

Aus der Universitätsklinik für Urologie Tübingen

**Stadienabhängige Expression von Insulinrezeptor beta
subunit und Proteinkinase B (AKT) beim Prostatakarzinom
vor dem Hintergrund Diabetes-assoziiierter
Stoffwechselalterationen**

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

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

**vorgelegt von
Luca Giuliano Ulrich**

2020

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professor Dr. Tilman Todenhöfer
2. Berichterstatter: Professor Dr. N. Steffen

Tag der Disputation: 13.10.2020

„DAS WICHTIGSTE IST, DASS MAN NICHT
AUFHÖRT ZU FRAGEN“

ALBERT EINSTEIN

INHALTSVERZEICHNIS

I	<u>EINLEITUNG</u>	1
I.1	DIE PROSTATA	1
I.1.1	FUNKTION	1
I.1.2	ANATOMIE	1
I.2	DAS PROSTATAKARZINOM	3
I.2.1	EPIDEMIOLOGIE	3
I.2.1.1	EPIDEMIOLOGIE DES PROSTATAKARZINOMS	3
I.2.1.2	DIE ROLLE DES PROSTATAKARZINOM FÜR DIE GESTIEGENEN KREBSINZIDENZZAHLEN	3
I.2.2	ÄTIOLOGIE	4
I.2.3	HORMONELLE EINFLUSSFAKTOREN	6
I.2.4	KLASSIFIKATION DES PROSTATAKARZINOMS	7
I.2.4.1	TNM-STADIENEINTEILUNG	7
I.2.4.2	HISTOPATHOLOGISCHE GRADEINTEILUNG	8
I.2.5	KLINISCHE PRÄSENTATION UND DIAGNOSTIK DES PROSTATAKARZINOMS	10
I.2.5.1	Screening und Früherkennung	11
I.2.5.2	Weiterführende Diagnostik	13
I.2.6	THERAPIE DES PROSTATAKARZIOMS	14
I.2.6.1	Lokal kurative Therapie des Prostatakarzinoms	14
I.2.6.2	Active Surveillance	15
I.2.6.3	Watchful Waiting	16
I.2.6.4	Palliative Therapie des fortgeschrittenen Prostatakarzinoms	16
I.2.6.4.1	Hormonentzugstherapie	16
I.2.6.4.2	Therapiemöglichkeiten des kastrationsresistenten Prostatakarzinoms	17
I.3	DIABETES MELLITUS	19
I.3.1	ASSOZIATION VON DIABETES MELLITUS TYP 2 UND MALIGNOMEN	20
I.3.1.1	Insulinsignalparameter mit Assoziation zur Onkogenese	21
I.3.2	DIABETES MELLITUS UND PROSTATAKARZINOME	22
I.4	DER INSULINREZEPTOR	25
I.4.1	INSULINREZEPTORGEN	25
I.4.2	AUFBAU UND ENTSTEHUNG DES INSULINREZEPTORS	25
I.4.3	INSULINSIGNALWEG ALS VERBINDUNG ZUM PROTEINKINASE B (AKT) SIGNALWEG	26
I.5	PROTEINKINASE B / AKT	27
I.6	FRAGESTELLUNG	32

II	<u>MATERIAL UND METHODEN</u>	34
II.1	ETHIK	34
II.2	DATENSCHUTZ	35
II.3	VERWENDETE SOFTWAREPROGRAMME	35
II.4	ERHEBUNG PATIENTENBEZOGENER DATEN	35
II.5	DIABETESSTATUSERHEBUNG	36
II.6	EIN- UND AUSSCHLUSSKRITERIEN DES PATIENTENKOLLEKTIVES	37
II.6.1	BENIGNES PROSTATAGEWEBE	37
II.6.2	MALIGNES GEWEBE AUS NICHT-METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN	38
II.6.3	MALIGNES GEWEBE AUS FORTGESCHRITTENEN, METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN	38
II.6.4	EINTEILUNG IN GEWEBEGRUPPEN	38
II.6.5	DEFINIERUNG VON SUBGRUPPEN AUS DEN GEWEBEGRUPPEN FÜR DIE STATISTISCHE AUSWERTUNG	39
II.7	DAS PATIENTENKOLLEKTIV	43
II.8	AUFARBEITUNG DER GEWEBEPROBEN	48
II.9	TISSUE MICROARRAY (TMA)	49
II.9.1	ERSTELLUNG DER TISSUE MICROARRAYS (TMA)	50
II.10	IMMUNHISTOCHEMISCHE FÄRBUNGEN	53
II.10.1	ALLGEMEINE INFORMATIONEN ZUR IMMUNHISTOCHEMIE	53
II.10.2	AVIDIN-BIOTIN-PEROXIDASE-KOMPLEX -METHODIK (ABC-METHODIK) BEI DER PROTEINKINASE B (AKT)- UND INSULIN-REZEPTOR β -SUBUNIT-FÄRBUNG	53
II.10.3	DURCHFÜHRUNG DER FÄRBUNGEN	54
II.11	AUSWERTUNG DES EXPRESSIONSVERHALTENS DER IMMUNHISTOCHEMISCHEN FÄRBUNGEN	57
II.11.1	ENTWICKLUNG EINES GEEIGNETEN SCORES FÜR DIE AUSWERTUNG DER FÄRBEINTENSITÄTEN	57
II.11.2	DURCHFÜHRUNG DER AUSWERTUNG	60
II.11.3	WEITERVERARBEITUNG DER AUSWERTUNGSERGEBNISSE IN DER DATENBANK	61
II.12	STATISTIK	61
III	<u>ERGEBNISSE</u>	63
III.1	EXPRESSIONSVERHALTEN DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT UND DER PROTEINKINASE B (AKT) IN DER IMMUNHISTOCHEMIE	63
III.1.1	EXPRESSION DER MARKER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT UND DER PROTEINKINASE B (AKT) IM GESAMTKOLLEKTIV	63
III.1.2	EXPRESSION IN NORMALGEWEBEN IM VERGLEICH ZU TUMORGEWEBEN	64
III.1.2.1	Expression der Proteinkinase B (AKT) in Normalgeweben im Vergleich zu Tumorgeweben	64
III.1.2.2	Expression der Insulinrezeptor β -subunit in Normalgeweben im Vergleich zu Tumorgeweben	66

III.1.3	EXPRESSION IN NORMALGEWEBEN IM VERGLEICH ZU NICHT-METASTASIERTEM TUMORGEWEBE UND ZU GEWEBE VON FORTGESCHRITTENEN, METASTASIIERTEN TUMOREN	67
III.1.3.1	Expression der Proteinkinase B (Akt) in Normalgeweben im Vergleich zu nicht-metastasiertem Tumorgewebe und zu Gewebe von fortgeschrittenen, metastasierten Tumoren	67
III.1.3.2	Expression der Insulinrezeptor β -subunit in Normalgeweben im Vergleich zu nicht-metastasiertem Tumorgewebe und zu Gewebe von fortgeschrittenen, metastasierten Tumoren	69
III.1.4	EXPRESSION IN GEWEBE AUS FORTGESCHRITTENEN, METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN VOR DEM HINTERGRUND EINER EINTEILUNG IN HORMONSENSITIVE UND HORMONREFRAKTÄRE PROSTATAKARZINOME	71
III.1.4.1	Expression der Proteinkinase B (Akt) in Gewebe aus hormonsensitiven, fortgeschrittenen, metastasierten Prostatakarzinomen im Vergleich zu der Expression in hormonrefraktären, fortgeschrittenen, metastasierten Prostatakarzinomen	71
III.1.4.2	Expression der Insulinrezeptor β -subunit in Gewebe aus hormonsensitiven, fortgeschrittenen, metastasierten Prostatakarzinomen im Vergleich zu der Expression in hormonrefraktären, fortgeschrittenen, metastasierten Prostatakarzinomen	73
III.1.5	EXPRESSION IN GEWEBE AUS TUMORFREIEN PROSTATEN IM VERGLEICH ZU AN NICHT-METASTASIIERTE PROSTATAKARZINOME ANGRENZENDES, BENIGNES PROSTATAGEWEBE UND ZU TUMORGEWEBEN	74
III.1.5.1	Expression der Proteinkinase B (Akt) in Gewebe aus tumorfreien Prostaten im Vergleich zu an nicht-metastasierte Prostatakarzinome angrenzendes, benignes Prostatagewebe und zu Tumorgeweben	74
III.1.5.2	Expression der Insulinrezeptor β -subunit in Gewebe aus tumorfreien Prostaten im Vergleich zu an nicht-metastasierte Prostatakarzinome angrenzendes, benignes Prostatagewebe und zu Tumorgeweben	77
III.1.6	EXPRESSION IN GEWEBE AUS TUMORFREIEN PROSTATEN IM VERGLEICH ZU NICHT-METASTASIIERTEM TUMORGEWEBE UND DARAN ANGRENZENDEM, BENIGNEM PROSTATAGEWEBE IN ABHÄNGIGKEIT DER ENTDIFFERENZIERUNG UND ZU GEWEBE AUS METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN	80
III.1.6.1	Expression der Proteinkinase B (Akt) in Gewebe aus tumorfreien Prostaten im Vergleich zu nicht-metastasiertem Tumorgewebe und daran angrenzendem, benignem Prostatagewebe in Abhängigkeit der Entdifferenzierung und zu Gewebe aus metastasierten Prostatakarzinomen	80
III.1.6.2	Expression der Insulinrezeptor β -subunit in Gewebe aus tumorfreien Prostaten im Vergleich zu nicht-metastasiertem Tumorgewebe und daran	

angrenzendem, benignem Prostatagewebe in Abhängigkeit der Entdifferenzierung und zu Gewebe aus metastasierten Prostatakarzinomen	83
III.2 INDIVIDUELLER ZUSAMMENHANG DER EXPRESSION DER PROTEINKINASE B (AKT) UND DER INSULINREZEPTOR β-SUBUNIT	86
III.3 EXPRESSIONSVERHALTEN DER INSULINREZEPTOR β-SUBUNIT UND DER PROTEINKINASE B (AKT) BEI DIABETIKERN UND NICHT-DIABETIKERN	88
III.3.1 INDIVIDUELLER ZUSAMMENHANG DER EXPRESSION DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT UND DER PROTEINKINASE B (AKT) BEI DIABETIKERN UND NICHT-DIABETIKERN	88
III.3.2 ABSOLUTE EXPRESSION DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT UND DER PROTEINKINASE B (AKT) BEI DIABETIKERN UND NICHT-DIABETIKERN IN ALLEN GEWEBE UNABHÄNGIG VON DER DIGNITÄT	89
III.4 EXPRESSIONSVERHALTEN DER INSULINREZEPTOR β-SUBUNIT UND DER PROTEINKINASE B (AKT) BEI DIABETIKERN UND NICHT-DIABETIKERN IN NORMALGEWEBEN UND TUMORGEWEBEN	90
IV. DISKUSSION	95
IV.1 WESEN DER ARBEIT UND SYNOPSIS	95
IV.2 ONKOLOGISCHE RELEVANZ DER PARAMETER PROTEINKINASE B (AKT) UND INSULINREZEPTOR β-SUBUNIT	96
IV.2.1 DIE PROTEINKINASE B (AKT) UND DIE INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT ALS PARAMETER FÜR DIE MALIGNITÄT DES PROSTATAKARZINOMS	96
IV.2.2 DIE PROTEINKINASE B (AKT) ALS PROGRESSIONSPARAMETER DES PROSTATAKARZINOMS	98
IV.2.2.1 Die Rolle der Proteinkinase B (Akt) für die Kastrationsresistenz von Prostatakarzinomen	100
IV.2.3 DIE INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT ALS PROGRESSIONSPARAMETER DES PROSTATAKARZINOMS	102
IV.3 IMPLIKATIONEN DIESER ERGEBNISSE FÜR DIE THERAPIE DES PROSTATAKARZINOMS	104
IV.4 DAS BIOLOGISCHE VERHALTEN VON AN PROSTATAKARZINOME ANGRENZENDEM PROSTATAGEWEBE	108
IV.5 DER INSULINSIGNALWEG ALS POTENZIELLE REGULATORISCHE KOMPONENTE DES ONKOLOGISCH RELEVANTEN PI3K/AKT-SIGNALWEGES	112
IV.5.1 DIE ZUSAMMENHÄNGE DER SIGNALWEGE DER PROTEINKINASE B (AKT) UND DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT	112
IV.5.2 FRÜHE UND SPÄTE AKTIVIERUNG DES PROTEINKINASE B (AKT) SIGNALWEGES	114
IV.6 DIABETES ALS MODULIERENDER FAKTOR DER STOFFWECHSELFUNKTIONEN DER PROTEINKINASE B (AKT) UND DER INSULINREZEPTOR β-SUBUNIT	115
IV.7 LIMITATIONEN DER VORLIEGENDEN ARBEIT	119
IV.7.1 PATIENTENKOLLEKTIV UND DATENERHEBUNG	119
IV.7.2 TMA-TECHNIK	119
IV.7.3 INTER- UND INTRAOBSERVER-VARIABILITÄT	120

VI.7.4 KOMPLEXITÄT DER SIGNALWEGE	120
VI.8 SCHLUSSFOLGERUNG	121
V. ZUSAMMENFASSUNG	122
VI. ANHANG	124
VI.1 ABKÜRZUNGEN	124
VI.2 ABBILDUNGEN UND TABELLEN	126
VI.3 LITERATURVERZEICHNIS	130
VI.4 ERKLÄRUNG ZUM EIGENANTEIL DER DISSERTATIONSSCHRIFT	140
VI.5 DANKSAGUNG	142
VI.5 LEBENSLAUF	144

I EINLEITUNG

I.1 DIE PROSTATA

I.1.1 FUNKTION

Die Prostata ist eine exokrine Drüse und sie produziert ein Sekret, welches bei einem pH-Wert von 6,4 schwach sauer ist. Das Sekret der Prostata bildet fast 30% des Ejakulates. Dieses Sekret enthält Proteasen, welche die Spermienmotilität beeinflussen und das Ejakulat verflüssigen. (Aumüller et al., 2017) Außerdem bildet die Prostata das prostataspezifische Antigen (PSA). Dabei handelt es sich um eine kallikreinähnliche Serinprotease, welche von den Epithelzellen der Prostata produziert wird. Da das prostataspezifische Antigen fast ausschließlich in diesen Epithelzellen der Prostata gebildet wird, ist es ein sehr organspezifischer Biomarker, der auch einen wichtigen Stellenwert in der Tumordiagnostik und besonders der Tumornachsorge eingenommen hat. (Rohde et al., 2006)

I.1.2 ANATOMIE

I.1.2.1 Lage

Die Prostata liegt extraperitoneal direkt angrenzend an die Harnblasenbasis. Dorsal liegt sie direkt dem Rektum an und ist daher etwa 4 cm oberhalb des Afters der Palpation bei der digital-rektalen Untersuchung zugänglich. Außerdem hat sie eine enge Lagebeziehung zum Beckenboden.

I.1.2.2 Aufbau

Umhüllt wird die Prostata von einer kräftigen fibromuskulären Kapsel (Aumüller et al., 2017). Aktuell wird zur Beschreibung des Aufbaus der Prostata weitestgehend die zonale Einteilung in fünf Zonen nach McNeal verwendet. McNeal begann im Jahr 1968 sein Modell über den anatomischen Aufbau der Prostata in vier Zonen zu präsentieren. 1978 wurde die Transitionszone als fünfte Zone zu diesem Modell hinzugefügt, da sich hier der Ursprung der benignen Prostatahyperplasie findet, was diese Zone klinisch relevant macht. (Selman, 2011)

Zur Einteilung dieser Zonen nach McNeal wurde die durch die Prostata ziehende Urethra als Referenzpunkt verwendet. (McNeal, 1981)

Nach diesem Modell wird die Prostata, wie in Abbildung 1 dargestellt, in eine periphere Zone, eine zentrale Zone, eine Periurethralzone, eine anteriore Zone und eine Transitionszone eingeteilt (Aumüller et al., 2017).

Die periphere Zone bildet mit etwa 70% des Drüsengewebes den größten Teil der Prostata (McNeal, 1981). Sie befindet sich dorsolateral und kaudal an der Prostata (Aumüller et al., 2017). In der peripheren Zone entstehen die meisten Karzinome der Prostata (McNeal, 1981), nämlich laut der Untersuchungen von McNeal und Kollegen 68% der Prostatakarzinome (McNeal et al., 1988). In der zentralen Zone, welche etwa 25% des Prostatadrüsengewebes beinhaltet, liegen die Ductus ejaculatorii sowie der Utriculus prostaticus. Die Periurethralzone ist ein dünner Saum aus urethraeigenen Drüsen. In der anterioren Zone findet sich kein Drüsengewebe. Diese schmale Zone liegt ventral an der Prostata. Die Transitionszone liegt im Bereich der proximalen Urethra zwischen der Periurethralzone und der peripheren Zone. (Aumüller et al., 2017)

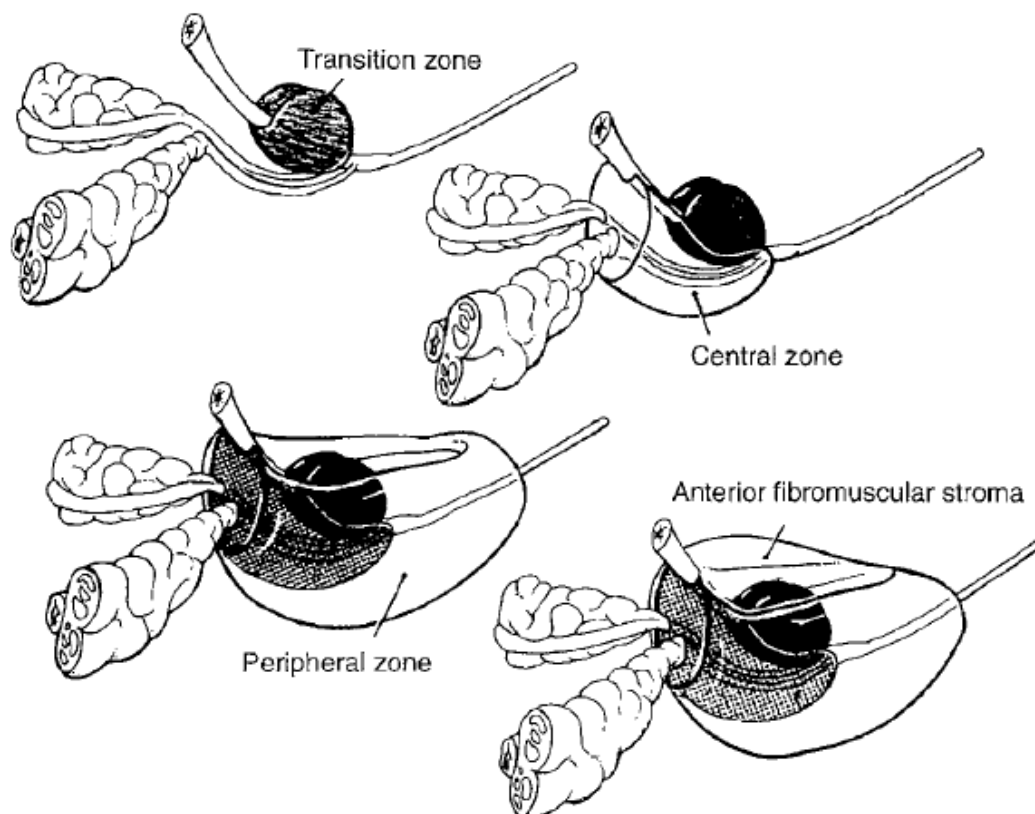


Abbildung 1: Die zonale Anatomie der Prostata nach dem Modell von McNeal (Hammerich et al., 2009)

I.2 DAS PROSTATAKARZINOM

I.2.1 EPIDEMIOLOGIE

I.2.1.1 EPIDEMIOLOGIE DES PROSTATAKARZINOMS

Laut dem Zentrum für Krebsregisterdaten des Robert Koch-Institutes und des statistischen Bundesamtes gab es in Deutschland im Jahr 2013 59.620 Prostatakarzinom-Neuerkrankungen sowie 13.408 Sterbefälle aufgrund dieser Krebserkrankung. Das mittlere Erkrankungsalter liegt bei 70,9 Jahren. Damit ist das Prostatakarzinom eine Krebserkrankung, die überwiegend in hohem Lebensalter auftritt. (Zentrum für Krebsregisterdaten im Robert Koch-Institut, 2016)

Die Wahrscheinlichkeit im Laufe des Lebens an einem Prostatakarzinom zu erkranken lag 2003 in den USA bei 16,7%. Autopsiestudien deuten jedoch auf eine deutlich höhere Rate histologisch nachweisbarer, jedoch klinisch inapparenter Prostatakarzinome hin. (Crawford, 2003)

Es gibt große regionale Unterschiede in der Erkrankungshäufigkeit, so tritt das Prostatakarzinom beispielsweise in Asien vergleichsweise selten auf (Zentrum für Krebsregisterdaten im Robert Koch-Institut, 2016). In den USA ist wie in Deutschland das Prostatakarzinom die häufigste maligne Erkrankung bei Männern (Crawford, 2003).

I.2.1.2 DIE ROLLE DES PROSTATAKARZINOMS FÜR DIE GESTIEGENEN KREBSINZIDENZZAHLEN

Die Zahl der Krebserkrankungen hat in Deutschland in den letzten Jahren deutlich zugenommen. Das Prostatakarzinom ist in Deutschland die häufigste Krebserkrankung des Mannes. Eine wichtige Rolle spielt hierbei die gestiegene Lebenserwartung und damit das demographische Altern. Bei Männern hat die Lebenserwartung im Vergleich zu Frauen deutlicher zugenommen. Die mittlere Lebenserwartung bei Geburt der Männer stieg seit 1986/88 bis 2012/14 um 6,4 Jahre, im Vergleich dazu erhöhte sich die mittlere Lebenserwartung der Frauen nur um 5 Jahre. (Zentrum für Krebsregisterdaten im Robert Koch-Institut, 2016) Da es sich beim Prostatakarzinom um eine Krebserkrankung des älteren Mannes handelt, spielt dies sicherlich auch eine Rolle beim Anstieg der Fallzahlen des Prostatakarzinoms und damit der Krebsinzidenzzahlen im Allgemeinen.

Jedoch auch altersstandardisierte Erkrankungsraten zeigen einen Anstieg der Krebserkrankungen seit 1970 bis etwa zur Jahrtausendwende. Dies spricht also für weitere Ursachen neben den demographischen Veränderungen. Hierzu zählen sicherlich Lebensstilveränderungen, die moderne Diagnostik sowie Früherkennungsmaßnahmen, die zu einer früheren Diagnose führen. Dies trifft vor allem auf langsam voranschreitende Erkrankungen des höheren Lebensalters zu, zu denen auch das Prostatakarzinom zählt. (Zentrum für Krebsregisterdaten im Robert Koch-Institut, 2016)

Beim Prostatakarzinom muss hier insbesondere die Einführung des PSA Screenings genannt werden. So kam es vor allem in den 1990er Jahren mit der weitverbreiteten Einführung des PSA Screenings zu einem deutlichen Anstieg der Prostatakarzinomdiagnosen, allerdings sind mittlerweile die Inzidenzzahlen wieder auf ein Niveau wie vor der Einführung des Screenings zurückgegangen. (Crawford, 2003)

I.2.2 ÄTIOLOGIE

Die European Association of Urology nennt in ihren Leitlinien das Alter als Hauptrisikofaktor für die Entstehung eines Prostatakarzinoms (Mottet et al., 2017). 2003 waren in den USA über 70% aller Patienten mit Prostatakarzinom beim Zeitpunkt ihrer Diagnosestellung älter als 65. Außerdem zeigt sich mit zunehmendem Alter ein exponentieller Anstieg der Wahrscheinlichkeit an einem Prostatakarzinom zu erkranken. So haben Männer, die jünger als 39 Jahre alt sind, eine 0,005%ige Wahrscheinlichkeit an einem Prostatakarzinom zu erkranken, Männer zwischen 40 und 59 Jahren bereits eine 2,2%ige Wahrscheinlichkeit und Männer zwischen 60 und 79 Jahren eine Erkrankungswahrscheinlichkeit von 13,7%. (Crawford, 2003) Zudem gibt es eine Assoziation von genetischen Faktoren mit der Entstehung eines Prostatakarzinoms. Diese These wird durch das familiäre Auftreten sowie dem Einfluss der ethnischen Zugehörigkeit auf die Erkrankungswahrscheinlichkeit verdeutlicht. So besteht z.B. bei Männern mit Zugehörigkeit zur afrikanischen Ethnie eine höhere Wahrscheinlichkeit an einem Prostatakarzinom zu erkranken. (Mottet et al., 2017)

Außerdem wurden zur Untersuchung der genetischen Konkordanz Zwillingsstudien durchgeführt bei denen monozygote und dizygote Zwillinge verglichen wurden. Hier zeigten Studien aus den nordischen Ländern und aus den USA alle eine hohe Konkordanzrate bei monozygoten Zwillingen. (Grönberg, 2003)

Dennoch sind nur etwa 9% der Prostatakarzinome tatsächlich als familiäre Erkrankung charakterisiert. Die Voraussetzungen hierzu sind 3 oder mehr betroffene Angehörige oder mindestens 2 Angehörige mit einem sog. Early-onset Prostatakarzinom, also einer Diagnose vor dem 55. Lebensjahr. Bis auf das durchschnittlich frühere Auftreten der Erkrankung (durchschnittlich 6 Jahre früher im Vergleich zum nicht-familiären Prostatakarzinom) gibt es bei einem familiären Prostatakarzinom keine Unterschiede im Krankheitsverlauf. (Mottet et al., 2017)

Der Einfluss unterschiedlicher exogener Umwelteinflussfaktoren wird angenommen, es gibt jedoch bisher keine besonderen Empfehlungen zu präventiven Maßnahmen oder diätetische Ansätze zur Verringerung des Risikos der Entwicklung eines Prostatakarzinoms. (Mottet et al., 2017)

So suggerieren unter anderem Studien an japanischen Männern, welche in die USA ausgewandert sind, dass Umweltfaktoren und Ernährung relevante Einflussfaktoren für Entwicklung eines Prostatakarzinoms darstellen. Diese haben üblicherweise ein niedrigeres Risiko für Prostatakarzinome. Nach dem Auswandern zeigt sich eine Anpassungsreaktion der Risikorate an US-Verhältnisse. Je früher die Immigration in die USA erfolgte, desto stärker passte sich das Risiko an. Besonders stark fettige, fleischhaltige Ernährung und Milchprodukte stehen im Verdacht, eine Rolle zur Risikoerhöhung zu spielen. Diese Produkte liefern verzweigt-kettige Fettsäuren, welche durch das Enzym alpha-methyl-coenzyme-M-reductase peroxisomal oxidiert werden. In Prostatakarzinomen zeigt sich eine höhere Aktivität dieses Enzyms als in normalem Prostatagewebe. Durch die Oxidation von Fettsäuren entsteht Wasserstoffperoxid, welches eine karzinogene Wirkung hat. Außerdem führt eine fettreiche Ernährung zu einem erhöhten Spiegel von Insulin-like growth factor 1, welcher die Proliferation und Differenzierung von Krebszellen reguliert und deren Apoptose verhindert. (Crawford, 2003)

Aktuellere Daten einer großen Metaanalyse zeigen jedoch wiederum keine Korrelation zwischen einer fleischreichen Ernährung und dem Risiko der Entwicklung eines Prostatakarzinoms. (Bylsma & Alexander, 2015)

Des Weiteren untersuchte eine prospektive Kohortenstudie an finnischen Zwillingen eine Verbindung zwischen dem durchschnittlichen wöchentlichen Alkoholkonsum und dem Prostatakarzinomerkrankungsrisiko. Diese Studie zeigte ein erhöhtes

Erkrankungsrisiko bei starkem Alkoholkonsum sowie bei kompletter Alkoholabstinenz. (Dickerman et al., 2016)

Es zeigte sich außerdem ein verringertes Risiko für die Entstehung eines Prostatakarzinoms bei einem moderaten Vitamin D Spiegel. Ein erniedrigter sowie erhöhter Vitamin D Spiegel führt zu einem erhöhten Risiko für Prostatakarzinome. (Kristal et al., 2014) Darüber hinaus ist ein erniedrigter Serumspiegel von Vitamin D mit fortgeschrittenen pathologischen Stadien assoziiert. (Nyame et al., 2016)

I.2.3 HORMONELLE EINFLUSSFAKTOREN

Androgene sind für ein normales Wachstum und die physiologische Funktion der Prostata wichtig. Vor allem Testosteron spielt auch bei der Entstehung des Prostatakarzinoms eine wichtige Rolle. Dies zeigt sich unter anderem daran, dass sich bei Eunuchen, also Männern, bei denen es vor der Pubertät zu einer Kastration kam, keine Prostatakarzinome entwickeln. Außerdem haben Männer, welche Testosteron zum Muskelaufbau oder aus therapeutischen Zwecken verwendet haben, eine höhere Inzidenz von Prostatakarzinomen. (Taplin & Ho, 2001)

90% des Testosterons wird in den Leydig-Zellen im Hoden produziert, während die übrigen 10% in der Nebenniere synthetisiert werden. In der Prostata liegt mit dem 5 α -Dihydrotestosteron vor allem die biologisch aktivere Form des Hormons vor, welche durch die 5 α -Reduktase aus Testosteron metabolisiert wird. Das 5 α -Dihydrotestosteron hat eine höhere Affinität zum Androgenrezeptor als Testosteron. Der daraus resultierende Androgen-Androgenrezeptor-Komplex kann im Zellkern die Transkription androgenregulierter Gene stimulieren. Ein Beispiel hierfür ist das prostataspezifische Antigen. (Wolff & Schmid, 2015)

1941 zeigte die Arbeit von Huggins et al., dass sich metastasierte Prostatakarzinome klinisch und biochemisch besserten, nachdem eine Androgendeprivation durchgeführt wurde (Huggins et al., 1941, Wolff & Schmid, 2015). Allerdings wurde vor allem in den letzten Jahren die darauf begründete Androgenhypothese durch Daten aus neuen Studien immer wieder hinterfragt und durch die Sättigungshypothese ersetzt. Es zeigte sich, dass Männer mit deutlich zu hohem Testosteron kein im gleichen Maße erhöhtes Risiko für ein Prostatakarzinom haben und ebenfalls, dass ein niedriger Testosteronspiegel nicht protektiv gegen ein Prostatakarzinom wirkt. (Wolff & Schmid, 2015) Bei Patienten, welche einen niedrigen Baseline-Testosteronspiegel haben,

werden bei einem erhöhten Testosteronwert mit einer höheren Wahrscheinlichkeit Prostatakarzinome diagnostiziert. Hingegen bei Männern mit einem normalen Baseline-Testosteronspiegel führt ein im Verhältnis gleichermaßen erhöhter Testosteronspiegel nicht zu einem noch deutlicher erhöhten Prostatakarzinomrisiko, obwohl sie absolut gesehen höhere Testosteronspiegel aufweisen. (Muller et al., 2012) Eine Erhöhung des Testosteronspiegels über ein Sättigungsniveau scheint also keinen Einfluss auf das maligne Wachstum eines Prostatakarzinoms zu haben. (Wolff & Schmid, 2015)

I.2.4 KLASSIFIKATION DES PROSTATAKARZINOMS

Eine gute und gründliche Einteilung des Prostatakarzinoms ist essentiell für eine Behandlungsempfehlung der jeweiligen, in der Klassifikation zusammengefassten Patienten. Außerdem ist eine weltweit einheitliche Klassifikation und hiermit die Einteilung in Patienten- bzw. Risikogruppen hilfreich zur Vergleichbarkeit klinischer Daten und der Entwicklung klinischer Studien. (Mottet et al., 2017)

I.2.4.1 TNM-STADIENEINTEILUNG

Mit Hilfe, der in der Onkologie weit verbreiteten TNM-Stadieneinteilung wird beschrieben, inwiefern sich das Karzinom lokal und systemisch ausgebreitet hat. Dies bezeichnet man als Staging. Dabei wird der Grad der lokalen Ausbreitung des Tumors (T, Tumor), das Ausmaß möglicherweise vorliegender befallener regionärer Lymphknoten (N, Nodus, Knoten) und Metastasen (M, Metastasen) wie in Tabelle 1 beschrieben beurteilt.

Dies gilt bei Prostatakarzinomen nur für Adenokarzinome und muss deshalb histopathologisch bestätigt werden. (Wittekind et al., 2014)

Tabelle 1: Tumour, Node, Metastasis (TNM) Klassifikation des Prostatakarzinoms (Gospodarowicz et al., 2017)

T – Primärtumor	
TX	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0	Kein Anhalt für Primärtumor
T1	Klinisch nicht erkennbarer Tumor, der nicht tastbar ist
	T1a Tumor zufälliger histologischer Befund in 5% oder weniger des resezierten Gewebes
	T1b Tumor zufälliger histologischer Befund in mehr als 5% des resezierten Gewebes
	T1c Tumor durch Nadelbiopsie diagnostiziert (beispielsweise wegen PSA-Erhöhung)
T2	Tumor auf die Prostata begrenzt und palpabel
	T2a Tumor infiltriert die Hälfte eines Lappens oder weniger
	T2b Tumor infiltriert mehr als die Hälfte eines Lappens, aber nicht beide Lappen
	T2c Tumor infiltriert beide Lappen
T3	Tumorausbreitung extrakapsulär
	T3a Extrakapsuläre Ausbreitung (ein-oder beidseitig) einschließlich des Blasenhalses
	T3b Tumor infiltriert Samenblase(n)
T4	Tumordinfiltriert benachbarte Strukturen neben den Samenblasen wie: Sphincter externus, Rektum, Levator-Muskulatur, Beckenwand
N - Regionäre Lymphknoten	
NX	Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden
N0	Kein Anhalt für regionäre Lymphknotenmetastasen
N1	Regionäre Lymphknotenmetastasen
M – Fernmetastasen	
M0	Kein Anhalt für Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen
	M1a Nicht regionärer Lymphknotenbefall
	M1b Knochenmetastasen
	M1c Andere Fernmetastasen

1.2.4.2 HISTOPATHOLOGISCHE GRADEINTEILUNG

Eine detaillierte, histologische Gradeinteilung ist wichtig für eine optimale Therapieentscheidung. Mit einem solchen Grading können niedrigmaligne von hochmalignen Prostatakarzinomen unterschieden werden. Es zeigen sich starke Zusammenhänge zwischen der histologischen Differenzierung der Drüsenzellen und

dem klinischen Verlauf. Schlecht differenzierte Prostatakarzinome zeigen einen schnell-progredienten Verlauf, während gut differenzierte Prostatakarzinome einen langsamen Progress aufzeigen. (Gleason, 1992)

Der amerikanische Pathologe Donald Gleason entwickelte den bis heute häufig angewandten Gleason Score.

Der Gleason Score entstand mit der Hilfe von Daten einer kontrollierten, randomisierten, retrospektiven Studie, welche von der Veterans Administration Cooperative Urological Research Group durchgeführt wurde. Es wurden wie in Abbildung 2 gezeigt neun histologische Muster von Prostatakarzinomen unterschieden. Diese neun Muster wurden mit den Überlebensdaten dieser Studie korreliert. Es zeigte sich, dass manche dieser Muster ähnliche Verläufe und Mortalitätsraten hatten und außerdem häufig zusammen auftraten. Daher wurden sie zu fünf Graden zusammengefasst und in der Reihenfolge ihrer Malignität von niedrigmaligne zu hochmaligne aufgelistet. Da jedoch viele Tumore mehr als einen dieser fünf Grade beinhalten und es sich zeigte, dass Patienten mit diesen Tumoren Mortalitätsraten zwischen den vorliegenden Graden hatten, musste ein Score entwickelt werden, der dieses Problem berücksichtigt. Beim Gleason Score werden daher der primär und sekundär vorliegende histologische Grad addiert. (Gleason, 1992)

Der Gleason Score wurde mehrfach modifiziert und überprüft, welche histologischen Muster wie in den Score einberechnet werden sollten. Vor wenigen Jahren geschah dies bei einer Konferenz im November 2014. (Epstein et al., 2016)



Abbildung 2: Ursprüngliche, schematische Darstellung der neun möglichen Drüsenkonfigurationen und der ihnen zugeordnete Gleason-Grad (Gleason, 1992)

I.2.5 KLINISCHE PRÄSENTATION UND DIAGNOSTIK DES PROSTATAKARZINOMS

Das Prostatakarzinom ist in seinen frühen Stadien meist symptomlos; auch in lokal fortgeschrittenen Stadien sind die Symptome nicht sehr spezifisch und können beispielsweise denen einer benignen Prostatahyperplasie ähneln.

Mögliche Symptome eines Prostatakarzinoms sind beispielsweise Miktionsbeschwerden, welche sowohl obstruktiver als auch irritativer Natur sein können und ein Anzeichen für eine mögliche Infiltration der Harnblase oder der Harnröhre widerspiegeln. Außerdem ist eine Hämatospermie oder ein verringertes Ejakulatvolumen durch Infiltration der Ductus ejaculatorii oder der Samenblasen

möglich sowie Impotenz bei Infiltration der neurovaskulären Bündel. (Schmelz et al., 2014)

Aufgrund von Knochenmetastasen kann es zu Knochenschmerzen oder Anämie und durch metastatischen Befall des pelvinen Lymphgewebes zu Lymphödemen der unteren Extremitäten kommen. Auch paraneoplastische Syndrome sind möglich, jedoch sehr selten. (Schmelz et al., 2014)

Die Diagnose eines Prostatakarzinoms darf nur bei Vorliegen einer positiven histologischen Untersuchung einer Stanzbiopsie oder eines Operationspräparates gestellt werden. (Schmelz et al., 2014)

I.2.5.1 SCREENING UND FRÜHERKENNUNG

Zu den Screeninguntersuchungen des Prostatakarzinoms zählen die digital rektale Untersuchung und die Bestimmung des PSA (Prostata spezifisches Antigen). Es werden durch Screeninguntersuchungen signifikant mehr Prostatakarzinome diagnostiziert, jedoch auch viele Prostatakarzinome gefunden, die nicht behandlungsbedürftig geworden wären. (Deutsche Krebsgesellschaft e.V., 2016) Bildgebende Verfahren, besonders das multiparametrische MRT der Prostata sind für die Früherkennung eines Prostatakarzinoms derzeitiger Gegenstand der Forschung und das multiparametrische MRT der Prostata wird bereits als eine Modalität mit guter Sensitivität für Prostatakarzinome mit Gleason-Score >7 in den aktuellen Leitlinien der European Association of Urology aufgeführt. (Mottet et al., 2017)

Durch die Einführung des PSA Screenings konnte erreicht werden, dass Prostatakarzinome in niedrigeren Stadien gefunden werden. (Crawford, 2003)

Insbesondere der wirtschaftliche Nutzen des PSA-Screenings ist jedoch weiterhin umstritten. Klar ist, dass das Screening beim teils langsam wachsenden Prostatakarzinom zu einer Überdiagnose führen kann, da der PSA-Test auch die Diagnosehäufigkeit von klinisch inapparenten Tumoren steigert, welche ansonsten nie zu Symptomen geführt hätten. Diese Annahme wird davon gestützt, dass die Inzidenzzahlen von niedriggradigen Prostatakarzinomen stark von der Menge der durchgeführten PSA-Screening-Untersuchungen abhängen. Die Inzidenzzahlen höhergradiger Prostatakarzinome bleiben davon weitestgehend unbeeinflusst. In den USA zeigte sich ein Rückgang der Neuerkrankungen von Prostatakarzinomen parallel zu einer verringerten Anzahl durchgeführter PSA-Screening-Untersuchungen vor

allem anhand von zwei Studien (Herget et al., 2016, Li et al., 2015), wodurch das Screening etwas kritischer hinterfragt wurde. (Zentrum für Krebsregisterdaten im Robert Koch-Institut, 2016)

Die Arbeit von Herget et al. aus dem Jahr 2016 zeigte, dass in den USA während der zurückgegangenen Zahlen an PSA-Screenings die Diagnosen der Prostatakarzinome zurückgingen. Im Zeitraum 2011-2012 war der deutlichste Rückgang festzustellen und zwar vor allem bei den niedriggradigen Tumoren und Prostatakarzinomen in frühen Stadien. Allerdings ging ebenfalls im geringeren Ausmaß die Zahl der Diagnosen von hochgradigen Prostatakarzinomen zurück. (Herget et al., 2016)

Aktuell soll Männern über 45 oder bei erhöhtem Risiko gegebenenfalls schon ab 40, die eine Lebenserwartung von mindestens 10 Jahren haben und die nach der Aufklärung über den möglichen Nutzen und Risiken wie z.B. einer Überdiagnose und Übertherapie weiterhin eine Früherkennungsmaßnahme wünschen, die Bestimmung des PSA-Wertes angeboten werden. Außerdem sollte eine zusätzliche digital rektale Untersuchung durchgeführt werden. (Deutsche Krebsgesellschaft e.V., 2016)

Durch die allein stehende Durchführung einer digital rektalen Untersuchung können nur 18% der Prostatakarzinome detektiert werden. (Richie et al., 1993)

Basierend auf einer digital rektalen Untersuchung können Karzinome erst ab einem Volumen von mehr als 0,2ml gefunden werden. Die mithilfe der digital rektalen Untersuchung gefundenen Prostatakarzinome werden daher häufig erst in lokal fortgeschrittenen Stadien (>50%) entdeckt. (Schmelz et al., 2014)

Das prostata-spezifische Antigen ist jedoch nicht tumorspezifisch und so finden sich neben dem Prostatakarzinom auch häufig bei einer Prostatitis, einer benignen Prostatahyperplasie oder auch nach mechanischer Manipulation ein erhöhter Serumspiegel. (Rohde et al., 2006)

Daher sollen erhöhte PSA-Werte kontrolliert und dabei auf diesen Wert möglicherweise einflussnehmende Faktoren geachtet werden. (Deutsche Krebsgesellschaft e.V., 2016)

Die Intervalle der empfohlenen Screeninguntersuchungen richten sich vor allem nach der Höhe der PSA-Werte des Patienten. Bei PSA-Werten <1ng/ml alle 4 Jahre, bei

PSA-Werten von 1-2ng/ml alle 2 Jahre und bei PSA-Werten >2ng/ml sind jährliche Kontrollen angemessen. (Schmelz et al., 2014)

Eine Prostatabiopsie im Rahmen der Früherkennung sollte empfohlen werden bei vorliegenden, kontrollierten PSA-Werten von ≥ 4 ng/ml bei der erstmaligen Screening-Untersuchung. Außerdem ist diese bei einem karzinomsuspekten Tastbefund bei der digital rektalen Untersuchung und bei einem karzinomverdächtigen Anstieg des PSA-Wertes anzuraten. (Deutsche Krebsgesellschaft e.V., 2016)

Da der PSA-Wertebereich von 4-10 ng/ml aufgrund der großen Prävalenz der benignen Prostatahyperplasie schwierig zu interpretieren ist, werden vor allem in diesem Bereich häufig weitere Parameter zur besseren Beurteilung herangezogen. Ein wichtiger Parameter ist in diesem Zusammenhang beispielsweise die PSA-Velocity. Hier wird der Anstieg des PSA-Wertes über einen Zeitraum von mindestens 3-18 Monaten beobachtet, ein Anstieg von $>0,75$ ng/ml pro Jahr im Bereich von 4-10 ng/ml ist hoch karzinomsuspekt. Ebenso geht eine PSA-Verdopplungszeit von weniger als 12 Monaten mit einem erhöhten Risiko für das Vorliegen eines Prostatakarzinoms einher. Außerdem kann die Bestimmung des Anteils an freiem PSA (fPSA) sinnvoll sein, da bei einem niedrigen Anteil an freiem PSA ($<20\%$) das Vorliegen eines Prostatakarzinoms wahrscheinlicher ist. (Schmelz et al., 2014)

I.2.5.2 WEITERFÜHRENDE DIAGNOSTIK

Bisher ist die einzige Möglichkeit die Diagnose eines Prostatakarzinoms stellen zu können ein positiver Befund in der histologischen Untersuchung nach einer Stanzbiopsie oder anhand von einem Operationspräparat (Schmelz et al., 2014). Allerdings werden bei Re-Biopsien, nach erstmaliger histopathologisch unauffälliger Stanzbiopsie bei jedoch weiterhin bestehendem Karzinomverdacht, in 20% der Fälle Prostatakarzinome gefunden und je häufiger Stanzbiopsien durchgeführt werden, desto mehr steigt die Karzinomdetektionsrate (Stenzl et al., 2009). Das macht deutlich, dass bei Vorliegen eines Prostatakarzinoms häufig in der Stanzbiopsie nur an das Karzinom angrenzendes Gewebe gewonnen werden kann, welches sich histopathologisch unauffällig darstellt.

Der transrektale Ultraschall (TRUS) ist als Vorsorgeuntersuchung ungeeignet, da Auffälligkeiten in der Echogenität in der Prostata nicht karzinomspezifisch sind. Allerdings spielt der TRUS bei der TRUS-gesteuerten Prostatastanzbiopsie eine große

Rolle in der Diagnostik des Prostatakarzinoms. Hierbei werden 10-12 Stanzzyylinder nach einem festen Schema entnommen und zusätzlich können tastsuspekte oder bei der TRUS auffällig wirkende Läsionen biopsiert werden. (Schmelz et al., 2014)

Zum Staging bei Verdacht auf das Vorliegen eines lokal fortgeschrittenen Prostatakarzinoms ist darüber hinaus eine Magnetresonanztomographie (MRT) und bei Verdacht auf eine pelvine Lymphknotenmetastasierung eine Computertomographie (CT) sinnvoll. (Schmelz et al., 2014)

Bei einem PSA-Wert von $>10\text{ng/ml}$ ist darüber hinaus zur Abklärung von Knochenmetastasen eine Skelettszintigraphie sinnvoll. (Schmelz et al., 2014)

I.2.6 THERAPIE DES PROSTATAKARZIOMS

Das Prostatakarzinom ist nur dann kurativ behandelbar, wenn es sich um einen Tumor im nicht-metastasierten Stadium handelt. Aufgrund des meist langsamen Verlaufs der Erkrankung profitieren vor allem Patienten, die eine Lebenserwartung von mindestens 10-15 Jahren haben, von einem kurativen Therapieansatz. (Deutsche Krebsgesellschaft e.V., 2016)

Daher gibt es neben der kurativen Therapie auch abwartende Therapieansätze, zu denen die active Surveillance und das watchful Waiting gehören.

I.2.6.1 LOKAL KURATIVE THERAPIE DES PROSTATAKARZINOMS

In der lokal kurativen Therapie des Prostatakarzinoms stehen sich die operative radikale Prostatektomie und die Strahlentherapie (perkutane Strahlentherapie und Brachytherapie) als gleichwertige Therapieansätze gegenüber. Daher sollen Patienten, bei denen eine kurative Therapie in Frage kommt, sowohl von einem Urologen als auch von einem Radioonkologen über die möglichen Therapieformen aufgeklärt werden. Aktuell ist die Datenlage ungenügend, um eine Priorisierung einer der Therapieformen aus evidenzbasierter Sicht möglich zu machen. (Deutsche Krebsgesellschaft e.V., 2016) Auch kombinierte Therapieverfahren aus Operation und Strahlentherapie sind möglich.

Ausschlaggebend für die Therapieentscheidung ist daher in erster Linie die Präferenz des Patienten nach einer leitliniengerechten Aufklärung. (Deutsche Krebsgesellschaft e.V., 2016) Hier spielen häufig die Nebenwirkungsprofile eine wichtige Rolle für die Entscheidung.

Es ist jedoch nicht nur schwierig den Nutzen der unterschiedlichen Therapieformen aufgrund fehlender Evidenz einzuschätzen sondern auch die Schäden, welche durch die jeweilige Therapie entstehen können (Wilt et al., 2008).

Die radikale Prostatektomie geht hierbei mit einem höheren Risiko für eine Harninkontinenz und eine erektile Dysfunktion einher. Eine perkutane Strahlentherapie führt häufiger zu Strikturen der Harnröhre bzw. Harnleiter und zu Darmproblematiken einschließlich Durchfällen, Stuhlinkontinenz und rektalen Blutungen. (Wilt et al., 2008)

Außerdem gibt es nach perkutaner Strahlentherapie ein signifikant höheres Risiko für Zweitmalignome. (Deutsche Krebsgesellschaft e.V., 2016) So haben z.B. Patienten nach perkutaner Bestrahlungstherapie ihres Prostatakarzinoms ein höheres Risiko für die Entstehung eines kolorektalen Karzinoms. (Baxter et al., 2005)

Bei der radikalen Prostatektomie werden operativ die komplette Prostata sowie die Samenbläschen und Teile der Ductus deferentes operativ entfernt. Diese Operation ist offen, laparoskopisch und roboterassistiert laparoskopisch durchführbar.

Bei der Brachytherapie werden radioaktive Seeds, welche eine kurze lokale Strahlungsreichweite haben, direkt in die Prostata möglichst nahe dem Tumor implantiert, um so eine noch gezieltere Bestrahlung des gewünschten Bereichs zu ermöglichen. Es gibt verschiedene Verfahren der Brachytherapie, nämlich die low dose rate Brachytherapie, welche bei niedrig Risiko Prostatakarzinomen eingesetzt wird und die high dose rate Brachytherapie, welche bei hoch Risiko Prostatakarzinomen eingesetzt wird. (Schmelz et al., 2014)

1.2.6.2 ACTIVE SURVEILLANCE

Bei dieser Form der Therapie wird ein zum Zeitpunkt der Diagnose klinisch inapparenter Tumor aktiv überwacht und eine kurative Therapie erst durchgeführt, wenn sich ein signifikanter Progress zeigt. Dies soll eine Übertherapie der Prostatakarzinome verhindern, welche eventuell bei dem jeweiligen Patienten nie klinisch relevant geworden wären. Dies wird nur bei Patienten empfohlen, bei welchen ein Prostatakarzinom mit einem niedrigen Risikoprofil diagnostiziert wurde (PSA <10ng/ml, Gleason-Score ≤ 6 , cT1 und cT2a, Tumor in ≤ 2 Stenzen bei leitliniengerechter Entnahme von 10-12 Stenzen, <50% Tumor pro Stanze). Außerdem sollte diese Form der Behandlung nur bei Patienten durchgeführt werden, die den ausdrücklichen Wunsch hierzu äußern. (Schmelz et al., 2014) Hier muss abgeschätzt

werden, ob das Risiko einer eventuell zu spät durchgeführten Behandlung im Vergleich zu den Nebenwirkungen und Folgen einer sofortigen Therapie vertretbar ist. (Deutsche Krebsgesellschaft e.V., 2016)

I.2.6.3 WATCHFUL WAITING

Das watchful Waiting ist eine Behandlungsstrategie, welche vor allem bei betagteren Patienten mit vielen Komorbiditäten oder bei Patienten mit einer reduzierten Lebenserwartung von <10 Jahren angewandt wird. Diese Therapie hat keine kurative Behandlungsintention, sondern stellt im weiteren Verlauf beim Auftreten von Symptomen eine an der klinischen Ausprägung orientierte palliative Therapie dar. (Deutsche Krebsgesellschaft e.V., 2016)

I.2.6.4 PALLIATIVE THERAPIE DES FORTGESCHRITTENEN PROSTATAKARZINOMS

I.2.6.4.1 HORMONENTZUGSTHERAPIE

Wie oben dargestellt (siehe Kapitel I.2.3 hormonelle Einflussfaktoren) haben Hormone und hier insbesondere die Androgene wie Testosteron einen wichtigen Einfluss auf das Wachstum der Prostata und die Entwicklung eines Prostatakarzinoms.

