

Technische Universität München

Klinikum rechts der Isar
Urologischen Klinik und Poliklinik
Direktor: Prof. Dr. J. E. Gschwend

Prognostische Bedeutung zirkulierender Tumorzellen bei Patienten mit kastrationsrefraktärem Prostatakarzinom unter Docetaxeltherapie

Caroline Regina Kronester

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der
Technischen Universität München
zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Medizin
genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Prof. Dr. E. J. Rummeny

Prüfer der Dissertation:

1. apl. Prof. Dr. M. Retz
2. Prof. Dr. J. E. Gschwend

Die Dissertation wurde am 20.10.2016 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 18.10.2017 angenommen.

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	7
<u>1. Einleitung.....</u>	9
1.1. Epidemiologie des Prostatakarzinoms	9
1.2. Diagnostik und Klassifizierung des Prostatakarzinoms	10
1.2.1. Histopathologische Einteilung	10
1.2.2. Klinische Stadieneinteilung.....	10
1.3. Erkrankungsstadien bis zum CRPC	11
1.4. Therapie des metastasierten Prostatakarzinoms	11
1.4.1. Watchful Waiting bei asymptomatischen Patienten	11
1.4.2. Androgendeprivation des hormonsensitiven Prostatakarzinoms	11
1.4.3. Kastrationsrefraktäres Stadium des Prostatakarzinoms (CRPC).....	13
1.4.4. Chemotherapie des CRPC mit Docetaxel	14
1.5. Diagnostische Verlaufparameter beim CRPC	17
1.5.1. Das prostataspezifische Antigen als Tumormarker.....	17
1.5.2. Skelettszintigraphien zur Bestimmung der Metastasenlast im Knochen	18
1.5.3. Computertomographien zur Beurteilung der Metastasenlast in Weichgewebe und Lymphknoten	19
1.6. Zirkulierende Tumorzellen als Marker des Therapieansprechens	20
1.6.1. Detektion der CTCs mittels der Reversen-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion	20
1.6.2. Methoden zur Detektion der CTCs als intakte Zellen.....	21
1.6.3. Detektion der CTCs mit dem CellSearch® System.....	21
1.7. Hintergrund und Fragestellung	22
<u>2. Material und Methoden</u>	24
2.1. Studiendesign und Endpunkte der Studie.....	24
2.2. Patientenkollektiv und Kriterien der Studienteilnahme.....	25
2.2.1. Einschlusskriterien.....	25
2.2.2. Ausschlusskriterien.....	25
2.3. Chemotherapie und Begleitmedikation	26
2.4. Zeitlicher Ablauf von Chemotherapie und Staginguntersuchungen... ..	26
2.4.1. Zeitpunkte der CTC-Bestimmungen.....	26
2.4.2. Untersuchungen, die zu jedem Stagingzeitpunkt erfolgten	27

2.4.3. Zeitpunkte der bildgebenden Untersuchungen	27
2.5. Besonderheiten der Einschlussuntersuchung	28
2.6. Verfahren bei Progress oder klinischer Verschlechterung.....	29
2.7. Detektion der zirkulierenden Tumorzellen.....	30
2.7.1. Probenentnahme und Entnahmezeitpunkte	30
2.7.2. Verarbeitung der Blutproben	30
2.8. Bildgebende Verfahren zur Beurteilung des Therapieansprechens ...	34
2.8.1. Skelettszintigraphien	34
2.8.2. Computertomographien und RECIST-Kriterien.....	35
2.9. Klinische Einschätzung der Patienten zur Beurteilung des	
Therapieansprechens	36
2.10. Statistische Auswertung.....	37
<u>3. Ergebnisse.....</u>	<u>40</u>
3.1. Patientencharakteristik	40
3.1.1. Histologisch bestimmter Gleason-Score	41
3.1.2. Initiale Therapie nach der Erstdiagnose des Prostatakarzinoms	41
3.1.3. Metastasierungsmuster bei der Einschlussuntersuchung.....	42
3.1.4. ECOG Performance Status der Einschlussuntersuchung.....	42
3.1.5. Laborparameter der Einschlussuntersuchung.....	43
3.2. Detektionsrate der CTCs	44
3.3. Prognostischer Wert der kontinuierlichen CTC-Zahl für das objektive	
Therapieansprechen.....	45
3.4. Prognostischer Wert der kategorialen CTC-Zahlen für das objektive	
Therapieansprechen	47
3.5. Konkordanz der kategorialen CTC-Zahlen mit dem objektiven	
Therapieansprechen	48
3.6. Prognostischer Wert der kategorialen und kontinuierlichen CTC-	
Zahlen in Bezug auf das progressionsfreie Überleben	49
3.7. Prognostischer Wert der kategorialen und kontinuierlichen CTC-	
Zahlen in Bezug auf das Gesamtüberleben	51
3.8. Prognostischer Wert des objektiven Ansprechens in Bezug auf das	
Gesamtüberleben.....	53

3.9. Vergleich des prognostischen Wertes der CTC-Zahlen mit Routinelaborparametern hinsichtlich des progressionsfreien Überlebens und des Gesamtüberlebens	55
3.10. Vergleich des prognostischen Wertes der kategorialen CTC-Zahlen und des objektiven Ansprechens hinsichtlich eines Versterbens der Patienten innerhalb von zwölf Monaten.....	57
3.11. Prognostische Bedeutung einer Kombination der CTC-Zahlen und des radiologischen Ansprechens in Bezug auf das Gesamtüberleben	58
<u>4. Diskussion.....</u>	60
4.1. Kritische Betrachtung des Studienaufbaus	60
4.2. Einordnung des Patientenkollektivs	61
4.3. Kritische Betrachtung der etablierten Untersuchungsmethoden	62
4.3.1. Skelettszintigraphie für die Beurteilung des Therapieansprechens	62
4.3.2. Computertomographie für die Beurteilung des Therapieansprechens.....	63
4.3.3. Das prostataspezifische Antigen für die Beurteilung des Therapieansprechens 66	
4.3.4. Klinische Evaluation für die Beurteilung des Therapieansprechens	68
4.4. Kritische Betrachtung des CellSearch® Systems	69
4.5. Klinische Anwendbarkeit der CTCs	73
4.6. Prognostischer Wert der CTC-Zahlen vor Therapiebeginn.....	75
4.7. Prognostischer Wert der frühen CTC-Zahlen für das objektive Therapieansprechen	76
4.8. Prognostischer Wert der CTC-Zahlen für das progressionsfreie Überleben	78
4.9. Prognostischer Wert der CTC-Zahlen für das Gesamtüberleben.....	78
4.10. Ausblicke.....	81
<u>5. Zusammenfassung</u>	83
<u>6. Publikationen in Zusammenhang mit dieser Arbeit</u>	85
6.1. Wissenschaftliche Publikationen in Fachjournalen.....	85
6.2. Vorträge und Posterpräsentationen.....	85

<u>7. Literaturverzeichnis</u>	<u>86</u>
<u>8. Anhang</u>	<u>102</u>
8.1. Abbildungsverzeichnis.....	102
8.2. Tabellenverzeichnis.....	103
<u>9. Danksagung</u>	<u>104</u>

Abkürzungsverzeichnis

AUC	Area Under the Curve
AUO	Arbeitsgemeinschaft Urologische Onkologie
AP	Alkalische Phosphatase
Bcl-2	B-Cell Lymphoma 2
CD45	Cluster of Differentiation 45
CR	Complete Remission
CRPC	Castration-resistant Prostate Cancer
CSS	CellSearch® System
CT	Computertomographie
CTC/ CTCs	Circulating Tumor Cell/ Cells
DAPI	4',6-Diamidin-2-Phenylindol
DGU	Deutschen Gesellschaft für Urologie
EAU	European Association of Urology
ECOG	Eastern Cooperative Oncology Group
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EKG	Elektrokardiogramm
EMT	Epithelial-Mesenchymal Transition
EpCAM	Epithelial Cell Adhesion Molecule
FACT-P	Functional Assessment of Cancer Therapy-Prostate
FDA	Food and Drug Administration
FSH	Follikelstimulierendes Hormon
FU	Follow Up
GGT	Gamma-Glutamyltransferase
GNRH	Gonadotropin-Releasing-Hormon
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
HRPC	Hormonrefraktäres Prostatakarzinom
KI	Konfidenzintervall
LDH	Laktatdehydrogenase
LH	Luteinisierendes Hormon
LHRH	Luteinisierendes Hormon Releasing Hormon
mSv	Millisievert

n	Anzahl der Patienten
n.a.	Nicht auswertbar
nonPD	Non Progressive Disease
OR	Objective Response
OS	Overall Survival
PCWG	Prostate Cancer Clinical Trials Working Group
PD	Progressive Disease
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PFS	Progression-Free Survival
p	Signifikanzwert
pH	Potentia Hydrogenii
PR	Partial Remission
PSA	Prostataspezifisches Antigen
q	Zyklus der Docetaxel-Therapie
RECIST	Response Evaluation Criteria in Solid Tumors
RT-PCR	Reverse-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion
ROC	Receiver Operating Characteristic
RKI	Robert Koch-Institut
SD	Stable Disease
SWOG	Southwest Oncology Group
TNM	Tumor, Node, Metastasis
U	Enzymeinheit
UICC	Union for International Cancer Control
WHO	World Health Organization
WMA	World Medical Association

1. Einleitung

1.1. Epidemiologie des Prostatakarzinoms

Das Prostatakarzinom stellt die häufigste Krebserkrankung bei Männern dar. Es hat mit rund 20% den höchsten Anteil unter den Krebsneuerkrankungen bei Männern. In den letzten Jahren wurde eine stete Steigerung der jährlichen Neuerkrankungsrate dokumentiert. Für das Jahr 2011 wurden 64515 neue Erkrankungsfälle registriert. Die altersstandardisierter Erkrankungsrate zeigte sich jedoch seit 2003 stabil (Kaatsch et al., Robert Koch-Institut, 2013).

Das Prostatakarzinom verursacht 10% aller Krebssterbefälle in der Bundesrepublik Deutschland. Damit liegt es auf dem dritten Rang der zum Tode führenden Krebserkrankungen (Kaatsch et al., Robert Koch-Institut, 2013). Die Zahl der Prostatakarzinom bedingten Sterbefälle hat sich von 1980 bis 2013 um über 30% auf 13408 Fälle erhöht (Todesursachenstatistik für Deutschland, Statistisches Bundesamt, 2014). Im Rahmen des demografischen Wandels der Gesellschaft nimmt die Anzahl älterer Männer an der Gesamtbevölkerung zu. Betrachtet man die Sterberate als einen vom demografischen Wandel unabhängigen altersstandardisierten Wert, so zeigt sich in dem Zeitraum von 1980 bis 2004 ein Rückgang um 20%, mit weiter sinkender Tendenz (Levi et al., 2004; Kaatsch et al., Robert Koch-Institut, 2013). Der Rückgang der Mortalitätsrate ist auf eine verbesserte und frühere Diagnose zurückzuführen (Malvezzi et al., 2011). Dementsprechend zeigen die jährliche Neuerkrankungsrate und die Mortalität des Prostatakarzinoms eine gegenläufige Tendenz. Verbessert hat sich durch die früheren Diagnosestellungen und besseren Therapiemöglichkeiten auch die Prognose. Die relative Fünf-Jahres-Überlebensrate für Patienten mit Prostatakrebs in Deutschland liegt mittlerweile bei 93% (Kaatsch et al., Robert Koch-Institut, 2013).

Zusammenfassend liegt das Risiko für einen Mann in Europa im Laufe seines Lebens an einem Prostatakarzinom zu erkranken ungefähr bei 40%. Das Risiko Symptome zu entwickeln liegt bei circa 10% und das Risiko an den Folgen des Prostatakarzinoms zu versterben bei etwa 3% (Scardino, 1989; Börgermann et al., 2009).

1.2. Diagnostik und Klassifizierung des Prostatakarzinoms

1.2.1. Histopathologische Einteilung

Die Stanzbiopsie des Prostatakarzinoms stellt bei Verdacht auf ein vorliegendes Prostatakarzinom den Standard zur Diagnosesicherung dar (DGU, S3-Leitlinie, 2014, S. 34). Die Ergebnisse der histopathologischen Untersuchung werden international vor allem nach dem Gleason-Grading ausgewertet, entsprechend der Konsensuskonferenz der Weltgesundheitsorganisation (Gleason und Mellinger 1974). Seit 2005 werden die Stanzzyylinder hinsichtlich der Differenzierung des Drüsengewebes und der Tumorausdehnung ins umgebende Stroma nach Graden von 1 (differenziert) bis 5 (undifferenziert) eingeteilt (Epstein et al., 2005). Für die Bestimmung des Gleason-Scores werden der häufigste Grad und der bösartigste Grad addiert und als Summe angegeben, so dass ein maximaler Gleason-Score von 10 (5+5) erreicht werden kann (Kamradt und Wullich, 2008).

1.2.2. Klinische Stadieneinteilung

Die klinische Einteilung des Prostatakarzinoms erfolgt nach dem TNM-System der Union for International Cancer Control (UICC) (Sobin et al., 2009). Diese Stadieneinteilung liegt allen klinischen Studien zugrunde und wird von der Deutschen Gesellschaft für Urologie in ihrer Leitlinie empfohlen (DGU, S3-Leitlinie, 2014, S. 55). In der Abkürzung TNM steht dabei T für die lokale Ausbreitung des Ursprungstumors, N für regionäre Lymphknoten im kleinen Becken und M für Fernmetastasen (Sobin et al., 2009). Diese Einteilung entspricht dem Metastasierungsweg des Prostatakarzinoms. Bei einer lymphogenen Ausbreitung sind zumeist erst die lokoregionären Lymphknoten des kleinen Beckens und dann die retroperitonealen Lymphknotenstationen befallen. Auf hämatogenem Weg, sind gemäß einer Studie bei 1589 autopsierten Patienten mit Prostatakarzinom, am häufigsten die Knochen (90%) und dann in abnehmender Häufigkeit Lunge, Leber, Pleura und Nebennieren von einer Metastasierung befallen. Bei der Metastasierung von Knochen wurde eine abnehmende Beteiligung von der Lendenwirbelsäule zur Halswirbelsäule festgestellt (Bubendorf et al., 2000). Der Hauptteil der Knochenmetastasen beim Prostatakarzinom ist osteoblastisch (Ibrahim et al., 2010).

1.3. Erkrankungsstadien bis zum CRPC

Die Patienten der vorliegenden Untersuchung sind an einem fortgeschrittenen und bereits metastasierten Prostatakarzinom erkrankt, das als kastrationsrefraktäres Prostatakarzinom (CRPC) bezeichnet wird. Zur Einordnung der Erkrankung werden im Folgenden die Therapieformen des metastasierten Prostatakarzinoms beschrieben die das Erkrankungsstadium definieren. Bis zur Diagnose eines CRPC haben die Patienten die verschiedenen Erkrankungsstadien vom lokal begrenzten, über das lokal fortgeschrittene zum metastasierten Prostatakarzinom durchschritten oder sie haben sich bereits bei Diagnosestellung im fortgeschrittenen Stadium befunden.

1.4. Therapie des metastasierten Prostatakarzinoms

1.4.1. Watchful Waiting bei asymptomatischen Patienten

Bei asymptomatischen Patienten ist das sogenannte Watchful Waiting - unter engmaschiger Beobachtung - ein in Frage kommendes Konzept, wenn der Patient dies wünscht. Watchful Waiting bedeutet nur symptomabhängig mit palliativer Intention zu behandeln (Heidenreich et al., 2010; EAU-Guidelines, Mottet et al., 2015, S.69).

1.4.2. Androgendeprivation des hormonsensitiven Prostatakarzinoms

Bei symptomatischen, metastasierten Erkrankungen stellt eine antihormonelle Therapie, die als Androgendeprivation bezeichnet wird, die Therapie der Wahl dar, da sie das progressionsfreie Überleben verlängern kann (Nair et al., 2002; Heidenreich et al., 2010). Ihre Effekte, wie ein Rückschreiten der Erkrankung und eine Verbesserung der lokalen oder systemischen Beschwerden, wurden zum ersten Mal von Huggins und Hodges 1941 beschrieben (Huggins und Hodges, 1941; Sriprasad et al., 2009). Huggins wurde dafür im Jahr 1966 mit dem Nobelpreis ausgezeichnet (The Nobel Prize in Physiology or Medicine, 1966). Über 80% der Patienten sprechen primär auf eine Androgendeprivation an, und gelten somit als hormonsensitiv.

Der anzustrebende Testosteronwert sollte kleiner als 20-50 ng/dl sein (Scher et al., 2008; DGU, S3-Leitlinie, 2014, S.178). Gemäß der Guideline der EAU ist sogar ein Testosteronwert <20 ng/dl empfohlen (Mottet et al., 2015, S.59).

Die primäre Androgendeprivation ist chirurgisch durch eine Orchiectomie oder seit den 80er Jahren auch medikamentös mit luteinisierendem Hormon Releasing Hormon- (LHRH-) oder Gonadotropin-Releasing-Hormon- (GnRH-) Agonisten möglich. Alternativ ist der Einsatz von GnRH-Antagonisten möglich. Die operative Orchiectomie, zeigt bereits nach zwölf Stunden Testosteronwerte unter dem Kastrationsniveau (Börgermann et al., 2009). Da sie jedoch von den Patienten als wesentlich belastender empfunden wird, kommt heute in der Praxis vor allem die medikamentöse Androgendeprivation zum Einsatz.

LHRH-Analoga sind gleich wirksam wie die operative Therapie (Nair et al., 2002; Börgermann et al., 2009). Allerdings zeigen Patienten, die LHRH-Agonisten bekommen, für die Dauer von circa 10 bis 20 Tagen ein Flare-Phänomen, also eine Erhöhung des Testosteronspiegels. Die LHRH-Analoga binden mit hoher Affinität an den LHRH-Rezeptoren des Hypophysen-Vorderlappens und unterbrechen so den negativen Rückkoppelungskreis der Hypothalamus-Hypophyse-Gonaden-Achse. Die Überstimulation durch die Analoga führt mit einer gewissen Verzögerung zu einer Herunterregelung der hypophysären Rezeptoren. Dem folgt die verminderte Freisetzung von follikelstimulierendem (FSH) und luteinisierendem Hormon (LH). Schließlich kommt es zum Stillstand der Androgenproduktion in den Hoden, in denen 90 bis 95% der Androgene gebildet werden. GnRH-Antagonisten werden erst seit 2006/2007 eingesetzt und senken den Testosteronspiegel genauso effektiv wie LHRH-Agonisten (DGU, S3-Leitlinie, 2014, S. 172).

Die Substanzgruppe der Antiandrogene bindet ohne eigene intrinsische Aktivität an den peripheren Androgenrezeptor. Dort blockieren sie die Wirkung von Testosteron und dem aktiven Metaboliten Dihydrotestosteron. Da die Testosteronproduktion an sich nicht gehemmt wird, treten die typischen Nebenwirkungen der Androgendeprivation wie beispielsweise Hitzewallungen, Osteoporose, Gewichtszunahme, metabolische Veränderungen, kardiovaskuläre Erkrankungen oder Anämie, weniger auf. Dagegen kommen Gynäkomastie und Brustschmerzen häufiger vor (DGU, S3-Leitlinie, 2014, S. 208).

In ihrer Effektivität scheint die alleinige Antiandrogentherapie den LHRH-Analoga unterlegen, mit einem reduzierten progressionsfreien- und Gesamtüberleben (Kunath et al., 2014).

Aufgrund der Studienlage ist noch nicht eindeutig einzuschätzen, ob die Androgendeprivation kontinuierlich oder intermittierend durchgeführt werden sollte. Auch ist noch offen, ob eine maximale Suppression mit der Kombination von LHRH-Analoga und antiandrogener Rezeptorblockade vorteilhaft gegenüber der einfachen Suppression ist (DGU, S3-Leitlinie, 2014, S. 173; EAU-Guidelines, Mottet et al., 2015, S. 62).

1.4.3. Kastrationsrefraktäres Stadium des Prostatakarzinoms (CRPC)

Nachdem zunächst ungefähr 80% der Patienten auf eine Androgendeprivation ansprechen, zeigt die Mehrzahl der Patienten nach zwölf bis 33 Monaten unter Therapie einen Progress der Erkrankung zum CRPC (Börgermann et al., 2009). Der Progress erfolgt trotz einer erhaltenen Androgendeprivation mit einem Testosteronwert <50 ng/dl und ist durch einen Anstieg des PSA-Wertes oder einen Progress in der Bildgebung definiert (EAU-Guidelines, Mottet et al., 2015, S. 90). Dabei werden mindestens zwei Anstiege des PSA-Wertes über den individuellen Nadir gefordert (Paul et al., 2008; Scher et al., 2008; Heidenreich et al., 2010). In der Bildgebung wird ein Progress durch zwei oder mehr neue Metastasen in der Skelettszintigraphie oder durch Zunahme der Weichgewebemetastasen in der Computertomographie definiert (EAU-Guidelines, Mottet et al., 2015, S.90). Bei Patienten mit einem CRPC benötigen die Tumorzellen keine extrinsische androgene Stimulation um zu wachsen. Man geht davon aus, dass eine Veränderung in der Signalkaskade des Androgenrezeptors der Karzinomzellen eine entscheidende Rolle bei der Pathogenese spielt (EAU-Guidelines, Mottet et al., 2015, S.90). Jedoch kann auch in diesem Stadium eine prinzipielle Hormonabhängigkeit bestehen bleiben. Als Ursache wird angenommen, dass in den Zellen des Karzinoms Androgene synthetisiert werden können (Scher et al., 2008; Schröder 2008; de Bono et al., 2008; Börgermann et al., 2009).

Dementsprechend ist man dazu übergegangen statt des Ausdruckes hormonrefraktäres Prostatakarzinom (Hormone refractory prostate cancer, HRPC) die Bezeichnung kastrationsrefraktäres Prostatakarzinom (Castration resistant prostate cancer, CRPC) zu gebrauchen.

Eine sekundäre Hormonmanipulation kann eine verbliebene Hormonsensitivität des Tumors ausnutzen und somit Symptome lindern (DGU, S3-Leitlinie, 2014, S.180). Für eine erweiterte Hormontherapie sind zwischenzeitlich Abirateron und Enzalutamid zugelassen (DGU, S3-Leitlinie, 2014, S.188).

1.4.4. Chemotherapie des CRPC mit Docetaxel

Patienten mit einem metastasierten CRPC soll eine Chemotherapie angeboten werden, wenn sie eine symptomatische oder progrediente Erkrankung aufweisen und sich in gutem allgemeinem Zustand befinden (DGU, S3-Leitlinie, 2014, S.184). Primär kann eine Chemotherapie mit Docetaxel durchgeführt werden. Zum Zeitpunkt dieser Studie war das Standardschema 75 mg/m² Körperoberfläche in einem dreiwöchigen Zyklus (Retz und Gschwend, 2009, S.5-6; DGU, S3-Leitlinie, 2014, S 184; EAU-Guidelines, Mottet et al., 2015, S. 93).

Docetaxel wurde als zweites Taxan nach Paclitaxel in den 80er Jahren entwickelt. Es wird heute semisynthetisch aus den Nadeln der europäischen Eibe hergestellt. Durch eine Hemmung der Depolymerisation des Mikrotubulussystems bewirkt es einen Mitosearrest der Karzinomzellen. Zusätzlich fördert es über die Blockade des anti-apoptotischen Proteins Bcl-2 die Apoptose der Karzinomzellen. Docetaxel hat in Phase-I- und -II-Studien als Monotherapie Ansprechraten um 40% gezeigt. Es zeigt als erste Chemotherapie bei CRPC-Patienten signifikante Effekte auf die Überlebenszeit (Wolff, 2003).

Die zwei im Folgenden beschriebenen, großen Phase-III-Studien führten zum breiten Einsatz von Docetaxel in der CRPC-Therapie. Sie verglichen Docetaxel mit der Kombination von Mitoxantron und Prednisolon hinsichtlich ihres Einflusses auf das Gesamtüberleben.

In der dreiarmligen Studie TAX 327 mit 1006 Patienten bekam die erste Gruppe Docetaxel in der Dosierung 75 mg/m² Körperoberfläche im dreiwöchigen Schema, geplant über zehn Zyklen. Die zweite Gruppe erhielt Docetaxel 30 mg/m² Körperoberfläche im wöchentlichen Rhythmus.

Die dritte Gruppe erhielt jeweils Mitoxantron 12 mg/m² Körperoberfläche im dreiwöchigen Schema (Tannock et al., 2004). Jede Gruppe bekam zweimal täglich 5 mg Prednisolon. Den Patienten in den Docetaxelgruppen wurde zusätzlich Dexamethason zur besseren Verträglichkeit verabreicht. In dieser Studie wurden neben dem primären Endpunkt Gesamtüberleben als sekundäre Endpunkte PSA-Ansprechen, objektive Tumorremission, Schmerzreduktion und Lebensqualität im Fragebogen FACT-P untersucht. In der Auswertung manifestierte sich ein signifikanter Überlebensvorteil für den dreiwöchigen Docetaxel-Arm gegenüber dem Mitoxantron-Arm der Studie mit einem Median von 18,9 vs. 16,5 Monaten. Das einwöchige Schema wies keinen signifikanten Unterschied zum Mitoxantron-Schema auf (Tannock et al., 2004). Auch in den sekundären Endpunkten, wie beispielsweise der PSA-Reduktion, Schmerzreduktion und der Lebensqualität, zeigte sich Docetaxel im dreiwöchigen Schema den anderen Behandlungsstrategien signifikant überlegen (Tannock et al., 2004). Die Patienten im Mitoxantron-Arm, denen nach einem Progress Docetaxel als Sekundärtherapie verabreicht wurde, zeigten ein sehr gutes Ansprechen auf Docetaxel. Dieser Effekt verringerte den Unterschied der Studienarme bezogen auf das Gesamtüberleben und lässt vermuten, dass die Wirkung von Docetaxel möglicherweise in dieser Studie unterschätzt wurde (Oh et al., 2006).

Die zweite große Phase-III-Zulassungsstudie SWOG 9916 zeigte hinsichtlich des günstigen Einflusses auf das mediane Überleben und die palliative Symptommilderung von Docetaxel ähnliche Ergebnisse (Pertylak et al., 2004). In zwei Studienarmen wurden 770 Patienten eingeschlossen. Die erste Gruppe erhielt Docetaxel 60 mg/m² Körperoberfläche im Drei-Wochen-Rhythmus und Estramustinphosphat 280 mg dreimal täglich an den ersten fünf Tagen des Zyklus. Der zweite Arm erhielt Mitoxantron und Prednisolon. Endpunkt dieser Studie war einerseits das mediane Überleben, das bei Docetaxeltherapie mit 17,5 Monaten länger war als 15,6 Monate bei Mitoxantrontherapie. Ein weiterer Endpunkt war das progressionsfreie Überleben, welches mit 6,3 Monaten deutlich über dem progressionsfreien Überleben von 3,2 Monaten bei Mitoxantrontherapie lag (Pertylak et al., 2004). Berthold und Kollegen beschrieben die Überlegenheit des dreiwöchigen Applikationsschemas über das einwöchige Schema und über die Mitoxantrontherapie (Berthold et al., 2008 (b)).

Das mediane Überleben der Patienten, die Docetaxel alle drei Wochen erhielten, lag mit 19,2 Monaten deutlich über dem medianen Überleben derjenigen Patienten, die Docetaxel wöchentlich erhielten (17,8 Monate), und noch deutlicher über dem medianen Überleben bei Mitoxantrontherapie (16,3 Monate). Auch das Drei-Jahres-Überleben wurde in dieser Studie untersucht: Die Überlebensraten in den Gruppen, welche Docetaxel im drei- oder einwöchigen Rhythmus erhalten hatten, lagen mit 18,6% bzw. 16,6% über der Überlebensrate der Gruppe, welche Mitoxantron erhalten hatten (13,5%) (Berthold et al., 2008 (a); Berthold et al., 2008 (b)).

Zu den häufig beobachteten Nebenwirkungen von Docetaxel gehören hämatologische Nebenwirkungen wie Neutropenien, Anämien, Thrombopenien, periphere neurosensorische oder motorische Schädigungen, gastrointestinale Symptome, Alopezie, Ödeme sowie Hautreaktionen und Asthenie. Zur Verminderung von akuten Hypersensitivitätsreaktionen und vermehrter Ödembildung wird prophylaktisch Dexamethason verabreicht. Da Docetaxel zu 90% hepatisch eliminiert wird, ist eine schwere Funktionsstörung der Leber eine wichtige Kontraindikation (Retz und Gschwend, 2009, S. 20).

Da bisher eine uneinheitliche Studienlage besteht ob die Androgendeprivation während einer Chemotherapie fortgeführt werden sollte, sehen sowohl die DGU als auch EAU in den aktuellen Leitlinien von einer Empfehlung ab (DGU, S3-Leitlinie, 2014, S. 180; EAU-Guidelines, Mottet et al., 2015, S. 63). Das Progressionsrisiko nach dem Sistieren der Androgendeprivation sei allerdings als zu hoch einzuschätzen (DGU, S3-Leitlinie, 2014, S. 180). Deshalb sollte die Androgendeprivation nach Möglichkeit aufrechterhalten werden (Retz und Gschwend, 2009, S.5; Börgermann et al., 2009, S.613; Heidenreich et al., 2010). Weitere Studien konnten zeigen, dass eine Kombination von Chemotherapie und Androgendeprivation der Androgendeprivation alleine überlegen ist (Gravis et al., 2013; Sweeney et al., 2015).

