apo10-Score .....	105
Abb. 19 Verteilung der TKTL1-Entwicklungen .....	105
Abb. 20 Vergleich der TKTL1-Scores vor und nach radikaler Prostatektomie .....	106
Abb. 21 Darstellung der signifikanten linearen Abhängigkeit der TKTL1-Entwicklung vom präoperativen TKTL1-Score .....	107
Abb. 22 Entwicklung des Apo10-Scores aufgetragen nach zeitlichem Abstand zwischen radikaler Prostatektomie und postoperativer Messung .....	110
Abb. 23 Vergleich von postoperativ positiven PSA-Werten und postoperativ positiven Apo10-Scores .....	112

Abb. 24 Verteilung beim signifikanten Zusammenhang zwischen präoperativ „hoch-gleasigen“ Tumoren und postoperativ positiven Apo10-Scores .....	114
Abb. 25 Vergleich der Apo10-Scores vor und nach radikaler Prostatektomie sortiert nach Gleason-Scores.....	115

## Tabellenverzeichnis

Tab. 1 TNM-Klassifikation der UICC für das Adenokarzinom der Prostata .....	16
Tab. 2 <i>Grading</i> des Adenokarzinoms der Prostata nach Gleason.....	17
Tab. 3 „Prognostic Groups“ beim Prostatakarzinom nach internationalem Konsens .....	18
Tab. 4 Berichtete Assoziationen eines positiven TKTL1-Status mit diagnostisch wichtigen Parametern.....	50
Tab. 5 Verteilung der pT-Stadien, der pN-Stadien und der Gleason-Scores im Gesamtkollektiv (174 Patienten).....	73
Tab. 6 Zusammenfassung der präoperativ erhobenen Blutbild-Parameter mit Beschreibung von Mittelwert und <i>Range</i> .....	74
Tab. 7 Zusammenhang von TKTL1 und Apo10 .....	76
Tab. 8 Zusammenhang des Apo10-Scores mit dem pT-Stadium.....	78
Tab. 9 Zusammenhang von pT-Stadium und Apo10, im Vergleich zu Tab.8 in umgekehrter Abhängigkeit untersucht.....	79
Tab. 10 Verteilung der pT-Stadien im signifikanten Verhältnis nach Apo10-Scores mit den Grenzwerten 130 und 173.....	79
Tab. 11 Zusammenhang von pN, Gleason, PSA, Prostatavolumen, Prostatagewicht und Apo10 .....	81
Tab. 12 Verteilung der pN-Stadien im signifikanten Verhältnis sowie des PSA ordinal nach Apo10-Scores mit den Grenzwerten 113 und 173.....	81
Tab. 13 Zusammenhang von Apo10 als abhängiger Variable mit der Monozytenzahl .....	82
Tab. 14 Zusammenhang von Daten des Differenzialblutbildes mit Apo10 .....	82
Tab. 15 Untersuchung der Apo10-Scores nach Altersgruppen .....	84
Tab.16 Zusammenhang des TKTL1-Scores mit dem Gleason-Score .....	85
Tab. 17 Kennzahlen der TKTL1-Scores bei Gleason Stufen 3, 4 und 5 im Subkollektiv mit identischem TNM-Stadium .....	86
Tab. 18 Zusammenhang von Gleason-Score und TKTL1, im Vergleich zu Tab.16 in umgekehrter Abhängigkeit untersucht .....	87
Tab. 19 Zusammenhang von pT, pN, PSA, Prostatavolumen, Prostatagewicht und TKTL1 .....	88
Tab. 20 Verteilung der pN-Stadien im signifikanten Verhältnis sowie der pT-Stadien im signifikanten Verhältnis nach TKTL1-Scores mit den Grenzwerten 116 und 172 bzw. 116.....	88
Tab. 21 Zusammenhang von TKTL1 als abhängiger Variable mit der Monozytenzahl .....	89
Tab. 22 Zusammenhang von Daten des Differenzialblutbildes mit TKTL1.....	90
Tab. 23 Zusammenhang von pT, pN, Gleason, PSA, Prostatavolumen, Prostatagewicht und EDIM Summe .....	93
Tab. 24 Zusammenhang von pT, pN, Gleason, PSA, Prostatavolumen, Prostatagewicht und EDIM Algorithmus .....	95

Tab. 25 Verteilung der pT-, pN-Stadien und Gleason-Scores im signifikanten Verhältnis nach EDIM Algorithmus-Scores mit den Grenzwerten 535 und 770 .....	96
Tab. 26 Verteilung der prognostischen Gruppen im Gesamtkollektiv nach UICC (Stadien I, IIA, IIB, III, IV), EAU ( <i>low-, intermediate-, high-, very-high-risk</i> ) sowie nach unserer Einteilungen in drei und in zwei Gruppen .....	97
Tab. 27 Zusammenhang von prognostischen Gruppen mit Apo10, TKTL1, EDIM Summe, EDIM Algorithmus und PSA .....	98
Tab. 28 Verteilung der prognostischen UICC-Stadien im signifikanten Verhältnis nach EDIM Algorithmus-Scores mit den Grenzwerten 535 und 770 .....	99
Tab. 29 Verteilung der präoperativen pT-Stadien, pN-Stadien, Gleason-Scores und PSA-Mittelwerte im Subkollektiv mit postoperativ erneut bestimmten EDIM-Scores .....	101
Tab. 30 Zusammenfassung der postoperativ erhobenen Blutbild-Parameter mit Beschreibung von Mittelwert und <i>Range</i> .....	102
Tab. 31 Vergleich von präoperativen und postoperativen Apo10-Scores .....	104
Tab. 32 Vergleich von präoperativen und postoperativen TKTL1-Scores .....	107
Tab. 33 Zusammenhang von postoperativen TKTL1- und postoperativen Apo10-Scores.....	108
Tab. 34 Untersuchung der postoperativen Apo10- und TKTL1-Ergebnisse nach zeitlichem Abstand zwischen postoperativer Messung und radikaler Prostatektomie.....	109
Tab. 35 Postoperative Verteilung der PSA-Werte.....	111
Tab. 36 Zusammenhang von postoperativem PSA und postoperativen Apo10-Scores.....	111
Tab. 37 Zusammenhang von postoperativem PSA und postoperativen TKTL1-Scores .....	113
Tab. 38 Vergleich von postoperativ positiven Apo10-, TKTL1- und PSA-Werten .....	113
Tab. 39 Zusammenhang von pT, pN, Gleason, prognostischer Einteilung nach UICC, nach EAU, neue Einteilung in drei Gruppen und in zwei Gruppen und dem postoperativen Apo10-Score .....	114
Tab. 40 Zusammenhang von pT, pN, Gleason, prognostischer Einteilung nach UICC, nach EAU, neue Einteilung in drei Gruppen und in zwei Gruppen und dem postoperativen TKTL1-Score .....	116
Tab. 41 Zusammenhang von pT, pN, Gleason, prognostischer Einteilung nach UICC, nach EAU, neue Einteilung in drei Gruppen und in zwei Gruppen und dem postoperativen PSA....	116
Tab. 42 Vergleich der Verteilung der pT-, pN- und Gleason-Kategorien bei verschiedenen Konstellationen von positiven und negativen Ergebnissen in postoperativem Apo10-Score, TKTL1-Score und PSA.....	117
Tab. 43 Zusammenhang von pT, pN, Gleason, prognostischer Einteilung nach UICC, nach EAU, neue Einteilung in drei Gruppen und in zwei Gruppen und dem in dieser Studie entwickelten PPD-Score für Apo10 und TKTL1 .....	118

## Abkürzungsverzeichnis

A	Apo10	NADPH	Nicotinamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat
Abb	Abbildung	NK-Zellen	Natürliche Killerzellen
abs	absolute/n	NNR	Nebennierenrinde
ATP	Adenosintriphosphat	NSCLC	Non Small Cell Lung Cancer
AWMF	Arbeitsgemeinschaft der wissenschaftlichen medizinischen Fachgesellschaften	Nt	Nukleotid
Bcl	B-cell lymphoma	o.D.	ohne Datumangabe
BPH	benigne Prostatahyperplasie	OSCC	Oral Squamous Cell Carcinoma
CAD	Caspase-aktivierte DNase	OxPhos	oxidative Phosphorylierung
CoA	Coenzym A	p	p-Wert/e
CT	Computertomographie	-P	-Phosphat
CTL	zytotoxische T-Lymphozyten	PDH	Pyruvat-Dehydrogenase
-DH	-Dehydrogenase	PET	Positronenemissions-Tomographie
Dm	Diabetes mellitus Typ II	PLCO	The Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian Cancer Screening Trial
DNA	Desoxyribonukleinsäure	pN	pathologisch bestimmtes N-Stadium
DNase	Desoxyribonuklease	PPD	PräPostDelta
DNAS1L	DNase I-like-Protein	PPP	Pentosephosphatweg
DRU	Digital-rektale Untersuchung	pT	pathologisch bestimmtes T-Stadium
EAU	European Association on Prostate Cancer	PSA	Prostata-spezifisches Antigen
EDIM	Epitope Detection in Monocytes	rel	relative/n
EDTA	Ethylendiamintetraacetat	RKI	Robert Koch Institut
ERSPC	The European Randomised Study of Screening for Prostate Cancer	ROS	reactive oxygen species
FDG	Fluordesoxyglucose	T	TKTL1
GAP	Glycerinaldehyd-3-Phosphat	Tab	Tabelle
GEKID	Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V.	TH	T-Helferzellen
GI	Gleason-Score	Treg	regulatorische T-Lymphozyten
GLUT	Glucose-Transporter	TKT	Transketolase
HDR	High-Dose-Rate	TKTL	Transketolase-like-Protein
ICD	International Classification of Diseases	TKR	transketolase-related gene
IGeL	Individuelle Gesundheitsleistung	TNF	Tumornekrosefaktor
im	intermediate	TNM	Tumour, Nodes, Metastases
LDH	Laktatdehydrogenase	TPP	Thiaminpyrophosphat
LDR	Low-Dose-Rate	TRUS	transrektaler Ultraschall
M	Stadieneinteilung bezüglich Fernmetastasen	UICC	Union internationale contre le cancer
MRT	Magnetresonanztomographie	UKT	Universitätsklinikum Tübingen
N	Stadieneinteilung bezüglich regionären Lymphknotenmetastasen	WHO	World Health Organisation

# 1 Einleitung

Dr. rer. nat. Johannes F. Coy entdeckte 1995, im Rahmen seiner elfjährigen Tätigkeit am Deutschen Krebsforschungszentrum in Heidelberg, das TKTL1-Gen (Coy, o.D.). Wenige Jahre und einige Forschungsarbeiten später erregte diese Entdeckung so weitreichende Hoffnungen, dass auch große nicht-wissenschaftliche Medien darüber berichteten. Dort erklärt Coy im Interview in für Laien verständlichen Worten:

„Dieses Gen wird in Krebszellen aktiviert, ist quasi der Motor für krankhafte Veränderungen“ (Bild.de, 2009). Umgebendes gesundes Gewebe wird zerstört und das Immunsystem des Körpers lahmgelegt. Dadurch können sich die Krebszellen lokal ausbreiten, Metastasen bilden und resistent gegenüber Chemo- und Strahlentherapien werden. Außerdem schalten sie dadurch auf einen veränderten Stoffwechsel um und nutzen fortan zu einem viel höheren Anteil (20- bis 30-fach) Kohlenhydrate für ihre Energieversorgung. Als therapeutische Konsequenz bieten sich zwei Möglichkeiten: die medikamentöse Blockade des Gens oder aber nutritive Anpassung durch Glucose-arme Ernährung (Bild.de, 2009).

Aus diesem Grund unterstützt Coy die Forschung an TKTL1 durch das zur Verfügung Stellen seiner Patente (wie etwa „Therapeutic and diagnostic uses of TKTL1 and inhibitors and activators thereof“, Veröffentlichungsnummer EP 1701165 A1, google.com/patents, 2006). Er schreibt aber auch Bücher zu Anti-Krebs-Ernährung und ist Teilhaber der TAVARLIN AG (Pfungstadt, Deutschland), die Alternativen zu Glucose-haltigen Nahrungsmitteln vertreibt.

Es scheint für sich zu sprechen, dass die gesetzlichen Krankenkassen den Nutzen der Testung auf TKTL1 sowie den anderen von Tavarlin vertriebenen Marker Apo10 bereits als soweit gesichert ansehen, dass sie die Kosten dafür bei „neu diagnostizierten“ Krebserkrankungen und in der Nachsorge übernehmen (Tavarlin, 2011a, S.7).

Welche klinische Bedeutung haben nun der Marker TKTL1 sowie der andere von Tavarlin beworbene Marker Apo10? Warum könnten sie beim

Prostatakarzinom besonders interessant sein? Und welche Rolle spielt dabei die EDIM-Technologie?

In dieser Inaugural-Dissertation sollen die Ergebnisse unserer prospektiven Untersuchung zur klinischen Bedeutung von Apo10 und TKTL1 im Blut bei Patienten mit organbezogenem Prostatakarzinom mittels der EDIM-Technologie unter Einbeziehung von Messungen nach erfolgter Prostatektomie dargestellt werden.

Im ersten Kapitel werden die Hauptthemen – Prostatakarzinom, Apo10, TKTL1 und die EDIM-Methode – unter Bezugnahme auf wissenschaftliche Literatur eingeführt, bevor die Fragestellung dieser Arbeit präzise dargelegt wird. Im zweiten Kapitel wird das methodische Vorgehen bei der Datenerhebung detailliert erläutert. In Kapitel drei werden die Ergebnisse ausführlich vorgestellt und anhand von Abbildungen veranschaulicht, bevor sie in Kapitel vier im Zusammenhang mit dem aktuellen Kenntnisstand der wissenschaftlichen Forschung diskutiert werden. Das fünfte Kapitel fasst sämtliche Punkte der vorliegenden Arbeit zusammen, ehe im letzten Kapitel die zitierte und paraphrasierte Literatur aufgelistet wird.

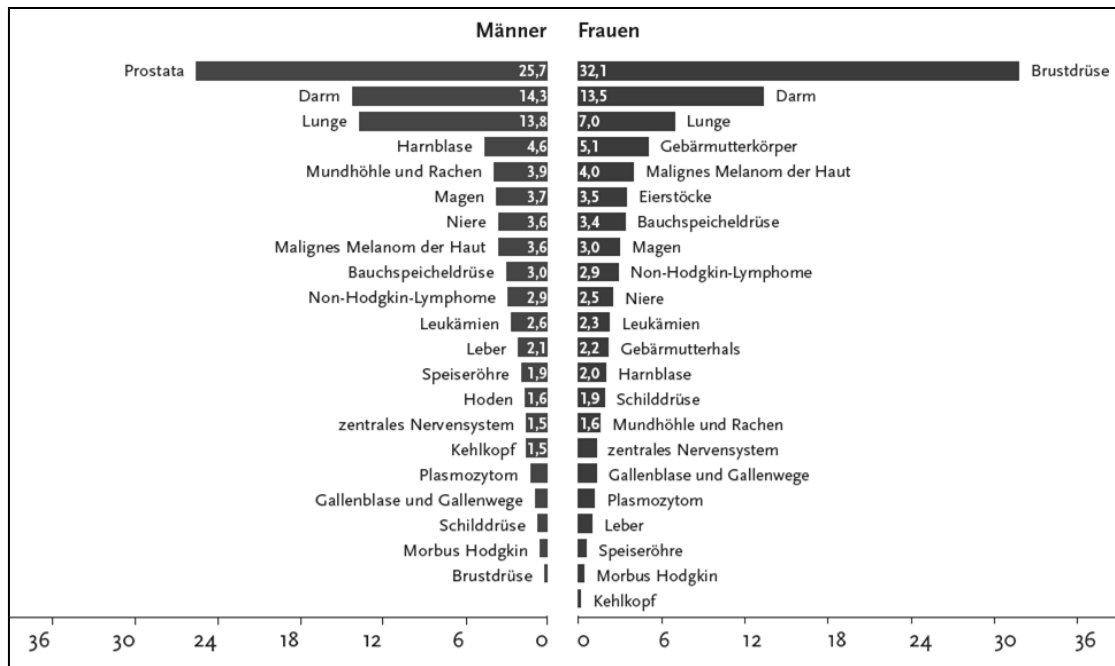
## **1.1 Prostatakarzinom**

Dieses Unterkapitel soll die Thematik des Prostatakarzinoms beschreiben. Es wird die Epidemiologie und somit die gesellschaftliche Relevanz dieser Erkrankung besprochen, außerdem der *Status quo* von Früherkennung, Diagnostik, Therapie und Nachsorge erfasst. Besonderes Augenmerk liegt hierbei auf aktuellen klinischen Daten sowie daraus hervorgegangenen Diskussionen und den Leitlinien. Dieser Abschnitt kann das Krankheitsbild Prostatakarzinom dabei nicht allumfassend abhandeln. Er stellt eine Grundlage für die Formulierung der Fragestellungen dieser Dissertation dar.

### **1.1.1 Epidemiologie**

In Deutschland sterben jährlich über 215.000 Menschen an Krebserkrankungen (GEKID, 2013a), die Inzidenz liegt bei weit über 450.000 Neuerkrankungen pro Jahr (GEKID, 2013b). Männer sind dabei häufiger betroffen als Frauen. Jeder zweite Mann muss damit rechnen im Laufe seines Lebens an Krebs zu

erkranken (RKI, 2012, S.20). Die absolute Krebssterblichkeit für Männer steigt seit 2001 stetig. Im Jahr 2012 verstarben in Deutschland 119.717 Männer an Krebserkrankungen (ICD-10 C00-C97 ohne C44, inkl. D09.0 und D41.4) (GEKID, 2013a). Die häufigste Krebsentität des Mannes (25,7% im Jahr 2008) ist das Prostatakarzinom (Abb.1) mit deutlich über 60.000 Neuerkrankungen pro Jahr (GEKID, 2013c).



**Abb. 1 Prozentuale Verteilung aller Krebsneuerkrankungen (ohne nicht-melanotischen Hautkrebs) auf die häufigsten Tumorlokalisationen im Jahr 2008 in Deutschland (übernommen von RKI, 2012, S.13)**

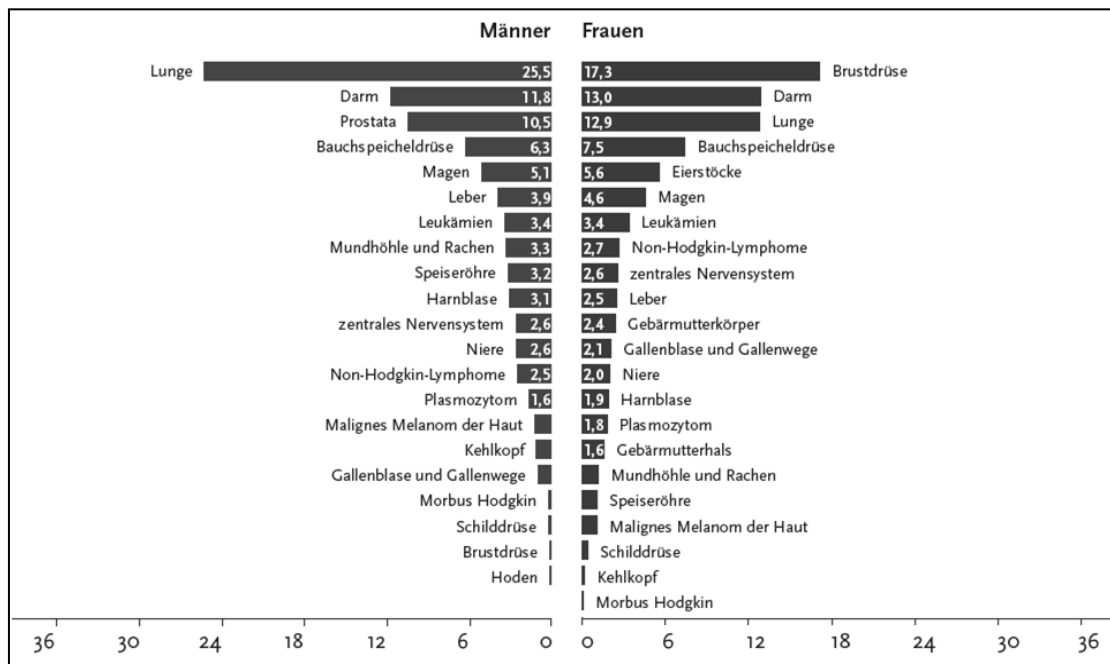
Bei den Krebssterbefällen liegt das Prostatakarzinom in Deutschland an dritter Stelle (10,5% im Jahr 2008) (Abb.2). Damit liegt es auch an siebter Stelle aller Todesursachen bei Männern (AWMF Leitlinienprogramm Onkologie, Deutsche Krebsgesellschaft e.V. & Deutsche Krebshilfe e.V., 2011a, S.9).

Seit 2008 steigt die absolute Mortalität des Prostatakarzinoms stetig und lag im Jahr 2011 bei 13.324 (GEKID, 2013d). Ab dem 80. Lebensjahr ist das Prostatakarzinom für 8% aller Sterbefälle bei Männern verantwortlich (BARMER GEK, 2012, S.9).

In anderen westlichen Industrienationen finden sich ähnliche Daten. Deshalb ist das Prostatakarzinom, obwohl es in Ost- und Südostasien sehr selten ist, weltweit die zweithäufigste Krebsentität bei Männern. Im Jahr 2012 wurden 1,112 Millionen Neuerkrankungen veranschlagt. Mit 6,6% steht es weltweit an



5. Stelle der Krebssterbefälle bei Männern (geschätzt 307.000 Prostatakrebssterbefälle 2012) (IARC, 2014).



**Abb. 2** Prozentuale Verteilung aller Krebssterbefälle auf die häufigsten Tumorlokalisationen im Jahr 2008 in Deutschland (Amtliche Todesursachenstatistik, Statistisches Bundesamt, Wiesbaden nach RKI, 2012, S.14)

Bei Patienten unter 40 Jahren kommt das Prostatakarzinom quasi nicht vor (BARMER GEK, 2012, S.9). Dagegen trat es in Obduktionsstudien bei 80% der über 80-Jährigen (arznei-telegramm, 2014), bzw. sogar bei 80% der über 70-Jährigen auf (Börgermann, Loertzer, Luboldt & Fornara, 2009, S.518).

Dementsprechend ist nach den Leitlinien der Arbeitsgemeinschaft der wissenschaftlichen medizinischen Fachgesellschaften (AWMF) das Alter der wichtigste Risikofaktor (AWMF et al., 2011a, S.9). Einen weiteren entscheidenden Einfluss haben wohl hereditäre Faktoren, und dabei sowohl eine positive Familienanamnese – Männer mit erkrankten Brüdern oder Vätern haben nach Leitlinien ein über zweifach erhöhtes Risiko (AWMF et al. 2011a, S.9), als auch die ethnische Zugehörigkeit – bei Männern schwarzafrikanischen Ursprungs tritt das Prostatakarzinom häufiger auf als bei Europäern oder weißen Nordamerikanern, bei Asiaten dagegen sehr selten (RKI, 2013, S.88).

Zur Prävention wird in den AWMF-Leitlinien nur allgemein eine gesunde Lebensweise empfohlen: gesundes Gewicht, körperliche Aktivität, gesunde

Ernährung mit Schwerpunkt auf pflanzlicher Kost und Reduktion des Alkoholkonsums (AWMF et al., 2011a, S.10).

Die BARMER GEK (2012, S.10) summiert für das Jahr 2012 zur Therapie des Prostatakarzinoms folgende Zahlen: 30.000 radikale Prostatektomien, 10.000 partielle Prostatektomien, 3.000 Brachytherapien, 2.000 Chemotherapien und 1.000 perkutane Bestrahlungen. So seien den gesetzlichen Krankenversicherungen für das Jahr 2012 Kosten von 365 Millionen Euro allein durch die stationäre Versorgung dieser Patienten entstanden. Eckersberger et al. (2009) erwähnt Schätzungen wonach bei jedem sechsten Mann im Laufe seines Leben ein Prostatakarzinom diagnostiziert wird.

In Anbetracht dieser epidemiologischen Daten ist es durchaus berechtigt zu diskutieren, ob nicht nur Krebs allgemein, sondern auch das Prostatakarzinom im Speziellen eine Volkskrankheit in westlichen Industrieländern ist.

### **1.1.2 Früherkennung**

Das Prostatakarzinom wird manchmal als „Haustierkrebs“ bezeichnet. Es wird wegen seines meist langsamen natürlichen Verlaufs (AWMF et al., 2011a, S.11) als vergleichsweise harmlose Krebsentität dargestellt. Dass die Rate der Neuerkrankungen mehr als das Vierfache der absoluten Mortalität beträgt, deutet darauf hin, dass das Prostatakarzinom vermutlich für viele Menschen nicht lebenslimitierend ist. Mitentscheidend für die Prognose ist aber wohl das Stadium, in dem sich die Erkrankung befindet. Keil (2012, S.634) beschreibt die 5-Jahres-Überlebensrate bei entsprechender Behandlung in den Stadien T1 und T2 mit 80-90%, während sie bei T3 nur noch 50% beträgt und im Stadium T4 sogar unter 30% fällt. Die AWMF-Leitlinien (2011a, S.11) behaupten sogar: „Eine kurative Behandlung des Prostatakarzinoms ist nur im organbegrenzten Stadium möglich.“ Dass Symptome des Prostatakarzinoms allerdings selten vor dem lokal fortgeschrittenen Stadium auftreten (Hakenberg, 2010, S.322), ist für Betroffene in diesem Zusammenhang problematisch. Ein populationsbasiertes Screening zur Detektion des Prostatakarzinoms wäre demnach eine sinnvolle Konsequenz.

Tatsächlich wird das Thema Früherkennung des Prostatakarzinoms aber sehr kontrovers gesehen. International ist der Konsens, dass Screening allgemein

nur dann effektiv ist, wenn es zu einer Verminderung der Sterblichkeit führt und dabei eine akzeptable Lebensqualität sowie Kosteneffektivität gewährleistet ist (Börgermann et al., 2009, S.512). Ob das Prostatakrebs-Screening in heute üblicher Form diese Bedingungen erfüllt, wird diskutiert. Angeheizt werden die Diskussionen in den vergangenen Jahren durch zwei große Studien: „The Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian Cancer Screening Trial“ (PLCO, Andriole et al., 2009) und „The European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer“ (ERSPC, Schröder et al., 2009). Bevor hier aber auf aktuelle Studien eingegangen wird, soll zunächst der Status quo des Prostatakrebs-Screenings in aller Kürze beschrieben werden. Die meist beschriebenen Untersuchungsverfahren zur Früherkennung sind die digital-rektale Untersuchung (DRU) und die Bestimmung des prostataspezifischen Antigens (PSA) im Serum. Andere Verfahren wie zum Beispiel der transrektale Ultraschall (TRUS) seien keine Methoden der Früherkennung (Börgermann et al., 2009, S.514-515, Hakenberg, 2010, S.325-326).

#### 1.1.2.1 Digital-Rektale-Untersuchung (DRU)

Das Prostatakarzinom ist vorwiegend peripher lokalisiert (Hakenberg, 2010, S.322), deshalb ist es für die Tastbefundung vom Rektum aus zugänglich. Veränderungen ab einem Volumen von 0,2 ml können getastet werden (Hakenberg, 2010, S.323). Dabei ist klar, dass die Untersuchung nicht objektiv ist, sondern stark vom Gespür und der Erfahrung des Untersuchers abhängt (Hakenberg, 2010, S.323). Die Sensitivität der DRU wird mit deutlich unter 40% angegeben (Hakenberg, 2010 S.323). Stenzl (2013, S.16) schreibt, dass durch die DRU alleine lediglich 0,1 – 4 % der Prostatakarzinome bei tumorpositiver Prostata detektiert würden. Und über 50% der so detektierten Prostatakarzinome seien lokal fortgeschritten (Hakenberg, 2010, S.323). Für die Diagnose eines Prostatakarzinoms im Frühstadium T1 ist sie somit nicht geeignet (Fornara, Semjonow & Wagner, 2009, S.523). Ein karzinomverdächtiges Ergebnis in der DRU führt als weitere diagnostische Maßnahme zu einer Stanzbiopsie mit 10-12 Zylindern (AWMF et al., 2011a, S.14). Die Spezifität der DRU wird mit 84 bis 96% angegeben (Fornara et al., 2009, S.523).

Die DRU mag von einigen Männern als peinlich und unangenehm empfunden werden (Weiß, 2011), aber sie ist ohne technischen Aufwand überall verfügbar, schnell und kostengünstig. Als alleinige Früherkennungsmaßnahme sei sie nicht in der Lage die spezifische Mortalität zu senken (Deutsche Krebshilfe, 2013 S.15). Trotzdem taucht sie in jedem Screening auf.

Nach AWMF-Leitlinien ist die DRU bei vom Patienten (ab 40 Jahren) gewünschter Früherkennungsuntersuchung zu empfehlen (AWMF et al., 2011a, S.11).

#### 1.1.2.2 Prostata-spezifisches Antigen (PSA)

„In no other malignancy has a tumor marker so profoundly affected diagnosis, staging and management“ (American Cancer Society Guidelines 53: pp 27-43 nach Fornara et al. 2009. S.521). Das PSA führe zu einer zeitlichen Vorverlegung der Entdeckung eines Prostatakarzinoms gegenüber alleiniger DRU um vier bis fünfeinhalb Jahre, was als „lead time“ bezeichnet wird (Hakenberg, 2010, S.323). Es ist kein tumorspezifischer, sondern ein organspezifischer Wert. Fornara et al. (2009, S.524) fassen verschiedene Studien zusammen, wonach geringe Mengen PSA auch in Endometrium, Mammatumoren, Brustgewebe, Frauenmilch, Nebennierentumoren, Nierenzellkarzinom, in paraurethralen und paraanalen Drüsen vorkommen, jedoch in anderen Größenordnungen. Somit bestätigen sie, dass PSA in praxi ein organspezifischer Parameter ist.

Meist wird das totale PSA im Serum bestimmt. Andere PSA-Tests haben sich in der Screening-Routine noch nicht durchgesetzt. Pathologische PSA-Werte bedeuten eine übermäßige Sezernierung von PSA ins Blut. Das kann neben einem Prostatakarzinom auch eine Reihe anderer Ursachen haben (Fornara et al., 2009, S.524; Börgermann et al., 2009, S.517): andere prostatistische Erkrankungen wie akute oder chronische Prostatitis, benigne Prostatahyperplasie (BPH), Harnverhalt, Medikamente wie Finasteride, LHRH-Analoga, Antiandrogene, urologische Manipulation wie Prostatabiopsie, DRU, transurethrale Katheter, andersartige Manipulation wie Radfahren, sexuelle Aktivität oder psychovegetative Faktoren. Was jedoch ist ein pathologischer PSA-Wert?

Schon hierbei gibt es unterschiedliche Angaben: Oesterling (nach Keil, 2012, S.633) definiert PSA-Grenzwerte altersabhängig: <50 Jahren sollen Werte <2,5ng/ml sein, während der Grenzwert bei 80-Jährigen bei 6,5ng/ml liegt. In der aktuell größten Prostatakrebs-Screening-Studie, der ERSPC, variierten die *cut-offs* an den verschiedenen Zentren zwischen 3 und 4ng/ml (Eckersberger et al., 2009). Nach Leitlinien ist bei einem kontrollierten PSA-Wert von 4ng/ml und größer bei erstmaliger Früherkennungskonsultation unter Berücksichtigung von Einflussfaktoren eine Biopsie zur weiteren Abklärung indiziert (AWMF Leitlinienprogramm Onkologie, Deutsche Krebsgesellschaft e.V. & Deutsche Krebshilfe e.V., 2011b, S.31). Außerdem ist die Indikation der Biopsie zu stellen, wenn ein „auffälliger PSA-Anstieg“ (AWMF, 2011b, S.31) vorliegt. Dabei stellt sich die Frage, was ein auffälliger PSA-Anstieg ist. Hakenberg (2010, S.325) gibt folgende Grenzwerte für diese sogenannte PSA-Velocity an: +0,04ng/ml/Jahr ohne BPH, mit BPH +0,07 bis +0,27ng/ml/Jahr. Ab einer PSA-Velocity von 0,75ng/ml/Jahr besteht eine hohe Prostatakarzinom-Wahrscheinlichkeit, wenn das totale PSA bei 4 bis 10ng/ml liegt. Dabei sollten mindestens drei Werte über 18 Monate gemessen werden. Auch Fornara et al. (2009, S.528) schreibt von 0,75ng/ml/Jahr als Schwellenwert, jedoch bei idealerweise drei Messungen innerhalb von bis zu zwei Jahren. Die Deutsche Krebshilfe (2013, S.15) rät Patienten schon ab >0,5ng/ml pro Jahr zur Biopsie. Schon hierbei wird deutlich, dass in der Fachwelt um den PSA-Wert keine absolute Einigkeit besteht. Grundsätzlich wird in den Leitlinien die PSA-Wert-Bestimmung trotzdem als zweite Maßnahme (neben der DRU) bei vom Patienten (ab 40 Jahren) gewünschter Früherkennungsuntersuchung empfohlen (AWMF et al., 2011a, S.11).

#### 1.1.2.3 Kontroverse um die Früherkennung

„Das prostataspezifische Antigen (PSA) ist einer der besten, möglicherweise der beste Tumormarker überhaupt, über den wir derzeit verfügen.“ (Fornara et al., 2009, S.523). Demzufolge resümieren Fornara et al. weiter (2009, S.536): „Zur Früherkennung des Prostatakarzinoms ist die Bestimmung des PSA-Wertes das derzeit beste Untersuchungsverfahren.“

Viele Experten sind seit mehreren Jahrzehnten begeistert von dem Blutmarker PSA und der Prostatakarzinom-Früherkennung bestehend aus DRU und PSA. Aber erfüllt diese auch Bürgermanns Vorgaben für effektives Screening: Verminderung der Sterblichkeit bei akzeptabler Lebensqualität und Kosteneffektivität (siehe 1.1.2)?

Die gesetzlichen Krankenkassen bezahlen ab dem 45. Lebensjahr einmal pro Jahr eine Tastuntersuchung, inklusive der Prostata (DAK, 2014). Der PSA-Test zur Früherkennung ist IGeL-Leistung (IGeL-Monitor, 2013). Beide Untersuchungen benötigen keinen großen technischen Aufwand und sind schnell durchführbar. Deshalb sind die unmittelbaren Kosten eines solchen Screenings überschaubar.

Aber wie ist es um die Lebensqualität bestellt? Einerseits argumentiert die Deutsche Krebshilfe (2013), dass bei Früherkennung die Wahrscheinlichkeit einer nerverhaltenden Operation höher ist und Früherkennung somit einen Gewinn an Lebensqualität bedeuten kann. Andererseits gehen auch mit jeder nicht notwendigen Stanzbiopsie zur Abklärung eines hohen PSA-Werts oder einer suspekten DRU Komplikationen und Risiken einher. Nach Collins (Börgermann, 2009, S.515) bekommen 58% der Patienten nach Stanzbiopsie eine Hämaturie, 28% eine Hämatospermie und 4% uroseptische Zustände. Außerdem ist die psychische Komponente nicht zu unterschätzen: Sicherlich leben viele Menschen wegen einem erhöhten PSA-Wert in Angst. Immerhin bei 25% der Patienten mit PSA 4 bis 10ng/ml liegt aber tatsächlich ein (allerdings nicht zwangsläufig „behandlungsbedürftiges“) Prostatakarzinom vor (Stenzl, 2013).

Zur auf positives Screening oft folgenden Therapie bzw. der akut-stationären Versorgung des Prostatakarzinoms veröffentlichte die BARMER GEK in ihrem „Report Krankenhaus 2012“ Daten aus einer Befragung von 825 Patienten (2012, S.99, 107, 112): 20,2% der Patienten berichteten von Komplikationen unmittelbar nach ihrer Behandlung. 4,6% hatten starke Blutungen und benötigten Bluttransfusionen, 2,6% erlitten Verletzungen des Darms, 2,1% tiefe Beinvenenthrombosen. Postoperativ berichteten 80,3% der Patienten, dass sie keine Erektion innerhalb der letzten sieben Tage hatten. 62,9% berichteten von

Unzufriedenheit mit der Sexualität. 15,6% gaben unfreiwilligen Urinabgang an, wobei 3,8% sogar mehr als 5 Vorlagen pro Tag benötigen. Inkontinenz und Impotenz können auch ohne Prostatakarzinom Probleme des Mannes im fortgeschrittenen Alter sein, jedoch war das Durchschnittsalter bei dieser Befragung 67,6 Jahre mit einer *Range* von 47 bis 76. Diese Risiken, die möglichen Komplikationen und daraus resultierenden Einschränkungen der Lebensqualität, die mit einer auf positives Screening oft folgenden Therapie des Prostatakarzinoms einhergehen, sind vermutlich für den Einzelnen und die Gesellschaft als Ganzes trotzdem akzeptabel, wenn damit ein entsprechender prognostischer Nutzen einhergeht.

Kritische Stimmen behaupten jedoch: „Kein PSA-Wert repräsentiert die Größe oder die Gefährlichkeit von Prostatakrebs.“ (prostatakrebsonline.de, o.D.; vgl. auch Bliemeister, 2011). Carter, Epstein und Partin (1999) untersuchen die Abhängigkeit der Wahrscheinlichkeit eines kurablen Prostatakarzinoms vom PSA-Level und kommen zu einem gemischten Ergebnis: Bei einer *Range* von 2,5 bis 6,0ng/ml bestehen nur minimale Unterschiede, bei einer großen *Range* von 0,4 bis 52ng/ml existiert allerdings ein enger Zusammenhang.

Einen solchen Zusammenhang zwischen PSA und der Größe eines Prostatakarzinoms stellen beispielsweise auch die Partin Tables (Partin et al., 2001) her, welche anhand der Parameter klinisches T-Stadium, Gleason-Score und eben dem PSA-Wert die Wahrscheinlichkeit für das pathologische Stadium angeben. Ähnlich auch das Kattan-Nomogramm (Kattan et al., 2008), das unter anderem mit dem präoperativen PSA-Wert als Prognoseparameter die Überlebensrate nach Therapie errechnet. Bei Hakenberg (2010, S.330) wird direkt von einer Korrelation von PSA und T-Stadium gesprochen. So seien zum Beispiel 80% der Prostatakarzinome bei PSA <4 noch organbeschränkt, während es bei PSA 4-10 nur noch 60 bis 70% seien und bei PSA >20 seien 20% schon N-positiv.

Speziell durch die Einbeziehung von PSA-Tests zur Früherkennung werden Prostatakarzinome deutlich früher entdeckt, was der erwähnten „lead time“ entspricht. Bei Börgermann (2009, S.516-517) wird dies bestätigt: Vor Einführung des PSA-Tests seien zwei Drittel der Prostatakarzinome in

organüberschreitendem Stadium ohne kurative Therapieoption diagnostiziert worden. Aktuell haben sich die Verhältnisse verkehrt und zwei Drittel werden organbeschränkt detektiert. Das liegt aber nicht nur daran, dass „behandlungsbedürftiger“ Prostatakrebs heute früher detektiert wird, sondern ebenso daran, dass durch das sensitive Screening auch insignifikante Malignome entdeckt werden, die für den Patienten zeitlebens nicht „behandlungsbedürftig“ würden. Die Inzidenz bei Screening ist signifikant höher als bei Kontrollgruppen (Andriole et al., 2012; Andriole et al., 2009; Schröder et al., 2009; Hoffmann, 2011; AWMF et al. 2011b, S.29). Als Folge davon steigt die Zahl der Patienten, die einer definitiven Therapie zugeführt werden (Schröder, 2009). Somit steigt durch Screening die Zahl der Menschen, die durch Therapiekomplicationen einen Verlust an Lebensqualität hinnehmen müssen. Die entscheidende Frage ist dabei, ob durch die Früherkennung eine entsprechende Reduktion der spezifischen, Prostatakrebs-bedingten Mortalität erzielt wird, die diesen Verlust an Lebensqualität rechtfertigt.

Aktuelle Studien sprechen nicht dafür. 2009 veröffentlichte eine Gruppe um Gerald L. Andriole Ergebnisse des PLCO, die genau diese Fragestellung untersuchte. Diese Studie fand an zehn US Study Centers statt und zählte 76.693 Patienten. Im 7 Jahres-Follow-up war die Wahrscheinlichkeit in der Screening-Gruppe rund 20% höher, die Diagnose Prostatakarzinom erhalten zu haben, als in der Kontrollgruppe. Nach 7 bis 10 Jahren Follow-up kamen sie zu dem Ergebnis, dass die spezifische Mortalität sehr gering war. Es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen Screening- und Kontrollgruppe.

Ähnliche Ergebnisse liefert die Gruppe um Schröder mit der noch größeren ERSPC (Schröder et al., 2009). An dieser Studie in sieben europäischen Ländern nahmen 182.000 Patienten teil. Nach einem medianen Follow-up lag die Inzidenz in der Screening-Gruppe bei 8,2% im Vergleich zu 4,8% in der Kontrollgruppe. Die spezifische Mortalität war mit einem p-Wert von .04 in der Screening-Gruppe knapp signifikant und um 20% niedriger. Auf einen überlebenden Patienten kamen dabei 1410 Gescreente und 48 Behandelte. Außerdem kamen metastasierte Erkrankungen in der Screening-Gruppe wohl um 31% seltener vor (Schröder, 2012).



Weitere Studien von Andriole et al. (2012) und Sandblom, Varenhorst, Rosell, Löfman und Carlsson (2011) stellen nach 13 bzw. 20 Jahren keinen signifikanten Unterschied zwischen Screening- und Kontrollgruppe (Intervall ein bzw. drei Jahre) in Bezug auf die spezifische Mortalität fest. In einem systematisches Cochrane-Review von Ilic, Neuberger, Djulbegovic und Dahm (2013), das fünf randomisierte, kontrollierte Studien zusammenfasst, deutete lediglich eine der fünf Studien, die ERSPC, auf eine Reduktion der spezifischen Mortalität hin. Insgesamt sah auch das Cochrane-Review keine signifikante Reduktion der spezifischen oder der Gesamtmortalität. Stattdessen stellt es Überdiagnostik und Übertherapie fest. Eine mögliche Reduktion der spezifischen Mortalität käme erst nach zehn Jahren zum Tragen, somit ergäbe Screening, wenn überhaupt, nur dann Sinn, wenn die Lebenserwartung der Patienten mindestens zehn bis fünfzehn Jahre betrage. Die Auswirkungen von vermehrter Therapie (radikale Prostatektomie) in Screening-Gruppen untersuchten Carlsson et al. (2011) mittels einer Umfrage an 294 Männern (205 Screening, 89 Kontrolle). Dabei kamen sie zu dem Ergebnis, dass pro gerettetem Leben vier Männer zusätzlich impotent und weniger als einer zusätzlich inkontinent wurden. Sie stuften diesen zusätzlichen Schaden durch populationsbasiertes Screening und konsekutive Übertherapie als relativ gering ein.

Die Vergleichbarkeit von Studien wird von den oft unterschiedlichen Bedingungen für Screening erschwert, zum Beispiel bei den beiden großen Studien: Beim PLCO sollte in der Screening-Gruppe jährlich gescreent werden, bei der ERSPC war das Intervall in dieser Gruppe zu 87% bei vier Jahren. Die Kontrollgruppe beim PLCO erhielt außerhalb der Studie Screeninguntersuchungen, was zu einer Kontamination führte. Umfragen zufolge hatten jeweils deutlich über 40% der Kontrollgruppe mindestens eine DRU und mindestens eine PSA-Wert-Bestimmung. Das könnte ein ähnliches Screening-Intervall der Kontroll-Gruppe des PLCO wie in der Screening-Gruppe der ERSPC bedeuten. Unklar bleibt wie viel Screening die Kontrollgruppe der ERSPC erhielt. Außerdem wurde zum Teil mit verschiedenen *PSA-cut-offs*

gearbeitet: Bei der ERSPC variierten sie zum Beispiel zwischen 3 und 4ng/ml, während der Grenzwert beim PLCO bei 4ng/ml war (Eckersberger, 2009).

Carter et al. (2013) fassen dennoch in einem systematischen Review über 300 Studien zusammen mit dem Ergebnis, dass die Schäden eines Screenings die Vorteile überwiegen. Lediglich bei der Altersgruppe der 55 bis 69-Jährigen stellen sie überhaupt moderate Vorteile fest. Dabei beziehen sie sich aber auf den PSA-Test. Alle übrigen untersuchten Tests haben ihrer Analyse zufolge nicht genügend Evidenz, um das *Outcome* zu beurteilen.

Noch deutlicher in seiner Einschätzung ist Dubben (2014, 2009a, 2009b). Er sieht bei allen bisherigen Studien, inklusive PLCO und ERSPC, zu wenig „statistisches Gewicht“ sowie methodische Unzulänglichkeiten. Die Screening-Studie, die eine Aussage über die spezifische Mortalität beim Prostatakarzinom machen kann, müsste über 200.000 Patienten einschließen. Um Non-Compliance und kleine Ungenauigkeiten zu kompensieren, müssten sogar mehrere Millionen teilnehmen. Da dies nicht umzusetzen sei, könne in Studien nicht untersucht werden, ob Screening beim Prostatakarzinom vorteilhaft ist. In einer Metaanalyse mit insgesamt 321.594 Patienten stellt er keine Senkung der Prostatakarzinom-bedingten oder der Gesamtmortalität fest. Allerdings sieht er die Nachteile belegt: unnötige Biopsien, Überdiagnostik und Übertherapie. Er sieht den Schaden von Prostatakarzinom-Screening belegt und einen möglichen Nutzen hält er für nicht belegbar. Im Gegenteil sieht er sogar eine Gefahr darin, dass Studien eine Reduktion der spezifischen Mortalität suggerieren und eine gleichzeitige Erhöhung der Gesamtmortalität nicht anzeigen. Insgesamt verfehle Screening beim Prostatakarzinom die WHO-Kriterien, da unter anderem die Nutzen-Schaden-Bilanz nicht klar im positiven Bereich ist. Somit seien valide Gründe gegeben von populationsbasierter Früherkennung abzuraten.

Die U.S. Preventive Task Force ist in Bezug auf PSA gleicher Meinung und spricht eine Empfehlung gegen Screening bei asymptomatischen Männern aus, unabhängig von Alter, Ethnie und Familienanamnese (nach Hoffmann, 2011). Carter et al. (2013) sprechen sich immerhin für ein Shared-Decision-Making zwischen Arzt und Patient bei 55- bis 69-Jährigen aus und empfehlen ein

Screening-Intervall von zwei oder drei Jahren. So sehen es auch American Urological Association und American Cancer Society und empfehlen Shared-Decision-Making und dabei periodische PSA-Tests, sofern die Lebenserwartung des Patienten über 10 Jahren liegt (nach Hoffmann, 2011).

Wenn man sich die altersstandardisierte Gesamtmortalität anschaut (GEKID, 2013e), sank diese in Deutschland seit 1995 fast stetig und nahm dabei von 29,7 auf 19,1 je 100.000 Einwohner ab. Prostatakarzinome werden heute zu 98% vor dem T4-Stadium erstdiagnostiziert (RKI, 2013). Somit ist davon auszugehen, dass die aktuelle Screening-Routine nicht vollkommen unnütz ist.

Die AWMF-Leitlinien (2011b, S.29) besagen (auf Grundlage des Evidenzlevels Expertenkonsens), dass Männer im Alter über 40 Jahren und einer Lebenserwartung von mindestens 10 Jahren über die Möglichkeiten der Früherkennung informiert werden sollen. Denjenigen, welche nach Aufklärung über die Vor- und Nachteile eine Früherkennungsuntersuchung wünschen, sollen PSA-Wert-Bestimmung und DRU empfohlen werden.

Vor dem Hintergrund der großen aktuellen Diskussion um Überdiagnostik (Schröder, 2014; Schröder et al., 2009; Andriole et al., 2012; Andriole et al., 2009; Hoffmann, 2011) wäre optimales Screening solches, welches ebendieses sowie konsekutive Übertherapie vermeidet, indem es nur aggressive, „behandlungsbedürftige“ Prostatakarzinome detektiert. Diese sollten dabei möglichst früh, im symptomlosen und organbegrenzten Stadium entdeckt werden, sodass eine kurative und Lebensqualität erhaltende Therapie möglich ist. Darüber hinaus sollte es nur bei Patienten ansetzen, die eine Lebenserwartung von über zehn Jahren haben, sodass sie von einer Therapie noch profitieren könnten. Zudem sollte es kosteneffizient sein. Aktuelles Prostatakarzinom-Screening ist in Bezug auf diese Vorgaben unzureichend.

### **1.1.3 Diagnostik**

Der Begriff Diagnostik umfasst nach Pschyrembel (Walter de Gruyter, 2011) die „zur Stellung od. Sicherung einer Diagnose erforderlichen med. Verfahren“. Da sich Therapieoptionen wie Active Surveillance und Watchful Waiting in der Behandlung des Prostatakarzinoms mittlerweile etabliert haben, muss das Ziel der Diagnostik jedoch auch sein die Diagnose so präzise zu stellen, dass sie

prognostische Informationen liefern kann, um damit die beste Therapieoption zu wählen.

Grundbestandteile der Diagnostik sind Anamnese, klinische Untersuchung, Laboruntersuchung, Histologie und Bildgebung (Fornara et al., 2009, S.521). Ob nach auffälligem Screening oder bei der Vorstellung eines symptomatischen Patienten: Die Stanzbiopsie ist der Goldstandard zur Diagnostik des Prostatakarzinoms (Börgermann et al., 2009, S.516).

Die Reihenfolge beim Vorgehen sieht aber folgendermaßen aus: Zuerst wird in jedem Fall eine Anamnese durchgeführt. Bei Prostatakarzinom-Verdacht ist eine klinische Untersuchung inklusive DRU durchzuführen. Zumeist wird der PSA-Wert mitbestimmt. Indikation zur Biopsie besteht erst dann, wenn mindestens einer der folgenden drei Gründe zutrifft: Die DRU ergab ein karzinomverdächtiges Ergebnis, es wurde ein kontrollierter PSA von mindestens 4,0ng/ml bei erstmaliger Konsultation unter Berücksichtigung von Einflussfaktoren gemessen oder ein auffälliger PSA-Anstieg liegt vor. In einem solchen Fall soll eine Stanzbiopsie mit 10 bis 12 Zylindern entnommen werden (AWMF et al., 2011b, S.40). Eine diagnostische Stanzbiopsie ergibt wie die übrigen Untersuchungen auch nur dann Sinn, wenn sie eine therapeutische Konsequenz hat. Bei einer Lebenserwartung von unter 10 Jahren wäre das zumeist nicht der Fall (Hakenberg, 2010, S.326).

Primäres *Staging* besteht dann aus: DRU, PSA, Biopsie und TRUS (Hakenberg, 2010, S.328). Der TRUS ist dabei etwas umstritten: Fornara et al. (2009, S.537) sehen ihn für die Beurteilung des lokalen Tumorstadiums als nur bedingt geeignet. Die AWMF-Leitlinien halten ihre Empfehlung offen. Sie sehen ihn als ergänzende bildgebende Diagnostik (S.15). Große Bedeutung hat er für die Platzierung der Biopsienadel (Fornara et al., 2009, S.537).

Eingeteilt werden Adenokarzinome der Prostata neben dem PSA-Wert nach TNM-Klassifikation und Gleason-Score. Dabei steht das TNM-Stadium für das Ausmaß und die Verteilung der Tumorlast im Körper (Tab.1).

Die UICC (nach AWMF et al., 2011a, S.17) nennt Tumoren bis zum Stadium T2 N0 M0 „lokal begrenzt“, höhere T-Stadien (T3-4 N0 M0) heißen „lokal

fortgeschritten“, N-Positive Tumoren (Tx N1-3 M0) werden „fortgeschritten“ genannt und M-positive Tumoren (Tx Nx M1) „metastasiert“.

**Tab. 1 TNM-Klassifikation der UICC für das Adenokarzinom der Prostata (2009) (nach Hakenberg, 2010, S.321)**

T – Ausdehnung des Primärtumors	
T1	Tumor weder tastbar noch in bildgebenden Verfahren sichtbar
T1a	Zufälliger Befund, bis 5% des resezierten Gewebes
T1b	Zufälliger Befund, mehr als 5% des resezierten Gewebes
T1c	Diagnose durch Nadelbiopsie (nicht palpierbar, Diagnose durch PSA-Erhöhung)
T2	Tumor auf Prostata begrenzt
T2a	Tumor in <50% eines Seitenlappens
T2b	Tumor in ≥50% eines Seitenlappens
T2c	Tumor in beiden Seitenlappen
T3	Extrakapsuläre Ausbreitung des Tumors
T3a	Kapselüberschreitung ohne Befall der Samenblase
T3b	Samenblase(n) und/oder Blasenhalss befallen
T4	Befall anderer Nachbarstrukturen als Samenblasen oder Blasenhalss
N – regionäre Lymphknoten	
N0	Keine regionären Lymphknoten-Metastasen
N1	Regionäre Lymphknoten-Metastasen
M – Fernmetastasen	
M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen
M1a	Lymphknoten-Metastasen in nicht regionären Lymphknoten
M1b	Knochenmetastasen
M1c	Andere Fernmetastasen

Zur exakten Beurteilung der Tumorausdehnung kommen neben DRU, TRUS und Biopsie weitere bildgebende Verfahren in Betracht. Die AWMF-Leitlinien besagen dazu Folgendes (2011a, S.18): Patienten mit *low-risk*-Parametern (cT bis 2a, Gleason bis 6, PSA bis 10) sollten keine Bildgebung zum *Staging* erhalten. Bei Patienten mit Gleason 8 bis 10 oder cT3 und 4 ist eine MRT oder CT der Beckenorgane dagegen indiziert. Nach negativer Biopsie kann eine MRT als ergänzende Bildgebung eingesetzt werden. Verschiedene andere bildgebende Verfahren inklusive PET/CT sollen dagegen nicht zur Primärdiagnostik eingesetzt werden. Neben den erwähnten Untersuchungsmethoden können Nomogramme zur Beurteilung des Stadiums

in Betracht kommen (Partin et al., 2001; Kattan et al., 2008), sie geben dabei allerdings nur Wahrscheinlichkeiten an. Ihre Aussagekraft ist somit im individuellen Fall immer unsicher.

Der Gleason-Score gibt den Grad der Entdifferenzierung der Tumorzellen an (*Grading*). Dabei orientiert er sich an Wachstumsmustern. Er wird nach histologischer Untersuchung durch einen Pathologen angegeben. Folglich unterliegt er einer subjektiven Bewertung. Der primären (häufigsten) und sekundären (zweithäufigsten) Zellpopulation wird getrennt voneinander ein Wert von 1 bis 5 zugeordnet. Je höher die Bewertung, desto entdifferenzierter ist die Population (Tab.2).

**Tab. 2 Grading des Adenokarzinoms der Prostata nach Gleason (Adam, 2013, S.55)**

1	Tubuli, uniform, gleichmäßige Verteilung, deutliche Drüsenränder
2	Tubuli, uniform, lockere Verteilung, undeutliche Drüsenränder
3A	Tubuli, uniform, verstreute Verteilung
3B	Tubuli sehr klein, verstreute Verteilung
3C	Papilläre oder kribriforme Drüsen
4A	Fusionierte Drüsen
4B	Fusionierte Drüsen, blasses Zytoplasma
5A	Solide / trabekulär, Nekrosen
5B	Anaplastisch, solide

Die Summe dieser beiden Werte bildet den Gleason-Score (Keil, 2012, S.632), wobei allerdings beispielsweise ein Gleason-Score  $3 + 4 = 7a$  von einem Gleason-Score  $4 + 3 = 7b$  unterschieden wird. Nach internationalem Konsens soll eine Bewertung mit 1 oder 2 nur noch in Ausnahmefällen vergeben werden (Deutsche Krebshilfe, 2013, S.35).

Eine Bewertung nach Gleason-Score soll dann nicht erstellt werden, wenn ein gewöhnliches Karzinom konservativ vortherapiert ist oder nicht ein Adenokarzinom, sondern zum Beispiel ein Plattenepithelkarzinom vorliegt (AWMF et al., 2011a, S.22). Andere *Grading*-Kategorien wie die der WHO richten sich nicht nach dem Wachstumsmuster, sondern zum Beispiel nach nukleären Atypien und der glandulären Differenzierung (Adam, 2013, S.53).