Bereits 1941 zeigten Untersuchungen von Huggins und Hodges (Huggins et al., 1941), dass der Entzug von Androgenen einen antiproliferativen Effekt auf Prostatakarzinomzellen hatte. Die meisten Prostatakarzinome sprechen auf eine Hormonentzugstherapie an, leider verlieren die meisten Prostatakarzinome jedoch nach einiger Zeit ihre Hormonabhängigkeit, was zu einer Kastrationsresistenz führt. (Miyamoto et al., 2004)

Eine Hormonentzugstherapie kann unter verschiedenen Voraussetzungen indiziert sein. Sie kann eine Rolle spielen als neoadjuvante- oder adjuvante-Therapie, als primäre hormonablative Therapie unter watchful-Waiting, als hormonablative Therapie bei PSA-Rezidiv oder PSA-Progression (nach stattgehabter Operation oder Bestrahlung) oder als Therapie des hormonsensitiven, metastasierten Prostatakarzinoms. (Deutsche Krebsgesellschaft e.V., 2016)

Eine Möglichkeit zur Herstellung eines Kastrationsniveaus (Serumtestosteronspiegel <5 ng/ml) ist eine heutzutage obsoleete bilaterale Orchiektomie, also eine operative Kastration. (Schmelz et al., 2014)

Ein früher angewendeter medikamentöser Ansatz mittels Östrogenen, insbesondere Diethylstilbestrol zur Senkung des Serumtestosteronspiegels, wurde aufgrund der Nebenwirkungen, vor allem der erhöhten kardiovaskulären Morbiditäts- und Mortalitätsrisiken, schnell kontrovers diskutiert. (Miyamoto et al., 2004)

Heutzutage wird eine antiandrogene Therapie hauptsächlich mittels Gonadotropin-releasing-Hormon-Agonisten (GnRH-Agonisten) und -Antagonisten (GnRH-Antagonisten) durchgeführt. Dabei können die GnRH-Agonisten initial durch eine Aktivierung des hypophysären Luteinisierungshormon-Releasing-Hormonrezeptor (LHRH-Rezeptors) zu einem Anstieg des Luteinisierendes Hormons (LH), des Follikelstimulierendes Hormons (FSH) und von Testosteron führen, was als Flare-up-Phänomen bezeichnet wird. Durch die andauernde Stimulation der GnRH-Rezeptoren kommt es jedoch zu einer Down-Regulation derselben, was dazu führt, dass nach 2-4 Wochen ein Kastrationsniveau des Serumtestosterons erreicht wird. Die GnRH-Antagonisten hingegen blockieren auf direktem Weg die hypophysären GnRH-Rezeptoren, was ein schnelleres Absinken des Serumtestosteronspiegels zur Folge hat. Eine weitere eingesetzte Gruppe an Medikamenten für die Hormonentzugstherapie sind die Antiandrogene, welche an allen peripheren Androgenrezeptoren eine kompetitive Rezeptorhemmung bewirken. Hierbei werden steroidale- von nicht-steroidalen Antiandrogenen unterschieden. Die Hormonentzugstherapie hat jedoch auch einige potentielle Nebenwirkungen insbesondere Libido- und Potenzverlust, Osteoporose, Hitzewallungen und Gynäkomastie. (Schmelz et al., 2014)

Kommt es unter Hormonentzugstherapie trotz einem Serumtestosteronspiegel auf Kastrationsniveau zu einem PSA-Anstieg, kennzeichnet dies den Übergang in ein kastrationsresistentes Stadium des Prostatakarzinoms. (Schmelz et al., 2014)

1.2.6.4.2 THERAPIEMÖGLICHKEITEN DES KASTRATIONSRESISTENTEN PROSTATAKARZINOMS

Ein kastrationsresistentes Prostatakarzinom ist nicht heilbar, es gibt jedoch verschiedene palliative Behandlungsmöglichkeiten. Zur Behandlung lokaler, symptomatischer Läsionen kommen operative Therapien oder Bestrahlungen in Frage. Insbesondere bei Knochenmetastasen spielt die Strahlentherapie eine wichtige Rolle. Außerdem gibt es verschiedene systemische Behandlungsansätze zur Therapie des kastrationsresistenten Prostatakarzinoms, hierzu zählen Chemo-, Immun-,

Radionuklid- und die antihormonelle Therapie. Außerdem können Substanzen in der Therapie eine Rolle spielen, die den Knochenmetabolismus direkt beeinflussen. (Deutsche Krebsgesellschaft e.V., 2016)

Da die Therapie des kastrationsresistenten Prostatakarzinoms jedoch weiterhin eine große Herausforderung darstellt, wird aktuell mit großem Nachdruck nach neuen Therapieansätzen gesucht.

Insbesondere die zielgerichteten Targeted-Therapien sind hierbei ein wichtiges Forschungsgebiet.

So gibt es beispielweise mit Enzalutamide einen oralen Inhibitor des Androgenrezeptor, denn es zeigte sich, dass in bis zu 80% der kastrationsresistenten Prostatakarzinome eine erhöhte Genkopiezahl des Androgenrezeptor aufzufinden ist. Obwohl Enzalutamide das Gesamtüberleben und das progressionsfreie Überleben bei Patienten mit kastrationsresistenten Prostatakarzinomen verbessert hat, wären weitere Fortschritte und insbesondere ein besseres Verständnis über die Mechanismen der Resistenz erstrebenswert. (Sternberg, 2019)

Aktuell sind auch weitere Formen der Behandlung des kastrationsresistenten Prostatakarzinoms in der Erforschung, wie beispielsweise Pembrolizumab als humanisierter monoklonaler Antikörper, welcher seine Wirkung als Programmed cell death protein 1-Inhibitor (PD-1-Inhibitor) und damit als Immun-Checkpoint-Inhibitor ausübt und ermutigende Ergebnisse bezogen auf das Gesamtüberleben bei kastrationsresistenten Prostatakarzinomen zeigt und das insbesondere bei Patienten die einen Progress unter Behandlung mit Enzalutamide aufwiesen. (Graff et al., 2016)

Da auch der PI3K/Akt-Signalweg einen Anteil für den Übergang des Prostatakarzinoms in seine kastrationsresistente Form zu haben scheint (Graff 2002; Bonaccorsi et al. 2004; Merseburger, Hennenlotter, et al. 2006) sind auch Bestandteile durchaus interessante potenzielle Therapieziele für die Behandlung des kastrationsresistenten Prostatakarzinoms.

I.3 DIABETES MELLITUS

Es gibt verschiedene Formen des Diabetes mellitus, bei denen entweder die Insulinwirkung, die Insulinsekretion oder eine Kombination daraus eingeschränkt ist, woraus eine chronische Erhöhung des Blutzuckerspiegels resultiert. (Herold, 2018)

Diabetes mellitus ist eine hochrelevante Erkrankung, an welcher 2013 nach Schätzungen 382 Millionen Menschen weltweit erkrankt waren und Schätzungen zufolge werden bis 2035 etwa 529 Millionen erkrankt sein. Dieser Anstieg wird stark getrieben durch die zunehmende Prävalenz an Fettleibigkeit ebenso wie durch ungesunde Lebensweisen. Die häufigsten Formen von Diabetes sind Diabetes mellitus Typ 1 und Typ 2, wovon Typ 2 mit 85% die weitaus häufigere Form ist. (Forouhi & Wareham, 2014)

In den letzten drei Jahrzehnten hat sich die Zahl der Erwachsenen, die an Diabetes erkrankt sind, mehr als verdoppelt. (Danaei et al., 2011)

Beim Diabetes mellitus Typ 1 kommt es, meist autoimmunbedingt, zu einer Zerstörung der β -Zellen der Langerhans'schen Inseln des Pankreas, was zu einem absoluten Insulinmangel führt. Diabetes mellitus Typ 1 tritt vorzugsweise zwischen dem 12. und 24. Lebensjahr auf. Selten gibt es auch idiopathische Formen des Diabetes mellitus Typ 1. In der Ätiologie des Diabetes mellitus Typ 2 spielen mehrere Faktoren eine Rolle. Hierzu zählen vor allem eine Insulinresistenz, eine fortschreitende Apoptose der β -Zellen des Pankreas und Störungen der Sekretion der β -Zellen und der α -Zellen des Pankreas. Hier zeigt sich eine Störung der postprandialen Insulinsekretion, was zu einer Hyperglykämie führt und eine trotz der Hyperglykämie konstant erhöhte Glukagonfreisetzung, was die Hyperglykämie verstärkt. Diabetes mellitus Typ 2 tritt überwiegend bei Menschen über 40 Jahren auf. (Herold, 2018)

Sowohl beim Diabetes mellitus Typ 1 als auch beim Typ 2 gibt es deutliche geographische Unterschiede in der Prävalenz. Beim Typ 1 Diabetes reichen die Inzidenzraten von 0,1 pro 100.000 pro Jahr in China und Teilen Venezuelas bis zu 40,9 pro 100.000 pro Jahr in Finnland. Auch beim Typ 2 Diabetes gibt es geographische Unterschiede, allerdings ist hier das Verteilungsmuster anders. Beim Diabetes mellitus Typ 2 zeigt es sich, dass Populationen mit der höchsten Prävalenz an Übergewicht auch die höchsten Prävalenzen von Diabetes Typ 2 haben. Ländliche Gegenden in Entwicklungsländern haben die niedrigste Prävalenz von Diabetes

mellitus Typ 2. Menschen, die aus niedrig-Prävalenzgebieten in Länder mit westlichen Lebensstandards auswandern haben ein, im Verhältnis zu ihrem Herkunftsland, erhöhtes Risiko, an Diabetes mellitus Typ 2 zu erkranken. (Forouhi & Wareham, 2014)

Diabetes mellitus Typ 1 und Typ 2 können beide durch mikrovaskuläre und makrovaskuläre Gefäßveränderungen zu kardiovaskulären Erkrankungen, Schlaganfällen, peripheren Durchblutungsstörungen, Retinopathien, Nephropathien und Neuropathien führen. (Forouhi & Wareham, 2014)

I.3.1 ASSOZIATION VON DIABETES MELLITUS TYP 2 UND MALIGNOMEN

Auch wenn die pathophysiologischen Hintergründe, welche Diabetes und Malignome miteinander verbinden bisher nicht ausreichend verstanden sind, so zeigen dennoch epidemiologische Daten eine signifikant höhere Wahrscheinlichkeit, dass Diabetiker, auch an bestimmten Neoplasien erkranken. Dies zeigt sich vorzugsweise bei Diabetes mellitus Typ 2. Diese Assoziation ist aktuell noch schwer greifbar, da beide Erkrankungen sehr komplex sind und es multiple Subtypen der Erkrankungen gibt. Außerdem teilen sich Diabetes mellitus und einige Krebsformen viele gemeinsame Risikofaktoren. Die höchste durch Diabetes mellitus verursachte relative Risikoerhöhung findet man bei Malignomen der Leber, des Pankreas und des Endometriums (etwa 2-fache oder höhere Risikoerhöhung) gefolgt von Malignomen des Kolons/Rektums, der Brust und der Harnblase (etwa 1,2-fache bis 1,5-fache Risikoerhöhung). Es gibt jedoch auch Neoplasien wie z.B. Malignome der Lunge, bei denen Diabetes zu keiner Risikoerhöhung zu führen scheint. Interessanterweise stellen hier Malignome der Prostata eine Ausnahme dar. Diabetiker scheinen nämlich ein erniedrigtes Risiko zu haben, an einem Malignom der Prostata zu erkranken. Ein für Diabetes typischer erniedrigter Testosteronspiegel könnte hierbei eine Rolle spielen. (Giovannucci et al., 2010)

Eine Rolle für diese Risikoerhöhung für Malignome bei Diabetes können sowohl die Hyperglykämie als auch die Hyperinsulinämie (durch Überproduktion bei Insulinresistenz bei Diabetes mellitus Typ 2 oder Insulintherapie bei Diabetes mellitus Typ 1) spielen. Insulin wirkt nämlich neben seiner Funktion als metabolisches Hormon auch stimulierend auf die Zellproliferation als Wachstumshormon. Hyperglykämie liefert außerdem ausreichend Energie für die maligne Zellproliferation, wodurch ein Tumorwachstum begünstigt werden kann. Außerdem kann auch die mit Diabetes

assoziierte Fettleibigkeit eine Rolle bei der Entstehung von Neoplasien spielen, etwa durch die damit einhergehenden erhöhten peripheren Östrogenkonzentrationen, erhöhten promotogenen Zytokinkonzentrationen und höheren Wachstumshormonkonzentrationen. Auch zahlreiche bei Diabetes mellitus eingesetzte Medikamente könnten zum erhöhten Risiko für Malignome beitragen. (Sciacca et al., 2013) Den Einfluss, den die Diabetesmedikation auf die Entstehung von Malignomen hat, wird überwiegend durch Veränderungen des Insulinspiegels hervorgerufen. So ergibt sich durch die Insulintherapie und die Therapie mit Sulfonylharnstoffen, welche zu einer Steigerung der Insulinsekretion führen, aufgrund der daraus resultierenden Hyperinsulinämie ein erhöhtes Malignomrisiko. Insulinsensibilisatoren und hier insbesondere das zur Klasse der Bigunaide gehörende Metformin, welche die Menge an zirkulierendem Insulin reduzieren, senken wiederum erwiesenermaßen das Malignomrisiko bei Patienten mit Diabetes. (Vigneri et al., 2009)

I.3.1.1 INSULINSIGNALPARAMETER MIT ASSOZIATION ZUR ONKOGENESE

Die meisten Krebszellen exprimieren an ihren Zelloberflächen Insulinrezeptoren und Insulin-like growth Faktor Rezeptoren. Diese bilden ein komplexes Netzwerk aus Zelloberflächenrezeptoren, welche alle für die Wirkung von Insulin und Insulin-like growth Faktor verantwortlich sind. Neben metabolischen Effekten können diese Rezeptoren auch einen stimulierenden Effekt auf die Mitogenese ausüben. Hier spielen der Insulin-like growth Faktor Rezeptor-I (IGF-I-Rezeptor) und die Isoform A des Insulinrezeptors die größte Rolle. Der größte Teil der beschleunigten Glukoseaufnahme in Krebszellen ist unabhängig von der Insulinwirkung, daher kann angenommen werden, dass der größte Effekt der Insulinrezeptoren auf Malignome durch die Stimulation der Mitogenese und die Verhinderung der Apoptose entsteht. Insulin und Insulin-like growth Faktor können jedoch auch normale Zellen in der Umgebung von Krebszellen beeinflussen und durch ihre Wirkung die Progression des Malignoms begünstigen. So kann beispielsweise bei Hyperglykämie der IGF-I-Rezeptor zu einer abnormen Angiogenese führen, welche typisch für viele Krebsarten ist. Außerdem kann eine Hyperinsulinämie auch neben der direkten Wirkung von Insulin, eine stimulierende Wirkung auf den IGF-I-Rezeptor haben, denn Insulin hemmt die hepatische Produktion des Insulin-like growth Faktor binding Proteins. Daher ist als Folge mehr freier, bioaktiver Insulin-like growth Faktor vorhanden, welcher über seine Wirkung am IGF-I-Rezeptor stärker mitogen und antiapoptitisch wirkt als das Insulin selbst. (Giovannucci et al., 2010)

Neben dem erhöhten Risiko für das Entstehen eines Malignoms haben Patienten mit Diabetes auch eine erhöhte Mortalität bei Malignomen. Diabetiker erkranken also nicht nur häufiger an einem Malignom, sondern haben auch eine kürzere durchschnittliche Überlebenszeit bei Vorliegen eines Malignoms. (Sciacca et al., 2013)

I.3.2 DIABETES MELLITUS UND PROSTATAKARZINOME

Wie im vorangegangenen Kapitel erwähnt, hat das Prostatakarzinom in Verbindung mit Diabetes mellitus eine Sonderstellung, da es das einzige bekannte Malignom ist, welches bei Patienten mit Diabetes mellitus seltener auftritt. Hierbei könnte der für Diabetes mellitus typischerweise erniedrigte Testosteronspiegel eine Rolle spielen. (Giovannucci et al., 2010, Sciacca et al., 2013, Xu et al., 2014)

Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 haben durchschnittlich einen um etwa 3nmol/L und damit signifikant niedrigeren Testosteronspiegel als Patienten ohne Diabetes. (Corona et al., 2011)

Eine 2012 veröffentlichte Metaanalyse von Zhang et al. zeigte in den USA ein um 21,1% erniedrigtes Risiko von Diabetikern, an einem Prostatakarzinom zu erkranken. Eine Subgruppenanalyse zeigte, dass erst Patienten mit Diabetes mellitus seit über 5 Jahren ein signifikant erniedrigtes Risiko haben, an einem Prostatakarzinom zu erkranken. (Zhang et al., 2012)

Diabetiker haben mit voranschreitender Zeit nach Diagnosestellung einen immer weiter signifikant absinkenden Spiegel des C-Peptides. Das C-Peptid ist initial meist noch erhöht im Vergleich zu nicht-Diabetikern und es ist ein Marker für die Insulinsekretion, da für jedes entstehende Insulinmolekül ein C-Peptid von dem Proinsulinmolekül abgespalten wird. Diese über die Zeit erniedrigten Insulinspiegel könnten eine Rolle für das erniedrigte Risiko eines Prostatakarzinoms bei Diabetikern spielen, denn es zeigt sich, dass vor allem Patienten, die bereits lange Diabetes haben und deren Insulinspiegel insofern schon deutlicher abgesunken sind, ein am stärksten erniedrigtes Risiko haben, an einem Prostatakarzinom zu erkranken. Dieses Modell konnte jedoch bisher nicht ausreichend belegt werden. Testosteronspiegel fallen früh nach der Diagnose eines Diabetes mellitus ab, steigen jedoch mit der Zeit bei vorliegendem Diabetes wieder an auf sogar leicht erhöhte Testosteronspiegel. Das sex-hormone binding Globulin hat jedoch noch deutlicher steigende Spiegel bei Vorliegen eines Diabetes mellitus, daher haben diese Patienten mit zunehmender Zeit

ein sinkendes Verhältnis von Testosteron zum sex-hormone binding Globulin, sodass eine Abnahme des freien, bioverfügbaren Testosterons angenommen werden kann. Daher liegt die Hypothese begründet, dass diese Abnahme an bioverfügbarem Testosteron mitverantwortlich für das erniedrigte Prostatakarzinomrisiko bei Diabetikern sein könnte. (Kasper et al., 2008)

Es besteht jedoch weiterhin eine große Unsicherheit, inwiefern die metabolischen Faktoren und die Spiegel der Sexualhormone tatsächlich eine Rolle für das Risiko von Diabetikern, an einem Prostatakarzinom zu erkranken, spielen. Denn es wurde auch gezeigt, dass Diabetiker einen erhöhten Insulin-like growth factor I-Spiegel und eine kompensatorische Hyperinsulinämie haben. Diese beiden Tatsachen sollten ein Prostatakarzinom eher begünstigen als das sie protektiv wirken würden. Da jedoch erst bei einem seit mehr als 5 Jahren vorliegenden Diabetes mellitus ein signifikant erniedrigtes Risiko für das Erkranken an einem Prostatakarzinom gegeben ist und nach diesem längeren Zeitraum die Spiegel von Insulin und insulin-like growth factor-I dramatisch verändert sein können, lässt sich dies möglicherweise erklären. Es kann jedoch davon ausgegangen werden, dass die biologischen Hintergründe für die Risikoverringerung von Diabetikern, an einem Prostatakarzinom zu erkranken, noch nicht ausreichend verstanden sind. Außerdem darf nicht vergessen werden, dass es weitere Faktoren gibt, welche das Risiko für ein Prostatakarzinom beeinflussen könnten. Hierzu gehören z.B. von Diabetikern durchgeführte diätetische Maßnahmen, veränderte Lebensgewohnheiten, therapeutische Ansätze und ein gehäuftes Auftreten von Fettleibigkeit bei Diabetikern. (Zhang et al., 2012)

Interessanterweise zeigten Untersuchungen jedoch, dass Diabetiker bei Vorliegen eines Prostatakarzinoms ein höheres Risiko haben, ein entdifferenziertes, bzw. höhergradiges Prostatakarzinom zu entwickeln als nicht-Diabetiker. Das Vorliegen von Diabetes senkt vor allem das Risiko von niedriggradigen (Gleason-Score ≤ 6) Prostatakarzinomen deutlich und im Verhältnis nur wenig das Risiko für höhergradige Prostatakarzinome, weshalb das relative Risiko für Diabetiker, an einem höhergradigen Prostatakarzinom zu erkranken, höher ist. Eine Studie von Abdollah et al. untersuchte diesen Zusammenhang an europäischen Patienten, welche eine radikalen Prostatektomie bei Prostatakarzinom erhielten. Dabei konnte nach der Untersuchung der Proben durch einen Pathologen festgestellt werden, dass bei Patienten mit Diabetes mellitus als Begleiterkrankung ein hochgradiges

Prostatakarzinom (Gleason-Score ≥ 8) zu 21,1% im Vergleich zu 11,7% bei nicht Diabetikern vorlag. (Abdollah et al., 2011)

Es zeigte sich außerdem, dass Diabetiker trotz eines höhergradigen Prostatakarzinoms im Verhältnis zu Nichtdiabetikern häufig einen niedrigeren PSA-Wert haben. Daher sollte bei Diabetikern auch bei niedrigeren PSA-Werten sorgfältig auf ein hochgradiges Prostatakarzinom untersucht werden. (Ozbek et al., 2014)

Es ist also nicht ganz klar, ob Diabetiker tatsächlich ein erniedrigtes Risiko haben an einem Prostatakarzinom zu erkranken, oder ob bei ihnen durch den erniedrigten Serum-PSA-Wert nur seltener Biopsien durchgeführt werden und bei ihnen somit seltener die Diagnose eines Prostatakarzinoms gestellt wird. Hinweise hierfür gab die REDUCE Studie, welche diese mögliche Verzerrung berücksichtigte und keinen Zusammenhang von Diabetes mit erniedrigtem Prostatakarzinomaufreten feststellen konnte. (Wu et al., 2011)

Bestätigt ist jedoch, dass Diabetiker signifikant kürzer überleben wenn sie an einem Prostatakarzinom erkrankt sind, als nicht-Diabetiker (Chen et al., 2017). Da es jedoch einige gemeinsame Faktoren für Diabetes und Prostatakarzinome gibt, die das Überleben einschränken (z.B. Übergewicht) können (Lutz et al., 2018b), ist es schwieriger die genauen Zusammenhänge zu entschlüsseln. Lutz et al. untersuchten dazu 624 Prostatakarzinompatienten, welche alle eine radikale Prostatektomie erhielten in Bezug darauf wie der Diabetesstatus mit dem TNM-Stadium zusammenhängt und verwendeten einen etablierten Prostatakarzinom-Risikoscore. Außerdem wurden Unterschiede im Alter und Körpergewicht berücksichtigt und nach diesen Anpassungen blieben 222 Patienten in der Studie enthalten. Bei dieser Arbeit zeigten sich keine Unterschiede des Serum-PSA-Wertes und des Gleason-Scores bei Diabetikern im Vergleich zu Nicht-Diabetikern und die insgesamt Verteilung der Patienten anhand des Prostatakarzinom-Risiko-Scores war unabhängig vom Diabetesstatus. Allerdings zeigte sich, dass der Anteil an Patienten mit einem sehr hohen Risiko-Score in der Gruppe der Diabetiker signifikant höher war. Das T-Stadium war zwar unabhängig vom Diabetesstatus, es zeigten sich jedoch signifikant mehr Lymphknotenmetastasen bei Patienten mit Diabetes als bei Nicht-Diabetikern (1% vs.10%). Diese Ergebnisse unterstützen also die Hypothese, dass Diabetiker aggressivere Prostatakarzinomverläufe haben, als Nicht-Diabetiker. (Lutz et al., 2018b)

I.4 DER INSULINREZEPTOR

I.4.1 INSULINREZEPTORGEN

Das für den Insulinrezeptor kodierende Gen ist auf Chromosom 19 lokalisiert, besteht aus 22 Exons und 21 Introns und hat eine Größe von 150kb. (Gorden et al., 1989, Youngren, 2007)

I.4.2 AUFBAU UND ENTSTEHUNG DES INSULINREZEPTORS

Initial entsteht durch das Ablesen des Insulinrezeptorgens ein Präpro-Rezeptor, wovon 30 Aminosäuren abgespalten werden. Der dadurch entstandene Pro-Rezeptor wird nun glykosyliert, gefaltet, dimerisiert und anschließend werden im Golgi-Apparat die dimerisierten Aminosäureketten in eine α - und eine β -Untereinheit gespalten. Diese Untereinheiten werden durch Disulfidbrücken verbunden und es entsteht ein heterotetramerer holo-Rezeptor, bestehend aus zwei extrazellulären, insulinbindenden α -Untereinheiten und zwei überwiegend transmembranösen β -Untereinheiten, welche intrazellulär als Tyrosinkinase fungieren. Abbildung 3 zeigt eine schematische Darstellung des Insulinrezeptors. (Youngren, 2007)

Vom Insulinrezeptor gibt es zwei Isoformen, die Isoform A und die Isoform B. Bei der Isoform A fehlt das Exon 11, welches bei der Isoform B vorhanden ist. Dabei handelt es sich um ein Segment von 12 Aminosäuren am C-terminalen Ende der alpha-subunit des Insulinrezeptors. Diese beiden Isoformen scheinen sich in ihren Funktionen zu unterscheiden, was dadurch untermauert wird, dass die Isoform A des Insulinrezeptors neben seiner Affinität zu Insulin auch eine hohe Affinität zum Insulin-like growth Faktor-II (IGF-II) hat, die Isoform B hingegen nicht. Die Isoform A scheint daher auch eine zentralere Rolle für biologische Prozesse wie die Tumorgenese und die Entstehung von Diabetes zu haben. Das liegt daran, dass durch die Affinität der Isoform A des Insulinrezeptors zum Insulin-like growth factor-II bei einer im Verhältnis stärkeren Expression dieser Isoform einerseits eine geringere metabolische Reaktion auf Insulin stattfindet und andererseits die proliferativen Effekte des insulin-like growth Faktors-II verstärkt werden. Physiologisch spielt die Isoform A vor allem bei embryonalen und fetalen Wachstumsprozessen eine Rolle, während die Isoform B vor allem für die metabolischen Prozesse im adulten Organismus wichtig ist. Eine Dysregulation in der Expression dieser beiden Isoformen könnte eine entscheidende Komponente für die Tumorgenese darstellen. (Belfiore et al., 2009)

Auch in Prostatakarzinomen konnte bereits ein Überwiegen der Expression der Isoform A des Insulinrezeptors im Vergleich zu normalem Gewebe festgestellt werden (Heni et al., 2012).

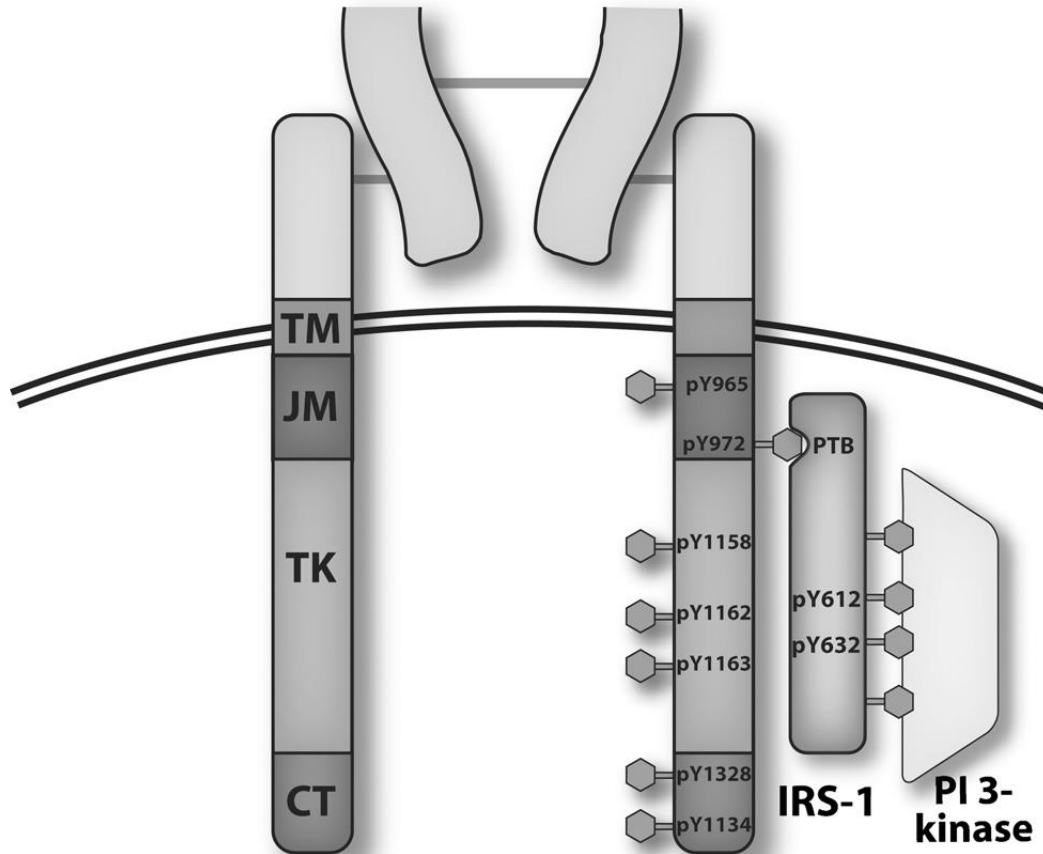


Abbildung 3: Schematische Darstellung des Insulinrezeptors, insbesondere der intrazellulär gelegenen β -subunit. Durch die Transmembrandomäne (TM) wird der Rezeptor in der Plasmamembran befestigt. Die als JM gekennzeichnete Juxtamembrandomäne enthält zwei Tyrosinreste welche nach der Bindung von Insulin an den Rezeptor autophosphoryliert werden (pY965 und pY972). Durch die Phosphorylierung des Tyrosin 972 bindet dieses das Insulinrezeptorsubstrat-1 (IRS-1) an seiner Phosphotyrosine-binding Domäne (PTB Domäne). IRS-1 kann nach Phosphorylierung wiederum Phosphoinositid-3-Kinase (PI3K) binden und aktivieren und somit die Signalkaskade des Insulinsignalweges starten. Die Tyrosinkinasedomäne (TK) ist der enzymatisch aktive Teil des Insulinrezeptors und enthält eine Adenosin triphosphat (ATP)-Bindungsstelle. Um die Tyrosinkinasedomäne voll zu aktivieren müssen die drei Tyrosinreste 1158, 1162 und 1163 phosphoryliert werden. Die Tyrosinreste der C-terminalen Domäne (1328 und 1134) können phosphoryliert das Insulinrezeptorsubstrat-2 (IRS-2) binden und haben Anteile an den mitogenen Effekten des Insulinsignalweges. (Youngren, 2007)

I.4.3 INSULINSIGNALWEG ALS VERBINDUNG ZUM PROTEINKINASE B (AKT) SIGNALWEG

Durch die Bindung von Insulin am Insulinrezeptor kommt es zur Autophosphorylierung und somit zur Aktivierung des als Tyrosinkinase wirkenden Rezeptors, was wiederum eine komplexe Kaskade an weiteren biologischen Prozessen in Gang setzt. Eine

Aktivierung der Tyrosinkinase, welche sich, wie bereits erwähnt, in der β -subunit des Insulinrezeptors befindet (Youngren, 2007), führt zu einer Phosphorylierung von Dockingproteinen. Die bisher am besten erforschten Vertreter hiervon sind die Insulin Rezeptor Substrate 1-4 (IRS 1-4). Diese Insulin Rezeptor Substrate wiederum aktivieren einige weitere Signalwege, welche an vesikalen Transportvorgängen, Proteinsynthese und Glukoseaufnahme beteiligt sind. (Krüger et al., 2008)

Einer dieser Signalwege, welcher über die Insulin Rezeptor Substrate (IRS) aktiviert wird, läuft über die Aktivierung der Phosphoinositid-3-Kinase (PI3K), welche wiederum die Konzentration an Phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphat (PtdIns(3,4,5)P₃) im Zytoplasma deutlich erhöht. Dieses PtdIns(3,4,5)P₃ kann die Phosphatidylinositol 3,4-bisphosphate (PtdIns(3,4)P₂) / Phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphat (PtdIns(3,4,5)P₃)-dependent Kinase 1 (PDK1) aktivieren. Dies wiederum führt zur Aktivierung der Proteinkinase B (oder auch Akt), welche im nächsten Abschnitt ausführlicher besprochen wird. (Bevan, 2001, Lizcano & Alessi, 2002)

I.5 PROTEINKINASE B / AKT

Die Proteinkinase B oder auch Akt gehört zu einer Subgruppe von Proteinkinasen, welche ACG Proteinkinasen genannt werden. Zu dieser Subgruppe gehören unter anderem die Proteinkinase C-Isoformen und die zyklische-AMP-abhängige Proteinkinase. Von der Proteinkinase B sind drei Wildtypen-Isoformen bekannt (PKB α , PKB β und PKB γ ; oder auch Akt1, Akt2 and Akt3). (Lawlor & Alessi, 2001)

Die Proteinkinase B (Akt) reguliert in ihrer Funktion als Kinase über Phosphorylierung im Signalweg nachgeschalteter Proteine viele verschiedene zelluläre Prozesse. Hierzu gehören unter anderem zelluläre Überlebenssignale über Steuerung der Apoptose, der Proliferation, der Zellgröße, der Gewebeinvasion und der Angiogenese. Dies erreicht die Proteinkinase B (Akt) über die Regulation vieler Protoonkogene und Tumorsuppressoren. Außerdem hat sie über Schnittstellen mit der Insulinkaskade Funktionen im Glukosestoffwechsel und daher auch Einfluss auf die Energiebereitstellung, welche Zellen für das Wachstum benötigen. Daher kann die Proteinkinase B (Akt) eine wichtige Rolle in der Entstehung und Progression von vielen verschiedenen Tumoren spielen, wenn ein Ungleichgewicht in ihrer regulatorischen Funktion entsteht. (Altomare & Testa, 2005, Lawlor & Alessi, 2001)

Es konnte gezeigt werden, dass bei verschiedenen Krebsarten eine Überexpression von mutierten und konstitutiv aktivierten Proteinkinase B-Formen vorliegt. Dies führt einerseits zu einer Einleitung der Proliferation von Zellen, welche ansonsten im Wachstumsarrest verharren würden und andererseits zu einer Hemmung der Apoptose. (Lawlor & Alessi, 2001)

Es gibt jedoch auch einige Wege, wie die Signalkaskade der Proteinkinase B (Akt) aktiviert werden und dadurch diese Prozesse ausgelöst werden können. Einer dieser Wege ist, wie bereits in Kapitel 1.4.3 Insulinsignalweg als Verbindung zum Proteinkinase B (Akt) Signalweg beschrieben, die Aktivierung über den Insulinstoffwechsel.

Neben der Aktivierung über den Insulinsignalweg kann die Phosphoinositid-3-Kinase (PI3K), welche wiederum über erhöhte Konzentrationen an Phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphat (PtdIns(3,4,5)P3) im Zytoplasma und damit der gesteigerten Aktivität der Phosphatidylinositol 3,4-bisphosphate (PtdIns(3,4)P2) / Phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphat (PtdIns(3,4,5)P3)-dependent Kinase 1 (PDK1) die Proteinkinase B aktiviert, auch über andere Signale wie Wachstumsfaktoren, Zytokine und die Anheftung von Zellen an die extrazelluläre Matrix aktiviert werden. Auch ein Funktionsverlust der Phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphat (PtdIns(3,4,5)P3) 3-phosphatase führt durch reduzierten Abbau von Phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphat (PtdIns(3,4,5)P3) zu einer Überaktivität der Proteinkinase B. (Lawlor & Alessi, 2001, Bevan, 2001, Lizcano & Alessi, 2002)

Einige der durch die Proteinkinase B (Akt) regulierten protoonkogenen Reaktionen werden aufgrund der Komplexität dieses Signalweges im Folgenden als Aufzählung dargestellt (Altomare & Testa, 2005):

- Die Proteinkinase B (Akt) wirkt antiapoptotisch durch die Hemmung der Ausschüttung von Cytochrom c aus den Mitochondrien
- Die Proteinkinase B (Akt) verringert die Wirkung des Tumorsuppressors p53 durch Phosphorylierung des ihn antagonisierenden Murine Double-Minute 2 homolog (Mdm2)
- Die Proteinkinase B (Akt) inaktiviert durch Phosphorylierung die proapoptotischen Faktoren B-cell Lymphoma-Protein 2 Antagonist of Cell Death (BAD) und procaspase-9

- Die Proteinkinase B (Akt) aktiviert die Inhibitor of NF- κ B (I κ B) Kinase (IKK), welche wiederum den Transkriptionsfaktor NF- κ B (nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells) reguliert und damit zur Transkription von antiapoptotischen Genen führt
- Die Proteinkinase B (Akt) inaktiviert die Forkhead-Box- (FOXO) Transkriptionsfaktoren, welche für die expression wichtiger apoptotischer Gene wie dem Fas-Ligand-Gen zuständig sind
- Die Proteinkinase B (Akt) führt über den Mammalian Target of Rapamycin (mTOR)-Signalweg zu einer gesteigerten Translation der für die Steuerung des Zellzyklus wichtigen Cycline D1, D3 und E, inhibiert einen Komplex, welcher aus den Tumorsuppressoren TSC1 (Hamartin) und TSC2 (Tuberin) besteht, führt über die Regulation der Herstellung von Ribosomen und der Proteintranslation zu Zellwachstum und Proliferation und kann zu einem vom Nährstoffangebot unabhängigeren Zellwachstum führen. Die durch den mTOR-Signalweg gesteigerte Proteinsynthese findet durch die Phosphorylierung der eukaryotischen translations-initiations Faktor 4E (eIF4E) Bindungsproteine 1,2 und 3 (4E-BPs) und der p70-S6 Kinase statt. Die p70-S6 Kinase wiederum steigert die Translation der mRNA durch Phosphorylierung des ribosomalen Proteins S6 und sie phosphoryliert die eukaryotischen translations-initiations Faktor 4E (eIF4E) Bindungsproteine (4E-BPs), was zur Freigabe des eukaryotischen translations-initiations Faktors 4E (eIF4E) führt. Dies wiederum führt zu einer erhöhten Translation von Cyclin D1, Myelocytomatosis Oncogene Cellular homolog (MYC) und dem vaskulären-endothelialen Wachstumsfaktor (VEGF). Außerdem wird der hypoxia-inducible Transkriptionsfaktor (HIF1) durch den mTOR-Signalweg aktiviert
- Die Proteinkinase B (Akt) verringert über eine Hemmung der Glycogen-Synthase Kinase 3 β den Abbau von Cyclin D1
- Die Proteinkinase B (Akt) antagonisiert p21^{WAF1} und p27^{Kip1}, welche Inhibitoren des Zellzyklus sind
- Die Proteinkinase B (Akt) hat außerdem, über eine durch sie gesteigerte Ausschüttung von Matrix Metalloproteinasen und durch Aktivierung der epithelialen-mesenchymalen Transition (EMT), einen Einfluss auf die Invasion und Metastasierung von Tumoren

Alle diese Faktoren tragen zu der Rolle der Proteinkinase B (Akt) in der Tumorgenese und Progression bei. (Altomare & Testa, 2005)

Insbesondere die Pathomechanismen der Metastasierung sind von zentraler Bedeutung für die Progression von Prostatakarzinomen und Malignomen im Allgemeinen. Für die Metastasierung von Malignomen sind die Migration und die Invasion der malignen Zelle von besonderer Wertigkeit. Hierfür scheint jedoch nicht nur die Expression der Proteinkinase B (Akt) im Allgemeinen eine große Rolle zu spielen, sondern insbesondere die Expressionsverhältnisse der Isoformen Akt1, Akt2 und Akt3 der Proteinkinase B (Akt) zueinander. Beispielsweise Dillon et al. konnten 2009 durch Untersuchungen an transgenen Mäusen zeigen, dass bei Brustkrebs, wo der PI3K/Akt-Signalweg ebenfalls ein wichtiger Signalweg für die Tumorgenese und Progression ist, insbesondere Akt2 die Metastasierung einleitet, während Akt1 eine Rolle bei der Tumorinduktion bei den Mäusen hatte (Dillon et al., 2009, Dillon & Muller, 2010). Yoeli-Lerner et al. konnten 2005 anhand von drei Brustkrebszelllinien in der Zellkultur sogar zeigen, dass Akt1 über die Hemmung des Nuclear factor of activated T cells (NFAT) die Fähigkeit der Brustkrebszellen zur Migration und Invasion reduzieren kann (Yoeli-Lerner et al., 2005). Der PI3K/Akt-Signalweg spielt auch für die Entstehung und Progression von Ovarialkarzinomen eine bedeutende Rolle und auch hier konnte durch 2006 von Meng et al. durchgeführten Zellkulturuntersuchungen an Ovarialkarzinomzelllinien ebenfalls diese hemmende Rolle von Akt1 auf die Migration und Invasion gezeigt werden (Meng et al., 2006). Arboleda et al. konnten in *in-vitro* und in *in-vivo* Untersuchungen zeigen, dass sowohl in Brustkrebs, als auch in Ovarialkarzinomen Akt2 durch die Hochregulation von β 1-Integrinen die Adhäsion und die Invasion begünstigt wird und *in-vivo* zu metastatischeren Malignomen führt (Arboleda et al., 2003). Bei Prostatakarzinomen zeigten Zellkulturuntersuchungen von Virtakoivu et al. aus dem Jahr 2012 sogar für Akt1 und Akt2 jedoch nicht für Akt3 über die Herunterregulation von β 1-Integrinen einen hemmenden Effekt auf die Migration und Invasion von Prostatakarzinomzellen (Virtakoivu et al., 2012).

Die Proteinkinase B (Akt) als Serinkinase, hat wie in den Abbildungen 4 und 5 dargestellt eine Vielzahl an Funktionen. Einige dieser Funktionen hat sie wie bereits erwähnt in der Insulinsignalkaskade. Sie führt zu einer Deaktivierung der Glykogen Synthase Kinase 3 (GSK-3), was wiederum die Glykogen Synthase aktiviert und somit auch die Bildung von Glykogen aus Glucose steigert. Außerdem leitet die

Proteinkinase B (Akt) die Translokation von sich in intrazellulären Vesikeln befindlichen Glucosetransportern Typ 4 (GLUT-4) in die Plasmamembran ein, was zu einer vermehrter Glucoseaufnahme in die Zelle führt. (Bevan, 2001, Lizcano & Alessi, 2002)

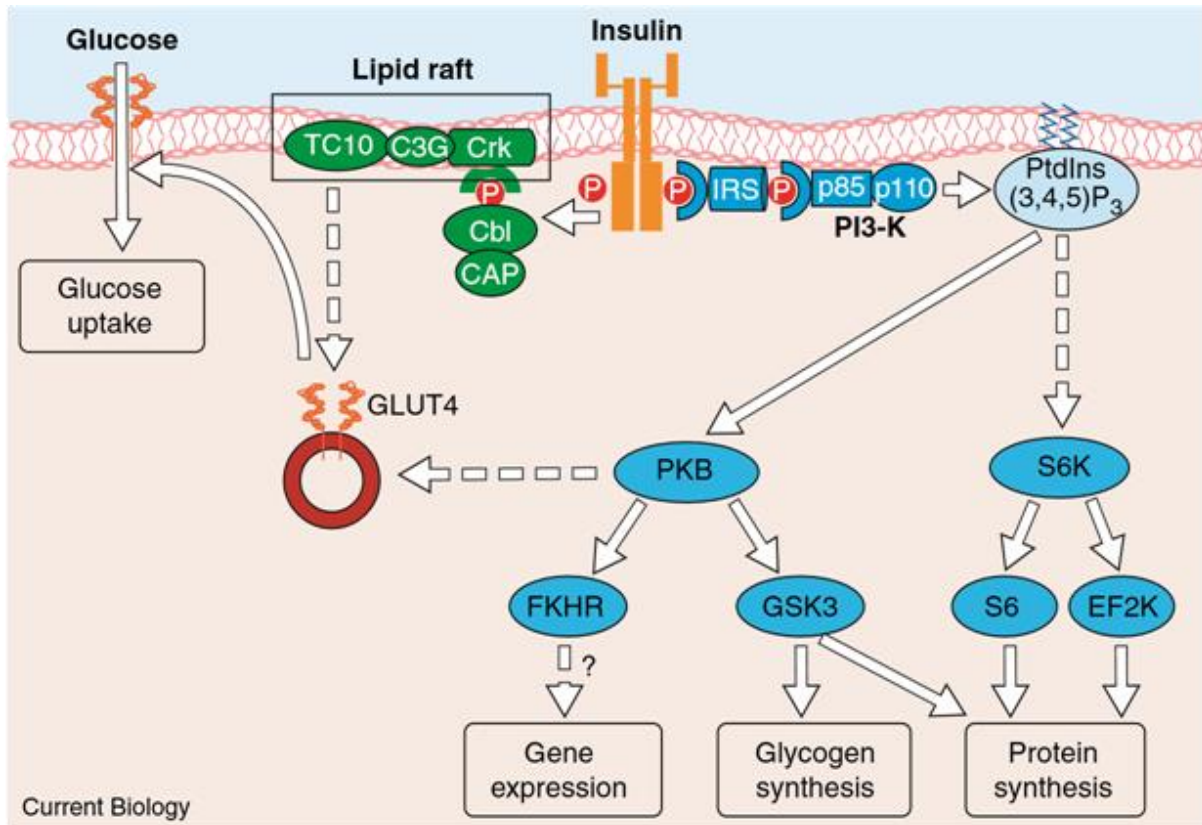


Abbildung 4: Schematische Darstellung der wichtigsten metabolischen Reaktionen auf die Insulinbindung an den Insulinrezeptor. Die Bindung von Insulin führt zur Autophosphorylierung von Tyrosinresten des Insulinrezeptors. Dadurch werden sie zu Bindungsstellen für die Insulinrezeptorsubstrate (IRS), welche anschließend an einigen Tyrosinresten durch den Insulinrezeptor phosphoryliert werden. Diese phosphorylierten Tyrosinreste dienen als Bindungsstelle für die Src homologe 2 (SH2) Domäne der regulatorischen p85 Untereinheit der PI3-Kinase. Diese Lipidkinase phosphoryliert anschließend an der Plasmamembran PtdIns(4,5)P₂ mit ihrer katalytischen Untereinheit p110, wodurch der der Second messenger PtdIns(3,4,5)P₃ entsteht. PtdIns(3,4,5)P₃ vermittelt dann überwiegend über die Proteinkinase B die intrazelluläre Insulinwirkung. Auf den anderen in dieser Abbildung dargestellten Signalweg, dem Lipid raft, wird hier nicht weiter eingegangen. (Lizcano & Alessi, 2002)

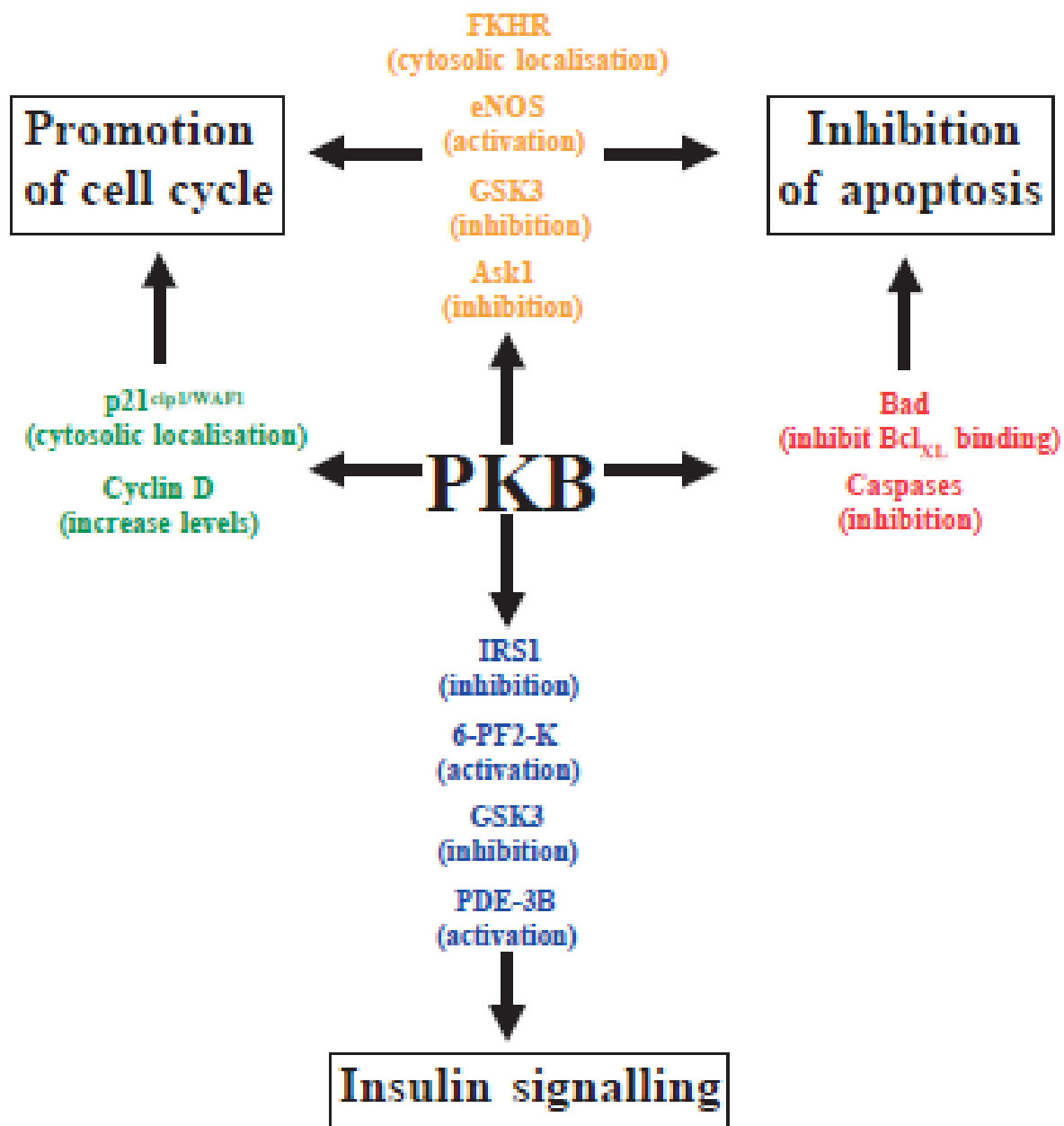


Abbildung 5: Darstellung einiger Regulationsmechanismen im Zellzyklus, bei der Apoptose und im Insulinsignalweg, bei denen die Proteinkinase B eine zentrale Rolle spielt. (Lawlor & Alessi, 2001)

1.6 FRAGESTELLUNG

Ziel der vorliegenden Arbeit war an einem umfassend charakterisierten Kollektiv von Patienten mit unterschiedlichen Stadien eines Prostatakarzinoms die Expression der Insulinrezeptor β -subunit als Schlüsselprotein des Insulinstoffwechsels und die Expression der Proteinkinase B (Akt) als Schlüsselprotein onkologische relevanter

Signalkaskaden zu untersuchen. Diese Progressionsreihe beinhaltet benignes Prostatagewebe, Gewebe aus nicht-metastasierten Prostatakarzinomen bis hin zu Gewebe aus metastasierten Prostatakarzinomen. Es sollte hauptsächlich evaluiert werden, inwieweit sich Differenzen in der Expression entlang dieser Sequenz erkennen lassen und inwieweit sich dadurch Rückschlüsse auf Einflüsse des Insulinsignalling auf die Aktivierung des onkologisch relevanten Akt-Signalwegs ziehen lassen können.

Die Untersuchung der Zusammenhänge des Expressionsverhaltens der beiden Proteine als wichtige Bestandteile ihrer Signalwege sollte einen Beitrag liefern, um die potenzielle regulatorische Rolle des Insulinstoffwechsels auf den PI3K/Akt-Signalweg weiter zu beleuchten.

Ein weiterer Schwerpunkt sollte auf der Betrachtung der Expression der Proteine vor dem Hintergrund des Diabetesstatus als möglichem modulierenden Faktor liegen. Da das Vorliegen eines Diabetes einen Einfluss auf den Insulinstoffwechsel hat und bei Diabetikern Prostatakarzinome seltener auftreten, in diesen Fällen sich jedoch aggressivere Verläufe zeigen, war es ein Ziel der vorliegenden Arbeit, einen Beitrag zum Verständnis zu liefern, welche Rolle der Insulin- und der PI3K/Akt-Signalweg für diese veränderten Eigenschaften des Prostatakarzinoms bei Vorliegen eines Diabetes spielen.

Im Einzelnen sollte außerdem die Expressionen der beiden Proteine in benignem Prostatagewebe im Vergleich zu malignem Prostatagewebe untersucht werden, um ihre mögliche Bedeutung als diagnostische Parameter zu eruieren.

Vor dem Hintergrund der Einteilung in eine Progressionsreihe sollte die Frage geklärt werden, ob die für diese Arbeit untersuchten Proteine als Parameter für die Progression des Prostatakarzinoms dienen können.

Ein weiteres Ziel der Arbeit war es an Prostatakarzinome angrenzendes, histologisch unauffälliges Gewebe auf die Expression der beiden Parameter zu untersuchen, um mehr darüber zu erfahren wie sich dieses Gewebe in Bezug auf diese beiden Signalwege verhält.

II MATERIAL UND METHODEN

Die vorliegende Arbeit wurde im Rahmen eines Verbundprojektes „Diabetes und Prostatakarzinom“ durchgeführt. Im Rahmen dieses laufenden Projektes sollen Interaktionen des Insulin-signalling mit tumorbiologischen Signalwegskaskaden analysiert werden. Dazu wurde ein umfassend charakterisiertes Patientenkollektiv gebildet aus dessen routinemäßig asservierten Gewebeproben aus Operationspräparaten eine Gewebesammlung für immunhistochemische Evaluationen der Proteinexpressionen (Tissue Microarray) zusammengestellt wurde.

Dabei wurden mit der Unterstützung der Mitarbeiter der Klinik für Urologie des Universitätsklinikums Tübingen jeweils für das Projekt wichtige Teilarbeitsschritte von den am Verbundprojekt beteiligten Doktoranden durchgeführt. Die vorliegende Arbeit hatte dabei zum Schwerpunkt die Charakterisierung des Studienkollektivs, die Erhebung patientenindividueller und klinischer Daten sowie insbesondere das Erheben des Diabetesstatus. Wie von allen anderen Teilnehmenden des Verbundprojektes wurden dann eigene Proteinparameter in die Auswertung eingebracht.

