

Aus der Klinik für Urologie der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg in Zusammenarbeit mit der uro-onkologischen Gemeinschaftspraxis ATURO

PSMA-Expression in Prostatakarzinomgewebe und auf zirkulierenden Tumorzellen bei Patienten mit metastasiertem Prostatakarzinom

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des Doktorgrades

Dr. med.

(doctor medicinae)

an der Medizinischen Fakultät
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg

vorgelegt von Marcel Oliver Boede

aus Berlin

Dokumentationsblatt

Bibliographische Beschreibung:

Boede, Marcel Oliver: PSMA-Expression in Prostatakarzinomgewebe und auf zirkulierenden Tumorzellen bei Patienten mit metastasiertem Prostatakarzinom

2019. - 84 Blatt, 20 Abbildungen, 9 Tabellen, 14 Anlagen

Kurzreferat:

Tumorspezifische Biomarker sind für Patienten mit malignen Erkrankungen von immenser Bedeutung. Im Rahmen der personalisierten Medizin haben zirkulierende Tumorzellen (CTCs) das Potential sowohl Stratifizierung als auch Monitoring einer zielgerichteten Krebstherapie zu unterstützen. Für Patienten mit metastasiertem Prostatakarzinom (mPCa) ist diesbezüglich das prostataspezifische Membranantigen (PSMA) eine interessante Zielstruktur, insbesondere vor dem Hintergrund neu aufkommender zielgerichteter PSMA-Therapien.

Ziel dieser Arbeit war die Etablierung und Verifizierung des PSMA-Nachweises auf CTCs mittels CellSearch® sowie die Erschließung möglicher Zusammenhänge von PSMA-Expressionen im Tumorgewebe und auf CTCs. Zudem wurde erstmals untersucht, inwiefern sich Patienten hinsichtlich klinischer und laborchemischer Parameter bei unterschiedlichem CTC-PSMA-Status unterscheiden. Diese Unterschiede wurden auch zwischen Patienten mit prognostisch günstiger (< 5) bzw. ungünstiger (≥ 5) CTC-Anzahl analysiert.

Im Rahmen der Studie erfolgte bei 30 Patienten mit mPCa eine CTC-Charakterisierung mittels CellSearch®. Biopsiematerial des Primärtumors und detektierte CTCs wurden auf PSMA untersucht. Klinische und laborchemische Daten der Patienten wurden retrospektiv erhoben. Die Studie zeigte, dass die individuelle PSMA-Expression von der Anzahl PSMA-positiver Tumorzellen abhängt. Die PSMA-Expression im Primärtumorgewebe korreliert negativ mit der Expression auf CTCs im späteren Krankheitsverlauf. Mit steigender CTC-Anzahl nimmt außerdem die PSMA-Expression auf CTCs zu. Tendenziell hatten Patienten mit PSMA-positiven CTCs oder prognostisch ungünstiger CTC-Anzahl höhere Spiegel von alkalischer Phosphatase und Laktatdehydrogenase. Diese Unterschiede waren jedoch aufgrund der geringen Patientenzahl nicht signifikant.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Untersuchung von Primärtumorgewebe nicht geeignet erscheint, die PSMA-Expression auf CTCs im späteren Krankheitsverlauf vorherzusagen. Die durchgeführte Studie bietet die Grundlage für eine mögliche Stratifizierung PSMA-gerichteter Therapien bei Patienten mit mPCa. Es ist mit dem CellSearch®-Verfahren möglich CTCs zu detektieren und deren PSMA-Expression zu bestimmen. Patienten bei denen überwiegend PSMA-negative CTCs nachgewiesen werden, profitieren möglicherweise weniger von PSMA-gerichteten Therapien.

Schlüsselwörter: Zirkulierende Tumorzellen (CTC), PSMA, Prostatakarzinom, Biomarker

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	5
1. Einführung.....	7
1.1. Prostatakarzinom.....	7
1.1.1. Epidemiologie.....	7
1.1.2. Risikofaktoren / Ätiologie.....	7
1.1.3. Pathologische Aspekte.....	8
1.1.4. Diagnostik und klinisches <i>Staging</i>	10
1.1.5. Therapie des metastasierten kastrationsnaiven PCa.....	12
1.1.6. Therapie des metastasierten kastrationsresistenten PCa.....	14
1.1.7. Zielgerichtete PSMA-Therapien.....	18
1.2. Prostataspezifisches Membranantigen (PSMA).....	19
1.3. Zirkulierende Tumorzellen (CTCs).....	20
1.3.1. Biologie der CTCs.....	20
1.3.2. Detektion von CTCs.....	21
2. Ziele und Fragestellungen der Arbeit.....	24
3. Material und Methoden.....	25
3.1. Einschluss- und Ausschlusskriterien.....	25
3.2. Quantifizierung und Bestimmung der PSMA-Expression.....	25
3.3. Detektion der CTCs mittels CellSearch®.....	26
3.4. Datenerfassung.....	27
3.5. Ethik.....	28
3.6. Anmerkungen zur statistischen Auswertung.....	28
4. Ergebnisse.....	30
4.1. PSMA-Expression der PCa-Zelllinien.....	30
4.2. PSMA-Expression im Biopsiematerial und auf CTCs.....	31
4.2.1. PSMA-Expression im Biopsiematerial.....	31
4.2.2. PSMA-Expression der CTCs.....	31
4.2.3. Korrelation zwischen PSMA-Expression der CTCs und PSMA-Expression des Primärtumors.....	34
4.3. PSMA-Profil der CTCs und klinisch-laborchemische Parameter.....	35
4.3.1. Patientencharakteristika.....	35
4.3.2. Deskriptive Statistik und einfaktorielle ANOVA bei der Analyse des PSMA-Profiles der CTCs und der klinisch-laborchemischen Parameter.....	37
4.3.3. Korrelation des PSMA-Profiles der CTCs und den klinisch-laborchemischen Parametern.....	42
4.4. Anzahl der CTCs und klinisch-laborchemische Parameter.....	44

4.4.1. Deskriptive Statistik und einfaktorielle ANOVA bei der Analyse der Anzahl der CTCs und der klinisch-laborchemischen Parameter	44
4.4.2. Korrelation zwischen der Anzahl der CTCs und den klinisch-laborchemischen Parametern	49
5. Diskussion.....	51
5.1. PSMA-Expression der PCa-Zelllinien, des Primärtumorgewebes und der CTCs.....	51
5.1.1. PSMA-Expression der PCa-Zelllinien	51
5.1.2. PSMA-Expression des Primärtumorgewebes und der CTCs	52
5.2. PSMA-Profil der CTCs und klinisch-laborchemische Parameter	55
5.3. CTC-Anzahl und klinisch-laborchemische Parameter.....	56
5.4. Klinische Relevanz einer PSMA-Expression auf CTCs	58
5.5. Weitere Limitationen	60
5.6. Aussagefähigkeit.....	61
5.7. Fazit.....	61
5.8. Ausblick und offene Fragen.....	62
6. Zusammenfassung	63
7. Literaturverzeichnis	64
8. Danksagung	74
9. Ehrenerklärung.....	75
10. Curriculum Vitae.....	76
11. Anhang.....	78

Abkürzungsverzeichnis

AAH	atypische adenomatöse Hyperplasie
ADC	<i>antibody-drug conjugates</i>
ADT	Androgendeprivationstherapie
AMACR	Alpha-Methylacyl-CoA Racemase
ANOVA	<i>analysis of variance</i>
AP	alkalische Phosphatase
AR	Androgenrezeptor
ASAP	<i>atypical small acinar proliferation</i>
BPH	benigne Prostatahyperplasie
CD	<i>cluster of differentiation</i>
CT	Computertomographie
CTC	<i>circulating tumor cell</i>
CYP17	Cytochrom P450c17
DAPI	4',6-Diamidin-2-phenylindol
DHEA	Dehydroepiandrosteron
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DRU	digital rektale Untersuchung
EBRT	<i>external beam radiation therapy</i>
ECOG	<i>Eastern Cooperative Oncology Group</i>
ED	Erkrankungsdauer
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EMT	Epidermal-mesenchymale-Transition
EpCAM	<i>epithelial cell adhesion molecule</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
GEDI	<i>geometrically enhanced differential immunocapture</i>
GS	<i>Gleason Score</i>
HB	Hämoglobin
HDR	<i>high-dose-rate</i>
HR	<i>hazard ratio</i>
HT	Hormontherapie
IgG	Immunglobulin G
KLK3	<i>Kallikrein-related peptidase 3</i>
LDH	Laktatdehydrogenase
LDR	<i>low-dose-rate</i>
LHRH	luteinisierendes Hormon <i>Releasing-Hormon</i>
mCNPCa	metastasiertes kastrationsnaives Prostatakarzinom

mCRPCa	metastasiertes kastrationsresistentes Prostatakarzinom
MET	Mesenchymal-epidermale-Transition
mPCa	metastasiertes Prostatakarzinom
mRNA	<i>messenger ribonucleic acid</i>
MRT	Magnetresonanztomographie
PCa	Prostatakarzinom
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PIN	prostatiscche intraepitheliale Neoplasie
PSA	prostataspezifisches Antigen
PSMA	prostataspezifisches Membranantigen
PSMA-IS	prostataspezifisches Membranantigen-Intensitäts-Score
RP	radikale Prostatektomie
RECIST	<i>Response Evaluation Criteria In Solid Tumors</i>
RLT	Radioligandtherapie
SSE	symptomatische skelettale Ereignisse
STD	<i>sexual transmitted disease</i>
TAT	<i>targeted α-therapy</i>
TrkB	<i>Tropomyosin receptor kinase B</i>
TRUS	Transrektaler Ultraschall
UAW	Unerwünschte Arzneimittelwirkung
UICC	<i>Union internationale contre le cancer</i>
UKE	Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
VACURG	<i>Veterans Administration Cooperative Urological Research Group</i>
VEGF	<i>vascular endothelial growth factor</i>

1. Einführung

1.1. Prostatakarzinom

1.1.1. Epidemiologie

Das Prostatakarzinom (PCa) ist der häufigste maligne Tumor des Mannes in Deutschland. Im Jahre 2014 betrug die Anzahl der Neuerkrankungen ca. 57.370 und soll prognostisch auf etwa 60.700 anwachsen (Jahr 2018). Die Anzahl an diagnostizierten Neuerkrankungen wird vermutlich wegen des demografischen Wandels mit zunehmend alternder Bevölkerung in den folgenden Jahren weiterhin steigen. Im internationalen Vergleich zeigen im europäischen Raum Schweden und Finnland die höchsten Inzidenzraten [1]. Weltweit kommt es jedes Jahr zu über 1,1 Millionen Neuerkrankungen, sowie 300.000 Prostatakarzinom-spezifischen Todesfällen [2]. Innerhalb verschiedener ethnischer Gruppen eines Landes bestehen dabei zum Teil Unterschiede in der Neuerkrankungsrate. In den USA beispielsweise, wo weltweit die höchste Inzidenzrate von 124,8 Neuerkrankungen pro 100.000 Männer besteht, konnte dieses Gefälle gut gezeigt werden. Bei US-Bürgern mit weißem Hautkolorit konnte eine Inzidenz von 107,8 (pro 100.000 Männer) ermittelt werden, während die Inzidenz bei afroamerikanischen US-Bürgern dagegen bei 185,4 lag [3]. Im Vergleich ist das PCa zwar ein eher langsam wachsender Tumor, forderte allerdings aufgrund der absoluten Häufigkeit 13.704 Todesfälle im Jahr 2014 und positioniert sich damit direkt hinter dem Bronchialkarzinom an zweiter Stelle bei den Tumor-bedingten Sterbefällen in Deutschland. Die altersstandardisierte Sterberate ist in Deutschland in den letzten 25 Jahren zunehmend zurückgegangen. Das mittlere Erkrankungsalter liegt derzeit bei 72 Jahren, wobei die relative 5-Jahres-Überlebensrate bei ungefähr 91 % liegt [1]. In den westlichen Industrieländern haben Männer ein Risiko von 40 % an einem PCa zu erkranken, wobei davon 10 % symptomatisch werden und etwa 3 % tatsächlich daran versterben [4].

1.1.2. Risikofaktoren / Ätiologie

Zu den anerkannten Risikofaktoren für das PCa zählen das Alter, die Zugehörigkeit zu bestimmten ethnischen Gruppen sowie eine familiäre Disposition [3, 5-7]. Neben diesen unbeeinflussbaren Risikofaktoren scheinen allerdings auch andere Faktoren wie Ernährung [8], körperliche Betätigung und sexuelle Aktivität [9] bei der Tumorgenese des PCa eine Rolle zu spielen.

Als wahrscheinlich wichtigster Risikofaktor gilt das Alter. Zwar bestehen international Unterschiede bezüglich der Inzidenz in einzelnen Altersgruppen, doch konnte sehr konsistent gezeigt werden, dass die Neuerkrankungsrate mit dem Alter weltweit zunimmt [3]. Außerdem ist beim PCa die Erkrankungswahrscheinlichkeit bei familiärer Disposition erhöht. Dies zeigte die Auswertung von Registerdaten. Der Sohn eines an einem PCa erkrankten Mannes hat im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung ein über zweifach erhöhtes Risiko (HR 2,1), ebenfalls ein

PCa zu entwickeln [5, 7]. Ein ähnlicher Zusammenhang bezüglich des Auftretens von PCa konnte auch unter Brüdern festgestellt werden. Das relative Risiko ist dabei unter Brüdern geringfügig höher als bei der Vater-Sohn-Konstellation [7]. Pathophysiologisch liegen hier wahrscheinlich vererbte Polymorphismen und Mutationen einer Vielzahl von Genen vor. Zum Beispiel ist die Variante G84E des Gens HOXB13 signifikant assoziiert mit der hereditären Form des PCa [10]. Zusätzlich scheint die Höhe des Gleason Score proportional mit dem Erkrankungsrisiko des Familienmitgliedes einherzugehen [6]. Weltweit betrachtet weist die asiatische Bevölkerung die niedrigsten Inzidenzraten auf. Asiaten, die nach Nordamerika oder Europa immigrieren, haben ein erhöhtes Erkrankungsrisiko. Da sich die Inzidenzraten allerdings nicht vollständig angleichen, scheint neben den übernommenen „Life Style“ Faktoren, wie Ernährung und weiteren Umwelteinflüssen, die ethnische Zugehörigkeit ein wesentlicher Einflussparameter zu sein [11, 12]. Wie auch bei anderen Tumorerkrankungen liegt die Vermutung nahe, dass die Ernährung bzw. einzelne Komponenten der Nahrung ebenfalls das Risiko für ein PCa beeinflussen können. Derzeit existieren diverse Studien, die einen möglichen Zusammenhang von hohem Calcium- und Phosphatkonsum und dem erhöhten Risiko für ein PCa vermuten lassen [13, 14]. Ein weiterer Faktor stellt eine chronische Entzündung dar, wie sie beispielsweise im Rahmen einer STD (*sexual transmitted disease*) auftreten kann. Hier scheint es eine positive Korrelation zwischen der Entstehung eines PCa und einer chronischen Prostatitis zu geben [9].

1.1.3. Pathologische Aspekte

Bei dem PCa kann zwischen einem latenten, inzidentellen und okkultem PCa differenziert werden. Das latente PCa stellt einen Zufallsbefund bei der Autopsie des Patienten dar und trat vor dem Tod klinisch nicht in Erscheinung. Werden Patienten initial aufgrund anderer Beschwerden der Prostata therapiert und hierbei eine Gewebeentnahme (z.B. während einer transurethralen Resektion der Prostata- TURP) durchgeführt, welche die Diagnose PCa ergibt, handelt es sich um ein inzidentelles PCa. Okkulte PCa treten durch die Feststellung von Metastasen in Erscheinung, wobei der Primärtumor noch nicht erkannt wurde [15]. Mit ca. 70 bis 75 % liegt der bedeutende Großteil der PCa in der peripheren Zone der Prostata. Die restlichen PCa treten normalerweise in der Transitionalzone (auch Übergangszone genannt) auf. Karzinome die von Zellen der periurethralen Zone ausgehen kommen nur sehr sporadisch vor [16]. Zu 95 % handelt es sich beim PCa um ein epitheliales Adenokarzinom. Daneben existieren eine Vielzahl von anderen malignen Neoplasien der Prostata, wie beispielsweise das muzinöse oder das duktales Adenokarzinom, das Plattenepithelkarzinom der Prostata sowie Tumoren mit neuroendokriner Differenzierung [17]. Vorläufer malignen Prostatagewebes stellen die atypische adenomatöse Hyperplasie (AAH), die atypische mikroglanduläre Proliferation (auch ASAP) und die prostatistische intraepitheliale Neoplasie (PIN) dar. Die AAH beschreibt verdächtige Gewebeareale, die nach neueren Vermutungen im

Zusammenhang mit der PIN stehen [18]. Bei der ASAP (*atypical small acinar proliferation*) handelt es sich um ein Areal mit suspekter Drüsenarchitektur, welches nicht durch mikroskopische und immunhistochemische Charakteristika konkret als benigne oder maligne eingestuft werden kann [19]. Die PIN hingegen bezeichnet definitionsgemäß einen regelrechten Aufbau prostaticher Drüsen mit vereinzelt dysplastischen Zellen. Je nach Anzahl entdifferenzierter Zellen und deren Morphologie wird zusätzlich zwischen einer *low* und einer *high-grade* PIN unterschieden. Insbesondere die *high-grade* PIN gilt als direkte Vorstufe des Adenokarzinoms der Prostata und wird daher als Präkanzerose eingeschätzt. Allerdings konnte ebenfalls gezeigt werden, dass Karzinome auch ohne PIN entstehen können [20, 21]. Werden in einer Stanzbiopsie *high-grade* PIN oder ASAP gefunden, wird später dringend zu einer erneuten Biopsie geraten, da hier das Risiko bei bis zu 47 % liegt, dass ein PCa im Verlauf diagnostiziert wird [22]. Morphologisch kommt es bei den entarteten Zellen des Adenokarzinoms zum Verlust der Polarität, d.h. es sind keine drüsentypischen Basalzellen zu finden, die sonst immunhistologisch über Zytokeratine angefärbt werden können [23].

Der *Gleason Score* (GS) stellt das weltweit am häufigsten verwendete *Grading* System des Adenokarzinoms der Prostata dar. Er geht auf den amerikanischen Pathologen Dr. Donald F. Gleason und Kollegen der *Veterans Administration Cooperative Urological Research Group* (VACURG) zurück, welche dieses prostataspezifische *Grading* in den 1960er und 1970er Jahren entwickelten [24]. Es basiert auf den Anordnungsmustern von Tumorzellen (Drüsenmuster) im histologischen Schnitt, anhand derer auf den Differenzierungsgrad sowie auf die Prognose der Erkrankung rückgeschlossen werden kann [25]. Der Grad der Differenzierung wird zunächst nach morphologischen Gesichtspunkten beurteilt und einer Ziffer von 1 bis 5 zugeteilt. Ein höherer Ziffernwert bedeutet eine stärkere Entdifferenzierung. Durch die Addition zweier Werte wird letztlich der GS gebildet. Ab einem GS von 3 handelt es sich um ein PCa. Es muss allerdings zwischen einer Stanzbiopsie und einer entfernten Prostata nach radikaler Prostatektomie (RP) unterschieden werden. Im Falle einer Stanzbiopsie werden bei Begutachtung der Proben der quantitativ am häufigsten anzutreffenden Grad mit dem am stärksten entdifferenzierten Grad addiert. Dagegen werden nach RP die beiden quantitativ häufigsten Grade addiert [26]. Der GS hat eine hohe Vorhersagekraft für das krankheitsspezifische Überleben nach Prostatektomie und ist einer der wichtigsten prognostischen Faktoren für den Krankheitsverlauf sowie das Therapieansprechen [27].

Die lymphogene Metastasierung kann sowohl in regionäre als auch in extraregionäre Lymphknoten erfolgen. Hämatogen siedeln sich Tumorzellen als Fernmetastasen auch in anderen Organen ab. Prostatakarzinomzellen gelangen häufig retrograd in den prävertebralen Venenplexus und bilden daher in erster Linie osteoblastische Metastasenherde im Knochengewebe von Becken, Wirbelsäule und Femur [15].

1.1.4. Diagnostik und klinisches *Staging*

Das PCa wird oft erst relativ spät symptomatisch [28]. Eine Früherkennung erfolgt häufig im Rahmen der Vorsorgeuntersuchungen für Männer ab dem 45. Lebensjahr. Dabei können bei der digitalen rektalen Untersuchung (DRU) zu Beginn tastbare, lokalisierte, derbe Areale an der sonst prall-elastischen Prostata auffallen. Später kann man eventuell eine derbe, asymmetrische (schmerzlose) Prostata tasten. Mit Progredienz der Erkrankungen kommen hingegen Symptome hinzu. Bei Wachstum mit einer Volumenzunahme im Bereich des Urethralumens kann es zur Einengung kommen und somit zu dysurischen Beschwerden mit Abnahme des Harnstrahls, Pollakisurie und Drangsymptomatik bis hin zum Harnverhalt mit konsekutiver Harnstauung. Eine Infiltration der Sphinktermuskulatur des Miktionsapparates geht mit einer Harninkontinenz einher. Außerdem können erektile Dysfunktion sowie Hämaturie und Hämatospermie infolge von Gefäßarrosionen oder Nerveninfiltration auftreten. Schmerzen im Bereich des Beckens oder der lumbalen Wirbelsäule deuten auf eine bereits stattgefundene ossäre Metastasierung hin. Daneben kann es gelegentlich auch zu Lymphödemen der unteren Extremitäten oder anderen Beeinträchtigungen wie Anämie und Leistungsminderung kommen [29].

Der etablierte Tumormarker des PCa ist derzeit das prostataspezifische Antigen (PSA) und wird sowohl beim *Screening*, als auch zur Verlaufskontrolle bei erkrankten Patienten verwendet [30]. Es ist eine Serinprotease, die zu den Kallikreinen zählt (KLK3). Die Synthese findet im Drüsenepithel der Prostata statt und unterliegt einem androgenabhängigen Synthesemechanismus. Aktivierte Androgenrezeptoren (AR) fungieren als Transkriptionsfaktoren für das KLK3-Gen und führen so zur vermehrten Synthese des PSA [31]. Die Hauptfunktion besteht in der Verflüssigung des Ejakulates [32]. Da das PSA lediglich in der Prostata produziert wird, ist es zwar organspezifisch, jedoch nicht tumorspezifisch. Es ist daher logischer beim PSA von einem Organmarker zu sprechen und nicht von einem Tumormarker. Erhöhungen des PSA-Wertes im Blut können demzufolge ebenso durch eine benigne Prostatahyperplasie (BPH), eine Prostatitis oder eine mechanische Stimulation provoziert werden [33]. Als allgemeiner Grenzwert für das Gesamt-PSA gelten 4 ng/ml im Blut. Werte darüber hinaus sollten nach 6-8 Wochen kontrolliert werden. Bei bestätigter PSA-Erhöhung ist eine Prostata-Biopsie in Erwägung zu ziehen [34]. Bislang konnte die Bestimmung des PSA-Wertes im Rahmen der Früherkennung keinen eindeutigen positiven Einfluss auf das Gesamtüberleben und die prostatakarzinomspezifische Mortalität zeigen, wengleich in diversen Studien der Anteil diagnostizierter PCa in der *Screening*-Gruppe signifikant höher war, als in der Kontrollgruppe [35, 36]. Daher kann es durch ein unselektioniertes *Screening* zu einer Vielzahl von Überdiagnosen und damit verbundenen unnötigen Überbehandlungen mit unerwünschten Nebenwirkungen (Inkontinenz, Impotenz) kommen [37]. Eine schwedische Studie zeigte eindrücklich, dass der Nutzen der

Früherkennung mittels PSA-*Screening* kritisch zu hinterfragen ist. Um einen Todesfall durch PCa zu verhindern, mussten 293 Männer *gescreent* werden, was aber gleichzeitig zu zwölf Überbehandlungen führte [38]. Obwohl die Datenlage eher gegen den Nutzen des *Screenings* mittels PSA spricht, wird es (auch aufgrund mangelnder Alternativen) routinemäßig im klinischen Alltag eingesetzt. Die Empfehlung der aktuellen deutschen Leitlinie bezüglich des PSA Tests lautet, Männer ab dem 45. Lebensjahr mit einer Lebenserwartung von über zehn Jahren dahingehend kritisch zu informieren [34].

Um ein umfassendes klinisches Bild des Patienten hinsichtlich des Stadiums der Erkrankung zu erhalten wird ein klinisches *Staging* durchgeführt, bei welchem die lokale Tumorausdehnung (T), der Lymphknotenstatus (N) sowie eine stattgefundene (sichtbare) Metastasierung (M) in Knochen oder anderen Organe beurteilt wird. Im Folgenden werden die einzelnen diagnostischen *Staging*-Methoden näher erläutert.

Die digital rektale Untersuchung (DRU) kann bei auffälligem Befund erste Hinweise auf einen Tumor der Prostata liefern. 18 % aller diagnostizierten PCa fallen zunächst durch eine DRU auf (unabhängig vom PSA). Ab einem Volumen von mindestens 0,2 ml kann ein Tumor möglicherweise ertastet werden [39]. Bei suspekten Tastbefunden erfolgen genauere Untersuchungen, wie zum Beispiel der transrektale Ultraschall (TRUS). Dieser wird hauptsächlich bei suspekten Tastbefunden der Prostata oder nach mehreren erhöhten PSA-Werten (> 4 ng/dl) in Vorbereitung der eventuell später notwendigen Biopsie durchgeführt [40]. Bei fortgeschrittenem Krankheitsverlauf kann eine lokale Tumordinfiltration von Nachbarstrukturen wie den Samenbläschen oder der Harnblase durch den TRUS erkannt werden [41]. Die Biopsie dient zur Sicherung der Karzinomdiagnose und erfolgt in der Regel transrektal. Mit mindestens 10 Stanzzyllindern werden systematisch Gewebeprobe aus allen Bereichen der Prostata entnommen [40].

Für das weitere *Staging* nach Tumordiagnose können zusätzlich bildgebende Verfahren eingesetzt werden. Die Computertomographie (CT) eignet sich insbesondere zur Diagnostik eines organüberschreitenden Tumorwachstums, der Infiltration von Nachbarorganen, einer Fernmetastasierung in viszerale Organe (Leber, Lunge, Gehirn) sowie von Metastasen in iliakalen, inguinalen und retroperitonealen Lymphknoten. Zur genaueren Darstellung der Randbereiche der Prostata und des Beckens kann auch eine Magnetresonanztomographie (MRT) durchgeführt werden. Eine Ganzkörper-Skelettszintigrafie dient der Detektion von Knochenmetastasen [41]. Bei Verdacht auf ein Tumorrezidiv nach primär kurativer Therapie (Operation, Bestrahlung) kann seit einigen Jahren auch die PSMA-PET/CT (prostataspezifisches Membranantigen Positronen-Emissions-Tomographie) durchgeführt werden. Bei dieser Technik kann die Kombination aus Funktions- und Bildanalyse Stoffwechselprozesse und PSMA-reiches Gewebe im Körper darstellen. Nach aktueller

Leitlinie sollte ein PSMA-PET/CT nur eingesetzt werden, wenn sich eine therapeutische Konsequenz daraus ergibt [34].

Das PCa wird abschließend in verschiedene Stadien anhand der TNM Klassifikation der *Union internationale contre le cancer* (UICC) eingeteilt (siehe Tabelle 1).

1.1.5. Therapie des metastasierten kastrationsnaiven PCa

Das metastasierte kastrationsnaive PCa (mCNPcCa) erfordert per Definition das Vorliegen von Metastasen in Lymphknoten, Knochen und/oder viszerale Organen und stellt somit Stadium IV nach UICC dar. In diesem Erkrankungsstadium ist die Therapie als palliativ anzusehen.

Nach aktueller Leitlinie kann mit einer Androgendeprivationstherapie (ADT) begonnen. Das Prinzip der primären hormonablativen Therapien stützt sich darauf, dass die Drüsenzellen der Prostata u.a. testosteronabhängig wachsen. Adenokarzinome, die aus diesen Zellen hervorgehen, können dieselbe Eigenschaft aufweisen und daher durch Testosteronentzug gehemmt werden. Im Verlauf einer Therapie kann es jedoch durch Anpassungsmechanismen des Tumors zu einer Resistenz kommen. Es konnte eine Korrelation zwischen Tumorprogress und einem Anstieg der Androgenrezeptor- mRNA (*messenger ribonucleic acid*) mit konsekutiver Zunahme intrazellulärer Androgenrezeptoren (AR) beobachtet werden. Die pathophysiologischen Mechanismen beruhen auf Mutationen, die zu veränderten Funktionen der AR führen [42]. Bei den hormonablativen Maßnahmen ist das primäre Ziel zunächst die Kastration, wobei das Kastrationslevel bei einem Serumtestosteronwert von < 5 ng/dl liegen sollte. Dies kann sowohl medikamentös als auch chirurgisch mittels Orchiektomie erfolgen [29]. Die primäre ADT kann über LHRH-Analoga (luteinisierendes Hormon *Releasing*-Hormon) wie z.B. Goserelin, Buserelin, Leuproline oder Antagonisten (z.B. Degarelix, Abarelix) erfolgen. Bei Gefahr von spinalen Komplikationen, wie einer Myelokompression, wird hingegen aufgrund des schnelleren Erreichen des Kastrationslevels ohne vorherigen passageren Anstieg des Testosterons die bilaterale Orchiektomie oder die Therapie mit LHRH-Antagonisten empfohlen [27]. Die Gabe von LHRH-Analoga wird am häufigsten eingesetzt und führt durch dauerhaft unphysiologisch hohe Spiegel des Hormons im Blut zur Unempfindlichkeit korrespondierender Rezeptoren (Desensibilisierung) der Hypophyse und damit zur Hemmung der Gonadotropin-Sekretion. Durch den Abfall der Testosteronproduktion erklären sich die Nebenwirkungen wie Osteoporose, Abnahme von Muskelmasse, Libido sowie Sexualfunktion, Fatigue, Hitzewallungen und andere [29]. Mittels LHRH-Agonisten kann durchschnittlich nach 2-4 Wochen das Kastrationslevel erreicht werden [43]. Dies gelingt bei ungefähr 10 % der Patienten nur unzureichend [44]. Regelmäßig kommt es durch den vorübergehenden Testosteronanstieg zu Beginn der LHRH-Therapie zum *flare-up phenomenon*. Dies wird insbesondere bei ausgedehnter Metastasierung durch vermehrten Knochenschmerz, seltener durch Nierenversagen, spinaler Myelokompression, akuten Harnverhalt, erhöhter Koagulabilität oder kardiovaskuläre Ereignisse bemerkbar [45].

Tabelle 1 TNM Klassifikation des PCa [46]

Stadium	Beschreibung
Tx	Es kann keine Aussage zur Ausdehnung des Primärtumors getroffen werden.
T1	Der Tumor ist klein und nicht tastbar. Er wird zufällig im Rahmen einer Prostataoperation wegen BPH oder erhöhter PSA-Werte gefunden (Inzidentaltumor).
T1a	Der Tumor befällt weniger als 5 % des Gewebes.
T1b	Der Tumor befällt mehr als 5 % des Gewebes.
T1c	Der Tumor wurde durch eine Nadelbiopsie diagnostiziert.
T2	Der Tumor liegt noch innerhalb der Prostatakapsel.
T2a	Der Tumor befällt weniger als 50 % eines Seitenlappens.
T2b	Der Tumor befällt mehr als 50 % eines Seitenlappens.
T2c	Der Tumor befällt beide Seitenlappen.
T3	Der Tumor hat sich über die Prostatakapsel hinaus ausgebreitet.
T3a	Der Tumor hat sich über die Prostatakapsel ausgebreitet ohne die Samenblase zu befallen.
T3b	Der Tumor hat sich über die Prostatakapsel ausgebreitet und befällt die Samenblase.
T4	Der Tumor hat Nachbarstrukturen befallen (infiltriert) oder ist fixiert (nicht verschieblich).
Nx	Es kann keine Aussage zu regionären Lymphknotenmetastasen getroffen werden.
N0	Keine Metastasen in den regionären Lymphknoten.
N1	Metastasen in regionären Lymphknoten.
M0	Keine Fernmetastasen nachweisbar.
M1	Der Tumor hat Fernmetastasen gebildet.
M1a	Metastasen in anderen Lymphknoten (nicht regionäre Lymphknoten).
M1b	Metastasen in den Knochen.
M1c	Metastasen in anderen Organen und/oder Strukturen.