Nach Untersuchung und Klassifizierung kann jeder Patient einer Risikogruppe zugeordnet werden. Bezüglich dieser „Prognostic Groups“ besteht internationaler Konsens (Tab.3).

**Tab. 3 „Prognostic Groups“ beim Prostatakarzinom nach internationalem Konsens (European Association of Urology, 2012, S.12; American Joint Committee on Cancer, 2009; UICC, nach AWMF et al., 2011a, S.17)**

Risikogruppe	cT- Stadium	cN- Stadium	cM- Stadium	PSA	Gleason
I	≤2a	0	0	<10	≤6
IIA	≤2b	0	0	≥10<20	≤7
IIB	≤2c	0	0	≥20	≥8
III	≤3b	0	0	≥20	≥8
IV	≤4	≤1	≤1c	≥20	≥8

Für die Einstufung in eine höhere Prognosegruppe muss nur jeweils ein Kriterium erfüllt sein. Wenn PSA oder Gleason-Score nicht vorliegen, kann eine Einordnung anhand der anderen vorliegenden Parameter vorgenommen werden. Liegen PSA und Gleason nicht vor, ist eine Einordnung nicht möglich (European Association on Prostate Cancer, 2012, S.12).

Eine andere Einteilung der EAU (für die Behandlung mittels radikaler Prostatektomie) berichtet von geringfügig anderen Kategorien (European Association of Urology, 2012, S.45-47): Es wird unterschieden in *low*-, *intermediate*-, *high*- und *very-high-risk*. Die klinischen T-Stadien 2c und 3a werden dabei jeweils eine Risikogruppe tiefer veranschlagt, die Stadien III und IV sind dann zusammengefasst.

Solche Klassifikationen und Einteilung gibt es, um verschiedene Patienten vergleichbar zu machen. Dies ist notwendig, um Patienten über das Risiko der Progression der Erkrankung oder eines Rezidivs nach Therapie (AWMF et al., 2011a, S.17) zu informieren. Mit diesen Informationen sollen dann Patient und Arzt gemeinsam entscheiden, ob eine abwartende (Active Surveillance) oder eine intervenierende Therapie gewählt wird.

Manche Experten kritisieren allerdings, dass T-Stadium, PSA-Wert und Gleason-Score die Prostatakarzinom-Aggressivität gar nicht (cT und PSA) oder nur unzuverlässig (Gleason) bewerten (Bliemeister, 2011). Schröder (2014) hält den Gleason-Score unter Bezugnahme auf die größte Prostatakarzinom-Studie, die ERSPC, für den entscheidenden Parameter, behauptet allerdings, dass Biopsie die Aggressivität eines Tumors um 25 bis 30% unterschätzt.

Die Wertigkeit dieser Prognoseparameter untersuchten zum Beispiel Reese, Pierorazio, Han und Partin (2012). Sie veröffentlichten im Jahr 2012 Ergebnisse einer retrospektiven Auswertung von 12.821 Patientendaten. Die Patienten wurden nach den Parametern klinisches Stadium, Gleason-Score und PSA in drei Risikogruppen (low, intermediate, high) eingeteilt und das *Outcome* (biochemisches Rezidiv-freie 10-Jahres-Überlebensrate) nach radikaler Prostatektomie untersucht: Jeder der drei Parameter war dabei signifikant mit dem *Outcome* assoziiert. Sie stellten auch signifikante Unterschiede zwischen den Risikogruppen in Bezug auf das *Outcome* fest (low 92,1% vs intermediate 71,0% vs high 38,8%;  $p < .01$ ). Außerdem unterschied sich die Abhängigkeit des *Outcomes* von den einzelnen Parametern innerhalb der intermediate-Risikogruppe signifikant: Patienten, die aufgrund des klinischen T-Stadiums hochgestuft wurden, hatten ein besseres *Outcome* als Patienten, die wegen Gleason oder PSA hochgestuft wurden (88,8% vs 73,6% vs 79,5%;  $p = .01$ ). In der high-Risikogruppe ergab sich ein gleicher, allerdings nicht-signifikanter Trend.

Es lässt sich schlussfolgern, dass Diagnostik, die die Parameter TNM-Stadium, Gleason-Score und PSA-Wert erhebt, eine gute Prognoseeinschätzung der Erkrankung Prostata-Adenokarzinom erlaubt. Innerhalb üblicher Prognosegruppen ist das *Outcome* allerdings erwiesenermaßen heterogen (Reese et al., 2012).

Das klinische T-Stadium scheint für die Prognose weniger wichtig als Gleason-Score und PSA zu sein. Der Gleason-Score könnte der wichtigste Faktor sein. Eine auf diesen Parametern aufbauende prognostische Einschätzung dient aktuell als Grundlage für Therapie-Entscheidungen in der Prostatakarzinom-Behandlung. Sie ermöglichen eine gute orientierende Einschätzung des *Outcomes* (zum Beispiel nach Prostatektomie). Beim Wunsch nach einer möglichst exakten prognostischen Einschätzung lässt die aktuelle Diagnostik jedoch weiterhin viel Spielraum für Verbesserungen.

#### **1.1.4 Therapie**

„Patienten mit einem lokal begrenzten, klinisch nicht-metastasierten Prostatakarzinom sollen über das Konzept einer zeitnahen lokalen Therapie mit



kurativer Intention, das Konzept eines verzögerten Vorgehens (Active Surveillance) und eine palliative Therapie aufgeklärt werden.“ (AWMF et al., 2011b, S.72)

Beim Prostatakarzinom stehen abwartende bzw. beobachtende (Active Surveillance, Watchful Waiting) und interventionelle (radikale Prostatovesikulektomie, externe Strahlentherapie, interstitielle Brachytherapie, Hormontherapie, Chemotherapie) Therapieoptionen zur Verfügung (Hakenberg, 2010, S.338). Die radikale Prostatovesikulektomie (im Weiteren radikale Prostatektomie genannt) sowie die perkutane/externe Strahlentherapie, die LDR- und die HDR-Brachytherapie sind primäre Therapieoptionen mit kurativer Zielsetzung beim lokal begrenzten Prostatakarzinom (AWMF et al., 2011a, S.31-34). Active Surveillance meint die Hinauszögerung einer kurativen Behandlung bis zu einem Zeitpunkt, an dem sich der Wunsch des Patienten oder die Tumorbiologie geändert haben könnten, bei gleichzeitiger genauer Überwachung, einschließlich Kontrollbiopsien (AWMF et al., 2011a, S.30). Voraussetzungen dafür sind die Epstein-Kriterien (AWMF et al., 2011a, S.29; Deutsche Krebshilfe, 2013, S.51):

- PSA-Wert  $\leq 10$ ng/ml
- Gleason-Score  $\leq 6$
- cT-Stadium  $\leq 2a$
- Tumor in  $\leq 2$  (von zehn bis zwölf) Biopsie-Stanzen
- Tumor pro Stanze  $\leq 50\%$

Abbruchkriterien für Active Surveillance sind folgende (AWMF et al., 2011a, S.30):

- PSA-Verdopplungszeit  $< 3$  Jahre
- Gleason-Score  $> 6$
- Tumor in  $> 2$  Stanzen
- Tumor pro Stanze  $> 50\%$

Active Surveillance ist eine Therapieoption, die zumindest im lokal begrenzten Stadium aufgrund der Diskussion um Überdiagnostik und Übertherapie (Witte, 2014; Le Ker, 2012) mehr und mehr in den Fokus rückt. Hier findet in den letzten Jahren ein Umdenken statt (Weißbach & Altwein, 2009). Active

Surveillance ist strikt abzugrenzen von Watchful Waiting, wobei Patienten erst, wenn sie symptomatisch sind – und dann palliativ, behandelt werden (AWMF et al., 2011a, S.30).

Beim lokal fortgeschrittenen Prostatakarzinom sind radikale Prostatektomie sowie die Kombination aus perkutaner Strahlentherapie mit Hormontherapie primäre Therapieoptionen. Die Therapie noch weiter fortgeschrittener Tumorerkrankungen und weitere Therapieoptionen sollen an dieser Stelle nicht thematisiert werden.

Neben unmittelbaren Komplikationen kurativer Interventionen (siehe 1.1.2.2) können Inkontinenz, erektile Dysfunktion, Blasenstörungen, verschiedene intestinale Störungen (nach AWMF et al., 2011b, S.75) und Harnröhrenstrikturen (Keil, 2012, S.634) die Lebensqualität einschränken. Nach der Umfrage der Barmer GEK (2012, S.14) sei unabhängig von der Therapieform von einer deutlichen Reduktion der gesundheitsbezogenen Lebensqualität auszugehen. Gleichzeitig stellt sie aber fest, dass durchschnittlich 14 von 15 Menschen mit ihrer Therapie zumindest eingeschränkt zufrieden sind (S.123).

Bei der häufig gewählten Therapieoption der radikalen Prostatektomie spielen vor allem erektile Dysfunktion und Harninkontinenz als Komplikation eine große Rolle. Die Zahlen der Barmer GEK (siehe 1.1.2.2) belegen dies eindrucksvoll. Keil (2012, S.634) bestätigt die Problematik mit ähnlichen Zahlen: erektile Dysfunktion bei 35 bis 95%, Harninkontinenz bei 5 bis 20%.

„Insgesamt ist die radikale Prostatektomie ein relativ risikoarmer Eingriff.“ (Wirth & Fröhner, 2009, S.538-539). Auch durch dieses Zitat wird eine Diskrepanz deutlich. Der Schaden, der durch therapeutische Eingriffe beim Prostatakarzinom entsteht, wird eventuell manchmal zu drastisch dargestellt. Nichtsdestotrotz entsteht Schaden und dieser schränkt die Lebensqualität interindividuell unterschiedlich, doch zum Teil in nicht geringem Maße ein. Patienten nehmen dieses Risiko allerdings in Kauf und sind hinterher mit der Therapie auch nicht unzufrieden. Vielleicht weil sie in den Interventionen einen Zweck sehen. Das Problem beim Prostatakarzinom ist, dass wie bereits beschrieben (zum Teil aufgrund von Screening) Überdiagnostik betrieben wird.

So werden auch insignifikante Karzinome übertherapiert. Eine Möglichkeit dem entgegen zu wirken, ist zurückhaltender bei der Therapiewahl zu sein. Zumal nach Serra und Narbon (2006) 25% der Patienten nach Operation im 15 Jahre Follow-up ein Rezidiv erleiden. Bliemeister spricht gar von 40% (2010).

Aus diesem Grund tauchen in den vergangenen Jahren mehrere Studien auf, die aktive mit observierenden Therapien vergleichen: Bill-Axelsen et al. (2014) sehen bei frühen Karzinomen und 23,2 Jahren Follow-up eine substanzielle Reduktion der Mortalität nach radikaler Prostatektomie. Der Benefit sei bei unter 65-Jährigen und bei *intermediate-risk* Prostatakarzinomen am größten. Es wird allerdings auch von einem Todesfall in Zusammenhang mit operativer Therapie berichtet. Wilt et al. (2012) sehen bei durchschnittlich 67-Jährigen nach 12 Jahren Follow-up durch radikale Prostatektomie zwar ebenso eine Senkung der all-cause- und der spezifischen Mortalität, jedoch nicht signifikant. Auch hier wird ein postoperativer Todesfall erwähnt. Die AWMF-Leitlinien erwähnen Ergebnisse wonach radikale Prostatektomie gegenüber Watchful Waiting signifikant die spezifische und die Gesamtmortalität senkt, ebenso die Häufigkeit einer Progression sowie das Risiko von Fernmetastasen (2011a, S.31).

Weißbach und Altwein (2009) erstellten eine Metaanalyse von 88 gesichteten relevanten Arbeiten. Sie stellen gute Ergebnisse für Active Surveillance fest und kommen zu dem sinnigen Schluss, dass eine Therapie den individuellen Bedürfnissen angepasst sein sollte und dass risikoträchtige Behandlungen nur dort eingesetzt werden sollten, wo sie zwingend notwendig sind. Dies unterstreicht noch einmal die große Bedeutung der Diagnostik beim Prostatakarzinom. Um die individuell optimale Therapieform für den einzelnen Patienten zu finden, ist eine möglichst exakte diagnostisch-prognostische Einschätzung von Nöten. Hierbei bietet die aktuelle Routine (siehe 1.1.2) weiterhin viel Raum für Verbesserungen.

### **1.1.5 Nachsorge**

Bei der pathomorphologischen Untersuchung nach erfolgter Prostatektomie erfolgt eine prognostische Evaluation. Dabei werden folgende drei Parameter erhoben: Gleason-*Grading*, pathologisches TNM-Stadium und chirurgische

Resektionsränder (AWMF et al., 2011a, S.20). TNM-Stadium und R-Status können dann vom Pathologen und Kliniker gemeinsam erhoben werden. So erhält der behandelnde Arzt und von ihm der Patient Auskunft über den Therapie-Erfolg und die weitere Prognose.

Die anschließende ärztliche Nachsorge hat dann neben der Behandlung von unerwünschten Nebenwirkungen zum Ziel verbliebenes oder wieder kehrendes Tumorgewebe (Residual- oder Rezidivtumoren) zu detektieren. Nach lokaler, kurativ intendierter Therapie sollte gemäß AWMF-Leitlinien (2011a, S.55) bei asymptomatischen Patienten innerhalb von zwölf Wochen nach Therapieende eine Nachsorgeuntersuchung stattfinden. Danach sollten neben anamnestischen Erhebungen, wobei Symptome, psychische Aspekte und Komplikationen erfragt werden (Hakenberg, 2010, S.359), Verlaufskontrollen des Serum-PSA-Werts vorgenommen werden, die ersten 2 Jahre vierteljährlich, weitere 2 Jahre halbjährlich und ab dem 5. Jahr jährlich. DRU ist nicht routinemäßig indiziert. Bildgebung soll nur bei Symptomen und/oder therapeutischer Konsequenz eingesetzt werden (AWMF et al., 2011a, S.55).

Nach erfolgter Prostatektomie sollte der PSA-Wert innerhalb der ersten drei Monate unter die Nachweisbarkeitsgrenze sinken (Keil, 2012, S.634). Sinkt der Wert nicht  $<0,2\text{ng/ml}$ , spricht dies für verbliebenes Prostatagewebe oder Tumorzellen (nach Schrader & Miller, 2009, S.602). Ein nach erreichtem Absinken durch zwei Messungen bestätigter PSA-Wert über diesen Wert von  $0,2\text{ng/ml}$  deutet auf ein biochemisches Rezidiv hin (AWMF et al., 2011a, S.44). Nach alleiniger Strahlentherapie sprach man früher (Hakenberg, 2010, S.360) von einem biochemischen Rezidiv bei drei konsekutiv ansteigenden PSA-Werten über den postinterventionellen PSA-Nadir. Heute ist die Grenze bei einem in zwei Messungen bestätigten Anstieg um  $>2\text{ng/ml}$  über selbigen PSA-Nadir (AWMF et al., 2011a, S.44). Bei biochemischem Rezidiv ist eine bioptische Sicherung nicht erforderlich (AWMF et al., 2011a, S.44). Kommt bei vorhandenem Rezidiv eine weitere Therapie in Frage, soll unterschieden werden, ob es sich um ein lokales oder ein systemisches Rezidiv handelt. Als Parameter werden hierfür die PSA-Verdopplungszeit, die Latenzzeit (primäre

kurativ intendierte Therapie bis PSA-Anstieg) und der Gleason-Score herangezogen (AWMF et al., 2011a, S.44).

Die klinische Relevanz des biochemischen Rezidivs ist auf den einzelnen Patienten bezogen schwer prognostizierbar (Schader & Miller, 2009, S.603). 50% der Patienten nach radikaler Prostatektomie mit einem PSA-Wert von 0,2ng/ml bleiben ohne weiteren Progress. Deshalb sprechen sich manche Autoren für eine Anhebung des Grenzwerts auf 0,4ng/ml aus. Außerdem haben viele Patienten nach radikaler Prostatektomie trotz biochemischem Rezidiv eine lange Lebensdauer, da dies dem klinischen Rezidiv mit Metastasen um 6 bis 8 Jahre voraus geht. Bis zu 15% der Rezidive treten so erst nach mehr als fünf Jahren auf. Dann leben die Patienten mit klinischem Rezidiv im Median weitere 5 Jahre (Hakenberg, 2010, S.359-360). Der PSA-Wert ist also in der Nachsorge des Prostatakarzinoms ein sensitiver und in der Routine bewährter Parameter. Dennoch sind in der Literatur auch Fälle mit PSA-negativen Rezidiven beschrieben.

In der Fallbesprechung von Pepe, Fragetta, Tornabene, Nicolosi und Aragona (2012) wurde ein Rezidiv durch ein FDG-PET/CT bestätigt. Da FDG-PET veränderten Krebsmetabolismus sichtbar macht und dieser in Kombination mit einem CT anatomisch genau lokalisiert werden kann, stellt sich die Frage, warum in der Nachsorge nicht häufiger auf diese Untersuchungsmethoden zurückgegriffen wird. Leitliniengemäß wird bei der Rezidiv-Diagnostik nur MRT, eventuell ergänzt durch Magnetresonanztomographie, eingesetzt (AWMF et al., 2011b, S.209). Zum Einsatz von FDG-PET bei der Nachsorge des Prostatakarzinoms gibt es einige Studien: Hofer et al. (1999) erkannten in ihrer Studie, die 1999 veröffentlicht wurde, bei alleiniger FDG-PET keinen Unterschied zwischen BPH, Prostatakarzinom, postoperativer Narbe und lokalem Rezidiv. Sie stuften die FDG-PET für die Detektion von lokalen Rezidiven als nutzlos ein. Auch bei Schrader und Miller (2009, S.605) wird die FDG-PET wegen mangelnder Sensitivität und Spezifität als nicht hilfreich für die Detektion von Lokalrezidiven, Lymphknoten- oder Knochenmetastasen eingeschätzt.

Die AWMF-Leitlinien berichten von Ergebnissen, wonach die Kombination der PET mit einer Kontrastmittel-CT die diagnostische Sicherheit signifikant erhöht (AWMF et al., 2011b, S.59). Des Weiteren empfehlen sie: „Im Rahmen einer Rezidivdiagnostik nach Operation soll bei einem PSA-Wert  $<1\text{ng/ml}$  keine PET/CT zur Beurteilung der Tumorausdehnung erfolgen.“ (AWMF et al. 2011b, S.54). Die AWMF bezieht sich dabei vor allem auf Forschung zur Cholin-PET. Auch Fornara et al. (2009, S.535) fassen zusammen, dass PET/CT teuer ist und viele falsch-negative Ergebnisse liefert. Deshalb sollte es nicht in der Routinediagnostik eingesetzt werden. Dabei beziehen auch sie sich allerdings vor allem auf Cholin-PET. Studien von Jadvar et al. (2012), Richter et al. (2010) und Schöder et al. (2005) zeigen dagegen, dass ein diagnostischer Gewinn von FDG-PET bzw. FDG-PET/CT zwar limitiert, aber durchaus vorhanden sein könnte. Nebenbei zeigen Richter et al. (2010) auch, dass mit einem p-Wert von 0.058 ein nur knapp nicht-signifikanter Zusammenhang zwischen FDG-PET und dem prognostischen Parameter Gleason-Score besteht. Jadvar (2013) kommt in einer aktuellen Veröffentlichung zu dem Ergebnis, kumulative Evidenz deutet an, dass FDG-PET bei einer kleinen Fraktion von Patienten mit biochemischen Rezidiven nützlich sein könnte. Obwohl in der Routinediagnostik aktuell nicht eingesetzt, könnte FDG-PET in Kombination mit CT in Einzelfällen einen Informationsgewinn bedeuten, vor allem in der Nachsorge.

Die Messung des totalen PSA im Serum ist in der Nachsorge gerade nach radikaler Prostatektomie ein zuverlässiger und deutlich weniger umstrittener Test als beim Screening. Das dürfte daran liegen, dass durch die Entfernung der Prostata einige Differenzialdiagnosen, wie zum Beispiel BPH oder aktive und chronische Prostatitis ausscheiden. Dadurch dürfte die PSA-Wert-Bestimmung in der Nachsorge deutlich spezifischer als in der Früherkennung sein. Auch die Sensitivität ist hoch, belegt durch die um 6 bis 8 Jahre vorgezogene Diagnose eines Rezidivs (siehe oben). Welche Bedeutung ein erstmalig diagnostiziertes biochemisches bzw. PSA-Rezidiv für einen Patienten im Einzelnen hat, ist dabei allerdings allein mit diesem Parameter nicht klar zu beantworten. Gerade die Interpretation niedrig-nachweisbarer PSA-Werte ist im

individuellen Fall nicht eindeutig. Außerdem sind PSA-negative Rezidive mit der routinemäßigen Nachsorge kaum früh zu diagnostizieren.

Zusammenfassend lässt sich sagen, das Prostatakarzinom ist das häufigste Karzinom und die siebthäufigste aller Todesursache bei Männern in Deutschland. Auch eine erfolgreiche Behandlung führt häufig zu einer Einschränkung der Lebensqualität. Für die Behandlung werden jährlich in Deutschland Beträge im mittleren dreistelligen Millionenbereich aufgewendet. Das Prostatakarzinom hat also eine überaus große Relevanz in Bezug auf die gesamte Gesellschaft.

Die AWMF-Leitlinien empfehlen Männern ab 40 Jahren, welche Prostatakrebs-Früherkennung wünschen, DRU und PSA. Dabei wird eine PSA-Wert-Bestimmung zu diesem Zweck von der gesetzlichen Krankenkassen nicht bezahlt, weil dessen Nutzen umstritten ist. Aktuelle Studien belegen ein hohes Maß an Überdiagnostik und Übertherapie durch Screening bei gleichzeitig nicht zweifelsfrei belegter Reduktion der Mortalität. Optimales Screening sollte nur aggressive, „behandlungsbedürftige“ Prostatakarzinome, diese aber in möglichst frühem Krankheitsstadium, erfassen. Dabei sollte es kosteneffizient sein und höchstmögliche Lebensqualität gewährleisten. Diese Vorgaben erfüllt aktuelles Screening nur unzureichend.

Die Diagnostik zielt darauf ab, ein Prostatakarzinom hinsichtlich der Kategorien TNM-Klassifikation, Gleason-*Grading* und PSA-Wert zu kategorisieren, um damit die individuell beste Behandlungsmöglichkeit zu bestimmen. Die anhaltende Diskussion, genährt durch einige Studien, die Übertherapie erwähnen und belegen, deutet darauf hin, dass die aktuelle Routine-Diagnostik es nicht schafft, insignifikante Karzinome herauszufiltern. Mit Hilfe von zum Beispiel den weit verbreiteten Partin-Tables ist eine prognostische Einschätzung möglich. Obwohl sie gute Ergebnisse liefern, sind solche Einschätzungen im Hinblick auf den einzelnen Patienten stets unsicher.

In kurablem Stadium ist die radikale Prostatektomie die am häufigsten indizierte Therapieform. Allerdings ist ein Umdenken auszumachen. Immer öfter treten abwartend überwachende Therapieformen (Active Surveillance) in den Fokus,

um das Risiko der Übertherapie einzudämmen. Hierbei liegt jedoch nahe, dass viele Patienten in Angst vor Progression leben.

In der Nachsorge ist der PSA-Test das etablierte Verfahren. Er ist sensitiv und zeigt biochemische Rezidive früh an. Wie bei der Früherkennung ist allerdings auch hier nicht eindeutig einzuordnen, was ein niedrig erhöhter PSA-Wert bedeutet. Ein weiteres Problem stellen PSA-negative Rezidive dar.

## **1.2 Apo10**

Das Unterkapitel 1.2 stellt die Grundlage der vorliegenden Arbeit in Bezug auf Apo10 dar. Es soll erklären, was Apo10 ist, welche allgemeinen und speziellen biochemisch-physiologischen Mechanismen dahinter stecken und welche Rolle das in Bezug auf das Prostatakarzinom spielen könnte.

### **1.2.1 Was ist Apo10?**

Im Gegensatz zur sonst in der Biochemie häufig verwendeten Nomenklatur, wo Apo eine Abkürzung für die Stoffklasse der Apolipoproteine ist – wie zum Beispiel bei den für den Fettstoffwechsel wichtigen Apo B<sub>100</sub> und Apo E (Löffler, 2007a, S.572-580) – steht Apo in Apo10 für den Funktionsmechanismus, bei dem es eine Rolle spielt: die Apoptose. Apo10 ist ein monoklonaler Antikörper, der das gleichnamige Epitop der DNase X nachweist (Grimm, Schmitt et al., 2013). Laut Grimm, Schmitt et al. (2013) ist der Apo10-Antikörper (DJ28D4) zum Nachweis der DNase X spezifischer als andere Antikörper, zum Beispiel ab54750.

Die DNase X wurde erstmals 1995 von Parrish, Ciccodicola, Wehhert, Cox, Chen et al. als ein DNase I-like Gen in der menschlichen Genomregion Xq28 beschrieben. Es wurde eine Sequenzähnlichkeit zur DNase I auf DNA- und Protein-Level festgestellt. Somit ist es das erste beschriebene menschliche DNase I-Homolog (Shiokawa, Shika, Saito, Yamazaki & Tanuma, 2005), genauso die erste Säugetier-DNase überhaupt, die homolog zu DNase I ist (Shiokawa et al., 2007). Aus diesem Grund wird die DNase X auch DNase I-like 1 genannt (Grimm, Schmitt et al., 2013). Es wurde eine 37,6%-Identität vermutet, die später von Coy, Verlhagen et al. (1996) sogar auf 39% korrigiert wurde. Schon damals wurde ein 302 Aminosäuren umfassendes Protein mit



Transmembrandomäne nahe dem Carboxyl-Terminus prognostiziert. Seine Expression auf Transkriptebene wurde am stärksten in Skelett- und Herzmuskel-Gewebe detektiert.

1991 wurde von Nobelpreisträger Harald zur Hausen am Deutschen Krebsforschungszentrum in Heidelberg ein Genomanalyse-Programm initiiert, das sich auf jene Region Xq28 konzentrierte (Grimm, Schmitt et al., 2013). Aus diesem ging eine Veröffentlichung von Coy, Verlhagen et al. (1996) hervor. Hier beschreiben die Autoren das zum ersten Mal isolierte Transkript der DNase X und die (oben beschriebenen) Vermutungen von Parrish et al. (1995) wurden bestätigt. Da die meisten Exon-Intron-Begrenzungen bei den DNasen I und X gleich waren, wurde gefolgert, dass die beiden Enzyme aus einem gemeinsamen Vorgänger-Enzym hervorgegangen sein müssten. Außerdem wurde die vorhergesagte Funktion als DNase durch ein rekombinantes Protein bestätigt. Im Gegensatz zur DNase I stellte sich ein 35 kDa Protein mit einem 18 kDa Fragment mit DNase-Aktivität dar. Später wurde bei Versuchen teilweise Enzymaktivität bei 70kDa detektiert, was auf die Wirkweise in Form von Dimeren hindeuten könnte (Los et al., 2000).

Zur DNase I-Familie gehören mittlerweile folgende Mitglieder: DNase I, DNase X (DNase I-like 1), DNAS1L2 (DNase I-like 2) und DNase gamma (DNase I-like 3) (Shiokawa & Tanuma, 2001; Grimm, Schmitt et al., 2013). Alle vier Enzyme sind  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -abhängige Endonukleasen, die DNA-Hydrolyse katalysieren. Vermutlich besitzen sie jedoch einzigartige physiologische Rollen, sicher jedenfalls unterschiedliche Gewebsspezifität (Shiokawa & Tanuma, 2001). Neben Muskelgewebe (Shiokawa, Kobayashi & Tanuma, 2002; Parrish et al., 1995; Shiokawa et al., 2007) ist die DNase X auf Proteinlevel auch bei einer Reihe verschiedener Tumorentitäten detektierbar (Los et al., 2000).

In diesem Sinne bezeichnet auch Hofmann Apo10 als „ein tumorspezifisches Epitop der DNase X“ (Hofmann, 2013, S.2).

### **1.2.2 Der biochemische Ablauf der Apoptose**

Apoptose, der programmierte Zelltod, wird durch betroffene Zellen selbst reguliert. Sie dient der gezielten Beseitigung nicht (mehr) benötigter oder geschädigter Zellen. Eine wichtige Rolle kommt ihr zum Beispiel bei der

Embryogenese und im Immunsystem zu – ebenso aber auch bei der „Gewebehomöostase“ und so beim „Schutz vor Neubildungen“ (Walter de Gruyter, 2011). Für einen Gesamtorganismus ist es weniger schädlich eine Zelle mit DNA-Mutation durch programmierten Zelltod zu verlieren, als wenn solche Schäden durch Zellteilung weitergegeben und vermehrt werden (Montenarh, 2007, S.227).

Im Gegensatz zur Zellnekrose, die erst spät mit einem DNA-Abbau einhergeht, beginnt die Apoptose morphologisch gesehen mit der Kondensation des Chromatins, Zellkern-Schrumpfung und -Fragmentierung. Des Weiteren schrumpft die gesamte Zelle und zerfällt in apoptotic bodies. Durch Externalisierung von Phosphatidyl-Serin begünstigt, werden diese schließlich von Phagozyten rasch beseitigt, weshalb es zu keiner Entzündungsreaktion kommt (Montenarh, 2007, S.225-226).

Die Apoptose kann sowohl von außen, als auch durch intrazelluläre Mechanismen initiiert werden (Abb.3). Auf dem extrinsischen Weg erfolgt eine Bindung von TNF $\alpha$  oder zytotoxischen T-Lymphozyten an sogenannte Todesrezeptoren in der Zelloberfläche (TNF $\alpha$ -Rezeptor, Fas-Rezeptor/CD 95), die Fas-associated death domain (FADD) lagert sich an und führt zur proteolytischen Spaltung der Procaspase 8, diese aktiviert Effektorcaspasen. Effektorcaspasen sind es dann, die überlebenswichtige zelluläre Proteine wie zum Beispiel Reparaturenzyme inaktivieren. Außerdem aktivieren sie eine spezifische DNase, die dementsprechend Caspase-aktivierte DNase (CAD) heißt. Somit wird die Apoptose in Gang gesetzt (Montenarh, 2007, S.226; Oberleithner, 2010, S.20; Koolman & Röhm, 2009, S.448-449).

Der intrinsische Weg wird auch mitochondrialer Weg genannt, weil ein entscheidender Schritt die Cytochrom C-Freisetzung aus den Mitochondrien ist. Zellstress, wie zum Beispiel eine DNA-Mutation aktiviert eine Reihe von Prozessen um Proteine der Bcl-2-Familie. Diese unterscheiden sich in proapoptotische (vor allem Bak, Bax, diese stimulierend Bad, Bid, Bim) und antiapoptotische (Bcl-2) Proteine. Beide werden auch exogen über Wachstumsfaktoren reguliert, die ihre Information über Signaltransduktionskaskaden im Zellinneren weitergeben.

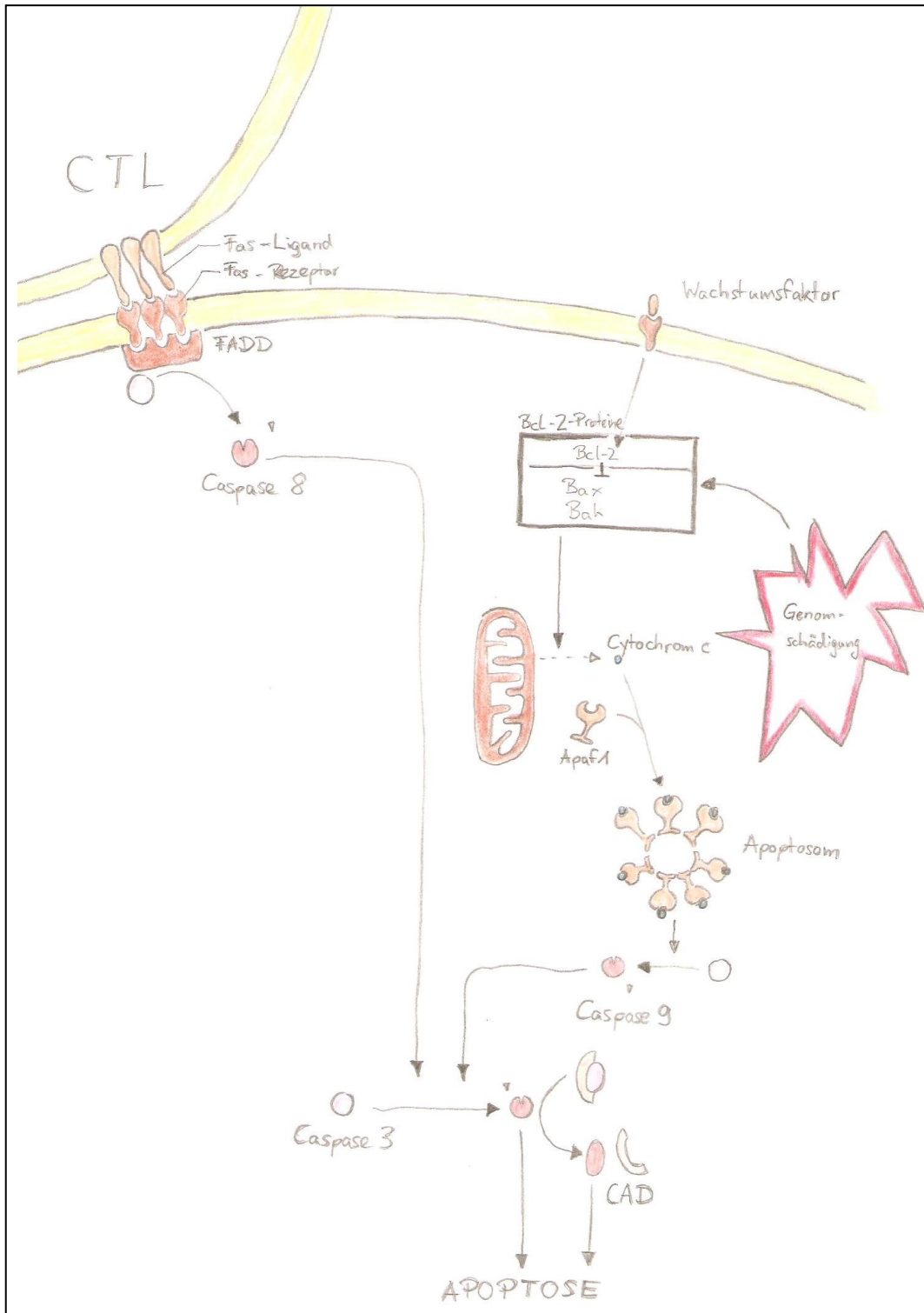


Abb. 3 Initiierung der Apoptose mit dem extrinsischen (links) und dem intrinsischen Weg (rechts), die in einer gemeinsamen Endstrecke inklusive der Aktivierung der Caspase-aktivierten DNase (CAD) münden (CTL=zytotoxischer T-Lymphozyt, FADD=Fas-associated death domain, Apaf=apoptotischer Protease-Aktivierungsfaktor, Bcl=B-Zell-Lymphom)

Überwiegen die proapoptotischen Faktoren, führt dies zur erwähnten Freisetzung von Cytochrom C aus den Mitochondrien. Cytochrom C bindet den Apoptotic protease-activating factor-1 (Apaf-1). Apaf-1 oligomerisiert und bildet das sogenannte Apoptosom, welches die Procaspase 9 proteolytisch spaltet. Caspase 9 aktiviert (analog zu Caspase 8 des extrinsischen Wegs) die Effektor-Caspase 3 und führt unter anderem über die Aktivierung von CAD zur Apoptose. Dies stellt die gemeinsame Endstrecke beider Wege dar (Montenarh, 2007, S.226-228; Koolman & Röhm, 2009, S.448-449).

### **1.2.3 Bedeutung von DNase X bei der Apoptose**

Welche Rolle spielen nun DNasen und speziell die DNase X bei der Apoptose? DNasen sind Nukleasen. Sie wirken als Phosphodiesterasen, spalten also die Phosphodiesterbindungen zwischen zwei Nukleotiden. So dienen sie dem Abbau von DNA. Deshalb spielen sie „eine wichtige Rolle bei der Apoptose, dem programmierten Zelltod, bei dem massiv DNA abgebaut“ werden muss (Montenarh & Löffler, 2007, S.167-168). Da die DNase X eine Endonuklease ist (Los et al., 2000), fängt sie nicht an einem Ende des Moleküls an, sondern kann an jeder beliebigen Stelle des DNA-Moleküls ansetzen und es in kleine Bruchstücke spalten (Montenarh & Löffler, 2007, S.167).

Wie erwähnt (1.2.2) wird bei der Apoptose und der damit einhergehenden massiven DNA-Hydrolyse meist nur die DNase CAD genannt. Los et al. (2000) sehen zur Besetzung dieser Rolle der DNA-Hydrolyse in der Apoptose allerdings immer noch eine umfangreiche Diskussion. Bestätigt wird dies durch Mukae et al. (1998), die ein gewebsspezifisches Vorkommen nicht nur bei Mitgliedern der DNase I-Familie ausmachten wie auch Shiokawa und Tanuma (2001): Nach ihren Ergebnissen wird CAD nur in einer limitierten Anzahl menschlicher Gewebe, wie zum Beispiel Pankreas, Milz, Prostata und Ovar, exprimiert. In anderen Geweben scheint eine Transkription kaum bis gar nicht vorhanden zu sein. DNAS1L2 (Shiokawa & Tanuma, 2001) und DNase II sowie auch L-DNase II haben ihr jeweiliges Aktivitätsmaximum im Sauren, treten somit vor allem bei jenen Formen der Apoptose auf, die mit einer intrazellulären Übersäuerung einhergehen (Los et al., 2000). DNase I kommt nach Los et al. (2000) in Thymozyten, Keratinozyten, Prostataepithelzellen, aber auch in

Parotis, submaxillären Drüsen, Pankreas, Niere und intestinaler Mukosa vor, weshalb ihr neben einer Funktion bei der Apoptose auch eine digestive Funktion nachgesagt wird. DNase gamma scheint in Makrophagen, Leber, Milz (Los et al., 2000), aber auch bei myogener Differenzierung (Shiokawa et al., 2002) vorzukommen. Wie unter 1.2.1 erwähnt ist die Muskulatur, genauer gesagt Skelett- und Herzmuskelgewebe, auch der Ort, an dem DNase X gehäuft vorkommt. In anderem „benignen“ Gewebe scheint es nicht präsent zu sein (Grimm, Schmitt et al., 2013). Im Gegensatz dazu sprechen Daten aus der Forschung mit Apo10 für das Vorkommen von DNase X bei Karzinomen mit Ursprungsgewebe in Prostata, Blase, Lunge, Magen, Kolon, Mamma, Niere und Mund sowie bei Melanomen, Sarkomen, Glioblastomen und Leukämie (Jansen & Coy, 2013). Die Herkunft dieser Daten ist allerdings leider nicht beschrieben. Allgemeiner Konsens ist, dass Caspasen und Bcl-2-Proteine die entscheidenden Regulatoren der Apoptose sind (Los et al., 2000; Montenarh, 2007, S.227; Koolman & Röhm, 2009, S.448). Dagegen scheinen DNasen nur einer von vielen Faktoren in der Apoptose-Kaskade zu sein. Gleichzeitig ist nach Los et al. (2000) der Signalweg zur ihrer Aktivierung kaum verstanden. Los et al. (2000) führten zur Rolle von DNase X ein bemerkenswertes Experiment durch. Sie induzierten eine Überexpression dieses Enzyms bei intakten Zellen. Wie zu erwarten war, stellten sie fest, dass die Nuklease-Aktivität sich dadurch stark erhöhte. Es zeigte sich auch, dass die Überexpression von DNase X in einer Erhöhung der Caspase-Aktivität resultierte. Damit einhergehend trat eine Induktion des Zelltods ein. Diese konnte durch Caspase-Inhibitoren nicht unterbunden werden (Daten hierzu werden allerdings nicht gezeigt). Deshalb ist zu vermuten, dass die erhöhte Caspase-Aktivität mit konsekutivem Zelltod eher nicht durch direkten Einfluss von DNase X induziert ist. Eher könnte sie Folge eines zu großen, von DNase X verursachten DNA-Schadens sein. Nichtsdestotrotz ist es interessant, dass unter jenen Versuchsbedingungen wohl allein ein Überangebot von DNase X zur Apoptose geführt hat. Bei der DNase X stellten sie zwei potentielle Spaltstellen für Caspasen fest. Sowohl Caspase-3, als auch Caspase-1, -6 und -7 waren allerdings selbst in hohen Konzentrationen nicht in der Lage DNase X

zu spalten. Also folgerten Los et al. (2000), dass es unwahrscheinlich ist, dass DNase X im Rahmen der Apoptose durch Proteolyse aktiviert wird, stattdessen vermuteten sie eine Aktivierung durch posttranslationale Modifizierung.

Ebenso interessant wie schwierig einzuordnen sind die Ergebnisse von Mohan Kumar et al. (2013): Schon von Parrish et al. (1995) wurde nahe dem C-terminalen Ende von DNase X eine Transmembran-Domäne postuliert. Dazu passend beschreiben Shiokawa et al. (2005) sie als im Endoplasmatischen Retikulum lokalisiert. Ebenso passend beschreiben Los et al. (2000) eine Translokation nach Aktivierung vom Zytoplasma ins nukleäre Kompartiment. Auch Mohan Kumar et al. berichten von DNase X als Oberflächenprotein. Merkwürdigerweise entdeckten sie aber, dass DNase X hier von Bakterien (*Ehrlichia chaffeensis*) als Bindungsstelle und Trigger zum Eintritt in Säugetierzellen genutzt wird. Shiokawa et al. (2007) berichten dagegen scheinbar widersprechend davon, dass eine hohe Expression von DNase X Endozytose-vermittelten Gen-Transfer verhindert.

In Bezug auf die Apoptose bleibt für die Rolle von DNase X festzuhalten, dass sie ein Enzym mit Endonuklease-Aktivität ist. Sie wandert wohl nach Aktivierung vom Zytoplasma membrangebunden ins nukleäre Kompartiment. Dort spielt sie vermutlich eine Rolle bei der Apoptose. Manche Autoren sehen belegt, dass sie die DNase ist, die bei einer Reihe von Tumoren detektiert bzw. überexprimiert wird.

#### **1.2.4 Möglicher Nutzen von Apo10 als medizinischer Marker bei Patienten mit Prostatakarzinom**

Der Apo10-Status kann zum Beispiel mittels immunhistochemischer Färbung bestimmt werden. Dabei detektiert der monoklonale Antikörper Apo10 in einem Gewebeschnitt das gleichbenannte Epitop und somit die DNase X. Da die DNase X (außer in Skelett- und Herzmuskelgewebe, siehe 1.2.1) bisher vor allem in Malignomen beschrieben wurde (Jansen & Coy, 2013; Grimm, Schmitt et al., 2013; Arnoldt, 2011; Hofmann, 2013), wird Apo10 von einigen Autoren als tumorspezifisch gesehen (Hofmann, 2013, S.2; Rotmann et al., 2014; Rotmann, Hofmann & Coy, 2012; Tavarlin, 2011a, S.2). Wird Apo10

nachgewiesen, deutet dies demzufolge auf einen Tumor hin (Grimm, Schmitt et al., 2013).

Genauer gesagt deutet eine solche nachgewiesene Akkumulation von Apo10 auf eine abnormale Apoptose hin, wodurch wiederum die Zellproliferation nicht in normalem Maße reguliert wird (Grimm, Schmitt et al., 2013). Montenarh (2007, S.227) führt weiter aus: „Fehler in der Apoptose führen zum Auftreten von Tumorzellen“.

Die ursächlichen Mechanismen der Apoptose-Störung und der damit einhergehenden Akkumulation von Apo10 sind noch nicht verstanden. Der programmierte Zelltod läuft nach dem „Alles-oder-Nichts-Prinzip“ ab. Ist die Apoptose-Kaskade einmal in Gang gesetzt, führt sie im Normalfall irreversibel zum Zelltod (Oberleithner, 2010, S.20). Der Platz der DNase X in dieser Kaskade ist noch nicht eindeutig erkannt. Dennoch deutet (vor allem nukleäre) Apo10-Akkumulation darauf hin, dass sich die Kaskade in Gang gesetzt hat und dann nicht zu ihrem Ende kam. Dass, dem Experiment von Los et al. (2000) zufolge, eine alleinige Hochregulierung von DNase X ausreichend sein kann, eine Zelle in den Zelltod zu führen, deutet darauf hin, dass die DNase X in Apo10-positiven Krebszellen daran gehindert wird, ihrer Endonuklease-Funktion nachzugehen. Grimm, Schmitt et al. (2013) schreiben, dass Inhibierung von DNasen zu einer Transformation von gesunden zu Tumorzellen führen kann.

Ob die Ursache nun direkt bei der DNase X oder weiter *downstream* der Apoptose-Kaskade liegt, ist für den möglichen klinischen Nutzen des Apo10-Status nachrangig. Sollte die DNase X trotz der noch nicht ausreichenden Datenlage nahezu spezifisch für Tumoren sein und der Antikörper Apo10 diese zuverlässig nachweisen, könnte Apo10 tatsächlich nahe an „einen generellen Marker zum Nachweis von neoplastischen Zellen“ heranreichen (Rotmann und Coy, 2012).

Tavarlin erwähnt in der Patientenbefundung, wie auch in Informationsmaterialien zu den angebotenen Tests (Tavarlin, 2011a, S.2; Tavarlin, 2011b) in Anlehnung an die Ergebnisse von Grimm, Schmitt et al. (2013) neben malignen Tumoren als Differentialdiagnose bei positivem Apo10-

Status stets weitere proliferative Störungen wie benigne Hyperplasien und Zysten.

Die bisherige Datenlage zu Apo10 als Marker für tumoröse Erkrankungen ist noch eingeschränkt. Dennoch scheint sie vielversprechend: In einer Fallbesprechung eines 71-Jährigen Mannes mit Kolonkarzinom zeigten Apo10-Tests (in Kombination mit TKTL1-Tests) Metastasen schon neun Monate vor ihrer Detektion durch Bildgebung an. Daraufhin wurde postuliert, dass die Apo10-Überexpression ein sehr frühes Ereignis in der malignen Transformation ist (Jansen & Coy, 2013). Grimm, Schmitt et al. (2013) untersuchten den Marker Apo10 bei OSCC-, Mamma- und Prostatakarzinompatienten: Die nukleäre Überexpression von Apo10 war dabei stark mit Krebszellen assoziiert. Darüber hinaus lag eine Korrelation von Apo10 mit Tumorgröße, mit UICC-Stadium sowie mit Lymphknotenstatus vor. Außerdem waren die Überlebensraten nach R0-Resektion bei positivem Apo10-Status signifikant schlechter.

In Bezug auf das Prostatakarzinom könnte Apo10 also aufgrund seiner postuliert frühen Erscheinung in der malignen Transformation ein interessanter Marker für Screening sein. Da sich eine Korrelation des Apo10-Status mit TNM-Stadium und Prognose darstellte, könnte es interessant für die Diagnostik sein. Und da es zumindest im Einzelfall Metastasen wohl neun Monate vor der üblichen Nachsorge angezeigt hat, könnte es auch hierbei interessant sein.

Zusammengefasst lässt sich sagen, Apo10 ist ein Epitop der von mehreren Autoren als tumorspezifisch beschriebenen DNase X. Es scheint bei einer Reihe von Tumorerkrankungen zu akkumulieren, wobei hier die Datenlage zu nicht unerheblichen Teilen nicht einsehbar ist.

Die Rolle der DNase X in der Apoptose ist noch nicht geklärt. Ein Experiment von Los et al. (2000) deutet darauf hin, dass seine Aktivierung unabhängig von einer proteolytischen Spaltung durch Caspasen sein könnte. Warum es bei Tumorerkrankungen akkumuliert und nicht seiner Funktion als Nuklease in der Apoptose-Kaskade nachgeht, ist nicht geklärt. Es wäre denkbar, dass diese Fehlfunktion der DNase X ursächlich für die Entstehung von Apoptosestörungen ist.



Mehrere Veröffentlichungen stellen die Bedeutung des Markers Apo10 im Rahmen von Tumorerkrankungen heraus. Rotmann und Coy (2012) sehen ihn sogar als „generellen Marker zum Nachweis von neoplastischen Zellen“. Eine Fallbesprechung von Jansen und Coy (2013) deutet darauf hin, dass die Akkumulation von Apo10 ein frühes Ereignis in der malignen Transformation von Tumorzellen sein könnte. Grimm, Schmitt et al. (2013) stellen bei drei verschiedenen Krebsentitäten eine Korrelation von Apo10-Status und Tumorgröße sowie UICC-Stadium und Prognose her. Und in besagter Fallbesprechung von Jansen und Coy erkannte der Apo10-Status Metastasen Monate vor der Bildgebung.

Demzufolge könnte der Marker Apo10 im Rahmen des Prostatakarzinoms sehr interessant sein und zwar sowohl im Rahmen von Früherkennung, als auch bei der Diagnostik sowie der Nachsorge.

### **1.3 Transketolase-like 1 (TKTL1)**

Das folgende Unterkapitel beinhaltet die Grundlagen zu TKTL1 für die vorliegende Arbeit. Thematisiert werden dabei die Frage, was TKTL1 ist, die Rolle einer Transketolase im Kohlenhydratstoffwechsel, Besonderheiten des Krebsmetabolismus, die Funktionen von TKTL1 im Speziellen sowie sein möglicher Nutzen im Hinblick auf das Prostatakarzinom.

#### **1.3.1 Was ist TKTL1?**

Im Zuge des bereits erwähnten 1991 initiierten Genomanalyse-Programms des Deutschen Krebsforschungszentrums in Heidelberg, entdeckten Coy, Dübel et al. (1996) in der menschlichen Genomregion Xq28 ein neues Gen, das dem Transketolase (TKT) kodierenden Gen verwandt ist. Sie nannten es transketolase-related gene (TKR). Schon vorher wurden von Iida, Teshiba und Mizobuchi (1993) und Schaaff-Gerstenschläger, Mannhaupt, Vetter, Zimmermann und Feldmann (1993) Transketolase-Homologe beschrieben. Jenes TKR, das später nach den Vorgaben der HUGO-Nomenklatur TKTL1 (Transketolase-like 1) genannt wurde (Coy, Dressler, Wilde & Schubert, 2005), war allerdings die erste Beschreibung eines Transketolase-verwandten Gens beim Menschen.

Coy et al. (2005) beschreiben drei Transketolase-Gene im menschlichen Genom: das früher bereits bekannte TKT sowie die Gene TKTL1 und TKTL2. Für TKTL1 ermittelten sie in Folge einer Mutation vor allem ein Fehlen von Exon 3 im Vergleich zu TKT. Das entspricht einer Deletion von 38 Aminosäuren am N-terminalen Ende des Proteins. Die Sequenz-Identität zwischen TKT und TKTL1 beträgt dennoch 66% auf DNA-Level und 63% auf Protein-Level. Mitschke et al. (2010) korrigieren letztere später nur geringfügig auf 61% nach unten. Für TKTL1 und TKTL2 ermitteln Coy et al. (2005) eine Sequenz-Identität auf Proteinlevel von 77% (80% auf DNA-Level).

Im Northern Blot erkannten Coy et al. (2005) eine gewebespezifische Expression der TKTL1-mRNA. Es wurden vier Banden detektiert, was vier verschiedenen Transkripten entspricht. Eine Bande bei 2,5 Kilobasenpaaren wurde bei allen im Paper dargestellten Geweben („Brain Placenta Lung Liver Sk.Muscle Kidney Pancreas“, Coy et al., 2005) entdeckt. Die einzige Ausnahme stellte Herzmuskelgewebe dar.

Für das Protein TKTL1 wurde mit Hilfe des rekombinanten C-terminalen Fragments ein monoklonaler Maus-Antikörper (JFC12T10) etabliert. So wurde im Western Blot eine Molekül-Größe von 75 kDa vermutet, was deutlich mehr als die dem Open Reading Frame der cDNA entsprechenden 65,4 kDa war. Kleinere Protein-Isoformen wurden bei 58, 48, 44 und bei 40 kDa detektiert.

Maslova, Meshalkina und Kochetov (2012), Meshalkina et al. (2013) und Schneider et al. (2012) vermuten, dass bei der entdeckten TKT-Mutante TKTL1 die Bindungsstelle für das Coenzym Thiaminpyrophosphat (TPP) durch die beschriebene Deletion verloren gegangen ist. TKTL1 sei somit kein TPP-abhängiges Enzym. Darüber hinaus zweifeln sie an, wie auch Mayer, von Wallbrunn und Vaupel in zwei Veröffentlichungen (2011; 2010), dass die entdeckte TKT-Mutante TKTL1 überhaupt Transketolase-Aktivität besitzt. Im Gegensatz dazu scheint ein weiteres Experiment von Coy et al. (2005) diese zu belegen und die Ergebnisse von Zhao et al. (2010) ihn dabei in vivo zu bestätigen.

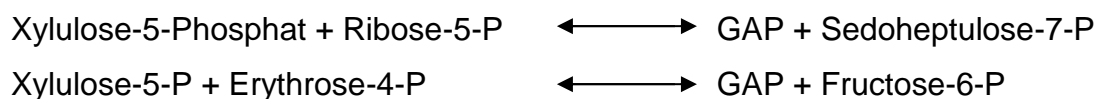
Beachtenswert ist auch die Entdeckung von Coy et al. (2005), wonach TKTL1 aufgrund der Mutation wohl in der Lage ist, eine 1-Substrat-Reaktion mit

Xylulose-5-Phosphat als einzigem Ausgangsstoff zu katalysieren. Die enzymatische Aktivität betrug dabei 42% im Vergleich zur 2-Substrat-Reaktion. Es wurde eine breitere Substrat-Verwertung postuliert. Darüber hinaus wurden unter anderem eine enge Verknüpfung von TKTL1 und GAP-DH postuliert. Coy et al. (2005) nehmen außerdem einen Schutz durch TKTL1 vor Hyperglykämie an. Sie halten den Pentosephosphatweg (PPP) in heutigen Lehrbüchern für unkorrekt angegeben unter Bezugnahme auf bereits in dessen ursprünglicher Beschreibung durch Horecker, Gibbs, Klenow & Smyrniotis (1954) vorhandene Zweifel an der Korrektheit der aufgestellten Reaktionsgleichungen und sie sehen durch TKTL1 den Warburg-Effekt bestätigt und erklärt.

Kurz formuliert: TKTL1 ist das erste beim Menschen beschriebene Transketolase-Homolog. Am N-Terminus weist es eine Deletion von 38 Aminosäuren auf, hat dennoch eine hohe Sequenz-Identität zu TKT. Coy et al. (2005) bringen das Protein in Verbindung mit Tumoren und postulieren neben der Funktion als Transketolase einzigartige enzymatische Aktivitäten. Bevor jedoch im Weiteren auf mögliche spezielle enzymatische Eigenschaften von TKTL1 eingegangen wird, soll der folgende Abschnitt kurz die allgemeine Funktion einer Transketolase im Kohlenhydrat-Stoffwechsel beschreiben.

### **1.3.2 Die biochemische Funktion einer Transketolase im Glucose-Stoffwechsel**

Die Transketolase (TKT) ist ein TPP-abhängiges Enzym. Es katalysiert im Zytosol folgende Reaktionen des nicht-oxidativen bzw. regenerativen Teils des PPP:



Sie überträgt also C<sub>2</sub>-Gruppen von einer Ketose (Xylulose-5-P) auf eine Aldose (Ribose-5-P oder Erythrose-4-P; Löffler, 2007c, S.366). Von manchen Autoren wird sie als Schlüsselenzym des regenerativen Teils des PPP angegeben (Schenk, Duggleby & Nixon, 1998).

