

Aus dem Institut für Pathologie
des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf
Direktor: Prof. Dr. med. Guido Sauter

**Chromosom 8p Deletionen und 8q Zugewinne
in der Progression des Prostatakarzinoms**

Eine TMA Untersuchung an unterschiedlichen Prostataentitäten

Dissertation

Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg vorgelegt von

Michael Brüchmann
aus Hamburg

Hamburg 2009

**Angenommen von der medizinischen Fakultät
der Universität Hamburg am: 08.03.2010**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Universität Hamburg**

Prüfungsausschuss, der Vorsitzende: Prof. Dr. med. Guido Sauter

Prüfungsausschuss: 2. Gutachter: PD. Dr. med. Thomas Schlomm

Prüfungsausschuss: 3. Gutachter: Prof. Dr. med. Hans Heinzer

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

Inhaltsverzeichnis

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS UND FREMDWÖRTER.....	5
ARBEITSHYPOTHESE UND FRAGESTELLUNG	6
1. EINLEITUNG	8
1.1. EPIDEMIOLOGIE DES PROSTATAKARZINOMS.....	8
1.2. ÄTIOLOGIE	10
1.3. KLINISCHE EINTEILUNG DES PROSTATAKARZINOMS.....	12
1.3.1. <i>TNM-Klassifikation</i>	12
1.3.2. <i>Gleason-Grading</i>	13
1.3.3. <i>Diagnostik des Prostatakarzinoms</i>	15
1.4. DIFFERENZIALTHERAPIE DES PROSTATAKARZINOMS	20
1.4.1. <i>Therapie des lokal begrenzten Prostatakarzinoms</i>	20
1.4.2. <i>Therapie des lokal fortgeschrittenen und metastasierten Prostatakarzinoms</i>	21
1.4.3. <i>Therapie des hormonrefraktären Prostatakarzinoms</i>	22
1.5. DIE SUCHE NACH NEUEN DIAGNOSTISCHEN MARKERN	23
1.6. TUMORSUPPRESSORGENE UND ONKOGENE	24
1.7. DAS ONKOGEN C-MYC.....	26
1.8. DAS TUMORSUPPRESSORGEN LPL.....	28
2. MATERIAL UND METHODEN:	31
2.1. PATIENTENDATEN UND UNTERSUCHUNGSMATERIAL.....	31
2.2. DER SEGEM DER TISSUE-MIKROARRAY-TECHNOLOGIE	36
2.3. TMA-HERSTELLUNG	39
2.4. FLUORESCENZ-IN-SITU-HYBRIDISIERUNG	43
2.5. STATISTIK.....	45
3. RESULTATE:	46
3.1. PATIENTENDATEN.....	46
3.2. UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE.....	46
3.2.1. <i>8p Deletionen</i>	46
3.2.2. <i>8q Zugewinne</i>	48
4. DISKUSSION	52
4.1. LITERATURÜBERSICHT ZU 8P UND 8Q VERÄNDERUNGEN	52
4.1.1. <i>Vergleich der Ergebnisse mit anderen FISH Studien</i>	52
4.1.2. <i>Vergleich der Ergebnisse mit anderen CGH-Studien</i>	54
4.2. KRITISCHE WÜRDIGUNG UNSERER ERGEBNISSE.....	56
4.3. 8Q VERÄNDERUNGEN IN ANDEREN MENSCHLICHEN TUMOREN.....	58
4.4. BEDEUTUNG DER ERGEBNISSE FÜR DIE PRAXIS	60
5. ZUSAMMENFASSUNG	61
6. LITERATURVERZEICHNIS	63
7. DANKSAGUNG	75
8. LEBENSLAUF	76
9. EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG	77

Abkürzungsverzeichnis und Fremdwörter

BPH	Benigne Prostatahyperplasie
CGH	Vergleichende Hybridisierung von Patienten- und Referenz-DNA an Metaphase-Chromosomen
DNA	Desoxyribonukleinsäure
FISH	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
fortgeschrittene Prostatakarzinome	Prostatakarzinome mit Gleason-Grad 8-9
Gen	Abschnitt auf der DNA, der für ein Protein kodiert
HE	Hämatoxylin-Eosin-Färbung
Inzidentes Prostatakarzinom	z.B. durch die Resektion einer BPH zufällig entdecktes Prostatakarzinom
Latentes Prostatakarzinom	klinisch nicht auffällig gewordenes durch eine Autopsie entdecktes Karzinom
LDL	Lipoprotein niedriger Dichte (low density lipoprotein)
LHRH	Luteinisierendes-Hormon-Releasing-Hormon
LPL	Lipoprotein Lipase
PCR	Polymerase Kettenreaktion
PIN	Prostatische intraepitheliale Neoplasie
PT2b	Tumor welcher auf die Prostata begrenzt ist und über die Hälfte eines Lappens befallen hat
PT3b	Tumor welcher die Prostatakapsel durchbrochen hat und zusätzlich die Samenblase infiltriert hat
PSA	Prostataspezifisches Antigen
RNA	Ribonukleinsäure
TMA	Tissue Mikroarray
TNM	Tumor-Nodus-Metastase (Klassifikation)
UKE	Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
VLDL	Lipoproteine sehr geringer Dichte (Very low density lipoprotein)

Arbeitshypothese und Fragestellung

Chromosomale Veränderungen in Form von verloren gegangenen Genabschnitten (Deletionen) und Vervielfältigungen (Zugewinne) tragen zur Entstehung und zum Fortschreiten von Tumoren bei. Dabei spielt die Vermehrung des Onkogens c-MYC auf dem langen Arm des 8. Chromosoms (8q) und die Deletion des Tumorsuppressorgens LPL auf dem kurzen Arm des 8. Chromosoms (8p) eine entscheidende Rolle bei vielen menschlichen Tumoren. Mit der Bestimmung von 8p- und 8q-Veränderungen in radikalen Prostatektomiepräparaten haben sich bereits mehrere Studiengruppen befasst, ohne jedoch ein einheitliches Ergebnis erzielen zu können. Die Hoffnung besteht darin, neue molekulare Marker zu entdecken, die bei der individuellen Prognoseabschätzung und als weiterer Schritt bei der Entwicklung neuer zielgerichteter Medikamente helfen können.

Eine kürzlich bei uns im Institut für Pathologie am UKE veröffentlichte Studie deutet auf eine prognostische Relevanz von 8p- und 8q-Veränderungen beim Prostatakarzinom hin, es wurden aber ausschließlich Primärtumore bzw. Frühstadien (pT2, pT3) untersucht (El-Gammal Dissertation in progress).

Darauf aufbauend ist das Ziel der vorliegenden Studie zu untersuchen, ob es bei fortgeschrittenen Stadien des Prostatakarzinoms zum gehäuftem Auftreten von 8p Deletionen und/oder 8q Zugewinnen kommt.

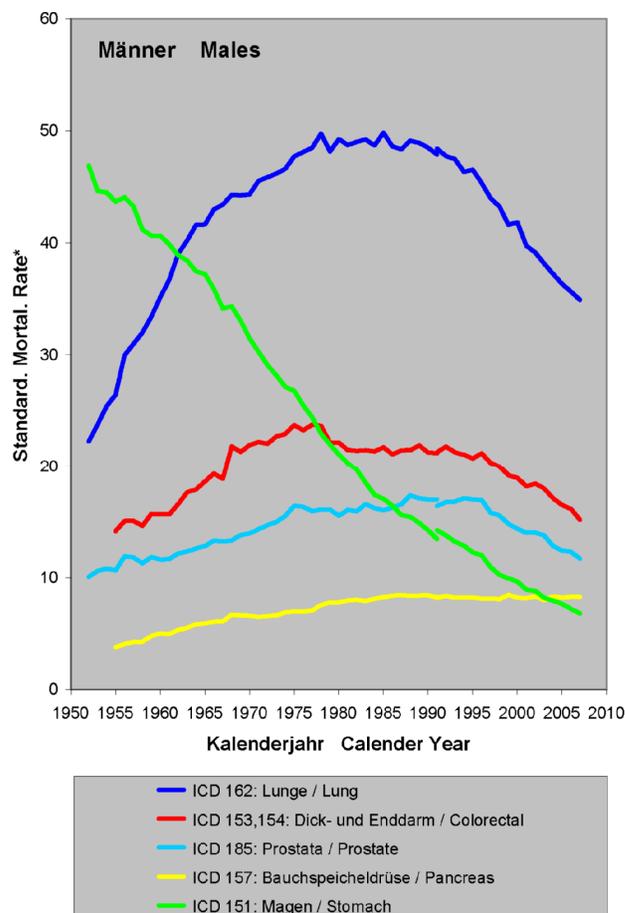
Deshalb wurden zusätzlich zu den Frühstadien weit fortgeschrittene Tumoren (fortgeschrittene Prostatakarzinome mit Gleason-Grad 8-9, hormonrefraktäre Prostatakarzinome, Lymphknotenmetastasen und Knochenmetastasen des Prostatakarzinoms) untersucht.

Als ideales technisches Verfahren für diese Studie wurde die TMA-Technik ausgewählt, die es ermöglicht, hunderte von Gewebeproben auf einem Objektträger unter gleichen standardisierten Bedingungen zu untersuchen. Aus den Archiven des pathologischen Instituts der Universitätsklinik Eppendorf wurden geeignete Fälle herausgesucht und ein Prostate Progressions TMA hergestellt. Dieser wurde mit Hilfe der FISH Technologie auf 8p und 8q Veränderungen untersucht.

1. Einleitung

1.1. Epidemiologie des Prostatakarzinoms

Das Prostatakarzinom ist unter Männern der häufigste maligne Tumor und gilt nach wie vor, trotz vieler Fortschritte in den letzten Jahren und der Entdeckung neuer Marker als Herausforderung für die Wissenschaft (Haag, Hanhart et al. 2006). 97% dieser Karzinome sind sogenannte Adenokarzinome, d.h. der Tumor weist eine drüsige Differenzierung auf. Bei den zum Tode führenden Krebserkrankungen steht das Prostatakarzinom mit 10,1% nach Bronchialkarzinom und Kolonkarzinom an dritter Stelle (Krebsforschungszentrum; Batzler, Robert-Koch-Institut et al. 2008) (siehe Abbildung 1).



**Abbildung 1: Die fünf häufigsten
Krebstodesursachen in Deutschland
für Männer (Abbildung aus
Krebsforschungszentrum).**

In Deutschland werden derzeit jährlich 58.000 Prostatakarzinome diagnostiziert und es sterben in diesem Zeitraum ca. 11.000 Männer daran. Etwa 90 % aller Erkrankten sind älter als 60 Jahre, wobei das mittlere Erkrankungsalter bei ca. 69 Jahren liegt. Dies zeigt sich auch in der Inzidenz, die über alle Altersklassen hinweg etwa 120 pro 100.000 Männer beträgt, bei den 75-Jährigen aber auf über 800 Fälle pro 100.000 Männer ansteigt. Dagegen treten Erkrankungen kaum vor dem 50. Lebensjahr auf (Batzler, Robert-Koch-Institut et al. 2008). Angesichts der stetig steigenden Lebenserwartung in der westlichen Welt wird der Anteil der über 60-Jährigen in der Bevölkerung bis zum Jahr 2050 auf 28 Mio. (37%) anwachsen und somit doppelt so hoch sein wie heutzutage (Rübben 2007). Damit zeichnet sich eine steigende Prävalenz und zunehmende klinische Relevanz des Prostatakarzinoms ab (siehe Abbildung 2).

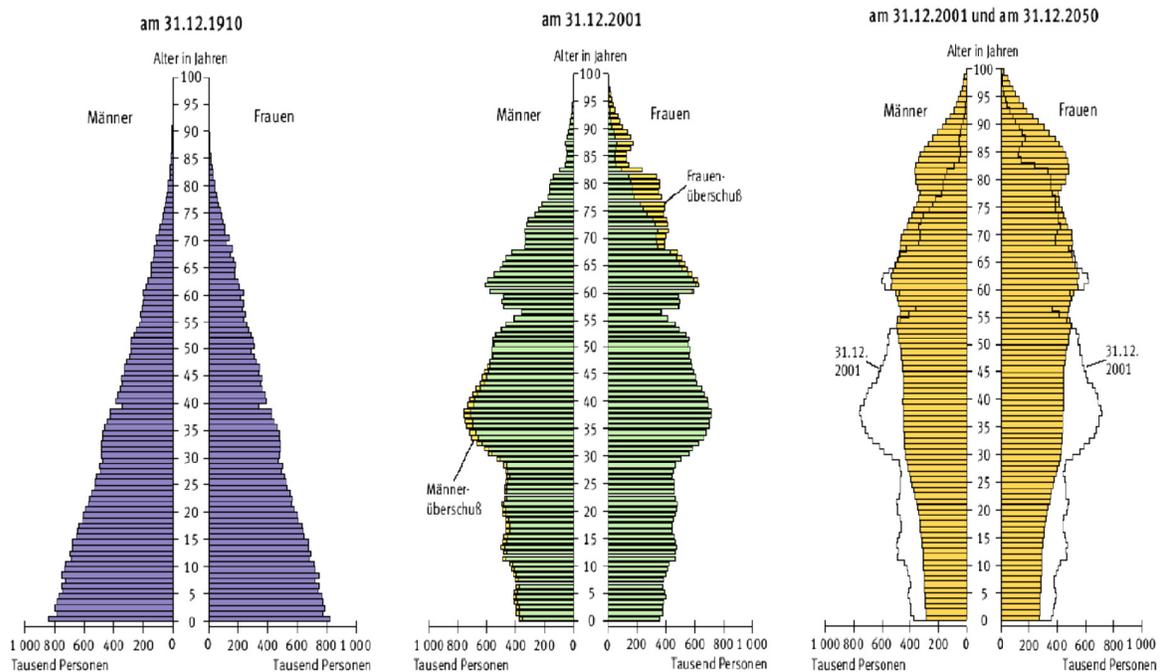


Abbildung 2: Altersaufbau der Bevölkerung in Deutschland von 1910 über 2001 bis 2050 (Abbildung aus Bundesamt 2003)

1.2. Ätiologie

Obwohl das Prostatakarzinom eine so weit verbreitete Todesursache darstellt, ist die genaue Ätiologie nicht bekannt. Die einzigen sicher anerkannten Risikofaktoren sind Alter, Rasse (die Neuerkrankungsrate unter Japanern ist viel geringer als unter Afroamerikanern) und eine genetische Disposition (Verhage, Kiemeney 2003; Hautmann, Huland et al. 2006).

Ist ein Verwandter ersten Grades erkrankt (Bruder oder Vater) ist das Risiko im Vergleich zur Normalbevölkerung verdoppelt. Wenn zwei oder mehr Verwandte ersten Grades oder zwei Verwandte vor dem 55. Lebensjahr erkrankt sind, ist das Risiko fünf- bis elffach erhöht (Rohde, Katalinic et al. 2007). Das Prostatakarzinom zeigt von allen Tumoren die höchste genetische Veranlagung, die bis zu 20% beträgt (Hemminki, Sundquist et al. 2008).

Die Inzidenz des Prostatakarzinoms ist in Asien deutlich geringer als in Europa und Nordamerika. Aktuelle Studien zeigen aber, dass bei in die USA ausgewanderten Asiaten in der 2. Generation in der gleichen Häufigkeit eine Prostatakreberkrankung nachgewiesen wird, wie bei weißen amerikanischen Männern. Da genetische oder hormonelle Gründe ausgeschlossen werden konnten, scheint eine Beteiligung der Lebensgewohnheiten, wie Rauchen, Übergewicht, fettreiche Lebensmittel, Alkohol- und Kaffeekonsum und Umweltfaktoren (Abgase, Luftverschmutzung), einen Einfluss auf die Auslösung des Tumors zu haben (Whittemore, Wu et al. 1995; Hautmann, Huland et al. 2006).

Ein weiterer diskutierter Risikofaktor ist das hormonabhängige Wachstum des Tumors. Für diese Erkenntnis wurde Charles Brenton Huggins 1966 der Nobelpreis verliehen (Huggins 1943). Männer, die einen niedrigen Hormonlevel aufweisen (z.B. Eunuchen) erkranken nur sehr selten an einem Prostatakarzinom (Ross, Paganini-Hill et al. 1983). Durch eine androgene Stimulation, z.B. mit Testosteron, wird die Entstehung eines Prostatakarzinoms dagegen begünstigt (Klocker, Culig et al. 1994).

Ein großes Problem liegt darin, dass das Karzinom meistens in frühen Stadien der Erkrankung keine klinisch erkennbaren Symptome zeigt, so dass das Karzinom erst relativ spät erkannt wird. Einer großen Bedeutung kommen deswegen heutzutage Vorsorgeuntersuchungen zu. Durch den verstärkten Einsatz von präventiven Untersuchungen, einschließlich der Bestimmung des prostataspezifischen Antigens (PSA) im Rahmen des Screenings, sind in den letzten Jahren deutliche Fortschritte in der Früherkennung erreicht worden. So hat sich die Zahl der jährlich für Deutschland geschätzten Neuerkrankungen beim Prostatakarzinom bei gleich bleibender Mortalität von 1996 bis 2004 fast verdoppelt (Batzler, Robert-Koch-Institut et al. 2008). Dabei wird aber eine zunehmende Zahl an gut differenzierten Tumoren aufgedeckt, die im Verlauf des Lebens eines Betroffenen nicht symptomatisch und behandlungsbedürftig werden. Die Anzahl unentdeckter Tumoren und damit die Prävalenz scheint dabei noch viel höher zu liegen. Dies zeigt sich darin, dass je nach Altersgruppe bei bis zu zwei Dritteln der Verstorbenen ohne vorangegangene klinische Symptomatik ein Prostatakarzinom gefunden wird. Dieser Anstieg korreliert mit dem Alter der Verstorbenen. Bei 60-70-Jährigen liegt dieser Anteil bei 40%, für 85-Jährige steigt dieser Anteil auf bis zu 85%. Gründe dafür sind, dass die meisten Tumoren klein und gut differenziert sind, in diesen Frühformen nur sehr langsam wachsen (vermutete Tumorverdopplungszeit 2-4 Jahre) und deshalb klinisch nicht in Erscheinung treten (Hautmann, Hulan et al. 2006). Da nicht klar ist, welche der früh erkannten Karzinome im weiteren Verlauf letztlich symptomatisch werden, lässt sich für den einzelnen Betroffenen nicht sagen, ob es sich um eine Überdiagnose handelt oder ob eine Therapie hilfreich wäre. Bei einer europaweiten Studie von 2003 zeigte sich, dass mit einer Überdiagnoserate von etwa 50% zu rechnen wäre, wenn man mittels PSA-Screening alle Männer zwischen dem 55. und 67. Lebensjahr auf das Vorliegen eines Prostatakarzinoms untersuchen würde (Draisma, Boer et al. 2003).

1.3. Klinische Einteilung des Prostatakarzinoms

1.3.1. TNM-Klassifikation

Um die Prognose für die Prostatakarzinompatienten abzuschätzen hat sich die **TNM-Klassifikation** durchgesetzt (siehe Abbildung 3). In ihr wird die lokale Tumorausbreitung (**T-Kategorie**) durch rektal-digitale Untersuchung, den transrektalen Ultraschall und Bestimmung des PSA-Wertes ermittelt. Die Kernspintomographie, speziell mit transrektaler Spule, kann die Sensitivität des T-Stagings verbessern (Hautmann, Huland et al. 2006). Um die Lymphknotenmetastasen des Prostatakarzinoms (**N-Kategorie**) zu bestimmen, dient die regionäre Lymphadenektomie. Konventionelle Computertomographien und Kernspintomographien können nach wie vor keine zuverlässigen Informationen liefern, da nur erheblich vergrößerte Lymphknoten über 1,5cm als metastasenverdächtig eingestuft werden (Hautmann, Huland et al. 2006). Die Fernmetastasen (**M-Kategorie**) können durch eine Röntgen-Thorax Aufnahme und/oder durch eine Skelettszintigraphie nachgewiesen werden, da häufig beim Prostatakarzinom die ersten Fernmetastasen in den regionalen Knochen (Wirbelsäule, Beckenknochen, Oberschenkelknochen) auftreten (Sökeland, Schulze et al. 2008). Auf der Basis der erhobenen klinischen Untersuchungen (digital-rektale Untersuchung, PSA-Wert, bildgebende Diagnostik) wird eine klinische Stadieneinteilung (cTNM) von einer pathologischen Klassifizierung (pTNM) anhand des endgültigen histologischen Befundes des Prostatektomiepräparates unterschieden.