1.5. Diagnostische Verlaufsp Parameter beim CRPC

Trotz der erzielten Erfolge durch die Einführung von Docetaxel in der CRPC-Therapie ist diese Therapie eine palliative Behandlungsoption. Sie kann die Symptome lindern, hat aber nur einen eher geringen Effekt auf die mediane Überlebenszeit. Wie oben erläutert wurden unter Docetaxel Remissionsraten von 40% beschrieben (Wolff, 2003). Dies bedeutet jedoch, dass sich bei über der Hälfte der Patienten kein Behandlungserfolg ergibt. In Anbetracht der Therapieansprechraten sowie der potentiellen Nebenwirkungen ist es entscheidend wichtig, so früh und so präzise wie möglich feststellen zu können, ob die Therapie beim einzelnen Patienten wirkt (Nakano et al., 2014). Die bisher angewendeten Standardverfahren zeigen Schwächen (Danila et al., 2011). Im Folgenden wird eine Übersicht über die aktuell verfügbaren Stagingparameter gegeben um darzulegen, warum neue prognostische Marker von eminentem Interesse sind.

1.5.1. Das prostataspezifische Antigen als Tumormarker

Das prostataspezifische Antigen (PSA) wurde Anfang der 70er Jahre erstmals bestimmt und ist seit her der bedeutendste Marker der Urologie geblieben (De Angelis et al., 2000). Der PSA-Wert wird bei der Diagnosestellung in Betracht gezogen. Er ist aber teilweise schwierig zu interpretieren. So zeigen Studien, dass die Höhe des PSA-Werts keine prognostische Bedeutung für das Gesamtüberleben oder progressionsfreie Überleben zeigt. Auch scheint er nicht direkt mit der Tumorlast zu korrelieren (Imbriaco et al., 1998). Hinzu kommt, dass bestimmte Stoffe wie z.B. Finasterid, Vitamin-D oder auch Docetaxel den PSA-Wert beeinflussen können (Dixon et al., 2001; Scher et al., 2008; Kuroda et al., 2009; Heidenreich et al., 2010, EAU-Guidelines, Mottet et al., 2015, S. 91).

Beim metastasierten CRPC zeigen 7,6 - 13,6% der Patienten nach Beginn der Chemotherapie einen massiven PSA-Anstieg, der als Flare-Phänomen bezeichnet wird. Dieser Effekt weist keine Assoziation mit dem Therapieansprechen oder Überleben auf (Nelius und Filleur, 2009). Kennzeichnend für dieses Phänomen ist ein verzögertes PSA-Ansprechen von teilweise sechs bis acht Wochen (Nelius und Filleur, 2009; Berthold et al., 2008 (a)).

Daher wird ein verlängertes Abwarten von bis zu 12 Wochen zwischen den Untersuchungen gefordert (Scher et al., 2008). Andere Laborparameter, die als unspezifische Marker genutzt werden, wie die Laktatdehydrogenase oder die alkalische Phosphatase, geben keine sichere Auskunft über den Therapieerfolg (Huang et al., 2012; de Bono et al., 2008; Olmos et al., 2009).

1.5.2. Skelettszintigraphien zur Bestimmung der Metastasenlast im Knochen

Mehr als 80% der CRPC-Patienten weisen ossäre Metastasen auf (Scher et al., 2005; Ibrahim et al., 2010). Daher ist eine Beurteilung dieser Metastasen im Verlauf der Therapie sehr wichtig und sollte mittels Skelettszintigraphien erfolgen (EAU-Guidelines, Mottet et al., 2015, S.29).

Bei der Skelettszintigraphie wird dem Patienten als Tracersubstanz das Radionuklid ^{99m}Tc-Technetium intravenös appliziert. Dieses ist an ein osteotropes Phosphonat gebunden und wird abhängig von Knochendichte, Durchblutung und osteoblastischer Aktivität an den Knochen adsorbiert. Mit einer Gammakamera kann die Verteilung im Körper dargestellt werden. Die Radionuklid-Anreicherung zeigt nicht den Tumor selbst, sondern eine Stoffwechselsteigerung des infiltrierten Gewebes. Knochenmetastasen des Prostatakarzinoms sind oft inhomogen mit osteoblastischen Anteilen und damit vermehrt stoffwechselaktiv (Ibrahim et al., 2010). Erschwerend für die Interpretation ist, dass eine vermehrte Anreicherung auch Degeneration, Entzündung oder Regeneration nach Trauma darstellen kann (Caldarella et al., 2013).

Um mit Hilfe von Skelettszintigraphien Aussagen über den quantitativen Verlauf der Knochenmetastasen unter Therapie treffen zu können, kann die Anzahl der sichtbaren Knochenmetastasen in den Skelettszintigraphien gezählt und als Zahlenwert verglichen werden. Dabei werden entsprechend der Empfehlungen der Prostate Cancer Clinical Trials Working Group (PCWG2) zwei oder mehr neu aufgetretene Läsionen als Progress gewertet (Scher et al., 2008; EAU-Guidelines, Mottet, et al., 2015, S.90).

Auch bei Skelettszintigraphien ist ein Effekt bekannt, der als Flare-Phänomen bezeichnet wird und den man bei bis zu 30% der Patienten in den ersten acht Wochen der Therapie beobachten kann (Heidenreich et al., 2010). So kann eine stärkere Traceraufnahme in bekannte Knochenmetastasen nach Therapiebeginn durchaus auch ein Hinweis auf ein Therapieansprechen und Heilen der Knochen sein und muss nicht zwangsläufig auf ein Fortschreiten der Erkrankung hindeuten. Ein Abstand von 12 Wochen zwischen den Untersuchungen soll daher nicht unterschritten werden, wenn das Therapieansprechen untersucht werden soll (Scher et al., 2008; Heidenreich et al., 2010).

1.5.3. Computertomographien zur Beurteilung der Metastasenlast in Weichgewebe und Lymphknoten

Mehr als 40% der Patienten haben neben Knochenmetastasen auch Metastasen im Weichgewebe z.B. Lunge oder Leber. Von den 12% der Patienten die nur im Weichgewebe Metastasen aufweisen, haben mehr als 80% Lymphknotenmetastasen (Scher et al., 2005; Heidenreich et al., 2010).

Die nicht ossären Metastasen lassen sich in Computertomographien darstellen, die nach RECIST-Kriterien ausgewertet werden sollen (Heidenreich et al., 2010). RECIST steht für Response Evaluation Criteria in Solid Tumors und wurde als Instrument entwickelt, um die Ergebnisse kategorisieren und vergleichen zu können (Eisenhauer et al., 2009). Die EAU fordert in der Definition des radiologischen Progresses beim CRPC die Klassifikation von Weichgewebemetastasen nach RECIST-Kriterien (EAU-Guidelines, Mottet, et al., 2015, S.90).

Zusammenfassend zeigen die genannten Methoden im Therapiemonitoring des metastasierten CRPC Limitationen, da die bildgebenden und serologischen Methoden die Einschätzung des Therapieansprechens nur mit zeitlicher Verzögerung erlauben und bei einem Teil der Patienten nicht anwendbar sind.

1.6. Zirkulierende Tumorzellen als Marker des Therapieansprechens

Nach der ersten Erwähnung der zirkulierende Tumorzellen (Circulating tumor cells, CTCs) durch Ashworth 1869 wurden mittlerweile mehrere Tausend wissenschaftliche Arbeiten zu diesem Thema publiziert (Ashworth et al., 1869; Thalgott et al., 2014).

Die CTCs werden als hämatogene Mikrometastasierung des Tumors interpretiert. Ab dem Anfang der 1990er Jahre wurden sie intensiv als Marker des Therapieansprechens untersucht. Man geht davon aus, dass die Verbreitung von CTCs vom Tumor über die Blutbahn ein essentieller Schritt in der Entwicklungskaskade zur metastasierten Erkrankung ist (Pantelakou et al., 2009; van der Toom et al., 2016). Im Vergleich zu anderen Tumorerkrankungen kommen CTCs beim metastasierten Prostatakarzinom mit am häufigsten vor (Allard et al., 2004). Moreno et al. konnten 2001 zeigen, dass die Zahl der CTCs beim metastasierten Prostatakarzinom mit dem Krankheitsstatus korreliert (Moreno et al., 2001). Bei Gesunden kommen CTCs praktisch nicht vor (Moreno 2001; Allard et al., 2004; Helo et al., 2009; Thalgott et al., 2013).

1.6.1. Detektion der CTCs mittels der Reversen-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion

Unterschiedliche Ansätze zur Detektion der CTCs wurden entwickelt. Mit Hilfe der Reversen-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion wurden verschiedene, für Prostata oder Tumor spezifische Genexpressionen detektiert (Moreno et al., 1992; Helo et al., 2009). Die unterschiedlichen Forschungsgruppen zeigten zum Teil inhomogene Ergebnisse. Mehrere Reviews kamen zu dem Schluss, dass diese Ergebnisse eine zu hohe Diskrepanz zeigten, um die Reversen-Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion zu diesem Zeitpunkt klinisch einsetzen zu können (Verkaik et al., 1997; de la Taille et al., 1999; Su et al., 2000; van der Toom et al., 2016).

1.6.2. Methoden zur Detektion der CTCs als intakte Zellen

Für die Detektion von intakten CTCs stehen unterschiedliche Methoden zur Verfügung, wie z.B. die Filtration oder die immunomagnetische Anreicherung (Van der Toom et al., 2016). Diese Methoden sind schlecht miteinander vergleichbar. Zurückzuführen ist dies auf unterschiedlichen Aufbereitungs- und Analysemethoden der Proben. Zudem sind teilweise eine Vielzahl von Verarbeitungsschritten erforderlich die zu Fehlerkumulationen führen können. Hinzu kommen Bewertungsunterschiede der auswertenden Personen (Kagan et al., 2002; Allard et al., 2004; Helo et al., 2009).

1.6.3. Detektion der CTCs mit dem CellSearch® System

Das CellSearch® System (CSS) der Firma Veridex, LLC, Janssen Diagnostics (Raritan, New York, USA) ist das erste standardisierte, semi-automatische System zur Detektion von CTCs aus dem peripheren venösen Blut. Es definiert CTCs als Zellen, die EpCAM (Epithelial Cell Adhesion Molecule) exprimieren. Dies ist ein für Karzinome epithelialen Ursprungs typisches epitheliales Zelladhäsionsmolekül (Poczatek et al., 1999; Went et al., 2004; Mukherjee et al., 2009). Außerdem müssen CTCs epitheliale Cytokeratine und das nukleinsäurespezifische 4',6-Diamidin-2-Phenylindol (DAPI) aufweisen. Gleichzeitig darf das leukozytenspezifischen CD45-Epitop (Cluster of Differentiation 45) nicht vorliegen (Kagan et al., 2002; Allard et al., 2004).

Das CellSearch® System wurde von der U.S. Food and Drug Administration (FDA) in den USA zum Therapiemonitoring beim metastasierten Prostata-, Mamma- und Colonkarzinom zugelassen (FDA, 2008). Es hatte in Studien sehr gute Ergebnisse als prognostischer Marker gezeigt (Kagan et al., 2002; Allard et al., 2004; Cristofanilli et al., 2004; Hayes et al., 2006; Riethdorf et al., 2007; Cohen et al., 2008). Swaby und Cristofanilli betonen, dass mit dem CellSearch® System detektierte CTCs beim Mammakarzinom inzwischen ein Werkzeug darstellen, das in Reproduzierbarkeit und Stärke ebenso verlässlich oder sogar noch verlässlicher sei, als die bildgebenden Methoden zum Therapiemonitoring (Swaby und Cristofanilli, 2011). Auch wurde die Reproduzierbarkeit zwischen verschiedenen Anwendern des Systems und verschiedenen Laboratorien nachgewiesen (Allard et al., 2004; Shaffer et al., 2007; Kraan et al., 2011).

Außerdem konnten die Sensitivität auch bei geringen Tumorzellzahlen wie auch die Linearität in In-Vitro-Verdünnungsreihen bewiesen werden (Allard et al., 2004). Die detektierte CTC-Zahl unterliegt dabei keinen tageszeitlichen Schwankungen (Moreno et al., 2001; Allard et al., 2004). Die Zellzahl ist in den speziellen Blutröhrchen, den CellSave Preservative Tubes®, über mindestens 72 Stunden bei Raumtemperatur stabil (Shaffer et al., 2007; Riethdorf et al., 2007).

Bei Patienten im kastrationsrefraktären Tumorstadium werden höhere CTC-Zahlen gefunden, als im hormonsensitiven Tumorstadium (Moreno et al., 2005). Bei 57-69% der CRPC-Patienten lassen sich signifikante CTC-Zahlen nachweisen (Moreno et al., 2005; Danila et al., 2007; Shaffer et al., 2007). Auch bei Metastasierung in die Knochen werden höhere CTC-Zahlen gefunden (Moreno et al., 2005; Goodman et al., 2009). Bei kombinierter Metastasierung in Weichgewebe und Knochen zeigen sich höhere mediane CTC-Zahlen, als bei nicht metastasierter Erkrankung oder alleinigen Weichgewebemetastasen (Danila et al., 2007; Olmos et al., 2009, Thalgott et al., 2013). Der Anteil CTC-positiver Patienten ist umso höher, je mehr Therapielinien sie sich bereits unterzogen haben (Chen et al., 2005; Danila et al., 2007; Helo et al., 2009).

Etabliert hat sich der Schwellenwert (Cut-Off-Wert) von 5 CTCs pro 7,5 ml Blut für die Beurteilung der Prognose (Moreno et al., 2005, Shaffer et al., 2007; de Bono et al., 2008; Helo et al., 2009; Olmos et al., 2009; Okegawa et al., 2009). Beim CRPC konnte gezeigt werden, dass erhöhte CTC-Zahlen vor dem Therapiebeginn prognostisch in Bezug auf das Gesamtüberleben sind, und mit dem radiologisch beurteilten Ansprechen korrelieren können (Goldkorn et al., 2014).

1.7. Hintergrund und Fragestellung

Die Therapie mit Docetaxel ist beim CRPC die Therapie der Wahl, wenn eine Chemotherapie indiziert ist. Allerdings profitieren nicht alle Patienten in Symptomreduktion, Verbesserung der Lebensqualität und Verlängerung des Überlebens von der Therapie. Gerade in diesem fortgeschrittenen Erkrankungsstadium ist es entscheidend, möglichst rasch festzustellen, ob die Erkrankung auf die Therapie anspricht oder weiterhin fortschreitet (Thalgott et al., 2015). Bisher wird das Therapieansprechen mittels Computertomographien und Skelettszintigraphien alle 4-6 Zyklen evaluiert.

Dies bedeutet, dass die erste Evaluation des Therapieerfolges erst mit einer Verzögerung von 3-4 Monaten nach dem Beginn der Therapie erfolgen kann (Heidenreich et al., 2010; Heidenreich et al., 2014). Das prostataspezifische Antigen (PSA) weist in diesem fortgeschrittenen Tumorstadium erst nach einer Latenzzeit von mehreren Monaten prognostische Signifikanz auf, und ist kein verlässlicher Hinweis auf ein Therapieansprechen (Tannock et al., 2004; Thalgott et al., 2015).

Daher wurden zirkulierende Tumorzellen (CTCs), die man als hämatogene Mikrometastasierung des Tumors (Panteleakou et al., 2009) interpretiert, in vielen Studien als vielversprechender Prognosemarker untersucht. Das CellSearch® System der Firma Veridex ist das erste behördlich zugelassene und standardisierte semi-automatische System zur Detektion von CTCs aus dem peripheren venösen Blut. Daher wurde es in dieser Studie für die Bestimmung der CTCs eingesetzt.

Ziel dieser Arbeit ist zu untersuchen, inwieweit sich die mit dem CellSearch® System bestimmten CTCs zum Therapiemonitoring des metastasierten CRPC während einer Chemotherapie mit Docetaxel eignen. Insbesondere wurde die prognostische Wertigkeit der CTCs für das objektive Therapieansprechen, das progressionsfreie Überleben und das zu erwartende Gesamtüberleben beurteilt. Hierfür wurde die Anwendung der CTC-Zahl sowohl als kontinuierliche als auch als kategoriale Variable interpretiert. Für die kategoriale CTC-Auswertung wurde ein Schwellenwert von <5 beziehungsweise ≥ 5 CTCs pro 7,5ml Blut genutzt. Für unsere Studie wurden CTC-Zahlen vor Therapiebeginn und im Verlauf der Therapie gemeinsam mit dem PSA-Wert sowie bildgebenden Untersuchungen bestimmt und hinsichtlich ihrer Assoziation mit dem progressionsfreien und dem Gesamtüberleben verglichen. Besonderes Augenmerk wurde auf die früh erfassten CTC-Zahlen gelegt, die bereits nach der ersten Gabe von Docetaxel bestimmt wurden und somit vor den ersten bildgebenden Untersuchungen wichtige Informationen über den Therapieverlauf liefern könnten.

2. Material und Methoden

2.1. Studiendesign und Endpunkte der Studie

Die Studie wurde prospektiv als einarmige, nicht vergleichende, klinische Studie zur Detektion zirkulierender Tumorzellen mit dem CellSearch®-System (CSS) Firma Veridex, LLC, Janssen Diagnostics (Raritan, New York, USA) im venösen Blut von Patienten mit einem fortgeschrittenen kastrationsrefraktären Prostatakarzinom konzipiert, die eine Erstlinientherapie mit Docetaxel erhielten.

Der genaue Ablauf der Studie wurde in einem Studienprotokoll festgeschrieben, das den ethischen Standards der Deklaration von Helsinki entsprach (World Medical Association (WMA), 2013). Dieses wurde mit dem Prüfplan, der Synopsis, den Patienteninformationen und den Einverständniserklärungen der Ethikkommission der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Prüfung vorgelegt.

Das Studienprotokoll der vorliegenden Doktorarbeit wurde unter dem Titel „Einarmige nicht vergleichende Studie zur Detektion zirkulierender Tumorzellen (CTCs) mit dem CellSearch®-System im venösen Blut von Patienten mit einem fortgeschrittenen hormonrefraktären Prostatakarzinom (HRPC) während der Erstlinientherapie mit Docetaxel als wissenschaftliche Studie zur standardisierten Chemotherapie mit Docetaxel in der Erstlinientherapie des fortgeschrittenen hormonrefraktären Prostatakarzinoms“ am 09.12.2008 von der Ethikkommission unter der Projektnummer 2265/08 bewilligt.

Endpunkte der Studie waren das Gesamtüberleben, das progressionsfreie Überleben und das Therapieansprechen nach radiologischen und klinischen Kriterien in Korrelation mit den CTC-Zahlen und den Laborparametern unter besonderer Berücksichtigung der prognostischen Bedeutung der CTCs.

2.2. Patientenkollektiv und Kriterien der Studienteilnahme

2.2.1. Einschlusskriterien

Für eine mögliche Studienteilnahme kamen zwischen Juni 2008 und Juli 2010 Männer in Frage, die älter als 18 Jahre waren und an einem kastrationsrefraktären Adenokarzinom der Prostata erkrankt waren. Die Patienten wurden dann als kastrationsrefraktär eingestuft, wenn unter einer medikamentösen Androgendeprivation oder nach einer chirurgischen Kastration eine progressive, metastasierende Erkrankung vorlag und eine Erstlinientherapie mit Docetaxel indiziert war. Um für die Studienteilnahme in Frage zu kommen, musste die Lebenserwartung des Patienten mindestens drei Monate betragen und der Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) Performance Status kleiner oder gleich 2 sein. Die hämatologischen, renalen und hepatischen Blutparameter mussten für die Durchführung der Docetaxeltherapie ausreichend sein.

Die Patienten, die den Kriterien der Studienteilnahme entsprachen, wurden vom Prüfarzt anhand von Unterlagen über den genauen Studienablauf, die Folgen und möglichen Nebenwirkungen der Docetaxeltherapie aufgeklärt, und bestätigten ihr Einverständnis zur Teilnahme an der Studie schriftlich.

2.2.2. Ausschlusskriterien

Nicht in die Studie eingeschlossen wurden Patienten, die im Vorfeld eine andere zytotoxische Chemotherapie erhalten hatten, an einer anderen malignen Erkrankung litten oder zerebrale Metastasen aufwiesen. Ebenso wurden Patienten nicht für den Studieneinschluss vorgesehen, die eine hämatologische, hepatische, renale, schwere kardiale oder schwere neurologische Funktionsstörung aufwiesen. Bereits bestehende Kontraindikationen für die Therapie mit Docetaxel oder mit Kortikosteroiden galten ebenfalls als Ausschlusskriterien.

2.3. Chemotherapie und Begleitmedikation

Die Therapie erfolgte mit Taxotere® (Docetaxel), in der üblichen Standarddosierung von 75mg/m² Körperoberfläche, als 60-minütige Infusion, in einem Zyklus von 21 Tagen. Insgesamt war eine Behandlungsdauer von zehn Zyklen vorgesehen. Docetaxel ist durch die European Medicines Agency zur Erstlinientherapie beim kastrationsrefraktären Prostatakarzinom zugelassen. Während der Docetaxeltherapie blieb die Androgendeprivation mit LH-RH-Analoga bestehen. Bei Vorliegen von Knochenmetastasen erhielt der Patient täglich eine orale Gabe von Calciumcarbonat/Vitamin-D und eine intravenöse Therapie mit dem Bisphosphonat (Zometa®) im vierwöchigen Zyklus, wenn keine Gegenanzeigen bestanden. Zur Vermeidung und Verminderung von Nebenwirkungen erhielten die Patienten zu jedem Zyklus der Therapie Dexamethason jeweils 8 mg zur oralen Einnahme am Vorabend, drei Stunden und eine Stunde vor der Docetaxelinfusion, sowie am ersten bis fünften Tag des Zyklus (Retz und Gschwend, 2009, S.20).

2.4. Zeitlicher Ablauf von Chemotherapie und Staginguntersuchungen

2.4.1. Zeitpunkte der CTC-Bestimmungen

Geplant wurden zehn Zyklen (q) der Docetaxeltherapie mit je 21 Tagen. Während der Behandlungszeit erfolgten fünf CTC-Bestimmungen innerhalb eines definierten Zeitraumes (Tabelle 1), deren Zusammenhang wird mit den weiteren Untersuchungen in Abbildung 1 dargestellt.

Tabelle 1: Übersicht der Zeitpunkte der CTC-Bestimmungen

Bezeichnung	Zeitpunkt der CTC-Bestimmung
q0	Vor Beginn der Chemotherapie, im Rahmen der Einschlussuntersuchung
q1	Nach dem ersten Zyklus der Chemotherapie (0-5 Tage vor Zyklus zwei)
q4	Nach dem vierten Zyklus der Chemotherapie (0-5 Tage vor Zyklus fünf)
q10	Nach dem zehnten Zyklus (+/- 7 Tage nach Tag 21 des zehnten Zyklus)
Nachsorge (FU)	Zwei Monate (+/- 7 Tage) nach dem Ende des zehnten Zyklus

q = Zyklus der Docetaxeltherapie, CTC = Zirkulierende Tumorzellen, FU = Follow Up

2.4.2. Untersuchungen, die zu jedem Stagingzeitpunkt erfolgten

Zu den oben genannten Zeitpunkten (Tabelle 1) erfolgten unterschiedliche bildgebende Untersuchungen, die im Folgenden und anhand der Abbildung 1 genauer dargestellt werden. Zudem wurde zu jedem Stagingzeitpunkt ein Anamnesegespräch geführt und klinische Parameter wie Gewicht, Temperatur, Pulsfrequenz und Blutdruck bestimmt. Es wurden jeweils der ECOG Performance Status erhoben (Oken et al., 1982; World Health Organisation (WHO), 1979). Für die Erfassung der Lebensqualität wurde der standardisierte Fragebogen FACT-P (Version 4) erhoben (Cella et al. 1993; Bonomi et al., 1996; Sullivan et al., 2006). Zusätzlich wurde ein Fragebogen zur Erfassung der Schmerzsymptomatik ausgehändigt (Daut et al., 1983; Cleeland und Ryan, 1994; Radbruch et al., 1999). Neben der Bestimmung der CTCs und Laborparametern wurde eine Urinanalyse durchgeführt. Folgende Laborparameter wurden jeweils durch das Institut für klinische Chemie der Technischen Universität München mit Elektrochemilumineszenz-Immunoassay am Analysegerät cobas® e411 der Firma Roche bestimmt: Leukozyten, Erythrozyten, Hämoglobin, Thrombozyten, Differenzialblutbild, Gerinnung, Eiweiß gesamt, Albumin, Lactatdehydrogenase (LDH), Bilirubin gesamt, Aspartat-Aminotransferase (ASAT) und die Alanin-Aminotransferase (ALAT), Gamma-Glutamyltranspeptidase (GOT), alkalische Phosphatase (AP), Natrium, Kalium, Kreatinin, Harnstoff, Harnsäure, Kalzium, und PSA. Dabei wurde die prognostische Bedeutung eines PSA-Abfalls um mindestens 30% hinsichtlich des Gesamtüberlebens untersucht (Petrylak et al., 2006; Armstrong et al., 2010).

2.4.3. Zeitpunkte der bildgebenden Untersuchungen

Vor Beginn der Chemotherapie (q0) erfolgten gemäß dem Studienprotokoll eine diagnostische Computertomographie mit Gabe von intravenösem Kontrastmittel, sowie eine Skelettszintigraphie (Abbildung 1).

Nach dem vierten Zyklus (q4) wurde, wie bei der Docetaxeltherapie üblich, eine erneute diagnostische Computertomographie und eine Skelettszintigraphie zur Verlaufsbeurteilung durchgeführt (Heidenreich et al. 2010).

In der Abschlussuntersuchung nach dem zehnten Zyklus (q10) erhielten die Patienten wiederum eine diagnostische Computertomographie, wenn möglich mit intravenöser Kontrastmittelgabe, und eine Skelettszintigraphie.

Bei den Patienten mit vorzeitigem Abbruch der Therapie erfolgte ein abschließendes Staging bei Therapieende.

Zwei Monate nach Therapieabschluss fand im Rahmen der Nachsorge eine Computertomographie statt (Abbildung 1). Eine Skelettszintigraphie zu diesem Zeitpunkt war nicht im Studienprotokoll vorgesehen, da der empfohlene Abstand von mehr als zwölf Wochen unterschritten worden wäre (Scher et al., 2008; Heidenreich et al., 2010).

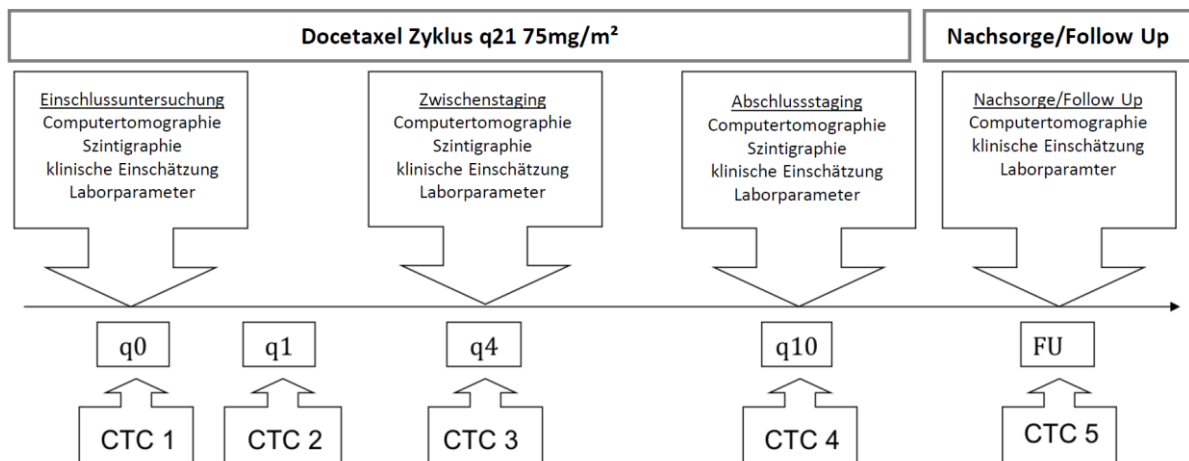


Abbildung 1: Übersicht der Untersuchungen und Entnahmen der zirkulierenden Tumorzellen (CTC), zu den Zyklen der Docetaxeltherapie (q)

2.5. Besonderheiten der Einschlussuntersuchung

Voraussetzung für die Einschlussuntersuchung (q0) waren die vorangegangene Aufklärung und die Einwilligung des Patienten in die Docetaxeltherapie sowie in die Studienteilnahme.

Zunächst wurden das aktuelle Körpergewicht und Gewichtsveränderungen in den letzten Monaten, Körpergröße und ECOG Performance Status dokumentiert.

Zudem wurde der Patient nach Allergien, Begleit- und Vorerkrankungen aller Organsysteme, sowie Operationen und Frakturen, der aktuellen Symptomatik, dem aktuellen Schmerzstatus, nach der Schmerzgeschichte sowie der Begleitmedikation befragt, und die Ergebnisse in der Akte des Patienten schriftlich erfasst.

Bezogen auf das Prostatakarzinom wurde der Zeitpunkt der Erstdiagnose, die Histologie und der Gleason-Score bei Erstdiagnose, vorausgegangene Therapien, wie radikale Prostatektomie, Bestrahlungen oder sekundäre Operationen und der Verlauf der Androgenblockade mit zeitlichem Rahmen erfasst. Genau dokumentiert wurde auch der PSA-Verlauf.

Anschließend wurden die Patienten körperlich untersucht und entsprechend der üblichen Technik, eine periphere Vene punktiert, um Laborparameter und CTCs zu bestimmen (2.4.2 und 2.7). Eine Urinprobe wurde analysiert. Zum Ausschluss kardialer Störungen wurde an der Technischen Universität München oder beim behandelnden niedergelassenen Arzt ein EKG veranlasst. Zur Erfassung der individuellen Lebensqualität wurde dem Patienten der FACT-P Fragebogen (Version 4) sowie ein Fragebogen für die Erfassung von Schmerzen ausgehändigt und erläutert. Die Patienten füllten diesen vor dem Beginn der Chemotherapie selbständig aus.