Als Schlüsselenzym für den oxidativen Teil bzw. für den gesamten PPP wird die Glucose-6-P-Dehydrogenase gesehen (Königshoff & Brandenburger, 2009, S.490). Sie ist das erste Enzym im oxidativen Teil des PPP. Dieser erste Teil

des PPP beinhaltet eine Reihe nicht umkehrbarer Reaktionen, inklusive einer nicht-enzymatischen Decarboxylierung, wobei aus einer Hexose eine Pentose wird. Somit geht ein C-Atom für den weiteren Stoffwechsel verloren bzw. nach sechs Durchläufen ist rechnerisch ein ganzes Hexose-Molekül komplett in  $\text{CO}_2$  aufgegangen (Löffler, 2007c, S.366). Dieser erste, oxidative Teil des PPP dient der Bereitstellung von  $\text{NADPH} + \text{H}^+$  (im Weiteren nur NADPH genannt). In diesem Prozess wird der Großteil des im Körper benötigten Reduktionsäquivalents NADPH hergestellt (Löffler, 2007b, S.412). NADPH wird zum Beispiel benötigt für den Häm-Abbau und die Catecholamin-Synthese. In noch größerem Maße spielt NADPH und somit der PPP eine Rolle bei Biosynthesen von Fettsäuren und Steroiden/Steroidhormonen und somit in Leber, Fettgewebe, laktierender Brustdrüse, Nebennierenrinde, Ovarien und Hoden (Löffler, 2007c, S.368). NADPH kann im PPP nicht reoxidiert werden. Wenn also in bestimmten Geweben die Biosynthese von Fettsäuren oder Steroidhormonen zum Stillstand kommt, wird NADPH nicht mehr reduziert und aus Mangel am Coenzym  $\text{NADP}^+$  steht dann auch der PPP still. Dies geschieht unter anaeroben Bedingungen.

Außer für diese anabolen Prozesse ist NADPH im menschlichen Organismus essenziell für die Glutathionperoxidase und somit für die Unschädlichmachung von freien Sauerstoff-Radikalen. Darum spielt der PPP auch zum Beispiel in Erythrozyten eine große Rolle (Löffler, 2007c, S.368).

Im zweiten Teil des PPP, dem regenerativen Teil, stellt zunächst eine Isomerase aus Ribulose-5-P Ribose-5-P her. Dieses Molekül ist Ausgangsstoff für die Biosynthese von Nukleotiden. Die weiteren Reaktionen des regenerativen Teils des PPP, wovon zwei durch TKT katalysiert werden, sind umkehrbar und regenerieren GAP- und Fructose-6-P-Moleküle, die in Glycolyse, Gluconeogenese und im Weiteren auch im PPP wieder verwertet werden können (Abb.4). So stellt dieser Teil das Gleichgewicht der beiden großen Zweige des Glucose-Stoffwechsels her.

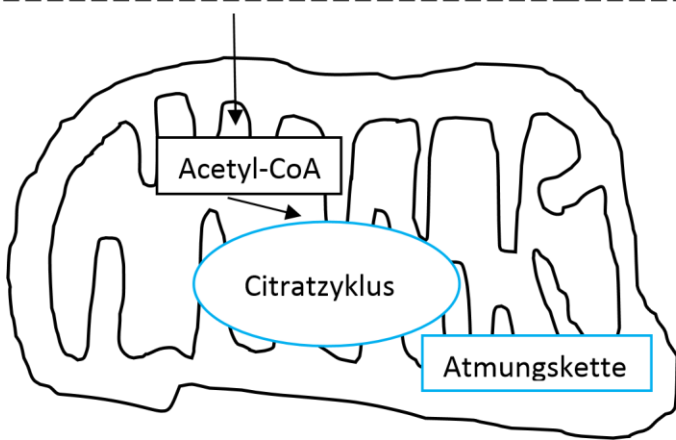
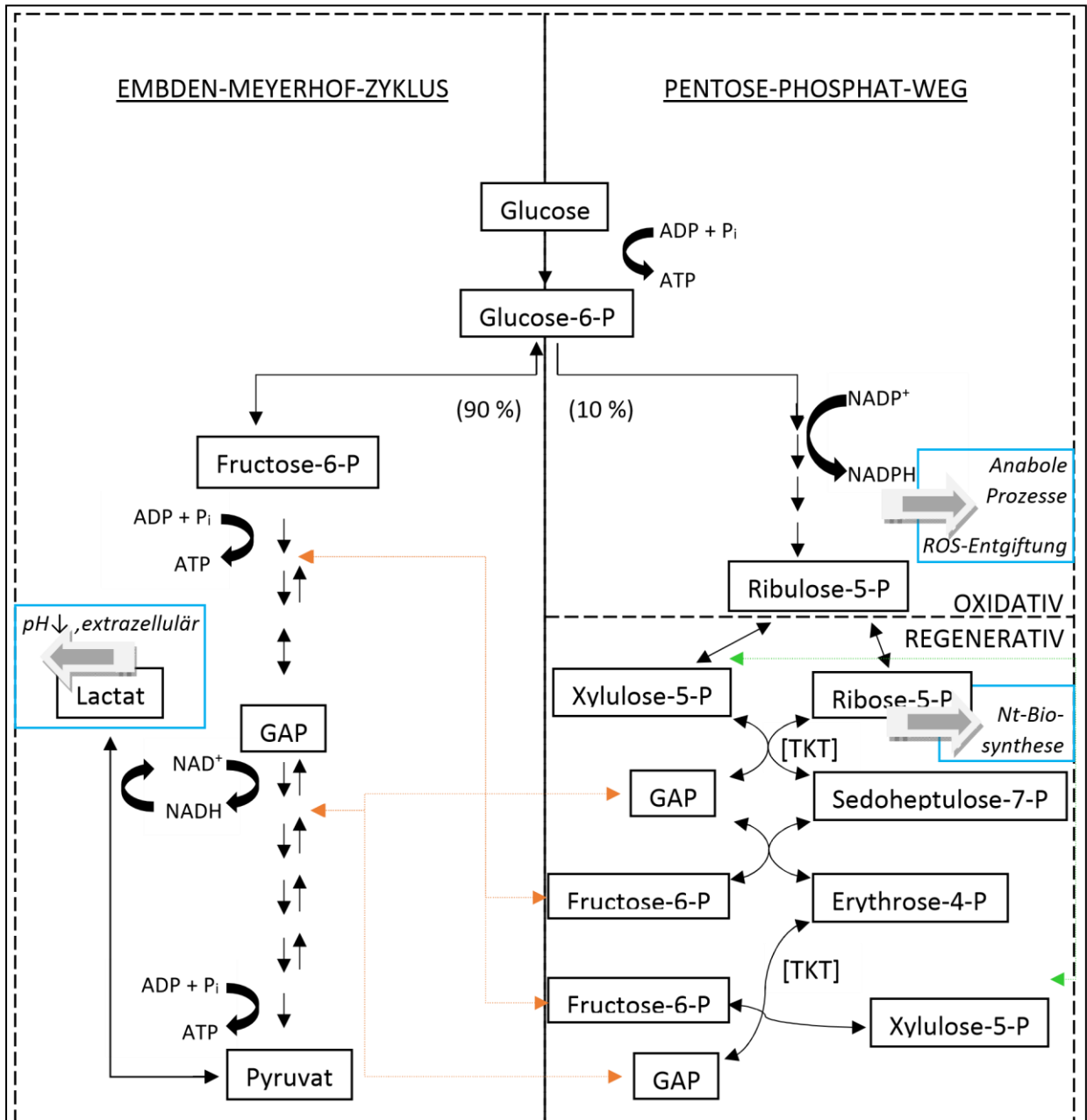


Abb. 4 Vereinfachte Darstellung des Glucose-Stoffwechsels in Zytosol und Mitochondrium wie er in Lehrbüchern beschrieben ist (Koolman & Röhm, 2009, S.128-133; Löffler, 2007c, 357-368; Königshoff & Brandenburger, 2009, S.484-486, 490-492) mit Darstellung der dort beschriebenen Funktion einer Transketolase (Nt=Nukleotid, -P=Phosphat, ROS=reactive oxygen species, GAP=Glycerinaldehyd-3-Phosphat)

Der Nobelpreisträger Otto Warburg prägte den Begriff der aeroben Glycolyse (1924; 1956, siehe auch 1.3.3). Warburgs aerobe Glycolyse ist dabei nicht mit der „aeroben Glycolyse“ heutiger Lehrbücher gleichzusetzen (vgl. Koolman & Röhm, 2009, S.130). Auch dort wird aerobe von anaerober Glycolyse unterschieden. Beides sind dort jedoch Varianten des Embden-Meyerhof-Zyklus, in dem aus Glucose Pyruvat hergestellt wird. Der in Lehrbüchern als „aerobe Glycolyse“ bezeichnete Stoffwechselweg unterscheidet sich von dem der anaeroben dadurch, dass Pyruvat direkt über einen Monocarboxylat-Transporter weiter in die Mitochondrien-Matrix transportiert.

Dort wird es von der Pyruvat-DH zu Acetyl-CoA metabolisiert (Koolman & Röhm, 2009, S.118-119). Dahingegen muss in manchen Geweben bzw. unter anaeroben Bedingungen das Coenzym  $\text{NAD}^+$  zur Aufrechterhaltung der Glycolyse regeneriert werden („anaerobe Glycolyse“). Dies geschieht unter Verstoffwechslung von Pyruvat zu Laktat durch eine Laktat-DH (Koolman & Röhm, 2009, S.130-131).

Bei ausgewogener Ernährung werden in einem gesunden Organismus über 50% der zugeführten Energie durch Kohlenhydrate gedeckt (Löffler, 2007c, S.358). Der energieliefernde Teil des Kohlenhydrat-Stoffwechsels muss also ständig am Laufen gehalten werden. Nach Koolman und Röhm (2009, S.132) gehen in den meisten Zellen weniger als 10% des durch ATP angeregten Glucose-6-P in den PPP.

Die Energie-Bilanz von PPP und Glycolyse zeigen vereinfacht rechnerisch dargestellt, warum dies so ist:

#### **Glycolyse, aerob**

1 Molekül Glucose  $\longrightarrow$  2 ATP direkt (rechnerisch knapp 30 ATP indirekt)  
Zusätzlich entstehen 2 NADH und im Weiteren 2x je 4 NADH, 1  $\text{FADH}_2$  und 1 GTP aus den sich anschließenden Stoffwechsel-Prozessen Pyruvat-DH und Citratzyklus. Da bei der oxidativen Phosphorylierung aus 1 NADH 2,3 ATP und aus 1  $\text{FADH}_2$  1,4 ATP entstehen (Brandt, 2007, S.502) ergibt sich eine Energiebilanz von knapp 30 ATP!

#### **Glycolyse, anaerob**

1 Molekül Glucose  $\longrightarrow$  2 ATP

## PPP

1 Molekül Glucose  $\longrightarrow$  „Der Pentosephosphatweg dient nicht der Energiegewinnung.“ (Königshoff & Brandenburger, 2009, S.490)

Trotzdem unterhalten zum Beispiel Erythrozyten in einem reduzierten Erhaltungsstoffwechsel, mit der für sie wertvollen Glucose neben anaerober Glykolyse auch den PPP. Sie benötigen den PPP, weniger für anabole Prozesse wie andersorts im Körper, sondern für die Bereitstellung von NADPH zur „Entgiftung“ von Radikalen (Koolman & Röhm, 2009, S.290).

Es lässt sich festhalten, dass die Transketolase nach aktuellen Lehrbüchern ein Enzym ist, das zwei Reaktionen im regenerativen Teil des PPP katalysiert. Sie steht somit für die Wiederverwertung von Substraten, nachdem Glucose der Energiegewinnung entzogen wurde, um anabole Prozesse oder Abwehr von Radikalen zu gewährleisten. In manchen Geweben ist der PPP wichtiger als in anderen, da anabole Prozesse oder Radikalenabwehr dort eine große Rolle spielen. Im folgenden Kapitel soll der Tumormetabolismus und speziell der Kohlenhydrat-Stoffwechsel in Tumorzellen näher beleuchtet werden.

### **1.3.3 Veränderungen im Glucose-Stoffwechsel bei Tumoren – der Warburg-Effekt**

Vor mittlerweile über 90 Jahren publizierten Warburg, Posener und Negelein das bekannte und viel zitierte Werk „Über den Stoffwechsel der Carcinomzelle“ (1924). Darin beschreiben sie die Entdeckung, dass das Verhältnis Glycolyse zu „Atmung“ in Karzinomzellen beim Wechsel von anaeroben zu aeroben Bedingungen nicht deutlich zu Gunsten der „Atmung“ verschoben ist, wie es früher in gesundem Gewebe (Muskelgewebe) entdeckt wurde. Im Gegenteil: Karzinomzellen betreiben auch unter aeroben Bedingungen zu einem größeren Anteil Glycolyse (drei- bis viermal mal mehr Glycolyse als „Atmung“). Diesen Stoffwechsel nannten sie aerobe Glycolyse.

Allerdings zeigte sich dieses Phänomen nur bei bösartigen Tumoren, bei gutartigen war das Verhältnis Glycolyse zu „Atmung“ unter aeroben Bedingungen ausgeglichen.

Auf diese Weise erhöhter Glucose-Verbrauch wird bei der Mehrheit aller Tumoren beobachtet (Locasale & Cantley, 2010). Beziffert wird dieser erhöhte

Verbrauch von Glucose bei aggressiven Krebsformen auf das 20- bis 30-fache gegenüber gesunden Zellen (Wittig & Coy, 2008). Seit Jahren schon wird dieses Phänomen in der Bildgebung nutzbar gemacht durch die FDG-PET bzw. FDG-PET-CT.

Warburg (1956) führte diese Verschiebung des Stoffwechsels von Zell-„Atmung“ bzw. oxidativer Phosphorylierung (OxPhos) hin zu aerober Glycolyse auf einen Defekt der Atmungskette zurück. Erhöhte Glycolyse findet allerdings auch in gesunden Geweben wie Retina und Hoden statt (Wittig & Coy, 2008). Dem folgend sehen es DeBerardinis, Lum, Hatzivassliou und Thompson (2008), Warburg widersprechend, als ausgeschlossen an, dass der Warburg-Effekt nur auftritt, wenn eine Schädigung des oxidativen Metabolismus vorliegt.

Vielmehr scheint die Verschiebung des Stoffwechsel-Schwerpunktes von OxPhos zu aerober Glycolyse der Tumorzelle einen Wachstumsvorteil zu bieten: Gatenby und Gillies (2004) gehen davon aus, dass eine „near-universal property of primary and metastatic cancers“ einen evolutionären Vorteil bieten muss. Sie vermuten, dass die Hochregulierung der Glycolyse und deren Etablierung auch unter aeroben Umständen eine Adaptation an temporäre Hypoxie proliferierender Zellen sein könnte. Demzufolge wäre diese Umstellung des Metabolismus eine sekundäre Anpassung an ein früheres Ereignis und demnach ein nicht ganz frühes Ereignis maligner Transformation.

Einige Forscher haben sich bereits mit der Regulation der aeroben Glycolyse befasst. Nach DeBerardinis et al. (2008) ist die PI3K/Akt/mTOR-Kaskade der *Master Regulator* hierbei. Sie aktiviert und stabilisiert in der Folge HIF1 $\alpha$ , wodurch die Zelle im „Hypoxie-Modus“ bleibt und GLUT, glycolytische Enzyme sowie LDH-A hochreguliert.

Verglichen mit OxPhos ist die aerobe Glycolyse ein ineffizienter Weg Energie (ATP) zu generieren. Trotzdem muss angenommen werden, dass Tumorzellen dadurch einen Vorteil haben: Zunächst einmal stellen DeBerardinis et al. (2008) nach Einsicht verschiedener Studien überraschenderweise fest, dass bei genügend hohem *Flux* die Menge an ATP aus Glycolyse die aus OxPhos sogar übersteigen kann. Das Problem dabei ist, dass für die Glycolyse NAD<sup>+</sup> als Coenzym zu Verfügung stehen muss. Dieses muss durch LDH-A regeneriert



werden. Dadurch entstehen große Mengen Laktat, die aus der Zelle transportiert werden. So sinkt der extrazelluläre pH-Wert. Diese Azidose ist ein möglicher Vorteil für die Tumorzelle, da sie sich ins umliegende gesunde Gewebe ausbreiten, dort zum einen direkte mutagene Wirkung entfalten (Gatenby & Gillies, 2004) und darüber hinaus zu einer Matrixdegradation führen könnte. Diese Matrixdegradation könnte dann Säure-induzierte Tumordinvasion begünstigen (Langbein et al., 2006; Gatenby & Gillies, 2004). Ein weiterer möglicher Vorteil dieses Tumormetabolismus ist, dass die Herunterregulierung von OxPhos durch HIF1 $\alpha$  eine verringerte Produktion von Sauerstoff-Radikalen (ROS) bewirkt (Wittig & Coy, 2008). Dadurch werden potentiell Apoptose-induzierende Schäden vermieden. Des Weiteren bietet aerobe Glycolyse die Möglichkeit für die Tumorzelle Bioenergetik und Biosynthese zu kombinieren (DeBerardinis, 2008).

Kurz formuliert: Krebszellen betreiben verstärkt Glucose-Stoffwechsel, auch unter aeroben Bedingungen, das war die Entdeckung von Otto Warburg. Da dieser Metabolismus bei den meisten Tumorentitäten vorkommt, ist anzunehmen, dass er einen Vorteil mit sich bringt. Es gibt einige Theorien, wie diese aussehen und zustande kommen. Unklar ist noch immer, wie Warburgs aerobe Glycolyse biochemisch abläuft. Es ist davon auszugehen, dass sie nicht einfach mit der unter 1.3.2 erwähnten, aeroben Glycolyse heutiger Lehrbücher gleichzusetzen ist. Neben dem dort beschriebenen Embden-Meyerhof-Zyklus darf beim Warburg-Effekt sicherlich zumindest der PPP nicht unberücksichtigt bleiben. Wittig und Coy (2008) gehen noch weiter und hinterfragen die Richtigkeit einzelner Reaktionen dieses Glucose-Stoffwechsels, wie sie heute gelehrt werden (siehe 1.3.2).

Coy et al. (2005) behaupten, dass ein TKTL1-basierter Stoffwechselweg den Warburg-Effekt erklärt.

#### **1.3.4 Bedeutung von TKTL1 für den Glucose-Stoffwechsel und die gesamte Zelle**

Im Durchschnitt ist in gesunden Geweben die Gen-Expression von TKT 60- bis 1.000-fach höher als die von TKTL1. Diese ist allerdings stark gewebsspezifisch. In manchen Geweben (Hoden) wird TKTL1 über 12.000 mal

stärker exprimiert als in anderen (Lunge) und ist dadurch dort sogar stärker repräsentiert als TKT (Coy et al. 2005). Nach Wittig und Coy (2008) macht TKTL1 in Krebszellen 50% aller Transketolasen aus. Es wird von mehreren Autoren für unterschiedliche Krebsentitäten berichtet, dass es die einzige Transketolase sei, die in Tumoren hochreguliert ist (Chen et al., 2009; Zhang, Yang & Cai, 2008; Zhang, Yue, Yang, Cai & Kong, 2008; Zhang, Yang, Guo & Cai, 2007; Langbein et al., 2006; Coy et al., 2005).

Da TKTL1 vermutlich im PPP anzusiedeln ist, würde dies dafür sprechen, dass der Warburg-Effekt zu einem nicht kleinen Anteil durch einen verstärkten Umsatz im PPP zustande kommt. Interessanterweise zweifeln Wittig und Coy (2008) Stöchiometrie und Reaktionsschritte des regenerativen Teils des PPP an und Coy et al. (2005) postulierten vorher schon eine durch TKTL1 katalysierte 1-Substrat-Reaktion. Hierbei würde Xylulose-5-P in GAP und einen C<sub>2</sub>-Körper gespalten (Abb.5). Bei diesem könnte es sich um Acetyl-CoA handeln, was die schon 1953 von Medes, Thomas und Weinhouse entdeckte Glucose-basierte Lipogenese in neoplastischen Geweben erklären könnte. Coy et al. (2005) führen weiter aus, dass Acetyl-CoA zum einen die PDH hemmen würde, zum anderen direkt in den Citratzyklus eingeschleust werden und so über die Atmungskette Energie generieren könnte. Ein solcher Stoffwechselweg zur Energiegewinnung würde die ansonsten energetisch ineffizient erscheinende aerobe Glykolyse erklären. Gegen diese Theorie spricht, dass TKTL1 Acetyl-CoA im Cytosol generieren würde, während die PDH sowie Citratzyklus und Atmungskette in der Mitochondrienmatrix bzw. an der inneren Mitochondrien-Membran (Atmungskette) lokalisiert sind. Nichtsdestotrotz könnte die entdeckte 1-Substrat-Reaktion von TKTL1 für das Verständnis der anabolen und energetischen Prozesse in Tumorzellen überaus interessant sein.

Die traditionellen und unter 1.3.3 beschriebenen Funktionen des PPP sind die Bereitstellung des Reduktionsmittels NADPH für anabole Prozesse und für die Entgiftung von ROS sowie die Herstellung von Ribose-5-P für die Synthese von Nucleotiden. Eine Hochregulierung dieses Stoffwechselweges führt also zu einer größeren Bereitstellung dieser Stoffwechselprodukte.

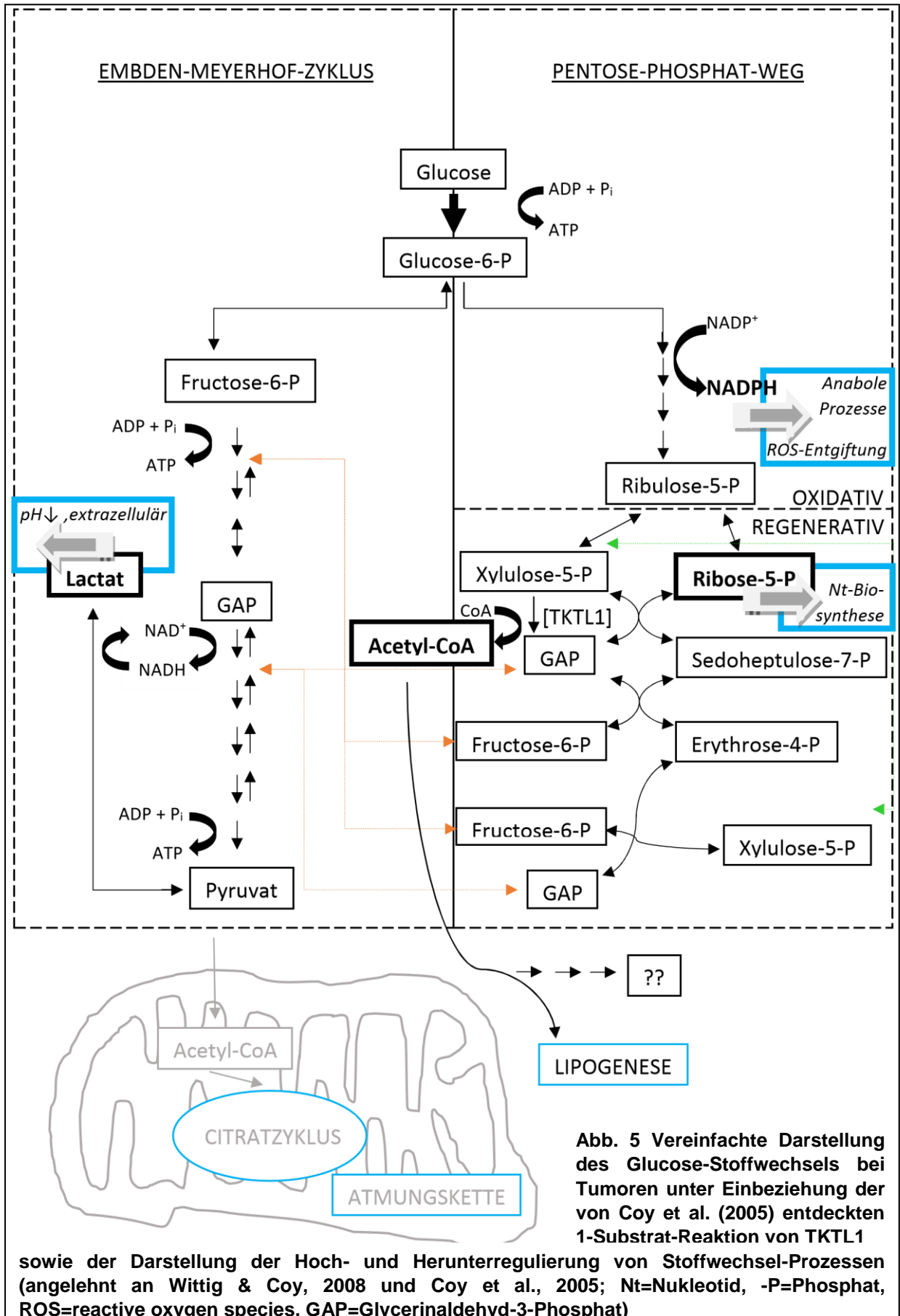


Abb. 5 Vereinfachte Darstellung des Glucose-Stoffwechsels bei Tumoren unter Einbeziehung der von Coy et al. (2005) entdeckten 1-Substrat-Reaktion von TKTL1 sowie der Darstellung der Hoch- und Herunterregulierung von Stoffwechsel-Prozessen (angelehnt an Wittig & Coy, 2008 und Coy et al., 2005; Nt=Nukleotid, -P=Phosphat, ROS=reactive oxygen species, GAP=Glycerinaldehyd-3-Phosphat)

Das könnte einer Tumorzelle in verschiedener Hinsicht entgegen kommen: Verstärkte Kapazität für anabole Prozesse wie Fettsäuren für Membranen und Nukleotide für DNA legt nahe, dass die Zelle sich schneller teilen könnte. Verstärkte Puffer-Kapazität gegenüber Radikalen würde die Tumorzelle weniger anfällig für Apoptose machen. Demzufolge wäre sie auch weniger anfällig für Radikalen-auslösende Therapien wie Radio- und Chemo-Therapie, sie würde also zu einem gewissen Grad resistent.

Es scheint demnach, als würde der veränderte Tumormetabolismus verbesserte Bedingungen für Überleben und Teilung der einzelnen Zellen auf Kosten der Energiebereitstellung (Herunterregulierung der OxPhos) schaffen. Schon die Ergebnisse von Killburn, Lilly und Webb aus dem Jahr 1969 legen jedoch nahe, dass der Hauptteil der von menschlichen Zellen benötigten Energie für grundlegende zelluläre Prozesse wie die Aufrechterhaltung von Konzentrationsgradienten benötigt wird. Schnelle Zellteilung würde also nicht zu einem stark erhöhten Energie-Bedarf führen. So könnte zum einen der erhöhte Umsatz von Glucose über den Embden-Meyerhof-Zyklus den Energiebedarf decken. Zum anderen könnten möglicherweise noch nicht verstandene an die 1-Substrat-Reaktion von TKTL1 angeschlossene Reaktionen hier eine Rolle spielen.

Aerobe Glycolyse inklusive hochreguliertem PPP könnte so für Tumorzellen die ideale Kombination aus Biosynthese und Bioenergetik darstellen. Zumal die Ergebnisse von Kathagen et al. (2013; am Beispiel von Glioblastom-Zellen) darauf hindeuten, dass Tumorzellen dazu in der Lage sind, auf äußere Bedingungen und daraus entstehenden Anforderungen durch eine Anpassung des Kohlenhydrat-Stoffwechsels zu mehr Embden-Meyhof-Zyklus oder mehr PPP zu reagieren. Darüber hinaus scheint der erhöhte Glucose-Umsatz und die darauf folgende erhöhte Laktat-Produktion die Invasivität und Metastasierung von Tumoren zu forcieren (siehe 1.3.3).

Nach Coy et al. (2005) tritt aerobe Glycolyse auch in nicht-malignen und gesunden Zellen auf, da sie zum Beispiel einen Schutz vor Hyperglykämie bietet. Niedrige aerobe Glycolyse könnte nach diesen Autoren bei Diabetes mellitus eine Rolle für Hyperglykämie-induzierte Schäden spielen. Das

Unternehmen Tavarlin führt bei seiner Befundung auch zum Beispiel Mitochondriopathien und zellulären Stress als Ursache für eine Reduktion von OxPhos und eine Erhöhung von aerober Glycolyse bzw. eines dafür stehenden hohen TKTL1-Werts auf. Bei Tumorzellen schreiben Riganti, Gazzano, Polimeni, Aldieri und Ghigo (2012) dem PPP, der anscheinend an der aeroben Glycolyse beteiligt ist, allerdings auch eine Bedeutung für das Ansprechen von Anti-Tumor-Therapie und so für das Schicksal von Tumorzellen zu.

TKTL1 ist also ein interessantes Enzym, das neben den katalytischen Funktionen von TKT anscheinend noch weitere bietet, die dazu führen, dass der regenerative Teil des PPP möglicherweise ergänzt werden muss. Es könnte der Schlüssel zur biochemischen Erklärung von Warburgs aerober Glycolyse sein. Durch die Hochregulierung des PPP bieten sich der Zelle verschiedene Vorteile. Nicht ganz geklärt ist eventuell die Deckung des Energiebedarfs in diesem Modell. Da TKTL1 wohl in Tumorzellen überexprimiert auftritt, ist es für die Krebsforschung sehr interessant und könnte auch für das Prostatakarzinom ein bedeutender Marker werden.

### **1.3.5 Möglicher Nutzen von TKTL1 als medizinischer Marker bei Patienten mit Prostatakarzinom**

Schon 1924 assoziierten Warburg, Posener und Negelein erhöhte Glucose-Aufnahme unter aeroben Bedingungen mit Malignität. Kunkel et al. (2003) untersuchten an 31 Patienten mit OSCC die Glut-1-Expression sowie FDG-PET. So stellten sie unter den Tumoren glycolytische Phänotypen fest. Ein solcher entsprach einem signifikanten Marker für schlechte Prognose und Gesamtüberleben.

Auch TKTL1 detektiert hochregulierten Glucose-Metabolismus. Feyen et al. (2012) demonstrierten bei 240 Patienten mit bestätigten oder suspekten Krebs-Erkrankungen eine Konkordanz von positiven FDG-PET-Ergebnissen mit positiven TKTL1-Tests von 90%.

TKTL1 kann mit Hilfe von Antikörpern wie dem in den meisten Publikationen beschriebenen JFC12T10 und zum Beispiel immunhistochemischer Färbung eines Gewebeschnittes nachgewiesen werden. Ein positiver TKTL1-Status, der mit einer Stoffwechsel-Verschiebung hin zu aerober Glycolyse einherginge,

wäre nach Gatenby und Gillies (2004) kein ganz frühes Ereignis maligner Transformation. Auch die Firma Tavarlin, die kommerziell mit TKTL1-Tests arbeitet, sieht zumindest Apo10 in der Tumorgenese als früher relevant an (Tavarlin, 2011a, S.7). Trotzdem könnte TKTL1 ein Prostatakarzinom ähnlich früh detektieren wie PSA und das mit einer möglicherweise niedrigeren Rate an falsch-positiven Tests wie die Ergebnisse von Arnoldt (2011) hoffen lassen. TKTL1 könnte als Marker für Malignität (Endometriumkarzinom - Krockenberger et al., 2010; anaplastisches Nephroblastom - Wu, Allie, Myer & Govender, 2009; Nasopharynxkarzinom - Zhang, Yang et al., 2008; nicht-kleinzelliges Bronchialkarzinom - Schultz et al., 2008; Tumoren der okulären Adnexe - Lange et al., 2012) helfen ein gezielteres Screening für Prostatakarzinom zu ermöglichen, was gerade vor dem aktuellen Hintergrund der Überdiagnostik und Übertherapie überaus interessant wäre.

Aus einem TKTL1-Screening-Test wären möglicherweise auch bereits einige diagnostische Vermutungen herauszulesen (Tab.4). Diese Tabelle erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit und an dieser Stelle soll auch nicht außer Acht gelassen werden, dass mehrere Autoren zu gegensätzlichen Ergebnissen kommen: Fenske et al. (2009) entdeckten keine Korrelation zwischen TKTL1-Status und *Outcome* bei Nebennierenrindenzarzinomen. Während dies eventuell noch hätte erwartet werden können, da die Nebennierenrinde Ort der Steroidhormon-Synthese ist und aus diesem Grund der PPP in der Nebennierenrinde sowieso eine spezielle Rolle spielt, überraschen die Ergebnisse von Földi et al. (2007) und Fritz et al. (2012): Erstere Studie entdeckte bei Mammakarzinom keine Korrelation zwischen TKTL1 und Patienten-*Outcome* und Überleben. Bei der Studie von Fritz et al. (2012) an 197 Lungenkrebs-Patienten wurde das Fehlen einer Korrelation zwischen TKTL1 und den Parametern Gesamtüberleben, krankheitsfreies Überleben, TNM-*Staging* und *Grading* festgestellt. Ohne an dieser Stelle auf eine tiefere Durchleuchtung der erwähnten Studien eingehen zu wollen, zeigt sich, dass der Marker TKTL1 für verschiedene maligne Erkrankungen auch unterschiedlich wertvoll sein könnte. Die in Tab.4 aufgelisteten Assoziationen belegen jedoch,

dass er eine enorme diagnostische Wertigkeit – möglicherweise auch für das Prostatakarzinom – haben könnte.

**Tab. 4 Berichtete Assoziationen eines positiven TKTL1-Status mit diagnostisch wichtigen Parametern**

Parameter	Publikation	Tumorentität
T-Stadium ↑	Feyen et al. (2012)	nicht-kleinzelliges Bronchialkarzinom
N-Stadium ↑	Diaz-Moralli, Tarrado-Castellarnau, Alenda, Castells & Cascante (2011)	Kolorektales Karzinom
	Zhang, Yang et al. (2008)	Nasopharynxkarzinom
	Zerilli et al. (2008)	papilläres Schilddrüsenkarzinom
M-Stadium ↑	Zhang, Yang et al. (2008)	Nasopharynxkarzinom
Grading ↑	Kayser et al. (2011)	nicht-kleinzelliges Bronchialkarzinom
	Kohrenhagen et al. (2008)	Cervix-Neoplasie
	Völker et al. (2008)	Glioblastom/Astrozytom
KH-bezogenes Überleben ↓	Kayser et al. (2011)	nicht-kleinzelliges Bronchialkarzinom
	Schwaab et al. (2011)	Rektumkarzinom
	Völker, Scheich, Schmausser, Kämmerer, Eck (2007)	Plattenepitheliales Larynxkarzinom
	Grimm, Schmitt et al. (2013)	OSCC
Multifaktorielles Überleben ↓	Lange et al. (2012)	Tumoren der okulären Adnexe

Eine Studie von Lange et al. (2012) deutet zudem darauf hin, dass ein erhöhter TKTL1-Wert auf ein erhöhtes Rezidiv-Risiko hindeuten könnte.

In der Nachsorge des Prostatakarzinoms (siehe 1.1.5) ist die PSA-Wert-Bestimmung ein sehr sensitiver Test. Die aktuelle Diskussion dreht sich allerdings darum, ob erkannte biochemische Rezidive „behandlungsbedürftig“ sind bzw. ab wann. Hier könnte die TKTL1-Wert-Bestimmung eine Lösung sein, da sie wohl aktive Tumorprogression und Wachstum anzeigt (Smith et al., 2009; Langbein et al., 2008; Kohrenhagen et al., 2008; Furuta, Okunda, Kobayashi & Watabe, 2010).

Der TKTL1-Test könnte nicht nur Relevanz in Bezug auf Früherkennung, Diagnostik und Nachsorge haben, sondern sogar auf die Therapie des

Prostatakarzinoms. TKTL1-positive Tumoren unterschiedlicher Entität wurden schon von verschiedenen Forschergruppen durch siRNA bzw. RNAi inhibiert: Glioblastom (Wanka, Steinbach & Rieger, 2012), Cervixkarzinom (Chen et al., 2009), Nasopharynxkarzinom (Zhang, Yue et al., 2008) und Hepatom (Zhang et al., 2007). Die Ergebnisse scheinen vielversprechend in Zukunft auf diese Weise Tumoren an der Proliferation zu hindern. Auch die von Tavarlin propagierte und zum Beispiel von Grimm, Hoefert et al. (2013) vorgeschlagene nutritive Einwirkung auf den Glucose-Stoffwechsel bei Krebserkrankungen findet erste wissenschaftliche Untermauerung (Emond et al., 2014).

Das Potenzial des Markers TKTL1 könnte also riesig sein. In Bezug auf das Prostatakarzinom wurde bisher allerdings kaum geforscht. Lediglich zwei Studien sind bisher veröffentlicht: Eine kleine Studie von Arnoldt (2012) an 22 Patienten scheint ohne den Begriff zu verwenden einen positiven prädiktiven Wert für TKTL1 von 88% darzustellen, während dieser für PSA in der Studie bei 63% lag und die Studie von Grimm, Schmitt et al. (2013), die ebenso die statistischen Gütekriterien der TKTL1-Bestimmung nach der EDIM-Methode retrospektiv erforscht und zu dem Ergebnis kommt, dass 91% von 115 an Prostatakrebs Erkrankten TKTL1-positiv waren.

Zusammengefasst lässt sich sagen, TKTL1 ist das erste beim Menschen beschriebene TKT-Homolog. Es weist eine Deletion von 38 Aminosäuren auf. Hierdurch soll es erweiterte enzymatische Funktion besitzen. Manche Kritiker postulierten, dass dadurch die Fähigkeit des Enzyms, TPP zu binden und die Transketolase-Funktion auszufüllen, verloren gegangen sei, was seitdem kontrovers diskutiert wird.

Nach aktuellen Lehrbüchern ist TKT ein Enzym des regenerativen PPP. Sie wirkt somit in der Verbindung der verschiedenen Zweige des Glucose-Stoffwechsels (PPP und Embden-Meyerhof-Zyklus) und verknüpft Energiegewinnung mit anabolen Prozessen und Radikalenabwehr. Die Expression von TKT und damit auch der PPP treten gewebsspezifisch auf. Viele Krebszellen betreiben verstärkt Glucose-Stoffwechsel, auch unter aeroben Bedingungen (Warburg-Effekt).



Es wurde postuliert, dass TKTL1 dabei eine große Rolle spielt. Die katalytischen Eigenschaften von TKTL1 sollen den regenerativen Zweig des PPP erweitern, was den Schlüssel zur Erklärung der aeroben Glycolyse darstellen soll. Aus exzessivem Glucose-Verbrauch einhergehend mit einer Hochregulierung des PPP ziehen diese Zellen wohl Vorteile gegenüber anderen. Für Tumorzellen soll das die ideale Symbiose aus Bioenergetik und Biosynthese darstellen.

Es wurde mehrfach publiziert, dass TKTL1 in Tumorzellen überexprimiert vorkommt. Diese Ergebnisse entstanden fast ausschließlich durch Forschung an anderen Tumorentitäten. Die Forschungslage am Prostatakarzinom ist sehr eingeschränkt und bedarf weiterer Untersuchungen zur klinischen Bedeutung. TKTL1 ist jedoch sehr interessant für die Krebsforschung und könnte auch einen bedeutsamen Marker für das Prostatakarzinom darstellen, sowohl für das Screening, wo es erkennen könnte, ob ein hoher PSA-Wert mit Malignität zusammenhängt, als auch für die Diagnostik, da es mit verschiedenen diagnostischen und prognostischen Parametern assoziiert wird, als auch in der Nachsorge, wo es helfen könnte festzustellen, ob ein biochemisches Rezidiv im Wachsen begriffen ist.

#### **1.4 EDIM-Methode**

Schon vor über zehn Jahren berichteten Herwig et al. (2004) von einer neuen nicht-invasiven Methode zur Bestimmung des PSA in peripheren Makrophagen. Dabei wurde Oberflächen-gebundenes wie auch intrazelluläres PSA mittels Durchflusszytometrie bei Makrophagen aus peripherem Blut bestimmt. Leers, Nap, Herwig, Delaere und Nauwelaers (2008) führten die Forschung an aktivierten (CD14+/CD16+) Makrophagen aus peripherem Blut zur intrazellulären PSA-Bestimmung mit vielversprechenden Ergebnissen fort (signifikante Unterschiede zwischen benignen und malignen Erkrankungen sowie zwischen lokalen und metastasierten Prostatakarzinomen). Dieser später als EDIM (Epitope Detection in Monocytes) bezeichnete Test, wurde also in mehreren Studien als zuverlässige neue Methode zur Bestimmung des intrazellulären PSA eingesetzt. Auch bei anderen Markern wurde sie evaluiert:

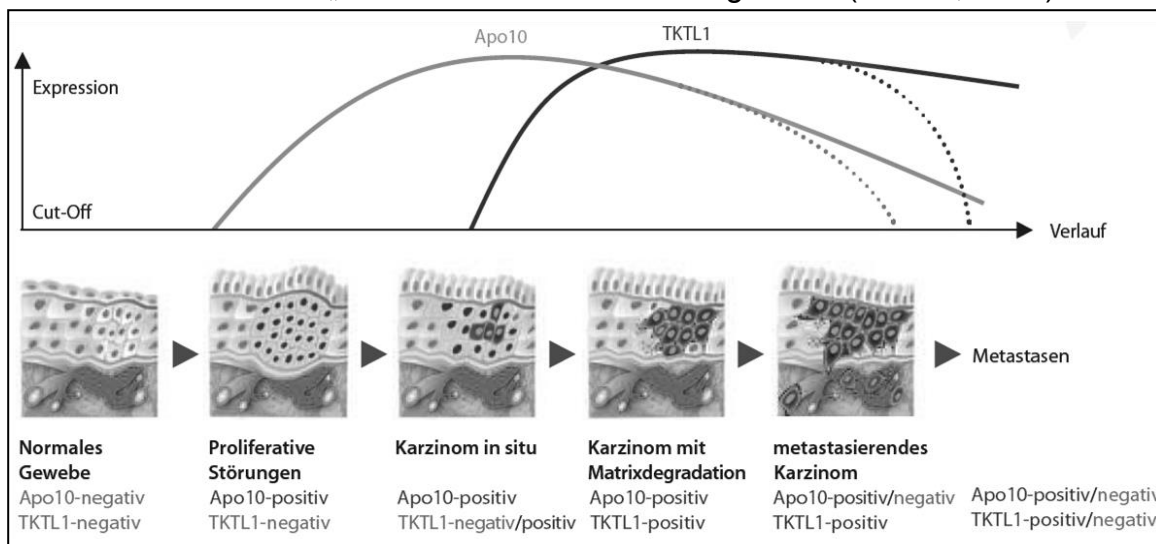
Japink, Leers, Sosef und Nap (2009) hielten die Untersuchung mit dieser Methode auf CEA hin bei Kolorektalem Karzinom allerdings nur in Kombination mit der CRP-Bestimmung im Serum für potentiell diagnostisch nutzbar. Ebenso wurde die Methode bei entzündlichen Erkrankungen getestet. Montag und Lotze (2006) analysierten Oberflächen- und intrazelluläre Epitope in Makrophagen als neue Möglichkeit zur Erfassung von Abnormalitäten bei akuten und chronischen Entzündungen. 2014 ermittelten Japink et al. Aussagen zur Reproduzierbarkeit für diese neue EDIM-Methode: Die Proben waren 24 Stunden nach der Venenpunktion noch immer stabil. Biologische Variationen unterschieden sich nicht von denen von Serum-Markern. Patienten besitzen einen individuellen Baseline-Wert. Insgesamt war die EDIM-Methode reproduzierbar und objektiv.

Bei der EDIM-Methode wird lediglich eine venöse Blutprobe benötigt. Darin wird die Eigenschaft der Antigenpräsentation des körpereigenen spezifischen Immunsystems genutzt. Man geht davon aus, dass Monozyten bzw. Makrophagen mit Krebszellen in Kontakt kamen, diese phagozytierten, Teile davon auf ihrer Oberfläche präsentierten und dann im Kreislaufsystem rezirkulierten, wodurch sie auch in einer peripheren venösen Blutprobe enthalten sind. Diese aktivierten „Fresszellen“ können gegebenenfalls durch Antikörper markiert mittels Durchflusszytometrie detektiert werden (Feyen et al., 2012). Dabei wird ein Nachteil der EDIM sofort deutlich: Ein geschädigtes Immunsystem, zum Beispiel in Folge einer Chemotherapie, würde die Auswertbarkeit der Testergebnisse erheblich einschränken. Nichtsdestotrotz erscheint das Potenzial der EDIM-Methode bei geeigneten Markern wertvolle Informationen durch einen einfach durchführbaren, wenig invasiven und kostengünstigen Test zu gewinnen riesig.

So kam es dann auch, dass zunächst ein EDIM-TKTL1- (Feyen et al., 2012) und kurz danach ein EDIM-Apo10-Test (Jansen & Coy, 2013) mit Hilfe der Antikörper JFC12T10 und Apo10 (DJ28D4) entwickelt wurde. Diese beiden Tests in Kombination könnten zwei der sechs von Hanahan und Weinberg (2011) postulierten biologischen Fähigkeiten bei der Krebsentwicklung ermitteln: Resistenz gegenüber Zelltod (Akkumulation von Apo10, bzw. DNase

X) und Invasion und Metastasierung (Überexpression von TKTL1 und konsekutive extrazelluläre Laktat-Akkumulation mit Matrixdegradation). Mit der Einführung dieser Kombination zweier im Grunde unabhängiger Tests wäre zum ersten Mal ein 2-Stufen-Modell der Detektion und Charakterisierung von Tumoren verfügbar: Tavarlin postuliert, dass wenn maligne Tumoren sich (wie bei vielen anderen Krebserkrankungen so auch beim Prostatakarzinom) aus benignen Vorstufen entwickeln, zeigt der EDIM-Apo10-Test bereits eine benigne proliferative Störung an, während der EDIM-TKTL1-Test eine spätere maligne Transformation anzeigt (Abb.6).

Diese Detektion von Tumoren soll dabei nicht spezifisch, sondern unabhängig von der Tumorentität sein (Tavarlin, 2011a, S.2). Forschungsergebnisse wie die in Tab.4 aufgelisteten an zumindest elf verschiedenen Entitäten scheinen das zu belegen. So fühlte sich auch das Universitätsklinikum Tübingen (2014) nach der bereits erwähnten Publikation von Grimm, Schmitt et al. (2013) zu EDIM-Apo10- und EDIM-TKTL1-Tests bei Patienten mit OSCC, Mamma- und Prostatakarzinom dazu berufen eine Pressemitteilung herauszugeben mit dem Titel „Bluttest zum frühzeitigen Krebs-Nachweis erfolgreich“. Nicht-wissenschaftliche Medien schrieben daraufhin plakativ von einer „medizinischen Sensation“ und einem „Meilenstein in der Krebsdiagnostik“ (Bild.de, 2014).



**Abb. 6 Schematische Darstellung der postulierten Tumorgenese im 2-Stufen-Modell anhand der Expression der Marker Apo10 und TKTL1 (Tavarlin, 2011a, S.7)**

Zusammengefasst lässt sich sagen, die EDIM-Methode wird seit über zehn Jahren beforscht. Publikationen zur Bestimmung von Apo10 bzw. TKTL1 nach

der EDIM-Technologie gab es bisher von Arnoldt (2011; TKTL1), Feyen et al. (2012; TKTL1), Jansen und Coy (2013; Apo10 & TKTL1) und Grimm, Schmitt et al. (2013; Apo10 & TKTL1). Dabei ist es ein vielversprechendes Verfahren: Durch EDIM könnte es gelingen die ebenfalls vielversprechenden Marker Apo10 und TKTL1 in einem wenig invasiven Test kostengünstig und einfach durchführbar verfügbar zu machen. So könnte es schnell und einfach wichtige Informationen über Krebserkrankungen liefern.

## **1.5 Ziel der Studie**

Das Prostatakarzinom ist eine der bedeutendsten Erkrankungen bei Männern in Deutschland. Aktuell steht vor allem das Screening zur Diskussion. Es detektiert viele insignifikante Prostatakarzinome, was häufig in Überdiagnostik resultiert. Der aktuellen Routine-Diagnostik ist es anzulasten, dass dies in Übertherapie münden kann. Auch in der Nachsorge des Prostatakarzinoms ist die Wertigkeit von neu auftretenden biochemischen Rezidiven nicht zweifelsfrei einzuordnen. Eine optimale Lösung wäre es die Tumoren (und auch Rezidive) weiterhin früh zu erkennen, sodass bestmögliche Heilungschancen bestehen, sie aber gleichzeitig so zu charakterisieren, dass „behandlungsbedürftige“ besonders auffallen. Dabei sollten alle Untersuchungen kosteneffizient bleiben. Genau hierbei könnten die Marker Apo10 und TKTL1 Abhilfe schaffen. Beide treten wohl gehäuft bei Tumoren auf. Apo10 als postulierter Marker für Proliferationsstörungen (benigne oder maligne) soll in der Tumorgenese früh positiv werden. TKTL1 soll dagegen die Transformation des Glucose-Metabolismus hin zu einem „Tumorstoffwechsel“ anzeigen (Warburg-Effekt), wodurch aktive maligne Zellen erkannt würden. Konsequenz dieser Transformation sollen Invasivität und Metastasierung sein. Durch die EDIM-Methode ist es nun möglich diese beiden Marker, die früher einer Gewebeprobe bedurften, in einer einfachen venösen Blutprobe zu messen. Die Bestimmung von Apo10 und TKTL1 lässt also hoffen, Prostatakarzinome in Zukunft exakter charakterisieren zu können. Und die EDIM-Technologie macht die Untersuchung mit einer einfachen Blutentnahme kostengünstig, wenig invasiv, einfach durchführbar und überall verfügbar.

Das Ziel unserer Studie ist die prospektive Bestimmung von EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 im Blut vor und im Verlauf nach Prostatektomie bei einem definierten Patientenkollektiv mit bioptisch gesichertem Karzinom. So sollen Informationen über die Aussagekraft des Markerpaars für Diagnostik, Prognostik und Nachsorge gewonnen werden. Vor allem sollen mögliche Zusammenhänge von Apo10 und TKTL1 mit präoperativ bestimmten tumorbezogenen Daten zu *Staging*, *Grading* sowie zu vorbestehenden Prognoseparametern untersucht werden und insbesondere der Einfluss der radikalen Prostatektomie auf die individuelle Ausprägung des Apo10- und TKTL1-Scores.

## **2 Methoden**

Gegenstand des zweiten Teils der vorliegenden Arbeit ist nun die Beschreibung des wissenschaftlich-methodischen Vorgehens und der verwendeten Materialien. In Unterkapiteln wird darin auf das Patientenkollektiv, ethische Belange und Datenschutz sowie auf die Datenerhebung und schließlich den Ablauf der statistischen Auswertung eingegangen.

### **2.1 Patientenkollektiv**

Für das Patientenkollektiv kamen alle Patienten in Frage, die sich zwischen 05. Juli 2012 und 24. Oktober 2013 an die Universitätsklinik für Urologie in Tübingen einer radikalen Prostatektomie aufgrund eines Prostatakarzinoms unterzogen. Als Fallzahl waren etwa 200 Patienten mit histologisch gesichertem Nachweis eines Prostatakarzinoms vorgesehen. Anhand der im Folgenden beschriebenen Ein- und Ausschlusskriterien wurde das definitive präoperative Patientenkollektiv bestimmt. Dieses zählte schließlich 174 Patienten.

Für die postoperative Messung der Untersuchungsparameter diente das definitive präoperative Patientenkollektiv als Grundlage. Weitere Ein- und Ausschlusskriterien für die postoperative Bestimmung werden ebenso im Folgenden beschrieben. Die Fallzahl dieses zweiten Kollektivs richtete sich unter anderem nach der Anzahl der Patienten, die mit einer weiteren postoperativen Blutabnahme einverstanden waren. Das definitive postoperative Patientenkollektiv umfasste letztlich 72 Patienten.

#### **2.1.1 Einschlusskriterien**

In das endgültige präoperative Patientenkollektiv konnten jene Patienten aufgenommen werden, bei denen das Prostatakarzinom keine Nachbarstrukturen außer Blasenhalss und/oder Samenblasen infiltriert hatte ( $\leq T3$ ) und bei denen keine bekannte Fernmetastasierung ( $M0$ ) sowie kein Zweitmalignom bestanden. Außerdem musste zwingend eine entsprechende schriftliche und unterschriebene Einverständniserklärung vorliegen, in der der

Patient der Abnahme einer 5ml-Blutprobe im Rahmen einer Routineblutabnahme zustimmte.

In das endgültige postoperative Patientenkollektiv konnten jene Patienten aus dem präoperativen Patientenkollektiv aufgenommen werden, bei denen also jene Ein- und Ausschlusskriterien erfüllt waren. Darüber hinaus wurden nur Patienten in das postoperative Kollektiv eingeschlossen, bei denen eine ausdrückliche Einverständniserklärung für eine weitere 5ml-Blutentnahme im Rahmen eines routinemäßigen Nachsorgetermins vorlag. Der Zeitraum für die postoperativen Untersuchungen war begrenzt auf die Dauer vom 15. November 2012 bis 13. Februar 2014.

### **2.1.2 Ausschlusskriterien**

Ausschlusskriterien für das definitive präoperative Patientenkollektiv waren eine Nicht-Erfüllung der Einschlusskriterien wie etwa ein bekanntes Zweitmalignom, vorliegende Metastasierung oder ein T4-Stadium sowie insbesondere auch das Fehlen oder Widerrufen einer schriftlichen unterschriebenen Einverständniserklärung.

Ausschlusskriterium für das postoperative Kollektiv war darüber hinaus fehlende Zustimmung zur Abnahme einer weiteren Blutabnahme. Außerdem wurden Patienten ausgeschlossen, die nicht sowieso zur Nachsorge in die Klinik für Urologie kamen und deren Wohnort weiter als 50 km von dieser entfernt war oder deren Terminkalender einen Besuch in gegebenen Untersuchungszeitraum nicht zuließ. Darüber hinaus waren weitere Kriterien, die zum Ausschluss aus dem postoperativen Kollektiv führten, nicht zu verwirklichende Kontaktaufnahme (fünf Patienten) und Exitus (ein Patient).

## **2.2 Ethik**

Die Genehmigung zu dieser Studie wurde von der Ethik-Kommission der Medizinischen Fakultät des Universitätsklinikums Tübingen eingeholt. Den Ethik-Antrag hierfür stellte der ärztliche Direktor der Klinik für Urologie Prof. Dr. A. Stenzl sowie Oberarzt Prof. Dr. J. Bedke. Am 19. März 2014 bescheinigte die Ethik-Kommission mit ihrem Vorsitzenden Prof. Dr. D. Luft daraufhin keine Bedenken seitens der Kommission (Projekt-Nummer 124/2014BO2).

## **2.3 Datenschutz**

Bei der Datenerhebung und -auswertung wurde besondere Aufmerksamkeit auf Vertraulichkeit gelegt. Die Auflagen des Datenschutzes wurden beachtet und alle Beteiligten unterlagen und unterliegen immer noch der Schweigepflicht. Sämtliche Patientendaten wurden pseudonymisiert (TAV001, TAV002, ... bzw. TAV001/2, TAV002/2, ...) und danach ausschließlich in ebensolcher Form bearbeitet. Vor dieser Pseudonymisierung hatte nur Personal, das der Schweigepflicht unterliegt, Kontakt mit den erfassten Daten.

Bearbeitet wurden die Daten einzig mit einem Rechner, der vom internen Kliniknetzwerk abgekoppelt ist und keinen Internetanschluss besitzt. Auf dem Rechner befand sich die Datenbank in einem Passwort geschützten Bereich, zu dem nur Befugte Zugang hatten. Befugt waren neben cand. med. Gabriel Keller lediglich Personen, die in einem Angestellten-Verhältnis zur Klinik für Urologie stehen und die unmittelbar mit der Studie befasst waren.

Im Falle einer möglichen Publikation werden die Daten verschlüsselt veröffentlicht, sodass eine Rückführung nicht möglich sein wird.

## **2.4 Klinische und experimentelle Datengewinnung**

Bei der Datenerhebung wurden die präoperativen Blutproben asserviert, es wurde eine Datenbank erstellt, die postoperative Probenasservation vorbereitet und dann durchgeführt. Die Proben wurden im uroonkologischen Labor der Klinik für Urologie, dem Zentrallabor der Universitätsklinik Tübingen sowie dem BIOVIS Labor in Limburg, wo mittels EDIM Apo10 sowie TKTL1 bestimmt wurden, verarbeitet.