Tabelle 2 UICC Stadium des PCa [46]

UICC – Stadium	TNM
I	Bis T2a
II	T2b oder T2c
III	T3
IV	T4 oder N1 oder M1

Zur Vermeidung dieses Phänomens kann insbesondere bei hoher Metastasenlast die parallele Gabe eines nichtsteroidalen Antiandrogens (z.B. Bicalutamid) zur Blockung der Testosteronwirkung am Androgenrezeptor erfolgen. Vielfach werden bei geringer Metastasenlast auch nur Antiandrogene zur Therapie eingesetzt, da diese den Testosteronspiegel im Blut erhalten und folglich im Vergleich zur Kastrationsmethode ein geringeres Nebenwirkungsprofil bezüglich Leistungsfähigkeit und Sexualfunktion zeigen. Nachteilig ist allerdings, dass es zu einer vergleichbar kürzeren progressionsfreien Überlebenszeit kommt [47]. Eine frühzeitige ADT wird insbesondere Patienten mit einem symptomatischen metastasierten PCa (mPCa) empfohlen, da statistisch das progressionsfreie Überleben gesteigert sowie die therapiebedingten Langzeitkomplikationen reduziert werden können [48].

Ziel der bilateralen subkapsulären Orchiektomie ist es, das hormonaktive (Testosteron bildende) Gewebe zu entfernen und dabei den Nebenhoden, Samenstrang und die Tunica albuginea im Skrotum zu belassen. Abgesehen von allgemeinen Operationsrisiken, wie Wundheilungsstörungen oder Infektionen, kann es hierbei zu einem Hämatom innerhalb der Hodenhüllen kommen [49]. Die Vorteile dieser Operation bestehen, wie bereits oben erwähnt, in der besonders rasch einsetzenden Wirkung und der sehr geringen Operationsmorbidity. Zudem stellt sie eine zuverlässige und kostengünstige Option bei fraglich adhärennten Patienten dar [50]. Andererseits ist die Operation nicht umkehrbar und somit dauerhaft. Abgesehen davon verbleibt eine Restproduktion von Androgenen in der Nebennierenrinde. Neuere Studien wiesen einen deutlichen Überlebensvorteil für mCNPCa-Patienten mit erhöhtem Risiko (hohe Metastasenzahl, viszerale Metastasen, hoher GS) nach, wenn diese primär neben der ADT eine Chemotherapie mit Docetaxel (CHAARTED-Studie, STAMPEDE-Studie) oder eine Therapie mit Abirateron, einem Androgensyntheseinhibitor der neuen Generation, erhalten haben (LATITUDE-Studie) [51-53].

1.1.6. Therapie des metastasierten kastrationsresistenten PCa

Kommt es zu einer bildmorphologischen (radiologischen) Progression der Erkrankung oder einem Anstieg der PSA-Werte (biochemische Progression) trotz ausreichender ADT (d.h. Serumtestosteronspiegel < 5 ng/dl) spricht man von einem metastasierten kastrationsresistenten PCa (mCRPCa) [54]. Die biochemische Progression ist durch einen dreimaligen PSA-Anstieg in wöchentlich aufeinanderfolgenden Messungen definiert, wobei ein Wert über 50 % des PSA-Nadir bei einem PSA > 2 ng/ml liegt. Eine radiologische Progression liegt vor, wenn zwei oder mehr neue Läsionen im Knochen oder eine Vermehrung von viszeralen Metastasen gemäß RECIST (*Response Evaluation Criteria In Solid Tumors*) Kriterien in einer Bildgebung erkennbar sind. Die alleinige Zunahme einer krankheitsbezogenen Beschwerdesymptomatik unter der ADT zählt hingegen nicht als

Charakteristikum für ein mCRPCa [27]. Während bis vor ungefähr 10 Jahren kaum effiziente Therapiemöglichkeiten für solche Patienten existierten, gibt es heute eine Vielzahl von Optionen. Zu den am häufigsten eingesetzten Substanzen zählen

1. Sipuleucel T (in Deutschland derzeit nicht verfügbar),
2. Abirateronacetat,
3. Enzalutamid,
4. Docetaxel (sowie andere Taxane) und
5. Radium-223.

Die individuell optimale Therapiesequenz für den Patienten ist bislang, aufgrund mangelnder Studiendaten und prädiktiver Marker, schwer zu ermitteln. Bei asymptomatischen oder gering symptomatischen Patienten kann ein abwartendes Vorgehen indiziert sein, solange die Tumorlast gering und die Progredienz sehr langsam ist. Andernfalls kann eine Therapie mit Abirateron, Enzalutamid oder Docetaxel begonnen werden. Ist der Patient mit einem mCRPCa bereits symptomatisch und bereits mit 2 Medikamenten vortherapiert, kann auch eine Therapie mit Radium-223 bei ossärer Metastasierung erwogen werden. Zur Osteoprotektion (Knochenschutz zur Vermeidung von Komplikationen ossärer Metastasen) wird die zusätzliche Gabe von Bisphosphonaten (z.B. Zoledronsäure) oder Denosumab in Kombination mit Vitamin D und Calcium empfohlen [34].

Auch wenn in Deutschland derzeit nicht zugelassen, ist Sipuleucel T ein interessanter Therapieansatz. Das Medikament gehört zu den therapeutischen Krebsimpfstoffen und ist allgemein den Immuntherapien zuzuordnen. Dazu werden dem Patienten aktivierte mononukleäre Zellen retransfundiert, welche zuvor dem peripheren Blut entnommen und mit einem rekombinanten Fusionsprotein inkubiert wurden. Das Fusionsprotein beinhaltet ein Prostataantigen (prostatische saure Phosphatase) sowie den Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-stimulierenden-Faktor. Dadurch sollen die Immunzellen des Körpers gezielt auf das Karzinom aufmerksam gemacht werden. In einer Placebo-kontrollierten Phase III Studie konnte die Therapie mit Sipuleucel T die mittlere Überlebenszeit um ca. 4,1 Monate verbessern (25,8 vs. 21,7 Monate). Allerdings war kein Effekt auf die progressionsfreie Überlebenszeit zu beobachten [55, 56].

Abirateronacetat (kurz Abirateron) ist ein Pharmakon aus der Klasse der Steroide und für die Therapie des mCRPCa in Kombination mit Prednison bei asymptomatischen oder mild symptomatischen Patienten zugelassen. Zunächst nur als Folgetherapie nach Chemotherapie zugelassen, ist die Gabe des Medikamentes aufgrund neuer Studienergebnisse auch bei chemo-naiven Patienten möglich [34]. Das Wirkprinzip beruht auf einer irreversiblen Hemmung des Enzymes Cytochrom P450c17 (CYP17 - 17 α -Hydroxylase/C17,20-Lyase), welches Progesteron und Pregnenolon in die Androgene Dehydroepiandrosteron und Androstendion umwandelt. Eine Blockade des CYP17-Enzyms führt somit zur Reduktion der extratestikulären

Androgenproduktion. Prednison wird zur Hemmung der kompensatorisch einsetzenden Überproduktion an Mineralokortikoiden in der Nebennierenrinde gegeben [57]. Die Therapie mit Abirateron konnte beispielsweise in einer groß angelegten prospektiven Studie (COU-AA-302) mit 1088 Patienten verschiedene positive Effekte zeigen. Unter anderem konnte neben einer Verbesserung des Gesamtüberlebens um 4,4 Monate eine Verlängerung der progressionsfreien Überlebensrate um 8 Monate verzeichnet werden [58]. Die Patienten der Verumgruppe brauchten außerdem erst später im Krankheitsverlauf Opioide zur Kontrolle der Tumor-assoziierten Schmerzen und zeigten eine geringere Einschränkung des *Performance Status* (ECOG). Zudem konnte eine Verlangsamung der PSA-Progression und ein Aufschub der Chemotherapie erreicht werden, was insgesamt in dem mit Abirateron behandelten Patientenkollektiv eine höhere gesundheitsbezogene Lebensqualität zur Folge hatte. Im Gegensatz dazu stehen unerwünschte Nebenwirkungen, die hauptsächlich die Leber, das Herz und den Mineralhaushalt (Hypokaliämie, periphere Ödeme) betreffen [59].

Enzalutamid zählt zu den neuartigen nichtsteroidalen Antiandrogenen. Es inhibiert den AR-Signalweg, indem kompetitiv die Bindung der Androgene an den AR blockiert, die Translokation aktivierter Rezeptoren in den Nukleus unterbunden und deren Bindung an die DNA gehemmt wird. Zugelassen ist es bei Patienten mit mCRPCa nach unzureichender ADT oder einer progressiven Erkrankung trotz Docetaxel basierter Chemotherapie [60]. In diversen Studien konnten Vorteile der Therapie mit Enzalutamid gegenüber Placebo gezeigt werden. Die Phase III - PREVAIL Studie ergab bei chemonaiven Patienten unter ADT eine signifikante Verbesserung hinsichtlich des radiographischen progressionsfreien Überlebens (nach 12 Monaten 65 % mit Enzalutamid vs. 14 % mit Placebo). Zudem konnte der Einsatz von Chemotherapeutika durch Enzalutamid erheblich verzögert werden (28 vs. 10,8 Monaten). Weiterhin konnten positive Effekte in Bezug auf das Gesamtüberleben bei Einnahme von Enzalutamid nach vorangegangener Chemotherapie gegenüber Placebo gezeigt werden [61]. Im Verum-Arm kam es hingegen auch zu vermehrten unerwünschten Arzneimittelwirkungen (UAW). Zu den häufigsten UAW zählen Fatigue, Rückenschmerzen, Obstipationen/Diarrhöen, Arthralgien und Hitzewallungen [62].

Zu den Medikamenten mit zytotoxischer Wirkung, die beim PCa verwendet werden zählen Mitoxantron, Estramustin und Taxane. Mitoxantron gehört zur Gruppe der Anthrazykline und hat zwei verschiedene Wirkmechanismen über die es zum Zelluntergang führt. Es kann mit dem DNA-Strang interkalieren [63] und gleichzeitig das Enzym Topoisomerase II hemmen. Dieses wiederum besitzt eine Reparaturfunktion und lockert die DNA für bevorstehende Replikationsprozesse auf [64]. Bei Patienten mit symptomatischem mCRPCa konnte Mitoxantron zusammen mit Prednison im palliativen Stadium das Serum PSA senken, die Lebensqualität verbessern und wurde (trotz bekannter Kardiotoxizität) relativ gut vertragen. Allerdings führte die Applikation des Medikamentes nicht zu einer Lebensverlängerung [65].

Estramustin ist chemisch betrachtet eine Kombination aus Östrogenderivat und Alkylanz. Auch die Gabe von Estramustin konnte gegenüber der Gabe eines Placebos einen PSA-Abfall zeigen, bewirkte aber keine Lebensverlängerung und konnte den Krankheitsprogress nicht verzögern [66].

Die Gruppe der Taxane umfasst im Wesentlichen die für die Therapie des PCa wichtigen Substanzen Docetaxel, Paclitaxel und Cabazitaxel. Die Wirkung wird über eine Interaktion mit dem Spindelapparat erzielt, welcher für die Mitose unerlässlich ist. Der Abbau der Mikrotubuli wird blockiert und damit die regelrechte Verteilung des Erbgutes in die Tochterzellen verhindert. Es kann keine Zellteilung stattfinden. Folglich kommt es zur Apoptose, was insbesondere sich schnell teilende Tumorzellen betrifft [67]. Docetaxel wird als Erstlinien-Chemotherapie beim mCRPCa eingesetzt, da es eine signifikante Lebensverlängerung im Vergleich zu den bisherigen Therapien erreichen konnte. In der Zulassungsstudie TAX 327 verglich man die wöchentliche und 3-wöchige Applikation von Docetaxel/Prednison mit der herkömmlichen Therapie bestehend aus Mitoxantron/Prednison alle 3 Wochen. Eine mediane Überlebenszeit von 16,5 Monate wurde in der Mitoxantron Gruppe erreicht, während es bei Patienten mit Docetaxel alle 3 Wochen 18,9 Monate bzw. Docetaxel wöchentlich 17,4 Monate waren. Zusätzlich konnte eine erhöhte Rate an PSA Remissionen ($\geq 50\%$ Reduktion des PSA-Wertes über 4 Wochen), eine Reduktion von Schmerzen und eine bessere Lebensqualität verzeichnet werden [68]. Da entsprechende Studienergebnisse vorliegen, die die Gabe von Docetaxel/Prednison alle 3 Wochen favorisieren, hat sich dieses Schema durchgesetzt [69]. Die SWOG 9916-Studie verglich hingegen Mitoxantron/Prednison mit der Gabe von Docetaxel/Dexamethason und Estramustin jeweils alle 3 Wochen. Hier konnten ebenfalls Daten erhoben werden, die auf einen Vorteil Docetaxel-basierter Chemotherapie hindeuten. Es zeigte sich ein stärkerer PSA-Abfall, eine ausgeprägtere objektive Tumorresponse und eine Verlängerung des progressionsfreien Überlebens sowie Gesamtüberlebens [70]. Jedoch kam es auch vermehrt zu Nebenwirkungen, insbesondere Leukozytopenien, Neutropenien, Thrombozytopenien, Anämien, Fatigue, Mukosiden, Diarrhö, Übelkeit/Erbrechen, Alopezien, Myalgien, Polyneuropathien und allergischen Reaktionen [68]. Das neuere Taxan Cabazitaxel konnte in Kombination mit Prednison als *2nd line* Therapie bei Patienten mit mCRPCa im Progress nach vorrangegangener Docetaxel basierter Chemotherapie ein verbessertes Gesamtüberleben zeigen [71]. Die Wirkung basiert möglicherweise auf der Überwindung einer Docetaxelresistenz [72, 73]. Im direkten Vergleich mit Docetaxel konnte für Cabazitaxel in der Erstlinientherapie kein signifikanter Vorteil nachgewiesen werden [74].

Eine weitere Therapieoption beim mCRPCa ist die Applikation von Radium-223-Dichlorid (Radium-223 oder auch Alpharadin). Radium-223 ist ein Alpha-Strahler und kombiniert als „Radiopharmakon“ die Funktionsweise und Effekte einer Radiotherapie mit einer Pharmakotherapie. Als Kalziummimetikum lagert es sich bevorzugt in Knochengewebe mit

erhöhtem Umsatz ein (osteoblastische Metastasen) und gibt dort hochenergetische Alphapartikel mit kurzer Reichweite (weniger als 100µm) ab. Diese verursachen durch die emittierte energiereiche Strahlung unter anderem Doppelstrangbrüche in den umliegenden Tumorzellen. Bei mangelnder Reparaturkompetenz führt dies zum Zelluntergang und somit zur Reduktion des Metastasengewebes [75]. Es ist seit Ende 2013 in Deutschland zugelassen und eignet sich für Patienten mit symptomatischen Knochenmetastasen ohne begleitende Weichteilmetastasen. Zu den wichtigsten klinischen Effekten, die in der Placebo-kontrollierten Phase III Studie ALSYMPCA gezeigt wurden, zählen eine Reduktion der ossär bedingten Schmerzen, die Prävention bzw. Verzögerung des Eintretens von symptomatischen skelettalen Ereignissen (SSE) um 5,8 Monate und die Verlängerung des Gesamtüberlebens um ca. 3,6 Monate (14,9 vs. 11,3 Monate) [76]. Die unerwünschten Nebenwirkungen von Radium-223 sind selten und beschränken sich zumeist auf das hämatopoetische System, den Gastrointestinaltrakt sowie Fatigue. Relativ häufig kommt es zu Thrombozytopenien, selten zu Diarrhö, Übelkeit und Erbrechen. Ferner wurden Panzytopenien und isolierte Neutro- sowie Leukopenien festgestellt, wobei das Medikament sonst sehr gut vertragen wurde [77, 78]. Aufgrund neuerer Studiendaten mit Nachweis höherer Frakturnraten kann Radium-223 aktuell nur noch nach 2 vorangegangenen anderen Therapien des mCRPCa (*3rd line* z.B. nach Docetaxel und Abirateron) als alleinige Therapie neben der ADT eingesetzt werden [79].

1.1.7. Zielgerichtete PSMA-Therapien

Bei Patienten mit austherapiertem mCRPCa (in Studien auch in früheren Stadien) kann eine zielgerichtete PSMA-Therapie (prostataspezifisches Membranantigen) als experimentelles Verfahren eingesetzt werden. Diese Therapieform macht sich den Umstand zunutze, dass sowohl Primärtumor als auch Metastasen häufig das Protein PSMA in hoher Konzentration exprimieren [80, 81]. Am häufigsten kommen PSMA-Radioligand-Therapien (PSMA-RLT) zum Einsatz.

Bei der PSMA-RLT sind kleine Moleküle (z.B. PSMA-617) mit radioaktiven Liganden gekoppelt. Dieser Komplex bindet an PSMA, wobei der radioaktive Ligand (z.B. Lutetium-177 kurz ¹⁷⁷Lu) bei Zerfall β-Strahlung emittiert, was lokal zur Reduktion der Tumormasse führt [82]. Das derzeit am meisten verwendete Radiopharmakon ist ¹⁷⁷Lu-PSMA; auch ¹⁷⁷Lu-PSMA-617. Die Kombination dieses Moleküls mit ⁶⁸Ga (Gallium-68) wird als ¹⁷⁷Lu-PSMA I&T (*imaging and therapy*) bezeichnet. Die klinische Überlegenheit eines dieser Pharmaka ist bislang noch nicht nachgewiesen worden [83]. Aktuell wird die Indikation für eine ¹⁷⁷Lu-PSMA-RLT aufgrund vieler Voraussetzungen eher selten gestellt. Nach der Deutschen Gesellschaft für Nuklearmedizin kann nach Prüfung folgender Kriterien eine PSMA-RLT erfolgen [84]:

1. histologisch gesichertes PCa,
2. nicht resektable Metastasen,
3. Tumorprogress trotz leitliniengerechter Therapie,

4. nachgewiesene PSMA-Expression des Tumors,
5. angemessener hämatologischer Status (Leukozytenzahl $> 2,0 \times 10^9/l$ und Thrombozytenzahl $> 75 \times 10^9/l$),
6. normale oder leicht eingeschränkte Nierenfunktion (Kreatinin $< 2 \times$ oberer Referenzwert),
7. ausreichende Leberfunktion (ASAT oder ALAT $< 5 \times$ oberer Referenzwert) und
8. letzte myelosuppressive Therapie > 6 Wochen.

Nach aktueller Studienlage stellt die PSMA-RLT eine möglicherweise Prognose-verbessernde Therapieoption für multimodal vorbehandelte Patienten mit mCRPCa dar. Die aktuelle Evidenz dieser Therapieform wird fast ausschließlich von retrospektiven Studien hergeleitet. Zu den Vorteilen der PSMA-RLT gehören insbesondere ein verlängertes Gesamtüberleben sowie ein verlängertes progressionsfreies Überleben [85, 86]. Zudem sind keine Kreuzresistenzen zu Vorbehandlungen bekannt [87]. Ferner wird eine relativ gute Verträglichkeit [88, 89] und sogar eine analgetische Wirkung beschrieben [89].

Zu den potentiellen Nebenwirkungen zählen neben einer Knochenmarks- und Nephrotoxizität Affektionen der Speicheldrüsen im Sinne einer Xerostomie, auch wenn diese in bisherigen Studien mit ^{177}Lu -PSMA fast gar nicht beobachtet wurden [88]. Für Patienten, die nicht auf eine PSMA-RLT ansprechen, existiert als neue und experimentelle Therapiemodalität die *targeted α -therapy* (TAT). Bei dieser Therapieform ist der radioaktive Ligand Astat-211 (^{211}At), Actinium-225 (^{225}Ac) oder Bismut 213 (^{213}Bi). Der Zerfall führt im Gegensatz zu der bislang durchgeführten PSMA-RLT zur Emission von α -Strahlung. Der Vorteil dieser Therapie besteht insbesondere in der kürzeren Reichweite der Strahlung, sodass die Nebenwirkungen bezüglich der Hämatotoxizität potentiell geringer ist [90]. Zudem besteht auch die Möglichkeit (im Gegensatz zu den *small molecules*) an PSMA-Antikörper (z.B. J591) radioaktive Liganden oder andere Wirkstoffe zu koppeln [91, 92].

1.2. Prostataspezifisches Membranantigen (PSMA)

PSMA, auch N-Acetyl-L-aspartyl-L-glutamatpeptidase I (NAALADase I), Folathydrolase I oder Glutamatcarboxypeptidase II genannt, ist ein Membranprotein. Physiologischerweise wird es hauptsächlich von epithelialen Prostatazellen, allerdings auch zum geringeren Prozentsatz von Zellen des proximalen Tubulus der Niere, Gliazellen des Nervensystems und von Enterozyten des Jejunums, exprimiert. Während PSMA im Jejunum Funktionen für den Vitaminstoffwechsel übernimmt, hat es im Nervensystem vermutlich eher eine Bedeutung für den Glutamat-Stoffwechsel [93]. Weiterhin ließ sich auch das Vorkommen von PSMA auf den Endothelien von Gefäßen in verschiedenen soliden Tumoren nachweisen, welche durch Neovaskularisation entstanden sind [94]. Das PSMA wurde als erstes mithilfe des monoklonalen IgG1 Antikörpers 7E11-C5.3 in einer Zellkultur entdeckt, die aus androgenabhängigen Prostatakarzinomzellen (LNCaP) bestand [95]. Daher galt es auch als

sensitiv und hochspezifisch für Tumorzellen des Adenokarzinoms der Prostata [96-98]. Mit dem Grad der Malignität des PCa steigt ebenfalls bis zu einem gewissen Grad die Expression des PSMA. So weist gesundes Prostatagewebe eine viel kleinere PSMA-Dichte auf als Karzinome und deren Metastasen [99]. In *in vitro* Experimenten konnte in Prostatakarzinomzellen mit hohem PSMA-Gehalt ein erhöhter Folatspiegel festgestellt werden, was theoretisch Vorteile für die Proliferation bieten könnte [100]. Zudem konnte gezeigt werden, dass PSMA vermehrt nach ADT exprimiert wird [80]. Im klinischen Kontext ist PSMA als Zielstruktur für die PSMA PET/CT bedeutsam. Daneben basieren auch einige neuere zielgerichtete Therapien auf einer Interaktion mit PSMA auf Tumorzellen (siehe 1.1.6.). Wang *et al.* beschrieben erstmals, dass im Blut von Patienten mit PCa zirkulierende Tumorzellen zu finden sind, welche sich auf PSMA anfärben lassen [101].

1.3. Zirkulierende Tumorzellen (CTCs)

Bei Patienten mit malignen Tumoren führen hauptsächlich die Metastasen zum „krebsbezogenen“ Tod. Der Übergang eines lokalen Tumors zur metastasierten Systemerkrankung erfolgt über jene Tumorzellen, die sich aus ihrem Zellverbund lösen und über Blut- oder Lymphgefäße verschiedene Organe erreichen und dort Metastasen bilden. Nach der *seed and soil* Theorie ist das Entstehen von Metastasen das Produkt von diversen Interaktionen zwischen metastasierten Tumorzellen (*seed*) und dem Mikromilieu des Zielorgans (*soil*) [102]. Tumorzellen, die sich vom Primärtumor oder Metastasen ablösen und im Blut bewegen, werden als zirkulierende Tumorzellen (*circulating tumor cells* – CTCs) bezeichnet [103]. Aktuell findet die Detektion von CTCs eher im Bereich der Forschung statt. In mittlerweile zahlreichen klinischen Studien wurden Patienten mit malignen Tumoren in fortgeschrittenen Stadien eingeschlossen. Bei PCa Patienten konnten CTCs in lokalisierten sowie metastasierten Stadien nachgewiesen werden. Dabei konnte eine signifikante Korrelation zwischen der Anzahl der CTCs und der Prognose des Patienten gezeigt werden. Patienten im UICC Stadium IV mit mehr als 4 CTCs pro 7,5 ml Blut haben ein signifikant kürzeres progressionsfreies Überleben sowie Gesamtüberleben [104-106]. Ähnliches konnte auch beim Kolorektalen – oder Mammakarzinom festgestellt werden. Derzeit erscheinen eine Fülle von Studien, die zeigen, dass nahezu bei jeder Tumorentität CTCs detektiert werden können [107, 108].

1.3.1. Biologie der CTCs

Die Fähigkeit eines Tumors zu metastasieren, definiert ihn *per se* als malignen Tumor. Im lokalisierten Stadium existiert eine Vielzahl von unterschiedlich charakterisierbaren Tumorzellen, deren Fähigkeiten dem Tumor einen Wachstums- und Überlebensvorteil bieten. Die einzelnen pathophysiologisch relevanten Fähigkeiten und Merkmale von Tumorzellen werden auch als *Hallmarks* bezeichnet [109]. Malignomen ist es durch Mechanismen wie der

Synthese des VEGF (*vascular endothelial growth factor*) möglich, eine Angiogenese zu induzieren. Dies unterstützt einerseits die Versorgung der Tumorzellen mit Nährstoffen und ermöglicht andererseits den Kontakt zwischen entarteten Zellen und dem Gefäßendothel. Der Tumor wird somit potentiell zur hämatogenen Metastasierung befähigt. Eine Infiltration der lymphatischen Gefäße resultiert demnach in einer möglichen lymphogenen Metastasierung [109]. Diese neuen Mikrogefäße weisen allerdings häufig strukturelle Diskrepanzen auf, was sich in labileren Endothelkontakten widerspiegelt. Dies erleichtert es Tumorzellen zu emigrieren [110]. Für die Metastasierung spielen eine Reihe weiterer Faktoren eine wichtige Rolle um der einzelnen Tumorzelle eines Zellverbundes eine Ablösung, Zirkulation und erneute Anheftung mit anschließendem Wachstum zu ermöglichen. Ein Modell der Pathogenese beschreibt hierfür die Umwandlung des Phänotyps der Tumorzelle von epithelial in mesenchymal [111]. Dafür werden gezielt Zellprogramme eingeleitet, die Zell-Zell-Kontakte trennen und die Polarität von Zellen auflösen. Dieser Prozess der epidermal-mesenchymalen-Transition (EMT) spielt physiologisch eine wichtige Rolle während der Embryogenese, Wundheilung sowie Geweberegeneration [112]; pathophysiologisch allerdings auch bei der Metastasierung [113]. Für die EMT sind eine Vielzahl von Biomarkern bzw. Transkriptionsfaktoren bekannt, anhand derer sich Zellen hinsichtlich ihres epidermalen (EpCAM, E-Cadherin) oder mesenchymalen (Vimentin, TWIST, AKT2, PIK3 α , N-Cadherin etc.) Phänotyps einordnen lassen [114]. CTCs haben zudem Fähigkeiten, die ihnen ein Überleben im Blutgefäßsystem ermöglichen, wobei die Überlebenszeit der CTCs zirka 24 Stunden beträgt [115]. Mit abgeschlossener EMT werden Scherkräfte innerhalb des Blutstroms besser toleriert, wohingegen epitheliale Zellen hierdurch z.T. negativ selektiert werden. Die Expression der TrkB (*tropomyosin-related kinase B*) erschwert direkte Zellkontakte und hemmt somit die Weitergabe von Apoptosesignalen. Über die Bildung von CD47 wird eine Immuntoleranz induziert. Beide Mechanismen tragen zu einer höheren Überlebenschance der Tumorzellen im Blutkreislauf bei. Interaktionen mit Thrombozyten erleichtern zudem den Kontakt mit dem Endothel der Blutgefäße [103]. Tumorzellen, die eine EMT durchlaufen haben, müssen umgekehrt die Umwandlung vom mesenchymalen in den epidermalen Phänotyp vollziehen, um Metastasen bilden zu können. Dies wird als mesenchymale-epidermale-Transition (MET) bezeichnet [114].

Diverse Experimente zeigen jedoch, dass nicht alle CTCs dazu befähigt sind und daher nur eine Subgruppe („*culprit-cells*“) in der Lage ist, Metastasen zu generieren [104, 116].

Im Hinblick auf diagnostische und therapeutische Möglichkeiten ist insbesondere die genomische Ähnlichkeit der CTCs zu Tumor und Metastasen von Bedeutung [117].

1.3.2. Detektion von CTCs

Mittlerweile existiert eine beträchtliche Anzahl von Methoden um CTCs zu isolieren bzw. zu detektieren. Die Verfahren unterscheiden sich dabei nicht nur in der Art der Detektion, sondern

auch in Hinsicht auf Sensitivität, Spezifität, Reliabilität, Kosteneffektivität sowie Geschwindigkeit und anderen Parametern. Dabei ist zu beachten, dass auf eine CTC geschätzt 10^6 bis 10^7 Zellen im peripheren Blut kommen. Da CTCs im Blut heterogen erscheinen können, sind zur Detektion mehrere Marker erforderlich, um die Effektivität der jeweiligen Methode zu erhöhen [118]. Aufgrund der Fülle an Techniken (über 40) wird hier nur auf die wichtigsten Methoden, stellvertretend für unterschiedliche Prinzipien und Strategien der Detektion von CTCs, eingegangen [119]. Im methodischen Abschnitt der vorliegenden Arbeit wird detailliert auf die in der Studie verwendete Technik CellSearch® eingegangen. Je nach angewandter Methodik werden verschiedene physikalische und biochemische Eigenschaften der CTCs ausgenutzt, um diese selektieren zu können. Prinzipiell kann man diese in drei unterschiedliche Domänen zusammenfassen:

1. Immunologische Verfahren,
2. zytometrische (physikalische) Verfahren und
3. direkte Analyse.

Den immunologischen Verfahren ist das Markieren von Zielstrukturen auf CTCs mit Antikörpern gemein. EpCAM (*epithelial cell adhesion molecule*) gilt hierbei als verlässliches *target*. Über weitere Prozesse können markierte Zellen anschließend von den übrigen Blutzellen separiert werden. Zu den Vertretern dieser Methode zählen beispielsweise das CellSearch® System (s.u.), der AdnaTest® (Adnagen AG, Langenhagen, Germany) [120] und das MagSweeper-Verfahren [121]. Die hierbei verwendeten Antikörper sind mit kleinen, magnetischen Kügelchen (*magnetic beads*) gekoppelt und können über ein magnetisches Feld Zellen aussortieren. Zudem wurden auch verschiedene Arten von Chips entwickelt, die auf ihrer Oberfläche ebenfalls Antikörper gegen Zielstrukturen von CTCs haben. Neben diesen Techniken, die CTCs positiv selektieren, wurden auch Methoden entwickelt um andere Blutzellen mit Antikörpern (CD45, CD14) negativ zu selektieren - sog. Leukozytendepletion [114].

Zytometrische Verfahren bedienen sich physikalischer Eigenschaften von CTCs, um diese von anderen Zellen zu trennen. CTCs weisen aufgrund ihrer Größe eine höhere Dichte auf und werden bei der Zentrifugation von Blutproben in tiefere Fraktionen (Mononukleozyten) als Erythrozyten und Granulozyten gepresst. Im Rahmen der Mikrofiltration wird nach dem Prinzip eines Siebs die Blutprobe durch ein aus Kammern aufgebautes System geleitet. Dabei können kleinere Zellen wie Erythrozyten und Leukozyten die Kammern ungehindert passieren und werden ausgeleitet, während CTCs im System gefangen bleiben. Auf dieser Basis wurden andere Techniken im Bereich der Mikrofluidik entwickelt, die zusätzlich noch die Verformbarkeit der Zellen berücksichtigen. Bei Verfahren, welche eine Dielektrophorese verwenden, macht man sich den Umstand zunutze, dass in einem elektrischen Feld die

Krafteinwirkung proportional zum Volumen der Zellen ist und so kleinere Zellen aussortiert werden können [114].

Die direkte Analyse hat als Charakteristikum einen hohen Durchfluss an Zellen, die gleichzeitig analysiert werden können. Im Wesentlichen gibt es hier zwei verschiedene Methoden, bei welchen die Blutproben kaum vorbehandelt werden müssen. Ein fiberoptisches System wurde von Kivacic *et al.* entwickelt und verspricht, bis zu 300.000 Zellen/s scannen zu können. Als Vorbereitung wird eine Lyse der Erythrozyten durchgeführt [122]. Eine ebenfalls hohe Durchflussrate mit 10^7 Zellen/min wird bei dem Mikro-Hall Sensor erzielt. CTCs werden hier ebenfalls mit Antikörpern (gekoppelt mit magnetischen Nanopartikeln) markiert und anschließend am Sensor vorbeigeführt. Der induzierte magnetische Fluss gibt abschließend Aufschluss über die Anzahl der CTCs [123].