2.6. Verfahren bei Progress oder klinischer Verschlechterung

Ein Abbruch der Therapie mit Docetaxel lag im Ermessen des behandelnden Studienarztes und erfolgte unter Rücksprache in einer uroonkologischen Konferenz der Urologischen Klinik der Technischen Universität München. Dieser Abbruch konnte auf Wunsch des Patienten, bei nicht akzeptabler Toxizität oder bei einer Progression der Erkrankung in der Bildgebung und/oder einer PSA-Wert-Erhöhung erfolgen. Die Therapieentscheidung wurde unabhängig von den Ergebnissen der CTC-Bestimmung getroffen.

Nach Möglichkeit wurde dann ein Abschlussstaging, entsprechend dem Staging nach dem zehnten Zyklus (q10), mit einer Computertomographie und einer Skelettszintigraphie durchgeführt.

2.7. Detektion der zirkulierenden Tumorzellen

2.7.1. Probenentnahme und Entnahmezeitpunkte

Die CTCs wurden vor Beginn der Chemotherapie mit Docetaxel im Rahmen der Einschlussuntersuchung (q0), nach dem ersten Zyklus (q1), nach dem vierten Zyklus zum Zeitpunkt des Zwischenstagings (q4), nach Beendigung des zehnten Zyklus in der Abschlussuntersuchung (q10) sowie ca. zwei Monate nach dem Ende des zehnten Zyklus (FU) oder bei einem Abbruch der Therapie detektiert (Abbildung 1 und Tabelle 1).

Dazu wurden über die Punktion einer peripheren Vene oder über einen neu gelegten peripheren Venenverweilkatheter 7,5-10 ml Vollblut in ein Vakuum CellSave® Preservative Tube der Firma Veridex, LLC, Janssen Diagnostics (Raritan, New York, USA) entnommen (Abbildung 2). Die Punktionsstelle wurde sorgfältig desinfiziert, um eine Infektion der Punktionsstelle oder eine Kontamination der Probe mit Bakterien der Hautflora zu vermeiden. Um eine Suspension von epithelialen Zellen der Haut in der Probe auszuschließen, wurden einige Milliliter Blut verworfen oder für eine davon unabhängige Laboruntersuchung entnommen, bevor das CellSave® Preservative Tube befüllt wurde. Die CellSave® Preservative Tubes wurden bis zur Verarbeitung im tumorimmunologischen Labor der Frauenklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München maximal 72 Stunden bei Raumtemperatur aufbewahrt. Proben, die sichtbare Blutkoagel enthielten, wurden verworfen. Alle CTC-Zahlen dieser Arbeit beziehen sich, wie in der Literatur üblich, auf ein Volumen von 7,5 ml Blut.

2.7.2. Verarbeitung der Blutproben

Die Bestimmung der CTCs erfolgte mit Hilfe des CellSearch® Systems entsprechend des Verfahrensprotokoll des Herstellers Firma Veridex, LLC, Janssen Diagnostics (Raritan, New York, USA) wie in der Literatur beschrieben (Kagan et al., 2002; Allard et al., 2004). Das dem CellSave® Preservative Tube entnommene Blut wurde in einem konischen 15 ml Röhrchen mit je 6,5 ml Verdünnungspuffer vermischt. Dieser Systempuffer enthielt phosphatgepufferte Salzlösung, EDTA und Proteine um die unspezifische Bindung im System zu reduzieren.

In diesem Röhrchen wurde die Probe bei 800-facher mittlerer Erdbeschleunigung zehn Minuten bei abgeschalteter Bremse zentrifugiert und innerhalb von einer Stunde im CellTracks® AutoPrep® System weiter verarbeitet (Abbildung 2).



Abbildung 2: Links oben: CellTracks® AutoPrep® System, links unten: CellSave® Preservative Tubes, rechts unten: Celltracks Analyzer II® (Firma Veridex, LLC, Janssen Diagnostics, 2015)

Das System bestimmte vollautomatisch die Plasmaschicht der Probe. Diese wurde automatisch abgesaugt und verworfen. Anschließend wurden 6 ml Systempuffer und 100 µl des EpCAM-Antikörper enthaltenden Ferrofluids aus dem CellSearch® Circulating Tumor Cell Kit zugegeben und dies miteinander vermischt. In diesem Ferrofluid suspendiert waren monoklonale, mit magnetischen Nanopartikeln verbundene Antikörper, gegen das in Adenokarzinomen der Prostata exprimierte epitheliale Zelladhäsionsmolekül EpCAM (Poczatek et al., 1999; Went et al., 2004; Mukherjee et al., 2009). Diese Nanopartikel wiederum waren mit Desthiobiotin gekoppelt, einem Biotin-Derivat, das eine kontrollierte Aggregation und Quervernetzung der Partikel ermöglicht, sobald gelöstes Streptavidin zugeführt wird (Kagan et al., 2002; Allard et al., 2004). Streptavidin war in der hier verwendeten Lösung bereits enthalten, so dass sich die magnetischen Nanopartikel der Antikörper quervernetzten und den Kern eines Ferrofluidpartikels bildeten, der auf seiner Außenseite Anti-EpCAM-Antikörper präsentierte.

Die Ferrofluidpartikel bildeten Komplexe zwischen den EpCAM exprimierenden Zellen und stellten so sicher, dass auch diejenigen Zellen ferromagnetisch beladen wurden, die nur eine geringe EpCAM Expression zeigten (Kagan et al., 2002).

Die Probe wurde für 20 Minuten im magnetischen Feld inkubiert. Während diesem Zeitraum separierten sich die ferromagnetisch beladenen Zellen und die ungebundenen Ferrofluidpartikel von der Blutprobe. Letztere wurde automatisch durch das Gerät verworfen. Danach wurden wiederum 3 ml Systempuffer zugeführt, mit den markierten Zellen und den Ferrofluidpartikeln vermennt und weitere zehn Minuten dem Magnetfeld ausgesetzt. Anschließend aspirierte das System wiederum die nicht magnetisch markierten Zellen und die Pufferlösung.

Im nächsten Schritt wurden der Probe 200 µl Immunoperm® der Firma Immunicon Corp. (Huntington Valley, Pennsylvania, USA) und 60 µl der fluoreszenten Markierungsreagenz des CellSearch® Kit zugesetzt und über 15 Minuten im Magnetfeld inkubiert. Immunoperm®, das ein Detergenz enthält, machte die zytoplasmatische Membran der Zellen durchgängig für die Markierungsreagentien. Das Markierungsreagenz enthielt zum einen Anti-Cytokeratin-Antikörper (gekoppelt mit dem rot leuchtenden Phycoerythrin) gegen die Cytokeratine (8,18 und 19). Diese Cytokeratine kommen im Zytoplasma von Zellen epithelialen Ursprungs vor. Außerdem enthielt das Markierungsreagenz eine nukleinsäurespezifische Färbung für DAPI (4',6-Diamidin-2-phenylindol), die im ultravioletten Licht blau erscheint. Zum anderen enthielt das Reagenz Anti-CD45-Antikörper (gekoppelt mit grün fluoreszierendem Allophycocyanin), die spezifisch an die Zelloberfläche von Leukozyten binden (Kagan et al., 2002; Allard et al., 2004).

Nach diesen 15 Minuten der Inkubation wurde die überschüssige Flüssigkeit mit den Markierungsreagentien durch das System abgesaugt und verworfen. Dann wurden 250 µl Cellfix® (Becton Dickinson, San Jose, California, USA) zugeführt. Dieser Puffer enthielt den Zellstabilisator Cyto-Chex® (Streck Laboratories Inc., Omaha, Nebraska, USA) und Biotin, das eine höhere Affinität zu Streptavidin aufweist als Dethiobiotin, und so die Quervernetzung der magnetischen Nanopartikel aufhebt.

Die Probe wurde erneut in Systempuffer suspendiert und durch das CellTracks® AutoPrep® System in eine Kartusche die als CellSpotter® Analysis Chamber bezeichnet wird und die ein Volumen von 320 µl hat, pipettiert. Im MagNest® Cell Presentation Device der Firma Veridex, LLC, Janssen Diagnostics (Raritan, New York, USA) wurde die Kartusche 20 Minuten einem starken Magnetfeld ausgesetzt. Unter dem magnetischen Einfluss wanderten alle markierten Zellen an die durchsichtige Oberfläche der Kartusche.

Die Oberfläche der Kartusche wurde im CellTracks® Analyzer II, einem halbautomatischen Fluoreszenzmikroskop, gescannt (Abbildung 2). Dazu wurden vier verschiedene Filter verwendet, die den Wellenlängen der Fluoreszenzfarbstoffe des Markierungsreagenz entsprechen. Die Bilder der erfassten Zellen oder zellähnlichen Objekte wurden gespeichert und zu einem späteren Zeitpunkt von jeweils zwei geschulten Personen geblindet ausgewertet und als CTCs identifiziert.

Für den Nachweis einer zirkulierenden Tumorzelle war die Bindung von Cytokeratin-Antikörpern im Plasma der Zelle und außerdem eine nukleinsäurespezifische Färbung für DAPI (4',6-Diamidin-2-phenylindol) im Zellkern erforderlich. Gleichzeitig durfte die Zelloberfläche keine leukozytenspezifischen Anti-CD45-Antikörper exprimieren. Weitere Kriterien waren eine runde bis ovale Form der Tumorzellen und ein klar erkennbarer Zellkern (Kagan et al., 2002; Allard et al., 2004).

In Abbildung 3 sind die mit dem CellSearch® System detektierten, intakten und EpCAM exprimierenden CTCs dargestellt. Zur besseren Darstellung wurde die Abbildung gefärbt. Gut erkennbar sind die typischen CTCs mit dem blaugefärbten, runden oder elipsoiden, DAPI markierten Zellkern, der von einer hier grünen, gleichmäßigen CK-Markierung umgeben ist. Im Gegensatz zu dem Leukozyten im unteren Bilddrittel des rechten Bildes, zeigen die CTCs keine leukozytenspezifische rote CD45-Bindung (Coumans et al., 2010).

Um Fehler des Gerätes, der verwendeten Reagenzien oder der Handhabung auszuschließen, wurde das CellSearch® CTC Control Kit eingesetzt.

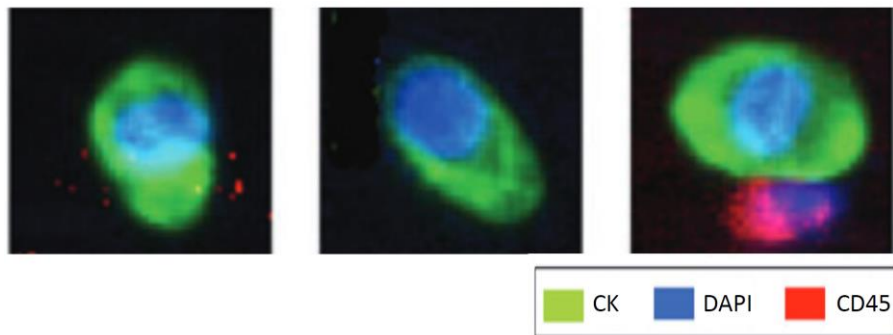


Abbildung 3: Zur besseren Darstellung gefärbte Fluoreszenzmikroskopie-Darstellung von zirkulierenden Tumorzellen. Grün steht für die Anti-Cytokeratin-Antikörper (CK), blau für nukleinsäurespezifische Färbung mit DAPI und rot für das leukozytenspezifische CD45-Epitop. (Ausschnitt aus Coumans et al., 2010, Figure 1, S. 1853)

2.8. Bildgebende Verfahren zur Beurteilung des Therapieansprechens

Als bildgebende Verfahren wurden, wie in der klinischen Routine bei der Docetaxeltherapie üblich, im Rahmen der Basis-Untersuchungen eine Skelettszintigraphie und eine diagnostische Computertomographie von Thorax, Abdomen und Becken durchgeführt (Abbildung 1). Als radiologisch erfasster Progress der Erkrankung oder radiologisch erfasstes Ansprechen galt der Nachweis mittels der unten genannten Methoden.

2.8.1. Skelettszintigraphien

Gemäß der Empfehlungen der AUO erfolgten zur Beurteilung der Knochenmetastasen Skelettszintigraphien in Mindestabständen von 12 Wochen und somit nach dem vierten (q4) und zehnten (q10) Zyklus (Scher et al., 2008; Heidenreich et al., 2010).

Bei der Skelettszintigraphie wurde dem Patienten als Tracersubstanz das Radiopharmakon Technetium-99m-Dicarboxipropan-diphosphonat intravenös appliziert. Dieses wird abhängig von Knochendicke, Durchblutung und osteoblastischer Aktivität an den Knochen adsorbiert. Nach zwei bis drei Stunden wurden mit einer Gammakamera (Forte® oder SKYlight® der Firma Philips) am Institut für Nuklearmedizin der Technischen Universität München eine anteriore und eine posteriore Aufnahme des gesamten Achsenskeletts durchgeführt.

Die Scangeschwindigkeit lag bei 10 Zentimetern pro Minute (Matrix 256x1024, Zoom 1). Die Tracersubstanz wird renal nahezu vollständig ausgeschieden oder verfällt mit einer Halbwertszeit von sechs Stunden (Schicha et al., 2007; Bares, 2011).

Die Anzahl der sichtbaren Knochenmetastasen in den Skelettszintigraphien wurde gezählt und als Zahlenwert verglichen. Dabei wurden neu aufgetretene Läsionen als Progress gewertet (Soloway et al., 1988; Noguchi et al., 2003; Scher et al., 2008). Die gesamte Auswertung erfolgte geblindet hinsichtlich der CTC-Ergebnisse durch einen spezialisierten Facharzt für Nuklearmedizin, der auch die Klassifikation des Progresses vornahm. Einzelne, extern durchgeführte Untersuchungen wurden ausgewertet, wenn diese den Untersuchungen am Klinikum Rechts der Isar der Technischen Universität München entsprachen und im entsprechenden Zeitraum stattgefunden hatten.

2.8.2. Computertomographien und RECIST-Kriterien

Zur Darstellung der Weichgewebemetastasen wurden diagnostische Computertomographien durchgeführt. Die Untersuchungen erfolgten mit einer Schichtdicke von jeweils 5 Millimetern mit dem Computertomograph SOMATOM Sensation Cardiac 64® der Firma Siemens oder dem Computertomograph iCT 256® der Firma Philips. Die Untersuchungen wurden durch einen auf dem Gebiet der urologischen Onkologie erfahrenen Facharzt für Radiologie ausgewertet, der die Ergebnisse der CTC-Bestimmungen nicht kannte. Die Auswertung erfolgte nach den überarbeiteten RECIST-Kriterien, Version 1.1 (Scher et al., 2005; Scher et al., 2008; Eisenhauer et al., 2009; Heidenreich et al., 2010). Dazu wurden bis zu fünf Läsionen ausgewählt und in ihrem größten Durchmesser ausgemessen. Diese Läsionen, die sogenannten Target-Läsionen, standen repräsentativ für den Tumorbefall und sollten bei Messung in der CT mindestens 10 mm groß und möglichst gut messbar sein. Lymphknoten können gemäß der revidierten RECIST-Version 1.1 zwar berücksichtigt werden, aber erst ab einem Durchmesser von 15mm. Gemäß der überarbeiteten RECIST-Version 1.1 wurden auch neu auftretende Läsionen oder sogenannte Non-Target-Läsionen, berücksichtigt, um einen Progress zu zeigen (Eisenhauer et al., 2009).

Die Untersuchungsergebnisse wurden geblindet in eine nicht progressive Erkrankung (Non progressive disease, nonPD) und eine progressive Erkrankung (Progressive disease, PD) kategorisiert.

Wenn in dem untersuchten Patientenkollektiv in einzelnen Fällen Kontraindikationen für eine diagnostische Computertomographie mit Gabe des jodhaltigen Kontrastmittels bestanden, wie beispielsweise bei einer eingeschränkten Nierenfunktion oder vorhergegangenen allergischen Reaktionen, wurde diese durch eine Computertomographie ohne intravenöse Kontrastmittelgabe ersetzt. Die Untersuchung wurde dann in Anlehnung an die RECIST-Kriterien ausgewertet, wenn die Target-Läsionen messbar waren oder wenn neue Metastasen auftraten.

2.9. Klinische Einschätzung der Patienten zur Beurteilung des Therapieansprechens

Das Ansprechen der Patienten auf die Docetaxeltherapie wurde nach dem vierten (q4) und zehnten Zyklus (q10) und in der Nachsorge (FU) durch den Studienarzt klinisch beurteilt und je nach dem Ergebnis dichotomisiert in eine nicht progressive Erkrankung (nonPD) und eine progressive Erkrankung (PD) eingeteilt (Abbildung 1). Grundlage dieser Einschätzung waren der Allgemeinzustand und das Befinden des Patienten, der ECOG Performance Status, die Befunde der Radiologie und Nuklearmedizin, sowie auch der PSA-Wert als Blutmarker. Zusätzlich wurden die Laktatdehydrogenase, als Hinweis auf Zellschädigungen und die alkalische Phosphatase, als Marker des Knochenstoffwechsels interpretiert (Olmos et. al., 2009; Khoury et al., 2010; Gonzales et al., 2011). Im Falle eines nach klinischen Kriterien bestehenden Progresses wurde die Therapie vorzeitig beendet.

2.10. Statistische Auswertung

Es wurde untersucht ob ein statistischer Zusammenhang der CTC-Zahlen mit der Vorhersage des Therapieansprechens (OR), des progressionsfreien Überlebens (Progression-free survival, PFS) und des Gesamtüberlebens (OS) besteht. Methoden der explorativen Datenanalyse wurden verwendet, um die entsprechenden Zusammenhänge zwischen den begutachteten Patientendaten zu identifizieren und herauszuarbeiten. Die Analysen und Tests wurden stets mit zweiseitigen Konfidenzintervallen durchgeführt und verwendeten durchgehend ein Signifikanzniveau von $\alpha = 5\%$.

Die detektierte CTC-Zahl, die Detektionsrate, bezog sich stets auf 7,5ml Blut. Die CTC-Zahlen konnten dabei mit 20% Präzision bestimmt werden.

Die Unterschiede und zeitlichen Änderungen zwischen unterschiedlichen Gruppen wurden stets anhand des Medianwertes der CTC-Zahlen quantifiziert, um den Einfluss von vereinzelt Ausreißern auf den Mittelwert zu minimieren. Zur Vollständigkeit wurde auch der arithmetische Mittelwert sowie der Minimal- und Maximalwert angegeben. In dieser Arbeit wurden die gemessenen CTC-Zahlen auf zwei verschiedene Arten betrachtet: Zum einen als kontinuierliche und zum anderen als kategoriale Variable zur Unterscheidung von zwei oder mehr Ausprägungen.

Der Verlauf der CTC-Zahl, hier interpretiert als kontinuierliche veränderliche Variable, wurde analysiert als Funktion des objektiven Therapieansprechens (Objective Response, OR), also für die beiden Gruppen PD und nonPD, nach entweder radiologischen oder klinischen Kriterien.

Kontinuierliche CTC-Zahlen wurden dabei definiert als die absolut gezählten CTC-Zahlen in Patienten mit PD bzw. nonPD.

Wurde die CTC-Zahl als kategoriale Variable verwendet, wurden zwei CTC-Gruppen/Kategorien verwendet, wobei <5 als prognostisch günstig und ≥ 5 als prognostisch ungünstig gewertet wurde.

Für die Evaluierung des prognostischen Nutzens der CTC-Zahlen für PFS und OS wurden etablierte Methoden der Überlebenszeitanalyse verwendet (Zwiener et al., 2011). Der prognostische Wert der CTC-Zahlen für das Therapieansprechen wurde mit Hilfe von logistischen Regressionen untersucht. Logistische Regressionen stellen einen funktionalen Zusammenhang zwischen der abhängigen binären Variablen „Therapieansprechen“ (PD oder nonPD) und der unabhängigen Variablen „CTC-Zahl“ her. Die sich ergebenden statistischen Zusammenhänge zwischen CTC-Zahlen und Therapieansprechen wurden mit Hilfe des Odds Ratio quantifiziert (Bender et al., 2007). Das PFS wurde berechnet über den Median des Intervalls zwischen der einschließenden CTC-Entnahme und PD im radiologisch definierten Therapieansprechen, oder alternativ durch Tod des Patienten, welcher indirekt als PD interpretiert wurde. Das maximale PFS wurde begrenzt durch die Nachsorgeuntersuchung. Das Gesamtüberleben wurde definiert als das Intervall zwischen der einschließenden CTC-Entnahme und dem Tod der Patienten, oder, im Falle des Überlebens, der letzten durchgeführten Nachsorgeuntersuchung.

Schätzungen des PFS und des Gesamtüberlebens wurden mit Hilfe der Kaplan-Meier Methode errechnet, sowie mit Kaplan-Meier Kurven dargestellt (Kaplan und Meier, 1958). Allgemein diente die Kaplan-Meier Methode dem Schätzen einer Überlebenswahrscheinlichkeit anhand einer gegebenen Stichprobe an Lebensdauerdaten (Zwiener et al., 2011). Unterschiede zwischen zwei Kaplan-Meier Kurven (Behandlung und Kontrolle) wurden mit Hilfe des Logrank-Tests analysiert (Hartung et al., 2009, S. 926).

Der prognostische Wert der CTCs für das PFS und das OS wurde mit Hilfe der Cox-Regression (Cox proportional hazards regression) evaluiert (Cox, 1972; Hartung et al., 2009, S. 940). Unter Hazard wurde dabei die momentane Sterberate für eine Gruppe von Patienten verstanden. Das Hazard Ratio ist das Verhältnis aus den Hazard Raten von zwei Gruppen und diente dem Vergleich der Überlebenszeiten zwischen der Untersuchungsgruppe mit einer Kontrollgruppe, und ist wie ein relatives Risiko zu interpretieren. Die Cox-Regressionmethode versucht dabei das Schätzen des Einflusses einer Variablen auf die Dauer bis zum Eintreten eines Ereignisses bzw. dessen Hazards (Zwiener et al., 2011).

Diese Schätzung wurde ohne Annahme einer zugrundeliegenden Verteilungsfunktion unter Verwendung eines konstanten Baseline-Hazard Ratios durchgeführt, also unter der Annahme, dass die Hazards der beiden Gruppen proportional zueinander sind (Zwiener et al., 2011).

Sensitivität und Spezifität der CTC-Zahlen für die Vorhersage des Therapieansprechens sowie der dazugehörige Vergleich mit anderen etablierten Methoden wurden anhand von Grenzwertoptimierungskurven (Receiver Operating Characteristic, ROC) dargestellt. Die Überlegenheit einer Methode über die andere wurde durch die AUC (Area under the curve) quantifiziert.

Für die statistische Auswertung wurde SPSS Version 21 genutzt (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA).

3. Ergebnisse

3.1. Patientencharakteristik

Die Einschlussuntersuchungen (q0) fanden von Juni 2008 bis Juli 2010 in der Urologischen Klinik und Poliklinik der Technischen Universität München statt. In der Studie ausgewertet wurden 33 von 39 eingeschlossenen Patienten. Die Gründe eines vorzeitigen Ausscheidens aus der Studie wurden in Tabelle 2 zusammengefasst. Insgesamt wurden im Rahmen der Studie 235 Zyklen Docetaxel verabreicht. Die Patienten erhielten drei bis zehn Zyklen (Median: 10 Zyklen; Mittelwert: 8,15 Zyklen) Docetaxel.

Tabelle 2: Gründe eines vorzeitigen Ausscheidens

Gründe eines vorzeitigen Ausscheidens	Patientenzahl
Wunsch des Patienten nach späterem Therapiebeginn	1
Akute Verschlechterung des Gesundheitszustandes	2
Verstorben nach Zyklus 1	2
Massiver klinischer Progress nach Zyklus 2	1

Hinsichtlich des Therapieansprechens konnten 33 Patienten zum ersten Zeitpunkt des Zwischenstagings nach Zyklus 4 (q4), 23 Patienten nach Zyklus 10 (q10) und 18 Patienten in der Nachsorge (FU) beurteilt werden. Fünf Patienten erhielten die Chemotherapie unter enger Rücksprache in der Praxis von zwei niedergelassenen Onkologen. Die zugehörigen Staginguntersuchungen und Zwischenbeurteilungen wurden ebenso wie die notwendigen Blutentnahmen am Klinikum rechts der Isar durchgeführt.

Die Zeitintervalle von den CTC-Entnahmen zu den Zeitpunkten q0, q1, und q4 zum radiologisch erfassten Therapieansprechen im Rahmen des Zwischenstagings (q4) lagen im Median bei 2,9 (2,4-4,7), bei 2,1 (1,7-3,7) und bei 0,0 (0,0-0,4) Monaten. Das Intervall von der Einschlussuntersuchung (q0) bis zur Abschlussuntersuchung (q10) bzw. zur Nachsorgeuntersuchung (FU) betrug im Median 7,2 (4,0-9,0) bzw. 8,9 (5,0-10,9) Monate.

Zum Zeitpunkt der Analyse waren 24 der 33 Patienten (72,7%) verstorben, mit einem medianen Gesamtüberleben (OS) von 10,7 Monaten (95%-KI: 5,8-15,6) und einem medianen progressionsfreien Überleben (PFS) von 8,5 Monaten (95%-KI: 6,6-10,5).

3.1.1. Histologisch bestimmter Gleason-Score

Bei 30 Patienten wurde bei Diagnosestellung der Gleason-Score durch eine Gewebepbiopsie bestimmt (Gleason et al., 1974; Epstein et al., 2005). Bei drei Patienten wurde der Gleason-Score nicht bestimmt. Ein Gleason-Score von ≤ 6 wurde bei vier Patienten (9,1%) bestimmt, bei sieben (21,2%) ein Gleason-Score von 7 und bei 19 Patienten (57,6%) ein Gleason-Score von ≥ 8 (Tabelle 3).

3.1.2. Initiale Therapie nach der Erstdiagnose des Prostatakarzinoms

Von den 33 Patienten, deren Daten in der Studie ausgewertet werden konnten, wurden 13 (29,4%) nach der erstmaligen Diagnose des Prostatakarzinoms primär kurativ behandelt. Bei neun dieser kurativ behandelten Patienten wurde die radikale Prostatektomie gewählt und bei vier eine Strahlentherapie (Radiatio) der Prostata. Bei den anderen 20 Patienten (60,6%) wurde aufgrund der fortgeschrittenen, metastasierten Erkrankung bei der Diagnosestellung, eine primäre palliative Therapiestrategie mit symptomatischer Behandlung und Androgendeprivation gewählt (Tabelle 3). Eine Orchiektomie fand bei zwei Patienten statt. Die am weitesten zurückliegende Erstdiagnose wurde 1995 und die späteste 2009 gestellt. Die Zeitspanne zwischen der Erstdiagnosestellung und der Chemotherapie mit Docetaxel betrug im Median 43 Monate (Range: 6-178).

3.1.3. Metastasierungsmuster bei der Einschlussuntersuchung

Alle Patienten hatten eine anhand der Bildgebung dokumentierte metastasierte Erkrankung. Drei Patienten (9,1%) hatten eine Weichgewebemetastasierung ohne Knochenmetastasen. 91% der Patienten hatten Knochenmetastasen, die Hälfte davon in Kombination mit Weichgewebemetastasen z.B. in Lunge oder Leber. Die meisten Patienten hatten zudem eine Metastasierung in Lymphknoten, die mittels der RECIST-Kriterien nur mit Einschränkung beurteilbar ist (vgl. 2.8.2), und die daher in der Auswertung nicht separat berücksichtigt wurde (Tabelle 3).

3.1.4. ECOG Performance Status der Einschlussuntersuchung

Der ECOG Performance Status (Eastern Cooperative Oncology Group), der bei der Einschlussuntersuchung (q0) als funktionsbezogener Index erhoben wurde lag bei 23 der 33 ausgewerteten Patienten (69,7%) im Bereich der normalen Leistungsfähigkeit mit einem ECOG von 0. Bei jeweils fünf Patienten (15,2%) lag der ECOG im Bereich der minimalen Einschränkung ECOG 1, beziehungsweise im Bereich der starken bis massiven Einschränkung mit einem ECOG von 2 oder mehr (Tabelle 3).

Tabelle 3: Patientencharakteristika 1

		Patientenzahl (n = 33)	Prozent
Primäre Therapiestrategie	Radikale Prostatektomie	9	27,3%
	Strahlentherapie (Radiatio)	4	12,1%
	Palliativ	20	60,6%
Gleason-Score	nicht bestimmt	3	9,1%
	≤6	4	12,1%
	7	7	21,2%
	≥8	19	57,6%
Metastasierungsmuster	keine Metastasen	0	0%
	Weichgewebemetastasen	3	9,1%
	Knochenmetastasen	15	45,5%
	Weichgewebe- und Knochenmetastasen	15	45,5%
ECOG Status	0	23	69,7%
	1	5	15,2%
	≥2	5	15,2%

ECOG Status = Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status, n = Anzahl der Patienten

3.1.5. Laborparameter der Einschlussuntersuchung

Der PSA-Wert der 33 ausgewerteten Patienten lag zum Zeitpunkt der Einschlussuntersuchung im Median bei 140,30 (0,14-3378) ng/ml. Somit zeigten alle Patienten eine PSA-Expression von >0,03 ng/ml.