II.1 ETHIK

Dieser Studie und der damit verbundenen Verwendung von Gewebeproben aus Operationspräparaten zur Herstellung eines Tissue Microarrays wurde durch die Ethikkommission des Universitätsklinikums Tübingen im Ethikvotum Nr. 842/2016BO2 vom 18.01.2017 uneingeschränkt zugestimmt. Bevor die Arbeit an humanem Gewebe und mit Daten von Patienten der Klinik für Urologie des Universitätsklinikums Tübingen begonnen wurde, erfolgte die ausführliche Aufklärung. Dabei wurden alle in das Studienkollektiv eingeschlossene Patienten bezüglich ihrer Teilnahme an der Studie unmissverständlich sowohl schriftlich als auch mündlich aufgeklärt. Alle Patienten des Studienkollektivs erhielten die gleichen Informationen zur Teilnahme an der Studie und die gleiche diesbezügliche Aufklärung unabhängig von der bei ihnen vorliegenden Operationsindikation und von der durchgeführten Operationsmethode. Auf die Aufklärung erfolgte, bevor die Operation an den Patienten durchgeführt wurde, das schriftliche Einverständnis für die wissenschaftliche Verwendung ihrer Gewebeproben.

II.2 DATENSCHUTZ

Die verwendeten persönlichen Patientendaten wurden streng gemäß den Datenschutzbestimmungen des Datenschutzgesetzes erfasst. Dabei erfolgte die Erhebung der klinischen, patientenbezogenen Daten vor der Anonymisierung ausschließlich von der Schweigepflicht unterliegenden, unmittelbar an dieser Studie Mitwirkenden. Im Anschluss an die Erhebung der Daten wurden diese vor der Weiterverarbeitung anonymisiert, sodass sich keine Namen, Geburtsdaten oder Initialen mehr in der Datenbank befanden. Dadurch, sowie durch das fortwährende Verschlüsseln der Datenbanken mit Hilfe von Passwörtern wurde verhindert, dass unbefugte Personen Zugriff auf sensible und persönliche Daten der in das Kollektiv eingeschlossenen Patienten erhalten konnten. Die Erhebung sowie die Verarbeitung der bei dieser Arbeit gewonnenen Daten wurden ausschließlich an einem Computer durchgeführt, der nicht an das Internet angeschlossen war.

II.3 VERWENDETE SOFTWAREPROGRAMME

Datenbankerstellung: Microsoft Excel 2016[®] (Microsoft Deutschland GmbH, Unterschleißheim)

Textverarbeitung: Microsoft Word 2016[®] (Microsoft Deutschland GmbH, Unterschleißheim)

Literaturverwaltung: EndNote X8[®] (Thomson Reuters, New York City, Vereinigte Staaten)

Mikroskopierprogramm: Aperio ImageScope 12.1.0[®] (Leica Biosystems GmbH, Nussloch, Deutschland)

Statistikprogramm: JMP 13.0.0[®] (SAS Institute, Cary, North Carolina, USA)

Bildbearbeitung: Adobe Photoshop[®] CC 2019 (Adobe Systems Incorporated, San José, Kalifornien, USA)

II.4 ERHEBUNG PATIENTENBEZOGENER DATEN

Die für die Arbeit verwendeten, relevanten Patientendaten wurden retrospektiv aus in der Klinik für Urologie des Universitätsklinikums Tübingen vorliegenden Arztbriefen, Untersuchungsbefunden, Operationsberichten, Pathologiebefunden und Fragebögen

zur Diabetesstatuserhebung in eine Datenbank in Form einer Excel-Tabelle zusammengetragen.

Folgende Parameter sind in dieser Datenbank enthalten:

- Pathologienummern, anhand welcher eine Zuordnung der Gewebeproben möglich ist
- Geburtsdatum der Patienten
- Operationsdatum
- Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Operation
- Operationsverfahren
- TNM-Stadium
- R-Status von der Überprüfung des Operationspräparates auf das Vorliegen eines Residualtumors
- Histopathologisch gesicherter häufigster und zweithäufigster Gleason bei den Präparaten aus radikalen Prostatektomien und aus Zystoprostatektomien sowie häufigster und am schlechtesten differenzierter Gleason bei den Präparaten aus transurethralen Resektionen der Prostata und der sich daraus ergebende Gleason-Score
- PSA zum Zeitpunkt der Gewebegewinnung oder zum nächstmöglichen Zeitpunkt davor
- Art und Dauer der antihormonellen Therapie bei Patienten mit einem palliativen Therapiekonzept und hierbei durchgeführter Hormonentzugstherapie
- Diabetesstatus und bei Vorliegen eines Diabetes ebenfalls der Diabetestyp und die Art der Therapie
- Prüfung auf das Vorliegen von diagnostizierten Zweitmalignomen mit entsprechenden Vermerken in der Datenbank

II.5 DIABETESSTATUSERHEBUNG

Für die Erhebung des Diabetesstatus wurden zuerst die in der Klinik für Urologie des Universitätsklinikums Tübingen vorhandenen Arztbriefe auf das mögliche Vorliegen eines Diabetes mellitus durchsucht. Außerdem wurden alle weiteren der Klinik für Urologie zugänglichen patientenbezogenen Unterlagen wie Untersuchungsbefunde, Ernährungsanordnungen des Stationspersonals und Anamnesefragebögen für die Klärung des Diabetesstatus herangezogen. Hierbei konnten nur die Patienten für die

weitere Diabetesstaterhebung ausgeschlossen werden, bei denen explizit in den Unterlagen vermerkt war, dass ein Diabetes mellitus diagnostiziert wurde. Bei diesen Patienten wurde ebenfalls der Typ des Diabetes und die Therapieform in der Datenbank vermerkt.

Von den Patienten, bei denen der Diabetesstatus auf diese Weise nicht geklärt werden konnte, wurden mit der freundlichen Hilfe des klinischen Krebsregisters des Universitätsklinikums Tübingen die Patienten aussortiert, welche laut den Informationen des Krebsregisters bereits verstorben waren. Von den nicht-verstorbenen Patienten, von denen der Diabetesstatus durch die vorliegenden Unterlagen nicht geklärt werden konnte, wurde diese Information von deren Hausärzten und Urologen als zu den Routineakten gehörende Information angefordert.

II.6 EIN- UND AUSSCHLUSSKRITERIEN DES PATIENTENKOLLEKTIVES

In dieser retrospektiven Studie wurde ein zufällig ausgewähltes Kollektiv von Patienten erstellt, von welchen zwischen Mai 2003 und Oktober 2014, durch operative Verfahren in der Klinik für Urologie des Universitätsklinikums Tübingen, Prostatagewebe gewonnen wurde. Außerdem sollte bei der Auswahl darauf geachtet werden, dass nach der für die Studie notwendigen immunhistochemischen Färbungen noch ausreichend Gewebe für die gesetzlich vorgeschriebene Aufbewahrung des Routinepräparats zur Verfügung stand.

Da im Sinne einer Progressionsreihe benignes Prostatagewebe und Gewebe aus verschiedenen Stadien des Prostatakarzinoms gewonnen werden sollte, wurden die in den folgenden Abschnitten (siehe Kapitel II.6.1-II.6.3) beschriebenen Kriterien für die jeweiligen Gewebearten charakterisiert.

II.6.1 BENIGNES PROSTATAGEWEBE

Hierzu sollten Gewebeproben von Patienten gehören, bei denen histologisch gesichert kein Prostatakarzinom und keine Infiltration durch ein anderes Malignom, beispielsweise eines Harnblasenkarzinoms, vorlag. Die Gewebeproben sollten durch radikale Zystoprostatektomien, transurethrale Resektionen der Prostata (TUR-P) oder durch transvesikale Adenomenukleation der Prostata (TVP) gewonnen worden sein. Außerdem sollten aus den Präparaten mit nicht-metastasierten Prostatakarzinomen

(siehe Kapitel II.6.2 Malignes Gewebe aus nicht-metastasierten Prostatakarzinomen) Gewebeproben untersucht werden, welche durch entsprechende Entnahme aus Regionen nah am Tumor und möglichst weit entfernt vom Tumor stammen und bei denen es sich somit ebenfalls um tumorfreies Prostatagewebe handeln sollte. Dass dieses Gewebe tatsächlich tumorfrei war, sollte durch einen erfahrenen Pathologen des Universitätsklinikums Tübingen verifiziert werden.

II.6.2 MALIGNES GEWEBE AUS NICHT-METASTASIERTEN PROSTATAKARZINOMEN

Hierzu sollten Gewebeproben von Patientengehören, bei denen bioptisch gesichert ein Prostatakarzinom vorlag und welche sich anschließend alle einer radikalen Prostatektomie unterzogen. Außerdem sollte es Voraussetzung sein, dass von einem Pathologen des Universitätsklinikums Tübingen eine Verifizierung der Tumorareale durchgeführt wurde, dass histopathologisch aufgearbeitete Großflächenschnitte verfügbar waren und dass sich das tumoröse Gewebe optisch vom angrenzenden Normalgewebe abgrenzen lies, um ein gezieltes Stanzen der Gewebeproben durchführen zu können.

Die Prostatakarzinome, die hierfür verwendet werden sollten, sollten alle im nicht-metastasierten Stadium sein und sollten im weiteren Verlauf anhand ihres Gleason-Scores in zwei Gruppen eingeteilt werden.

II.6.3 MALIGNES GEWEBE AUS FORTGESCHRITTENEN, METASTASIERTEN PROSTATAKARZINOMEN

Hierzu sollten Gewebeproben von Patienten gehören, bei denen bereits eine Metastasierung ihres Prostatakarzinoms stattgefunden hat und bei welchen im Rahmen ihres palliativen Therapiekonzeptes eine transurethrale Resektion der Prostata (TUR-P) durchgeführt wurde. Da im weiteren Verlauf eine Unterteilung in hormonsensible und kastrationsresistente Prostatakarzinome durchgeführt werden sollte, sollten hierbei nur Gewebeproben von Patienten aufgenommen werden, bei denen der Hormonstatus eruierbar war.

II.6.4 EINTEILUNG IN GEWEBEGRUPPEN

Alle Gewebeproben, welche den Ein- und Ausschlusskriterien entsprechend in die Studie mit aufgenommen werden konnten, wurden im weiteren Verlauf anhand

klinischer Daten und Lokalisation der Gewebeentnahme in 9 Gewebegruppen eingeteilt.

Diese definieren sich wie folgt:

- Benignes Prostatagewebe aus Prostataen ohne PCA
- Benignes Prostatagewebe aus Prostataen mit nicht-metastasiertem low-Gleason Tumor mit Entnahme nah am Tumor
- Benignes Prostatagewebe aus Prostataen mit nicht-metastasiertem low-Gleason Tumor mit Entnahme fern vom Tumor
- Benignes Prostatagewebe aus Prostataen mit nicht-metastasiertem high-Gleason Tumor mit Entnahme nah am Tumor
- Benignes Prostatagewebe aus Prostataen mit nicht-metastasiertem high-Gleason Tumor mit Entnahme fern vom Tumor
- Maligne verändertes Prostatagewebe aus nicht-metastasiertem low-Gleason Tumoren
- Maligne verändertes Prostatagewebe aus nicht-metastasiertem high-Gleason Tumoren
- Maligne verändertes Prostatagewebe aus fortgeschrittenem, bereits metastasiertem Tumor, welcher zum Zeitpunkt der Gewebeentnahme noch hormonsensibel war
- Maligne verändertes Prostatagewebe aus fortgeschrittenem, bereits metastasiertem Tumor, welcher zum Zeitpunkt der Gewebeentnahme bereits hormonrefraktär war

II.6.5 DEFINIERUNG VON SUBGRUPPEN AUS DEN GEWEBEGRUPPEN FÜR DIE STATISTISCHE AUSWERTUNG

Bei der Analyse der Ergebnisse war es für manche statistischen Auswertungen sinnvoll Subgruppen zu bilden, in welchen bestimmte Gewebegruppen zusammenfassen wurden.

Diese Subgruppen wurden gebildet:

- *Normalgewebe*
- *Tumorgewebe*
- *nicht-metastasiertes Tumorgewebe*

- *M1 Tumorgewebe*
- *hormonsensitives M1 Tumorgewebe*
- *hormonrefraktäres M1 Tumorgewebe*
- *tumorfremie Prostaten*
- *fern vom PCA*
- *nah am PCA*
- *low-Gleason angrenzend*
- *high-Gleason angrenzend*
- *low-Gleason Tumor*
- *high-Gleason Tumor*

Zur Subgruppe *Normalgewebe* gehören die Gewebedots aus den folgenden Gewebegruppen:

- Benignes Prostatagewebe aus Prostaten ohne PCA
- Benignes Prostatagewebe aus Prostaten mit nicht-metastasiertem low-Gleason Tumor mit Entnahme nah am Tumor
- Benignes Prostatagewebe aus Prostaten mit nicht-metastasiertem low-Gleason Tumor mit Entnahme fern vom Tumor
- Benignes Prostatagewebe aus Prostaten mit nicht-metastasiertem high-Gleason Tumor mit Entnahme nah am Tumor
- Benignes Prostatagewebe aus Prostaten mit nicht-metastasiertem high-Gleason Tumor mit Entnahme fern vom Tumor

Zur Subgruppe *Tumorgewebe* gehören die Gewebedots aus den folgenden Gewebegruppen:

- Maligne verändertes Prostatagewebe aus nicht-metastasierten low-Gleason Tumoren
- Maligne verändertes Prostatagewebe aus nicht-metastasierten high-Gleason Tumoren
- Maligne verändertes Prostatagewebe aus fortgeschrittenem bereits metastasiertem Tumor, welcher zum Zeitpunkt der Gewebeentnahme noch hormonsensibel war

- Maligne verändertes Prostatagewebe aus fortgeschrittenem, bereits metastasiertem Tumor, welcher zum Zeitpunkt der Gewebeentnahme bereits hormonrefraktär war

Zur Subgruppe *Tumorgewebe aus nicht-metastasierten PCAs* gehören die Gewebedots aus den folgenden Gewebegruppen:

- Maligne verändertes Prostatagewebe aus nicht-metastasierten low-Gleason Tumoren
- Maligne verändertes Prostatagewebe aus nicht-metastasierten high-Gleason Tumoren

Zur Subgruppe *M1 Tumorgewebe* gehören die Gewebedots aus den folgenden Gewebegruppen:

- Maligne verändertes Prostatagewebe aus fortgeschrittenem bereits metastasiertem Tumor, welcher zum Zeitpunkt der Gewebeentnahme noch hormonsensibel war
- Maligne verändertes Prostatagewebe aus fortgeschrittenem, bereits metastasiertem Tumor, welcher zum Zeitpunkt der Gewebeentnahme bereits hormonrefraktär war

Zur Subgruppe *hormonsensitives M1 Tumorgewebe* gehören die Gewebedots aus den folgenden Gewebegruppen:

- Maligne verändertes Prostatagewebe aus fortgeschrittenem bereits metastasiertem Tumor, welcher zum Zeitpunkt der Gewebeentnahme noch hormonsensibel war

Zur Subgruppe *hormonrefraktäres M1 Tumorgewebe* gehören die Gewebedots aus den folgenden Gewebegruppen:

- Maligne verändertes Prostatagewebe aus fortgeschrittenem, bereits metastasiertem Tumor, welcher zum Zeitpunkt der Gewebeentnahme bereits hormonrefraktär war

Zur Subgruppe *tumorfremie Prostaten* gehören die Gewebedots aus den folgenden Gewebegruppen:

- Benignes Prostatagewebe aus Prostaten ohne PCA

Zur Subgruppe *fern vom PCA* gehören die Gewebedots aus den folgenden Gewebegruppen:

- Benignes Prostatagewebe aus Prostaten mit nicht-metastasiertem low-Gleason Tumor mit Entnahme fern vom Tumor
- Benignes Prostatagewebe aus Prostaten mit nicht-metastasiertem high-Gleason Tumor mit Entnahme fern vom Tumor

Zur Subgruppe *nah am PCA* gehören die Gewebedots aus den folgenden Gewebegruppen:

- Benignes Prostatagewebe aus Prostaten mit nicht-metastasiertem low-Gleason Tumor mit Entnahme nah am Tumor
- Benignes Prostatagewebe aus Prostaten mit nicht-metastasiertem high-Gleason Tumor mit Entnahme nah am Tumor

Zur Subgruppe *low-Gleason angrenzend* gehören die Gewebedots aus den folgenden Gewebegruppen:

- Benignes Prostatagewebe aus Prostaten mit nicht-metastasiertem low-Gleason Tumor mit Entnahme nah am Tumor
- Benignes Prostatagewebe aus Prostaten mit nicht-metastasiertem low-Gleason Tumor mit Entnahme fern vom Tumor

Zur Subgruppe *high-Gleason angrenzend* gehören die Gewebedots aus den folgenden Gewebegruppen:

- Benignes Prostatagewebe aus Prostaten mit nicht-metastasiertem high-Gleason Tumor mit Entnahme nah am Tumor
- Benignes Prostatagewebe aus Prostaten mit nicht-metastasiertem high-Gleason Tumor mit Entnahme fern vom Tumor

Zur Subgruppe *low-Gleason Tumor* gehören die Gewebedots aus den folgenden Gewebegruppen:

- Maligne verändertes Prostatagewebe aus nicht-metastasierten low-Gleason Tumoren

Zur Subgruppe *high-Gleason Tumor* gehören die Gewebedots aus den folgenden Gewebegruppen:

- Maligne verändertes Prostatagewebe aus nicht-metastasierten high-Gleason Tumoren

II.7 DAS PATIENTENKOLLEKTIV

Ursprünglich war für die Arbeit ein Patientenkollektiv von n=142 Patienten rekrutiert, dieses reduzierte sich im weiteren Verlauf jedoch durch weitere Ein- und Ausschlusskriterien auf n=111 Patienten.

In das Kollektiv dieser Studie konnten nach Anwendung der Ein- und Ausschlusskriterien (siehe Kapitel II.6 Ein- und Ausschlusskriterien) diese 111 Patienten eingeschlossen werden, welche alle im Zeitraum zwischen Mai 2003 und Oktober 2014 in der Klinik für Urologie des Universitätsklinikums Tübingen operiert wurden. Davon waren 85 Patienten an einem Prostatakarzinom erkrankt. 53 dieser 85 Patienten erhielten bei Vorliegen eines stanzbiptisch gesicherten, nicht-metastasierten Prostatakarzinoms eine radikale Prostatektomie, während die übrigen 32 Patienten bei Vorliegen eines fortgeschrittenen, bereits metastasierten Prostatakarzinoms im Rahmen ihres palliativen Therapiekonzepts eine transurethrale Resektion der Prostata erhielten. Die Gewebeproben der 26 Patienten ohne Prostatakarzinom stammen einerseits von Patienten mit einer benignen Prostatahyperplasie und andererseits von Patienten, welchen aufgrund eines Harnblasenkarzinoms neben der Entfernung ihrer Harnblase routinemäßig die Prostata mitentfernt wurde. Diese 26 Patienten teilen sich wie folgt auf: 7 Patienten erhielten aufgrund eines Harnblasenkarzinoms eine radikale Zystoprostatektomie und von den 19 Patienten mit benigner Prostatahyperplasie erhielten 8 eine transvesikale Prostataadenomenukleation (TVP) und 11 eine transurethrale Resektion der Prostata. Die Gewebeproben dieser 26 Patienten waren alle histopathologisch gesichert ohne Anhalt für Malignität.

Das Durchschnittsalter aller 111 in die Studie eingeschlossenen Patienten am Operationstag beträgt 68,3 Jahre, wobei zum Zeitpunkt der Operation der jüngste Patient 51 Jahre und der älteste Patient 95 Jahre alt war.

Bei den Patienten mit einem low-Gleason-Tumor lag das durchschnittliche Alter bei der Operation bei 63,1 Jahren, bei Patienten mit high-Gleason-Tumor bei 65,8 Jahren, bei Patienten mit metastasiertem, hormonsensitivem Prostatakarzinom bei 73,8 Jahren, bei Patienten mit metastasiertem, hormonrefraktärem Prostatakarzinom bei 72,1 Jahren und bei Patienten, welche histopathologisch gesichert kein Prostatakarzinom hatten, bei 70,5 Jahren.

Die Angaben zum durchschnittlichen Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Operation in den jeweiligen Patientengruppen ist in Tabelle 3 ersichtlich.

Von 81 der 85 Patienten mit einem Prostatakarzinom konnte retrospektiv ein Gleason-Score ermittelt werden. Hier zeigte sich, dass 12 Patienten einen Gleason-Score von 6 hatten, 11 Patienten hatten einen Gleason-Score von 7a, 6 Patienten hatten einen Gleason-Score von 7b, 14 Patienten hatten einen Gleason-Score von 8, 34 Patienten hatten einen Gleason-Score von 9 und 4 Patienten hatten einen Gleason-Score von 10.

Von 70 der 85 an einem Prostatakarzinom erkrankten Patienten konnte retrospektiv das T Stadium, als Maß für die räumliche Ausdehnung des Primärtumors ermittelt werden. Hierbei wurden die pT Stadien, welche postoperativ nach Prostatektomien durch die histopathologische Untersuchung bestimmt wurden und cT Stadien, welche durch klinische Untersuchungen ermittelt wurden, einbezogen. Die cT Stadien stammen überwiegend von den Patienten mit metastasierten Prostatakarzinomen, da hier keine radikalen Prostatektomien durchgeführt wurden und somit keine vollständigen Präparate für die histopathologische Untersuchung zu Verfügung standen. Hierbei wurde bei 5 Patienten ein T2a Stadium festgestellt, wobei hier alle Patienten zur Gruppe der nicht-metastasierten Prostatakarzinome gehören. Bei 34 Patienten wurde das Stadium T2c vorgefunden, wobei hiervon 32 Patienten zur Gruppe der nicht-metastasierten Prostatakarzinome gehören und 2 zur Gruppe der metastasierten Prostatakarzinome. Bei 13 Patienten wurde das Stadium T3a vorgefunden, wobei hiervon 12 Patienten zur Gruppe der nicht-metastasierten Prostatakarzinome gehören und 1 Patient zur Gruppe der metastasierten Prostatakarzinome. 7 Patienten wurden dem Stadium T3b zugeordnet, wobei hiervon 4 zur Gruppe der nicht-metastasierten Prostatakarzinome gehören und 3 zur Gruppe der metastasierten Prostatakarzinome. 11 Patienten hatten ein T4 Stadium, wobei hiervon alle Patienten ein metastasiertes Prostatakarzinom hatten.

Von den 85 Patienten mit Prostatakarzinom konnte bei 72 retrospektiv der Status des Lymphknotenbefalls ermittelt werden. 18 Patienten hiervon hatten einen Lymphknotenbefall, wobei hiervon 17 Patienten zur Gruppe der metastasierten Prostatakarzinome gehörten.

Die Zuordnung der Patientenzahlen zu den jeweiligen T-Stadien und der Lymphknotenstatus mit Unterteilung in die Gruppe der nicht-metastasierten und metastasierten Prostatakarzinome ist in Tabelle 2 ersichtlich.

Tabelle 2: Patientenanzahl zugeordnet zum jeweiligen T- Stadium, sowie solche mit Lymphonodal positivem Stadium unterteilt in Patienten mit nicht-metastasierten Prostatakarzinomen und Patienten mit fortgeschrittenen, metastasierten Prostatakarzinomen

	Patienten mit nicht-metastasiertem Prostatakarzinom	Patienten mit metastasiertem Prostatakarzinom
T2a	5	0
T2c	32	2
T3a	12	1
T3b	4	3
T4	0	11
N+	1	17

Außerdem wurde retrospektiv der PSA-Wert zum nächstmöglichen Zeitpunkt vor der Operation ermittelt. Dieser konnte bei 101 Patienten ermittelt werden und die PSA-Werte erstreckten sich insgesamt zwischen 0 ng/ml und 4757 ng/ml. Der Mittelwert betrug hierbei 95,6 ng/ml, der Median lag bei 7,8 ng/ml und die Standardabweichung bei 485,9 ng/ml. Um dies etwas differenzierter betrachten zu können, wurden diese Ergebnisse mit Unterteilung in die Gewebegruppen untersucht. Hier zeigten sich bei den Patienten aus der Gruppe der nicht-metastasierten low-Gleason-Tumoren PSA-Werte zwischen 2,29 ng/ml und 25,4 ng/ml, einen Mittelwert von 8,6 ng/ml, der Median lag bei 6,3 ng/ml und die Standardabweichung bei 5,7 ng/ml. Bei den Patienten mit nicht-metastasierten high-Gleason-Tumoren lagen die PSA-Werte zwischen 0,08 ng/ml und 30 ng/ml, der Mittelwert bei 8,1 ng/ml, der Median betrug 6,9 ng/ml und die

Standardabweichung 6,2 ng/ml. Bei den bereits metastasierten, jedoch noch hormonsensitiven Prostatakarzinompatienten lagen die PSA-Werte zwischen 0 ng/ml und 4757 ng/ml, der Mittelwert bei 407,5 ng/ml, der Median bei 15,55 ng/ml und die Standardabweichung bei 1257,6 ng/ml. Die Patienten mit metastasierten, hormonrefraktären Prostatakarzinomen hatten PSA-Werte zwischen 5,08 ng/ml und 862 ng/ml, einen Mittelwert von 207,9 ng/ml, einen Median von 125 ng/ml und eine Standardabweichung von 251,1 ng/ml. Die Patienten dieser Studie, bei denen histopathologisch gesichert kein Prostatakarzinom vorlag, hatten PSA-Werte zwischen 1,31 ng/ml und 31,8 ng/ml, einen Mittelwert von 9,7 ng/ml, einen Median von 7,17 ng/ml und eine Standardabweichung von 8,2 ng/ml.

Die Angaben zum durchschnittlichen PSA-Wert zum nächstmöglichen Zeitpunkt vor der Operation in den jeweiligen Patientengruppen sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

Tabelle 3: Beschreibung des Patientenkollektives bezogen auf Alter zum Operationszeitpunkt und PSA zum nächstmöglichen Zeitpunkt vor Operation. Mit Einteilung in Patientengruppen.

	Patienten mit Prostatakarzinom				Patienten ohne Prostatakarzinom
Anzahl	85				26
Medianes Alter bei Operation	66 (Mittelwert: 67,6; Altersspanne: 51-95)				71 (Mittelwert: 70,5; Altersspanne: 55-82)
PSA zum nächstmöglichen Zeitpunkt vor der Gewebegewinnung (Mittelwert)	116,8 (n=81) (±541,1; Median: 8,6)				9,7 (n=20) (±8,2; Median: 7,2)
	Patienten mit nicht-metastasiertem Prostatakarzinom (M0)	Patienten mit metastasiertem Prostatakarzinom (M1)		Patienten ohne Prostatakarzinom	
Anzahl	53	32		26	
Medianes Alter bei Operation	65 (Mittelwert: 64,4; Altersspanne: 51-78)	72 (Mittelwert: 72,8; Altersspanne: 54-95)		71 (Mittelwert: 70,5; Altersspanne: 55-82)	
PSA zum nächstmöglichen Zeitpunkt vor der Gewebegewinnung (Mittelwert)	8,4 (n=51) (±5,9; Median: 6,8)	301,0 (n=30) (±867,1; Median: 53)		9,7 (n=20) (±8,2; Median: 7,2)	
	Low-Gleason	High-Gleason	Hormonsensitiv	Hormonrefraktär	Patienten ohne Prostatakarzinom
Anzahl	28	25	14	18	26

Medianes Alter bei Operation	63 (Mittelwert: 63,1; Altersspanne: 51-72)	66 (Mittelwert: 65,8; Altersspanne: 57-78)	73,5 (Mittelwert: 73,8; Altersspanne: 54-95)	71,5 (Mittelwert: 72,05; Altersspanne: 56-84)	71 (Mittelwert: 70,5; Altersspanne: 55-82)
PSA zum nächstmöglichen Zeitpunkt vor der Gewebegewinnung (Mittelwert)	8,6 (n=28) (±5,7; Median: 6,3)	8,1 (n=23) (±6,2; Median: 6,9)	407,5 (n=14) (±1257,6; Median: 15,6)	207,9 (n=16) (±251,1; Median: 125)	9,7 (n=20) (±8,2; Median: 7,2)

Von den 32 Patienten mit einem metastasierten Prostatakarzinom erhielten 28 eine antiandrogene Therapie, wobei bei diesen die Dauer der Therapie im Durchschnitt bei 32,3 Monaten lag (Median: 15 Monate, Standardabweichung: 40,6 Monate). Die Spanne in der Therapiedauer erstreckte sich von einem Monat bis hin zu 180 Monaten.

Bei 110 der Patienten des für diese Studie verwendeten Kollektivs konnte der Diabetesstatus eruiert werden. Hier zeigte sich, dass 91 der Patienten nicht an Diabetes mellitus erkrankt waren, 18 Patienten litten unter einen Diabetes mellitus Typ 2 und 1 Patient hatte einen Prädiabetes. Es gab in dieser Studie keinen Patienten, der an Diabetes mellitus Typ 1 erkrankt war. Damit hatten 16,4% der Patienten dieses Kollektivs einen Diabetes mellitus Typ 2.

Bezogen auf die einzelnen Gewebegruppen zeigte sich, dass sich diese 18 Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 wie folgt verteilen. In der Gruppe der Patienten ohne Prostatakarzinom hatten 6 von 26 Patienten einen Diabetes mellitus Typ 2 und damit 23,08% der Patienten. 1 Patient von 28 in der Gruppe der nicht-metastasierten low-Gleason-Tumoren hatte einen Diabetes mellitus Typ 2 und zusätzlich hatte 1 Patient einen Prädiabetes, was jeweils 3,57% entspricht. In der nicht-metastasierten high-Gleason-Tumor-Gruppe hatten 5 von 25 Patienten einen Diabetes mellitus Typ 2, also 20% der Patienten. In der Gruppe der hormonsensitiven, metastasierten Prostatakarzinompatienten wurde bei einem von 13 Patienten ein Diabetes mellitus Typ 2 festgestellt und damit bei 7,69%. In dieser Gruppe konnte bei einem Patienten der Diabetesstatus nicht evaluiert werden. 5 von 13 Patienten in der Gruppe der hormonrefraktären, metastasierten Prostatakarzinome hatten einen Diabetes mellitus Typ 2 und damit 27,78%.

Zusammengefasst gab es bei den nicht-metastasierten Prostatakarzinomen unter 53 Patienten 6 Diabetiker somit waren nur 11,3% dieser Gruppe Diabetiker. Zusätzlich

kam hier ein Patient mit Prädiabetes hinzu. Unter den Patienten mit metastasierten Prostatakarzinomen hatten von 31 Patienten 6 einen Diabetes und somit waren 19,35% der Patienten in dieser Gruppe Diabetiker. Prozentual am stärksten vertreten, mit 23,08%, waren die Diabetiker bei den Patienten ohne Prostatakarzinom.

II.8 AUFARBEITUNG DER GEWEBEPROBEN

Die verwendeten Organpräparate oder Resektionsgewebe wurden allesamt in Formalin fixiert. Diese Fixierung fand durch eine 24 stündige Lagerung in 4,5%iger, neutral pH gepufferter Formaldehyd-Lösung (SAV-Formaldehydlösung neutral gepuffert 4,5%, SAV-LP, Flintsbach) statt.

Die Präparate aus radikalen Prostatektomien wurden dann analog zum Stanford-Protokoll (Stamey et al., 1988) weiterverarbeitet und mittels einer Schneidemaschine (V6, Bizerba, Balingen, Deutschland) geschnitten. Die Schnitte verliefen horizontal mit einem Abstand von 3mm, zuvor wurden jedoch die Samenblasen, die Apex und die Basis der Prostata entfernt. Die Schnitte verblieben jeweils alternierend im Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Tübingen zur routinemäßigen histopathologischen Beurteilung, welches uns freundlicherweise die übrigen Schnitte für diese Studie zur Verfügung stellte.

Aus den transvesikalen Adenomenukleationen der Prostata (TVP) und den Zystoprostatektomien wurden jeweils im Rahmen des histopathologischen Routinezuschnitts repräsentative Gewebeelemente identifiziert und aufgearbeitet.

Gewebeproben aus transurethralen Resektionen der Prostata (TUR-P) entstanden durch Kompletteinbettung des Resektionsgewebes.

Diese Schritte waren bei den Gewebeproben aus transvesikalen Adenomenukleationen der Prostata (TVP) und transurethralen Resektionen der Prostata (TUR-P) nicht notwendig, da dabei keine entsprechend großen Präparate anfallen, die geschnitten werden müssten.

Nach dem Dehydrieren des Gewebes an einem entsprechend konfigurierten Automaten (Shandon Pathcentre, Thermo scientific, Waltham, MS, USA) erfolgte die Gewebereinbettung in Paraffin. Die Gewebeproben aus Zystoprostatektomie, TVP und TUR-P wurden in herkömmlichen Routine Einbettkassetten von der Firma Langenbrick (Emmendingen, Deutschland) platziert. Im Falle von Prostatektomiepräparaten

erfolgte eine Einbettung der Großflächenlamellen in größeren Einbettkassetten (Makroflow, Mikrom, Walldorf). Das Ausgießen der Kassetten mit Paraffin erfolgte ebenfalls in der Pathologie des Universitätsklinikums an einer Gießstation (MPS/W, SLEE, Mainz, Deutschland).

Bei den Gewebeproben aus radikalen Prostatektomien wurden anschließend mittels eines Mikrotoms (Rotationsmikrotom 1512, Leitz, Wetzlar, Deutschland) 5µm dicke Großflächenschnitte hergestellt und zur histopathologischen Verifizierung mit Hämatoxylin-Eosin (H.E.) gefärbt. Diese Verifizierung der Tumorareale und bei den benignen Gewebeproben aus Zystoprostatektomien die Bestätigung der drüsenhaltigen Areale wurde freundlicherweise durch den erfahrenen Pathologen Dr. Marcus Scharpf durchgeführt. Zu diesem Zweck markierte er mit einem Filzstift auf jedem Objektträger die Tumorareale bzw. die benignen drüsenhaltigen Areale. Die markierten Objektträger konnten dann als eine Schablone für den jeweiligen Paraffinblock verwendet werden, wodurch das gezielte Stanzen der entsprechend benötigten Arealen des Präparats für die Herstellung der Tissue-Microarrays ermöglicht wurde. Von den Gewebeproben aus TUR-P und TVP wurden zur Verifizierung durch Dr. Marcus Scharpf Hämatoxylin-Eosin (H.E.) Färbungen angefertigt und bei den tumorfreen Gewebeproben aus TVP und TUR-P bei Vorliegen einer benignen Prostatahyperplasie die drüsenhaltigen Areale markiert. Bei den Gewebeproben aus palliativer TUR-P wurden analog hierzu die tumortragenden Areale markiert.

II.9 TISSUE MICROARRAY (TMA)

Kononen et al. verwendeten 1998 als erste die Tissue Microarray-Technik. Diese Technik hat große Vorteile für die Untersuchung z.B. biologischer und genetischer Variationen in Tumorgeweben. Bei dieser Technik werden, wie in Abbildung 7 ersichtlich, zylindrische Stanzen von Gewebeproben entnommen und mehrere dieser Gewebezyylinder nebeneinander und je nach Bedarf in mehreren Reihen, schachbrettförmig geordnet in ein Paraffinblock eingebettet. Aus diesem Paraffinblock können mindestens 200 Schnitte in 4-8 µm dicke angefertigt werden, wenn die entnommenen Proben groß genug sind und dadurch können an den gleichen Stanzen der Gewebeproben eine Vielzahl an Untersuchungen durchgeführt werden. (Kononen et al., 1998)

II.9.1 ERSTELLUNG DER TISSUE MICROARRAYS (TMA)

Zur Herstellung dieser Tissue Microarrays wurde ein Tissue Microarrayer (MTA-I, Beecher Instruments Inc., Sun Prairie, Wisconsin, USA) vom urologischen Labor des Universitätsklinikums Tübingen verwendet. Zur richtigen (und für spätere Auswertungen nachverfolgbaren) Anordnung der Stanzzyylinder wurden vorab Array-Maps (Ausschnitt einer Array-Map in Abbildung 6 ersichtlich) erstellt auf denen die Gewebeproben anhand ihrer Pathologienummer den Patienten zugeordnet werden konnten. Außerdem wurden auf den Array-Maps weitere Informationen vermerkt wie beispielsweise bei den Gewebeproben aus radikalen Prostatektomien der entsprechende Gleason-Score und die damit verbundene Zuordnung in die high- oder low-Gleasongruppe des Kollektives und der Entnahmeort der Stenzen (direkt vom Tumor, nah am Tumor, fern vom Tumor). Bei der Planung der Array-Maps wurde darauf geachtet, dass die Gewebeproben von Patienten welche histopathologisch gesichert tumorfreie Prostaten hatten und von Patienten mit fortgeschrittenen, bereits metastasierten und palliativ mittels transurethraler Resektion der Prostata (TUR-P) behandelten Prostatakarzinomen zwischen die high- und low-Gleason Gewebeproben gemischt wurden. Dadurch sollte eine Verfälschung in der Auswertung vermieden werden, da bei diesen andersartigen Gewebeproben möglicherweise ein deutlich unterschiedliches Färbeergebnis vorliegen könnte. Außerdem wurden sogenannte Landmarken aus Schweinemuskelgewebe, welches sich deutlich von Prostatagewebe unterscheidet, in unterschiedlicher Anordnung und an unterschiedlichen Stellen in die Arrays eingeplant, um später eine zuverlässige Identifizierung der Schnitte gewährleisten zu können.

K [redacted] Low GL S:4 P:3+4: 7 Fern	K [redacted] High GI S:10 P:4+4: 8 Tumor	K [redacted] High GI S:10 P:4+4: 8 Tumor
SCHWEIN	K [redacted] Low GL S:4 P:3+4: 7 Tumor	K [redacted] Low GL S:4 P:3+4: 7 Tumor
K [redacted] High GI S:5 P:4+5: 9 Nah	K [redacted] High GI S:5 P:4+5: 9 nah	K [redacted] High GI S:5 P:4+5: 9 Fern

Abbildung 6: Exemplarischer Ausschnitt einer für diese Studie erstellte Array-Map (die Pathologienummern wurden zum Datenschutz geschwärzt)

Zur Anfertigung der Tissue Microarrays wurden dann aus den wie oben (siehe Kapitel II.8 Aufarbeitung der Gewebeprobe) beschrieben vorbereiteten Gewebeprobe, welche nun den Spenderblock darstellten, Stanzen mit einem Durchmesser von 0,6mm entnommen. Diese wurden dann in einen Empfängerblock aus Paraffin gemäß der Reihenfolge auf den Array-Maps, in dort vorher ebenfalls durch Stanzen geschaffene zylindrische Hohlräume, eingebracht. Der Ablauf des Stanzens und der Übertragung der Gewebeprobe in den Empfängerblock wird schematisch in Abbildung 7 gezeigt. Die Abstände, in welchen die Stanzzylinder in den Empfängerblock eingebracht waren, lagen bei 1mm und in einem Array wurden bis zu 64 (8x8) Gewebeprobe verarbeitet. Nun wurden die fertigen Empfängerblöcke noch angeschmolzen, um somit die durch das Stanzen entstandenen Löcher zu verschließen, wodurch ein Herausrutschen der Gewebeprobe verhindert werden sollte.

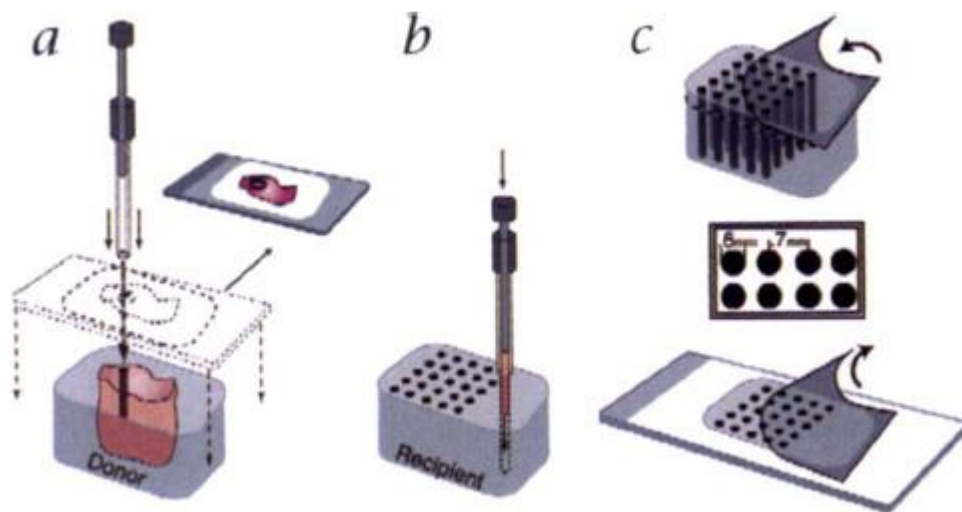


Abbildung 7: Tissue Microarray Herstellung. **a** Gewebeentnahme in Form von Stanzzyklindern. Es wird dabei Gewebe aus ausgewählten Regionen entnommen. Hierzu wird ein H.E.-gefärbter Großflächenschnitt als Schablone verwendet. **b** Transfer der Gewebestücken in vorher definierter Position in den Empfängerblock aus Parafin. **c** Ein Klebefilm wird zu Erleichterung des Schneidevorgangs auf den Parafinblock aufgebracht. (Kononen et al., 1998)

Im Anschluss daran wurden aus diesen Empfängerblöcken mit Hilfe eines Mikrotoms (Leitz Rotationsmikrotom 1512, Ernst Leitz GmbH, Wetzlar, Deutschland) 4-6 μm dünne Schnitte angefertigt. Die Schnitte wurden nun in einem Wasserbad (TFB 45, Medite GmbH, Burgdorf) bei 48°C geglättet, auf Superfrost-Plus-Objektträger (Langenbrinck, Emmendingen) aufgezogen und in einem Wärmeschrank (ED 35, WTB Binder/Tuttlingen) über Nacht bei 37°C getrocknet.

Durch das Schneiden in dünne Schnitte entstehen aus den Gewebeprobenzylindern runde Gewebepunkte auf den Objektträgern im Durchmesser der Stanzzyklinder, welche auch als Dots bezeichnet werden.

In der ursprünglichen Planung dieser Studie war vorgesehen, dass von den Patienten mit histopathologisch gesichert tumorfreien Prostata, sowie von Patienten mit fortgeschrittenen, metastasierten Prostatakarzinomen jeweils zwei Gewebedots entnommen werden. Von Patienten mit lokal begrenzten Prostatakarzinomen war geplant je zwei Stenzen aus dem Tumorgewebe zu entnehmen und zusätzlich 4 Stenzen aus Gewebe angrenzend an den Tumor mit Entnahmeort nah am Tumor und 2 Stenzen mit Entnahmeort fern vom Tumor.

Da jedoch bei einer ersten Sichtung der nun fertigen Objektträger auffiel, dass sich einige Stanzzyylinder aus den Empfängerblöcken gelöst hatten und dass auf manchen Arrays einige Gewebedots defekt waren, wurden Nachstanzen angefertigt um den Ausfall dieser Dots für die Auswertung zu reduzieren.

II.10 IMMUNHISTOCHEMISCHE FÄRBUNGEN

II.10.1 ALLGEMEINE INFORMATIONEN ZUR IMMUNHISTOCHEMIE

Durch die immunhistochemische Färbung können gezielt bestimmte Proteine sichtbar gemacht werden und dadurch Rückschlüsse auf die Expression der dafür kodierenden Gene geschlossen werden. Das Funktionsprinzip dahinter ist, dass durch eine Antigen-Antikörperbindung bestimmte Epitope der Proteine, welche als Antigen fungieren, durch bei der Färbung verwendete Antikörper markiert werden. Diese durch die Antikörper markierten Epitope können nun durch Nachweismethoden sichtbar gemacht werden, wobei es hier je nach Art der immunhistochemischen Färbung unterschiedliche Nachweismethoden gibt.

Bei den gängigsten Nachweismethoden wird ein Farbstoff appliziert, welcher erst durch eine enzymatische Reaktion sichtbar gemacht werden muss. Es gibt hierbei direkte und indirekte Nachweismethoden. Der Unterschied ist, dass bei der direkten Nachweismethode das Enzym zum Sichtbarmachen des Farbstoffes direkt an den Antikörper gekoppelt vorliegt und bei der indirekten Nachweismethode bindet ein zweiter, enzymgekoppelter Antikörper an das Fc-Element des antigenbindenden Antikörpers. Bei beiden Nachweismethoden wird jedoch mehr Farbstoff gebildet, je mehr Antigen vorliegt, an das die Antikörper binden können.

II.10.2 AVIDIN-BIOTIN-PEROXIDASE-KOMPLEX -METHODIK (ABC-METHODIK) BEI DER PROTEINKINASE B (AKT)- UND INSULIN-REZEPTOR β -SUBUNIT-FÄRBUNG

Die Färbungen zur Untersuchung des Expressionsverhaltens der Proteinkinase B (Akt) und der Insulin-Rezeptor β -subunit wurden beide mit dem Dako REAL™ Detection System durchgeführt. Es handelt sich bei beiden Färbungen um indirekte Nachweismethoden, welche mit der Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplex-Methodik (ABC-Methode) funktionieren.

Bei der Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplex-Methodik handelt es sich um eine einfache und trotzdem sensitive Färbungsmethode mit der man Antigene in Formalin-fixiertem Gewebe nachweisen kann. (Hsu et al., 1981b)

Avidin ist ein Glykoprotein, welches eine extrem große Affinität zu dem Vitamin Biotin hat. Bei der hier verwendeten Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplex-Methodik kommen sekundäre Antikörper zum Einsatz, welche kovalent gebundene Biotinmoleküle tragen. Diese passen zum primären Antikörper, welcher das Zielantigen markiert. Anschließend wird ein Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplex hinzugegeben, welcher eine ebenfalls kovalent an ein Biotinmolekül gebundene Peroxidase hat. An dieses Biotinmolekül bindet das Avidin und über dieses Avidin als Brückenmolekül wird das Biotin des Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplexes an das Biotin des sekundären Antikörpers gebunden. (Hsu et al., 1981b, Hsu et al., 1981a)

Die eigentliche Färbung entsteht dann durch eine Peroxidasereaktion. Zu dieser Reaktion wird zusätzlich Wasserstoffperoxid, was durch die Peroxidase in Wasser Sauerstoff umgewandelt wird, und ein Chromogen benötigt (in diesem Fall 3,3-Diaminobenzidin Tetrahydrochlorid (DAB)), welches bei der Reaktion oxidiert wird und damit braun färbt.

II.10.3 DURCHFÜHRUNG DER FÄRBUNGEN

Für diese Studie wurden folgende Antikörper verwendet:

- Akt (pan) (40D4) Mausantikörper mAb #2920 von der Firma Cell Signaling Technolog Inc. (Beverly, MA, USA). Laut Hersteller färbt dieser Antikörper alles endogen vorhandene Akt an und kreuzreagiert nicht mit anderen verwandten Proteinen.
- Insulin R β (H-70): sc-20739 von der Firma Santa Cruz Biotechnology Inc. (Dallas, TX, USA). Dabei handelt es sich um einen polyklonalen Kaninchen-Antikörper, welcher sich gegen die Aminosäuren 941-1010 der humanen Insulinrezeptor β -subunit richtet.

Nachdem die Gewebeproben wie in Kapitel II.9.1 Erstellung der Tissue Microarrays beschrieben auf den Objektträgern fixiert wurden, mussten sie zunächst entparaffiniert und rehydriert werden, da es ansonsten zur Verfälschung der Färbungen kommen kann.

Zur Entparaffinierung wurden die Präparate für die beiden immunhistochemischen Färbungen jeweils zunächst zur Abschmelzung des Paraffins für 30 Minuten bei 58°C in einen Wärmeschrank (ED 35, WTB Binder/Tuttlingen) gelegt und anschließend dreimal für 10 Minuten mit dem Lösungsmittel Xylol behandelt. Die darauffolgende Rehydrierung wurde mit Hilfe einer Alkoholreihe mit absteigender Konzentration durchgeführt. Hierzu wurden die Präparate zweimal für jeweils 5 Minuten mit 100%igem Ethanol, anschließend zweimal für jeweils 5 Minuten mit 96%igem Ethanol und schlussendlich einmal für 5 Minuten mit 70%igem Ethanol behandelt. Anschließend wurden die Präparate noch für 30 Minuten in 3%igem Wasserstoffperoxid (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) inkubiert, da dies die durch eine endogene Peroxidaseaktivität hervorgerufene Hintergrundfärbung reduziert. Zum Abschluss wurde für 5 Minuten eine Spülung mit einem aus 0,05M Tris mit pH 7,6 und 0,15M NaCl sowie 0,1% Tween20 bestehenden TBST (TRIS buffered Saline with Tween 20) durchgeführt.

Durch die Fixierung der Präparate kann es zu einer Antigenmaskierung kommen, welche die immunhistochemische Färberaktion verfälschen kann. Deshalb sollte vor der eigentlichen Färbung eine Demaskierung durchgeführt werden. Zum Demaskieren wurden in diesem Fall die Präparate in einem Citratpuffer (10 mM, pH 6,0) gekocht. Der Citratpuffer besteht aus Zitronensäure-Monohydrat und Natriumcitrat-Dihydrat. Die damit behandelten Präparate wurden in einer Mikrowelle (Moulinex Micro Chef MO 500) bei 600 Watt für zum Kochen gebracht. Dabei wurden die Präparate für die Proteinkinase B (Akt) Färbung für 20 Minuten und die Präparate für die Insulinrezeptor β -subunit Färbung für 15 Minuten zum Kochen gebracht und anschließend kühlten alle Präparate und der Citratpuffer bei Raumtemperatur für 30 Minuten ab.

Nach der Demaskierung wurden alle Präparate nochmal für 3 mal 5 Minuten mit TBST (TRIS buffered Saline with Tween 20) gespült.

Anschließend wurden für beide Färbungen die Präparate für 15 Minuten in einer Avidin-Lösung inkubiert und danach zweimal für 5 Minuten mit TBST (TRIS buffered Saline with Tween 20) gespült. Im Weiteren wurden die Präparate für 15 Minuten in einer Biotin-Lösung inkubiert und danach wieder für zweimal 5 Minuten mit TBST (TRIS buffered Saline with Tween 20) gespült. Zur Inkubation mit der Avidin- und Biotin-Lösung wurde dabei der Avidin/Biotin Blocking-Kit (Vector Blocking-Kit SP-2001, Vector Laboratories, Burlingame, USA) verwendet.

Im nächsten Schritt wurden jeweils die primären Antikörper der entsprechenden Färbung hinzugefügt. Diese mussten zuvor jedoch mit Hilfe von Dako REAL™ Antibody Diluent der Fa. Agilent Technologies (Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland) in festgelegten Verhältnissen verdünnt werden. Bei der Proteinkinase B (Akt) Färbung war das Verdünnungsverhältnis von dem Antikörper zu dem Verdünnungsmedium (Dako REAL™ Antibody Diluent, Agilent Technologies) 1:1000, bei der Insulinrezeptor-β-subunit-Färbung hingegen betrug das Verhältnis 1:100. Die Präparate wurden jeweils bei 4°C über Nacht mit den Antikörpern inkubiert.

Daraufhin wurden alle Präparate erneut dreimal für 5 Minuten mit TBST (TRIS buffered Saline with Tween 20) gewaschen.

Als nächstes wurden die Präparate für beide Färbungen für jeweils 30 Minuten mit dem sekundären Antikörper (Fertigreagenz aus Kit, Dako REAL™ Detection System, Agilent Technologies) bei Raumtemperatur inkubiert und anschließend wieder dreimal für 5 Minuten mit TBST (TRIS buffered Saline with Tween 20) gespült.

Danach wurden alle Präparate für 30 Minuten mit einem Streptavidin-Biotin-Komplex (Fertigreagenz aus Kit) inkubiert und danach wieder dreimal für 5 Minuten mit TBST (TRIS buffered Saline with Tween 20) gewaschen.

Um nun die Färbereaktion einzuleiten, wurden die Präparate mit einem Färbesubstrat aus 1000µl Substratpuffer und 20µl 3,3-Diaminobenzidin Tetrahydrochlorid (DAB) inkubiert. Die Präparate der Proteinkinase B (Akt) Färbung wurden hierbei für 2 Minuten und die Präparate der Insulinrezeptor β-subunit Färbung für 7 Minuten inkubiert. Im Anschluss mussten alle Präparate für zweimal 5 Minuten mit destilliertem Wasser gespült werden, um die Färbereaktion zu stoppen. Diese Färbereaktion hat eine Braunfärbung der mit Antikörpern markierten Anteile des Präparats zufolge.

Die anschließende Gegenfärbung mit Hämatoxylin nach Mayer wurde bei der Proteinkinase B (Akt) Färbung für 30 Sekunden und bei der Insulinrezeptor β-subunit Färbung für 20 Sekunden durchgeführt und danach wurden alle Präparate für 7 Minuten mit Leitungswasser gespült, was zu einer Erhöhung des pH-Wertes führt. Die Erhöhung des pH-Wertes bewirkt in diesem Zusammenhang eine stärkere Blaufärbung.

Zum Schluss musste nun eine Dehydratation aller Präparate durchgeführt werden. Hierzu wurden sie erst zweimal für je 3 Minuten mit 96%igem Alkohol, anschließend zweimal für je 5 Minuten mit 100%igem Alkohol und zum Schluss dreimal für je 5 Minuten mit Xylol behandelt.

Zur Fixierung der Färbung wurden die Präparate abschließend noch mit Vecta-Mount (Vector Laboratories) Eindeckmedium und einem Deckglas eingedeckt.

II.11 AUSWERTUNG DES EXPRESSIONSVERHALTENS DER IMMUNHISTOCHEMISCHEN FÄRBUNGEN

Bei der Auswertung der Färbeintensitäten wurden ausschließlich die Zellen des Drüsenepithels, mit der in der Einteilung vorgesehenen Gewebedignität, berücksichtigt. Um diese besser beurteilen zu können, wurde vor der Auswertung eine Einarbeitungsphase am Lichtmikroskop (Zeiss Universal, Carl Zeiss, Jena, Deutschland) durchgeführt.