### **2.4.1 Präoperative Probenasservation**

Es konnte davon ausgegangen werden, dass Patienten, mit denen eine radikale Prostatektomie vereinbart war, die Einschlusskriterien – Tumor  $\leq$  T3, keine Fernmetastasierung und kein Zweitmalignom – erfüllten. Diese Patienten wurden persönlich besucht. Anhand eines standardisierten angepassten Einverständniserklärungsbogens wurden den Patienten die Studie sowie die Konsequenzen einer Teilnahme erläutert. Da die Probenasservation im



Rahmen einer Routineblutabnahme erfolgte und somit keine gesonderte Venenpunktion notwendig war, entstanden studienbedingt keine Risiken und Nebenwirkungen. Waren die Patienten einverstanden und bestätigten dies schriftlich, erfüllten sie somit alle Einschlusskriterien und wurden in die Studie aufgenommen. Die Routineblutabnahme samt präoperativer Probenasservation – Abnahme einer roten 2,7 ml SARSTEDT Monovette® (Nümbrecht, Deutschland; Zusatz von Kalium EDTA) – fand einen bis drei Tage vor der Operation bei der stationären Aufnahme der Patienten statt.

#### **2.4.2 Erstellung der Datenbank**

Aus den in die Studie aufgenommenen Patienten wurde mit Hilfe des Programms Microsoft Excel® (Version 11.0; Microsoft Corporation, Redmond, USA) eine Datenbank erstellt. Die erfassten Daten wurden dafür aus unterschiedlichen Quellen gewonnen.

Im hauseigenen EDV-Programm wurden die elektronischen Patientenakten gesichtet. Relevant waren dabei Arztbriefe, pathologische Befundungen, Operationsberichte und die von manchen Patienten mitgebrachten und im EDV-Programm erfassten Dokumentationen durch den einweisenden Arzt. Zunächst wurden die vorläufig angenommenen Einschlusskriterien (siehe 2.4.1) überprüft und jene Patienten, die diese nicht erfüllten aus der Studie wieder ausgeschlossen. Nach der postoperativen pathologischen Bewertung waren dann in der Datenbank das Geburtsdatum des Patienten, das Datum der radikalen Prostatektomie, das Datum der präoperativen Blutabnahme, pT-Stadium, pN-Stadium, Gleason 1 und 2, der präoperative PSA-Wert, Prostatavolumen nach TRUS und das Prostatagewicht erfasst.

Letztlich wurden Apo10- und TKTL1-Wert nach der im Weiteren unter 2.4.6 beschriebenen Bestimmung hinzugefügt. Vom BIOVIS Labor erfasste Daten des Differenzialblutbilds bestehend aus der absoluten Bestimmung von Leukozyten, Monozyten, T-Zellen, T-H-Zellen, CTL, T-Reg-Zellen, aktivierten T-Zellen, B-Zellen, NK-Zellen, Lymphokin-aktivierten Killerzellen und der relativen Bestimmung von Monozyten, Neutrophilen, Eosinophilen, Basophilen, T-Zellen, T-H-Zellen, CTL, T-Reg-Zellen, aktivierten T-Zellen, B-Zellen, NK-Zellen, Lymphokin-aktivierten Killerzellen und der Ratio aus CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T-

Zellen wurden aufgenommen. Außerdem wurde der Datenbank eine Kommentarspalte hinzugefügt, in der Begleiterkrankungen eingetragen wurden. Bei den Patienten, bei denen eine postoperative Bestimmung vorgenommen werden konnte, wurde das Datum dieser in die Datenbank aufgenommen sowie die Parameter Apo10, TKTL1, PSA und nach Möglichkeit das Differenzialblutbild wie oben beschrieben. Die Kommentarspalte wurde gegebenenfalls ergänzt.

Schließlich wurden die Daten pseudonymisiert.

### **2.4.3 Vorbereitung der postoperativen Probenasservation**

Zur Vorbereitung der zweiten, postoperativen Probenasservation wurde in Microsoft Excel® zur bestehenden Datenbank eine Arbeitsliste hinzugefügt. Diese Liste führte die in die Studie aufgenommenen Patienten. Nach einer erneuten Recherche in der Klinik-EDV wurden postalische Anschrift der Patienten, Telefonnummer und weiterbehandelnder Arzt bzw. Urologe hinzugefügt. Jene Patienten, die nicht *in domo* weiterbehandelt wurden und einen Wohnort hatten, der weiter entfernt als 50 km von der Klinik für Urologie lag, wurden aus Gründen der Praktikabilität aus dem postoperativen Patientenkollektiv ausgeschlossen.

Innerhalb des erwähnten zweiten Studienzeitraums wurden dann zunächst die Urologen der Patienten, deren Weiterbehandlung nicht *in domo* stattfand, kontaktiert und mit ihnen die Durchführung der Studie inklusive der geplanten PSA-Wert-Bestimmung abgesprochen. Im nächsten Schritt wurden sämtliche in der Liste verbliebene Patienten telefonisch kontaktiert. Sie wurden über den zweiten Teil der Studie informiert und über mögliche Risiken und Nebenwirkungen einer Teilnahme aufgeklärt. Diese bestanden aus den üblichen Risiken einer Routineblutabnahme: in seltenen Fällen blaue Flecke oder lokale Infektionen, in extrem seltenen Fällen Verletzung von Arterien oder Nerven, in vereinzelt beschriebenen Fällen auch Thrombosen oder Thrombophlebitiden. Die Entnahme einer Menge von 5 ml Blut war dabei medizinisch als völlig unbedenklich einzustufen. Da sowohl die Blutabnahme in der Klinik als auch jene außer Haus unter der Aufsicht und Verantwortung eines Arztes stand, war davon auszugehen, dass bei möglichen Kreislaufreaktionen

entsprechende Maßnahmen (z.B. Hochlagern der Beine) sofort hätten eingeleitet werden können und dass die anderen genannten Risiken sehr selten bzw. nahezu ausgeschlossen waren. Jene Patienten, die einer Teilnahme an diesem zweiten Teil der Studie ausdrücklich zustimmten, erfüllten alle Einschlusskriterien und konnten in das definitive postoperative Patientenkollektiv aufgenommen werden.

In der Arbeitsliste wurde festgehalten, wann die Patienten im Einzelnen angerufen wurden, wann sie tatsächlich erreicht wurden und ob sie grundsätzlich mit einer Teilnahme am zweiten Teil der Studie einverstanden waren. Mit jenen Patienten des definitiven postoperativen Kollektivs, die in der Klinik weiterbehandelt wurden und jenen, die gerne bereit waren, eine Anfahrt auf sich zu nehmen, wurde ein Termin in der urologischen Ambulanz zur Blutabnahme vereinbart. Die übrigen wurden um die Erlaubnis zu einem Hausbesuch (ausschließlich durch unser autorisiertes medizinisches Personal in Person von cand. med. G. Keller in Begleitung eines Arztes) gebeten. Bei der Terminvergabe wurde darauf geachtet, den von Tavarlin (2011a, S.13) geforderten Abstand zwischen einer Operation und der EDIM-Bestimmung von mindestens vier Wochen einzuhalten. Die Vorgaben unserer Studie lagen mit einem Mindestabstand von sechs Wochen sogar noch etwas höher. Für die Hausbesuche wurden die Termine so vereinbart, dass sinnvolle Routen zusammengestellt werden konnten. Dies hatte den Grund, dass die Proben früh genug in der Klinik für Urologie sein mussten, damit sie am selben Tag noch von einem Logistik-Unternehmen abgeholt und ins BIOVIS Labor gebracht werden konnten. So wurde gewährleistet, dass zwischen Blutabnahme und Bestimmung der EDIM-Parameter nicht mehr als 24 Stunden lagen. In dieser Zeit wurden die Proben vor direkter Sonneneinstrahlung geschützt und in Schutzröhrchen verpackt. Es war davon auszugehen, dass es schwer umsetzbar sein würde, vor allem bei jenen Patienten, die zuhause besucht wurden, einen fixen Abstand zwischen Operation und postoperativer Probenasservation einzuhalten. Dies bot allerdings die Möglichkeit zusätzlich einen eventuellen Einfluss dieses Zeitabstands auf die Ergebnisse zu untersuchen.

Die erstellte Arbeitsliste wurde später dazu verwendet zu überprüfen, ob alle Patienten, die an der Studie teilgenommen hatten, sowie deren weiterbehandelnde Ärzte über die jeweiligen Ergebnisse informiert worden waren. Danach wurden aus der Arbeitsliste die personenbezogenen Daten der postalischen Anschrift und Telefonnummer entfernt und die Namen der Patienten hier ebenso wie in der Datenbank durch die entsprechenden Pseudonyme ersetzt (TAV001/2, TAV002/2, ...).

#### **2.4.4 Postoperative Probenasservation**

Im Laufe der Vorbereitung der postoperativen Probenasservation ergaben sich für die Hausbesuche sechs sinnvolle Routen, die ganz grob aufgeteilt wurden in die Regionen: Hechingen, Reutlingen, Tübingen mit Schönbuch, Stuttgart-Süd, Stuttgart-Nord/-Ost sowie an der Autobahn A81 entlang Richtung Süden. Aus terminlichen Gründen wurden einigen Patienten Ausnahmen zu dieser Aufteilung angeboten, wodurch etliche Umwege in Kauf genommen wurden, um möglichst vielen Patienten des definitiven postoperativen Kollektivs die Möglichkeit zu geben an der Studie teilnehmen zu können.

Der Ablauf eines Termins zur postoperativen Probenasservation war in der urologischen Ambulanz und bei Hausbesuchen derselbe: Nach der Begrüßung und einer kurzen Anamnese zum Zwecke des Beziehungsaufbaus wurde für die Patienten ein weiteres Mal in verständlichen Worten theoretische Hintergründe und Ziel der Studie kurz zusammengefasst. Aufkommende Fragen wurden dabei beantwortet. Vor der Blutabnahme, dem eigentlichen Grund des Besuchs, wurden dem Patienten noch einmal die Konsequenzen der Studienteilnahme bzw. die Risiken und Nebenwirkungen erläutert. Es wurde auf die Freiwilligkeit der Teilnahme an unserer Studie hingewiesen. Danach wurde dem Patienten erneut die Möglichkeit gegeben seine Entscheidung zur Teilnahme zu überdenken. Nur nach erneuter ausdrücklicher Zustimmung erfolgte daraufhin die Blutabnahme. Abgenommen wurde eine weiße 7,5 ml SARSTEDT Monovette® (Nürmbrecht, Deutschland) mit Silikat-beschichtetem Granulat zur Gerinnungsaktivierung für die Serum-PSA-Bestimmung sowie eine rote (2,7 ml) mit Kalium EDTA zur Bestimmung der EDIM-Parameter.

Dem Patienten wurde der ihn betreffende weitere Verlauf erneut geschildert: Sobald die Ergebnisse der Apo10- und TKTL1-Bestimmung sowie der gleichsam bestimmte PSA-Wert vorlagen, würde er sowie sein weiterbehandelnder Arzt (soweit die Weiterbehandlung nicht in unserem Hause stattfand) postalisch über die Ergebnisse informiert werden.

Jeder Termin wurde erneut mit Datum und Uhrzeit pseudonymisiert dokumentiert.

#### **2.4.5 Verarbeitung der Blutproben am UKT**

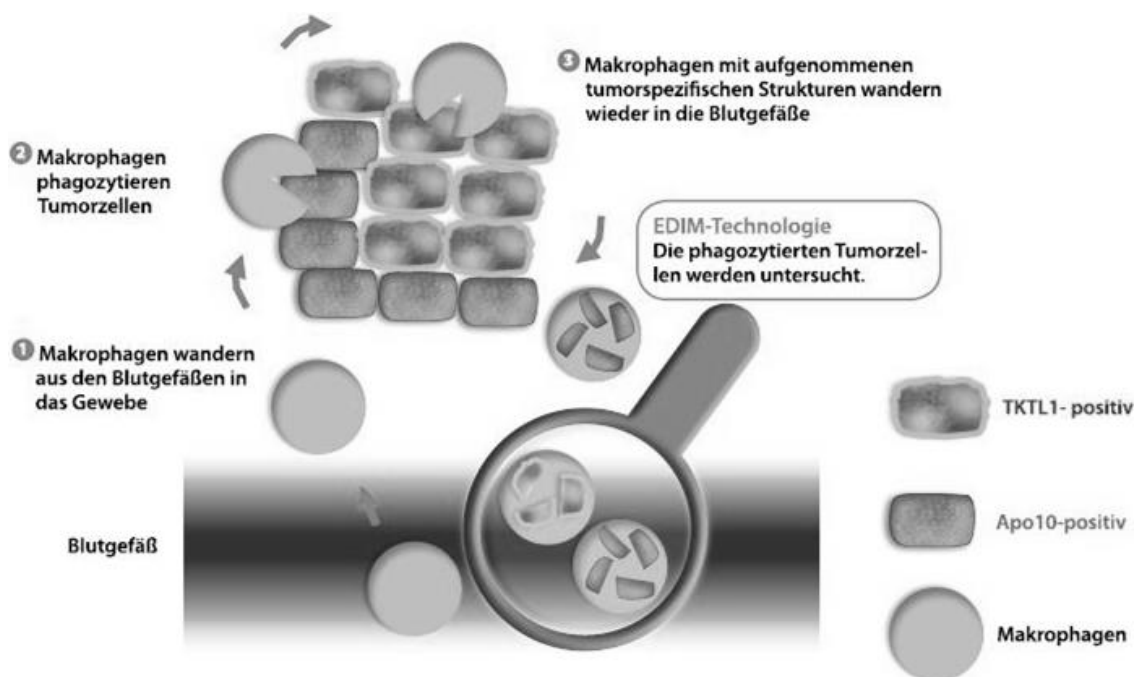
Die Kalium EDTA-Blutproben wurden im uroonkologischen Labor in Schutzröhrchen belassen und vom vorher informierten Logistik-Unternehmen ins BIOVIS Labor nach Limburg transportiert. Die Serum-Proben wurden dagegen am Universitätsklinikum Tübingen verarbeitet. Zunächst wurden sie im uroonkologischen Labor 8 min lang bei 3800 Umdrehungen pro Minuten (3550xG) in einer Rotanta 96R Zentrifuge (Hettich Lab Technology, Tuttlingen, Deutschland) zentrifugiert, um koagulierte Bestandteile der Probe vom Serum zu trennen. Dann wurde je ein ml des Serum-Überstands in ein verschließbares Reagenzröhrchen und in ein verschließbares Eppendorf-Reaktionsgefäß pipettiert. Beide wurden mit zugehörigem Pseudonym und Datum beschriftet. Das Eppendorf-Reaktionsgefäß war als Sicherheit für etwaige weitere Bestimmungen gedacht und kam zur sicheren Verwahrung in den Gefrierschrank des uroonkologischen Labors, zu dem nur berechtigte Mitarbeiter, die direkt an der Forschung des uroonkologischen Labors arbeiten, Zugang haben.

Das Reagenzröhrchen wurde am selben Abend oder nach Aufbewahrung im Kühlschranks des verschlossenen uroonkologischen Labors am kommenden Morgen samt Auftragsbogen zur PSA-Wert-Bestimmung dem Zentrallabor des Universitätsklinikums Tübingen übergeben. Dort wurde der PSA-Wert nach immulite 2000®-Methode (SIEMENS AG, Berlin, Deutschland) bestimmt.

#### **2.4.6 Bestimmung von Apo10 und TKTL1 mittels EDIM-Technologie**

Zur Bestimmung von Apo10 und TKTL1 mittels EDIM (Abb.7) wurde wie bei Feyen et al. (2012) bzw. bei Grimm, Schmitt et al. (2013) beschrieben

vorgegangen: Zunächst wurden den Blutproben monoklonale Antikörper gegen CD14 (Allophycocyanin-konjugierter Klon MφP9, BD Biosciences, Heidelberg, Deutschland) und CD16 (Fluoresceinisothiocyanat-konjugierter Klon NPK15, BD Biosciences) hinzugefügt, um Monozyten bzw. aktivierte Makrophagen zu erkennen. Nach der Färbung wurden die Zellen fixiert (IntraPrep, Beckman Coulter, Krefeld, Deutschland) und gewaschen (CellWash, BD Biosciences). Es folgte eine Resuspension und die Beimengung eines Permeabilisierungsreagens (IntraPrep, Beckman Coulter). Die Lösung wurde im Dunkeln inkubiert.



**Abb. 7 Schematische Darstellung des EDIM-Prinzips der Entstehung von Apo10- und TKTL1-positiven Zellen im venösen Blut (mit freundlicher Genehmigung der TAVARLIN AG, Pfungstadt, Deutschland)**

Um anschließend intrazelluläres Apo10 und TKTL1 kenntlich zu machen, wurden Fluoresceinisothiocyanat (FITC)-konjugierte Apo10- (Klon DJ28D4) und Phycoerythrin (PE)-konjugierte TKTL1-Antikörper (Klon JFC12T10) beigemischt. Beide wurden von der TAVARLIN AG (Pfungstadt, Deutschland) bereitgestellt. Die Lösungen mit den nun sichtbar gemachten Apo10- und TKTL1-positiven Monozyten wurden mittels Durchflusszytometrie untersucht. Verwendet wurde ein Fluoreszenz-aktivierte Zell-Sortierinstrument (BD FACSCantoll, BD Biosciences). Dabei wurden die Monozyten und aktivierten Makrophagen anhand Größe, Granulation und CD14<sup>+</sup> Färbung von

Lymphocyten, Granulozyten, apoptotischen Zellen und Zelltrümmern unterschieden. Wie Leers et al. (2008) und Japink et al. (2009) schon beschrieben hatten, stellten die CD14<sup>+</sup> Zellen der Probe nun die Monozyten und die CD14<sup>+</sup> und CD16<sup>+</sup> Zellen die aktivierten Makrophagen dar. Unter diesen wurden dann der prozentuale Anteil der TKTL1- bzw. Apo10-positiven Zellen bestimmt.

Die EDIM Scores stellen ein relatives Verhältnis der TKTL1- bzw. Apo10-positiven unter allen aktivierten Makrophagen dar. Sie berechnen sich aus dem prozentualen Anteil der TKTL1- bzw. Apo10-positiven Zellen unter den aktivierten Makrophagen multipliziert mit dem Faktor 10. Ein Apo10 Score von 109 bedeutet also, dass 10,9% der CD14<sup>+</sup>-CD16<sup>+</sup>-Zellen auf die Apo10-Färbung reagierten.

#### **2.4.7 Abbruchkriterien**

Abbruchkriterien für den jeweiligen Patienten stellten selbstverständlich eine Rücknahme des Einverständnisses dar sowie insbesondere auch keine erneute ausdrückliche Zustimmung vor der zweiten, postoperativen Blutabnahme. Bei solchen Fällen würden sämtliche Daten der Studien-Datenbank diesen Patienten betreffend gelöscht.

### **2.5 Statistischen Auswertung**

Für die statistische Auswertung wurde die Datenbank aufbereitet, um sie dann in ein Statistik-Programm zu übertragen. Es wurde eine grundsätzliche Gliederung der statistischen Auswertung bestimmt, woraufhin die Daten schließlich ausgewertet und graphisch dargestellt werden konnten. Im Folgenden soll dieses methodische Vorgehen bei der statistischen Auswertung näher beschrieben werden.

#### **2.5.1 Vorbereitung der Daten**

Die pseudonymisierte Datenbank sollte zur statistischen Auswertung der erhobenen Daten von Microsoft Excel® (Version 11.0; Microsoft Corporation, Redmond, USA) in JMP® (Version 11.1; SAS Corporation, Cary, USA) übertragen werden. Hierfür wurde die Datenbank zunächst auf Vollständigkeit

sowie auf Kompatibilität mit dem neuen EDV-Programm überprüft. Folgende Anpassungen wurden dabei vorgenommen: T-Stadium und Gleason-Score wurden kodiert. Die pT-Stadien 2a, 2b, 2c, 3a, 3b erhielten dabei die ordinale Zuordnung zu den Ziffern 1 bis 5. Aus Gleason 1 und 2 wurde der Gleason-Score gebildet (6, 7a, 7b, 8, 9a, 9b, 10) und dieser dann Ziffern 1 bis 7 zugeordnet.

Aus Gründen der besseren Auswertbarkeit wurden manche der untersuchten Parameter im Weiteren in Gruppen unterteilt: Das T-Stadium wurde neben der tatsächlichen Ausprägung auch gruppiert in T2- versus T3-Stadien untersucht. Der Gleason-Score wurde zusätzlich in Untergruppen mit Werten kleiner acht gegen solche größer oder gleich acht untersucht. Außerdem wurde der Gleason Score in Stufen untersucht: Das bedeutet, dass er unterteilt wurde in drei Gruppen, wobei in Gruppe 1 der höchste der beiden Summanden (häufigste und zweithäufigste Zellpopulation) 3 war, in Gruppe 2 der höchste der beiden Summanden 4 war, in Gruppe 3 der höchste der beiden Summanden 5 war.

Es entstand eine neue Variable mit dem Alter der Patienten zum Zeitpunkt der radikalen Prostatektomie (Differenz Operationsdatum und Geburtsdatum). Das Alter wurde in Jahren aufgetragen und auf ganze Jahre gerundet.

Ebenso entstand eine Spalte, in der der zeitliche Abstand zwischen radikaler Prostatektomie und postoperativer Blutabnahme erfasst wurde. Als Maßeinheit wurden hierbei Wochen gewählt und auf ganze Wochen gerundet.

Der prognostische Nutzen von Apo10 und TKTL1 sollte anhand etablierter Einteilungen beispielsweise nach UICC (nach AWMF et al., 2011a, S.17) oder nach EAU (European Association on Prostate Cancer, 2012, S.12) untersucht werden. Darüber hinaus wurden neue das Krankheitsstadium charakterisierende Einteilungen beschlossen: Es wurde eine Einteilung in drei Gruppen vorgenommen, wobei in Gruppe 1 das T-Stadium maximal 2c, der N-Stadium 0 und der Gleason-Score unter 8 sein mussten, in Gruppe 2 waren das T-Stadium oder/und der Gleason-Score höher, in Gruppe 3 musste ein positiver N-Status vorliegen. In einer zweiten Einteilung in zwei Gruppen wurden die Gruppen 2 und 3 zusammengefasst.



Apo10 und TKTL1 sollten nicht nur in ihrer absoluten Ausprägung, sondern auch ordinal unterteilt in Untergruppen untersucht werden. Dabei wurden zunächst bisher bekannte Grenzwerte verwendet: Für Apo10 wurde eine Unterteilung in zwei Gruppen mit *cut-off* bei 109 ( $\geq 109$  entspricht positiven Werten) sowie eine Unterteilung in drei Gruppen einem Risikobereich (Graubereich) von 100 bis 129 entsprechend gewählt. Bei TKTL1 waren Werte ab  $\geq 117$  positiv, darunter negativ. Bei der von der Firma Tavarlin vorgeschlagenen EDIM Summe (Summe aus Apo10- und TKTL1-Score) wurden ebenso zwei Untergruppen gebildet mit *cut-off* zur Trennung positiver und negativer Werte zwischen 226 und 227. Des Weiteren wurden Apo10 und TKTL1 retrospektiv entsprechend einer Verteilung in prägnante Quantile untersucht, um eine ordinale Unterteilung in sechs Untergruppen („Apo10 ordinal grouped“, „TKTL1 ordinal grouped“) zu erhalten. *Cut-offs* waren dabei für Apo10 bei 109, 130, 136, 150, 166, für TKTL1 bei 117, 129, 140, 151, 176. Zusätzlich wurden manche Zusammenhänge mittels Receiver-operating characteristics (Zweig & Campbell, 1993) untersucht, wodurch eigene Grenzwerte für die vorliegende Studie ermittelt wurden. Diesen entsprechend wurden Apo10 und TKTL1 ein weiteres Mal jeweils in drei Gruppen unterteilt untersucht. Die Grenzwerte für Apo10 lagen bei 113 und 173, für TKTL1 bei 116 und 172.

Mit Hilfe dieser neuen Grenzwerte wurde in der vorliegenden Studie retrospektiv ein EDIM Algorithmus entwickelt. Dieser errechnet sich folgendermaßen:

$$EDIM\ Algorithmus = a \cdot Apo10 + b \cdot TKTL1$$

$$\left. \begin{array}{l} a=2, \text{ falls } Apo10 \geq 113 \cap Apo10 < 173, \text{ sonst } a=1; \\ b=3, \text{ falls } TKTL1 \geq 116 \cap TKTL1 < 172, b=2, \text{ falls } TKTL1 \geq 172, \text{ sonst } b=1 \end{array} \right\}$$

Für den EDIM Algorithmus wurden Grenzwerte bei 535 und 770 ermittelt.

Für PSA wurde ein präoperativer *cut-off* bei 4,0ng/ml gesetzt. Nicht nachweisbare Werte, die vom Labor meist mit  $< 0,04$ ng/ml angegeben wurden, sollten hier aus Gründen der System-Kompatibilität mit 0 bewertet werden. Postoperativ wurde demzufolge ein *cut-off* bei der Nachweisbarkeitsgrenze

gesetzt sowie ein zweiter bei nach Leitlinien auf ein Rezidiv hinweisenden 0,2ng/ml.

Zu diesen fünf Parametern (Apo10, TKTL1, EDIM Summe, EDIM Algorithmus, PSA) wurde danach für die weitere Auswertung in einer Spalte die Differenz zwischen prä- und postoperativen Werten ermittelt. Diese Entwicklungen wurden zusätzlich ordinal unterteilt in gesunkene, gestiegene und gleiche Werte untersucht.

Ergänzend wurde versucht einen Quotient zu entwickeln, der berücksichtigt wie der jeweilige Wert präoperativ war, wie er sich postoperativ entwickelt hat und wo er schließlich bei der postoperativen Messung gelandet war. Dieser PPD(PräPostDelta)-Score sah folgendermaßen aus:

$$PPD = \frac{\text{präoperativer Wert} + \text{postoperativer Wert}}{\text{Differenz} \cdot (-1) + c}$$

Für c wurde der jeweilige in dieser Studie ermittelte *cut-off* eingesetzt (Apo10: 113, TKTL1: 116).

Sämtlichen Variablen wurden schließlich die jeweils entsprechenden Skalentypen nominal, ordinal oder stetig zugeordnet.

Der PSA-Wert wurde in ng/ml erfasst, das Prostatavolumen in ml, das Prostatagewicht in g und sämtliche Leukozyten in Prozent oder in 1 pro µl, die Gesamtleukozyten-Anzahl mit dem Divisor 1000. Apo10 und TKTL1 wurden ohne Einheit erfasst. Die Werte stellen einen Score dar, der aus der prozentualen Anzahl an positiven Zellen hervorgeht (siehe 2.4.6).

## **2.5.2 Gliederung der statistischen Auswertung**

Die statistische Auswertung der prospektiv erhobenen Daten sollte in zwei grundlegende Blöcke unterteilt erfolgen. Zum einen wurde der präoperative Status von Apo10 und TKTL1 im Kontext der anderen präoperativ erfassten Daten betrachtet. Zum anderen wurde die postoperative Situation von Apo10 und TKTL1 beleuchtet, womit die Untersuchung der Entwicklung zwischen der prä- und der postoperativen Situation einherging.

Jeweils wurden zunächst deskriptiv das Patientenkollektiv (das präoperative Gesamtkollektiv und das postoperative Subkollektiv) sowie im Besonderen die Verteilung der beiden zu untersuchenden Marker Apo10 und TKTL1 dargestellt.

Im Weiteren sollten Zusammenhänge zunächst zwischen den Markern untereinander, aber auch zu tumorbezogenen Daten, zu Daten des Differenzialblutbildes, zu anderen individuellen Patientendaten und zu den erwähnten prognostischen Einteilungen untersucht werden.

Postoperativ lag darüber hinaus ein Fokus der Studie auf der Erforschung des Zusammenhangs der beiden Marker zum zeitlichen Abstand der postoperativen Messung von der Operation. Außerdem sollten hier Zusammenhänge zwischen prä- und postoperativen Ergebnissen im selben Marker, also die Flexibilität der Marker, untersucht werden.

Überdies wurde die Bedeutung des neu entwickelten EDIM Algorithmus sowie postoperativ der PPD-Scores evaluiert.

### **2.5.3 Methoden der statistischen Analyse und graphische Darstellung**

Für die deskriptive Statistik wurden zunächst die Verteilungen aller erhobenen Parameter errechnet und gegebenenfalls graphisch dargestellt. Daraus bestimmten wir die präoperative Sensitivität der Marker Apo10 und TKTL1 nach folgender Formel:

$$\text{Sensitivität} = \frac{\text{Richtig positiv Gemessene}}{\text{Richtig positiv Gemessene} + \text{Falsch negativ Gemessene}}$$

Geht man von bisher angenommenen Grenzwerten aus und nimmt hypothetisch an, es gäbe in der Studie keine Verzerrung durch erstens fehlende Patienteneinverständnisse und zweitens eine zu geringe Patientenzahl, dann würde sich eine für Patienten mit Prostatakarzinom pT 2a-3b, ohne Fernmetastasierung und ohne Zweitmalignom verallgemeinerbare Sensitivität aus unserem Patientenkollektiv nach folgender Formel errechnen lassen:

$$\text{Sensitivität Apo10} = \frac{\text{Anzahl der Patienten mit präoperativem Apo10} \geq 109}{\text{alle Kranken}}$$

Gleiches gilt für TKTL1:

$$\text{Sensitivität TKTL1} = \frac{\text{Anzahl der Patienten mit präoperativem TKTL1} \geq 117}{\text{alle Kranken}}$$

Ebengleich wurde die Sensitivität für die EDIM Summe bestimmt (<227).

Bei der Untersuchung von Zusammenhängen zwischen zwei stetigen Variablen wurden bei der bivariaten Anpassung zunächst lineare Zusammenhänge untersucht. Des Weiteren wurden polynomial quadratische und polynomial kubische Verhältnisse überprüft. Das beste Verhältnis sollte im Ergebnisteil angegeben werden. Darüber hinaus bei signifikanten Zusammenhängen  $r^2$  und der F-Wert. Beim Aufsuchen von signifikanten Zusammenhängen zwischen stetigen und ordinalen Variablen wurde die Chi-Quadrat-Approximation angewendet. Bei mehreren Untergruppen einer solchen ordinalen Variable wurden zusätzlich nichtparametrische Vergleiche mittels Wilcoxon-Methode gezogen. Bei umgekehrter Anpassung der Variablen stetig und ordinal wurde eine logistische Anpassung vorgenommen und mit Hilfe von  $\chi^2$  auf Signifikanz geprüft. Beim Vergleich von zwei ordinalen Variablen wurden Kontingenzanalysen durchgeführt sowie die Tests nach Pearson und das Likelihood-Verhältnis. Einzelne Zusammenhänge beim Vergleich zweier ordinaler Variablen, von denen eine nur zwei Kategorien hat, wurden mit dem Cochran-Armitage-Trendtest untersucht. Alle diese Tests wurden mit dem bereits erwähnten JMP® durchgeführt.

Auffällige Ergebnisse wurden mit Hilfe ebendieses JMP® oder mit Microsoft Excel® (Version 11.0; Microsoft Corporation, Redmond, USA) graphisch dargestellt.

### **3 Ergebnisse**

Das dritte Kapitel legt die Ergebnisse der statistischen Auswertung dar. Im Fokus stehen dabei zum einen die Zusammenhänge der Marker Apo10 und TKTL1 mit präoperativ erhobenen Patientendaten (3.1-3.5), zum anderen die Entwicklung der Marker nach erfolgter radikaler Prostatektomie (3.6-3.11).

Zunächst findet eine Charakterisierung des gesamten Patientenkollektivs mit den erhobenen klinischen Daten statt. Dann werden die Ergebnisse der präoperativen Apo10- und TKTL1-Bestimmung beschrieben, bevor auf deren Zusammenhänge mit klinischen Daten eingegangen wird. Die Darlegung dieser Zusammenhänge ist unterteilt in Zusammenhänge mit Tumordaten, mit dem Differenzialblutbild und mit anderen individuellen Patienteneigenschaften. Im Besonderen wird der Vergleich der Marker mit den vordefinierten prognostischen Gruppen dargestellt.

Darauf folgt die Beschreibung des postoperativen Subkollektivs mit etwaigen Unterschieden zum Gesamtkollektiv. Auch hier werden dann zuerst die Ergebnisse der postoperativen Apo10- und TKTL1-Bestimmung sowie Unterschiede zwischen prä- und postoperativen Ergebnissen geschildert, bevor untersuchte Zusammenhänge mit klinischen Daten, insbesondere des postoperativen PSA-Werts folgen.

#### **3.1 Charakterisierung des Patientenkollektivs**

Unser definitives Patientenkollektiv bestand aus 174 Männern, die sich aufgrund eines histologisch gesicherten Prostatakarzinoms einer radikalen Prostatektomie unterzogen. Das Durchschnittsalter der Männer zum Zeitpunkt der Operation war 62,9 Jahre +/-7,5. Der Median lag bei 63 Jahren mit einer *Range* von 45 bis 76.

Die T-Stadien der Prostatakarzinome der Patienten reichten von pT2a bis pT3b (Tab.5). Mit 59,2% der Tumoren waren die meisten dem Stadium pT2c zugeordnet worden. Im Kollektiv waren sowohl Lymphknoten-positive wie auch -negative Tumoren vertreten. Die Tumoren mit pN0 waren dabei mit 90,2% jedoch deutlich häufiger (Tab.5). Das Vorhandensein von Fernmetastasen war

ein Ausschlusskriterium der Studie, daher befanden sich alle Patienten im Stadium M0.

Die Gleason-Scores der Patienten hatten eine *Range* von 6 bis 10. Auch hier war jedoch ein Wert eindeutig am häufigsten vertreten: Gleason-Score 7a (53,4%; Tab.5).

**Tab. 5 Verteilung der pT-Stadien, der pN-Stadien und der Gleason-Scores im Gesamtkollektiv (174 Patienten)**

Häufigkeiten			Häufigkeiten			Häufigkeiten		
Häufigkeiten			Häufigkeiten			Häufigkeiten		
<u>pT</u>	Häufigkeiten	Wahrsch.	<u>pN</u>	Häufigkeiten	Wahrsch.	<u>Gleason-Score</u>	Häufigkeiten	Wahrsch.
2a	18	0,10345	0	157	0,90230	6	17	0,09770
2b	5	0,02874	1	17	0,09770	7a	93	0,53448
2c	103	0,59195	Summe	174	1,00000	7b	34	0,19540
3a	29	0,16667				8	10	0,05747
3b	19	0,10920				9a	16	0,09195
Summe	174	1,00000				9b	3	0,01724
						10	1	0,00575
						Summe	174	1,00000

Betrachtet man diese *Staging*- und *Grading*-Verteilungen, entdeckt man, dass im definitiven Patientenkollektiv ein durchaus nicht kleines Subkollektiv von Patienten mit folgenden identischen Tumoreigenschaften vorhanden war: pT2c, pN0, pM0, Gleason 7a. Dieses Subkollektiv fasst immerhin 67 Patienten.

Im Gegensatz zu den bisher beschriebenen Merkmalen lag der präoperative PSA-Wert zum Zeitpunkt der Auswertung nicht für alle Patienten des definitiven Kollektivs vor. Allerdings fehlte diese Information bei nur einem Patienten, somit lag für 99,4% der Patienten ein Wert vor. Die *Range* dieser Werte reichte von 0,85ng/ml bis 65,4ng/ml. Der Median lag bei 7,0ng/ml, der arithmetische Mittelwert bei 9,3ng/ml +/-7,8. 13 Patienten (7,5%) hatten einen PSA-Wert von unter 4,0ng/ml.

Für 151 der Patienten (86,8%) lag eine Bestimmung des Prostatavolumens durch TRUS vor. Der Median war bei 40ml mit einer *Range* von 14 bis 120ml (arithmetisches Mittel 43,1 ml +/-20,9). Das Prostatagewicht nach erfolgter radikaler Prostatektomie war in der Datenbank für 170 Patienten bestimmt (97,7%). Der Median der Prostatae wog 44g. Die *Range* hierbei entfaltete sich von 20 bis 165g (arithmetisches Mittel 49,5 g +/-21,6).

Im Zuge der Apo10- und TKTL1-Bestimmung wurde für die Patienten auch ein Differenzialblutbild erstellt. Im Weiteren wurden auch diese Daten auf

Zusammenhänge mit Apo10 und TKTL1 geprüft, weshalb sie ebenso an dieser Stelle dargestellt werden sollen (Tab.6).

**Tab. 6 Zusammenfassung der präoperativ erhobenen Blutbild-Parameter mit Beschreibung von Mittelwert und Range (NK-Zellen=natürliche Killerzellen, T<sub>H</sub>= T-Helferzellen, CTL= zytotoxische T-Lymphozyten, T<sub>reg</sub>=regulatorische T-Lymphozyten)**

<b>Blutbild-Parameter</b>	<b>Anzahl Ergebnisse</b>	<b>Einheit</b>	<b>Median</b>	<b>Range</b>
<b>Leukozyten</b>	173	Tausend / µl	6,60	3,71 – 15,23
<b>Monozyten absolut</b>	68	1 / µl	537,95	214,2 – 999,2
<b>Monozyten relativ</b>	167	%	8,5	3,4 – 18,5
<b>Neutrophile Granulozyten</b>	123	%	62,8	34,5 – 85,1
<b>Eosinophile Granulozyten</b>	124	%	1,7	0,1 – 6,5
<b>Basophile Granulozyten</b>	56	%	0,3	0,0 – 0,8
<b>Lymphozyten</b>	130	%	24,1	5,0 – 51,2
<b>B-Lymphozyten absolut</b>	65	1 / µl	151	30 – 422
<b>B-Lymphozyten relativ</b>	66	%	10,0	2,5 – 34,3
<b>NK-Zellen relativ</b>	122	%	16,25	2,5 – 50
<b>Lymphokin-aktivierte Killerzellen absolut</b>	65	1 / µl	23	3 – 202
<b>Lymphokin-aktivierte Killerzellen relativ</b>	66	%	1,55	0,3 – 12,2
<b>T-Lymphozyten absolut</b>	66	1 / µl	1044	346 – 2190
<b>T-Lymphozyten relativ</b>	66	%	69,0	45,3 – 91,3
<b>T<sub>H</sub> absolut</b>	66	1 / µl	674,5	222 – 1342
<b>T<sub>H</sub> relativ</b>	66	%	47,5	27,8 – 63,6
<b>CTL absolut</b>	66	1 / µl	234,5	47 – 1231
<b>CTL relativ</b>	66	%	16,55	4,5 – 46,3
<b>T<sub>reg</sub> absolut</b>	65	1 / µl	58	16 – 451
<b>T<sub>reg</sub> relativ</b>	66	%	4,3	2,0 – 42,6
<b>Ratio CD4<sup>+</sup>-/CD8<sup>+</sup>-Zellen</b>	66	-	2,7	0,6 – 9,4
<b>aktivierte T-Lymphozyten absolut</b>	65	1 / µl	99	26 – 417
<b>aktivierte T-Lymphozyten relativ</b>	66	%	6,5	2,2 – 22,2

### 3.2 Präoperative Apo10- und TKTL1-Ergebnisse

Die Verteilung der präoperativen Scores des Markers Apo10 reichte von 101 bis zum Zweieinhalbfachen des Werts: 254 (Abb.8). Der Median lag bei 136, das arithmetische Mittel bei 139,4 +/-22,6.

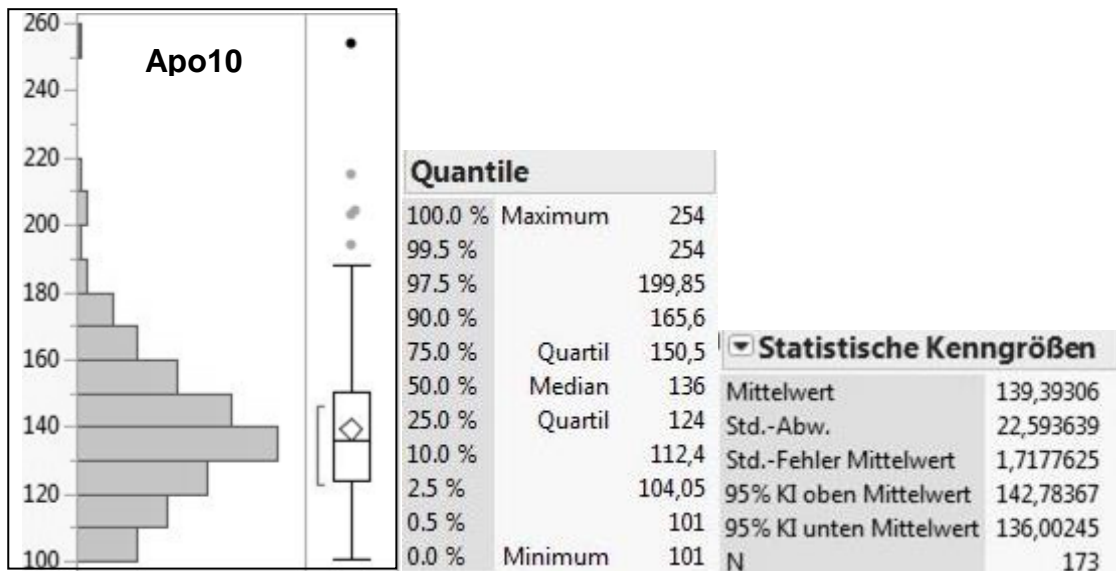


Abb. 8 Histogramm und präoperative Verteilung der Apo10-Scores im Gesamtkollektiv (173 Patienten, bei einem Patienten lag zum Zeitpunkt der statistischen Auswertung kein Apo10-Wert vor)

Bei TKTL1 war die *Range* der präoperativen Ergebnisse kleiner als bei Apo10. Sie reichte von einem fast gleich hohen Minimalwert 102 bis zu einem deutlich niedrigeren Maximalwert 216 (Abb.9). Dabei lag jedoch sowohl der Median mit 139,5, als auch das arithmetische Mittel mit 142,9 höher.

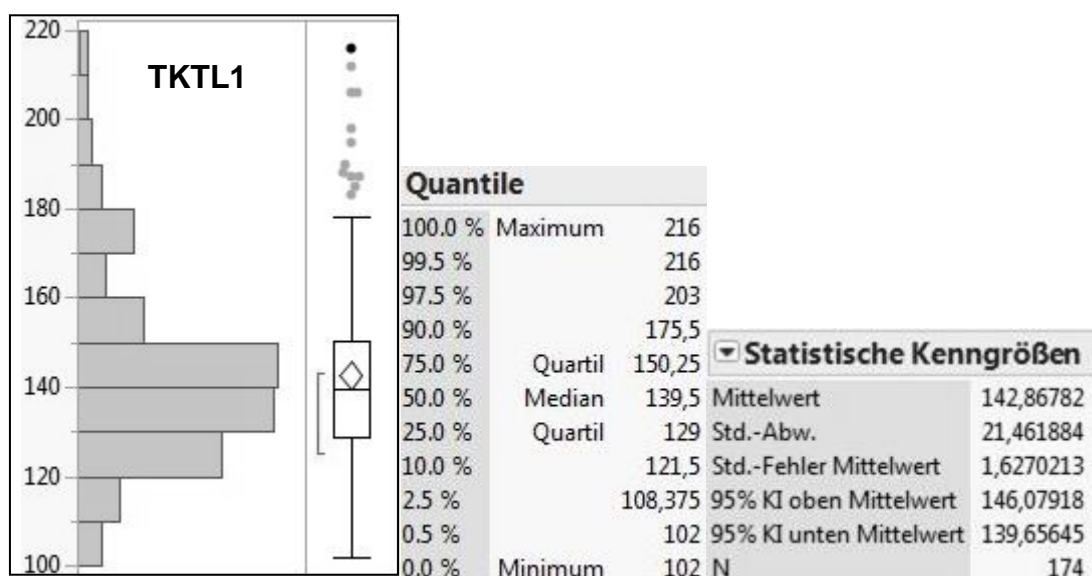


Abb. 9 Histogramm und präoperative Verteilung der TKTL1-Scores im Gesamtkollektiv



Die Sensitivität des Markers Apo10 lag für den *cut-off* 109 bei 94,2%. Nimmt man den Graubereich 100-129 hinzu waren 100% der präoperativen Apo10-Werte positiv (32,4% im Graubereich, 67,6% im pathologischen Bereich). Die Sensitivität des Markers TKTL1 mit *cut-off* 117 lag bei 93,7%. Somit lag die Sensitivität beider Marker höher als die Sensitivität des PSA-Werts mit *cut-off* 4,0ng/ml: 92,5%.

Der Vergleich von Apo10 und TKTL1 ergab unterschiedliche Ergebnisse (Tab.7): Die Untersuchung der jeweils stetig aufgetragenen Variablen ergab einen signifikanten Zusammenhang der beiden Parameter (0,0003; F-Wert 13,7;  $r^2=0,07$ ). Die Formel für TKTL1 nach linearer Anpassung an Apo10 war (gerundet auf zwei Dezimalstellen):

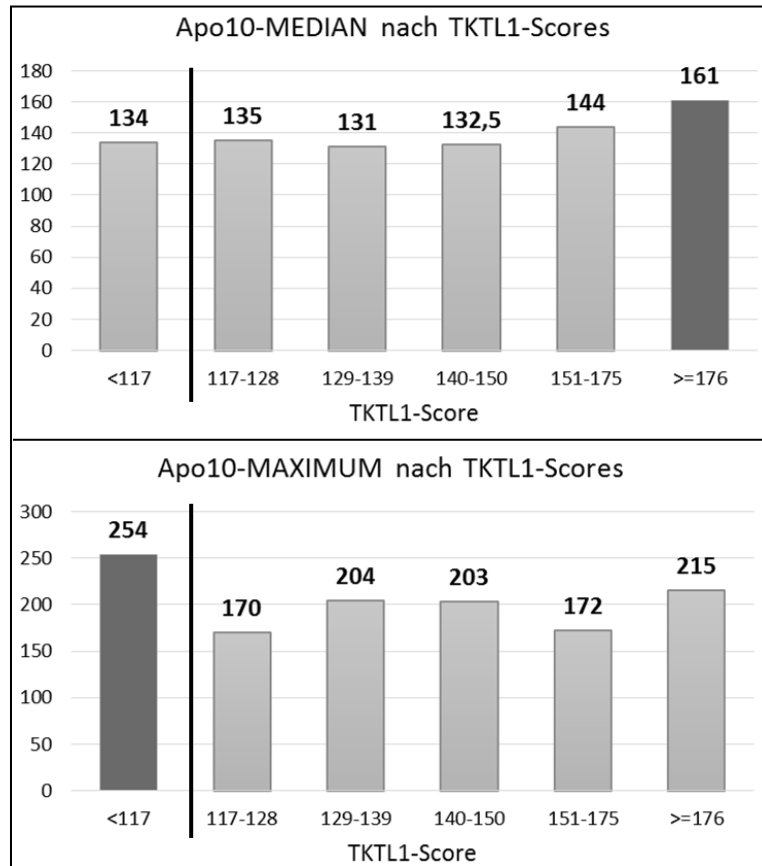
$$\text{TKTL1} = 0,26 \cdot \text{Apo10} + 107,10$$

**Tab. 7 Zusammenhang von TKTL1 und Apo10 (mit Apo10 als unabhängiger Variable; bestimmt im Gesamtkollektiv bei 173 Patienten mit Werten für beide Marker; dargestellt sind p-Werte, beim Vergleich von zwei stetigen Variablen der niedrigste p-Wert bei Anpassung I°, II° und III° sowie der zugehörige Grad der bivariaten Anpassung, bei stetiger und ordinaler Variable mit mehreren Untergruppen in Klammern zusätzlich signifikante p-Werte bei multiplen Vergleichen; *cut-offs* bei ordinaler Variable in Klammern; Unterteilung grouped siehe 2.5.1)**

	Apo10 stetig	Apo10 ordinal (109)	Apo10 ordinal (100;130)	Apo10 ordinal (grouped)	Apo10 ordinal (113;173)
TKTL1 stetig	0,0003 (I°)	0,77	0,0075	0,0325 (0,0021 1<4; 0,0273 1<5; 0,0492 1<2)	0,0461 (0,0148 A=113-172 < A≥173; 0,0412 A<113 < A≥173)
TKTL1 ordinal (117)	0,41	0,55	0,59	0,97	0,92
TKTL1 ordinal (grouped)	0,0025	0,76	0,0147	0,0095	<0,0001
TKTL1 ordinal (116;172)	0,0007	0,61	0,0023	0,0022	<0,0001

Interessant, wenn auch nicht signifikant war der Vergleich von Apo10-positiven (*cut-off* 109) mit TKTL1-positiven (*cut-off* 117) Patienten. Hierbei fiel auf, dass nur 89,0% positiv für beide Marker waren, da neun von zehn Apo10-Negativen positiv für TKTL1 gewesen sind, umgekehrt genauso. Ein Patient war für beide Marker negativ.

Außerdem fiel auf, dass der Apo10-Score zwar im Mittel für höhere TKTL1-Scores höher war. Die allerhöchsten Apo10-Scores wurden allerdings in der Gruppe mit den niedrigsten TKTL1-Scores gemessen (Abb.10).



**Abb. 10 Apo10-Mediane und –Maxima nach TKTL1-Scores (der TKTL1-Score ist in Untergruppen siehe 2.5.1 aufgetragen; der TKTL1-cut-off bei 117 ist durch eine Linie dargestellt; ermittelt aus 173 Patienten des Gesamtkollektivs)**

Vergleicht man die Parameter umgekehrt, also TKTL1 als abhängige Variable und Apo10 gruppiert als unabhängige, entdeckt man interessanterweise in der Gruppe der Apo10-negativen Tumoren ebenso auch hohe TKTL1-Scores von bis zu 198.

Ein signifikanter Zusammenhang zwischen Apo10 (abhängige Variable) und TKTL1 besteht zudem im Subkollektiv der Patienten mit den identischen Tumordaten pT2c pN0 M0 Gleason 7a. Der p-Wert der linearen Anpassung liegt hier bei 0,0026.

### 3.3 Zusammenhänge der präoperativen Ergebnisse mit klinischen Daten

Im folgenden Unterkapitel werden zunächst die Beziehungen von Apo10 mit klinischen Daten betrachtet, bevor auf TKTL1 eingegangen wird. Der Schwerpunkt bei Apo10 liegt zunächst auf der Untersuchung des pT-Stadiums, der bei TKTL1 auf dem Gleason-Score. Des Weiteren sind die Abschnitte unterteilt nach der Art der klinischen Daten: Tumordaten, Blutdaten und andere personenbezogene Daten.

#### 3.3.1 Präoperative Apo10-Zusammenhänge

##### 3.3.1.1 Zusammenhänge von Apo10 mit Tumordaten

Tab.8 zeigt zunächst den Apo10-Score in Abhängigkeit vom pT-Stadium. In Tab.9 sind die gleichen Untersuchungsparameter in umgekehrter Abhängigkeit dargestellt. Bei Verschiebung der Grenzwerte fiel ein signifikanter Zusammenhang von Apo10 mit zwei *cut-offs* zwischen 129 und 130 bzw. 172 und 173 und dem pT-Stadium auf (0,0168 Likelihood;  $r^2=0,05$ ).

**Tab. 8 Zusammenhang des Apo10-Scores mit dem pT-Stadium (pT als unabhängige Variable; Daten von 173 Patienten des Gesamtkollektivs, 1 Patient mit fehlendem Apo10-Score; *cut-offs* bei ordinaler Variable in Klammern; A=Apo10; p=p-Wert)**

	pT2a	pT2b	pT2c	pT3a	pT3b	pT (p)
<b>Apo10 stetig</b>						0,11
- Median	141,5	158,0	134,5	136,0	135,0	
- Mittelwert	148,9	159,0	137,0	138,9	138,2	
- Std.-Abw.	+/-39,3	+/-10,8	+/-20,1	+/-19,9	+/-16,6	
- signifikante p-Werte bei Untergruppen			<b>0,0090</b> (2b > 2c)	<b>0,0064</b> (2b > 3a)	<b>0,0189</b> (2b > 3b)	
<b>Apo10 ordinal (109)</b>	1-17	0-5	7-95	1-28	1-18	0,88
- Anteil positiv	94,4%	100,0%	93,1%	96,5%	94,7%	
<b>A ordinal (100;130)</b>	0-8-10	0-0-5	0-37-65	0-7-22	0-4-15	0,09
- Anteil >130	55,5%	100,0%	63,7%	75,8%	78,9%	
<b>A ordinal (130;173)</b>	8-6-4	0-4-1	37-59-6	7-21-1	4-15-0	<b>0,0168</b>
- Anteil 130-173	33,3%	80,0%	57,8%	72,4%	79,0%	
<b>A ordinal (113;173)</b>	3-11-4	0-4-1	11-85-6	2-26-1	1-18-0	0,11
- Anteil 113-172	61,1%	80,0%	83,3%	89,7%	94,7%	

**Tab. 9 Zusammenhang von pT-Stadium und Apo10, im Vergleich zu Tab.8 in umgekehrter Abhängigkeit untersucht (wiederum Daten von 173 Patienten des Gesamtkollektivs; dargestellt sind p-Werte; cut-offs bei ordinaler Variable in Klammern; p=p-Wert)**

	Apo10 stetig	Apo10 ordinal (109)		Apo10 ordinal (100;130)			Apo10 ordinal (113;173)		
pT-Stadium (p)	0,11	0,88		0,09			0,11		
pT 2 vs 3 (p)	0,79	0,56		0,09			0,11		
- Verteilung	X	neg	pos	<100		>130	<113		>172
		8/2	117/46	-	45/11	80/37	14/3	100/44	11/1
- pT3-Anteil (%)	X	20,0	28,2	-	19,6	31,6	17,6	30,5	8,3

Patienten mit Apo10<130 oder ≥173 hatten signifikant weniger tief infiltrierte Tumoren als Patienten mit Apo10=130-172 (Tab.10).

**Tab. 10 Verteilung der pT-Stadien im signifikanten Verhältnis nach Apo10-Scores mit den Grenzwerten 130 und 173 (0,0168 im Likelihood, r<sup>2</sup>=0,05)**

Apo10	Häufigkeiten Gesamt % Spalte % Zeile %	pT-Stadium					
		2a	2b	2c	3a	3b	
<b>&lt;130</b>		8	0	37	7	4	56
		4,62	0,00	21,39	4,05	2,31	32,37
		44,44	0,00	36,27	24,14	21,05	
		14,29	0,00	66,07	12,50	7,14	
<b>130-172</b>		6	4	59	21	15	105
		3,47	2,31	34,10	12,14	8,67	60,69
		33,33	80,00	57,84	72,41	78,95	
		5,71	3,81	56,19	20,00	14,29	
<b>&gt;=173</b>		4	1	6	1	0	12
		2,31	0,58	3,47	0,58	0,00	6,94
		22,22	20,00	5,88	3,45	0,00	
		33,33	8,33	50,00	8,33	0,00	
		18	5	102	29	19	173
		10,40	2,89	58,96	16,76	10,98	

Gruppiert nach kleinen Tumoren (Stadium 2a) versus größere (Stadium >2a), ergibt sich sogar ein p-Wert von 0,0063 (Pearson; r<sup>2</sup>=0,07), wobei der Prozentsatz an größeren Tumoren von 85,7% (Apo10<130) auf 94,3% (Apo10=130-172) zunimmt und wieder auf 66,7% (Apo10≥173) sinkt. Bestätigt werden diese Ergebnisse in einem 91 Patienten umfassenden Subkollektiv mit den gleichen Tumorparametern pN0 M0 Gleason 7a (n=91): Bei einem Signifikanzniveau von 0,0254 (Likelihood; r<sup>2</sup>=0,12) nimmt die Wahrscheinlichkeit eines größeren Tumors (>pT2a) mit steigenden Apo10-Scores zunächst von 79,3% auf 96,3% zu, ehe sie wieder auf 75,0% sinkt.