<p>T Lokale Ausdehnung des Primärtumors</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ Tx Primärtumor kann nicht beurteilt werden ■ T0 Kein Hinweis auf Primärtumor ■ T1 Klinisch inapparenter Primärtumor, nicht palpabel oder durch bildgebende Verfahren nachweisbar <ul style="list-style-type: none"> – T1a Inzidenteller Tumor: histologisch in 5% des Resektionsgewebes – T1b Inzidenteller Tumor: histologisch in 5% des Resektionsgewebes – T1c Tumor identifiziert durch Nadelbiopsie bei erhöhtem PSA-Wert ■ T2 Primärtumor beschränkt auf Prostata <ul style="list-style-type: none"> – T2a Tumor befällt ≤50% eines Seitenlappens – T2b Tumor befällt >50% eines Seitenlappens – T2c Tumor befällt beide Seitenlappen ■ T3 Primärtumor überschreitet die Prostatakapsel <ul style="list-style-type: none"> – T3a Extrakapsulärer Tumor – T3b Tumor infiltriert die Samenblase(n) ■ T4 Primärtumor ist fixiert oder infiltriert benachbarte Strukturen 	<p>N Regionale Lymphknoten</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ NX Regionale Lymphknoten können nicht beurteilt werden ■ N0 Kein Anhalt für regionale Lymphknotenmetastasen ■ N1 Regionärer Lymphknotenbefall
	<p>M Fernmetastasen</p> <ul style="list-style-type: none"> ■ MX Fernmetastasen können nicht beurteilt werden ■ M0 Kein Anhalt für Fernmetastasen ■ M1 Vorliegen von Fernmetastasen <ul style="list-style-type: none"> – M1a Extraregionärer Lymphknotenbefall – M1b Knochenmetastasen – M1c Andere Manifestationen

Abbildung 3: Klassifikation des Prostatakarzinoms nach der TNM-Klassifikation nach der UICC von 2002 (6. Auflage) (Abbildung aus Rübben 2007)

1.3.2. Gleason-Grading

Die histologische Einteilung erfolgt nach dem Grading nach Gleason, das sich ausschließlich auf das Drüsenmuster ohne Berücksichtigung zytologischer Details stützt. Das Gleason Grading wurde 1964 von der Forschergruppe um Dr. Donald F. Gleason entwickelt und trägt seitdem seinen Namen (Gleason und Mellinger 1974). Beim Gleason-Grading werden fünf Wachstumsmuster von Gleason-Grad 1 (sehr gut differenziert) bis Gleason-Grad 5 (sehr niedrig differenziert) unterschieden (siehe Abbildung 4) (Humphrey 2004).

Je mehr das Karzinom dabei an Größe gewinnt, desto heterogener wird oft sein Erscheinungsbild (pluriformes Karzinom). Dies wird im Gleason Grading berücksichtigt, indem aus den Befunden des bezüglich der Fläche größten (primären) und zweitgrößten (sekundären) Wachstumsmusters ein Score gebildet wird (z. B. 4+3=7) (Humphrey 2004).

Das Gleason Grading ist international am weitesten verbreitet, da es eine hohe prognostische Aussagekraft hat. Ansteigende Gleason-Summenwerte korrelieren mit höheren Tumorstadien und einer schlechteren Prognose. Problematisch beim Gleason Grading ist dabei die schlechte interindividuelle Reproduzierbarkeit zwischen zwei verschiedenen Untersuchern von ungefähr 36% (Svanholm und Mygind 1985). Daher kommt es häufig zu Über- oder Unterbewertungen, so dass 20–35% aller Patienten einen höheren Gleason-Grad in der endgültigen Histologie als in der Biopsie aufweisen (Rübber 2007).

Trotz dieser Punkte zählt der Gleason-Grad neben der TNM-Klassifikation und der Beurteilung der Resektionsfläche zu den drei wichtigsten, statistisch unabhängigen Kriterien (Böcker, Heitz et al. 2008).

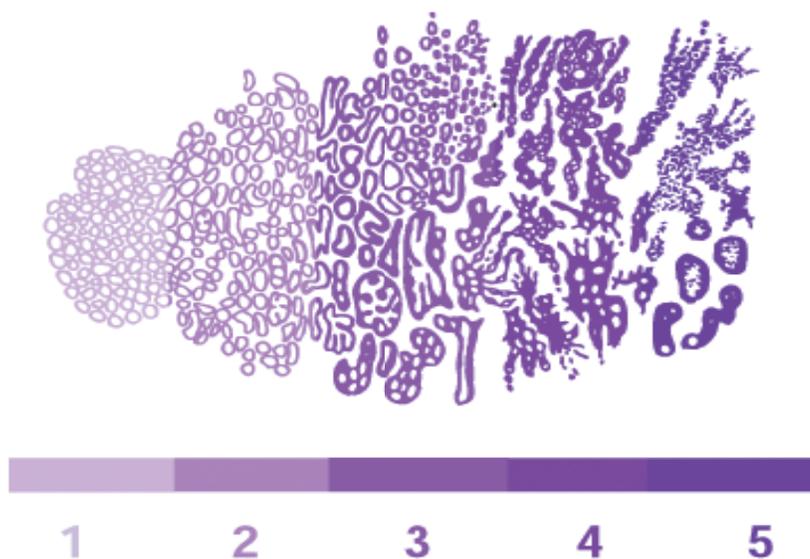


Abbildung 4: Schematische Darstellung des Gleason Grading Systems für Prostatakarzinome (Abbildung aus UPMC)

1.3.3. Diagnostik des Prostatakarzinoms

Um die Diagnose eines Prostatakarzinoms zu stellen, gibt es mehrere Untersuchungsmethoden, wobei die digitale rektale Untersuchung und die Bestimmung des PSA-Wertes zu den beiden Wichtigsten gehören. Einen Überblick zur Prostatakarzinomdiagnostik aus den Leitlinien der deutschen Urologen gibt Abbildung 5.

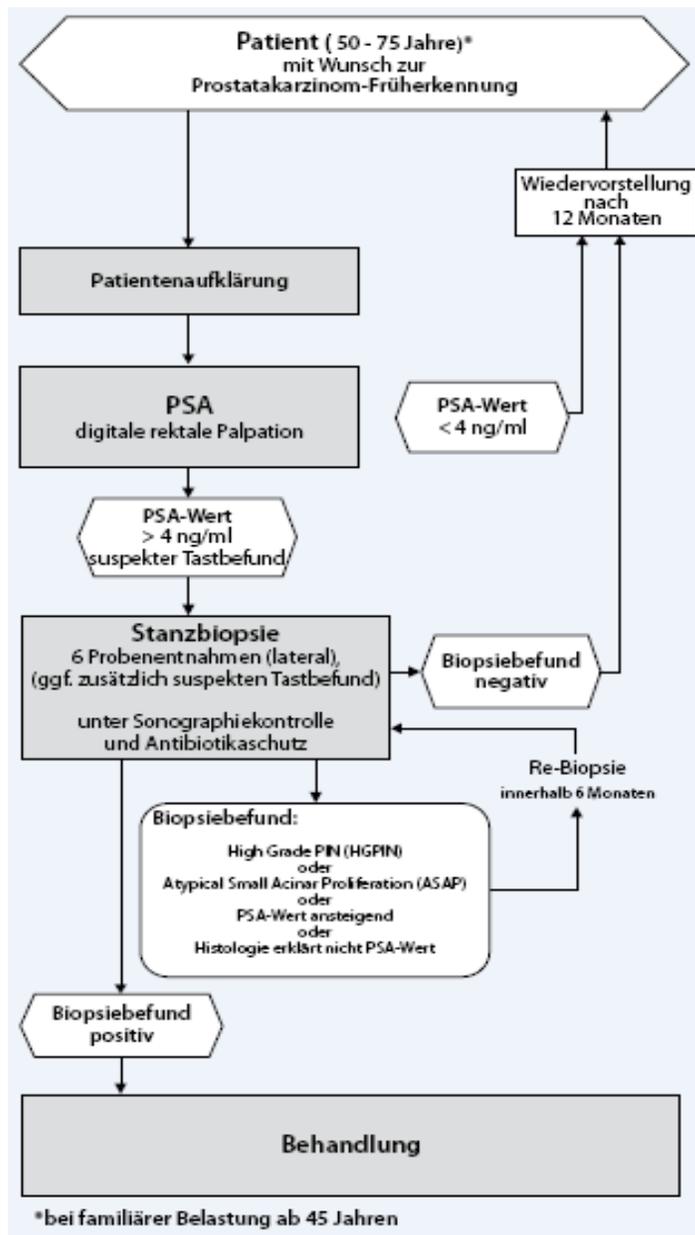


Abbildung 5: Leitlinien der deutschen Urologen zur Prostatakarzinomdiagnostik (Abbildung aus Fachgesellschaften 2002)

Die klinische Symptomatik hängt von dem Stadium des Prostatakarzinoms ab und kann sich von völlig symptomfrei über Obstruktionssymptome bis zu Skelettbeschwerden sehr unterschiedlich ausprägen (Hautmann, Huland et al. 2006).

Bei der rektalen Tastuntersuchung wird die Begrenzung, Konsistenz und Oberflächenbeschaffenheit beurteilt (Gasser, Rutishauser et al. 2006). So kann in vielen Fällen schon eine Verdachtsdiagnose gestellt werden. Dabei lassen sich besonders Karzinome der hinteren Prostataregion (periphere Zone) gut ertasten, wogegen sich welche im vorderen Bereich (Transitionalzone) häufig einer Tastbarkeit entziehen (Krahn, Mahoney et al. 1994). Es hat sich gezeigt, dass nur in ca. 48% der Fälle das palpierende Stadium mit dem klinischen Stadium übereinstimmt. Die Treffsicherheit bei alleiniger Anwendung der digitalen rektalen Untersuchung liegt bei 57,7% und ist damit als einzige Untersuchungsmethode prognostisch nicht relevant (O'Dowd, Veltri et al. 1997; Graefen, Hammerer et al. 2000).

Durch die transrektale Sonographie besteht die Möglichkeit die Prostata in Längs- und Querrichtung untersuchen zu können und die genaue Größe zu bestimmen. Aufgrund der sehr guten Darstellung der neuen Ultraschallgeräte werden Prostatastanziobiopsien heute vorwiegend ultraschallgesteuert von transrektal durchgeführt. Dabei werden 6 bis 12 Stanzen entnommen und die Malignität nach dem Gleason-Grad angegeben. Durch die Anwendung der transrektalen Sonographie und der ultraschallgesteuerten transrektalen Stanzung lässt sich die Aufdeckungsrate des Prostatakarzinoms bei Männern zwischen 55 und 70 Jahren von 0,8-1,7% bei alleiniger rektaler Untersuchung auf ca. 2,5% steigern (Hautmann, Huland et al. 2006).

Der PSA-Wert ist heutzutage der mit Abstand wichtigste Parameter für die Früherkennung des Prostatakarzinoms, für die Beurteilung von dessen Aktivität und der Erkennung eines

Rezidives nach der Behandlung (Gasser, Rutishauser et al. 2006). So konnte gezeigt werden, dass unter 7 präoperativ erfassten Faktoren der PSA-Wert neben der Sextanten-Biopsie der einzige Parameter mit prognostischer Bedeutung ist (Graefen, Hammerer et al. 2000).

Bei dem prostataspezifischen Antigen (PSA) handelt es sich um ein Glykoprotein, welches ausschließlich im Prostatagewebe gebildet wird. Es ist für die Verflüssigung des Ejakulats zuständig und trägt zu einer gesteigerten Motilität der Spermien bei. Jede Zerstörung der normalen Prostatastruktur im Falle eines Tumorleidens, einer Entzündung (Prostatitis), einer BPH, einem Harnverhalt oder auch ohne ersichtlichen Grund, führt zu einem Anstieg des PSA-Wertes (Fornara 2005). Als Grenzwert gilt ein Wert von 4 ng/ml, unter dem ca. 80–85% aller Männer liegen. 10–15% der Männer haben einen Wert zwischen 4 und 10 ng/ml und 2–5% der Männer haben einen Wert von über 10 ng/ml (Hautmann, Huland et al. 2006). Beim Vorliegen eines Karzinoms erhöht sich der PSA-Wert um den Faktor 10 mehr als eine entsprechende Gewebsmenge BPH. Aus diesem Grund wird der PSA-Wert zur Vorsorgeuntersuchung zusammen mit der digitalen rektalen Untersuchung des Prostatakarzinoms ab dem 45. Lebensjahr eingesetzt (siehe Abbildung 6).

PSA [ng/ml]	Karzinomfindungsrate [%]
0,0–0,9	0,2
1,0–1,9	1,3
2,0–2,9	2,2
3,0–3,9	6,3
4,0–9,9	21,7
>10,0	52,1

Abbildung 6: Karzinomfindungsrate in Abhängigkeit vom PSA-Wert (Abbildung aus Schroder, van der Crujisen-Koeter et al. 2000 und Rübben 2007)

So haben 2% aller Männer über 50 unabhängig vom Rektalbefund eine deutliche PSA-Erhöpfung über 10 ng/ml. Durch die Kombination von rektaler Untersuchung und PSA-Wert findet man bei bis zu 5% der untersuchten Männer über 50 Jahren ein Prostatakarzinom, welches zu 70% auf die Prostata begrenzt ist (Hautmann, Huland et al. 2006).

Bei Überschreiten des Schwellenwertes von 4,0 ng/ml wird eine weitere Abklärung mit einer Biopsie unter sonographischer Kontrolle und Antibiotikaschutz durchgeführt. Dabei werden abhängig von der Größe der Prostata mindestens 6 Biopsien zur histologischen Untersuchung gewonnen. Nur über den Nachweis von Karzinomzellen ist die eindeutige Diagnose eines Prostatakarzinoms möglich (Luboldt und Rubben 2000; Fornara 2005).

Besonders kritisch ist, dass bei 22% der entdeckten Prostatakarzinome ein normaler PSA-Wert gefunden wird (Catalona, Smith et al. 1997). Neben physiologischen Einflüssen wie Alter und ethnischer Abstammung führen einige therapeutische und diagnostische Maßnahmen (z.B. Prostatabiopsien, Transurethrale Prostatektomien) sowie bestimmte Erkrankungen (Prostatitis, akute Leberfunktionsstörungen) zu teilweise erheblichen Veränderungen des PSA-Wertes (Fornara P et al 2004). Diese unzureichende Spezifität, aufgrund von großen morphologischen Variationen und dem flächenhaftem Einsatz, führte zur Aufdeckung einer zunehmenden Zahl an vermeintlich insignifikanten Tumoren, die im Verlauf des Lebens eines Betroffenen möglicherweise nicht symptomatisch und auch nicht behandlungsbedürftig würden, aber über eine PSA-Wert-Erhöpfung erkannt werden (Rübben 2007; Schlomm, Sultmann et al. 2008). Auf der anderen Seite stößt die PSA Untersuchung besonders bei kleinen Tumoren an die diagnostische Grenze, da diese häufig normale PSA-Werte aufweisen. Auch ist eine eindeutige Interpretation der PSA-Werterhöhung nur im Vergleich mit einem Referenzwert im gesunden Zustand möglich.

In aktuellen Studien wird deswegen versucht die Anstiegsgeschwindigkeit des individuellen PSA-Wertes (PSA Dynamik) zu berücksichtigen. So konnten Carter und Potter zeigen, dass 95% aller Männer ohne Prostatakarzinom einen Anstieg von weniger als 0,75 ng/ml pro Jahr aufweisen. Bei 70% der Patienten mit Prostatakarzinom wurde dagegen eine Anstiegsgeschwindigkeit von mehr als 0,75 ng/ml pro Jahr festgestellt (Potter und Carter 2000).

Der PSA-Wert ist heute ein entscheidendes diagnostisches Mittel im Rahmen der Tumornachsorge nach einer Strahlentherapie oder einer operativen Behandlung. Des Weiteren hat der PSA-Wert nach wie vor einen hohen Stellenwert als Verlaufsparemeter bei einer antiandrogenen Therapie des Prostatakarzinoms (Geary und Stamey 1996; Jager, Rubben et al. 2007). Die aktuellen Forschungen gehen deshalb in die Richtung neue Tumormarker zu finden, die eine höhere Spezifität als der PSA-Wert aufweisen (Kollermann, Schlomm et al. 2008).

Die zur Zeit bestmögliche Früherkennung sowie Prognoseeinschätzung eines neu diagnostizierten Prostatakarzinoms bietet eine Kombination präoperativer Parameter, bestehend aus digital-rektaler Untersuchung, bildgebenden Verfahren, Bestimmung des PSA-Wertes und vor allem durch quantitative Analyse der systematischen Sextantenbiopsie (Rübben 2007).

1.4. Differenzialtherapie des Prostatakarzinoms

1.4.1. Therapie des lokal begrenzten Prostatakarzinoms

Die Therapie des Prostatakarzinoms ist abhängig davon, wie weit fortgeschritten das Karzinom ist und in welchem Stadium die Krankheit diagnostiziert wurde. Entscheidend ist die Früherkennung, da eine kurative Behandlung nur im organbegrenzten Stadium möglich ist (Walsh, Partin et al. 1994).

Beim lokalisierten Prostatakarzinom (T1b, T2, T3, N0, M0) ist die radikale nervschonende Prostatektomie das Verfahren der Wahl (Damber und Khatami 2005; Hautmann, Huland et al. 2006). Dabei wird die gesamte Prostata mit der Samenblase und der darüberliegenden Denonvillierschen Faszie entfernt. Durch diesen Eingriff sind über 90% der pT2-Tumoren heilbar (Huland 2000). Der Eingriff kann diverse Komplikationen wie Impotenz (bis zu 10%), Harninkontinenz (5%) und Urethrastriktur (5%) zur Folge haben. Deswegen ist es eine wichtige Voraussetzung, dass Patienten, die radikal prostatektomiert werden, eine weitere mittlere Lebensdauer von mehr als 10 Jahren haben (Hautmann, Huland et al. 2006). Um diese Patienten zu identifizieren wurden viele Studien durchgeführt, die alle ähnliche Ergebnisse aufwiesen (Huland 2000):

- T1/T2 Tumoren sind langsam wachsende Tumoren mit einer relativ geringen tumorbedingten Mortalität nach fünf bis zehn Jahren.
- Die tumorbedingte Mortalitätsrate korreliert erheblich mit dem Tumorgrad bei der Erstdiagnose.
- Der Anteil der Männer, die am Prostatakarzinom sterben, ist umso höher, je jünger der Patient bei der Erstdiagnose ist (Huland 2000).

Von einem Tumorrezidiv spricht man, wenn ein PSA-Wert von 0,1 ng/ml nachweisbar ist. Dabei sind nach radikaler Prostatektomie 65% der Patienten mit T1/T2-Tumoren nach fünf bis zehn Jahren PSA frei (Huland 2000).

Als alternative Behandlungsmethode bei operationsunwilligen oder nicht operationsfähigen Patienten bietet sich die Strahlenbehandlung entweder in Form der Hochvolt-Radiotherapie oder der Brachytherapie an (Jager, Rubben et al. 2007). Nach dreidimensionaler Planung wird die Strahlentherapie als Mehrfelderbestrahlung mit einer Gesamtdosis zwischen 62 Gy und 74 Gy durchgeführt. Wenn eine Strahlendosis von mehr als 72 Gy appliziert wurde, konnte gezeigt werden, dass die Ergebnisse für den Endpunkt biochemisch rezidiv freies Überleben nach 8 Jahren mit denen der Operation vergleichbar sind (Martinez, Gonzalez et al. 2000). In der alternativ durchgeführten Brachytherapie werden ultraschallgesteuert radioaktive Jod- bzw. radioaktive Palladium-Seeds direkt in die Prostata gebracht, die dort verbleiben (Hautmann, Huland et al. 2006).

1.4.2. Therapie des lokal fortgeschrittenen und metastasierten Prostatakarzinoms

Wenn das Karzinom bereits fortgeschritten (T3, T4, N1 bis N4, M1) ist, kann der Krebs durch eine Operation nicht mehr vollständig entfernt werden. Daher wird eine medikamentöse Therapie in Form von Antiandrogenen durchgeführt. Folgende vier Möglichkeiten werden dabei unterschieden:

- die bilaterale Orchiektomie (operative Kastration),
- die Suppression des Luteinisierungshormons (medikamentöse Kastration) durch LHRH-Analoga oder LHRH-Antagonisten,
- die Gabe von Östrogenen,
- die Gabe von Androgensynthesehemmern (Jager, Rubben et al. 2007).

Ungefähr 80% der Tumorzellen sprechen auf die Hormontherapie an, was zu einer Remission über einen Zeitraum von 2-4 Jahren führen kann. Auf diese Weise überleben ca. 10% der Patienten weitere 10 Jahre (Hautmann, Huland et al. 2006).

1.4.3. Therapie des hormonrefraktären Prostatakarzinoms

Von einem hormonrefraktären Prostatakarzinom spricht man, wenn unter Hormontherapie der Serum-Testosteronspiegel im Kastrationsniveau liegt und ein dreifacher Anstieg des PSA-Wertes gemessen wird oder sich ein klinischer Progress zeigt (Miller, Borgermann et al. 2006). Immer noch nicht geklärt ist, wie es zum Übergang des Tumors vom hormonempfindlichen in einen hormonresistenten Zustand kommt. Neuere Studien gehen davon aus, dass dies durch eine veränderte Struktur oder Expression des Androgenrezeptors auf molekularer Ebene passiert (Mitsiades und Koutsilieris 2001).