Die Auswertung aller auf dem Array befindlichen Dots bezüglich ihrer Färbeintensität erfolgte anhand digitaler Abbildungen der mit Hilfe eines Objektträger-Scanner (Leica Slide Scanner SCN400, Leica Biosystems GmbH, Nussloch, Deutschland) eingescannten Präparate. Die digitalisierten Dots konnten mit Hilfe des frei erhältlichen Programms Aperio ImageScope (Leica Biosystems GmbH, Nussloch, Deutschland) betrachtet werden. Mit Hilfe dieses Programmes konnten die Dots bis zu einer 200-fachen Vergrößerung dargestellt werden. Um bei der Auswertung eine bestmögliche Vergleichbarkeit zu erzielen, wurde sie stets an dem gleichen Bildschirm durchgeführt und um die Genauigkeit der Auswertung zu verbessern wurde hierzu ein Fernseh Bildschirm (LG 49LJ515V, 49 Zoll, full HD) verwendet, da sich damit eine bessere Bildqualität erzielen lies und durch das größere Bild die Auswertung leichter fiel als an einem Computerbildschirm.

II.11.1 ENTWICKLUNG EINES GEEIGNETEN SCORES FÜR DIE AUSWERTUNG DER FÄRBEINTENSITÄTEN

Es zeigte sich bei der Einarbeitungsphase, dass die Färbung der jeweiligen Dots nicht homogen war, sondern dass mehrere Färbeintensitäten innerhalb eines Dots vorlagen. Daher wurde ein semiquantitativer H-Score (Detre et al., 1995, Kitawaki et al., 1999, Maygarden et al., 1994) entwickelt. Ein solcher H-Score erschien am sinnvollsten, da bei den Färbungen der Proteinkinase B (Akt) und der Insulin-Rezeptor- β -subunit die

Dots eine hohe Heterogenität in ihrem Färbeverhalten zeigten (Maygarden et al., 1994).

Es wurde nach der Einarbeitungsphase beschlossen, dass sowohl für die Proteinkinase B (Akt)-Färbung als auch für die Insulin-Rezeptor- β -subunit-Färbung wie in den Abbildungen 8 und 9 ersichtlich fünf Abstufungen der Färbeintensitäten ausgewählt werden. Diese ordneten sich von Stufe 0, was ungefärbten Drüsenzellen entsprach, über leicht gefärbte (Stufe 1), mäßig gefärbte (Stufe 2), stark gefärbte (Stufe 3) bis hin zu maximal gefärbten Drüsenzellen, welche der Stufe 4 zugeordnet wurden.

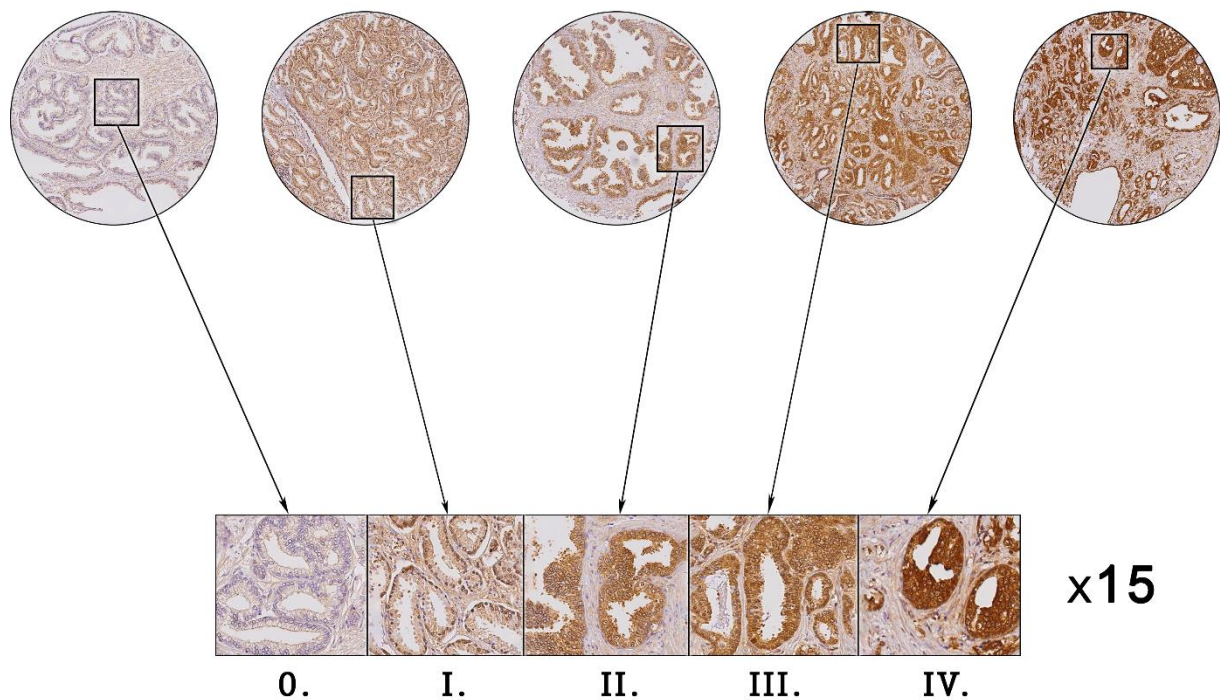


Abbildung 8: Beispielhaft ausgewählte Gewebedots mit jeweils einem eingekreisten Bereich, welcher darunter 15-fach vergrößert dargestellt ist. Die 15-fach vergrößerten Ausschnitte sind in Form einer Eichgerade mit den Färbeintensitäten 0-IV der Proteinkinase B (Akt) Färbung zusammengestellt.

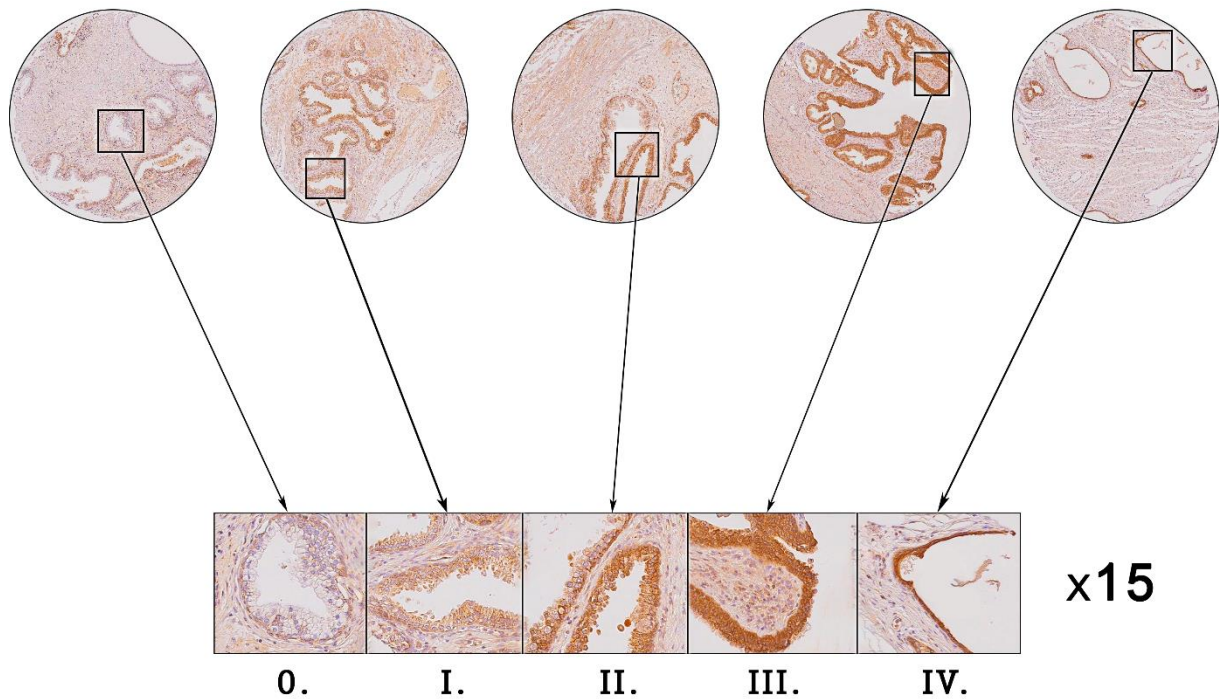


Abbildung 9: Beispielhaft ausgewählte Gewebedots mit jeweils einem eingezeichneten Bereich, welcher darunter 15-fach vergrößert dargestellt ist. Die 15-fach vergrößerten Ausschnitte sind in Form einer Eichgerade mit den Färbestufen 0-IV der Insulinrezeptor β -subunit Färbung zusammengestellt.

Bei der Auswertung anhand des beschriebenen H-Scores entsprach das gesamte Drüsenepithel innerhalb eines Dots 100% der bezüglich der Färbung auszuwertenden Zellen. Außerdem wurden bei Tumordots nur maligne veränderte Drüsenzellen bewertet und bei den angrenzenden Dots wurde darauf geachtet, dass sie nur benignes Drüsengewebe enthielten. Es wurde beschlossen, dass die Färbestufen in 5% Schritten den Färbestufen zugeordnet werden und so in die Auswertung eingehen, um die Heterogenität zu berücksichtigen.

Um letztendlich einen Score-Wert zu erhalten, wurden die jeweiligen in einem Dot gefundenen Färbestufen mit den Prozentzahlen multipliziert, mit denen sie in diesem Dot aufgetreten waren und diese Werte addiert.

Beispiel: Finden sich in einem Dot 20% der Färbestufe 0, 20% der Färbestufe 1, 20% der Färbestufe 2, 20% der Färbestufe 3, 20% der Färbestufe 4, errechnet der Score-Wert folgendermaßen $(20 \times 0) + (20 \times 1) + (20 \times 2) + (20 \times 3) + (20 \times 4) = 0 + 20 + 40 + 60 + 80 = 200$.

Daraus ergibt sich, dass der niedrigstmögliche Score-Wert 0 beträgt (bei 100% Färbestufe 0) und der höchstmögliche Score-Wert 400 beträgt (bei 100% Färbeintensität 4).

II.11.2 DURCHFÜHRUNG DER AUSWERTUNG

Für die Auswertung wurden nach Sichtung aller Dots des Arrays repräsentative Bereiche ausgesucht, welche der entsprechenden Färbeintensität von 0-4 entsprachen. Von diesen Bereichen wurden aus dem Programm Aperio ImageScope (Leica Biosystems GmbH, Nussloch, Deutschland) Bildschirmabgriffe gemacht um diese als Referenzbilder für das weitere Mikroskopieren nutzen zu können. Durch das Mikroskopieren mit Hilfe der digitalisierten Präparate war es möglich die Referenzbilder auf dem Bildschirm direkt neben den zu mikroskopierenden Bereichen der jeweiligen Dots zu betrachten und somit einen optimalen Vergleich der Färbeintensität mit der Färbestufe zu erzielen.

Alle Dots wurden vorerst in zwei Durchläufen jeweils einmal mikroskopiert und die Ergebnisse, nämlich der Farbe-Score sowie die maximal vorzufindende Färbeintensität, verblindet auf jeweils einer Arraymap dokumentiert.

Anschließend an diese zwei Auswertungsdurchläufe wurden die Ergebnisse des Farbe-Scores der jeweiligen Dots miteinander verglichen und um mögliche Auswertungsfehler zu minimieren wurde vorab festgelegt, dass ein dritter Auswertungsdurchlauf angeschlossen werden muss, falls eine zu große Differenz zwischen den Ergebnissen vorlag. Hierfür wurden Grenzwerte festgelegt, ab welchem eine dritte Auswertungsrunde durchgeführt werden musste. Die Grenzwerte wurden entsprechend dem vorliegenden Farbe-Score abgestuft, da bei niedrigen Farbe-Score Ergebnissen eine kleinere Differenz relativ gesehen bereits einen größeren Einfluss hat. Bei Farbe-Score Ergebnissen im Bereich von 0-100 wurde der Grenzwert auf ≥ 10 festgelegt, im Bereich von 101-200 auf ≥ 20 , im Bereich von 201-300 auf ≥ 30 und im Bereich 301-400 auf ≥ 35 festgelegt.

Ebenfalls wurde vorab festgelegt, wie mit den Ergebnissen verfahren werden soll, wenn sie entweder oberhalb oder unterhalb des Grenzwertes lagen. Lagen die Ergebnisse aus den ersten beiden Auswertungsrunden unterhalb des Grenzwertes, wurde von diesen der Mittelwert gebildet und dieser Wert entsprach dann dem endgültigen in die Statistik eingehenden Wert für diesen Dot. Lagen die Ergebnisse

aus den beiden Auswertungsrunden oberhalb des Grenzwertes, folgte eine dritte Auswertungsrunde und nun mussten die drei vorliegenden Ergebnisse genauer betrachtet werden. War das Ergebnis aus der dritten Auswertungsrunde identisch mit einem der Werte aus den ersten beiden Auswertungsrunden, wurde dieser Wert verwendet. Entsprach das Ergebnis der dritten Auswertungsrunde genau dem Mittelwert aus den ersten beiden Auswertungsrunden, wurde dieser Mittelwert verwendet und wenn der Wert aus der dritten Auswertungsrunde einem der beiden Werte aus den ersten beiden Auswertungsrunden ähnlicher war, wurde von diesen beiden der Mittelwert verwendet und der Ausreißer-Wert verworfen.

II.11.3 WEITERVERARBEITUNG DER AUSWERTUNGSERGEBNISSE IN DER DATENBANK

Die durch die Auswertung entstandenen Ergebnisse wurden nun in die Datenbank in Form einer Excel-Tabelle eingetragen und somit schlussendlich den Patienten und den entsprechenden Gewebegruppen (siehe Kapitel II.6.4 Einteilung in Gewebegruppen) wieder zugeordnet.

Wenn innerhalb einer Gewebegruppe bei einem Patienten mehrere Dots auswertbar waren, wurden alle Ergebnisse einzeln eingetragen und von diesen zusätzlich noch der Mittelwert gebildet und dieser ebenfalls in der Datenbank vermerkt. Außerdem wurde die maximal gefundene Färbe-Intensität aus dieser Gewebegruppe bei dem entsprechenden Patienten eingetragen.

II.12 STATISTIK

Die für diese Arbeit verwendeten Daten wurden alle in Form einer Datenbank gesammelt, welche mit Hilfe von Microsoft Excel 2016[®] erstellt wurde. Für die statistische Auswertung wurde das Programm JMP 13.0.0[®] (SAS Institute, Cary, North Carolina, USA) verwendet.

Zur Untersuchung der Verteilungen der erhobenen Daten wurden die jeweiligen Normal-Quantil Plots betrachtet sowie nachgeschaltet der Shapiro-Wilk Test (Shapiro & Wilk, 1965) zur Prüfung einer vorliegenden Normalverteilung ausgewertet.

Da die zugrunde liegenden Daten keine Normalverteilung aufwiesen, wurden stets nichtparameterfreie statistische Tests angewendet. Zur Untersuchung auf lineare Zusammenhänge zwischen den stetigen Daten der Färbeintensitäten wurde

Spearman's Rangkorrelationskoeffizient (Spearman's rho) (Spearman, 1904) eingesetzt. Zur Testung signifikanter Unterschiedlichkeit gruppierter stetiger Daten kam der Wilcoxon-Mann-Whitney-Test (Wilcoxon-Test) (Mann & Whitney, 1947) zum Einsatz. Als nachgeschaltete Tests im Falle von mehr als zwei Gruppen wurde jeweils der Wilcoxon-Mann-Whitney-Test für alle Paare durchgeführt.

Bei mehrfacher Testung wurde stets das Signifikanzniveau nach Bonferroni korrigiert, um einer Alphafehlerkumulierung entgegen zu wirken. (Bonferroni, 1936, Abdi, 2007)

III ERGEBNISSE

III.1 EXPRESSIONSVERHALTEN DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT UND DER PROTEINKINASE B (AKT) IN DER IMMUNHISTOCHEMIE

Bezüglich der Expression zeigte sich bei der immunhistochemischen Färbung der Insulinrezeptor β -subunit sowie der Proteinkinase B (AKT) eine bräunliche Färbung des Zytoplasmas mit verschiedenstarker Intensität. Die Auswertung wurde wie in Kapitel II.11 Auswertung des Expressionsverhaltens der immunhistochemischen Färbungen beschrieben durchgeführt. Das Expressionsverhalten wurde bei hoher Heterogenität bezüglich der Färbungen innerhalb einzelner Dots anhand eines Auswertungsscores (siehe Kapitel II.11.1 Entwicklung eines geeigneten Scores für die Auswertung der Färbeintensitäten) analysiert, bei welchem Ergebnisse zwischen 0 und 400 möglich waren.

III.1.1 EXPRESSION DER MARKER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT UND DER PROTEINKINASE B (AKT) IM GESAMTKOLLEKTIV

Bei der Analyse aller ausgewerteten Dots ohne Berücksichtigung ihrer Gewebeherkunft zeigten sich bei den immunhistochemischen Färbungen die in Tabelle 4 zusammengefassten Charakteristika.

Die Normal Quantilen Plots der Expressionsdaten legten bei der Färbung der Proteinkinase B (Akt) keine Normalverteilung nahe, während bei der Färbung der Insulinrezeptor β -subunit die Daten eine Normalverteilung annehmen ließen. Der Shapiro-Wilks W Test bestätigte diese Vermutungen für beide Färbungen (Proteinkinase B (Akt): $W=0,984573$; $p=0,0311$; Insulinrezeptor β -subunit: $W=0,989144$; $p=0,1428$). Zur weiteren Auswertung wurden aufgrund der nicht-normalverteilten Expressionsdaten der Proteinkinase B (Akt) parameterfreie Tests (Wilcoxon Test, Spearmans rho) verwendet.

Tabelle 4: Expressionscharakteristiken der immunhistochemischen Färbungen Proteinkinase B (Akt) und Insulinrezeptor β -subunit im Gesamtkollektiv.

	Proteinkinase B (Akt)	Insulinrezeptor β -subunit
Mittelwert (Median)	204,60 (200)	144,95 (140)
Standardabweichung	88,86	58,28
Standardfehler	6,36	4,16

Obergrenze des 95% Konfidenzintervalls	217,15	153,16
Untergrenze des 95% Konfidenzintervalls	192,05	136,74
N	195	196

III.1.2 EXPRESSION IN NORMALGEWEBEN IM VERGLEICH ZU TUMORGEWEBEN

Bei dieser Analyse wurden alle auswertbaren Dots als Normalgewebe zusammengefasst, welche kein Prostatakarzinomgewebe enthielten. Als Tumorgewebe wurden alle auswertbaren Dots zusammengefasst, welche Prostatakarzinomgewebe enthielten. Welche Gewebegruppen in diesen Subgruppen enthalten waren ist in Kapitel II.6.5 Definierung von Subgruppen aus den Gewebegruppen für die statistische Auswertung ersichtlich.

III.1.2.1 EXPRESSION DER PROTEINKINASE B (AKT) IN NORMALGEWEBEN IM VERGLEICH ZU TUMORGEWEBEN

Bei der Auswertung des Expressionsverhaltens der immunhistochemischen Färbung der Proteinkinase B (AKT) in Normalgeweben im Vergleich zu Tumorgeweben ergaben sich die in Tabelle 5 aufgeführten Expressionseigenschaften. Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied in der Expression zwischen diesen beiden Gruppen mit stärkeren Expressionen in Tumorgeweben im Vergleich zu Normalgeweben (Abbildung 10; $p < ,0001$).

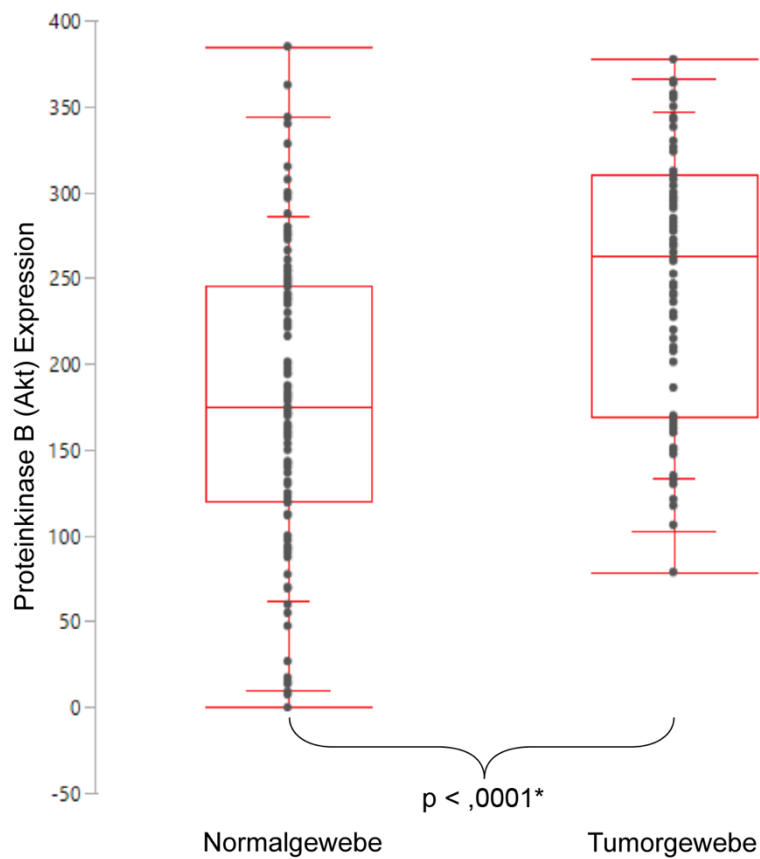


Abbildung 10: Vergleich der Expression der Proteinkinase B (Akt) in den Gruppen Normalgewebe und Tumorgewebe. Signifikanter p-Wert mit * markiert.

Tabelle 5: Expressionscharakteristiken der Proteinkinase B (Akt) in Normalgeweben im Vergleich zu Tumorgeweben.

Gruppe	N	Mittelwert (Median)	Std- Abweichung	Std-Fehler MW	Untere 95%	Obere 95%
Normalgewebe	121	177,07 (175)	84,55	7,69	161,85	192,29
Tumorgewebe	74	249,63 (263,1)	76,95	8,95	231,80	267,45

III.1.2.2 EXPRESSION DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT IN NORMALGEWEBEN IM VERGLEICH ZU TUMORGEWEBEN

Bei der Auswertung des Expressionsverhaltens der immunhistochemischen Färbung der Insulinrezeptor β -subunit in Normalgeweben im Vergleich zu Tumorgeweben ergaben sich die in Tabelle 6 aufgeführten Expressionseigenschaften. Es zeigte sich jedoch kein signifikanter Unterschied in der Expression zwischen diesen beiden Gruppen (Abbildung 11; $p = 0,0696$).

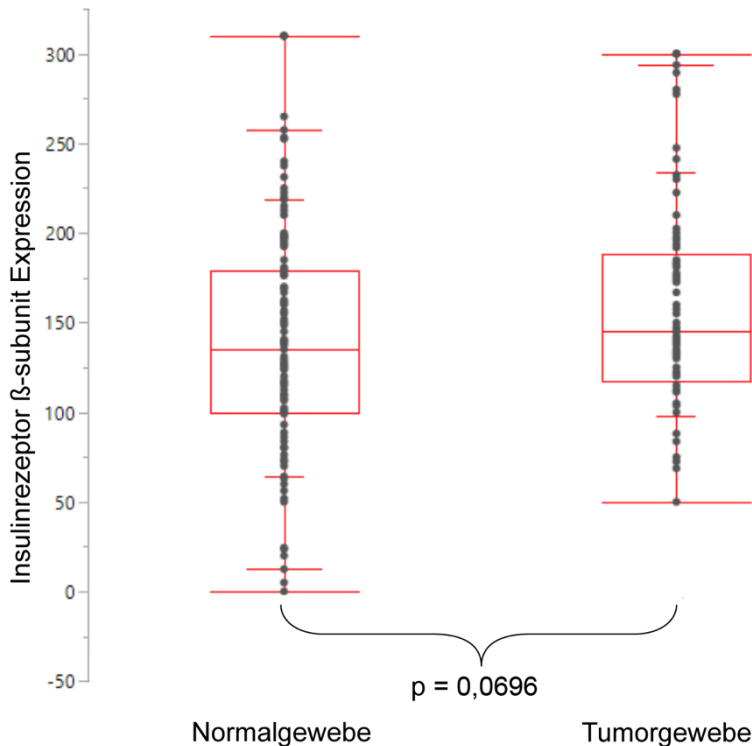


Abbildung 11: Vergleich der Expression der Insulinrezeptor β -subunit in den Gruppen Normalgewebe und Tumorgewebe. Signifikante p-Werte mit * markiert.

Tabelle 6: Expressionscharakteristiken der Insulinrezeptor β -subunit in Normalgeweben im Vergleich zu Tumorgeweben.

Gruppe	N	Mittelwert (Median)	Std-Abweichung	Std-Fehler MW	Untere 95%	Obere 95%
Normalgewebe	119	138,06 (135)	58,99	5,41	127,35	148,77
Tumorgewebe	77	155,60 (145)	55,90	6,37	142,92	168,29

III.1.3 EXPRESSION IN NORMALGEWEBEN IM VERGLEICH ZU NICHT-METASTASIERTEM TUMORGEWEBE UND ZU GEWEBE VON FORTGESCHRITTENEN, METASTASIIERTEN TUMOREN

Hier wurde die Expression der immunhistochemischen Färbungen in Normalgeweben mit Gewebe aus nicht-metastasierten Prostatakarzinomen und mit Gewebe von fortgeschrittenen, bereits metastasierten Prostatakarzinomen verglichen. Welche Gewebegruppen in den hier betrachteten Subgruppen enthalten waren ist in Kapitel II.6.5 Definierung von Subgruppen aus den Gewebegruppen für die statistische Auswertung ersichtlich.

III.1.3.1 EXPRESSION DER PROTEINKINASE B (AKT) IN NORMALGEWEBEN IM VERGLEICH ZU NICHT-METASTASIERTEM TUMORGEWEBE UND ZU GEWEBE VON FORTGESCHRITTENEN, METASTASIIERTEN TUMOREN

Bei der Auswertung der Expression der immunhistochemischen Färbung der Proteinkinase B (Akt) in Normalgeweben im Vergleich zu Gewebe aus nicht-metastasierten Tumoren und zu Gewebe aus fortgeschrittenen, bereits metastasierten Tumoren, zeigte sich, dass ein signifikanter Unterschied der Proteinkinase B (Akt)-Expression zwischen den Gruppen vorlag ($p < 0,0001$). Die Auswertung des Expressionsverhaltens der immunhistochemischen Färbung der Proteinkinase B (Akt) in Normalgeweben im Vergleich zu Gewebe aus nicht-metastasierten Tumoren und zu fortgeschrittenen, bereits metastasierten Tumoren ergab die in Tabelle 7 aufgeführten Expressionseigenschaften. Die post-hoc Analyse (siehe Abbildung 12) zeigte in Normalgeweben (Mittelwert 177,07) eine signifikant niedrigere Proteinkinase B (Akt)-Expression im Vergleich zu Gewebe aus nicht-metastasierten Tumoren (Mittelwert 236,58; $p = 0,0001$) und metastasiertem Tumorgewebe (Mittelwert 276,80; $p < 0,0001$). Bei einem Bonferroni-korrigierten Signifikanzniveau auf $p \approx 0,0166$ konnte kein signifikanter Unterschied der Färbung zwischen Gewebe aus nicht-metastasierten Prostatakarzinomen und metastasiertem Tumorgewebe festgestellt werden ($p = 0,0415$), auch wenn die Daten trotzdem eine stärkere Expression entlang der Progression nahelegen.

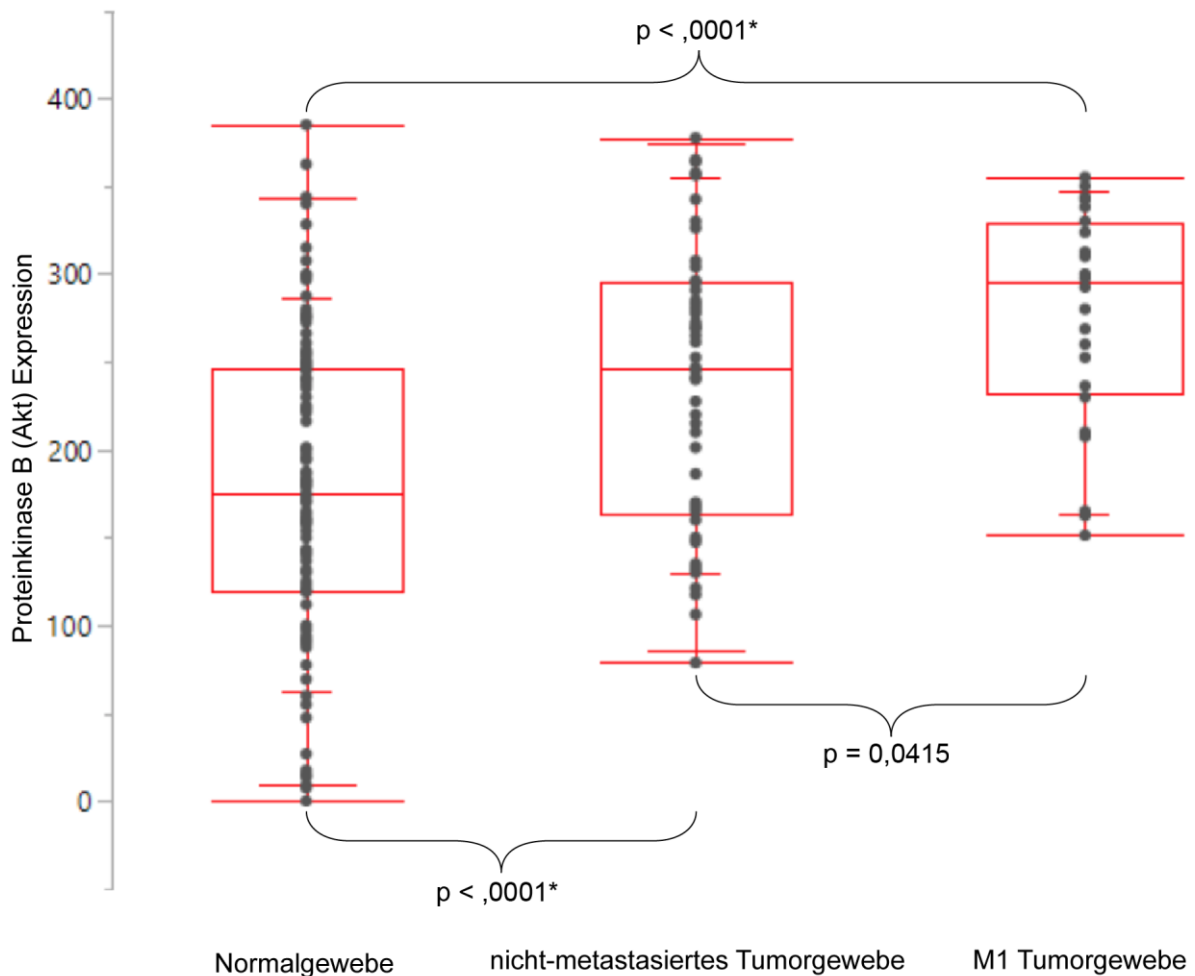


Abbildung 12: Vergleich der Expression der Proteinkinase B (Akt) in den Gruppen Normalgewebe, nicht-metastasiertes Tumorgewebe und fortgeschrittenes, metastasiertes Tumorgewebe. Bonferroni-korrigiertes Alphalevel für drei Vergleiche auf $p=0,0166$. Signifikante p-Werte mit * markiert.

Tabelle 7: Expressionscharakteristiken der Proteinkinase B (Akt) in Normalgeweben im Vergleich zu nicht-metastasiertem Tumorgewebe zu fortgeschrittenem, metastasiertem Tumorgewebe.

Gruppe	N	Mittelwert (Median)	Std- Abweichung	Std- Fehler MW	Untere 95%	Obere 95%
Normalgewebe	121	177,07 (175)	84,55	7,69	161,85	192,29
Nicht- metastasiertes Tumorgewebe	50	236,58 (245,94)	80,28	11,35	213,77	259,40
M1 Tumorgewebe	24	276,80 (295)	62,64	12,79	250,35	303,25

III.1.3.2 EXPRESSION DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT IN NORMALGEWEBEN IM VERGLEICH ZU NICHT-METASTASIERTEM TUMORGEWEBE UND ZU GEWEBE VON FORTGESCHRITTENEN, METASTASIERTEN TUMOREN

Bei der Auswertung der Expression der immunhistochemischen Färbung der Insulinrezeptor β -subunit in Normalgeweben im Vergleich zu Gewebe aus nicht-metastasierten Tumoren und zu Gewebe aus fortgeschrittenen, bereits metastasierten Tumoren, zeigte sich, dass ein signifikanter Unterschied der Insulinrezeptor β -subunit-Expressionen zwischen diesen Gruppen vorlag ($p= 0,0032$). Die Auswertung des Expressionsverhaltens der immunhistochemischen Färbung der Insulinrezeptor β -subunit in Normalgeweben im Vergleich zu Gewebe aus nicht-metastasierten Tumoren und zu Gewebe aus fortgeschrittenen, bereits metastasierten Tumoren ergab die in Tabelle 8 aufgeführten Expressionseigenschaften. Die post-hoc Analyse (siehe Abbildung 13) zeigte in Normalgeweben (Mittelwert 138,06) eine signifikant niedrigere Insulinrezeptor β -subunit-Expression im Vergleich zu nicht-metastasiertem Tumorgewebe (Mittelwert 170,67; $p= 0,0030$). Ebenfalls signifikant unterschiedlich zeigten sich die Expressionen in nicht-metastasierten Prostatakarzinomen und metastasierten Prostatakarzinomen (Mittelwert 132; $p= 0,0021$) mit stärkeren Expressionen in Gewebe aus nicht-metastasiertem Tumorgewebe. Es konnte jedoch kein signifikanter Unterschied der Expressionen im Vergleich von Normalgeweben zu metastasiertem Tumorgewebe gezeigt werden ($p= 0,5539$). Bei der gesamten post-hoc Analyse wurde ein Bonferroni-korrigiertes Signifikanzniveau auf $p\approx 0,0166$ berücksichtigt.

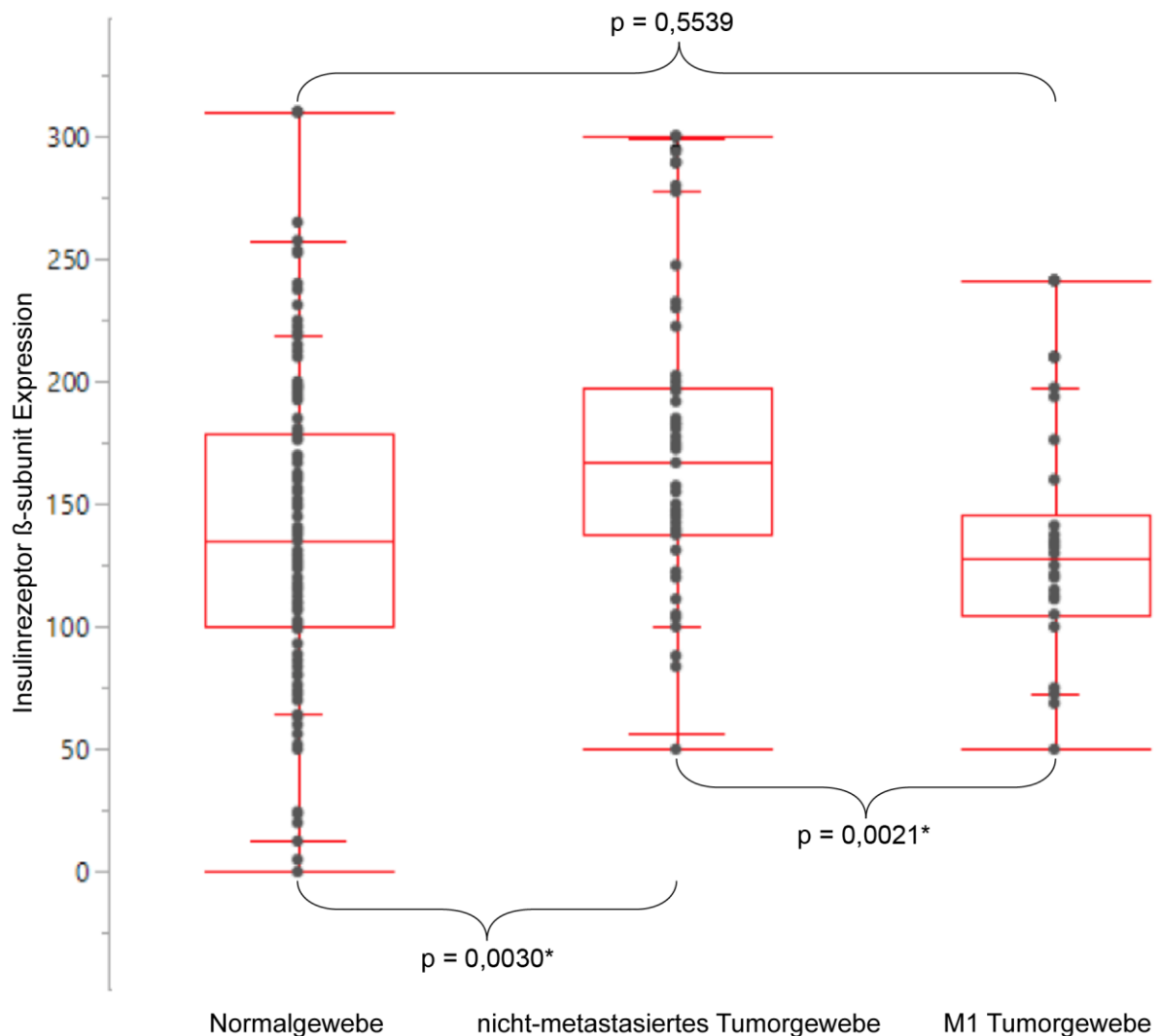


Abbildung 13: Vergleich der Expression der Insulinrezeptor β -subunit in den Gruppen Normalgewebe, nicht-metastasiertes Tumorgewebe und fortgeschrittenes, metastasiertes Tumorgewebe. Bonferroni-korrigiertes Alphalevel für drei Vergleiche auf $p=0,0166$. Signifikante p-Werte mit * markiert.

Tabelle 8: Expressionscharakteristiken der Insulinrezeptor β -subunit in Normalgeweben im Vergleich zu nicht-metastasiertem Tumorgewebe zu fortgeschrittenem, metastasiertem Tumorgewebe.

Gruppe	N	Mittelwert (Median)	Std-Abweichung	Std-Fehler MW	Untere 95%	Obere 95%
Normalgewebe	119	138,06 (135)	58,99	5,41	127,35	148,77
Nicht-metastasiertes Tumorgewebe	47	170,67 (166,88)	57,91	8,45	153,67	187,67
M1 Tumorgewebe	30	132 (127,5)	43,86	8,01	115,62	148,38

III.1.4 EXPRESSION IN GEWEBE AUS FORTGESCHRITTENEN, METASTASIERTEN PROSTATAKARZINOMEN VOR DEM HINTERGRUND EINER EINTEILUNG IN HORMONSENSITIVE UND HORMONREFRAKTÄRE PROSTATAKARZINOME

Bei dieser Analyse wurde untersucht, ob ein signifikanter Unterschied zwischen der Expression der immunhistochemischen Färbungen in Gewebe von hormonsensitiven, fortgeschrittenen, metastasierten Prostatakarzinomen und hormonrefraktären, fortgeschrittenen, metastasierten Prostatakarzinomen vorlag. Welche Gewebegruppen in den hier betrachteten Subgruppen enthalten waren ist in Kapitel II.6.5 Definierung von Subgruppen aus den Gewebegruppen für die statistische Auswertung ersichtlich.

III.1.4.1 EXPRESSION DER PROTEINKINASE B (AKT) IN GEWEBE AUS HORMONSENSITIVEN, FORTGESCHRITTENEN, METASTASIERTEN PROSTATAKARZINOMEN IM VERGLEICH ZU DER EXPRESSION IN HORMONREFRAKTÄREN, FORTGESCHRITTENEN, METASTASIERTEN PROSTATAKARZINOMEN

Bei der Auswertung des Expressionsverhaltens der immunhistochemischen Färbung der Proteinkinase B (Akt) in hormonsensitiven, fortgeschrittenen, metastasierten Prostatakarzinomen im Vergleich zu hormonrefraktären, fortgeschrittenen, metastasierten Prostatakarzinomen ergaben sich die in Tabelle 9 aufgeführten Expressionscharakteristiken. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied in der Proteinkinase (Akt) Expression zwischen diesen beiden Gruppen (Abbildung 14; $p=0,9287$).

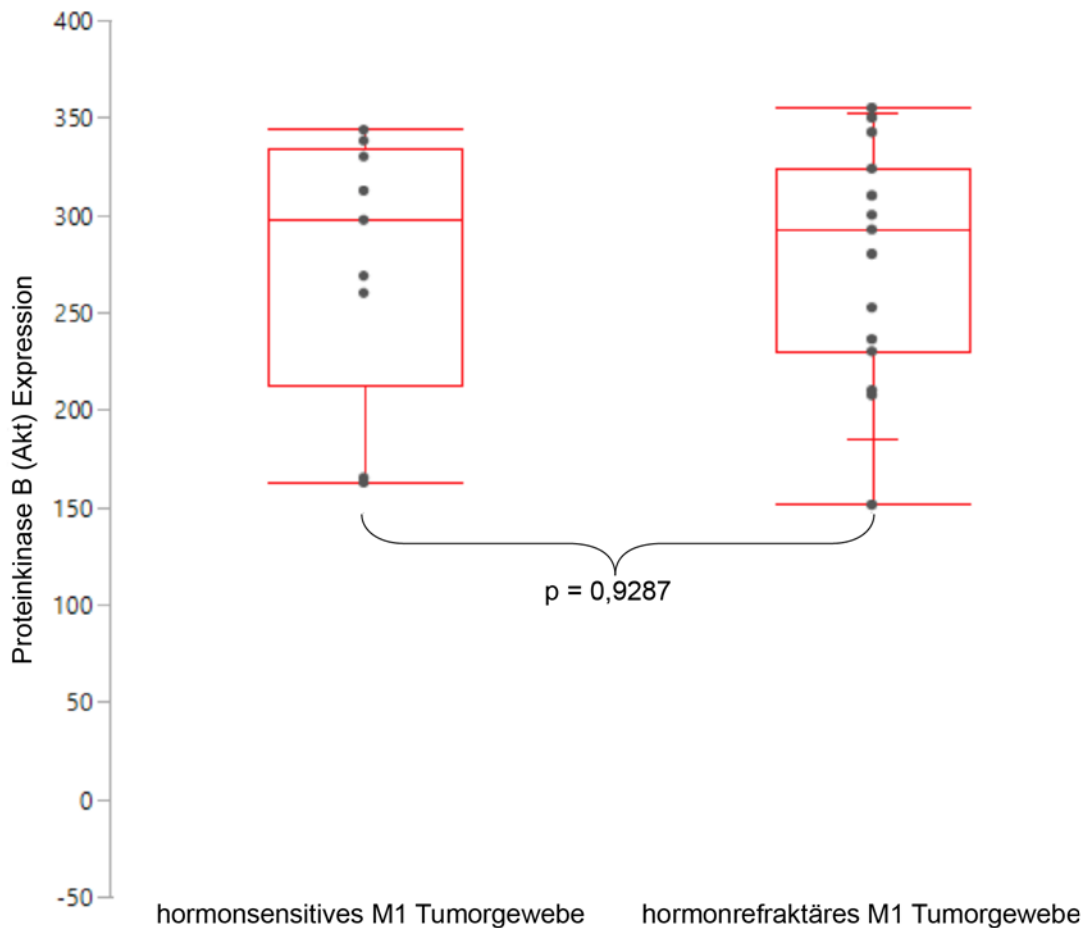


Abbildung 14: Vergleich der Expression der Proteinkinase B (Akt) in den Gruppen hormonsensitiven, metastasierten Prostatakarzinomen und hormonrefraktären, metastasierten Prostatakarzinomen. Signifikanter p-Wert mit * markiert.

Da sich zwischen diesen beiden Gewebegruppen kein signifikanter Unterschied in der Expression der Proteinkinase B (Akt) zeigte, wurden diese im Folgenden immer als fortgeschrittene, metastasierte Prostatakarzinome zusammengefasst betrachtet.

Tabelle 9: Expressionscharakteristiken der Proteinkinase B (Akt) in hormonsensitiven, metastasierten Prostatakarzinomen im Vergleich zu hormonrefraktären, metastasierten Prostatakarzinomen.

Gruppe	N	Mittelwert (Median)	Std-Abweichung	Std-Fehler MW	Untere 95%	Obere 95%
Hormonsensitive, metastasierte Prostatakarzinome	9	275,35 (297,5)	69,5	23,17	221,91	328,79
Hormonrefraktäre, metastasierte Prostatakarzinome	15	277,7 (292,5)	60,7	15,67	244,07	311,27

III.1.4.2 EXPRESSION DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT IN GEWEBE AUS HORMONSENSITIVEN, FORTGESCHRITTENEN, METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN IM VERGLEICH ZU DER EXPRESSION IN HORMONREFRAKTÄREN, FORTGESCHRITTENEN, METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN

Bei der Auswertung des Expressionsverhaltens der immunhistochemischen Färbung der Insulinrezeptor β -subunit in hormonsensitiven, metastasierten Prostatakarzinomen im Vergleich zu hormonrefraktären, metastasierten Prostatakarzinomen ergaben sich die in Tabelle 10 aufgeführten Expressionscharakteristiken. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied in der Expression zwischen diesen beiden Gruppen (Abbildung 15; $p = 0,7030$).

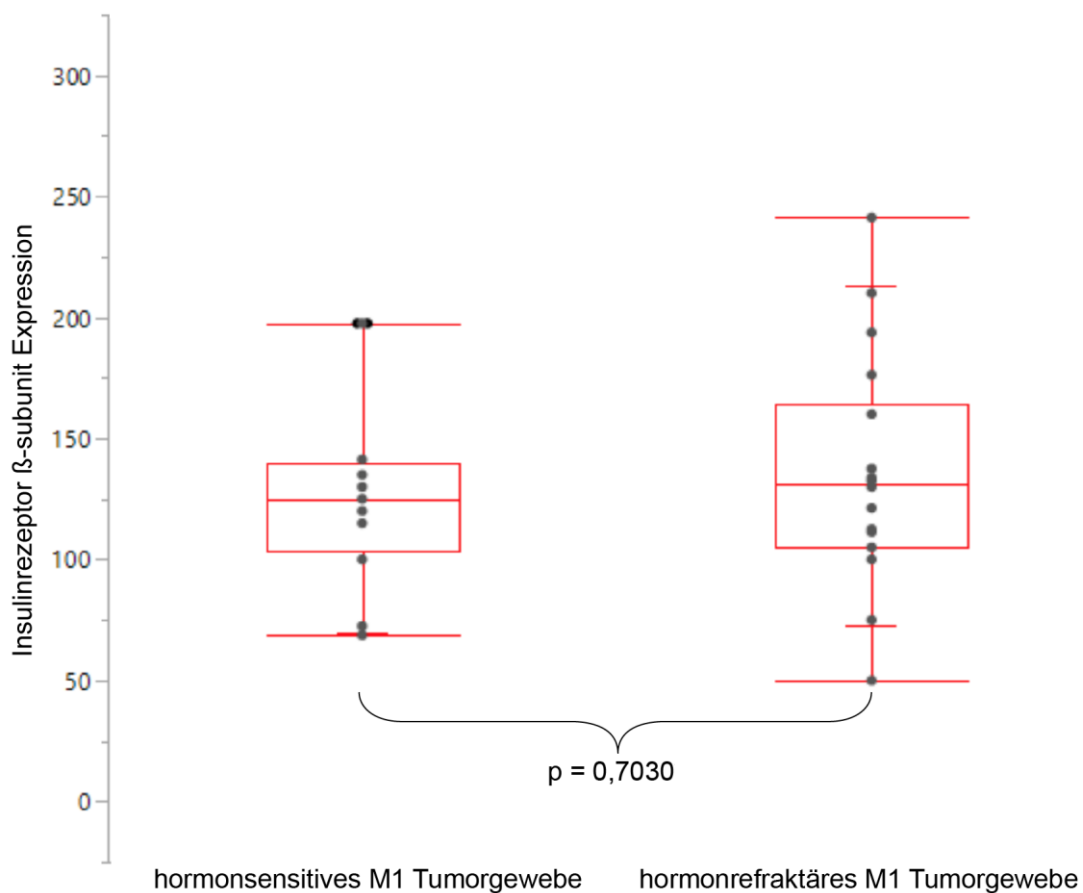


Abbildung 15: Vergleich der Expression der Insulinrezeptor β -subunit in den Gruppen hormonsensitiven, metastasierten Prostatakarzinomen und hormonrefraktären, metastasierten Prostatakarzinomen. Signifikante p-Werte mit * markiert.

Da sich zwischen diesen beiden Gewebegruppen kein signifikanter Unterschied in der Expression der Insulinrezeptor β -subunit zeigte, wurden diese im Folgenden immer als fortgeschrittene, metastasierte Prostatakarzinome zusammengefasst betrachtet.

Tabelle 10: Expressionscharakteristiken der Insulinrezeptor β -subunit in hormonsensitiven, metastasierten Prostatakarzinomen im Vergleich zu hormonrefraktären, metastasierten Prostatakarzinomen.

Gruppe	N	Mittelwert (Median)	Std- Abweichung	Std-Fehler MW	Untere 95%	Obere 95%
Hormonsensitive, metastasierte Prostatakarzinome	12	127,29 (125)	39,9	11,52	101,94	152,64
Hormonrefraktäre, metastasierte Prostatakarzinome	18	135,14 (131,25)	47,2	11,12	111,68	158,60

III.1.5 EXPRESSION IN GEWEBE AUS TUMORFREIEN PROSTATEN IM VERGLEICH ZU AN NICHT-METASTASIERTE PROSTATAKARZINOME ANGRENZENDES, BENIGNES PROSTATAGEWEBE UND ZU TUMORGEWEBEN

Bei der folgenden Analyse wurden die Expressionen der immunhistochemischen Färbungen in histopathologisch gesichert tumorfreien Prostaten verglichen mit tumorfreiem Gewebe mit einem Entnahmeort möglichst weit entfernt, sowie mit Entnahmeort nah an einem nicht-metastasierten Prostatakarzinom und außerdem mit Tumorgewebe aus nicht-metastasierten Prostatakarzinomen und mit Gewebe aus fortgeschrittenen, metastasierten Prostatakarzinomen. Welche Gewebegruppen in den hier betrachteten Subgruppen enthalten waren ist in Kapitel II.6.5 Definierung von Subgruppen aus den Gewebegruppen für die statistische Auswertung ersichtlich.

III.1.5.1 EXPRESSION DER PROTEINKINASE B (AKT) IN GEWEBE AUS TUMORFREIEN PROSTATEN IM VERGLEICH ZU AN NICHT-METASTASIERTE PROSTATAKARZINOME ANGRENZENDES, BENIGNES PROSTATAGEWEBE UND ZU TUMORGEWEBEN

Bei der Auswertung der Expression der immunhistochemischen Färbung der Proteinkinase B (Akt) in Gewebe aus histopathologisch gesichert tumorfreien Prostaten im Vergleich zu tumorfreiem Gewebe aus Prostaten mit nicht-metastasiertem Prostatakarzinom sowohl mit Entnahmeort fern vom Tumor als auch nah am Tumor, zu Gewebe aus nicht-metastasierten Prostatakarzinomen und zu Gewebe aus fortgeschrittenen, metastasierten Prostatakarzinomen ergaben sich die in Tabelle 11 aufgeführten Expressionscharakteristiken. Es zeigte sich, dass ein signifikanter Unterschied zwischen den Expressionen dieser Gruppen vorlag

($p < 0,0001$). Die post-hoc Analyse zeigte die in Tabelle 12 und Abbildung 16 zusammengefassten Unterschiede. So wies das Gewebe aus metastasiertem Prostatakarzinomgewebe eine signifikant höhere Expression der Proteinkinase B (Akt) als die benignen Gewebeproben aus tumorfreien und aus nicht-metastasierten Prostatakarzinompräparaten auf ($p \leq 0,0001$). Ein streng signifikanter Unterschied zu Gewebe aus nicht-metastasiertem Prostatakarzinom ergab sich nicht, wobei sich dennoch ein Trend in den Mittelwerten der Expression vermuten ließ. Ferner zeigte sich allerdings, dass das Gewebe aus nicht-metastasiertem Prostatakarzinomen eine signifikant höhere Expression der Proteinkinase B (Akt) als das benigne Gewebe aus den nicht-metastasierten Prostatakarzinompräparaten nah am Primärtumor ($p = 0,0014$) und fern vom Primärtumor ($p = 0,0006$) aufwies. Der Unterschied zu Gewebe aus tumorfreien Prostaten erwies sich nach Anpassung des Alphalevel als nicht signifikant ($p = 0,0277$), auch wenn hier ebenfalls ein Trend mit einer höheren Expression in nicht-metastasiertem Prostatakarzinomgewebe vermutet werden kann. Der Vergleich der übrigen Gruppen untereinander erbrachte keine signifikanten Unterschiede. Das Alphalevel wurde mittels Bonferroni-Korrektur für multiples Vergleichen auf $p = 0,005$ angehoben.