Der Hämoglobinwert der Patienten lag im Median bei 11,6 (8,5-16,1) g/dl. Nur fünf der 33 Patienten (15,2%) hatten einen Hämoglobinwert im Normbereich 14-18 g/dl. Da einige Patienten wegen sinkender Hämoglobinwerte während des Untersuchungs- und Therapiezeitraumes Transfusionen mit Erythrozytenkonzentraten erhielten, konnte der Hämoglobinwert nur eingeschränkt zur Beurteilung herangezogen werden.

Die alkalische Phosphatase lag im Patientenkollektiv der Studie im Median bei 164 (50-1466) U/l, und damit über dem Normbereich von 40-129 U/l. 21 Patienten (63,6%) hatten erhöhte Werte, die im Rahmen einer ossären Metastasierung interpretiert wurden.

Auch die Laktatdehydrogenase mit einem Median von 320 (218-1900) U/l war bei 28 Patienten (84,8%) höher oder gleich dem oberen Grenzwert von 244 U/l.

Der Kalziumwert lag bei allen 33 Patienten innerhalb des Normbereiches von 2,20-2,65 mmol/l und wurde deshalb in den weiteren Auswertungen nicht mehr berücksichtigt (Tabelle 4).

Tabelle 4: Patientencharakteristika 2

	Patientenzahl n=	Median	Minimum	Maximum	Mittelwert
Alter (Jahre)	33	70	53	82	77
PSA-Wert	33	140	0.1	3378	617
Hämoglobin (g/dl)	33	11,6	8,5	16,1	11,7
alkalische Phosphatase (U/l)	33	164	50	1466	301
LDH (U/l)	33	320	218	1900	461
Albumin (g/dl)	32	4,2	3,2	4,7	4,1
Kalzium (mmol/l)	33	2,26	1,59	2,41	2,21

PSA = Prostata spezifisches Antigen, LDH = Laktatdehydrogenase, n = Anzahl der Patienten

3.2. Detektionsrate der CTCs

Eine grundlegende Fragestellung war die Bestimmung der Detektionsrate von CTCs, d.h. bei wie vielen Patienten mit einem kastrationsrefraktären Prostatakarzinom (CRPC) eine Bestimmung der CTC-Zahl vor Beginn und im Verlauf der Chemotherapie mit Docetaxel möglich ist. Insgesamt wurden dazu in dieser Studie 122 Blutproben untersucht.

Der Nachweis von CTCs erfolgte bei insgesamt 27 von 33 Patienten (81,8%) vor Therapiebeginn (q0), bei 23 von 33 Patienten (69,7%) nach dem ersten Zyklus (q1), bei 20 von 33 Patienten (60,6%) nach dem Zwischenstaging (q4), und bei 12 von 23 Patienten (60,1%) beim Abschlussstaging. Der Anteil von Patienten mit Nachweis von CTCs über dem Schwellenwert von ≥ 5 CTCs war zu jedem der Zeitpunkte geringer (Tabelle 5). Die mediane CTC-Zahl vor Therapiebeginn q0 lag bei 6 CTCs (0-225) und sank dann auf 2 CTCs nach dem ersten q1 und vierten q4 Zyklus und 1 CTC nach dem zehnten q10 Zyklus ab (Tabelle 5).

Tabelle 5: CTC-Zahlen zu verschiedenen Zeitpunkten der Docetaxeltherapie

	Zeitpunkt der CTC-Bestimmung			
	q0	q1	q4	q10
Patientenzahl, n =	33 (100%)	33 (100%)	33 (100%)	23 (100%)
Patienten mit Nachweis von CTCs, n =	27(81,8%)	23(69,7%)	20(60,6%)	12(52,2%)
Patienten mit Nachweis von ≥ 5 CTCs, n =	20 (60,6%)	15 (45,4%)	14 (39,4%)	9 (39,1%)
Mediane CTC-Zahl	6	2	2	1
Minimum - Maximum	0-225	0-85	0-358	0-73

CTC = Zirkulierende Tumorzellen, q = Zyklus der Docetaxeltherapie, n = Anzahl der Patienten

3.3. Prognostischer Wert der kontinuierlichen CTC-Zahl für das objektive Therapieansprechen

Für die Bestimmung des prognostischen Wertes der kontinuierlichen CTC-Zahl für das objektive Therapieansprechen nach vier (q4) oder zehn (q10) Therapiezyklen wurden die CTC-Zahlen in logistischen Regressionsanalysen untersucht. Die Beurteilung des objektiven Therapieansprechens (Objective response, OR) erfolgte nach radiologischen und klinischen Maßstäben. Die Einteilung des OR erfolgte dichotomisiert in Patienten mit progressiver Erkrankung (Progressive disease, PD) und nicht progressiver Erkrankung (Non progressive disease, nonPD). Es fanden sich zum Zeitpunkt q4 signifikant höhere mediane CTC-Zahlen bei Patienten mit PD im Vergleich zu den Patienten mit non-PD. Diese signifikant höheren medianen CTC-Zahlen bei Patienten mit PD waren auch schon zu den Zeitpunkten q0 und q1 darstellbar. Betrachtete man den Verlauf der CTC-Zahlen während der Therapie nach Gruppen getrennt, so fand man sowohl bei den Patienten mit PD als auch bei den Patienten mit nonPD im Median sinkende CTC-Zahlen nach Beginn der Therapie vom Zeitpunkt q0 zum Zeitpunkt q1. Im darauf folgenden Zeitintervall q1 bis q4 waren die Werte in der Gruppe mit nonPD stabil, während sie in der Gruppe mit PD nach q1 wieder anstiegen (Tabelle 6).

Tabelle 6: Kontinuierliche CTC-Zahlen bei der Einschlussuntersuchung (q0), nach dem ersten (q1), vierten (q4) und zehnten (q10) Zyklus, kategorisiert in Bezug auf das objektive Therapieansprechen nach vier (q4) oder zehn (q10) Zyklen Docetaxel

	CTC-Zahlen	Radiologisches Ansprechen				Klinisches Ansprechen			
		q0*	q1*	q4	q10	q0*	q1*	q4	q10
nonPD	Median	5	1	0	0	4.5	1	0	0
	Minimum- Maximum	0-225	0-85	0-115	0-73	0-97	0-38	0-29	0-71
	n =	25	25	25	17	24	24	24	14
PD	Median	24	9.5	32	23	22	11	34	17
	Minimum- Maximum	4-97	1-58	3-358	0-36	4-225	1-85	3-358	0-73
	n =	8	8	8	6	9	9	9	9
Signifikanz, p =		0,04	0,01	<0,001	0,03	0,03	0,004	<0,001	0,03

CTC = Zirkulierende Tumorzellen, PD = progressive disease, nonPD = non progressive disease, q = Zyklus der Docetaxeltherapie, * = CTC in Bezug auf das objektive Ansprechen zum Zeitpunkt q4, n = Anzahl der Patienten, p=Signifikanzwert

In den logistischen Regressionsanalysen zur Untersuchung des Zusammenhangs der kontinuierlichen CTC-Zahlen mit dem OR zeigten die frühen kontinuierlichen CTC-Zahlen (q0, q1), keine signifikante prognostische Bedeutung in Bezug auf das objektive Therapieansprechen zum Zeitpunkt q4. Im Gegensatz dazu waren die CTC-Zahlen zum Zeitpunkt q4 signifikant mit dem objektiven Therapieansprechen in der radiologischen (p = 0,048) und in der klinischen Beurteilung (p = 0,009) assoziiert. Mit Hilfe der kontinuierlichen CTCs war daher erst ab einer Therapiedauer von 12 Wochen eine Einschätzung der Therapieeffizienz möglich (Tabelle 7). Die CTC-Zahlen zum Zeitpunkt q10, nach Abschluss der Therapie, zeigten keine signifikante prognostische Bedeutung.

Tabelle 7: Prognostische Bedeutung der kontinuierlichen CTC-Zahlen bei der Einschlussuntersuchung (q0), nach dem ersten (q1), vierten (q4) und zehnten (q10) Zyklus mit dem objektiven Therapieansprechen (OR) nach dem vierten (q4) und zehnten (q10) Zyklus Docetaxel

Untersuchtes Intervall	Radiologisches Ansprechen			Klinisches Ansprechen		
	Odds Ratio	95%-Konfidenzintervall	p =	Odds Ratio	95%-Konfidenzintervall	p =
CTC q0 mit OR zu q4	1,0	0,99-1,02	0,53	1,0	0,99-1,04	0,17
CTC q1 mit OR zu q4	1,03	0,99-1,07	0,17	1,1	0,99-1,13	0,06
CTC q4 mit OR zu q4	1,04	1,0-1,09	0,048	1,1	1,03-1,26	0,009
CTC q10 mit OR zu q10	1,02	0,98-1,07	0,28	1,1	1,0-1,23	0,052

CTC = Zirkulierende Tumorzellen, q = Zyklus der Docetaxeltherapie, OR = objective response, p = Signifikanzwert

3.4. Prognostischer Wert der kategorialen CTC-Zahlen für das objektive Therapieansprechen

Im Weiteren wurde die prognostische Bedeutung der kategorialen CTC-Zahlen für das objektive Ansprechen überprüft. Hierfür wurden die CTCs in zwei Gruppen anhand des Schwellenwertes von 5 CTCs (<5 vs. ≥5 CTCs) eingeteilt. Dabei zeigten die initialen kategorialen CTC-Zahlen vor dem Therapiebeginn (q0) in logistischen Regressionsanalysen keinen signifikanten Zusammenhang mit dem Therapieansprechen (PD oder nonPD) zum Zeitpunkt q4 (Tabelle 8). Hingegen präsentierten die nach dem ersten Zyklus q1 erhobenen CTC-Zahlen von ≥5 CTCs einen signifikanten Zusammenhang mit dem Nachweis einer PD zum Zwischenstaging q4. Dabei war in Bezug auf den zu q4 radiologisch festgestellten Progress ein Odds Ratio von 14,9 (p = 0,02), und in Bezug auf den klinisch beurteilten Progress ein Odds Ratio von 19,4 (p = 0,01) festzustellen. Bei den zum Zeitpunkt q4 bestimmten CTC-Zahlen manifestierte sich ein noch deutlicherer Zusammenhang mit den klinischen und radiologischen Untersuchungen zum selben Zeitpunkt. Zum Zeitpunkt q10, bestand dieser Zusammenhang nur für den radiologisch beurteilten Progress. Damit scheint die frühe Erfassung der kategorialen CTC-Zahlen, bezogen auf den Schwellenwert von 5 CTCs (< oder ≥), bereits nach dem ersten Therapiezyklus (q1) einen starken Hinweis auf ein objektives Therapieansprechen zu geben. Mit den etablierten Untersuchungsmethoden kann solch eine Aussage erst ca. 2,1 (1,7-3,7) Monate später zum Zeitpunkt q4 erfasst werden (Tabelle 8).

Tabelle 8: Prognostische Bedeutung der kategorialen CTC-Zahlen nach dem ersten (q1), vierten (q4) und zehnten (q10) Zyklus für das objektive Therapieansprechen (OR) nach dem vierten (q4) und zehnten (q10) Zyklus Docetaxel

Untersuchtes Intervall	Radiologisches Ansprechen			Klinisches Ansprechen		
	Odds Ratio	95%-Konfidenzintervall	p =	Odds Ratio	95%-Konfidenzintervall	p =
CTC q0 mit OR zu q4	6,46	0,7-60,5	0,1	8,0	0,86-74,2	0,07
CTC q1 mit OR zu q4	14,9	1,6-142,2	0,02	19,4	2,0-185,7	0,01
CTC q4 mit OR zu q4	18,0	1,9-174,2	0,01	24,0	2,5-233,5	0,006
CTC q10 mit OR zu q10	16,3	1,4-183,1	0,02	5,0	0,82-30,5	0,08

CTC = Zirkulierende Tumorzellen, q = Zyklus der Docetaxeltherapie, OR = objective response, p = Signifikanzwert

3.5. Konkordanz der kategorialen CTC-Zahlen mit dem objektiven Therapieansprechen

In Konkordanzanalysen zeigte sich sowohl das radiologische als auch das klinische Ansprechen zum Zeitpunkt q4 konkordant zu den anhand des Schwellenwertes (<5 vs. ≥5 CTC) eingeteilten kategorialen CTC-Zahlen, die zum Zeitpunkt q1 und q4 bestimmt wurden. Die nach dem ersten Zyklus (q1) bestimmten Werte ergaben eine Konkordanz von 72,7% (Sensitivität 87,5%, Spezifität 68%) mit dem radiologischen Ansprechen, und von 75,8% (Sensitivität 88,9%, Spezifität 70,8%) mit dem klinisch beurteilten Ansprechen. Die zum Zwischenstaging (q4) bestimmten Werte lagen mit 75,8% (Sensitivität 87,5%, Spezifität 72,0%) mit dem radiologischen Ansprechen, und 78,8% (Sensitivität 88,9%, Spezifität 75,0%) beim klinisch beurteilten Ansprechen noch etwas darüber (Tabelle 9).

Tabelle 9: Konkordanzanalysen der kategorialen CTC-Zahlen nach dem ersten (q1), vierten (q4) und zehnten (q10) Zyklus mit dem objektiven Therapieansprechen (OR) nach dem vierten (q4) und zehnten (q10) Zyklus Docetaxel

	CTC-Zahlen	Radiologisches Ansprechen		Klinisches Ansprechen	
		nonPD	PD	nonPD	PD
CTC q1 mit OR zu q4	<5	17	1	17	1
	≥5	8	7	7	8
	Sensitivität %	87,5		88,9	
	Spezifität %	68,0		70,8	
	Konkordanz %	72,7		75,8	
CTC q4 mit OR zu q4	<5	18	1	18	1
	≥5	7	7	6	8
	Sensitivität %	87,5		88,9	
	Spezifität %	72,0		75,0	
	Konkordanz %	75,8		78,8	
CTC q10 mit OR zu q10	<5	13	1	10	4
	≥5	4	5	3	6
	Sensitivität %	83,3		60,0	
	Spezifität %	76,5		76,9	
	Konkordanz %	78,3		69,6	

CTC = Zirkulierende Tumorzellen, PD = progressive disease, nonPD = non progressive disease, q = Zyklus der Docetaxeltherapie, OR = objective response

3.6. Prognostischer Wert der kategorialen und kontinuierlichen CTC-Zahlen in Bezug auf das progressionsfreie Überleben

Ein Hauptaugenmerk der Studie war die Überprüfung der prognostischen Bedeutung der früh bestimmten kategorialen CTCs (<5 vs. ≥5 CTC) und der kontinuierlichen CTCs in Hinblick auf das progressionsfreie Überleben (PFS). Da sich für das PFS sehr ähnliche Werte für das radiologisch und klinisch erfasste Ansprechen ergaben, werden hier die Ergebnisse für das radiologisch erfasste Ansprechen dargestellt. Das geschätzte mediane PFS lag in der untersuchten Gruppe zum Zeitpunkt dieser Analyse bei 10,9 Monaten (95%-KI: 8,31-13,57).

Bei den kategorial betrachteten CTC-Zahlen ergaben sich jeweils signifikant unterschiedliche progressionsfreie Überlebenszeiten in der Kaplan-Meier Überlebensfunktion, zu jedem Untersuchungszeitpunkt nach Beginn der Chemotherapie (Abbildung 4). Dementsprechend fand sich zum Zeitpunkt q1 in der Gruppe mit <5 CTCs nach einem Median von 10,9 Monaten (95%-KI: 5,6-16,3), und in der Gruppe mit ≥5 CTCs bereits nach einem Median von 4,1 Monaten (95%-KI: 1,5-6,7) ein radiologisch erfasster Progress ($p=0,002$). Bei q4 lag das PFS bei den Patienten mit <5 CTCs bei einem Median von 10,9 (95%-KI: 5,5-16,3) und in der Gruppe von ≥5 CTCs bei einem Median von 4,7 (95%-KI: 3,2-6,2) Monaten ($p=0,01$). Entsprechend ergaben die frühen CTC-Zahlen, die unter der Chemotherapie bestimmt wurden, in der Cox-Regressionsanalyse einen starken Zusammenhang mit dem PFS mit einem Hazard Ratio von 4,3 (95%-KI: 1,6-11,8) zum Zeitpunkt q1 und einem Hazard Ratio von 3,2 (95%-KI: 1,2-8,6) zum Zeitpunkt q4 (Tabelle 10).

Die kontinuierliche Betrachtung der CTCs zu den Zeitpunkten q1 und q4 resultierte in der Cox-Regressionsanalyse in einem signifikanten jedoch nur moderaten Zusammenhang mit dem PFS. Die Hazard Ratio war mit 1,02 (95%-KI: 1,0-1,05) zum Zeitpunkt q1 und 1,01 (95%-KI: 1,0-1,02) zu q4 wesentlich niedriger als bei den kategorial betrachteten CTC-Zahlen (Tabelle 10).

Demgegenüber wiesen bei der Einschlussuntersuchung q0 weder die kategorialen noch die kontinuierlichen CTCs einen signifikanten Zusammenhang mit dem PFS auf (Tabelle 10).

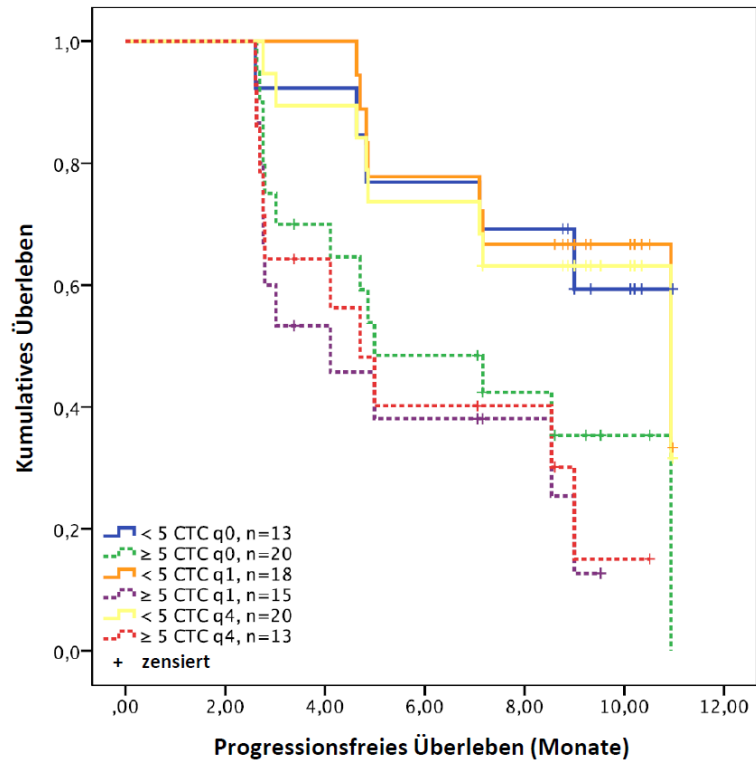


Abbildung 4: Kaplan-Meier Überlebensfunktion für das progressionsfreie Überleben in Bezug auf die kategorialen CTC-Zahlen (<5 vs. ≥5) zur Einschlussuntersuchung (q0), nach dem ersten (q1) und vierten Zyklus (q4)

3.7. Prognostischer Wert der kategorialen und kontinuierlichen CTC-Zahlen in Bezug auf das Gesamtüberleben

Als weiterer Endpunkt der Studie wurde die Assoziation der CTC-Zahlen mit dem Gesamtüberleben evaluiert. Die kategoriale Betrachtung der CTC-Zahlen anhand des Schwellenwertes (<5 vs. ≥ 5 CTC) zeigte zu jedem Untersuchungszeitpunkt, inklusive der Einschlussuntersuchung, signifikante Unterschiede im Gesamtüberleben in der Kaplan-Meier Überlebensfunktion (Abbildung 5). Demnach hatte bei der Messung vor Therapiebeginn (q0) die Patientengruppe mit den niedrigeren CTC-Zahlen (<5 CTC) ein medianes Gesamtüberleben von 24,8 Monaten (95%-KI: nicht definiert), und die Patienten mit ≥ 5 CTCs ein medianes Gesamtüberleben von 9,0 Monaten (95%-KI: 7,7-10,4) ($p = 0,005$). Nach dem ersten Zyklus (q1) lag das mediane Gesamtüberleben der beiden Gruppen bei 22,4 (95%-KI: 20,2-24,6) bzw. 8,5 (95%-KI: 6,6-10,5) ($p = 0,001$) Monaten, zum Zwischenstaging (q4) bei 24,6 (95%-KI: 16,9-32,3) bzw. 8,5 (95%-KI: 7,5-9,6) ($p = 0,001$) Monaten, und nach dem zehnten Zyklus bei 24,6 (95%-KI: 23,3-25,9) bzw. 10,5 (95%-KI: 7,4-13,6) ($p=0,002$) Monaten. Auch in der Cox-Regressionsanalyse ergaben sich signifikante Zusammenhänge der kategorialen CTC-Zahlen mit dem Gesamtüberleben mit einem Hazard Ratio von 3,8 (95%-KI: 1,4-10,3) bei der Einschlussuntersuchung (q0), von 4,5 (95%-KI: 1,9-10,8) nach dem ersten Zyklus (q1), von 5,8 (95%-KI: 2,2-15,1) nach dem vierten Zyklus (q4) und von 5,6 (95%-KI: 1,7-18,4) nach dem zehnten Zyklus (q10) (Tabelle 10).

Im Gegensatz dazu konnten bei den kontinuierlich erfassten CTC-Zahlen bei der Einschlussuntersuchung (q0) in der Cox-Regressionsanalyse kein signifikanter Zusammenhang mit dem OS gezeigt werden (Hazard Ratio 1,01; 95%-KI: 0,99-1,01; $p=0,07$). Bei den Messungen nach dem ersten (q1), vierten (q4) und zehnten (q10) Zyklus zeigte sich ein prognostisch signifikanter Zusammenhang mit einem niedrigen Hazard Ratio von 1,02 (95%-KI: 1,01-1,04) bei q1, von 1,02 (95%-KI: 1,01-1,03) bei q4 und 1,03 (95%-KI: 1,01-1,05) bei q10 (Tabelle 10).

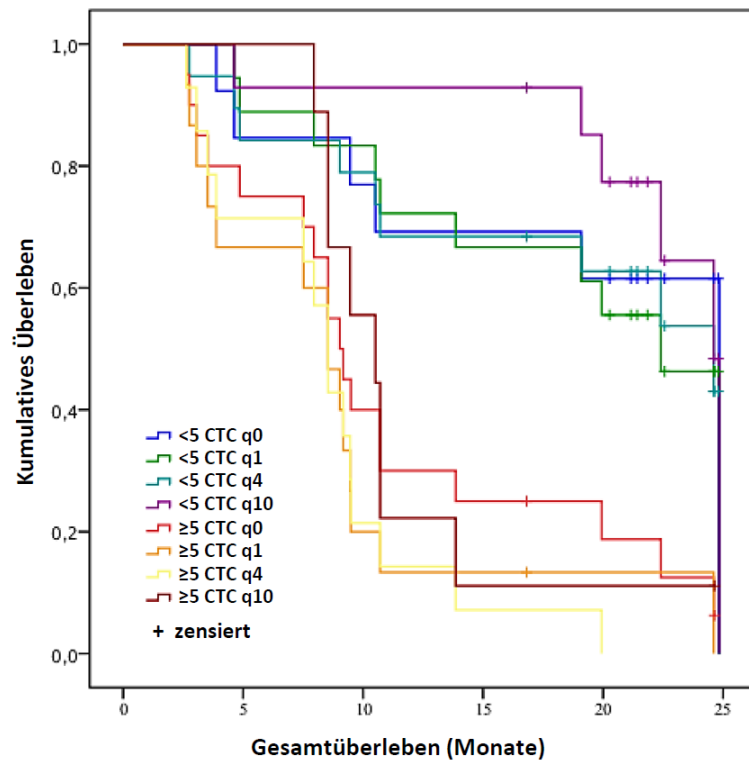


Abbildung 5: Kaplan-Meier Überlebensfunktion für das Gesamtüberleben in Bezug auf die kategorialen CTC-Zahlen (<5 vs. ≥5) bei der Einschlussuntersuchung (q0), nach dem ersten (q1), vierten (q4) und zehnten (q10) Zyklus

Tabelle 10: Ergebnisse der Cox-Regressionsanalysen für das progressionsfreies Überleben und Gesamtüberleben als Funktion kontinuierlicher und kategorialer CTC-Zahlen

			Progressionsfreies Überleben			Gesamtüberleben		
	Zeitpunkt	n =	Hazard Ratio	95%-Konfidenzintervall	p =	Hazard Ratio	95%-Konfidenzintervall	p =
Kontinuierliche CTC	q0	33	1,01	0,99-1,02	0,4	1,01	0,99-1,01	0,07
	q1	33	1,02	1,0-1,05	0,04	1,02	1,01-1,04	0,01
	q4	33	1,01	1,0-1,02	0,004	1,02	1,01-1,03	0,001
	q10	23	1,02	0,99-1,04	0,3	1,03	1,01-1,05	0,004
Kategoriale CTC <5 vs. ≥5	q0	33	2,4	0,9-6,8	0,1	3,8	1,4-10,3	0,009
	q1	33	4,3	1,6-11,8	0,005	4,5	1,9-10,8	0,001
	q4	33	3,2	1,2-8,6	0,02	5,8	2,2-15,1	<0,001
	q10	23	6,7	1,3-33,7	0,02	5,6	1,7-18,4	0,004

CTC = Zirkulierende Tumorzellen, q = Zyklus der Docetaxeltherapie, n = Anzahl der Patienten, p = Signifikanzwert

3.8. Prognostischer Wert des objektiven Ansprechens in Bezug auf das Gesamtüberleben

Um den prognostischen Wert des klinischen oder radiologischen Ansprechens (2.8 und 2.9) in Bezug auf das Gesamtüberleben zu untersuchen, wurden die Patienten zu den Zeitpunkten q4 und q10 in Patienten mit fortschreitender Erkrankung (PD) und nicht fortschreitender Erkrankung (nonPD) eingeteilt. Zu diesen Zeitpunkten (q4 und q10) konnte in Kaplan-Meier Überlebensfunktionen sowohl für das klinisch erfasste, als auch für das radiologisch erfasste OR gezeigt werden, dass das Gesamtüberleben von Patienten mit einem PD und einem nonPD signifikant unterschiedlich war (Abbildung 6, Abbildung 7). So lag das mediane Gesamtüberleben anhand der radiologischen Kriterien für nonPD bei 19,9 (95%-KI 8,9-30,9) und für PD bei 3,9 (95%-KI: 0,0-9,4) Monaten zum Zeitpunkt q4 ($p < 0,001$) und 24,6 (95%-KI: 18,0-31,2) bzw. 10,5 (95%-KI: 8,8-12,3) Monaten zum Zeitpunkt q10 ($p = 0,02$).

Das mediane Gesamtüberleben nach klinischer Einteilung für die Gruppen nonPD vs. PD lag bei 19,9 (95%-KI: 9,1-30,7) vs. 7,5 (95%-KI: 0,0-18,2) Monaten zum Zeitpunkt q4 ($p < 0,001$), und bei 24,6 (95%-KI: 23,4-25,9) bzw. 10,5 (95%-KI: 7,1-13,9) Monaten zum Zeitpunkt q10 ($p = 0,02$).

In Cox-Regressionsanalysen ergaben sich signifikante Zusammenhänge zwischen der Einteilung in die Gruppen nonPD vs. PD und dem Gesamtüberleben. Für die Einteilung anhand der radiologischen Kriterien ergab sich nach dem vierten (q4) und zehnten Zyklus (q10) ein Hazard Ratio von 6,5 (95%-KI: 2,5-17,3) ($p < 0,001$) und von 3,99 (95%-KI: 1,2-13,7) ($p = 0,03$). Für die Einteilung anhand der klinischen Kriterien zeigte sich ein Hazard Ratio von 8,4 (95%-KI: 2,9-24,8) ($p < 0,001$) und 4,5 (95%-KI: 1,3-15,4) ($p = 0,02$).