2. Ziele und Fragestellungen der Arbeit

Die steigende Anzahl an neuen gezielten Krebstherapien (*target therapy*) erfordert weitere Biomarker, die valide Aussagen über Ansprechen und Prognose liefern. Aktuell wird die Indikation für gezielte Krebstherapien unter anderem aufgrund der direkten histopathologischen und molekularbiologischen Analyse von Primärtumor- oder Metastasengewebe gestellt. Die Gewinnung des Gewebes kann allerdings aufwendig, risikobehaftet oder nicht immer durchführbar sein. Als Alternative bzw. Ergänzung hierfür kann die Detektion von CTCs als Biomarker und Verbindungsstück von Diagnostik und Therapie dienen. Einen besonderen Stellenwert beim mCRPCa haben insbesondere die zielgerichteten PSMA-Therapien.

In Kooperation mit dem Institut für Tumorbilogie der Universitätsklinik Hamburg-Eppendorf (UKE) bestand das primäre Ziel dieser Arbeit in der Etablierung einer PSMA-Markierung auf CTCs mit dem CellSearch®-Verfahren. Die Analyse von Primärtumorgewebe sowie laborchemischen und klinischen Parametern bei Patienten mit metastasiertem PCa sollte Hinweise auf mögliche Zusammenhänge von charakterisierten CTCs und dem PSMA Status liefern. Entsprechende Leitfragen hierzu waren:

- I. Korreliert die Expression von PSMA im Primärtumorgewebe mit der Expression von PSMA auf isolierten CTCs im späteren Krankheitsverlauf?
- II. Unterscheiden sich Patienten mit PSMA-positiven CTCs von anderen Patienten mit metastasiertem PCa?
- III. Korreliert die PSMA-Expression auf CTCs mit klinischen (GS, TNM, aktuelle und initiale Therapie) und/oder laborchemischen (PSA, AP, LDH, HB) Parametern?
- IV. Inwiefern unterscheiden sich Patienten mit prognostisch ungünstiger Anzahl an CTCs von anderen Patienten mit metastasiertem PCa?
- V. Korreliert die Anzahl der CTCs mit den ermittelten klinischen und laborchemischen Parametern?

3. Material und Methoden

Bei der vorliegenden Arbeit wurde eine retrospektive Analyse von elektronischen Patientenakten der uro-onkologischen Praxis ATURO in Berlin-Wilmersdorf durchgeführt. Es wurden sowohl klinische Patientencharakteristika als auch laborchemische Marker dem Softwaresystem *MEDISTAR* (CompuGroup Medical Deutschland AG, Koblenz) entnommen und anschließend analysiert. Daten über die PSMA-Anfärbung von Gewebe und CTCs erhielten wir von dem Kollegen Dr. rer. nat. Tobias Gorges und seiner Arbeitsgruppe (Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Institut für Tumorbiologie, 20246 Hamburg). Sie erstellten in diesem Kontext ein Protokoll zur Anfärbung von PSMA auf CTCs.

3.1. Einschluss- und Ausschlusskriterien

Einschlusskriterien

Eingeschlossen wurden alle Patienten mit einem metastasierten PCa (N1 oder M1 nach TNM bzw. UICC Stadium IV), die in dem Zeitraum vom 05.11.2014 bis zum 01.02.2016 in der Praxis ATURO behandelt wurden und ihr Einverständnis zur Teilnahme an der Studie gegeben haben (n = 25). Zusätzlich wurden CTC-Messungen bei fünf weiteren Patienten von Dr. rer. nat. T. Gorges im Rahmen einer anderen Studie der Arbeitsgruppe durchgeführt, von welchen allerdings keine klinischen und laborchemischen Parameter zu eruieren waren.

Ausschlusskriterien

Von der Auswertung ausgeschlossen wurden alle Patienten, die keine Einverständniserklärung unterzeichnet haben sowie sich nicht im metastasierten Stadium der Erkrankung befanden. Weiterhin wurden Patienten mit fehlerhafter CTC-Messung nicht mit einbezogen.

3.2. Quantifizierung und Bestimmung der PSMA-Expression

Die Bestimmung der Expression von PSMA im Gewebe des Primärtumors und auf den CTCs fand ausschließlich im Institut für Tumorbiologie der Universitätsklinik Hamburg-Eppendorf (UKE) statt. Patienten, die an der Studie teilnahmen, haben neben der Blutentnahme für die Detektion von CTCs auch zugestimmt, dass Biopsiematerial (Stanzbiopsien oder Resektate) von ihren Pathologen angefordert werden durfte. Die tatsächliche Übersendung und Analyse der archivierten Paraffinblöcke gelang bei 13 Patienten.

Um die PSMA-Expression quantifizieren zu können, wurden am UKE die PCa-Zelllinien PC-3, 22Rv1 und LNCap angezüchtet und mit dem Antikörper *DAKO M3620 (clone 3E6)* inkubiert. Dieser monoklonale Mausantikörper ist gegen das Protein PSMA gerichtet. Die anschließend durchgeführte *Western Blot* Analyse lieferte zunächst Ergebnisse bezüglich des Expressionsniveaus von PSMA der 3 Zelllinien [124].

Weiterhin musste ein passender Antikörper gefunden werden, der ebenfalls mit dem CellSearch® System kompatibel war und valide Werte liefern würde. Dazu erhielten die Zellen

der oben genannten Zelllinien die notwendigen Präparationen, die für die Bestimmung von CTCs mittels CellSearch® obligat waren. Sie wurden in 7,5 ml Blut von gesunden Spendern platziert und anschließend analysiert. Der zuvor verwendete Antikörper *DAKO M3620 (clone 3E6)* und der PSMA-Antikörper von EXBIO® (*clone GCP-05*) konnten keine oder nur sehr schwache Signale zeigen, während mithilfe des Antikörpers von Biolegend® (*clone LNI-17*) unterschiedliche PSMA-spezifische Muster auf den Zelllinien nachgewiesen werden konnten [124].

Die mit dem PSMA-Antikörper *clone LNI-17* durchgeführten Färbungen der Zelllinien ergaben gemäß der Intensität der PSMA-Expression verschiedene Stufen, die in einem PSMA-Intensitäts-Score (PSMA-IS) systematisch klassifiziert wurden (siehe Abbildung 1).

- PSMA-negativ (0)
- schwach PSMA-positiv (1)
- mäßig PSMA-positiv (2)
- stark PSMA-positiv (3)

Neben dieser Einteilung wurde auch der relative Anteil PSMA-positiven Gewebes bzw. PSMA-positiver CTCs unabhängig vom PSMA-IS betrachtet.

Das PCa-Gewebe aus den Paraffinblöcken wurde standardisiert auf PSMA immunhistochemisch angefärbt und analysiert. Dabei wurden von dem Biopsiematerial jeweils zwei unterschiedliche Regionen auf PSMA getestet, sodass für die späteren Kalkulationen das arithmetische Mittel des erhaltenen PSMA-IS sowie des PSMA-positiven Gewebes verwendet wurde.

Der für die CTC-Bestimmung mittels CellSearch® eingesetzte PSMA-Antikörper *clone LNI-17* lieferte die Werte für die CTCs. Jeder einzelnen CTC konnte so ein Score laut PSMA-IS zugeordnet werden. Der mittlere PSMA-IS der CTCs errechnete sich wie folgt:

$$\text{mittlerer PSMA-IS} = \frac{3x + 2y + 1z}{n}$$

x = Anzahl an stark PSMA-positiven CTCs, y = Anzahl an mäßig PSMA-positiven CTCs, z = Anzahl an schwach PSMA-positiven CTCs und n = Gesamtzahl der detektierten CTCs

Zur Berechnung des Anteils an PSMA-positiven CTCs wurde die Anzahl von PSMA-positiven CTCs zur Anzahl von PSMA-negativen CTCs ins Verhältnis gesetzt.

3.3. Detektion der CTCs mittels CellSearch®

CellSearch® ist die einzige von der amerikanischen *Food and Drug Administration (FDA)* zugelassene Methode zur Detektion von CTCs [103]. Neue Verfahren werden i.d.R. mit CellSearch® verglichen, wobei ein wichtiges Kriterium die Anzahl an gemessenen CTCs beim gleichen Patienten darstellt.

Grundsätzlich wird eine Blutprobe von 7,5 ml des Patienten benötigt, welches in ein spezielles Röhrchen mit EDTA (CellSave® *Preservative Tube*) aufgefangen und anschließend zentrifugiert wird, sodass das Plasma von den korpuskulären Blutbestandteilen getrennt wird. Nach Entfernung des Plasmas durch Aspiration werden die Rückstände mit dem EpCAM-Antikörper inkubiert, welcher wiederum mit Eisennanopartikeln gekoppelt ist. Danach werden die mit dem Antikörper markierten Zellen magnetisch separiert und der Überstand entfernt. Zusätzlich wird ein Anfärbungsreagenz hinzugefügt. Dieses besteht aus Antikörpern, die gegen die Zytokeratine 8, 18 und 19 gerichtet sind; einem Anti-CD45-Antikörper und DAPI (4',6-Diamidin-2-phenylindol). Die Antikörper sind wiederum mit den Fluoreszenzfarbstoffen Phycoerythrin bzw. Allophycocyanin gekoppelt, während DAPI selbst ein fluoreszierendes Molekül ist, welches sich in den Zellkern einlagert. Der Anti-CD45-Antikörper dient der Identifikation von Leukozyten, da nur diese den CD45-Rezeptor exprimieren. Darüber hinaus wird der Antikörper von Biolegend® (*clone LNI-17*) gegen PSMA hinzugefügt. Nach erneuter Inkubation und der Gabe von Pufferlösung wird wiederholt mithilfe einer magnetischen Kassette (*catridge*) die Separation von Zellen durchgeführt und der Rest verworfen. Abschließend wird die Kassette vom CELLTRACKS ANALYZER II® gescannt. Über einen Bildschirm werden detektierte Zellen angezeigt und können hinsichtlich ihres Fluoreszenzprofils differenziert sowie charakterisiert werden. Ein Mitarbeiter (Operator) muss dann anhand des Anfärbungsprofils beurteilen, ob es sich bei den markierten Zellen um CTCs handelt [124]. Die Vorteile der Methode liegen hauptsächlich in der guten Reproduzierbarkeit der Ergebnisse, der visuellen Darstellung der CTCs, dem hauptsächlich automatisierten Prozess und der quantitativen Zellbestimmung. Von Nachteil könnte, neben den Kosten, die nötige Voraussetzung der EpCAM-Expression sein. Zudem ist das Verfahren zu einem gewissen Grade untersucherabhängig, da der Operator am Ende die abgebildeten Zellen als CTCs identifizieren muss.

3.4. Datenerfassung

Die elektronischen Patientenakten lagen in digitalisierter Form vor. Sie wurden retrospektiv gesichtet und relevante Informationen extrahiert. Die Praxis verwendete die MEDISTAR-Praxis-Software (CompuGroup Medical, Hannover). Entsprechende Daten wurden zunächst in eine Excel-Tabelle eingetragen und nach Standardisierungsprozessen in das Statistikprogramm SPSS (IBM, Ehningen) eingefügt. Die Übersichtstabelle bestand wiederum aus drei untergeordneten Tabellen.

Die Stammdatentabelle bestand aus:

- der *MEDISTAR*-Nummer (jedem Patienten wurde automatisch eine Nummer zugeteilt),
- das Geburtsdatum und dem errechneten Alter,
- das Todesdatum (falls zum Zeitpunkt der Auswertung verstorben),

- dem Zeitpunkt der Erstdiagnose des PCa (Monat und Jahr),
- dem TNM Status,
- dem GS,
- der initialen Therapie nach Diagnosestellung,
- dem initialen PSA Wert bei Diagnosestellung und
- der aktuellen Pharmakotherapie (seit mind. 6 Wochen bestehend).

Zusätzlich wurde eine Labortabelle angefertigt, welche ausgewählte Blutparameter beinhaltet. Diese wurden innerhalb von zwei Wochen vor oder nach der Blutentnahme für die CTC-Detektion bestimmt. Dazu zählten:

- der aktuelle PSA-Wert
- die alkalische Phosphatase (AP)
- die Laktatdehydrogenase (LDH) und
- das Hämoglobin (HB).

Zuletzt integrierten wir die Informationen der Charakterisierung detektierter CTCs und des PSMA-Status der Biopsien in die Übersichtstabelle. Es handelte sich hierbei um folgende Kenngrößen:

- der PSMA-IS des Primärtumors
- der relative Anteil PSMA-positiven Tumorgewebes des Biopsiematerials
- die Anzahl der gefundenen CTCs
- die Anzahl der CTCs mit dem PSMA-IS 0
- die Anzahl der CTCs mit dem PSMA-IS 1
- die Anzahl der CTCs mit dem PSMA-IS 2
- die Anzahl der CTCs mit dem PSMA-IS 3
- der durchschnittliche PSMA-IS der CTCs
- der relative Anteil PSMA-positiver CTCs

3.5. Ethik

Die Studie wurde entsprechend der Richtlinien für Humanexperimente der *World Medical Association Declaration of Helsinki* und der Hamburger Ärztekammer durchgeführt. Das experimentelle Protokoll wurde vom Ethikkomitee der Hamburger Ärztekammer genehmigt (PVN-3779).

3.6. Anmerkungen zur statistischen Auswertung

Die statistische Auswertung des Untersuchungsmaterials erfolgte mit dem Programm SPSS Version 21. Die Patientendaten wurden EDV-gerecht verschlüsselt, erfasst und am Computer bearbeitet sowie ausgewertet.

Zur Beschreibung der Verteilung von quantitativen Merkmalen (Alter, Erkrankungsdauer, PSA, AP, LDH und HB) wurden folgende statistische Maßzahlen berechnet: der arithmetische Mittelwert, die Standardabweichung, der Standardfehler, 95 % Konfidenzintervalle für die Mittelwerte sowie Minimal- und Maximalwert. Die Erkrankungsdauer (ED) wurde über den Zeitabstand zwischen dem Zeitpunkt der Diagnose und dem Zeitpunkt der Blutentnahme bestimmt. Beim Vergleichen von Gruppen mit unterschiedlicher Fallzahl n wurden relative Häufigkeiten benutzt. Zur Beschreibung der Verteilung der Werte eines Merkmals in den einzelnen Gruppen wurden zunächst die Zeilen- bzw. Spaltenprozentage der Kontingenztafel (Kreuztabelle) ausgegeben. Die qualitativen Merkmale wurden mit der Kontingenztafelmethode und dem parameterfreien Chi-Quadrat-Test (χ^2 -Test) bewertet. Dabei wurde von einer Irrtumswahrscheinlichkeit α von 5 % ($\alpha = 0,05$) ausgegangen. Ansonsten wurde bei der Berechnung des Signifikanzniveaus der exakte Test nach Fisher durchgeführt, der ebenfalls für kleine Fallzahlen gilt. Als signifikant galten Ergebnisse mit $p < \alpha$. Da die Werte aufgrund der niedrigen Patientenzahl teilweise nicht normal verteilt sind, wurden Korrelationen mittels Spearmans Rangkorrelationskoeffizient r (Spearmans Rho) ermittelt. Dieser Koeffizient nimmt eine Zahl zwischen -1 und 1 an. Je höher der Wert ist, desto stärker ist die Korrelation. Ein negativer Zahlenwert stellt einen entgegengesetzten Zusammenhang dar.

4. Ergebnisse

4.1. PSMA-Expression der PCa-Zelllinien

In den Abbildungen 1 und 2 wird das Ergebnis der durchgeführten PSMA-Anfärbung der PCa-Zelllinien LNCaP, 22Rv1 und PC-3 mittels CellSearch® gezeigt. Anhand der unterschiedlichen Fluoreszenzintensitäten entsprechender Zelllinien wurde der PSMA-IS konzipiert [124]. Die Intensität der PSMA-Fluoreszenz nimmt mit sinkendem Score ab. Bei einem Score von 0 ist keine nachweisbare PSMA-Aktivität vorhanden (Zelllinie PC-3). Die Zelllinie LNCaP zeigte den höchsten Score (3), gefolgt von 22Rv1 (2 und 1).

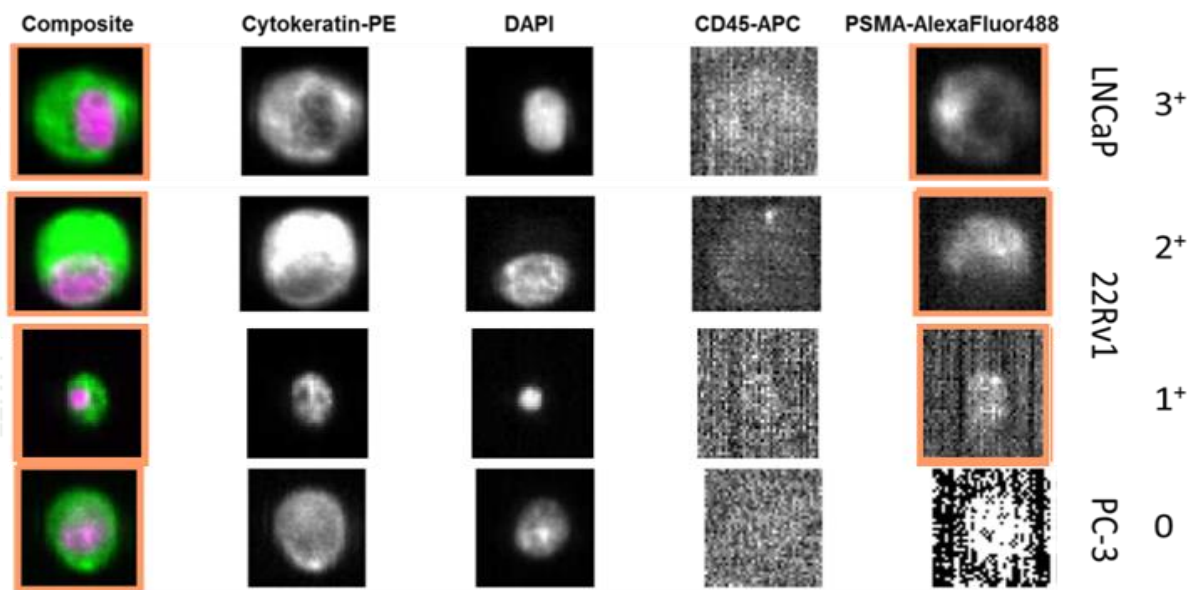


Abbildung 1: Darstellung detektierter PCa-Zellen der Zelllinien LNCaP, 22Rv1 und PC-3 mittels CellSearch®. Sie sind anhand des PSMA-IS angeordnet. Innerhalb einer Zeile handelt es sich um die gleiche Zelle. In der ersten Spalte sind alle Färbungen übereinander gelagert. Daneben sind die Cytokeratin-PE, DAPI, CD45-APC und zuletzt die neu etablierte PSMA-Anfärbung zu sehen. Hellere Areale zeigen je nach Intensität und Verteilung die Anwesenheit entsprechender Strukturen an [124].

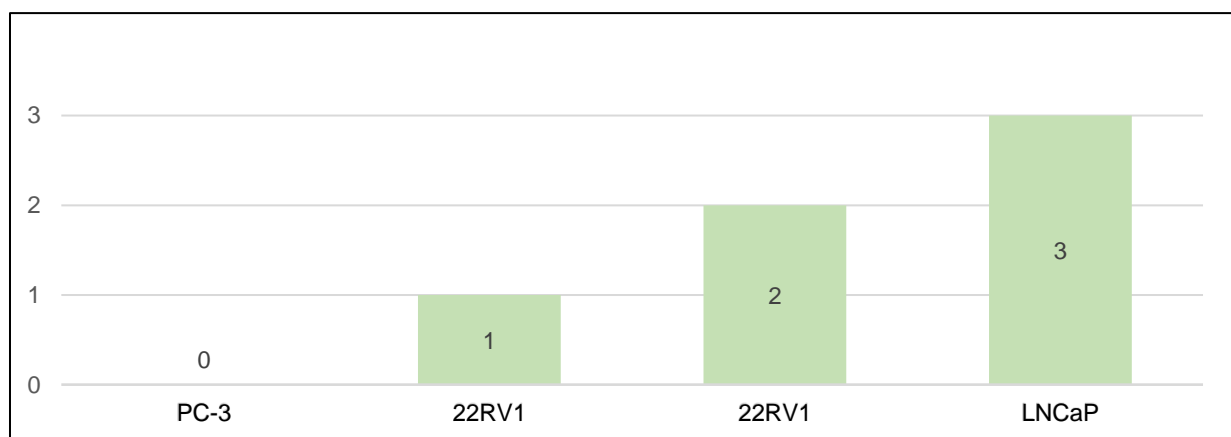


Abbildung 2: Säulendiagramm zur schematischen Darstellung der PSMA-Expression anhand des PSMA-IS der Zelllinien.

4.2. PSMA-Expression im Biopsiematerial und auf CTCs

4.2.1. PSMA-Expression im Biopsiematerial

Von 13 Patienten wurden Teile des Biopsiematerials mit PSMA-gerichteten Antikörpern angefärbt. Dadurch konnte die Quantität der PSMA-Expression im Primärtumor (Adenokarzinom der Prostata) bestimmt werden. Dabei wurde der optisch geschätzte Anteil an PSMA-positiven Zellen eines histologischen Schnittes und die Intensität der PSMA-Expression nach dem oben beschriebenen PSMA-IS ermittelt.

In jeder Biopsie war eine PSMA-Expression zu verzeichnen. Dementsprechend konnte jeder Probe auch ein Wert gemäß PSMA-IS zugeordnet werden (siehe Abbildung 3). Vier Patienten hatten hierbei den Maximalwert von 3; fünf weitere Patienten zeigten einen durchschnittlichen Score von 2,5 und die übrigen Patienten einen Wert von 2 ($n = 2$), 1,5 ($n = 1$) sowie 1 ($n = 1$). Der prozentuale Anteil der PSMA-positiven Zellen im Biopsiegewebe lag zwischen 7,5 % bis 90 %, mit einem Mittelwert von 51,4 %. Dabei korreliert der Anteil PSMA-positiven Gewebes im Primärtumor positiv mit dem PSMA-IS ($r = 0,57$, $p = 0,05$).

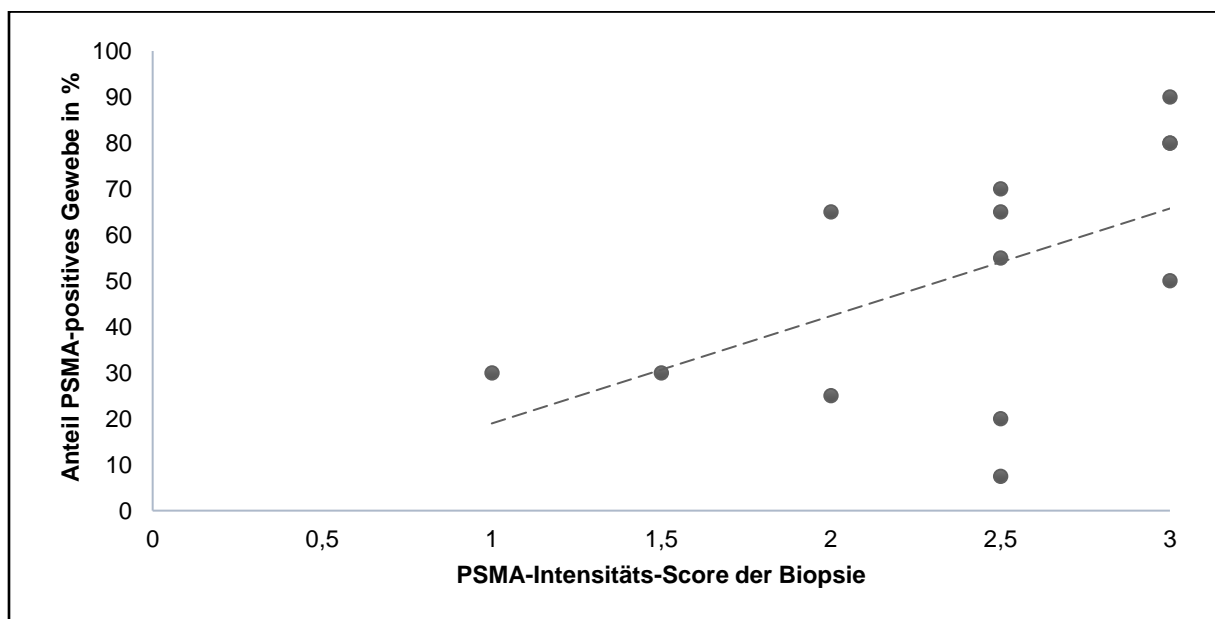


Abbildung 3: Streudiagramm der Wertepaare ($n = 13$) des Biopsiegewebes mit Regressionsgerade. Es ist der PSMA-IS der Biopsie gegenüber dem prozentualen Anteil PSMA-positiven Gewebes aufgetragen.

4.2.2. PSMA-Expression der CTCs

Bei 30 Patienten mit metastasiertem PCa wurde die Detektion der CTCs im Blut mittels CellSearch® durchgeführt und diese in Bezug auf das PSMA-Profil charakterisiert. In 20 der 30 Blutproben konnten CTCs nachgewiesen werden (siehe Tabelle 3). Die Summe der gefundenen CTCs betrug 2079; der Median belief sich auf 11,5 CTCs und die Spannweite reichte von 1-1000 CTCs. Von den 2079 CTCs waren 1386 CTCs (66,7 %) PSMA-positiv. PSMA-positive CTCs konnten bei 12 von 30 Patienten (40 %) gefunden werden. Dem Großteil der PSMA-positiven CTCs (83,4 %) konnte ein PSMA-IS von 1 zugewiesen werden. Ein Score

von 2 und 3 wurde deutlich seltener vergeben (4,5 % bzw. 12,1 %). Bei Patienten mit PSMA-positiven CTCs lag der durchschnittliche PSMA-IS der CTCs zwischen 0,1 und 2. Der relative Anteil PSMA-positiver CTCs lag bei diesen Patienten im Bereich von 6,5 % bis 100 %. Hier zeigte der Korrelationskoeffizient von mittlerem PSMA-IS und dem prozentualen Anteil PSMA-positiver CTCs mit $r = 0,996$ ($p < 0,05$) eine ausgeprägte Korrelation (siehe Abbildung 4). In Abbildung 5 ist das Resultat der PSMA-Anfärbung von CTCs exemplarisch gezeigt [124].

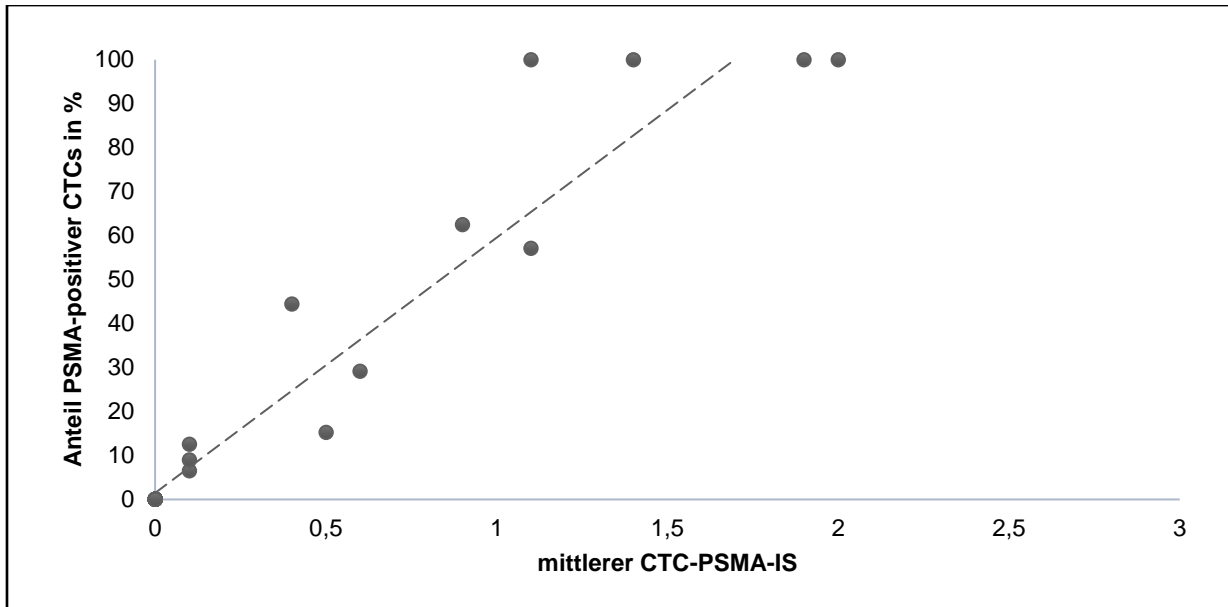


Abbildung 4: Streudiagramm der Wertepaare ($n = 30$) der CTCs mit Regressionsgerade. Es ist der mittlere PSMA-IS gegenüber dem prozentualen Anteil PSMA-positiver CTCs aufgetragen.

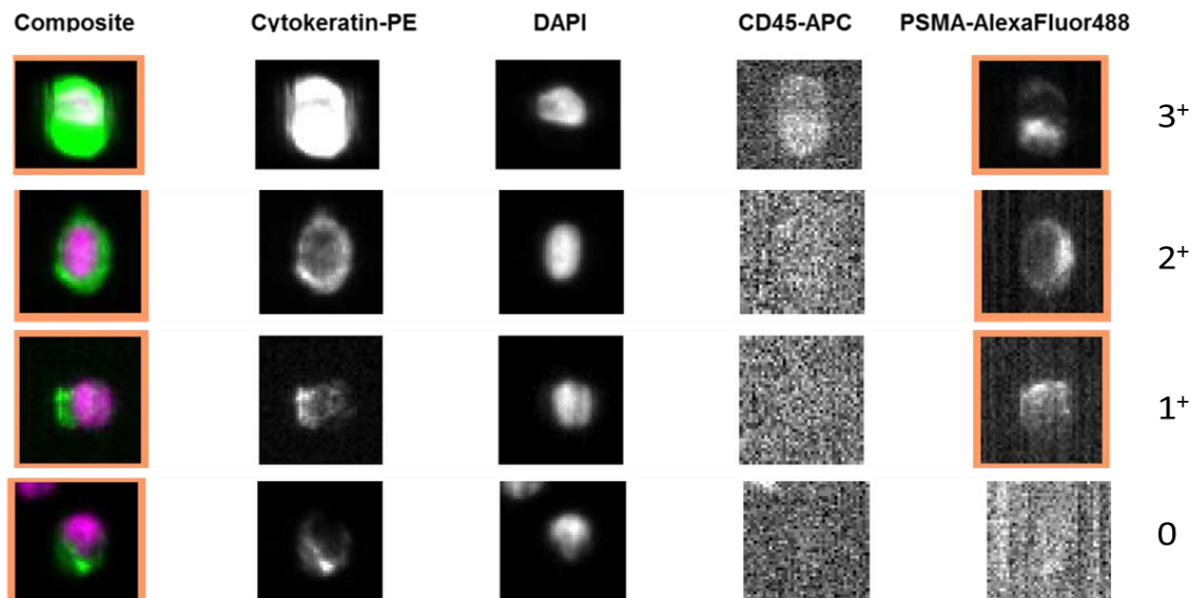


Abbildung 5: Darstellung mittels CellSearch® detektierter CTCs und Anordnung anhand ihres PSMA-IS. Jede Zeile stellt eine Tumorzelle dar. In der ersten Spalte sind alle Färbungen übereinander gelagert. Anschließend sind die Cytokeratin-PE, DAPI, CD45-APC und zuletzt die neu etablierte PSMA-Anfärbung zu sehen. Hellere Areale zeigen je nach Intensität und Verteilung die Anwesenheit entsprechender Strukturen an. Alle CTCs sind Cytokeratin-PE und DAPI positiv, während CD45-APC negativ ist [124].