Bemerkenswert war auch, dass in diesem Subkollektiv ein Apo10-Wert ab 166 quasi garantierte, dass kein Tumorstadium größer pT2 vorlag: Alle neun Tumoren, die einen höheren Wert hatten, waren kleiner und alle elf Tumoren, die größer waren, hatten einen niedrigeren Wert.

Bei der Untersuchung von pN-Stadium und Apo10 (Tab.11) fiel auf, dass alle Apo10-negativen Patienten Lymphknoten-negativ waren, ebenso wie alle Patienten mit einem Apo10-Score über 172. Alle Lymphknoten-positiven Tumoren bewegten sich innerhalb einer Apo10-Range von 113-172 (0,0369 Likelihood;  $r^2=0,06$ ). Dort machten sie allerdings nur 11,8% (17 von 144) aus (Tab.12).

Eine signifikante Beziehung zum Gleason-Score wurde nicht festgestellt. Die Untersuchung ergab lediglich einen auffälligen p-Wert von 0,08 (Pearson; in Tab.11 nicht dargestellt) für Apo10 gruppiert. Dabei stieg zum Beispiel der Anteil der Gleason-Scores mit Werten ab 8 von 10,0% bei Apo10 <109 fast kontinuierlich auf 29,4% bei Apo10 ab 166 (15,2% bei 109-129 - 13,3% bei 130-135 - 17,1% bei 136-149 - 20,7% bei 150-165). In der Gruppe mit den höchsten Apo10-Werten ( $\geq 166$ ) war jedoch auch der Anteil mit den niedrigsten Gleason-Scores (Gleason 6) wiederum am höchsten (17,6%). Lässt man Apo10-Werte  $\geq 173$  in dieser Untersuchung unberücksichtigt, ergibt sich nach Pearson ein signifikanter p-Wert von  $<0,0001$  ( $r^2=0,08$ ).

Bei der Untersuchung des PSA-Werts fiel auf, dass alle 13 Tumoren mit einem PSA-Wert von unter 4,0 oberhalb des Apo10-*cut-offs* von 109 gemessen wurden, genauer gesagt sogar in der vorher für Lymphknoten-Befall auffälligen Apo10-Range von 113-172. Ebenso hatten alle Apo10-negativen Patienten mindestens einen PSA-Wert von 4,0ng/ml.

Im arithmetischen Mittel hatten Tumoren mit Apo10 <109 ein um 25% niedrigeres Prostatagewicht (40,50g +/-11,19 versus 50,13g +/-21,98) als solche über dem *cut-off*. Jene Tumoren mit Apo10 ab 173 hatten dagegen ein ähnliches durchschnittliches Prostatagewicht (40,10g +/-7,95). Hier ergab sich kein signifikanter Zusammenhang (Tab.11).

Ähnlich war die Beziehung von Apo10 zum Prostatavolumen: 36,37ml +/-10,55 (Apo10<109) versus 43,55ml +/-21,33 (Apo10>109). Bei Apo10 $\geq$ 173 fielen

wiederum niedrigere Volumina auf (35,55ml +/-14,41). Auch hier zeigt sich kein signifikanter Zusammenhang (Tab.11).

**Tab. 11 Zusammenhang von pN, Gleason, PSA, Prostatavolumen, Prostatagewicht und Apo10 (mit Apo10 als unabhängiger Variable; Daten wurden aus allen erfassten Werten im Gesamtkollektiv ermittelt: im Vergleich mit pN 173 Werte, Gleason-Score 173, PSA 172, Prostatavolumen 150, Prostatagewicht 169; dargestellt sind p-Werte, beim Vergleich zweier stetiger Variablen der niedrigste p-Wert bei Anpassung I°, II° und III° sowie der zugehörige Grad der bivariaten Anpassung, bei signifikanten Verhältnissen ordinaler Variablen die Bestimmungsmethode, bei stetiger und ordinaler Variable mit mehreren Untergruppen in Klammern zusätzlich der niedrigste p-Wert bei multiplen Vergleichen; cut-offs bei ordinaler Variable in Klammern)**

	Apo10 stetig	Apo10 ordinal (109)	Apo10 ordinal (100;130)	Apo10 ordinal (113;173)
<b>pN</b>	0,92	0,14	0,78	<b>0,0369</b> (Likelihood)
<b>Gleason</b>	0,60	0,26	0,59	0,27
<b>PSA stetig</b>	0,99 (I°)	0,91	0,43	0,86 (0,60)
<b>PSA ordinal (4,0ng/ml)</b>	0,63	0,20	0,63	0,08
<b>Prostatavolumen</b>	0,18 (I°)	0,56	0,29	0,45 (0,26)
<b>Prostatagewicht</b>	0,33 (I°)	0,17	0,94	0,37 (0,15)

**Tab. 12 Verteilung der pN-Stadien im signifikanten Verhältnis (0,0369 Likelihood, r<sup>2</sup>=0,06) sowie des PSA ordinal (cut-off 4,0ng/ml) nach Apo10-Scores mit den Grenzwerten 113 und 173 (mit Apo10 als unabhängiger Variable)**

		Apo10								
		Häufigkeiten	<	130	>=					
		Gesamt %	113	-	173					
		Spalte %		172	173					
		Zeile %								
pN-Stadium	0		17	127	12	156				
			9,83	73,41	6,94	90,17				
		100,00	88,19	100,00						
		10,90	81,41	7,69						
1		0	17	0	17					
		0,00	9,83	0,00	9,83					
		0,00	11,81	0,00						
		0,00	100,00	0,00						
		17	144	12	173					
		9,83	83,24	6,94						
PSA	<4,0 ng/ml		0	13	0	13				
			0,00	7,56	0,00	7,56				
		0,00	9,09	0,00						
		0,00	100,00	0,00						
>=4,0 ng/ml		17	130	12	159					
		9,88	75,58	6,98	92,44					
		100,00	90,91	100,00						
		10,69	81,76	7,55						
		17	143	12	172					
		9,88	83,14	6,98						

### 3.3.1.2 Zusammenhänge von Apo10 mit Daten des Differenzialblutbilds

Beim Vergleich des Markers Apo10 mit Blutdaten (Tab.14) beleuchtet die vorliegende statistische Auswertung zuallererst das Verhältnis zur Monozytenzahl (Tab.13).

Tab. 13 Zusammenhang von Apo10 als abhängiger Variable mit der Monozytenzahl (Daten wurden aus allen erfassten Werten im Gesamtkollektiv ermittelt: im Vergleich mit der absoluten Monozytenzahl 68 Werte, mit der relativen Monozytenzahl 166; dargestellt sind p-Werte, beim Vergleich von zwei stetigen Variablen der niedrigste p-Wert bei Anpassung I°, II° und III° sowie der zugehörige Grad der bivariaten Anpassung; *cut-offs* bei ordinaler Variable in Klammern)

	Absolute Monozytenzahl	Relative Monozytenzahl
Apo10 stetig	<b>0,0307</b> (II°)	0,80 (I°)
Apo10 ordinal (109)	0,28	0,26
Apo10 ordinal (100;130)	0,86	0,28
Apo10 ordinal (113;162)	0,16	0,49

Tab. 14 Zusammenhang von Daten des Differenzialblutbildes mit Apo10 (Apo10 als unabhängige Variable; Daten wurden aus allen erfassten Werten im Gesamtkollektiv ermittelt: im Vergleich mit Leukozyten 172, Monozyten abs 68, Monozyten rel 166, Neutrophilen 123, Eosinophilen 124, Basophilen 56, Lymphozyten 130, B-Lymphozyten abs 65, B-Lymphozyten rel 66, NK-Zellen rel 122, Lymphokin-aktivierten Killerzellen abs 65, Lymphokin-aktivierten Killerzellen rel 66, T-Lymphozyten abs 66, T-Lymphozyten rel 66, T-Helferzellen abs 66, T-Helferzellen rel 66, CTL abs 66, CTL rel 66, T<sub>reg</sub> abs 65, T<sub>reg</sub> rel 66, Ratio CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 66, aktivierten T-Lymphozyten abs 65, T-Lymphozyten rel 66; dargestellt sind p-Werte, beim Vergleich von zwei stetigen Variablen der niedrigste p-Wert bei Anpassung I°, II° und III° sowie der zugehörige Grad der bivariaten Anpassung, bei stetiger und ordinaler Variable mit mehreren Untergruppen in Klammern zusätzlich signifikante p-Werte bei multiplen Vergleichen; *cut-offs* bei ordinaler Variable in Klammern; A=Apo10, abs=absolute, rel=relative, NK-Zellen=natürliche Killerzellen, T<sub>H</sub>= T-Helferzellen, CTL=zytotoxische T-Lymphozyten, T<sub>reg</sub>=regulatorische T-Lymphozyten)

	Apo10 stetig	Apo10 ordinal (109)	Apo10 ordinal (100;130)	Apo10 ordinal (113;173)
Leukozyten	0,53 (I°)	0,30	0,58	0,41
Monozyten absolut	0,08 (I°)	0,34	0,93	0,08 ( <b>0,0461</b> ; A≥173 < 113-172)
Monozyten relativ	<b>0,0375</b> (II°)	0,45	0,31	<b>0,0448</b> ( <b>0,0421</b> ; A<113 < 113-172)
Neutrophile	0,13 (II°)	<b>0,0219</b>	0,71	0,14 ( <b>0,0472</b> ; A<113 > 113-172)
Eosinophile	0,90 (I°)	0,38	0,93	0,69
Basophile	0,87 (II°)	0,41	0,49	0,43
Lymphozyten	0,34 (II°)	0,08	0,83	0,56
B-Lymphozyten absolut	0,36 (I°)	0,28	0,77	0,93
B-Lymphozyten relativ	0,32 (I°)	0,34	0,46	0,32
NK-Zellen relativ	0,14 (I°)	0,13	0,81	0,16
Lymphokin-aktivierte Killerzellen absolut	0,16 (II°)	0,74	0,51	0,78

<b>Lymphokin-aktivierte Killerzellen relativ</b>	0,50 (II°)	0,53	0,42	0,92
<b>T-Lymphozyten absolut</b>	<b>0,0453</b> (II°)	0,79	0,68	0,37
<b>T-Lymphozyten relativ</b>	0,17 (I°)	0,21	0,65	0,48
<b>T<sub>H</sub> absolut</b>	0,15 (II°)	0,67	0,63	0,25
<b>T<sub>H</sub> relativ</b>	0,72 (I°)	0,56	0,34	0,40
<b>CTL absolut</b>	0,45 (II°)	0,87	0,40	0,58
<b>CTL relativ</b>	0,57 (I°)	0,63	0,28	0,36
<b>T<sub>reg</sub> absolut</b>	0,52 (II°)	0,58	0,72	0,30
<b>T<sub>reg</sub> relativ</b>	0,52 (I°)	0,40	0,98	0,36
<b>Ratio CD4<sup>+</sup>-/CD8<sup>+</sup>-Zellen</b>	0,69 (I°)	0,65	0,34	0,17
<b>aktivierte T-Lymphozyten absolut</b>	0,66 (I°)	0,87	0,85	0,89
<b>aktivierte T-Lymphozyten relativ</b>	0,85 (I°)	0,51	0,95	0,71

Passt man die Apo10-Scores polynomial zweiten Grades nach den absoluten Monozyten an, ergibt sich ein signifikanter Zusammenhang. Das Signifikanzniveau liegt bei 0,0307 (F-Wert=3,7;  $r^2=0,10$ ) und die Gleichung lautet (gerundet auf zwei Dezimalstellen):

$$\text{Apo10} = 1,57 \cdot 10^{-4} \cdot \text{Mono}_{\text{abs}}^2 - 0,21 \cdot \text{Mono}_{\text{abs}} + 212,75$$

Also sind die durchschnittlich höchsten Apo10-Scores bei den ganz hohen und den ganz niedrigen absoluten Monozytenzahlen zu finden. Im Subkollektiv mit identischen Tumorparametern pT2c pN0 M0 Gleason 7a ist diese Tendenz in schwacher Form auch zu finden, allerdings nicht signifikant. Zur relativen Monozytenzahl resultiert kein signifikanter Zusammenhang, weder im Gesamtkollektiv, noch im Subkollektiv mit identischen Tumordaten.

In umgekehrter Abhängigkeit ergab sich ein signifikanter Zusammenhang des Apo10-Scores mit der relativen Monozytenzahl (0,0375; F-Wert=3,3;  $r^2=0,04$ ).

Sämtliche signifikanten Zusammenhänge aus Tab. 14 bestanden im Subkollektiv pT2c pN0 pM0 Gleason7a nicht.



### 3.3.1.3 Zusammenhänge von Apo10 mit individuellen Eigenschaften

Bei der bivariaten Anpassung von Apo10 mit dem Alter (stetig oder ordinal unterteilt in drei Altersgruppen bis 55, über 55 bis 65, über 65) ergab sich kein signifikanter Zusammenhang bei leichter Tendenz zu durchschnittlich niedrigeren Werten bei älteren Patienten (Tab.15).

**Tab. 15 Untersuchung der Apo10-Scores nach Altersgruppen (mit dem Alter als unabhängiger Variable; ordinal sind Altersgruppen eingeteilt in drei Gruppen bis 55 Jahre, über 55 und bis 65 Jahre, über 65 Jahre; Daten wurden aus allen erfassten Werten im Gesamtkollektiv bei 173 Patienten bestimmt; dargestellt sind p-Werte, beim Vergleich von zwei stetigen Variablen der niedrigste p-Wert bei Anpassung I°, II° und III° sowie der zugehörige Grad der bivariaten Anpassung; cut-offs bei ordinaler Variable in Klammern)**

	Alter stetig	Alter ordinal (56;66)
<b>Apo10 stetig</b>	0,60 (I°)	0,57
<b>Apo10 ordinal (109)</b>	0,61	0,27
<b>Apo10 ordinal (100;130)</b>	0,22	0,53
<b>Apo10 ordinal (113;173)</b>	0,92	0,72

Quantile				Apo10			
Alter	Minimum	10 %	25 %	Median	75 %	90 %	Maximum
<=55	107	108,4	123,75	144	155,5	169,9	179
56-65	103	115,4	128	136	148,5	164,6	204
>=66	101	111,1	124	133	151,25	166	254

### 3.3.2 Präoperative TKTL1-Zusammenhänge

#### 3.3.2.1 Zusammenhänge von TKTL1 mit Tumordaten

Beim Marker TKTL1 steht besonders das Verhältnis zum Gleason-Score im Mittelpunkt: Abb.11 zeigt, dass mit Ausnahme der Gleason-Scores 9a und 9b ein höherer TKTL1-Median bei höherem Gleason-Score vorliegt. Ein signifikant positiver Zusammenhang zwischen TKTL1-Scores und Gleason-Scores stellt sich jedoch in keiner der möglichen Kombinationen von TKTL1 stetig, ordinal mit einem *cut-off* bei 117, mit zwei *cut-offs* bei 116 und 172 und gruppiert (siehe 2.5.1) im Vergleich mit dem Gleason-Score, Gleason 1 und 2 separat, Gleason-Score ganzzahlig, Gleason bis 7b versus Gleason ab 8 und Gleason gestuft (siehe 2.5.1) ein. Im Gegenteil: Tab.16 zeigt, dass Patienten mit Gleason-Score 7a und 7b sogar signifikant höhere TKTL1-Scores als solche mit Gleason-Score 9a aufwiesen (p-Werte 0,0232 bzw. 0,0321).

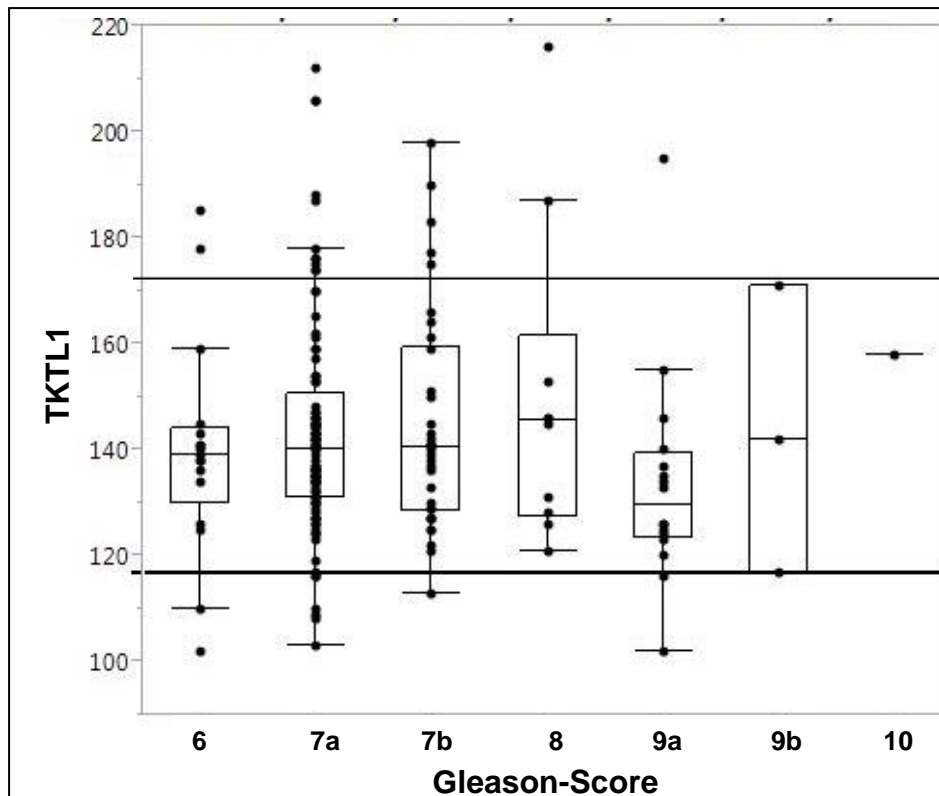


Abb. 11 TKTL1-Scores aufgetragen nach Gleason-Scores (die schwarzen Linien entsprechen *cut-offs* bei 117 und 172; Daten von allen 174 Patienten des Gesamtkollektivs)

Tab.16 Zusammenhang des TKTL1-Scores mit dem Gleason-Score (Gleason als unabhängige Variable; Daten von 174 Patienten des Gesamtkollektivs; *cut-offs* bei ordinaler Variable in Klammern; GI=Gleason-Score, p=p-Werte)

	GI 6	GI 7a	GI 7b	GI 8	GI 9a	GI 9b	GI 10	P
<b>TKTL1 stetig</b>								0,30
- Median	139,0	140,0	140,5	145,5	129,5	142,0	158,0	
- Mittelwert	140,0	143,3	144,8	149,9	133,5	143,3	158,0	
- Std.-Abw.	+/-20,4	+/-20,8	+/-21,0	+/-29,9	+/-20,5	+/-27,0		
- signifikante p bei Untergruppen		<b>0,0232</b> (7a>9a)	<b>0,0321</b> (7b>9a)					
<b>TKTL1 ordinal (117)</b>	2-15	6-87	1-33	0-10	2-14	0-3	0-1	0,65
- Anteil positiv	88,2%	93,5%	97,0%	100%	87,5%	100%	100%	
<b>TKTL1 ordinal (116;172)</b>	2-13-2	4-78-1	1-28-5	0-8-2	1-14-1	0-3-0	0-1-0	0,94
- Anteil 116-171	76,5%	83,9%	82,4%	80,0%	87,5%	100%	100%	

Bestätigt werden diese Ergebnisse im Subkollektiv der Patienten mit denselben Tumordaten pT2c pN0 M0 (n=100; p-Werte 7a/9=0,0225; 7b/9=0,0375).

Darüber hinaus stellt sich dort ein signifikanter Zusammenhang zwischen TKTL1 und den Gleason-Stufen ein (Signifikanzniveau 0,0435, Chi<sup>2</sup>; Einteilung Gleason Stufen siehe 2.5.1). Der TKTL1-Score ist bei Gleason Stufe 4 höher als bei Stufe 3 und sinkt dann bei Stufe 5 wieder deutlich ab (0,0194; Tab.17).

**Tab. 17 Kennzahlen der TKTL1-Scores bei Gleason Stufen 3, 4 und 5 im Subkollektiv mit identischem TNM-Stadium (Daten von 100 Patienten des Subkollektivs mit den identischen Tumordaten T2c N0 M0; dargestellt sind p-Werte, des Weiteren sind Mediane und Mittelwert hervorgehoben; Einteilung Gleason Stufen siehe 2.5.1)**

		<b>Gleason Stufen</b>					
<b>TKTL1 stetig</b>		<b>0,0435</b>					
- signifikante p-Werte zwischen Untergruppen		<b>0,0194</b> (4>5)					
<b>Quantile</b>							<b>TKTL1</b>
Stufe	Minimum	10 %	25 %	<b>Median</b>	75 %	90 %	Maximum
3	102	103,6	126	138	141	176,6	185
4	103	121,4	129	140	150,5	175,4	206
5	102	102	107,25	124,5	131,25	133	133
<b>Mittelwerte und Std.-Abweichungen</b>							<b>TKTL1</b>
Stufe	Anzahl	<b>Mittelwert</b>	Std.-Abw.	Std.-Fehler		95% KI	
				Mittelwert	95% KI unten	95% KI oben	
3	11	136,182	21,0704	6,3530	122,03	150,34	
4	85	143,059	21,2033	2,2998	138,49	147,63	
5	4	121,000	13,3417	6,6708	99,77	142,23	

Analysiert man TKTL1 und Gleason-Score in umgekehrter Abhängigkeit (TKTL1-Score als unabhängige Variable), ergibt sich ebenso in keiner möglichen Kombination eine Signifikanz (Tab.18). Auffällig ist allerdings, dass TKTL1-negative Patienten (*cut-off* 117) sowohl einen höheren Anteil an Tumoren mit Gleason-Score 6 (18,2% vs 9,2%) als auch einen höheren mit Gleason-Score  $\geq 9a$  (18,2 vs 11,0%) haben. Im Subkollektiv der Patienten mit pT2c pN0 M0 fällt dieses Verhältnis noch drastischer aus: 22,2% vs 9,9% und 11,1% vs 3,3%. Außerdem fiel auf, dass in diesem Subkollektiv ein TKTL1-Score mit mindestens 147 einen Gleason-Score unter 8 garantierte. Patienten mit hohen TKTL1-Scores wiesen demnach eine Tendenz zu Tumoren mit mittleren Gleason-Scores von 7a bis 8 auf, während Patienten mit niedrigen TKTL1-Scores einen höheren Prozentsatz an „niedrig-gleasigen“, aber auch an „hoch-gleasigen“ Tumoren hatten.

**Tab. 18 Zusammenhang von Gleason-Score und TKTL1, im Vergleich zu Tab.16 in umgekehrter Abhängigkeit untersucht (wiederum Daten von allen 174 Patienten des Gesamtkollektivs; Einteilung Gleason Stufen siehe 2.5.1; *cut-offs* bei ordinaler Variable in Klammern; p=p-Werte)**

	TKTL1 stetig	TKTL1 ordinal (117)		TKTL1 ordinal (116;172)		
Gleason (p)	0,99	0,65		0,94		
- Verteilung		negativ 11	positiv 163	<116 8	145	>171 21
Gleason 6		2 (18,2%)	15 (9,2%)	2 (25,0%)	13 (9,0%)	2 (9,5%)
Gleason 7a		6 (54,6%)	87 (53,4%)	4 (50,0%)	78 (53,8%)	11 (52,4%)
Gleason 7b		1 (9,1%)	33 (20,3%)	1 (12,5%)	28 (19,3%)	5 (23,8%)
Gleason 8		0 (0,0%)	10 (6,1%)	0 (0,0%)	8 (5,5%)	2 (9,5%)
Gleason 9a		2 (18,2%)	14 (8,6%)	1 (12,5%)	14 (9,7%)	1 (4,8%)
Gleason 9b		0 (0,0%)	3 (1,8%)	0 (0,0%)	3 (2,1%)	0 (0,0%)
Gleason 10		0 (0,0%)	1 (0,6%)	0 (0,0%)	1 (0,7%)	0 (0,0%)
Gleason Stufen (p)	0,92	0,46		0,66		

Mit einem *cut-off* bei 116 stellte sich eine signifikante Beziehung zum pT-Stadium gruppiert in pT2 und pT3 Tumoren ein (0,0212 Likelihood;  $r^2=0,03$ ). Dabei hatten alle TKTL1-negativen Patienten höchstens pT2-Tumoren, während 28,9% der TKTL1-positiven Patienten mindestens pT3 aufwiesen. Betrachtet man das Subkollektiv der Patienten mit Gleason 7 und pN0 (n=122), hat dort keiner der sieben TKTL1-negativen Patienten (*cut-off* 117) einen Tumor größer 2, während es bei 115 TKTL1-Positiven 20,9% sind. Setzt man in diesem Subkollektiv einen *cut-off* bei 140, ergeben sich zwei annähernd gleich große Gruppen (59 vs 63). Hierbei haben jene mit niedrigeren TKTL1-Scores fünfmal wahrscheinlicher (17,0% vs 3,2%) lediglich einen pT2a-Tumor als die Patienten mit höheren Scores (0,0081 Likelihood;  $r^2=0,09$ ).

Alle Lymphknoten-positiven Tumoren sind TKTL1-positiv (*cut-off* 117), während alle TKTL1-negativen Tumoren Lymphknoten-negativ sind. Sogar bis TKTL1 119 sind alle (14) Patienten Lymphknoten-negativ. Ebenso alle (17) Patienten mit TKTL1  $\geq 172$ . Alle Lymphknoten-positiven Tumoren bewegen sich in einer

TKTL1-Range von 120-171. Mit diesen beiden *cut-offs* (120 und 172) entsteht ein signifikantes Verhältnis der beiden Parameter pN-Status und TKTL1 (0,0175 Likelihood;  $r^2=0,07$ ) – ebenso mit den *cut-offs* 116 und 172 (Tab.19 & 20).

**Tab. 19 Zusammenhang von pT, pN, PSA, Prostatavolumen, Prostatagewicht und TKTL1 (mit TKTL1 als unabhängiger Variable; Daten wurden aus allen erfassten Werten im Gesamtkollektiv ermittelt: im Vergleich mit pT 174 Werte, pN 174, PSA 173, Prostatavolumen 151, Prostatagewicht 170; dargestellt sind p-Werte, beim Vergleich zweier stetiger Variablen der niedrigste p-Wert bei Anpassung I°, II° und III° sowie der zugehörige Grad der bivariaten Anpassung, bei signifikanten Verhältnissen ordinaler Variablen die Bestimmungsmethode, bei stetiger und ordinaler Variable mit mehreren Untergruppen in Klammern zusätzlich der niedrigste p-Wert bei multiplen Vergleichen; *cut-offs* bei ordinaler Variable in Klammern)**

	TKTL1 stetig	TKTL1 ordinal (117)	TKTL1 ordinal (116)	TKTL1 ordinal (116;172)
pT	0,70	0,24	0,19	0,60
pT 2vs3	0,43	0,11	<b>0,0212</b> (Likelihood)	0,07
pN	0,66	0,12	0,19	<b>0,0377</b> (Likelihood)
PSA stetig	0,08 (I°)	0,65	0,90	0,55 (0,27)
PSA ordinal (4,0ng/ml)	0,30	0,18	0,25	0,45
Prostatavolumen	0,34 (I°)	0,79	0,89	0,56 (0,28)
Prostatagewicht	0,34 (I°)	0,67	0,40	0,23 (0,13)

**Tab. 20 Verteilung der pN-Stadien im signifikanten Verhältnis (0,0377 Likelihood,  $r^2=0,06$ ) sowie der pT-Stadien im signifikanten Verhältnis (0,212 Likelihood;  $r^2=0,03$ ) nach TKTL1-Scores mit den Grenzwerten 116 und 172 bzw. 116**

		TKTL1			
Häufigkeiten		< 116	116 - 171	>= 172	
Gesamt %		116	-	172	
Spalte %					
Zeile %					
pN-Stadium	0	8	128	21	157
		4,60	73,56	12,07	90,23
		100,00	88,28	100,00	
		5,10	81,53	13,38	
	1	0	17	0	17
	0,00	9,77	0,00	9,77	
	0,00	11,72	0,00		
	0,00	100,00	0,00		
	8	145	21	174	
	4,60	83,33	12,07		

		TKTL1			
Häufigkeiten		< 116	>= 116		
Gesamt %		116	116		
Spalte %					
Zeile %					
pT-Stadium	2	8	118	126	
		4,60	67,82	72,41	
		100,00	71,08		
		6,35	93,65		
	3	0	48	48	
	0,00	27,59	27,59		
	0,00	28,92			
	0,00	100,00			
	8	166	174		
	4,60	95,40			

Auch in der mittleren TKTL1-Range machen die Patienten mit Lymphknoten-positiven Tumoren allerdings nur 12,2% der Patienten aus. Bemerkenswert ist

hierzu, dass in der Kohorte der Patienten mit pT3b und Gleason-Score9a (n=6) alle TKTL1-negativen Patienten (*cut-off* 117) Lymphknoten-negativ waren, während alle TKTL1-positiven Patienten Lymphknoten-positiv waren (0,0143 Pearson;  $r^2=1,00$ ).

Zum PSA-Wert ergab sich keine signifikante Korrelation (Tab.19). Die beiden Marker scheinen dabei jedoch eher in einem antiproportionalen Verhältnis zueinander zu stehen (Signifikanzniveau bei linearer Anpassung 0,08). Dabei stach hervor, dass alle (11) Patienten mit einem TKTL1-Wert unter 117 einen PSA-Wert  $\geq 4,0\text{ng/ml}$  und alle (13) Patienten mit PSA unter  $4\text{ng/ml}$  einen TKTL1-Wert  $\geq 117$  hatten.

Auch zwischen Prostatavolumen bzw. -gewicht und TKTL1 ergab sich keine signifikante Korrelation. Bei beiden war eine Tendenz von niedrigen Werten bei ganz hohen und ganz niedrigen TKTL1-Werten: War TKTL1 unter 116 oder  $\geq 172$  waren die Prostatavolumina im Median 33 bzw. 32ml, in der mittleren *Range* 40ml. Beim Prostatagewicht waren es 38,5g bzw. 41g zu 46g.

### 3.3.2.2 Zusammenhänge von TKTL1 mit Daten des Differenzialblutbilds

Hier liegt in der statistischen Auswertung der Fokus wieder zunächst auf den Monozyten. Zwischen TKTL1 stetig, ordinal mit *cut-off* 117, bzw. 116 und 172 sowie gruppiert (siehe 2.5.1) und den Monozyten absolut und relativ war keine signifikante Korrelation zu finden (Tab.21). Auffällig war jedoch ein Signifikanzniveau von 0,06 ( $\text{Chi}^2$ ), nach welchem bei hohen relativen Monozytenzahlen eher TKTL1-negative Ergebnisse vorlagen.

**Tab. 21 Zusammenhang von TKTL1 als abhängiger Variable mit der Monozytenzahl (Daten wurden aus allen erfassten Werten im Gesamtkollektiv ermittelt: im Vergleich mit der absoluten Monozytenzahl 68 Werte, mit der relativen Monozytenzahl 167; dargestellt sind p-Werte, beim Vergleich von zwei stetigen Variablen der niedrigste p-Wert bei Anpassung I°, II° und III° sowie der zugehörige Grad der bivariaten Anpassung; *cut-offs* bei ordinaler Variable in Klammern)**

	Absolute Monozytenzahl	Relative Monozytenzahl
TKTL1 stetig	0,43 (I°)	0,52 (I°)
TKTL1 ordinal (117)	0,38	0,06
TKTL1 ordinal (116;172)	0,07	0,74

Bei der Untersuchung der anderen Parameter des Differentialblutbildes (Tab.22) war die Beziehung von TKTL1 zur T-Lymphozytenzahl am auffälligsten, genauer gesagt zur relativen T-Lymphozytenzahl. Diese

Beziehung war mit einem Wert von 0,0026 bei polynomialer Anpassung zweiten Grades signifikant (F-Wert=6,6;  $r^2=0,17$ ).

Die Anpassungsfunktion lautet dabei:

$$T_{\text{rel}} = -2,82 \cdot 10^{-3} \cdot \text{TKTL1}^2 + 1,04 \cdot \text{TKTL1} + 92,29$$

Tab. 22 Zusammenhang von Daten des Differenzialblutbildes mit TKTL1 (TKTL1 als unabhängige Variable; Daten wurden aus allen erfassten Werten im Gesamtkollektiv ermittelt: im Vergleich mit Leukozyten 172, Monozyten abs 68, Monozyten rel 166, Neutrophilen 123, Eosinophilen 124, Basophilen 56, Lymphozyten 130, B-Lymphozyten abs 65, B-Lymphozyten rel 66, NK-Zellen rel 122, Lymphokin-aktivierten Killerzellen abs 65, Lymphokin-aktivierten Killerzellen rel 66, T-Lymphozyten abs 66, T-Lymphozyten rel 66, T-Helferzellen abs 66, T-Helferzellen rel 66, CTL abs 66, CTL rel 66,  $T_{\text{reg}}$  abs 65,  $T_{\text{reg}}$  rel 66, Ratio  $\text{CD4}^+/\text{CD8}^+$  66, aktivierten T-Lymphozyten abs 65, T-Lymphozyten rel 66; dargestellt sind p-Werte, beim Vergleich von zwei stetigen Variablen der niedrigste p-Wert bei Anpassung I°, II° und III° sowie der zugehörige Grad der bivariaten Anpassung, bei stetiger und ordinaler Variable mit mehreren Untergruppen in Klammern zusätzlich signifikante p-Werte bei multiplen Vergleichen; *cut-offs* bei ordinaler Variable in Klammern; T=TKTL1, NK-Zellen=natürliche Killerzellen,  $T_{\text{H}}$ = T-Helferzellen, CTL=zytotoxische T-Lymphozyten,  $T_{\text{reg}}$ =regulatorische T-Lymphozyten)

	TKTL1 stetig	TKTL1 ordinal (117)	TKTL1 ordinal (116;172)
Leukozyten	0,25 (I°)	0,12	<b>0,0481</b>
Monozyten absolut	0,43 (I°)	0,95	0,24
Monozyten relativ	0,23 (II°)	0,09	0,12
Neutrophile	0,33 (I°)	0,28	0,31
Eosinophile	0,72 (I°)	0,77	0,95
Basophile	0,96 (I°)	0,05	0,29
Lymphozyten	0,17 (I°)	0,55	0,55
B-Lymphozyten absolut	0,12 (I°)	0,92	0,57
B-Lymphozyten relativ	0,17 (II°)	0,13	0,50
NK-Zellen relativ	<b>0,0445</b> (II°)	0,11	0,21
Lymphokin-aktivierte Killerzellen absolut	0,35 (II°)	<b>0,0321</b>	0,12
Lymphokin-aktivierte Killerzellen relativ	0,48 (II°)	0,06	0,34
T-Lymphozyten absolut	<b>0,0424</b> (II°)	<b>0,0107</b>	0,08 ( <b>0,0492</b> T<116 < 116-171)
T-Lymphozyten relativ	<b>0,0026</b> (II°)	<b>0,0124</b>	0,09
$T_{\text{H}}$ absolut	0,05 (II°)	<b>0,0257</b>	0,10
$T_{\text{H}}$ relativ	0,12 (II°)	0,06	0,42
CTL absolut	0,40 (II°)	0,13	0,77
CTL relativ	0,23 (I°)	0,43	0,55

<b>T<sub>reg</sub> absolut</b>	0,15 (I°)	0,43	0,98
<b>T<sub>reg</sub> relativ</b>	0,14 (I°)	0,22	0,68
<b>Ratio CD4<sup>+</sup>-/CD8<sup>+</sup>-Zellen</b>	0,35 (I°)	0,67	0,44
<b>aktivierte T-Lymphozyten absolut</b>	0,20 (I°)	0,13	0,46
<b>aktivierte T-Lymphozyten relativ</b>	0,05 (I°)	0,35	0,09 ( <b>0,0351</b> T 116-171 < ≥172)

### 3.3.2.3 Zusammenhänge von TKTL1 mit individuellen Eigenschaften

Zwischen TKTL1 stetig, positiv/negativ (*cut-off* 117) und gruppiert (siehe 2.5.1) als abhängiger Variable und dem Alter stetig und gruppiert (bis 55, über 55 bis 65, über 65) ergab sich kein signifikantes Verhältnis. Es fiel lediglich auf, dass die TKTL1-Negativen eine Altersrange von 58 bis 76 hatten, während die des Gesamtkollektivs von 45 bis 76 reichte. Zieht man hier eine Grenze, ergibt sich ein signifikanter Zusammenhang (0,0214 Likelihood;  $r^2=0,06$ ): Die 36- bis 57-Jährigen waren 100% TKTL1-positiv, während von 138 älteren elf TKTL1-negativ waren.

Im Gesamtkollektiv waren sieben Patienten mit diagnostiziertem Diabetes mellitus II (Dm). Beim Verhältnis von TKTL1 zu Dm fiel auf, dass 14,3% der Patienten mit Dm TKTL1-negativ waren (1/7), während es bei den übrigen Patienten lediglich 6,0% (10/167) waren. Der Zusammenhang war jedoch nicht signifikant.

## 3.4 Zusammenhänge der Kombination von Apo10 und TKTL1 mit klinischen Daten

An dieser Stelle sollen nun die Ergebnisse der Untersuchung von Zusammenhängen der Kombination aus EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 mit klinischen Daten berichtet werden. Zum einen wurde dabei die von Tavarlin-Mitarbeitern angeregte Summe der beiden Marker untersucht. Zum anderen wurde vom Autor dieser Arbeit ein Algorithmus aus dem EDIM-Apo10- und dem EDIM-TKTL1-Score entwickelt, dessen Zusammenhänge mit klinischen Daten ebenso im Folgenden dargestellt werden sollen. Als Überblick werden zuerst wiederum Verteilungen der neu entstandenen Scores sowie deren Sensitivität im Gesamtkollektiv gezeigt.



Die EDIM Summe hat einen Median von 275 bei einer *Range* von 210 bis 410. Das arithmetische Mittel liegt bei 282,45 (Abb.12). Mit *cut-off* 227 ergibt sich für die Sensitivität der EDIM Summe im Gesamtkollektiv ein Wert von 98,2%.

Quantile			EDIM Summe	
100.0 %	Maximum	410		
99.5 %		410		
97.5 %		375,65		
90.0 %		332,6		
75.0 %	Quartil	299,5		
50.0 %	Median	275		
25.0 %	Quartil	259,5		
10.0 %		246		
2.5 %		228,7		
0.5 %		210		
0.0 %	Minimum	210		
			Statistische Kenngrößen	
			Mittelwert	282,45087
			Std.-Abw.	35,082364
			Std.-Fehler Mittelwert	2,6672628
			95% KI oben Mittelwert	287,71565
			95% KI unten Mittelwert	277,18608
			N	173

**Abb. 12 Präoperative Verteilung der EDIM Summe-Werte im Gesamtkollektiv (173 Patienten, entsprechend einem fehlenden Apo10-Wert)**

Bei unserem EDIM Algorithmus ist der Median des Gesamtkollektivs 669, die *Range* 210 bis 835 und das arithmetische Mittel 652,57 (Abb.13). Für einen *cut-off* bei 535 ergab sich eine Sensitivität im Gesamtkollektiv von 90,2%.

Quantile			EDIM Algorithmus	
100.0 %	Maximum	835		
99.5 %		835		
97.5 %		790,3		
90.0 %		751		
75.0 %	Quartil	707		
50.0 %	Median	669		
25.0 %	Quartil	622		
10.0 %		531,4		
2.5 %		357,5		
0.5 %		210		
0.0 %	Minimum	210		
			Statistische Kenngrößen	
			Mittelwert	652,57225
			Std.-Abw.	94,641378
			Std.-Fehler Mittelwert	7,1954507
			95% KI oben Mittelwert	666,77501
			95% KI unten Mittelwert	638,3695
			N	173

**Abb. 13 Präoperative Verteilung der EDIM Algorithmus-Werte im Gesamtkollektiv (173 Patienten, entsprechend einem fehlenden Apo10-Wert)**

### 3.4.1 Zusammenhänge der EDIM Summe mit klinischen Daten

Zum pT-Stadium (abhängige Variable) ergab sich keinerlei signifikanter Zusammenhang (Tab.23). Anzumerken ist, dass von den drei EDIM Summe-negativen Patienten (unter 227) keiner einen Tumor größer pT2 hatte, während dies bei 28,2% der EDIM Summe-Positiven der Fall war. Setzt man einen *cut-off* bei 267, anstatt bei 227 ergibt sich ein Signifikanzniveau von 0,05 (Likelihood).

Tab. 23 Zusammenhang von pT, pN, Gleason, PSA, Prostatavolumen, Prostatagewicht und EDIM Summe (mit EDIM Summe als unabhängiger Variable; Daten wurden aus allen erfassten Werten im Gesamtkollektiv ermittelt: im Vergleich mit pN 173 Werte, Gleason-Score 173, PSA 172, Prostatavolumen 150, Prostatagewicht 169; dargestellt sind p-Werte, beim Vergleich zweier stetiger Variablen der niedrigste p-Wert bei Anpassung I°, II° und III° sowie der zugehörige Grad der bivariaten Anpassung; *cut-offs* bei ordinaler Variable in Klammern)

	EDIM Summe stetig	EDIM Summe ordinal (227)	EDIM Summe ordinal (267)
pT	0,46	0,52	0,05
pT 2 vs 3	0,78	0,16	0,07
pN	0,72	0,42	0,37
Gleason	0,64	0,74	0,53
Gleason <8 vs ≥8	0,70	0,46	0,70
Prostatavolumen	0,12 (I°)	0,73	0,87
Prostatagewicht	0,20 (I°)	0,72	0,75
PSA	0,26 (I°)	0,40	0,47
PSA ordinal (4,0ng/ml)	0,74	0,49	0,84

Auch der Vergleich mit dem pN-Stadium (abhängige Variable) folgte keinerlei Signifikanz. Bis zu einem *cut-off* von 234 waren dabei alle Patienten Lymphknoten-negativ, was bei 10,1% Lymphknoten-Positiven in der Gruppe derer mit höheren Werten allerdings nur einem Signifikanzniveau von 0,30 (Chi<sup>2</sup>) entspricht. Alle Lymphknoten-Positiven hatten EDIM Summen innerhalb einer *Range* von 234 bis 332 (0,08 Likelihood).

Der Gleason-Score als abhängige Variable und die EDIM Summe verhielten sich in dieser Untersuchung keiner signifikanten Korrelation entsprechend. Schon von den drei EDIM Summe-negativen Patienten (*cut-off* 227) hatte einer einen Gleason-Score von 9a, zwei von 7a. Ein EDIM Summe Wert von unter 267 garantierte keinen Tumor mit Gleason-Score größer 9a zu haben. Es stellte sich also keine Tendenz von höheren Gleason-Scores bei höherer EDIM Summe heraus.

Zwischen PSA und der EDIM Summe scheint kein signifikanter Zusammenhang zu bestehen. Es fiel lediglich auf, dass mittlere EDIM Summe-Werte die höchsten PSA-Werte aufwiesen: Bei EDIM Summe zwischen 234 und 332 war der PSA-Median bei 7,2ng/ml, das Maximum 65,4ng/ml. Für darunter und darüber liegende EDIM Summe-Werte war der PSA-Median jeweils bei

6,7ng/ml und das Maximum bei 12,2ng/ml bzw. 13,0ng/ml. Bemerkenswert ist noch, dass die Patienten mit PSA unter 4,0ng/ml eine EDIM Summe von mindestens 246 aufwiesen, sie waren also alle EDIM Summe-positiv (*cut-off* 227). Umgekehrt hatten ebenso alle EDIM Summe-Negativen (*cut-off* 227) einen PSA-Wert von  $\geq 4,0$ ng/ml.

Weder das Verhältnis zu Prostatavolumen, noch das zu Prostatagewicht (als abhängige Variable) erwies sich als signifikant. Es ergaben sich jeweils negative Tendenzen bei Signifikanzniveau 0,12 (Prostatavolumen) bzw. 0,20 (Prostagewicht). Diese Tendenz war wiederum auch an den Medianen zu erkennen beim Vergleich mit EDIM Summe-Werten bis 233, 234-332 und ab 333. Das Prostatavolumen sank dann von 59,5ml über 40ml auf 34ml (0,34;  $\text{Chi}^2$ ), das Prostatagewicht von 53g über 44g auf 41g (0,26;  $\text{Chi}^2$ ).

Zu nennen ist noch ein signifikanter Zusammenhang (0,0346;  $\text{Chi}^2$ ) von EDIM Summe (ordinal mit *cut-off* 227) zum relativen T-Lymphozytenanteil. Patienten mit niedrigen T-Lymphozytenanteilen sind eher EDIM Summe-negativ, während solche mit hohen (ab 54%) ausschließlich positiv waren.

Der Vergleich von EDIM Summe und Alter ergab kein signifikantes Ergebnis.

### **3.4.2 Zusammenhänge unseres EDIM Algorithmus mit klinischen Daten**

Der Zusammenhang des EDIM Algorithmus ordinal zum pT-Stadium fiel signifikant aus (Tab.24 & 25): Während bis zum *cut-off* von 535 alle Patienten maximal im Stadium pT2c waren, waren bei Werten über 769 alle mindestens im Stadium pT2c und 22,2% bereits im Stadium pT3b (Abb.14).

Auch der Zusammenhang zum pN-Stadium fiel signifikant aus (Tab.24, 25): Alle Patienten mit EDIM Algorithmus unter 535 waren Lymphknoten-negativ, während es bei Werten 535 bis 769 nur noch 91,2% waren. Bei EDIM Algorithmus ab 770 waren bereits 44,4% der Patienten Lymphknoten-positiv.

Auch der Zusammenhang zum Gleason-Score war signifikant. (Tab.24, 25): Wiederum bis zu einem EDIM Algorithmus von einschließlich 534 gab es keine Patienten mit Gleason höher 9a und lediglich einen Patienten (5,9%) mit einem Gleason-Score über 7b. Bei EDIM Algorithmus ab 770 hatten hingegen mehr als die Hälfte der Patienten (55,6%) einen Gleason-Score von acht und höher. Ein Gleason-Score von zehn kam nur oberhalb des *cut-offs* von 770 vor.

Tab. 24 Zusammenhang von pT, pN, Gleason, PSA, Prostatavolumen, Prostatagewicht und EDIM Algorithmus (mit EDIM Algorithmus als unabhängiger Variable; Daten wurden aus allen erfassten Werten im Gesamtkollektiv ermittelt: im Vergleich mit pN 173 Werte, Gleason-Score 173, PSA 172, Prostatavolumen 150, Prostatagewicht 169; dargestellt sind p-Werte, beim Vergleich zweier stetiger Variablen der niedrigste p-Wert bei Anpassung I°, II° und III° sowie der zugehörige Grad der bivariaten Anpassung, bei signifikanten Verhältnissen ordinaler Variablen die Bestimmungsmethode; *cut-offs* bei ordinaler Variable in Klammern)

	EDIM Algorithmus stetig	EDIM Algorithmus ordinal (535)	EDIM Algorithmus ordinal (535;770)
pT	0,05	<b>0,0065</b>	<b>0,0187</b>
pT 2 vs 3	<b>0,0241</b>	<b>0,0006</b>	<b>0,0008</b>
pN	<b>0,0120</b>	0,05	<b>0,0008</b>
Gleason	0,58	0,49	<b>0,0009</b>
Gleason <8 vs ≥8	0,35	0,14	<b>0,0044</b>
Prostatavolumen	0,55 (I°)	0,49	0,75
Prostatagewicht	0,60 (I°)	0,81	0,76
PSA	0,75 (II°)	0,99	0,92
PSA ordinal (4,0ng/ml)	<b>0,0161</b>	0,09	0,23

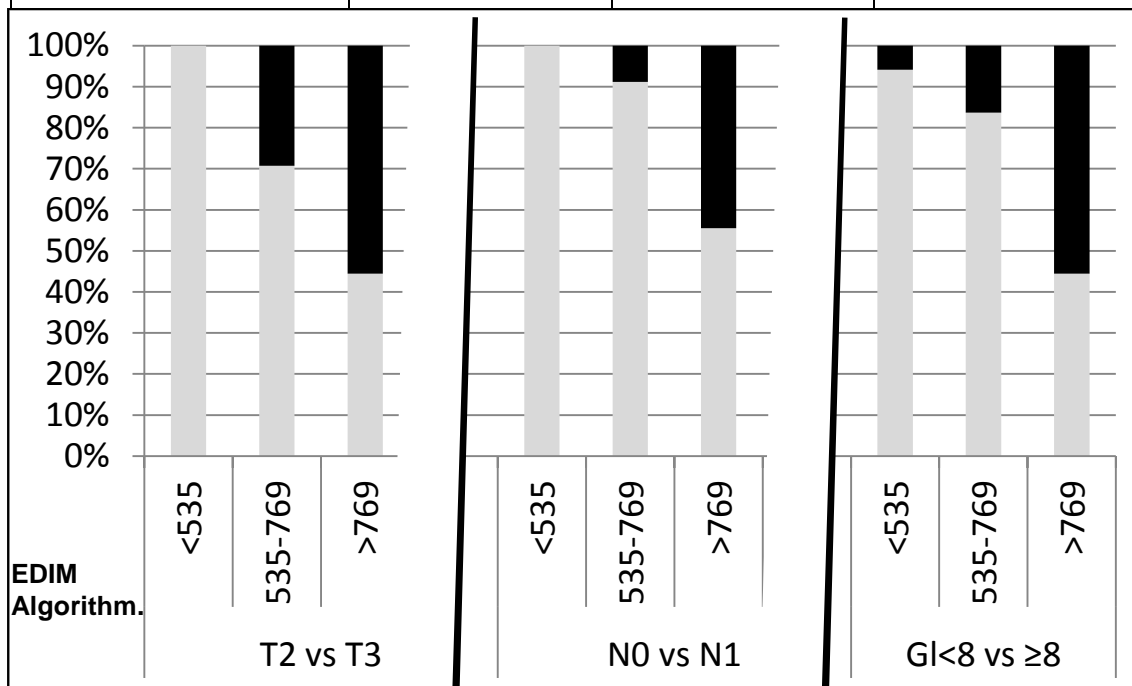


Abb. 14 Verteilung von pT-Stadien, pN-Stadien und Gleason-Scores nach EDIM Algorithmus-Scores (EDIM Algorithmus ordinal mit Grenzwerten 535 und 770; Daten aus dem Gesamtkollektiv vgl. Tab.25; Unterteilung von pT, pN und Gleason jeweils in zwei Untergruppen: pT in T2 versus T3, pN in N0 versus N1, Gleason in Gleason-Score bis 7b versus Gleason-Score mindestens 8; „weniger weit fortgeschrittene Tumorstadien“ sind hell, „weiter fortgeschrittene“ dunkel dargestellt)

Tab. 25 Verteilung der pT-, pN-Stadien und Gleason-Scores im signifikanten Verhältnis nach EDIM  
 Algorithmus-Scores mit den Grenzwerten 535 und 770 (pT 0,0187 Likelihood,  $r^2=0,04$  bzw. gruppiert in  
 pT 2vs3 0,0008 Likelihood,  $r^2=0,07$ ; pN 0,0008 Pearson,  $r^2=0,10$ ; Gleason 0,0009 Pearson,  $r^2=0,04$ )

Häufigkeiten Gesamt % Spalte % Zeile %	Gleason-Score							pN-Stadium			pT-Stadium				
	6	7a	7b	8	9a	9b	10	1	1	2a	2b	2c	3a	3b	
	Gleason-Score							pN-Stadium			pT-Stadium				
<b>&lt;535</b>	2 1,16	8 4,62	6 3,47	0 0,00	1 0,58	0 0,00	0 0,00	17 9,83	0 0,00	17 9,83	4 2,31	0 0,00	13 7,51	0 0,00	17 9,83
	12,50	8,60	17,65	0,00	6,25	0,00	0,00	10,90	0,00	22,22	0,00	12,75	0,00	0,00	
	11,76	47,06	35,29	0,00	5,88	0,00	0,00	100,00	0,00	23,53	0,00	76,47	0,00	0,00	
<b>535 - 769</b>	14 8,09	82 47,40	27 15,61	8 4,62	14 8,09	2 1,16	0 0,00	147 77,46	13 7,51	134 77,46	5 2,89	85 49,13	26 15,03	17 9,83	
	87,50	88,17	79,41	80,00	87,50	66,67	0,00	85,90	76,47	77,78	100,00	83,33	89,66	89,47	
	9,52	55,78	18,37	5,44	9,52	1,36	0,00	91,16	8,84	9,52	3,40	57,82	17,69	11,56	
<b>&gt;=769</b>	0 0,00	3 1,73	1 0,58	2 1,16	1 0,58	1 0,58	1 0,58	5 2,89	4 2,31	0 0,00	0 0,00	4 2,31	3 1,73	2 1,16	
	0,00	3,23	2,94	20,00	6,25	33,33	100,00	3,21	23,53	0,00	0,00	3,92	10,34	10,53	
	0,00	33,33	11,11	22,22	11,11	11,11	11,11	55,56	44,44	0,00	0,00	44,44	33,33	22,22	
	16 9,25	93 53,76	34 19,65	10 5,78	16 9,25	3 1,73	1 0,58	156 90,17	17 9,83	18 10,40	5 2,89	102 58,96	29 16,76	19 10,98	

Interessanterweise hatten alle (13) Patienten mit einem PSA von unter 4,0ng/ml einen EDIM Algorithmus  $\geq 535$ . Insgesamt hatten alle gemessenen Patienten des Gesamtkollektivs (172) entweder einen PSA-Wert von mindestens 4,0ng/ml oder einen EDIM Algorithmus von  $\geq 535$  oder beides. Würde man diese beiden Scores kombinieren erhielte man demnach im Gesamtkollektiv eine Sensitivität von 100%.

### 3.5 Vergleich der präoperativen EDIM-Parameter bei unterschiedlichen prognostischen Gruppen

Unsere vier Unterteilungen in prognostische Gruppen (siehe 2.5.1) sollen in diesem Kapitel zuerst in ihrer Verteilung dargestellt werden. Daraufhin sollen sie als abhängige Variable mit den EDIM-Parametern – Apo10, TKTL1 sowie EDIM Summe und EDIM Algorithmus – untersucht werden. Für die prognostischen Einteilungen II und III, für die der PSA-Wert nicht als Einflussfaktor herangezogen wurde, wollten wir zusätzlich einen Vergleich mit den PSA-Werten herstellen.

**Tab. 26** Verteilung der prognostischen Gruppen im Gesamtkollektiv (174 Patienten, bei EAU 173 aufgrund fehlendes PSA-Werts eines Patienten) nach UICC (Stadien I, IIA, IIB, III, IV), EAU (*low-, intermediate-, high-, very-high-risk*) sowie nach unserer Einteilungen in drei und in zwei Gruppen (für Einteilung siehe 2.5.1; im=intermediate)

Häufigkeiten UICC			Häufigkeiten EAU		
	Häufigkeiten	Wahrsch.		Häufigkeiten	Wahrsch.
I	3	0,01724	low	3	0,01734
II A	18	0,10345	im	108	0,62428
II B	102	0,58621	high	36	0,20809
III	34	0,19540	very	26	0,15029
IV	17	0,09770	Summe	173	1,00000
Summe	174	1,00000			

Häufigkeiten neu III			Häufigkeiten neu II		
Klasse	Häufigkeiten	Wahrsch.	Klasse	Häufigkeiten	Wahrsch.
1	115	0,66092	1	115	0,66092
2	42	0,24138	2	59	0,33908
3	17	0,09770	Summe	174	1,00000
Summe	174	1,00000			

Bei der UICC-Einteilung war die prognostische Gruppe IIB ( $T \leq 2c$ ,  $N=0$ ,  $M=0$ ,  $PSA \geq 20$ , Gleason-Score  $\geq 8$ ) mit 58,6% eindeutig am häufigsten vertreten. Nach der EAU-Einteilung für die Behandlung durch radikale Prostatektomie ist die Gruppe *intermediate-risk* ( $T2b-c$ , Gleason=7,  $PSA=10-20ng/ml$ ) im

Gesamtkollektiv mit 62,4% der Patienten am häufigsten. Nach unseren Einteilungen war jeweils die niedrigste prognostische Gruppe (T<3, N=0, Gleason-Score<8) mit 66,1% am häufigsten vertreten (Tab.26).