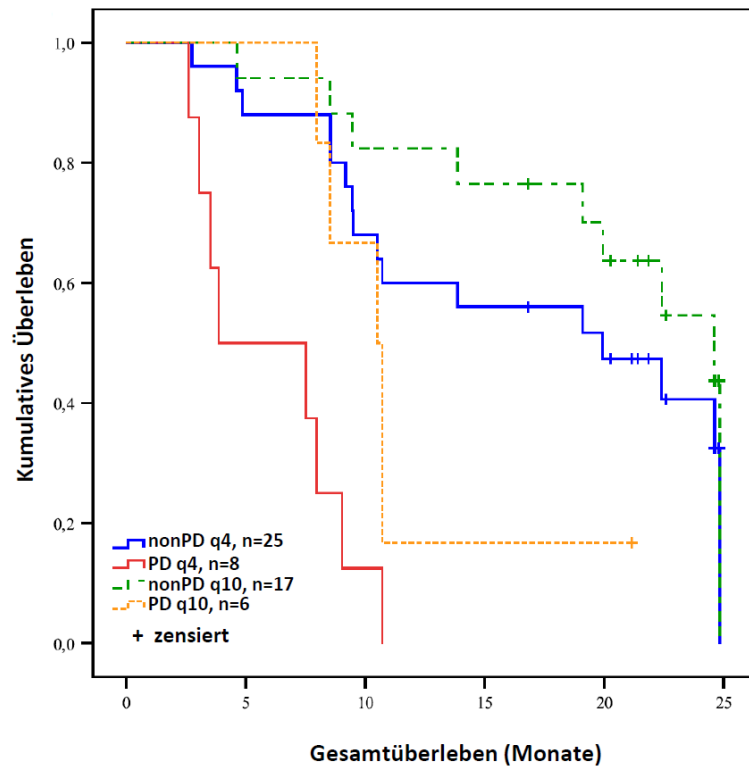


Abbildung 6: Kaplan-Meier Überlebensfunktion für das Gesamtüberleben nach dem vierten (q4) und zehnten (q10) Zyklus eingeteilt in progressive Erkrankung (PD) und nicht progressive Erkrankung (nonPD) anhand *radiologischer* Kriterien

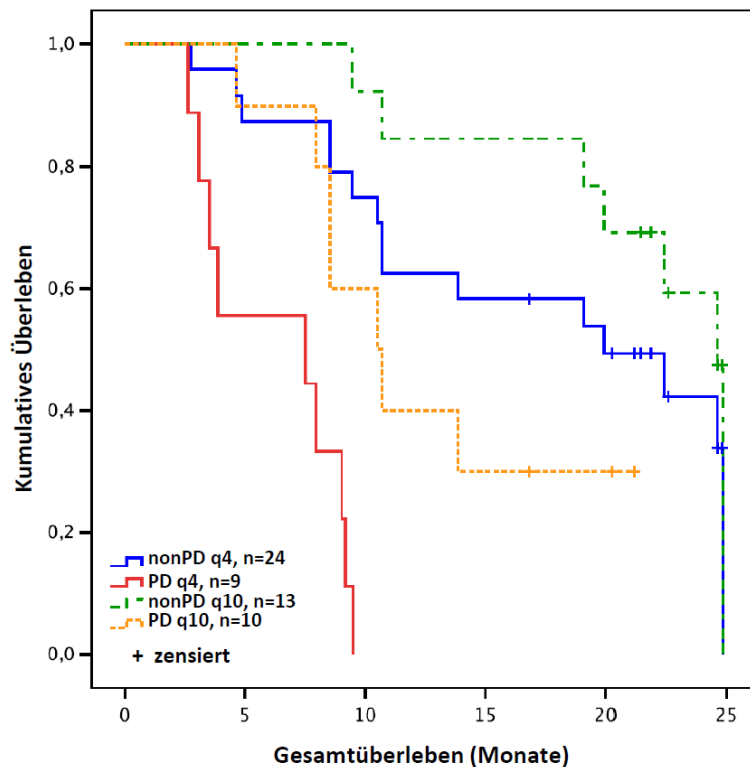


Abbildung 7: Kaplan-Meier Überlebensfunktion für das Gesamtüberleben nach dem vierten (q4) und zehnten (q10) Zyklus eingeteilt in progressive Erkrankung (PD) und nicht progressive Erkrankung (nonPD) anhand *klinischer* Kriterien

3.9. Vergleich des prognostischen Wertes der CTC-Zahlen mit Routinelaborparametern hinsichtlich des progressionsfreien Überlebens und des Gesamtüberlebens

Um speziell die frühe prognostische Wertigkeit der CTCs zu untersuchen wurden die nach dem ersten Zyklus erhobenen (q1) kategorialen und kontinuierlichen CTCs in multivariaten Cox-Regressionsanalysen mit den routinemäßig durchgeführten Laboruntersuchungen und einem PSA-Abfall von $\geq 30\%$ verglichen (Tabelle 11). Kategoriale CTC-Zahlen zum Zeitpunkt q1 konnten dabei als unabhängige, signifikante prognostische Variable für das PFS mit einem Hazard Ratio von 3,9 (95%-KI: 1,1-13,8) ($p = 0,04$) bestätigt werden. Die kontinuierlichen CTC-Zahlen zeigten hingegen mit einem Hazard Ratio von 1,02 (95%-KI: 0,99-1,05) ($p = 0,14$) keinen unabhängigen prognostischen Wert für das PFS.

Betrachtete man die Cox-Regressionsanalysen für das Gesamtüberleben, so zeigten sowohl die kategorialen CTC-Zahlen (Hazard Ratio 4,9; 95%-KI: 1,6-15,7; $p = 0,007$) als auch die kontinuierlichen CTC-Zahlen (Hazard Ratio 1,02; 95%-KI: 1,0-1,04; $p = 0,04$) zum Zeitpunkt q1 einen unabhängigen signifikanten Zusammenhang. Die weiteren Ergebnisse der multivariaten Cox-Regressionsanalysen sind in Tabelle 11 aufgeführt.

Tabelle 11: Ergebnisse der multivariaten Cox-Regressionsanalysen der kontinuierlichen und kategorialen CTC-Zahlen für das progressionsfreie und das Gesamtüberleben in Vergleich mit Laborparametern nach dem ersten Zyklus Docetaxel (q1)

		Progressionsfreies Überleben			Gesamtüberleben		
CTC-Zahlen	Verglichene Parameter	Hazard Ratio	95%-Konfidenzintervall	p =	Hazard Ratio	95%-Konfidenzintervall	p =
Kontinuierliche CTCs	CTC-Zahlen kontinuierlich	1,02	0,99-1,05	0,14	1,02	1,01-1,04	0,04
	PSA-Wert $\geq 30\%$ Abfall	1,8	0,6-5,6	0,3	2,6	0,9-7,78	0,09
	Laktatdehydrogenase \leq vs. $>$ obere Grenze Normalbereich	1,2	0,2-10,2	0,8	0,7	0,1-3,4	0,65
	Alkalische Phosphatase \leq vs. $>$ obere Grenze Normalbereich	3,2	0,95-10,99	0,06	3,4	1,1-10,3	0,03
	Hämoglobin $<$ vs. \geq untere Grenze Normalbereich	2,7	0,3-28,4	0,4	1,7	0,2-17,0	0,63
Kategoriale CTCs	CTC-Zahlen < 5 vs. ≥ 5 CTCs	3,9	1,1-13,8	0,04	4,9	1,6-15,7	0,007
	PSA-Wert $\geq 30\%$ Abfall	1,8	0,6-5,3	0,3	3,0	1,03-8,8	0,04
	Laktatdehydrogenase \leq vs. $>$ obere Grenze Normalbereich	1,5	0,2-11,8	0,7	0,8	0,2-3,9	0,84
	Alkalische Phosphatase \leq vs. $>$ obere Grenze Normalbereich	1,9	0,5-7,4	0,4	2,0	0,6-6,5	0,27
	Hämoglobin $<$ vs. \geq untere Grenze Normalbereich	3,3	0,3-34,3	0,3	2,2	0,2-21,0	0,5

CTC = Zirkulierende Tumorzellen, PSA = Prostata spezifisches Antigen, LDH = Laktatdehydrogenase, p = Signifikanzwert

3.10. Vergleich des prognostischen Wertes der kategorialen CTC-Zahlen und des objektiven Ansprechens hinsichtlich eines Versterbens der Patienten innerhalb von zwölf Monaten

Anhand von Grenzwertoptimierungskurven (Receiver Operating Characteristic, ROC) wurden die frühen CTC-Zahlen nach dem ersten (q1) und vierten (q4) Zyklus mit den anderen Parametern des Therapieansprechens hinsichtlich deren prädiktiven Eignung verglichen, um ein Versterben der Patienten in den nächsten 12 Monaten vorherzusagen (Abbildung 8). Auffallend war dabei, dass der Vorhersagewert der kategorialen CTC-Zahlen nach dem ersten Zyklus (q1) mit einer Fläche unter der Kurve (Area under the curve, AUC) von 79,5% (Sensitivität 72,2%; Spezifität 86,7%) ($p = 0,004$) geeignet erschien, das Versterben voraus zu sagen. Demgegenüber erschien ein Absinken des PSA-Wertes um $\geq 50\%$ zum ersten Zyklus (q1) mit einer erheblich geringeren AUC von 55,0% (Sensitivität 16,7; Spezifität 93,3%) ($p = 0,6$) weniger geeignet und verfehlte die statistische Signifikanz (Abbildung 8).

Nach dem vierten Zyklus (q4) ergaben sich ebenfalls gute Vorhersagewerte für die kategorialen CTCs mit einer AUC von 76,7% (Sensitivität 66,7%; Spezifität 86,7%; $p = 0,009$). Ähnlich gute, wenn auch etwas niedrigere Werte mit einer AUC von 72,2% (Sensitivität 44,4%; Spezifität 100%; $p = 0,03$) ergaben sich für das radiologisch definierte Ansprechen und mit einer AUC von 75,0% (Sensitivität 50,0%; Spezifität 100%; $p = 0,015$) für das klinisch definierte Ansprechen. Auch zu diesem Zeitpunkt (q4) ergab das Absinken des PSA-Wertes um $\geq 50\%$ mit einer AUC von 37,2% (Sensitivität 27,8%; Spezifität 46,7%; $p = 0,2$) keinen signifikanten Zusammenhang mit einem Versterben in den nächsten zwölf Monaten.

Schlussfolgernd kann man feststellen, dass kategoriale CTC-Zahlen (<5 vs. ≥ 5 CTC) sogar eine höhere Sensitivität wie das radiologische oder klinische Ansprechen zeigten. Bemerkenswert ist auch, dass die CTCs diese Aussagekraft bereits nach dem ersten Zyklus besitzen, also 9-12 Wochen bevor das radiologische Ansprechen erstmals erfasst werden kann. Insbesondere scheinen die CTC-Zahlen als prognostischer Marker der Anwendung des PSA-Wertes überlegen zu sein.

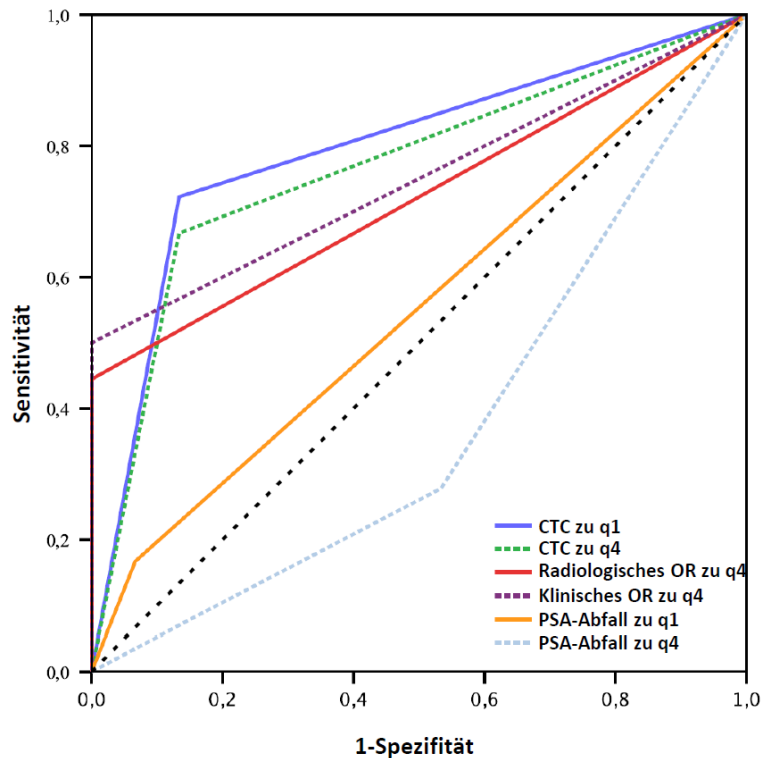


Abbildung 8: Grenzwertoptimierungskurven (Receiver Operating Characteristic, ROC) zur Darstellung der Sensitivität und Spezifität der frühen CTC-Zahlen nach dem ersten (q1) und vierten (q4) Zyklus Docetaxel, dem objektiven Therapieansprechens (OR) nach klinischen und radiologischen Kriterien (q4) und dem Absinken des PSA-Wertes um $\geq 50\%$ (q1, q4) hinsichtlich der Fähigkeit das Versterben der Patienten in den nächsten 12 Monaten vorherzusagen.

3.11. Prognostische Bedeutung einer Kombination der CTC-Zahlen und des radiologischen Ansprechens in Bezug auf das Gesamtüberleben

Um herauszufinden ob eine Kombination der kategorialen CTC-Zahlen mit dem radiologisch erfassten Therapieansprechen (PD oder nonPD) zu einer Erhöhung der prognostischen Bedeutung in Bezug auf das Gesamtüberleben führen würde, wurden die Patienten im Zeitraum q0 bis q4 in drei Gruppen eingeteilt (Budd et al., 2006). Gruppe 1 umfasste die Patienten mit < 5 CTCs und einer nicht progressiven Erkrankung in der Bildgebung (nonPD), Gruppe 2 Patienten mit < 5 CTCs und progressiver Erkrankung (PD) bzw. mit ≥ 5 CTCs und nonPD in der Bildgebung, und Gruppe 3 Patienten mit ≥ 5 CTCs und PD in der Bildgebung.

Hinsichtlich des medianen Gesamtüberlebens in Monaten ergaben sich für die drei Gruppen mit 24,6 (95%-KI: 23,4-25,8), 9,2 (95%-KI: 8,8-9,6) und 3,9 (95%-KI: 3,0-4,8) Monaten deutlich unterschiedliche Werte (Abbildung 9). Paarweise Vergleiche ergaben signifikante Unterschiede bei den Gruppen 1 und 2 ($p = 0,001$), den Gruppen 2 und 3 ($p = 0,02$) und den Gruppen 1 und 3 ($p < 0,001$). Somit scheint die Kombination von CTCs mit radiologischen Kriterien zu einem verbesserten Therapiemanagement zu führen.

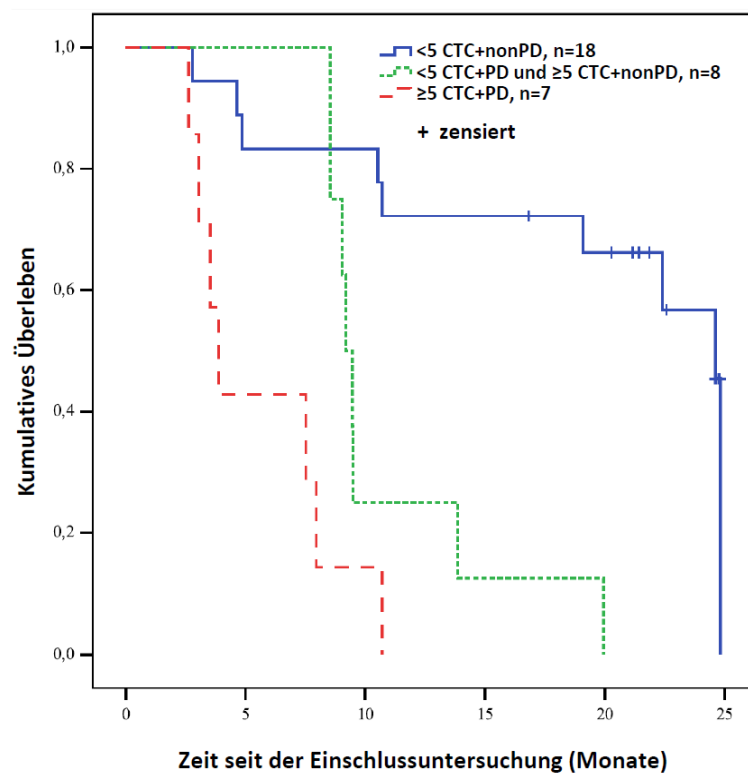


Abbildung 9: Kaplan-Meier Überlebensfunktion für das Gesamtüberleben nach Einteilung der Patienten in drei Gruppen nach einer Kombination von dem in der Bildgebung erfassten Progress der Erkrankung (PD) oder Therapieansprechen (nonPD) und den kategorialen zirkulierenden Tumorzellen (CTCs) bezogen auf den Schwellenwert (<5 vs. ≥5 CTC)

4. Diskussion

4.1. Kritische Betrachtung des Studienaufbaus

In der vorliegenden Arbeit wurden zirkulierende Tumorzellen (CTCs) bei Patienten mit einem kastrationsrefraktären Prostatakarzinom (CRPC) untersucht, die eine dem Standard entsprechende Chemotherapie mit Docetaxel erhielten.

Die vorliegende Studie wurde als prospektive Untersuchung konzipiert und die Endpunkte Therapieansprechen, progressionsfreies Überleben und das zu erwartende Gesamtüberleben von Beginn an definiert. Das Patientenkollektiv war homogen und es wurde eine standardisierte Docetaxeltherapie durchgeführt. Um eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse zu gewährleisten, wurde bei der Konzeption dieser Studie beim Verfahren der CTC-Bestimmung, bei der Auswertung der Bildgebung und bei den weiteren Parametern darauf geachtet, anerkannte und verbreitete Methoden anzuwenden. Ausgewählt wurde das CellSearch® System, das innerhalb der stetig wachsenden Vielzahl an Methoden zur CTC-Detektion das erste standardisierte und semiautomatische Verfahren darstellt, das von der U.S. Food and Drug Administration (FDA) zugelassen wurde (FDA, 2008).

Eine Limitation erfährt die Studie durch die relativ geringe Anzahl der Patienten, wobei zu berücksichtigen ist, dass in diesem Forschungsbereich Studienkohorten dieser Größenordnung gängig sind. Trotz der kleinen Kohorte vermag diese Studie die aktuelle Datenlage und bestehenden Studien zu ergänzen. Im Gegenzug stützen die bisherigen Veröffentlichungen in der Literatur die vorliegende Arbeit in wesentlichen Punkten, wie aus der folgenden vergleichenden Betrachtungen zu entnehmen ist.

4.2. Einordnung des Patientenkollektivs

Vergleicht man das hier untersuchte Patientenkollektiv mit anderen Studien, so wird sichtbar, dass das mediane Gesamtüberleben mit 10,7 Monaten geringer ist als das Überleben in den großen Phase-II-Studien für Docetaxel TAX 327 und SWOG 9916 mit im Median 18,9 beziehungsweise 17,5 Monaten (Tannock et al., 2004; Petrylak et al., 2004). Auch in Studien zum Vorkommen der CTCs bei CRPC-Patienten zeigten sich bei Scher und Kollegen längere mediane Überlebenszeiten von beispielsweise 19 Monaten bei 164 CRPC-Patienten und von 26,4 Monaten bei Olmos und Kollegen bei 119 CRPC-Patienten (Scher et al., 2009; Olmos et al., 2009). Dies mag zum einen an der geringeren Patientenzahl liegen und zum anderen darauf zurückzuführen sein, dass in dieser Studie alle Patienten eingeschlossen wurden, die an der urologischen Klinik und Poliklinik der Technischen Universität München Docetaxel erhielten und Interesse hatten, an der Studie teilzunehmen. Der Anteil an symptomatischen, fortgeschrittenen und ossär metastasierten Erkrankungen war in dem hier untersuchten Patientenkollektiv vergleichsweise hoch. Demzufolge scheint die Auswahl unserer Studienteilnehmer weniger selektiv gewesen zu sein als in den genannten Zulassungsstudien, was auch eine Einschränkung unserer Studie darstellen könnte. Dennoch scheinen aus unserer Sicht die eingeschlossenen Patienten repräsentativ für das Patientenkollektiv in der täglichen Praxis zu sein.

4.3. Kritische Betrachtung der etablierten Untersuchungsmethoden

4.3.1. Skelettszintigraphie für die Beurteilung des Therapieansprechens

Da in der Literatur 80% und im Kollektiv der vorliegenden Studie sogar 91% der CRPC-Patienten Knochenmetastasen aufweisen, ist die Beobachtung dieser Metastasen unter der Therapie entscheidend (Scher et al., 2005; Ibrahim et al., 2010).

In dieser Studie wurde der empfohlene Mindestabstand von 12 Wochen zwischen den Skelettszintigraphien eingehalten (Scher et al., 2008; Heidenreich et al., 2010). Dieser Mindestabstand von vier Zyklen Chemotherapie bedeutet jedoch eine verzögerte Reaktionsgeschwindigkeit, mit entsprechender Inkaufnahme von Nebenwirkungen. Dieses Intervall ist erforderlich um das Therapieansprechen beurteilen zu können und um die Abbildung des Flare-Phänomens zu vermeiden, das bei ca. 30% der Patienten in den ersten acht Wochen auftritt (Scher et al., 2008; Heidenreich et al., 2010). Dieses Flare-Phänomen, mit vermehrtem Tracer-Uptake, kann zu Schwierigkeiten in der Interpretation der Befunde führen und kann einen Pseudoprogress darstellen.

In unserer Studie wurde, wie in der klinischen Routine üblich, die Anzahl der sichtbaren Knochenmetastasen in den Skelettszintigraphien gezählt und im Verlauf verglichen. Dabei wurden neu aufgetretene Läsionen als Progress gewertet (Soloway et al., 1988; Noguchi et al., 2003; Scher et al., 2008). Die Beurteilung des Progresses erfolgte geblindet durch einen spezialisierten Facharzt für Nuklearmedizin. Als Limitation bei der Beurteilung von Skelettszintigraphien muss eine nachweisbar erhöhte Fehlerrate beim Zählen der Metastasen in den Rippen und im dreidimensionalen Becken erwähnt werden (Noguchi et al., 2003).

Als zusätzlich Auswertungsmethode der Skelettszintigraphien wurde der Bone-Scan-Index berechnet. Der Bone-Scan-Index ist eine zeitintensive Art der Auswertung, bei der der metastasierte Anteil jedes einzelnen der über 150 Knochen des Körpers abgeschätzt, mit seinem Gewicht multipliziert und dann als Prozentzahl des gesamten Skelettgewichts angegeben wird (Imbriaco et al., 1998; Sabbatini et al., 1999).

Auf die Auswertung nach dem Bone-Scan-Index wurde in dieser Arbeit verzichtet, nachdem in früheren Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe eine fehlende Korrelation mit den CTCs gezeigt worden war (Thalgott et al., 2013).

Zusammengefasst bleibt die Skelettszintigraphie, durch die geforderten Abstände von drei Monaten und durch die genannten Limitationen bei der Auswertung, nur eingeschränkt nutzbar um ein frühes Therapieansprechen zu untersuchen. Dementsprechend waren die Skelettszintigraphien in dieser Untersuchung lediglich ein Teil der klinischen Beurteilung und wurden nicht als alleinstehender Parameter ausgewertet.

4.3.2. Computertomographie für die Beurteilung des Therapieansprechens

In unserer Studie hatten 9% der Patienten ausschließlich Weichgewebemetastasen. Weiterhin hatten 45,5% der Patienten Weichgewebe- und gleichzeitig Knochenmetastasen. Dies ist vergleichbar mit den in der Literatur beschriebenen 40% bei CRPC-Patienten (Scher et al., 2005; Heidenreich et al., 2010). Die Darstellung der viszeralen Metastasen in Leber und Lunge erfolgte mittels Computertomographien (CT) von Thorax, Abdomen und Becken (Scher et al., 2005; Heidenreich et al., 2010).

Die Verlaufsbeurteilung der Metastasen erfolgte in unserer Studie mit Hilfe der RECIST-Kriterien (Version 1.1) (Eisenhauer et al., 2009). Dieses Vorgehen entspricht den aktuellen Forderungen, dass die RECIST-Kriterien in Studien verwendet werden sollen, um den Verlauf der Weichgewebemetastasen zu beurteilen (Eisenhauer et al., 2009; Scher et al., 2008; Heidenreich et al., 2010). Ebenso definiert die EAU in der aktuellen Guideline den Progress zum CRPC mit Hilfe der RECIST-Kriterien (EAU-Guidelines, Mottet et al., 2015, S.90). Dies bietet vor allem den Vorteil, dass die Ergebnisse unserer Arbeit vergleichbar sind mit der mittlerweile zahlreichen Therapiestudien zum Prostatakarzinom, die diese Methode einsetzen. So konnten beispielsweise Sonpavde und Kollegen in der Auswertung zweier großer Phase-III-Studien beim metastasierten Prostatakarzinom unter Docetaxeltherapie zeigen, dass das Ansprechen nach RECIST-Kriterien mit den Überleben assoziiert ist (Sonpavde et al., 2015).

Diese Ergebnisse werden durch unsere Untersuchung gestützt, die einen signifikanten Einfluss des radiologischen Therapieansprechens auf das Überleben nachweist.

Limitierend für die RECIST-Methode entsprechen beim fortgeschrittenen Prostatakarzinom viele Patienten nicht den ursprünglichen Kriterien, die erforderlich sind, um die Untersuchungen nach RECIST auszuwerten zu können. Scher und Kollegen zeigten dass von 124 Patienten mit einem fortgeschrittenen metastasierten Prostatakarzinom nur 51% der Patienten überhaupt den Kriterien der Auswertung entsprachen (Scher et al. 2005). Die RECIST-Kriterien wurden daher von Eisenhauer und Kollegen 2009 überarbeitet (Version 1.1), so dass zumindest Lymphknotenmetastasen ab einer Größe von 15mm beurteilbar sind und Knochenmetastasen ebenfalls berücksichtigt werden können. Entsprechend der RECIST 1.1 Kriterien werden insgesamt fünf sogenannte Target-Läsionen beobachtet, wobei maximal zwei pro Organ erlaubt sind (Eisenhauer et al., 2009).

Ein weiterer Kritikpunkt an der Messmethode nach RECIST ist auch, dass ausschließlich die Größe der Läsionen berücksichtigt werden kann. Eine in der CT gemessene Veränderung der Gewebedichte oder Gewebedurchblutung, die beispielsweise Hinweis auf eine beginnende Nekrose des Tumorgewebes sein könnte, wird nicht berücksichtigt. Damit geht verfügbare Information ungenutzt verloren (Shanbhogue et al., 2010). Jedoch sind die Veränderungen der Dichte oder Durchblutung des Gewebes schwierig zu interpretieren. So kann eine zunehmende Sklerosierung von Knochenmetastasen unter Therapie einen Progress der Erkrankung vortäuschen (Hayes et al., 2006; Olmos et al., 2009; Goodman et al., 2011). Es gibt außerdem Daten, die zeigen, dass unter einer Chemotherapie, die eher zytostatisch als zytotoxisch wirkt, wie beispielsweise Docetaxel, der therapeutische Effekt unter Anwendung der RECIST-Kriterien unterschätzt werden kann (Shanbhogue et al., 2010).

Der Zusammenhang von CTCs und dem nach RECIST-Kriterien erfassten Therapieansprechen wurde bereits in früheren Studien untersucht (Danila et al., 2010; Goldkorn et al., 2014). Goldkorn und Kollegen konnten zeigen, dass CTC-Werte >5 CTCs bei der Einschlussuntersuchung mit einem schlechteren objektiven Therapieansprechen nach RECIST assoziiert waren (Goldkorn et al., 2014).

In unserer Studie waren die kategorialen CTCs (<5 vs. \geq 5 CTCs) vor Therapiebeginn nicht prognostisch für das objektive Therapieansprechen. Dagegen präsentierten die nach dem ersten Zyklus erhobenen CTC-Zahlen von \geq 5 CTCs einen signifikanten Zusammenhang mit dem Nachweis einer PD in der ca. 2,1 (1,7-3,7) Monate später durchgeführten Bildgebung.

Die kontinuierlich erhobenen CTC-Zahlen zeigten zu diesem frühen Zeitpunkt noch keine signifikante prognostische Bedeutung in Bezug auf das objektive Therapieansprechen. Mit Hilfe der kontinuierlichen CTCs war erst ab einer Therapiedauer von 12 Wochen eine Einschätzung des Therapieansprechens möglich.

Zusätzlich konnten wir zeigen, dass das radiologische Ansprechen, im Vergleich zu den kategorialen CTC-Werten, eine etwas niedrigere Sensitivität für die Prädiktion des Versterbens in den nächsten 12 Monaten aufwies. Hinzu kommt eine Verzögerung von circa 9 Wochen bis das radiologische Therapieansprechen erhoben werden kann, während die CTC-Werte bereits nach dem ersten Zyklus der Chemotherapie prädiktiv waren. In weiterführenden Studien unserer Arbeitsgruppe konnte bei der Einteilung der Patienten in Gruppen anhand einer Kombination von radiologisch evaluiertem Ansprechen und kategorischen CTC-Zahlen eine sehr gute Risikostratifizierung für das Überleben erzielt werden (Thalgott et al., 2014). Dieser Ansatz ist vergleichbar mit Ergebnissen von Budd und Kollegen für Patientinnen mit einem Mammakarzinom (Budd et al., 2006).

Damit dürfte die frühe Erfassung der kategorialen CTC-Zahlen, bezogen auf den Schwellenwert von 5 CTCs (< oder \geq), bereits nach dem ersten Therapiezyklus (q1) einen starken Hinweis auf ein objektives Therapieansprechen sowie das Überleben geben. Derzeit scheint die Kombination von CTCs mit radiologischen Kriterien ein optimierter Ansatz für die Beurteilung des Therapieansprechens zu sein.

4.3.3. Das prostataspezifische Antigen für die Beurteilung des Therapieansprechens

Bei allen Patienten dieser Studie konnte das prostataspezifische Antigen (PSA) mit Werten von $>0,03$ ng/ml nachgewiesen werden, der Median lag bei der Einschlussuntersuchung bei 140,30 ng/ml (0,1-3378). Allerdings scheint die Höhe des PSA-Wertes vor Therapiebeginn keinen direkten Zusammenhang mit dem Gesamtüberleben oder dem progressionsfreien Überleben zu haben, und korreliert nicht direkt mit der Tumorlast (Imbriaco et al., 1998). Zusätzlich wird für den PSA-Wert ein verlängertes Abwarten von bis zu 12 Wochen zwischen den Untersuchungen gefordert, da z.B. infolge eines Flare-Phänomens die Beurteilung des PSA-Verlaufes in der frühen Therapiephase erschwert ist (Scher et al., 2008; Nelius und Filleur, 2009; Berthold et al., 2008 (b)).