Tabelle 11: Expressionscharakteristiken der Proteinkinase B (Akt) in Gewebe aus histopathologisch gesichert tumorfreien Prostaten im Vergleich zu tumorfreiem Gewebe mit Entnahmeort möglichst fern und nah vom Tumor bei nicht-metastasiertem Prostatakarzinom, zu Gewebe aus nicht-metastasierten Prostatakarzinomen und zu fortgeschrittenen, metastasierten Prostatakarzinomen.

Gewebegruppen	N	Mittelwert (Median)	Std.-Abw.	Std.- Fehler Mittelwert	95% KI unten	95% KI oben
tumorfreie Prostaten	26	190,46 (182,9)	72,40	14,20	161,22	219,71
fern vom PCA	45	173,32 (175)	76,36	11,38	150,38	196,26
nah am PCA	50	173,48 (161,96)	97,34	13,77	145,81	201,14
nicht-metastasiertes Tumorgewebe	50	236,58 (245,9)	80,28	11,35	213,77	259,40
M1 Tumorgewebe	24	276,80 (295)	62,64	12,79	250,35	303,25

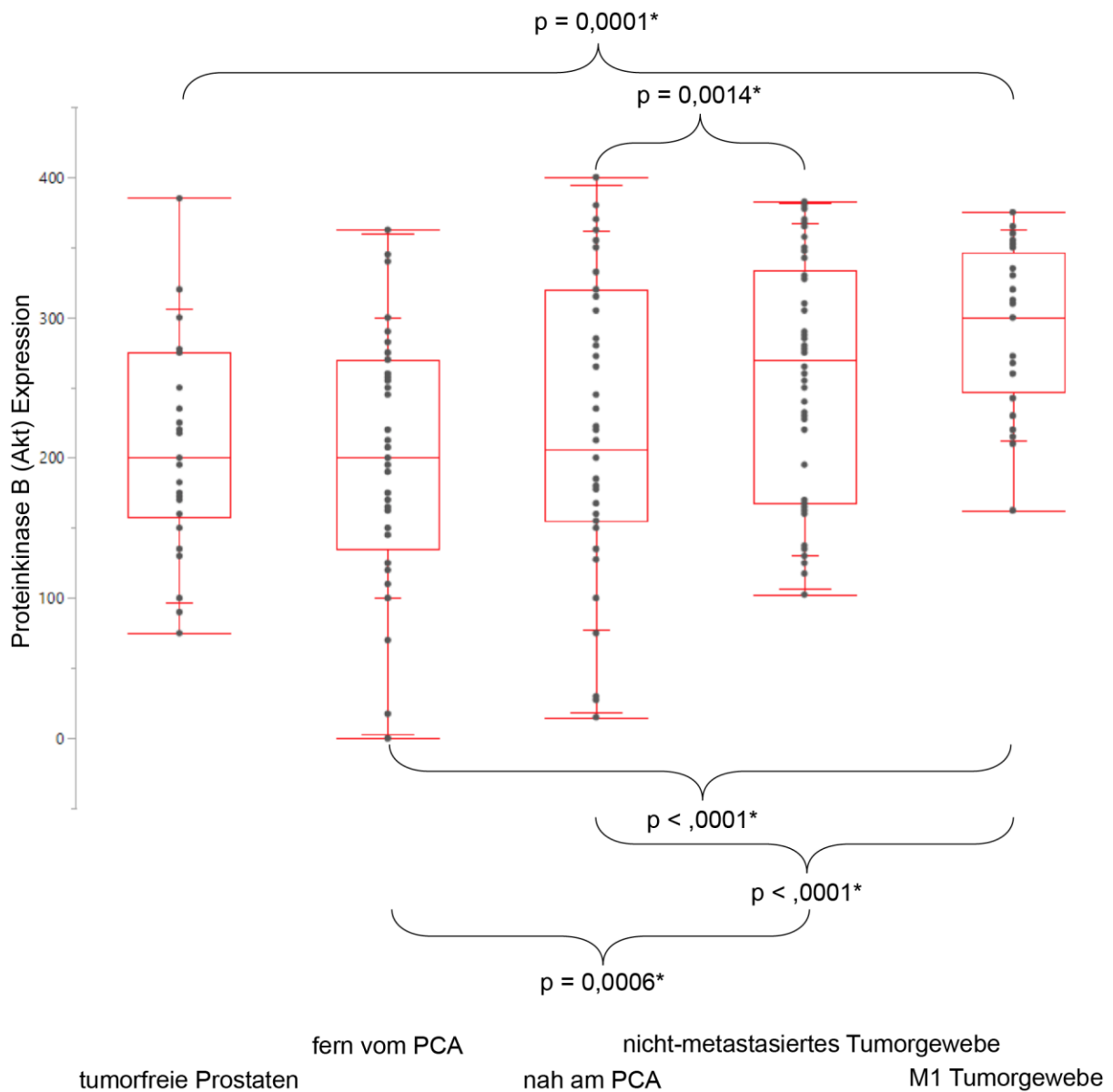


Abbildung 16: Vergleich der Expression der Proteinkinase B (Akt) in den Gruppen Gewebe aus histopathologisch gesichert tumorfreien Prostaten, tumorfreies Gewebe mit Entnahmeort möglichst fern und nah vom Tumor bei nicht-metastasiertem Prostatakarzinom, zu Gewebe aus nicht-metastasierten Prostatakarzinomen und fortgeschrittenen, metastasierten Prostatakarzinomen. Bonferroni-korrigiertes Alphalevel für 10 Vergleiche auf $p=0,005$. Signifikante p-Werte mit * markiert.

Tabelle 12: Vergleich des Expressionsverhaltens zwischen den in III.1.5 definierten Gewebegruppen. Alphalevel korrigiert auf $p=0,005$. Signifikante p-Werte mit * markiert.

	tumorfremie Prostaten	fern vom PCA	nah am PCA	nicht-metastasiertes Tumorgewebe	M1 Tumorgewebe
tumorfremie Prostaten		$p=0,4592$	$p=0,3634$	$p=0,0277$	$p=0,0001^*$
fern vom PCA	$p=0,4592$		$p=0,7872$	$p=0,0006^*$	$p<,0001^*$
nah am PCA	$p=0,3634$	$p=0,7872$		$p=0,0014^*$	$p<,0001^*$
nicht-metastasiertes Tumorgewebe	$p=0,0277$	$p=0,0006^*$	$p=0,0014^*$		$p=0,0415$
M1 Tumorgewebe	$p=0,0001^*$	$p<,0001^*$	$p<,0001^*$	$p=0,0415$	

III.1.5.2 EXPRESSION DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT IN GEWEBE AUS TUMORFREIEN PROSTATEN IM VERGLEICH ZU AN NICHT-METASTASIERTE PROSTATAKARZINOME ANGRENZENDES, BENIGNES PROSTATAGEWEBE UND ZU TUMORGEWEBEN

Bei der Auswertung der Expression der immunhistochemischen Färbung der Insulinrezeptor β -subunit in Gewebe aus histopathologisch gesichert tumorfreien Prostaten im Vergleich zu tumorfreiem Gewebe aus Prostaten mit nicht-metastasiertem Prostatakarzinom mit Entnahmeort fern vom Tumor und nah am Tumor, zu Gewebe aus nicht-metastasierten Prostatakarzinomen und zu Gewebe aus fortgeschrittenen, metastasierten Prostatakarzinomen ergaben sich die in Tabelle 13 aufgeführten Expressionscharakteristiken. Es zeigte sich, dass ein signifikanter Unterschied zwischen den Expressionen dieser Gruppen vorlag ($p=0,0210$). Die post-hoc Analyse zeigte die in Tabelle 14 und Abbildung 17 zusammengefassten Unterschiede. So lag die mittlere Expression der Insulinrezeptor β -subunit in metastasiertem Prostatakarzinomgewebe signifikant unter der Expression in nicht-metastasiertem Prostatakarzinomgewebe ($p=0,0021$). Ferner schien die Expression der Insulinrezeptor β -subunit in nicht-metastasiertem Prostatakarzinom höher als in benignem Gewebe aus nicht-metastasierten Prostatakarzinompräparaten nah am Primärtumor ($p=0,0194$), fern vom Primärtumor ($p=0,0090$) und ebenso höher als in Gewebe aus tumorfreien Prostaten ($p=0,0411$). Allerdings lag hier das Signifikanzniveau für alle Vergleiche oberhalb des Bonferroni-korrigierten Niveaus von

p=0,005. Ein Trend in den Mittel- und Medianwerten ließ sich dennoch erkennen. Gewebe aus metastasiertem Primärtumor zeigte im Vergleich zu allen drei benignen Gewebegruppen keinen signifikanten Unterschied in der Expression der Insulinrezeptor β -subunit.

Tabelle 13: Expressionscharakteristiken der Insulinrezeptor β -subunit in Gewebe aus histopathologisch gesichert tumorfreien Prostaten im Vergleich zu tumorfreiem Gewebe mit Entnahmeort möglichst fern und nah vom Tumor bei nicht-metastasiertem Prostatakarzinom, zu Gewebe aus nicht-metastasierten Prostatakarzinomen und zu fortgeschrittenen, metastasierten Prostatakarzinomen.

Gewebegruppe	N	Mittelwert (Median)	Std.- Abw.	Std.-Fehler Mittelwert	95% KI unten	95% KI oben
tumorfreie Prostaten	24	134,64 (125)	56,80	11,59	110,65	158,62
fern vom PCA	47	140,07 (131,25)	54,88	8,00	123,96	156,18
nah am PCA	48	137,81 (139,69)	64,80	9,35	118,99	156,62
nicht-metastasiertes Tumorgewebe	47	170,67 (166,88)	57,91	8,45	153,67	187,67
M1 Tumorgewebe	30	132 (127,5)	43,86	8,01	115,62	148,38

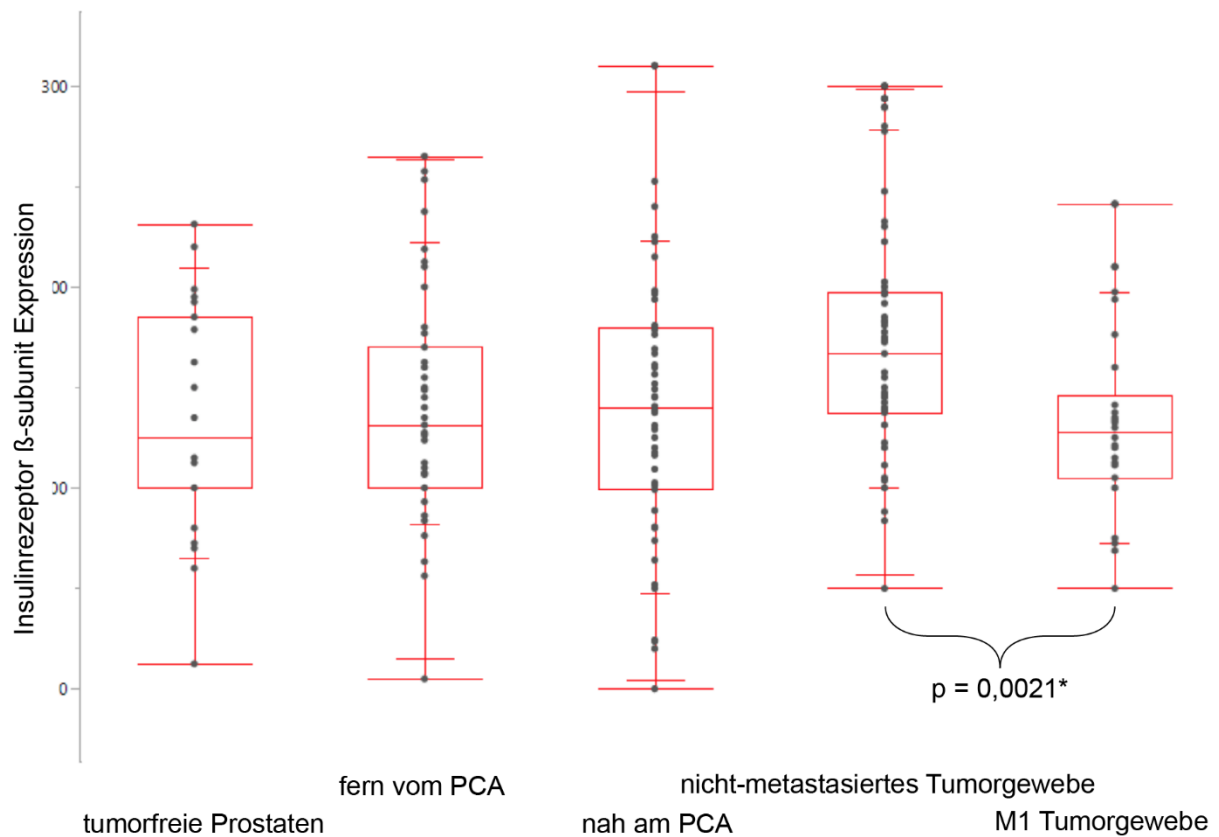


Abbildung 17: Vergleich der Expression der Insulinrezeptor β -subunit in den Gruppen Gewebe aus histopathologisch gesichert tumorfreien Prostaten, tumorfreies Gewebe mit Entnahmeort möglichst fern und nah vom Tumor bei nicht-metastasiertem Prostatakarzinom, zu Gewebe aus nicht-metastasierten Prostatakarzinomen und fortgeschrittenen, metastasierten Prostatakarzinomen. Bonferroni-korrigiertes Alphalevel für 10 Vergleiche auf $p=0,005$. Signifikante p-Werte mit * markiert.

Tabelle 14: Vergleich des Expressionsverhaltens zwischen den in III.1.5 definierten Gewebegruppen. Alphalevel korrigiert auf $p=0,005$. Signifikante p-Werte mit * markiert.

	tumorfreie Prostaten	fern vom PCA	nah am PCA	nicht-metastasiertes Tumorgewebe	M1 Tumorgewebe
tumorfreie Prostaten		$p=0,8593$	$p=0,8112$	$p=0,0411$	$p=0,9861$
fern vom PCA	$p=0,8593$		$p=0,9436$	$p=0,0090$	$p=0,5724$
nah am PCA	$p=0,8112$	$p=0,9436$		$p=0,0194$	$p=0,4785$
nicht-metastasiertes Tumorgewebe	$p=0,0411$	$p=0,0090$	$p=0,0194$		$p=0,0021^*$
M1 Tumorgewebe	$p=0,9861$	$p=0,5724$	$p=0,4785$	$p=0,0021^*$	

III.1.6 EXPRESSION IN GEWEBE AUS TUMORFREIEN PROSTATEN IM VERGLEICH ZU NICHT-METASTASIERTEM TUMORGEWEBE UND DARAN ANGRENZENDEM, BENIGNEM PROSTATAGEWEBE IN ABHÄNGIGKEIT DER ENTDIFFERENZIERUNG UND ZU GEWEBE AUS METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN

Im Folgenden wurde untersucht ob der histologische Grad der Entdifferenzierung der Drüsenzellen einen Einfluss auf die Expression der Parameter in den immunhistochemischen Färbungen sowohl in Tumorgeweben, als auch in angrenzenden Normalgeweben hatte. Hierzu wurden Gewebe aus histopathologisch gesichert tumorfreien Prostaten im Vergleich zu tumorfreiem, an sowohl an nicht-metastasierte low- als auch an high-Gleason Tumoren angrenzendes Gewebe, zu Tumorgewebe aus nicht-metastasierten sowohl aus low- als auch aus high-Gleason-Tumoren und zu fortgeschrittenen, metastasierten Prostatakarzinomen betrachtet. Welche Gewebegruppen in den hier betrachteten Subgruppen enthalten waren ist in Kapitel II.6.5 Definierung von Subgruppen aus den Gewebegruppen für die statistische Auswertung ersichtlich.

III.1.6.1 EXPRESSION DER PROTEINKINASE B (AKT) IN GEWEBE AUS TUMORFREIEN PROSTATEN IM VERGLEICH ZU NICHT-METASTASIERTEM TUMORGEWEBE UND DARAN ANGRENZENDEM, BENIGNEM PROSTATAGEWEBE IN ABHÄNGIGKEIT DER ENTDIFFERENZIERUNG UND ZU GEWEBE AUS METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN

Bei der Auswertung der Expression der immunhistochemischen Färbung der Proteinkinase B (Akt) in Gewebe aus histopathologisch gesichert, tumorfreien Prostaten im Vergleich zu tumorfreiem, an nicht-metastasierte low-Gleason Tumoren angrenzendes Gewebe, zu tumorfreiem, an nicht-metastasierte high-Gleason Tumoren angrenzendes Gewebe, zu Tumorgewebe aus nicht-metastasierten low-Gleason-Tumoren, zu Tumorgewebe aus nicht-metastasierten high-Gleason-Tumoren und zu fortgeschrittenen, metastasierten Prostatakarzinomen ergaben sich die in Tabelle 15 aufgeführten Expressionscharakteristiken. Es zeigte sich, dass ein signifikanter Unterschied zwischen den Expressionen dieser Gruppen vorlag ($p < ,0001$). Die post-hoc Analyse zeigte die in Tabelle 16 und Abbildung 18 zusammengefassten Unterschiede. Das Alphalevel wurde mittels Bonferroni-Korrektur für multiples Vergleichen auf $p = 0,0033$ angehoben. Es zeigte sich, dass in Gewebeproben aus metastasierten Prostatakarzinomen signifikant mehr Proteinkinase B (Akt) exprimiert wird, als in den an nicht-metastasierte low-Gleason-

($p < 0,0001$) und high-Gleason-Tumore ($p = 0,0002$) angrenzende, benigne Gewebeproben und als Gewebe aus tumorfreien Prostataen ($p = 0,0001$). Zudem kann eine stärkere Expression als in low-Gleason Tumorgewebe angenommen werden, auch wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit über dem korrigierten Alphalevel lag ($p = 0,0042$). Ein signifikanter Unterschied zur Expression in high-Gleason Tumorgewebe konnte indes nicht nachgewiesen werden. Ein ähnlicher Verhalten zeigte sich in Gewebe aus nicht-metastasierten high-Gleason Tumoren, auch wenn lediglich für an nicht-metastasierte low-Gleason-Tumore angrenzendes Gewebe eine signifikant niedrigere Expression nachgewiesen werden konnte ($p < 0,0001$), schien dies trotz Überschreiten des Alphalevels ebenso für an nicht-metastasierte high-Gleason-Tumore angrenzende Gewebe ($p = 0,0034$) und für Gewebe aus tumorfreien Prostataen ($p = 0,0043$) annehmbar. Weiterhin schien das an nicht-metastasierte low-Gleason Tumore angrenzende Gewebe eine deutlich geringere mittlere Expression der Proteinkinase B (Akt) als das nicht-metastasierte low-Gleason Tumorgewebe selbst aufzuweisen, wobei auch dieser Unterschied nicht signifikant nach Alphalevelkorrektur war ($p = 0,0092$). Der Vergleich der Expression der Proteinkinase B (Akt) in an nicht-metastasierte high-Gleason Tumore angrenzende Gewebeproben mit an nicht-metastasierte low-Gleason Tumore angrenzende Gewebeproben zeigte einen ähnlichen Trend in den Mittelwerten hin zu einer stärkeren Expression in high-Gleason Tumoren. Die Signifikanz lag hier jedoch deutlich über korrigiertem Niveau ($p = 0,0523$). In den weiteren Gruppenvergleichen zeigten sich keine signifikanten Unterschiede.

Tabelle 15: Expressionscharakteristiken der Proteinkinase B (Akt) in Gewebe aus histopathologisch gesichert tumorfreien Prostataen im Vergleich zu tumorfreiem, an nicht-metastasierte low-Gleason Tumoren, angrenzendes Gewebe, tumorfreiem, an nicht-metastasierte high-Gleason Tumoren angrenzendes Gewebe, zu Tumorgewebe aus nicht-metastasierten low-Gleason Tumoren, zu Tumorgewebe aus nicht-metastasierten high-Gleason Tumoren und zu fortgeschrittenen, metastasierten Prostatakarzinomen.

Gewebegruppe	N	Mittelwert (Median)	Std.- Abw.	Std.-Fehler Mittelwert	95% KI unten	95% KI oben
tumorfreie Prostataen	26	190,46 (182,9)	72,40	14,20	161,22	219,71
low-Gleason angrenzend	53	156,53 (160)	86,16	11,83	132,78	180,28
high-Gleason angrenzend	42	194,69 (188,75)	85,64	13,21	168,01	221,38

low-Gleason Tumor	26	214,36 (212,5)	77,41	15,18	183,09	245,63
high-Gleason Tumor	24	260,66 (266,88)	77,81	15,88	227,80	293,52
M1 Tumorgewebe	24	276,80 (295)	62,64	12,79	250,35	303,25

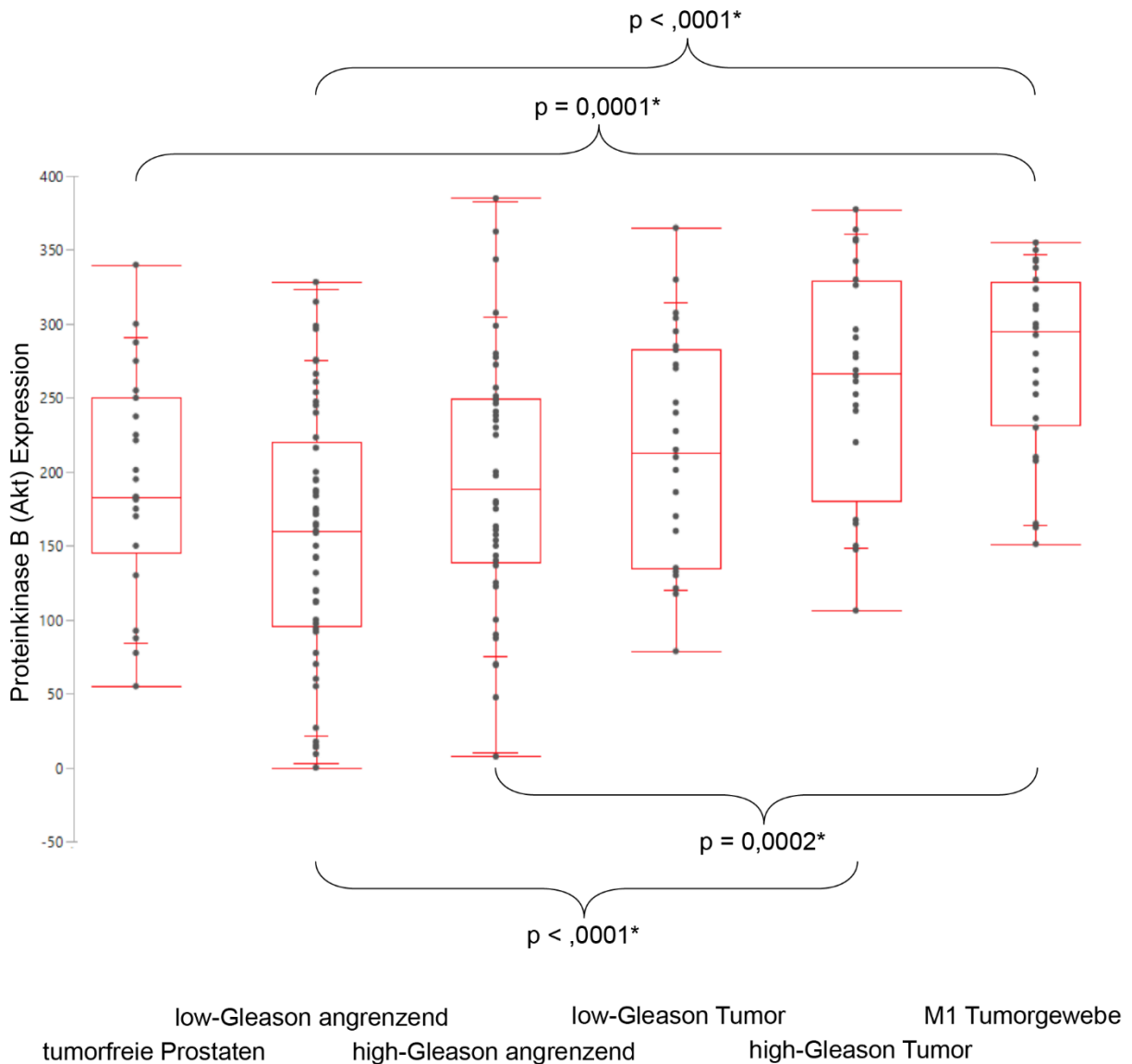


Abbildung 18: Vergleich der Expression der Proteinkinase B (Akt) in den Gruppen Gewebe aus histopathologisch gesichert tumorfreien Prostaten, tumorfreies, an nicht-metastasierte low-Gleason Tumoren, angrenzendes Gewebe, tumorfreies, an nicht-metastasierte high-Gleason Tumoren angrenzendes Gewebe, Tumorgewebe aus nicht-metastasierten low-Gleason Tumoren, Tumorgewebe aus nicht-metastasierten high-Gleason Tumoren und fortgeschrittenen, metastasierten Prostatakarzinomen. Bonferroni-korrigiertes Alphalevel für 15 Vergleiche auf $p=0,0033$. Signifikante p-Werte mit * markiert.

Tabelle 16: Vergleich des Expressionsverhaltens zwischen den in III.1.6 definierten Gewebegruppen. Bonferroni-korrigiertes Alphalevel für 15 Vergleiche auf $p=0,0033$. Signifikante p-Werte mit * markiert.

	tumorfrie Prostaten	low-Gleason angrenzend	high- Gleason angrenzend	low- Gleason Tumor	high- Gleason Tumor	M1 Tumorgewebe
tumorfrie Prostaten		$p=0,1058$	$p=0,9096$	$p=0,3273$	$p=0,0043$	$p=0,0001^*$
low-Gleason angrenzend	$p=0,1058$		$p=0,0523$	$p=0,0092$	$p<,0001^*$	$p<,0001^*$
high-Gleason angrenzend	$p=0,9096$	$p=0,0523$		$p=0,4013$	$p=0,0034$	$p=0,0002^*$
low-Gleason Tumor	$p=0,3273$	$p=0,0092$	$p=0,4013$		$p=0,0545$	$p=0,0042$
high-Gleason Tumor	$p=0,0043$	$p<,0001^*$	$p=0,0034$	$p=0,0545$		$p=0,5567$
M1 Tumorgewebe	$p=0,0001^*$	$p<,0001^*$	$p=0,0002^*$	$p=0,0042$	$p=0,5567$	

III.1.6.2 EXPRESSION DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT IN GEWEBE AUS TUMORFREIEN PROSTATEN IM VERGLEICH ZU NICHT-METASTASIERTEM TUMORGEBE UND DARAN ANGRENZENDEM, BENIGNEM PROSTATAGEWEBE IN ABHÄNGIGKEIT DER ENTDIFFERENZIERUNG UND ZU GEWEBE AUS METASTASIERTEN PROSTATAKARZINOMEN

Bei der Auswertung der Expression der immunhistochemischen Färbung der Insulinrezeptor β -subunit in Gewebe aus histopathologisch gesichert, tumorfreien Prostaten im Vergleich zu tumorfreiem, an nicht-metastasierte low-Gleason Tumoren angrenzendes Gewebe, zu tumorfreiem, an nicht-metastasierte high-Gleason Tumoren angrenzendes Gewebe, zu Tumorgewebe aus nicht-metastasierten low-Gleason-Tumoren, zu Tumorgewebe aus nicht-metastasierten high-Gleason-Tumoren und zu fortgeschrittenen, metastasierten Prostatakarzinomen ergaben sich die in Tabelle 17 aufgeführten Expressionscharakteristiken. Es zeigte sich, dass ein signifikanter Unterschied zwischen den Expressionen dieser Gruppen vorlag ($p=0,0241$). Die post-hoc Analyse zeigte die in Tabelle 18 und Abbildung 19 zusammengefassten Unterschiede. Das Alphalevel wurde mittels Bonferroni-Korrektur für multiples Vergleichen auf $p=0,0033$ angehoben. Nach dieser Korrektur zeigten sich streng genommen keine signifikanten Unterschiede der Expression der Insulinrezeptor β -subunit in den verglichenen Gewebegruppen. Dennoch muss erwähnt werden, dass sich ein deutlicher Trend zu einer niedrigeren Expression der Insulinrezeptor β -subunit in Gewebe aus metastasierten Prostatakarzinomen im Vergleich zu Gewebe aus low-Gleason Tumoren ($p=0,0096$) und aus high-Gleason Tumoren ($p=0,0092$) zeigt.

Weiterhin zeigte der Trend, dass in an nicht-metastasierte low-Gleason Tumore angrenzendes Gewebe eine niedrigere Expression der Insulinrezeptor β -subunit als in nicht-metastasiertem low-Gleason Tumorgewebe ($p=0,0077$) und als in nicht-metastasiertem high-Gleason Tumorgewebe ($p=0,0125$), jedoch eine nahezu identische mittlere Expression im Vergleich zu metastasiertem Prostatakarzinomgewebe vorlag (131,63 vs. 132, $p=0,7690$).

Tabelle 17: Expressionscharakteristiken der Insulinrezeptor β -subunit in Gewebe aus histopathologisch gesichert tumorfreien Prostaten im Vergleich zu tumorfreiem, an nicht-metastasierte low-Gleason Tumoren, angrenzendes Gewebe, tumorfreiem, an nicht-metastasierte high-Gleason Tumoren angrenzendes Gewebe, zu Tumorgewebe aus nicht-metastasierten low-Gleason Tumoren, zu Tumorgewebe aus nicht-metastasierten high-Gleason Tumoren und zu fortgeschrittenen, metastasierten Prostatakarzinomen.

Gewebegruppe	N	Mittelwert (Median)	Std.- Abw.	Std.-Fehler Mittelwert	95% KI unten	95% KI oben
tumorfrie Prostaten	24	134,64 (125)	56,80	11,59	110,65	158,62
low-Gleason angrenzend	52	131,63 (131,16)	49,60	6,88	117,82	145,44
high-Gleason angrenzend	43	147,75 (150)	69,77	10,64	126,28	169,23
low-Gleason Tumor	26	173,03 (169,69)	60,48	11,86	148,60	197,46
high-Gleason Tumor	21	167,75 (157,5)	55,90	12,20	142,30	193,19
M1 Tumorgewebe	30	132 (127,5)	43,86	8,01	115,62	148,38

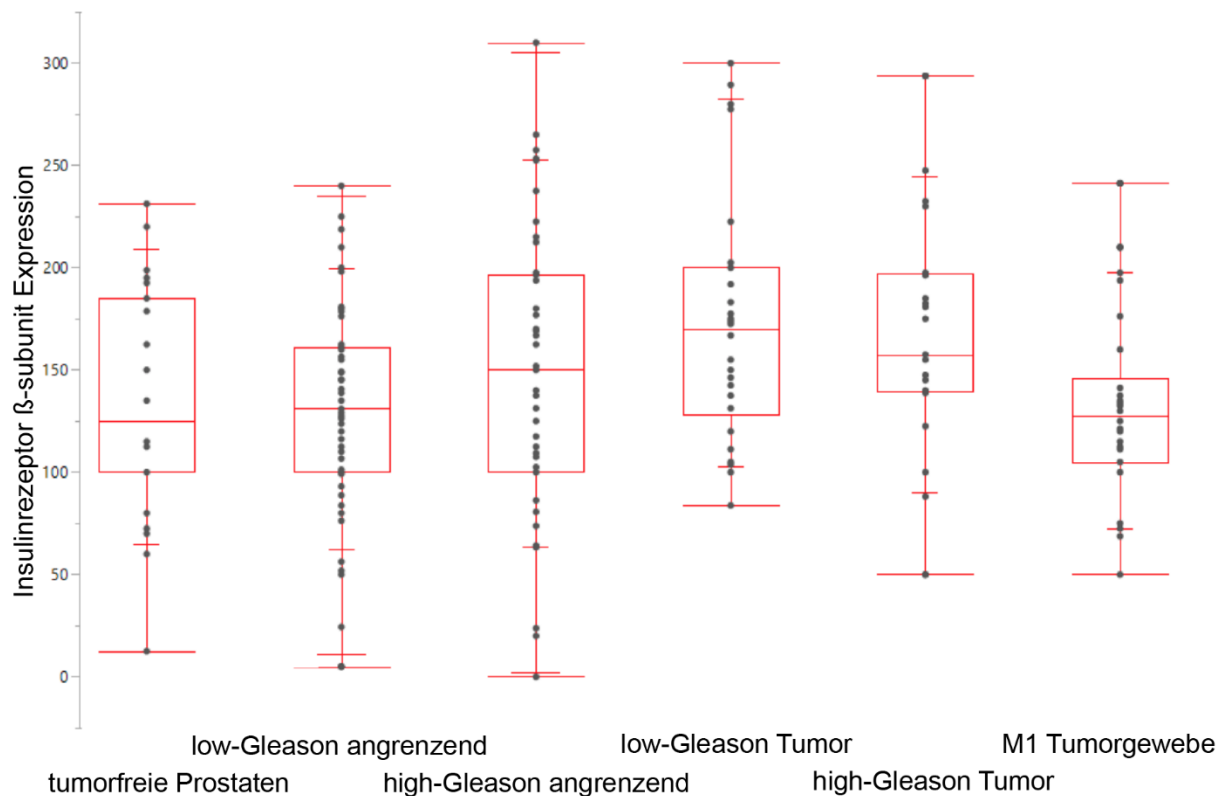


Abbildung 19: Vergleich der Expression der Insulinrezeptor β -subunit in den Gruppen Gewebe aus histopathologisch gesichert tumorfreien Prostaten, tumorfreies, an nicht-metastasierte low-Gleason Tumoren, angrenzendes Gewebe, tumorfreies, an nicht-metastasierte high-Gleason Tumoren angrenzendes Gewebe, Tumorgewebe aus nicht-metastasierten low-Gleason Tumoren, Tumorgewebe aus nicht-metastasierten high-Gleason Tumoren und fortgeschrittenen, metastasierten Prostatakarzinomen. Bonferroni-korrigiertes Alphalevel für 15 Vergleiche auf $p=0,0033$. Signifikante p-Werte mit * markiert.

Tabelle 18: Vergleich des Expressionsverhaltens zwischen den in III.1.6 definierten Gewebegruppen. Bonferroni-korrigiertes Alphalevel für 15 Vergleiche auf $p=0,0033$. Signifikante p-Werte mit * markiert.

	tumorfreie Prostaten	low-Gleason angrenzend	high-Gleason angrenzend	low-Gleason Tumor	high-Gleason Tumor	M1 Tumorgewebe
tumorfreie Prostaten		$p=0,8014$	$p=0,4401$	$p=0,0621$	$p=0,1035$	$p=0,9861$
low-Gleason angrenzend	$p=0,8014$		$p=0,2668$	$p=0,0077$	$p=0,0125$	$p=0,7690$
high-Gleason angrenzend	$p=0,4401$	$p=0,2668$		$p=0,1456$	$p=0,2269$	$p=0,2995$
low-Gleason Tumor	$p=0,0621$	$p=0,0077$	$p=0,1456$		$p=0,9659$	$p=0,0096$
high-Gleason Tumor	$p=0,1035$	$p=0,0125$	$p=0,2269$	$p=0,9659$		$p=0,0092$
M1 Tumorgewebe	$p=0,9861$	$p=0,7690$	$p=0,2995$	$p=0,0096$	$p=0,0092$	

III.2 INDIVIDUELLER ZUSAMMENHANG DER EXPRESSION DER PROTEINKINASE B (AKT) UND DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT

Zur Untersuchung eines individuellen Zusammenhangs zwischen der Expression beider Proteine wurde Spearmans Rangkorrelationskoeffizient bestimmt. Hierbei zeigte sich wie in Abbildung 20 ersichtlich ein signifikanter positiver linearer Zusammenhang (Spearman ρ : 0,5428; $p < ,0001^*$). Dabei wurde die Dignität der Gewebeproben nicht berücksichtigt. Dieser Zusammenhang bestand auch weiterhin bei der separaten Betrachtung von Normalgeweben (Spearman ρ : 0,5917; $p < ,0001^*$) und Tumorgeweben (Spearman ρ : 0,3641; $p = 0,0018^*$).

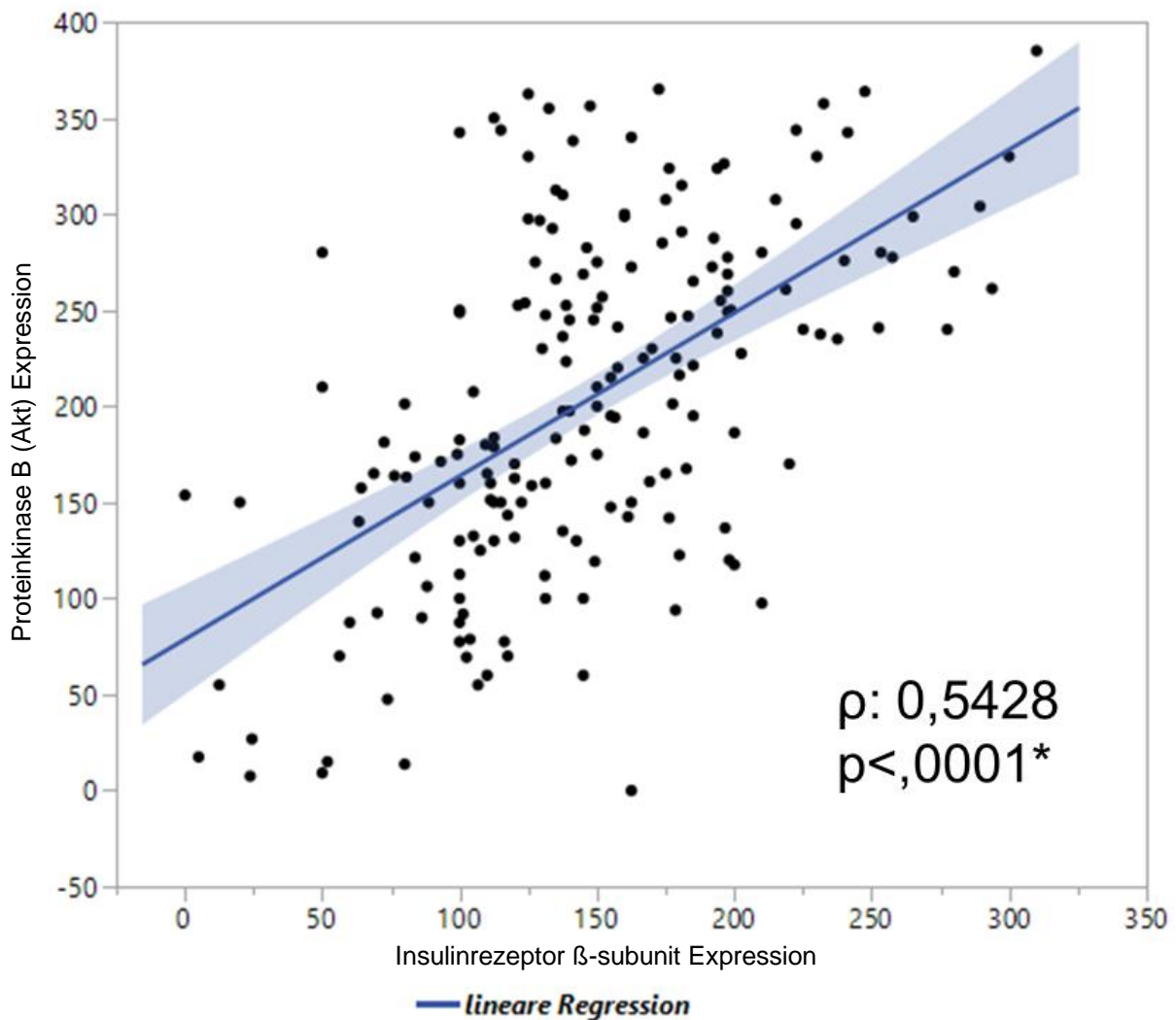


Abbildung 20: Linearer Zusammenhang zwischen der Expression der Proteinkinase B (Akt) und der Insulinrezeptor β -subunit in allen untersuchten Geweben. Signifikante p-Werte mit * markiert.

Bei der separierten Betrachtung des linearen Zusammenhangs der Expressionen der beiden Parameter Proteinkinase B (Akt) und Insulinrezeptor β -subunit in Normalgeweben, low-Gleason Tumorgeweben, high-Gleason Tumorgeweben und Gewebe aus metastasierten Prostatakarzinomen zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang in Normalgeweben (Spearman ρ : 0,5917; $p < ,0001$) und in Geweben aus low-Gleason Tumoren (Spearman ρ : 0,6915; $p < ,0001$), jedoch nicht mehr in Geweben aus high-Gleason Tumoren (Spearman ρ : 0,3839; $p = 0,0858$) und in Geweben aus metastasierten Prostatakarzinomen (Spearman ρ : 0,3664; $p = 0,0782$) (siehe Abbildung 21).

Die der Ergebnisse der in dieser Arbeit durchgeführten linearen Regressionen sind in Tabelle 19 zusammengefasst.

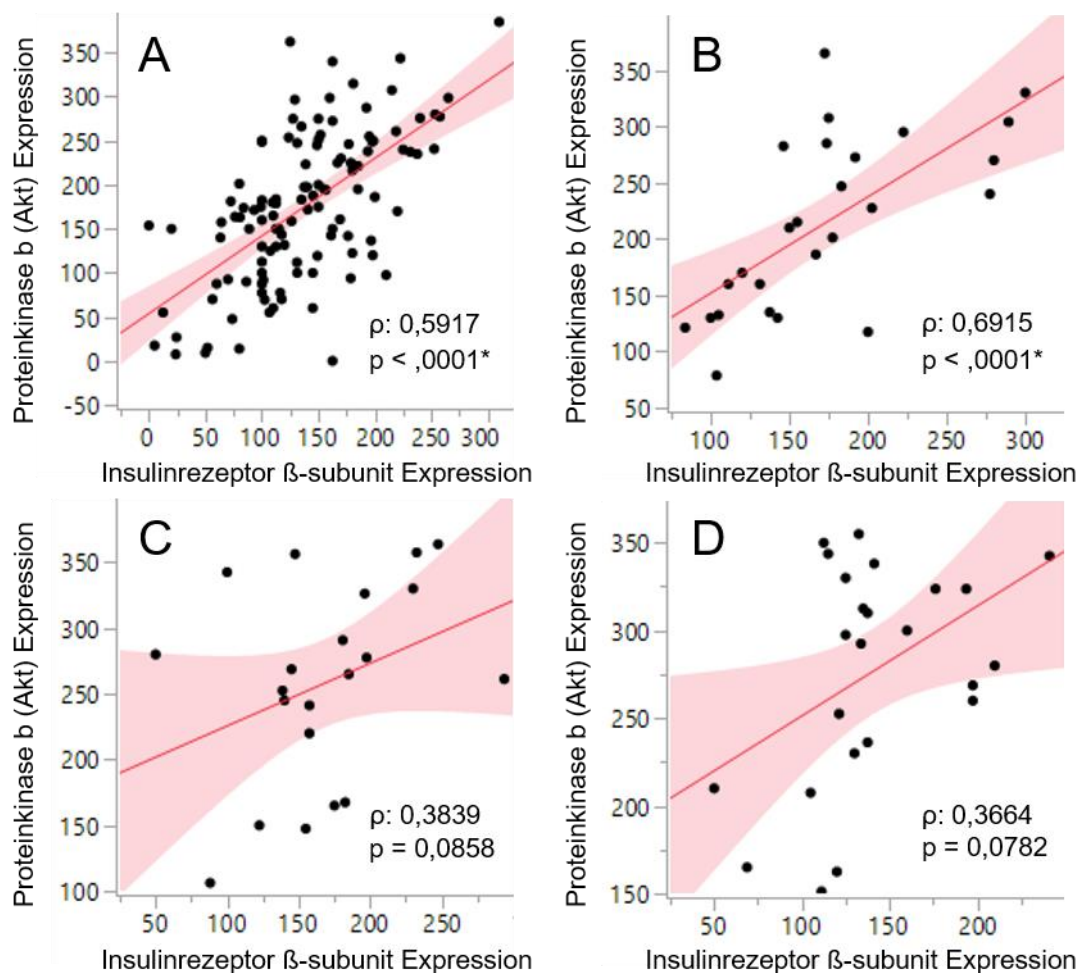


Abbildung 21: Zusammenhang der Expression der Proteinkinase B (Akt) und der Insulinrezeptor β -subunit in Normalgeweben (A), low-Gleason Tumorgeweben (B), high-Gleason Tumorgeweben (C) und Gewebe aus metastasierten Prostatakarzinomen (D). Bonferroni-korrigiertes Alphalevel für 4 Vergleiche auf $p = 0,0125$. Signifikante p -Werte mit * markiert.

Tabelle 19: Zusammenfassung der Ergebnisse der in dieser Arbeit durchgeführten linearen Regressionen.

Gruppe	Spearman ρ	p-Wert
alle Gewebeprobe	0,5428	<,0001*
Normalgewebe	0,5917	<,0001*
Tumorgewebe	0,3641	0,0018*
low-Gleason Tumorgewebe	0,6915	<,0001*
high-Gleason Tumorgewebe	0,3839	0,0858
M1-Tumorgewebe	0,3664	0,0782
Diabetiker	0,4136	0,0320
nicht-Diabetiker	0,5261	<,0001*

III.3 EXPRESSIONSVERHALTEN DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT UND DER PROTEINKINASE B (AKT) BEI DIABETIKERN UND NICHT-DIABETIKERN

III.3.1 INDIVIDUELLER ZUSAMMENHANG DER EXPRESSION DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT UND DER PROTEINKINASE B (AKT) BEI DIABETIKERN UND NICHT-DIABETIKERN

Beim Vergleich des Zusammenhangs der Expressionen der Insulinrezeptor β -subunit und der Proteinkinase B (Akt) bei nicht-Diabetikern (Spearman ρ : 0,5261; p <,0001*) zu Diabetikern (Spearman ρ : 0,4136; p =0,0320) konnte der positive lineare Zusammenhang bei den Diabetikern nicht mehr gezeigt werden (Tabelle 19), wobei hier die geringe Anzahl der Patienten mit Diabetes ($n=17$) bzw. deren Gewebeprobeanzahl ($n=29$) berücksichtigt werden muss und sich auch hier ein möglicher Zusammenhang zwischen den beiden Expressionen zueinander annehmen lässt. Außerdem wurde das Alphaniveau nach Bonferroni auf $p=0,025$ bei doppelter Testung angehoben.

III.3.2 ABSOLUTE EXPRESSION DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT UND DER PROTEINKINASE B (AKT) BEI DIABETIKERN UND NICHT-DIABETIKERN IN ALLEN GEWEBE UNABHÄNGIG VON DER DIGNITÄT

Bei der Auswertung des Expressionsverhaltens der immunhistochemischen Färbung der Proteinkinase B (Akt) bei Diabetikern im Vergleich zu Nicht-Diabetikern zeigte sich für alle Gewebe zusammengenommen ohne Unterteilung nach der Dignität ein signifikanter Unterschied in der Expression (Abbildung 22; $p = 0,0073^*$) mit höheren Expressionen der Proteinkinase B (Akt) bei Diabetikern im Vergleich zu nicht-Diabetikern.

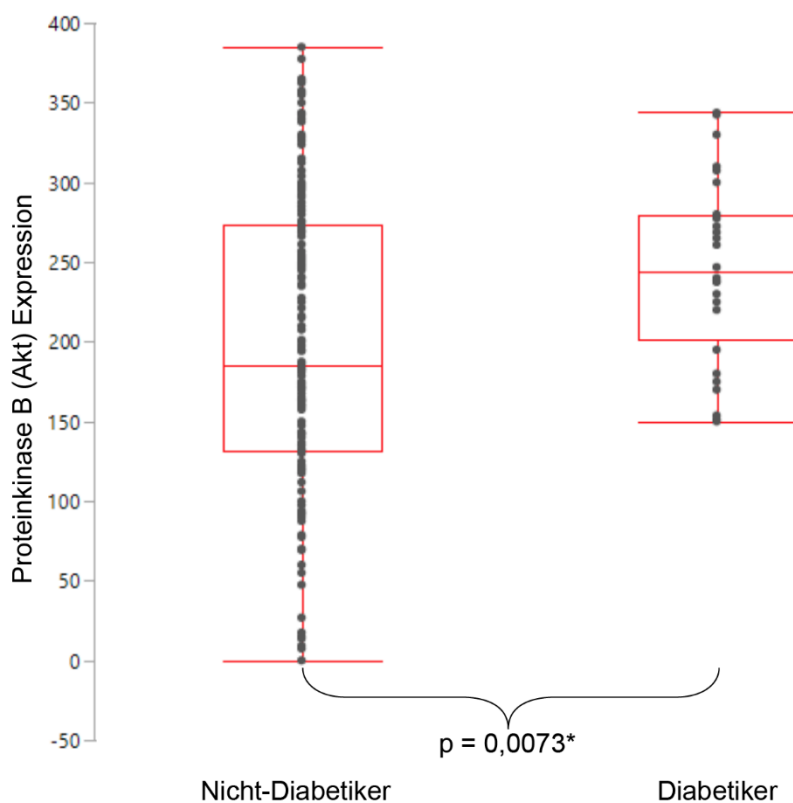


Abbildung 22: Vergleich der Expression der Proteinkinase B (Akt) bei Diabetikern und nicht-Diabetikern. Signifikanter p-Wert mit * markiert.

Bei der Auswertung des Expressionsverhaltens der immunhistochemischen Färbung der Insulinrezeptor β -subunit bei Diabetikern im Vergleich zu nicht-Diabetikern zeigte sich genauso ein signifikanter Unterschied in der Expression zwischen diesen beiden Gruppen (Abbildung 23; $p = 0,0004$) auch mit stärkeren Expressionen bei Diabetikern.

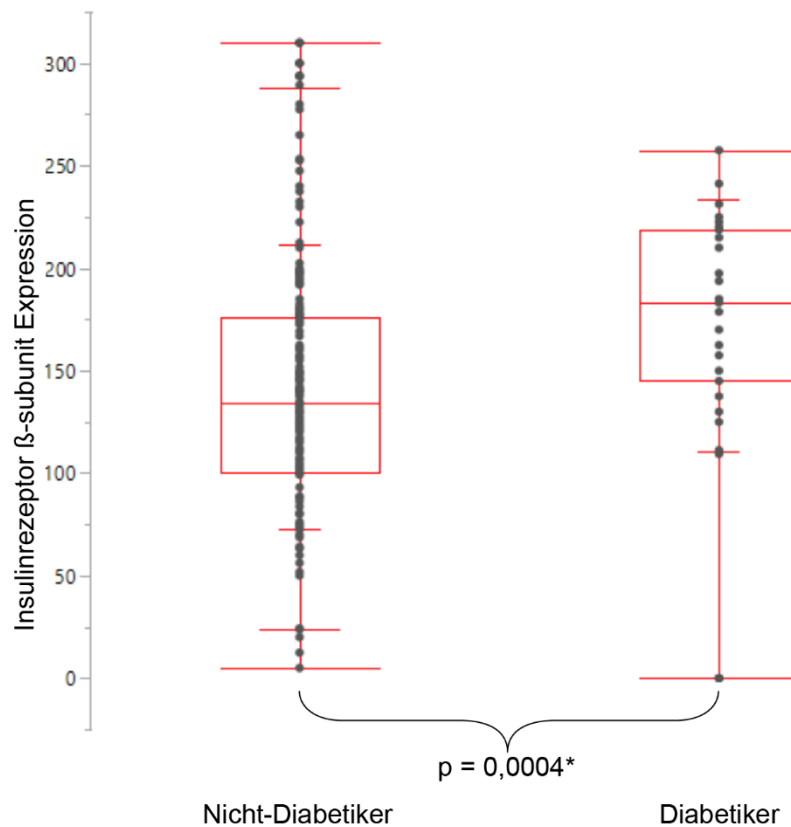


Abbildung 23: Vergleich der Expression der Insulinrezeptor β -subunit bei Diabetikern und nicht-Diabetikern. Signifikanter p-Wert mit * markiert.

III.4 EXPRESSIONSVERHALTEN DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT UND DER PROTEINKINASE B (AKT) BEI DIABETIKERN UND NICHT-DIABETIKERN IN NORMALGEWEBEN UND TUMORGEWEBEN

Bei diesem Vergleich wurden die Expressionen der Proteinkinase B (Akt) und der Insulinrezeptor β -subunit einerseits vor dem Gesichtspunkt des Diabetesstatus und andererseits der Gewebedignität unterteilt betrachtet. Dabei wurden unter Normalgewebe alle auswertbaren Dots zusammengefasst, welche von der Gruppe der histopathologisch gesichert, tumorfreien Patienten und von angrenzendem Gewebe der Patienten mit nicht-metastasiertem Prostatakarzinom stammen. Als Tumorgewebe wurden alle auswertbaren Dots zusammengefasst, welche Prostatakarzinomgewebe (nicht-metastasierte Prostatakarzinome, sowie fortgeschrittene, bereits metastasierte Prostatakarzinome) enthalten. Daher ging der Diabetesstatus von Patienten mit nicht-metastasierten Tumoren jeweils bei Normalgeweben als auch bei Tumorgeweben in die Auswertung mit ein.