Der EDIM Algorithmus zeigte sich in nahezu sämtlichen Zusammenhängen mit prognostischen Einteilungen signifikant (Tab.27).

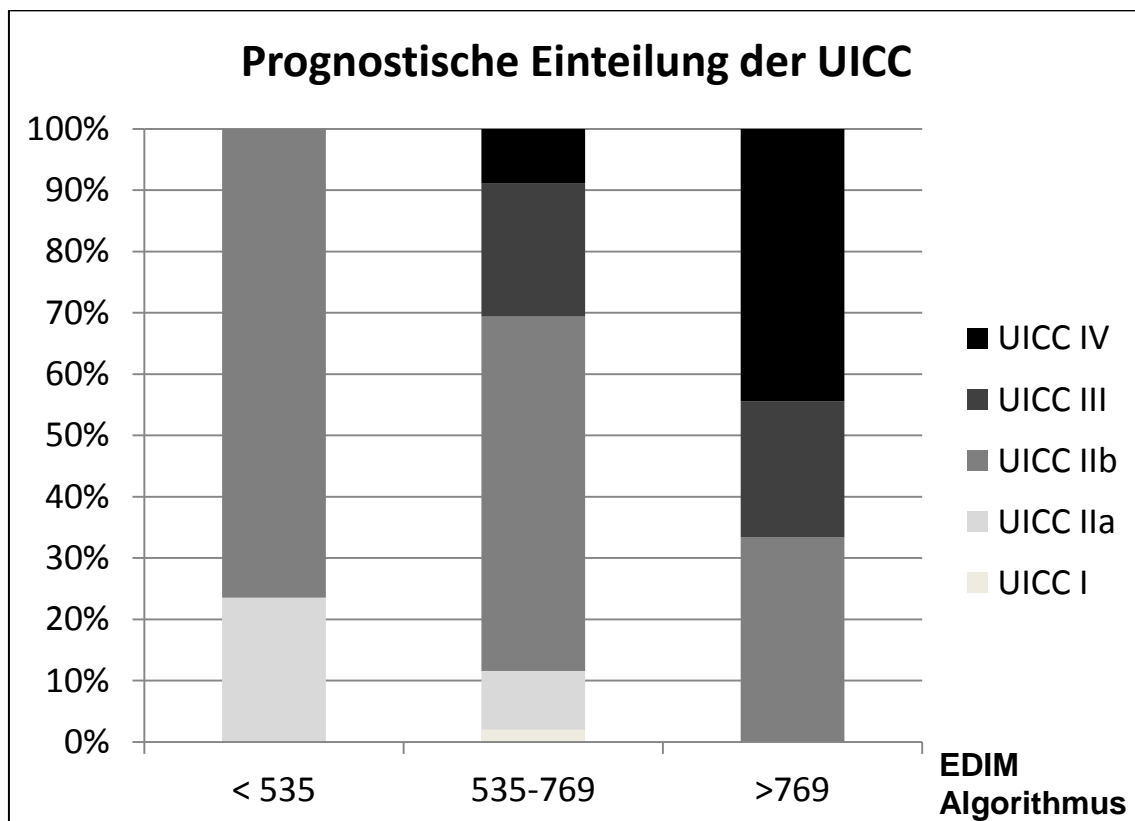
**Tab. 27 Zusammenhang von prognostischen Gruppen (nach UICC, EAU sowie neue Einteilungen in drei und in zwei Gruppen; siehe 2.5.1) mit Apo10, TKTL1, EDIM Summe, EDIM Algorithmus und PSA (jeweils als unabhängiger Variable; Daten wurden aus dem Gesamtkollektiv ermittelt mit 174 Patienten, respektive 173 bei EAU und PSA bzw. Apo10 wegen jeweils einem fehlendem PSA- und Apo10-Wert, entsprechend 172 bei EAU im Vergleich mit Apo10; dargestellt sind p-Werte, bei signifikanten Verhältnissen ordinaler Variablen die Bestimmungsmethode; cut-offs bei ordinaler Variable in Klammern)**

	<b>Apo10 stetig</b>	<b>Apo10 ordinal (109)</b>	<b>Apo10 ordinal (100;130)</b>	<b>Apo10 ordinal (113;173)</b>
<b>UICC</b>	0,20	0,62	0,51	0,11
<b>EAU</b>	0,51	0,88	0,65	0,21
<b>III</b>	0,76	0,33	0,54	0,10
<b>II</b>	0,75	0,77	0,28	0,20
	<b>TKTL1 stetig</b>	<b>TKTL1 ordinal (117)</b>	<b>TKTL1 ordinal (116;172)</b>	
<b>UICC</b>	0,50	0,35	0,10	
<b>EAU</b>	0,57	0,50	0,48	
<b>III</b>	0,63	0,24	0,09	
<b>II</b>	0,52	0,23	0,36	
	<b>EDIM Summe stetig</b>	<b>EDIM Summe ordinal (227)</b>	<b>EDIM Summe ordinal (267)</b>	
<b>UICC</b>	0,68	0,51	0,31	
<b>EAU</b>	0,90	0,74	0,48	
<b>III</b>	0,96	0,70	0,30	
<b>II</b>	0,88	0,97	0,12	
	<b>EDIM Algorithmus stetig</b>	<b>EDIM Algorithmus ordinal (535)</b>	<b>EDIM Algorithmus ordinal (535;770)</b>	
<b>UICC</b>	<b>0,0182</b>	<b>0,0058</b>	<b>0,0029</b>	
<b>EAU</b>	<b>0,0396</b>	<b>0,0326</b>	<b>0,0162</b>	
<b>III</b>	<b>0,0321</b>	<b>0,0099</b>	<b>0,0004</b>	
<b>II</b>	0,06	<b>0,0035</b>	<b>0,0005</b>	
	<b>PSA stetig</b>	<b>PSA ordinal (4,0ng/ml)</b>		
<b>III</b>	<b>&lt;0,0001</b>	0,23		
<b>II</b>	<b>&lt;0,0001</b>	0,11		

Die nach Einteilung der UICC in die beiden prognostisch schlechtesten Gruppen (III und IV) eingeschätzten Patienten haben beispielsweise sämtlich einen EDIM Algorithmus von mindestens 535 (Tab.28; Abb.15).

**Tab. 28** Verteilung der prognostischen UICC-Stadien (siehe 2.5.1) im signifikanten Verhältnis nach EDIM Algorithmus-Scores mit den Grenzwerten 535 und 770 (0,0029 Likelihood,  $r^2=0,06$ )

		UICC					Gesamt %
		I	II A	II B	III	IV	
Häufigkeiten							
Gesamt %							
Spalte %							
Zeile %							
EDIM Algorithmus	<535	0	4	13	0	0	17
		0,00	2,31	7,51	0,00	0,00	9,83
		0,00	22,22	12,87	0,00	0,00	
		0,00	23,53	76,47	0,00	0,00	
	535 - 769	3	14	85	32	13	147
		1,73	8,09	49,13	18,50	7,51	84,97
		100,00	77,78	84,16	94,12	76,47	
		2,04	9,52	57,82	21,77	8,84	
	≥769	0	0	3	2	4	9
		0,00	0,00	1,73	1,16	2,31	5,20
		0,00	0,00	2,97	5,88	23,53	
		0,00	0,00	33,33	22,22	44,44	
		3	18	101	34	17	173
		1,73	10,40	58,38	19,65	9,83	





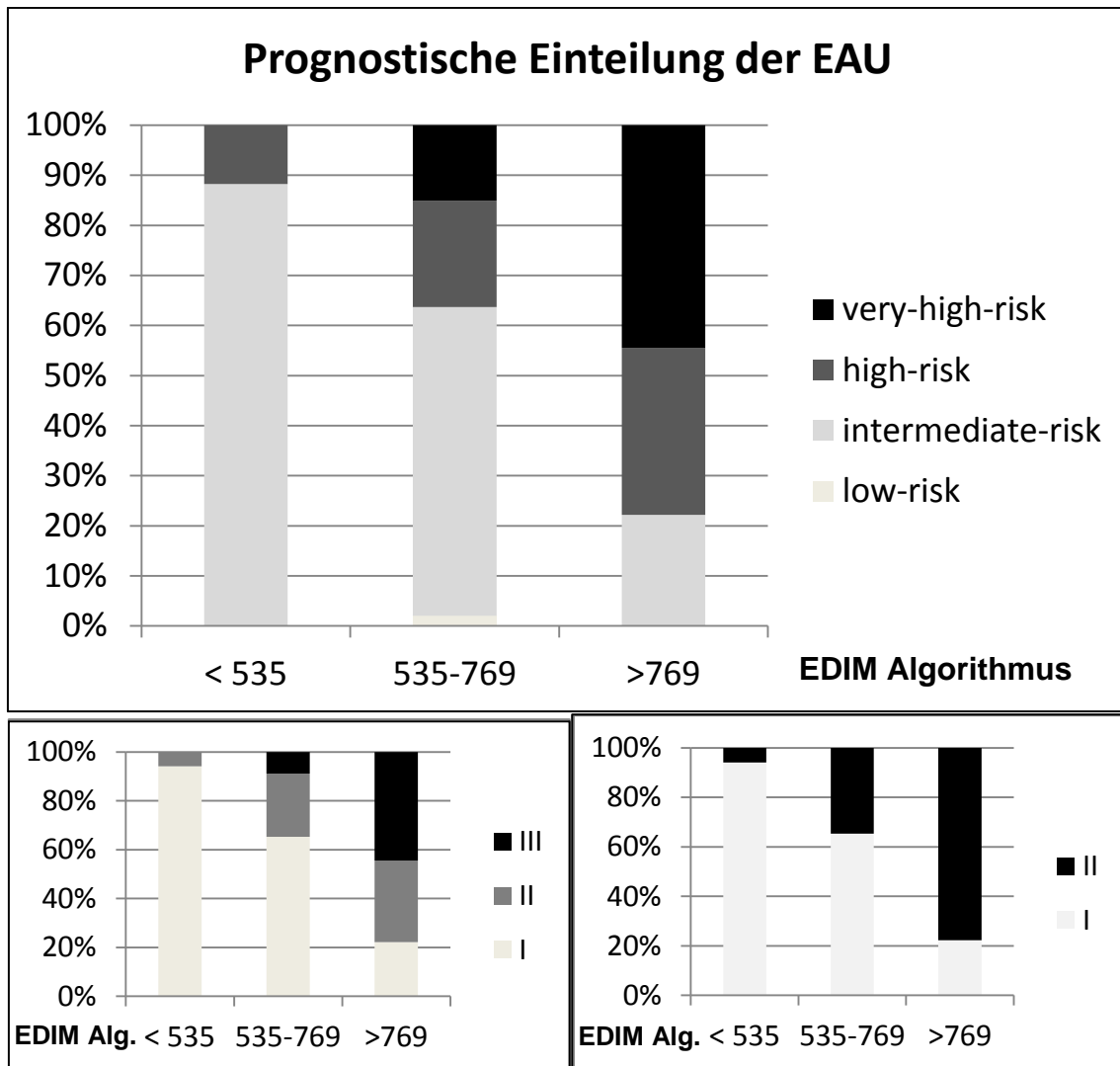


Abb. 15 Verteilung der prognostischen Gruppen nach EDIM Algorithmus-Scores (EDIM Algorithmus ordinal mit Grenzwerten 535 und 770; prognostische Gruppen nach UICC, EAU sowie neuer Einteilung in drei bzw. in zwei Gruppen – siehe 2.5.1; Daten aus dem Gesamtkollektiv für 173 Patienten mit bestimmtem EDIM Algorithmus-Score, bzw. 172 im Vergleich mit EAU wegen einem fehlenden PSA-Wert)

Bei unserer prognostischen Einteilung in zwei Gruppen veränderte sich das Verhältnis hin zur schlechteren prognostischen Gruppe von 94,1% / 5,9% (EDIM Algorithmus unter 535) über 65,3% / 34,7% (EDIM Algorithmus 535-769) bis hin zu 22,2% / 77,8% (EDIM Algorithmus mindestens 770). Der Cochran-Armitage-Trendtest ergab hier eine Wahrscheinlichkeit  $<Z$  von 0,0001 und für  $>|Z|$  von 0,0003.

Auch der PSA-Wert zeigte Signifikanz zur prognostischen Einteilung. Allerdings wies er ordinal aufgetragen mit *cut-off* bei 4,0ng/ml weder zur prognostischen

Einteilung in zwei noch zu der in drei Gruppen ein signifikantes Verhältnis auf (Tab.27).

### 3.6 Charakterisierung des postoperativen Subkollektivs

Unser postoperatives Subkollektiv bestand aus 72 Patienten. Das Durchschnittsalter war im Median zum Zeitpunkt der Operation 63 Jahre, bei einer *Range* von 45 bis 76 Jahren. Die präoperativen T-Stadien der Patienten erstreckten sich von 2a bis 3b (Tab.29), mit 59,7% im Stadium 2c. 90,3% waren präoperativ N0 gewesen, 9,7% N1. Die Gleason-Scores vor der Therapie erreichten dieselben Werte zwischen 6 und 10 wie im Gesamtkollektiv. Wie dort war der Modalwert Gleason-Score 7a (54,2%). Der präoperative PSA-Wert lag im Median bei 7,3ng/ml bei einer *Range* von 1,3 bis 65,4ng/ml. Für 64 (88,8%) der Patienten lag präoperativ eine Bestimmung des Prostatavolumens vor: Der Median lag bei 40ml, die *Range* bei 15 bis 120ml. Eine Bestimmung des Prostatagewichts lag wiederum bei allen 72 Patienten vor, mit Median bei 47g und *Range* von 21g bis 107g.

**Tab. 29 Verteilung der präoperativen pT-Stadien, pN-Stadien, Gleason-Scores und PSA-Mittelwerte im Subkollektiv mit postoperativ erneut bestimmten EDIM-Scores (72 Patienten)**

	Präoperativ (%)	Postoperativ (%)
<b>pT</b> 2a-2b-2c-3a-3b	10-3-59-17-11	11-1-60-18-10
<b>pN</b> 0-1	90-10	90-10
<b>Gleason</b> 6-7a-7b-8-9a-9b-10	10-53-20-6-9-2-1	6-54-19-3-14-3-1
<b>PSA</b> Median	7,0ng/ml	7,3ng/ml
<b>PSA</b> Mittelwert +/-Std.Abw.	9,3ng/ml +/-7,8	10,0ng/ml +/-9,2

Die Kennzahlen der Blutbildparameter im postoperativen Subkollektiv sind in Tab.30 zusammengefasst.

**Tab. 30 Zusammenfassung der postoperativ erhobenen Blutbild-Parameter mit Beschreibung von Mittelwert und Range (NK-Zellen=natürliche Killerzellen, T<sub>H</sub>= T-Helferzellen, CTL= zytotoxische T-Lymphozyten, T<sub>reg</sub>=regulatorische T-Lymphozyten)**

<b>Blutbild-Parameter</b>	<b>Anzahl Ergebnisse</b>	<b>Einheit</b>	<b>Median</b>	<b>Range</b>
<b>Leukozyten</b>	72	Tausend / µl	6,34	3,72 – 11,28
<b>Monozyten absolut</b>	2	1 / µl	563,25	545,4 – 581,1
<b>Monozyten relativ</b>	72	%	9,5	5,4 – 14,8
<b>Neutrophile Granulozyten</b>	69	%	60,5	47,2 – 80,2
<b>Eosinophile Granulozyten</b>	69	%	2,3	0,2 – 6,6
<b>Basophile Granulozyten</b>	63	%	0,3	0,1 – 0,9
<b>Lymphozyten</b>	68	%	27	11,5 – 38,1
<b>B-Lymphozyten absolut</b>	6	1 / µl	192,5	45,0 – 229,0
<b>B-Lymphozyten relativ</b>	6	%	13,8	3,5 – 17,0
<b>NK-Zellen relativ</b>	70	%	17,7	4,2 – 76,6
<b>Lymphokin-aktivierte Killerzellen absolut</b>	6	1 / µl	36,5	10,0 – 44,0
<b>Lymphokin-aktivierte Killerzellen relativ</b>	6	%	2,75	0,8 -3,4
<b>T-Lymphozyten absolut</b>	6	1 / µl	829,5	725 – 1195
<b>T-Lymphozyten relativ</b>	7	%	65,8	16,5 – 72,3
<b>T<sub>H</sub> absolut</b>	6	1 / µl	579	371 – 790
<b>T<sub>H</sub> relativ</b>	6	%	40,3	29,7 – 54,1
<b>CTL absolut</b>	6	1 / µl	196	147 – 337
<b>CTL relativ</b>	6	%	16,15	8,9 – 27,0
<b>T<sub>reg</sub> absolut</b>	6	1 / µl	53,5	43 – 71
<b>T<sub>reg</sub> relativ</b>	6	%	4,0	2,8 – 5,3
<b>Ratio CD4<sup>+</sup>-/CD8<sup>+</sup>-Zellen</b>	6	-	3,1	1,1 – 4,6
<b>aktivierte T-Lymphozyten absolut</b>	6	1 / µl	59,5	36 – 93
<b>aktivierte T-Lymphozyten relativ</b>	6	%	4,7	2,2 – 6,8

### **3.7 Postoperative Apo10- und TKTL1-Ergebnisse**

Postoperativ stellte sich im Vergleich zur präoperativen Messung ein signifikanter Rückgang des Apo10-Scores ein ( <0,0001 Chi<sup>2</sup>; Abb.16).

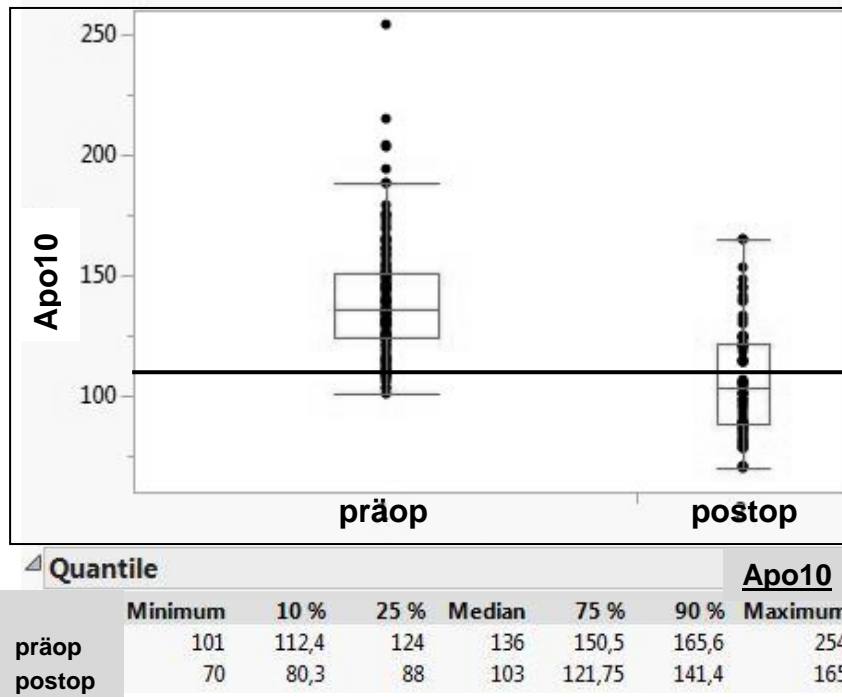


Abb. 16 Vergleich der Apo10-Scores vor und nach radikaler Prostatektomie (eingezeichnete Linie entspricht dem *cut-off* von 109; Daten von allen 72 Patienten des postoperativen Subkollektivs)

Quantile			Apo10-Entwicklung	
100.0 %	Maximum	39	<input checked="" type="checkbox"/> Statistische Kenngrößen Mittelwert -28,95833 Std.-Abw. 30,471154 Std.-Fehler Mittelwert 3,5910599 95% KI oben Mittelwert -21,79796 95% KI unten Mittelwert -36,1187 N 72	
99.5 %		39		
97.5 %		35,7		
90.0 %		6,7		
75.0 %	Quartil	-5		
50.0 %	Median	-33		
25.0 %	Quartil	-47		
10.0 %		-62,7		
2.5 %		-117,98		
0.5 %		-132		
0.0 %	Minimum	-132		

Abb. 17 Verteilung der Apo10-Entwicklungen (Differenz postoperative minus präoperative Messung; für alle 72 Patienten des postoperativen Subkollektivs)

Der Median der Apo10-Score-Veränderung gegenüber dem präoperativen Wert war -33 (Abb.17). Der Maximalwert lag hier bei -132, das gegenüberliegende Extrem entsprach einer Zunahme des Apo10-Scores um +39. 77,8% der Patienten nahmen postoperativ im Apo10-Score ab, 6,9% hatten dasselbe Ergebnis wie präoperativ und 15,3% nahmen zu.

Bei den präoperativ Apo10-Negativen (*cut-off* 109) nahm einer von vier auch postoperativ gemessenen Patienten zu (Apo10-Score 101 auf 106), die drei übrigen nahmen ab. Von den präoperativ Positiven nahmen 77,9% ab (29,4%

fielen auf Werte unter 109), 7,3% hatten dasselbe Ergebnis wie präoperativ und 14,7% stiegen im Apo10-Score. Die präoperativ Apo10-Positiven und -Negativen verhielten sich nicht signifikant unterschiedlich.

Postoperativ war der Apo10-Median bei 103 und die *Range* reichte von 70 bis 165 (arithmetischer Mittelwert 106,4 +/-22,9). Es ergab sich ein Verhältnis von 61,1% Apo10-Negativen zu 38,9% Apo10-Positiven bei *cut-off* zwischen 108 und 109. Bezogen auf den Graubereich hatten 44,4% der Patienten postoperativ einen Wert unter 100, 38,9% einen Wert zwischen 100 und 129 und 16,7% ein Ergebnis von mindestens 130.

**Tab. 31 Vergleich von präoperativen und postoperativen Apo10-Scores (mit präoperativem Apo10-Score als unabhängiger Variable; Daten von allen 72 Patienten des postoperativen Subkollektivs; dargestellt sind p-Werte, beim Vergleich von zwei stetigen Variablen der niedrigste p-Wert bei Anpassung I°, II° und III° sowie der zugehörige Grad der bivariaten Anpassung, bei stetiger und ordinaler Variable mit mehreren Untergruppen in Klammern zusätzlich signifikante p-Werte bei multiplen Vergleichen; *cut-offs* bei ordinaler Variable in Klammern; A=Apo10)**

<b>APO10</b>	<b>präop stetig</b>	<b>präop ordinal (109)</b>	<b>präop ordinal (100;130)</b>	<b>präop ordinal (113;173)</b>
<b>postop stetig</b>	0,60 (I°)	0,56	0,30	0,93
<b>postop ordinal (109)</b>	0,99	<b>0,432</b>	0,12	0,85
<b>postop ordinal (100;130)</b>	0,92	0,46	0,47	0,26
<b>postop ordinal (113;173)</b>	0,99	<b>0,432</b>	0,12	0,85
<b>Entwicklung Apo10 stetig</b>	<b>&lt;0,0001</b> (I°)	0,07	<b>&lt;0,0001</b>	<b>0,0025</b> ( <b>0,0069</b> A<113 > A≥173; <b>0,0029</b> A=113-172 > A≥173)
<b>Entwicklung Apo10 ordinal (0;&gt;0)</b>	<b>0,0019</b>	0,67	<b>0,0004</b>	0,09

Bei der Untersuchung der Abhängigkeit des postoperativen Apo10-Werts von präoperativen Apo10-Ergebnissen (Tab.31) ergab sich unter anderem ein signifikanter Zusammenhang zwischen Apo10-positiven Ergebnissen vor und nach der Operation (*cut-off* 109). Dabei waren 58,8% der Patienten präoperativ positiv und postoperativ negativ. Alle übrigen behielten ihren Status, positiv oder negativ. Auch die Entwicklung des Werts hing signifikant mit dem

präoperativen Apo10-Score zusammen. Die Werte gingen dabei umso stärker zurück, je höher der präoperative Score war. Gestiegene Werte wurden maximal bei einem präoperativen Apo10 von 143 gemessen (Abb.18).

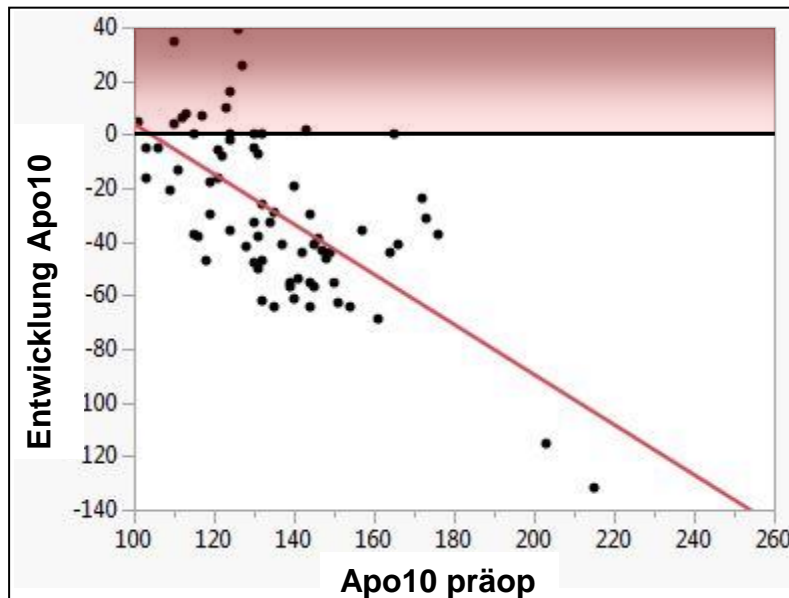


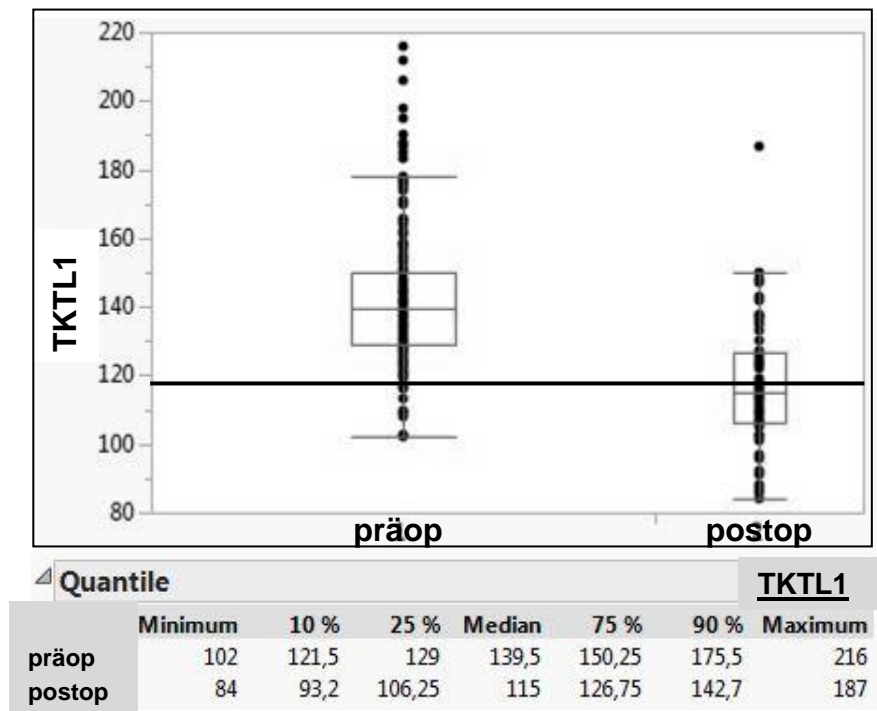
Abb. 18 Darstellung der signifikanten linearen Abhängigkeit der Apo10-Entwicklung vom präoperativen Apo10-Score ( $<0,0001$ ,  $r^2=0,44$ , F-Wert=54,2; Daten von allen 72 Patienten des postoperativen Subkollektivs)

Der TKTL1-Score nahm postoperativ im Vergleich zur präoperativen Referenz ebenso signifikant ab ( $<0,0001$ ;  $\chi^2$ ; Abb.19).

Die Abnahme zwischen prä- und postoperativer Bestimmung lag durchschnittlich (Median) bei -24,5, bei einem Maximalwert -99, demgegenüber entsprach das andere Extrem (Minimalwert) einer Zunahme von +53 (Abb.20). Insgesamt nahmen 81,9% der Patienten im TKTL1-Score ab, 2,8% hatten dasselbe Ergebnis und 15,3% erhöhten sich.

Quantile			TKTL1-Entwicklung	
100.0 %	Maximum	53	<b>Statistische Kenngrößen</b> Mittelwert -26,30556 Std.-Abw. 27,36948 Std.-Fehler Mittelwert 3,2255241 95% KI oben Mittelwert -19,87404 95% KI unten Mittelwert -32,73707 N 72	
99.5 %		53		
97.5 %		25,775		
90.0 %		9,7		
75.0 %	Quartil	-11,25		
50.0 %	Median	-24,5		
25.0 %	Quartil	-42,75		
10.0 %		-66,7		
2.5 %		-94,875		
0.5 %		-99		
0.0 %	Minimum	-99		

Abb. 19 Verteilung der TKTL1-Entwicklungen (Differenz postoperative minus präoperative Messung; für alle 72 Patienten des postoperativen Subkollektivs)



**Abb. 20 Vergleich der TKTL1-Scores vor und nach radikaler Prostatektomie (eingezeichnete Linie entspricht dem *cut-off* von 109; Daten von allen 72 Patienten des postoperativen Subkollektivs)**

Signifikant auffällig (0,0005 Pearson;  $r^2=0,13$ ) war, dass von den präoperativ TKTL1-Negativen lediglich einer von fünf Patienten postoperativ einen niedrigeren TKTL1-Wert als präoperativ hatte; einer hatte denselben und drei stiegen. Zwei davon erhöhten sich sogar postoperativ auf TKTL1-positive Werte. Von den präoperativ Positiven hatten dagegen 86,6% postoperativ einen niedrigeren TKTL1-Wert, 53,7% fielen sogar in den TKTL1-negativen Bereich (1,5% hatten denselben TKTL1-Score, 11,9% einen höheren).

Postoperativ sah die TKTL1-Verteilung folgendermaßen aus: Der Median lag bei 115 mit *Range* von 84 bis 187 (arithmetischer Mittelwert 118,1 +/-19,7). 54,2% der Patienten waren nach der radikalen Prostatektomie TKTL1-negativ bei einem *cut-off* zwischen 116 und 117.

Auch bei TKTL1 hing die Entwicklung signifikant mit dem präoperativen Score zusammen (Tab.32): Je höher dieser war, desto stärker ging der Wert zurück. Gestiegene Werte wurden hier maximal bei TKTL1 135 gemessen (Abb.21).

Tab. 32 Vergleich von präoperativen und postoperativen TKTL1-Scores (mit präoperativem TKTL1-Score als unabhängiger Variable; Daten von allen 72 Patienten des postoperativen Subkollektivs; dargestellt sind p-Werte, beim Vergleich von zwei stetigen Variablen der niedrigste p-Wert bei Anpassung I°, II° und III° sowie der zugehörige Grad der bivariaten Anpassung, bei stetiger und ordinaler Variable mit mehreren Untergruppen in Klammern zusätzlich signifikante p-Werte bei multiplen Vergleichen; *cut-offs* bei ordinaler Variable in Klammer; T=TKTL1)

TKTL1	präop stetig	präop ordinal (117)	präop ordinal (116;172)
postop stetig	0,19 (I°)	0,78	0,76
postop ordinal (117)	0,69	0,78	0,98
postop ordinal (116;172)	0,95	0,72	0,55
Entwicklung TKTL1 stetig	<0,0001 (I°)	0,0029	<b>0,0002</b> (0,0109 T<116 > T≥172; 0,0009 T=116-171 > T≥172; 0,0087 T<116 > T=116-171)
Entwicklung TKTL1 ordinal (0;>0)	0,0003	0,0005	0,0044

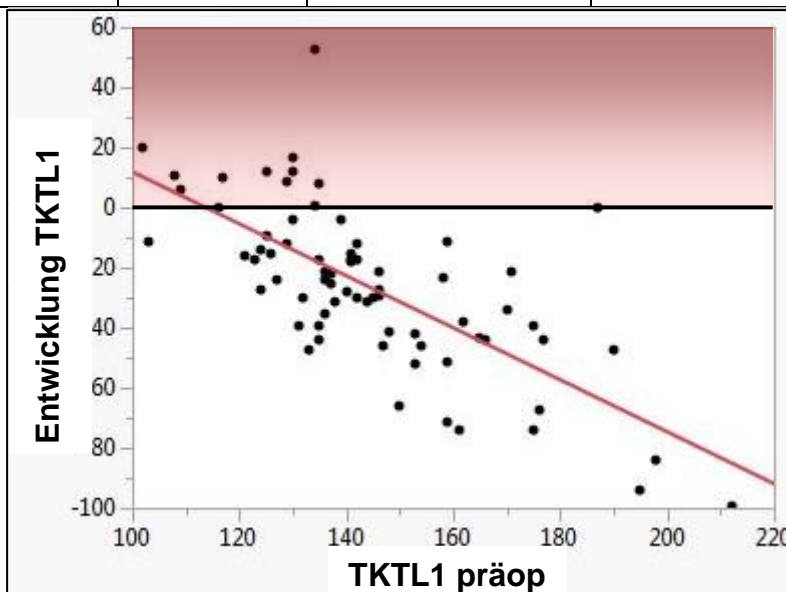


Abb. 21 Darstellung der signifikanten linearen Abhängigkeit der TKTL1-Entwicklung vom präoperativen TKTL1-Score (<0,0001,  $r^2=0,50$ , F-Wert=68,9; Daten von allen 72 Patienten des postoperativen Subkollektivs)

Der Zusammenhang von Apo10postop und TKTL1postop (abhängige Variable) war bei polynomialer Anpassung zweiten Grades signifikant (<0,0001; F-Wert=14,3;  $r^2=0,29$ ; Tab.33). Die Formel für TKTL1postop (jeweils gerundet auf zwei Dezimalstellen) lautet:

$$\text{TKTL1postop} = 1,24 \cdot 10^{-2} \cdot \text{Apo10postop}^2 - 2,49 \cdot \text{Apo10postop} + 236,00$$



(F-Wert=14,3;  $r^2=0,29$ )

Bei linearer Anpassung ergab sich ebenso ein signifikanter Zusammenhang (0,0008; F-Wert=12,2;  $r^2=0,15$ ). Auf zwei Dezimalen gerundet:

$$\text{TKTL1postop} = 0,33 \cdot \text{Apo10} + 82,98$$

Auch die Tendenz der Entwicklung von Apo10 und TKTL1 (ordinal zusammengefasst in gestiegene, gesunkene und gleich gebliebene Werte) hing signifikant zusammen (Tab.33). Dabei gab es jedoch auch jeweils sieben Patienten (je 9,7%), die in einem der beiden Marker gestiegen und im anderen gefallen waren. 48 Patienten mit postoperativ in beiden Markern niedrigeren Werten (66,7%), vier mit in beiden gestiegenen (5,6%) und einer mit in beiden gleichen Werten (1,4%), ergibt für 73,6% der Patienten eine postoperativ kongruente Entwicklung für Apo10 und TKTL1.

**Tab. 33 Zusammenhang von postoperativen TKTL1- und postoperativen Apo10-Scores (mit Apo10 als unabhängiger Variable; bestimmt im postoperativen Subkollektiv bei 72 Patienten; dargestellt sind p-Werte, beim Vergleich von zwei stetigen Variablen der niedrigste p-Wert bei Anpassung I°, II° und III° sowie der zugehörige Grad der bivariaten Anpassung, bei stetiger und ordinaler Variable mit mehreren Untergruppen in Klammern zusätzlich signifikante p-Werte bei multiplen Vergleichen; cut-offs bei ordinaler Variable in Klammern; A=Apo10, T=TKTL1)**

	A postop stetig	A postop ordinal (109)	A postop ordinal (100;130)	A postop ordinal (113;173)	Entwick- -lung A stetig	Entwick- lung A ordinal (0;>0)
T postop stetig	<0,0001 (II°) 0,0008 (I°)	0,23	0,05 (0,0306 A≥130 > A<100; 0,0288 A≥130 > A100-129)	0,23	0,0076 (III°)	0,08
T postop ordinal (117)	0,0412	0,29	0,27	0,29	0,22	0,43
T postop ordinal (116;172)	0,0113	0,09	0,0264	0,09	0,12	0,0499
Entwicklung T stetig	0,07 (I°)	0,11	0,63	0,11	0,0028 (I°)	0,0243
Entwicklung T ordinal (0;>0)	0,20	0,83	0,38	0,83	0,0429	0,0309

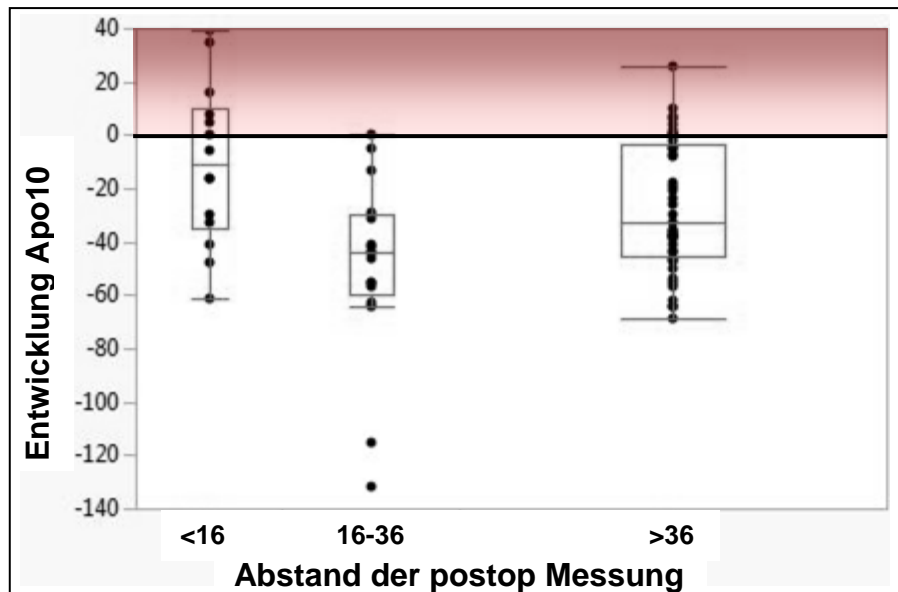
### 3.8 Zusammenhänge der postoperativen Ergebnisse mit der zeitlichen Distanz zur Operation

Bevor weitere Zusammenhänge zwischen den postoperativen Ergebnissen und klinischen Daten dargestellt werden, werden mögliche Einflüsse des zeitlichen Abstands (zwischen radikaler Prostatektomie und postoperativer Messung) auf die postoperativen Ergebnisse untersucht. Diese sind in Tab.34 zusammengefasst.

**Tab. 34 Untersuchung der postoperativen Apo10- und TKTL1-Ergebnisse nach zeitlichem Abstand zwischen postoperativer Messung und radikaler Prostatektomie (Abstand als unabhängiger Variable; Abstand stetig sowie ordinal unterteilt in unter 16 Wochen, 16-36 Wochen und mindestens 37 Wochen sowie stetig mit ausschließlicher Berücksichtigung bei Mindestabstand 16 Wochen; Daten aus allen 72 Patienten des postoperativen Subkollektivs, bzw. 58 Patienten bei Mindestabstand 16 Wochen; dargestellt sind p-Werte, beim Vergleich von zwei stetigen Variablen der niedrigste p-Wert bei Anpassung I°, II° und III° sowie der zugehörige Grad der bivariaten Anpassung, bei stetiger und ordinaler Variable mit mehreren Untergruppen in Klammern zusätzlich signifikante p-Werte bei multiplen Vergleichen; Unterteilung grouped siehe 2.5.1; cut-offs bei ordinaler Variable in Klammern)**

	Abstand	Abstand (16;37)	Nur Abstand ≥16
Apo10 stetig	0,71 (I°)	0,41	0,54 (I°)
Apo10 ordinal (109)	0,48	0,31	0,28
Apo10 ordinal (100;130)	0,83	0,53	0,55
Apo10 ordinal grouped	0,92	0,51	0,44
Entwicklung Apo10 stetig	0,24 (III°)	<b>0,0047</b> [ <b>0,0040</b> Abstand<16 > 16-36; <b>0,0179</b> Abstand16-36 < >36]	<b>0,0398</b> (I°)
Entwicklung Apo10 ordinal (0;>0)	0,52	0,05	0,28
TKTL1 stetig	0,23 (I°)	0,51	0,93 (II°)
TKTL1 ordinal (117)	0,26	0,39	0,48
TKTL1 ordinal grouped	0,43	0,13	0,72
Entwicklung TKTL1 stetig	0,32 (II°)	0,29	0,45 (I°)
ordinal (0;>0)	0,29	0,27	0,73

Ein signifikanter Zusammenhang stellte sich zwischen der Entwicklung des Apo10-Scores (Differenz zwischen postoperativem und präoperativem Wert) und dem zeitlichen Abstand gruppiert in jene Werte bis 15 Wochen, 16 bis 36 Wochen und mindestens 37 Wochen heraus (Tab.34, Abb.22).



Abstand	Quantile				Entwicklung Apo10		
	Minimum	10 %	25 %	Median	75 %	90 %	Maximum
<16	-61	-54,5	-35	-11	10	37	39
16-36	-132	-118,4	-60	-44	-30	-4	0
>36	-69	-61	-45,5	-33	-3,5	5,6	26

Abb. 22 Entwicklung des Apo10-Scores (Differenz postoperativer minus präoperativer Wert) aufgetragen nach zeitlichem Abstand zwischen radikaler Prostatektomie und postoperativer Messung (ordinal unterteilt bis 15 Wochen, 16-36 Wochen, ab 37 Wochen; die Linie markiert die Grenze zwischen postoperativ niedrigeren und höheren Werten; Daten von allen 72 Patienten des postoperativen Subkollektivs)

In der ersten Gruppe mit dem kurzen Abstand zur Messung (bis 15 Wochen) war die mediane Entwicklung des Apo10-Scores -11, wobei fünf von 14 Patienten in dieser Gruppe (35,7%) sogar eine Zunahme des Wertes verzeichneten. Bei Abstand 16 bis 36 Wochen war der Rückgang des Apo10-Scores mit medianen -44 signifikant größer (0,0040; Wilcoxon) und keiner der 17 Patienten hatte einen steigenden Wert. Erfolgte die postoperative Messung nach über 36 Wochen, war die mediane Apo10-Entwicklung -33 und sechs von 41 Patienten (14,6%) hatten ansteigende Werte. Der Rückgang war in dieser Gruppe wiederum signifikant kleiner (0,0179; Wilcoxon). Zwischen den postoperativen TKTL1-Werten und dem Abstand der Messung zur Operation ergab sich kein auffälliger Zusammenhang.

### 3.9 Zusammenhänge der postoperativen Ergebnisse mit dem postoperativen PSA

Postoperativ wurde bei 69 Patienten das PSA bestimmt, was im Subkollektiv einem Anteil von 95,8% entspricht. Der Median der postoperativen PSA-Werte lag im nicht messbaren Bereich (<0,04ng/ml), der Maximalwert bei 24,0ng/ml. 18,8% der Patienten (13) waren nicht unter der Nachweisbarkeitsgrenze, wobei allerdings nur einer dieser Patienten (1,4%) einen PSA-Wert größer 0,12ng/ml hatte (Tab.35).

Tab. 35 Postoperative Verteilung der PSA-Werte (ordinal unterteilt in nicht nachweisbare Werte, nachweisbare Werte unter 0,2ng/ml, mindestens 0,2ng/ml; 69 Patienten, für drei Patienten lag zum Zeitpunkt der statistischen Auswertung kein PSA-Wert vor)

Häufigkeiten			Quantile		
	Häufigkeiten	Wahrsch.			
0	56	0,81159	100.0 %	Maximum	7,1
>0 – <0,2	12	0,17391	99.5 %		7,1
>=0,2	1	0,01449	97.5 %		0,8
Summe	69	1,00000	90.0 %		-4
			75.0 %	Quartil	-5,54
			50.0 %	Median	-7,3
			25.0 %	Quartil	-10,505
			10.0 %		-14,2
			2.5 %		-44,85
			0.5 %		-65,4
			0.0 %	Minimum	-65,4

PSA postop		Statistische Kenngrößen	
Mittelwert	-9,812174		
Std.-Abw.	9,5049722		
Std.-Fehler Mittelwert	1,1442642		
95% KI oben Mittelwert	-7,52883		
95% KI unten Mittelwert	-12,09552		
N	69		

Tab. 36 Zusammenhang von postoperativem PSA (ordinal unterteilt in nicht nachweisbare Werte, nachweisbare Werte unter 0,2ng/ml, mindestens 0,2ng/ml) und postoperativen Apo10-Scores (mit Apo10 als unabhängiger Variable; bestimmt bei 56 Patienten des Kollektivs mit Mindestabstand 16 Wochen zwischen radikaler Prostatektomie und postoperativer Messung und Werten für beide Marker, wie auch für alle 69 Patienten des postoperativen Subkollektivs vorliegenden Werten für beide Marker; dargestellt sind p-Werte; cut-offs bei ordinaler Variable in Klammern; A=Apo10)

	A postop stetig	A postop ordinal (109)	A postop ordinal (100;130)	A postop ordinal (113;173)	Entwick -lung A stetig	Entwicklung A ordinal (0;>0)
PSA postop ordinal (0;0,2)	0,18	<b>0,0167</b>	0,06	<b>0,0167</b>	0,18	0,47
gesamtes Subkollektiv	0,11	<b>0,0143</b>	0,06	<b>0,0143</b>	0,07	0,26

Ein signifikanter Zusammenhang stellte sich zwischen dem postoperativen PSA ordinal und Apo10 ordinal ein. Und zwar sowohl dann, wenn man nur die Patienten mit Mindestabstand der postoperativen Messung zur Operation von

16 Wochen berücksichtigt, als auch wenn man das gesamte postoperative Subkollektiv vergleicht (Tab.36).

Auffällig war dabei jedoch, dass 91,7% der Patienten mit niedrig messbarem PSA und 84,6% aller Patienten mit messbarem PSA Apo10-negativ (<109) waren. Der einzige Patient (100%) mit stark erhöhtem PSA war jedoch auch Apo10-positiv (113-172). Darüber hinaus waren 44,2% der Patienten mit nicht nachweisbarem PSA Apo10-positiv (Abb.23).

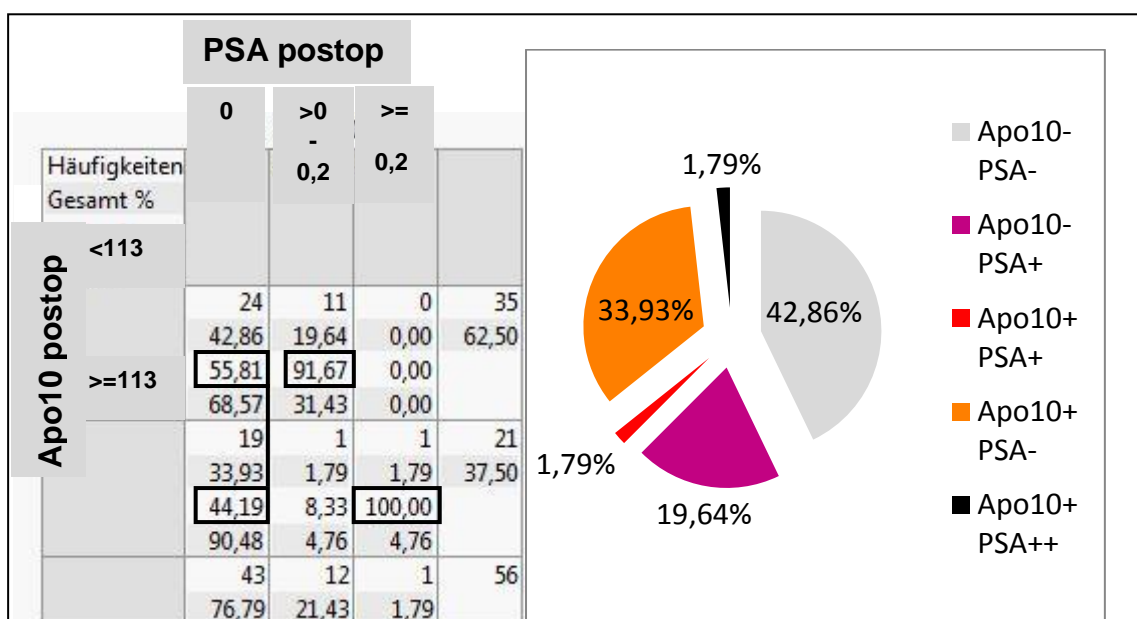


Abb. 23 Vergleich von postoperativ positiven PSA-Werten (ordinal unterteilt in nicht nachweisbare Werte (PSA-), nachweisbare Werte unter 0,2ng/ml (PSA+), mindestens 0,2ng/ml(PSA++)) und postoperativ positiven Apo10-Scores (*cut-off* 113/identisch mit *cut-off* 109(Apo10- bzw. Apo10+); 0,0143 Likelihood,  $r^2=0,09$ ; Daten für 56 Patienten des postoperativen Subkollektivs mit Werten für beide Marker und Mindestabstand der postoperativen Messung von 16 Wochen)

Zwischen PSA und TKTL1 stellte sich bei den postoperativen Messungen kein signifikanter Zusammenhang ein (Tab.37).

Lediglich 19 Patienten waren sowohl für PSA, als auch für Apo10 und TKTL1 bei der postoperativen Messung negativ (Tab.38). Ein Patient war für alle drei Marker positiv. Fasst man diese beiden Gruppen zusammen, waren nur 20 Patienten (27,8%) bei der postoperativen Messung kongruent für die drei Marker.

Tab. 37 Zusammenhang von postoperativem PSA (ordinal unterteilt in nicht nachweisbare Werte, nachweisbare Werte unter 0,2ng/ml, mindestens 0,2ng/ml) und postoperativen TKTL1-Scores (mit TKTL1 als unabhängiger Variable; bestimmt bei allen 69 Patienten des postoperativen Subkollektiv mit Werten für beide Marker; dargestellt sind p-Werte; *cut-offs* bei ordinaler Variable in Klammern; T=TKTL1)

	T postop stetig	T postop ordinal (117)	T postop ordinal (116;172)	Entwicklung T stetig	Entwicklung T ordinal (0;>0)
PSA postop ordinal (0;0,2)	0,62	0,43	0,63	0,81	0,72

Tab. 38 Vergleich von postoperativ positiven Apo10-, TKTL1- und PSA-Werten (*cut-off* Apo10 109/identisch 113, *cut-off* TKTL1 117, PSA ordinal unterteilt in nicht nachweisbare Werte, nachweisbare Werte unter 0,2ng/ml, mindestens 0,2ng/ml; Daten von 72 Patienten des postoperativen Subkollektivs bzw. 58 Patienten des postoperativen Subkollektivs mit Mindestabstand 16 Wochen in Klammern; *cut-off* für Unterscheidung +/- in Klammern; A=Apo10, T=TKTL1)

Gruppe	A postop ordinal (113)	T postop ordinal (117)	PSA postop ordinal (0;0,2)	Anzahl (absolut)
1	+	+	+	1
2	+	+	-	13 (9)
3	+	-	0-0,2	1
4	+	-	-	12 (10)
5	-	+	0-0,2	5
6	-	+	-	12 (9)
7	-	-	0-0,2	6
-	-	-	-	19 (15)
-	+	+	(kein Wert bestimmt)	1
-	-	+	(kein Wert bestimmt)	1 (0)
-	-	-	(kein Wert bestimmt)	1
Summe:				72 (58)

### 3.10 Zusammenhänge der postoperativen Ergebnisse mit tumorbezogenen Patientendaten

Bei der Untersuchung der postoperativen Apo10-Ergebnisse mit den präoperativ ermittelten Tumordaten ergab sich ein signifikantes Verhältnis der ordinal zusammengefassten Apo10-Werte in positiv und negativ mit dem Gleason-Score <8 bzw. ≥8 (Tab.39, Abb.24).

Tab. 39 Zusammenhang von pT, pN, Gleason, prognostischer Einteilung nach UICC, nach EAU, neue Einteilung in drei Gruppen und in zwei Gruppen und dem postoperativen Apo10-Score (mit Apo10 als unabhängiger Variable; Daten wurden aus allen 58 Patienten des postoperativen Subkollektivs mit Mindestabstand 16 Wochen zwischen radikaler Prostatektomie und postoperativer Messung ermittelt; dargestellt sind p-Werte, bei signifikanten Verhältnissen ordinaler Variablen die Bestimmungsmethode; *cut-offs* bei ordinaler Variable in Klammern)

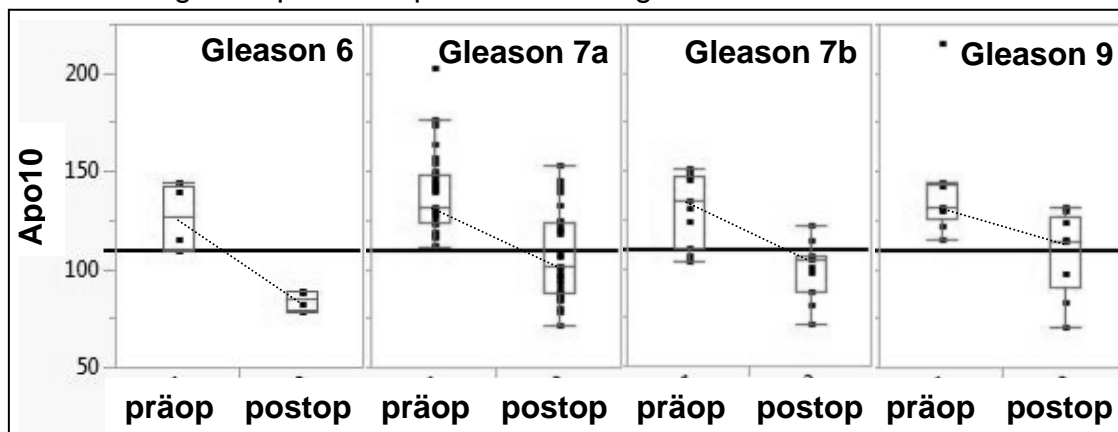
	Apo10 postop stetig	Apo10 postop ordinal (113)	Entwicklung Apo10 ordinal (0;>0)
pT	0,78	0,25	0,58
pT 2 vs 3	0,82	0,78	0,08
pN	0,06	0,12	0,49
Gleason	0,23	0,06	0,26
Gleason <8 vs ≥8	0,26	<b>0,0464</b> (Pearson)	<b>0,0169</b> (Pearson)
Prognosestadien UICC	0,45	0,29	0,53
Prognosestadien EAU	0,66	0,49	0,23
Prognosestadien III	0,29	0,29	0,16
Prognosestadien II	0,51	0,35	0,16

		Gleason		
		<8	≥8	
Häufigkeiten				
Gesamt %				
Spalte %				
Zeile %				
Apo10 postop	<113	31 53,45 <b>68,89</b> 86,11	5 8,62 <b>38,46</b> 13,89	36 62,07
	≥113	14 24,14 <b>31,11</b> 63,64	8 13,79 <b>61,54</b> 36,36	22 37,93
		45 77,59	13 22,41	58

Abb. 24 Verteilung beim signifikanten Zusammenhang zwischen präoperativ „hoch-gleasigen“ Tumoren (Gleason-Score mindestens 8) und postoperativ positiven Apo10-Scores (*cut-off* 109/identisch 113; 0,0464 Pearson,  $r^2=0,05$ ; Daten von 58 Patienten des postoperativen Subkollektivs mit Mindestabstand der postoperativen Messung 16 Wochen)

Dabei kehren sich die Verhältnisse bei „niedrig-gleasigen“ Tumoren im Vergleich zu „hoch-gleasigen“ um: War der präoperative Gleason-Score unter 8, so waren die Patienten postoperativ zu 31,1% Apo10-positiv. War der Gleason-Score jedoch 8 oder höher, waren sie zu 61,5% Apo10-positiv.