Tabelle 3: Quantitative und qualitative PSMA-Expression von Primärtumor und CTCs

Pat. Nr.	Biopsiematerial		CTCs						
	PSMA-IS	PSMA+ Gewebe %	Anzahl	PSMA-	PSMA-IS 1	PSMA-IS 2	PSMA-IS 3	PSMA-IS Ø	Anteil PSMA+ %
1	3	90	6	6	0	0	0	0	0
2	3	80	9	9	0	0	0	0	0
3	3	80	0	0	0	0	0	0	0
4	3	50	426	400	26	0	0	0,1	6,5
5	2,5	70	1	1	0	0	0	0	0
6	2,5	65	9	5	4	0	0	0,4	44,4
7	2,5	55	0	0	0	0	0	0	0
8	2,5	20	2	2	0	0	0	0	0
9	2,5	7,5	24	21	3	0	0	0,1	12,5
10	2	65	89	81	8	0	0	0,1	9
11	2	25	0	0	0	0	0	0	0
12	1,5	30	105	0	45	20	40	2	100
13	1	30	24	0	14	10	0	1,4	100
14	n. a.	n. a.	1000	0	940	30	30	1,1	100
15	n. a.	n. a.	158	112	23	3	20	0,6	29,1
16	n. a.	n. a.	150	0	85	0	65	1,9	100
17	n. a.	n. a.	46	39	0	0	7	0,5	15,2
18	n. a.	n. a.	14	6	4	0	4	1,1	57,1
19	n. a.	n. a.	8	3	4	0	1	0,9	62,5
20	n. a.	n. a.	3	3	0	0	0	0	0
21	n. a.	n. a.	2	2	0	0	0	0	0
22	n. a.	n. a.	2	2	0	0	0	0	0
23	n. a.	n. a.	1	1	0	0	0	0	0
24	n. a.	n. a.	0	0	0	0	0	0	0
25	n. a.	n. a.	0	0	0	0	0	0	0
26	n. a.	n. a.	0	0	0	0	0	0	0
27	n. a.	n. a.	0	0	0	0	0	0	0
28	n. a.	n. a.	0	0	0	0	0	0	0
29	n. a.	n. a.	0	0	0	0	0	0	0
30	n. a.	n. a.	0	0	0	0	0	0	0

4.2.3. Korrelation zwischen PSMA-Expression der CTCs und PSMA-Expression des Primärtumors

Bei 13 Patienten wurde sowohl eine Blutentnahme zur Charakterisierung der CTCs als auch eine Untersuchung des PSMA-Profiles des Primärtumors durchgeführt. Dabei war das Ziel der Analyse eine mögliche Korrelation zwischen CTCs und Primärtumorgewebe bezüglich des PSMA-IS und/oder des relativen Anteils an PSMA-positivem Probenmaterial (siehe Abbildung 6 und Tabelle 4). Ein solcher Zusammenhang konnte nicht nachgewiesen werden. Die negativen Korrelationskoeffizienten deuten eher auf eine entgegengesetzte Beziehung zwischen der Expression von PSMA im Primärtumor und den CTCs hin; sowohl beim PSMA-IS ($r = -0,55$; $p = 0,05$), als auch bei der Betrachtung des PSMA-positiven Gewebes ($r = -0,39$; $p = 0,19$).

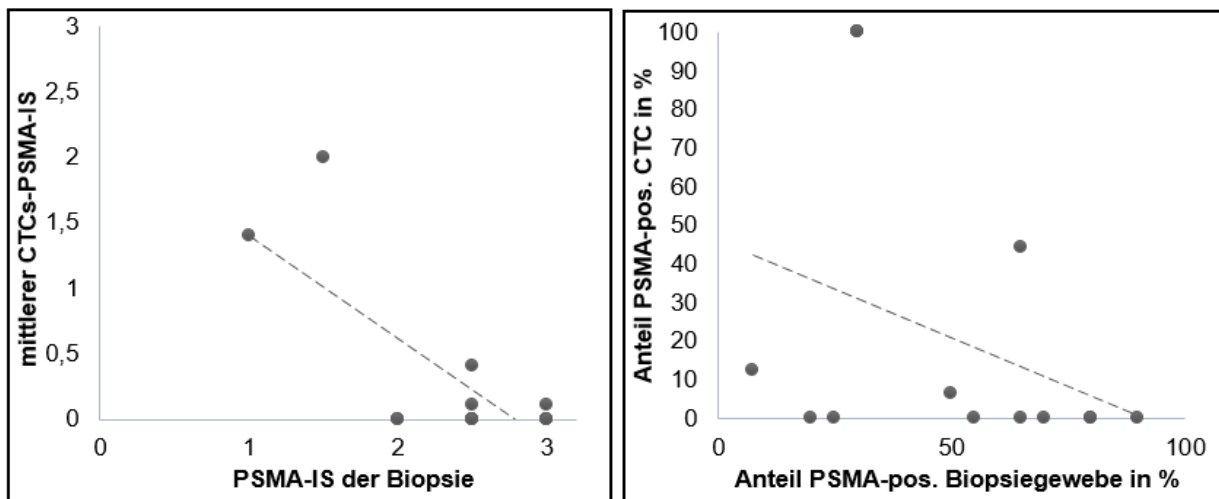


Abbildung 6: Zusammenhang zwischen den PSMA-Expressionen von Biopsie und CTCs. Dargestellt sind zwei Streudiagramme, welche die PSMA-IS und die relativen Anteile von PSMA-positivem Gewebe von Biopsie zu CTCs in Beziehung setzen

Tabelle 4: Die korrespondierenden Korrelationskoeffizienten r und p -Werte zu Abbildung 6.

		mittlerer CTC-PSMA-IS	
PSMA-IS der Biopsie	Korrelationskoeffizient r	-0,55	
	p -Wert	0,05	
	n	13	
		Anteil PSMA-pos. CTCs	
Anteil PSMA-pos. Biopsiegewebe	Korrelationskoeffizient r	-0,39	
	p -Wert	0,19	
	n	13	

4.3. PSMA-Profil der CTCs und klinisch-laborchemische Parameter

4.3.1. Patientencharakteristika

Im Zeitraum vom 05.11.2014 bis zum 01.02.2016 haben in der uro-onkologischen Praxis ATURO insgesamt 26 Patienten mit metastasiertem PCa eine Blutentnahme für die Charakterisierung von CTCs erhalten. Unter Berücksichtigung der Ein- und Ausschlusskriterien waren die klinischen und laborchemischen Daten von 25 Patienten verwertbar (siehe Tabelle 4). In einem Fall lag keine Einverständniserklärung vor. Das Durchschnittsalter der Patienten betrug 69 Jahre (54-90). Die initialen, zum Zeitpunkt der Diagnose festgestellten, PSA-Werte lagen je nach Patient zwischen 3 und > 5000 ng/ml, mit einem Medianwert von 43 ng/ml. Bezüglich des T-Stadiums konnte festgestellt werden, dass die Mehrheit der Patienten (76 %) ein lokal fortgeschrittenes Karzinom (T3 oder T4) aufwies. Während bei 15 Patienten (60 %) ein Lymphknotenbefall (N1) dokumentiert wurde, war bei acht Patienten der Lymphknotenstatus nicht bekannt (Nx). Zwei Patienten (8 %) hatten keine Lymphknotenmetastasen (N0). Der überwiegende Anteil der Patienten (88 %) litt erwartungsgemäß an Knochenmetastasen (M1b). Der Befall viszeraler Organe (M1c), wie Lunge (4 %) und Leber (4 %), war dagegen deutlich seltener und trat bei jeweils nur einem Patienten auf. Die Summe des GS konnte bei allen Patienten ermittelt werden. Werte unter 7 waren nicht vorhanden, 15 Patienten (60 %) hatten einen GS von 9 und drei Patienten (12 %) einen von 10. Bei der Hälfte der Patienten (gleichzeitig Median) wurde vor sechs Jahren die Diagnose des PCa gestellt (1 Jahr - 13 Jahre). Etwas mehr als die Hälfte (56 %) der Patienten erhielten als primäre Therapie eine ADT, 32 % eine Radiatio entweder als adjuvante Bestrahlung der Prostataloge nach OP oder mit kurativer Therapieintention in Form einer EBRT (*external beam radiation therapy*) oder Brachytherapie. Bei 28 % der Patienten erfolgte initial eine radikale Prostatektomie (RP). Sowohl bei der Initialtherapie als auch bei der aktuellen medikamentösen Therapie erhielten einige Patienten Kombinationen an Eingriffen und/oder Pharmaka. Die meisten Patienten (52 %) erhielten LHRH-Agonisten bzw. Antagonisten, gefolgt von Abirateron (32 %), nicht-steroidale Antiandrogene wie Bicalutamid oder Enzalutamid (20 %) und das Chemotherapeutikum Docetaxel (16 %). Zwei Patienten (8 %) wurden mit Radium-223 (Xofigo®) therapiert. Große Spannweiten waren während der CTC-Bestimmung bei den PSA-Werten und der alkalischen Phosphatase (AP) zu verzeichnen. Der Median des PSA entsprach 17,46 ng/ml (<0,01 ng/ml – 854,46 ng/ml) und der AP 105,5 U/ml (37 U/ml - 1460 U/ml). Weitere Laborparameter waren die Laktatdehydrogenase (LDH) mit einem Median von 212,5 U/l (103 U/l - 618 U/l) und Hämoglobin (HB) mit 12,85 g/dl (9 g/dl - 15,1 g/dl).

Tabelle 5: Patientencharakteristika; *Patienten können Kombinationen haben und mehrfach auftreten.

Parameter	Anzahl (prozentualer Anteil) oder Median (Spannweite)
Patientenanzahl n	25 (100 %)
Alter in Jahren (n = 25)	69 (54-90)
T Stadium (n = 25)	
T1	2 (8 %)
T2	4 (16 %)
T3	15 (60 %)
T4	4 (16 %)
N Stadium (n = 25)	
Nx	8 (32 %)
N0	2 (8 %)
N1	15 (60 %)
Metastasen (n = 25) *	
Knochen	22 (88 %)
Lymphknoten	15 (60 %)
Lunge	1 (4 %)
Leber	1 (4 %)
Gleason Score (n = 25)	
7	5 (20 %)
8	2 (8 %)
9	15 (60 %)
10	3 (12 %)
Erkrankungsdauer in Jahren (n = 25)	6 (1-13)
Initialer PSA Wert (n = 23)	43 ng/ml (3 ng/ml - > 5000 ng/ml)
Initiale Therapie (n = 25) *	
ADT	15 (60 %)
Radiatio	8 (32 %)
RP	7 (28 %)
Aktuelle Therapie (n = 25) *	
LHRH Agonist/Antagonist	14 (56 %)
Abirateron	9 (36 %)
nicht steroidale Antiandrogene	5 (20 %)
Docetaxel	4 (16 %)
Radium-223	2 (8 %)
Laborwerte	
PSA (n = 24)	17,46 ng/ml (<0,01 ng/ml - 854,46 ng/ml)
AP (n = 20)	105,5 U/l (37 U/l - 1460 U/l)
LDH (n = 18)	212,5 U/l (103 U/l - 618 U/l)
HB (n = 20)	12,85 g/dl (9 g/dl - 15,1 g/dl)

4.3.2. Deskriptive Statistik und einfaktorielle ANOVA bei der Analyse des PSMA-Profiles der CTCs und der klinisch-laborchemischen Parameter

Von den 25 Patienten, bei welchen wir die klinischen und laborchemischen Daten erheben konnten, hatten neun Patienten (36 %) PSMA-positive CTCs. Für die Berechnungen der einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) und Kreuztabellen wurden zwei Patientengruppen miteinander verglichen:

- Patienten ohne CTCs sowie Patienten mit PSMA-negativen CTCs (keine/PSMA⁻)
- Patienten mit PSMA-positiven CTCs (PSMA⁺).

Obwohl keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen ermittelt werden konnten, zeichneten sich trotzdem Tendenzen ab (siehe Tabelle 6). Patienten, bei denen wir PSMA-positive CTCs fanden, waren im Durchschnitt vier Jahre älter (71,9 Jahre vs. 67,7 Jahre; $p = 0,28$). Die ED unterschied sich nicht relevant (65,6 Monate vs. 63,62 Monate; $p = 0,91$). Zudem waren PSA (179,19 ng/ml vs. 45,3 ng/ml; $p = 0,12$), alkalische Phosphatase (392,57 U/l vs. 126,85 U/l; $p = 0,08$) sowie Laktatdehydrogenase (288,33 U/l vs. 190,25 U/l; $p = 0,07$) tendenziell höher, während der Hämoglobingehalt im Blut erniedrigt war (11,87 g/dl vs. 12,69 g/dl; $p = 0,34$).

Die Säulendiagramme (siehe Abbildung 7-13) veranschaulichen die im Anhang befindlichen Kreuztabellen. Sie geben zusätzliche Informationen über die Verteilung der Patienten innerhalb der Gruppe des CTC-PSMA-Status. Patienten mit PSMA-positiven CTCs waren relativ gleichmäßig bezüglich des T-Stadiums verteilt, während T3 öfter bei Patienten ohne bzw. mit negativem PSMA-Status zu verzeichnen war (68,8 %; $p = 0,7$). 66,7 % aller Patienten mit PSMA-positiven CTC befanden sich im N1-Stadium, während in der Vergleichsgruppe der Prozentsatz bei 56,2 % lag ($p = 0,7$). Das Vorhandensein von PSMA-positiven CTCs war stärker mit dem Vorliegen von Knochenmetastasen assoziiert (M1b: 88,9 % vs. 75 %; $p = 0,37$). Bei derselben Patientengruppe kam ein GS von 9 oder 10 häufiger (77,8 % vs. 68,8 %; $p = 0,63$) und 7 oder 8 seltener (22,2 % vs. 31,3 %; $p = 0,63$) vor. Eine medikamentöse Kastration in Form einer Hormontherapie wurde initial häufiger bei Patienten mit PSMA-positiven CTCs (66,7 % vs. 56,2 %; $p = 0,61$) durchgeführt. Zwischen den Gruppen bestanden prozentual keine relevanten Differenzen im Hinblick auf die aktuelle Durchführung einer Therapie mit LHRH-Agonisten/Antagonisten (55,6 % vs. 56,2 %; $p = 0,97$) oder Abirateron (33,3 % vs. 37,5 %; $p = 0,84$).

Tabelle 6: Deskriptive Statistik und einfaktorielle ANOVA von Patienten ohne bzw. mit PSMA-negativen CTCs und Patienten mit PSMA-positiven CTCs

	N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler	95 %-Konfidenzintervall für den Mittelwert	Minimum	Maximum	Signifikanz (p-Wert)	
					Untergrenze	Obergrenze			
Alter (Jahre)	keine/PSMA ⁻	67,69	10,31	2,58	62,2	73,18	49	91	0,28
	PSMA ⁺	71,89	6,62	2,21	66,8	76,98	65	84	
	Gesamt	69,2	9,23	1,85	65,39	73,01	49	91	
ED (Mon.)	keine/PSMA ⁻	63,62	38,33	9,58	43,19	84,04	0,99	124,62	0,91
	PSMA ⁺	65,6	52,23	17,41	25,45	105,74	2,76	140,32	
	Gesamt	64,33	42,76	8,55	46,68	81,98	0,99	140,32	
PSA (ng/ml)	keine/PSMA ⁻	45,30	64,57	16,67	9,54	81,06	<0,01	243,22	0,12
	PSMA ⁺	179,19	318,43	106,14	-65,58	423,96	0,15	854,46	
	Gesamt	95,51	205,41	41,93	8,77	182,24	<0,01	854,46	
AP (U/l)	keine/PSMA ⁻	126,85	126,63	35,12	50,33	203,37	37	540	0,08
	PSMA ⁺	392,57	492,95	186,32	-63,33	848,47	68	1460	
	Gesamt	219,85	322,14	72,03	69,09	370,61	37	1460	
LDH (U/l)	keine/PSMA ⁻	190,25	46,27	13,36	160,85	219,65	103	283	0,07
	PSMA ⁺	288,33	164,64	67,21	115,55	461,11	170	618	
	Gesamt	222,94	107,80	25,41	169,34	276,55	103	618	
HB (g/dl)	keine/PSMA ⁻	12,69	1,68	0,47	11,67	13,71	9,10	15,1	0,34
	PSMA ⁺	11,87	1,98	0,75	10,04	13,71	9	14,4	
	Gesamt	12,41	1,79	0,4	11,57	13,24	9	15,1	

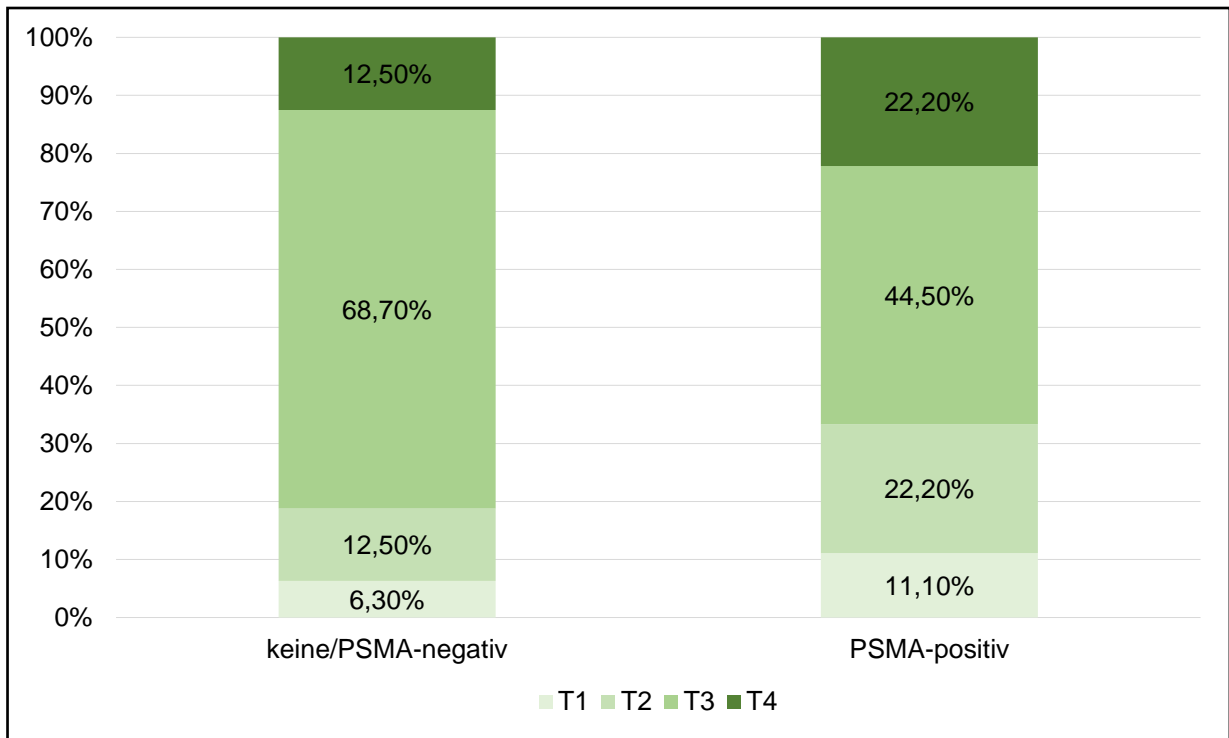


Abbildung 7: Säulendiagramm mit den divergenten Patientengruppen anhand des CTC-PSMA-Status. Innerhalb einer Gruppe wird anhand des T-Stadiums unterschieden ($p = 0,70$)

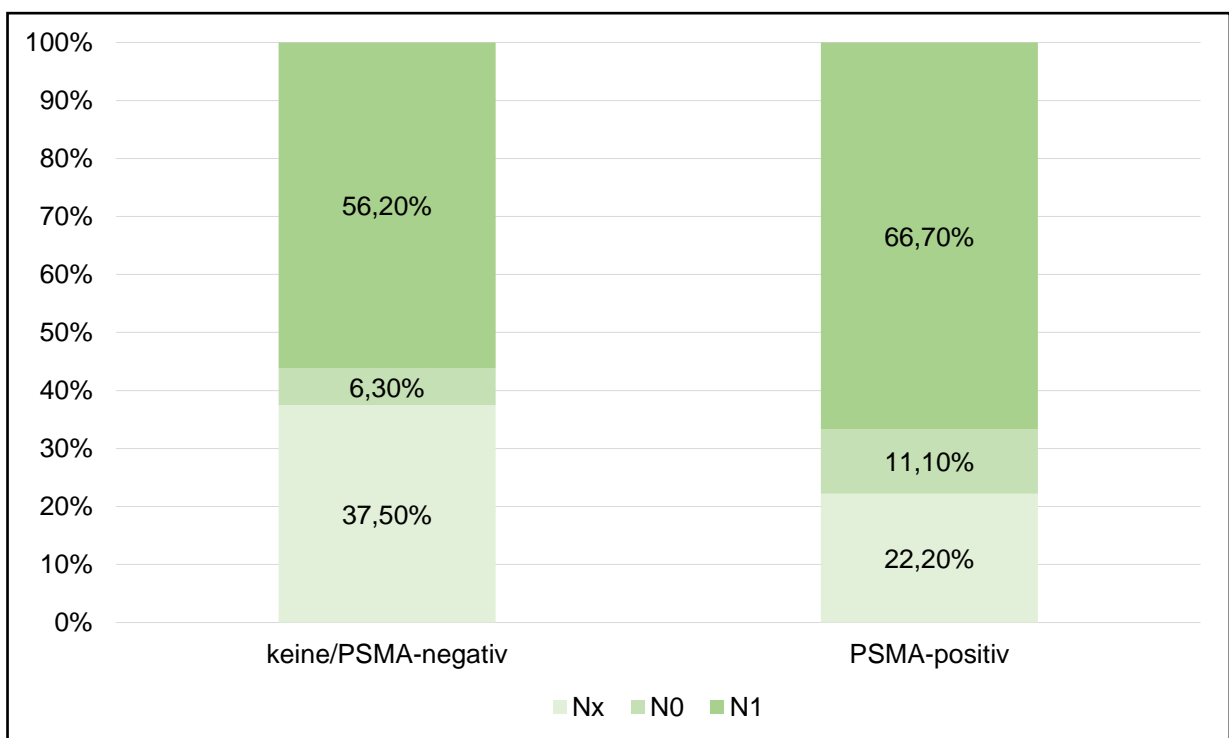


Abbildung 8: Säulendiagramm mit den divergenten Patientengruppen anhand des CTC-PSMA-Status. Innerhalb einer Gruppe wird anhand des N-Stadiums unterschieden ($p = 0,70$)

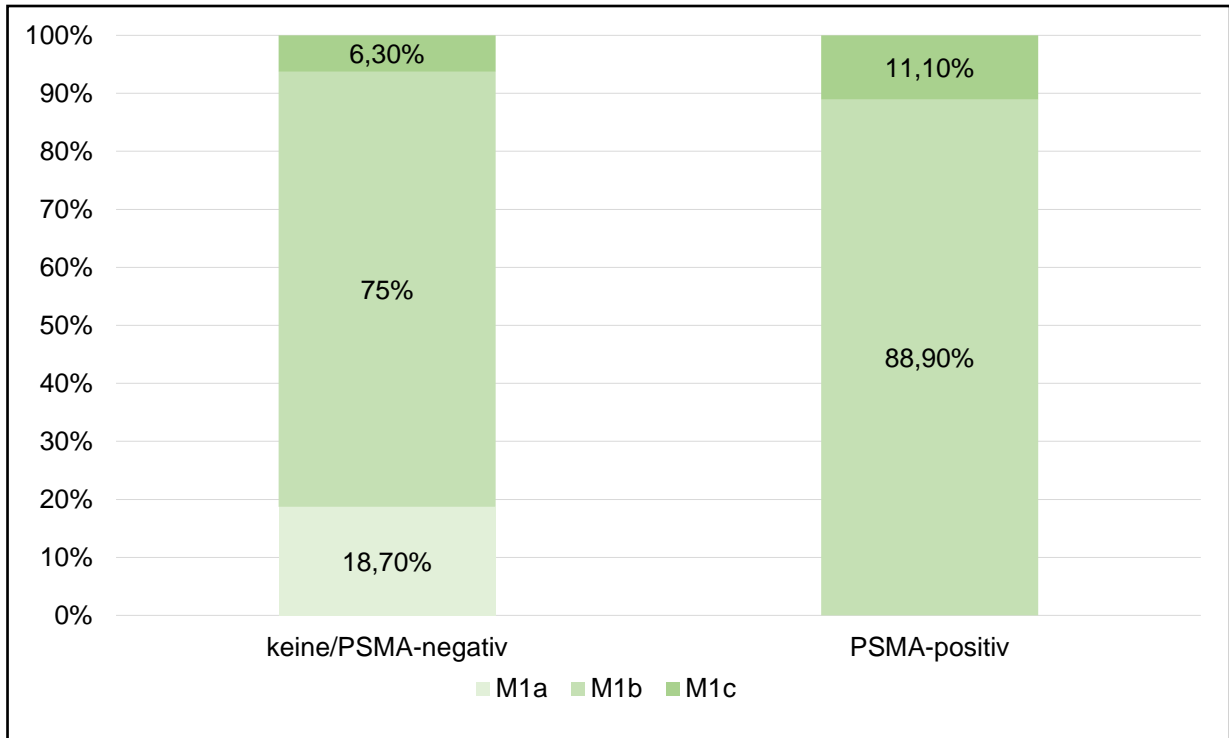


Abbildung 9: Säulendiagramm mit den divergenten Patientengruppen anhand des CTC-PSMA-Status. Innerhalb einer Gruppe wird anhand des M-Stadiums unterschieden ($p = 0,369$)

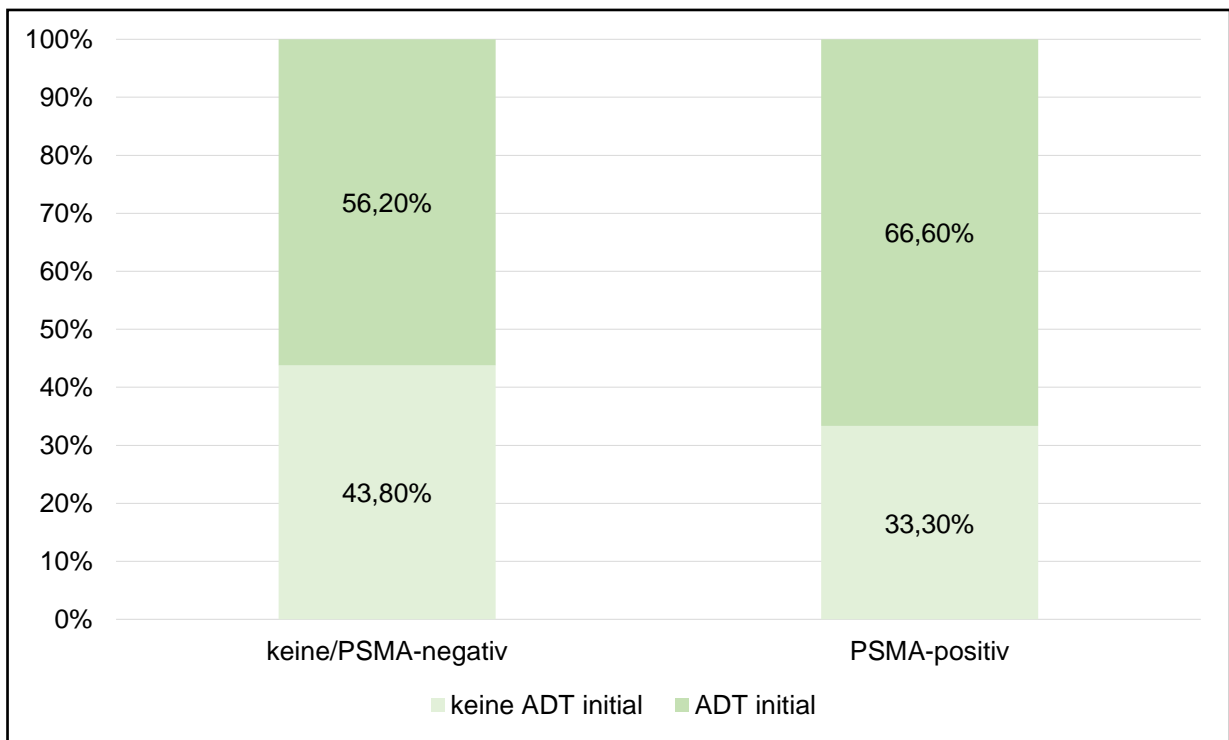


Abbildung 10: Säulendiagramm mit den divergenten Patientengruppen anhand des CTC-PSMA-Status. Innerhalb einer Gruppe wird anhand der durchgeführten Initialtherapie unterschieden (Exakter Test nach Fisher: zweiseitig $p = 0,691$ und einseitig $p = 0,47$; Chi-Quadrat nach Pearson $p = 0,61$)

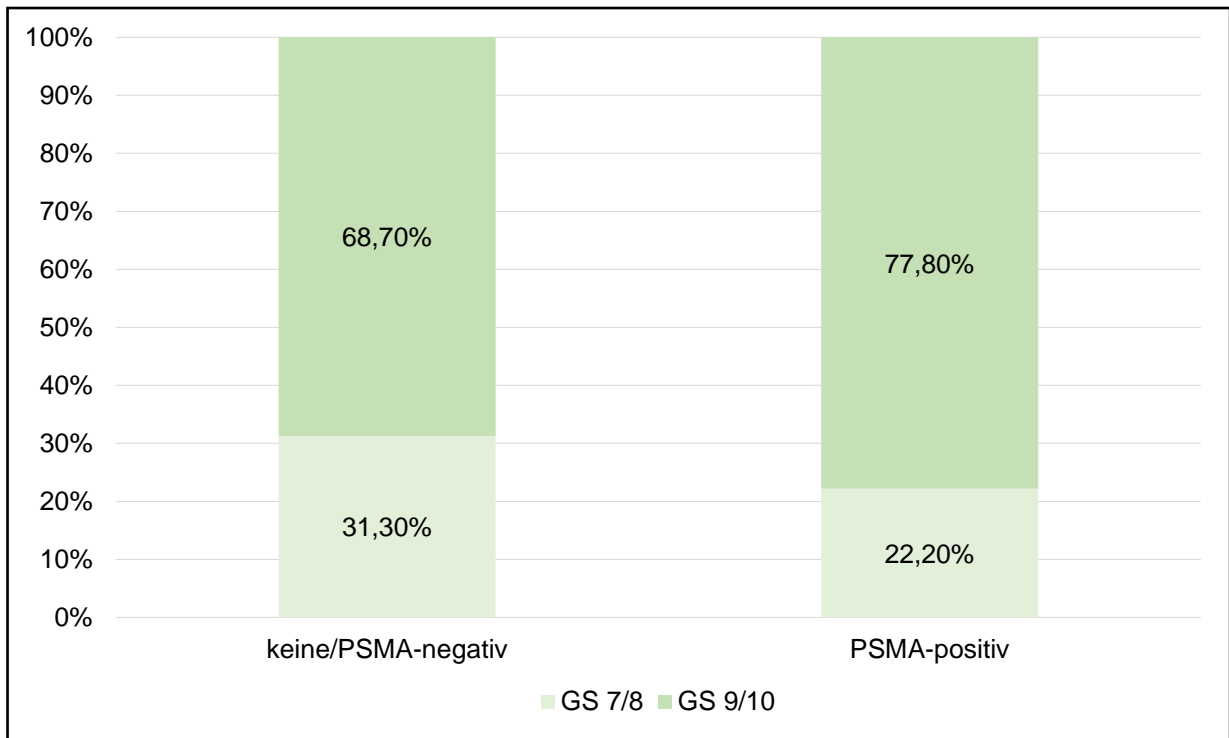


Abbildung 11: Säulendiagramm mit den divergenten Patientengruppen anhand des CTC-PSMA-Status. Innerhalb einer Gruppe wird anhand des GS unterschieden (Exakter Test nach Fisher: zweiseitig $p = 1,000$ und einseitig $p = 0,501$; Chi-Quadrat nach Pearson $p = 0,629$)