Eine weitere Einschränkung ist, dass die Höhe des PSA-Wertes durch bestimmte Stoffe beeinflusst wird (Dixon et al., 2001; Scher et al., 2008; Heidenreich et al., 2010, EAU-Guidelines, Mottet et al., 2015, S.91). Kuroda und Kollegen haben beispielsweise 2009 gezeigt, dass Docetaxel den PSA-Wert und die Expression des Androgenrezeptors herunterregulieren kann (Kuroda et al., 2009). Sie interpretierten dies als Erklärung dafür, dass in klinischen Docetaxel-Studien die PSA-Ansprechrates (45-50%) weit höher liegt, als die messbare objektive Ansprechrates (8-17%) (Kuroda et al., 2009). Gerade in der Therapieplanung bei Patienten mit Knochenmetastasen scheint der PSA-Wert limitiert zu sein (Saad und Pantel, 2012). Konsekutiv empfiehlt die PCWG 2 die PSA-Ansprechrates nicht in klinischen Studien anzuwenden, solange ihre Aussagekraft und der Informationsgewinn nicht bewiesen sind (Bubley et al., 1999).

Die genannten Einschränkungen könnten eine mögliche Rolle dabei spielen, dass in der vorliegenden Untersuchung keine Korrelation eines Absinkens des PSA-Wertes nach dem ersten und vierten Zyklus mit dem Versterben innerhalb von 12 Monaten festgestellt werden konnte. Ebenso zeigte sich in multivariaten Cox-Regressionsanalysen ein PSA-Wert Abfall nicht prognostisch signifikant für das progressionsfreie Überleben. Vergleichbar mit den Resultaten der vorliegenden Untersuchung ist eine Auswertung der SWOG 9916 Studie durch Petrylak und Kollegen (Petrylak et al., 2006).

Dabei zeigte sich ebenfalls keine Reduktion des Sterberisikos um mehr als 50% bei einer PSA-Reduktion um 30% über drei Monate (Petrylak et al., 2006). Ähnliches konnten Armstrong et al. 2010 in einer Auswertung der TAX 327-Ergebnisse verzeichnen. In den Docetaxel-Armen lagen die PSA-Ansprechraten, definiert als Reduktion $\geq 50\%$ über mindestens drei Wochen bei 45% (dreiwöchiges Schema) und 48% (einwöchiges Schema), wobei sich ein signifikant verbessertes Überleben nur im Dreiwochen-Arm zeigte (Tannock et al., 2004). In Studien anderer Arbeitsgruppen konnte allerdings gezeigt werden, dass Patienten mit einem PSA-Abfall von mehr als 50% einen statistisch signifikanten Überlebensvorteil haben (Kelly et al., 1993; Smith et al., 1998; Scher et al., 1996).

Laufend werden neue Methoden überprüft, um den PSA-Wert als validen Marker einsetzen zu können. Die in der Literatur wohl meist diskutierten Methoden sind PSA-Verdoppelungszeiten, Geschwindigkeit der PSA-Veränderung (PSA-Velocity) und molekulare PSA-Formen, wie die Bestimmung von freiem PSA (fPSA) oder von an Chymotrypsin gebundenem tPSA (Pound et al., 1999; Armstrong et al., 2007; Scher et al., 2008). Insgesamt liegt eine Einigung auf einheitliche Kriterien derzeit nicht vor (EAU-Guidelines, Mottet et al., 2015, S. 91).

In Assoziationsstudien konnten Chen et al. und Goodman et al. nachweisen, dass CTC- und PSA-Werte korrelieren (Chen et al., 2005; Goodman et al. 2009). Hingegen konnte in anderen Studien keine Korrelation der CTC-Zahl mit dem PSA-Wert beobachtet werden. Jedoch zeigte sich eine Assoziation mit der PSA-Verdoppelungszeit (Thalgott et al. 2013).

In der hier vorliegenden Untersuchung waren die CTCs dem PSA-Wert in ihrer prognostischen Bedeutung für das Überleben und hinsichtlich eines Versterbens in den nächsten zwölf Monaten überlegen. Dies bestätigt die Ergebnisse von de Bono und Kollegen die zeigen konnten, dass CTCs dem PSA-Wert vor und nach Therapiebeginn in prognostischer Bedeutung hinsichtlich des Gesamtüberlebens zu diversen Zeitpunkt überlegen sind (de Bono et al., 2008). Auch ergänzt dies die Ergebnisse der Arbeitsgruppe um Scher, die zeigen konnten, dass die CTCs und der PSA-Wert vor Therapiebeginn mit dem Versterben korrelieren, im Therapieverlauf aber nur mehr die CTCs diese Aussagekraft besitzen (Scher et al., 2009).

Anhand der aktuellen Literatur schlagen Saad und Pantel eine Kombination von CTCs und der PSA-Veränderung (PSA-Velocity) oder PSA-Verdoppelungszeiten vor (Saad und Pantel, 2012). Solche Parameterkombinationen und der in dieser Arbeit vielversprechende Zusammenhang von bildgebenden Untersuchungen und CTCs beim CRPC sollten in künftigen Studien weiter untersucht werden.

4.3.4. Klinische Evaluation für die Beurteilung des Therapieansprechens

In Anbetracht der Limitationen der bildgebenden und laborchemischen Methoden wurde das klinisch erfasste Ansprechen auf die Eignung als prädiktiver Wert für das Therapieansprechen in dieser Studie untersucht. Wie in früheren Studien wurde die klinische Einschätzung auf Grundlage der RECIST-Berechnung und der Skelettszintigraphien erhoben (Eisenhauer et al., 2009; Scher et al., 2009; Khoury et al., 2010). Diese Einschätzung wurde durch die Beurteilung der Symptome und den ECOG-Performance Status ergänzt. Weiterhin wurden auch die laborchemischen Untersuchungen mit dem PSA-Wert als tumorspezifischen Wert, der Laktatdehydrogenase (LDH) als Hinweis auf Zellschädigungen und der alkalischen Phosphatase als Marker des Knochenstoffwechsels bei der Auswertung hinzu gezogen (Olmos et al., 2009; Khoury et al., 2010; Gonzales et al., 2011). Diese Auswertung erfolgt auch in Anlehnung an die Empfehlung der Arbeitsgemeinschaft Urologische Onkologie in der Deutschen Krebsgesellschaft e.V., die eine Auswertung von Skelettszintigraphien oder anderen bildgebenden Untersuchungen, in Kombination mit dem klinischen Verlauf, sowie mit PSA, LDH und AP empfiehlt (Heidenreich et al., 2010).

Ähnlich wie beim radiologischen Ansprechen ergab sich in unserer Studie eine hochsignifikante Korrelation der klinischen Evaluation mit dem Gesamtüberleben nach dem vierten Zyklus. Allerdings bleibt bei einer multifaktoriellen Einschätzung dieser Art, ohne exakte Festlegung der prozentualen Wertigkeit der einzelnen Faktoren, eine Beeinflussung durch subjektive Störgrößen nicht ganz auszuschließen. Diese könnten mittels standardisierter Modelle minimiert werden und zu einer besseren Vergleichbarkeit mit anderen Studien führen.

Ein anderer Ansatz der Risiko-Stratifizierung anhand einer Kombination von unterschiedlichen Parametern wäre die Armstrong-Risikoklassifikation die hinsichtlich des Gesamtüberlebens bei CRPC-Patienten unter Docetaxel unabhängig prognostisch ist (Nakano et. al., 2014). In dieser Klassifikation wurden viszerale Metastasen, ein Progress in der Skelettszintigraphie, Schmerzen und Anämie kombiniert. Die Ergebnisse dieser Studie lassen vermuten, dass solche einfach anzuwendende Methoden, das Therapieansprechen klinisch einzuschätzen, durchaus wertvolle Informationen bieten können. Die Assoziation der Armstrong-Klassifikation mit den CTCs wurde in dieser Studie nicht untersucht. Für weitere Studien scheint dies allerdings ein interessanter Untersuchungsschwerpunkt zu sein. In Bezug auf die CTCs konnte in unserer Studie gezeigt werden, dass kategoriale CTC-Zahlen eine höhere Sensitivität als das klinische Ansprechen hatten um ein Versterben in den nächsten 12 Monaten vorherzusagen, und dass die CTCs diese Aussagekraft bereits nach dem ersten Zyklus besitzen.

4.4. Kritische Betrachtung des CellSearch® Systems

Ausgehend vom Primärtumor oder von bestehenden Metastasen spielen CTCs im peripheren Blut eine zentrale Rolle bei der weiteren Verbreitung von Tumorgewebe im Körper (Hu et al., 2013). Als vielversprechender Marker wurden sie alleine in den letzten Jahren in über 400 Studien untersucht (Pantel und Alix-Panabières, 2012). Da CTCs auch bei metastasierter Erkrankung im peripheren Blut verhältnismäßig selten sind, und da davon auszugehen ist, dass auf Millionen normaler Blutzellen nur einzelne Tumorzellen kommen, ist die Methode der CTC-Detektion entscheidend (Danila et al., 2011; Pantel und Alix-Panabières, 2012; Hu et al., 2013; Thalgott et al., 2014). Die prognostische Bedeutung von CTC-Zahlen in Bezug auf das Gesamtüberleben gilt mittlerweile als gesichert (de Bono et al., 2008; Olmos et al., 2009; Scher et al., 2009; Danila et al., 2011; Goldkorn et al., 2014).

In dieser Studie wurden die CTCs mit dem CellSearch® System der Firma Veridex bestimmt, welches das erste standardisierte semi-automatische System zur Detektion von CTCs aus dem peripheren venösen Blut ist. Aufgrund der Reproduzierbarkeit, der Sensitivität, der Linearität bei *In-Vitro*-Verdünnungsreihen und der Stabilität in Validierungsversuchen sowie aufgrund der Korrelation mit Erkrankungsstadium, Therapieansprechen und Gesamtüberleben, wurde es von der amerikanischen FDA auch für das CRPC zugelassen. (Kagan et al., 2002; Allard et al., 2004; Shaffer et al., 2007; Riethdorf et al., 2007; Chen et al., 2005; de Bono et al., 2008; Helo et al., 2009; Olmos et al., 2009; Okegawa et al., 2009; Kraan et al., 2011; Thalgott et al., 2013; Goldkorn et al., 2014). Das CellSearch® System gilt mittlerweile als der Goldstandard der Bestimmungsmethoden für die CTC-Detektion und neue Verfahren werden daran gemessen (Danila et al., 2011).

Das zentrale Problem jeder Methode liegt darin, dass eine Tumorzelle als eine Zelle definiert werden muss, die sich von gesunden Zellen unterscheidet. Beim CellSearch® System wurden CTCs als Zellen definiert, die EpCAM und epitheliale Cytokeratine exprimieren, aber gleichzeitig keine leukozytenspezifischen Merkmale (CD45) zeigen (Kagan et al., 2002; Allard et al., 2004). Das entscheidende Selektionsmerkmal stellt EpCAM dar, wie beispielsweise auch bei der Detektion mittels Mikrochip (Nagrath et al., 2007). EpCAM ist ein Zelladhäsionsmolekül von Karzinomen epithelialen Ursprungs wie es das Adenokarzinom der Prostata darstellt (Poczatek et al., 1999; Went et al., 2004; Mukherjee et al., 2009). Dies legt eine mögliche Einschränkung der Methode offen, da eventuelle Tumorzellen, die EpCAM nicht oder nur schwach exprimieren, auch nicht detektiert werden können. So hatten beispielsweise schon Went und Kollegen in der Auswertung von Biopsien gezeigt, dass nur ca. 71% der Patienten mit einem hormonrefraktären Adenokarzinom der Prostata EpCAM in Prostatadrüsenzellen exprimieren (Went et al., 2004). Als eine mögliche Ursache wird postuliert, dass die Zellen des Tumors den epithelialen Marker EpCAM im Verlauf des Fortschreitens der Erkrankung nicht mehr exprimieren. Im Rahmen der sogenannten epithelialen-mesenchymalen Transition (Epithelial-mesenchymal transition, EMT) können sie den Zellverband verlassen und zu in der Blutbahn zirkulierenden Tumorzellen werden.

Bei dieser Mobilisierung wird angenommen, dass die Expression des Zelladhäsionsmoleküls EpCAM herunter reguliert wird (Pantel und Alix-Panabières, 2012; Hu et al., 2013). Möglicherweise exprimieren solche Zellen dann vermehrt mesenchymale Marker. Der reziproke Mechanismus, die mesenchymale-epitheliale Transition (Mesenchymal-epithelial transition), bei dem die Zellen bei der Metastasierung/Absiedelung wieder vermehrt epitheliale Eigenschaften annehmen, wird ebenfalls angenommen (Ibrahim et al., 2010; Armstrong et al., 2011; Hu et al., 2013). Demzufolge konnten Armstrong und Kollegen zeigen, dass >80% der beim CRPC-Patienten detektierten CTCs gleichzeitig epitheliale und mesenchymale Marker exprimierten (Armstrong et al., 2011).

In einer Pilotstudie wurden spezifisch CTCs untersucht, die kein EpCAM exprimieren. Diese EpCAM-negativen CTCs wurden mittels Filtration und Fluoreszenzmarkierung extrahiert, nachdem bereits CTCs mit dem CellSearch®-System bestimmt wurden. Untersucht wurden 27 Patienten mit metastasiertem Lungenkrebs. Sowohl die Anzahl der Patienten mit CTCs als auch die Anzahl der CTCs konnten durch die Bestimmung der EpCAM-negativen CTCs verdoppelt werden. Interessanterweise waren nur die mittels der CellSearch®-Methode bestimmten CTCs mit einem kürzeren Überleben assoziiert (Wit et al., 2015). Eine Überprüfung dieser Ergebnisse an einer größeren Patientengruppe und anderen Tumorentitäten wie dem Prostatakarzinom ist dringend erforderlich. Allerdings verdeutlichen diese Ergebnisse, dass die Definition der CTCs, die mittels der gewählten Detektionsmethode erfolgt, entscheidend ist. Gegebenenfalls könnte durch die Integration weiterer Marker die Detektionsrate der CTCs beim CRPC verbessert werden.

In einer experimentellen Studie von Carvalho und Kollegen wurde sogar das tumorauslösende Potential der mittels EpCAM isolierten CTCs in Frage gestellt. CTCs die aus dem Blut von Patienten mit metastasiertem CRPC isoliert worden waren, wurden immundefizienten Mäusen implantiert. Diese Zellen zeigten eine Expression von EpCAM und Cytokeratin 8. Sie verursachten im Versuch kein Tumorwachstum bei den immunsupprimierten Mäusen (Carvalho et al., 2013).

Es muss daher auch immer hinterfragt werden, ob die mittels der etablierten Methoden isolierten Tumorzellen tatsächlich die Metastasierung des Tumors auslösen, und ob die eigentlich aggressiven Zellen mit Metastasierungspotential tatsächlich detektiert werden konnten (Hu et al., 2013). Insgesamt muss davon ausgegangen werden, dass CTCs genotypisch und phänotypisch eine inhomogene Gruppe darstellen, die sich außerdem während der Therapie verändern kann, sei es durch eine Progression, oder durch die natürliche Selektion der vitalsten Zelllinien (Pantel und Alix-Panabières, 2012).

Diesbezüglich stellt es einen Vorteil der CellSearch®-Methode dar, dass ganze Zellen isoliert werden, die dann für weitere Untersuchungen zur Verfügung stehen könnten und somit weiteren Aufschluss über die Eigenschaften der CTCs geben könnten. Gleichzeitig ist ein Kritikpunkt an der Methode, dass über die DAPI-Markierung nur intakte Zellen ausgewertet werden, und dass Fragmente, die aber den anderen Kriterien (EpCAM-positiv, CK-positiv, CD45-negativ) entsprechen, nicht ausgewertet werden. Coumans und Kollegen konnten aber bereits 2010 zeigen, dass Tumorzellfragmente oder Zellen, die kleiner als 4 µm sind, ebenfalls als prognostisch für das Gesamtüberleben zu werten sind. Sie schlugen eine Berücksichtigung solcher nicht den Kriterien entsprechenden CTCs vor (Coumans et al., 2010).

Trotz der guten Reproduzierbarkeit zwischen verschiedenen Anwendern des Systems (Kraan et al., 2011) wurde bisher kritisiert, dass die abschließende Auswertung und Validierung der Ergebnisse durch die Anwender eine gewisse Störgröße darstellt, und in nicht unerheblichem Maße die Kosten der Methode erhöht. Daher wurde ein automatisierter Auswertungsalgorithmus entwickelt, der bei CRPC-Patienten eine sehr gute Reproduzierbarkeit und Korrelation mit dem Gesamtüberleben zeigte (Ligthart et al., 2011). Neben den genannten Schwachpunkten bei der Detektion der CTCs muss auch die große Anzahl an notwendigen technischen Geräten negativ erwähnt werden, welche zu hohen relativen Anschaffungs- und Untersuchungskosten führt.

In Anbetracht der Literaturergebnisse ist davon auszugehen, dass sich die mit dem CellSearch®-System detektierten CTCs vor allem zum Einsatz bei Patienten mit metastasierter Erkrankung eignen (Thalgott et al., 2013). Vor allem scheinen sie bei Patienten mit ossären oder viszeralen Metastasen geeignet zu sein (Danila et al., 2007; Goodman et al., 2009; Thalgott et al., 2013).

Zusammenfassend ist das CellSearch®-System eine neue viel verwendete Methode, die trotz ihrer guten Ergebnisse auch in ihrer klinischen Einsetzbarkeit weiterhin kritisch hinterfragt und gegebenenfalls weiterentwickelt werden muss, um an die spezifischen Erfordernisse angepasst zu werden. Ein Vorteil der CTCs gegenüber der Belastung der Patienten durch die Strahlendosis bei jeder bildgebenden Untersuchung ist jedoch, dass die Blutentnahme kaum invasiv ist und im Rahmen der Routine-Laborkontrollen durchgeführt werden kann (Heidenreich et al., 2010).

4.5. Klinische Anwendbarkeit der CTCs

In dieser Studie konnten vor dem Therapiebeginn bei 81,8% der Patienten CTCs nachgewiesen werden, was einen größeren Anteil als in anderen Gruppen darstellt. So konnten in früheren Studien bei 57 bis 69% der Patienten mit einem CRPC vor Therapiebeginn signifikante CTC-Zahlen nachgewiesen werden (Moreno et al., 2005; Danila et al., 2007; Shaffer et al., 2007). Die unterschiedlich hohen Detektionsraten, können möglicherweise auf die unter 4.4. genannten Einschränkungen des CellSearch® Systems zurückgeführt werden. Denkbar wäre beispielsweise, dass in anderen Untersuchungen vermehrt CTCs mit verminderter EpCAM-Expression vorlagen oder CTC-Fragmente, die den Detektionskriterien des Systems nicht ausreichend entsprachen. Wie unter 4.2. beschrieben hatten die Patienten dieses Studienkollektivs kürzere Überlebenszeiten als in anderen Studien. Daher lagen möglicherweise weiter fortgeschrittene oder schwerere Erkrankungsformen vor.

So ist belegt, dass im kastrationsrefraktären Tumorstadium höhere CTC-Zahlen gefunden werden als im hormonsensitiven Tumorstadium (Moreno et al., 2005; Thalgott et al., 2013).

Bei Metastasierung in die Knochen werden höhere mediane CTC-Zahlen als bei nicht metastasierter Erkrankung oder alleinigen Weichgewebemetastasen gefunden (Moreno et al., 2005; Goodman et al., 2009). Bei kombinierter Metastasierung in Weichgewebe und Knochen zeigen sich ebenfalls höhere mediane CTC-Werte (Danila et al., 2007; Olmos et al., 2009, Thalgott et al., 2013). Der Anteil CTC-positiver Patienten ist zudem umso höher, je mehr Therapielinien sie sich bereits unterzogen haben (Chen et al., 2005; Danila et al., 2007; Helo et al., 2009).

Die CTC-Zahlen bei der Einschlussuntersuchung lagen in dieser Studie bei 60,6% der Patienten über dem wohl am meisten etablierten Schwellenwert von $< vs. \geq 5$ CTCs (Moreno et al., 2005, Shaffer et al., 2007; de Bono et al., 2008; Helo et al., 2009; Olmos et al., 2009; Okegawa et al., 2009; Coumans et al., 2012; Goldkorn et al., 2014). Dies ist vergleichbar mit den Ergebnissen von beispielsweise Moreno und Kollegen, die beschrieben, dass der Anteil an CRPC-Patienten, die mehr als 5 CTCs aufweisen, bei 69% liegt (Moreno et al., 200). Ähnlich zeigten Shaffer und Kollegen, dass 65% der CRPC-Patienten CTC-Zahlen von 5 aufweisen (Shaffer et al., 2007). Danila und Kollegen untersuchten insgesamt 120 CRPC-Patienten und fanden bei 57% der Patienten CTC-Zahlen, die gleich oder höher als 5 CTCs waren, und nur bei 23% der Patienten CTC-Zahlen, die gleich oder kleiner als 2 CTCs waren (Danila et al., 2007). Das metastasierte Prostatakarzinom weist, verglichen mit anderen metastasierten malignen Erkrankungen, mit 57% den höchsten Anteil an Erkrankten auf, die mehr als 2 CTCs aufweisen (Allard et al., 2004).

4.6. Prognostischer Wert der CTC-Zahlen vor Therapiebeginn

In dem hier untersuchten Patientenkollektiv waren die vor Beginn der Therapie erhobenen kategorialen CTC-Zahlen anhand des Schwellenwertes (<5 vs. ≥ 5 CTC) zu jedem Untersuchungszeitpunkt prognostisch signifikant für das Gesamtüberleben. Dies unterstützt die Ergebnisse anderer Studien, die den prognostischen Wert der CTC-Zahlen vor Beginn der Chemotherapie bezüglich des Gesamtüberlebens beim CRPC bereits darstellen konnten (Moreno et al., 2005; Okegawa et al., 2009; Olmos et al., 2009; Goldkorn et al., 2014). Bei den kontinuierlichen CTCs fanden sich vor Therapiebeginn signifikant höhere mediane CTC-Zahlen bei Patienten mit einer progressiven Erkrankung, allerdings bestand kein signifikanter Zusammenhang mit dem Gesamtüberleben.

Unsere Ergebnisse belegen, dass die kategorialen CTC-Zahlen vor Therapiebeginn nicht signifikant mit dem PFS und dem Therapieansprechen assoziiert waren. Dies ist nicht in Übereinstimmung mit der Schlussfolgerung von Goldkorn und Kollegen, die beschreiben, dass eine erhöhte kategoriale CTC-Zahl bei der Einschlussuntersuchung (≥ 5 CTC) mit einem schlechteren radiologischen oder biochemischen Ansprechen zusammenhängt (Goldkorn et al. 2014).

Somit ist die prognostische Bedeutung der CTCs vor Therapiebeginn hinsichtlich des PFS und des Therapieansprechens nicht schlüssig zu beurteilen und bedarf weiterer Abklärung, wohingegen die Assoziation der kategorialen CTCs mit dem Gesamtüberleben gesichert scheint und durch die Ergebnisse dieser Studie gestützt wird.

Zusammenfassend scheinen Patienten mit einer erhöhten CTC-Zahl trotz nachfolgender Therapie eine ungünstige Prognose aufzuweisen. Ursächlich könnte die fortgeschrittenere Erkrankung mit einer höheren Tumormasse oder ein aggressiverer Tumor mit einer höheren extrinsischen Bioaktivität sein.

4.7. Prognostischer Wert der frühen CTC-Zahlen für das objektive Therapieansprechen

Die Eignung der frühen CTCs als Marker des objektiven radiologischen oder klinischen Therapieansprechens wurde hier bei Patienten mit CRPC untersucht und dabei kategoriale und kontinuierliche CTC-Zahlen ausgewertet. Dabei konnte gezeigt werden, dass kategoriale CTC-Zahlen, bezogen auf einen Schwellenwert von $<$ vs. ≥ 5 CTC, bereits nach dem ersten Zyklus der Chemotherapie prognostisch für das Therapieansprechen sein können. Damit ist eine Einschätzung des Therapieansprechens bereits 9-12 Wochen (1,7-3,7 Monate) vor dem ersten radiologischen Staging möglich. In der klinischen Anwendung könnten somit unnötige Therapien vermieden werden und die Therapiestrategie gegebenenfalls früher verändert werden. Der Zusammenhang der frühen kategorialen CTCs mit dem objektiven Therapieansprechen konnte schon beim metastasierten Mammakarzinom und beim kolorektalen Karzinom gezeigt werden (Cohen et al., 2008; Liu et al., 2009; de Albuquerque et al., 2012). Im Patientenkollektiv dieser Studie waren die kategorialen CTCs nach dem ersten Zyklus sowohl mit dem objektiven radiologischen als auch mit dem klinisch definierten Therapieansprechen nach dem vierten Zyklus, konkordant. Für das klinisch beurteilte Ansprechen war dieser Zusammenhang schon früher gezeigt worden (Khoury et al., 2010; Gonzales et al., 2011; Goldkorn et al., 2014).

Hingegen zeigten die kontinuierlich erhobenen CTC-Zahlen nach dem ersten Zyklus in unserer Untersuchung keinen Zusammenhang mit dem klinisch oder radiologisch erfassten objektiven Therapieansprechen. Allerdings unterschieden sich die medianen CTC-Zahlen der beiden Patientengruppen, mit einerseits erfasstem Therapieansprechen (nonPD) und andererseits erfasstem Progress (PD), zu jedem Untersuchungszeitpunkt signifikant. Die fehlende prognostische Bedeutung der kontinuierlichen CTCs kann möglicherweise durch die individuellen Veränderungen der CTCs während der Therapie erklärt werden. Sowohl in der Gruppe mit PD, als auch mit nonPD, kam es nach dem ersten Docetaxel-Zyklus im Median zu einem Absinken der CTC-Zahlen. In der Gruppe mit progressiver Erkrankung (PD) stiegen nach diesem Absinken die CTCs von q1 bis q4 wieder an.

Daher erscheint im Falle einer kontinuierlichen Betrachtung ein Abstand von 12 Wochen zwischen der Einschlussuntersuchung und den Verlaufsuntersuchungen notwendig zu sein, um das Therapieansprechen darzustellen. Solch ein Zeitabstand von 10-12 Wochen zwischen den CTC-Untersuchungen wurde auch von Coumans und Kollegen vorgeschlagen. Die Gruppe hatte die Veränderung von CTCs bei 185 Patienten mit metastasiertem Prostatakarzinom betrachtet. Dabei wurden kontinuierliche (prozentuale, absolute oder proportionale Reduktion) und kategoriale CTCs unterschieden. Schlussfolgerung war, dass das Therapieziel eine Elimination der CTCs sein sollte, und dass dies bei manchen Patienten trotz Therapieansprechen erst nach 10-12 Wochen der Fall sei (Coumans et al., 2012).

Der Zusammenhang der kontinuierlichen CTC-Zahlen ohne Schwellenwert mit dem Therapieansprechen wurde schon früher untersucht (Khoury et al., 2010; Gonzales et al., 2011). Bei CRPC-Patienten konnte in einer Studie von Khoury und Kollegen gezeigt werden, dass Veränderungen der CTC-Zahl (Ansteigen oder Absinken bzw. logarithmische Veränderungen) nicht mit dem klinischen Therapieansprechen korrelieren (Khoury et al., 2010). Die Arbeitsgruppe von Gonzales konnte wiederum zeigen, dass eine Korrelation der CTC-Veränderungen mit dem klinischen Ansprechen bestand. Jedoch wurde diese Studie in einer gemischten Studienpopulation mit hormonsensitiven und kastrationsrefraktären Prostatakarzinompatienten durchgeführt (Gonzales et al., 2011).

Insgesamt haben sich zum heutigen Zeitpunkt die kategorialen CTCs als prognostischer Wert etabliert, wohingegen der Einsatz der kontinuierlich betrachteten CTC-Werte gewisse Unsicherheiten aufweist und weiter evaluiert werden sollte. Hinzu kommt, dass sich die kategorialen CTC-Werte anhand des Schwellenwertes einfacher klinisch interpretieren lassen.

4.8. Prognostischer Wert der CTC-Zahlen für das progressionsfreie Überleben

In dieser Studie waren die frühen kategorialen CTC-Zahlen (< vs. ≥ 5 CTC) ab dem ersten Zyklus (q1) prognostisch signifikant und als unabhängiger Vorhersagewert aussagekräftig in Bezug auf das progressionsfreie Überleben (PFS). Dies ist in Übereinstimmung mit früheren Studien beim metastasierten Mammakarzinom und beim kolorektalen Karzinom (Hayes et al., 2006; Liu et al., 2009; de Albuquerque et al., 2012).

Außerdem konnten die kontinuierlichen CTCs nach dem ersten Zyklus als ein prognostischer Marker für das PFS dargestellt werden, wenn auch mit einer geringeren Hazard Ratio als die kategorialen CTCs. Zusätzlich waren die kontinuierlich beurteilten CTCs in multivariaten Analysen kein unabhängiger prognostischer Wert.

In Bezug auf die prognostische Einschätzung des PFS scheinen die kontinuierlichen CTCs somit weniger geeignet als die kategorialen CTC-Zahlen mit einem Schwellenwert von <5 vs. ≥ 5 CTCs.

4.9. Prognostischer Wert der CTC-Zahlen für das Gesamtüberleben

Die kategorial ausgewerteten CTC-Zahlen ergaben in dieser Untersuchung einen signifikanten Zusammenhang mit dem Gesamtüberleben zu jedem untersuchten Zeitpunkt. Dabei waren interessanterweise bereits die Werte der Einschlussuntersuchung signifikant für das Gesamtüberleben, wie dies auch von anderen Studien gestützt worden ist (Moreno et al., 2005; Okegawa et al., 2009; Olmos et al., 2009; Goldkorn et al., 2014). Die CTC-Zahlen nach dem ersten Zyklus stellten in dem Kollektiv dieser Studie unabhängige Vorhersageparameter dar. Andere Arbeitsgruppen konnten ebenfalls die Bedeutung kategorialer CTC-Zahlen vor der Therapie und im weiteren Therapieverlauf zeigen (De Bono et al., 2008; Olmos et al., 2009; Okegawa et al., 2009; Goldkorn et al., 2014).