Umgekehrt war die Wahrscheinlichkeit bei postoperativ positivem Apo10-Score dreimal höher als bei negativem, dass ein „hoch-gleasiger“ Tumor diagnostiziert wurde (Abb.24). Die Tendenz eines geringeren postoperativen Absinkens des Apo10-Scores bei höheren präoperativen Gleason-Scores ist auch bei Betrachtung der Apo10-Boxplots in Abb.25 gut zu erkennen.



Quantile			
Gleason 6	Minimum	Median	Maximum
präop	109	127	144
postop	78	85	89
Gleason 7a	Minimum	Median	Maximum
präop	111	132	203
postop	71	101,5	153
Gleason 7b	Minimum	Median	Maximum
präop	103	135	151
postop	71	104	122
Gleason 9a	Minimum	Median	Maximum
präop	115	132	215
postop	70	114	132

Abb. 25 Vergleich der Apo10-Scores vor und nach radikaler Prostatektomie sortiert nach Gleason-Scores (aufgeführt sind Gleason-Scores, für die mehr als zwei Werte vorlagen: von rechts nach links, bzw. von oben nach unten Gleason-Score 6, 7a, 7b und 9a; dicker Strich entspricht *cut-off* bei 109; dünne Striche zeigen Veränderung des Medians; Daten von 54 Patienten des postoperativen Subkollektivs mit entsprechenden Gleason-Scores und Mindestabstand der postoperativen Messung 16 Wochen)

Zwischen postoperativen TKTL1-Ergebnissen und den präoperativen klinischen Tumordaten ergab sich kein signifikanter Zusammenhang (Tab.40).

Vergleicht man den postoperativen PSA mit denselben präoperativen klinischen Daten, fallen signifikante Zusammenhänge zu pN-Stadium und Gleason-Score auf (Tab.41). Anzumerken ist hierbei, dass ein einzelner Patient mit hochpositivem PSA den Ausschlag für die Signifikanz gibt. Es besteht jeweils kein Unterschied zwischen nicht nachweisbaren und nachweisbaren PSA-Werten unter 0,2ng/ml: 8,9% der Patienten mit nicht nachweisbarem PSA waren präoperativ N-positiv, unter jenen mit niedrig nachweisbarem PSA waren es sogar nur 8,3%. Jene mit nicht nachweisbarem PSA hatten präoperativ



maximal einen Gleason-Score 9b, solche mit niedrig nachweisbarem PSA sogar von nur 9a.

**Tab. 40 Zusammenhang von pT, pN, Gleason, prognostischer Einteilung nach UICC, nach EAU, neue Einteilung in drei Gruppen und in zwei Gruppen und dem postoperativen TKTL1-Score (mit TKTL1 als unabhängiger Variable; Daten wurden aus allen 72 Patienten des postoperativen Subkollektivs ermittelt; dargestellt sind p-Werte; cut-offs bei ordinaler Variable in Klammern)**

	TKTL1 postop stetig	TKTL1 postop ordinal (117)	Entwicklung TKTL1 ordinal (0;0,2)
<b>pT</b>	0,23	0,65	0,65
<b>pT 2 vs 3</b>	0,20	0,53	0,59
<b>pN</b>	0,52	0,52	0,22
<b>Gleason</b>	0,21	0,34	0,38
<b>Gleason &lt;8 vs ≥8</b>	0,77	0,51	0,47
<b>Prognosestadien UICC</b>	0,28	0,64	0,63
<b>Prognosestadien EAU</b>	0,16	0,58	0,21
<b>Prognosestadien III</b>	0,18	0,58	0,50
<b>Prognosestadien II</b>	0,08	0,65	0,74

**Tab. 41 Zusammenhang von pT, pN, Gleason, prognostischer Einteilung nach UICC, nach EAU, neue Einteilung in drei Gruppen und in zwei Gruppen und dem postoperativen PSA (PSA ordinal unterteilt in nicht nachweisbare Werte, nachweisbare Werte unter 0,2ng/ml, mindestens 0,2ng/ml; Daten wurden aus 69 Patienten des postoperativen Subkollektivs mit vorliegenden PSA-Werten ermittelt; dargestellt sind p-Werte, bei signifikanten Verhältnissen ordinaler Variablen die Bestimmungsmethode; cut-offs in Klammern)**

	PSA postop ordinal (0;0,2)
<b>pT</b>	0,20
<b>pT 2 vs 3</b>	0,17
<b>pN</b>	<b>0,0112</b> (Pearson)
<b>Gleason</b>	<b>&lt;0,0001</b> (Pearson)
<b>Gleason &lt;8 vs ≥8</b>	0,11
<b>Prognosestadien UICC</b>	0,13
<b>Prognosestadien EAU</b>	0,24
<b>Prognosestadien III</b>	0,06
<b>Prognosestadien II</b>	0,35

In der folgenden Tab.42 werden die Gruppen aus Tab.38 (Apo10-/TKTL1-/PSA-positive/-negative Patienten) in Bezug auf Auffälligkeiten bezüglich des pT-, pN-Stadiums bzw. des Gleason-Scores wiedergegeben. Dabei sticht hervor, dass in der Gruppe mit positiven Ergebnissen bei allen drei Markern jeweils das

höchste *Staging* bzw. *Grading* vorlag. Bei allen übrigen Gruppen sind keine hervorstechenden Unterschiede festzustellen.

**Tab. 42 Vergleich der Verteilung der pT-, pN- und Gleason-Kategorien bei verschiedenen Konstellationen von positiven und negativen Ergebnissen in postoperativem Apo10-Score, TKTL1-Score und PSA (Gruppen aus Tab.38; *cut-off* Apo10 109/identisch 113, TKTL1 117, PSA ordinal unterteilt in nicht nachweisbare Werte, nachweisbare Werte unter 0,2ng/ml, mindestens 0,2ng/ml; Daten von 41 Patienten des postoperativen Subkollektivs mit Werten für alle drei Marker, positiven Ergebnissen für mindestens einen der Marker sowie Mindestabstand der postoperativen Messung 16 Wochen; hervorgehoben ist jeweils der Modalwert; A=Apo10, T=TKTL1)**

	pT	pN	Gleason-Score
<b>1 A+ T+ PSA+</b>	1x3b (100%)	1x1 (100%)	1x10 (100%)
<b>2 A+ T+ PSA-</b>	1x2a (11,1%) 6x2c (66,7%) 2x3a (22,2%)	9x0 (100%)	5x7a (55,6%) 1x7b (11,1%) 1x8 (11,1%) 2x9a (22,2%)
<b>3 A+ T- PSA 0-0,2</b>	1x2c (100%)	1x0 (100%)	1x9a (100%)
<b>4 A+ T- PSA-</b>	1x2b (10%) 6x2c (60%) 1x3a (10%) 2x3b (20%)	7x0 (70%) 3x1 (30%)	6x7a (60%) 1x7b (10%) 3x9a (30%)
<b>5 A- T+ PSA 0-0,2</b>	1x2a (20%) 4x2c (80%)	4x0 (80%) 1x1 (20%)	5x7a (100%)
<b>6 A- T+ PSA-</b>	3x2a (33,3%) 3x2c (33,3%) 3x3a (33,3%)	8x0 (88,9%) 1x1 (11,1%)	2x6 (22,2%) 3x7a (33,3%) 2x7b (22,2%) 1x9a (11,1%) 1x9b (11,1%)
<b>7 A- T- PSA 0-0,2</b>	4x2c (66,7%) 1x3a (16,7%) 1x3b (16,7%)	6x0 (100%)	1x6 (16,7%) 3x7a (50,0%) 2x9a (33,3%)

### 3.11 Untersuchung der Kombination aus prä- und postoperativen EDIM-Ergebnissen

In diesem kleinen Exkurs versuchten wir die präoperativen und die postoperativen Apo10-Daten sowie deren Differenz in einem Wert zum Ausdruck zu bringen, analog für TKTL1 (siehe 2.5.1). Es ergab sich dabei kein signifikanter Zusammenhang zu präoperativ erhobenen tumorbezogenen Patientendaten (Tab.43).

Tab. 43 Zusammenhang von pT, pN, Gleason, prognostischer Einteilung nach UICC, nach EAU, neue Einteilung in drei Gruppen und in zwei Gruppen (siehe 2.5.1) und dem in dieser Studie entwickelten PPD-Score für Apo10 und TKTL1 (siehe 2.5.1; mit dem PPD-Score als unabhängiger Variable; Daten für PPD-TKTL1 von allen Patienten des postoperativen Subkollektivs, für PPD-Apo10 von den 58 Patienten des postoperativen Subkollektivs mit Mindestabstand der postoperativen Messung 16 Wochen; dargestellt sind p-Werte; PPD=PräPostDelta)

	PPD Apo10 stetig	PPD TKTL1 stetig
pT	0,93	0,24
pT 2 vs 3	0,69	0,16
pN	0,10	0,98
Gleason	0,38	0,23
Gleason <8 vs ≥8	0,45	0,93
Prognosestadien UICC	0,55	0,24
Prognosestadien EAU	0,82	0,11
Prognosestadien III	0,45	0,15
Prognosestadien II	0,70	0,09

## 4 Diskussion

Das folgende Kapitel beginnt mit der Diskussion um den Stellenwert der beiden Marker Apo10 und TKTL1. Dann wird auf die gewählte Methodik eingegangen, bevor eine Beurteilung der vorliegenden Ergebnisse in Bezug auf den aktuellen wissenschaftlichen Kenntnisstand erfolgt. Des Weiteren sollen die vorliegenden Ergebnisse für das bisher existierende Modell der Entwicklung der beiden Marker in der Tumorgenese (nach Tavarlin, 2011a) eingeordnet werden. In einer Schlussfolgerung sollen die Erkenntnisse dieser Arbeit in den Kontext von Früherkennung, Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Prostatakarzinoms eingeordnet werden. Schließlich werden noch Limitationen der Arbeit sowie weiterführende Fragestellungen erwähnt.

### 4.1 Der Stellenwert von Apo10 und TKTL1

Mehrere Publikationen kommen zu dem Schluss, dass Apo10 in einer Reihe Malignome überexprimiert wird (Jansen & Coy, 2013; Grimm, Schmitt et al., 2013; Hofmann, 2013). Einige Autoren gehen sogar davon aus, dass die gesamte DNase X als tumorspezifisch zu betrachten ist (Hofmann, 2013; Rotmann et al., 2014; Rotmann, Hofmann & Coy, 2012; Tavarlin, 2011a). DNase X-mRNA wurde jedoch bereits früh in Herz- und Skelettmuskelgewebe nachgewiesen (Shiokawa, Kobayashi & Tanuma, 2002; Parrish et al., 1995). Dies deutet darauf hin, dass es einen Unterschied zwischen Apo10- und DNaseX-Expression gibt. So ist die Aussage von Rotmann und Coy (2012) differenzierter, die Apo10 als „generellen Marker zum Nachweis von neoplastischen Zellen“ bezeichnet. Als Marker für Neoplasie, zunächst ohne Aussage über die Dignität selbiger sieht auch Tavarlin (2011a, 2011b) seinen Marker: In Anlehnung an die Daten von Grimm, Schmitt et al. (2013) werden dort als Differenzialdiagnosen für einen erhöhten Wert neben malignen Prozessen Proliferationsstörungen, benigne Hyperplasien und Zysten genannt. Nach den Ergebnissen von Shiokawa, Kobayashi und Tanuma (2002) sowie Parrish et al. (1995), die zwar nicht das Apo10-Epitop, sondern DNase X beforschten, könnte weiter untersucht werden, ob dieser Liste nicht zum

Beispiel eine erhöhte Rhabdomyose oder einfach ein muskulöser Körperbau hinzugefügt werden müssten.

Die endgültige Beurteilung des Markers Apo10 für Patienten mit Malignom sollte jedoch in klinischen Studien erfolgen. Dahingehend wurde dieser überaus interessant erscheinende Marker noch relativ wenig beforscht. Lediglich eine Fallbesprechung von Jansen und Coy (2013), eine Veröffentlichung von Arnoldt (2011) und eine Studie von Grimm, Schmitt et al. (2013) lagen (nach Kenntnis des Autors) zum Zeitpunkt der Erstellung dieser Arbeit vor.

Nach Coy et al. (2005) besitzt das humane TKT-Homolog TKTL1 Transketolase-Aktivität sowie weitere spezifische katalytische Eigenschaften. Dabei werden die Zweifel von Horecker et al. (1954) an den postulierten Reaktionsschritten des PPP aufgegriffen. Des Weiteren soll TKTL1 eine Funktion beim Schutz der Zelle vor Hyperglykämie haben und den Warburg-Effekt der erhöhten Glycolyserate unter aeroben Bedingungen bei malignen Zellen erklären. Mayer, von Wallbrunn und Vaupel (2010 und 2011) widersprechen: Sie sehen belegt, dass TKTL1 keine entscheidende Rolle beim erhöhten Glucose Metabolismus von Krebszellen spielen kann. In keiner der sechs von ihnen untersuchten Krebszelllinien war TKTL1 nachweisbar. Außerdem kommen sie zu dem Ergebnis, dass dem TKTL1-Antikörper JFC12T10 die Target Spezifität fehle. Auf diese Veröffentlichungen hin sah sich Coy (2011a und 2011b) dazu veranlasst eine öffentliche Gegendarstellung zu Mayer, von Wallbrunn und Vaupel zu formulieren. Darin kritisiert er die Methodik und die Ergebnisinterpretation jener Autoren und fordert sie auf, ein Erratum zu verfassen. Eine reaktive Stellungnahme von Mayer, von Wallbrunn oder Vaupel auf diese Gegendarstellung hin war trotz ausführlicher Recherche leider nicht ausfindig zu machen. Es finden sich jedoch weitere Forschungsergebnisse anderer Gruppen, die manchen Thesen von Coy et al. (2005) widersprechen: Maslova, Meshalkina und Kochetov (2012), Meshalkina et al. (2013) sowie Schneider et al. (2012) gehen davon aus, dass bei einer TKT mit 38 Aminosäuren-Deletion wie in TKTL1 (Coy et al., 2005) die TPP-Bindungsstelle verloren gegangen ist und das Enzym keine Transketolase-Funktion mehr ausüben kann.

Nach diesen wissenschaftlichen Arbeiten unterschiedlicher Autoren besteht offenbar keine einheitliche Meinung zur Funktion und Bedeutung von TKTL1 im Glucose Metabolismus. Zum jetzigen Zeitpunkt waren für uns jedoch weniger biochemische Funktionen, sondern vielmehr die klinische Bedeutung des Blutmarkers TKTL1 für Patienten mit Malignom von Belang. Dabei liegt bereits eine Reihe von Publikationen vor, die weiterführende Ergebnisse hierzu liefern und wonach TKTL1 in Tumorzellen hochreguliert ist (Chen et al., 2009; Zhang, Yang und Cai, 2008; Zhang, Yue, Yang et al., 2008; Zhang, Yang, Guo et al., 2007; Langbein et al., 2006).

Sowohl Apo10 als auch TKTL1 sind innovative Marker, die für die Krebsforschung sehr interessant sein könnten. Beide sind nicht gänzlich in Einklang mit aktuellen Lehrbuch-Meinungen zu bringen. Apo10 ist in der Fachliteratur dabei eine recht junge Erscheinung, zu der es noch keine ausführliche Datenlage gibt. Bei TKTL1 ist die Forschung fortgeschritten: Hier gibt es jedoch bereits kritische Meinungen, die die postulierte Funktion im Krebsmetabolismus widerlegt sehen. In der vorliegenden Arbeit soll an dieser Stelle ausschließlich die zunächst wichtiger erscheinende klinische Bedeutung der beiden Marker beurteilt werden. Hierzu werden nun die Ergebnisse sowie die Methodik der vorliegenden Arbeit im Kontext bereits publizierter Ergebnisse diskutiert.

## **4.2 Bewertung der Methodik**

### **4.2.1 Patientenkollektiv**

Die Aussagekraft von statistischen Ergebnissen hängt wesentlich von der Größe des Patientenkollektivs ab. Deshalb wurden alle Patienten rekrutiert, die sich im veranschlagten Zeitraum an der Universitätsklinik für Urologie in Tübingen einer radikalen Prostatektomie aufgrund eines Prostatakarzinoms unterzogen und die nach Prüfung der Ein- und Ausschlusskriterien für die Studie in Betracht kamen.

So umfasst das Gesamtkollektiv der vorliegenden Forschungsarbeit 174 Patienten. Im Kontext anderer bisher durchgeführter Studien ist diese Anzahl als groß zu bewerten: Nach Kenntnis des Autors dieser Arbeit sind die einzigen

bisher mit Hilfe von EDIM durchgeführten Studien, in denen Apo10 oder TKTL1 bestimmt wurden, jene von Arnoldt (2011) mit 22 Probanden (Prostatakarzinom), eine Einzelfallbesprechung von Jansen und Coy (2013; Kolonkarzinom) sowie eine Studie aus Grimm, Schmitt et al. (2013) mit 50 (OSCC) bzw. 48 (Mammakarzinom) und 115 (Prostatakarzinom) Messungen. Außerdem ist die 240 Patienten umfassende Evaluierungsstudie von Feyen et al. (2012) zu nennen, die EDIM-TKTL1-Ergebnisse mit FDG-PET verglich.

Die vorliegende Studie ist die erste, die den Verlauf bzw. die Entwicklung von Apo10 und TKTL1 bei einem Patientenkollektiv im Längsschnitt dokumentiert. Darum ist das postoperative Subkollektiv dieser Studie mit 72 Patienten, die sowohl vor, als auch nach definitiver Therapie untersucht wurden, einmalig.

Betrachtet man auch Studien an TKTL1 mit anderen Bestimmungsmethoden als EDIM ist die wohl zahlenstärkste Studie jene von Zerilli et al. (2008) am papillären Schilddrüsenkarzinom. Dabei wurden 256 Proben mittels Immunhistochemie bestimmt.

Das arithmetische Durchschnittsalter unseres Gesamtkollektivs lag bei 63 Jahren mit *Range* von 45 bis 76 Jahren. Dies entspricht erwarteten Werten, da das Prostatakarzinom bei unter 40 Jährigen praktisch nicht auftritt (BARMER GEK, 2012, S.9) und bei noch älteren Patienten in den meisten Fällen keine Indikation zur radikalen Prostatektomie (siehe 1.1.4) besteht.

Ausschlusskriterien für die Studie waren unter anderem eine tiefe Infiltration des Prostatakarzinoms im Sinne eines T4-Tumors sowie das Vorhandensein von Fernmetastasen oder ein bekanntes Zweitmalignom. Dadurch war sichergestellt, dass die Tumordaten der Patienten nicht zu unterschiedlich ausfielen, was die Vergleichbarkeit der Ergebnisse verbessert. Zudem ergab sich ein 67 Patienten umfassendes Subkollektiv mit exakt identischen Tumorparametern pT2c pN0 pM0 Gleason-Score 7a.

In diesem Kontext zählt die vorliegende Studie zu den absolut größten prospektiven Studien nicht nur was die Bestimmung via EDIM-Methode betrifft, sondern generell bezüglich Apo10 und TKTL1. Darüber hinaus ist sie die erste Studie, die die Entwicklung der beiden Marker prospektiv intraindividuell in einem Kollektiv verfolgt. Ebenso ist dies die erste Studie, die Werte zu Apo10

und TKTL1 vor und nach einer definitiven Therapie im selben Patientenkollektiv untersucht. Die Altersstruktur unseres Gesamtkollektivs entspricht erwarteten Werten und die Tumorparameter der verschiedenen Patienten im Kollektiv weisen ein hohes Gleichmaß auf.

#### **4.2.2 Erfassung der klinischen Bedeutung**

Eine Evaluierung der klinischen Bedeutung von Apo10 und TKTL1 kann auf sehr viele verschiedene Arten erfolgen. In der vorliegenden Studie sollten die tumorbezogenen Daten pT-Stadium, pN-Stadium, Gleason-Score, PSA, Prostatavolumen, Prostatagewicht erfasst und mit Apo10 und TKTL1 verglichen werden. Der Schwerpunkt lag dabei auf den klinisch Bedeutsameren: pT-Stadium, pN-Stadium und Gleason-Score. Als weitere mögliche Einflussfaktoren auf die Apo10- und TKTL1-Werte wurden Daten des Differenzialblutbilds erfasst und auf Korrelationen zu Apo10 und TKTL1 geprüft. Ebenso wurde das Alter als möglicher Störfaktor sowie Begleitdiagnosen wie Diabetes mellitus II untersucht.

Ein weiterer Schwerpunkt zur Erfassung der klinischen Bedeutung lag auf der Untersuchung der prognostischen Wertigkeit der Marker. Dafür wurden etablierte Prognoseeinteilungen zum Beispiel nach UICC oder EAU zu Rate gezogen.

Postoperativ wurde die Entwicklung von Apo10 und TKTL1 in den Fokus gerückt. Hierbei wurden die jeweiligen präoperativen Werte sowie der zeitliche Abstand der postoperativen Messung als mögliche Störvariablen für die Untersuchung des Effekts der Therapie evaluiert. Zur Beurteilung der klinischen Bedeutung der postoperativen Apo10- und TKTL1-Entwicklung wurden die postoperativen PSA-Werte abgeglichen. Außerdem wurden auch die präoperativen tumorbezogenen Daten auf ihren Einfluss hin untersucht.

#### **4.3 Bewertung der vorliegenden Ergebnisse**

Die Gliederung dieses Unterkapitels orientiert sich an Kapitel 3. Zunächst sollen die präoperativen Apo10- und TKTL1-Ergebnisse diskutiert werden. Daraufhin werden deren Zusammenhänge mit Patientendaten beurteilt. Im Weiteren wird ein besonderes Augenmerk auf den im Zuge dieser Studie entwickelten EDIM



Algorithmus gelegt. Danach werden die postoperative Entwicklung von Apo10 und TKTL1 diskutiert und deren Zusammenhänge mit anderen erhobenen Daten interpretiert.

#### **4.3.1 Bewertung der präoperativen Sensitivitäten von Apo10 und TKTL1**

Die Sensitivität des Markers Apo10 (*cut-off* 109) lag in der vorgelegten Studie bei 94,2%, die von TKTL1 (*cut-off* 117) bei 93,7%. Diese Werte, die die Autoren Todenhöfer, Hennenlotter, Keller, Stenzl und Bedke (2016) publizierenden werden, entsprechen durchaus denen anderer Studien zur EDIM-Bestimmung der beiden Marker: Feyen et al. (2012) ermittelten eine Sensitivität für TKTL1 bei Blutproben von Patienten mit Malignomen unterschiedlicher Entität von 94% (allerdings bei *cut-off* 119). Arnoldt (2011) untersuchte, ebenso wie die vorliegende Studie, Patienten mit Prostatakarzinom. Obwohl er nur eine sehr geringe Patientenzahl (14) hatte und mit dem wohl einzigen Kriterium „biopsy proven prostate carcinoma“ doch deutlich allgemeiner Patienten rekrutierte, lässt sich bei 85% Sensitivität für Apo10 und 100% für TKTL1 vermuten, dass er bei einem größeren Kollektiv auf ähnliche Ergebnisse hätte kommen könne; der verwendete *cut-off* bleibt unklar. Grimm, Schmitt et al. (2013), die dieselben *cut-offs* wie die vorliegende Studie verwendeten, geben für Apo10 bei Prostatakarzinom 95% an (Mammakarzinom 88%, OSCC 90%) und für TKTL1 91% (Mammakarzinom 90%, OSCC 92%). Für die Kombination der beiden Marker geben sie über alle drei Tumorentitäten eine Sensitivität von 95,8% an. In der vorliegenden Studie kam die Kombination der beiden Marker sogar auf eine Sensitivität von 99,4%. Lediglich einer von 173 auf beide Marker getesteten Patienten war weder für Apo10, noch für TKTL1 positiv.

Die Sensitivitäten von Apo10 und TKTL1 waren also wie in anderen bisherigen Studien sehr hoch und dabei sogar höher als die Sensitivität des PSA-Werts (92,5%) mit einem studien-üblichen *cut-off* von 4,0ng/ml (Eckersberger, 2009). Dabei hatten sowohl Apo10, als auch TKTL1 kombiniert mit dem PSA eine Sensitivität von 100%. Sämtliche Patienten mit PSA-Werten unter 4,0ng/ml lagen im pathologischen Apo10- bzw. TKTL1-Bereich und umgekehrt ebenso. Die dargelegten Daten zur Sensitivität sind gerade im Vergleich zum PSA-Wert als außerordentlich einzuordnen. Natürlich fehlen zur Beurteilung der

statistischen Gütekriterien der durchgeführten Tests Informationen zur Spezifität, welche in der vorliegenden Studie nicht bestimmt wurden, da ausschließlich Patienten mit histologisch nachgewiesenem Prostatakarzinom rekrutiert wurden. Auch in der Forschungsliteratur liegen aktuell zur Spezifität von EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 lediglich Daten aus einer Studie an 74 Blutspendern vor: Grimm, Schmitt et al. (2013) liefern sehr hohe Spezifitätswerte von 97,3% für die Kombination von EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1.

EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 detektierten also zuverlässig die nach aktuellem Kenntnisstand der Urologie als behandlungsbedürftig eingestuften Prostatakarzinomerkrankungen. Sollten sich die hohen Werte zur Spezifität der beiden Tests in einem *gematchten* Kollektiv aus Patienten mit nicht behandlungsbedürftigen Prostataerkrankungen bestätigen, bedeutet das, dass beide Tests in einem nur gering invasiven Verfahren bei einer neu diagnostizierten Prostatakarzinomerkrankung schnell und kostengünstig Hinweise zu deren Behandlungsbedürftigkeit liefern können.

#### **4.3.2 Bewertung der Zusammenhänge der präoperativen Apo10- und TKTL1 Ergebnisse mit Patientendaten**

So hoch einerseits die Sensitivität von Apo10 und TKTL1 nach EDIM-Methode zum Nachweis eines Prostatakarzinoms auch ist, scheint doch andererseits die Aussagekraft der beiden Marker zur Einschätzung des Tumorstadiums auf den ersten Blick unklar, was allerdings nicht zuletzt an den unterschiedlichen Bestimmungsmethoden Immunhistochemie und EDIM liegt.

Da der postulierte Mechanismus hinter einer Akkumulation von Apo10 in Zellen eine Proliferationsstörung ist (siehe 1.2), könnte man vermuten, dass höhere T-Stadien mit höheren Apo10-Scores einhergehen. Dieses Ergebnis liefert auch die immunhistochemische Studie von Grimm, Schmitt et al. (2013) für OSCC-Patienten. In unserer Studie waren die mittleren EDIM-Apo10-Scores die ungünstigsten: Patienten mit Apo10 130-172 hatten signifikant höhere T-Stadien (34,3% pT3, 65,7% pT2) als solche mit Apo10 unter 130 (19,6% pT3, 80,4%). Die Patienten mit den höchsten Apo10-Scores (über 172) hatten dagegen die niedrigsten T-Stadien (8,3% pT3, 91,7% pT2). Im Tumorstadium

N0 M0 Gleason 7a garantierte ein Apo10-Score von mindestens 166 sogar, dass kein Tumor größer T2 vorlag.

Wie bei Grimm, Schmitt et al. (2013) ergab sich auch in der vorliegenden Studie ein signifikanter Zusammenhang von Apo10 und dem N-Stadium. Während bei Grimm, Schmitt et al. (2013) allerdings nur eine Differenz von 7% in der Häufigkeit von Lymphknoten-Befall bei Apo10-positiven bzw. -negativen Tumoren auffiel (21% vs 28%), garantierte in der vorliegenden Studie ein Apo10-Score von unter 113 oder wiederum mindestens 172 einen negativen histologischen N-Status. Was noch auffiel und gleichzeitig schwierig zu interpretieren ist, ist das signifikante Verhältnis von Apo10 zur absoluten Monozytenzahl. Es tauchten hohe Apo10-Scores eher bei den höchsten und den niedrigsten Monozytenzahlen auf.

Kohrenhagen et al. (2008) fanden in einer immunhistochemischen Studie heraus, dass die TKTL1-Expression signifikant höher ist, wenn ein höherer histopathologischer Grad bei zervikalen Neoplasien des Uterus' vorliegt. Ebenso stellten Völker et al. (2008) für Astrozytom-Patienten und Kayser et al. (2011) bei NSCLC immunhistochemisch eine Korrelation zwischen TKTL1-Expression und *Grading* fest. Geht man demnach davon aus, dass TKTL1 ein Marker für Malignität ist wie es eine Reihe von Autoren folgern (Krockenberger et al, 2010; Wu et al, 2009; Zhang, Yang & Cai, 2008; Schultz et al., 2008; Lange et al., 2012), dann ist es interessant zu überprüfen, ob auch im EDIM-Test hohe TKTL1-Scores bei Prostatakarzinom-Patienten mit hohen Gleason-Scores einhergehen. Dies war jedoch nicht der Fall: Höhere TKTL1-Scores waren bei „hoch-gleasigen“ Tumoren nicht signifikant häufiger. Auch umgekehrt deuteten hohe TKTL1-Scores nicht signifikant auf „hoch-gleasige“ Tumoren hin. Im Stadium pT2c pN0 pM0 war der TKTL1-Score bei Patienten, deren Tumoren in mindestens einem Gleason-Summand mit 5 bewertet wurden, sogar signifikant niedriger als bei jenen, deren Tumoren niedrigere Gleason-Summanden hatten.

Beim Zusammenhang von TKTL1 mit dem T-Stadium widersprechen sich die bisherigen Studien. Eine Reihe von Autoren kommt aufgrund ihrer immunhistochemisch bestimmten Daten zu dem Schluss, dass TKTL1 für

Tumorprogression und -wachstum steht (Smith et al., 2009; Kohrenhagen et al., 2008; Furuta et al., 2010; Langbein et al., 2008). Grimm, Schmitt et al. (2013) wiesen konkret einen signifikanten Zusammenhang zwischen T-Stadium und immunhistochemisch bestimmtem TKTL1-Score nach. Im Gegensatz dazu entdeckten Fritz et al. (2012) in ihrer ebenfalls immunhistochemischen Studie an Lungenkrebs-Patienten keine signifikante Korrelation zwischen TKTL1 und TNM-Stadium. Die vorliegende Studie, die TKTL1 nicht mittels Immunhistochemie, sondern mit Hilfe der EDIM-Methode bestimmte, kam zu einem zwiespältigen Ergebnis: Während sich kein signifikanter Zusammenhang mit dem TKTL1-Score stetig oder ordinal mit *cut-off* bei 117 einstellte, wurde das Verhältnis zum T-Stadium signifikant, wenn man den *cut-off* um einen Punkt nach unten versetzte. Alle Patienten, deren TKTL1-Score unter 116 lag, waren maximal in einem T2-Stadium, während 28,9% der Patienten über diesem *cut-off* ein höheres T-Stadium hatten.

Ähnlich war das Verhältnis zum N-Stadium, für den TKTL1-Score mit zwei *cut-offs* bei 120 und 172 stellte sich ein signifikantes Verhältnis ein: Ein TKTL1-Score außerhalb dieser *Range* (höchstens 119 oder mindestens 172) garantierte den Patienten in unserer Studie das Stadium N0, während alle Patienten mit Lymphknoten-positiven Tumoren Werte innerhalb dieser *Range* hatten. Dort machten sie allerdings nur 12,2% aus. Auch zwischen immunhistochemisch bestimmtem TKTL1- und N-Stadium wird von Zerilli et al. (2008) ein signifikantes Verhältnis beschrieben, in welchem die TKTL1-Expression bei papillärem Schidddrüsenkarzinom signifikant mit der Anzahl und Größe von Lymphknoten-Metastasen zusammenhing. Eine signifikant höhere TKTL1-Expression bei immunhistochemischer Bestimmung weisen auch die Studien von Diaz-Moralli et al. (2011) zum Kolorektalen Karzinom, Zhang, Yang et al. (2008) zum Nasopharynxkarzinom und Grimm, Schmitt et al. (2013) bei OSCC nach.

In der Literatur bisher nicht berichtet, findet sich ein bemerkenswerter Zusammenhang zweiter Ordnung zwischen EDIM-TKTL1 und den T-Lymphozyten: TKTL1-positive Patienten hatten signifikant höhere T-Lymphozytenzahlen (Median: 1061,5/µl vs 669/µl absolut; 70,2% vs 53,8%

relativ). Die höchsten TKTL1-Werte waren allerdings wiederum mit niedrigeren T-Lymphozytenzahlen verknüpft.

### 4.3.3 Bewertung EDIM Summe und EDIM Algorithmus

Die EDIM Summe hatte bei *cut-off* 227 eine Sensitivität von 98,2%. Diese hohe Sensitivität entspricht in etwa den von Grimm, Schmitt et al. (2013) ermittelten Werten: bei Prostatakarzinom-Patienten 97%, bei Mammakarzinom-Patienten 98% und bei OSCC-Patienten 94%. Zur Beurteilung des Tumorstadiums anhand der in der vorliegenden Studie erhobenen Parameter lieferte die EDIM Summe allerdings keine weiteren Informationen. Es stellte sich keine signifikante Beziehung zu einem der erhobenen Werte ein.

Ganz anders bei dem eigens in dieser Studie entwickelten EDIM Algorithmus, der die nicht lineare Entwicklung der beiden Marker Apo10 und TKTL1 in der Pathogenese berücksichtigt: Hiermit ergaben sich signifikante Zusammenhänge sowohl zum T-Stadium, als auch zum N-Stadium und zum Gleason-Score. Auch zum PSA ergab sich ein interessanter signifikanter Zusammenhang. Unter einem *cut-off* von 535 waren sämtliche Patienten höchstens in einem T2-Stadium. Bei einem Wert von mindestens 770 waren dagegen alle mindestens im Stadium T2c, über 50% in einem T3-Stadium und über 20% bereits im Stadium T3b. Beim Vergleich mit dem N-Stadium waren alle Patienten unter demselben *cut-off* 535 frei von Lymphknoten-Metastasen, während ab einem Wert von 770 44,4% der Patienten bereits befallene Lymphknoten hatten. Im Vergleich mit dem Gleason-Score hatten unter dem *cut-off* 535 94,1% der Patienten einen Gleason-Score von maximal 7b, ab dem zweiten *cut-off* bei 770 hatten dagegen mehr als die Hälfte der Patienten (55,6%) Gleason 8 und höher. Auch der Gleason-Score 10 kam nur in dieser Gruppe mit den höchsten Werten im EDIM Algorithmus vor. Das Verhältnis des EDIM Algorithmus zum PSA ordinal (*cut-off* 4,0ng/ml) war signifikant, erstaunlicherweise bei antiproportionaler Tendenz. Alle Patienten mit niedrigen PSA-Werten (<4,0ng/ml) hatten mindestens einen EDIM Algorithmus von 621. Dementsprechend hatten auch der EDIM Algorithmus (*cut-off* 535) und der PSA (*cut-off* 4,0ng/ml) gemeinsam eine Sensitivität von 100%.

In verschiedenen Studien wurde bereits belegt, dass TKTL1 immunhistochemisch nachgewiesen wohl eine prognostische Wertigkeit besitzt – unter anderen Kayser et al. (2011) bei NSCLC, Völker et al. (2007) bei plattenepitheliale Larynxkarzinom, Grimm, Schmitt et al. (2013) bei OSCC, Lange et al. (2012) bei malignen Tumoren der okulären Adnexe. Andere Studien widersprechen diesen scheinbar und sehen keinen Zusammenhang zwischen immunhistochemischer TKTL1-Expression und *Outcome* oder Überleben (Fenske et al., 2009; Földi et al., 2007; Fritz et al., 2012). In der vorliegenden Studie wurden den Patienten anhand ihrer diagnostizierten Tumorparameter Prognoseklassen zugewiesen, sowohl etablierte Stadien nach UICC und EAU, als auch vereinfachte für diese Studie vordefinierte neue Einteilungen. Die vorliegende Studie wies dabei keine signifikante Evidenz für einen Zusammenhang von TKTL1 zu diesen Prognosestadien auf. Auch zwischen Apo10 und diesen Stadien konnte kein signifikanter Zusammenhang festgestellt werden, obwohl Grimm, Schmitt et al. (2013) dies beim Vergleich mit UICC-Stadien bei OSCC feststellten; genauso wenig bei der EDIM Summe. Der EDIM Algorithmus wies dagegen in allen untersuchten Kombinationen fast ausnahmslos signifikante Zusammenhänge zu den Prognoseklassen auf.

Bei EDIM Algorithmus unter 535 befanden sich 88,2% der Patienten im Stadium *intermediate-risk*, in welchem der behandelnde Arzt mit dem Patienten eine radikale Prostatektomie gegen eine abwartende Strategie abwägen sollte (EAU, 2012, S.46). Im Gegensatz dazu waren bei EDIM Algorithmus von mindestens 770 lediglich 22,2% der Patienten im Stadium *intermediate-risk* und die übrigen 77,8% der Patienten im Stadium *high-risk* oder *very-high-risk*, worin die Patienten ein deutlich höheres Risiko für metastatische Ausbreitung und Prostatakarzinom-bedingte Mortalität haben (EAU, 2012, S.47-49). Im Vergleich mit der UICC-Einteilung waren alle Patienten unter dem EDIM Algorithmus-*cut-off* von 535 maximal in einer der Risikogruppen II. Ab einem Wert von 770 waren dagegen alle Patienten mindestens in Risikogruppe IIB. 44,4% waren bereits in der höchsten Risikogruppe IV. Beim Vergleich mit unserer vereinfachten Einteilung in zwei prognostische Gruppen waren unter dem *cut-off* 535 94,1% der Patienten in der prognostisch günstigeren Gruppe I. Im

Gegensatz dazu waren bei Werten über 770 77,8% in der prognostisch eher ungünstigeren Gruppe II.

Der EDIM Algorithmus berücksichtigt die nicht lineare Entwicklung der beiden Marker Apo10 und TKTL1. Dadurch weist er signifikante Korrelationen zu tumorbezogenen Patientendaten auf und erreicht dabei höhere signifikante Evidenz als die reinen Marker oder die EDIM Summe. Außerdem stellte sich erstaunlicherweise eine antiproportionale Tendenz zum PSA heraus.

#### **4.3.4 Bewertung der postoperativen Entwicklung von Apo10 und TKTL1**

Schmidt et al. (2008) stellten bereits fest, dass kein signifikanter Unterschied in der immunhistochemisch nachgewiesenen TKTL1-Expression bei Primärtumoren und Rezidiven (Ovarialkarzinom) besteht. Auch aufgrund solcher Ergebnisse war es besonders interessant zu untersuchen, ob und wie die Marker Apo10 und TKTL1 intraindividuell nach einer kurativen chirurgischen Intervention abfallen.

Die vorliegende Studie liefert dabei erstmals das Ergebnis, dass sowohl Apo10, als auch TKTL1 postoperativ signifikant niedriger waren als präoperativ, was von Todenhöfer et al. (2016) publiziert werden wird. Im Median fiel Apo10 um 33, TKTL1 um 24,5. In Kombination mit den erwähnten Ergebnissen von Schmidt et al. (2008) nährt dies die Hoffnung, dass die beiden Marker auch für die Rezidiv-Diagnostik von malignen Erkrankungen nach kurativen Therapien interessant sein könnten, wie es Lange et al. (2012) nahelegen. In der vorliegenden Studie waren postoperativ 61,1% der Patienten Apo10-negativ bei *cut-off* 109 (präoperativ 5,8%) und 54,2% der Patienten TKTL1-negativ bei *cut-off* 117 (präoperativ 6,3%). Ob diese Prozentzahlen die klinische Realität bezüglich der Heilung des Prostatakarzinoms durch die radikale Prostatektomie widerspiegeln, bleibt abzuwarten. Beide Marker scheinen aber durchaus eine Rolle beim Monitoring des Therapieerfolgs spielen zu können.

Überraschenderweise entwickelten präoperativ TKTL1-Negative postoperativ signifikant häufiger steigende Werte als präoperativ TKTL1-Positive (60,0% vs 11,9%). Präoperativ Apo10-Positive und -Negative entwickelten sich nicht signifikant unterschiedlich. Bei Apo10 wiesen dagegen beachtliche 6,9% der Patienten prä- und postoperativ identische Werte auf (bei TKTL1 2,8%). Für

beide Parameter hatten Patienten in Einzelfällen steigende Scores von bis zu +39 bei Apo10 und +53 bei TKTL1.

Ein Parameter, bei dem man annehmen könnte, dass er hierfür ursächlich wäre, ist der zeitliche Abstand zwischen chirurgischer Intervention und postoperativer Messung. In der vorliegenden Studie wurde ein zeitlicher Mindestabstand von 6 Wochen eingehalten. Zum Teil überstieg der Abstand allerdings auch die Marke von einem Jahr. Während dies bei TKTL1 wohl keinen Einfluss auf die Ergebnisse hat, scheint bei Apo10 ein Zusammenhang zwischen zeitlichem Abstand der postoperativen Messung und Apo10-Entwicklung zu bestehen. Wider Erwarten war dabei direkt nach Operation nicht der stärkste, sondern der geringste Rückgang festzustellen. Erfolgte die Messung innerhalb von 15 Wochen nach Operation, war der mediane Apo10-Rückgang nur -11 und sogar über ein Drittel der Patienten (35,7%) waren im Wert gestiegen. Im Intervall 16 bis 36 Wochen postoperativ war der Median dagegen -44 und kein einziger Patientenwert war gestiegen. In diesem Intervall fanden sich auch die maximalen Rückgänge von bis zu -132. Ab 37 Wochen postoperativ ist der Rückgang mit medianen -33 wiederum erwartungsgemäß etwas geringer geworden und 14,6% der Patienten waren im Apo10-Wert gestiegen. Dies könnte bedeuten, dass der Apo10-Score eine längere Anpassungszeit nach Operation benötigt und erst ab einem Abstand von 16 Wochen zur Operation reliable Ergebnisse liefert.

Die PSA-Bestimmung scheint signifikant unterschiedliche Ergebnisse zu liefern zumindest beim Vergleich mit Apo10: Auch im PSA waren zwar postoperativ 18,8% der Patienten nicht unter der Nachweisbarkeitsgrenze, Patienten mit niedrig nachweisbaren PSA-Werten (<0,2ng/ml) waren allerdings meist Apo10-negativ (91,7%). Patienten mit nicht nachweisbaren PSA-Werten waren dagegen erstaunlich oft Apo10-positiv (44,2%). Ein Patient stach aus dem postoperativen Subkollektiv mit einem PSA von 24,0ng/ml hervor. Dieser Patient, der präoperativ ausnahmslos mit den höchsten in dieser Studie erfassten Tumormerkmalen (T3b N1 Gleason10) eingestuft worden war, hatte postoperativ ebenso einen positiven Apo10-Wert und einen positiven TKTL1-Wert. Erstaunlicherweise war er in beiden Scores dennoch gesunken (Apo10



172 auf 148, TKTL1 158 auf 135, PSA 16,9 auf 24,0ng/ml), was auf eine Reduktion der Tumorlast zurückzuführen sein könnte. Ein positiver TKTL1-Status bei einem solch dringenden Rezidiv-Verdacht könnte dabei besonders interessant für die weitere Rezidiv-Diagnostik sein, da er nach Feyen et al. (2012) zu 90% mit positiven FDG-PET-Ergebnissen übereinstimmt. Dies würde Jadvar (2013) bestätigen, wonach FDG-PET zur Bildgebung bei biochemischen Rezidiven in der Nachsorge nützlich sein könnte. TKTL1 wäre dann ein einfacher Test, um zu prüfen, ob ein FDG-PET erfolgversprechend ist.

Teilte man die Patienten anhand der Kriterien Apo10 (*cut-off* 109), TKTL1 (*cut-off* 117) und PSA (nicht nachweisbar /  $<0,2$  /  $\geq 0,2$ ) ein, ergab sich ein sehr heterogenes Bild. Nur 27,8% der Patienten waren kongruent in der postoperativen Entwicklung der drei Marker. Lediglich ein Patient war positiv für alle drei Marker. Mit Ausnahme dieses bereits beschriebenen Patienten, ergab sich kein auffälliges Muster beim Vergleich dieser Einteilung mit anderen tumorbezogenen Parametern.

Neben hohem zeitlichen Abstand würde man wohl vor allem hohen Gleason-Scores als prognostisch vermutlich wichtigste klinische Tumoreinteilung (siehe 1.1.2) zutrauen, für einen postoperativen Anstieg von Tumormarkern verantwortlich zu sein. Ein signifikantes Verhältnis zur Einteilung nach Gleason ergab sich beim TKTL1-Score nicht, dafür aber beim Apo10-Score. Patienten mit präoperativen Gleason-Scores unter 8 waren postoperativ eher Apo10-negativ (68,9%), solche mit Gleason-Scores 8 und höher waren dagegen eher Apo10-positiv (61,5%). Beim PSA-Wert ergab sich zwar auch ein signifikantes Verhältnis, allerdings nur bei Berücksichtigung des einen bereits erwähnten hochpositiven PSA-Werts. Vergleich man Patienten mit nicht nachweisbarem PSA und solche mit PSA  $<0,2$  ergab sich keinerlei Unterschied. Ähnlich sah es zwischen PSA und dem N-Stadium aus. Ansonsten ergab sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen einem der drei Marker und einem anderen klinischen Parameter. Solange das PSA nicht auf Werte über 0,4ng/ml ansteigt, könnte man also meinen, dass der Apo10-Score ab 16 Wochen postoperativ zunächst der aussagekräftigste der drei Parameter ist, zumal auch Grimm, Schmitt et al.

(2013) bei positivem Apo10-Status nach R0-Resektion (OSCC) signifikant schlechtere Überlebensraten nachwiesen.

#### **4.4 Vergleich der Apo10- und TKTL1-Ergebnisse mit dem 2-Stufen-Modell nach Tavarlin**

In der vorliegenden Studie wiesen Apo10 und TKTL1 zueinander ein signifikantes Verhältnis auf. Höhere Werte im einen Marker waren linear mit höheren im anderen vergesellschaftet. Obwohl beide Marker im Gesamtkollektiv der Patienten mit Prostatakarzinom T2-3 N0-1 M0 Gleason 6-10 eine hohe Sensitivität von 93,7% bzw. 94,2% hatten, waren lediglich 89,0% der Patienten präoperativ positiv für beide Marker. 10,4% waren für nur einen Marker positiv (jeweils 5,2%) und ein Patient (0,6%) war negativ für beide Marker.

Im Mittel war der Apo10-Score bei höheren TKTL1-Werten ebenfalls höher. Sowohl das Apo10-Maximum (254) wie auch das Apo10-Minimum (101) wurden allerdings in der Gruppe mit den niedrigsten, den TKTL1-negativen (<117) Werten gemessen. Auch umgekehrt reichten die TKTL1-Scores bei Apo10-negativen (<109) Patienten von TKTL1-negativ (<117) bis zu sehr hohen Werten (198).

Tavarlin (2011a, S.7) postuliert ein Modell mit oberhalb des *cut-offs* umgekehrt parabolischem Verlauf der Marker Apo10 und TKTL1 in der Tumorgenese. Die Apo10-Parabel ist dabei tumorgenetisch früher angesetzt. Dies berücksichtigt die Schlussfolgerung von Jansen und Coy (2013), wonach Apo10 ein sehr frühes Ereignis der malignen Transformation ist und bereits anzeigt, dass die Zellproliferation nicht in normalem Maße reguliert wird (Grimm, Schmitt et al., 2013), wie eventuell auch bei einer benignen Prostatahyperplasie. TKTL1 als Marker für Malignität (Krockenberger et al., 2010; Wu et al., 2009; Zhang, Yang et al., 2008; Schultz et al., 2008; Lange et al., 2012) und Korrelat für den eintretenden Warburg-Effekt (Coy et al., 2005) soll dem Modell zufolge erst später ansteigen, wenn bereits ein *Carcinoma in situ* bzw. ein „Karzinom mit Matrixdegradation“ (Tavarlin, 2011a, S.7) vorhanden ist (siehe 1.4, Abb.6).

Das Modell einer parabolischen Entwicklung der Marker ist vor dem Hintergrund unserer Ergebnisse insofern interessant, als es sowohl höchste Apo10-Werte bei niedrigsten TKTL1-Scores erklären könnte, als auch niedrige Apo10-Werte bei hohen TKTL1-Scores. Je nachdem wie breit man die Parabel auf dem Zeitstrahl der Tumorentwicklung annimmt, könnte ein solches Modell auch noch negative oder bereits wieder negative Werte bei vorhandener Pathologie erklären. Zu hoffen war jedoch, wie es auch das Modell von Tavarlin anzeigt, dass voll entwickelte und dabei noch nicht metastasierte Karzinome („Karzinom mit Matrixdegradation“) wie bei den Patienten dieser Studie (T2-3 Gleason 6-10; M0) sowohl noch Apo10-positiv als auch bereits TKTL1-positiv sind. Hierbei erscheint ein Anteil von 89,0% der Patienten, die für beide Marker positiv sind, etwas gering. Will man unsere EDIM-Ergebnisse mit der Idee dieses unter Zuhilfenahme immunhistochemisch bestimmter Daten entwickelten Modells in Einklang bringen, sollte man das Modell eventuell anpassen: Es scheint, als könnten auch bereits entwickelte und dabei noch nicht metastasierte Karzinome noch negativ für EDIM-Apo10 (5,8% <109) bzw. EDIM-TKTL1 (6,3% <117) sein. Außerdem erreichen beide Marker nach positiv Werden wohl schnell einen Peak, bevor sie sich, zumindest solange sie noch nicht metastasiert sind, auf einem niedrigeren positiven Niveau einpendeln: Apo10 war ab 173 signifikant häufiger höchstens im Stadium T2 als bei Werten 130-172 (91,7% vs 65,7%) und signifikant häufiger noch im Stadium N0 als bei Werten 113-172 (100% vs 88,2%). Auch TKTL1 war ab 172 signifikant häufiger noch im N0-Stadium als bei Werten 120 bis 172 (100% vs 87,8%). Zudem war TKTL1 bei Patienten mit Gleason-Summanden von 5 signifikant niedriger, als wenn die Gleason-Gradings der häufigsten und zweithäufigsten Population die Stufe 5 nicht erreicht hatten. Während der Apo10-Score seinen Peak jeweils in einer der niedrigsten erfassten Kategorien hatte (T2a N0 Gleason 7a), war er bei TKTL1 in weiter fortgeschrittenen Stadien (T3a N0 Gleason 8). Dies könnte durchaus dafür sprechen, dass die Kurve von EDIM-Apo10 früher ansteigt und schneller den Peak erreicht als die von EDIM-TKTL1. Um das Modell der Tumorgenese in zwei Stufen von Tavarlin (2011a) wirklich für EDIM-Apo10 und –TKTL1 beurteilen zu können, bedürfte es jedoch Studien, die im Längsschnitt in

mehreren Messungen die Entwicklung von Apo10 und TKTL1 in der Tumorgenese untersuchen.

Wozu (nach Kenntnisstand des Autors) bisher überhaupt noch kein Modell existiert, ist die postoperative Entwicklung der beiden Marker. Die Einzelfallstudie von Jansen und Coy (2013) mit immunhistochemischer Bestimmung von TKTL1 deutet darauf hin, dass sich die Marker hier ähnlich entwickeln könnten wie präoperativ: Apo10 erreichte früh, lange bevor ein Kolonkarzinom-Rezidiv mittels MRT diagnostiziert wurde, einen Peak und pendelte sich dann auf niedrigerem positiven Niveau ein. TKTL1 schwankte zunächst und erreichte seinen Peak dann später, zum gleichen Zeitpunkt wie das positive MRT. Auch Schmidt et al. (2008) stellten immunhistochemisch beim Ovarialkarzinom keinen Unterschied zwischen Primärtumor und Rezidiv fest.

In der vorgelegten Studie mittels EDIM-Technologie sanken die Werte der Patienten postoperativ signifikant ab. Im Apo10-Score waren postoperativ jedoch immer noch 38,9% der Patienten positiv, im TKTL1-Score gar 45,8%. Es stellt sich die Frage, ob alle diese Patienten mit positiven Werten bereits wieder oder noch immer tumoröses Gewebe in sich trugen oder ob eventuell postoperativ von anderen *cut-offs* ausgegangen werden muss. Die Antwort auf diese Frage ist in der vorliegenden Studie nicht gänzlich zu klären.

Zwischen Apo10 und TKTL1 ergab sich postoperativ wiederum ein signifikantes lineares Verhältnis. Auch die Entwicklung zwischen prä- und postoperativem Wert hing bei beiden Markern signifikant in linearem Verhältnis zusammen. Es war jedoch auffällig, dass 19,4% der Patienten in einem der beiden Marker stiegen und im anderen fielen (jeweils 9,7%). Nur 73,6% der Patienten entwickelten sich postoperativ kongruent bezüglich Apo10- und TKTL1-Score (beide Werte stiegen, beide Werte waren gleich oder beide Werte fielen). Sogar nur 56,9% entwickelten kongruente Ergebnisse (beide Werte waren positiv oder beide Werte waren negativ). Apo10 und TKTL1 scheinen sich postoperativ also uneinheitlicher zu entwickeln. Dass die Patienten im TKTL1-Score median lediglich 24,5 gesunken waren und nur etwas mehr als die Hälfte auf negative Werte kam, könnte darauf hindeuten, dass TKTL1 auf eine chirurgische

Tumorentfernung in geringerem Maße reagiert als Apo10 (medianer Rückgang 33, 61,1% negativ).

Da nicht festzustellen ist, ob Patienten bereits ein Rezidiv entwickelten bzw. wie weit dieses bereits fortgeschritten ist, ist es schwierig eine klare Aussage darüber zu treffen: Der einzige Patient, der aufgrund eines sehr hohen PSA-Werts (24,0ng/ml) vermutlich ein Rezidiv in sich trägt, fiel auch durch positive Werte im Apo10- (148) und im TKTL1-Score (135) auf.

Andere Patienten im postoperativen Kollektiv wiesen jedoch im Vergleich zu diesem Patienten höhere Apo10- (165) und TKTL1-Werte (187) auf. Dies könnte als Argument dafür dienen, dass sich Apo10- und TKTL1-Werte auch in einer möglichen postoperativen Rezidivgenese nach einem Peak auf einem niedrigeren positiven Niveau etablieren (wie bei Jansen und Coy, 2013).

Apo10 und TKTL1 scheinen sich postoperativ insgesamt uneinheitlicher zu entwickeln, wobei TKTL1 auf eine chirurgische Tumorentfernung wohl in geringerem Maße reagiert als Apo10. Hier wäre eventuell über andere *cut-offs* als in der präoperativen Situation nachzudenken.

#### **4.5 Schlussfolgerung**

Die Sensitivität von EDIM-Apo10 und -TKTL1 war in unserer Studie bei Patienten mit organbezogenem Prostatakarzinom sehr hoch. Andere Studien bestätigen dieses Ergebnis (siehe 4.3.1). Die Spezifität der Tests ist vergleichsweise wenig erforscht. Erste Ergebnisse deuten jedoch auch hier auf hohe Werte hin (siehe 4.3.1). Beide Marker scheinen im Laufe der Tumorgenese nicht linear anzusteigen (siehe 4.4). Ein höherer Wert stünde somit nicht automatisch für eine fortgeschrittene Pathologie. Tatsächlich scheinen Apo10-Werte oberhalb eines zweiten *cut-offs* wiederum ein niedrigeres Krankheitsstadium anzuzeigen. Nichtsdestotrotz bestanden in der vorliegenden Studie signifikante Zusammenhänge von Apo10 und TKTL1 zum Krankheitsstadium. Im Rahmen dieser Studie wurde aus den Apo10- und TKTL1-Werten ein EDIM Algorithmus entwickelt, der die nicht lineare Entwicklung der beiden Marker berücksichtigt. Der EDIM Algorithmus konnte so die Aussagekraft von Apo10 und TKTL1 veranschaulichen: Höhere Werte im

EDIM Algorithmus korrelierten signifikant mit höheren T-Stadien, höheren N-Stadien und höheren Gleason-Scores. Darüber hinaus wies der EDIM Algorithmus signifikante Zusammenhänge zu etablierten prognostischen Einteilungen nach UICC und EAU auf. Unter Hinzuziehung des EDIM Algorithmus war es also möglich fortgeschrittene Pathologien zuverlässig zu detektieren und Hochrisiko- von Niedrigrisiko-Patienten zu unterscheiden. EDIM-Apo10 und -TKTL1 könnten somit sehr wichtige Informationen für Früherkennung und Diagnostik bei neu erkannten Prostataerkrankungen liefern, da sie schnell und kostengünstig in einem wenig invasiven Verfahren zuverlässige Hinweise zur Behandlungsbedürftigkeit einer Erkrankung beitragen könnten.