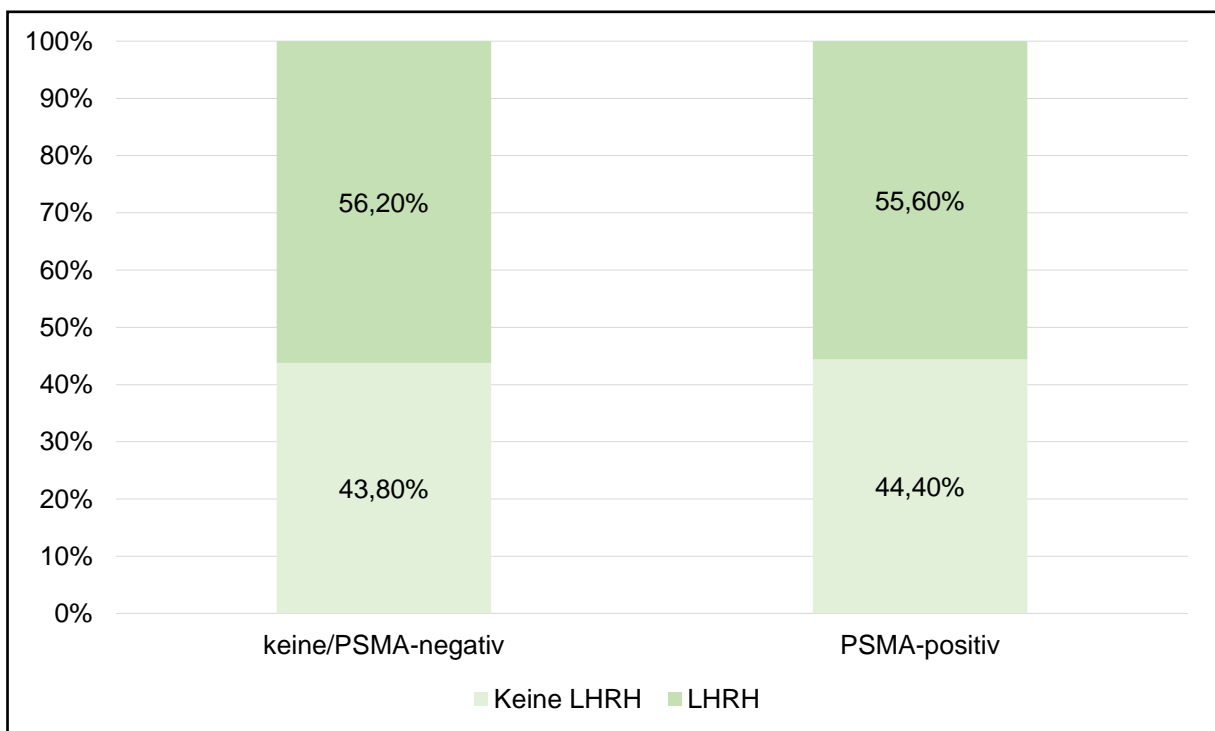


Abbildung 12: Säulendiagramm mit den divergenten Patientengruppen anhand des CTC-PSMA-Status. Innerhalb einer Gruppe wird anhand der derzeitigen LHRH-Therapie unterschieden (Exakter Test nach Fisher: zweiseitig $p = 1,000$ und einseitig $p = 0,648$; Chi-Quadrat nach Pearson $p = 0,973$)

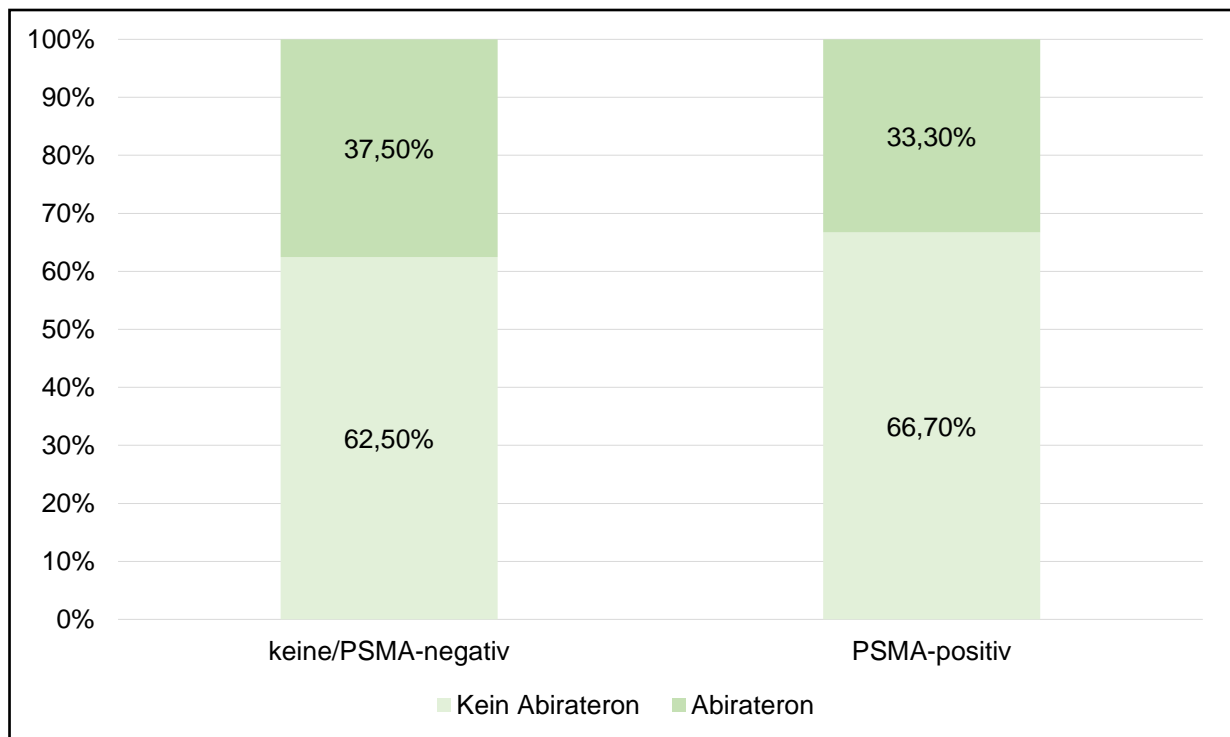


Abbildung 13: Säulendiagramm mit den divergenten Patientengruppen anhand des CTC-PSMA-Status. Innerhalb einer Gruppe wird anhand der derzeitigen Abiraterontherapie unterschieden (Exakter Test nach Fisher: zweiseitig $p = 1,000$ und einseitig $p = 0,593$; Chi-Quadrat nach Pearson $p = 0,835$)

4.3.3. Korrelation des PSMA-Profiles der CTCs und den klinisch-laborchemischen Parametern

Die Ergebnisse der Korrelationsanalysen sind in Tabelle 7 detailliert aufgezeigt. Das PSMA-Profil der CTCs in Form des CTC-PSMA-IS und des relativen Anteils PSMA-positiver CTCs wurde zu klinischen und laborchemischen Parametern in Beziehung gesetzt. Aufgrund mangelnder Normalverteilung der Größen verwendeten wir Spearmans Rangkorrelationskoeffizient für die Auswertung. Die Koeffizienten für den CTC-PSMA-IS und Anteil PSMA-positiver CTCs unterschieden sich dabei innerhalb des jeweiligen Parameters kaum. Hinsichtlich des Alters konnte nur eine schwache (nicht signifikante) Beziehung gezeigt werden ($r = 0,21$; $p = 0,32$ bzw. $r = 0,20$; $p = 0,33$). Bei der ED ($r = -0,03$; $p = 0,9$ und $r = -0,04$; $p = 0,87$) dem T-Stadium ($r = -0,11$; $p = 0,62$ und $r = -0,11$; $p = 0,59$) und dem GS ($r = -0,08$; $p = 0,72$ und $r = -0,08$; $p = 0,69$) wurden keine Korrelationen zum PSMA-Profil gefunden. Es konnte ebenfalls kein Zusammenhang zwischen dem PSA-Spiegel und dem PSMA-Profil der CTCs gezeigt werden. Die Korrelationskoeffizienten sind mit $r = -0,03$; $p = 0,91$ (PSMA-IS) und $r = -0,01$; $p = 0,97$ (rel. Anteil PSMA-positiver CTCs) sehr niedrig. Ein schwacher, allerdings nicht signifikanter Zusammenhang zeigte sich bei Betrachtung der anderen Laborparameter. Für die AP lagen die Rangkorrelationskoeffizienten bei $r = 0,3$; $p = 0,19$ bzw. $r = 0,32$; $p = 0,17$ und für die Laktatdehydrogenase bei $r = 0,4$; $p = 0,1$ bzw. $r = 0,38$; $p = 0,12$. Eine leicht entgegengesetzte Beziehung von HB und PSMA-Status ergibt sich aus dem negativen

Koeffizienten $r = -0,1$; $p = 0,66$ (PSMA-IS) und $r = -0,08$; $p = 0,74$ (rel. Anteil PSMA-positiver CTCs). Signifikante Ergebnisse konnten bei der Analyse der Anzahl der CTCs gefunden werden. Diese korreliert stark mit dem CTC-PSMA-IS ($r = 0,82$; $p < 0,05$) und dem relativen Anteil PSMA-positiver CTCs ($r = 0,8$; $p < 0,05$).

Tabelle 7: Korrelation des PSMA-Profiles der CTCs und klinisch-laborchemischen Parametern

		CTC-PSMA-IS	rel. Anteil PSMA-positiver CTCs
Alter	Korrelationskoeffizient r	0,21	0,20
	Signifikanz (2-seitig)	0,32	0,33
	Anzahl n	25	25
ED	Korrelationskoeffizient r	-0,03	-0,04
	Signifikanz (2-seitig)	0,90	0,87
	Anzahl n	25	25
T	Korrelationskoeffizient r	-0,11	-0,11
	Signifikanz (2-seitig)	0,62	0,59
	Anzahl n	25	25
GS	Korrelationskoeffizient r	-0,08	-0,08
	Signifikanz (2-seitig)	0,72	0,69
	Anzahl n	25	25
PSA	Korrelationskoeffizient r	-0,03	-0,01
	Signifikanz (2-seitig)	0,91	0,97
	Anzahl n	24	24
AP	Korrelationskoeffizient r	0,30	0,32
	Signifikanz (2-seitig)	0,19	0,17
	Anzahl n	20	20
LDH	Korrelationskoeffizient r	0,40	0,38
	Signifikanz (2-seitig)	0,10	0,12
	Anzahl n	18	18
HB	Korrelationskoeffizient r	-0,10	-0,08
	Signifikanz (2-seitig)	0,66	0,74
	Anzahl n	20	20
CTC-Anzahl	Korrelationskoeffizient r	0,82	0,80
	Signifikanz (2-seitig)	<0,05	<0,05
	Anzahl n	25	25

4.4. Anzahl der CTCs und klinisch-laborchemische Parameter

4.4.1. Deskriptive Statistik und einfaktorielle ANOVA bei der Analyse der Anzahl der CTCs und der klinisch-laborchemischen Parameter

Die 25 Patienten wurden aufgrund der prognostischen Bedeutung der CTC-Anzahl in zwei Gruppen aufgeteilt [105, 106]. Wir untersuchten, ob Unterschiede bezüglich der klinischen und laborchemischen Parameter zwischen diesen Gruppen vorhanden waren. Die Gruppen bestanden aus:

- Patienten mit < 5 CTCs/7,5 ml Blut ($n = 14$; 56 %); prognostisch günstig
- Patienten mit ≥ 5 CTCs/7,5 ml Blut ($n = 11$; 44 %); prognostisch ungünstig.

Tabelle 8 gibt eine Übersicht über die Ergebnisse der metrischen Größen. Zu beobachten war, dass Patienten mit ≥ 5 CTCs im Mittel 6,1 Jahre älter waren (72,6 Jahre vs. 66,5 Jahre; $p = 0,1$). Bei der ED waren Patienten mit prognostisch günstiger CTC-Anzahl 4,27 Monate länger erkrankt; wenngleich nicht signifikant ($p = 0,81$). Bezüglich der Laborparameter hatten Patienten mit weniger als 5 CTCs niedrigere Spiegel von PSA, AP und LDH sowie einen höheren HB, als die Patienten in der Vergleichsgruppe. Die durchschnittlichen Werte betragen beim PSA 43,2 ng/ml vs. 157,33 ng/ml ($p = 0,18$), bei der AP 132,36 U/l vs. 326,78 U/l ($p = 0,19$) und bei der LDH 187,64 U/l vs. 278,43 U/l ($p = 0,08$). Patienten mit ≥ 5 CTCs hatten im Mittel einen um 1,06 g/dl geringeren Hämoglobinspiegel (11,82 g/dl vs. 12,88 g/dl; $p = 0,2$). Unterschiede bezüglich der qualitativen Merkmale sind in den Abbildungen 14-20 dargestellt. Der Fokus lag dabei auf der Verteilung innerhalb einer Gruppe, um Differenzen besser zeigen zu können. Bei Patienten mit prognostisch günstiger CTC-Anzahl wurde im Vergleich etwas öfter ein T3-Status verzeichnet (64,3 % vs. 54,5 %; $p = 0,97$). Umgekehrt war ein N1-Status oder M1-Status prozentual nur geringfügig häufiger dokumentiert, falls eine prognostisch ungünstige CTC-Anzahl vorlag (63,3 % vs. 57,2 %; $p = 0,9$ bzw. 78,6 % vs. 81,8%; $p = 0,92$). Eine Hormontherapie wurde in der Vergangenheit von Patienten mit ungünstiger CTC-Anzahl zu 72,7 % durchgeführt; in der anderen Gruppe nur zu 50 % ($p = 0,25$). 18,2 % der Patienten mit 5 oder mehr CTCs hatten einen GS von 7 oder 8, während bei den übrigen Patienten (81,8 %) ein GS von 9 oder 10 dokumentiert war. In der anderen Patientengruppe war diese Aufteilung prozentual näher beieinander mit GS 7/8 bei 35,7 % und GS 9/10 bei 64,3 % ($p = 0,4$). Hinsichtlich der aktuellen Pharmakotherapie konnten keine nennenswerten Differenzen bei der LHRH Therapie gefunden werden ($p = 1$), während Patienten mit 5 oder mehr CTCs häufiger mit Abirateron behandelt wurden (45,5 % vs. 28,6 %; $p = 0,43$).

Tabelle 8: deskriptive Statistik und einfaktorielle ANOVA von Patienten mit weniger als 5 CTCs/7,5 ml Blut und Patienten mit gleich oder mehr als 5 CTCs/7,5 ml Blut

	N	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler	95 %-Konfidenzintervall für den Mittelwert		Minimum	Maximum	Signifikanz (p-Wert)
					Untergrenze	Obergrenze			
Alter (Jahre)	CTCs < 5	66,5	8,71	2,33	61,47	71,53	49	77	0,1
	CTCs ≥ 5	72,64	9,1	2,74	66,52	78,75	61	91	
	Gesamt	69,2	9,23	1,85	65,39	73,01	49	91	
ED (Mon.)	CTCs < 5	66,21	40,31	10,77	42,93	89,48	0,99	124,62	0,81
	CTCs ≥ 5	61,94	47,59	14,35	29,97	93,92	2,76	140,32	
	Gesamt	64,33	42,76	8,55	46,68	81,98	0,99	140,32	
PSA (ng/ml)	CTCs < 5	43,2	65,23	18,09	3,78	82,62	<0,01	243,22	0,18
	CTCs ≥ 5	157,33	290,12	87,48	-37,58	352,23	0,15	854,46	
	Gesamt	95,51	205,41	41,93	8,77	182,24	<0,01	854,46	
AP (U/l)	CTCs < 5	132,36	137,87	41,57	39,74	224,99	37	540	0,19
	CTCs ≥ 5	326,78	446,44	148,81	-16,39	669,94	68	1460	
	Gesamt	219,85	322,14	72,03	69,09	370,61	37	1460	
LDH (U/l)	CTCs < 5	187,64	47,59	14,35	155,67	219,61	103	283	0,08
	CTCs ≥ 5	278,43	152,56	57,66	137,33	419,53	170	618	
	Gesamt	222,94	107,8	25,41	169,34	276,55	103	618	
HB (g/dl)	CTCs < 5	12,88	1,63	0,49	11,79	13,98	9,1	15,1	0,2
	CTCs ≥ 5	11,82	1,89	0,63	10,37	13,27	9	14,4	
	Gesamt	12,41	1,79	0,4	11,57	13,24	9	15,1	

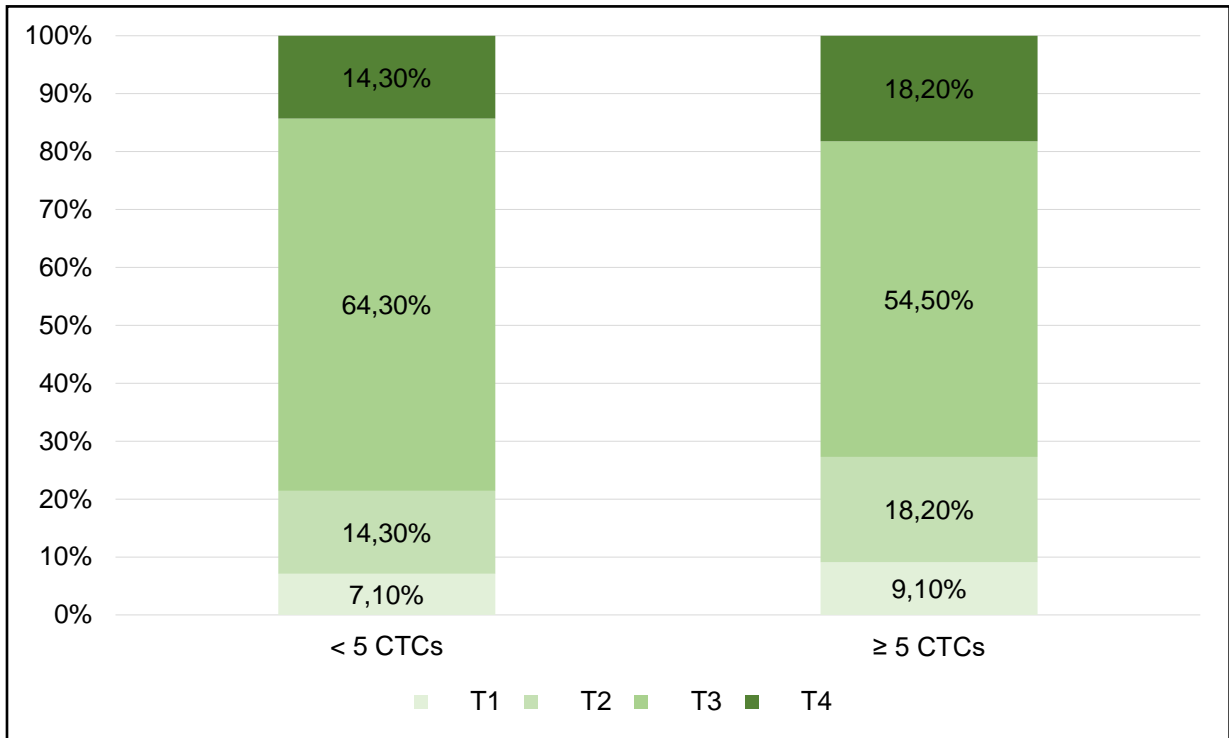


Abbildung 14: Säulendiagramm mit den divergenten Patientengruppen anhand der Anzahl der CTCs. Innerhalb einer Gruppe wird anhand des T-Stadiums unterschieden ($p = 0,97$)

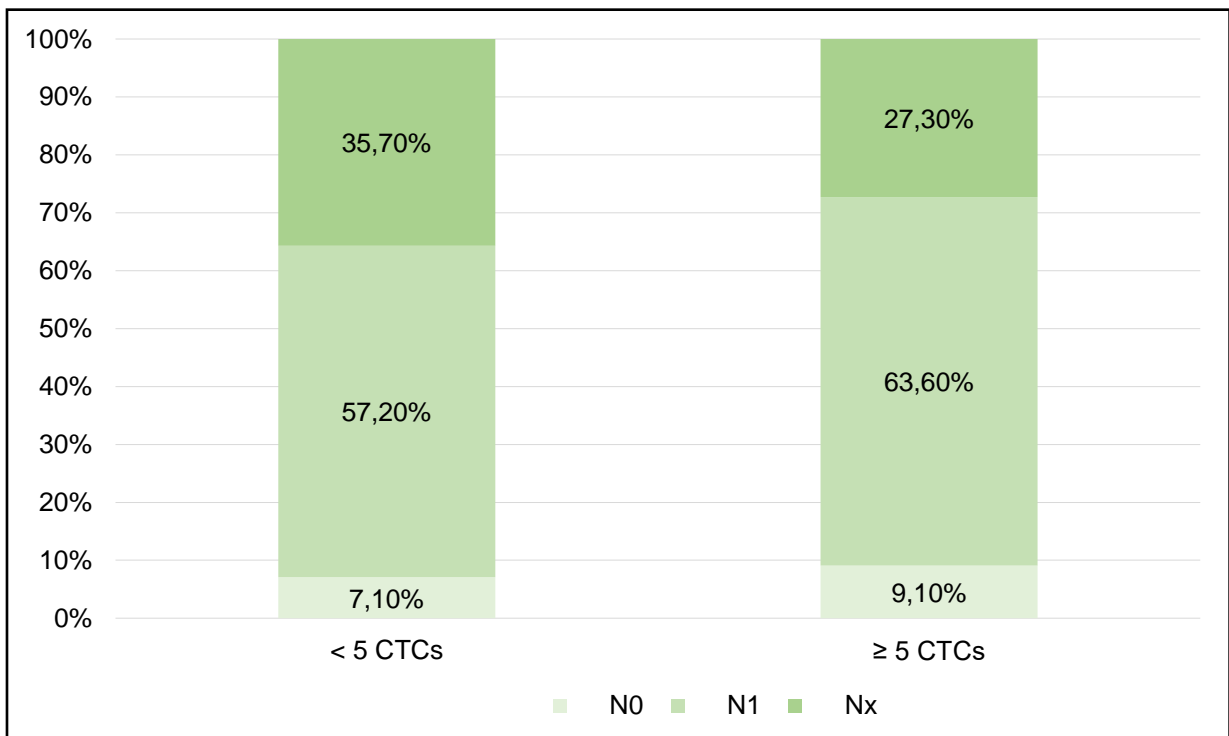


Abbildung 15: Säulendiagramm mit den divergenten Patientengruppen anhand der Anzahl der CTCs. Innerhalb einer Gruppe wird anhand des N-Stadiums unterschieden ($p = 0,9$)

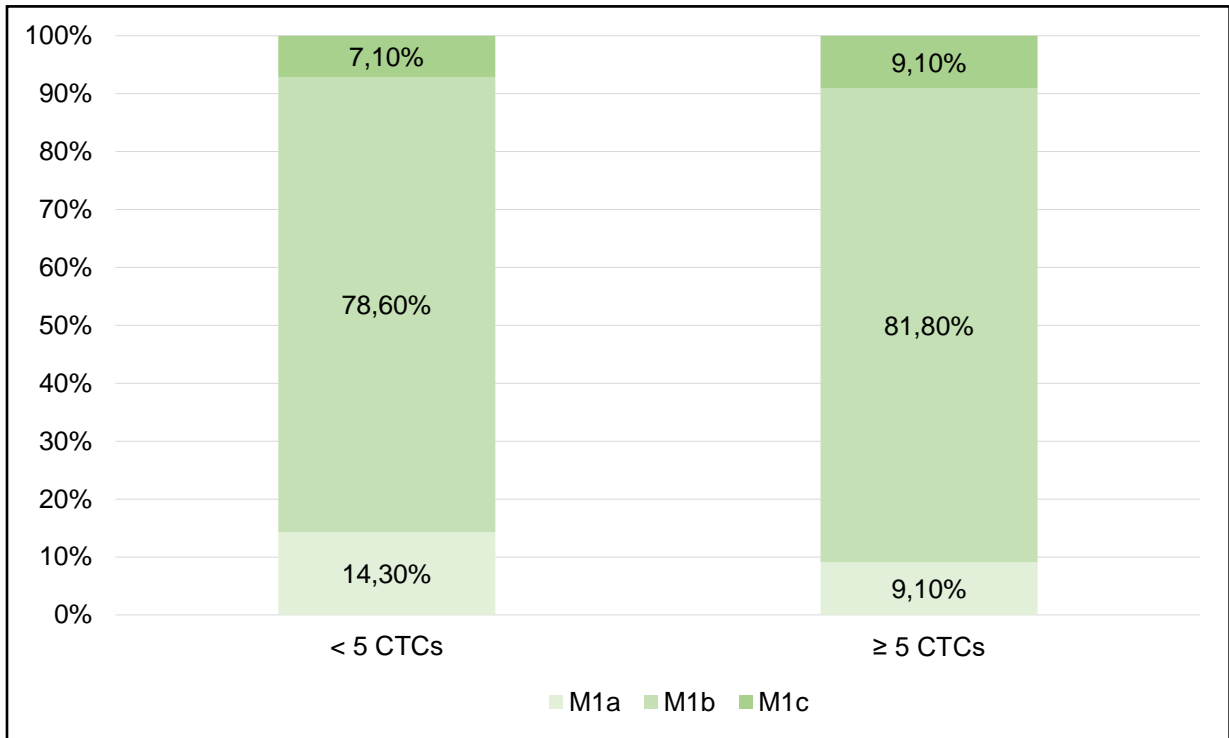


Abbildung 16: Säulendiagramm mit den divergenten Patientengruppen anhand der Anzahl der CTCs. Innerhalb einer Gruppe wird anhand des M-Stadiums unterschieden ($p = 0,92$)

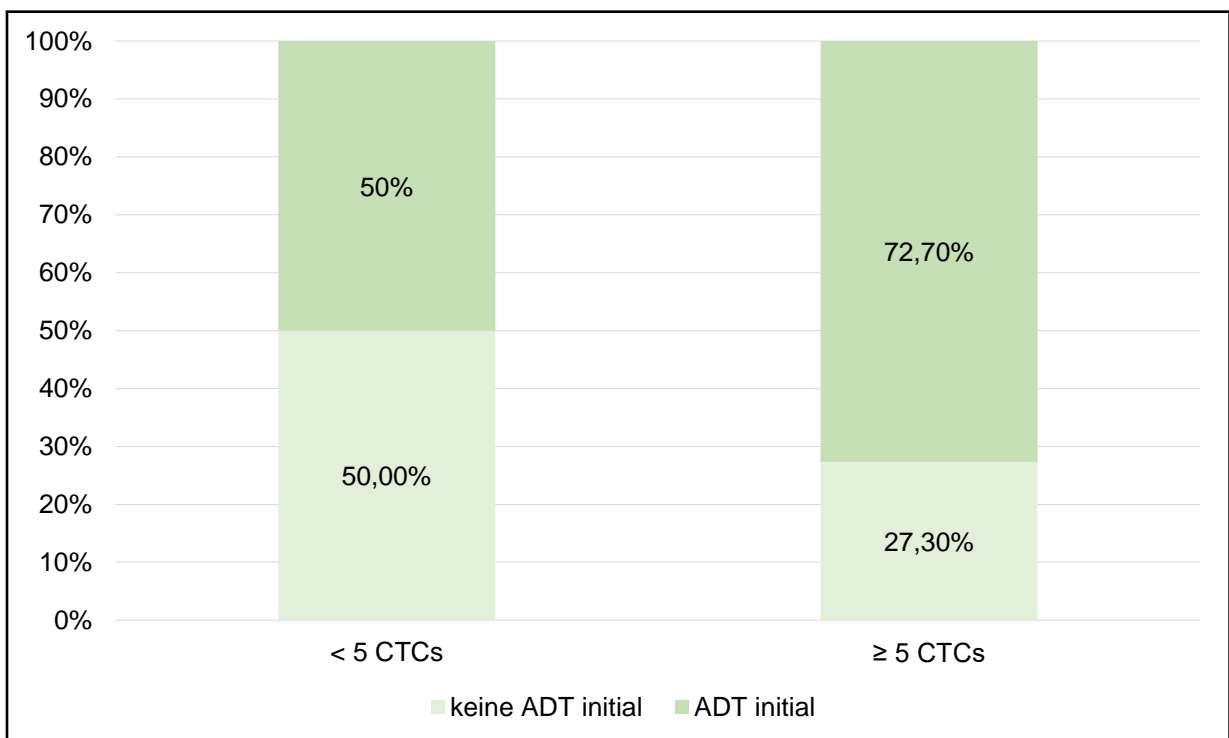


Abbildung 17: Säulendiagramm mit den divergenten Patientengruppen anhand der Anzahl der CTCs. Innerhalb einer Gruppe wird anhand der initialen ADT unterschieden (Exakter Test nach Fisher: zweiseitig $p = 0,41$ und einseitig $p = 0,23$; Chi-Quadrat nach Pearson $p = 0,25$)

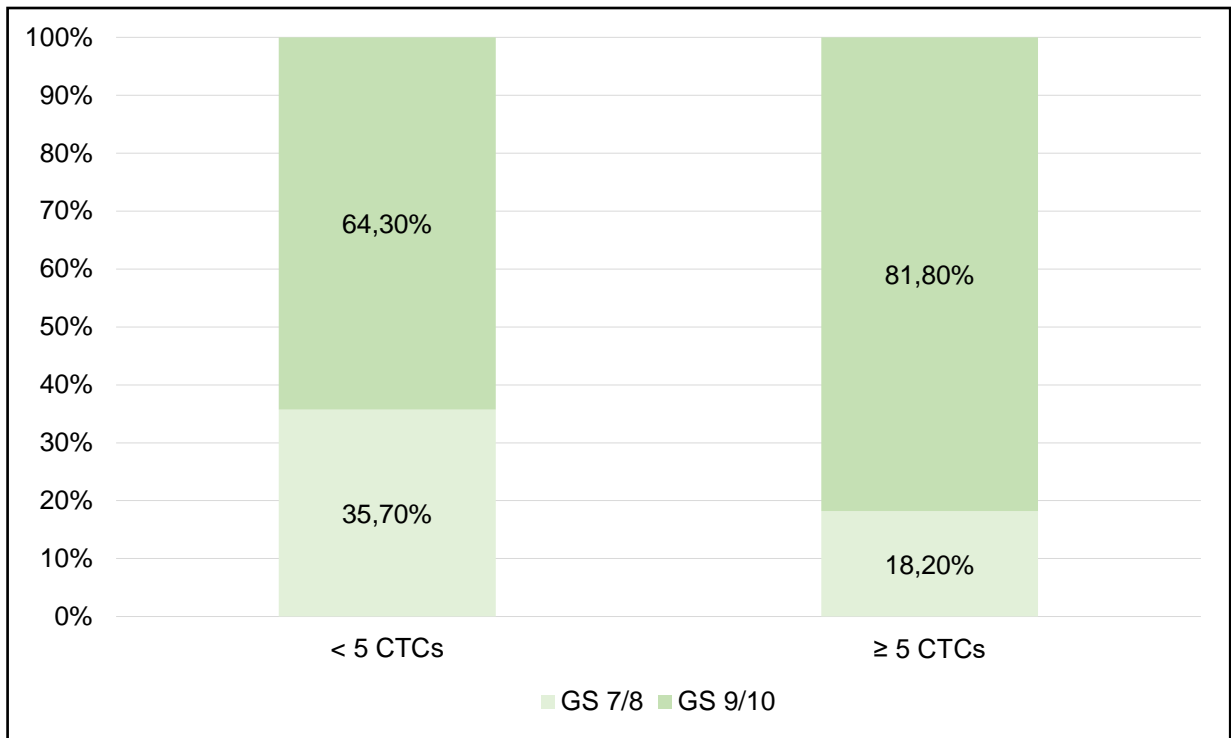


Abbildung 18: Säulendiagramm mit den divergenten Patientengruppen anhand der Anzahl der CTCs. Innerhalb einer Gruppe wird anhand des GS unterschieden (Exakter Test nach Fisher: zweiseitig $p = 0,4$ und einseitig $p = 0,31$; Chi-Quadrat nach Pearson $p = 0,33$)