Die therapeutischen Optionen bei der Behandlung des hormonrefraktären Prostatakarzinoms sind begrenzt. Im Vordergrund der Behandlung steht die Lebensqualität der Patienten, die vornehmlich durch tumorbedingte Symptome wie Knochenschmerzen, Lymphödeme, Harnstauungsniere oder eine subvesikale Obstruktion eingeschränkt ist. Aus diesem Grund steht ein symptomorientiertes Vorgehen wie die palliative transurethrale Resektion der Prostata, die einseitige Harnableitung bei Harnstauungsniere und die Schmerztherapie im Mittelpunkt der Anstrengungen (Jager, Rubben et al. 2007).

Sekundäre hormonelle Therapieoptionen sollten angewandt werden solange ein hormonrefraktäres Prostatakarzinom noch hormonsensibel ist. Ein weiterer integraler Bestandteil der Therapie ist eine suffiziente Schmerztherapie, welche bei älteren Patienten statt einer belastenden Chemotherapie als alleinige Therapieoption erwogen werden muss (Graefen, Hammerer et al. 2000).

Lange Zeit galt das hormonrefraktäre Prostatakarzinom als chemoresistenter Tumor. Durch die Einführung der Taxane konnten Überlebensvorteile bei besserer Schmerzreduktion und Lebensqualität erreicht werden. Unter den chemotherapeutischen Konzepten ist Docetaxel die Standardtherapie beim hormonrefraktären Prostatakarzinom, wobei berücksichtigt werden muss, dass auch die Docetaxeltherapie von ausschließlich palliativem Charakter ist (Miller, Borgermann et al. 2006).

Wenn Knochenmetastasen und skelettbedingte Komplikationen aufgetreten sind, ist die Radiotherapie vielfach Methode der Wahl (Jager, Rubben et al. 2007).

1.5. Die Suche nach neuen diagnostischen Markern

Das gegenwärtige therapeutische Dilemma liegt darin, dass momentan kein zielgerichteter Marker vorhanden ist, der eine Separierung von therapiebedürftigen von nicht therapiebedürftigen Tumoren ermöglicht (Kollermann, Schlomm et al. 2008). Besonders die Entdeckung und Therapie kleinerer Tumoren gestaltet sich als schwierig, da diese anfangs noch keine PSA Veränderungen zeigen. Deshalb würden Patienten, die ein Prostatakarzinom entwickeln, vom PSA Wert aber nicht auffällig sind, besonders von neuen gezielten molekularen Markern profitieren (Ito, Kubota et al. 2001). Des Weiteren gibt es gegenwärtig keine Methode, mit der man die Aggressivität eines entdeckten Prostatakarzinoms vor Beginn einer Therapie abschätzen kann. Molekulare Marker können dabei helfen, für jeden Patienten eine individuelle Prognoseabschätzung zu erstellen.

Obwohl einige Studien vielversprechende molekulare Marker vorgestellt haben, konnte sich bis heute keiner klinisch durchsetzen. Gründe dafür sind zu geringe Stichprobengrößen, wobei die meisten Studien unter 100 Patienten untersucht haben, sowie fehlende Studien mit klinischen Langzeitbeobachtungsdaten (Follow-up-Informationen). Außerdem besteht das

Patientenkollektiv überwiegend aus hoch und mäßig differenzierten Tumoren. Nur sehr wenige Studien beschäftigen sich mit gering differenzierten Tumoren und noch weniger mit hormonrefraktären Tumoren (siehe FISH- und CGH-Literaturübersicht in Tabelle 4 und 5). Unterschiedliche Ergebnisse in den einzelnen Gruppen sind auf verschiedene Untersuchungsmethoden zurückzuführen. Es fehlen standardisierte Vorgehensweisen und objektive Auswertungskriterien (Schlomm, Erbersdobler et al. 2007; Sun, Liu et al. 2007).

1.6. Tumorsuppressorgene und Onkogene

Der Schlüssel zur Behandlung von Tumoren liegt in der Entzifferung der genetischen Veränderungen, die zur Entartung der Zellen beitragen. Im Körper eines Lebewesens entstehen pro Sekunde mehrere Millionen Zellen. Da dies nicht einfach willkürlich passieren darf, gibt es Gene, die den Zellzyklus und die Zelldifferenzierung regulieren. Bestimmte Genabschnitte kodieren dabei für Proteine, die für das Zellwachstum zuständig sind. Auf der einen Seite befinden sich die sog. Onkogene, die das Zellwachstum fördern. Eine Überexpression von Onkogenen führt zu einem ungehemmten Wachstum der Zelle, was dem Tumor Wachstumsvorteile ermöglicht.

Auf der anderen Seite stehen die Tumorsuppressorgene, die in der Lage sind das Wachstum in Zellen zu bremsen oder die Apoptose einzuleiten. Es ist deshalb für einen Tumor von Vorteil, wenn diese Genabschnitte verloren gehen. Das bekannteste Tumorsuppressorgen kodiert für p53, welches bei DNA-Schädigungen den Übergang in die S-Phase des Zellzyklus hemmt und die Apoptose stimuliert (Loeffler 2003). Es konnte gezeigt werden, dass p53 bei über der Hälfte aller menschlichen Tumoren deletiert oder zur Funktionsunfähigkeit mutiert ist (Harris und Hollstein 1993).

Eine einzelne Mutation reicht für die Entstehung eines Tumors nicht aus. Erst die stetige Ansammlung chromosomaler Veränderungen in Form von verloren gegangenen

Genabschnitten (Deletionen) und Vervielfältigungen (Zugewinne) tragen zum Fortschreiten des Tumors bei (Albertson, Collins et al. 2003). Diese gesammelten genetischen Alterationen führen mehr und mehr zu Funktionsstörungen von Genen, die eine Schlüsselrolle in der Regulation vitaler Zellfunktionen wie der Zellproliferation, Zelldifferenzierung, Angiogenese, Zell-Zell bzw. Zell-Stroma-Adhäsion, Apoptose, DNA-Reparatur bzw. Erhaltung der genetischen Stabilität haben (Sauter, Bubendorf et al. 1998).

Durch viele Studien in den letzten 20 Jahren wurde herausgefunden, dass der Abschnitt des langen Arms (8q) und besonders die Region 8q24 bei vielen Tumoren und darunter auch beim Prostatakarzinom vervielfältigt vorkommt (siehe FISH- und CGH-Literaturübersicht in Tabelle 4 und 5). Diese spezielle Region enthält unter anderem das c-MYC Onkogen (DePinho, Schreiber-Agus et al. 1991; Jenkins, Qian et al. 1997). Insgesamt ist die Rolle von c-MYC in der Karzinogenese aber noch sehr wenig erforscht und verstanden.

Eine andere Region auf dem kurzen Arm (8p) des 8. Chromosoms wird in Tumorzellen im Gegensatz zu normalen Zellen deletiert. Diese Region scheint also für eines oder mehrere Tumorsuppressorgene zu kodieren, durch deren Ausfall der Tumor einen Wachstumsvorteil hat. Eine aktuelle Metaanalyse zu genetischen Veränderungen im Prostatakarzinom konnte zeigen, dass 8p Deletionen und 8q Zugewinne die häufigsten chromosomalen Veränderungen darstellen (Sun, Liu et al. 2007).

1.7. Das Onkogen c-MYC

Das Onkogen c-MYC reguliert direkt oder indirekt die Expression von etwa 15% aller menschlichen Gene und ist maßgeblich an der Zellteilung, am Zellwachstum und an der Apoptose beteiligt (Gearhart, Pashos et al. 2007). Des Weiteren wurde c-MYC eine Bedeutung bei der Regulation der Telomerase-Aktivität, der Zellbeweglichkeit, des Zellstoffwechsels und der Gefäßneubildung (Vaskularisation) nachgewiesen. Es stellt somit einen Knotenpunkt für die Vermittlung mitogener Signaltransduktionswege (wie z.B. SRC-Kinase, PDGF-Rezeptor, EGF-Rezeptor) dar (Dang 1999; Hermeking 2005; Vita und Henriksson 2006; Gearhart, Pashos et al. 2007).

Aufgrund dieser vielfältigen Aufgaben wird das c-MYC Onkogen bei der Hälfte aller Krebsarten durch Mutationen übermäßig gebildet und trägt wesentlich zur Tumorprogression bei (siehe Abbildung 7). c-MYC stellt deswegen ein attraktives therapeutisches Zielgen in der Behandlung von Tumoren dar (Hermeking 2003; Gearhart, Pashos et al. 2007; Jung und Hermeking 2009).

Das Onkogen c-MYC hat eine Länge von 439 (p64) bzw. 454 (p67) Aminosäuren, eine Masse von 48 kDA und liegt auf dem Genlocus 8q24.12-q24.13. Ursprünglich wurde c-MYC als das virale Onkogen (v-MYC) des MC29 Stammes des „Avianleukemia Virus (ALV)“ identifiziert. Dieses Retrovirus induziert neben Karzinomen und Sarkomen die Myelocytomatose in Vögeln, von der das Gen seinen Namen trägt (Sheiness, Fanshier et al. 1978). Zur MYC-Genfamilie, die aufgrund ihres gemeinsamen Ursprungs eine ähnliche Struktur aufweisen, gehören neben c-MYC (z.B. Translokation beim Burkitt-Lymphom) noch n-MYC (z.B. Amplifikation im Neuroblastom) und l-MYC (z.B. Amplifikation in

Lungenkarzinomen) (Hermeking 2003; Gearhart, Pashos et al. 2007; Dorkeld: Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology).

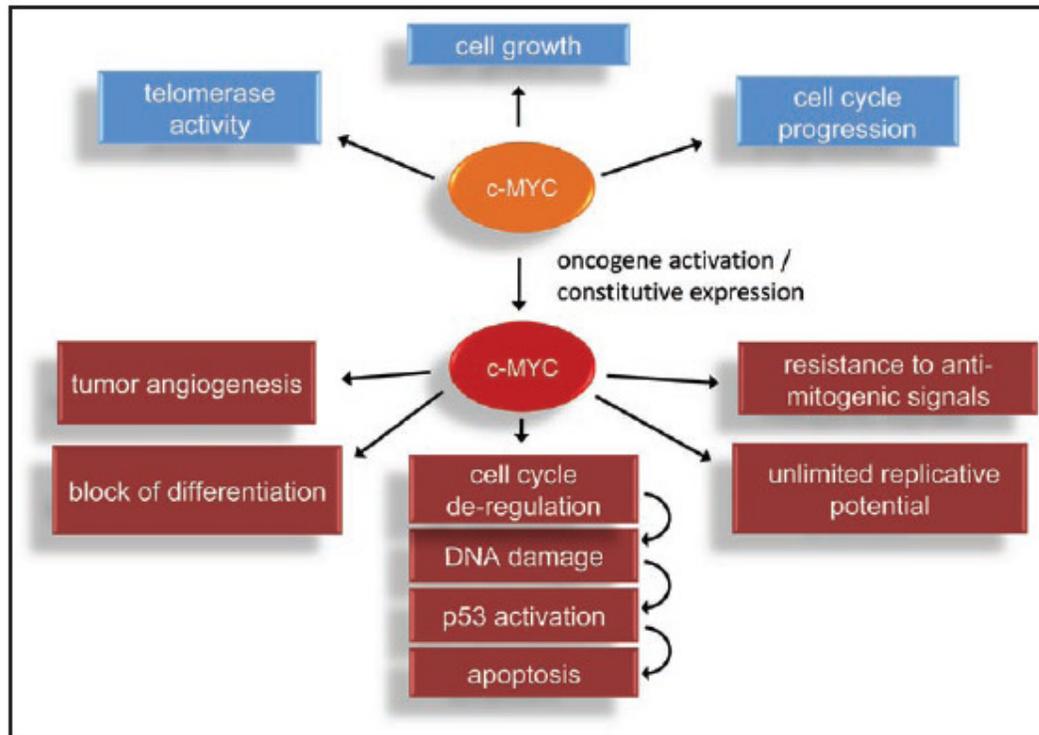


Abbildung 7: Das Onkogen c-MYC in normalen (orange) und genetisch veränderten Zellen (rot). In normalen Zellen ist c-MYC hochreguliert und an vielfältigen Aufgaben in der Zelle beteiligt (blaue Kästchen). Im Rahmen der Tumorentstehung kommt es, hervorgerufen durch Genmutationen, zu einer vermehrten Aktivierung. So trägt c-MYC zur Ausprägung typischer Eigenschaften einer Tumorzelle bei (rote Kästchen) (Abbildung aus Jung und Hermeking 2009).

Das Onkogen c-MYC kodiert für ein nukleäres Phosphoprotein, welches der Klasse der Helix-Loop-Helix-Leucin-Zipper Transkriptionsfaktoren angehört (Dorkeld: Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology). Dieses bindet spezifisch an die sogenannte E-box mit der DNA-Sequenz CACGTG, welche sich in der Promotor-Region c-MYC regulierter Gene befindet. Insgesamt wurden 216 Gene gefunden, die durch c-MYC direkt induziert, und 260, die durch c-MYC direkt unterdrückt werden (Menssen 2003).

Neben den genannten Aufgaben spielt besonders die Beeinflussung des Überganges von der G1- in die S-Phase des Zellzyklus eine besondere Rolle, da dieser ein kritischer Punkt in der

Tumorentstehung darstellt (Coller, Grandori et al. 2000). Dieser Übergang wird durch einen sog. Restriktionspunkt kontrolliert. In vielen Tumorzellen ist der G1-S-Restriktionspunkt mutiert und die Tumorzelle ist so in der Lage die DNA-Synthese auch in Abwesenheit von Wachstumsfaktoren und unter limitierenden Bedingungen zu durchlaufen. c-MYC ist alleine in der Lage diesen G1-S-Restriktionspunkt zu überwinden und so die S-Phase des Zellzyklus zu induzieren. Zudem unterdrückt das c-MYC Protein antiproliferative Gene wie z.B. den CDK-Inhibitor p21. Die therapeutische Hoffnung besteht darin, die Expression der c-MYC Proteine zu verhindern und damit das Tumorwachstum zu stoppen oder sogar den Tumor zu verkleinern (Eilers, Schirm et al. 1991; Hermeking 2005).

c-MYC ist eines der wenigen Gene dessen Aktivierung für die Immortalisierung primärer Zellen ausreichend ist. Die sogenannte Immortalisierung ist letztlich eine Aufhebung der in normalen Zellen vorhandenen Limitierung der Proliferationskapazität auf etwa 50 Zellteilungen (sog. Hayflick-Limit) und stellt ein Charakteristikum aller Tumorzellen dar. Wie c-MYC dies vermittelt ist nur zum Teil verstanden (Hermeking 2005).

1.8. Das Tumorsuppressorgen LPL

Das Gen LPL, welches für die Lipoproteinlipase kodiert, befindet sich auf der Chromosomregion 8p22 und gehört zu den am häufigsten deletierten Regionen beim Prostatakarzinom (Sun, Liu et al. 2007; Kim, Cheng et al. 2009).

Bei LPL handelt es sich um ein Schlüsselenzym für den Lipidtransport und die Lipidhomöostase. Die Hauptsyntheseorte sind vor allem die Kompartimente mit erhöhtem Energieverbrauch, wie Fettgewebe und Muskelgewebe, LPL kommt aber auch in vielen menschlichen Organen vor (Merkel, Eckel et al. 2002). LPL Deletionen spielen deswegen bei

vielen anderen Organtumoren, wie z.B. Magentumoren und Kolonkarzinomen, eine wichtige Rolle in der Tumorgenese (Kim, Cheng et al. 2009).

Das LPL-Gen hat eine Größe von 30 kD und ist in 10 Exons und 9 Introns aufgeteilt (Deeb und Peng 1989; Wong und Schotz 2002). Die cDNA kodiert für ein 475 Aminosäuren großes Protein und für ein darin enthaltenes 27 Aminosäuren großes Signalpeptid. Der genetische Aufbau unterscheidet sich nur gering von dem Aufbau anderer Spezies, z.B. Maus, Ratte und Kuh (Merkel, Eckel et al. 2002).

Das Protein besteht aus zwei Domänen. Auf der größeren aminoterminalen und katalytischen Domäne befindet sich das aktive Zentrum, welches aus drei Aminosäuren (Ser132, Asp156, His 241) besteht und eine Bindungsstelle für den Cofaktor Apo CII besitzt (Merkel, Eckel et al. 2002; Wong und Schotz 2002).

Mit Hilfe der an die luminalen Seite von Kapillaren und Arterien gebundenen katalytischen Funktion hydrolysiert die LPL Triglyceride aus Chylomikronen und VLDL und stellt so vor allem den Geweben mit hohem Energieverbrauch freie Fettsäuren als Energiequelle zur Verfügung. Innerhalb des Zellplasmas baut sie Chylomikronen zu Chylomikronenremnants ab und initiiert die Konversion von VLDL zu LDL. Über einen anderen Mechanismus erhöht LPL die Konzentration an HDL (Goldberg 1996; Merkel, Eckel et al. 2002; Narita, Tsuchiya et al. 2004).

Das carboxyterminale Ende des Moleküls ist die Bindungsstelle für die verschiedenen Lipidproteinrezeptoren, wodurch LPL mit diesen die Bindung und zelluläre Aufnahme von Lipoproteinen verstärkt (Beisiegel 1995).

Die LPL ist somit das essentielle Enzym in der Metabolisierung von Lipidproteinen und hat damit eine entscheidende Bedeutung bei der Entstehung von Krankheiten wie der Hyperlipoproteinämie, Arteriosklerose, Alzheimer, Portale Hypertonie, Pankreatitis und

Hypertriglyceridämie (Merkel, Eckel et al. 2002; Rip, Nierman et al. 2006; Kim, Cheng et al. 2009).

In tierischen und menschlichen Studien konnte gezeigt werden, dass eine fettreiche Ernährung mit der Wahrscheinlichkeit an Prostatakrebs zu erkranken und mit der Aggressivität des Tumors korreliert (Giovannucci, Rimm et al. 1993; Wang, Corr et al. 1995; Sonn, Aronson et al. 2005). In einer japanischen Studie in der 273 Männer mit Prostatakrebs und 205 Patienten mit BPH untersucht wurden, korreliert LPL mit einem erhöhten Risiko an Prostatakrebs zu erkranken, hervorgerufen durch eine vermehrte Bereitstellung freier Fettsäuren (Narita, Tsuchiya et al. 2004). Des Weiteren wird LPL eine antiinflammatorische Aktivität durch Unterdrückung des Tumornekrosefaktors kappa B und eine wichtige Funktion in der Regulierung des Apoptose-Signalweges zugeschrieben (Kim, Cheng et al. 2009). Auf diese Weise spielt LPL infolge der Inaktivierung durch chromosomale Deletion eine entscheidende Rolle in der Entstehung des Prostatakarzinoms (Kim, Cheng et al. 2009).

2. Material und Methoden:

2.1. Patientendaten und Untersuchungsmaterial

Das Untersuchungsmaterial dieser Arbeit wurde aus der Datenbank des Instituts für Pathologie des UKE herausgesucht. Die in die Untersuchung eingeschlossenen Primärtumoren und fortgeschrittene Tumoren wurden in kurativer Absicht in dem Zeitraum von 1992 bis 2008 in der urologischen Abteilung des UKE prostatektomiert. Die Lymphknoten- und Knochenmetastasen stammen ebenfalls aus diesem Zeitraum. Aus der Datenbank habe ich folgende Patientenfälle ermittelt und anschließend die passenden HE-Schnitte aus dem Archiv des Instituts für Pathologie des UKE herausgesucht (siehe Abbildung 8 und 9):

- 50 benigne Prostatahyperplasien (BPH)
- 49 prostatistische intraepitheliale Neoplasien (PIN)
- 51 Prostatektomie-Präparate im Stadium pT2b
- 55 Prostatektomie-Präparate im Stadium pT3b
- 99 fortgeschrittene Prostatakarzinome mit Gleason-Grad 8-9
- 55 Lymphknotenmetastasen des Prostatakarzinoms
- 50 Knochenmetastasen des Prostatakarzinoms



Abbildung 8: Ein großer Teil der herausgesuchten Schnitte und die dazugehörigen Paraffinblöcke für den Prostata Progressions TMA.



Abbildung 9: Zehn zufällig ausgewählte Schnitte und die dazugehörigen Paraffinblöcke, welche aus dem pathologischen Archiv herausgesucht wurden. Die Schnitte und Blöcke sind nach Gewebetyp sortiert und aufsteigend durchnummeriert (In diesem Bild Zahlen von 21 bis 30). In der Mitte sieht man die individuelle, anonyme Patientenidentifikationsnummer.