Einige Forscher unternahmen bereits erste Versuche TKTL1-positive Tumoren durch gezielte Target Therapie zu bekämpfen (Wanka et al., 2012; Chen et al., 2009; Xu, Zur Hausen, Coy & Löchelt, 2009; Zhang, Yue et al., 2008; Zhang et al., 2007). Auch nutritive Einwirkung auf maligne Tumoren wurden bereits untersucht (Emond et al., 2014) und für TKTL1-positive Tumoren vorgeschlagen (Grimm, Hoefert et al., 2013). Nach den beschriebenen Ergebnissen wäre eine solche gezielte Einwirkung auf TKTL1-positive Tumoren eher in den niedrigeren Stadien, zum Zeitpunkt des vermuteten TKTL1-Peaks (siehe 4.4), erfolgversprechend. Um eine gezielte Therapie zu ermöglichen, sollte jedoch weiter untersucht werden, welche nicht-malignen Faktoren wie etwa Dm Einfluss auf die beiden systemisch gemessenen Marker EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 haben.

In unserer Studie wurde erstmals in einem prospektiven Ansatz und im Längsschnitt belegt, dass EDIM-Apo10 und -TKTL1 nach einer kurativen Intervention signifikant sinken. Dies deutet darauf hin, dass der Erfolg einer chirurgischen Intervention bei organbezogenem Prostatakarzinom durch diese Tests überwacht werden könnte. Damit wären beide Marker neben dem PSA eine weitere Option für die Nachsorge von Prostatakarzinom-Patienten nach radikaler Prostatektomie, wie es manche Autoren bereits andeuteten (Jansen und Coy, 2013). In der vorliegenden Studie fiel eine deutlich höhere postoperative Positivrate von Apo10 (38,9%; *cut-off* 109) und TKTL1 (45,8%;

*cut-off* 117) im Verhältnis zu PSA (1,4%; *cut-off* 0,2ng/ml) auf. Interessant zu untersuchen wäre, ob dies eine spätere Rezidivrate widerspiegelt. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass speziell der Apo10-Score postoperativ einen Informationsgewinn gegenüber der routinemäßigen Nachsorge liefern könnte: EDIM-Apo10 wies eine signifikante Beziehung zum präoperativen Gleason-Score auf. Patienten mit schlecht differenzierten Tumoren (Gleason-Scores 8 bis 10), bei denen man eine höhere Rezidivrate annehmen würde, hatten signifikant höhere postoperative Apo10-Scores, als solche mit präoperativ niedriggradigen Tumoren. Gleichzeitig wies der postoperative Apo10-Score eine signifikante Unterscheidung zum postoperativen PSA auf. Dass Grimm, Schmitt et al. (2013) bei positivem immunhistochemischem Apo10-Status nach R0-Resektion signifikant schlechtere Überlebensraten nachwiesen, unterstützt die These, dass die Beachtung der postoperativen Apo10-Entwicklung von großem Wert für die Nachsorge sein könnte.

#### **4.6 Limitationen der Arbeit und weiterführende Fragestellungen**

Die Verallgemeinerbarkeit von Studienergebnissen kann immer aufgrund zu geringer Probandenzahl eingeschränkt sein. Mit 174 Patienten ist das vorliegende Patientenkollektiv allerdings eines der zahlenstärksten überhaupt bei Studien über EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1. Da die Daten zudem prospektiv erhoben wurden, ist die Studie eine der aussagekräftigsten zu EDIM-Apo10 und -TKTL1.

Des Weiteren könnte die Verallgemeinerbarkeit der Studie eingeschränkt sein, da die Studienteilnahme auf Freiwilligkeit basierte und die Patienten ihr schriftliches Einverständnis dazu geben mussten. Es ist jedoch nicht davon auszugehen, dass dies zu einer definierten Selektion der Patienten geführt hat. Ohnehin war die Bereitschaft zur Studienteilnahme sehr hoch, weshalb von keiner relevanten Verzerrung der Ergebnisse auszugehen ist.

Im vorliegenden Studiendesign wurden Daten sehr breit erfasst, worunter zwangsläufig die Standardisierung der Daten leidet. Es ist deswegen nicht auszuschließen, dass sich verschiedene untersuchte Parameter und Kausalitäten in Bezug auf die systemisch erhobenen Marker Apo10 und TKTL1

gegenseitig störten. Gleichzeitig bot sich durch diese Vorgehensweise die ausgezeichnete Möglichkeit eine überaus große Fülle von Daten und Zusammenhängen in Bezug auf Apo10 und TKTL1 zu erforschen. Da alle Patienten im Stadium T2-3 M0 waren, weist das Kollektiv dennoch eine vergleichsweise sehr hohe Standardisierung auf.

Weil ausschließlich Patienten mit Prostatakarzinom untersucht wurden, konnte keine Spezifität von EDIM-Apo10 und EDIM-TKTL1 in Bezug auf das Prostatakarzinom bestimmt werden. Im Gegenzug konnten Beziehungen zu *Staging*, *Grading* und prognostischen Gruppen sowie zur postoperativen Entwicklung der Ergebnisse intensiv untersucht werden, da sämtliche Patienten ein gesichertes Prostatakarzinom hatten.

Es wurden sehr hohe Sensitivitäten und mehrere signifikante Zusammenhänge zwischen Apo10 bzw. TKTL1 und erhobenen Tumordaten festgestellt. Gleichzeitig wurde auch ein signifikanter Zusammenhang zwischen Apo10 und der absoluten Monozytenzahl entdeckt, dessen genauere Untersuchung vor allem aufgrund der Bestimmungsmethode Epitope Detection in Monocytes (EDIM) interessant wäre.

Im Zuge der Erforschung der Einflussfaktoren auf den systemisch durch EDIM erhobenen Marker TKTL1 könnte eine weitere Untersuchung der Beziehung zwischen TKTL1 und der T-Lymphozytenzahl durchaus interessant sein.

Nachdem verschiedene Autoren auf eine hohe DNaseX-Expression in Muskelgewebe hinwiesen (Shiokawa, Kobayashi & Tanuma, 2002; Parrish et al., 1995), wäre relevant zu untersuchen, ob Muskelerkrankungen oder schlicht ein muskelkräftiger Körperbau auch Einfluss auf das EDIM-Apo10-Ergebnis haben könnten.

Da im aktuellen Fokus des Prostatakrebs-Screenings vor allem Überdiagnostik und Übertherapie stehen, wäre von hoher Relevanz, in einer langfristigen Studie zu untersuchen, ob beispielsweise der „Marker für Malignität“ TKTL1 oder der in der vorliegenden Studie entwickelte und überaus vielversprechende Ergebnisse liefernde EDIM Algorithmus eher „behandlungsbedürftige“ Tumoren anzeigen als bisherige Früherkennung und Diagnostik.



Des Weiteren könnte evaluiert werden, was die in unserer Studie entdeckte sehr unterschiedliche Entwicklung der Marker Apo10, TKTL1 und PSA in der postoperativen Situation nach radikaler Prostatektomie zu bedeuten hat.

Für die Nachsorge wäre den ermittelten Ergebnissen zufolge die weitere Erforschung des Markers Apo10 von großem Interesse, da er in der Lage sein könnte auftretende Rezidive anzuzeigen und er sich dabei gleichzeitig signifikant vom PSA-Wert unterscheidet.

## 5 Zusammenfassung

Ein wesentlicher Aspekt der klinisch-experimentellen Arbeit zum Prostatakarzinom ist die Suche und Evaluation von Biomarkern mit diagnostischer und prognostischer Bedeutung. Insbesondere in der Grauzone der Bestimmung des prostataspezifischen Antigens (PSA) erscheinen weitere Marker sinnvoll. Apo10 und TKTL1 als potenzielle Marker für Proliferationsstörungen (Apo10) bzw. Malignität (TKTL1) könnten dabei eine ideale Möglichkeit zur Ergänzung darstellen. Mittels des bereits kommerziell erhältlichen EDIM-Tests erfolgt dies durch eine einfache venöse Blutentnahme. So könnten in der Früherkennung hohe PSA-Werte differenziert und in der Diagnostik und Prognostik Tumoren noch exakter eingeordnet werden, um optimal zwischen abwartenden und intervenierenden Therapien zu entscheiden. Auch könnten in der Nachsorge PSA-Rezidive gedeutet sowie PSA-negative Rezidive detektiert werden. Ziel dieser Arbeit war die klinische Bedeutung von EDIM-Apo10 und -TKTL1 bei organbezogenem Prostatakarzinom in Bezug auf *Staging*, *Grading* und Prognostik sowie die Veränderung beider Marker durch radikale Prostatektomie zu evaluieren.

Die Studie umfasst 174 Patienten mit histologisch gesichertem Prostatakarzinom (T2-3 N0-1 M0 Gleason 6-10), die sich zwischen 05.Juli 2012 und 24.Oktober 2013 einer radikalen Prostatektomie unterzogen. Apo10 und TKTL1 wurden mit Hilfe der EDIM-Methode in Makrophagen des venösen Bluts detektiert (Antikörper DJ28D4 und JFC12T10) und mittels Durchflusszytometrie quantifiziert. Neben Apo10 und TKTL1 wurde in Kombination beider die EDIM Summe sowie ein erstmalig entwickelter EDIM Algorithmus in Bezug auf Zusammenhänge mit TNM-Stadium, Gleason-Score, Prognoseeinteilungen, PSA und Daten des Differenzialblutbilds überprüft.

Die Sensitivitäten lagen präoperativ bei 94,2% (Apo10), 93,7% (TKTL1) und 98,2% (EDIM Summe). Signifikante Zusammenhänge traten zwischen Apo10 und TKTL1 auf, zudem präoperativ zwischen beiden und T- bzw. N-Stadium. Die Zusammenhänge zwischen Apo10 bzw. TKTL1 und tumorbezogenen Daten waren nicht linear. Der EDIM Algorithmus stellte signifikante Bezüge zu T-, N-

Stadium und Gleason-Score sowie zu vier unterschiedlichen prognostischen Einteilungen her. Während der EDIM Algorithmus mit diesen diagnostischen und prognostischen Kategorien positiv korrelierte, stellte sich mit dem PSA eine negative Korrelation ein. Postoperativ waren Apo10 und TKTL1 signifikant gesunken: 61,1% waren Apo10-negativ (*cut-off* 109) und 54,2% TKTL1-negativ (*cut-off* 117). Apo10 hing signifikant mit dem zeitlichen Abstand der postoperativen Messung zusammen und unterschied sich vom PSA. Dabei waren Patienten mit hohen Gleason-Scores postoperativ signifikant häufiger Apo10-positiv.

Dies ist die erste prospektive Längsschnittstudie zu EDIM-Apo10 und -TKTL1 vor und nach definitiver Therapie. Wie in anderen Studien detektierten beide Marker die Erkrankung mit hoher Sensitivität. Zusammenhänge mit Tumor-*Staging* und -*Grading* sind nicht zufällig. Der in dieser Studie entwickelte EDIM Algorithmus berücksichtigt deren nicht lineare Entwicklung und bringt den Nutzen der beiden Marker für die Beurteilung des Krankheitsstadiums und die Prognostik zum Ausdruck. Er korreliert positiv mit fortgeschrittenen Pathologien und war in der Lage prognostische Hoch- von Niedrigrisikogruppen zu differenzieren. EDIM-Apo10 und -TKTL1 könnten somit in Zukunft wichtige Tests zur Beurteilung der Behandlungsbedürftigkeit eines Prostatakarzinoms werden. In der vorliegenden Studie konnte erstmalig prospektiv ein signifikanter Rückgang der Blutmarker Apo10 und TKTL1 nach definitiver Therapie nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse machen EDIM-Apo10 und -TKTL1 zu möglichen Tests für die Kontrolle der chirurgischen Tumorentfernung. Aufgrund der signifikanten Beziehung zum Gleason-Score und der signifikanten Unterscheidung vom PSA könnte vor allem EDIM-Apo10 einen Informationsgewinn gegenüber routinemäßiger Nachsorge bei Patienten nach radikaler Prostatektomie bedeuten. EDIM-Apo10 und -TKTL1 könnten in Kombination mit dem EDIM Algorithmus somit wichtige Tests für sowohl Früherkennung, als auch Diagnostik und Nachsorge des Prostatakarzinoms werden.

## 6 Literaturverzeichnis

- Adam, P. (2013). *Spezielle Pathologie. Prostata*. Vortrag vom 4. Juni 2013 im Rahmen der Vorlesung „Spezielle Pathologie“ an der Medizinischen Fakultät der Universität Tübingen.
- American Joint Committee on Cancer (Hrsg.). (2009). *Prostate Cancer Staging. 7<sup>th</sup> Edition Staging Poster*. o.V.
- Andriole, G., Crawford, E., Grubb, R., Buys, S., Chia, D., Church, T. et al. (2012). Prostate cancer screening in the randomized Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian Cancer Screening Trial: mortality results after 13 years of follow-up. *Journal of the National Cancer Institute*, 104 (2), 125-132.
- Andriole, G., Crawford, E., Grubb, R., Buys, S., Chia, D., Church, T. et al. (2009). Mortality results from a randomized prostate-cancer screening trial. *New England Journal of Medicine*, 360 (13), 1319-1319.
- Arnoldt, J. (2011) *THERAPY MONITORING AND EARLY DETECTION OF METASTASIS USING TUMOR PROTEIN DETECTION IN MACROPHAGES*. *Anticancer Research*, 31 (5), 2012.
- arznei-telegramm (2009). Im Blickpunkt. PSA-SCREENING AUF PROSTATAKARZINOM – NUTZEN BELEGT?. *arznei-telegramm*, 40, 33-34.
- AWMF Leitlinienprogramm Onkologie, Deutsche Krebsgesellschaft e.V. & Deutsche Krebshilfe e.V. (Hrsg.). (2011a). *Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur Früherkennung, Diagnose und Therapie der verschiedenen Stadien des Prostatakarzinoms. Kurzversion* (Version 2.0). o.V.
- AWMF Leitlinienprogramm Onkologie, Deutsche Krebsgesellschaft e.V. & Deutsche Krebshilfe e.V. (Hrsg.). (2011b). *Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur Früherkennung, Diagnose und Therapie der verschiedenen Stadien des Prostatakarzinoms*. (Version 2.0). o.V.
- BARMER GEK (Hrsg.). (2012). *BARMER GEK Report Krankenhaus 2012. Schwerpunktthema: Die akut-stationäre Versorgung des Prostatakarzinoms*. Siegburg: Asgard.
- Bild.de (2014, 10. Februar). *Medizinischer Meilenstein. Neuer Bluttest kann Krebs früh erkennen!*. Zugriff am 25. Juli 2014 unter <http://www.bild.de/ratgeber/gesundheit/krebs/neuer-bluttest-kann-krebs-frueherkennen-34625204.bild.html>
- Bild.de (2009, o.D.). *Diese Ernährung schützt vor Krebs*. Zugriff am 23. Juni 2014 unter <http://www.bild.de/ratgeber/gesundheit/krebs/diese-ernaehrung-schuetzt-vor-krebs-video-9581684.bild.html>
- Bill-Axelson, A., Holmberg, L., Garmo, H., Rider, J., Taari, K., Busch, C. et al. (2014). Radical prostatectomy or watchful waiting in early prostate cancer. *New England Journal of Medicine*, 370 (10), 932-942.
- Bliemeister, E.H. (2011). Active Surveillance als defensive Strategie bei

- insignifikantem Prostatakrebs: Hoffnung für Betroffene? – Eine kritische Betrachtung. *Forum Komplementäre Onkologie / Immunologie*, 64 (12), 1402.
- Bliemeister, E.H. (2010). Die Angst vor dem Prostatakrebs. PSA-Screening und die Folgen. *Forum Komplementäre Onkologie / Immunologie*, 63 (6), 705.
- Börgermann, C., Loertzer, H., Luboldt, H.-J. & Fornara, P. (2009). Screening und Früherkennung. In H. Rübber (Hrsg.), *Uroonkologie* (5. Aufl., S.512-521). Heidelberg: Springer.
- Brandt, U. (2007). Redoxreaktionen, Sauerstoff und oxidative Phosphorylierung. In G. Löffler, P. Petrides & P. Heinrich (Hrsg.), *Biochemie & Pathobiochemie* (8.Aufl., S.489-514). Heidelberg: Springer.
- Carlsson, S., Aus, G., Bergdahl, S., Khatami, A., Lodding, P., Stranne, J. et al. (2011). The excess burden of side-effects from treatment in men allocated to screening for prostate cancer. The Göteborg randomised population-based prostate cancer screening trial. *European Journal of Cancer*, 47 (4), 545,553.
- Carter, H., Albertsen, P., Barry, M., Etzioni, R., Freedland, S., Greene, K. et al. (2013). Early detection of prostate cancer: AUA Guideline. *Journal of Urology*, 190 (2), 419-426.
- Carter, H., Epstein, J. & Partin, A. (1999). Influence of age and prostate-specific antigen on the chance of curable prostate cancer among men with nonpalpable disease. *Urology*, 53 (1), 126-130.
- Chen, H., Yue, J., Yang, S., Ding, H., Zhao, R. & Zhang, S. (2009). Overexpression of transketolase-like gene 1 is associated with cell proliferation in uterine cervix cancer. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 28:43.
- Coy, J. (2011a). *WG: AW: Glucose metabolism of malignant cells is not regulated by transketolase-like (TKTL)-1 – dr.coy*. Zugriff am 07. Dezember 2014 unter [http://www.johannescoy.de/downloads/Email\\_2011\\_10\\_26.pdf](http://www.johannescoy.de/downloads/Email_2011_10_26.pdf)
- Coy, J. (2011b). *TKTL1*. Zugriff am 07. Dezember 2014 unter [http://www.johannescoy.de/downloads/Email\\_2011\\_11\\_01.pdf](http://www.johannescoy.de/downloads/Email_2011_11_01.pdf)
- Coy, J. (o.D.). *JOHANNESCOY. Lebenslauf*. Zugriff am 23. Juni 2014 unter <http://www.johannescoy.de/coy.php?site=company&case=leben>
- Coy, J., Dressler, D., Wilde, J. & Schubert, P. (2005). Mutations in the Transketolase-like Gene TKTL1: Clinical Implications for Neurodegenerative Diseases, Diabetes and Cancer. *Clinical Laboratory*, 51, 257-273.
- Coy, J., Dübel, S., Kioschis, P., Thomas, K., Micklem, G., Delius, H. et al. (1996). Molecular cloning of tissue-specific transcripts of a transketolase-related gene: implications of the evolution of new vertebrate genes. *Genomics*, 32 (3), 309-316.
- Coy, J., Verlhagen, I., Himmele, R., Delius, H., Poustka, A. & Zentgraf, H. (1996). Isolation, differential splicing and protein expression of a DNase on the human X chromosome. *Cell Death & Differentiation*, 3 (2), 199-206.
- DAK (2014, 18. Juni). *Krebsvorsorge. Früherkennungsuntersuchungen für*

- Frauen und Männer*. Zugriff am 24. Juni 2014 unter <https://www.dak.de/dak/leistungen/Krebsvorsorge-1428536.html>
- DeBerardinis, R., Lum, J., Hatzivassiliou, G. & Thompson, C. (2008). The Biology of Cancer: Metabolic Reprogramming Fuels Growth and Proliferation. *Cell Metabolism Review*, 7(1), 11-20.
- Deutsche Krebshilfe (Hrsg.) (2013). *Die blauen Ratgeber. Prostatakrebs* (Stand 2/2013). o.V.
- Diaz-Moralli, S., Tarrado-Castellarnau, M., Alenda, C., Castells, A. & Cascante M. (2011). Transketolase-like 1 expression is modulated during colorectal cancer progression and metastasis formation. *PloS One*, 6 (9):e25323.
- Dubben, H. (2014). Early detection of prostate cancer: harm verified, benefit not verifiable. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, 57 (3), 318-326.
- Dubben, H. (2009a). Trials of prostate-cancer screening are not worthwhile. *Lancet Oncology*, 10 (3), 294-298.
- Dubben, H. (2009b). Prostate-cancer screening. *New England Journal of Medicine*, 361 (2), 204.
- Eckersberger, E., Finkelstein, J., Sadri, H., Margreiter, M., Taneja, S., Lepor, H. et al. (2009). Screening for Prostate Cancer: A Review of the ERSPC and PLCO Trials. *Reviews in Urology*, 11 (3), 127-133.
- Emond, J., Pierce, J., Natarajan, L., Gapuz, L., Nguyen, J., Parker, B. et al. (2014). Risk of Breast Cancer Recurrence Associated with Carbohydrate Intake and Tissue Expression of IGFI Receptor. *Cancer, Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 23 (7), 1273-1279.
- European Association of Urology (Hrsg.). (2012). *Guidelines on Prostate Cancer*. o.V.
- Fenske, W., Völker, H., Adam, P., Hahner, S., Johanssen, S., Wortmann, S. et al. (2009). Glucose Transporter GLUT1 expression is an stage-independent predictor of clinical outcome in adrenocortical carcinoma. *Endocrine-Related Cancer*, 16 (3), 919-928.
- Feyen, O., Coy, J., Prasad, V., Schierl, R., Saenger, J. & Baum, R. (2012). EDIM-TKTL1 blood test: a noninvasive method to detect upregulated glucose metabolism in patients with malignancies. *Future Oncology*, 8 (10), 1349-1359.
- Földi, M., Stickeler, E., Bau, L., Kretz, O., Watermann, D., Gitsch, G. et al. (2007). Transketolase protein TKTL1 overexpression: A potential biomarker and therapeutic target in breast cancer. *Oncology Reports*, 17 (4), 841-845.
- Fornara, P., Semjonow, A. & Wagner, S. (2009). Diagnostik. In H. Rübben (Hrsg.), *Uroonkologie* (5. Aufl., S.521-536). Heidelberg: Springer.
- Fritz, P., Coy, J., Mürdter, T., Ott, G., Alschner, M. & Friedel, G. (2012). TKTL-1 expression in lung cancer. *Pathology – Research and Practice*, 208 (4), 203-209.
- Furuta, E., Okunda, H., Kobayashi, A. & Watabe, K. (2010). Metabolic genes in cancer: their roles in tumor progression and clinical implications. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1805 (2), 141-152.
- Gatenby, R. & Gillies, R. (2004). Why do cancers have high aerobic glycolysis?. *Nature Reviews Cancer*, 4 (11). 891-899.

- GEKID (2013a). *Tabellen zum GEKID-Atlas. Krebssterblichkeit (Mortalität), altersstandardisierte Rate [Europastandard](je 100.000 Einwohner)*. Zugriff am 23. Juni 2014 unter [http://www.ekr.med.uni-erlangen.de/GEKID/Atlas/CurrentVersion/Tabellen/Tabellen\\_D.php?Method=MORTALITY\\_EU&ICD10=C00-C97&Year\\_from=2008&Year\\_to=2012&Men=on&Women=on&Rates=on&Cases=on](http://www.ekr.med.uni-erlangen.de/GEKID/Atlas/CurrentVersion/Tabellen/Tabellen_D.php?Method=MORTALITY_EU&ICD10=C00-C97&Year_from=2008&Year_to=2012&Men=on&Women=on&Rates=on&Cases=on)
- GEKID (2013b). *Tabellen zum GEKID-Atlas. Krebsneuerkrankungen (Inzidenz), altersstandardisierte Rate [Europastandard](je 100.000 Einwohner)*. Zugriff am 23. Juni 2014 unter [http://www.ekr.med.uni-erlangen.de/GEKID/Atlas/CurrentVersion/Tabellen/Tabellen\\_D.php?Method=INCIDENCE\\_EU&ICD10=C00-C97&Year\\_from=2008&Year\\_to=2012&Men=on&Women=on&Rates=on&Cases=on](http://www.ekr.med.uni-erlangen.de/GEKID/Atlas/CurrentVersion/Tabellen/Tabellen_D.php?Method=INCIDENCE_EU&ICD10=C00-C97&Year_from=2008&Year_to=2012&Men=on&Women=on&Rates=on&Cases=on)
- GEKID (2013c). *Tabellen zum GEKID-Atlas. Neuerkrankungen (Inzidenz). C61 Prostata*. Zugriff am 23. Juni 2014 unter [http://www.ekr.med.uni-erlangen.de/GEKID/Atlas/CurrentVersion/Tabellen/Tabellen\\_D.php?Method=INCIDENCE\\_EU&ICD10=C61&Year\\_from=2003&Year\\_to=2012&Men=on&Cases=on](http://www.ekr.med.uni-erlangen.de/GEKID/Atlas/CurrentVersion/Tabellen/Tabellen_D.php?Method=INCIDENCE_EU&ICD10=C61&Year_from=2003&Year_to=2012&Men=on&Cases=on)
- GEKID (2013d). *Tabellen zum GEKID-Atlas. Sterblichkeit (Mortalität). C61 Prostata*. Zugriff am 23. Juni 2014 unter [http://www.ekr.med.uni-erlangen.de/GEKID/Atlas/CurrentVersion/Tabellen/Tabellen\\_D.php?Method=MORTALITY\\_EU&ICD10=C61&Year\\_from=2008&Year\\_to=2011&Men=on&Cases=on](http://www.ekr.med.uni-erlangen.de/GEKID/Atlas/CurrentVersion/Tabellen/Tabellen_D.php?Method=MORTALITY_EU&ICD10=C61&Year_from=2008&Year_to=2011&Men=on&Cases=on)
- GEKID (2013e). *Tabellen zum GEKID-Atlas. Krebssterblichkeit (Mortalität), altersstandardisierte Rate [Europastandard](je 100.000 Einwohner). C61 Prostata*. Zugriff am 24. Juni 2014 unter [http://www.ekr.med.uni-erlangen.de/GEKID/Atlas/CurrentVersion/Tabellen/Tabellen\\_D.php?Method=MORTALITY\\_EU&ICD10=C61&Year\\_from=1995&Year\\_to=2012&Men=on&Rates=on](http://www.ekr.med.uni-erlangen.de/GEKID/Atlas/CurrentVersion/Tabellen/Tabellen_D.php?Method=MORTALITY_EU&ICD10=C61&Year_from=1995&Year_to=2012&Men=on&Rates=on)
- Google.com/patents (2006, 13. September). *Therapeutic and diagnostic uses of TKTL1 and inhibitors and activators thereof*. Zugriff am 23. Juni 2014 unter <http://www.google.com/patents/EP1701165A1?cl=en&hl=de>
- Grimm, M., Hoefert, S., Luz, O., Reinert, S. & Polligkeit, J. (2013). Transketolase-like protein 1 expression in recurrent oral squamous cell carcinoma after curative resection: a case report. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology*, 116 (3): e173-178.
- Grimm, M., Schmitt, S., Teriete, P., Biegner, T., Stenzl, A., Hennenlotter, J. et al. (2013) A biomarker based detection and characterization of carcinomas exploiting two fundamental biophysical mechanisms in mammalian cells. *BioMed Central Cancer*, 13: 596.
- Hakenberg, O. (2010). Prostatakarzinom. In H. Schmelz, C. Sparwasser & W. Weidner (Hrsg.), *Facharztwissen Urologie* (2. Aufl., S.313-376). Heidelberg: Springer.
- Hanahan, D. & Weinberg, R. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144 (5), 646-674.
- Herwig, R., Pelzer, A., Horninger, W., Rehder, P., Klocker, H., Ramoner, R. et

- al. (2004). Measurement of intracellular versus extracellular prostate-specific antigen levels in peripheral macrophages: a new approach to noninvasive diagnosis of prostate cancer. *Clinical Prostate Cancer*, 3 (3), 184-188.
- Hofer, C., Laubenbacher, C., Block, T., Breul, J., Hartung, R. & Schwaiger, M. (1999). Fluorine-18-fluorodeoxyglucose positron emission tomography is useless for the detection of local recurrence after radical prostatectomy. *European Urology*, 36 (1), 31-35.
- Hofmann, H. (2013). *Neue Möglichkeiten in der onkologischen Diagnostik*. Vortrag vom 26. Februar 2013 in Tübingen.
- Hoffmann, R. (2011). Screening for Prostate Cancer. *New England Journal of Medicine*, 365 (21), 2013-2019.
- Horecker, B., Gibbs, M., Klenow, H. & Smyrniotis, P. (1954). The mechanism of pentose phosphate conversion to hexose monophosphate. I. With a liver enzyme preparation. *Journal of Biological Chemistry*, 207 (1), 393-403.
- IARC (2014, o.D.). *GLOBOCAN 2012: Estimated Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012. Prostate Cancer Estimated Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide in 2012*. Zugriff am 23. Juni 2014 unter [http://globocan.iarc.fr/Pages/fact\\_sheets\\_cancer.aspx](http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx)
- IGeL-Monitor (2013, 30. Juli). *PSA-Test zur Früherkennung von Prostatakrebs*. Zugriff am 24. Juni 2014 unter [http://www.igel-monitor.de/igel\\_A\\_Z.php?action=abstract&id=57](http://www.igel-monitor.de/igel_A_Z.php?action=abstract&id=57)
- Iida, A., Teshiba, S. & Mizobuchi, K. (1993). Identification and characterization of the tktB gene encoding a second transketolase in Escherichia coli K-12. *Journal of Bacteriology*, 175 (17), 5375-5383.
- Ilic, D., Neuberger, M., Djulbegovic, M. & Dahm, P. (2013). Screening for prostate cancer. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 1: CD004720.
- Jadvar, H. (2013). Imaging evaluation of prostate cancer with 18F-fluorodeoxyglucose PET/CT: utility and limitations. *European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 40 (1), 5-10.
- Jadvar, H., Desai, B., Ji, L., Conti, P., Dorff, T., Groshen, S. et al. (2012). Prospective evaluation of 18F-NaF and 18F-FDG PET/CT in detection of occult metastatic disease in biochemical recurrence of prostate cancer. *Clinical Nuclear Medicine*, 37, (7), 637-643.
- Jansen, N. & Coy, J. (2013). Diagnostic use of epitope detection in monocytes blood test for early detection of colon cancer metastasis. *Future Oncology*, 9 (4), 605-609.
- Japink, D., Leers, M., Sosef, M. & Nap, M. (2009). CEA in activated macrophages. New diagnostic possibilities for tumor markers in early colorectal cancer. *Anticancer Research*, 29 (8), 3245-3251.
- Japink D., Nap, M., Sosef, M., Nelemans, P., Coy, J., Beets, G. et al. (2014). Reproducibility studies for experimental epitope detection in macrophages (EDIM). *Journal of Immunological Methods*, 407, 40-47.
- Kathagen, A., Schulte, A., Balcke, G., Phillips, H., Martens, T., Matschke, J. et al. (2013). Hypoxia and oxygenation induce a metabolic switch between pentose phosphate pathway and glycolysis in glioma stem-like cells. *Acta Neuropathologica*, 126 (5), 763-780.



- Kattan, M., Cuzick, J., Fisher, G., Berney, D., Oliver, T., Foster, C. et al. (2008). Nomogram incorporating PSA level to predict cancer-specific survival for men with clinically localized prostate cancer managed without curative intent. *Cancer*, 112 (1), 69-74.
- Kayser, G., Siene, W., Kubitz, B., Mattern, D., Stickeler, E., Passlick, B. et al. (2011). Poor outcome in primary non-small cell lung cancers is predicted by transketolase TKTL1 expression. *Pathology*, 43 (7), 719-724.
- Keil, J. (2012). Urologie. In Thieme (Hrsg.), *AllEx. Band B* (S.596-658). Stuttgart: Thieme.
- Killburn, D., Lilly, M. & Webb, F. (1969). The energetics of mammalian cell growth. *Journal of Cell Science*, 4 (3), 645-654.
- Kohrenhagen, N., Voelker, H., Schmidt, M., Kapp, M., Krockenberger, M., Frambach, T. et al. (2008). Expression of transketolase-like 1 (TKTL1) and p-Akt correlates with the progression of cervical neoplasia. *Journal of Obstetrics and Gynecology Research*, 34 (3), 293-300.
- Königshoff, M. & Brandenburger, T. (2009). Biochemie. In Thieme (Hrsg.), *Prüfungswissen Physik* (S.439-602). Stuttgart: Thieme.
- Koolman, J. & Röhm, K.-J. (2009). *Taschenatlas Biochemie des Menschen* (4. Aufl.). Stuttgart: Thieme.
- Krockenberger, M., Engel, J., Schmidt, M., Kohrenhagen, N., Häusler, S., Dombrowski, Y. et al. (2010). Expression of transketolase-like 1 protein (TKTL1) in human endometrial cancer. *Anticancer Research*, 30 (5), 1653-1659.
- Kunkel, M., Reichert, T., Benz, P., Lehr, H., Jeong, J., Wieand, S. et al. (2003). Overexpression of Glut-1 and increased glucose metabolism in tumors are associated with poor patient prognosis in patients with oral squamous cell carcinoma. *Cancer*, 97 (4), 1015-1024.
- Langbein, S., Frederiks, W., zur Hausen, A., Popa, J., Lehmann, J., Weiss, C. et al. (2008). Metastasis is promoted by a bioenergetic switch: new targets for progressive renal cell cancer. *International Journal of Cancer*, 122 (11), 2422-2428.
- Langbein, S., Zerilli, M., zur Hausen, A., Staiger, W., Rensch-Boschert, K., Lukan, N. et al. (2006). Expression of transketolase TKTL1 predicts colon and urothelial cancer patient survival: Warburg effect reinterpreted. *British Journal of Cancer*, 94 (4), 578-585.
- Lange, C., Tische-Rottensteiner, J., Böhringer, D., Martin, G., Schwartzkopff, J. & Auw-Haedrich, C. (2012). Enhanced TKTL1 expression in malignant tumors of the ocular adnexa predicts clinical outcome. *Ophthalmology*, 119 (9), 1924-1929.
- Leers, M., Nap, M., Herwig, R., Delaere, K. & Nauwelaers, F. (2008). Circulating PSA-containing macrophages as a possible target for the detection of prostate cancer: a three-color/five-parameter flow cytometric study on peripheral blood samples. *American Journal of Clinical Pathology*, 129 (4), 649-656.
- Le Ker, H. (2012, 24. Juli). *Krankenhausreport 2012: Prostatakrebs-Kranke sind nach OP häufig impotent*. Zugriff am 25. Juni 2014 unter <http://www.spiegel.de/gesundheit/diagnose/prostatakrebs-aerzte-warnen-vor-impotenz-und-inkontinenz-durch-op-a-846103.html>

- Locasale, J. & Cantley, L. (2010). Altered metabolism in cancer. *BMC Biology*, 8: 88.
- Löffler, G. (2007a). Stoffwechsel von Phosphoglyceriden, Sphingolipiden und Cholesterin. In G. Löffler, P. Petrides & P. Heinrich (Hrsg.), *Biochemie & Pathobiochemie* (8.Aufl., S.553-584). Heidelberg: Springer.
- Löffler, G. (2007b). Stoffwechsel von Triglycerinen und Fettsäuren. In G. Löffler, P. Petrides & P. Heinrich (Hrsg.), *Biochemie & Pathobiochemie* (8.Aufl., S.397-426). Heidelberg: Springer.
- Löffler, G. (2007c). Stoffwechsel von Glucose und Glycogen. In G. Löffler, P. Petrides & P. Heinrich (Hrsg.), *Biochemie & Pathobiochemie* (8.Aufl., S.357-396). Heidelberg: Springer.
- Los, M., Neubüser, D., Coy, J., Mozoluk, M., Poustka, A & Schulze-Osthoff, K. (2000). Functional Characterization of DNase X, a Novel Endonuclease Expressed in Muscle Cells. *Biochemistry*, 39, 7365-7373.
- Maslova, A., Meshalkina, L. & Kochetov, G. (2012). Computer modelling of transketolase-like protein, TKTL1, a marker of certain tumor tissues. *Biochemistry (Moscow)*, 77 (3), 296-299.
- Mayer, A., von Wallbrunn, A., & Vaupel, P. (2011). Evidence against a major role for TKTL1 in hypoxic and normoxic cells. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 701, 123-128.
- Mayer, A., von Wallbrunn, A. & Vaupel (2010). Glucose metabolism of malignant cells is not regulated by transketolase-like (TKTL)-1. *International Journal of Oncology*, 37, 265-271.
- Medes, G., Thomas, A. & Weinhouse, S. (1953). Metabolism of neoplastic tissue. IV. A study of lipid synthesis in neoplastic tissue slices in vitro. *Cancer Research*, 13 (1), 27-29.
- Meshalkina, L., Dutsa, V., Koroleva, O., Solovjeva, O. & Kochetov, G. (2013). Is transketolase-like protein, TKTL1, transketolase? *Biochimica et Biophysica Acta*, 1832 (3), 387-390.
- Mitschke, L., Parthier, C., Schöder-Tittmann, K., Coy, J., Lüdke, S. & Tittmann, K. (2010). The crystal structure of human transketolase and new insights into its mode of action. *Journal of Biological Chemistry*, 285 (41), 31559-31570.
- Mohan Kumar, D., Yamaguchi, M., Miura, K., Lin, M., Los, M., Coy. et al. (2013). *PLOS Pathogens*, 9 (10):e1003666.
- Montag, D. & Lotze, M. (2006). Successful simultaneous measurement of cell membrane and cytokine induced phosphorylation pathways [CIPP] in human peripheral blood mononuclear cells. *Journal of Immunological Methods*, 313 (1-2), 48-60.
- Montenarh, M. (2007). Replikation und Gentechnik. In G. Löffler, P. Petrides & P. Heinrich (Hrsg.), *Biochemie & Pathobiochemie* (8.Aufl., S.219-254). Heidelberg: Springer.
- Montenarh, M. & Löffler, G. (2007). Nucleotide und Nucleinsäuren. In G. Löffler, P. Petrides & P. Heinrich (Hrsg.), *Biochemie & Pathobiochemie* (8.Aufl., S.141-172). Heidelberg: Springer.
- Mukae, N., Enari, M., Sakahira, H., Fukuda, Y., Inazawa, J., Toh, H. et al.

- (1998). Molecular cloning and characterization of human caspase-activated DNase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95 (16), 9123-9128.
- Oberleithner, H. (2010). Grundlagen der Zellphysiologie. In R. Schmidt, F. Lang & M. Heckmann (Hrsg.), *Physiologie des Menschen* (31. Aufl., S.3-23). Heidelberg: Springer.
- Parrish, J., Ciccodicola, A., Wehhert, M., Cox, G., Chen, E. & Nelson, D. (1995). A muscle-specific DNase I-like gene in human Xq28. *Human Molecular Genetics*, 4 (9), 1557-1564.
- Partin, A., Mangold, L., Lamm, D., Walsh, P., Epstein, J. & Pearson, J. (2001). Contemporary update of prostate cancer staging nomograms (Partin Tables) for the new millennium. *Urology*, 58 (6), 843-848.
- Pepe, P., Fragetta, F., Tornabene, F., Nicolosi, M. & Aragona, F. (2012). Solitary lung metastasis after radical prostatectomy in presence of undetectable PSA. *Archivio italiano di urologie, andrologie*, 84 (4), 208-210.
- prostatakrebsonline.de (o.D.). *Prostatakrebs*. Zugriff am 24. Juni 2014 unter <http://www.prostatakrebsonline.de/>
- Reese, A., Pierorazio, P., Han, M. & Partin A. (2012). Contemporary evaluation of the National Comprehensive Cancer Network prostate cancer risk classification system. *Urology*, 80 (5), 1075-1079.
- Richter, J., Rodriguez, M., Rioja, J., Penuelas, I., Marti-Climent, J., Garrastachu, P. et al. (2010). Dual tracer 11C-choline and FDG-PET in the diagnosis of prostate cancer relapse after radical treatment. *Molecular Imaging and Biology*, 12 (2), 210-217.
- Riganti, C., Gazzano, E., Polimeni, M., Aldieri, E. & Ghigo, D. (2012). The pentose phosphate pathway: an antioxidant defense and a crossroad in tumor cell fate. *Free Radical Biology and Medicine*, 53 (3), 421-436.
- RKI (2012). *Krebs in Deutschland 2007/2008* (8. Ausgabe). Berlin: ruksaldruck.
- RKI (2013). *Krebs in Deutschland 2009/2010* (9. Ausgabe). Berlin: ruksaldruck.
- Rotmann, A. & Coy, F. (2012). Die EDIM-Technologie: Ein Schlüssel zum nichtinvasiven Nachweis und zur Charakterisierung von Tumorerkrankungen. *GSAAM Mitgliedernewsletter Dezember 2012*, 10-14.
- Rotmann, A., Hofmann, H. & Coy, J. (2012). *Apo10 – a new biomarker for early detection of disorders of cell proliferation and solid tumours*. Abstract vom FIGO World Congress of Gynecology & Obstetrics 2012.
- Rotmann, A., Sanger, J., Grimm, M., Veldink, H., Feyen, O., Hofmann, H. et al. (2014). *A new diagnostic test for monitoring of breast cancer patients*. Poster vom 31. Deutschen Krebskongress 2014.
- Sandblom, G., Varenhorst, E., Rosell, J., Lofman, O. & Carlsson, P. (2011). Randomised prostate cancer screening trial: 20 year follow-up. *British Medical Journal*, 342, d1539.
- Schaaff-Gerstenschlager, I., Mannhaupt, G., Vetter, I., Zimmermann, F. & Feldmann, H. (1993). TKL2, a second transketolase gene of *Saccharomyces cerevisiae*. Cloning, sequence and deletion analysis of the gene. *European Journal of Biochemistry*, 217 (1), 487-492.
- Schenk, G., Duggleby, R. & Nixon. P. (1998). Properties and functions of the

- thiamine diphosphate dependent enzyme transketolase. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 30 (12), 1297-1318.
- Schmidt, M., Kammerer, U., Segerer, S., Cramer, A., Kohrenhagen, N., Dietl, J. et al. (2008). Glucose metabolism and angiogenesis in granulosa cell tumors of the ovary: activation of Akt, expression of M2PK, TKTL1 and VEGF. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 139 (1), 72-78.
- Schneider, S., Lüdke, S., Schröder-Tittmann, K., Wechsler, C., Meyer, D. & Tittmann, K. (2012). A  $\delta 38$  deletion variant of human transketolase as a model of transketolase-like protein 1 exhibits no enzymatic activity. *Public Library of Science One*, 7 (10): e48321.
- Schöder, H., Herrmann, K., Gönen, M., Hricak, H., Eberhard, S., Scardino, P. et al. (2005). 2-[ $^{18}\text{F}$ ]fluoro-2-deoxyglucose positron emission tomography for the detection of disease in patients with prostate-specific antigen relapse after radical prostatectomy. *Clinical Cancer Research*, 11 (13), 4761-4769.
- Schrader, M. & Miller, K. (2009). Nachsorge. In H. Rübber (Hrsg.), *Uroonkologie* (5. Aufl., S.601-606). Heidelberg: Springer.
- Schröder, F. (2014). Screening for prostate cancer: current status of ERSPC and screening-related issues. *Recent Results in Cancer Research*, 202, 47-51.
- Schröder, F. (2012). Landmarks in prostate cancer screening. *BJU International*, 110 Suppl 1 3-7.
- Schröder, F., Hugosson, J., Roobol, M., Tammela, T., Ciatto, S., Nelen, V. et al. (2009). Screening and prostate-cancer mortality in a randomized European study. *New England Journal of Medicine*, 360 (13), 1320-1328.
- Schultz, H., Kähler, D., Branscheid, D., Vollmer, E., Zabel, P. & Goldmann, T. (2008). TKTL1 is overexpressed in a large portion of non-small cell lung cancer specimens. *Diagnostic Pathology*, 3, 35.
- Schwaab, J., Horisberger, K., Ströbel, P., Bohn, B., Gencer, D., Kähler, G. et al. (2011). Expression of Transketolase like gene 1 (TKTL1) predicts disease-free survival in patients with locally advanced rectal cancer receiving neoadjuvant chemoradiotherapy. *BMC Cancer*, 11: 363.
- Serra, A. & Narbon, E. (2006). Diagnostic methodology for the biochemical recurrence of prostate cancer after radical prostatectomy. *Archivos Espanoles de Urologia*, 59 (10), 1041-1052.
- Shiokawa, D., Kobayashi, T. & Tanuma, S. (2002). Involvement of DNase gamma in apoptosis associated with myogenic differentiation of C2C12 cells. *Journal of Biological Chemistry*, 277 (34), 31031-31037.
- Shiokawa, D., Matsushita, T., Shika, Y., Shimizu, M., Maeda, M. & Tanuma, S. (2007). DNase X is a glycosylphosphatidylinositol-anchored membrane enzyme that provides a barrier to endocytosis-mediated transfer of a foreign gene. *Journal of Biological Chemistry*, 282 (23), 17132-17140.
- Shiokawa, D., Shika, Y., Saito, K., Yamazaki, K., & Tanuma, S. (2005). Physical and biochemical properties of mammalian DNase X proteins: non-AUG translation initiation of porcine and bovine mRNAs for DNase X. *Biochemical Journal*, 392 (Pt 3), 511-517.
- Shiokawa, D. & Tanuma, S. (2001). Characterization of human DNase I family

- endonucleases and activation of DNase gamma during apoptosis. *Biochemistry*, 40 (1), 143-152.
- Smith, I., Glazer, C., Mithani, S., Ochs, M., Sun, W., Bhan, S. et al. (2009). Coordinated activation of candidate proto-oncogenes and cancer testis antigens via promoter demethylation in head and neck cancer and lung cancer. *PLoS One*, 4 (3): e4961.
- Stenzl, A. (2013). *Prostatakarzinom & BPH*. Vortrag vom 2. Mai 2013 im Rahmen der „Hauptvorlesung Urologie“ an der Medizinischen Fakultät der Universität Tübingen.
- Tavarlin (Hrsg.) (2011a). *Neue diagnostische Möglichkeiten in der Onkologie durch die EDIM-Technologie*. Darmstadt: Eigenverlag.
- Tavarlin (Hrsg.) (2011b). *Neue diagnostische Möglichkeiten in der Urologie. Prostatakrebs zuverlässiger erkennen & überwachen*. Darmstadt: Eigenverlag.
- Todenhöfer, T., Hennenlotter, J., Keller, G., Stenzl, A. und Bedke, J. (2016, in Vorbereitung). *Effect of radical prostatectomy on levels of cancer related epitopes in circulating macrophages of patients with clinically localized prostate cancer*. o.V.
- Universitätsklinikum Tübingen (2014). *Bluttest zum frühzeitigen Krebs-Nachweis erfolgreich*. Pressemitteilung vom 31. Januar 2014 in Tübingen.
- Völker, H., Hagemann, C., Coy, J., Wittig, R., Sommer, S., Stojic, J. et al. (2008). Expression of transketolase-like 1 and activation of Akt in grade IV glioblastomas compared with grades II and III astrocytic gliomas. *American Journal of Clinical Pathology*, 130 (1), 50-57.
- Völker, H., Scheich, M., Schmausser, B., Kämmerer, U. & Eck, M. (2007). Overexpression of transketolase TKTL1 is associated with shorter survival in laryngeal squamous cell carcinomas. *European Archives of Oto-Rhino-Laryngology*, 264 (12), 1431-1436.
- Wanka, C., Steinbach, J. & Rieger, J. (2012). Tp53-induced glycolysis and apoptosis regulator (TIGAR) protects glioma cells from starvation-induced cell death by up-regulating respiration and improving cellular redox homeostasis. *Journal of Biological Chemistry*, 287 (40), 33436-33446.
- Walter de Gruyter (Hrsg.) (2011). *Pschyrembel. Klinisches Wörterbuch*. Berlin: Walter de Gruyter.
- Warburg, O. (1956). On the Origin of Cancer Cells. *Science*, 123 (3191), 309-314.
- Warburg, O., Posener, K. & Negelein, E. (1924). Über den Stoffwechsel der Carcinomzelle. *Biochemische Zeitschrift*, 152, 309-344.
- Weiß, H. (2011, 17. März). *Digital rektale Untersuchung (DRU)*. Zugriff am 24. Juni 2014 unter <http://www.prostata.de/dru.html>
- Weißbach, L. & Altwein, J. (2009). Aktive Überwachung oder aktive Therapie beim lokalen Prostatakarzinom?. *Deutsches Ärzteblatt international*, 106 (22), 371-376.
- Wilt, T., Brawer, M., Jones, K., Barry, M., Aronson, W., Fox. et al. (2012). Radical prostatectomy versus observation for localized prostate cancer. *New England Journal of Medicine*, 367 (3), 203-213.

- Wirth, M. & Fröhner, M., (2009). Therapie des lokal begrenzten Prostatakarzinoms. In H. Rübber (Hrsg.), *Uroonkologie* (5. Aufl., S.537-555). Heidelberg: Springer.
- Witte, F. (2014, 13. Juni). *Prostatakrebs-Therapie: Bestrahlen, operieren oder abwarten?*. Zugriff am 25. Juni 2014 unter <http://www.spiegel.de/gesundheit/diagnose/prostatakrebs-aerzte-schlagen-jedem-eine-individuelle-therapie-vor-a-974696.html#js-article-comments-box-pager>
- Wittig, R. & Coy, J. (2008). The Role of Glucose Metabolism and Glucose-Associated Signalling in Cancer. *Perspectives in Medicinal Chemistry*, 1, 64-82.
- Wu, H., Allie, N., Myer, L. & Govender, D. (2009). Anaplastic nephroblastomas express transketolase-like enzyme 1. *Journal of Clinical Pathology*, 62 (5), 460-463.
- Xu, X., Zur Hausen, A., Coy, J. & Löchelt, M. (2009). Transketolase-like protein 1 (TKTL1) is required for rapid cell growth and full viability of human tumor cells. *International Journal of Cancer*, 124 (6), 1330-1337.
- Zerilli, M., Amato, M., Marotran, A., Cabibi, D., Coy, J., Cappello, F et al. (2008). Increased expression of transketolase-like-1 in papillary thyroid carcinomas smaller than 1.5 cm in diameter is associated with lymph-node metastases. *Cancer*, 113 (5), 936-44.
- Zhang, S., Yang, J. & Cai, P. (2008). Effects of transketolase-like gene TKTL1 on occurrence and metastasis of nasopharyngeal carcinoma. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 88 (44), 3131-3134.
- Zhang, S., Yang, J., Guo, C. & Cai, P. (2007). Gene silencing of TKTL1 by RNAi inhibits cell proliferation in human hepatoma cells. *Cancer Letters*, 253 (1), 108-114.
- Zhang, S., Yue, J., Yang, J., Cai, P. & Kong, W. (2008). Overexpression of transketolase protein TKTL1 is associated with occurrence and progression in nasopharyngeal carcinoma: a potential therapeutic target in nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Biology & Therapy*, 7 (4), 517-522.
- Zhao, F., Mancuso A., Bui, T., Gruber, J., Swider, C., Sanchez, P. et al. (2010). Imatinib resistance associated with BCR-ABL upregulation is dependent on HIF-1alpha-induced metabolic reprogramming. *Oncogene*, 29 (20), 2962-2972.
- Zweig, M. & Campbell, G. (1993). Receiver-operating characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine. *Clinical Chemistry*, 39 (4), 561-577.

## **Erklärung zum Eigenanteil**

Die Arbeit wurde in der Klinik für Urologie unter Betreuung von Prof. Dr. med. Jens Bedke durchgeführt. Die Konzeption der Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit Herrn Dipl.-Biol. Jörg Hennenlotter.

Die Rekrutierung des Gesamtkollektivs erfolgte durch die Klinik für Urologie, die Rekrutierung des postoperativen Subkollektivs durch mich.

Die präoperative Probenasservation wurde von Stationsärzten der Klinik für Urologie durchgeführt, die postoperative durch mich in Begleitung eines Arztes der Klinik für Urologie.

Nach Einarbeitung durch Herrn Dipl.-Biol. Jörg Hennenlotter wurde die Aufbereitung der Proben für die PSA-Wert-Bestimmung von mir durchgeführt. Der PSA-Wert nach der immulite Methode wurde durch das Zentrallabor der Universitätsklinik Tübingen durchgeführt. Die Bestimmung der Blutparameter mittels der EDIM-Methode wurde durch das Labor BIOVIS in Limburg durchgeführt.

Die Erfassung und Pflege der Datenbank wurde von mir ausgeführt. Unterstützt wurde ich dabei von Herrn Udo Schubert und Frau Angelika Deja.

Die statistische Auswertung erfolgte eigenständig nach Anleitung durch Herrn Dipl.-Biol. Jörg Hennenlotter durch mich.

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

Tübingen, den 05.03. 2016

## Danksagungen

Zunächst möchte ich Herrn Prof. Dr. med. Arnulf Stenzl, dem ärztlichen Direktor der Universitätsklinik für Urologie Tübingen, dafür danken, dass er die vorliegende Dissertation über dieses ebenso interessante wie auch relevante Thema möglich gemacht hat.

Ebenso möchte ich Prof. Dr. med. Jens Bedke danken, der meine Arbeit betreut hat, bei aufgetretenen Herausforderungen hilfsbereit war und eine gute Koordination möglich gemacht hat.

Ganz herzlich möchte ich mich bei Herrn Dipl.-Biol. Jörg Hennenlotter bedanken. Ohne ihn wäre diese Dissertation so nicht möglich gewesen. Vielen Dank für jederzeit schnelle und konstruktive Ratschläge und Antworten.

Ein ebenso herzliches Dankeschön an das ganze Team des uroonkologischen Labors für allzeit freundliche Hilfestellungen bei aufgetretenen Fragen. Speziell möchte ich mich bedanken bei Ursula Kühs für die Hilfe in einer für mich sehr spannenden Situation bei der Datenerhebung und im Besonderen bei Udo Schubert wie auch Angelika Deja für die Unterstützung im Labor.

Des Weiteren spreche ich Herrn Dr. Johannes Coy und Herrn Dr. Heiko Hofmann für viele weiterführende Anmerkungen meinen Dank aus.

Mein größter Dank gilt jedoch den Menschen, die mich nicht nur fachlich und pädagogisch, sondern auch emotional und auf so viele weitere Arten seit über 28 Jahren unterstützen – meinen Eltern. Mama, Papa, ich liebe Euch und ich weiß, dass Euch dieser Dank erreicht, wo auch immer.

Auch meinen anderen Begleitern seit über 28 Jahren, meinen Geschwistern Antonia, Konstantin, Silvester und Moritz, möchte ich herzlich danken.

Ein sehr liebevoller Dank gilt auch meiner fantastischen Franzi für ihre Liebe und Unterstützung während dieser Promotion und im täglichen Leben seit mittlerweile 7 Jahren.



# Lebenslauf

## Angaben zur Person

Name: Gabriel Lennart Keller  
Geburtsdatum: 02.08.1987  
Geburtsort: Herrenberg  
Staatsangehörigkeit: deutsch

## Wissenschaftliche Tätigkeit

2013-2016      Literaturrecherche, klinische Untersuchung am Patienten, experimentelle Arbeit (uroonkologisches Labor der Universitätsklinik für Urologie Tübingen), Aktenrecherche (Archiv der Universitätsklinik Tübingen), Verfassen der Dissertationsschrift

2006            Literaturrecherche, halbstandardisierte, mündliche Befragungen, Verfassen der Bachelorarbeit mit dem Thema „Bodybuilding – Begriffsverständnis und Motive heute“

## Berufliche Tätigkeit

2015-2016      Praktisches Jahr (Diakonie Klinikum, Stuttgart)

2012-2015      Operationsassistentz (Winghofer Medicum, Rottenburg)

## Universitäre Bildung

2010-2016      Universität Tübingen  
Fach Medizin  
Abschluss: Staatsexamen

2006-2009      Universität Tübingen  
Fach Sportwissenschaft  
Studienschwerpunkt „Gesundheitsförderung“  
Abschluss: B.A.

## Schulische Bildung

1997-2006      Otto-Hahn-Gymnasium Nagold  
Abschluss: Abitur

1993-1997      Grundschule Mötzingen