Im Vergleich der Expression der Proteinkinase B (Akt) im Normalgewebe zwischen Diabetikern und nicht-Diabetikern zeigt sich ein signifikanter Unterschied ($p=0,0027$) mit sehr viel stärkeren Expressionen bei Diabetikern, während dieser im Tumorgewebe nicht nachweisbar war ($p=0,6612$) (siehe Tabelle 20 und Abbildung 24). Hier muss die geringe Anzahl von Diabetikern nach Aufteilung in Normalgewebe und Tumorgewebe berücksichtigt werden. So gab es lediglich $n=17$ auswertbare Normalgewebeproben und lediglich $n=11$ auswertbare Tumorgewebeproben von Patienten mit Diabetes. Dennoch ließ sich anhand der Daten ein Trend vermuten, dass Diabetiker auch im Tumorgewebe die Proteinkinase B (Akt) stärker exprimieren, als nicht-Diabetiker.

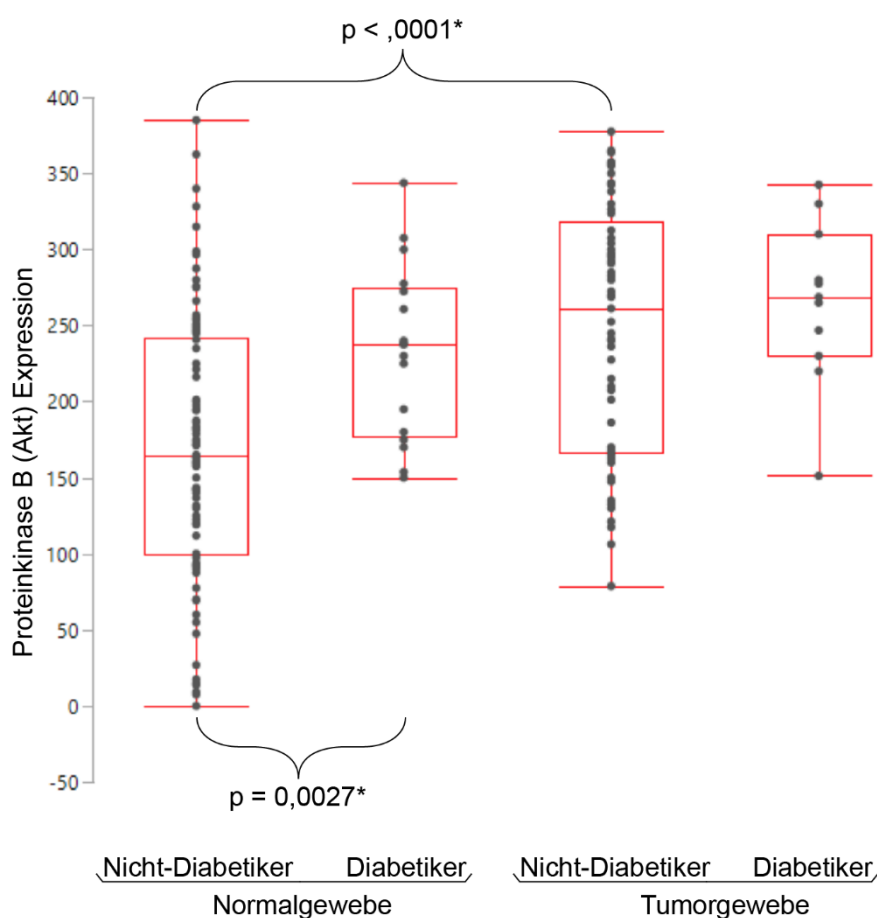


Abbildung 24: Vergleich der Expression der Proteinkinase B (Akt) in den Gruppen Normalgewebe und Tumorgewebe bei Diabetikern und nicht-Diabetikern. Bonferroni-korrigiertes Alphalevel für zwei Vergleiche auf $p=0,025$. Signifikante p-Werte mit * markiert.

Im Vergleich der Expression der Insulinrezeptor β -subunit im Normalgewebe zwischen Diabetikern und nicht-Diabetikern zeigt sich wieder ein signifikanter Unterschied ($p=0,0004$) mit sehr viel stärkerer Expression bei den Diabetikern, während dieser im Tumorgewebe nicht nachweisbar war ($p=0,2645$) (siehe Tabelle 20 und Abbildung 25).

Hier muss wieder die geringe Anzahl von Diabetikern nach Aufteilung in Normalgewebe und Tumorgewebe berücksichtigt werden. So gab es lediglich n=16 auswertbare Normalgewebeproben und lediglich n=11 auswertbare Tumorgewebeproben von Patienten mit Diabetes. Dennoch ließ sich anhand der Daten ein Trend vermuten, dass Diabetiker auch im Tumorgewebe die Insulinrezeptor β -subunit stärker exprimieren als nicht-Diabetiker.

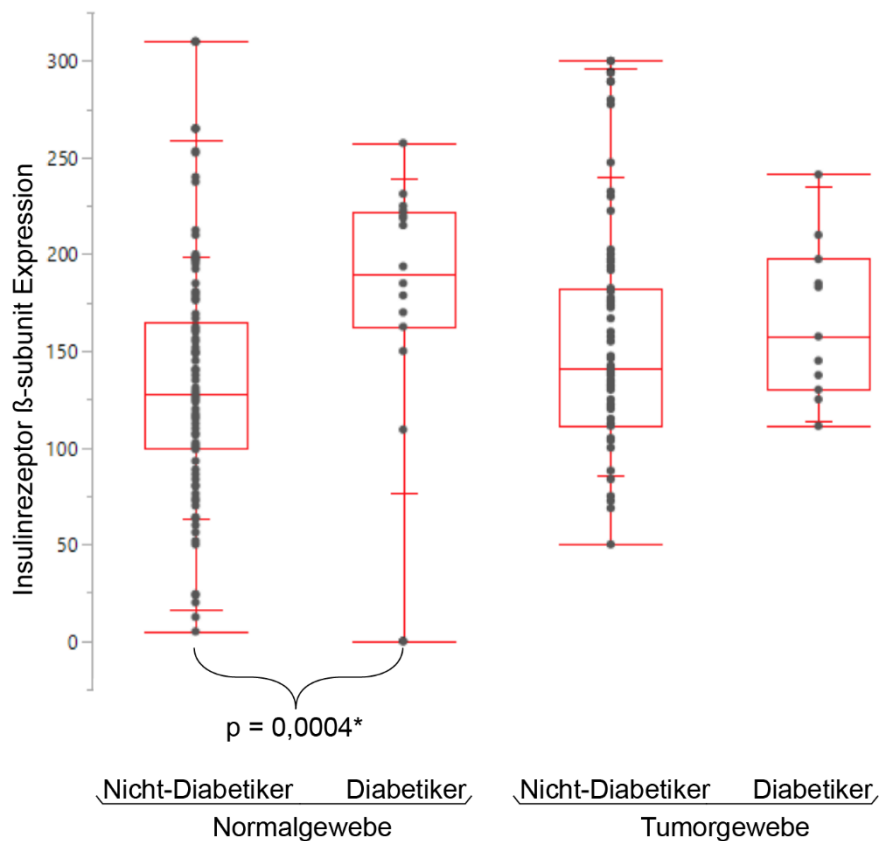


Abbildung 25: Vergleich der Expression der Insulinrezeptor β -subunit in den Gruppen Normalgewebe und Tumorgewebe bei Diabetikern und nicht-Diabetikern. Bonferroni-korrigiertes Alphalevel für zwei Vergleiche auf $p=0,025$. Signifikanter p-Wert mit * markiert.

Tabelle 20: Vergleich des Expressionsverhaltens der Proteinkinase B (Akt) und der Insulinrezeptor β -subunit für Gewebe von Diabetikern und nicht-Diabetikern. Bonferroni-korrigiertes Alphalevel für zwei Vergleiche auf $p=0,025$. Signifikante p-Werte mit * markiert.

		Nicht-Diabetiker Mittelwert (Median)	Diabetiker Mittelwert (Median)	p-Wert
Proteinkinase B (Akt) Normalgewebe	B	168,0 (164,4)	232,7 (237,5)	0,0027*
Insulinrezeptor β - subunit Normalgewebe	β -	131,6 (127,5)	181,4 (189,4)	0,0004*
Proteinkinase B (Akt) Tumorgewebe	B	247,2 (261,3)	265,6 (268,8)	0,6612
Insulinrezeptor β - subunit Tumorgewebe	β -	153,3 (140,6)	165,7 (157,5)	0,2645

Der Vergleich der Proteinexpressionen zwischen Normalgeweben und Tumorgeweben in den Subgruppen Diabetiker und nicht-Diabetiker (siehe Abbildungen 24 und 25 und Tabelle 21) ergab eine signifikant stärkere Expression der Proteinkinase B (Akt) im Tumorgewebe von nicht-Diabetikern ($p<,0001^*$). Dies konnte bei Diabetikern nicht beobachtet werden, hier scheint das Expressionsniveau der Proteinkinase B (Akt) in Tumorgeweben eher auf dem des Normalgewebes zu liegen, mit leicht stärkeren Expressionen im Tumorgewebe. Im Vergleich dazu scheint die Expression der Insulinrezeptor β -subunit bei nicht-Diabetikern in Normalgeweben und Tumorgeweben nach Bonferroni-Korrektur auf $p=0,025$ nicht signifikant unterschiedlich zu sein, auch wenn sich ein Trend vermuten lässt mit leicht höheren Expressionen im Tumorgewebe ($p=0,0373$). Bei Diabetikern zeigten sich zwar keine signifikanten Unterschiede in der Expression beider Marker zwischen Normalgeweben und Tumorgeweben, die Betrachtung der mittleren Expressionen (Abbildungen 24 und 25) lassen allerdings eine etwas stärkere Expression der Proteinkinase B (Akt) in Tumorgeweben und interessanterweise eine deutliche Reduktion der Expression der Insulinrezeptor β -subunit aufgrund einer sehr hohen Expression in den Normalgeweben vermuten. Hier ist erneut auf die geringe Größe der Gruppe hinzuweisen.

Tabelle 21: Vergleich des Expressionsverhaltens der Proteinkinase B (Akt) und der Insulinrezeptor β -subunit für Normalgewebe und Tumorgewebe von Diabetikern und nicht-Diabetikern. Bonferroni-korrigiertes Alphalevel für zwei Vergleiche auf $p=0,025$. Signifikante p-Werte mit * markiert.

	Normalgewebe Mittelwert (Median)	Tumorgewebe Mittelwert (Median)	p-Wert
Proteinkinase B (Akt) bei nicht-Diabetikern	168,0 (164,4)	247,2 (261,3)	<,0001*
Insulinrezeptor β -subunit bei nicht-Diabetikern	131,6 (127,5)	153,3 (140,6)	0,0373
Proteinkinase B (Akt) bei Diabetikern	232,7 (237,5)	265,6 (268,8)	0,1383
Insulinrezeptor β -subunit bei Diabetikern	181,4 (189,4)	165,7 (157,5)	0,1746

IV. DISKUSSION

IV.1 WESEN DER ARBEIT UND SYNOPSIS

Sowohl die Proteinkinase B (Akt) als auch die Insulinrezeptor β -subunit sind wichtige Schaltstellen in ihren jeweiligen Signalwegen, nämlich dem PI3K/Akt- und dem Insulinsignalweg. Diese beiden Stoffwechselwege und insbesondere ihre Rolle für die Tumorgenese und Tumorprogression sind bereits seit längerem Gegenstand der Forschung. Außerdem wird vermutet, dass diese beiden Stoffwechselwege regulatorisch miteinander in Verbindung stehen.

Einen Beitrag zum Verständnis der Rolle des Insulinsignalweges als Aktivator des onkologisch relevanten PI3K/Akt-Signalweges (Bevan, 2001, Lizcano & Alessi, 2002) leisten zu können und das insbesondere im Hinblick auf die verschiedenen Stadien der Progression des Prostatakarzinoms ist daher ein wichtiger Schwerpunkt dieser Arbeit.

Ob und inwiefern der Diabetesstatus einen modulierenden Einfluss auf diese Zusammenhänge nehmen kann, ist noch nicht ausreichend geklärt und auch Thema dieser Arbeit gewesen. Bekannt ist, dass Diabetes einen großen Einfluss auf die Entstehung und Progression bestimmter Malignome haben kann und dass das Prostatakarzinom als einziger Tumor, welcher bei Vorliegen eines Diabetes seltener auftritt, hierbei eine Sonderrolle einnimmt (Lutz et al., 2018b). Wodurch dies und die aggressiveren Verläufe der Prostatakarzinome bei zusätzlichem Vorliegen eines Diabetes zustande kommen, ist noch nicht völlig verstanden. Es ist denkbar, dass gerade die beiden hier besprochenen Signalwege hierzu beitragen. Die hier vorliegende Arbeit soll einen Teil zur Aufklärung dieser Fragen beitragen, indem die Interaktion der beiden Parameter in verschiedenen Gruppen verglichen und soweit möglich der Einfluss eines vorliegenden Diabetes geprüft wird.

Weiterhin stellte sich für die vorliegende Arbeit vor allem die Frage, ob die beiden untersuchten Parameter Proteinkinase B (Akt) und Insulinrezeptor β -subunit als Progressionsparameter dienen können, um die Aggressivität der Prostatakarzinome besser abschätzen zu können. Außerdem wäre es wünschenswert durch weitere Aufklärung dieser Zusammenhänge neue Hypothesen über Therapiestrategien und

Therapieziele aufstellen zu können und dies möglicherweise insbesondere unter Berücksichtigung des Diabetesstatus als Einflussfaktor.

Ein weiterer Bestandteil dieser Arbeit war es zu untersuchen, wie sich an Prostatakarzinome angrenzendes Gewebe biologisch in Bezug auf die Parameter Proteinkinase B (Akt) und Insulinrezeptor β -subunit verhält. Damit wurde versucht mehr über das Wachstumsverhalten und die für die Progression wichtige Tumorausbreitung von Prostatakarzinomen zu erfahren.

Zu diesem Zweck wurden mittels Immunhistochemie und der Microarray-Technik die Expressionen der beiden Parameter (Proteinkinase B (Akt) und Insulinrezeptor β -subunit) anhand von Prostatagewebeproben im Sinne einer Progressionsreihe, und an nicht-metastasierte Prostatakarzinome angrenzendes Gewebe von 111 Patienten analysiert und mit klinischen Daten korreliert.

IV.2 ONKOLOGISCHE RELEVANZ DER PARAMETER PROTEINKINASE B (AKT) UND INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT

IV.2.1 DIE PROTEINKINASE B (AKT) UND DIE INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT ALS PARAMETER FÜR DIE MALIGNITÄT DES PROSTATAKARZINOMS

Bei dem für diese Arbeit durchgeführten Vergleich der Proteinkinase B (Akt)-Expression zwischen benignem und malignem Gewebe zeigten sich signifikant höhere Expressionen im Tumorgewebe ($p < ,0001$). Auch in der Arbeit von Jendrossek et al. aus dem Jahr 2008 zeigten sich anhand von immunhistochemischen Untersuchungen höhere Expressionen der Proteinkinase B (Akt) in malignem Gewebe im Vergleich zu benignem Gewebe bei Prostatakarzinomen. Das benigne Gewebe der Arbeit von Jendrossek et al. stammte jedoch ausschließlich von histologisch unauffälligem Gewebe aus radikalen Prostatektomien bei Vorliegen eines Prostatakarzinoms. In der vorliegenden Arbeit wurden außerdem benigne Gewebeproben von tumorfreien Prostata eingeschlossen. Außerdem fanden Jendrossek und Kollegen bei ihren Untersuchungen einen erhöhten Anteil an phosphorylierter Proteinkinase B (Akt). (Jendrossek et al., 2008) Das zeigt, dass in Prostatakarzinomgewebe einerseits, wie auch in der vorliegenden Arbeit, die Expression der Proteinkinase B (Akt) erhöht zu sein scheint und andererseits eine erhöhte Aktivität des PI3K/Akt-Signalweges durch eine vermehrte Phosphorylierung der Proteinkinase B (Akt) stattzufinden scheint. Es gibt viele Arbeiten wie die von Thomas et al. aus dem Jahr 2004 und Merseburger et

al. aus dem Jahr 2006, welche die Aktivierung des PI3K/Akt-Signalweges über die Phosphorylierung der Proteinkinase B (Akt) in Prostatakarzinomgewebe beschreiben. Dabei spielt insbesondere eine vermehrte Aktivierung der Proteinkinase B (Akt) durch einen Verlust des Phosphatase und Tensin homologue (PTEN) Tumorsuppressorgens, dessen transkribierte Proteine als Phosphatasen den Anteil an phosphorylierter Proteinkinase B (Akt) verringern, eine bedeutende Rolle. (Thomas et al., 2004, Merseburger et al., 2006b) Diese Ergebnisse unterstützen die Hypothese über eine proonkogene Wirkung des PI3K/Akt-Signalweges und über die Bedeutung der Proteinkinase B (Akt) als wichtiger Parameter für die Malignität bei Prostatakarzinomen.

Einzig in einer Arbeit von Waalkes et al. von 2010, bei der Prostatagewebe aus Feinnadelbiospien untersucht wurde, fanden sich erniedrigte Proteinkinase B (Akt) Expressionen in malignem Gewebe im Vergleich zu benignem Gewebe. Das Gewebe stammte hierbei jedoch ausnahmslos aus Prostatakarzinomen, welche ein Prostatakarzinom enthielten und es wurden nur 42 Gewebeproben insgesamt untersucht. (Waalkes et al., 2010)

Für die Expression der Insulinrezeptor β -subunit vor dem Hintergrund der Malignität des Prostatakarzinoms liegen bisher kaum Daten vor. Das liegt vermutlich insbesondere daran, dass die Insulinrezeptor β -subunit als Teil des Insulinstoffwechsels zwar eine wichtige Rolle in der Tumorgenese und Tumorprogression spielt, diese jedoch eher indirekt über die Aktivierung nachgeschalteter Signalwege einnimmt. Denn die β -subunit ist mit ihrer Tyrosinkinaseaktivität der biologisch aktive Teil der Insulinrezeptoren, sie reguliert dadurch die ihr nachgeschalteten Signalwege und hat insofern vorrangig eine wichtige regulatorische Funktion (Youngren, 2007, Haeusler et al., 2018). Diese Rolle ist selbstverständlich immens wichtig für die Pathogenese maligner Erkrankungen wie dem Prostatakarzinom, jedoch weniger vor dem Hintergrund der Betrachtung der Insulinrezeptor β -subunit als direktem Parameter für die Malignität.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigten bei der Analyse der Expression der Insulinrezeptor β -subunit keinen signifikanten Unterschied zwischen malignem und benignem Gewebe ($p=0,0696$) ohne Einteilung der Gewebeproben in Subgruppen. Diese Ergebnisse suggerieren daher, dass die β -subunit des Insulinrezeptors nicht

sinnvoll eingesetzt werden kann, um die Malignität von Prostatagewebe einzuschätzen.

Für die Fragestellung des direkten Einflusses des Insulinrezeptors auf die Tumorgenese und Progression spielt die Differenzierung in die Isoformen A und B eine bedeutendere Rolle. Dies erklärt sich durch die bei der Isoform A, zusätzlich zum Insulin vorhandene hohe Affinität zum Insulin-like growth Faktor-II (IGF-II) wodurch sie dessen Wirkung als Wachstumshormon übermittelt (Belfiore et al., 2009). Analysen über das Verhältnis der Isoform A zur Isoform B in malignem Gewebe im Vergleich zu benignem Gewebe wurden bereits für verschiedene Malignomarten durchgeführt. Auch für das Prostatakarzinom gibt es Untersuchungen zu dieser Thematik. Die Daten deuten darauf hin, dass sich die proonkogenen Effekte den der Insulinstoffwechsel auf Prostatagewebe zu haben scheint, vermutlich insbesondere durch ein erhöhtes Verhältnis der Expression der Isoform A des Insulinrezeptors erklärt und nicht durch eine Steigerung der Insulinrezeptoren im gesamten. (Heni et al., 2012)

Mit Hilfe der konventionellen Immunhistochemie lässt sich jedoch zumindest bisher keine Unterscheidung in die Isoformen A und B des Insulinrezeptors durchführen. Eine Arbeit von Cox et al. von 2009 untersuchte unter anderem auch mittels Immunhistochemie an einem Tissue Microarray die Expression der β -subunit des Insulinrezeptors in Prostatakarzinomgewebe im Vergleich zu benignem Prostatagewebe und fand dabei eine signifikant höhere Expression in malignem Gewebe ($p < 0,001$). (Cox et al., 2009) Diese Ergebnisse konnte die vorliegende Arbeit bei der Analyse und dem Vergleich aller benignen mit malignen Gewebeproben ohne weitere Unterteilung nicht bestätigen.

IV.2.2 DIE PROTEINKINASE B (AKT) ALS PROGRESSIONSPARAMETER DES PROSTATAKARZINOMS

Es gibt bereits ausführliche Arbeiten, welche die begünstigende Rolle der Proteinkinase B (Akt) sowie ihres Signalweges auf die Tumorgenese und die Tumorprogression beschreiben.

Daher stellte sich die Frage, ob die Stärke der Expression der Proteinkinase B (Akt) analog zur hier untersuchten Progressionsreihe von Prostatagewebe verläuft und damit die Proteinkinase B (Akt) einen Parameter für die Progression von Prostatakarzinomen darstellt.

Die vorliegenden Ergebnisse unterstützen die Hypothese, dass die Proteinkinase B (Akt) als Progressionsparameter geeignet sein kann. So zeigte sich bei der Unterteilung in Normalgewebe, Gewebe aus nicht-metastasierten Prostatakarzinomen und Gewebe aus metastasierten Prostatakarzinomen ein Anstieg der Expression der Proteinkinase B (Akt) analog zur Progressionsreihe. Die Expression stieg von Normalgewebe zu nicht-metastasiertem Prostatakarzinomgewebe signifikant ($p < ,0001$) und weiter zu metastasiertem Prostatakarzinomgewebe an, wobei dieser Anstieg von nicht-metastasiertem zu metastasiertem Prostatakarzinomgewebe bei Bonferroni-korrigiertem Signifikanzniveau auf $p \approx 0,0166$ nicht signifikant war ($p = 0,0415$). Dennoch war auch hier der Trend zum Expressionsanstieg analog zur Progressionsreihe deutlich erkennbar. Selbst bei der nochmaligen Unterteilung dieser Gruppen in Gewebe aus tumorfreien Prostata, Gewebe angrenzend an nicht-metastasierte low-Gleason Tumoren und an high-Gleason Tumoren, Gewebe aus nicht-metastasierten low-Gleason Tumoren und high-Gleason Tumoren und Gewebe aus metastasierten Tumoren war dieser Trend zu höheren Expressionen bei höhermalignem Gewebe weiterhin erkennbar, wenn auch bei einem Bonferroni-korrigiertem Alphalevel für 15 Vergleiche auf $p = 0,0033$ nicht signifikant für jeden der Vergleiche.

Auch Jendrossek et al. konnten an einem Kollektiv von 45 Patienten, welche alle an nicht-metastasierten Prostatakarzinomen erkrankt waren und radikalen Prostatektomien unterzogen wurden einen Zusammenhang der Expression der Proteinkinase B (Akt) mit der Progression von Prostatakarzinomen aufzeigen. In dieser Arbeit wurden die Expressionen der Proteinkinase B (Akt) und ihrer phosphorylierten Form (p-Akt) untersucht. Zu diesem Zweck wurden wie in der hier vorliegenden Arbeit immunhistochemische Untersuchungen durchgeführt. Die Daten dieser Arbeit zeigen, dass Expressionen der Proteinkinase B (Akt) in benignem Gewebe seltener erhöht sind als in malignem Gewebe und in Gewebe von Patienten mit niedriger malignen Prostatakarzinomen seltener als in Gewebe von Patienten mit höheren Gleason Scores. Es muss bei der Betrachtung dieser Ergebnisse jedoch auf die niedrige in das Kollektiv eingeschlossene Patientenzahl von $n = 45$ hingewiesen werden.

Die Autoren bekräftigen also die in der vorliegenden Arbeit aufgestellte Hypothese einer Steigerung der Expression der Proteinkinase B (Akt) analog zur Progression. Außerdem zeigte sich eine signifikante Erhöhung der phosphorylierten Form der

Proteinkinase B (Akt) in Geweben von Patienten mit Gleason Scores ≥ 6 im Vergleich zu Geweben von Patienten mit Gleason Scores 4-5 ($p < 0,001$). Durch die teilweise stattgehabte Follow-up Erhebung war es möglich festzustellen, dass eine Erhöhung der Expression der phosphorylierten Form der Proteinkinase B (Akt) auch analog zur klinischen Progression verlief. (Jendrossek et al., 2008)

Damit zeigen diese Daten, dass sich nicht nur die Expression der Proteinkinase B (Akt) selbst analog zur Progression von Prostatakarzinomen zu erhöhen scheint, sondern auch eine Steigerung der Phosphorylierung und damit der Aktivierung der Proteinkinase B (Akt) analog zur Progression erfolgt.

Insbesondere die Bedeutung der Proteinkinase B (Akt) und ihres Signalweges für die bei der Metastasierung stattfindenden biologischen Prozesse ist von immenser Wichtigkeit für die Progression von Prostatakarzinomen. Diese Fragestellung gewinnt insbesondere dadurch an Relevanz, dass Prostatakarzinome im metastasierten Stadium im Gegensatz zu nicht-metastasierten Prostatakarzinomen bisher als nicht heilbar gelten (Deutsche Krebsgesellschaft e.V., 2016). Die Tatsache, dass in der vorliegenden Arbeit die Expressionen der Proteinkinase B (Akt) analog zur Progression anstiegen und die stärksten Expressionen in Gewebe von metastasierten Prostatakarzinomen festgestellt wurden, unterstützt die Annahme, dass dieser Signalweg eine zentrale Rolle für die in metastasiertem Gewebe stattfindenden biologischen Prozesse spielt.

Für ein tiefergreifendes Verständnis dieser Prozesse wären genauere Untersuchungen des gesamten PI3K/Akt-Signalweges einschließlich aller Isoformen der Proteinkinase B (Akt) und der zugehörigen durch sie regulierten Proteine wünschenswert, welche einen Einfluss auf die Progression von Malignomen haben können.

IV.2.2.1 DIE ROLLE DER PROTEINKINASE B (AKT) FÜR DIE KASTRATIONSRESISTENZ VON PROSTATAKARZINOMEN

Da der PI3K/Akt-Signalweg eine wichtige Rolle für den Übergang des Prostatakarzinoms in seine kastrationsresistente Form zu spielen scheint (Graff, 2002, Bonaccorsi et al., 2004, Merseburger et al., 2006b), stellte sich die Frage, ob es einen Unterschied in der Expression der Proteinkinase B (Akt) zwischen Gewebe aus hormonsensitiven und hormonrefraktären Prostatakarzinomen gibt.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit konnten keine Unterschiede in der Expression der Proteinkinase B (Akt) zwischen hormonsensitiven und hormonrefraktären Prostatakarzinomen zeigen. Damit sind Hinweise gegeben, dass der Übergang zur Kastrationsresistenz nicht mit einer Veränderung in der Pathophysiologie des Proteinkinase B (Akt) Signalweges verbunden ist. Zu einer stichhaltigeren Aussage hierzu müssten jedoch weitere Parameter des Signalweges untersucht werden. Die Veränderungen im Sinne der höheren Expression der Proteinkinase B (Akt) sind bereits im hormonsensiblen Stadium zu detektieren. Die Tatsache, dass in dieser Arbeit gezeigt werden konnte, dass Gewebe aus metastasierten Prostatakarzinomen allgemein die stärksten Expressionen der Proteinkinase B (Akt) aufweisen, könnte dafür sprechen, dass wenn in Zukunft für diese Phase der Erkrankung eine zielgerichtete Therapie mit Zielen im PI3K/Akt-Signalweg (Sarker et al., 2009) entwickelt werden könnte, diese nicht erst am Übergang zum hormonrefraktären Stadium sondern bereits im Hormonsensiblen eingesetzt werden sollte. Allerdings wird dieser Sachverhalt kontrovers diskutiert (s.u.).

Außerdem konnten Graff und Kollegen im Jahr 2000 anhand von an auf kastrierten und nicht-kastrierten Nacktmäusen übertragenen Prostatakarzinom-Zelllinien durchgeführten Untersuchungen zeigen, dass der Grad der Aktivierung der Proteinkinase B (Akt) in engem Zusammenhang mit der Progression von Prostatakarzinomen, bis hin zum Übergang in die Kastrationsresistenz steht. Dabei wurde die Expression und Aktivierung der Proteinkinase B (Akt) in androgen-unabhängigen Zellen mit androgen-abhängigen Zellen verglichen. Es zeigte sich, dass die Expression der Proteinkinase B (Akt) in kastrationsresistenten Prostatakarzinomzellen im Vergleich zu hormonsensiblen Prostatakarzinomzellen nicht erhöht war, was die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit unterstützt, bei der auch kein signifikanter Unterschied zwischen hormonsensitiven und hormonrefraktären, metastasierten Prostatakarzinomgewebeproben in Bezug auf die Proteinkinase B (Akt) Expression vorlag. Es zeigte sich jedoch in der Arbeit von Graff et al. eine deutlich erhöhte Aktivierung der Proteinkinase B (Akt) in androgen-unabhängigen Prostatakarzinomzellen im Vergleich zu androgen-abhängigen Zellen. (Graff et al., 2000) In der Zusammenschau dieser Ergebnisse scheint die Aktivierung der Proteinkinase B (Akt) durch Phosphorylierung eine größere Rolle in der kastrationsresistenten Form von Prostatakarzinomen zu spielen als die Steigerung der Expression.

IV.2.3 DIE INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT ALS PROGRESSIONSPARAMETER DES PROSTATAKARZINOMS

Die meisten bisher durchgeführten Arbeiten zum Thema des Insulinrezeptors als Einflussgröße auf die Progression des Prostatakarzinoms untersuchten den Einfluss der unterschiedlichen Insulinrezeptor Isoformen auf die Tumorgenese und Tumorprogression, da sich herausstellte, dass insbesondere die Isoform A des Insulinrezeptors diese Effekte hat (Belfiore et al., 2009, Heni et al., 2012).

Die Insulinrezeptor β -subunit ist der Teil des Insulinrezeptors, der über eine Tyrosinkinaseaktivität verfügt. Damit ist die β -subunit der Teil des Insulinrezeptors, der als biologisch aktiver Teil des Rezeptors über die Phosphorylierung seiner Substrate das Signal des Insulinsignalweges übermittelt und einen regulatorischen Einfluss auf verschiedene Signalwege hat. (Saltiel & Kahn, 2001, Youngren, 2007)

Über die reine Bestimmung der Expression der β -subunit des Insulinrezeptors als Progressionsparameter sind die vorliegenden Ergebnisse auch vor diesem Hintergrund des potentiellen regulatorischen Einflusses, den der Insulinsignalweg auf den PI3K/Akt-Signalweg ausüben könnte, interpretiert worden.

Insbesondere der Isoform A des Insulinrezeptors und damit einem Teil Insulinsignalweges wird jedoch schon lange auf der Basis zahlreicher zu dieser Fragestellung durchgeführten Arbeiten eine Bedeutung für die Entstehung und/oder die Progression von verschiedenen Malignomen wie beispielsweise dem Schilddrüsenkarzinom (Vella et al., 2002, Vella & Malaguarnera, 2018), dem Ovarialkarzinom (Kalli et al., 2002), dem Mammakarzinom (Sciacca et al., 1999, Frasca et al., 1999), dem Colonkarzinom (Frasca et al., 1999) und dem Bronchialkarzinom (Frasca et al., 1999) zugesprochen. Es gibt jedoch auch aktuelle Untersuchungen zu diesem Thema wie beispielsweise von Wang et al. aus dem Jahr 2018 anhand von quantitativer Echtzeit-Polymerase-Kettenreaktion (qRT-PCR), Western Blot- und *in-vivo* Untersuchungen am Endometriumkarzinom, bei denen sich zeigte, dass das Ausschalten der Isoform A des Insulinrezeptors zu einer verringerten Fähigkeit zur Migration und Invasion und zu einer reduzierten Apoptose der Endometriumkazinomzellen führt. (Wang et al., 2018)

Es stellte sich die Frage, ob auch die die Stärke der Expression der Insulinrezeptor β -subunit analog zur hier untersuchten Progressionsreihe von Prostatagewebe verläuft

und damit die Insulinrezeptor β -subunit einen Parameter für die Progression von Prostatakarzinomen darstellt.

Die vorliegenden Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass die Expression der Insulinrezeptor β -subunit nicht analog zur Progressionsreihe der untersuchten Gewebeproben des Prostatakarzinoms verläuft. Es zeigte sich, dass es zwar bei Gewebe aus nicht-metastasierten Prostatakarzinomen eine signifikant höhere durchschnittliche Expression der Insulinrezeptor β -subunit im Vergleich zu Normalgewebe ($p=0,0030$) gab, diese jedoch bei Gewebe aus metastasierten Prostatakarzinomen im Vergleich zu den nicht-metastasierten Prostatakarzinomen wieder signifikant ($p=0,0021$) abfiel. Bei niedrigmalignen Tumoren mit low-Gleason Einteilung zeigte sich die stärkste Expression.

Die komplexe Rolle der Insulinrezeptor β -subunit macht eine Aussage zu ihrer Beteiligung an Prozessen der Progression des Prostatakarzinoms allerdings sehr schwierig.

Der klassische Insulinrezeptor ist ein Heterotetramer, bestehend aus zwei alpha- und zwei beta-subunits (Youngren, 2007). Es stellte sich jedoch heraus, dass es auch Hybridrezeptoren gibt, welche zur Hälfte aus Insulinrezeptoranteilen (also einer alpha- und einer beta-subunit) und zur Hälfte aus Insulin-like growth Faktor I Rezeptoranteilen (IGF-IR) bestehen. Es gibt also den klassischen Insulinrezeptor, welcher im eigentlichen Sinne nur eine Affinität zu Insulin hat, wobei hierbei in die Isoformen A und B unterschieden werden muss und hier die Isoform A zusätzliche ein Affinität zum Insulin-like growth Faktor II (IGF-II) hat. Der Hybridrezeptor aus Insulinrezeptor und Insulin-like growth Faktor I Rezeptor (IGF-IR) kann sowohl Insulin-like growth Faktor I (IGF-I) als auch Insulin-like growth Faktor II (IGF-II) binden und laut neuerer Ergebnisse auch Insulin, jedoch mit einer mehr als 20-fach geringeren Affinität (Slaaby, 2015). Alle diese Rezeptoren beinhalten die auch in der hier vorliegenden Arbeit untersuchte β -subunit des Insulinrezeptors und werden deshalb bei dieser Analyse mitefasst. Sie unterscheiden sich jedoch in ihrer Rolle als Überträger von Wachstumssignalen und daher ihrem Anteil an der Tumorgenese und Progression. (Cox et al., 2009, Benyoucef et al., 2007, Belfiore, 2007)

Für das Prostatakarzinom zeigt eine Arbeit von Cox et al., welche unter anderem ebenfalls Analysen der β -subunit des Insulinrezeptors anhand von Immunoblotting

Untersuchungen an Prostatakarzinomzelllinien und durch Untersuchungen eines immunhistochemisch gefärbten und nach Gleason-Scores eingeteilten Tissue Microarrays durchführten, einerseits signifikant höhere Insulinrezeptor β -subunit Expressionen in malignem im Vergleich zu benignem Gewebe ($p < 0,001$) und andererseits, dass sich diese Expressionen -entgegen den Ergebnissen, die in der vorliegenden Arbeit gefunden wurden- in Relation zum Gleason Score ansteigend analog mit höheren Gleason-Scores zeigten. Diese Daten lassen auch vermuten, dass aufgrund einer stärkeren Expression der β -subunit des Insulinrezeptors in höhergradigen Prostatakarzinomen im Vergleich zum ebenfalls untersuchten Insulin-like growth Faktor I Rezeptor (IGF-IR) mehr klassische Insulinrezeptoren gebildet werden und weniger Hybridrezeptoren und das höhergradige Prostatakarzinome dadurch eine höhere Sensitivität für Insulin aufweisen könnten. (Cox et al., 2009) Diese Zusammenhänge ließen sich mit Hilfe der Daten der hier vorliegenden Arbeit nicht vollumfänglich bestätigen, da sich zwar in low-Gleason Prostatakarzinomen und damit malignem Gewebe höhere Expressionen der β -subunit des Insulinrezeptors zeigten als in benignem Prostatagewebe, jedoch keine weitere Expressionssteigerung analog zu höhergradig entdifferenzierten Prostatakarzinomzellen nachzuweisen war, sondern die Expression der β -subunit bei high-Gleason und metastasierten Prostatakarzinomen wieder geringer war. Bei der vorliegenden Arbeit wurde jedoch auch nicht das Verhältnis des Insulinrezeptors zum Insulin-like growth Faktor I Rezeptor (IGF-IR) analysiert.

IV.3 IMPLIKATIONEN DIESER ERGEBNISSE FÜR DIE THERAPIE DES PROSTATAKARZINOMS

Vor dem Hintergrund der in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen stellte sich die Frage, wie die beiden hier untersuchten Signalwege sowie die durch deren Analyse gewonnenen Erkenntnisse zu neuen Therapieansätzen oder zu veränderten Therapieschemata bereits bekannter Therapien führen könnten.

Insgesamt wäre in Zukunft ein individuellerer Therapieansatz beim Prostatakarzinom denkbar, bei dem vor einer Therapie durch molekularbiologische Untersuchungen von Biopsiematerial oder an Operationspräparaten mehrere biologische Marker bestimmt werden, welche die Abschätzung der Aggressivität des Prostatakarzinoms verbessern bzw. eventuelle Angriffspunkte für eine Targeted-Therapie liefern können. Für diese Untersuchungen würde sich gegebenenfalls die auch für diese Arbeit verwendete

Tissue Microarray-Technik eignen, da sie für diesen Zweck eine zeit- und kostensparende Methode darstellt, auch wenn diese Technik Limitationen aufweist und nicht für alle biologischen Marker gleichwertig angewendet werden kann (Merseburger et al., 2006a).

Insbesondere eine in unterschiedlichen Tumorstadien variierende Tumorbiologie könnte also eine noch stärker an den Tumorstadien orientierte Therapie bedingen. Zudem zeigt sich beim Prostatakarzinom generell eine sehr hohe Variabilität in der Tumorbiologie (Kuczyk et al., 1998), sodass sich die Therapie nicht nur am Tumorstadium sondern auch am individuellen Tumor und seiner speziellen Biologie orientieren könnte, wenn diese evaluiert wird.

Besonders die Therapie des kastrationsresistenten Prostatakarzinoms stellt weiterhin eine große Herausforderung dar und auch hier könnte eine Hemmung bestimmter Teile des Proteinkinase B (Akt) Signalwegs einen Vorteil bringen, da dieser Signalweg am Übergang der Prostatakarzinome in die Kastrationsresistenz beteiligt zu sein scheint (Graff et al., 2000, Graff, 2002, Bonaccorsi et al., 2004). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit weisen allerdings auf einen früheren Zeitpunkt der Signalwegs-Modulation in der Progressionssequenz hin.

Generell ist die Prognose des Prostatakarzinoms sehr variabel, da es sehr aggressive Verlaufsformen gibt, an denen die Patienten innerhalb von ein bis zwei Jahren versterben und andererseits gibt es die latenten Prostatakarzinome, welche in der gesamten Lebenszeit der Patienten nicht symptomatisch werden (Kuczyk et al., 1998). Daher ist es sehr wichtig bessere Prognoseparameter für das Prostatakarzinom zu finden, um das biologische Verhalten besser abschätzen zu können und daran orientiert die Therapie anzupassen (Merseburger et al., 2006a). Es gibt eine Vielzahl molekularbiologischer Marker, welche in Zukunft hierfür in Frage kommen, allerdings noch nicht in die klinische Routine aufgenommen werden konnten (Kristiansen, 2012). Einige Beispiele hierfür, die bereits in ersten Ansätzen zu diesem Thema untersucht wurden neben dem Insulinrezeptor (und damit auch seiner β -subunit) (Heni et al., 2012, Vella et al., 2018) und der Proteinkinase B (Akt) (Jendrossek et al., 2008, Merseburger et al., 2006b, Thomas et al., 2004, Waalkes et al., 2010) sind beispielsweise: Phosphatase und Tensin homologue (PTEN) und p27^{Kip1} (Halvorsen et al., 2003, Merseburger et al., 2006a), die als diagnostischer Parameter genutzte alpha-methylacyl Coenzym A Racemase (AMACR) (Rubin et al., 2002b, Merseburger

et al., 2006a), der Transkriptionsfaktor p63 (Davis et al., 2002, Merseburger et al., 2006a), der Androgenrezeptor, Myelocytomatosis oncogene cellular homolog (MYC) und Cyclin-D1 (Bubendorf et al., 1999, Merseburger et al., 2006a), p53 und B-cell lymphoma 2 (bcl-2) (Merseburger et al., 2003, Bauer et al., 1996, Matsushima et al., 1997, Kuczyk et al., 1998, Stackhouse et al., 1999, Zellweger et al., 2003), Mammalian target of rapamycin (mTOR) und seine phosphorylierte Form (p-mTOR) (Russo et al., 2018, Schanz et al., 2016, von Sivers, 2018), Eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1 (4E-BP1) (Russo et al., 2018, Schanz et al., 2016, von Sivers, 2018), Dickkopf-1 (DKK-1) und Sclerostin als Inhibitoren des Wnt-pathways (Todenhöfer et al., 2014b, Aufderklamm et al., 2018), Transketolase like 1 (TKTL1) (da Costa et al., 2018), Farnesyl pyrophosphate synthase (FPPS) (Todenhöfer et al., 2013a), Galactin-3 (Knapp et al., 2013, Merseburger et al., 2008), Receptor activator of the NF- κ B ligand (RANKL) und Osteoprotegerin (OPG) (Todenhöfer et al., 2013b, Todenhöfer et al., 2014a, Todenhoefer et al., 2011), XPA-210 als Derivat der Thymidine Kinase-1 (Aufderklamm et al., 2012)

Ob und welche dieser Biomarker im klinischen Alltag Einzug halten können, wird sich erst nach weiteren Untersuchungen zu diesem Thema zeigen.

Ein tiefgreifendes Verständnis der im Prostatagewebe stattfindenden Stoffwechselprozesse und der veränderten Biologie in Karzinomen ist essentiell für das Finden neuer Therapieansätze und neuer Ziele für eine Targeted-Therapie. Die Möglichkeit, Ziele im Signalweg der Proteinkinase B (Akt) für eine Targeted-Therapie nutzbar machen zu können, wurde bereits zum Thema einiger Studien (Jendrossek et al., 2008, Van Spronsen et al., 2005). Durch die Hemmung von Aktivatoren der Proteinkinase B (Akt) wie der Phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) und des epidermalen Wachstumsfaktor-Rezeptor (EGFR) sowie von den durch die Proteinkinase B (Akt) aktivierten Proteinen wie dem mammalian target of rapamycin (mTOR) können Tumore für die cytotoxischen Effekte von Chemotherapien und ionisierender Strahlung besser empfänglich gemacht werden (Jendrossek et al., 2008, Gupta et al., 2003, Handrick et al., 2006, Mondesire et al., 2004, Zimmermann et al., 2006, Nakamura et al., 2005).

Leider erwiesen sich PI3K- sowie Proteinkinase B (Akt)-Inhibitoren in ersten Untersuchungen zur Therapie beim Prostatakarzinom als nicht sehr spezifisch, sodass

sich mTOR-Inhibitoren als weiter Downstream gelegener Bestandteil des PI3K/Akt-Signalweges als vielversprechender erwiesen. (Morgan et al., 2009)

Dies könnte unter anderem auch daran liegen, dass es von Proteinkinase B (Akt) drei Isoformen (Akt1, Akt2, Akt3) vorkommen, welche ein hohes Maß an Homologie aufweisen (Virtakoivu et al., 2012) und dennoch unterschiedliche und zum Teil gegensätzliche Wirkungen zeigen. Das zeigt sich insbesondere am Beispiel des Ovarialkarzinoms und des Mammakarzinoms bei denen Akt1 eine hemmende Wirkung auf die Migration und Invasion der malignen Zellen hat und Akt2 die Adhäsion und Invasion begünstigt und damit eine konträre Wirkung auf die Metastasierungsvorgänge dieser Malignome hat (Yoeli-Lerner et al., 2005, Meng et al., 2006, Arboleda et al., 2003). Dieses hohe Maß an Homologie im Aufbau dieser Isoformen und gleichzeitig deren unterschiedliche Funktion machen ein therapeutisches Eingreifen an dieser Stelle des Signalweges schwierig.

Auch die Rolle des Insulin-like growth Faktor Systems über den Insulin-like growth Faktor-I Rezeptor in der Resistenz von Tumoren gegen Chemo- und Bestrahlungstherapie konnte bereits häufig gezeigt werden. Berücksichtigt man nun die Ähnlichkeit der Isoform A des Insulinrezeptors mit diesem Rezeptor und die Tatsache, dass auch darüber die Wirkung des Insulin-like growth Faktors übermittelt wird, könnte auch der Insulinrezeptor hierbei eine Rolle spielen und gegebenenfalls ein Ziel für neue Therapien darstellen. Bei ersten Versuchen den Insulin-like growth Faktor-I Rezeptor als Ziel für eine Therapie zu wählen, zeigte sich ein gesteigertes Insulinrezeptor A signalling, was zu einer Insulinresistenz mit Hyperinsulinämie führt, da durch die stärkere Expression der Isoform A weniger der metabolisch aktiveren Isoform B exprimiert wird. Außerdem haben Tumorzellen mit einer gesteigerten Expression der Isoform A des Insulinrezeptors sogar einen Überlebensvorteil, was durch diese Kreuzreaktivierung zu einer Resistenz gegenüber dieser Therapieform führt. Das zeigt, dass der Insulinrezeptor für eine solche Form der Therapie immer berücksichtigt werden muss. Am erfolgreichsten in *in-vitro* und *in-vivo* Experimenten war der Einsatz von Antikörpern und Molekülen, welche die Tyrosinkinase-Aktivität des Insulin-like growth Faktor-I Rezeptors hemmen, da diese die metabolische Aktivität des Insulinrezeptors nicht beeinflussen. (Belfiore et al., 2009)

Zusammengefasst wäre es möglicherweise denkbar, dass in Zukunft auch eine Targeted-Therapie mit Zielen im Insulinstoffwechsel und/oder des Stoffwechsels des

Insulin-like growth Faktors und insofern auch des Insulinrezeptors und seinem Signalweg (vor allem durch seine Kreuzreaktivierung durch Blockierung des Inulin-like growth Faktor-I Rezeptors (King et al., 2014)) in der Therapie von Malignomen sinnvoll werden könnte. Dies wird auch bereits durch einige Arbeiten angedeutet (Wang et al., 2018, Belfiore et al., 2009) wobei hier bisher hauptsächlich Inulin-like growth Faktor-I Rezeptor Antikörper, Kinaseantikörper und Ligandenantikörper untersucht wurden und diese weiterhin kritisch erforscht werden sollten (King et al., 2014).

IV.4 DAS BIOLOGISCHE VERHALTEN VON AN PROSTATAKARZINOME ANGRENZENDEM PROSTATAGEWEBE

Um festzustellen, ob in der Stärke der Expression der Proteinkinase B (Akt) und der Insulinrezeptor β -subunit innerhalb von Prostata, welche ein Prostatakarzinom enthalten, eine räumliche Komponente vorliegt, wurde Gewebe mit Entnahmeort nah am Tumor und fern vom Tumor aus den in dieser Studie enthaltenen nicht-metastasierten Prostatakarzinomen betrachtet und diese untereinander sowie mit dem Tumorgewebe sowohl aus den nicht-metastasierten, als auch aus fortgeschrittenen, metastasierten Prostatakarzinomen und mit Gewebe aus histopathologisch gesichert tumorfreien Prostata verglichen. Man erhoffte sich hier ebenfalls ein genaueres Verständnis über die Tumorbilogie von Prostatakarzinomen zu erlangen und festzustellen, ob die Biologie von an Prostatakarzinomen angrenzendem, jedoch histologisch unauffälligem Prostatagewebe ebenfalls verändert ist, oder ob dieses sich in Bezug auf die untersuchten Parameter eher wie Gewebe verhält, welches aus tumorfreien Prostata stammt.

Weitere Erkenntnisse darüber, wie sich Gewebe biologisch verhält, welches an einen Tumor angrenzt, jedoch histopathologisch unauffällig ist, könnten unter anderem die Diagnostik des Prostatakarzinoms verbessern. Erste Untersuchungen vor dem Hintergrund dieser Hypothese wurden bereits durchgeführt (Merseburger et al., 2006b, Waalkes et al., 2010, Heni et al., 2012). Außerdem kann dies Rückschlüsse über das Wachstumsverhalten und über die für die Progression wichtige Tumorausbreitung zulassen.

Die in dieser Arbeit entstandenen Ergebnisse konnten jedoch die Hypothese, dass sich in dem an Prostatakarzinome angrenzendem Gewebe ebenfalls tumorähnliche biologische Veränderungen nachweisen lassen nicht bestätigen.

Die vorliegenden Daten von der Untersuchung der Expression der Proteinkinase B (Akt) zeigen keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gewebeproben mit Entnahmeort nah und den Gewebeproben mit Entnahmeort fern von einem nicht-metastasierten Prostatakarzinom ($p=0,7872$) und Beide unterscheiden sich nicht signifikant von den Gewebeproben aus tumorfreien Prostata (für nah am PCA: $p=0,3634$; für fern vom PCA: $p=0,4592$). Sowohl die Gewebeproben mit Entnahmeort nah am Prostatakarzinom als auch die Gewebeproben mit Entnahmeort fern vom Prostatakarzinom weisen signifikant schwächere Expressionen der Proteinkinase B (Akt), als in Gewebe aus nicht-metastasierten Prostatakarzinomen ($p=0,0014$ und $p=0,0006$) und als in Gewebe aus metastasierten Prostatakarzinomen ($p<,0001$ und $p<,0001$) auf. Anhand der vorliegenden Daten konnten sich keine tumorbiologischen Veränderungen in an Prostatakarzinomen angrenzendem Gewebe nachweisen lassen. Dieser Zusammenhang ist weiterhin bei der Analyse der Expression der Proteinkinase B (Akt) von angrenzendem Gewebe mit Unterteilung der nicht-metastasierten Prostatakarzinome nach high- und low-Gleason ersichtlich, obwohl hier bei kleiner werdenden Gruppen und Bonferroni-korrigiertem Signifikanzniveau auf $p=0,0033$ nicht statistisch signifikant für jeden Vergleich. Dennoch ist ein deutlicher Trend zu erkennen, sodass unabhängig von der Aggressivität der Prostatakarzinome in angrenzendem Gewebe keine veränderte Expression der Proteinkinase B (Akt), ähnlich zu der in Tumorgewebe, vorzuliegen scheint.

Merseburger und Kollegen untersuchten 2006 neben anderen molekularbiologischen Markern die phosphorylierte und damit aktivierte Form der Proteinkinase B (Akt) in Prostatakarzinomgewebe, in an diese Prostatakarzinome angrenzendem Gewebe und in Gewebe aus histopathologisch gesichert tumorfreien Prostata. Diese Untersuchung wurde ebenfalls mittels Immunhistochemie und der Microarray-Technik durchgeführt. Dabei stellte sich heraus, dass sich sowohl in Prostatakarzinomgewebe ($p<0,01$) als auch in dem angrenzenden Gewebe ($p<0,05$) eine signifikant höhere Expression der phosphorylierten Proteinkinase B (Akt) im Vergleich zu Gewebe aus tumorfreien Prostata nachweisen ließ. Zwischen Prostatakarzinomgewebe und dem angrenzenden Gewebe konnte dabei kein signifikanter Unterschied in der Expression gezeigt werden. (Merseburger et al., 2006b)

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit widersprechen der Arbeit von Merseburger et al. jedoch nicht zwingend, da bei der vorliegenden Arbeit nicht die phosphorylierte und

damit aktivierte Form der Proteinkinase B (Akt) untersucht wurde. Da also ein anderer molekularbiologischer Parameter untersucht wurde, sind diese Ergebnisse nicht direkt vergleichbar. In der Zusammenschau der beiden Arbeiten lässt sich die Hypothese aufstellen, dass in an Prostatakarzinomen angrenzendem Gewebe im Vergleich zu tumorfreiem Gewebe die Proteinkinase B (Akt) zwar nicht stärker exprimiert wird, die biologisch aktive, phosphorylierte Form der Proteinkinase B (Akt) jedoch sehr wohl erhöht vorliegt. Das bedeutet, dass das angrenzende Gewebe zwar tumorähnliche biologische Veränderungen aufweist, jedoch nicht durch eine stärkere Expression der Proteinkinase B (Akt), sondern durch eine stärkere Aktivierung derselben durch Phosphorylierung. Diese Daten sprechen dafür, dass eine Aktivierung der Proteinkinase B (Akt) allein für die Tumorgenese des Prostatakarzinoms nicht ausreicht, sondern das zusätzlich eine Hochregulierung der Expression notwendig ist.