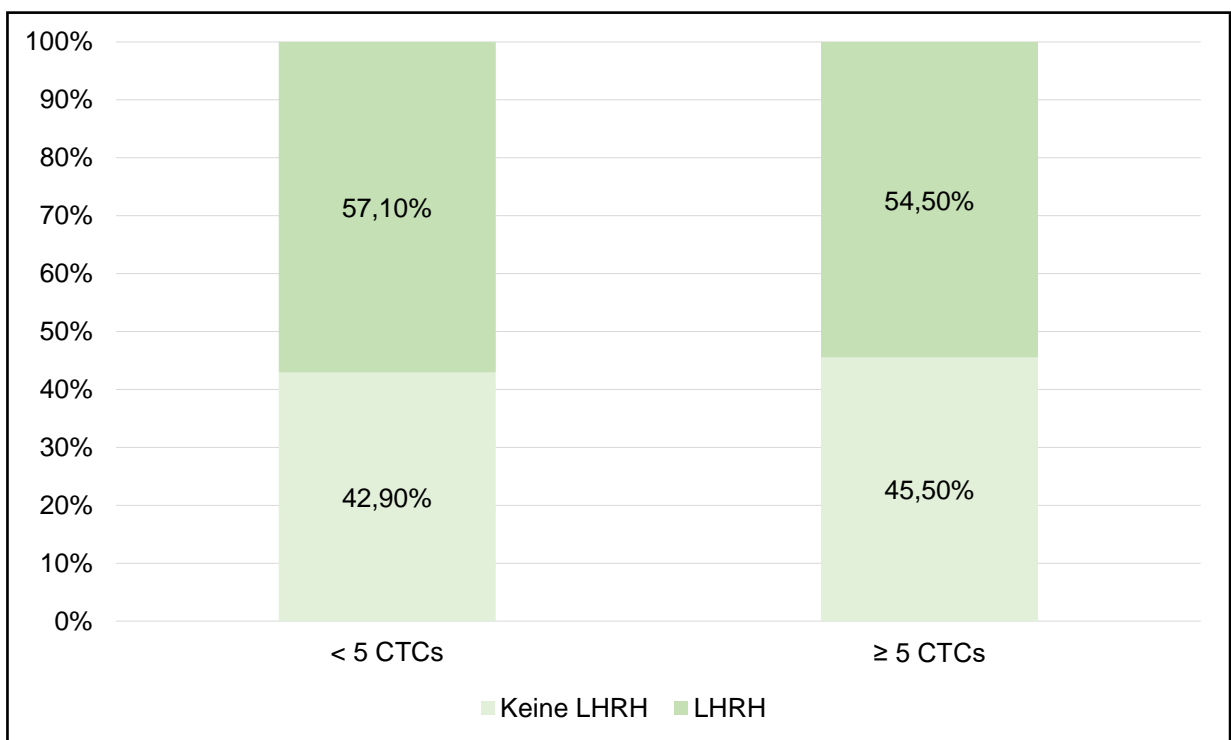


Abbildung 19: Säulendiagramm mit den divergenten Patientengruppen anhand der Anzahl der CTCs. Innerhalb einer Gruppe wird anhand der derzeitigen LHRH-Therapie unterschieden (Exakter Test nach Fisher: zweiseitig $p = 1$ und einseitig $p = 0,61$; Chi-Quadrat nach Pearson $p = 0,9$)

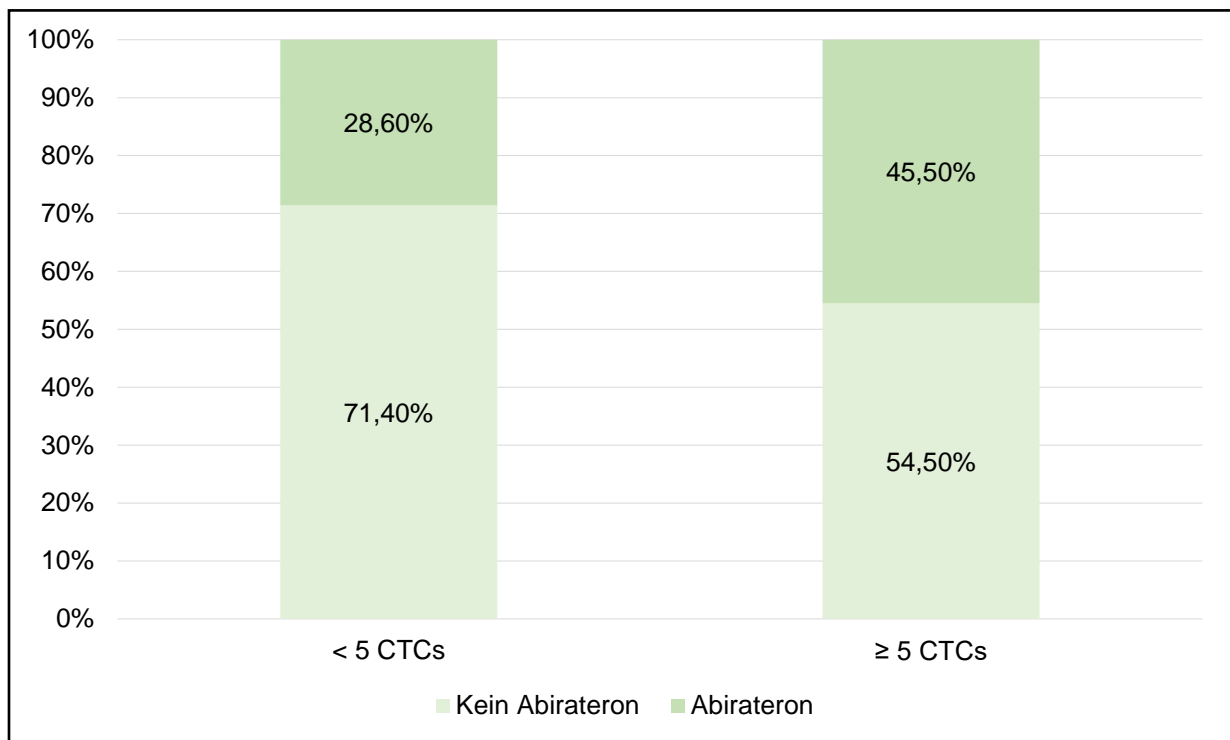


Abbildung 20: Säulendiagramm mit den divergenten Patientengruppen anhand der Anzahl der CTCs. Innerhalb einer Gruppe wird anhand der derzeitigen Abiraterontherapie unterschieden (Exakter Test nach Fisher: zweiseitig $p = 0,43$ und einseitig $p = 0,33$; Chi-Quadrat nach Pearson $p = 0,38$)

4.4.2. Korrelation zwischen der Anzahl der CTCs und den klinisch-laborchemischen Parametern

Zuletzt wurden Korrelationsberechnungen zwischen der CTC-Anzahl und den klinischen Parametern durchgeführt (siehe Tabelle 9). Der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman lag beim Alter der Patienten bei $r = 0,24$ ($p = 0,25$). Die vorhandenen Daten deuten zudem auf eine sehr schwache Korrelation zwischen der CTC-Anzahl und der ED an. Der Korrelationskoeffizient war mit $r = 0,15$ allerdings nicht signifikant ($p = 0,49$). Ebenso war bei Betrachtung des GS weder ein wesentlicher Zusammenhang ($r = 0,11$) noch eine Signifikanz ($p = 0,61$) zu verzeichnen. Beim T-Stadium konnte keine signifikante Korrelation gezeigt werden. Der Wert gegenüber der CTC-Gesamtanzahl betrug $r = -0,14$ mit $p = 0,95$. Weiterhin waren sowohl bei dem PSA mit $r = 0,002$ ($p = 0,99$) als auch bei der AP mit $r = 0,29$ ($p = 0,21$) keine signifikanten Korrelationen zu finden, wenngleich ein leichter Zusammenhang von AP und CTC-Anzahl laut Korrelationskoeffizient besteht. Ein mäßiger Zusammenhang besteht zwischen der totalen CTC-Anzahl und der LDH sowie des HB. Hier lag der Koeffizient der LDH bei $r = 0,44$ ($p = 0,07$) bzw. des HB bei $r = -0,44$ ($p = 0,06$), was zwar nicht als signifikant, aber als deutlicher Trend zu werten ist.

Tabelle 9: Korrelation zwischen CTC-Anzahl und klinischen und laborchemischen Parametern

		CTC-Anzahl
Alter	Korrelationskoeffizient r	0,24
	Signifikanz (2-seitig)	0,25
	Anzahl n	25
ED	Korrelationskoeffizient r	0,15
	Signifikanz (2-seitig)	0,49
	Anzahl n	25
T	Korrelationskoeffizient r	-0,14
	Signifikanz (2-seitig)	0,95
	Anzahl n	25
GS	Korrelationskoeffizient r	0,11
	Signifikanz (2-seitig)	0,61
	Anzahl n	25
PSA	Korrelationskoeffizient r	0,002
	Signifikanz (2-seitig)	0,99
	Anzahl n	24
AP	Korrelationskoeffizient r	0,29
	Signifikanz (2-seitig)	0,21
	Anzahl n	20
LDH	Korrelationskoeffizient r	0,44
	Signifikanz (2-seitig)	0,07
	Anzahl n	18
HB	Korrelationskoeffizient r	-0,44
	Signifikanz (2-seitig)	0,06
	Anzahl n	20

5. Diskussion

5.1. PSMA-Expression der PCa-Zelllinien, des Primärtumorgewebes und der CTCs

5.1.1. PSMA-Expression der PCa-Zelllinien

Der PSA-Wert wird schon seit langem als Tumormarker für das PCa unabhängig vom Stadium der Erkrankung eingesetzt. Die Effektivität neuer Therapieverfahren wird nicht nur anhand des medianen Gesamtüberlebens, der Verträglichkeit und Lebensqualität, sondern auch hinsichtlich des messbaren PSA-Ansprechens (PSA-Remission) sowie der Zeit bis zum radiologischen oder biochemischen Progress evaluiert. Beim mCRPC konnte jedoch gezeigt werden, dass ein verlängertes Gesamtüberleben bei Patienten auch dann möglich ist, wenn es zu keinem signifikant verbesserten PSA-Ansprechen oder einer verlängerten biochemischen progressionsfreien Überlebenszeit kommt [125]. Zudem zeigt der PSA-Wert auch Unzulänglichkeiten als *Screening*-Parameter, da auch bei normalem PSA-Wert die Tumorprävalenz zwischen 6,6 % - 26,9 % liegen kann [126]. Daher werden neue Biomarker für Monitoring, Diagnostik und Therapieoptimierung beim PCa benötigt. Die PSMA-Expression auf CTCs und in Tumorgewebe ist dahingehend ein vielversprechender Forschungsansatz. Dies gilt insbesondere vor dem Hintergrund, dass PCa-Patienten in (aber auch außerhalb von) Studien bereits mit PSMA-gerichteten Verfahren therapiert werden.

Um die PSMA-Expression sowohl im Tumorgewebe als auch auf CTCs besser quantifizieren zu können, wurde für die Untersuchungen der PSMA-IS entwickelt. Das CellSearch®-Verfahren wurde um einen kompatiblen PSMA-Antikörper ergänzt, damit eine PSMA-Expression auf CTCs verzeichnet werden konnte. Als zusätzliche Größe diente der relative Anteil an PSMA-positivem Probenmaterial. Somit konnte zusätzlich nicht nur das Ausmaß der Expression einer einzelnen Zelle, sondern auch die Gesamtzahl PSMA-produzierender Zellen mitberücksichtigt werden. Zur Validierung der PSMA-Anfärbung wurden die oben beschriebenen Zelllinien mit dem entsprechenden Antikörper versehen. Im Ergebnis unserer Testreihen wiesen LNCaP-Zellen die stärkste PSMA-Expression auf, gefolgt von 22Rv1-Zellen mit intermediärer oder geringer Expression. Die LNCaP-Zelllinie zeichnet sich unter anderem durch ihre Hormonsensitivität aus [127]. Demgegenüber stehen die Tumorzellen der Zelllinien 22Rv1 und PC-3, welche teilweise bzw. komplett hormonrefraktär sind. Letztere sind durch einen hohen Grad an Entdifferenzierung gekennzeichnet [128, 129]. Die PC-3-Zelllinie war daher in unseren Untersuchungen auch komplett PSMA-negativ.

Zur Expression von PSMA auf den gewählten Zelllinien sind einige Publikationen veröffentlicht worden. Mit vergleichbaren Methoden konnten sie ähnliche Unterschiede der Expressionsmuster von PSMA auf Zellen der drei Zelllinien zeigen [130, 131]. Demgegenüber wird in einer Publikation von Ben Jemaa et al. beschrieben, dass in 22Rv1-Zellen mehr mRNA für PSMA nachweisbar ist, als in LNCaP-Zellen [132]. Ob ein Rückschluss von der Menge der

mRNA auf die tatsächlich vorhandene PSMA-Expression zulässig ist, bleibt allerdings fraglich. Der direkte Vergleich ist zudem aufgrund der unterschiedlichen Methodik nicht verlässlich. Die Ergebnisse der PSMA-Expression der genannten Zelllinien deuten darauf hin, dass die PSMA-Expression mit steigender Entdifferenzierung und sinkender Hormonsensitivität abnimmt. Zusammen mit den Erkenntnissen von Wright et al. über die steigende PSMA-Expression bei höherem GS ergibt sich daraus das Bild einer plastischen PSMA-Expression während der Tumorgenese [99]. Es kommt also im Rahmen der Entdifferenzierung des Adenokarzinoms zunächst zu einem Anstieg des PSMA-Expressionsniveaus. Ab einem gewissen Grad der Entdifferenzierung sind die Tumorzellen nicht mehr in der Lage PSMA zu exprimieren. Ab diesem Punkt sind folglich auch PSMA-gerichtete Therapien nicht mehr als sinnvoll zu erachten.

5.1.2. PSMA-Expression des Primärtumorgewebes und der CTCs

In den vermessenen Proben des Primärtumorgewebes ($n = 13$) ergab sich eine PSMA-Expression von durchschnittlich 51,4 %. Dies ist vergleichbar mit den Ergebnissen anderer Arbeiten. In Abhängigkeit vom GS sind ebenfalls Werte im Mittel von 43,9 % (10,5 % - 70,7 %) und 56,67 % beschrieben worden [133, 134]. Innerhalb des Primärtumors konnte anhand des Korrelationskoeffizienten ($r = 0,546$) ein mäßiger Zusammenhang zwischen PSMA-IS und dem relativen Anteil von PSMA positiven Gewebe beobachtet werden. Dies bedeutet, dass mit steigender Anzahl von PSMA-exprimierenden Tumorzellen auch die PSMA-Expression der einzelnen Zelle steigt. Obwohl die Ergebnisse knapp oberhalb des Signifikanzniveaus lagen ($p = 0,053$), deutet dies möglicherweise auf einen Selektionsvorteil von Tumorzellen mit PSMA hin. Tumorzellen mit erhöhter PSMA-Expression könnten einen Überlebensbonus sowie eine höhere Proliferationsrate aufweisen. Yao und Bacich konnten dies anhand von Zellkulturen bereits zeigen. Zellen der PCa-Zelllinien LNCaP (mit PSMA) und DU-145 (ohne PSMA) proliferierten unterschiedlich stark in Abhängigkeit vom Folatspiegel im Medium. Ein hoher Folatspiegel führte bei beiden Zelllinien zu verstärktem Zellwachstum. Bei niedrigem und physiologischem Folatspiegel hingegen wiesen die Wissenschaftler einen deutlichen Wachstumsvorteil für die LNCaP-Zellen nach [135]. Inwiefern dies auch *in vivo* der Realität entspricht ist unklar.

Bei dem PSMA-Profil der charakterisierten CTCs war ein hohes Maß an Heterogenität zu verzeichnen. Bei 20 Patienten konnten CTCs gefunden werden, wobei davon 12 wiederum PSMA-positive CTCs hatten. 66,7 % der isolierten CTCs exprimierten PSMA. Auch wenn der Großteil davon nur einen PSMA-IS von 1 hatte, konnte dennoch eine beträchtliche Anzahl an PSMA-positiven Zellen detektiert werden ($n = 1386$). Zudem zeigte sich ein starker signifikanter Zusammenhang ($r = 0,96$) zwischen PSMA-IS der CTCs und dem relativen Anteil der CTCs mit PSMA-Expression. Dies ließe sich ebenfalls dadurch erklären, dass bei einer

Vielzahl von PSMA-exprimierenden CTCs auch die individuelle CTC durchschnittlich mehr PSMA auf der Zelloberfläche hat, weil ein Selektionsvorteil vorliegt. Derzeit existieren nur wenige Studien, in welchen ebenfalls CTCs auf PSMA untersucht wurden. Kirby *et al.* isolierten mit dem System „GEDI“ (*geometrically enhanced differential immunocapture*) aus dem Blut von Patienten mit mCRPCa, die zuvor eine Taxan-basierte Chemotherapie erhielten, CTCs. Beim GEDI-System handelt es sich um ein Verfahren, welches sich im Rahmen der Mikrofluidik die Größe und Verformbarkeit der durch die Kammer laufenden CTCs zunutze macht. Mithilfe der Implementierung des PSMA-Antikörpers J591 auf der Oberfläche sollen prostatakarzinomspezifische CTCs herausgefiltert werden. Insgesamt wurde der Versuch mit zehn gesunden Probanden und 30 Patienten mit mCRPCa durchgeführt. Es wurde standardisiert 1 ml Blut pro Person verwendet. Mit diesem Verfahren fanden die Autoren im Median 3 CTCs (0-22 CTCs) bei gesunden Probanden; bei Patienten mit mCRPCa waren es 54 CTCs (0-1200 CTCs). Von 25 der 30 mCRPCa Patienten führten sie daneben eine Zellzählung mit CellSearch® durch. Der Vergleich beider Systeme kam zu dem Schluss, dass mit dem GEDI-Verfahren 2 bis 400-mal mehr CTCs gefunden wurden. Bei der durchgeführten Korrelationsberechnung, die beide Verfahren (GEDI vs. CellSearch®) in Beziehung zueinander setzte, kam ein Korrelationskoeffizient von $r = 0,44$ heraus. Der Vergleich beider Techniken ist jedoch limitiert, da unterschiedliche Biomarker zur Charakterisierung von CTCs verwendet wurden. Beim GEDI-Verfahren wurde jede PSMA-positive und CD45-negative Zelle als CTC gewertet. CellSearch® hingegen hat als zwingendes Kriterium den Nachweis einer EpCAM-Expression [136]. Kirby *et al.* argumentierten, dass EpCAM während der EMT von Zellen herunterreguliert wird und damit viele CTCs nicht detektiert werden würden [118]. Obwohl das GEDI-System auch eine größenabhängige Filterfunktion hat, werden aufgrund des Einsatzes des PSMA-Antikörpers größere DAPI-positive, CD45-negative und PSMA-negative Zellen nicht detektiert. Dies steht im Widerspruch zur vorliegenden Arbeit, die zeigt, dass nicht alle CTCs zwangsläufig PSMA exprimieren müssen. Zudem müssen CTCs nicht zwingend größer als Leukozyten sein, was generell eine Schwäche der größenabhängigen Filtrationsmethoden darstellt. Die mit dem GEDI-System gesammelten Zellen wurden anschließend auf EpCAM angefärbt. Dabei waren im Median 60 % der CTCs EpCAM-positiv [136]. Auffällig bei der Studie ist zudem die Anzahl an gefundenen CTCs bei den gesunden Probanden, da hier keine CTCs detektiert werden sollten [137].

Eine neuere Studie versuchte durch die Kombination von EpCAM-Antikörpern und PSMA-Antikörpern epitheliale und mesenchymale CTCs zu detektieren. Dazu verwendeten Yin *et al.* ebenfalls ein Gerät auf Basis einer Mikrofluidik-Technik. Zuvor durchgeführte Experimente mit LNCaP-Zellen zeigten zudem eine deutliche Reduktion der EpCAM-Expression während der EMT. Wurde eine EMT bei den Zellen induziert, konnten lediglich 38,1 % der in das System gespeisten Zellen mit dem EpCAM-Antikörper detektiert werden. Dagegen lag die Quote ohne

EMT bei 73,8 %. Die Kombination beider Antikörper führte zu einer Detektionseffizienz von 85 %. Ebenso wurde auch eine CTC-Bestimmung bei 24 PCa-Patienten (lokalisierte und metastasierte Stadien) mit dem Gerät durchgeführt. Bei Verwendung von PSMA- und EpCAM-Antikörper konnten durchschnittlich $6,6 \pm 5$ CTCs/2 ml Blut gefunden werden. Dagegen belief sich die Zahl bei alleiniger Anwendung des EpCAM-Antikörpers auf $3,6 \pm 2,4$ CTCs/2 ml Blut [138].

Beide Vergleichsstudien zeigen, dass mit anderen Methoden als dem CellSearch®-System auch eine PSMA-Bestimmung auf CTCs möglich ist. Zu beachten sind jedoch insbesondere Vor- und Nachteile des jeweils verwendeten Systems. CellSearch® ist bisher die einzige von der FDA zugelassene Methode und stellt daher das vermutlich am meisten verwendete und validierteste Verfahren dar. Der Großteil der qualitativ hochwertigen Studien, welche die prognostische Bedeutung der CTCs erforschten wurden mit dem CellSearch®-System durchgeführt. Von Nachteil könnte die Abhängigkeit von der EpCAM-Expression sein. Zunehmend gibt es Hinweise, dass mesenchymale CTCs (ohne EpCAM) mit einer schlechteren Prognose assoziiert sind [139].

Eine weitere zentrale Fragestellung im ersten Abschnitt dieser Arbeit lautete, ob die Expression von PSMA im Primärtumorgewebe mit der Expression von PSMA auf isolierten CTCs korreliert. Entgegen unserer Erwartung konnte dieser Zusammenhang nicht nachgewiesen werden und die erhobenen Daten deuten eher auf ein entgegengesetztes Verhältnis beider Parameter hin. Das würde bedeuten, dass bei verstärkter PSMA-Expression im Primärtumor weniger PSMA auf den später auftretenden CTCs vorhanden ist. Prinzipiell wäre es denkbar, dass also eher PSMA-negative Prostatakarzinomzellen dazu geneigt sind eine EMT zu vollziehen und CTCs zu generieren, was mit dem Ergebnis der in 5.1.1. beschriebenen Zellen der Zelllinie PC-3 vereinbar wäre. Gleichzeitig würden PSMA-positive Tumore eher weniger CTCs generieren, da sie möglicherweise nicht genug entdifferenziert sind.

Nach der Studie von Kirby *et al.* wäre auch eine andere Erklärung vorstellbar. Die Studienergebnisse implizieren, dass CTCs vom mesenchymalen Typ eher dazu neigen PSMA zu exprimieren, da in dieser Studie alle PSMA-positiven CTCs nur zu 60 % EpCAM auf der Zelloberfläche hatten [136]. Folglich könnten von PSMA-reichem Tumorgewebe eher phänotypisch mesenchymale CTCs ausgehen. Umgekehrt stammen epidermale CTCs tendenziell von Tumorgewebe mit geringer PSMA-Expression.

Das Korrelationsmodell ist jedoch durch die niedrige Anzahl an Proben ($n = 13$) limitiert. Lediglich bei sechs der 13 Patienten mit einer PSMA-Analyse des Biopsiematerials, konnten PSMA-positive CTCs gefunden werden. Das Modell gilt nur zwischen Primärtumor und CTCs. Der Einfluss von vorhandenen Metastasen auf den PSMA-Status der CTCs konnte nicht

berücksichtigt werden. Daher wäre es auch denkbar, dass der Großteil PSMA-positiver CTCs von Metastasen mit gesteigerter PSMA-Expression stammt, insbesondere bei Patienten, die eine Radikal-OP der Prostata hatten. Zudem stellt sicherlich die zeitliche Differenz zwischen dem Zeitpunkt der Biopsie und der CTC-PSMA-Messung den größten Schwachpunkt des Modells dar. Zum einen erhielten die Patienten nach Biopsie i.d.R. eine oder mehrere Therapien, was auch im Primärtumorgewebe zu Veränderung hinsichtlich der Tumorzellen führt. Zum anderen ist die Lebensdauer von CTCs vermutlich relativ kurz und wird auf ungefähr 24 Stunden geschätzt [115]. Die detektierten CTCs spiegeln also eher den aktuellen molekularpathologischen Status des Primärtumors (falls noch vorhanden, z.B. nach Radiatio) und dessen Metastasen wieder [117]. Für eine validere Aussage zu dieser Fragestellung müsste die PSMA-Bestimmung auf CTCs zeitgleich zur Untersuchung der Primärbioptie oder der entfernten Prostata erfolgen, wenn noch keine Fernmetastasen nachweisbar sind.

Der oben diskutierte Abschnitt der Studie fokussierte sich auf die Etablierung und Validierung der PSMA-Anfärbung auf CTCs. Die immunhistochemische Anfärbung von PSMA auf Prostatakarzinomgewebe ist schon länger möglich. Erstmals erfolgte mittels CellSearch®-System dahingehend eine Charakterisierung der Tumorzellen im Blut. Patienten, bei welchen eine CTC-Bestimmung erfolgen soll, können nun zusätzlich klinisch weiter unterteilt werden. Besonders relevant könnte dies für die Stratifizierung der Patienten für eine mögliche PSMA-gerichtete Therapie genutzt werden. Bei Patienten mit PSMA-negativen CTCs ist von keiner oder geringer Wirkung einer PSMA-gerichteten Therapie auf CTCs auszugehen. Aufgrund der molekularen Ähnlichkeit der CTCs zu Tumor und Metastasen könnte man auch von einer eher reduzierten Therapieeffektivität insgesamt ausgehen.

5.2. PSMA-Profil der CTCs und klinisch-laborchemische Parameter

Bislang ist keine andere Studie publiziert worden, die einen Zusammenhang zwischen PSMA-Profil der CTCs und klinisch-laborchemischen Parametern untersuchte. Tendenziell waren Patienten mit PSMA-positiven CTCs im Mittel älter, hatten einen höheren GS im Primärtumorgewebe und litten vermehrt an Knochenmetastasen. Zudem waren bei diesen Patienten die Spiegel von PSA, AP, LDH höher; der von HB hingegen niedriger. Die Differenzen der Gruppen bei den Laborparametern AP und LDH waren hierbei mit $p = 0,08$ und $p = 0,07$ nur knapp als nicht signifikant zu bewerten. Beim T- und N-Status sowie der Erkrankungsdauer gab es keine nennenswerten Differenzen. Ebenso waren auch beim Vergleich der aktuellen und früheren medikamentösen Therapie mit LHRH-Agonisten/Antagonisten sowie einer Abiraterontherapie keine Unterschiede zu verzeichnen. Insgesamt war kein Unterschied zwischen den Gruppen als signifikant zu werten.

Die Korrelationsanalysen zeigten lediglich Tendenzen. Schwache (nicht signifikante) Zusammenhänge konnten zwischen der PSMA-Expression der CTCs und dem Alter, der AP

und der LDH festgestellt werden. Die ED, der PSA-Spiegel sowie der HB-Wert zeigten keine Korrelationen. Interessanterweise ergaben die Berechnungen einen Zusammenhang zwischen der PSMA-Expression und der Anzahl von CTCs. Der hohe Korrelationskoeffizient $r = 0,82$ (signifikant mit $p < 0,05$) deutet auf eine starke Kohärenz dieser Größen hin. Bei höherer CTC-Anzahl steigt also die Wahrscheinlichkeit, PSMA-positive CTCs finden zu können.

Da der positive CTC-PSMA-Status mit der CTC-Anzahl korrelierte, kann in der vorliegenden Arbeit nicht sicher ausgeschlossen werden, dass es sich bei den Ergebnissen der klinischen und laborchemischen Parameter diesbezüglich um Scheinkorrelationen handelt und die CTC-Anzahl der bestimmende Faktor ist. Die CTC-Zahl ist in Studien bereits als prognostischer Faktor nachgewiesen worden. Zielführend wäre daher der direkte Vergleich von Patienten mit (in etwa) gleicher CTC-Anzahl aber unterschiedlichem CTC-PSMA-Status, um den Einfluss von PSMA auf CTCs besser einschätzen zu können. Ähnliche Studien, welche die Zusammenhänge aus diesem Teil der Arbeit untersuchen, sind zu diesem Zeitpunkt leider nicht existent.

5.3. CTC-Anzahl und klinisch-laborchemische Parameter

Im Rahmen der Studie wurden deskriptiv Unterschiede zwischen Patienten mit prognostisch günstiger und ungünstiger CTC-Anzahl näher analysiert. Von Interesse war außerdem ein möglicher Zusammenhang von gemessener CTC-Anzahl und klinisch-laborchemischen Parametern.

Zusammenfassend waren Patienten mit prognostisch ungünstiger CTC-Anzahl (≥ 5 CTCs/7,5 ml Blut) tendenziell älter, wiesen höhere Werte an PSA, AP sowie LDH auf und hatten einen niedrigeren HB-Spiegel. Weiterhin war der GS höher, es wurde initial häufiger eine Hormontherapie sowie aktuell eine Therapie mit Abirateron durchgeführt. Die ED war hingegen bei Patienten mit günstiger CTC-Anzahl minimal verlängert. Die TNM-Stadien glichen sich nahezu. Ähnlich zeigten die Korrelationsanalysen einen leichten Zusammenhang von CTC-Anzahl und dem Alter. Ein mäßiger Zusammenhang besteht zwischen der CTC-Anzahl und der Höhe von AP und LDH sowie invers für HB. Kein Zusammenhang konnte hingegen bei der ED, T-Stadium, PSA und dem GS festgestellt werden.

Erklärungen, welche einen direkten Zusammenhang von CTC-Anzahl und den einzelnen Parameter beschreiben, sind schwer zu finden. Pathophysiologisch ist ein direkter Einfluss der CTC-Anzahl auf die Laborparameter unwahrscheinlich. Vielmehr könnte ein höherer oder niedrigerer Laborwert jeweils Ausdruck eines Tumorprogresses, der Tumor- bzw. Metastasenlast oder Morbidität sein. Eine Erklärung für einen möglichen Zusammenhang von gesteigerter CTC-Anzahl und einer vorausgegangenen Androgendeprivation sowie einer Therapie mit Abirateron liefern Sun *et al.* In Zellkulturen und Mausmodellen mit Prostatakarzinomzellen zeigten die Autoren, dass eine Androgendeprivation zur EMT führen kann. Nach EMT können Tumorzellen aus dem Verbund in die Blutbahn gelangen und werden

zur CTC. Es kommt dabei zu einer vermehrten Produktion von Proteinen wie Vimentin, Snail und Zeb1. Diese werden während der EMT hochreguliert, sodass die Tumorzelle vom epidermalen in den mesenchymalen Phänotyp wechselt. Sowohl Zeb1 als auch der aktivierte AR inhibieren gegenseitig ihre Expression [140]. Diese Ergebnisse liefern neue Aspekte für die Durchführung einer ADT und Abiraterontherapie. Nach diesem Modell könnte der Krankheitsprogress beschleunigt werden, indem die verstärkte Induktion der EMT zu Metastasen führt. Interessanterweise lassen sich diese Ergebnisse auch mit der Arbeit von Yin *et al.* verknüpfen. Die Induktion einer EMT führte bei Tumorzellen zu einer vermehrten PSMA-Expression [138]. Eine andere Studie zeigte, dass die Substanzen Abirateron und Enzalutamid die PSMA-Expression des Tumorgewebes hochregulieren [141]. Diese Erklärungsansätze legen die Hypothese einer synergistischen Wirkung im Zusammenhang mit PSMA-gerichteten Therapien nahe. Dies kann besonders für die Konzeption einer Therapiekombination relevant sein.

Wenngleich kein Ergebnis als signifikant zu werten war, sind ähnlichen Tendenzen auch in anderen Publikationen zu finden. Eine andere Arbeit, die sich mit der Korrelation von CTC-Anzahl und klinisch-laborchemischen Parametern beschäftigt, stammt von Bitting *et al.* Sie erhoben Daten von 89 Patienten mit mCRPCa und führten CTC-Messungen nach dem CellSearch®-Verfahren durch. Das mediane Alter war dem unserer Studie mit 69 Jahren gleich. Auch hier litt ein beträchtlicher Anteil von 92 % an Knochenmetastasen. Alle Patienten erhielten während der Studie eine ADT. In der Vorgeschichte hatten neben einer ADT 89 % der Patienten nicht-steroidale Antiandrogene (Bicalutamid, Nilutamid oder Flutamid) und 70 % Docetaxel erhalten. Laborchemisch wiesen die Patienten vergleichsweise schlechtere Werte auf. Der mediane PSA betrug 177,8 ng/ml, die LDH 232,5 U/l, die AP 132 U/l und der HB lag im Median bei 11,2 g/dl. Die Autoren verwendeten für ihre Analyse der Zusammenhänge ebenfalls den Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman. Dieser wurde jeweils für PSA, AP, LDH und HB in Bezug zur CTC-Anzahl berechnet, sowohl zu Beginn der Studie (*baseline*), als auch bei Progress der Erkrankung. Bitting *et al.* fanden eine leichte Korrelation zwischen CTC-Anzahl und PSA-Wert (nicht signifikant), insbesondere während eines Progresses. Signifikant mäßige Korrelationen zeigten sich bei der Höhe des AP- und LDH-Spiegels ($r = 0,48$ und $r = 0,5$). Ein erniedrigter HB-Wert war während einer Progression mit einer erhöhten CTC-Anzahl assoziiert ($r = -0,45$). Vergleichend mit unserer Arbeit sind die Korrelationskoeffizienten bei LDH ($r = 0,44$) und HB ($r = -0,46$) sehr ähnlich, bzgl. der AP ($r = 0,29$) fanden wir eine schwächere und beim PSA-Spiegel keine Korrelation [142]. Die Tatsache, dass der GS mit erhöhter CTC-Anzahl assoziiert ist, konnte ebenfalls in zahlreichen Studien belegt werden [143, 144].