Der Datenbank habe ich weiterhin, soweit vorhanden, den pathologischen Gleason-Grad und das Alter der Patienten entnommen.

Je weiter fortgeschritten das Prostatakarzinom ist, desto häufiger finden sich Metastasen der regionären Lymphknoten (T1-Tumor bis 25%, T2-Tumor bis 35% und T3 Tumor bis zu 75%) (Sökeland, Schulze et al. 2008). Die verwendeten Lymphknotenmetastasen stammen vorwiegend von den Beckenlymphknoten aus der Fossa Obturatoria, welche die erste Station der lymphogenen Streuung darstellt (Hautmann, Huland et al. 2006). Einige wenige stammen aus dem nächsten Feld der Streuung, den präsakralen und inguinalen Lymphknoten.

Bei 85% der Patienten, die an einem Prostatakarzinom versterben, werden osteoblastische Metastasen des Skelettsystems gefunden (Hautmann, Huland et al. 2006). Die Knochenmetastasen können zu tiefen Rückenschmerzen, Ischiasbeschwerden oder ziehenden Schmerzen im Becken führen. Viele fallen aber erst durch pathologische Frakturen auf. Um diese von Frakturen durch Osteoporose differentialdiagnostisch zu unterscheiden, werden häufig Biopsien durchgeführt und der Knochen histologisch nachuntersucht. Degenerative Verschattungen auf konventionellen Röntgenbildern müssen häufig differentialdiagnostisch von degenerativen Veränderungen durch rheumatische Arthritis oder der Knochenkrankheit Osteodystrophia deformans (M. Paget) unterschieden werden. Auch hier werden zur Abklärung Knochenbiopsien durchgeführt.

Aus diesen Gründen konnten wir für diese Studie auf sehr viele in Paraffin eingebettete Knochenmetastasen aus der Wirbelsäule, dem Oberschenkelknochen und Beckenknochen zurückgreifen, von denen ich die 50 geeignetsten Fälle herausgesucht habe.

Bei den gefundenen 99 palliativ resezierten fortgeschrittenen Prostatakarzinomen mit Gleason-Grad 8-9 habe ich zusätzlich abgeklärt, ob es sich um ein hormonrefraktäres Prostatakarzinom handelt. Dazu habe ich die stationären Befunde und Verlaufsdaten der jeweiligen Patienten aus dem Institut für Urologie des UKE (Leitung Prof. Dr. Huland) herausgesucht. Zusätzlich habe ich klinische Verlaufsdaten der Patienten zum PSA-Wert von

niedergelassenen Urologen im Raum Hamburg und aus der urologischen Abteilung des Albertinen Krankenhauses (Leitung Prof. Dr. Diekmann) angefordert und anschließend ausgewertet. Das hormonrefraktäre Prostatakarzinom haben wir durch steigende PSA-Werte oder Progression des Tumors unter einer antiandrogenen Therapie definiert. Dabei mussten mindestens drei aufeinanderfolgende PSA-Werte ansteigen.

Durch die Recherche konnten 43 geeignete hormonrefraktäre Prostatakarzinome ermittelt werden. Die übrig gebliebenen 56 fortgeschrittenen Prostatakarzinome wurden ebenfalls in die Studie integriert.

Insgesamt habe ich von 409 Patientenfällen die passenden HE-Schnitte aus dem Archiv des pathologischen Instituts herausgesucht und unter dem Mikroskop histologisch nachuntersucht. Dazu wurden die Schnitte von einem Pathologen (OA Dr. J. Zustin) einzeln auf das Vorhandensein von Tumorgewebe begutachtet, die Tumorausdehnung mit einem Filzstift markiert und der Tumor so weit möglich nach dem Gleason-Grad klassifiziert. Die Größe des Tumors spielte insofern eine Rolle, da mindestens für die Entnahme von 3 mal 0,6 mm großen Stanzen genug Tumorgewebe vorhanden sein musste. Außerdem stellt ein entsprechend großer Tumor bei weiteren Fragestellungen genügend Material für weitere Forschungen zur Verfügung. Abbildung 10 und 11 zeigen zwei unterschiedlich differenzierte Gewebeproben aus dem hergestellten TMA.

Nachdem wir die Verwendbarkeit im Rahmen der Fragestellung dieser Arbeit überprüft haben, habe ich die passenden Paraffinblöcke aus dem Archiv des pathologischen Instituts herausgesucht. Zusätzlich wurden für den Prostata Progressions TMA als Vergleichsgewebe für den so genannten Standard-Control-Tissue je zwei Gewebeproben aus Normalgewebe von Herz, Niere, Lunge, Dickdarm, Endometrium, Lymphknoten, quergestreifter Muskulatur und von der Haut herausgesucht.

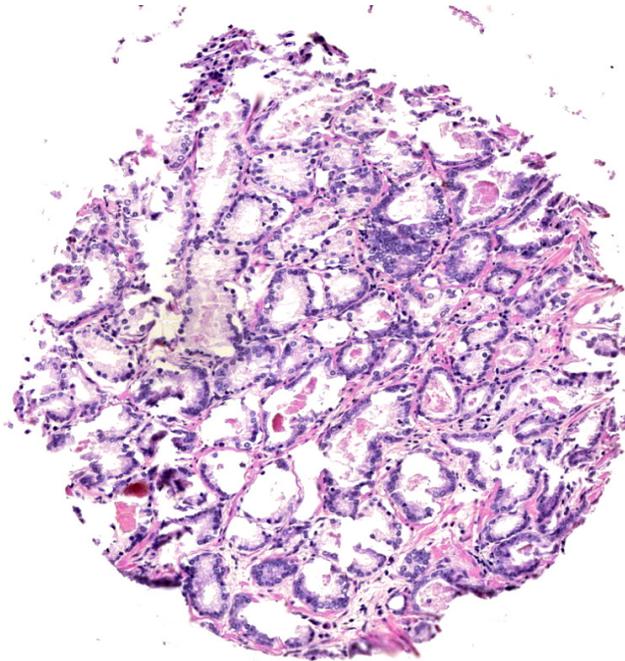


Abbildung 10:
Gleason-Grad 3+3

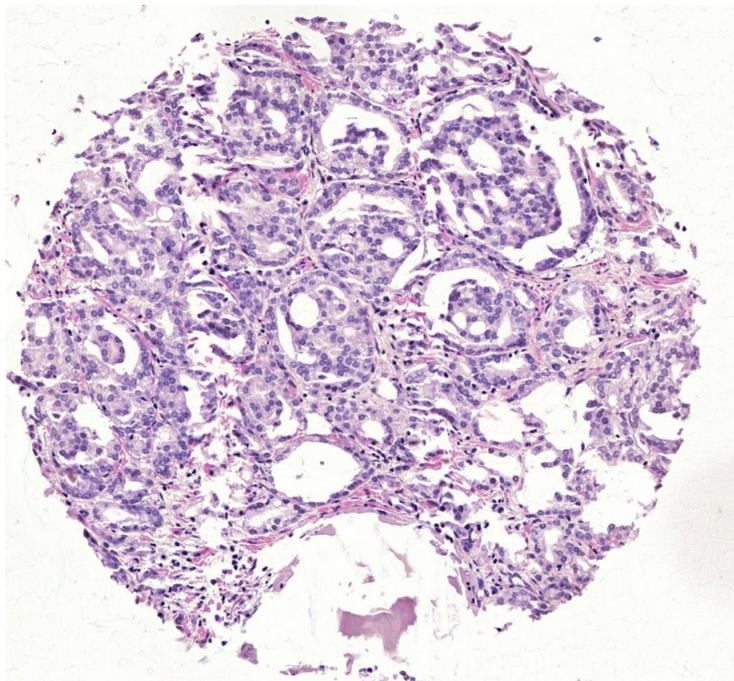


Abbildung 11:
Gleason-Grad 4+4

Für den Knochenmetastasen-TMA habe ich je fünf Gewebeproben von BPH und Knochennormalgewebe herausgesucht. Mit diesem Material wurde dann ein Prostata Progressions TMA und ein Knochenmetastasen TMA erstellt.

2.2. Der Segen der Tissue-Mikroarray-Technologie

Mit Hilfe der TMA-Technologie können bis zu 1000 Gewebeproben von verschiedenen Tumoren gleichzeitig, kostengünstig und schnell untersucht werden (siehe Abbildung 12) (Kononen, Bubendorf et al. 1998). In der sog. Hochdurchsatzforschung besteht die Möglichkeit viele tausend biologische Messgrößen simultan und standardisiert zu untersuchen (Moch, Kononen et al. 2001; Sauter, Simon et al. 2003).

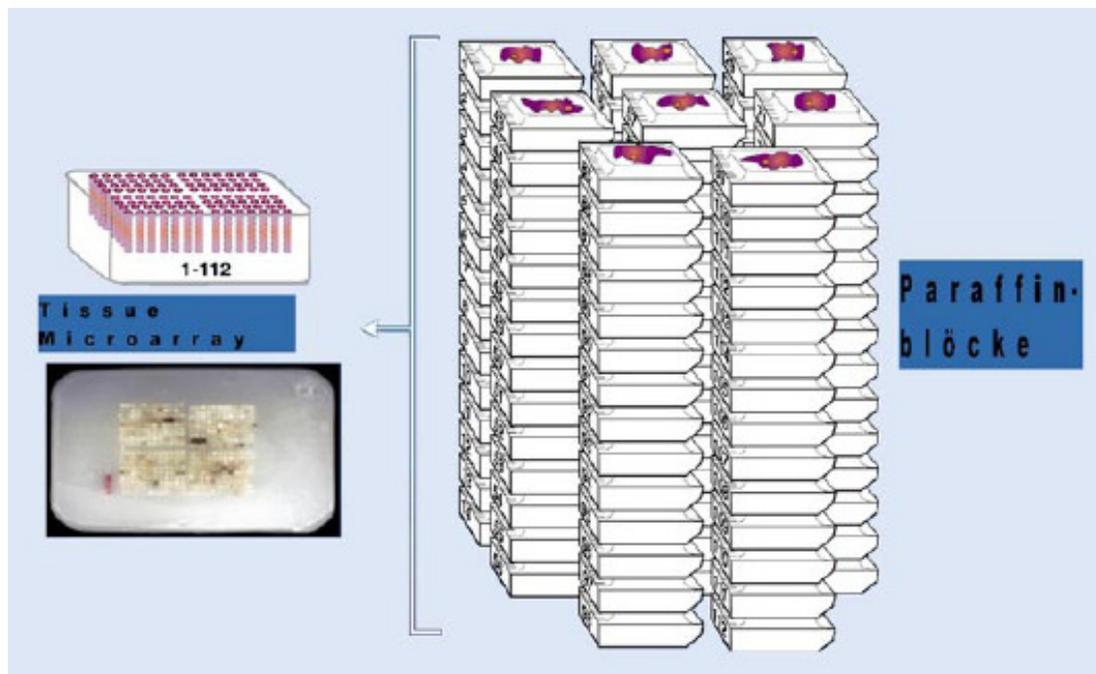


Abbildung 12: Bündelung von bis zu 1000 Gewebeproben auf einem einzigen Empfängerblock mit Hilfe der TMA-Technik (Abbildung aus Kuefer, Hofer et al. 2004).

Auf diese Weise ist es möglich zusätzliche neue molekulare Marker zu entdecken, die eine gezielte Behandlung von Tumoren oder eine Separierung therapiebedürftiger von nicht therapiebedürftigen Tumoren ermöglichen. Hohe Erwartungen stecken dabei in der Entdeckung einer neuen Generation von Krebsmedikamenten, welche zielgerichtet molekulare Veränderungen von Tumorzellen attackieren. Der große Vorteil bei diesen spezifischen Medikamenten besteht darin, dass nicht wie bei einer klassischen Chemotherapie

alle proliferierenden Zellen des Körpers angegriffen werden, sondern nur Zellen, welche die molekulare Zielläsion aufweisen. Der erste Schritt besteht darin, herauszufinden, ob die speziellen molekularen Veränderungen in den einzelnen Tumorentitäten vorkommen und wie häufig diese zu finden sind (Schlomm, Sultmann et al. 2008). Abbildung 13 zeigt schematisch den Weg von der aufwendigen Entschlüsselung des Genoms bis zur klinischen Anwendung des Medikaments an geeigneten Patientenkollektiven. In unserer Studie haben wir in unterschiedlich fortgeschrittenen Prostataentitäten den Abschnitt des langen Arms (8q) und des kurzen Arms (8p) auf Zugewinne bzw. Deletionen untersucht. Es besteht die Hoffnung, dass die beiden Regionen therapeutisch nutzbare Genveränderungen beinhalten.

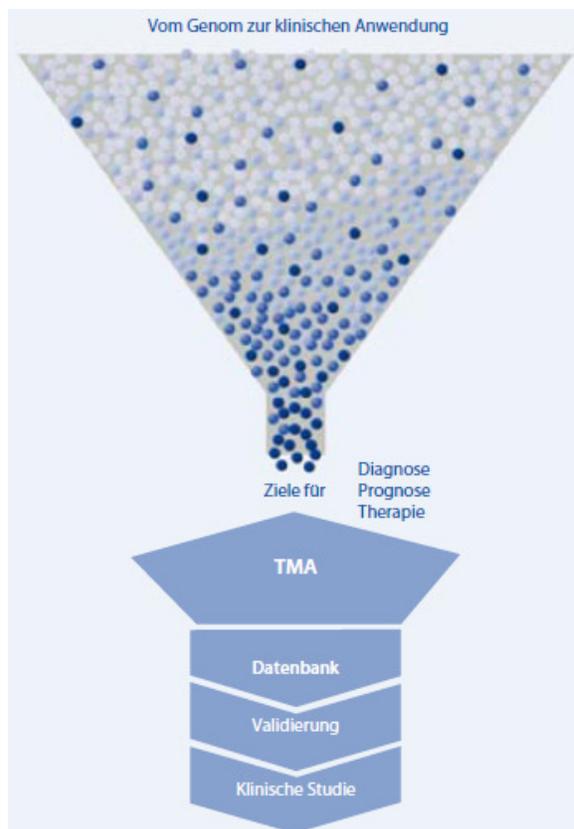


Abbildung 13: Vom Genom zur klinischen Anwendung (Abbildung aus Schlomm, Sultmann et al. 2008)

Besonders bei der Untersuchung von Tumoren bietet die TMA-Technologie einen sehr großen Vorteil, da erst mehrere hundert Gewebeprobe auf veränderte Gene untersucht werden

müssen, um statistisch gesicherte Ergebnisse zu erhalten (Bubendorf, Kononen et al. 1999). Bei den herkömmlichen Untersuchungsmethoden kommt es dabei zu einem sehr hohen Verbrauch von wertvollen Gewebeproben, weil der komplette Paraffinblock für jede Zielstruktur neu geschnitten werden muss und dieser nach ca. 200-300 Schnitten verbraucht ist. Durch die TMA-Technologie lässt sich die Anzahl der Proben, die man aus einem Paraffinblock erhalten kann, maximieren, bei gleichzeitiger Minimierung der Gefahr das Gewebe zu beschädigen, da nur eine kleine Stanze entnommen wird (Simon, Mirlacher et al. 2005).

Der fertig hergestellte TMA bietet eine sehr effiziente Möglichkeit der Verifizierung von Zielstrukturen in situ mit Hilfe der Immunhistochemie, der RNA-in-situ-Hybridisierung oder wie in dieser Studie mit Hilfe der FISH Technologie. (Bubendorf, Kononen et al. 1999). Abbildung 14 bietet einen Überblick über die unterschiedlichen Möglichkeiten der TMA-Technologie.

In den Anfängen der TMA-Technologie wurde ausführlich diskutiert, ob die kleinen Gewebeproben den kompletten Tumor ausreichend repräsentieren (Kononen, Bubendorf et al. 1998). Inzwischen konnte aber in vielen Studien gezeigt werden, dass auch bei Verwendung nur einer einzigen 0,6 mm Gewebeprobe pro Tumor aussagekräftige Daten erzielt werden können (Bubendorf, Nocito et al. 2001; Torhorst, Bucher et al. 2001).

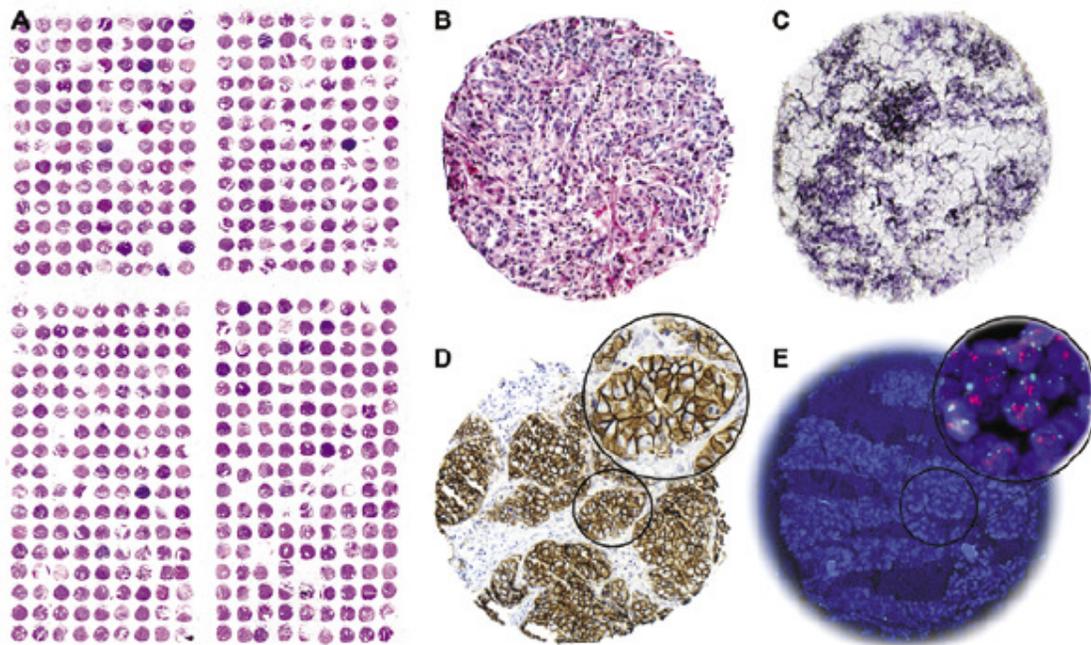


Abbildung 14: Ausschnitt aus einem mit Hämatoxylin und Eosin (HE) gefärbten Gallenblasenkarzinom-TMA (A) und die Vergrößerung eines HE-Spots (B). RNA-in-situ-Hybridisierung (RNA-ISH, Abbildung C), Immunhistochemie (Abbildung D), FISH (Abbildung E) (Abbildung aus Simon, Mirlacher et al. 2004)

2.3. TMA-Herstellung

Nachdem die in Punkt 2.1 genannten aufwendigen Vorbereitungen, die geschätzte 90% der TMA Erstellung ausmachen (Bubendorf, Nocito et al. 2001), abgeschlossen sind, kann die Herstellung des TMAs erfolgen. Der sog. Arrayer besteht aus einem Bohrer (äußerer Durchmesser 0,6 mm) und einer etwas dickeren Hohnadel (innerer Durchmesser 0,6 mm). Mit Hilfe einer Mikrometerschraube lassen sich die Positionen von Bohrer und Nadel exakt festlegen. Der Bohrer dient dazu, aus dem anfangs leeren Empfängerblock die passenden Löcher herauszubohren und so Platz für die Gewebeproben zu schaffen. Anschließend wird mit der Nadel aus dem Tumorparaffinblock (Spenderblock) ein Gewebezylinder entnommen und durch einen genau in die Hohnadel passenden Stahldraht in das vorgefertigte Loch eingelassen (siehe Abbildung 15). Dieser Vorgang wird mit bis zu 1000 Gewebeproben

wiederholt, bis der fertige TMA entstanden ist (Kononen, Bubendorf et al. 1998; Simon, Mirlacher et al. 2004).