In einer Arbeit von Waalkes et al. aus dem Jahr 2010 wurden immunhistochemische Untersuchungen an Gewebeproben aus Feinnadelbiopsien von 14 Patienten untersucht. Dabei wurden 42 Gewebeproben untersucht, welche von Prostatakarzinomgewebe, direkt an diese Prostatakarzinome angrenzendem Gewebe und von benignem Prostatagewebe stammten, welches aus einer vom Prostatakarzinom weit entfernten Lokalisation biopsiert wurde. Dabei wurde neben anderen Parametern auch die Expression der phosphorylierten Form der Proteinkinase B (Akt) untersucht. In dieser Arbeit fanden sich sogar signifikant erniedrigte Expressionen der phosphorylierten Proteinkinase B (Akt) in Tumorgewebe im Vergleich zu den benignen Gewebeproben mit Biopsielokalisation entfernt vom Prostatakarzinom ($p=0,028$). Die Expression in an Prostatakarzinome angrenzendem Gewebe zeigte mittlere Expressionen, es ließ sich jedoch kein signifikanter Unterschied zu Prostatakarzinomgewebe feststellen. (Waalkes et al., 2010) Beim Vergleich dieser Ergebnisse mit der vorliegenden Arbeit muss berücksichtigt werden, dass mit der phosphorylierten Form der Proteinkinase B (Akt) wieder ein anderer molekularbiologischer Parameter untersucht wurde und dass die Gewebeproben der Arbeit von Waalkes et al. aus der Feinnadelbiopsie stammen und damit aus einer nicht direkt zur Gewebegewinnung aus Operationspräparaten vergleichbaren Modalität. Außerdem wurden dabei nur eine sehr geringe Anzahl an Gewebeproben untersucht, nämlich 14 benigne vom Prostatakarzinom weit entfernt stammende Gewebeproben, 14 Prostatakarzinomgewebeproben und 14 direkt an die Prostatakarzinome angrenzende Gewebeproben von nur 14 Patienten, was die Aussagekraft reduziert.

Auch in der Analyse der Expression der Insulinrezeptor β -subunit zeigt sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gewebeproben mit Entnahmeort nah und den Gewebeproben mit Entnahmeort fern von einem nicht-metastasierten Prostatakarzinom ($p=0,9436$) und beide unterscheiden sich nicht signifikant von den Gewebeproben aus tumorfreien Prostata (für nah am PCA: $p=0,8112$; für fern vom PCA: $p=0,8593$). Sowohl in der Analyse der Expressionen ohne Unterteilung der nicht-metastasierten Prostatakarzinome, als auch mit Unterteilung der nicht-metastasierten Prostatakarzinome in low- und high-Gleason können bei Bonferroni-korrigiertem Signifikanzniveau auf $p=0,005$ und $p=0,0033$ keine statistisch signifikanten Unterschiede in der Expression zwischen dem angrenzenden Gewebe und dem Gewebe aus Prostatakarzinomen festgestellt werden.

In der erwähnten Arbeit von Heni et al. sind auch vergleichbare Aussagen zur Diversität der Markerexpressionen im Prostatagewebe getroffen worden. Dabei konnte gezeigt werden, dass sich in Bezug auf die RNA dieser Parameter das an Prostatakarzinome angrenzende, aber histologisch unauffällige Gewebe ähnlich wie das Prostatakarzinomgewebe selbst verhält und nicht wie Gewebe aus tumorfreien Prostata. Außerdem konnte darin wiederum bestätigt werden, dass insbesondere die Isoform A des Insulinrezeptors eine bedeutende Rolle in der Tumorgenese und Tumorprogression zu spielen scheint. (Heni et al., 2012)

Diese Arbeit legt also nahe, dass bezogen auf den Stoffwechselweg des Insulinrezeptors in an Prostatakarzinome angrenzendem Gewebe karzinomähnliche biologische Veränderungen nachzuweisen sind. Das dies in der vorliegenden Arbeit bei der Untersuchung der Expression der β -subunit des Insulinrezeptors nicht bestätigt werden konnte, könnte sich dadurch erklären, dass dabei die Isoformen A und B des Insulinrezeptors nicht getrennt betrachtet werden können. Das lässt die Hypothese zu, dass in an Prostatakarzinomen angrenzendem Gewebe nicht der Insulinrezeptor als solcher stärker exprimiert wird, die Isoform A, welche den größeren Einfluss auf die Stoffwechselfunktionen der Tumorgenese und Tumorprogression hat, im Verhältnis gesehen jedoch sehr wohl häufiger vorkommt. Dies legt nahe, dass in Prostatakarzinomen auch im umliegenden Gewebe ein die Karzinogenese begünstigendes Missverhältnis der Produktionen der Isoformen des Insulinrezeptors vorliegt, was wiederum auf die Progression vorantreibende Wachstumsprozesse im umliegenden Gewebe hindeutet.

IV.5 DER INSULINSIGNALWEG ALS POTENZIELLE REGULATORISCHE KOMPONENTE DES ONKOLOGISCH RELEVANTEN PI3K/AKT-SIGNALWEGES

IV.5.1 DIE ZUSAMMENHÄNGE DER SIGNALWEGE DER PROTEINKINASE B (AKT) UND DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT

Der regulatorische Zusammenhang des Insulinsignalweges mit dem PI3K/Akt-Signalweg wurde bereits häufig beschrieben (Bevan, 2001, Lizcano & Alessi, 2002).

Aus diesem Grund wurde in der hier vorliegenden Arbeit auch der Zusammenhang der Expressionen der beiden für diese Stoffwechselwege zentralen Proteine, Proteinkinase B (Akt) und Insulinrezeptor β -subunit, untersucht um zu analysieren, ob sich hierbei ein Muster erkennen lässt, dass neue Erkenntnisse über das Zusammenspiel dieser beiden Signalwege liefert. Das wiederum kann hoffentlich zu neuen Hypothesen über die Aktivierungsvorgänge des onkologisch relevanten PI3K/Akt-Signalweges führen.

Zu diesem Zweck wurden lineare Regressionsanalysen durchgeführt, welche für die Expressionen der beiden Parameter sowohl unabhängig von der Gewebedignität (Spearman ρ : 0,5428; $p < 0,0001$) als auch mit Unterteilung in Normalgewebe (Spearman ρ : 0,5917; $p < 0,0001$) und Tumorgewebe (Spearman ρ : 0,3641; $p = 0,0018$) einen linearen Zusammenhang zeigen. Bei der genaueren Betrachtung der linearen Zusammenhänge der Expressionen der beiden Parameter im Tumorgewebe durch eine Unterteilung der Gewebeproben in Tumorgewebe aus nicht-metastasierten low-Gleason Prostatakarzinomen, Tumorgewebe aus nicht-metastasierten high-Gleason Prostatakarzinomen und Tumorgewebe aus metastasierten Prostatakarzinomen zeigt sich, dass der lineare Zusammenhang bei nicht-metastasierten low-Gleason Tumoren noch besteht (Spearman ρ : 0,6915; $p < 0,0001$), dieser jedoch bei den nicht-metastasierten high-Gleason Tumoren (Spearman ρ : 0,3839; $p = 0,0858$) und den metastasierten Prostatakarzinomen (Spearman ρ : 0,3664; $p = 0,0782$) nicht mehr nachzuweisen ist.

Diese Ergebnisse bestätigen also, dass auch in Hinblick auf die Stärke der Expressionen der beiden Parameter unter bestimmten Voraussetzungen ein Zusammenhang besteht. Mit Berücksichtigung der bereits beschriebenen Verbindung der beiden Signalwege ist anzunehmen, dass eine stärkere Expression der β -subunit,

als durch seine Tyrosinkinase biologisch aktiver Bestandteil, des Insulinrezeptors (Youngren, 2007, Krüger et al., 2008) auch die Expression bzw. die Aktivität der Proteinkinase B (Akt) hochreguliert wird. Das wiederum führt zu den beschriebenen Einflüssen der Proteinkinase B (Akt) auf die Tumorgenese und Tumorprogression.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit deuten darauf hin, dass insbesondere bei den niedrigmalignen low-Gleason Prostatakarzinomen wie auch im Normalgewebe der Prostata ein starker Zusammenhang dieser beiden Parameter besteht, während diese Verbindung im Laufe der Progression zu high-Gleason und nochmal deutlicher zu metastasierten Prostatakarzinomen aufgehoben ist. Das könnte bedeuten, dass die Aktivierung des PI3K/Akt-Signalweges, als für die Genese und Progression von Prostatakarzinomen wichtiger Signalweg, insbesondere in low-Gleason Prostatakarzinomen stark vom Insulinsignalweg abhängig ist, während in höhermalignen Prostatakarzinomen der PI3K/Akt-Signalweg zwar weiterhin eine große Rolle spielt, dieser jedoch durch eine Entkopplung vom Insulinsignalweg auf andere Aktivations- und Regulationsmechanismen zurückgreift.

In der Arbeit von Jendrossek et al. wurden die Expressionen der Proteinkinase B (Akt) und ihrer phosphorylierten Form (p-Akt) in nicht-metastasierten Prostatakarzinomen untersucht. Außerdem wurden in dieser Arbeit mit der Expression des Phosphatase und Tensin homologue (PTEN) und dessen phosphorylierter Form (p-PTEN) ein Teil des die Proteinkinase B (Akt) aktivierenden Signalweges analysiert. Zusätzlich wurden einige Expressionen von Substraten der Proteinkinase B (Akt) untersucht. Diese Arbeit zielte also insbesondere auf der Untersuchung eines der bekanntesten Aktivierungswege des Proteinkinase B (Akt) Signalweges ab, nämlich über eine Reduktion der Aktivität von PTEN, was zu einer Aktivierung der Proteinkinase B (Akt) und des darauf folgenden Signalweges führt. Es zeigte sich jedoch, dass obwohl sowohl eine Steigerung der Expression der Proteinkinase B (Akt) als auch ihrer phosphorylierten Form (p-Akt) in Tumorgewebe deutlich häufiger auftrat als in benignem, an die Prostatakarzinome angrenzendem Gewebe die Expression von PTEN nur bei 20% der Gewebeproben der untersuchten Patienten erniedrigt war. Bei der Analyse der Expression der Proteinkinase B (Akt) in Gewebeproben von Patienten mit Gleason Scores 4-5 zeigte sich eine Steigerung der Expression in 61,5% der Fälle und in Gewebeproben von Patienten mit Gleason Scores ≥ 6 in 84,4% der Fälle. Hier zeigte sich jedoch in Gewebeproben von Patienten mit Gleason Scores 4-5 nur in

15,4% und in Gewebeproben von Patienten mit Gleason Scores ≥ 6 nur in 21,9% der Fälle eine Reduktion der Expression von PTEN. Bei einem erhöhten Verhältnis der phosphorylierten Form der Proteinkinase B (Akt) zur nicht-phosphorylierten Form der Proteinkinase B (Akt) hatte keiner der Patienten in der Gruppe Gleason Scores 4-5 eine erniedrigte Expression von PTEN und in der Gruppe der Patienten mit Gleason Scores ≥ 6 nur 21,9%. Ein weiterer Mechanismus der Inaktivierung von PTEN ist die Phosphorylierung. In 31% der Fälle lag eine Erhöhung des phosphorylierten PTEN in malignem Gewebe vorlag. Insbesondere in der Gruppe Gleason Scores ≥ 6 wurde die phosphorylierte Form des PTEN häufiger gefunden als in der Gruppe Gleason Scores 4-5.

Zusammengefasst zeigte sich in 48,8% der untersuchten Prostatakarzinomfälle entweder eine erniedrigte Expression von PTEN oder eine erhöhte Expression der phosphorylierten Form des PTEN, mit einer Tendenz zu einem häufigeren Vorliegen einer der beiden Fälle bei Patienten mit höheren Gleason Scores (Gleason Scores ≥ 6). In 42,9% der Fälle zeigte sich eine erhöhte Aktivierung der Proteinkinase B (Akt) durch Phosphorylierung bei gleichzeitig vorliegender reduzierter Aktivität von PTEN. Diese Ergebnisse deuten stark darauf hin, dass es sowohl eine PTEN-abhängige, als auch eine PTEN-unabhängige Aktivierung des Proteinkinase B (Akt) Signalweges gibt. (Jendrossek et al., 2008)

IV.5.2 FRÜHE UND SPÄTE AKTIVIERUNG DES PROTEINKINASE B (AKT) SIGNALWEGES

Insbesondere bei niedrigeren Gleason Scores scheint das Phosphatase und Tensin homologe (PTEN) demnach also nicht die alleinige Rolle für die Hochregulation der Aktivität des PI3K/Akt-Signalweges zu spielen. Die Aktivierung des Proteinkinase B (Akt) Signalweges durch Wegfall des PTEN erscheint damit ein Ereignis zu sein, dass –zumindest im Prostatakarzinom– in einer späten Phase greift. Auch der Insulinsignalweg kann über die Phosphorylierung der Insulin Rezeptor Substrate (IRS) durch die als Tyrosinkinase biologisch aktive β -subunit des Insulinrezeptors zu einer Aktivierung der Phosphoinositid-3-Kinase (PI3K) führen, welche wiederum durch ihren Signalweg zu einer erhöhten Aktivität der Proteinkinase B (Akt) führt. (Bevan, 2001, Lizcano & Alessi, 2002, Youngren, 2007)

Auch wenn in der vorliegenden Arbeit nur die Expression der Parameter Insulinrezeptor β -subunit und Proteinkinase B (Akt) als Bestandteile ihres jeweiligen Signalweges untersucht wurden, so zeigt sich dennoch durch die linearen Regressionsanalysen insbesondere bei Normalgewebe und den low-Gleason Prostatakarzinomen ein enger Zusammenhang der Expressionen der beiden untersuchten Parameter. Nimmt man nun an, dass diese beiden Parameter als zentrale Proteine ihres jeweiligen Signalweges repräsentativ für die Aktivität dieser Signalwege sind kann man argumentieren, dass gerade bei den low-Gleason Prostatakarzinomen der regulatorische Einfluss der des Insulinsignalweges auf den PI3K/Akt-Signalweg besonders groß ist.

Dieser Hypothese zufolge könnte gerade der Insulinsignalweg eine Antwort auf die Frage der PTEN-unabhängigen Aktivierung des Proteinkinase B (Akt) Signalweges insbesondere bei low-Gleason Prostatakarzinomen (also als Frühereignis im Vergleich) liefern, während bei höhergradigen Prostatakarzinomen eine Entkopplung des PI3K/Akt-Signalweges vom Insulinsignalweg stattzufinden scheint und hierbei die PTEN-abhängige Aktivierung des Proteinkinase B (Akt) Signalweges an Bedeutung gewinnt. Um diese Annahme zu bekräftigen, sollten jedoch weitere Untersuchungen einschließlich weiterer Parameter des Insulinsignalweges wie beispielsweise der Insulin Rezeptor Substrate (IRS) und des PI3K/Akt-Signalweges wie beispielsweise der phosphorylierten Form der Proteinkinase B (Akt) an Gewebe aus Prostatakarzinomen durchgeführt werden. Ganz besonders wichtig wäre es, am vorliegenden Kollektiv die Rolle des Phosphatase und Tensin homologues (PTEN) in den Gewebeproben zu analysieren.

IV.6 DIABETES ALS MODULIERENDER FAKTOR DER STOFFWECHSELFUNKTIONEN DER PROTEINKINASE B (AKT) UND DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT

Bei der Unterteilung in Diabetiker und Nicht-Diabetiker konnte der in Kapitel IV.5.1 beschriebene lineare Zusammenhang der Expressionen der Proteinkinase B (Akt) für die Nicht-Diabetiker (Spearman ρ : 0,5261; $p < 0,0001$) weiterhin gezeigt werden. Bei den Diabetikern (Spearman ρ : 0,4136; $p = 0,0320$) war zwar bei Bonferroni-korrigierten Signifikanzniveau (auf $p = 0,025$) kein signifikanter Zusammenhang der beiden

Parameter miteinander mehr festzustellen. Dennoch lassen auch diese Ergebnisse einen deutlichen Trend erkennen, welcher für einen linearen Zusammenhang der beiden Parameter miteinander spricht und somit ist anzunehmen, dass die fehlende statistische Signifikanz durch die geringen Anzahl der Patienten mit Diabetes (n=17) und deren untersuchten Gewebeproben (n=29) zu erklären ist. Aussagen zur Entkopplungen der beiden Signalwege können damit nur sehr eingeschränkt getroffen werden.

Die Hypothese, dass es bei Diabetikern mit Prostatakarzinom in Bezug auf den Regulationsmechanismus der Proteinkinase B (Akt) durch einen veränderten Insulinstoffwechsel zu einem unterschiedlichen tumorbiologischen Verhalten kommt konnte durch diese Daten also nicht eindeutig gestützt werden. So gibt es zumindest was die Expressionen der Parameter, Proteinkinase B (Akt) und Insulinrezeptor β -subunit, betrifft wenig Hinweise, dass der Insulinstoffwechsel durch seine Veränderungen bei Vorliegen eines Diabetes seine Rolle in der Regulation des PI3K/Akt-Signalweges verliert. Dies hätte durch eine anderweitige Aktivierung dieses Stoffwechselweges und einer Entkopplung der beiden Signalwege einen möglichen Erklärungsansatz für die unterschiedlichen Verläufe von Prostatakarzinomen bei zusätzlichem Vorliegen eines Diabetes liefern können. Der fehlende Zusammenhang der Expressionen bei Diabetikern, der in der vorliegenden Arbeit gefunden wurde, fordert eine Evaluation dieses Sachverhaltes an einem größeren Kollektiv von Diabetikern.

Allerdings zeigen die Expressionen mit Berücksichtigung der Gewebedignität deutliche Unterschiede: So exprimieren Diabetiker in ihren Prostatakarzinomgeweben nur wenig mehr Proteinkinase B (Akt) als Patienten ohne Diabetes. Allerdings sind die Proteinkinase B (Akt) Expressionen im Normalgewebe der Diabetiker wesentlich höher als in den nicht-Diabetikern (237,5 im Vergleich zu 164,4; $p=0,0027$; siehe Abbildung 24). Damit ist die Steigerung der Expression von Normalgeweben zu den Prostatakarzinomgeweben bei den Nicht-Diabetikern wesentlich höher ($p<,0001$).

Im Jahr 2007 untersuchten Venkateswaran et al. den Einfluss einer Hyperinsulinämie auf das Wachstumsverhalten von Prostatakarzinomen. Dazu wurden Untersuchungen an einer Prostatakarzinomzelllinie in einem Xenograftmodell mit Nacktmäusen durchgeführt. Die Hälfte der Nacktmäuse wurde dabei kohlenhydrat- und fettreich ernährt und die andere Hälfte kohlenhydratarm und fettreich. Nach neun Wochen unter

diesen diätetischen Maßnahmen wurden die Insulin- und Insulin-like growth Faktor 1 Spiegel im Serum der Nacktmäuse bestimmt und außerdem die Expression der Proteinkinase B (Akt) und deren phosphorylierte Form (p-Akt) sowie die Expression der Insulinrezeptor β -subunit in den Tumorzellen analysiert. Bei diesen Untersuchungen zeigte sich, dass in der Gruppe der Nacktmäuse, welche kohlenhydrat- und fettreich ernährt wurden neben einem durchschnittlich 45% höheren Tumolvolumen auch signifikant höhere Insulin- ($p=0,039$) und Insulin-like growth Faktor 1 ($p=0,022$) -Spiegel nachweisbar waren. In deren Prostatakarzinomtumorgewebe zeigten sich außerdem leicht erhöhte Konzentrationen der Proteinkinase B (Akt) und deutlich erhöhte Konzentrationen der phosphorylierten Form der Proteinkinase B (p-Akt) sowie leicht erhöhte Konzentrationen des Insulinrezeptors. Außerdem zeigte sich in dieser Gruppe ein signifikant erhöhtes Tumorwachstum ($p<,001$) und in *in-vitro* Untersuchungen eine höhere Proliferation von deren Tumorzellen ($p=0,005$). (Venkateswaran et al., 2007)

Auch bei Diabetikern zeigt sich in der Regel eine Hyperinsulinämie, entweder durch eine reaktive Überproduktion bei Insulinresistenz, oder durch therapeutische Maßnahmen (Vigneri et al., 2009), sodass sich hier metabolisch und biologisch eine Vergleichbarkeit annehmen lässt. Ein wie von Venakteswaran et al. aufgezeigtes aggressiveres Verhalten der Prostatakarzinome in der Gruppe mit kohlenhydratreicher und fettreicher Diät zeigt sich ebenso bei Diabetikern, sodass die Daten ein Zusammenhang mit der Hyperinsulinämie annehmen lassen. Bei der vorliegenden Arbeit ließ sich in Tumorgewebe bei den Diabetikern ebenfalls eine leichte Erhöhung der Proteinkinase B (Akt) und der Insulinrezeptor β -subunit zeigen. Dieser Unterschied war jedoch zu gering um bei der geringen Anzahl der Diabetiker ein statistisch signifikantes Ergebnis zu erzielen. Unter Berücksichtigung der Annahme, dass das Gewebe aus der Gruppe der Nacktmäuse mit kohlenhydratreicher und fettreicher Diät sich biologisch ähnlich wie Diabetiker verhalten, würden diese Ergebnisse dafür sprechen, dass sich bei Diabetikern die Expression der Proteinkinase B (Akt) zwar nur in schwachem Maß zunimmt, diese jedoch deutliche stärker durch Phosphorylierung aktiviert wird. Daher wäre es interessant, zusätzlich an dem hier vorliegenden Kollektiv die phosphorylierte Form der Proteinkinase B (Akt) zu bestimmen. Eine stärkere Aktivierung der Proteinkinase B (Akt) ist wiederum eine potenzielle Erklärung für die auch von Venakteswaran et al. nachgewiesenen aggressiveren Prostatakarzinome. In der Arbeit von Venakteswaran et al. konnte jedoch aufgrund der Methodik kein

benignes Prostatagewebe untersucht werden, sodass hier keine Vergleichsmöglichkeit der Ergebnisse bestand.

Nicht-Diabetiker sind anhand der hier ermittelten Daten durch die hohe Steigerung der Proteinkinase B (Akt) in den Tumorgeweben gekennzeichnet. Damit sind Hinweise gegeben, dass die Tumorentstehung vor allem bei nicht-Diabetikern stark im Zusammenhang mit einer Erhöhung der Expression der Proteinkinase B (Akt) steht. Für Diabetiker scheint dieser Zusammenhang weniger zu bestehen, möglicherweise spielen dort andere Aktivierungskaskaden oder im Vergleich zur Expressionssteigerung eher eine vermehrte Phosphorylierung der Proteinkinase B (Akt) eine vorrangigere Rolle.

Obwohl Diabetiker in ihren Tumorgeweben die Insulinrezeptor β -subunit etwas stärker exprimieren als in vergleichbaren Geweben der Patienten ohne Diabetes, exprimieren die Diabetiker sogar weniger Protein als in den korrespondierenden Normalgeweben (Abbildung 25, 189.4 vs. 157.5). Dies liegt darin begründet, dass die Insulinrezeptor β -subunit Expression (noch stärker als im Falle von Proteinkinase B (Akt)) im Normalgewebe der Diabetiker sehr viel höher nachzuweisen ist, als in den Normalgeweben der nicht-Diabetiker.

Die Steigerung der Expression der Insulinrezeptor β -subunit von Normalgeweben zu den Prostatakarzinomgeweben ist damit bei den nicht-Diabetikern relativ gering während sie im Vergleich dazu bei den Diabetikern sogar in Prostatakarzinomgewebe deutlich schwächer ausfällt.

Damit sind erneut Hinweise gegeben, dass die Tumorbilogie des Prostatakarzinoms vom Insulin-signalling zumindest beeinflusst zu werden scheint und sich hier die Proteinexpression als Korrelat zur klinischen Situation (Diabetesstatus) zeigen kann.

Möglicherweise spielt die Produktion des Insulin-like growth Faktor I Rezeptors (IGF-IR), oder von Hybridrezeptoren, welche zur Hälfte aus Insulinrezeptoranteilen (also einer alpha- und einer beta-subunit) und zur Hälfte aus Insulin-like growth Faktor I Rezeptoranteilen (IGF-IR) bestehen, beim Prostatakarzinom eine Rolle, indem die Biosynthese der Insulinrezeptor β -subunit zu dessen Herstellung modifiziert wird und damit weniger Insulinrezeptor β -subunit gebildet werden kann. (Cox et al., 2009, Benyoucef et al., 2007, Belfiore, 2007)

Es zeigen sich vor allem in Normalgewebe der Patienten deutliche Unterschiede in den Expressionen der untersuchten Proteinparameter (siehe Abbildungen 24 und 25). Hier muss gemutmaßt werden, dass Patienten mit Diabetes bezogen auf die beiden Parameter bereits in ihren physiologischen Körpergeweben Alterationen aufzeigen, die auch auf die Biologie des Prostatakarzinoms Auswirkungen haben. Lutz et al. konnten vergleichbare Unterschiede der Expression des Androgenrezeptors in Normalgeweben der Prostata zwischen Diabetikern und Patienten ohne Diabetes aufzeigen (Lutz et al., 2018a).

IV.7 LIMITATIONEN DER VORLIEGENDEN ARBEIT

IV.7.1 PATIENTENKOLLEKTIV UND DATENERHEBUNG

Aufgrund der bekannten Tatsache, dass Diabetiker seltener an einem Prostatakarzinom erkranken, sind Gewebeproben von solchen Patienten ebenso selten verfügbar. Dies schlug sich auch in der Probenzahl dieser Arbeit nieder, so dass die Analysen in der Subgruppe der Diabetiker aufgrund der geringen Probenzahl lediglich einen Trend aufweisen können. Für eine stichhaltige statistische Analyse, insbesondere einer feiner aufgliederten Subgruppenanalyse innerhalb der Diabetiker, ist der Datenumfang daher zu gering.

Weiterhin muss angemerkt werden, dass die Art der Datenerhebung, teilweise mit Patientenkontakt, durch verschiedene Bias-Faktoren limitiert ist. Ein solcher Faktor wäre in der vorliegenden Arbeit der Erinnerungs-Bias, sprich, dass Informationen rein aus der Erinnerung wiedergegeben werden und so einer gewissen Verzerrung unterliegen können. Da jedoch lediglich die Information über das Vorliegen einer Diabetes Erkrankung per Patienten- bzw. Hausarzt- oder Urologenkontakt überprüft wurde, scheint es recht unwahrscheinlich, dass ein Patient bzw. Hausarzt eine falsche oder verzerrte Information diesbezüglich angab.

IV.7.2 TMA-TECHNIK

Die TMA-Technik bietet eine schnelle und kosteneffiziente Lösung zur vergleichenden Untersuchung von Biomarkern in Gewebeproben. Dabei stützt sich die Technik auf eine Probenredundanz, um durch wenige Gewebebiopsien eine Aussage bezüglich der gesamten Prostata zu treffen. Limitiert wird diese Technik daher durch den Verlust von Gewebeproben. Ein solcher Verlust kann durch das Abschwimmen des Gewebedots während der Färbung entstehen. Durch diesen Gewebsverlust steigt die

Gefahr einer verzerrten Auswertung. Des Weiteren kann es zu einem Informationsverlust durch Beschädigung des Gewebedots auf dem Objektträger kommen. Eine solche mechanische Beschädigung ist beim Schneiden mit dem Mikrotom nicht auszuschließen.

Es wurde bereits gezeigt, dass ein einzelner Gewebedot nicht repräsentativ für das gesamte Gewebe gleicher Dignität ist, sofern eine gewisse Heterogenität in diesem Gewebe vorliegt (Merseburger et al., 2006a). Zwar konnte für Prostatakarzinomgewebe dargelegt werden, dass durch drei bis vier unterschiedliche Entnahmeorte ein untersuchter Tumor sehr gut wiedergegeben wird (Rubin et al., 2002a). Jedoch muss angenommen werden, dass verschiedene Biomarker nicht homogen im Gewebe exprimiert werden und dass eine Heterogenität auch in kleinen Arealen vorliegen kann. Daher wurde in der vorliegenden Studie versucht, einer möglichen heterogenen Markerexpression gerecht zu werden, indem mehrere Proben aus größeren, wohldefinierten Arealen entnommen wurden, um diese Areale zu charakterisieren.

VI.7.3 INTER- UND INTRAOBSERVER-VARIABILITÄT

Die Auswertung eines mittels Immunhistochemie gefärbten TMA stellt keinen rein objektiven und eindeutig reproduzierbaren Prozess dar und hängt von der Erfahrung der untersuchenden Person ab. In der vorliegenden Arbeit wurde daher versucht, der Intraobserver-Variabilität durch wiederholtes Auswerten der Färbungen und Re-Evaluierung bei stark abweichenden Ergebnissen entgegen zu wirken. Ferner wurde für eine stets gleiche Arbeitsumgebung (z.B. Lichtstärke des Mikroskops und Helligkeit des Auswertebildschirms) gesorgt, um äußere Einflüsse zu minimieren.

VI.7.4 KOMPLEXITÄT DER SIGNALWEGE

Da beide hier untersuchten Signalkaskaden auf der Interaktion zahlreicher Parameter beruhen und sowohl deren Regulation als auch deren Dysregulation auf verschiedenen zellulären Ebenen erfolgen, kann die Auswertung von zwei exemplarischen Proteinmarkern keine umfassenden Aussagen über die zellphysiologischen Prozesse treffen. Allerdings ist die Auswahl der Faktoren als Schlüsselproteine der beiden Kaskaden doch am Ort der jeweiligen physiologischen Leistung (Enzymaktivität) erfolgt und damit bestmöglich repräsentativ.

VI.8 SCHLUSSFOLGERUNG

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit deuten darauf hin, dass die Proteinkinase B (Akt) ein potenzieller Parameter für die Progression des Prostatakarzinoms ist und daher die Erhebung ihrer Expression einen Anhalt für die Aggressivität von Prostatakarzinomen liefern könnte. Dies gilt für die Insulinrezeptor β -subunit weniger, welche ihre Rolle für die Entstehung und Progression des Prostatakarzinoms -wie zu erwarten- vor allem in der Regulation des PI3K/Akt-Signalweg einzunehmen scheint.

Die Daten der vorliegenden Arbeit deuten weiterhin darauf hin, dass dieser regulatorische Zusammenhang insbesondere bei niedrigmalignen Prostatakarzinomen von großer Bedeutung ist. Bei höhergradiger Entartung scheinen andere Aktivierungsmechanismen des PI3K/Akt-Signalweges einzugreifen, hier deuten Daten aus anderen Arbeiten auf eine PTEN-abhängige Aktivierung hin.

In an Prostatakarzinome angrenzendem Gewebe konnten anhand der Ergebnisse dieser Arbeit keine tumorbiologischen Veränderungen in Bezug auf die untersuchten Proteine nachgewiesen werden. In Zusammenschau mit anderen Arbeiten ist es denkbar, dass in der Tumorumgebung zwar eine Aktivierung der Proteinkinase B (Akt) durch Phosphorylierung stattfindet, dies jedoch für die Transformation nicht ausreicht und erst durch eine zusätzliche Steigerung der Expression eine Malignität entsteht.

Es sind Hinweise gegeben, dass die Tumorentstehung vor allem bei nicht-Diabetikern stark im Zusammenhang mit der Proteinkinase B (Akt) Aktivierung steht. Für Diabetiker scheint dieser Zusammenhang weniger zu bestehen. Die Tumorbiologie des PCAs scheint vom Insulin-signalling zumindest beeinflusst zu werden und die Proteinexpression sich als Korrelat zur klinischen Situation des Diabetes zeigen zu können.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Der PI3K/Akt-Signalweg hat eine wichtige pathogenetische Bedeutung für die Tumorentstehung und insbesondere auch für die Progression des Prostatakarzinoms (PCAs). Der Insulinsignalweg hat einen Einfluss auf die Tumorbiologie zahlreicher solider Tumore. Diabetes als Begleiterkrankung ist dabei mit aggressiveren Formen des PCAs verbunden.

Ziel der vorliegenden Arbeit war, die Expressionen der für diese Signalwege zentralen Proteine Proteinkinase B (Akt) und Insulinrezeptor β -subunit mit klinischen und metabolischen Eigenschaften von PCA-Patienten zu vergleichen. Dabei sollten I) insbesondere ihr Verhalten entlang einer angenommenen Progressionsreihe von Prostata- und PCA-Gewebe im Sinne einer Aggressivitätsbeurteilung untersucht, II) das biologische Verhalten von an PCA angrenzendem Gewebe und damit der Tumorumgebung dargestellt, III) potenzielle regulatorische Mechanismen, des Insulinsignalwegs auf den PI3K/Akt-Signalweg untersucht und IV) die Verhältnisse bei Patienten mit *Diabetes mellitus* gesondert untersucht werden.

Anhand eines Kollektivs von n=111 Patienten wurden die Expressionen der beiden Parameter mittels Immunhistochemie und der Tissue Microarray-Technik an Paraffingewebe verschiedener Dignität im Sinne einer Progressionsreihe von tumorfreiem Prostatagewebe über organbegrenzte PCA hin zu Proben aus metastasierten hormonrefrakten PCA und zusätzlich an PCA angrenzende Gewebe untersucht. Die hierbei gewonnenen Daten wurden anschließend mit klinischen Daten und insbesondere dem Diabetesstatus korreliert.

Es ergab sich für die Proteinkinase B (Akt) eine stärkere Expression in Tumorgewebe als in benignem Gewebe mit einer sukzessiven Steigerung entlang der Progressionsreihe während die Insulinrezeptor β -subunit die stärkste Expression in niedrigmalignen, low-Gleason PCA zeigte. Sowohl in benignem, als auch höher malignem PCA-Gewebe waren niedrigere Expressionen nachweisbar. An PCA angrenzendes Gewebe verhielt sich in Bezug auf die Expression der untersuchten Parameter wie Gewebe aus tumorfreien Prostata und zeigte daher keine tumorähnlichen biologischen Veränderungen. Ein linearer Zusammenhang der beiden Proteine miteinander zeigte sich in benignem Gewebe und bei low-Gleason PCA. Bei höhergradig entarteten PCA war dieser Zusammenhang nicht mehr nachweisbar. Vor

dem Hintergrund des Diabetesstatus zeigten sich die Expressionen beider Parameter im Normalgewebe der Diabetiker wesentlich höher als bei den nicht-Diabetikern, damit ist die Steigerung der Expression von Proteinkinase B (Akt) hin zu den PCA-Geweben bei Nicht-Diabetikern wesentlich höher. Die Expression der Insulinrezeptor β -subunit in Normalgeweben fällt damit zu den Expressionen in PCA-Geweben bei nicht-Diabetikern sogar deutlich Richtung PCA hin ab.

Es liegen damit Hinweise vor, dass die Proteinkinase B (Akt) ein Parameter für die Progression des PCA ist und als Anhalt für die Aggressivität von PCA herangezogen werden könnte, während die Insulinrezeptor β -subunit eher in der Regulation des PI3K/Akt-Signalwegs von Bedeutung zu sein scheint. Die Daten der vorliegenden Arbeit deuten insbesondere bei niedrigmalignen PCA auf eine Bedeutung dieses regulatorischen Zusammenhanges hin. Bei höhergradiger Entartung scheinen andere Aktivierungsmechanismen des PI3K/Akt-Signalweges einen größeren Stellenwert zu haben, Daten aus anderen Arbeiten deuten hier auf eine PTEN-abhängige Aktivierung hin. In an PCA angrenzendem Gewebe konnten keine tumorbiologischen Veränderungen der untersuchten Proteine nachgewiesen werden. Nicht-Diabetiker zeigen eine hohe Steigerung der Expression der Proteinkinase B (Akt) in den Tumorgeweben. Damit sind Hinweise gegeben, dass die Tumorentstehung vor allem bei nicht-Diabetikern stark im Zusammenhang mit der Proteinkinase B (Akt) steht. Für Diabetiker scheint dieser Zusammenhang weniger zu bestehen. Das Insulin-signalling scheint die Tumorbiologie des PCAs zumindest zu beeinflussen und die Proteinexpression sich als Korrelat zur klinischen Situation des *Diabetes* zeigen zu können.

Diese Ergebnisse können dazu beitragen Diagnostik, die Prognoseabschätzung und möglicherweise Therapie des PCAs zu verbessern. Bei individuell nachweisbarer Expression der Parameter sind Möglichkeiten gegeben therapeutisch mittels zielgerichteter Therapie in die hier untersuchten Stoffwechselwege einzugreifen. Dabei sind auch hier dargestellte regulatorische Einflüsse des Insulin-signalling auf den PI3K/Akt-Signalweg zu berücksichtigen.

VI. ANHANG

VI.1 ABKÜRZUNGEN

Akt	Proteinkinase B
%	Prozent
°C	Grad Celsius
µm	Mikrometer
4E-BP1	Eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1
ABC-Methode	Avidin-Biotin-Peroxidase-Komplex-Methode
AMACR	alpha-methylacyl Coenzym A Racemase
AMP	Adenosinmonophosphat
ATP	Adenosinriphosphat
BAD	B-cell Lymphoma-Protein 2 Antagonist of Cell Death
bcl-2	B-cell lymphoma 2
bzw.	Beziehungsweise
ca.	Circa
cm	Zentimeter
CT	Computertomographie
cT Stadium	Klinisches Tumor-Stadium
DAB	Diaminobenzidin Tetrahydrochlorid
DRU	digital rektale Untersuchung
EGFR	epidermalen Wachstumsfaktor-Rezeptor
eIF4E	eukaryotischen translations-initiations Faktor 4E
EMT	Epithelialen-mesenchymalen Trasistion
et al.	Und andere
Fa.	Firma
Fc-Element	Fragment crystallisable-Element
FKHRL1	Forkhead transcription factor like 1
FOXO	Forkhead-Box
FPPS	Farnesyl pyrophosphate synthase
fPSA	freies prostataspezifisches Antigen
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
GLUT-4	Glucosetransportern Typ 4
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
GnRH	Gonadotropin-releasing-Hormon
GSK-3	Glykogen Synthase Kinase 3
H.E.	Hämatoxylin-Eosin
HD	High Definition
HIF1	Hypoxia-inducible Transkriptionsfaktor
IGF-I	Insulin-like growth Faktor I
IGF-II	Insulin-like growth Faktor II
IGF-IR	Insulin-like growth Faktor I Rezeptors
IKK	Inhibitor of NF-κB (IκB) Kinase
Inc.	Incorporated
IRS	Insulinrezeptorsubstrat

JM	Juxtamembrandomäne
kb	Kilobasen
KI	Konfidenzintervall
LH	Luteinisierendes Hormon
LHRH	Luteinisierendes-Hormon-Releasing-Hormon
M	Mol
M0	Nicht-metastasiertes Stadium
M1	Metastasiertes Stadium
MA	Massachusetts
mAb	Mausantikörper
Mdm2	Murine Double-Minute 2 homolog
µl	Mikroliter
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mM	Millimol
mRNA	Messenger Ribonukleinsäure
MRT	Magnetresonanztomographie
mTOR	Mammalian Target of Rapamycin
MYC	Myelocytomatosis oncogene cellular homolog
NaCl	Natriumchlorid
NF-κB	Nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells
ng	Nanogramm
ng/ml	Nanogramm pro Milliliter
nmol/L	Nanomol pro Liter
Nr.	Nummer
OPG	Osteoprotegerin
p-Akt	Phosphorylierte Proteinkinase B
PCA	Prostatakarzinom
PCR	Polymerase Kettenreaktion
PD-1	Programmed cell death protein 1
PD-1-Inhibitor	Programmed cell death protein 1-Inhibitor
PDK1	PtdIns(3,4)P2 / (PtdIns(3,4,5)P3)-dependent Kinase 1
PI3K	Phosphatidylinositol-3-kinase
PSA	Prostata-spezifisches Antigen
pT Stadium	Pathologisches Tumor-Stadium
PTB Domäne	Phosphotyrosine-binding Domäne
PtdIns(3,4)P2	Phosphatidylinositol 3,4-bisphosphate
PtdIns(3,4,5)P3	Phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphat
PTEN	Phosphatase und Tensin homologe
qRT-PCR	quantitative Echtzeit-Polymerase Kettenreaktion
RANKL	Receptor activator of the NF-κB ligand
RNA	Ribonukleinsäure
R-Status	Residual-Status
RT-PCR	Echtzeit-Polymerase Kettenreaktion
SH2	Sarcoma homologe 2

sog.	Sogenannt
β1-Integrin	Fibronectin
Std.-Abw.	Standard-Abweichung
Std-Fehler MW	Standard-Fehler Mittelwert
TBST	Tris buffered Saline with Tween® 20
TK	Tyrosinkinase
TKTL1	Transketolase like 1
™	Trade Mark
TM	Transmembrandomäne
TMA-Technik	Tissue Microarray-Technik
TNM	Tumor, Nodus, Metastasen
Tris	Tris(hydroxymethyl)aminomethan
TRUS	Transrektaler Ultraschall
TSC1	Hamartin
TSC2	Tuberin
TUR-P	Transurethrale Resektionen der Prostata
TVP	Transvesikale Adenomenukleation der Prostata
TX	Texas
USA	Vereinigte Staaten von Amerika
VEGF	Vaskulärer-endothelialen Wachstumsfaktor
Wnt	Wingless/int1
z.B.	Zum Beispiel

VI.2 ABBILDUNGEN UND TABELLEN

Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1: DIE ZONALE ANATOMIE DER PROSTATA NACH DEM MODELL VON McNEAL (HAMMERICH ET AL., 2009)	2
ABBILDUNG 2: URSPRÜNGLICHE, SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DER NEUN MÖGLICHEN DRÜSENKONFIGURATIONEN UND DER IHNEN ZUGEORDNETE GLEASON-GRAD (GLEASON, 1992).....	10
ABBILDUNG 3: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DES INSULINREZEPTORS, INSBESONDERE DER INTRAZELLULÄR GELEGENEN β-SUBUNIT. DURCH DIE TRANSMEMBRANDOMÄNE (TM) WIRD DER REZEPTOR IN DER PLASMAMEMBRAN BEFESTIGT. DIE ALS JM GEKENNZEICHNETE JUXTAMEMBRANDOMÄNE ENTHÄLT ZWEI TYROSINRESTE WELCHE NACH DER BINDUNG VON INSULIN AN DEN REZEPTOR AUTOPHOSPHORYLIERT WERDEN (PY965 UND PY972). DURCH DIE PHOSPHORYLIERUNG DES TYROSIN 972 BINDET DIESES DAS INSULINREZEPTORSUBSTRAT-1 (IRS-1) AN SEINER PHOSPHOTYROSINE-BINDING DOMÄNE (PTB DOMÄNE). IRS-1 KANN NACH PHOSPHORYLIERUNG WIEDERUM PHOSPHOINOSITID-3-KINASE (PI3K) BINDEN UND AKTIVIEREN UND SOMIT DIE SIGNALKASKADE DES INSULINSIGNALWEGES STARTEN. DIE TYROSINKINASE-DOMÄNE (TK) IST DER ENZYMATISCH AKTIVE TEIL DES INSULINREZEPTORS UND ENTHÄLT EINE ADENOSINTRIPHOSPHAT (ATP)-BINDUNGSSTELLE. UM DIE TYROSINKINASEDOMÄNE VOLL ZU AKTIVIEREN MÜSSEN DIE DREI TYROSINRESTE 1158, 1162 UND 1163 PHOSPHORYLIERT WERDEN. DIE TYROSINRESTE DER C-TERMINALEN DOMÄNE (1328 UND 1134) KÖNNEN PHOSPHORYLIERT DAS INSULINREZEPTORSUPSTRAT-2 (IRS-2) BINDEN UND HABEN ANTEILE AN DEN MITOGENEN EFFEKTE DES INSULINSIGNALWEGES. (YOUNGREN, 2007).....	26

ABBILDUNG 4: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DER WICHTIGSTEN METABOLISCHEN REAKTIONEN AUF DIE INSULINBINDUNG AN DEN INSULINREZEPTOR. DIE BINDUNG VON INSULIN FÜHRT ZUR AUTOPHOSPHORYLIERUNG VON TYROSINRESTEN DES INSULINREZEPTORS. DADURCH WERDEN SIE ZU BINDUNGSSTELLEN FÜR DIE INSULINREZEPTORSUBSTRATE (IRS), WELCHE ANSCHLIEßEND AN EINIGEN TYROSINRESTEN DURCH DEN INSULINREZEPTOR PHOSPHORYLIERT WERDEN. DIESE PHOSPHORYLIERTEN TYROSINRESTE DIENEN ALS BINDUNGSSTELLE FÜR DIE SRC HOMOLOGE 2 (SH2) DOMÄNE DER REGULATORISCHEN P85 UNTEREINHEIT DER PI3-KINASE. DIESE LIPIDKINASE PHOSPHORYLIERT ANSCHLIEßEND AN DER PLASMAMEMBRAN PTDIns(4,5)P ₂ MIT IHRER KATALYTISCHEN UNTEREINHEIT P110, WODURCH DER SECOND MESSENGER PTDIns(3,4,5)P ₃ ENTSTEHT. PTDIns(3,4,5)P ₃ VERMITTELT DANN ÜBERWIEGEND ÜBER DIE PROTEINKINASE B DIE INTRAZELLULÄRE INSULINWIRKUNG. AUF DEN ANDEREN IN DIESER ABBILDUNG DARGESTELLTEN SIGNALWEG, DEM LIPID RAFT, WIRD HIER NICHT WEITER EINGEGANGEN. (LIZCANO & ALESSI, 2002).....	31
ABBILDUNG 5: DARSTELLUNG EINIGER REGULATIONSMECHANISMEN IM ZELLYKLUS, BEI DER APOPTOSE UND IM INSULINSIGNALWEG, BEI DENEN DIE PROTEINKINASE B EINE ZENTRALE ROLLE SPIELT. (LAWLOR & ALESSI, 2001)	32
ABBILDUNG 6: EXEMPLARISCHER AUSSCHNITT EINER FÜR DIESE STUDIE ERSTELLTE ARRAY-MAP (DIE PATHOLOGIE NUMMERN WURDEN ZUM DATENSCHUTZ GESCHWÄRZT)	51
ABBILDUNG 7: TISSUE MICROARRAY HERSTELLUNG. A GEWEBEENTNAHME IN FORM VON STANZZYLINDERN. ES WIRD DABEI GEWEBE AUS AUSGEWÄHLTEN REGIONEN ENTNOMMEN. HIERZU WIRD EIN H.E.-GEFÄRBTER GROßFLÄCHENSCHNITT ALS SCHABLONE VERWENDET. B TRANSFER DER GEWEBESTANZEN IN VORHER DEFINIERTER POSITION IN DEN EMPFÄNGERBLOCK AUS PARAFIN. C EIN KLEBEFILM WIRD ZU ERLEICHTERUNG DES SCHNEIDEVORGANGS AUF DEN PARAFINBLOCK AUFGEBRACHT. (KONONEN ET AL., 1998).....	52
ABBILDUNG 8: BEISPIELHAFT AUSGEWÄHLTE GEWEBEDOTS MIT JEWEILS EINEM EINGEZEICHNETEN BEREICH, WELCHER DARUNTER 15-FACH VERGRÖßERT DARGESTELLT IST. DIE 15-FACH VERGRÖßERTEN AUSSCHNITTE SIND IN FORM EINER EICHGERADE MIT DEN FÄRBEINTENSITÄTEN 0-IV DER PROTEINKINASE B (AKT) FÄRBUNG ZUSAMMENGESTELLT.	58
ABBILDUNG 9: BEISPIELHAFT AUSGEWÄHLTE GEWEBEDOTS MIT JEWEILS EINEM EINGEZEICHNETEN BEREICH, WELCHER DARUNTER 15-FACH VERGRÖßERT DARGESTELLT IST. DIE 15-FACH VERGRÖßERTEN AUSSCHNITTE SIND IN FORM EINER EICHGERADE MIT DEN FÄRBEINTENSITÄTEN 0-IV DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT FÄRBUNG ZUSAMMENGESTELLT.	59
ABBILDUNG 10: VERGLEICH DER EXPRESSION DER PROTEINKINASE B (AKT) IN DEN GRUPPEN NORMALGEWEBE UND TUMORGEWEBE. SIGNIFIKANTER P-WERT MIT * MARKIERT.	65
ABBILDUNG 11: VERGLEICH DER EXPRESSION DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT IN DEN GRUPPEN NORMALGEWEBE UND TUMORGEWEBE. SIGNIFIKANTE P-WERTE MIT * MARKIERT.	66
ABBILDUNG 12: VERGLEICH DER EXPRESSION DER PROTEINKINASE B (AKT) IN DEN GRUPPEN NORMALGEWEBE, NICHT-METASTASIIERTES TUMORGEWEBE UND FORTGESCHRITTENES, METASTASIIERTES TUMORGEWEBE. BONFERRONI-KORRIGIERTES ALPHALEVEL FÜR DREI VERGLEICHE AUF $p \approx 0,0166$. SIGNIFIKANTE P-WERTE MIT * MARKIERT.	68
ABBILDUNG 13: VERGLEICH DER EXPRESSION DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT IN DEN GRUPPEN NORMALGEWEBE, NICHT-METASTASIIERTES TUMORGEWEBE UND FORTGESCHRITTENES, METASTASIIERTES TUMORGEWEBE. BONFERRONI-KORRIGIERTES ALPHALEVEL FÜR DREI VERGLEICHE AUF $p \approx 0,0166$. SIGNIFIKANTE P-WERTE MIT * MARKIERT.	70
ABBILDUNG 14: VERGLEICH DER EXPRESSION DER PROTEINKINASE B (AKT) IN DEN GRUPPEN HORMONSENSITIVEN, METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN UND HORMONREFRAKTÄREN, METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN. SIGNIFIKANTER P-WERT MIT * MARKIERT.	72

ABBILDUNG 15: VERGLEICH DER EXPRESSION DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT IN DEN GRUPPEN HORMONSENSITIVEN, METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN UND HORMONREFRAKTÄREN, METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN. SIGNIFIKANTE P-WERTE MIT * MARKIERT.....	73
ABBILDUNG 16: VERGLEICH DER EXPRESSION DER PROTEINKINASE B (AKT) IN DEN GRUPPEN GEWEBE AUS HISTOPATHOLOGISCH GESICHERT TUMORFREIEN PROSTATEN, TUMORFREIES GEWEBE MIT ENTNAHMEORT MÖGLICHST FERN UND NAH VOM TUMOR BEI NICHT-METASTASIIERTEM PROSTATAKARZINOM, ZU GEWEBE AUS NICHT-METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN UND FORTGESCHRITTENEN, METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN. BONFERRONI-KORRIGIERTES ALPHALEVEL FÜR 10 VERGLEICHE AUF $p=0,005$. SIGNIFIKANTE P-WERTE MIT * MARKIERT.	76
ABBILDUNG 17: VERGLEICH DER EXPRESSION DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT IN DEN GRUPPEN GEWEBE AUS HISTOPATHOLOGISCH GESICHERT TUMORFREIEN PROSTATEN, TUMORFREIES GEWEBE MIT ENTNAHMEORT MÖGLICHST FERN UND NAH VOM TUMOR BEI NICHT-METASTASIIERTEM PROSTATAKARZINOM, ZU GEWEBE AUS NICHT-METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN UND FORTGESCHRITTENEN, METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN. BONFERRONI-KORRIGIERTES ALPHALEVEL FÜR 10 VERGLEICHE AUF $p=0,005$. SIGNIFIKANTE P-WERTE MIT * MARKIERT.	79
ABBILDUNG 18: VERGLEICH DER EXPRESSION DER PROTEINKINASE B (AKT) IN DEN GRUPPEN GEWEBE AUS HISTOPATHOLOGISCH GESICHERT TUMORFREIEN PROSTATEN,, TUMORFREIES, AN NICHT-METASTASIIERTE LOW-GLEASON TUMOREN, ANGRENZENDES GEWEBE, TUMORFREIES, AN NICHT-METASTASIIERTE HIGH-GLEASON TUMOREN ANGRENZENDES GEWEBE, TUMORGEWEBE AUS NICHT-METASTASIIERTEN LOW-GLEASON TUMOREN, TUMORGEWEBE AUS NICHT-METASTASIIERTEN HIGH-GLEASON TUMOREN UND FORTGESCHRITTENEN, METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN. BONFERRONI-KORRIGIERTES ALPHALEVEL FÜR 15 VERGLEICHE AUF $p=0,0033$. SIGNIFIKANTE P-WERTE MIT * MARKIERT.	82
ABBILDUNG 19: VERGLEICH DER EXPRESSION DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT IN DEN GRUPPEN GEWEBE AUS HISTOPATHOLOGISCH GESICHERT TUMORFREIEN PROSTATEN,, TUMORFREIES, AN NICHT-METASTASIIERTE LOW-GLEASON TUMOREN, ANGRENZENDES GEWEBE, TUMORFREIES, AN NICHT-METASTASIIERTE HIGH-GLEASON TUMOREN ANGRENZENDES GEWEBE, TUMORGEWEBE AUS NICHT-METASTASIIERTEN LOW-GLEASON TUMOREN, TUMORGEWEBE AUS NICHT-METASTASIIERTEN HIGH-GLEASON TUMOREN UND FORTGESCHRITTENEN, METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN. BONFERRONI-KORRIGIERTES ALPHALEVEL FÜR 15 VERGLEICHE AUF $p=0,0033$. SIGNIFIKANTE P-WERTE MIT * MARKIERT.	85
ABBILDUNG 20: LINEARER ZUSAMMENHANG ZWISCHEN DER EXPRESSION DER PROTEINKINASE B (AKT) UND DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT IN ALLEN UNTERSUCHTEN GEWEBEN. SIGNIFIKANTE P-WERTE MIT * MARKIERT.	86
ABBILDUNG 21: ZUSAMMENHANG DER EXPRESSION DER PROTEINKINASE B (AKT) UND DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT IN NORMALGEWEBEN (A), LOW-GLEASON TUMORGEWEBEN (B), HIGH-GLEASON TUMORGEWEBEN (C) UND GEWEBE AUS METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN (D). BONFERRONI-KORRIGIERTES ALPHALEVEL FÜR 4 VERGLEICHE AUF $p=0,0125$. SIGNIFIKANTE P-WERTE MIT * MARKIERT.....	87
ABBILDUNG 22: VERGLEICH DER EXPRESSION DER PROTINKINASE B (AKT) BEI DIABETIKERN UND NICHT-DIABETIKERN. SIGNIFIKANTER P-WERT MIT * MARKIERT.	89
ABBILDUNG 23: VERGLEICH DER EXPRESSION DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT BEI DIABETIKERN UND NICHT-DIABETIKERN. SIGNIFIKANTER P-WERT MIT * MARKIERT.	90
ABBILDUNG 24: VERGLEICH DER EXPRESSION DER PROTEINKINASE B (AKT) IN DEN GRUPPEN NORMALGEWEBE UND TUMORGEWEBE BEI DIABETIKERN UND NICHT-DIABETIKERN. BONFERRONI-KORRIGIERTES ALPHALEVEL FÜR ZWEI VERGLEICHE AUF $p=0,025$. SIGNIFIKANTE P-WERTE MIT * MARKIERT.....	91