Eine weitere Studie zu dieser Thematik wurde von Olmos *et al.* publiziert. Für die Studie wurden 119 Patienten mit mCRPCa herangezogen, die vor und nach Tumorthherapie eine Blutentnahme zur Bestimmung der CTCs mit dem CellSearch®-System erhielten. Im Median wurden 6 CTCs (0-545 CTCs) gefunden. Das mediane Alter war mit 67,5 Jahren (48,2–85,5 Jahre) dem unserer Studie ähnlich. Es wurden signifikante Assoziationen zwischen der CTC-Anzahl und erhöhtem PSA, AP sowie erniedrigtem HB-Spiegel gefunden. Außerdem hatten Patienten mit höherer CTC-Anzahl häufiger Knochenmetastasen und es wurde signifikant öfter eine zytotoxische Chemotherapie in der Vergangenheit durchgeführt. Ein weiteres Ergebnis der Studie war, dass eine ungünstige CTC-Anzahl von ≥ 5 CTCs mit einem kürzeren Gesamtüberleben (19,5 vs. > 30 Monate) einherging. Zusätzlich konnten Olmos *et al.* zeigen, dass die Änderung der Anzahl von CTCs unter Therapie ein prognostischer Marker für das Gesamtüberleben darstellt. Patienten bei denen trotz Therapie durchgängig ≥ 5 CTCs gefunden wurden, hatten ein deutlich kürzeres Gesamtüberleben, als Patienten die durchweg < 5 CTCs oder eine Konversion von ungünstiger zu günstiger CTC-Anzahl hatten [145]. Die prognostische Bedeutung der Anzahl gemessener CTCs bei Patienten mit mCRPCa ist in diversen Studien belegt [146-148].

Von de Bono *et al.* stammt eine zentrale Studie zu dieser Thematik [147]. Bei Patienten mit einer günstigen CTC-Anzahl (< 5 CTCs/7,5 ml Blut) war im Gegensatz zu Patienten mit ≥ 5 CTCs/7,5 ml Blut ein signifikant verbessertes progressionsfreies Überleben und Gesamtüberleben zu verzeichnen. Eine Konversion von günstiger zu ungünstiger CTC-Anzahl war mit einer Verschlechterung der Prognose assoziiert. Im Gegenteil konnte eine verbesserte Prognose ebenso bei Wechsel von ungünstiger zu günstiger CTC-Anzahl beobachtet werden. Im Hinblick auf die Therapie konnte dies nach 2-5 Wochen ab Therapiebeginn gezeigt werden. Dementsprechend zeigen diese Studien, dass die CTC-Anzahl als Surrogatparameter für das Gesamtüberleben genutzt werden kann [149].

5.4. Klinische Relevanz einer PSMA-Expression auf CTCs

Im klinischen Kontext ist das Membranprotein PSMA derzeit eine interessante Zielstruktur für Diagnostik und Therapie. Die wesentlichen Anwendungsgebiete sind die PSMA-PET/CT und die neu aufkommenden PSMA-gerichteten Therapien.

In Bezug zur PSMA-PET/CT stellt sich die Frage, ob eine vorherige Bestimmung von CTCs oder dem PSMA auf CTCs sinnvoll ist und Konsequenzen hat. Derzeit wird die Indikation für eine PSMA-PET/CT zumeist aufgrund eines biochemischen Rezidivs anhand des PSA-Wertes gestellt [34]. Eiber *et al.* konnten in einer Studie mit insgesamt 248 Patienten nach RP nachweisem, dass die Wahrscheinlichkeit PSMA-positive Läsionen zu finden mit der Höhe des PSA-Rezidiv-Spiegels korreliert. Jedoch wurden auch bei 57,9 % der Patienten mit einem PSA-Wert $< 0,5$ ng/ml verdächtige Läsionen gefunden [150]. Grundsätzlich stellen die Ergebnisse dieser Studie die Indikation für eine PSMA-PET/CT anhand des PSA-Wertes in

Frage. Eine umfangreiche Beobachtungsstudie von Ried *et al.* verglich die CTC-Anzahl mit dem aktuellen Tumorstatus verschiedener Entitäten (277 Patienten) und dem Tumorrisiko von 286 gesunden Patienten. Zur Zählung wurde die ISET (*Isolation-by-Size-of-Epithelial-Tumor*) Methode verwendet. Diese beruht auf einer größenabhängigen Filtration mit anschließender direkter Mikroskopie. Patienten mit bekannter Tumorerkrankung bekamen wiederholt CTC-Messungen zum Monitoring der Therapieeffektivität. Wurden CTCs bei gesunden Patienten entdeckt, erhielten diese eine Bildgebung. Interessanterweise konnten bei 50 % der Patienten mit CTCs und normalem PSA mittels PSMA-PET/CT vermehrt PSMA-anreichernde Areale in der Prostata detektiert werden [151]. Dies würde implizieren, dass CTCs auch zum Screening genutzt werden könnten. Dennoch bleibt ein wesentlicher Schwachpunkt einiger Studien mit PSMA-PET/CT bestehen; die konkrete Relevanz PSMA-positiver Läsionen ist häufig unklar, da keine histologische Sicherung der suspekten Areale erfolgte.

Die durchgeführte Studie impliziert, dass man bei hoher PSMA-Expression im Primärtumor nicht auf eine hohe Expression von PSMA auf CTCs schließen kann. Bei Patienten mit nachweisbaren PSMA-negativen CTCs ist die diagnostische Aussagekraft eines PSMA-PET/CT möglicherweise eingeschränkt, da keine hohen Expressionsniveaus in Tumorgewebe zu erwarten sind. Dennoch bleibt bei diesem Themenkomplex die grundlegende Frage nach der Sinnhaftigkeit der PSMA-PET/CT anhand von Biomarkern bestehen. Dieser Aspekt ist bereits ein Kritikpunkt bei der aktuellen Umsetzung von PSMA-PET/CTs aufgrund eines PSA-Rezidivs. Ob ein möglicher Vorteil für Patienten mit neu detektierten PSMA-positiven Läsionen bei PSA-Rezidiv besteht, ist aufgrund mangelnder prospektiver Studien mit standardisierten Therapiesequenzen nicht geklärt [152].

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass PSMA prinzipiell auf CTCs mittels CellSearch® nachgewiesen werden kann. Gerade im Hinblick auf die neueren Therapiemöglichkeiten mit zielgerichteten PSMA-Therapien wird die Relevanz der Thematik deutlich. Monitoring und Stratifizierung der PSMA-gerichteten Therapien werden derzeit uneinheitlich gehandhabt. Der PSMA-Status auf CTCs kann im Sinne einer „*liquid biopsy*“ möglicherweise das Ansprechen auf zielgerichtete PSMA-Therapien vorhersagen.

Der PSA-Abfall stellt in den PSMA-RLT-Studien einen wesentlichen Surrogatparameter für das Therapieansprechen dar. Calopedos *et al.* errechneten in ihrem systematischen Review und Metaanalyse von 10 Studien, dass bei ungefähr 66 % aller eingeschlossenen Patienten mit mCRPCa ein PSA-Ansprechen zu verzeichnen war [153]. Dagegen sind nur sehr wenige Publikationen veröffentlicht worden, welche ebenfalls die Wirkung PSMA-gerichteter Therapien auf Patient und CTCs untersuchen. Eine Studie von Tagawa *et al.* untersuchte die Wirksamkeit von ¹⁷⁷Lu-J591 (Lutetium-177 gekoppelt an den monoklonalen PSMA-Antikörper J591) bei 47 Patienten mit mCRPCa. Zwölf Patienten erhielten vor und 4-6 Wochen nach Therapie CTC-

Messungen mittels CellSearch®. Es zeigte sich bei acht Patienten ein Abfall von mindestens 50 % der CTC-Anzahl. Ein Patient erfuhr eine Reduktion um 27 %, während die verbliebenen drei Patienten stabil hinsichtlich ihrer CTC-Anzahl waren [91].

Eine neue experimentelle Therapiealternative stellt die PSMA-ADC (*antibody drug conjugates*) dar. Dazu gehört beispielsweise der Mitosehemmstoff Monomethyl- Auristatin E, welcher an einen PSMA-Antikörper gekoppelt wird. Erste Ergebnisse der Phase-II-Studie mit 83 Patienten zeigten, dass es bei 74 % der Patienten mindestens zu einer Reduktion der CTC-Anzahl um 50 % kam. Eine Konversion von prognostisch ungünstiger zu günstiger CTC-Anzahl wurde, je nach verwendeter Dosis, bei 48 % bzw. 50 % der Patienten festgestellt [92].

Unsere Daten konnten eine Korrelation zwischen der CTC-Anzahl und dem CTC-PSMA-Status zeigen. Die diagnostisch-therapeutische Konsequenz wäre, eine Anfärbung der CTCs auf PSMA bei Patienten mit vielen CTCs durchzuführen. Die Effektivität PSMA-gerichteter Therapien ist unter anderem von dem Ausmaß der Expression des Proteins abhängig [154]. Daraus lässt sich die Notwendigkeit einer Stratifizierung ableiten. Dies könnte auch für die individuelle Erstellung einer Therapiesequenz sinnvoll sein. Die Tatsache, dass wir bei Patienten mit beträchtlicher CTC-Anzahl PSMA-Expressionen feststellen konnten, könnte die Erfolge der zielgerichteten PSMA-Therapien zumindest teilweise erklären.

5.5. Weitere Limitationen

Es erfolgte eine systematisch retrospektive Analyse von Patientendaten der uro-onkologischen Praxis ATURO. Daraus ergibt sich, dass die Datendokumentation nicht für eine später geplante Studie bzw. Analyse erhoben wurden. Folglich wurde eine sekundäre Datenstandardisierung durchgeführt. Zu den wesentlichen Limitationen zählen folgende Punkte:

- Die niedrige Anzahl an Patienten und Gewebeproben.
- Die untersuchten Parameter wurden nicht standardisiert erhoben, insbesondere die Blutentnahmen zur CTCs-Bestimmung und die der laborchemischen Parameter liegen teilweise bis zu zwei Wochen auseinander.
- Andere Faktoren wie Nebendiagnosen, welche beispielsweise Laborwerte betreffen können, wurden nicht berücksichtigt.
- Die direkte Übertragung von Erkenntnissen aus Zellkulturen auf die in vivo- Situation ist nicht zuletzt aufgrund der Heterogenität und Plastizität von Tumorgewebe deutlich limitiert und daher nicht zulässig.

5.6. Aussagefähigkeit

Der Ergebnisse dieser Arbeit liefern Erkenntnisse über

- den potentiellen Zusammenhang von PSMA-Expression in Tumorgewebe und auf CTCs,
- die möglichen Unterschiede zwischen Patienten mit PSMA-positiven CTCs und Patienten ohne einen positiven CTC-PSMA-Status,
- den scheinbaren Zusammenhang von PSMA-Expression auf CTCs und klinischen sowie laborchemischen Parametern,
- die möglichen Unterschiede zwischen Patienten mit ungünstiger CTC-Anzahl und Patienten mit günstiger CTC-Anzahl,
- die Korrelation von CTC-Anzahl und klinischen sowie laborchemischen Parametern bei Patienten mit mPCa

und thematisiert die klinische Relevanz der PSMA-Anfärbung.

5.7. Fazit

Im Zuge der Erkenntnisse über die Vielfalt und Komplexität von Tumorerkrankungen können CTCs eine wichtige Verbindung von Diagnostik und Therapie darstellen. Insbesondere deren Charakterisierung auf molekularer Ebene und die Entwicklung gezielter Pharmaka könnten Patienten mithilfe von personalisierten Therapiekonzepten neue Perspektiven bezüglich Lebensqualität und Überlebenszeit geben. Eine „*liquid biopsy*“ wäre für Patienten ein unkompliziertes und schonendes diagnostisches Verfahren, welches im Gegensatz zu dem etablierten PSMA PET/CT auch eine Aussage über die Prognose machen könnte. Nach aktuellem Wissensstand kann das Therapiemanagement jedoch nicht nur in Abhängigkeit einer CTC-Analyse erfolgen. In der aktuellen Leitlinie findet die Bestimmung der CTCs noch keine Berücksichtigung. Konkrete diagnostisch-therapeutische Konsequenzen im Sinne einer Sequenztherapie sind unklar. Vielmehr kann dieser Biomarker ergänzend verwendet werden, um die potentielle Wirksamkeit einer Therapie einzuschätzen. Die Bestimmung von PSMA auf CTCs ist ein vielversprechender Ansatz für die Stratifizierung der neu aufkommenden PSMA-gerichteten Therapien. Diese können trotz heterogener Studienlage zunehmend Erfolge vorweisen und gelten insbesondere bei multimodal vortherapierten Patienten als letzte Therapieoption. Das CellSearch®-Verfahren bietet die Möglichkeit EpCAM-positive CTCs zu zählen und mit dem neu erstellten Protokoll auch die PSMA-Expression zu bestimmen. CTCs sind eng mit Tumor- und Metastasengewebe verwandt. Daher kann angenommen werden, dass Patienten, bei denen keine Expression von PSMA auf CTCs nachgewiesen werden kann, vermutlich nicht von zielgerichteten PSMA-Therapien profitieren. Auch wenn die Detektion von CTCs bisher nicht im klinischen Alltag erfolgt, gibt es gute Gründe, CTCs zur Stratifizierung und zum Monitoring zu verwenden. Zu den wesentlichen Aspekten zählen die prognostische Aussage über das Gesamtüberleben [147] und das Anzeigen eines möglichen

Therapieansprechens [148]. Weitere Erkenntnisse auf dem Gebiet der CTCs können nützliche Informationen liefern, um die Qualität der Versorgung von Patienten mit fortgeschrittener maligner Erkrankung zu verbessern. Ungeklärt ist insbesondere die Bedeutung EpCAM-negativer Tumorzellen, daher wäre in der Zukunft die Entwicklung von Detektionsverfahren für beide Zelltypen ein wichtiger Schritt zur Optimierung der sog. *liquid biopsy*. Es bedarf weiterer qualitativ hochwertiger Studien und Forschung auf diesem Themengebiet.

5.8. Ausblick und offene Fragen

Um die zukünftige Bedeutung der PSMA-Expression auf CTCs zu beurteilen, bleiben wichtige Frage zu beantworten:

- Werden sich zielgerichtete PSMA-Therapien bei Patienten mit PCa durchsetzen und im klinischen Alltag an Bedeutung zunehmen?
- Könnte die Kombination aus PSMA-PET/CT und CTC-PSMA-Analyse ein Patientenkollektiv selektieren, welches besonders von zielgerichteten PSMA-Therapien profitiert?
- Welche konkrete Konsequenz ergibt sich aus der CTC-Analyse für den behandelnden Urologen in der Praxis?

6. Zusammenfassung

Das Prostatakarzinom ist der häufigste maligne Tumor des Mannes. Da die meisten betroffenen Männer am metastasierten kastrationsresistenten Prostatakarzinom (mCRPCa) versterben, stellt dieses Stadium der Erkrankung eine besondere Herausforderung dar. Zirkulierende Tumorzellen (CTCs) können als Biomarker potentiell Einfluss auf die weitere Diagnostik und Therapie nehmen. Durch die neu aufkommenden gezielten Krebstherapien ist das prostataspezifische Membranantigen (PSMA) eine interessante Zielstruktur, die einerseits zur Diagnostik (z.B. PSMA-PET/CT) und Therapie (z.B. PSMA-Radioligandtherapie) beim mPCa verwendet wird.

Im Rahmen der Studie wurde ein Protokoll zur Anfärbung von PSMA auf CTCs erstellt. Diese Arbeit untersucht weiterhin den Zusammenhang zwischen der PSMA-Expression in Tumorgewebe sowie auf CTCs und den etablierten klinischen sowie laborchemischen Parametern bei Patienten mit mPCa. Zudem stellte sich die Frage, inwiefern sich Patienten mit mPCa hinsichtlich ihrer klinisch-laborchemischen Parameter unterscheiden, wenn eine prognostisch günstige (< 5 CTCs/7,5 ml Blut) oder prognostisch ungünstige (≥ 5 CTCs/7,5 ml Blut) CTC-Anzahl vorliegt.

Dazu erhielten 30 Patienten eine CTC-Bestimmung mittels CellSearch® und kompatiblen PSMA-Antikörper. Bei 13 Patienten konnte vorhandenes Biopsiematerial des Primärtumors auf PSMA angefärbt werden. Retrospektiv wurden entsprechende klinische und laborchemische Daten erhoben und statistisch ausgewertet.

Dabei konnte gezeigt werden, dass sowohl im Tumor ($r = 0,57$; $p = 0,05$) als auch auf CTCs ($r = 0,996$; $p < 0,05$) die individuelle PSMA-Expression bei vermehrter PSMA-positiver Zellzahl zunimmt. Außerdem scheint es keine positive Korrelation von PSMA-Expression im Primärtumor und auf CTCs zugeben ($r = -0,55$; $p = 0,05$ bzw. $r = -0,39$; $p = 0,19$). Patienten, bei denen PSMA-positive CTCs gefunden wurden, waren tendenziell älter, hatten einen höheren Gleason Score (GS) und litten vermehrt an Knochenmetastasen. Zudem waren bei diesen Patienten die Spiegel von PSA, AP, LDH höher; der HB hingegen niedriger (nicht signifikant). Die Anzahl der CTCs korrelierte signifikant mit der Expression von PSMA auf CTCs ($r = 0,82$; $p < 0,05$ bzw. $r = 0,8$; $p < 0,05$). Ähnlich waren auch Patienten mit ≥ 5 CTCs/7,5 ml Blut älter, wiesen höhere Werte an PSA, AP sowie LDH auf und hatten einen niedrigeren HB-Spiegel. Weiterhin war der GS höher und es wurde initial häufiger eine Androgendepression sowie aktuell eine Therapie mit Abirateron durchgeführt (nicht signifikant).

Erstmals konnten CTCs mittels CellSearch®-System hinsichtlich ihrer PSMA-Expression untersucht werden. Der PSMA-Status auf CTCs könnte ein wichtiger Parameter sein, der den Erfolg von PSMA-gerichteten Therapien voraussagen könnte und daher für eine vorherige Stratifizierung Bedeutung hätte.

7. Literaturverzeichnis

1. Robert Koch-Institut (Hrsg.) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (Hrsg.), Krebs in Deutschland für 2013/2014. 11. Ausgabe. Berlin.
2. Tao, Z.Q., et al., Epidemiology of prostate cancer: current status. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2015. 19(5): p. 805-12.
3. Haas, G.P., et al., The worldwide epidemiology of prostate cancer: perspectives from autopsy studies. *Can J Urol*, 2008. 15(1): p. 3866-71.
4. Bott, S.R., et al., Prostate cancer management: (1) an update on localised disease. *Postgrad Med J*, 2003. 79(936): p. 575-80.
5. Hemminki, K., Familial risk and familial survival in prostate cancer. *World J Urol*, 2012. 30(2): p. 143-8.
6. Jansson, K.F., et al., Concordance of tumor differentiation among brothers with prostate cancer. *Eur Urol*, 2012. 62(4): p. 656-61.
7. Johns, L.E. and R.S. Houlston, A systematic review and meta-analysis of familial prostate cancer risk. *BJU Int*, 2003. 91(9): p. 789-94.
8. Mandair, D., et al., Prostate cancer and the influence of dietary factors and supplements: a systematic review. *Nutr Metab (Lond)*, 2014. 11: p. 30.
9. Jiang, J., et al., The role of prostatitis in prostate cancer: meta-analysis. *PLoS One*, 2013. 8(12): p. e85179.
10. Ewing, C.M., et al., Germline mutations in HOXB13 and prostate-cancer risk. *N Engl J Med*, 2012. 366(2): p. 141-9.
11. Kimura, T., East meets West: ethnic differences in prostate cancer epidemiology between East Asians and Caucasians. *Chin J Cancer*, 2012. 31(9): p. 421-9.
12. Zong, Y., A.S. Goldstein, and J. Huang, The molecular basis for ethnic variation and histological subtype differences in prostate cancer. *Sci China Life Sci*, 2013. 56(9): p. 780-7.
13. Aune, D., et al., Dairy products, calcium, and prostate cancer risk: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Am J Clin Nutr*, 2015. 101(1): p. 87-117.
14. Wilson, K.M., et al., Calcium and phosphorus intake and prostate cancer risk: a 24-y follow-up study. *Am J Clin Nutr*, 2015. 101(1): p. 173-83.
15. Böcker, W., et al., Pathologie, 4. Auflage 2008; Elsevier GmbH, Urban und Fischer Verlag, München.
16. Augustin, H., et al., Prostate cancers in the transition zone: Part 2; clinical aspects. *BJU Int*, 2004. 94(9): p. 1226-9.
17. Eble, J., et al., Pathology and Genetics. Tumours of the urinary system and male genital organs. WHO classification of tumours. IARC press, Lyon. 2004.
18. Zhang, C., et al., Is atypical adenomatous hyperplasia of the prostate a precursor lesion? *Prostate*, 2011. 71(16): p. 1746-51.

19. Bostwick, D.G. and I. Meiers, Atypical small acinar proliferation in the prostate: clinical significance in 2006. *Arch Pathol Lab Med*, 2006. 130(7): p. 952-7.
20. DeMarzo, A.M., et al., Pathological and molecular aspects of prostate cancer. *Lancet*, 2003. 361(9361): p. 955-64.
21. Shin, H.J. and J.Y. Ro, Prostatic intraepithelial neoplasia: a potential precursor lesion of prostatic adenocarcinoma. *Yonsei Med J*, 1995. 36(3): p. 215-31.
22. Borboroglu, P.G., et al., Repeat biopsy strategy in patients with atypical small acinar proliferation or high grade prostatic intraepithelial neoplasia on initial prostate needle biopsy. *J Urol*, 2001. 166(3): p. 866-70.
23. Hedrick, L. and J.I. Epstein, Use of keratin 903 as an adjunct in the diagnosis of prostate carcinoma. *Am J Surg Pathol*, 1989. 13(5): p. 389-96.
24. Gleason, D.F. and G.T. Mellinger, Prediction of prognosis for prostatic adenocarcinoma by combined histological grading and clinical staging. *J Urol*, 1974. 111(1): p. 58-64.
25. Humphrey, P.A., Gleason grading and prognostic factors in carcinoma of the prostate. *Mod Pathol*, 2004. 17(3): p. 292-306.
26. Epstein, J.I., et al., The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. *Am J Surg Pathol*, 2005. 29(9): p. 1228-42.
27. Mottet, N., et al., , Guidelines on Prostate Cancer. March 2015, European Association of Urology.
28. Miller, D.C., et al., Prostate carcinoma presentation, diagnosis, and staging: an update form the National Cancer Data Base. *Cancer*, 2003. 98(6): p. 1169-78.
29. Schmelz, H.U., Sparwasser, C., Weidner, W., *Facharztwissen Urologie*. 2010, Springer Medizin Verlag Heidelberg 2010. p. 322.
30. Stamey, T.A., et al., Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. *N Engl J Med*, 1987. 317(15): p. 909-16.
31. Young, C.Y., et al., Hormonal regulation of prostate-specific antigen messenger RNA in human prostatic adenocarcinoma cell line LNCaP. *Cancer Res*, 1991. 51(14): p. 3748-52.
32. Lilja, H., A kallikrein-like serine protease in prostatic fluid cleaves the predominant seminal vesicle protein. *J Clin Invest*, 1985. 76(5): p. 1899-903.
33. Nadler, R.B., et al., Effect of inflammation and benign prostatic hyperplasia on elevated serum prostate specific antigen levels. *J Urol*, 1995. 154(2 Pt 1): p. 407-13.
34. Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF): Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur Früherkennung, Diagnose und Therapie der verschiedenen Stadien des Prostatakarzinoms, Langversion 5.0, 2018, AWMF Registernummer:043/022OL,. www.leitlinien-programmonkologie.de/leitlinien/prostatakarzinom/ (Zugriff am: 26.06.2018).
35. Andriole, G.L., et al., Mortality results from a randomized prostate-cancer screening trial. *N Engl J Med*, 2009. 360(13): p. 1310-9.

36. Ilic, D., et al., Screening for prostate cancer. *Cochrane Database Syst Rev*, 2013. 1: p. CD004720.
37. Schröder, F.H., et al., Screening and prostate-cancer mortality in a randomized European study. *N Engl J Med*, 2009. 360(13): p. 1320-8.
38. Hugosson, J., et al., Mortality results from the Göteborg randomised population-based prostate-cancer screening trial. *Lancet Oncol*, 2010. 11(8): p. 725-32.
39. Richie, J.P., et al., Effect of patient age on early detection of prostate cancer with serum prostate-specific antigen and digital rectal examination. *Urology*, 1993. 42(4): p. 365-74.
40. Pfister, D., Stanzbiopsie der Prostata. *Aktuelle Urologie* 2014; 45: 320–323.
41. Reiser, M., Kuhn, F.-P., and Debus, J., *Duale Reihe Radiologie*. Vol. 2. 2006, Stuttgart: Georg Thieme Verlag. 133-134, 287-288.
42. Chen, C.D., et al., Molecular determinants of resistance to antiandrogen therapy. *Nat Med*, 2004. 10(1): p. 33-9.
43. Klotz, L., et al., The efficacy and safety of degarelix: a 12-month, comparative, randomized, open-label, parallel-group phase III study in patients with prostate cancer. *BJU Int*, 2008. 102(11): p. 1531-8.
44. Morote, J., et al., Individual variations of serum testosterone in patients with prostate cancer receiving androgen deprivation therapy. *BJU Int*, 2009. 103(3): p. 332-5; discussion 335.
45. Vis, A.N., et al., Risk of disease flare with LHRH agonist therapy in men with prostate cancer: myth or fact? *Urol Oncol*, 2015. 33(1): p. 7-15.
46. Sobin LH, Gospodariwicz M, and W. C, *TNM classification of malignant tumors*. 2009, Wiley-Blackwell. p. 243-248.
47. Kaisary, A.V., et al., Is there a role for antiandrogen monotherapy in patients with metastatic prostate cancer? *Prostate Cancer Prostatic Dis*, 2001. 4(4): p. 196-203.
48. Nair, B., et al., Early versus deferred androgen suppression in the treatment of advanced prostatic cancer. *Cochrane Database Syst Rev*, 2002(1): p. CD003506.
49. Albers, P. and Heidenreich, A., *Standardoperationen in der Urologie*. Vol. 1. 2006, Stuttgart: Georg Thieme Verlag. 278-281.
50. Pagliarulo, V., et al., Contemporary role of androgen deprivation therapy for prostate cancer. *Eur Urol*, 2012. 61(1): p. 11-25.
51. Kyriakopoulos, C.E., et al., Chemohormonal Therapy in Metastatic Hormone-Sensitive Prostate Cancer: Long-Term Survival Analysis of the Randomized Phase III E3805 CHAARTED Trial. *J Clin Oncol*, 2018. 36(11): p. 1080-1087.
52. James, N.D., et al., Abiraterone for Prostate Cancer Not Previously Treated with Hormone Therapy. *N Engl J Med*, 2017. 377(4): p. 338-351.
53. Fizazi, K., et al., Abiraterone plus Prednisone in Metastatic, Castration-Sensitive Prostate Cancer. *N Engl J Med*, 2017. 377(4): p. 352-360.

54. Miller, K., Castration Resistant Prostate Cancer, Aktuelle Urologie, 2011, 42, 95-102.
55. Kantoff, P.W., et al., Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer. *N Engl J Med*, 2010. 363(5): p. 411-22.
56. Small, E.J., et al., Placebo-controlled phase III trial of immunologic therapy with sipuleucel-T (APC8015) in patients with metastatic, asymptomatic hormone refractory prostate cancer. *J Clin Oncol*, 2006. 24(19): p. 3089-94.
57. Jarman, M., S.E. Barrie, and J.M. Llera, The 16,17-double bond is needed for irreversible inhibition of human cytochrome p45017alpha by abiraterone (17-(3-pyridyl)androsta-5, 16-dien-3beta-ol) and related steroidal inhibitors. *J Med Chem*, 1998. 41(27): p. 5375-81.
58. Ryan, C.J., et al., Abiraterone acetate plus prednisone versus placebo plus prednisone in chemotherapy-naive men with metastatic castration-resistant prostate cancer (COU-AA-302): final overall survival analysis of a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 study. *Lancet Oncol*, 2015. 16(2): p. 152-60.
59. Ryan, C.J., et al., Abiraterone in metastatic prostate cancer without previous chemotherapy. *N Engl J Med*, 2013. 368(2): p. 138-48.
60. European Medicines Agency, Xtandi-Zusammenfassung des EPAR für die Öffentlichkeit, EMA/551978/2017, http://www.ema.europa.eu/docs/de_DE/document_library/EPAR_Summary_for_the_public/human/002639/WC500144999.pdf (Zugriff am 06.08.2018).
61. Scher, H.I., et al., Increased survival with enzalutamide in prostate cancer after chemotherapy. *N Engl J Med*, 2012. 367(13): p. 1187-97.
62. Beer, T.M., et al., Enzalutamide in metastatic prostate cancer before chemotherapy. *N Engl J Med*, 2014. 371(5): p. 424-33.
63. Awasthi, P., et al., Molecular modeling study of interaction of anthracenedione class of drug mitoxantrone and its analogs with DNA tetrameric sequences. *Adv Exp Med Biol*, 2011. 696: p. 385-400.
64. Pommier, Y., et al., DNA topoisomerases and their poisoning by anticancer and antibacterial drugs. *Chem Biol*, 2010. 17(5): p. 421-33.
65. Tannock, I.F., et al., Chemotherapy with mitoxantrone plus prednisone or prednisone alone for symptomatic hormone-resistant prostate cancer: a Canadian randomized trial with palliative end points. *J Clin Oncol*, 1996. 14(6): p. 1756-64.
66. Iversen, P., et al., Estramustine phosphate versus placebo as second line treatment after orchiectomy in patients with metastatic prostate cancer: DAPROCA study 9002. Danish Prostatic Cancer Group. *J Urol*, 1997. 157(3): p. 929-34.
67. Bartsch V. Wirkmechanismus der Taxane: Angriff auf die mitotische Spindel. *Pharmazie in unserer Zeit*, Vol. 34: 104-108, März 2005.
68. Tannock, I.F., et al., Docetaxel plus prednisone or mitoxantrone plus prednisone for advanced prostate cancer. *N Engl J Med*, 2004. 351(15): p. 1502-12.
69. Berthold, D.R., et al., Docetaxel plus prednisone or mitoxantrone plus prednisone for advanced prostate cancer: updated survival in the TAX 327 study. *J Clin Oncol*, 2008. 26(2): p. 242-5.