Es wurde in dieser Arbeit außerdem untersucht, inwieweit die CTCs eine prognostische Bedeutung hinsichtlich eines Versterbens innerhalb der nächsten 12 Monate haben. Dabei ergaben sich ähnliche Werte für CTCs, radiologisches und klinisches Ansprechen nach dem vierten Zyklus. Die kategorialen CTCs zeigten zu q4 sogar die höchste Sensitivität hinsichtlich des Versterbens innerhalb von 12 Monaten. Interessanterweise ergaben die kategorialen CTC-Zahlen bereits vor dem ersten Zyklus einen signifikanten Zusammenhang mit dem OS, womit sie bereits circa 12 Wochen vor dem Zwischenstaging (q4) eine prognostische Wertigkeit aufwiesen. Ähnliche Ergebnisse waren von Budd und Kollegen für das Mammakarzinom publiziert worden (Budd et al., 2006).

In der Literatur werden auch andere CTC-Schwellenwerte als prognostisch relevant diskutiert. So grenzt beispielsweise die Arbeitsgruppe um Goodman einen optimalen Schwellenwert von 4 CTCs ab, Helo und Kollegen schlagen eine weitere Unterteilung mit Patienten mit mehr als 10 CTCs und Olmos und Kollegen mit mehr als 50 nachgewiesenen CTCs vor (Goodman et al., 2009; Helo et al., 2009; Olmos et al., 2009). In früheren Versuchen unserer Arbeitsgruppe zeigte ein optimierter Schwellenwert von ≥ 3 CTCs die höchste Sensitivität und Spezifität in Bezug auf das Gesamtüberleben (Thalgott et al., 2013). Als optimaler Schwellenwert bei einem Übergang von einer hormonsensitiven in eine kastrationsrefraktäre Erkrankung (CRPC) wurde ein Schwellenwert von 3 CTCs evaluiert (Goodman et al., 2011).

In einer Studie von Coumans und Kollegen wurde eine gemischte Studienpopulation mit 111 Patientinnen mit einem metastasierten Mammakarzinom und insgesamt 185 Patienten mit einem metastasierten Prostatakarzinom untersucht. Dabei wurden CTCs vor Beginn und im Verlauf einer neuen Chemotherapie hinsichtlich ihrer Korrelation mit dem Gesamtüberleben untersucht. Die kategorialen CTCs waren mit einem Absinken der CTCs von ≥ 5 CTCs unter den Schwellenwert < 5 CTCs im Vergleich zu der kontinuierlichen Veränderung der CTC-Zahlen, um einen definierten prozentualen Anteil, oder um einen absoluten oder proportionalen Wert, überlegen (Coumans et al., 2012).

Dies bestätigen die Ergebnisse unserer Untersuchung, wonach die kontinuierlich erfassten CTC-Zahlen bei der Einschlussuntersuchung (q0) keinen signifikanten Zusammenhang mit dem Gesamtüberleben zeigten und die nach dem ersten (q1), vierten (q4) und zehnten (q10) Zyklus einen prognostisch signifikanten Zusammenhang mit dem Gesamtüberleben aufwiesen, jedoch eine deutlich niedrigere Hazard Ratio aufwiesen. Anhand der vorliegenden Untersuchung konnte somit gezeigt werden, dass die kontinuierlich betrachteten CTC-Zahlen nach dem ersten Zyklus ebenfalls ein unabhängiger prognostischer Marker für das Gesamtüberleben waren, wenn auch in geringerer Ausprägung als die kategorialen CTC-Zahlen. Dies ist gut vereinbar mit früheren Ergebnissen, die darlegen, dass erhöhte kontinuierliche CTCs mit einem kürzeren Gesamtüberleben korrelieren (Scher et al., 2009). Für das Gesamtüberleben konnte in früheren Studien gezeigt werden, dass ein Absinken von $\geq 30\%$ während der Therapie prognostisch relevant sein kann (Olmos et al., 2009). Eine andere 2014 publizierte Studie konnte allerdings die Signifikanz eines $\geq 50\%$ Absinkens in Bezug auf das Gesamtüberleben nicht belegen (Goldkorn et al., 2014).

Zusammenfassend bleibt die Anwendbarkeit der kontinuierlichen CTC-Zahlen zum Therapiemonitoring nicht eindeutig geklärt, wohingegen der prognostische Wert der kategorialen CTCs hinsichtlich des Gesamtüberlebens inzwischen eine gute Datengrundlage hat und einen etablierten prognostischen Marker darstellt.

4.10. Ausblicke

Eine Bestätigung dieser Ergebnisse bei CRPC-Patienten unter Docetaxeltherapie anhand einer größeren Studienpopulation ist wünschenswert. Auch sollte die Eignung der CTCs als Marker des Therapieansprechens auch im Zusammenhang mit neueren Therapien, wie beispielsweise Abiraterone, Enzalutimid oder Radium-223, weiter untersucht werden (Danila et al., 2011). In den weiterführenden Studien sollten zudem auch multimodale Modelle, wie hier anhand des klinischen Ansprechens oder der Kombination von CTCs und objektivem Ansprechen, auf ihre Aussagekraft untersucht werden (Scher et al., 2009; Danila et al., 2011). Empfehlenswert wäre auch die Untersuchung der Assoziation von CTCs mit der gesundheitsbezogenen Lebensqualität, die mittels standardisierter Fragebögen einfach erfasst werden kann.

Die Lebensqualität ist ein ernst zu nehmender prognostischer Faktor hinsichtlich eines längeren Gesamtüberlebens, einer längeren Zeit bis zur Tumorprogression und einer günstigeren Schmerzprognose (Sullivan et al., 2006). Ähnlich wie bei der Lebensqualität zeigt sich in jüngeren Studien, dass der Faktor Schmerz als unabhängiger prädiktiver Faktor zu werten ist, der signifikant mit der Überlebenszeit und dem Therapieansprechen bei CRPC-Patienten korreliert (Armstrong et al., 2007; Halabi et al., 2008; Berthold et al., 2008 (a)) .

Vielversprechend sind auch Weiterentwicklungen der Detektionsmethode. Zum einen wird dabei vorgeschlagen, durch Ergänzung mittels anderer Marker, wie beispielsweise des Androgenrezeptors, des prostataspezifischen Antigens oder des prostataspezifischen Membranantigens, die Detektionsrate zu erhöhen oder weiter zu spezifizieren (Danila et al., 2011; Pantel und Alix-Panabières, 2012).

Zum anderen gibt es Untersuchungen, inwieweit die mit dem CellSearch® System immunomagnetisch isolierten Zellen im Sinne einer sogenannten „liquid biopsy“, also einer flüssigen Biopsie des Tumors, weiter untersucht werden können (Pantel und Alix-Panabières, 2012). Damit werden mit einer einfachen und risikoarmen Blutentnahme Untersuchungen von Tumormaterial möglich, die bisher nur nach technisch schwieriger und risikobehafteter Entnahme von Tumor oder Metastasen mittels invasiver Techniken möglich waren (Pantel und Alix-Panabières, 2012).

Die isolierten Tumorzellen können hinsichtlich der exprimierten Proteine oder mRNA studiert werden, Einzelzell-DNA-Analysen sind möglich, ebenso wie auch eine Anzucht der Zellen denkbar wäre (Hu et al., 2013). Dabei kann zusätzliche Information über den Primärtumor oder die Metastasen gewonnen werden, um eventuelle Mutationen oder das Metastasierungsverhalten zu erfassen und im Therapieverlauf zu beobachten (Pantel und Alix-Panabières, 2012). Darüber hinaus könnte eine Anzucht der intakt gewonnen Tumorzellen erlauben, die Effizienz einer Chemotherapie schon im Reagenzglas unter kontrollierten Bedingungen zu testen, bevor sie dem Patienten überhaupt verabreicht wird (Friedlander et al., 2014). Man erhofft sich hierdurch zusätzliche Informationen über die Prognose und das zu erwartende Therapieansprechen. Die Therapie könnte dann individuell jeder Erkrankung und jedem Patienten angepasst werden (Danila et al., 2011; Pantel und Alix-Panabières, 2012; Friedlander et al., 2014).

5. Zusammenfassung

Das Prostatakarzinom ist die häufigste Krebserkrankung bei Männern, und das kastrationsrefraktäre Prostatakarzinom (CRPC) stellt ein fortgeschrittenes Stadium der Erkrankung dar. Erst durch die Einführung der Chemotherapie mit Docetaxel wurden beim CRPC Remissionsraten um 40%, eine Lebensverlängerung von medianen 1,9-2,4 Monaten und eine Symptomlinderung möglich. Allerdings sind Voraussagen in Bezug auf Progression/Remission der Erkrankung unter der Therapie mit den bisherigen Standardmethoden zumeist erst nach einem Therapieintervall von circa 12 Wochen möglich. Unmittelbar nach dem Beginn der Chemotherapie fehlen dringend benötigte Vorhersageparameter in Bezug auf das objektive Therapieansprechen, das progressionsfreie Überleben und das Gesamtüberleben.

Zirkulierende Tumorzellen (CTCs), interpretiert als Mikrometastasierung des Tumors über die Blutbahn, wurden in dieser prospektiven Studie während der standardisierten Docetaxeltherapie auf ihre Eignung als prognostische molekulare Marker untersucht. Die Anzahl der CTCs wurde aus einer venösen Blutentnahme mit dem CellSearch® System der Firma Veridex, LLC, Janssen Diagnostics (Raritan, New York, USA) bestimmt, welches das erste semi-automatische, standardisierte und von der amerikanischen Food and Drug Administration zur Anwendung zugelassene System zur Detektion der CTCs ist.

Zu fünf definierten Zeitpunkten, im Verlauf der Therapie (vor Therapiebeginn, nach Chemotherapiezyklus eins, vier und zehn) und in der Nachsorgeuntersuchung, wurden insgesamt 122 Blutproben von 33 Patienten mit metastasiertem CRPC unter Docetaxeltherapie untersucht. Dabei wurde unterschieden zwischen der Betrachtung der CTC-Zahl als einerseits kategorialer Variable bezogen auf den etablierten Schwellenwert von <5 vs. ≥ 5 CTCs pro 7,5 ml Blut, sowie andererseits als kontinuierlicher Variable. Patienten wurden nach dem vierten und zehnten Zyklus anhand des mittels RECIST-Kriterien evaluierten radiologischen und anhand des klinischen Ansprechens in progressiv und nicht-progressiv eingeteilt, und mit den CTC-Zahlen zu diesem Zeitpunkt verglichen. Der prognostische Nutzen der CTC-Zahlen wurde mittels Kaplan-Meier Überlebenskurven dargestellt und anhand von logistischer sowie Cox-Regressionsanalyse ausgewertet.

Die kategoriale CTC-Zahl korrelierte in unserer Studie bereits nach dem ersten, sowie nach dem vierten Zyklus der Chemotherapie mit dem Krankheitsprogress. Hinsichtlich des progressionsfreien Überlebens war die kategoriale CTC-Zahl schon nach dem ersten Zyklus ein unabhängiger prognostischer Faktor. Für das Gesamtüberleben war die kategoriale CTC-Zahl vor Therapiebeginn und zu jedem Zeitpunkt prognostisch signifikant.

Die kontinuierliche CTC-Zahl ergab hingegen eine geringere prognostische Bedeutung in Bezug auf das objektive Therapieansprechen und für das progressionsfreie Überleben. Für das Gesamtüberleben war die kontinuierliche CTC-Zahl nach dem ersten Zyklus ein unabhängiger Vorhersagewert.

Demgegenüber zeigte das radiologisch und das klinisch erfasste Therapieansprechen erst zum Zeitpunkt seiner Erhebung nach dem vierten Zyklus einen signifikanten, prognostischen Wert für das Gesamtüberleben.

In Grenzwertoptimierungskurven ergaben die CTC-Zahlen wie auch das radiologische und klinische Ansprechen nach dem vierten Zyklus einen engen Zusammenhang mit der Mortalität innerhalb der nächsten 12 Monate. Die kategorialen CTCs ermöglichten allerdings eine Vorhersage schon nach dem ersten Zyklus und zeigten nach dem vierten Zyklus eine höhere Sensitivität als das objektive radiologische oder klinische Therapieansprechen.

Insgesamt erweisen sich die CTC-Zahlen als vielversprechender prognostischer Marker, der mittels einer einfachen Blutentnahme bereits nach einem Zyklus der Chemotherapie mit Docetaxel die Entscheidung unterstützen könnte, ob die Therapie fortgeführt werden soll. Insbesondere ermöglichen die kategorialen CTC-Zahlen, die anhand des Schwellenwertes von <5 vs. ≥ 5 CTCs, bereits 9-12 Wochen vor den ersten bildgebenden Untersuchungen eine prognostische Deutung. So kann mit Hilfe der CTCs eine frühe und individuelle Anpassung der Therapiestrategie auf die Erkrankung des einzelnen Patienten unterstützt werden. Ob eine frühe Änderung der Therapiestrategie anhand der CTCs zu einer Verlängerung des Überlebens führt muss in zukünftigen randomisierten Studien untersucht werden.

6. Publikationen in Zusammenhang mit dieser Arbeit

6.1. Wissenschaftliche Publikationen in Fachjournalen

Thalgott M, Rack B, Eiber M, Souvatzoglou M, Heck MM, **Kronester C**, Andergassen U, Kehl V, Krause BJ, Gschwend JE, Retz M, Nawroth R. Categorical versus continuous circulating tumor cell enumeration as early surrogate marker for therapy response and prognosis during docetaxel therapy in metastatic prostate cancer patients. BMC Cancer. 2015, 15, 458.

Thalgott M, Heck MM, Eiber M, Souvatzoglou M, Hatzichristodoulou G, Kehl V, Krause BJ, Rack B, Retz M, Gschwend JE, Andergassen U, Nawroth R. Circulating tumor cells versus objective response assessment predicting survival in metastatic castration-resistant prostate cancer patients treated with docetaxel chemotherapy. J Cancer Res Clin Oncol. 2015, 141(8), 1457-64.

*“Acknowledgments: We thank (...) **Caroline Kronester**, earning her doctorate on this work.” S. 1463.*

6.2. Vorträge und Posterpräsentationen

Thalgott M, Heck M, Eiber M, Sovatzoglou M, Maurer T, **Kronester C**, Andergassen U, Kehl V, Gschwend JE, Retz M, Nawroth R. Detektion zirkulierender Tumorzellen zum Therapiemonitoring des kastrationsrefraktären Prostatakarzinoms (CRPC). BayÖ, Graz. 2013.

Thalgott M, Andergassen U, Kreß V, **Kronester C**, Nawroth R, Rack B, Maurer T, Heck M, Horn T, Hauner K, Gschwend JE, Retz M. Quantitative Detektion zirkulierender Tumorzellen (CTC) zum Monitoring der Chemotherapie beim Prostatakarzinom. DGU, Düsseldorf. 2010 .

Thalgott M, Andergassen U, **Kronester C**, Kreß V, Nawroth R, Rack B, Maurer T, Heck M, Horn T, Gschwend JE, Retz M. Pilotstudie zum Therapiemonitoring des Prostatakarzinoms mit der quantitativen Detektion zirkulierender Tumorzellen (CTC). BayÖ, München. 2010.

7. Literaturverzeichnis

Abuzallouf S, Dayes I, Lukka H. Baseline staging of newly diagnosed prostate cancer: a summary of the literature. *J Urol*. 2004, 171(6 Pt 1), 2122-7.

Allard WJ, Matera J, Miller MC, Repollet M, Connelly MC, Rao C, Tibbe AG, Uhr JW, Terstappen LW. 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), 6897-904.

Armstrong AJ, Garrett-Mayer ES, Yang YC, de Wit R, Tannock IF, Eisenberger M. A contemporary prognostic nomogram for men with hormone-refractory metastatic prostate cancer: a TAX327 study analysis. *Clin Cancer Res*. 2007, 13(21), 6396-403.

Armstrong AJ, Marengo MS, Oltean S, Kemeny G, Bitting RL, Turnbull JD, Herold CI, Marcom PK, George DJ, Garcia-Blanco MA. Circulating tumor cells from patients with advanced prostate and breast cancer display both epithelial and mesenchymal markers. *Mol Cancer Res*. 2011, 9(8), 997-1007.

Armstrong AJ, Tannock IF, de Wit R, George DJ, Eisenberger M, Halabi S. The development of risk groups in men with metastatic castration-resistant prostate cancer based on risk factors for PSA decline and survival. *Eur J Cancer*. 2010, 46(3), 517-25.

Ashworth T. A case of cancer in which cells similar to those in the tumours were seen in the blood after death. *Aust Med J*, 1869, 14, 146–147.

Bares R. Leitlinie für die Skelettszintigraphie. Deutsche Gesellschaft für Nuklearmedizin e.V. (DGN) (Hrsg). Göttingen. 2011, (URL: http://www.nuklearmedizin.de/leistungen/leitlinien/html/sekelett_szin.php?navId=53, vom 07.08.2015).

Beheshti M, Vali R, Waldenberger P, Fitz F, Nader M, Loidl W, Broinger G, Stoiber F, Foglman I, Langsteger W. Detection of bone metastases in patients with prostate cancer by ¹⁸F fluorocholine and ¹⁸F fluoride PET-CT: a comparative study. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2008, 35(10), 1766-74.

Bender R, Ziegler A, Lange S. Logistische Regression. Artikel Nr. 14 der Statistik-Serie in der DMW. Dtsch Med Wochenschr. 2007, 132, Suppl 1, 33-5.

Berthold DR, Pond GR, Roessner M, de Wit R, Eisenberger M, Tannock AI; TAX-327 investigators. Treatment of hormone-refractory prostate cancer with docetaxel or mitoxantrone: relationships between prostate-specific antigen, pain, and quality of life response and survival in the TAX-327 study. Clin Cancer Res. 2008, 14(9), 2763-7. (a)

Berthold DR, Pond GR, Soban F, de Wit R, Eisenberger M, Tannock IF. Docetaxel plus prednisone or mitoxantrone plus prednisone for advanced prostate cancer: updated survival in the TAX 327 study. J Clin Oncol. 2008, 26(2), 242-5. (b)

Bonomi AE, Cella DF, Hahn EA, Bjordal K, Sperner-Unterweger B, Gangeri L, Bergman B, Willems-Groot J, Hanquet P, Zittoun R. Multilingual translation of the Functional Assessment of Cancer Therapy (FACT) quality of life measurement system. Qual Life Res. 1996, 5(3), 309-20.

Börgermann C, Chun FKH, Fornara P, Fröhner M, Graefen M, Haese A., Hammerer P, Heine K, Huland H, Köllermann J, Loertzer H, Luboldt J, Miller K, Rübber H, Schlomm T, Schostak M, Schrader M, Schwarz R, Semjonow A, Wagner S, Wirth M, Wolff JM. Uroonkologie. Rübber H (Hrsg). Springer, Heidelberg. 2009, 5. Auflage, 485-635.

Bubendorf L, Schöpfer A, Wagner U, Sauter G, Moch H, Willi N, Gasser TC, Mihatsch MJ. Metastatic patterns of prostate cancer: an autopsy study of 1,589 patients. Hum Pathol. 2000, 31(5), 578-83.

Bublej GJ, Carducci M, Dahut W, Dawson N, Daliani D, Eisenberger M, Figg WD, Freidlin B, Halabi S, Hudes G, Hussain M, Kaplan R, Myers C, Oh W, Petrylak DP, Reed E, Roth B, Sartor O, Scher H, Simons J, Sinibaldi V, Small EJ, Smith MR, Trump DL, Wilding G. Eligibility and response guidelines for phase II clinical trials in androgen-independent prostate cancer: recommendations from the Prostate-Specific Antigen Working Group. J Clin Oncol. 1999, 17(11), 3461-7.

Budd GT, Cristofanilli M, Ellis MJ, Stopeck A, Borden E, Miller MC, Matera J, Repollet M, Doyle GV, Terstappen LW, Hayes DF. Circulating tumor cells versus imaging—predicting overall survival in metastatic breast cancer. Clin Cancer Res. 2006, 12(21), 6403-9.

Caldarella C, Treglia G, Giordano A, Giovanella L. When to perform positron emission tomography/computed tomography or radionuclide bone scan in patients with recently diagnosed prostate cancer. *Cancer Manag Res.* 2013, 5, 123-31.

Carvalho FL, Simons BW, Antonarakis ES, Rasheed Z, Douglas N, Villegas D, Matsui W, Berman DM. Tumorigenic potential of circulating prostate tumor cells. *Oncotarget.* 2013, 4, 413–421.

Cella DF, Tulsky DS, Gray G, Sarafian B, Linn E, Bonomi A, Silberman M, Yellen SB, Winicour P, Brannon J, et al. The Functional Assessment of Cancer Therapy scale: development and validation of the general measure. *J Clin Oncol.* 1993, 11(3), 570-9.

CellSearch® System, Veridex, Janssen Diagnostics, LLC, Raritan, New York, USA. System Overview. 2015. (URL: <https://www.cellsearchctc.com/product-systems-overview/cellsearch-system-overview>, vom 07.08.15).

Chen BT, Loberg RD, Neeley CK, O'Hara SM, Gross S, Doyle G, Dunn RL, Kalikin LM, Pienta KJ. Preliminary study of immunomagnetic quantification of circulating tumor cells in patients with advanced disease. *Urology.* 2005, 65(3) 616-21.

Cleeland CS, Ryan KM. Pain assessment: global use of the Brief Pain Inventory. *Ann Acad Med Singapore.* 1994, 23(2), 129-38.

Cohen SJ, Punt CJ, Iannotti N, Saidman BH, Sabbath KD, Gabrail NY, Picus J, Morse M, Mitchell E, Miller MC, Doyle GV, Tissing H, Terstappen LW, Meropol NJ. Relationship of circulating tumor cells to tumor response, progression-free survival, and overall survival in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2008, 26(19), 3213-21.

Coumans FA, Doggen CJ, Attard G, de Bono JS, Terstappen LW. All circulating EpCAM+CK+CD45- objects predict overall survival in castration-resistant prostate cancer. *Ann Oncol.* 2010, 21(9), 1851-7.

Coumans FA, Ligthart ST, Terstappen LW. Interpretation of changes in circulating tumor cell counts. *Transl Oncol.* 2012, 5(6), 486-91.

Cox DR. Regression Models and Life-Tables. Journal of the Royal Statistical Society. Series B. 1972, 34 (2), 187-220.

Cristofanilli M, Budd GT, Ellis MJ, Stopeck A, Matera J, Miller MC, Reuben JM, Doyle GV, Allard WJ, Terstappen LW, Hayes DF. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer. N Engl J Med. 2004, 351(8), 781-91.

Danila DC, Fleisher M, Scher HI. Circulating tumor cells as biomarkers in prostate cancer. Clin Cancer Res. 2011, 17(12), 3903-12.

Danila DC, Heller G, Gignac GA, Gonzalez-Espinoza R, Anand A, Tanaka E, Lilja H, Schwartz L, Larson S, Fleisher M, Scher HI. Circulating tumor cell number and prognosis in progressive castration-resistant prostate cancer. Clin Cancer Res. 2007, 13(23), 7053-8.

Danila DC, Morris MJ, de Bono JS, Ryan CJ, Denmeade SR, Smith MR, Taplin ME, Bublely GJ, Kheoh T, Haqq C, Molina A, Anand A, Koscuyszka M, Larson SM, Schwartz LH, Fleisher M, Scher HI. Phase II multicenter study of abiraterone acetate plus prednisone therapy in patients with docetaxel-treated castration-resistant prostate cancer. J Clin Oncol. 2010, 28(9), 1496-501.

Daut RL, Cleeland CS, Flanery RC. Development of the Wisconsin Brief Pain Questionnaire to assess pain in cancer and other diseases. Pain. 1983, 17(2), 197-210.

De Albuquerque A, Kubisch I, Stölzel U, Ernst D, Boese-Landgraf J, Breier G, Stamminger G, Fersis N, Kaul S. Prognostic and predictive value of circulating tumor cell analysis in colorectal cancer patients. J Transl Med. 2012, 10, 222.

De Angelis G, Brandt B, Schmid HP, Semjonow A. Vom Antigen zum Tumormarker. Forschungsergebnisse zu PSA und ihre klinische Umsetzung. Urologe A. 2000, 39(4), 309-12.

De Bono JS, Scher HI, Montgomery RB, Parker C, Miller MC, Tissing H, Doyle GV, Terstappen LW, Pienta KJ, Raghavan D. Circulating tumor cells predict survival benefit from treatment in metastatic castration-resistant prostate cancer. Clin Cancer Res. 2008, 14(19), 6302-9.

De la Taille A, Olsson CA, Katz AE. Molecular staging of prostate cancer: dream or reality? *Oncology (Williston Park)*. 1999, 13(2), 187-205.

DGU - Deutsche Gesellschaft für Urologie. Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur Früherkennung, Diagnose und Therapie der verschiedenen Stadien des Prostatakarzinoms. Langversion 3.1. Deutsche Gesellschaft für Urologie (Hrsg). 2009, 2. Aktualisierung, Oktober 2014, (URL: http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/043022OLI_S3_Prostatakarzinom_2014-12.pdf, vom 07.08.2015) 34-184.

Dixon SC, Knopf KB, Figg WD. The control of prostate-specific antigen expression and gene regulation by pharmacological agents. *Pharmacol Rev*. 2001, 53(1), 73-91.

Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, Dancey J, Arbuck S, Gwyther S, Mooney M, Rubinstein L, Shankar L, Dodd L, Kaplan R, Lacombe D, Verweij J. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer*. 2009, 45(2), 228-47.

Epstein JI, Allsbrook WC Jr, Amin MB, Egevad LL; ISUP Grading Committee. The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2005, 29(9), 1228-42.

FDA – Food And Drug Administration. Veridex, LLC CellSearch™ Circulating Tumor Cell Kit Premarket Notification - Expanded Indications for Use - Metastatic Prostate Cancer. 26.02.2008 (http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf7/K073338.pdf, vom 08.07.2015) 28.

Friedlander TW, Premasekharan G, Paris PL. Looking back, to the future of circulating tumor cells. *Pharmacol Ther*. 2014, 142(3), 271-80.

Gleason DF, Mellinger GT. Prediction of prognosis for prostatic adenocarcinoma by combined histological grading and clinical staging. *J Urol*. 1974, 111(1), 58-64.

Goldkorn A, Ely B, Quinn DI, Tangen CM, Fink LM, Xu T, Twardowski P, van Veldhuizen PJ, Agarwal N, Carducci MA, Monk JP 3rd, Datar RH, Garzotto M, Mack PC, Lara P Jr, Higano CS, Hussain M, Thompson IM Jr, Cote RJ, Vogelzang NJ. Circulating tumor cell counts are prognostic of overall survival in SWOG S0421: a phase III trial of docetaxel with or without atrasentan for metastatic castration-resistant prostate cancer. *J Clin Oncol*. 2014, 32(11), 1136-42.

Gonzales JC, Fink LM, Goodman OB Jr, Symanowski JT, Vogelzang NJ, Ward DC. Comparison of circulating MicroRNA 141 to circulating tumor cells, lactate dehydrogenase, and prostate-specific antigen for determining treatment response in patients with metastatic prostate cancer. *Clin Genitourin Cancer*. 2011, 9(1), 39-45.

Goodman OB Jr, Fink LM, Symanowski JT, Wong B, Grobaski B, Pomerantz D, Ma Y, Ward DC, Vogelzang NJ. Circulating tumor cells in patients with castration-resistant prostate cancer baseline values and correlation with prognostic factors. *Cancer Epidemiol Biomarkers*. 2009, 18(6), 1904-13.

Goodman OB Jr, Symanowski JT, Loudyi A, Fink LM, Ward DC, Vogelzang NJ. Circulating tumor cells as a predictive biomarker in patients with hormone-sensitive prostate cancer. *Clin Genitourin Cancer*. 2011, 9(1), 31-8.

Gravis G, Fizazi K, Joly F, Oudard S, Priou F, Esterni B, Latorzeff I, Delva R, Krakowski I, Laguerre B, Rolland F, Théodore C, Deplanque G, Ferrero JM, Pouessel D, Mourey L, Beuzebec P, Zanetta S, Habibian M, Berdah JF, Dauba J, Baciuchka M, Platini C, Linassier C, Labourey JL, Machiels JP, El Kouri C, Ravaud A, Suc E, Eymard JC, Hasbini A, Bousquet G, Soulie M. Androgen-deprivation therapy alone or with docetaxel in non-castrate metastatic prostate cancer (GETUG-AFU 15): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2013, 14(2), 149-58.

Halabi S, Vogelzang NJ, Kornblith AB, Ou SS, Kantoff PW, Dawson NA, Small EJ. Pain predicts overall survival in men with metastatic castration-refractory prostate cancer. *J Clin Oncol*. 2008, 26(15), 2544-9.

Hartung J, Epelt B, Klösener KH. *Statistik. Lehr- und Handbuch der angewandten Statistik*. Oldenbourg Wissenschaftsverlag, München. 2009, 15. Auflage, 924-41.

Hayes DF, Cristofanilli M, Budd GT, Ellis MJ, Stopeck A, Miller MC, Matera J, Allard WJ, Doyle GV, Terstappen LW. Circulating tumor cells at each follow-up time point during therapy of metastatic breast cancer patients predict progression-free and overall survival. *Clin Cancer Res.* 2006, 12(14 Pt 1), 4218-24.