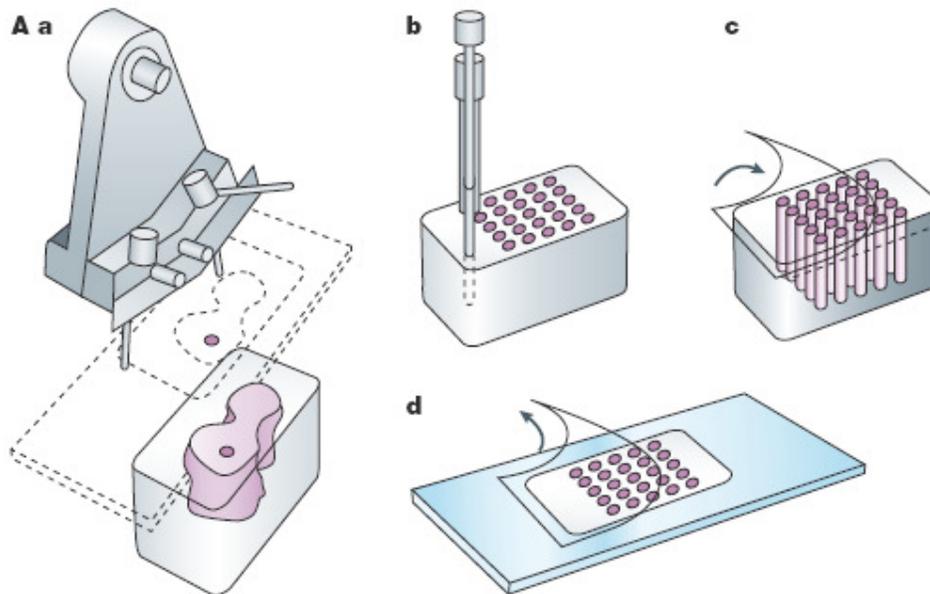


Abbildung 15: Herstellung eines TMA (Abbildung aus Sauter, Simon et al. 2003). Mit der Nadel werden 0,6mm Durchmesser große Gewebezylinder aus dem Spenderparaffinblock entnommen und in einen neuen Empfängerparaffinblock eingebracht. Dieser Vorgang wird mit bis zu 1000 Gewebeproben wiederholt, bis der fertige TMA entstanden ist.

Um die nachfolgende Auswertung zu erleichtern, ist es sinnvoll den TMA zur besseren Orientierung in mehrere Quadranten zu unterteilen. Jeder dieser Quadranten wird anhand eines Koordinatensystems in eine x- und y-Achse unterteilt, wobei die y-Achse mit klein geschriebenen Buchstaben beschriftet und die x-Achse mit Zahlen nummeriert wird (siehe Abbildung 16). Zusammen mit der Lokalisation, der jeweiligen anonymisierten Identifikationsnummer, dem Gleason-Grad aus dem pathologischen Bericht, dem zur Kontrolle ermittelten Gleason-Grad auf dem TMA und dem Gewebetyp wurde ein sog. Punchfile erstellt, welcher für die spätere Auswertung der Ergebnisse benötigt wird (siehe Tabelle 1).

localisation	Nr.	age	ID Nummer	Gleason1	Gleason2	Gleason Score pathology report	Gleason Score on TMA	cancer yes/no	Typ:
A 7i	111	60	01372/03	2	3	5	3+3	yes	pT2b
C 3a	331	84	05-12724	4	5	9	4+5	yes	Fortg.
C 2b	320	64	96-02635	5	4	9	4+4	yes	Fortg.
B 5g	228	50	93-23554	4	5	9	5+4	yes	LK

localisation	c-MYC	c-MYC Durchschnitt	cep8	cep8 Durchschnitt	LPL	LPL Durchschnitt
A 7i	2	2	2	2	2	2
C 3a	6	6	1-2	1,5	1-2	1,5
C 2b	2-4	3	2-4	3	1	1
B 5g	25	25	2	2	1	1

Tabelle 1: Ausgewählte Zeilen aus der Punchfile. Die Zeile A7i zeigt eine normale, genetisch nicht veränderte Gewebeprobe. Die Zeile C3a zeigt einen fortgeschrittenen Tumor mit einem Zugewinn an c-MYC. Die Zeile C2b zeigt einen fortgeschrittenen Tumor mit einer Deletion an LPL. Die Zeile B5g zeigt eine Lymphknotenmetastase, welche sowohl eine Deletion als auch einen Zugewinn aufweist.

Für diese Studie wurden auf dem Prostata Progressions TMA 375 Gewebeproben, aufgeteilt in insgesamt drei Quadranten (A-C), auf einen Empfängerblock platziert (Abbildung 16). Für den Knochenmetastasen TMA wurden alle 60 Gewebeproben in einen Quadranten (A) platziert. Die Kontrollgewebeproben wurden in beiden TMAs ohne Unterbrechung an die zu untersuchenden Gewebeproben gestanzt.

Der neu entstandene TMA kann nun genau wie normale Paraffinblöcke am Mikrotom geschnitten werden. Nach der Übertragung und Fixierung auf einen Objektträger können die Schnitte mit dem jeweils gewünschten Antikörper angefärbt werden.

Bei den beiden von uns erstellten TMAs wurde als erstes ein HE-Schnitt angefertigt und dieser, mit Ausnahme der PIN- und BPH-Fälle, unter dem Mikroskop auf das Vorhandensein von Tumorgewebe in jeder einzelnen eingebrachten Stanze überprüft. Alle tumornegativen

Proben wurden von der weiteren Auswertung ausgeschlossen und für diese Studie nicht benutzt. Anschließend erfolgte die weitere Untersuchung mit Hilfe der nachfolgend geschilderten FISH Sonden.

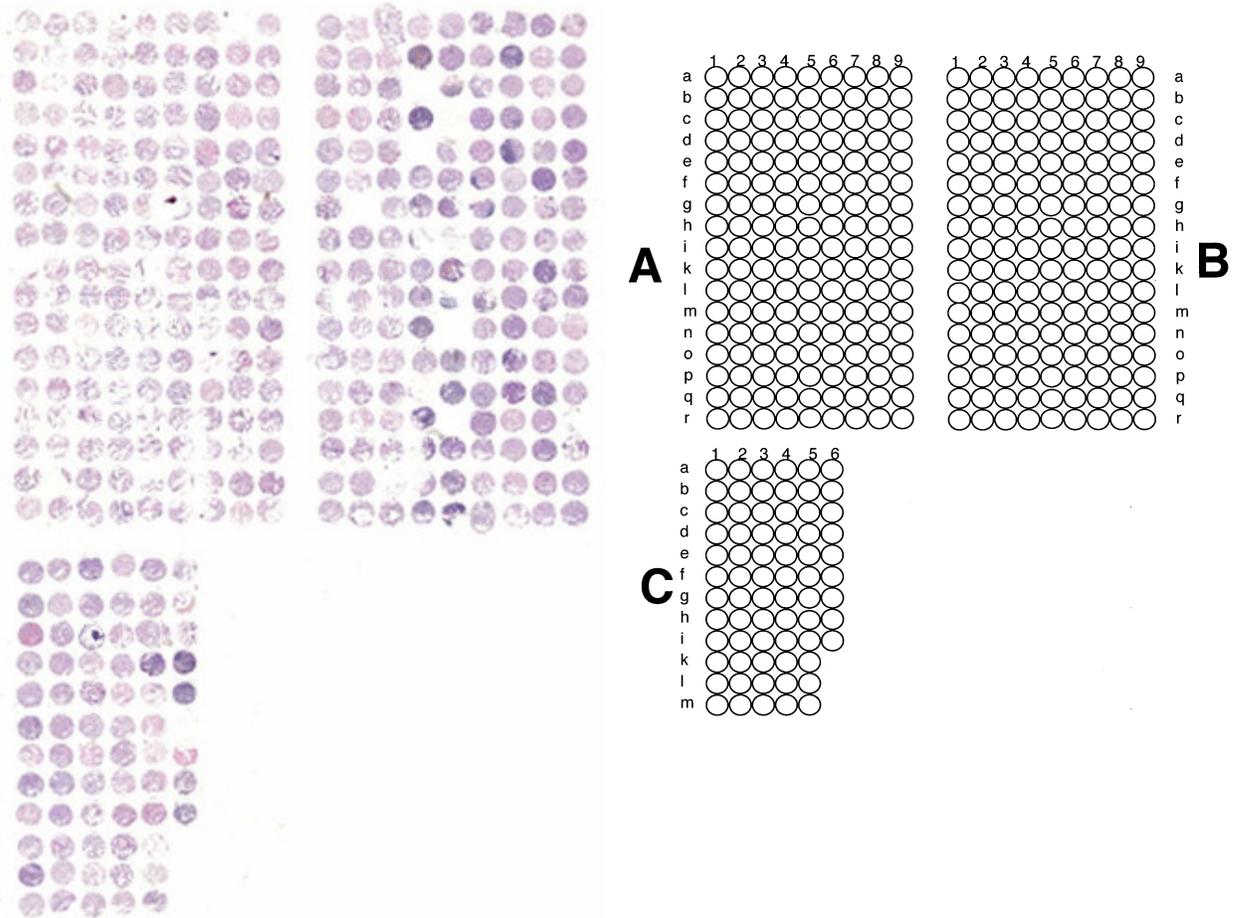


Abbildung 16: Ein HE-Schnitt aus dem Prostata Progressions TMA links und die Organisation mit Hilfe eines Koordinatensystems rechts

2.4. Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung

Für die mehrfarbige FISH Untersuchung wurden 4 µm dicke TMA-Schnitte verwendet. Für die proteolytische Vorbehandlung wurde ein konventionelles Kit verwendet (Paraffin pretreatment reagent kit, Vysis Downers Grove, IL).

Als Sonden wurden eine Orangefarbene für die Darstellung von LPL bzw. der Chromosomenregion 8p21 (Spectrum-Orange-labeled LPL probe 8p21) verwendet. Eine grüne Sonde wurde für c-MYC bzw. der Chromosomenregion 8q24 angewendet (Spectrum-green-labeled c-MYC probe 8q24) und für das Zentromer 8 (cep8) wurde eine blaue Sonde (aqua blue) eingesetzt (alle Sonden Provyision; Vysis).

Bevor die Hybridisierung durchgeführt wurde, wurden die TMAs entparaffiniert, luftgetrocknet und dehydriert in 70%, 85% und 100% Ethanol. Danach erfolgte die Denaturierung für fünf Minuten bei 74° C in 70% Formamid-2 X SSC-Lösung. Nach der Hybridisierung, die über Nacht bei 37° C in einer Feuchtkammer erfolgte, wurden die Schnitte gewaschen und mit 0,2 µmol/L 4',6-Diamidino-2-Phenylindol (DAPI) in einer Antifade-Lösung gegengefärbt. Die Arbeiten im FISH Labor wurden mit Hilfe der Assistenzärztin Dr. M. C. Tsourlakis, dem MTA S. Eghtessadi und der Leiterin vom FISH Labor Frau Schnoeger durchgeführt.

Jeder einzelne Gewebespot wurde genau untersucht und jeweils die dominierend vorliegende Anzahl der FISH Signale gezählt. Für eine normale, genetisch nicht veränderte Zelle liegen jeweils immer 2 Signale für das Zentromer (cep8), 2 Signale für c-MYC und 2 Signale für LPL vor. Eine Deletion liegt vor, wenn deutlich weniger FISH Signale für LPL gezählt werden als für das Zentromer. Dabei muss die Gesamtzahl der Signale mindestens um eine

Kopie vermindert sein, z.B. 2 Signale für das Zentromer und nur 1 Signal für LPL. Bei einem Zugewinn müssen deutlich mehr FISH Signale für c-MYC gezählt werden als für das Zentromer. Dabei muss die Gesamtzahl der Signale mindestens um eine Kopie erhöht sein, z.B. 4 Signale für c-MYC und 2 Signale für das Zentromer. Diese Definition wurde schon in zurückliegenden Studien, die Veränderungen in der Chromosomenzahl bei Tumoren untersucht haben, benutzt (Bankfalvi, Simon et al. 2000; Al-Kuraya, Novotny et al. 2007).

Beispiele für Tumoren mit Zugewinnen und Deletionen zeigen Abbildung 17 und 18.

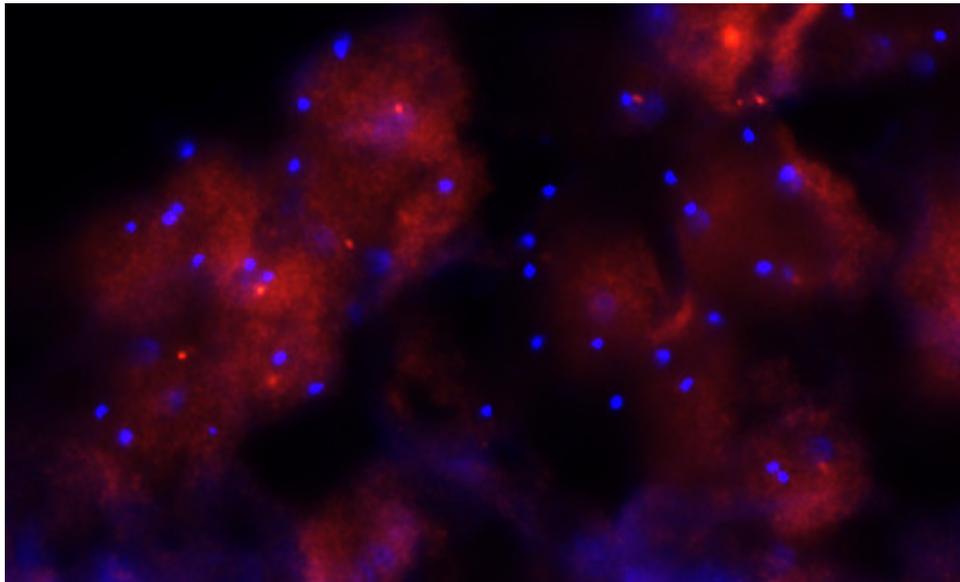


Abbildung 17: FISH mit einer spezifischen Sonde für das Zentromer 8 (cep8, blau) und eine Sonde für das Tumorsuppressorgen LPL (LPL, orange). Es zeigt sich eine Deletion des Tumorsuppressorgens mit im Vergleich deutlich mehr Signalen für cep8 als für LPL.

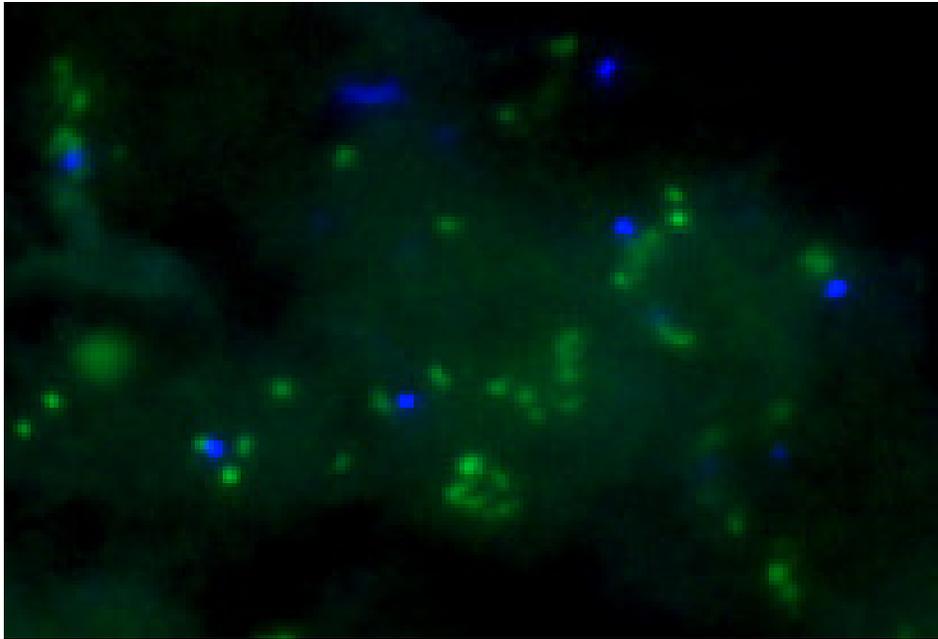


Abbildung 18: FISH mit einer spezifischen Sonde für das Zentromer 8 (cep8, blau) und einer Sonde für das Onkogen c-MYC (grün). Es zeigen sich deutlich mehr Signale für das Onkogen c-MYC im Vergleich zum Zentromer 8 (cep8), was für eine Vervielfältigung (Zugewinn) des Onkogens spricht.

2.5. Statistik

Die statistischen Berechnungen und Auswertungen wurden mit Hilfe der Software Jump (Version 5.0.1a; SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA) durchgeführt. Zur Berechnung der Signifikanz, um die Beziehung zwischen den genetischen Veränderungen und dem Tumorstadium zu untersuchen, wurden die „Contingency table analysis“ und der Chi-Quadrat-Test durchgeführt. Dabei wurden p-Werte unter 0,05 als signifikant, p-Werte unter 0,01 als hoch signifikant angesehen. Als Software zur statistischen Aufarbeitung, sowie zur Tabellen- und Diagrammerstellung, wurde Microsoft Excel 2003 benutzt.

3. Resultate:

3.1. Patientendaten

Das in dieser Studie untersuchte Patientenkollektiv wies einen Alterszeitraum zwischen 52 und 87 Jahren (Mittelwert 67 Jahre) auf.

Von 409 Gewebeproben konnten 257 (62,83%) erfolgreich mit der FISH Sonde analysiert werden.

152 Stenzen (37,16%) konnten nicht ausgewertet werden. Dies ist damit zu begründen, dass entweder die Gewebeprobe auf dem entsprechenden TMA-Schnitt an der entsprechenden Koordinate fehlte oder das Fluoreszenzsignal zu schwach war. So waren viele auf dem Paraffinblock eingezeichnete Tumorareale, besonders bei den Lymphknotenmetastasen, sehr klein und schon nach der Herstellung von zwei TMAs aufgebraucht. Viele Spots wurden mit der Provyision Sonde, trotz mehrfacher Wiederholungen, nicht ausreichend oder überhaupt nicht angefärbt. Ein weiteres Problem der Provyision Sonde war, dass Gewebesspots vom TMA während der FISH Herstellung abgeschwommen sind und so nicht auswertbar waren.

3.2. Untersuchungsergebnisse

3.2.1. 8p Deletionen

Die Resultate für 8p Deletionen und 8q Zugewinne sind in Tabelle 2 dargestellt. Eine 8p Deletion gemäß den vordefinierten Kriterien wurde in 63 (24,51%) der untersuchten Gewebeproben gefunden. Dabei zeigt sich ein relevanter Anstieg der Deletionen mit dem Tumorstadium. Die BPH (0 Gewebeproben, 0,0%) und PIN (1 Gewebeprobe, 2,6%)

Gewebebeobachten wiesen nur bei einem Spot chromosomale Veränderungen auf. Mit der Tumorprogression nahmen die 8p Deletionen von den pT2b Tumoren (7 Gewebebeobachten, 20,0%), über die pT3b Tumoren (11 Gewebebeobachten, 31,4%) zu den Patienten mit fortgeschrittenem Prostatakarzinom (11 Gewebebeobachten, 32,4%) zu. Ein weiterer Anstieg zeigte sich bei den hormonrefraktären Tumoren (10 Gewebebeobachten, 45,5%) und den Metastasen des Prostatakarzinoms. Während bei den Lymphknotenmetastasen 39,1% (9 Gewebebeobachten) der Spots eine Deletion aufwiesen, zeigte sich bei über der Hälfte der Knochenmetastasen eine Deletion (14 Gewebebeobachten, 51,9%).

Wenn alle Gewebebeobachten mit in die Statistik einbezogen sind, zeigt sich ein statistisch hoch signifikanter Anstieg der Ergebnisse ($p < 0,0001$). Der geringe Anstieg der 8p Deletionen von pT3b Fällen zu Knochenmetastasen und hormonrefraktären Fällen reicht aber bei Betrachtung der Werte innerhalb der Tumoren nicht aus, um statistisch relevant zu sein. Innerhalb der Tumoren, d.h. ohne die BPH und Pin Fälle, ist der Anstieg der Deletionen von den pT2b- über die pT3b-, fortgeschrittene Tumoren, Lymphknotenmetastasen und den Knochenmetastasen zu den hormonrefraktären Fällen statistisch nicht relevant ($p = 0,1388$).

Dies bestätigt sich auch nach Erweiterung des Kollektivs mit 1750 Primärtumoren. In unserer noch nicht erschienenen Publikation fanden wir einen Anstieg der 8p Deletionen von pT3a (38,5%) und pT3b (43,5%) Tumoren zu den Knochenmetastasen (51,9%) und hormonrefraktären Fällen (45,5%), der noch geringer als in dieser Studie ausfiel (El-Gammal in progress).

In Bezug auf den Gleason-Grad, der für pT2b-, pT3b-, fortgeschrittene- und hormonrefraktäre Tumoren erhoben wurde, tritt bei 31 hoch differenzierten Tumoren (Gleason-Grad kleiner oder gleich 3+3) nur in 5 Tumoren (16,1%) eine 8p Deletion auf. Dieser Wert steigt bei den

mittelmäßig differenzierten Tumoren auf 35,0% (Gleason-Grad 3+4) und 30,0% (Gleason-Grad 4+3) an. Zu den niedrig differenzierten Tumoren (Gleason-Grad größer oder gleich 4+4) zeigt sich nur ein minimaler Anstieg (36,9%). Es liegt kein statistisch relevanter Zusammenhang vor ($p = 0,2187$).