70. Petrylak, D.P., et al., Docetaxel and estramustine compared with mitoxantrone and prednisone for advanced refractory prostate cancer. *N Engl J Med*, 2004. 351(15): p. 1513-20.
71. de Bono, J.S., et al., Prednisone plus cabazitaxel or mitoxantrone for metastatic castration-resistant prostate cancer progressing after docetaxel treatment: a randomised open-label trial. *Lancet*, 2010. 376(9747): p. 1147-54.
72. Kathawala, R.J., et al., ATP-binding cassette subfamily B member 1 (ABCB1) and subfamily C member 10 (ABCC10) are not primary resistance factors for cabazitaxel. *Chin J Cancer*, 2015. 34(3): p. 115-20.
73. Sobue, S., et al., Mechanism of paclitaxel resistance in a human prostate cancer cell line, PC3-PR, and its sensitization by cabazitaxel. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016. 479(4): p. 808-813.
74. Oudard, S., et al., Cabazitaxel Versus Docetaxel As First-Line Therapy for Patients With Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer: A Randomized Phase III Trial-FIRSTANA. *J Clin Oncol*, 2017. 35(28): p. 3189-3197.
75. Xofigo^R (Radium-223-dichlorid) 1000kBq/ml Injektionslösung. Fachinformation, Bayer Pharma AG. http://www.ema.europa.eu/docs/de_DE/document_library/EPAR_Product_Information/human/002653/WC500156172.pdf (Zugriff am 30.04.2015).
76. Parker, C., et al., Alpha emitter radium-223 and survival in metastatic prostate cancer. *N Engl J Med*, 2013. 369(3): p. 213-23.
77. Xofigo^R (Radium-223-dichlorid) 1000kBq/ml Injektionslösung. Fachinformation, Bayer Pharma AG, http://www.ema.europa.eu/docs/de_DE/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002653/WC500156172.pdf (Zugriff am 30.04.2015).
78. Hoskin, P., et al., Efficacy and safety of radium-223 dichloride in patients with castration-resistant prostate cancer and symptomatic bone metastases, with or without previous docetaxel use: a prespecified subgroup analysis from the randomised, double-blind, phase 3 ALSYMPCA trial. *Lancet Oncol*, 2014. 15(12): p. 1397-406.
79. European Medicines Agency, EMA restricts use of prostate cancer medicine Xofigo, 27.07.2018, <https://www.ema.europa.eu/en/news/ema-restricts-use-prostate-cancer-medicine-xofigo> (Zugriff am 28.01.2019).
80. Wright, G.L., et al., Upregulation of prostate-specific membrane antigen after androgen-deprivation therapy. *Urology*, 1996. 48(2): p. 326-34.
81. Sweat, S.D., et al., Prostate-specific membrane antigen expression is greatest in prostate adenocarcinoma and lymph node metastases. *Urology*, 1998. 52(4): p. 637-40.
82. Afshar-Oromieh, A., et al., The Theranostic PSMA Ligand PSMA-617 in the Diagnosis of Prostate Cancer by PET/CT: Biodistribution in Humans, Radiation Dosimetry, and First Evaluation of Tumor Lesions. *J Nucl Med*, 2015. 56(11): p. 1697-705.
83. Weineisen, M., et al., 68Ga- and 177Lu-Labeled PSMA I&T: Optimization of a PSMA-Targeted Theranostic Concept and First Proof-of-Concept Human Studies. *J Nucl Med*, 2015. 56(8): p. 1169-76.

84. Fendler, W.P., et al., [177Lu-PSMA-617 therapy, dosimetry and follow-up in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer]. *Nuklearmedizin*, 2016. 55(3): p. 123-8.
85. Bräuer, A., et al., Lu-PSMA-617 radioligand therapy and outcome in patients with metastasized castration-resistant prostate cancer. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 2017. 44(10): p. 1663-1670.
86. Ahmadzadehfar, H., et al., Overall survival and response pattern of castration-resistant metastatic prostate cancer to multiple cycles of radioligand therapy using [Eur J Nucl Med Mol Imaging, 2017. 44(9): p. 1448-1454.
87. Boegemann, M., A.J. Schrader, and K. Rahbar, 177Lu-PSMA therapy : Current evidence for use in the treatment of patients with metastatic prostate cancer, *Urologe A*, 2017. 56(11): p. 1440-1444.
88. Baum, R.P., et al., Lutetium-177 PSMA Radioligand Therapy of Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer: Safety and Efficacy. *J Nucl Med*, 2016.
89. Hofman, M.S., et al., *Lancet Oncol*, 2018. 19(6): p. 825-833.
90. Chakravarty, R., et al., Targeted α -therapy of prostate cancer using radiolabeled PSMA inhibitors: a game changer in nuclear medicine. *Am J Nucl Med Mol Imaging*, 2018. 8(4): p. 247-267.
91. Tagawa, S.T., et al., Phase II study of Lutetium-177-labeled anti-prostate-specific membrane antigen monoclonal antibody J591 for metastatic castration-resistant prostate cancer. *Clin Cancer Res*, 2013. 19(18): p. 5182-91.
92. Petrylak, D.P. et al., A phase 2 trial of prostate-specific membrane antigen antibody drug conjugate (PSMA ADC) in taxane-refractory metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC). *Journal of Clinical Oncology* 2014 32 : 15_suppl , 5023-5023.
93. Silver, D.A., et al., Prostate-specific membrane antigen expression in normal and malignant human tissues. *Clin Cancer Res*, 1997. 3(1): p. 81-5.
94. Liu, H., et al., Monoclonal antibodies to the extracellular domain of prostate-specific membrane antigen also react with tumor vascular endothelium. *Cancer Res*, 1997. 57(17): p. 3629-34.
95. Horoszewicz, J.S., E. Kawinski, and G.P. Murphy, Monoclonal antibodies to a new antigenic marker in epithelial prostatic cells and serum of prostatic cancer patients. *Anticancer Res*, 1987. 7(5B): p. 927-35.
96. Carter, R.E., A.R. Feldman, and J.T. Coyle, Prostate-specific membrane antigen is a hydrolase with substrate and pharmacologic characteristics of a neuropeptidase. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1996. 93(2): p. 749-53.
97. Halsted, C.H., Jejunal brush-border folate hydrolase. A novel enzyme. *West J Med*, 1991. 155(6): p. 605-9.
98. Mhawech-Fauceglia, P., et al., Prostate-specific membrane antigen (PSMA) protein expression in normal and neoplastic tissues and its sensitivity and specificity in prostate adenocarcinoma: an immunohistochemical study using mutiple tumour tissue microarray technique. *Histopathology*, 2007. 50(4): p. 472-83.

99. Wright, G.L., et al., Expression of prostate-specific membrane antigen in normal, benign, and malignant prostate tissues. *Urol Oncol*, 1995. 1(1): p. 18-28.
100. Yao, V., et al., Expression of prostate-specific membrane antigen (PSMA), increases cell folate uptake and proliferation and suggests a novel role for PSMA in the uptake of the non-polyglutamated folate, folic acid. *Prostate*, 2010. 70(3): p. 305-16.
101. Wang, Z.P., et al., Identification and characterization of circulating prostate carcinoma cells. *Cancer*, 2000. 88(12): p. 2787-95.
102. Langley, R.R. and I.J. Fidler, The seed and soil hypothesis revisited--the role of tumor-stroma interactions in metastasis to different organs. *Int J Cancer*, 2011. 128(11): p. 2527-35.
103. Joosse, S.A., T.M. Gorges, and K. Pantel, Biology, detection, and clinical implications of circulating tumor cells. *EMBO Mol Med*, 2015. 7(1): p. 1-11.
104. Pantel, K. and C. Alix-Panabières, Real-time liquid biopsy in cancer patients: fact or fiction? *Cancer Res*, 2013. 73(21): p. 6384-8.
105. Scher HI, Heller G, Molina A, et al. Evaluation of circulating tumor cell (CTC) enumeration as an efficacy response biomarker of overall survival (OS) in metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC): Planned final analysis (FA) of COU-AA-301, a randomized double-blind, placebo-controlled phase III study of abiraterone acetate (AA) plus low-dose prednisone (P) post docetaxel. ASCO Annual Meeting; June 3–7, 2011; Chicago, IL. p. Abstract LBA4517.
106. Cristofanilli, M., et al., Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer. *N Engl J Med*, 2004. 351(8): p. 781-91.
107. Riethdorf, S., et al., Clinical applications of the CellSearch platform in cancer patients. *Adv Drug Deliv Rev*, 2018. 125: p. 102-121.
108. Pierga, J.Y., et al., High independent prognostic and predictive value of circulating tumor cells compared with serum tumor markers in a large prospective trial in first-line chemotherapy for metastatic breast cancer patients. *Ann Oncol*, 2012. 23(3): p. 618-24.
109. Hanahan, D. and R.A. Weinberg, Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 2011. 144(5): p. 646-74.
110. McDonald, D.M. and P. Baluk, Significance of blood vessel leakiness in cancer. *Cancer Res*, 2002. 62(18): p. 5381-5.
111. Bonnomet, A., et al., Epithelial-to-mesenchymal transitions and circulating tumor cells. *J Mammary Gland Biol Neoplasia*, 2010. 15(2): p. 261-73.
112. Nieto, M.A., Epithelial plasticity: a common theme in embryonic and cancer cells. *Science*, 2013. 342(6159): p. 1234850.
113. Yang, J. and R.A. Weinberg, Epithelial-mesenchymal transition: at the crossroads of development and tumor metastasis. *Dev Cell*, 2008. 14(6): p. 818-29.
114. Harouaka, R., et al., Circulating tumor cells: advances in isolation and analysis, and challenges for clinical applications. *Pharmacol Ther*, 2014. 141(2): p. 209-21.

115. Patel, H., et al., Clearance of circulating tumor cells after excision of primary colorectal cancer. *Ann Surg*, 2002. 235(2): p. 226-31.
116. Powell, A.A., et al., Single cell profiling of circulating tumor cells: transcriptional heterogeneity and diversity from breast cancer cell lines. *PLoS One*, 2012. 7(5): p. e33788.
117. Heitzer, E., et al., Complex tumor genomes inferred from single circulating tumor cells by array-CGH and next-generation sequencing. *Cancer Res*, 2013. 73(10): p. 2965-75.
118. Gorges, T.M., et al., Circulating tumour cells escape from EpCAM-based detection due to epithelial-to-mesenchymal transition. *BMC Cancer*, 2012. 12: p. 178.
119. Parkinson, D.R., et al., Considerations in the development of circulating tumor cell technology for clinical use. *J Transl Med*, 2012. 10: p. 138.
120. Andreopoulou, E., et al., Comparison of assay methods for detection of circulating tumor cells in metastatic breast cancer: AdnaGen AdnaTest BreastCancer Select/Detect™ versus Veridex CellSearch™ system. *Int J Cancer*, 2012. 130(7): p. 1590-7.
121. Talasz, A.H., et al., Isolating highly enriched populations of circulating epithelial cells and other rare cells from blood using a magnetic sweeper device. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009. 106(10): p. 3970-5.
122. Krivacic, R.T., et al., A rare-cell detector for cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004. 101(29): p. 10501-4.
123. Issadore, D., et al., Ultrasensitive clinical enumeration of rare cells ex vivo using a micro-hall detector. *Sci Transl Med*, 2012. 4(141): p. 141ra92.
124. Gorges, T.M., et al., Heterogeneous PSMA expression on circulating tumor cells - a potential basis for stratification and monitoring of PSMA-directed therapies in prostate cancer. *Oncotarget*, 2016.
125. Beer, T.M., et al., Double-blinded randomized study of high-dose calcitriol plus docetaxel compared with placebo plus docetaxel in androgen-independent prostate cancer: a report from the ASCENT Investigators. *J Clin Oncol*, 2007. 25(6): p. 669-74.
126. Thompson, I.M., et al., Prevalence of prostate cancer among men with a prostate-specific antigen level $<$ or $=$ 4.0 ng per milliliter. *N Engl J Med*, 2004. 350(22): p. 2239-46.
127. Horoszewicz, J.S., et al., LNCaP model of human prostatic carcinoma. *Cancer Res*, 1983. 43(4): p. 1809-18.
128. Kaighn, M.E., et al., Establishment and characterization of a human prostatic carcinoma cell line (PC-3). *Invest Urol*, 1979. 17(1): p. 16-23.
129. Tai, S., et al., PC3 is a cell line characteristic of prostatic small cell carcinoma. *Prostate*, 2011. 71(15): p. 1668-79.
130. Kovar, J.L., et al., Pharmacokinetic and Biodistribution Assessment of a Near Infrared-Labeled PSMA-Specific Small Molecule in Tumor-Bearing Mice. *Prostate Cancer*, 2014. 2014: p. 104248.

131. Wang, X., et al., In vitro and in vivo responses of advanced prostate tumors to PSMA ADC, an auristatin-conjugated antibody to prostate-specific membrane antigen. *Mol Cancer Ther*, 2011. 10(9): p. 1728-39.
132. Ben Jemaa, A., et al., A novel regulation of PSMA and PSA expression by Q640X AR in 22Rv1 and LNCaP prostate cancer cells. *Cell Biol Int*, 2013. 37(5): p. 464-70.
133. Kasperzyk, J.L., et al., Prostate-specific membrane antigen protein expression in tumor tissue and risk of lethal prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2013. 22(12): p. 2354-63.
134. Marchal, C., et al., Expression of prostate specific membrane antigen (PSMA) in prostatic adenocarcinoma and prostatic intraepithelial neoplasia. *Histol Histopathol*, 2004. 19(3): p. 715-8.
135. Yao, V. and D.J. Bacich, Prostate specific membrane antigen (PSMA) expression gives prostate cancer cells a growth advantage in a physiologically relevant folate environment in vitro. *Prostate*, 2006. 66(8): p. 867-75.
136. Kirby, B.J., et al., Functional characterization of circulating tumor cells with a prostate-cancer-specific microfluidic device. *PLoS One*, 2012. 7(4): p. e35976.
137. Allard, W.J., et al., Tumor cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas but not in healthy subjects or patients with nonmalignant diseases. *Clin Cancer Res*, 2004. 10(20): p. 6897-904.
138. Yin, C., et al., Molecular Profiling of Pooled Circulating Tumor Cells from Prostate Cancer Patients Using a Dual-Antibody-Functionalized Microfluidic Device. *Anal Chem*, 2018. 90(6): p. 3744-3751.
139. Satelli, A., et al., EMT circulating tumor cells detected by cell-surface vimentin are associated with prostate cancer progression. *Oncotarget*, 2017. 8(30): p. 49329-49337.
140. Sun, Y., et al., Androgen deprivation causes epithelial-mesenchymal transition in the prostate: implications for androgen-deprivation therapy. *Cancer Res*, 2012. 72(2): p. 527-36.
141. Murga, J.D., et al., Synergistic co-targeting of prostate-specific membrane antigen and androgen receptor in prostate cancer. *Prostate*, 2015. 75(3): p. 242-54.
142. Bitting, R.L., et al., Clinical phenotypes associated with circulating tumor cell enumeration in metastatic castration-resistant prostate cancer. *Urol Oncol*, 2015. 33(3): p. 110.e1-9.
143. Amato, R.J., et al., Epithelial cell adhesion molecule-positive circulating tumor cells as predictive biomarker in patients with prostate cancer. *Urology*, 2013. 81(6): p. 1303-7.
144. Goodman, O.B., et al., Circulating tumor cells as a predictive biomarker in patients with hormone-sensitive prostate cancer. *Clin Genitourin Cancer*, 2011. 9(1): p. 31-8.
145. Olmos, D., et al., Circulating tumour cell (CTC) counts as intermediate end points in castration-resistant prostate cancer (CRPC): a single-centre experience. *Ann Oncol*, 2009. 20(1): p. 27-33.
146. Moreno, J.G., et al., Circulating tumor cells predict survival in patients with metastatic prostate cancer. *Urology*, 2005. 65(4): p. 713-8.

147. de Bono, J.S., et al., Circulating tumor cells predict survival benefit from treatment in metastatic castration-resistant prostate cancer. *Clin Cancer Res*, 2008. 14(19): p. 6302-9.
148. Scher, H.I., et al., Circulating tumour cells as prognostic markers in progressive, castration-resistant prostate cancer: a reanalysis of IMMC38 trial data. *Lancet Oncol*, 2009. 10(3): p. 233-9.
149. Scher, H.I., et al., Circulating tumor cell biomarker panel as an individual-level surrogate for survival in metastatic castration-resistant prostate cancer. *J Clin Oncol*, 2015. 33(12): p. 1348-55.
150. Eiber, M., et al., Evaluation of Hybrid ⁶⁸Ga-PSMA Ligand PET/CT in 248 Patients with Biochemical Recurrence After Radical Prostatectomy. *J Nucl Med*, 2015. 56(5): p. 668-74.
151. Ried, K., P. Eng, and A. Sali, Screening for Circulating Tumour Cells Allows Early Detection of Cancer and Monitoring of Treatment Effectiveness: An Observational Study. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2017. 18(8): p. 2275-2285.
152. Bailey, J. and M. Piert, Performance of ⁶⁸Ga-PSMA PET/CT for Prostate Cancer Management at Initial Staging and Time of Biochemical Recurrence. *Curr Urol Rep*, 2017. 18(11): p. 84.
153. Calopedos, R.J.S., et al., Lutetium-177-labelled anti-prostate-specific membrane antigen antibody and ligands for the treatment of metastatic castrate-resistant prostate cancer: a systematic review and meta-analysis. *Prostate Cancer Prostatic Dis*, 2017. 20(3): p. 352-360.
154. DiPippo, V.A., et al., Efficacy studies of an antibody-drug conjugate PSMA-ADC in patient-derived prostate cancer xenografts. *Prostate*, 2015. 75(3): p. 303-13.

8. Danksagung

Zunächst gilt mein Dank Herrn PD Dr. med. Frank König, meinem Doktorvater, für die Betreuung dieser Arbeit, der konstruktiven Zusammenarbeit und Hilfe bei der Entdeckung und Erschließung der Thematik sowie der Ideengebung.

Des Weiteren möchte ich Herrn Dr. med. Tobias Gorges für seine Kooperation und bereichernde Unterstützung an dem Projekt danken. Ohne ihn wäre das Projekt so nicht realisierbar gewesen.

Ich danke außerdem Herrn Bernd Schicke, der mich ebenfalls sehr hilfreich zu Beginn sowie während des Projektes unterstützt hat.

Für die stets konstante Unterstützung bei der Anfertigung und Vollendung möchte ich ebenfalls hervorhebend Herrn Jelle Janosch Rauer und Frau Johanna Kühn danken.

Mein besonderer Dank gilt meiner gesamten Familie, die mir meinen bisherigen Lebensweg ermöglicht hat und ohne die ich heute nicht an diesem Punkt im Leben stehen könnte.

Abschließend danke ich in tiefer Verbundenheit für jahrelangen Rückhalt und Förderung Herrn Vincent Poulmarch.

9. Ehrenerklärung

Ich erkläre, dass ich die der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität zur Promotion eingereichte Dissertation mit dem Titel

PSMA-Expression in Prostatakarzinomgewebe und auf zirkulierenden Tumorzellen bei Patienten mit metastasiertem Prostatakarzinom

in der Klinik für Urologie in Zusammenarbeit mit der uro-onkologischen Gemeinschaftspraxis ATURO – Partnerpraxis der Medizinischen Fakultät der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg,

mit Unterstützung durch PD Dr. med. Frank König,

ohne sonstige Hilfe durchgeführt und bei der Abfassung der Dissertation keine anderen als die dort aufgeführten Hilfsmittel benutzt habe.

Bei der Abfassung der Dissertation sind Rechte Dritter nicht verletzt worden.

Ich habe diese Dissertation bisher an keiner in- oder ausländischen Hochschule zur Promotion eingereicht. Ich übertrage der Medizinischen Fakultät das Recht, weitere Kopien meiner Dissertation herzustellen und zu vertreiben.

Magdeburg, den

Unterschrift

10. Curriculum Vitae

Persönliche Daten

Name Marcel Oliver Boede
Geburtsdatum 28.05.1992
Geburtsort Berlin

Hochschulausbildung

Juni 2018 3. Staatsexamen
April 2017 2. Staatsexamen
Sept. 2014 Äquivalent 1. Staatsexamen
Okt. 2011 Beginn Studium der Humanmedizin im Modellstudiengang,
Charité - Universitätsmedizin Berlin

Promotion

seit 2015 PSMA-Expression auf zirkulierenden Tumorzellen und
Prostatagewebe bei Patienten mit metastasiertem
Prostatakarzinom
Urologie, Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg
Doktorvater: PD Dr.med. Frank König

Publikation

Juni 2016 Gorges, TM et al. Heterogeneous PSMA expression on
circulating tumor cells: a potential basis for stratification and
monitoring of PSMA-directed therapies in prostate cancer.
Oncotarget 2016 Jun 7;7(23):34930-41

Ärztliche Tätigkeit

seit Nov. 2018 Assistenzarzt in Weiterbildung, Hautarztzentrum Tegel, Dr.
med. Martin Miehe, PD Dr. med. Ulrike Serfling, Dr. med.
Sören Baeblich, Gorkistraße 3, 13507 Berlin

Praktisches Jahr

Dez. 2017-April. 2018 Dermatologie, Charité - Universitätsmedizin Berlin
Sept. 2017-Dez. 2017 Innere Medizin, Vivantes Klinikum Neukölln, Berlin
Mai 2017-Sept. 2017 Allgemein- und Viszeralchirurgie, Vivantes Klinikum Neukölln,
Berlin

Famulaturen

Feb. 2016 Innere Medizin, Infektiologie und Gastroenterologie, Vivantes
Auguste-Viktoria-Klinikum, Berlin
Sept. 2015 Anästhesiologie und Intensivmedizin, Unfallkrankenhaus Berlin
März 2015 Allgemein Chirurgie und Rettungsstelle, IMED Elche, Spanien
Aug. 2014 Innere Medizin, Hausärztliche Versorgung, Frithjof Schwarz,
Bundesallee 66, Berlin
März 2014 Allgemein Chirurgie, Dres. Göbel, Schönhauser Allee 118,
Berlin

Krankenpflegepraktika

März 2013 Pneumologie/Kardiologie Charité - Universitätsmedizin Berlin (CBF)
Sept. 2012 Kardiologie Charité - Universitätsmedizin Berlin (CVK)
März 2012 Kinder und Jugendpsychiatrie, St. Josephs Krankenhaus, Berlin

Zusätzliche berufliche

Juni/Juli 2016 und Mai – Studienassistent, HAROW-Studie, Stiftung Männergesundheit, Berlin
Sept. 2015
Sept. – Dez. 2015 Studentischer Mitarbeiter, Institut für Integrative Neuroanatomie, Charité - Universitätsmedizin Berlin

Schulbildung

1998-2011 Grundschule und Gymnasium, Berlin

Mitgliedschaften

seit Jan. 2019 Berliner Gesellschaft für Dermatologie
Okt. – Feb. 2017/18 Akupunktur AG, Charité - Universitätsmedizin Berlin
2014 – 2019 Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Medizinische Onkologie (DGHO)

Besondere Kenntnisse

Sprachen Englisch in Wort und Schrift fließend,
Spanisch Grundkenntnisse
EDV Word, Excel, Powerpoint, Open Office

11. Anhang

Anlage 1: Kreuztabelle mit den Variablen T und CTC-PSMA-Status (Chi Quadrat nach Pearson $p = 0,70$)

		CTC-PSMA-Status		Gesamt
		keine/PSMA ⁻	PSMA ⁺	
T1	Anzahl Patienten	1	1	2
	Anteil mit jeweiligem CTC-PSMA-Status	6,3 %	11,1 %	8 %
T2	Anzahl Patienten	2	2	4
	Anteil mit jeweiligem CTC-PSMA-Status	12,5 %	22,2 %	16 %
T3	Anzahl Patienten	11	4	15
	Anteil mit jeweiligem CTC-PSMA-Status	68,7 %	44,5 %	60 %
T4	Anzahl Patienten	2	2	4
	Anteil mit jeweiligem CTC-PSMA-Status	12,5 %	22,2 %	16 %
Gesamt	Anzahl Patienten	16	9	25

Anlage 2: Kreuztabelle mit den Variablen N und CTC-PSMA-Status (Chi Quadrat nach Pearson $p = 0,70$)

		CTC-PSMA-Status		Gesamt
		keine/PSMA ⁻	PSMA ⁺	
N0	Anzahl Patienten	1	1	2
	Anteil mit jeweiligem CTC-PSMA-Status	6,3 %	11,1 %	8 %
N1	Anzahl Patienten	9	6	15
	Anteil mit jeweiligem CTC-PSMA-Status	56,2 %	66,7 %	60 %
Nx	Anzahl Patienten	6	2	8
	Anteil mit jeweiligem CTC-PSMA-Status	37,5 %	22,2 %	32 %
Gesamt	Anzahl Patienten	16	9	25

Anlage 3: Kreuztabelle mit den Variablen M und CTC-PSMA-Status (Chi-Quadrat nach Pearson $p = 0,37$)

		CTC-PSMA-Status		Gesamt
		keine/PSMA ⁻	PSMA ⁺	
M1a	Anzahl Patienten	3	0	3
	Anteil mit gleichem CTC-PSMA-Status	18,7 %	0 %	12 %
M1b	Anzahl Patienten	12	8	20
	Anteil mit jeweiligem CTC-PSMA-Status	75 %	88,9 %	80 %
M1c	Anzahl Patienten	1	1	2
	Anteil mit jeweiligem CTC-PSMA-Status	6,3 %	11,1 %	8 %
Gesamt	Anzahl Patienten	16	9	25

Anlage 4: Kreuztabelle mit den Variablen Initialtherapie und CTC-PSMA-Status (Exakter Test nach Fisher: zweiseitig $p = 0,691$ und einseitig $p = 0,47$; Chi-Quadrat nach Pearson $p = 0,61$)

		CTC-PSMA-Status		Gesamt
		keine/PSMA ⁻	PSMA ⁺	
Keine ADT initial	Anzahl Patienten	7	3	10
	Anteil mit gleichem CTC-PSMA-Status	43,8 %	33,3 %	40 %
ADT initial	Anzahl Patienten	9	6	15
	Anteil mit jeweiligem CTC-PSMA-Status	56,2 %	66,7 %	60 %
Gesamt	Anzahl Patienten	16	9	25

Anlage 5: Kreuztabelle mit den Variablen GS und CTC-PSMA-Status (Exakter Test nach Fisher: zweiseitig $p = 1$ und einseitig $p = 0,50$; Chi-Quadrat nach Pearson $p = 0,63$)

		CTC-PSMA-Status		Gesamt
		keine/PSMA ⁻	PSMA ⁺	
GS 7/8	Anzahl Patienten	5	2	7
	Anteil mit gleichem CTC-PSMA-Status	31,3 %	22,2 %	28 %
GS 9/10	Anzahl Patienten	11	7	18
	Anteil mit jeweiligem CTC-PSMA-Status	68,7 %	77,8 %	72 %
Gesamt	Anzahl Patienten	16	9	25

Anlage 6: Kreuztabelle mit den Variablen LHRH Therapie und CTC-PSMA-Status (Exakter Test nach Fisher: zweiseitig $p = 1$ und einseitig $p = 0,65$; Chi-Quadrat nach Pearson $p = 0,97$)

		CTC-PSMA-Status		Gesamt
		keine/PSMA ⁻	PSMA ⁺	
Keine LHRH	Anzahl Patienten	7	4	11
	Anteil mit gleichem CTC-PSMA-Status	43,8 %	44,4 %	44 %
LHRH	Anzahl Patienten	9	5	14
	Anteil mit jeweiligem CTC-PSMA-Status	56,2 %	55,6 %	56 %
Gesamt	Anzahl Patienten	16	9	25

Anlage 7: Kreuztabelle mit den Variablen Abiraterontherapie und CTC-PSMA-Status (Exakter Test nach Fisher: zweiseitig $p = 1,000$ und einseitig $p = 0,593$; Chi-Quadrat nach Pearson $p = 0,835$)

		CTC-PSMA-Status		Gesamt
		keine/PSMA ⁻	PSMA ⁺	
Kein Abirateron	Anzahl Patienten	10	6	16
	Anteil mit gleichem CTC-PSMA-Status	62,5 %	66,7 %	64 %
Abirateron	Anzahl Patienten	6	3	9
	Anteil mit jeweiligem CTC-PSMA-Status	37,5 %	33,3 %	36 %
Gesamt	Anzahl Patienten	16	9	25

Anlage 8: Kreuztabelle mit den Variablen T und Anzahl CTCs (Chi-Quadrat nach Pearson $p = 0,97$)

		Anzahl CTCs		Gesamt
		< 5	≥ 5	
T1	Anzahl Patienten	1	1	2
	Anteil mit jeweiliger Anzahl an CTCs	7,1 %	9,1 %	8 %
T2	Anzahl Patienten	2	2	4
	Anteil mit jeweiliger Anzahl an CTCs	14,3 %	18,2 %	16 %
T3	Anzahl Patienten	9	6	15
	Anteil mit jeweiliger Anzahl an CTCs	64,3 %	54,5 %	60 %
T4	Anzahl Patienten	2	2	4
	Anteil mit jeweiliger Anzahl an CTCs	14,3 %	18,2 %	16 %
Gesamt	Anzahl Patienten	14	11	25

Anlage 9: Kreuztabelle mit den Variablen N und Anzahl CTCs (Chi-Quadrat nach Pearson $p = 0,9$)

		Anzahl CTCs		Gesamt
		< 5	≥ 5	
N0	Anzahl Patienten	1	1	2
	Anteil mit jeweiliger Anzahl an CTCs	7,1 %	9,1 %	8 %
N1	Anzahl Patienten	8	7	15
	Anteil mit jeweiliger Anzahl an CTCs	57,2 %	63,6 %	60 %
Nx	Anzahl Patienten	5	3	8
	Anteil mit jeweiliger Anzahl an CTCs	35,7 %	27,3 %	32 %
Gesamt	Anzahl Patienten	14	11	25

Anlage 10: Kreuztabelle mit den Variablen M und Anzahl CTCs (Chi-Quadrat nach Pearson $p = 0,92$)

		Anzahl CTCs		Gesamt
		< 5	≥ 5	
M1a	Anzahl Patienten	2	1	3
	Anteil mit jeweiliger Anzahl an CTCs	14,3 %	9,1 %	12 %
M1b	Anzahl Patienten	11	9	20
	Anteil mit jeweiliger Anzahl an CTCs	78,6 %	81,8 %	80 %
M1c	Anzahl Patienten	1	1	2
	Anteil mit jeweiliger Anzahl an CTCs	7,1 %	9,1 %	8 %
Gesamt	Anzahl Patienten	14	11	25

Anlage 11: Kreuztabelle mit den Variablen Initialtherapie und Anzahl CTCs (Exakter Test nach Fisher: zweiseitig $p = 0,41$ und einseitig $p = 0,23$; Chi-Quadrat nach Pearson $p = 0,25$)

		Anzahl CTCs		Gesamt
		< 5	≥ 5	
Keine ADT initial	Anzahl Patienten	7	3	10
	Anteil mit jeweiliger Anzahl an CTCs	50 %	27,3 %	40 %
ADT initial	Anzahl Patienten	7	8	15
	Anteil mit jeweiliger Anzahl an CTCs	50 %	72,7 %	60 %
Gesamt	Anzahl Patienten	14	11	25

Anlage 12: Kreuztabelle mit den Variablen GS und Anzahl CTCs (Exakter Test nach Fisher: zweiseitig $p = 0,4$ und einseitig $p = 0,31$; Chi-Quadrat nach Pearson $p = 0,33$)

		Anzahl CTCs		Gesamt
		< 5	≥ 5	
GS 7/8	Anzahl Patienten	5	2	7
	Anteil mit jeweiliger Anzahl an CTCs	35,7 %	18,2 %	28 %
GS 9/10	Anzahl Patienten	9	9	18
	Anteil mit jeweiliger Anzahl an CTCs	64,3 %	81,8 %	72 %
Gesamt	Anzahl Patienten	14	11	25

Anlage 13: Kreuztabelle mit den Variablen LHRH Therapie und Anzahl CTCs (Exakter Test nach Fisher: zweiseitig $p = 1$ und einseitig $p = 0,61$; Chi-Quadrat nach Pearson $p = 0,9$)

		Anzahl CTCs		Gesamt
		< 5	≥ 5	
Keine LHRH	Anzahl Patienten	6	5	11
	Anteil mit jeweiliger Anzahl an CTCs	42,9 %	45,5 %	44 %
LHRH	Anzahl Patienten	8	6	14
	Anteil mit jeweiliger Anzahl an CTCs	57,1 %	54,5 %	56 %
Gesamt	Anzahl Patienten	14	11	25

Anlage 14: Kreuztabelle mit den Variablen Abiraterontherapie und Anzahl CTCs (Exakter Test nach Fisher: zweiseitig $p = 0,43$ und einseitig $p = 0,33$; Chi-Quadrat nach Pearson $p = 0,38$)

		Anzahl CTCs		Gesamt
		< 5	≥ 5	
Kein Abirateron	Anzahl Patienten	10	6	16
	Anteil mit jeweiliger Anzahl an CTCs	71,4 %	54,5 %	64 %
Abirateron	Anzahl Patienten	4	5	9
	Anteil mit jeweiliger Anzahl an CTCs	28,6 %	45,5 %	36 %
Gesamt	Anzahl Patienten	14	11	25