ABBILDUNG 25: VERGLEICH DER EXPRESSION DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT IN DEN GRUPPEN NORMALGEWEBE UND TUMORGEWEBE BEI DIABETIKERN UND NICHT-DIABETIKERN. BONFERRONI-KORRIGIERTES ALPHALEVEL FÜR ZWEI VERGLEICHE AUF $p=0,025$. SIGNIFIKANTER P-WERT MIT * MARKIERT.	92
--	----

Tabellenverzeichnis

TABELLE 1: TUMOUR, NODE, METASTASIS (TNM) KLASSIFIKATION DES PROSTATAKARZINOMS (GOSPODAROWICZ ET AL., 2017).....	8
TABELLE 2: PATIENTENANZAHL ZUGEORDNET ZUM JEWEILIGEN T- STADIUM, SOWIE SOLCHE MIT LYMPHONODAL POSITIVEM STADIUM UNTERTEILT IN PATIENTEN MIT NICHT-METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN UND PATIENTEN MIT FORTGESCHRITTENEN, METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN	45
TABELLE 3: BESCHREIBUNG DES PATIENTENKOLLEKTIVES BEZOGEN AUF ALTER ZUM OPERATIONSZEITPUNKT UND PSA ZUM NÄCHSTMÖGLICHEN ZEITPUNKT VOR OPERATION. MIT EINTEILUNG IN PATIENTENGRUPPEN.	46
TABELLE 4: EXPRESSIONSCHARAKTERISTIKEN DER IMMUNHISTOCHEMISCHEN FÄRBUNGEN PROTEINKINASE B (AKT) UND INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT IM GESAMTKOLLEKTIV.	63
TABELLE 5: EXPRESSIONSCHARAKTERISTIKEN DER PROTEINKINASE B (AKT) IN NORMALGEWEBEN IM VERGLEICH ZU TUMORGEWEBEN.	65
TABELLE 6: EXPRESSIONSCHARAKTERISTIKEN DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT IN NORMALGEWEBEN IM VERGLEICH ZU TUMORGEWEBEN.	66
TABELLE 7: EXPRESSIONSCHARAKTERISTIKEN DER PROTEINKINASE B (AKT) IN NORMALGEWEBEN IM VERGLEICH ZU NICHT-METASTASIIERTEM TUMORGEWEBE ZU FORTGESCHRITTENEM, METASTASIIERTEM TUMORGEWEBE.	68
TABELLE 8: EXPRESSIONSCHARAKTERISTIKEN DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT IN NORMALGEWEBEN IM VERGLEICH ZU NICHT-METASTASIIERTEM TUMORGEWEBE ZU FORTGESCHRITTENEM, METASTASIIERTEM TUMORGEWEBE.	70
TABELLE 9: EXPRESSIONSCHARAKTERISTIKEN DER PROTEINKINASE B (AKT) IN HORMONSENSITIVEN, METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN IM VERGLEICH ZU HORMONREFRAKTÄREN, METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN.	72
TABELLE 10: EXPRESSIONSCHARAKTERISTIKEN DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT IN HORMONSENSITIVEN, METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN IM VERGLEICH ZU HORMONREFRAKTÄREN, METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN.	74
TABELLE 11: EXPRESSIONSCHARAKTERISTIKEN DER PROTEINKINASE B (AKT) IN GEWEBE AUS HISTOPATHOLOGISCH GESICHERT TUMORFREIEN PROSTATEN IM VERGLEICH ZU TUMORFREIEM GEWEBE MIT ENTNAHMEORT MÖGLICHST FERN UND NAH VOM TUMOR BEI NICHT-METASTASIIERTEM PROSTATAKARZINOM, ZU GEWEBE AUS NICHT-METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN UND ZU FORTGESCHRITTENEN, METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN.	75
TABELLE 12: VERGLEICH DES EXPRESSIONSVERHALTENS ZWISCHEN DEN IN III.1.5 DEFINIERTEN GEWEBEGRUPPEN. ALPHALEVEL KORRIGIERT AUF $p=0,005$. SIGNIFIKANTE P-WERTE MIT * MARKIERT.....	77
TABELLE 13: EXPRESSIONSCHARAKTERISTIKEN DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT IN GEWEBE AUS HISTOPATHOLOGISCH GESICHERT TUMORFREIEN PROSTATEN IM VERGLEICH ZU TUMORFREIEM GEWEBE MIT ENTNAHMEORT MÖGLICHST FERN UND NAH VOM TUMOR BEI NICHT-METASTASIIERTEM PROSTATAKARZINOM, ZU GEWEBE AUS NICHT-METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN UND ZU FORTGESCHRITTENEN, METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN.	78
TABELLE 14: VERGLEICH DES EXPRESSIONSVERHALTENS ZWISCHEN DEN IN III.1.5 DEFINIERTEN GEWEBEGRUPPEN. ALPHALEVEL KORRIGIERT AUF $p=0,005$. SIGNIFIKANTE P-WERTE MIT * MARKIERT.....	79

TABELLE 15: EXPRESSIONSCHARAKTERISTIKEN DER PROTEINKINASE B (AKT) IN GEWEBE AUS HISTOPATHOLOGISCH GESICHERT TUMORFREIEN PROSTATEN IM VERGLEICH ZU TUMORFREIEM, AN NICHT-METASTASIERTE LOW-GLEASON TUMOREN, ANGRENZENDES GEWEBE, TUMORFREIEM, AN NICHT-METASTASIERTE HIGH-GLEASON TUMOREN ANGRENZENDES GEWEBE, ZU TUMORGEWEBE AUS NICHT-METASTASIIERTEN LOW-GLEASON TUMOREN, ZU TUMORGEWEBE AUS NICHT-METASTASIIERTEN HIGH-GLEASON TUMOREN UND ZU FORTGESCHRITTENEN, METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN.	81
TABELLE 16: VERGLEICH DES EXPRESSIONSVERHALTENS ZWISCHEN DEN IN III.1.6 DEFINIERTEN GEWEBEGRUPPEN. BONFERRONI-KORRIGIERTES ALPHALEVEL FÜR 15 VERGLEICHE AUF $p=0,0033$. SIGNIFIKANTE P-WERTE MIT * MARKIERT.....	83
TABELLE 17: EXPRESSIONSCHARAKTERISTIKEN DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT IN GEWEBE AUS HISTOPATHOLOGISCH GESICHERT TUMORFREIEN PROSTATEN IM VERGLEICH ZU TUMORFREIEM, AN NICHT-METASTASIERTE LOW-GLEASON TUMOREN, ANGRENZENDES GEWEBE, TUMORFREIEM, AN NICHT-METASTASIERTE HIGH-GLEASON TUMOREN ANGRENZENDES GEWEBE, ZU TUMORGEWEBE AUS NICHT-METASTASIIERTEN LOW-GLEASON TUMOREN, ZU TUMORGEWEBE AUS NICHT-METASTASIIERTEN HIGH-GLEASON TUMOREN UND ZU FORTGESCHRITTENEN, METASTASIIERTEN PROSTATAKARZINOMEN.	84
TABELLE 18: VERGLEICH DES EXPRESSIONSVERHALTENS ZWISCHEN DEN IN III.1.6 DEFINIERTEN GEWEBEGRUPPEN. BONFERRONI-KORRIGIERTES ALPHALEVEL FÜR 15 VERGLEICHE AUF $p=0,0033$. SIGNIFIKANTE P-WERTE MIT * MARKIERT.....	85
TABELLE 19: ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE DER IN DIESER ARBEIT DURCHFÜHRTEN LINEAREN REGRESSIONEN.	88
TABELLE 20: VERGLEICH DES EXPRESSIONSVERHALTENS DER PROTEINKINASE B (AKT) UND DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT FÜR GEWEBE VON DIABETKERN UND NICHT-DIABETIKERN. BONFERRONI-KORRIGIERTES ALPHALEVEL FÜR ZWEI VERGLEICHE AUF $p=0,025$. SIGNIFIKANTE P-WERTE MIT * MARKIERT.	93
TABELLE 21: VERGLEICH DES EXPRESSIONSVERHALTENS DER PROTEINKINASE B (AKT) UND DER INSULINREZEPTOR β -SUBUNIT FÜR NORMALGEWEBE UND TUMORGEWEBE VON DIABETIKERN UND NICHT-DIABETIKERN. BONFERRONI-KORRIGIERTES ALPHALEVEL FÜR ZWEI VERGLEICHE AUF $p=0,025$. SIGNIFIKANTE P-WERTE MIT * MARKIERT.	94

VI.3 LITERATURVERZEICHNIS

- Abdi, H. 2007. Bonferroni and Šidák corrections for multiple comparisons. *Encyclopedia of measurement and statistics*, 3, 103-107.
- Abdollah, F., Briganti, A., Suardi, N., Gallina, A., Capitanio, U., Salonia, A., Cestari, A., Guazzoni, G., Rigatti, P. & Montorsi, F. 2011. Does diabetes mellitus increase the risk of high-grade prostate cancer in patients undergoing radical prostatectomy? *Prostate cancer and prostatic diseases*, 14, 74.
- Altomare, D. A. & Testa, J. R. 2005. Perturbations of the AKT signaling pathway in human cancer. *Oncogene*, 24, 7455.
- Arboleda, M. J., Lyons, J. F., Kabbinnar, F. F., Bray, M. R., Snow, B. E., Ayala, R., Danino, M., Karlan, B. Y. & Slamon, D. J. 2003. Overexpression of AKT2/protein kinase B β leads to up-regulation of β 1 integrins, increased invasion, and metastasis of human breast and ovarian cancer cells. *Cancer research*, 63, 196-206.
- Aufderklamm, S., Hennenlotter, J., Leidenberger, P., Rausch, S., Hohneder, A., Kühs, U., Maas, M., Schwentner, C., Bedke, J. & Stenzl, A. 2018. Systemic Alterations of Wnt Inhibitors in Patients with Prostate Cancer and Bone Metastases. *Disease markers*, 2018.
- Aufderklamm, S., Hennenlotter, J., Todenhoefer, T., Gakis, G., Schilling, D., Vogel, U., Kuehs, U., Dlugosch, J., Knapp, J. & Merseburger, A. 2012. XPA-210: a new

- proliferation marker determines locally advanced prostate cancer and is a predictor of biochemical recurrence. *World journal of urology*, 30, 547-552.
- Aumüller, G., Aust, G., Engele, J., Kirsch, J., Maio, G., Mayerhofer, A., Mense, S., Reißig, D., Salvetter, J., Schmidt, W., Schmitz, F., Schulte, E., Spanel-Borowski, K., Wennemuth, G., Wolff, W., Wurzinger, L. J. & Zilch, H.-G. 2017. Anatomie. 2017 ed. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag.
- Bauer, J. J., Sesterhenn, I. A., Mostofi, F., Mcleod, D. G., Srivastava, S. & Moul, J. W. 1996. Elevated levels of apoptosis regulator proteins p53 and bcl-2 are independent prognostic biomarkers in surgically treated clinically localized prostate cancer. *The Journal of urology*, 156, 1511-1516.
- Baxter, N. N., Tepper, J. E., Durham, S. B., Rothenberger, D. A. & Virnig, B. A. 2005. Increased risk of rectal cancer after prostate radiation: a population-based study. *Gastroenterology*, 128, 819-824.
- Belfiore, A. 2007. The role of insulin receptor isoforms and hybrid insulin/IGF-I receptors in human cancer. *Current pharmaceutical design*, 13, 671-686.
- Belfiore, A., Frasca, F., Pandini, G., Sciacca, L. & Vigneri, R. 2009. Insulin receptor isoforms and insulin receptor/insulin-like growth factor receptor hybrids in physiology and disease. *Endocrine reviews*, 30, 586-623.
- Benyoucef, S., Surinya, K. H., Hadaschik, D. & Siddle, K. 2007. Characterization of insulin/IGF hybrid receptors: contributions of the insulin receptor L2 and Fn1 domains and the alternatively spliced exon 11 sequence to ligand binding and receptor activation. *Biochemical Journal*, 403, 603-613.
- Bevan, P. 2001. Insulin signalling. *Journal of cell science*, 114, 1429-1430.
- Bonaccorsi, L., Marchiani, S., Muratori, M., Forti, G. & Baldi, E. 2004. Gefitinib ('IRESSA', ZD1839) inhibits EGF-induced invasion in prostate cancer cells by suppressing PI3 K/AKT activation. *Journal of cancer research and clinical oncology*, 130, 604-614.
- Bonferroni, C. 1936. Teoria statistica delle classi e calcolo delle probabilita. *Pubblicazioni del R Istituto Superiore di Scienze Economiche e Commerciali di Firenze*, 8, 3-62.
- Bubendorf, L., Kononen, J., Koivisto, P., Schraml, P., Moch, H., Gasser, T. C., Willi, N., Mihatsch, M. J., Sauter, G. & Kallioniemi, O.-P. 1999. Survey of gene amplifications during prostate cancer progression by high-throughput fluorescence in situ hybridization on tissue microarrays. *Cancer research*, 59, 803-806.
- Bylsma, L. C. & Alexander, D. D. 2015. A review and meta-analysis of prospective studies of red and processed meat, meat cooking methods, heme iron, heterocyclic amines and prostate cancer. *Nutrition journal*, 14, 125.
- Chen, Y., Wu, F., Saito, E., Lin, Y., Song, M., Luu, H. N., Gupta, P. C., Sawada, N., Tamakoshi, A. & Shu, X.-O. 2017. Association between type 2 diabetes and risk of cancer mortality: a pooled analysis of over 771,000 individuals in the Asia Cohort Consortium. *Diabetologia*, 60, 1022-1032.
- Corona, G., Monami, M., Rastrelli, G., Aversa, A., Sforza, A., Lenzi, A., Forti, G., Mannucci, E. & Maggi, M. 2011. Type 2 diabetes mellitus and testosterone: A meta - analysis study. *International journal of andrology*, 34, 528-540.
- Cox, M. E., Gleave, M. E., Zakikhani, M., Bell, R. H., Piura, E., Vickers, E., Cunningham, M., Larsson, O., Fazli, L. & Pollak, M. 2009. Insulin receptor expression by human prostate cancers. *The Prostate*, 69, 33-40.
- Crawford, E. D. 2003. Epidemiology of prostate cancer. *Urology*, 62, 3-12.
- Da Costa, I. A., Hennenlotter, J., Stühler, V., Kühs, U., Scharpf, M., Todenhöfer, T., Stenzl, A. & Bedke, J. Transketolase like 1 (TKTL1) expression alterations in

- prostate cancer tumorigenesis. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, 2018. Elsevier, 472. e21-472. e27.
- Danaei, G., Finucane, M. M., Lu, Y., Singh, G. M., Cowan, M. J., Paciorek, C. J., Lin, J. K., Farzadfar, F., Khang, Y.-H. & Stevens, G. A. 2011. National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2·7 million participants. *The Lancet*, 378, 31-40.
- Davis, L. D., Zhang, W., Merseburger, A., Young, D., Xu, L., Rhim, J. S., Moul, J. W., Srivastava, S. & Sesterhenn, I. A. 2002. p63 expression profile in normal and malignant prostate epithelial cells. *Anticancer research*, 22, 3819-3825.
- Detre, S., Jotti, G. S. & Dowsett, M. 1995. A "quickscore" method for immunohistochemical semiquantitation: validation for oestrogen receptor in breast carcinomas. *Journal of clinical pathology*, 48, 876-878.
- Deutsche Krebsgesellschaft E.V. 2016. *Onkologie Leitlinienprogramm, Konsultationsfassung: Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur Früherkennung, Diagnose und Therapie der verschiedenen Stadien des Prostatakarzinoms, Lang-version 4.0, 2016 AWMF Registernummer: 043/022OL* [Online]. Deutsche Krebsgesellschaft e.V. Available: https://leitlinienprogramm-onkologie.de/uploads/tx_sbdownloader/LL_Prostata_Kurzversion_4.0.pdf [Accessed].
- Dickerman, B. A., Markt, S. C., Koskenvuo, M., Pukkala, E., Mucci, L. A. & Kaprio, J. 2016. Alcohol intake, drinking patterns, and prostate cancer risk and mortality: a 30-year prospective cohort study of Finnish twins. *Cancer Causes & Control*, 27, 1049-1058.
- Dillon, R. L., Marcotte, R., Hennessy, B. T., Woodgett, J. R., Mills, G. B. & Muller, W. J. 2009. Akt1 and akt2 play distinct roles in the initiation and metastatic phases of mammary tumor progression. *Cancer research*, 69, 5057-5064.
- Dillon, R. L. & Muller, W. J. 2010. Distinct biological roles for the akt family in mammary tumor progression. *Cancer research*, 70, 4260-4264.
- Epstein, J. I., Egevad, L., Amin, M. B., Delahunt, B., Srigley, J. R., Humphrey, P. A. & Committee, G. 2016. The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) consensus conference on Gleason grading of prostatic carcinoma: definition of grading patterns and proposal for a new grading system. *The American journal of surgical pathology*, 40, 244-252.
- Forouhi, N. G. & Wareham, N. J. 2014. Epidemiology of diabetes. *Medicine*, 42, 698-702.
- Frasca, F., Pandini, G., Scalia, P., Sciacca, L., Mineo, R., Costantino, A., Goldfine, I., Belfiore, A. & Vigneri, R. 1999. Insulin receptor isoform A, a newly recognized, high-affinity insulin-like growth factor II receptor in fetal and cancer cells. *Molecular and cellular biology*, 19, 3278-3288.
- Giovannucci, E., Harlan, D. M., Archer, M. C., Bergenstal, R. M., Gapstur, S. M., Habel, L. A., Pollak, M., Regensteiner, J. G. & Yee, D. 2010. Diabetes and cancer: a consensus report. *CA: a cancer journal for clinicians*, 60, 207-221.
- Gleason, D. F. 1992. Histologic grading of prostate cancer: a perspective. *Human pathology*, 23, 273-279.
- Gorden, P., Arakaki, R., Collier, E. & Carpentier, J. 1989. Biosynthesis and regulation of the insulin receptor. *The Yale journal of biology and medicine*, 62, 521.
- Gospodarowicz, M. K., Brierley, J. D. & Wittekind, C. 2017. *TNM classification of malignant tumours*, John Wiley & Sons.

- Graff, J. N., Alumkal, J. J., Drake, C. G., Thomas, G. V., Redmond, W. L., Farhad, M., Cetnar, J. P., Ey, F. S., Bergan, R. C. & Slottke, R. 2016. Early evidence of anti-PD-1 activity in enzalutamide-resistant prostate cancer. *Oncotarget*, 7, 52810.
- Graff, J. R. 2002. Emerging targets in the AKT pathway for treatment of androgen-independent prostatic adenocarcinoma. *Expert opinion on therapeutic targets*, 6, 103-113.
- Graff, J. R., Konicek, B. W., McNulty, A. M., Wang, Z., Houck, K., Allen, S., Paul, J. D., Hbaliu, A., Goode, R. G. & Sandusky, G. E. 2000. Increased AKT activity contributes to prostate cancer progression by dramatically accelerating prostate tumor growth and diminishing p27Kip1 expression. *Journal of Biological Chemistry*.
- Grönberg, H. 2003. Prostate cancer epidemiology. *The Lancet*, 361, 859-864.
- Gupta, A. K., Cerniglia, G. J., Mick, R., Ahmed, M. S., Bakanauskas, V. J., Muschel, R. J. & Mckenna, W. G. 2003. Radiation sensitization of human cancer cells in vivo by inhibiting the activity of PI3K using LY294002. *International Journal of Radiation Oncology* Biology* Physics*, 56, 846-853.
- Haeusler, R. A., McGraw, T. E. & Accili, D. 2018. Biochemical and cellular properties of insulin receptor signalling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 19, 31.
- Halvorsen, O. J., Haukaas, S. A. & Akslen, L. A. 2003. Combined Loss of PTEN and p27 Expression Is Associated with Tumor Cell Proliferation by Ki-67 and Increased Risk of Recurrent Disease in Localized Prostate Cancer. *Clinical Cancer Research*, 9, 1474-1479.
- Hammerich, K. H., Ayala, G. E. & Wheeler, T. M. 2009. Anatomy of the prostate gland and surgical pathology of prostate cancer. *Cambridge University, Cambridge*, 1-10.
- Handrick, R., Rübél, A., Faltin, H., Eibl, H., Belka, C. & Jendrossek, V. 2006. Increased cytotoxicity of ionizing radiation in combination with membrane-targeted apoptosis modulators involves downregulation of protein kinase B/Akt-mediated survival-signaling. *Radiotherapy and oncology*, 80, 199-206.
- Heni, M., Hennenlotter, J., Scharpf, M., Lutz, S. Z., Schwentner, C., Todenhöfer, T., Schilling, D., Kühns, U., Gerber, V. & Machicao, F. 2012. Insulin receptor isoforms A and B as well as insulin receptor substrates-1 and-2 are differentially expressed in prostate cancer. *PloS one*, 7, e50953.
- Herget, K. A., Patel, D. P., Hanson, H. A., Sweeney, C. & Lowrance, W. T. 2016. Recent decline in prostate cancer incidence in the United States, by age, stage, and Gleason score. *Cancer medicine*, 5, 136-141.
- Herold, G. 2018. *Innere Medizin: unter Berücksichtigung des Gegenstandskataloges für die Ärztliche Prüfung: mit ICD 10-Schlüssel im Text und im Stichwortverzeichnis: eine vorlesungsorientierte Darstellung: 2018*, Gerd Herold.
- Hsu, S.-M., Raine, L. & Fanger, H. 1981a. The use of antiavidin antibody and avidin-biotin-peroxidase complex in immunoperoxidase technics. *American journal of clinical pathology*, 75, 816-821.
- Hsu, S.-M., Raine, L. & Fanger, H. 1981b. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 29, 577-580.
- Huggins, C., Stevens, R. & Hodges, C. V. 1941. Studies on prostatic cancer: II. The effects of castration on advanced carcinoma of the prostate gland. *Archives of surgery*, 43, 209-223.

- Jendrossek, V., Henkel, M., Hennenlotter, J., Vogel, U., Ganswindt, U., Müller, I., Handrick, R., Anastasiadis, A. G., Kuczyk, M. & Stenzl, A. 2008. Analysis of complex protein kinase B signalling pathways in human prostate cancer samples. *BJU international*, 102, 371-382.
- Kalli, K. R., Falowo, O. I., Bale, L. K., Zschunke, M. A., Roche, P. C. & Conover, C. A. 2002. Functional insulin receptors on human epithelial ovarian carcinoma cells: implications for IGF-II mitogenic signaling. *Endocrinology*, 143, 3259-3267.
- Kasper, J. S., Liu, Y., Pollak, M. N., Rifai, N. & Giovannucci, E. 2008. Hormonal profile of diabetic men and the potential link to prostate cancer. *Cancer Causes & Control*, 19, 703-710.
- King, H., Aleksic, T., Haluska, P. & Macaulay, V. M. 2014. Can we unlock the potential of IGF-1R inhibition in cancer therapy? *Cancer treatment reviews*, 40, 1096-1105.
- Kitawaki, J., Kusuki, I., Koshiba, H., Tsukamoto, K., Fushiki, S. & Honjo, H. 1999. Detection of aromatase cytochrome P-450 in endometrial biopsy specimens as a diagnostic test for endometriosis. *Fertility and sterility*, 72, 1100-1106.
- Knapp, J. S., Lokeshwar, S. D., Vogel, U., Hennenlotter, J., Schwentner, C., Kramer, M. W., Stenzl, A. & Merseburger, A. S. 2013. Galectin-3 expression in prostate cancer and benign prostate tissues: correlation with biochemical recurrence. *World journal of urology*, 31, 351-358.
- Kononen, J., Bubendorf, L., Kallionimeni, A., Bärklund, M., Schraml, P., Leighton, S., Torhorst, J., Mihatsch, M. J., Sauter, G. & Kallionimeni, O.-P. 1998. Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens. *Nature medicine*, 4, 844-847.
- Kristal, A. R., Till, C. A., Song, X., Tangen, C. M., Goodman, P. J., Neuhaus, M. L., Schenk, J. M., Thompson, I. M., Meyskens, F. L. & Goodman, G. E. 2014. Plasma Vitamin D and Prostate Cancer Risk; Results from the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, cebp. 0115.2014.
- Kristiansen, G. 2012. Diagnostic and prognostic molecular biomarkers for prostate cancer. *Histopathology*, 60, 125-141.
- Krüger, M., Kratchmarova, I., Blagoev, B., Tseng, Y.-H., Kahn, C. R. & Mann, M. 2008. Dissection of the insulin signaling pathway via quantitative phosphoproteomics. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105, 2451-2456.
- Kuczyk, M., Serth, J., Bokemeyer, C., Machtens, S., Minssen, A., Bathke, W., Hartmann, J. & Jonas, U. 1998. The prognostic value of p53 for long-term and recurrence-free survival following radical prostatectomy. *European journal of cancer*, 34, 679-686.
- Lawlor, M. A. & Alessi, D. R. 2001. PKB/Akt: a key mediator of cell proliferation, survival and insulin responses? *Journal of cell science*, 114, 2903-2910.
- Li, J., Berkowitz, Z. & Hall, I. J. 2015. Decrease in prostate cancer testing following the US Preventive Services Task Force (USPSTF) recommendations. *The Journal of the American Board of Family Medicine*, 28, 491-493.
- Lizcano, J. M. & Alessi, D. R. 2002. The insulin signalling pathway. *Current biology*, 12, R236-R238.
- Lutz, S. Z., Hennenlotter, J., Scharpf, M. O., Sailer, C., Fritsche, L., Schmid, V., Kantartzis, K., Wagner, R., Lehmann, R. & Berti, L. 2018a. Androgen receptor overexpression in prostate cancer in type 2 diabetes. *Molecular metabolism*, 8, 158-166.
- Lutz, S. Z., Todenhofer, T., Wagner, R., Hennenlotter, J., Ferchl, J. M., Scharpf, M. O., Martus, P., Staiger, H., Fritsche, A., Stenzl, A., Haring, H. U. & Heni, M. 2018b.

- Higher prevalence of lymph node metastasis in prostate cancer in patients with diabetes. *Endocr Relat Cancer*.
- Mann, H. B. & Whitney, D. R. 1947. On a test of whether one of two random variables is stochastically larger than the other. *The annals of mathematical statistics*, 50-60.
- Matsushima, H., Kitamura, T., Goto, T., Hosaka, Y., Homma, Y. & Kawabe, K. 1997. Combined analysis with Bcl-2 and P53 immunostaining predicts poorer prognosis in prostatic carcinoma. *The Journal of urology*, 158, 2278-2283.
- Maygarden, S. J., Novotny, D. B., Moul, J. W., Bae, V. L. & Ware, J. L. 1994. Evaluation of cathepsin D and epidermal growth factor receptor in prostate carcinoma. *Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*, 7, 930-936.
- Mcneal, J. E. 1981. The zonal anatomy of the prostate. *The prostate*, 2, 35-49.
- Mcneal, J. E., Redwine, E. A., Freiha, F. S. & Stamey, T. A. 1988. Zonal distribution of prostatic adenocarcinoma. Correlation with histologic pattern and direction of spread. *The American journal of surgical pathology*, 12, 897-906.
- Meng, Q., Xia, C., Fang, J., Rojanasakul, Y. & Jiang, B.-H. 2006. Role of PI3K and AKT specific isoforms in ovarian cancer cell migration, invasion and proliferation through the p70S6K1 pathway. *Cellular signalling*, 18, 2262-2271.
- Merseburger, A. S., Anastasiadis, A. G., Hennenlotter, J., Schilling, D., Simon, P., Machtens, S. A., Serth, J., Stenzl, A. & Kuczyk, M. A. 2006a. Tissue microarrays: applications in urological cancer research. *World Journal of Urology*, 24, 579-584.
- Merseburger, A. S., Hennenlotter, J., Simon, P., Müller, C. C., Kühs, U., Knüchel-Clarke, R., Moul, J. W., Stenzl, A. & Kuczyk, M. A. 2006b. Activation of the PKB/Akt pathway in histological benign prostatic tissue adjacent to the primary malignant lesions. *Oncology reports*, 16, 79-83.
- Merseburger, A. S., Kramer, M. W., Hennenlotter, J., Simon, P., Knapp, J., Hartmann, J. T., Stenzl, A., Serth, J. & Kuczyk, M. A. 2008. Involvement of decreased Galectin - 3 expression in the pathogenesis and progression of prostate cancer. *The Prostate*, 68, 72-77.
- Merseburger, A. S., Kuczyk, M. A., Serth, J., Bokemeyer, C., Young, D. Y., Sun, L., Connelly, R. R., Mcleod, D. G., Mostofi, F. K. & Srivastava, S. K. 2003. Limitations of tissue microarrays in the evaluation of focal alterations of bcl-2 and p53 in whole mount derived prostate tissues. *Oncology reports*, 10, 223-228.
- Miyamoto, H., Messing, E. M. & Chang, C. 2004. Androgen deprivation therapy for prostate cancer: current status and future prospects. *The Prostate*, 61, 332-353.
- Mondesire, W. H., Jian, W., Zhang, H., Ensor, J., Hung, M.-C., Mills, G. B. & Meric-Bernstam, F. 2004. Targeting mammalian target of rapamycin synergistically enhances chemotherapy-induced cytotoxicity in breast cancer cells. *Clinical cancer research*, 10, 7031-7042.
- Morgan, T. M., Koreckij, T. D. & Corey, E. 2009. Targeted therapy for advanced prostate cancer: inhibition of the PI3K/Akt/mTOR pathway. *Current cancer drug targets*, 9, 237-249.
- Mottet, N., Bellmunt, J., Briers, E., Bolla, M., Bourke, L., Cornford, P., De Santis, M., Henry, A. M., Joniau, S., Lam, T. B., Mason, M. D., Van Der Poel, H. G., Van Der Kwast, T. H., Rouvière, O., Wiegel, T., Arfi, N., Van Den Bergh, R. C. N., Van Den Broeck, T., Cumberbatch, M., Fossati, N., Gross, T., Lardas, M., Liew, M., Moldovan, P., Schoots, I. G. & Willemsse, P. M. 2017. *EAU Guidelines on*

- Prostate Cancer* [Online]. Available: <http://uroweb.org/guideline/prostate-cancer/> [Accessed].
- Muller, R. L., Gerber, L., Moreira, D. M., Andriole, G., Castro-Santamaria, R. & Freedland, S. J. 2012. Serum testosterone and dihydrotestosterone and prostate cancer risk in the placebo arm of the Reduction by Dutasteride of Prostate Cancer Events trial. *European urology*, 62, 757-764.
- Nakamura, J. L., Karlsson, A., Arvold, N. D., Gottschalk, A. R., Pieper, R. O., Stokoe, D. & Haas-Kogan, D. A. 2005. PKB/Akt mediates radiosensitization by the signaling inhibitor LY294002 in human malignant gliomas. *Journal of neuro-oncology*, 71, 215-222.
- Nyame, Y. A., Murphy, A. B., Bowen, D. K., Jordan, G., Batai, K., Dixon, M., Hollowell, C. M., Kielb, S., Meeks, J. J. & Gann, P. H. 2016. Associations between serum vitamin D and adverse pathology in men undergoing radical prostatectomy. *Journal of Clinical Oncology*, 34, 1345-1349.
- Ozbek, E., Otunctemur, A., Dursun, M., Sahin, S., Besiroglu, H., Koklu, I., Erkoc, M., Danis, E. & Bozkurt, M. 2014. Diabetes mellitus and HbA1c levels associated with high grade prostate cancer. *Asian Pac J Cancer Prev*, 15, 2555-2558.
- Richie, J. P., Catalona, W. J., Ahmann, F. R., M'Iss, A. H., Scardino, P. T., Flanigan, R. C., Dekernion, J. B., Ratliff, T. L., Kavoussi, L. R. & Dalkin, B. L. 1993. Effect of patient age on early detection of prostate cancer with serum prostate-specific antigen and digital rectal examination. *Urology*, 42, 365-374.
- Rohde, V., Grabein, K., Hessel, F., Siebert, U. & Wasem, J. 2006. Orchiectomie versus medikamentöse Therapie mit LH-RH-Analoga zur Behandlung des fortgeschrittenen Prostatakarzinoms. *GMS Health Technol Assess*, 2.
- Rubin, M. A., Dunn, R., Strawderman, M. & Pienta, K. J. 2002a. Tissue microarray sampling strategy for prostate cancer biomarker analysis. *Am J Surg Pathol*, 26, 312-9.
- Rubin, M. A., Zhou, M., Dhanasekaran, S. M., Varambally, S., Barrette, T. R., Sanda, M. G., Pienta, K. J., Ghosh, D. & Chinnaiyan, A. M. 2002b. α -Methylacyl coenzyme A racemase as a tissue biomarker for prostate cancer. *Jama*, 287, 1662-1670.
- Russo, G. I., Hennenlotter, J., Kühs, U., Vogel, U., Wurm, M. T., Gerber, V., Neumann, T., Morgia, G., Stenzl, A. & Todenhöfer, T. 2018. MP29-03 MTOR EXPRESSION IN PROSTATE CANCER AND IMPLICATIONS AS PROGNOSTIC ROLE WITH META-ANALYSIS OF THE LITERATURE. *The Journal of Urology*, 199, e366.
- Saltiel, A. R. & Kahn, C. R. 2001. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature*, 414, 799.
- Sarker, D., Reid, A. H., Yap, T. A. & De Bono, J. S. 2009. Targeting the PI3K/AKT pathway for the treatment of prostate cancer. *Clinical Cancer Research*, 15, 4799-4805.
- Schanz, M., Hennenlotter, J., Dlugosch, J., Kuehs, U., Dettmer, M., Schilling, D., Schwentner, C., Stenzl, A. & Todenhöfer, T. 2016. MP90-19 EXPRESSION OF MTOR PATHWAY PARAMETERS IN PROSTATE CANCER SHOWS SIGNIFICANT INTRATUMORAL HETEROGENEITY. *The Journal of Urology*, 195, e1152.
- Schmelz, H.-U., Sparwasser, C. & Weidner, W. 2014. *Facharztwissen Urologie: Differenzierte Diagnostik und Therapie*, Springer-Verlag.
- Sciaccia, L., Costantino, A., Pandini, G., Mineo, R., Frasca, F., Scalia, P., Sbraccia, P., Goldfine, I. D., Vigneri, R. & Belfiore, A. 1999. Insulin receptor activation by IGF-

- II in breast cancers: evidence for a new autocrine/paracrine mechanism. *Oncogene*, 18, 2471.
- Sciacca, L., Vigneri, R., Tumminia, A., Frasca, F., Squatrito, S., Frittitta, L. & Vigneri, P. 2013. Clinical and molecular mechanisms favoring cancer initiation and progression in diabetic patients. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 23, 808-815.
- Selman, S. H. 2011. The McNeal prostate: a review. *Urology*, 78, 1224-1228.
- Shapiro, S. S. & Wilk, M. B. 1965. An analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika*, 52, 591-611.
- Slaaby, R. 2015. Specific insulin/IGF1 hybrid receptor activation assay reveals IGF1 as a more potent ligand than insulin. *Scientific reports*, 5, 7911.
- Song, G., Ouyang, G. & Bao, S. 2005. The activation of Akt/PKB signaling pathway and cell survival. *Journal of cellular and molecular medicine*, 9, 59-71.
- Spearman, C. 1904. The proof and measurement of association between two things. *The American journal of psychology*, 15, 72-101.
- Stackhouse, G. B., Sesterhenn, I. A., Bauer, J. J., Mostofi, F. K., Connelly, R. R., Srivastava, S. K. & Moul, J. W. 1999. p53 and bcl-2 immunohistochemistry in pretreatment prostate needle biopsies to predict recurrence of prostate cancer after radical prostatectomy. *The Journal of urology*, 162, 2040-2045.
- Stamey, T. A., Mcneal, J. E., Freiha, F. S. & Redwine, E. 1988. Morphometric and clinical studies on 68 consecutive radical prostatectomies. *The Journal of urology*, 139, 1235-1240.
- Stenzl, A., Pelzer, A., Bischoff, S., Burkhardt, A., Cuno, M. & Damms, A. 2009. Prostatakarzinom - Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge. In *Therapieempfehlungen des Südwestdeutschen Tumorzentrums – Comprehensive Cancer Center Tübingen*.
- Sternberg, C. N. 2019. Enzalutamide, an oral androgen receptor inhibitor for treatment of castration-resistant prostate cancer. *Future Oncology*.
- Taplin, M. E. & Ho, S.-M. 2001. The Endocrinology of Prostate Cancer. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 86, 3467-3477.
- Thomas, G. V., Horvath, S., Smith, B. L., Crosby, K., Lebel, L. A., Schrage, M., Said, J., De Kernion, J., Reiter, R. E. & Sawyers, C. L. 2004. Antibody-based profiling of the phosphoinositide 3-kinase pathway in clinical prostate cancer. *Clinical Cancer Research*, 10, 8351-8356.
- Todenhoefer, T., Hennenlotter, J., Hohneder, A., Kuehs, U., Schilling, D., Aufderklamm, S., Alloussi, S., Gakis, G., Stenzl, A. & Schwentner, C. 2011. 127 DIFFERENTIAL EXPRESSION OF RANKL AND OSTEOPROTEGERIN IN PATIENTS WITH CLINICALLY LOCALIZED PROSTATE CANCER. *The Journal of Urology*, 185, e53.
- Todenhöfer, T., Hennenlotter, J., Kühs, U., Gerber, V., Gakis, G., Vogel, U., Aufderklamm, S., Merseburger, A., Knapp, J. & Stenzl, A. 2013a. Altered expression of farnesyl pyrophosphate synthase in prostate cancer: evidence for a role of the mevalonate pathway in disease progression? *World journal of urology*, 31, 345-350.
- Todenhöfer, T., Hennenlotter, J., Leidenberger, P., Wald, A., Hohneder, A., Kühs, U., Mischinger, J., Aufderklamm, S., Gakis, G. & Blumenstock, G. 2014a. Serum receptor activator of nuclear factor κB ligand (RANKL) levels predict biochemical recurrence in patients undergoing radical prostatectomy. *BJU international*, 113, 152-159.
- Todenhöfer, T., Hennenlotter, J., Schmiedel, B. J., Hohneder, A., Grimm, S., Kühs, U., Salih, H. R., Bühring, H. J., Fehm, T. & Gakis, G. 2013b. Alterations of the

- RANKL pathway in blood and bone marrow samples of prostate cancer patients without bone metastases. *The Prostate*, 73, 162-168.
- Todenhöfer, T., Leidenberger, P., Hennenlotter, J., Kühns, U., Hohneder, A., Aufderklamm, S., Stenzl, A. & Schwentner, C. 2014b. 114 Systemic alterations of Wnt Inhibitors in patients with prostate cancer and bone metastases. *European Urology Supplements*, 13, e114.
- Van Spronsen, D., De Weijer, K., Mulders, P. & De Mulder, P. 2005. Novel treatment strategies in clear-cell metastatic renal cell carcinoma. *Anti-cancer drugs*, 16, 709-717.
- Vella, V. & Malaguarnera, R. 2018. The Emerging Role of Insulin Receptor Isoforms in Thyroid Cancer: Clinical Implications and New Perspectives. *International journal of molecular sciences*, 19, 3814.
- Vella, V., Milluzzo, A., Scalisi, N., Vigneri, P. & Sciacca, L. 2018. Insulin Receptor Isoforms in Cancer. *International journal of molecular sciences*, 19, 3615.
- Vella, V., Pandini, G., Sciacca, L., Mineo, R., Vigneri, R., Pezzino, V. & Belfiore, A. 2002. A novel autocrine loop involving IGF-II and the insulin receptor isoform-A stimulates growth of thyroid cancer. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 87, 245-254.
- Venkateswaran, V., Haddad, A. Q., Fleshner, N. E., Fan, R., Sugar, L. M., Nam, R., Klotz, L. H. & Pollak, M. 2007. Association of diet-induced hyperinsulinemia with accelerated growth of prostate cancer (LNCaP) xenografts. *Journal of the National Cancer Institute*, 99, 1793-1800.
- Vigneri, P., Frasca, F., Sciacca, L., Pandini, G. & Vigneri, R. 2009. Diabetes and cancer. *Endocrine-related cancer*, 16, 1103-1123.
- Virtakoivu, R., Pellinen, T., Rantala, J. K., Perälä, M. & Ivaska, J. 2012. Distinct roles of AKT isoforms in regulating β 1-integrin activity, migration, and invasion in prostate cancer. *Molecular biology of the cell*, 23, 3357-3369.
- Von Sivers, H. W. A. 2018. Untersuchungen zur Bedeutung zellulärer Regulationsprozesse des Aktivierungsstatus von mTOR und 4E-BP1 und ihre Auswirkungen auf Tumorgenese und Progression des Prostatakarzinoms-Immunhistochemische Untersuchungen mittels der tissue.
- Waalkes, S., Simon, P., Hennenlotter, J., Knapp, J., Tezval, H., Serth, J., Stenzl, A., Kuczyk, M. A. & Merseburger, A. S. 2010. Altered expression of Akt signaling pathway parameters in prostate needle biopsies derived from benign, adjacent and cancerous tissue. *Oncology reports*, 23, 1257-1260.
- Wang, C., Su, K., Zhang, Y., Zhang, W., Zhao, Q., Chu, D. & Guo, R. 2018. IR-A/IGF-1R-mediated signals promote epithelial-mesenchymal transition of endometrial carcinoma cells by activating PI3K/AKT and ERK pathways. *Cancer biology & therapy*, 1-12.
- Wilt, T. J., Macdonald, R., Rutks, I., Shamliyan, T. A., Taylor, B. C. & Kane, R. L. 2008. Systematic review: comparative effectiveness and harms of treatments for clinically localized prostate cancer. *Annals of internal medicine*, 148, 435-448.
- Wittekind, C., Asamura, H. & Sobin, L. H. 2014. *TNM atlas*, John Wiley & Sons.
- Wolff, J. M. & Schmid, H. P. 2015. Testosteron im Management des metastasierten Prostatakarzinoms. *Der Urologe*, 54, 1578-1583.
- Wu, C., Moreira, D., Gerber, L., Rittmaster, R., Andriole, G. & Freedland, S. 2011. Diabetes and prostate cancer risk in the REDUCE trial. *Prostate cancer and prostatic diseases*, 14, 326.
- Xu, C.-X., Zhu, H.-H. & Zhu, Y.-M. 2014. Diabetes and cancer: associations, mechanisms, and implications for medical practice. *World journal of diabetes*, 5, 372.

- Yoeli-Lerner, M., Yiu, G. K., Rabinovitz, I., Erhardt, P., Jauliac, S. & Toker, A. 2005. Akt blocks breast cancer cell motility and invasion through the transcription factor NFAT. *Molecular cell*, 20, 539-550.
- Youngren, J. 2007. Regulation of insulin receptor function. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 64, 873.
- Zellweger, T., Ninck, C., Mirlacher, M., Anefeld, M., Glass, A. G., Gasser, T. C., Mihatsch, M. J., Gelmann, E. P. & Bubendorf, L. 2003. Tissue microarray analysis reveals prognostic significance of syndecan - 1 expression in prostate cancer. *The Prostate*, 55, 20-29.
- Zentrum Für Krebsregisterdaten Im Robert Koch-Institut. 2016. *Bericht zum Krebsgeschehen in Deutschland 2016* [Online]. Berlin. Available: https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebsgeschehen/Krebsgeschehen_download.pdf? blob=publicationFile [Accessed].
- Zhang, F., Yang, Y., Skrip, L., Hu, D., Wang, Y., Wong, C., Qiu, J. & Lei, H. 2012. Diabetes mellitus and risk of prostate cancer: an updated meta-analysis based on 12 case-control and 25 cohort studies. *Acta diabetologica*, 49, 235-246.
- Zimmermann, M., Zouhair, A., Azria, D. & Ozsahin, M. 2006. The epidermal growth factor receptor (EGFR) in head and neck cancer: its role and treatment implications. *Radiation Oncology*, 1, 11.

VI.4 ERKLÄRUNG ZUM EIGENANTEIL DER DISSERTATIONSSCHRIFT

Hier mich erkläre ich, Luca Ulrich, dass die vorliegende Arbeit von mir selbstständig verfasst wurde und ich dabei neben den hier angegebenen keine weiteren Hilfsmittel verwendet habe. Alle wörtlich und inhaltlich übernommenen Stellen aus anderen Arbeiten habe ich als solche gekennzeichnet.

Die Idee und das Konzept der vorliegenden Arbeit entstand in der Klinik für Urologie des Universitätsklinikums Tübingen unter der Leitung von Prof. Dr. med. Dr. h.c. Arnulf Stenzl, dem Ärztlichen Direktor der Klinik für Urologie des Universitätsklinikums Tübingen in Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Dr. med. Tilman Todenhöfer, aus der Klinik für Urologie des Universitätsklinikums Tübingen und dem betreuenden Doktorvater dieser Arbeit und Dipl.-Biol. dem Leiter des wissenschaftlichen Labors der Klinik für Urologie des Universitätsklinikums Tübingen als wissenschaftlichem Betreuer.

Die vorliegende Arbeit entstand als Teil eines Verbundprojektes „Diabetes und Prostatakarzinom“. Im Rahmen dieses laufenden Verbundprojektes sollen Bestandteile des Insulinsignalweges und tumorbiologisch relevante Signalwegsbestandteile und deren Interaktionen miteinander untersucht werden. Aufgrund des Umfangs der dabei untersuchten Parameter und der dazu durchzuführenden Arbeit wurden mit der Unterstützung der Mitarbeiter der Klinik für Urologie des Universitätsklinikums Tübingen jeweils wichtige Teilarbeitsschritte von am Verbundprojekten beteiligten Doktoranden durchgeführt.

Die Aufarbeitung der Gewebeproben und die anschließende Herstellung des Tissue Microarrays wurde unter der Anleitung von Frau Kühs (medizinisch-technische Assistentin des Labors der Klinik für Urologie des Universitätsklinikums Tübingen) von den ebenfalls am Verbundprojekt beteiligten Doktoranden Yannik Pach und David Rodriguez durchgeführt.

Die histopathologische Verifizierung der untersuchten Gewebeproben wurde durch Dr. med. Marcus Scharpf aus dem Institut für Pathologie des Universitätsklinikums Tübingen durchgeführt.

Die für diese Studie durchgeführten immunhistochemischen Färbungen wurden in Zusammenarbeit mit Frau Ursula Kühs (medizinisch-technische Assistentin des Labors der Klinik für Urologie des Universitätsklinikums Tübingen) durchgeführt.

Die die Charakterisierung des Studienkollektivs, die Erhebung patientenindividueller und klinischer Daten sowie insbesondere das Erheben des Diabetesstatus wurden von mir in Zusammenarbeit mit Lennart Jobst, ebenfalls einem am Verbundprojekt beteiligten Doktoranden durchgeführt.

Die Erstellung des Auswertungsscores und die Analyse der Expressionen der Proteinkinase B (Akt) und der Insulinrezeptor β -subunit wurden selbstständig durch mich durchgeführt.

Die statistische Auswertung der für diese Arbeit verwendeten Daten wurde nach Einarbeitung durch Tim Neumann, wissenschaftlicher Mitarbeiter des Labors der Klinik für Urologie des Universitätsklinikums Tübingen, eigenständig durch mich durchgeführt.

Ulm, den 13.01.2020

VI.5 DANKSAGUNG

Zuerst möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. Arnulf Stenzl, dem Ärztlichem Direktor der Klinik für Urologie des Universitätsklinikums Tübingen, für das Überlassen des Themas und die freundliche Bereitstellung aller für diese Arbeit benötigten Materialien und Hilfsmittel bedanken.

Auch Prof. Dr. med. Tilman Todenhöfer gebührt ein großer Dank für die Betreuung und das Anbieten seiner außerordentlichen Fachkompetenz während dieser Arbeit.

Meine ganz besondere Dankbarkeit gilt Herrn Dipl.-Biol. Jörg Hennenlotter, ohne den diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre. Sein Engagement und sein Fachwissen suchen seines Gleichen. Er nahm sich ausnahmslos immer Zeit für großartige und kompetente Hilfestellungen und Anregungen. Seine Bekanntschaft ist für mich auch persönlich eine große Bereicherung und ich werde sowohl fachlich, als auch menschlich viel für meine Zukunft daraus mitnehmen.

Auch Dr. med. Simon Walz aus der urologischen Abteilung des Universitätsklinikums möchte ich ganz herzlich dafür danken, dass er sich die Zeit dafür nahm mein Manuskript zu lesen und mir sehr wertvolle Ratschläge gab.

Dem gesamten Team des urologischen Labors bin ich für die Unterstützung bei der Erstellung dieser Arbeit dankbar. Besonders Frau Ursula Kühs danke ich für ihre Geduld und ihre fachliche Kompetenz, welche bei methodischen Fragen und der Erstellung der immunhistochemischen Färbungen unverzichtbar waren. Auch Tim Neumann ist hier insbesondere ein großer Dank auszusprechen. Ihm danke ich für seine kompetenten Ratschläge bei der Erstellung der Statistik sowie für großartige und konstruktive Diskussionen die mir stets neue Perspektiven eröffneten. Ich freue mich, in ihm einen guten Freund gefunden zu haben und werde mit Spannung seinen beruflichen Werdegang verfolgen.

Meinen Mitdoktoranden Yannik Pach und David Rodriguez danke ich für das Erstellen des Tissue Microarrays und damit dem Legen des Grundsteines dieser Arbeit. Meinem sehr guten Freund und Mitdoktorand Lennart Jobst danke ich für die konstruktive Zusammenarbeit und die vielen gemeinsamen Stunden bei der Charakterisierung des Studienkollektivs, die Erhebung patientenindividueller und klinischer Daten und der Diabetesstaterhebung. Ihnen allen sowie Annabella Geiges, Moritz Schanz und

Hannes von Sivers danke ich für konstruktive Gespräche und die gegenseitige Unterstützung.

Für die histopathologische Verifizierung der Gewebeproben danke ich Dr. Marcus Scharpf aus dem Pathologischen Institut des Universitätsklinikums Tübingen.

Auch bedanken möchte ich mich bei PD Dr. med. Steffen Rausch für das Einscannen und digitalisieren der für die Auswertung verwendeten Objektträger.

Außerdem bedanke ich mich bei Frau Birgit Trilling vom Klinische Krebsregister des CCC Tübingen-Stuttgart für das Erheben der Sterbedaten der Patienten des Kollektivs.

Zu guter Letzt gilt mein allergrößter Dank meiner Familie und insbesondere meiner Frau Manuela Ulrich und Mutter Susanne Liebert-Ulrich. Ohne eure liebevolle Unterstützung und Rückhalt wäre nichts davon möglich gewesen. Ihr seid die Besten!

VI.5 LEBENSLAUF

LEBENSLAUF Luca Ulrich

Geburtstag/-ort: 08.11.1988 / Stuttgart
Familienstand: verheiratet
Staatsangehörigkeit: deutsch

Schullaufbahn

09/1995 – 07/2008 Freie Waldorfschule Uhlandshöhe, Stuttgart
Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

03 - 08/2005 Auslandsaufenthalt/Besuch Highschool, USA

Zivildienst

01.12.2008 – 30.08.2009 Zivildienst im Robert-Bosch-Krankenhaus, Stuttgart

Ausbildung

10/2009 – 09/2012 Vorklinischer Abschnitt des Studiums der Humanmedizin an der Universität Leipzig

09/2012 Universität Leipzig
Abschluss: Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung

08/2013 – 12/2017 Klinischer Abschnitt des Studiums der Humanmedizin an der Eberhard Karls Universität Tübingen

10/2016 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

11/2017 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

12/2017 Approbation als Arzt

Praktisches Jahr

21.11.2016 – 12.03.2017 1. Terial: Chirurgie in den Kreiskliniken Reutlingen

13.03.2017 – 02.07.2017 2. Terial: Klinik für Urologie, Universitätsklinikum Tübingen

03.07.2017 – 24.09.2017 3. Terial: Innere Medizin in den Kreiskliniken Reutlingen

Berufsleben

Seit 04/2019 Arzt in Weiterbildung in der Fachrichtung Kardiologie im Universitätsklinikum Ulm