Über die Hälfte der mit den Gleason-Grad klassifizierten Tumoren gehört dabei zu den niedrig differenzierten Tumoren (65 niedrig differenzierte Tumoren gegenüber 61 Tumoren mit Gleason-Grad kleiner als 4+4), wodurch die Aussagekraft dieser Ergebnisse erhöht wird (siehe Tabelle 3).

Zusammengefasst zeigt sich ein kontinuierlicher aber statistisch nicht signifikanter Anstieg der 8p Deletionen mit fortschreitendem Tumorstadium und steigendem Gleason-Grad.

3.2.2. 8q Zugewinne

Ein Zugewinn an 8q wiesen 48 Spots auf, was einen Anteil von 18,7% entspricht. Im Vergleich der Primärtumoren treten 8q Zugewinne (<12%) gegenüber 8p Deletionen (<32%) viel seltener auf. Unter den BPH und PIN Fällen traten keine Gewebeproben mit einem Zugewinn an 8q auf. Insgesamt ist der Anstieg von den pT2b (3 Gewebeproben, 8,6%) zu den pT3b (4 Gewebeproben, 11,4%) Tumoren nur sehr klein. Auch der Anstieg von 6,5% bei den Tumoren mit Gleason-Grad von kleiner oder gleich 3+3 auf 15,0% bzw. 20,0% bei den Tumoren mit Gleason-Grad 3+4 bzw. 4+3, fällt moderat aus.

Im Gegensatz zu den 8p Deletionen zeigt sich bei den 8q Zugewinnen ein hoher Anstieg von den Primärtumoren (<12%) zu den Metastasen (Knochenmetastasen (9 Gewebeproben, 33,3%), Lymphknotenmetastasen (8 Gewebeproben, 34,8%)) und zu den hormonrefraktären Tumoren (13 Gewebeproben, 59,1%, siehe Tabelle 2 und Abbildung 19). Dies bestätigt sich

im Gegensatz zu den Ergebnissen bei den 8p Deletionen sowohl bei der Betrachtung aller Gewebeprobe(n) ($p < 0,0001$) als auch bei Betrachtung der Ergebnisse innerhalb der Tumoren ($p = 0,0003$). Dieser starke, statistisch hoch signifikante Anstieg deutet darauf hin, dass ein Zugewinn an 8q eine entscheidende Bedeutung für die Progression des Tumors hat.

Bei der Betrachtung des Gleason-Grades zeigt sich ebenfalls ein statistisch hoch signifikanter Anstieg von 20% bei Tumoren mit Gleason-Grad 4+3 auf 36,9% bei Tumoren mit Gleason-Grad größer oder gleich 4+4 ($p = 0,0076$). Es findet also eine Erhöhung von fast 17% bei einem Anstieg um nur ein Tumorstadium statt (siehe Tabelle 3).

8p Deletionen und 8q Zugewinne traten in 27 (10,5%) Tumoren parallel auf. Besonders häufig waren beide Veränderungen in hormonrefraktären Tumoren, von denen fast jeder dritte Tumor beide Aberrationen aufwies (31,8%). Auch hier sind die Werte innerhalb der Tumoren statistisch signifikant ($p = 0,0197$), wenn alle Gewebeprobe(n) mit einbezogen werden, sogar statistisch hoch signifikant ($p < 0,0001$).

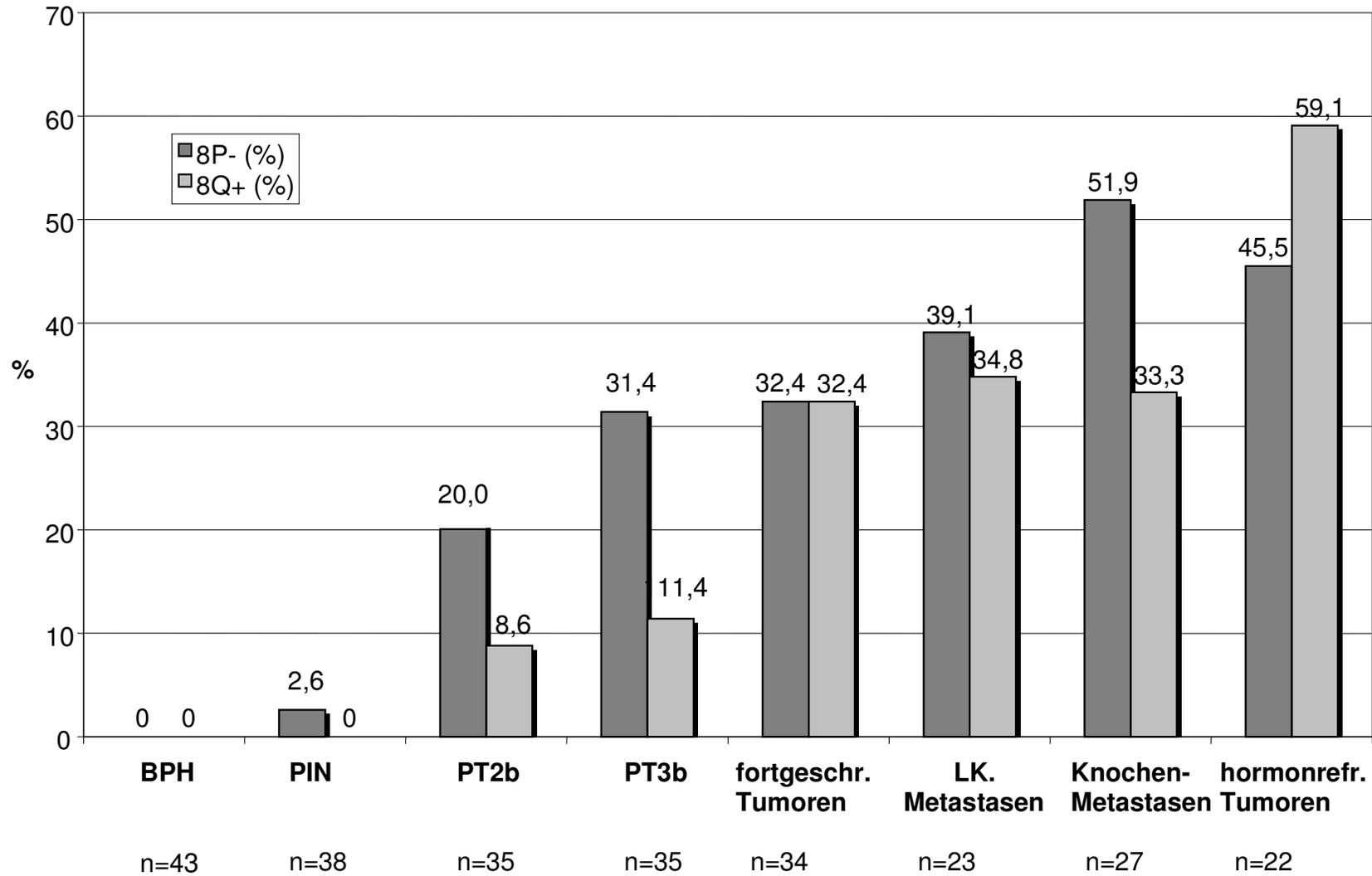
	n Fälle auswertbar	8p Deletion	8p Deletion %	8q Zugewinn	8q Zugewinn %	8q Zugewinn und 8p Deletion	8q Zugewinn und 8p Deletion %
BPH	43	0	0	0	0	0	0
PIN	38	1	2,6	0	0	0	0
pT2b	35	7	20	3	8,6	1	2,9
pT3b	35	11	31,4	4	11,4	3	8,6
fortgeschrittene	34	11	32,4	11	32,4	4	11,8
LK-Metastasen	23	9	39,1	8	34,8	5	21,7
Knochenmetastasen	27	14	51,9	9	33,3	7	25,9
hormonrefraktäre	22	10	45,5	13	59,1	7	31,8
Korrelation nach Pearson alle Fälle			< 0,0001		< 0,0001		< 0,0001
Likelihood Ratio alle Fälle			< 0,0001		< 0,0001		< 0,0001
Korrelation nach Pearson innerhalb der Tumoren			0,1314		0,0003		0,0197
Likelihood Ratio innerhalb der Tumoren			0,1388		0,0002		0,0146
insgesamt	257	63	24,1	48	18,7	27	10,5

Tabelle 2: Ergebnisse für 8p Deletion, 8q Zugewinn und 8p und 8q gemeinsam auftretend in Abhängigkeit vom Gewebetyp/Tumorstadium. Die statistischen Berechnungen werden als erstes für alle Gewebeproben und als zweites für alle tumorhaltigen Gewebeproben, d.h. ohne die BPH und Pin Fälle, angegeben.

	n Fälle auswertbar	8p Deletion	8p Deletion %	8q Zugewinn	8q Zugewinn %	8q Zugewinn und 8p Deletion	8q Zugewinn und 8p Deletion %
<=3+3	31	5	16,1	2	6,5	1	3,2
3+4	20	7	35,0	3	15,0	2	10,0
4+3	10	3	30,0	2	20,0	1	10,0
4+4=<	65	24	36,9	24	36,9	11	16,9
Korrelation nach Pearson			0,2187		0,0076		0,2735
Likelihood Ratio			0,1871		0,0041		0,2088
insgesamt	126	39	31,0	31	24,6	15	11,9

Tabelle 3: Gleason-Grad in Korrelation zu 8p Deletion, 8q Zugewinn und 8p und 8q gemeinsam auftretend für pT2b-, pT3b-, fortgeschrittene- (Gleason 8-9) und hormonrefraktäre Tumoren

Abbildung 19: Veränderungen an Chromosom 8 in Korrelation zum Tumorgrad



4. Diskussion

4.1. Literaturübersicht zu 8p und 8q Veränderungen

4.1.1. Vergleich der Ergebnisse mit anderen FISH Studien

Im Vergleich mit den meisten anderen FISH Studien zu 8p und 8q Veränderungen fallen die Ergebnisse dieser Studie geringer aus (siehe FISH Literaturübersicht in Tabelle 4).

In Studien zu 8p Deletionen (Alers, Krijtenburg et al. 1997; Sato, Qian et al. 1999; Macoska, Trybus et al. 2000; Oba, Matsuyama et al. 2001; Qian, Hirasawa et al. 2002; Matsuyama, Pan et al. 2003a; Matsuyama, Pan et al. 2003b; Bethel, Faith et al. 2006; Mian, Lodde et al. 2006) wurden 8p Deletionen in 50% (Tsuchiya, Slezak et al. 2002; Das, Lau et al. 2005) bis 74% (Qian, Hirasawa et al. 2002) der Tumoren gefunden. Bei den 8q Zugewinnen treten in der Literatur sehr breit gestreute Ergebnisse von 6,1% (Miyoshi, Uemura et al. 2000) bis 73,3% (Ribeiro, Henrique et al. 2007) auf (Jenkins, Qian et al. 1997; Sato, Qian et al. 1999; Qian, Hirasawa et al. 2002; Tsuchiya, Slezak et al. 2002; Das, Lau et al. 2005; Mian, Lodde et al. 2006).

Diese Unterschiede lassen sich größtenteils auf unterschiedliche Verfahren und Ziele in den einzelnen Studien zurückführen. Das Ziel unserer Studie war es mit Hilfe des Provyision Tests herauszufinden, ob 8p und 8q als geeignete Marker für die Progression und die Prognose des Prostatakarzinoms in Frage kommen. Andere Studien haben Unterschiede von 8p und 8q Veränderungen im Prostatakarzinom im Vergleich zum Normalgewebe untersucht (Jenkins,

Qian et al. 1997; Macoska, Trybus et al. 2000; Miyoshi, Uemura et al. 2000; Das, Lau et al. 2005).

	Autor	veröffentlicht	n- Untersuchte auswertbar	8q Zugewinne %	8p Deletionen %
1	Bethel C.	2006	94		52,1
2	Tsuchiya N.	2002	156	42,3	51,9
3	Sato K.	1999	144	54,2	61,8
4	Qian J.	2002	37	43,0	74,0
5	Macoska J.	2000	25		51,9
6	Miyoshi Y.	2000	42	6,1	
7	Oba K.	2001	42		54,8
8	Das K.	2005	34	26,5	50,0
9	Matsuyama H.	2003a	97		59,8
10	Ribeiro F.	2007	60	73,3	
11	Mian C.	2006	44	18,2	65,9
12	Matsuyama H.	2003b	53		64,2
13a	Jenkins RB.*	1997	25	8	
13b	Jenkins RB.*	1997	25	19	
13c	Jenkins RB.*	1997	25	46	

Tabelle 4: FISH Literaturübersicht zu 8p Deletionen und 8q Zugewinnen (* In der Studie von Jenkins RB wurden PIN Fälle (13a), unterschiedlich fortgeschrittene Prostatakarzinome (13b) und Lymphknotenmetastasen (13c) einzeln untersucht (Jenkins, Qian et al. 1997)).

Zur Einteilung ob es sich um einen Zugewinn oder eine Deletion handelt, wurden bei anderen Studien BPH und PIN Fälle als Referenz untersucht. Dazu wurden von den BPH und PIN Fällen je nach Studie von 100 bis zu 300 nicht überlappende Kerne, die sich in der Interphase der Zellteilung befinden, untersucht und die Signale für c-MYC, cep8 und LPL gezählt. Danach wurde mit einer Standardabweichung von 2 oder 3 ein Referenzbereich für nicht veränderte Zellen festgelegt. Proben, die aus diesem Bereich nach unten abweichen, wurden als Deletion gezählt, welche die nach oben abweichen als Zugewinn (Jenkins, Qian et al. 1997; Macoska, Trybus et al. 2000; Miyoshi, Uemura et al. 2000; Das, Lau et al. 2005).

Durch dieses Verfahren ist es unvermeidlich, dass Tumoren, die genetisch sehr instabil sind und gelegentlich chromosomale Veränderungen in Einzelzellen aufweisen, darunter auch 8p und 8q Veränderungen, mitgezählt werden. Des Weiteren lassen sich viele Veränderungen zwischen Normal- und Tumorgewebe auf die unterschiedliche Zellgröße zurückführen. Da die Tumorzellen einen viel größeren Durchmesser als normale Zellen haben, ist die Wahrscheinlichkeit auch viel höher, dass FISH Signale verloren gehen. Dies betrifft vor allem die kleinen spezifischen Areale auf den jeweiligen Chromosomen (8p und 8q), als die relativ große und häufig kodierte Region des Zentromers (cep8) des 8. Chromosoms (El-Gammal in progress).

Weiterhin wurde für die meisten Studien ein Patientenkollektiv ausgewählt, welches einen sehr hohen Anteil an weit fortgeschrittenen Tumoren (pT3, pT4, Lymphknotenmetastasen) aufwies (Sato, Qian et al. 1999; Miyoshi, Uemura et al. 2000; Matsuyama, Pan et al. 2003a; Matsuyama, Pan et al. 2003b; Das, Lau et al. 2005; Bethel, Faith et al. 2006; Mian, Lodde et al. 2006).

Ferner variieren die Stichprobengrößen von 25 (Macoska, Trybus et al. 2000) bis zu 156 (Tsuchiya, Slezak et al. 2002) sehr stark (siehe Tabelle 4 und 5). Obwohl in den letzten 20 Jahren sehr viele Studien zu genetischen Veränderungen im Prostatakarzinom veröffentlicht wurden, machen es diese aufgeführten Unterschiede schwierig die Ergebnisse untereinander zu vergleichen (Sun, Liu et al. 2007).

4.1.2. Vergleich der Ergebnisse mit anderen CGH-Studien

In mehreren Studien, die mit dem CGH-Verfahren (comparative genomic hybridization) gearbeitet haben, wurden ähnliche Ergebnisse wie in unserer Studie erzielt (siehe Tabelle 5). Beim CGH-Verfahren handelt es sich um eine molekulargenetische Technik zur Analyse

eines Genoms auf chromosomale Imbalancen durch vergleichende Hybridisierung von Patienten- und Referenz-DNA an Metaphase-Chromosomen.

	Autor	veröffentlicht	n-Untersuchte	8q Zugewinne %	8p Deletionen %
1	Ribeiro FR	2006	51	5,9	17,6
2	Wolter H	2002	50	6,0	18,0
3	Visakorpi T	1995	31	6,5	32,0
4	Fu W	2000	56	8,9	21,4
5	Matsuda K	2004	27	29,6	48,1
6	Alers JC	2000	56	35,7	48,2
7	Teixeira MR	2004	35	37,0	58,0
8	Ribeiro FR	2006	61	39,0	73,0
9	Sun J	2007	Metaanalyse	47,8	56,3

Tabelle 5: CGH-Literaturübersicht zu 8p Deletionen und 8q Zugewinnen

Bei Primärtumoren (pT1, pT2) lassen sich in der Literatur in Bezug auf die 8p Deletionen Ergebnisse zwischen 17,6% (Ribeiro, Diep et al. 2006) und 32% (Visakorpi, Kallioniemi et al. 1995) finden (Visakorpi, Kallioniemi et al. 1995; Fu, Bubendorf et al. 2000; Wolter, Gottfried et al. 2002; Ribeiro, Diep et al. 2006). Bei fortgeschrittenen Tumoren (pT3, pT4, hormonrefraktäre Tumoren, Lymphknotenmetastasen) liegen die Literaturangaben zwischen 48,1% (Matsuda, Matsuyama et al. 2004) und 73% (Alers, Rochat et al. 2000; Teixeira, Ribeiro et al. 2004; Ribeiro, Jeronimo et al. 2006). Die Region 8p war in einer aktuellen Metaanalyse die am häufigsten deletierte Region (Sun, Liu et al. 2007). In 34,09% der Primärtumoren wurde in dieser Metaanalyse eine Deletion gefunden. Dieser Wert stimmt sehr gut mit unseren Ergebnissen von 31,4% bei pT3b Tumoren und 20,0% bei pT2b Tumoren überein.

Unsere relativ niedrigen Ergebnisse für 8q Zugewinne bei Primärtumoren, mit 8,6% bei pT2b Tumoren und 11,4% bei pT3b Tumoren, werden durch mehrere CGH Studien bestätigt, die vergleichbare Ergebnisse zwischen 5,9% (Ribeiro, Diep et al. 2006) und 8,9% (Fu, Bubendorf

et al. 2000) erzielt haben (Visakorpi, Kallioniemi et al. 1995; Wolter, Gottfried et al. 2002). In diesen Studien (Studien 1-4 in Tabelle 5) wurden fast ausschließlich Primärtumoren untersucht, so dass die Ergebnisse gut zu vergleichen sind.

Bei den fortgeschrittenen Tumoren zeigt sich für 8q ein starker Anstieg auf 32,4%, 34,8% bei den Lymphknotenmetastasen, 33,3% bei den Knochenmetastasen und 59,1% bei den hormonrefraktären Fällen. Vergleichbare Werte zeigen sich auch in vielen CGH-Studien, in denen Werte zwischen 29,6% (Matsuda, Matsuyama et al. 2004) und 47,8% (Sun, Liu et al. 2007) gefunden wurden (Akers, Rochat et al. 2000; Teixeira, Ribeiro et al. 2004; Ribeiro, Jeronimo et al. 2006).

Für 8q Veränderungen scheint es somit einen signifikanten Unterschied zwischen Primärtumoren und fortgeschrittenen Tumoren zu geben, welcher eine entscheidende Bedeutung für die Progression des Tumors zu haben scheint.

4.2. Kritische Würdigung unserer Ergebnisse

Zusammengefasst zeigen unsere Ergebnisse einen signifikanten Anstieg von 8p Deletionen und 8q Zugewinnen abhängig vom Tumorstadium (siehe Tabelle 2 und 3 und Abbildung 19). Bei den 8p Deletionen zeigten sich im Gegensatz zu den 8q Zugewinnen schon bei den Primärtumoren relativ hohe Werte (20,0% bei pT2b, 31,4% bei pT3b Tumoren), die zu den fortgeschrittenen Tumoren und Metastasen nur noch leicht angestiegen sind (fortgeschrittene Tumoren 32,4%, LK-Metastasen 39,1%, Knochenmetastasen 51,9%, hormonrefraktäre Tumoren 45,5%). Es handelt sich bei den 8p Deletionen um frühe Veränderungen in der Tumorentstehung, die anscheinend für die Progression zu fortgeschrittenen Stadien keine entscheidende Rolle spielen. Für die 8p Veränderungen lässt sich somit den Ergebnissen zufolge keine diagnostische Relevanz erkennen, die für die Progression des Prostatakarzinoms

eine Rolle spielen würde. Andere Studien konnten ebenfalls für 8p Deletionen keine statistisch signifikanten Korrelationen in Bezug auf die Progression des Tumors oder die klinische Prognose finden (Nupponen, Kakkola et al. 1998; Sato, Qian et al. 1999; Tsuchiya, Slezak et al. 2002; Gallucci, Merola et al. 2006; Mian, Lodde et al. 2006).