Heidenreich A, Albers P, Classen J, Graefen M, Gschwend J, Kotzerke J, Krege S, Lehmann J, Rohde D, Schmidberger H, Uder M, Zeeb H; Association of Urologic Oncology of the German Cancer Society. Imaging studies in metastatic urogenital cancer patients undergoing systemic therapy: recommendations of a multidisciplinary consensus meeting of the Association of Urological Oncology of the German Cancer Society. *Urol Int.* 2010, 85(1), 1-10.

Heidenreich A, Bastian PJ, Bellmunt J, Bolla M, Joniau S, van der Kwast T, Mason M, Matveev V, Wiegel T, Zattoni F, Mottet N. EAU guidelines on prostate cancer. Part II: Treatment of advanced, relapsing, and castration-resistant prostate cancer. *Eur Urol.* 2014, 65(2), 467-79.

Helo P, Cronin AM, Danila DC, Wenske S, Gonzalez-Espinoza R, Anand A, Koscuizka M, Väänänen RM, Pettersson K, Chun FK, Steuber T, Huland H, Guillonneau BD, Eastham JA, Scardino PT, Fleisher M, Scher HI, Lilja H. Circulating prostate tumor cells detected by reverse transcription-PCR in men with localized or castration-refractory prostate cancer: concordance with CellSearch assay and association with bone metastases and with survival. *Clin Chem.* 2009, 55(4), 765-73.

Hu B, Rochefort H, Goldkorn A. Circulating tumor cells in prostate cancer. *Cancers (Basel).* 2013, 5(4), 1676-90.

Huang X, Chau CH, Figg WD. Challenges to improved therapeutics for metastatic castrate resistant prostate cancer: from recent successes and failures. *J Hematol Oncol.* 2012, 5, 35.

Huggins C, Hodges CV. Studies on prostatic cancer II: the effects of castration on advanced carcinoma of the prostate gland. *Arch Surg.* 1941, v 43, 209–23.

Ibrahim T, Flamini E, Mercatali L, Sacanna E, Serra P, Amadori D. Pathogenesis of osteoblastic bone metastases from prostate cancer. *Cancer.* 2010, 116(6), 1406-18.

Imbriaco M, Larson SM, Yeung HW, Mawlawi OR, Erdi Y, Venkatraman ES, Scher HI. A new parameter for measuring metastatic bone involvement by prostate cancer: the Bone Scan Index. *Clin Cancer Res.* 1998, 4(7), 1765-72.

Kaatsch P, Spix C, Hentschel S, Katalinic A, Luttmann S, Stegmaier C, Caspritz S, Cernaj J, Ernst A, Folkerts J, Hansmann J, Kranzhöfer K, Krieghoff-Henning E, Kunz B, Penzkofer A, Treml K, Wittenberg K, Baras N, Barnes B, Bertz J, Buttman-Schweiger N, Dahm S, Franke M, Haberland J, Kraywinkel K, Wienecke A, Wolf U. Krebs in Deutschland 2009/2010. Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (Hrsg). Ruksaldruck, Berlin. 2013, 9. Ausgabe (URL: http://www.rki.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs_in_Deutschland/kid_2013/krebs_in_deutschland_2013.pdf?__blob=publicationFile, vom 07.08.2015) 88-91.

Kagan M, Howard D, Bendele T, Mayes J, Silvia J, Repollet M, Doyle J, Allard J, Tu N, Bui T, Russell T, Rao C, Hermann M, Rutner H, Terstappen LWMM. A Sample Preparation and Analysis System for Identification of Circulating Tumor Cells. *J Clinical Ligand Assay.* 2002, 25, 104-10.

Kamradt J, Wullich B. Facharztprüfung Urologie in Fällen, Fragen und Antworten. Zwergel U (Hrsg). Elsevier, München. 2008, 1. Auflage, 1-35.

Kaplan EL, Meier P. Nonparametric Estimation from Incomplete Observations. *Journal of the American Statistical Association.* 1958, 53(282), 457-81.

Kelly WK, Scher HI, Mazumdar M, Vlamis V, Schwartz M, Fossa SD. Prostate-specific antigen as a measure of disease outcome in metastatic hormone-refractory prostate cancer. *J Clin Oncol.* 1993, 11(4), 607-15.

Khoury JD, Adcock DM, Chan F, Symanowski JT, Tiefenbacher S, Goodman O, Paz L, Ma Y, Ward DC, Vogelzang NJ, Fink LM. Increases in quantitative D-dimer levels correlate with progressive disease better than circulating tumor cell counts in patients with refractory prostate cancer. *Am J Clin Pathol.* 2010, 134(6), 964-9.

Kraan J, Sleijfer S, Strijbos MH, Ignatiadis M, Peeters D, et al. External quality assurance of circulating tumor cell enumeration using the CellSearch((R)) system: A feasibility study. *Cytometry B Clin Cytom.* 2011, 80(2), 112-8.

Kunath F, Grobe HR, Rücker G, Motschall E, Antes G, Dahm P, Wullich B, Meerpohl JJ. Non-steroidal antiandrogen monotherapy compared with luteinising hormone-releasing hormone agonists or surgical castration monotherapy for advanced prostate cancer. *Cochrane Database Syst Rev.* 2014, 1-177.

Kuroda K, Liu H, Kim S, Guo M, Navarro V, Bander NH . Docetaxel down-regulates the expression of androgen receptor and prostate-specific antigen but not prostate-specific membrane antigen in prostate cancer cell lines: implications for PSA surrogacy. *Prostate.* 2009, 69(14), 1579-85.

Levi F, Lucchini F, Negri E, Boyle P, La Vecchia C. Leveling of prostate cancer mortality in Western Europe. *Prostate.* 2004, 60(1), 46-52.

Ligthart ST, Coumans FA, Attard G, Cassidy AM, de Bono JS, Terstappen LW. Unbiased and automated identification of a circulating tumour cell definition that associates with overall survival. *PLoS ONE.* 2011, 6(11), e27419.

Liu MC, Shields PG, Warren RD, Cohen P, Wilkinson M, Ottaviano YL, Rao SB, Eng-Wong J, Seillier-Moisewitsch F, Noone AM, Isaacs C. Circulating tumor cells: a useful predictor of treatment efficacy in metastatic breast cancer. *J Clin Oncol.* 2009, 27(31), 5153-9.

Malvezzi M, Arfé A, Bertuccio P, Levi F, La Vecchia C, Negri E. European cancer mortality predictions for the year 2011. *Ann Oncol.* 2011, 22(4), 947-56.

Meirelles GS, Schöder H, Ravizzini GC, Gönen M, Fox JJ, Humm J, Morris MJ, Scher HI, Larson SM. Prognostic value of baseline [18F] fluorodeoxyglucose positron emission tomography and 99mTc-MDP bone scan in progressing metastatic prostate cancer. *Clin Cancer Res.* 2010, 16(24), 6093-9.

Moreno JG, Croce CM, Fischer R, Monne M, Vihko P, Mulholland SG, Gomella LG. Detection of hematogenous micrometastasis in patients with prostate cancer. *Cancer Res.* 1992, 52(21), 6110-2.

Moreno JG, Miller MC, Gross S, Allard WJ, Gomella LG, Terstappen LW. Circulating tumor cells predict survival in patients with metastatic prostate cancer. *Urology.* 2005, 65(4), 713-8.

Moreno JG, O'Hara SM, Gross S, Doyle G, Fritsche H, Gomella LG, Terstappen LW. Changes in circulating carcinoma cells in patients with metastatic prostate cancer correlate with disease status. *Urology* 58. 2001, 58(3), 386-92.

Mottet N, Bellmunt J., Briers E, van den Bergh RCN , Bolla M, van Casteren NJ, Cornford P, Culine S, Joniau S, Lam T, Mason MD, Matveev V, van der Poel H, van der Kwast TH, Rouvière O, Wiegel T. European Association of Urology. Guidelines on Prostate Cancer. 2015 (URL: <http://uroweb.org/wp-content/uploads/EAU-Guidelines-Prostate-Cancer-2015-v2.pdf>, vom 07.08.2015).

Mukherjee S, Richardson AM, Rodriguez-Canales J, Ylaya K, Erickson HS, Player A, Kawasaki ES, Pinto PA, Choyke PL, Merino MJ, Albert PS, Chuaqui RF, Emmert-Buck MR. Identification of EpCAM as a molecular target of prostate cancer stroma. *Am J Pathol.* 2009, 175(6) 2277-87.

Nagrath S, Sequist LV, Maheswaran S, Bell DW, Irimia D, Ulkus L, Smith MR, Kwak EL, Digumarthy S, Muzikansky A, Ryan P, Balis UJ, Tompkins RG, Haber DA, Toner M. Isolation of rare circulating tumour cells in cancer patients by microchip technology. *Nature.* 2007, 450(7173), 1235-9.

Nair B, Wilt T, MacDonald R, Rutks I., Early versus deferred androgen suppression in the treatment of advanced prostatic cancer. *Cochrane Database Syst Rev.* 2002, (1), CD003506.

Nakano K, Komatsu K, Kubo T, Natsui S, Nukui A, Kurokawa S, Kobayashi M, Morita T. External validation of risk classification in patients with docetaxel-treated castration-resistant prostate cancer. *BMC Urol.* 2014, 14, 31.

Nelius T, Filleur S. PSA surge/flare-up in patients with castration-refractory prostate cancer during the initial phase of chemotherapy. *Prostate.* 2009, 69(16), 1802-7.

Noguchi M, Kikuchi H, Ishibashi M, Noda S. Percentage of the positive area of bone metastasis is an independent predictor of disease death in advanced prostate cancer. *Br J Cancer.* 2003, 88(2), 195-201.

Oh WK, Manola J, Babic V, Harnam N, Kantoff PW. Response to second-line chemotherapy in patients with hormone refractory prostate cancer receiving two sequences of mitoxantrone and taxanes. *Urology.* 2006, 67(6), 1235-40.

Okegawa T, Nutahara K, Higashihara E. Prognostic significance of circulating tumor cells in patients with hormone refractory prostate cancer. *J Urol.* 2009, 181(3), 1091-7.

Oken MM, Creech RH, Tormey DC, Horton J, Davis TE, McFadden ET, Carbone PP. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol.* 1982, 5(6), 649-55. (URL: <http://ecog-acrin.org/resources/ecog-performance-status>, vom 07.08.2015).

Olmos D, Arkenau HT, Ang JE, Ledaki I, Attard G, Carden CP, Reid AH, A'Hern R, Fong PC, Oomen NB, Molife R, Dearnaley D, Parker C, Terstappen LW, de Bono JS. Circulating tumour cell (CTC) counts as intermediate end points in castration-resistant prostate cancer (CRPC): a single-centre experience. *Ann Oncol.* 2009, 20(1), 27-33.

Pantel K, Alix-Panabières C. The potential of circulating tumor cells as a liquid biopsy to guide therapy in prostate cancer. *Cancer Discov.* 2012, 2(11), 974-5.

Pantelakou Z, Lembessis P, Sourla A, Pissimissis N, Polyzos A, Deliveliotis C, Koutsilieris M. Detection of circulating tumor cells in prostate cancer patients: methodological pitfalls and clinical relevance. *Mol Med.* 2009, 15(3-4), 101-14.

Paul R, Zimmermann F, Dettmar P, Adam M, van Randenborgh H, Alschibaja M, Herkommer K, Seitz M. Prostatakarzinom. Urogenitale Tumoren. Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge. Tumorzentrum München. Treiber U, Zaak D, Tumorzentrum München (Hrsg). W. Zuckschwerdt Verlag, München. 2008, 1-83.

Petrylak DP, Ankerst DP, Jiang CS, Tangen CM, Hussain MH, Lara PN Jr, Jones JA, Taplin ME, Burch PA, Kohli M, Benson MC, Small EJ, Raghavan D, Crawford ED. Evaluation of prostate-specific antigen declines for surrogacy in patients treated on SWOG 99-16. *J Natl Cancer Inst.* 2006, 98(8), 516-21.

Petrylak DP, Tangen CM, Hussain MH, Lara PN Jr, Jones JA, Taplin M, Burch PA, Berry D, Mounpour C, Kohli M, Benson MC, Small EJ, Raghavan D, Crawford ED. Docetaxel and estramustine compared with mitoxantrone and prednisone for advanced refractory prostate cancer. *New Engl J Med.* 2004, 351(15), 1513-20.

Poczatek RB, Myers RB, Manne U, Oelschlager DK, Weiss HL, Bostwick DG, Grizzle WE. Ep-Cam levels in prostatic adenocarcinoma and prostatic intraepithelial neoplasia. *J Urol.* 1999, 162(4), 1462-6.

Pound CR, Partin AW, Eisenberger MA, Chan DW, Pearson JD, Walsh PC. Natural history of progression after PSA elevation following radical prostatectomy. *JAMA.* 1999, 281(17), 1591-7.

Radbruch L, Loick G, Kiencke P, Lindena G, Sabatowski R, Grond S, Lehmann KA, Cleeland CS. Validation of the German version of the Brief Pain Inventory. *J Pain Symptom Manage.* 1999, 18(3), 180-7.

Retz M, Gschwend J. Metastasiertes Prostatakarzinom. Medikamentöse Tumortherapie in der Uroonkologie. Springer Medizin Verlag, Heidelberg. 2009, 1. Auflage, 6-20.

Riethdorf S, Fritsche H, Müller V, Rau T, Schindlbeck C, Rack B, Janni W, Coith C, Beck K, Jänicke F, Jackson S, Gornet T, Cristofanilli M, Pantel K. Detection of circulating tumor cells in peripheral blood of patients with metastatic breast cancer: a validation study of the CellSearch system. *Clin Cancer Res.* 2007, 13(3), 920-8.

Saad F, Pantel K. The current role of circulating tumor cells in the diagnosis and management of bone metastases in advanced prostate cancer. *Future Oncol.* 2012, 8(3) 321-31.

Sabbatini P, Larson SM, Kremer A, Zhang ZF, Sun M, Yeung H, Imbriaco M, Horak I, Conolly M, Ding C, Ouyang P, Kelly WK, Scher HI. Prognostic significance of extent of disease in bone in patients with androgen-independent prostate cancer. *J Clin Oncol.* 1999, 17(3), 948-57.

Scardino PT. Early detection of prostate cancer. *Urol Clin North Am.* 1989, 16(4), 635-55.

Scher HI, Halabi S, Tannock I, Morris M, Sternberg CN, Carducci MA, Eisenberger MA, Higano C, Bubley GJ, Dreicer R, Petrylak D, Kantoff P, Basch E, Kelly WK, Figg WD, Small EJ, Beer TM, Wilding G, Martin A, Hussain M. Prostate Cancer Clinical Trials Working Group, Design and End Points of Clinical Trials for Patients With Progressive Prostate Cancer and Castrate Levels of Testosterone: Recommendations of the Prostate Cancer Clinical Trials Working Group. *J Clin Oncol*. 2008, 26(7), 1148-59.

Scher HI, Jia X, de Bono JS, Fleisher M, Pienta KJ, Raghavan D, Heller G. Circulating tumour cells as prognostic markers in progressive, castration-resistant prostate cancer: a reanalysis of IMMC38 trial data. *Lancet Oncol*. 2009, 10(3), 233-9.

Scher HI, Mazumdar M, Kelly WK. Clinical trials in relapsed prostate cancer: defining the target. *J Natl Cancer Inst*. 1996, 88(22), 1623-34.

Scher HI, Morris MJ, Kelly WK, Schwartz LH, Heller G. Prostate cancer clinical trial end points: "RECIST"ing a step backwards. *Clin Cancer Res*. 2005, 11(14), 5223-32.

Schicha H, Schober O, Dietlein M, Eschner W, Kopka K, Riemann B, Schäfers M, Weckesser M, Wellner U. *Nuklearmedizin. Basiswissen und klinische Anwendung*. Schattauer-Verlagsgesellschaft, Stuttgart, New York. 2007, 6. Auflage, 249-274.

Schröder FH. Progress in understanding androgen-independent prostate cancer (AIPC): a review of potential endocrine-mediated mechanisms. *Eur Urol*. 2008, 53(6), 1129-37.

Shaffer DR, Leversha MA, Danila DC, Lin O, Gonzalez-Espinoza R, Gu B, Anand A, Smith K, Maslak P, Doyle GV, Terstappen LW, Lilja H, Heller G, Fleisher M, Scher HI. Circulating tumor cell analysis in patients with progressive castration-resistant prostate cancer. *Clin Cancer Res*. 2007, 13(7), 2023-9.

Shanbhogue AK, Karnad AB, Prasad SR. Tumor response evaluation in oncology: current update. *J Comput Assist Tomogr*. 2010, 34(4), 479-84.

Smith DC, Dunn RL, Strawderman MS, Pienta KJ. Change in serum prostate-specific antigen as a marker of response to cytotoxic therapy for hormone-refractory prostate cancer. *J Clin Oncol*. 1998, 16(5), 1835-43.

Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind C. Union for International Cancer Control., TNM Classification for Malignant Tumours. Wiley-Blackwell, Hoboken, New Jersey, USA. 2009, 7. Edition, 243-49.

Soloway MS, Hardeman SW, Hickey D, Raymond J, Todd B, Soloway S, Moinuddin M. Stratification of patients with metastatic prostate cancer based on extent of disease on initial bone scan. *Cancer*. 1988, 61(1), 195-202.

Sonpavde G, Pond GR, Templeton AJ, Fandi A, Tombal B, Rosenthal M, Armstrong AJ, Petrylak DP. Association Between RECIST Changes and Survival in Patients with Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer Receiving Docetaxel. *Eur Urol*. 2015, S0302-2838(15), 00978-1.

Sriprasad S, Feneley MR, Thompson PM. History of prostate cancer treatment. *Surgl Oncol*. 2009, 18(3), 185-91.

Su SL, Boynton AL, Holmes EH, Elgamal AA, Murphy GP. Detection of extraprostatic prostate cells utilizing reverse transcription-polymerase chain reaction. *Semin Surg Oncol*. 2000, 18(1), 17-28.

Sullivan PW, Nelson JB, Mulani PM, Sleep D. Quality of life as a potential predictor for morbidity and mortality in patients with metastatic hormone-refractory prostate cancer. *Qual Life Res*. 2006, 15(8) 1297-306.

Swaby RF, Cristofanilli M. Circulating tumor cells in breast cancer: A tool whose time has come of age. *BMC Med*. 2011, 9, 43.

Sweeney CJ, Chen YH, Carducci M, Liu G, Jarrard DF, Eisenberger M, Wong YN, Hahn N, Kohli M, Cooney MM, Dreicer R, Vogelzang NJ, Picus J, Shevrin D, Hussain M, Garcia JA, DiPaola RS. Chemohormonal Therapy in Metastatic Hormone-Sensitive Prostate Cancer. *N Engl J Med*. 2015, 373(8), 737-46.

Tannock IF, de Wit R, Berry WR, Horti J, Pluzanska A, Chi KN, Ourdard S, Theodore C, James ND, Turesson I, Rosenthal MA, Eisenberger M, and TAX 327 Investigators. Docetaxel plus prednisone or mitoxantrone plus prednisone for advanced prostate cancer. *New Engl J Med*. 2004, 351(15), 1502-12.

Thalgott M, Heck MM, Pantel K. Detektion zirkulierender Tumorzellen im peripheren Blut beim Prostatakarzinom. *Urologe A*. 2014, 53(4), 509-13.

Thalgott M, Heck MM, Eiber M, Souvatzoglou M, Hatzichristodoulou G, Kehl V, Krause BJ, Rack B, Retz M, Gschwend JE, Andergassen U, Nawroth R. Circulating tumor cells versus objective response assessment predicting survival in metastatic castration-resistant prostate cancer patients treated with docetaxel chemotherapy. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2015, 141(8), 1457-64.

Thalgott M, Rack B, Eiber M, Souvatzoglou M, Heck MM, Kronester C, Andergassen U, Kehl V, Krause BJ, Gschwend JE, Retz M, Nawroth R. Categorical versus continuous circulating tumor cell enumeration as early surrogate marker for therapy response and prognosis during docetaxel therapy in metastatic prostate cancer patients. *BMC Cancer*. 2015, 15, 458.

Thalgott M, Rack B, Maurer T, Souvatzoglou M, Eiber M, Kreß V, Heck MM, Andergassen U, Nawroth R, Gschwend JE, Retz M. Detection of circulating tumor cells in different stages of prostate cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2013, 139(5), 755-63.

The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1966. [Nobelprize.org](http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1966/). (URL: http://nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1966/, vom 07.08.2015).

Todesursachenstatistik für Deutschland. Artikelnummer: 2120400137004, Statistisches Bundesamt (Hrsg). Wiesbaden. 2014, zuletzt aktualisiert 03.03.2015 (URL: https://www.destatis.de/DE/Publikationen/Thematisch/Gesundheit/Todesursachen/Todesursachen2120400137004.pdf?__blob=publicationFile, vom 07.08.2015) 19.

Van der Toom EE, Verdone JE, Gorin MA, Pienta KJ. Technical challenges in the isolation and analysis of circulating tumor cells. *Oncotarget*. 2016, 1-13.

Verkaik NS, Schröder FH, Romijn JC. Clinical usefulness of RT-PCR detection of hematogenous prostate cancer spread. *Urol Res*. 1997, 25(6), 373-84.

Went PT, Lugli A, Meier S, Bundi M, Mirlacher M, Sauter G, Dirnhofer S. Frequent EpCam protein expression in human carcinomas. *Hum Pathol*. 2004, 35(1), 122-8.

World Health Organization (WHO). WHO handbook for reporting results of cancer treatment. WHO offset publication no. 48. World Health Organization (Hrsg). Genf, Schweiz. 1979, (URL: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/37200/1/WHO_OFFSET_48.pdf, vom 07.08.2015) 1-41.

World Medical Association (WMA). Declaration of Helsinki – Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. World Medical Association (Hrsg.). 64th WMA General Assembly, Fortaleza, Brazil, October 2013. (<http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/>, vom 02.10.2016) 1-8.

Wit Sd, Dalum Gv, Lenferink AT, Tibbe AG, Hiltermann TJ, Groen HJ, van Rijn C4, Terstappen LW. The detection of EpCAM(+) and EpCAM(-) circulating tumor cells. *Sci Rep.* 2015, 5, 12270.

Wolff JM. Bedeutung von Docetaxel für die Chemotherapie des hormonrefraktären Prostatakarzinoms. *Onkologie.* 2003, 26 Suppl 7, 37-40.

Zwiener I, Blettner M, Hommel G. Survival analysis: part 15 of a series on evaluation of scientific publications. *Dtsch Arztebl Int.* 2011, 108(10), 163-9.

8. Anhang

8.1. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Übersicht der Untersuchungen und Entnahmen der zirkulierenden Tumorzellen (CTC), zu den Zyklen der Docetaxeltherapie (q)	28
Abbildung 2: Links oben: CellTracks® AutoPrep® System, links unten: CellSave® Preservative Tubes, rechts unten: Celltracks Analyzer II® (Firma Veridex, LLC, Janssen Diagnostics, 2015).....	31
Abbildung 3: Zur besseren Darstellung gefärbte Fluoreszenzmikroskopie-Darstellung von zirkulierenden Tumorzellen. Grün steht für die Anti-Cytokeratin-Antikörper (CK), blau für nukleinsäurespezifische Färbung mit DAPI und rot für das leukozytenspezifische CD45-Epitop. (Ausschnitt aus Coumans et al., 2010, Figure 1, S. 1853).....	34
Abbildung 4: Kaplan-Meier Überlebensfunktion für das progressionsfreie Überleben in Bezug auf die kategorialen CTC-Zahlen (<5 vs. ≥5) zur Einschlussuntersuchung (q0), nach dem ersten (q1) und vierten Zyklus (q4) 50	
Abbildung 5: Kaplan-Meier Überlebensfunktion für das Gesamtüberleben in Bezug auf die kategorialen CTC-Zahlen (<5 vs. ≥5) bei der Einschlussuntersuchung (q0), nach dem ersten (q1), vierten (q4) und zehnten (q10) Zyklus	52
Abbildung 6: Kaplan-Meier Überlebensfunktion für das Gesamtüberleben nach dem vierten (q4) und zehnten (q10) Zyklus eingeteilt in progressive Erkrankung (PD) und nicht progressive Erkrankung (nonPD) anhand radiologischer Kriterien.....	54
Abbildung 7: Kaplan-Meier Überlebensfunktion für das Gesamtüberleben nach dem vierten (q4) und zehnten (q10) Zyklus eingeteilt in progressive Erkrankung (PD) und nicht progressive Erkrankung (nonPD) anhand klinischer Kriterien.....	54
Abbildung 8: Grenzwertoptimierungskurven (Receiver Operating Characteristic, ROC) zur Darstellung der Sensitivität und Spezifität der frühen CTC-Zahlen nach dem ersten (q1) und vierten (q4) Zyklus Docetaxel, dem objektiven Therapieansprechens (OR) nach klinischen und radiologischen Kriterien (q4) und dem Absinken des PSA-Wertes um ≥50% (q1, q4) hinsichtlich der Fähigkeit das Versterben der Patienten in den nächsten 12 Monaten vorherzusagen.	58
Abbildung 9: Kaplan-Meier Überlebensfunktion für das Gesamtüberleben nach Einteilung der Patienten in drei Gruppen nach einer Kombination von dem in der Bildgebung erfassten Progress der Erkrankung (PD) oder Therapieansprechen (nonPD) und den kategorialen zirkulierenden Tumorzellen (CTCs) bezogen auf den Schwellenwert (<5 vs. ≥5 CTC)	59

8.2. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht der Zeitpunkte der CTC-Bestimmungen	26
Tabelle 2: Gründe eines vorzeitigen Ausscheidens.....	40
Tabelle 3: Patientencharakteristika 1	42
Tabelle 4: Patientencharakteristika 2	43
Tabelle 5: CTC-Zahlen zu verschiedenen Zeitpunkten der Docetaxeltherapie	44
Tabelle 6: Kontinuierliche CTC-Zahlen bei der Einschlussuntersuchung (q0), nach dem ersten (q1), vierten (q4) und zehnten (q10) Zyklus, kategorisiert in Bezug auf das objektive Therapieansprechen nach vier (q4) oder zehn (q10) Zyklen Docetaxel	45
Tabelle 7: Prognostische Bedeutung der kontinuierlichen CTC-Zahlen bei der Einschlussuntersuchung (q0), nach dem ersten (q1), vierten (q4) und zehnten (q10) Zyklus mit dem objektiven Therapieansprechen (OR) nach dem vierten (q4) und zehnten (q10) Zyklus Docetaxel.....	46
Tabelle 8: Prognostische Bedeutung der kategorialen CTC-Zahlen nach dem ersten (q1), vierten (q4) und zehnten (q10) Zyklus für das objektive Therapieansprechen (OR) nach dem vierten (q4) und zehnten (q10) Zyklus Docetaxel	47
Tabelle 9: Konkordanzanalysen der kategorialen CTC-Zahlen nach dem ersten (q1), vierten (q4) und zehnten (q10) Zyklus mit dem objektiven Therapieansprechen (OR) nach dem vierten (q4) und zehnten (q10) Zyklus Docetaxel	48
Tabelle 10: Ergebnisse der Cox-Regressionsanalysen für das progressionsfreie Überleben und Gesamtüberleben als Funktion kontinuierlicher und kategorialer CTC-Zahlen	52
Tabelle 11: Ergebnisse der multivariaten Cox-Regressionsanalysen der kontinuierlichen und kategorialen CTC-Zahlen für das progressionsfreie und das Gesamtüberleben in Vergleich mit Laborparametern nach dem ersten Zyklus Docetaxel (q1).....	56

9. Danksagung

Hiermit möchte ich mich bei dem Direktor der Urologischen Klinik rechts der Isar, Herrn Prof. Dr. med. J. E. Gschwend, für die Möglichkeit der Promotion in seiner Abteilung bedanken.

Frau apl. Prof. Dr. med. M. Retz möchte ich für die Überlassung des Themas danken und dass sie mir als Doktormutter stets kompetent zu Seite stand.

Mein ganz besonderer Dank gilt dem Betreuer dieser Arbeit, Herrn PD Dr. med. M. K. Thalgot, der mich mit großem Einsatz in Rat und Tat unterstützte.

Dem Leiter des urologischen Forschungslabors am Klinikum rechts der Isar, Herrn Dr. rer. nat. R. Nawroth, danke ich für die Möglichkeit, in seinem Labor arbeiten zu dürfen.

Frau Prof. Dr. med. K. Herkommer möchte ich für die Leitung des Doktorandenseminars und für die guten, praktischen Ratschläge bei der Erstellung der Doktorarbeit danken.

Frau Dr. rer. nat. V. Kehl danke ich für die Beratung in statistischen Fragen und deren Hilfe bei der Auswertung.

Für die Beurteilung der bildgebenden Untersuchungen danke ich Herrn PD Dr. med. M. Eiber.

Den Mitarbeiterinnen des Forschungslabors Frau M. Moissl, Frau D. Langer, Frau S. Rämisch und Frau C. Krämer gilt mein Dank für die geduldige Einarbeitung und Unterstützung. Außerdem möchte ich mich bei den Mitarbeitenden auf der Station, in der onkologischen Ambulanz, im Sekretariat und in der Poliklinik für die ausgesprochen freundliche Zusammenarbeit bedanken.

Am meisten möchte ich mich bei den Patienten und deren Angehörigen für deren Teilnahme bedanken. Deren Umgang mit der schweren Erkrankung und deren Kraft haben mich sehr beeindruckt.

Von Herzen möchte ich mich bei Michael Chabior, Veronika Kreß, Stephanie Sapper, Hildegard Chmela, meinen Eltern und Freunden für die positive Unterstützung bedanken.