Bei den 8q Veränderungen zeigt sich dagegen durch die niedrigen Ausgangswerte bei den Primärtumoren (pT2b 8,6%, pT3b 11,4%) ein starker Anstieg zu den fortgeschrittenen Tumoren und Metastasen (fortgeschrittene Tumoren 32,4%, LK-Metastasen 34,8%, Knochenmetastasen 33,3%, hormonrefraktäre Tumoren 59,1%, siehe Abbildung 19). Es lässt sich daraus vermuten, dass 8q Veränderungen eine entscheidende Bedeutung für die Metastasierung und Progression des Prostatakarzinoms haben. Bei den wenigen Primärtumoren, die eine 8q Veränderung aufwiesen, kann man somit von einer besonders schlechten Prognose ausgehen.

Dies wird in der Literatur durch mehrere Studien bestätigt. So fanden Jenkins et al. und weitere Studien eine starke Korrelation von c-MYC Amplifikationen mit steigendem Tumorgrad und mit der Progression des Prostatakarzinoms (Jenkins, Qian et al. 1997; Sato, Qian et al. 1999; Miyoshi, Uemura et al. 2000; Qian, Hirasawa et al. 2002). Einen Anstieg der c-MYC Zugewinne mit dem Tumorgrad oder Gleason-Grad konnte in verschiedenen Studien gezeigt werden (Alers, Krijtenburg et al. 1997; Nupponen, Kakkola et al. 1998; Bubendorf, Kononen et al. 1999; Das, Lau et al. 2005; Zeng, Wu et al. 2006). Andere Studien konnten zeigen, dass c-MYC Amplifikationen mit einer schlechten klinischen Prognose vergesellschaftet sind (Sato, Qian et al. 1999; Qian, Hirasawa et al. 2002; Ribeiro, Henrique et al. 2007).

Einige Studien, die 8p und 8q Veränderungen zusammen untersucht haben, konnten zeigen, dass 8q Zugewinne alleine die klinische Überlebenswahrscheinlichkeit signifikant verschlechtern, 8p Deletionen in dieser Hinsicht aber keine statistisch signifikanten Zusammenhänge zeigen (van Dekken, Alers et al. 2003; Mian, Lodde et al. 2006). Andere Studien fanden heraus, dass 8p Deletionen, die zusammen mit 8q Zugewinnen auftreten, eine besonders schlechte klinische Prognose haben (Sato, Qian et al. 1999; Macoska, Trybus et al. 2000; Tsuchiya, Slezak et al. 2002).

4.3. 8q Veränderungen in anderen menschlichen Tumoren

Auch in anderen Tumoren des Menschen scheinen 8q Veränderungen eine wichtige Rolle in der Tumorgenese und vor allem in der Entstehung von Metastasen zu spielen.

So treten beim Magentumor neben Zugewinnen an den Chromosomen 13q, 5p, 7 und X auch 8q Veränderungen vermehrt auf (Liu, Li et al. 2009). Buffart et al. fanden heraus, dass 8q Veränderungen neben Zugewinnen an 11q und 9q zu den häufigsten Veränderungen im Magenkarzinom zählen, die schon im Frühstadium des Tumors auftreten (Buffart, Carvalho et al. 2007). Viele Studien zeigen auch beim Magenkarzinom die Bedeutung von 8q für die Progression des Tumors. So konnte Yang et al. zeigen, dass c-MYC Zugewinne signifikant häufiger in fortgeschrittenen Magentumoren als in Frühstadien vorkommen (Yang, Deng et al. 2004). Ebenso wurde eine erhöhte Expression von c-MYC in metastasierenden Tumoren gefunden (Kozma, Kiss et al. 2001; Yang, Deng et al. 2004). Ähnlich wie beim Prostatakarzinom hofft man in c-MYC ein potentiell therapeutisches Ziel gefunden zu haben, welches man für eine spezifische und weniger toxische Therapie nutzen kann (Calcagno, Leal et al. 2008).

Beim Brustkrebs, welches der häufigste Tumor bei Frauen darstellt, ist die Region 8 mit c-MYC eine der drei häufigsten amplifizierten Regionen (Courjal, Cuny et al. 1997). 15 bis 20% der Brusttumoren zeigen einen Zugewinn von c-MYC (Deming, Nass et al. 2000; Jung und Hermeking 2009), wobei die c-MYC Amplifikationen signifikant mit dem Tumorgrad korrelieren und die klinische Prognose verschlechtern (Chen und Olopade 2008; Jung und Hermeking 2009). In einer Meta-Analyse, in welcher 29 Studien zu Brustkrebstumoren ausgewertet wurden, konnte eine signifikante Korrelation von c-MYC Zugewinnen mit dem Tumorgrad und der Lymphknotenmetastasierung gefunden werden. Weiter konnte gezeigt werden, dass Brustkrebspatientinnen mit c-MYC Amplifikationen ein ungefähr zweimal so hohes Sterberisiko besitzen (Deming, Nass et al. 2000). Durch die Verwendung von c-MYC als prognostischer Marker kann ein Rezidiv bei nicht metastasierten Tumoren rechtzeitig erkannt werden. Insgesamt ist die Überlebensprognose und die Zeit bis zum Auftreten eines Rezidivs bei nicht metastasierten Brustkrebstumoren mit c-MYC Amplifikationen signifikant kürzer als bei Tumoren ohne c-MYC Amplifikation (Schlotter, Vogt et al. 2003). Andere Studien kommen zu ähnlichen Ergebnissen und bestätigen die Relevanz von c-MYC als unabhängigen prognostischen Faktor (Berns, Klijn et al. 1992; Rodriguez-Pinilla, Jones et al. 2007).

Auch in anderen menschlichen Tumoren zeigt sich die Bedeutung von c-MYC für die Progression. So korreliert c-MYC in Lungentumoren mit der Progression des Karzinoms und wird als relativ spätes Ereignis mit schlechter klinischer Prognose in der Tumorgenese beschrieben (Bergh 1990; Barr, Campbell et al. 1998). Andere Studien zeigen eine Korrelation von c-MYC Amplifikation und Lymphknotenmetastasierung (Kubokura, Tenjin et al. 2001).

In Dickdarmkarzinomen und in fortgeschrittenen Non-Hodgkin Lymphomen korreliert die Amplifikation von c-MYC mit dem Schweregrad des Karzinoms (Obara, Yokoyama et al. 2001; Pagnano, Vassallo et al. 2001).

Bei Speiseröhrentumoren treten c-MYC Amplifikationen häufiger in fortgeschrittenen Tumoren als in Primärtumoren auf (Bitzer, Stahl et al. 2003).

4.4. Bedeutung der Ergebnisse für die Praxis

Zusammenfassend konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass 8p Deletionen und 8q Zugewinne zwei wichtige genetische Veränderungen in der Entwicklung des Prostatakarzinoms darstellen. Besonders 8q Zugewinne scheinen eine wichtige Bedeutung bei der Progression des Tumors zu niedrig differenzierten und hormonrefraktären Stadien, sowie zur Metastasenbildung zu haben. Diese Veränderungen lassen vermuten, dass es insbesondere ein 8q Gen gibt, welches für die Progression des Prostatatumors zu tödlichen Endstadien verantwortlich ist. Der therapeutische Nutzen, der hinter dieser Entdeckung steht, könnte es ermöglichen neue Biomarker zu entwickeln, die eine Separierung therapiebedürftiger von nicht therapiebedürftigen Tumoren erlaubt. Des Weiteren könnten neue zielgerichtete Medikamente entwickelt werden, die effektiver und nebenwirkungsärmer die Progression des Prostatakarzinoms verhindern, als die aktuellen Alternativen. Weitere Studien sind notwendig, um die Relevanz von 8q Zugewinnen für die Progression weiter zu untersuchen, bzw. um herauszufinden welche Gene und zellulären Signalwege zu dieser Progression führen.

5. Zusammenfassung

Das Prostatakarzinom stellt die häufigste maligne Erkrankung des Mannes dar und bildet unter Männern nach dem Bronchialkarzinom und dem Kolonkarzinom die dritthäufigste Krebstodesursache in Deutschland. Aufgrund der unzureichenden Spezifität des PSA-Wertes sind die aktuellen Forschungen auf der Suche nach neuen Tumormarkern für die Vorsorge, Diagnostik und Therapie.

In der Entwicklung des Tumors spielen genetische Veränderungen, die die Funktion von Tumorsuppressorgenen ausschalten oder Onkogene aktivieren, eine entscheidende Rolle. Im Rahmen dieser Arbeit habe ich mich mit den genetischen Veränderungen am langen (8q) und am kurzen Arm (8p) des 8. Chromosoms beschäftigt. Dazu habe ich aus dem Archiv des pathologischen Instituts des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf 50 Benigne Prostatahyperplasien, 49 Prostatistische Intraepitheliale Neoplasien, 51 Prostatektomie-Präparate im Stadium pT2b, 55 Prostatektomie-Präparate im Stadium pT3b, 99 fortgeschrittene Prostatektomie-Präparate mit Gleason-Grad 8-9 und 55 Lymphknoten- und 50 Knochenmetastasen des Prostatakarzinoms aus den Jahren 1992 bis 2008 herausgesucht. Anschließend wurde ein Prostata Progressions TMA mit 359 Prostatagewebebeobachten und ein Knochenmetastasen TMA mit 50 Knochenmetastasenproben erstellt, am Mikrotom geschnitten und beide Arrays mit der FISH Technologie untersucht.

Von den 257 (62,83%) auswertbaren Gewebeproben wiesen 63 (24,51%) eine 8p Deletion und 48 (18,67%) einen 8q Zugewinn auf. Sowohl bei den 8p Deletionen als auch bei den 8q Zugewinnen zeigen unsere Ergebnisse einen signifikanten Anstieg mit dem Tumorstadium. Bei den 8p Deletionen zeigten sich im Gegensatz zu den 8q Zugewinnen schon bei den Primärtumoren relativ hohe Werte (20,0% bei pT2b, 31,4% bei pT3b Tumoren), die zu den fortgeschrittenen Tumoren und Metastasen nur noch leicht angestiegen sind (fortgeschrittene Tumoren 32,4%, LK-Metastasen 39,1%, Knochenmetastasen 51,9%, hormonrefraktäre

Tumoren 45,5%). Bei den 8q Veränderungen zeigt sich dagegen durch die niedrigen Ausgangswerte bei den Primärtumoren (pT2b 8,6%, pT3b 11,4%) ein starker, statistisch hoch signifikanter Anstieg zu den fortgeschrittenen Tumoren und Metastasen (fortgeschrittene Tumoren 32,4%, LK-Metastasen 34,8%, Knochenmetastasen 33,3%, hormonrefraktäre Tumoren 59,1%). Bei der Betrachtung des Gleason-Grades zeigt sich ebenfalls ein sprunghafter Anstieg von 20% bei Tumoren mit Gleason-Grad 4+3 auf 36,9% bei Tumoren mit Gleason-Grad größer oder gleich 4+4. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass es mindestens ein 8q Gen gibt, welches für die Progression des Prostatatumors zu tödlichen Endstadien und für die Metastasierung verantwortlich ist.

Der therapeutische Nutzen, der hinter dieser Entdeckung steht, könnte darin liegen zielgerichtete Medikamente zu entwickeln, die effektiver und nebenwirkungsärmer die Progression des Prostatakarzinoms verhindern, als die aktuellen Alternativen. 8q Veränderungen die bei Patienten mit Primärtumoren entdeckt werden deuten auf eine besonders schlechte Prognose hin und könnten so in der Prognoseeinschätzung des Prostatakarzinoms eingesetzt werden.

Um die Relevanz von 8q Zugewinnen für die Progression weiter zu untersuchen, bzw. um herauszufinden welche Gene und zellulären Signalwege zu dieser Progression führen, sind weitere Studien notwendig und sinnvoll.

6. Literaturverzeichnis

- Al-Kuraya, K., H. Novotny, et al. (2007). "HER2, TOP2A, CCND1, EGFR and C-MYC oncogene amplification in colorectal cancer." *J Clin Pathol* 60(7): 768-72
- Albertson, D. G., C. Collins, et al. (2003). "Chromosome aberrations in solid tumors." *Nat Genet* 34(4): 369-76
- Alers, J. C., P. J. Krijtenburg, et al. (1997). "Interphase cytogenetics of prostatic tumor progression: specific chromosomal abnormalities are involved in metastasis to the bone." *Lab Invest* 77(5): 437-448
- Alers, J. C., J. Rochat, et al. (2000). "Identification of genetic markers for prostatic cancer progression." *Lab Invest* 80(6): 931-42
- Bankfalvi, A., R. Simon, et al. (2000). "Comparative methodological analysis of erbB-2/HER-2 gene dosage, chromosomal copy number and protein overexpression in breast carcinoma tissues for diagnostic use." *Histopathology* 37(5): 411-9
- Barr, L. F., S. E. Campbell, et al. (1998). "Association of the decreased expression of alpha3beta1 integrin with the altered cell: environmental interactions and enhanced soft agar cloning ability of c-myc-overexpressing small cell lung cancer cells." *Cancer Res* 58(23): 5537-45
- Batzler, W. U., Robert-Koch-Institut, et al. (2008). *Krebs in Deutschland 2003 - 2004: Häufigkeiten und Trends*. Berlin, Robert Koch-Institut, 6. überarbeitete Auflage: 70-74
- Beisiegel, U. (1995). "Receptors for triglyceride-rich lipoproteins and their role in lipoprotein metabolism." *Curr Opin Lipidol* 6(3): 117-22
- Bergh, J. C. (1990). "Gene amplification in human lung cancer. The myc family genes and other proto-oncogenes and growth factor genes." *Am Rev Respir Dis* 142(6 Pt 2): S20-6
- Berns, E. M., J. G. Klijn, et al. (1992). "c-myc amplification is a better prognostic factor than HER2/neu amplification in primary breast cancer." *Cancer Res* 52(5): 1107-13

- Bethel, C. R., D. Faith, et al. (2006). "Decreased NKX3.1 protein expression in focal prostatic atrophy, prostatic intraepithelial neoplasia, and adenocarcinoma: association with gleason score and chromosome 8p deletion." *Cancer Research* 66(22): 10683-10690
- Bitzer, M., M. Stahl, et al. (2003). "C-myc gene amplification in different stages of oesophageal squamous cell carcinoma: prognostic value in relation to treatment modality." *Anticancer Res* 23(2B): 1489-93
- Böcker, W., P. U. Heitz, et al. (2008). *Pathologie: mit über 200 Tabellen; mit dem Plus im Web; Zugangscode im Buch*. München u.a., Elsevier Urban & Fischer, 4. vollständig überarbeitete Auflage: 918-926
- Bubendorf, L., J. Kononen, et al. (1999). "Survey of gene amplifications during prostate cancer progression by high-throughout fluorescence in situ hybridization on tissue microarrays." *Cancer Res* 59(4): 803-6
- Bubendorf, L., A. Nocito, et al. (2001). "Tissue microarray (TMA) technology: miniaturized pathology archives for high-throughput in situ studies." *J Pathol* 195(1): 72-9
- Buffart, T. E., B. Carvalho, et al. (2007). "DNA copy number profiles of gastric cancer precursor lesions." *BMC Genomics* 8: 345
- Bundesamt, Statistisches Bundesamt (2003). *Altersaufbau der Bevölkerung in Deutschland*, [Online im Internet] URL: <https://www-ec.destatis.de/csp/shop/sfg/bpm.html.cms.cBroker.cls?cmspath=struktur,vollanzeige.csp&ID=1013437>, Schaubild 10, Seite 30 [Stand: 14.10.2009]
- Calcagno, D. Q., M. F. Leal, et al. (2008). "MYC and gastric adenocarcinoma carcinogenesis." *World J Gastroenterol* 14(39): 5962-8
- Catalona, W. J., D. S. Smith, et al. (1997). "Prostate cancer detection in men with serum PSA concentrations of 2.6 to 4.0 ng/mL and benign prostate examination. Enhancement of specificity with free PSA measurements." *JAMA* 277(18): 1452-5
- Chen, Y. und O. I. Olopade (2008). "MYC in breast tumor progression." *Expert Rev Anticancer Ther* 8(10): 1689-98

- Coller, H. A., C. Grandori, et al. (2000). "Expression analysis with oligonucleotide microarrays reveals that MYC regulates genes involved in growth, cell cycle, signaling, and adhesion." *Proc Natl Acad Sci U S A* 97(7): 3260-5
- Courjal, F., M. Cuny, et al. (1997). "Mapping of DNA amplifications at 15 chromosomal localizations in 1875 breast tumors: definition of phenotypic groups." *Cancer Res* 57(19): 4360-7
- Damber, J. E. und A. Khatami (2005). "Surgical treatment of localized prostate cancer." *Acta Oncol* 44(6): 599-604
- Dang, C. V. (1999). "c-Myc target genes involved in cell growth, apoptosis, and metabolism." *Mol Cell Biol* 19(1): 1-11
- Das, K., W. Lau, et al. (2005). "Chromosomal changes in prostate cancer: a fluorescence in situ hybridization study." *Clinical Genetics* 68(1): 40-47
- Deeb, S. S. und R. L. Peng (1989). "Structure of the human lipoprotein lipase gene." *Biochemistry* 28(10): 4131-5
- Deming, S. L., S. J. Nass, et al. (2000). "C-myc amplification in breast cancer: a meta-analysis of its occurrence and prognostic relevance." *Br J Cancer* 83(12): 1688-95
- DePinho, R. A., N. Schreiber-Agus, et al. (1991). "myc family oncogenes in the development of normal and neoplastic cells." *Adv Cancer Res* 57: 1-46
- Dorkeld, F., A. Bernheim, P. Dessen, JL. Huret. *Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology*, [Online im Internet] URL: <http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/MYCID27.html> [Stand: 14.10.2009]
- Draisma, G., R. Boer, et al. (2003). "Lead times and overdetection due to prostate-specific antigen screening: estimates from the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer." *J Natl Cancer Inst* 95(12): 868-78
- Eilers, M., S. Schirm, et al. (1991). "The MYC protein activates transcription of the alpha-prothymosin gene." *EMBO J* 10(1): 133-41

- El-Gammal, A. T. (Dissertation in progress). „Prognostische Relevanz von Chromosomenveränderungen beim Prostatakarzinom“. Dissertation El Gammal. Hamburg, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
- El-Gammal, A. T., M. Brüchmann, J. Zustin, H. Isbarn, O. J.C. Hellwinkel, J. Köllermann, G. Sauter, R. Simon, W. Wilczak, J. Schwarz, C. Bokemeyer, T. Brümmendorf, J. R. Izbicki, M. Fisch, H. Huland, M. Graefen und T. Schlomm (Publikation in progress). “Chromosom 8p deletions and 8q gains are associated with tumor progression and poor prognosis in prostate cancer.” *Clinical Cancer Research* 2009, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
- Fachgesellschaften, Arbeitsgemeinschaft wissenschaftlich medizinischer (2002). S3-Leitlinie: PSA-Bestimmung in der Prostatakarzinomdiagnostik (Früherkennung des Prostatakarzinoms), [Online im Internet] URL: <http://www.awmf-online.de> [Stand: 14.10.2009]
- Fornara P et al, Fischer K, Luboldt HJ et al. (2004). "Einfluss von Präanalytik und Analytik auf die Aussagekraft des prostataspezifischen Antigens." *Deutsches Ärzteblatt* 101(25A): 1820–1822
- Fornara, P., Rübben, H., Weißbach, L., Wirth, M., Wolff, J.M., (2005). Leitlinien PSA-Bestimmung in der Prostatakarzinomdiagnostik (Früherkennung des Prostatakarzinoms), Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen medizinischen Fachgesellschaft, [Online im Internet] URL: http://www.krebsgesellschaft.de/download/ebm-leitlinie_frueherkennung_des_prostatakarzinoms.pdf [Stand: 14.10.2009]
- Fu, W., L. Bubendorf, et al. (2000). "Genetic changes in clinically organ-confined prostate cancer by comparative genomic hybridization." *Urology* 56(5): 880-5
- Gallucci, M., R. Merola, et al. (2006). "Cytogenetic profiles as additional markers to pathological features in clinically localized prostate carcinoma." *Cancer Lett* 237(1): 76-82
- Gasser, T., G. Rutishauser, et al. (2006). *Basiswissen Urologie: mit 8 Tabellen*. Heidelberg, Springer Medizin, 3. vollständig überarbeitete Auflage: 3-28, 93-100, 109-120, 168-170

- Gearhart, J., E. E. Pashos, et al. (2007). "Pluripotency redux--advances in stem-cell research." *N Engl J Med* 357(15): 1469-72
- Geary, E. S. und T. A. Stamey (1996). "Pathological characteristics and prognosis of nonpalpable and palpable prostate cancers with a Hybritech prostate specific antigen of 4 to 10 ng./ml." *J Urol* 156(3): 1056-8
- Giovannucci, E., E. B. Rimm, et al. (1993). "A prospective study of dietary fat and risk of prostate cancer." *J Natl Cancer Inst* 85(19): 1571-9
- Gleason, D. F. und G. T. Mellinger (1974). "Prediction of prognosis for prostatic adenocarcinoma by combined histological grading and clinical staging." *J Urol* 111(1): 58-64
- Goldberg, I. J. (1996). "Lipoprotein lipase and lipolysis: central roles in lipoprotein metabolism and atherogenesis." *J Lipid Res* 37(4): 693-707
- Graefen, M., P. Hammerer, et al. (2000). "Therapeutic options in hormone refractory prostate carcinoma." *Urologe A* 39(3): 267-73
- Graefen, M., P. Hammerer, et al. (2000). "Prognostic markers for prostate cancer." *Urologe A* 39(1): 14-21
- Haag, P., N. Hanhart, et al. (2006). *Gynäkologie und Urologie für Studium und Praxis: inkl. Geburtshilfe, Reproduktionsmedizin, Sexualmedizin, Andrologie u. Venerologie; unter Berücksichtigung des Gegenstandskataloges und der mündlichen Examina in den Ärztlichen Prüfungen 2007/08. Breisach am Rhein, Medizinische Verlags- u. Informationsdienste, 3. Auflage*
- Harris, C. C. und M. Hollstein (1993). "Clinical implications of the p53 tumor-suppressor gene." *N Engl J Med* 329(18): 1318-27
- Hautmann, R., H. Huland, et al. (2006). *Urologie: mit 176 Tabellen. Heidelberg, Springer Medizin, 3. überarbeitete Auflage: 37-86, 152-56, 165-85, 229-40, 499-505*
- Hemminki, K., J. Sundquist, et al. (2008). "How common is familial cancer?" *Ann Oncol* 19(1): 163-7

- Hermeking, H. (2003). "The MYC oncogene as a cancer drug target." *Curr Cancer Drug Targets* 3(3): 163-75
- Hermeking, H. (2005). Tätigkeitsbericht 2005, Max-Planck-Institut für Biochemie, Martinsried: [Online im Internet] URL:
<http://www.mpg.de/bilderBerichteDokumente/dokumentation/jahrbuch/2005/biochemie/forschungsschwerpunkt/index.html> [Stand: 14.10.2009]
- Huggins, C. (1943). "Endocrine Control of Prostatic Cancer." *Science* 97(2529): 541-544
- Huland, H. (2000). "Therapieoptionen für das frühe Prostatakarzinom." *Deutsches Ärzteblatt* 97(Heft 33): 2163-2168
- Humphrey, P. A. (2004). "Gleason grading and prognostic factors in carcinoma of the prostate." *Mod Pathol* 17(3): 292-306
- Ito, K., Y. Kubota, et al. (2001). "Long term follow-up of mass screening for prostate carcinoma in men with initial prostate specific antigen levels of 4.0 ng/ml or less." *Cancer* 91(4): 744-51
- Jager, T., H. Rubben, et al. (2007). "Differential therapy of prostate cancer." *Internist (Berl)* 48(12): 1382-7
- Jenkins, R. B., J. Qian, et al. (1997). "Detection of c-myc oncogene amplification and chromosomal anomalies in metastatic prostatic carcinoma by fluorescence in situ hybridization." *Cancer Research* 57(3): 524-531
- Jung, P. und H. Hermeking (2009). "The c-MYC-AP4-p21 cascade." *Cell Cycle* 8(7): 982-9
- Kim, J. W., Y. Cheng, et al. (2009). "Genetic and epigenetic inactivation of LPL gene in human prostate cancer." *Int J Cancer* 124(3): 734-8
- Klocker, H., Z. Culig, et al. (1994). "Androgen receptor alterations in prostatic carcinoma." *Prostate* 25(5): 266-73
- Kollermann, J., T. Schlomm, et al. (2008). "Expression and prognostic relevance of annexin A3 in prostate cancer." *Eur Urol* 54(6): 1314-23

- Kononen, J., L. Bubendorf, et al. (1998). "Tissue microarrays for high-throughput molecular profiling of tumor specimens." *Nat Med* 4(7): 844-7
- Kozma, L., I. Kiss, et al. (2001). "C-myc amplification and cluster analysis in human gastric carcinoma." *Anticancer Res* 21(1B): 707-10
- Krahn, M. D., J. E. Mahoney, et al. (1994). "Screening for prostate cancer. A decision analytic view." *JAMA* 272(10): 773-80
- Krebsforschungszentrum. "Deutsches Krebsforschungszentrum Heidelberg, Die fünf häufigsten Krebstodesursachen in Deutschland für Männer." [Online im Internet] URL: www.dkfz.de/de/krebsatlas/gesamt/mort_6.html [Stand: 14.10.2009]
- Kubokura, H., T. Tenjin, et al. (2001). "Relations of the c-myc gene and chromosome 8 in non-small cell lung cancer: analysis by fluorescence in situ hybridization." *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 7(4): 197-203
- Kuefer, R., M. D. Hofer, et al. (2004). "Tissue microarrays. High-throughput procedures to verify potential biomarkers." *Urologe A* 43(6): 659-67
- Liu, X. P., D. Y. Li, et al. (2009). "Comparison of chromosomal aberrations between primary tumors and their synchronous lymph-node metastases in intestinal-type gastric carcinoma." *Pathol Res Pract* 205(2): 105-11
- Loeffler, G. (2003). *Basiswissen Biochemie: mit Pathobiochemie; mit 125 Tabellen; neuer GK*. Berlin [u.a.], Springer, 5. komplett überarbeitete und aktualisierte Auflage: 712-23
- Luboldt, H. und H. Rubben (2000). "PSA-based early detection of prostate cancer." *Urologe A* 39(1): 22-6
- Macoska, J. A., T. M. Trybus, et al. (2000). "8p22 loss concurrent with 8c gain is associated with poor outcome in prostate cancer." *Urology* 55(5): 776-782
- Martinez, A. A., J. A. Gonzalez, et al. (2000). "A comparison of external beam radiation therapy versus radical prostatectomy for patients with low risk prostate carcinoma diagnosed, staged, and treated at a single institution." *Cancer* 88(2): 425-32

- Matsuda, K., H. Matsuyama, et al. (2004). "DNA sequence copy number aberrations in prostate cancers: a comparison of comparative genomic hybridization data between Japan and European countries." *Cancer Genetics and Cytogenetics* 152(2): 119-23
- Matsuyama, H., Y. Pan, et al. (2003a). "The role of chromosome 8p22 deletion for predicting disease progression and pathological staging in prostate cancer." *Aktuelle Urol* 34(4): 247-9
- Matsuyama, H., Y. Pan, et al. (2003b). "Clinical significance of chromosome 8p, 10q, and 16q deletions in prostate cancer." *The Prostate* 54(2): 103-11
- Menssen, A., H. Hermeking (2003). "Characterization of the c-MYC-regulated transcriptome by SAGE: Identification and analysis of c-MYC target genes." *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 99: 6274-6279
- Merkel, M., R. H. Eckel, et al. (2002). "Lipoprotein lipase: genetics, lipid uptake, and regulation." *J Lipid Res* 43(12): 1997-2006
- Mian, C., M. Lodde, et al. (2006). "Molecular biological analysis of the heterogeneous prostate cancer group Gleason score 7." *The Prostate* 66(9): 966-970
- Miller, K., C. Borgermann, et al. (2006). "Therapeutic options for hormone-refractory prostate cancer." *Urologe A* 45(5): 580, 582-5
- Mitsiades, C. S. und M. Koutsilieris (2001). "Molecular biology and cellular physiology of refractoriness to androgen ablation therapy in advanced prostate cancer." *Expert Opin Investig Drugs* 10(6): 1099-115
- Miyoshi, Y., H. Uemura, et al. (2000). "Fluorescence in situ hybridization evaluation of c-myc and androgen receptor gene amplification and chromosomal anomalies in prostate cancer in Japanese patients." *The Prostate* 43(3): 225-232
- Moch, H., T. Kononen, et al. (2001). "Tissue microarrays: what will they bring to molecular and anatomic pathology?" *Adv Anat Pathol* 8(1): 14-20
- Narita, S., N. Tsuchiya, et al. (2004). "Association of lipoprotein lipase gene polymorphism with risk of prostate cancer in a Japanese population." *Int J Cancer* 112(5): 872-6

- Nupponen, N. N., L. Kakkola, et al. (1998). "Genetic alterations in hormone-refractory recurrent prostate carcinomas." *Am J Pathol* 153(1): 141-8
- O'Dowd, G. J., R. W. Veltri, et al. (1997). "Update on the appropriate staging evaluation for newly diagnosed prostate cancer." *J Urol* 158(3 Pt 1): 687-98
- Oba, K., H. Matsuyama, et al. (2001). "Two putative tumor suppressor genes on chromosome arm 8p may play different roles in prostate cancer." *Cancer Genetics and Cytogenetics* 124(1): 20-6
- Obara, K., M. Yokoyama, et al. (2001). "Evaluation of myc and chromosome 8 copy number in colorectal cancer using interphase cytogenetics." *Int J Oncol* 18(2): 233-9
- Pagnano, K. B., J. Vassallo, et al. (2001). "p53, Mdm2, and c-Myc overexpression is associated with a poor prognosis in aggressive non-Hodgkin's lymphomas." *Am J Hematol* 67(2): 84-92
- Potter, S. R. und H. B. Carter (2000). "The role of prostate-specific antigen velocity in prostate cancer early detection." *Curr Urol Rep* 1(1): 15-9
- Qian, J., K. Hirasawa, et al. (2002). "Loss of p53 and c-myc overrepresentation in stage T(2-3)N(1-3)M(0) prostate cancer are potential markers for cancer progression." *Modern Pathology* 15(1): 35-44
- Ribeiro, F. R., C. B. Diep, et al. (2006). "Statistical dissection of genetic pathways involved in prostate carcinogenesis." *Genes Chromosomes Cancer* 45(2): 154-63
- Ribeiro, F. R., R. Henrique, et al. (2007). "Relative copy number gain of MYC in diagnostic needle biopsies is an independent prognostic factor for prostate cancer patients." *European Urology* 52(1): 116-125
- Ribeiro, F. R., C. Jeronimo, et al. (2006). "8q gain is an independent predictor of poor survival in diagnostic needle biopsies from prostate cancer suspects." *Clin Cancer Res* 12(13): 3961-70
- Rip, J., M. C. Nierman, et al. (2006). "Lipoprotein lipase S447X: a naturally occurring gain-of-function mutation." *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 26(6): 1236-45

- Rodriguez-Pinilla, S. M., R. L. Jones, et al. (2007). "MYC amplification in breast cancer: a chromogenic in situ hybridisation study." *J Clin Pathol* 60(9): 1017-23
- Rohde, V., A. Katalinic, et al. (2007). *Prostataerkrankungen, Gesundheitsberichterstattung des Bundes; Heft 36*. Berlin, Robert Koch-Institut: 7-21
- Ross, R. K., A. Paganini-Hill, et al. (1983). "The etiology of prostate cancer: what does the epidemiology suggest?" *Prostate* 4(4): 333-44
- Rübben, H. (2007). *Uroonkologie Berlin, Heidelberg, Springer Medizin Verlag Heidelberg*, 4. vollständig überarbeitete Auflage: 418-519
- Sato, K., J. Qian, et al. (1999). "Clinical significance of alterations of chromosome 8 in high-grade, advanced, nonmetastatic prostate carcinoma." *J Natl Cancer Inst* 91(18): 1574-1580
- Sauter, G., L. Bubendorf, et al. (1998). "Cytogenetic changes in prostatic carcinoma." *Pathologie* 19(1): 63-8
- Sauter, G., R. Simon, et al. (2003). "Tissue microarrays in drug discovery." *Nat Rev Drug Discov* 2(12): 962-72
- Schlomm, T., A. Erbersdobler, et al. (2007). "Molecular staging of prostate cancer in the year 2007." *World J Urol* 25(1): 19-30
- Schlomm, T., H. Sultmann, et al. (2008). "Identification and validation of clinically relevant molecular alterations in prostate cancer." *Urologe A* 47(9): 1193-8
- Schlotter, C. M., U. Vogt, et al. (2003). "C-myc, not HER-2/neu, can predict recurrence and mortality of patients with node-negative breast cancer." *Breast Cancer Res* 5(2): R30-6
- Schroder, F. H., I. van der Crujisen-Koeter, et al. (2000). "Prostate cancer detection at low prostate specific antigen." *J Urol* 163(3): 806-12
- Sheiness, D., L. Fanshier, et al. (1978). "Identification of nucleotide sequences which may encode the oncogenic capacity of avian retrovirus MC29." *J Virol* 28(2): 600-10
- Simon, R., M. Mirlacher, et al. (2004). "Tissue microarrays." *Methods Mol Med* 97: 377-89
- Simon, R., M. Mirlacher, et al. (2005). "Tissue microarrays." *Methods Mol Med* 114: 257-68

- Sökeland, J., H. Schulze, et al. (2008). Taschenlehrbuch Urologie: 39 Tabellen. Stuttgart u.a., Thieme, 14. vollständig überarbeitete Auflage: 312-42
- Sonn, G. A., W. Aronson, et al. (2005). "Impact of diet on prostate cancer: a review." *Prostate Cancer Prostatic Dis* 8(4): 304-10
- Sun, J., W. Liu, et al. (2007). "DNA copy number alterations in prostate cancers: a combined analysis of published CGH studies." *The Prostate* 67(7): 692-700
- Svanholm, H. und H. Mygind (1985). "Prostatic carcinoma reproducibility of histologic grading." *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand A* 93(2): 67-71
- Teixeira, M. R., F. R. Ribeiro, et al. (2004). "Genomic analysis of prostate carcinoma specimens obtained via ultrasound-guided needle biopsy may be of use in preoperative decision-making." *Cancer* 101(8): 1786-93
- Torhorst, J., C. Bucher, et al. (2001). "Tissue microarrays for rapid linking of molecular changes to clinical endpoints." *Am J Pathol* 159(6): 2249-56
- Tsuchiya, N., J. M. Slezak, et al. (2002). "Clinical significance of alterations of chromosome 8 detected by fluorescence in situ hybridization analysis in pathologic organ-confined prostate cancer." *Genes Chromosomes Cancer* 34(4): 363-71
- UPMC, UPMC Cancer Centers: Schematic diagram of the Gleason grading system, reference images appear by courtesy of Dr. D.F. Gleason, Minneapolis, Minnesota, Integrated design by courtesy of Pittsburgh Supercomputing Center, [Online im Internet] URL: http://www.webmicroscope.net/gleason/gleason_reference.asp [Stand: 14.10.2009]
- van Dekken, H., J. C. Alers, et al. (2003). "Genetic evaluation of localized prostate cancer in a cohort of forty patients: gain of distal 8q discriminates between progressors and nonprogressors." *Lab Invest* 83(6): 789-96
- Verhage, B. A. und L. A. Kiemeny (2003). "Inherited predisposition to prostate cancer." *Eur J Epidemiol* 18(11): 1027-36
- Visakorpi, T., A. H. Kallioniemi, et al. (1995). "Genetic changes in primary and recurrent prostate cancer by comparative genomic hybridization." *Cancer Research* 55(2): 342-7

- Vita, M. und M. Henriksson (2006). "The Myc oncoprotein as a therapeutic target for human cancer." *Semin Cancer Biol* 16(4): 318-30
- Walsh, P. C., A. W. Partin, et al. (1994). "Cancer control and quality of life following anatomical radical retropubic prostatectomy: results at 10 years." *J Urol* 152(5 Pt 2): 1831-6
- Wang, Y., J. G. Corr, et al. (1995). "Decreased growth of established human prostate LNCaP tumors in nude mice fed a low-fat diet." *J Natl Cancer Inst* 87(19): 1456-62
- Whittemore, A. S., A. H. Wu, et al. (1995). "Family history and prostate cancer risk in black, white, and Asian men in the United States and Canada." *Am J Epidemiol* 141(8): 732-40
- Wolter, H., H. W. Gottfried, et al. (2002). "Genetic changes in stage pT2N0 prostate cancer studied by comparative genomic hybridization." *Investigative Urology* 89(3): 310-6
- Wong, H. und M. C. Schotz (2002). "The lipase gene family." *J Lipid Res* 43(7): 993-9
- Yang, G. F., C. S. Deng, et al. (2004). "Expression of nuclear factor-kappa B and target genes in gastric precancerous lesions and adenocarcinoma: association with *Helicobacter pylori* cagA (+) infection." *World J Gastroenterol* 10(4): 491-6
- Zeng, X., S. F. Wu, et al. (2006). "Relationship between chromosome 8 alterations and Gleason score in prostatic adenocarcinoma." *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi* 35(9): 523-8

7. Danksagung

Zuerst möchte ich mich bei meinem Doktorvater **Herrn Prof. Dr. med. Guido Sauter**, leitender Arzt des Instituts für Pathologie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf, für die Bereitstellung des Themas und die Leitung der Promotion bedanken. Seine unermüdliche Unterstützung und fachliche Kompetenz hat diese Arbeit überhaupt erst möglich gemacht. Die Beschäftigung mit der Promotion hat mir den Weg zur wissenschaftlichen Denk- und Arbeitsweise eröffnet und mir Freude an der wissenschaftlichen Arbeit vermittelt.

Einen besonderen Dank möchte ich **Herrn Dr. med. Jozef Zustin** aussprechen, der mit mir zusammen viele Stunden bei der Auswertung des Materials verbracht hat und welcher beim Erstellen und Bearbeiten der Promotion immer ein offenes Ohr für mich hatte. Ohne seine ausgezeichnete und intensive Betreuung wäre mir diese Promotion nicht so gut gelungen.

Weiterhin möchte ich mich bedanken

beim Leiter der Martiniklinik **Herrn Prof. Dr. med. Hartwig Huland**, beim Leiter der Klinik für Urologie im Albertinen Krankenhaus **Herrn Prof. Dr. med. Klaus-Peter Dieckmann** und den in Hamburg ansässigen Urologen für die Bereitstellung des Untersuchungsmaterials und für die Überlassung der klinischen Daten,

bei **Herrn Dr. rer. nat. Olaf Hellwinkel** für die tatkräftige Unterstützung bei der Datenverarbeitung und Statistik,

bei **Herrn Dr. med. Hendrik Isbarn** und **Herrn Dr. med. Thorsten Schlomm** für die Hilfe beim Erstellen und Bearbeiten der klinischen Daten,

bei **Frau Mirlacher** und **allen Laborantinnen** des Instituts des UKE für ihre tatkräftige Unterstützung beim Erstellen des Arrays,

bei der Leiterin des FISH-Labors **Frau Schnoeger** und besonders **Herrn MTA Eghtessadi** für die 8p und 8q FISH-Sequenzierung und der Assistenzärztin **Dr. M. C. Tsourlakis** für die Hilfe bei der Auswertung des sequenzierten Materials,

bei meinem Kommilitonen **Herrn cand. Dr. med. Alexander El-Gammal** für die sehr gute Zusammenarbeit im Rahmen unserer Publikation und die Unterstützung bei der Erstellung der FISH-Abbildungen.

8. Lebenslauf

Name Brüchmann
Vorname Michael
Geburtsdatum 24. Juli 1983
Geburtsort Hamburg
Anschrift Jägerdamm 27, 22455 Hamburg

Schulbildung

1990-1992 Grundschule Sethweg in Hamburg
1992-1994 kath. Grundschule Eberhofweg in Hamburg
1994-2003 kath. Gymnasium Sankt-Ansgar-Schule in Hamburg

Bundeswehr

2003- 2004 Grundwehrdienst im Sanitätsdienst der Bundeswehr

Hochschulbildung

Von April 2004 bis Juli 2009 Studium der Zahnmedizin an der Universität Hamburg
März 2005 naturwissenschaftliche Vorprüfung
Oktober 2006 zahnärztliche Vorprüfung (Physikum)
Juli 2009 zahnärztliche Prüfung (Staatsexamen)
seit August 2009 Assistenzzeit in niedergelassener Zahnarztpraxis in Hamburg

Promotion

seit November 2006: „Chromosom 8p Deletionen und 8q Zugewinne in der Progression des Prostatakarzinoms“, Institut für Pathologie, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

Publikation

A. T. El-Gammal, **M. Brüchmann**, J. Zustin, H. Isbarn, O. J. C. Hellwinkel, J. Köllermann, G. Sauter, R. Simon, W. Wilczak, J. Schwarz, C. Bokemeyer, T. Brümmendorf, J. R. Izbicki, M. Fisch, H. Huland, M. Graefen, T. Schlomm. (Publikation in progress): “Chromosom 8p deletions and 8q gains are associated with tumor progression and poor prognosis in prostate cancer.” Clinical Cancer Research 2009

Hamburg, den 14.10.2009

Michael Brüchmann

9. Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

14.10.2009 Michael Brüchmann

Unterschrift