

Diplomarbeit

Analyse der Assoziation von VEGF Polymorphismen mit
Strahlentherapieansprechen und Risiko für höhergradige
Nebenwirkungen bei Prostatakarzinompatienten

eingereicht von

Andrea Strametz

Matr.Nr.: 0210677

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor(in) der gesamten Heilkunde
(Dr. med.univ.)**

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Universitätsklinik für Strahlentherapie-Radioonkologie, Graz

unter der Anleitung von

**Ass. Prof. Priv. Doz. Dr. med.univ. Tanja Langsenlehner
Univ. Ass. Dr. Günter Hofmann**

Ort, Datum.....

.....

(Unterschrift)

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am

Unterschrift

Inhaltsverzeichnis

1. Tabellenverzeichnis und Abbildungsverzeichnis	S. 4
2. Abkürzungsverzeichnis	S. 5
3. Abstract	S. 6
4. Das Prostatakarzinom	S. 8
4.1. Epidemiologie des Prostatakarzinoms	S. 8
4.2. Risikofaktoren des Prostatakarzinoms	S. 9
4.2.1. Erkrankungsalter	S. 9
4.2.2. Familiäre Form des Prostatakarzinoms	S. 9
4.2.3. Molekulare Veränderungen	S. 9
4.2.4. Chronische Entzündung als Prostatakrebsursache	S. 9
4.2.5. Testosteron und Androgenrezeptor	S. 10
4.2.6. Ernährung	S. 10
4.3. Staging des Prostatakarzinoms	S. 11
4.4. Grading	S. 13
4.5. Früherkennung des Prostatakarzinoms	S. 14
4.6. Diagnostik des Prostatakarzinoms	S. 16
4.7. Therapiemöglichkeiten des Prostatakarzinoms	S. 16
4.7.1. Watchful Waiting	S. 16
4.7.2. Active Surveillance	S. 17
4.7.3. Radikale Prostatektomie	S. 17
4.7.4. Perkutane Strahlentherapie	S. 19
4.7.5. Brachytherapie	S. 22
4.7.6. Hormontherapie	S. 23
4.7.7. Chemotherapie	S. 25
5. VEGF	S. 26
5.1. Definition und Wirkung des Vascular endothelial growth factor	S. 26
5.2. VEGF und Prognose	S. 27
5.3. Stimulation der Expression des VEGF	S. 28
5.3.1. Hypoxie	S. 28
5.3.2. Zytokine	S. 28
5.3.3. Wachstumsfaktoren	S. 28
5.4. Genvarianten des VEGF	S. 29
6. Ziel der Arbeit	S. 31
6.1. Teilnehmer an der Studie	S. 32
6.2. Art der Strahlentherapie	S. 34
6.3. Verlauf der Studie	S. 34
6.4. Bestimmung der DNA Polymorphismen	S. 35
6.5. Vorgang der DNA-Isolation	S. 35
6.6. Datenschutz	S. 36
6.7. Statistische Auswertung	S. 37
6.8. Ergebnisse der Studie	S. 39

7. Diskussion	S. 48
8. Schlussfolgerung	S. 50
9. Literaturverzeichnis	S. 51
10. Danksagung	S. 56

1. Tabellenverzeichnis

Tab.1, S 11	Stadieneinteilung des Prostatakarzinoms nach UICC 2010
Tab.2, S. 13	Grading des Prostatakarzinoms
Tab.3, S. 33	Patientencharakteristika, der an der Studie teilnehmenden Personen
Tab.4, S. 40	Allel Frequenzen
Tab.5, S. 44	Univariate Analyse in Bezug auf die Verbindung zwischen VEGF Genotypen/Haplotypen und den späten Gewebeschäden mit dem Grad ≥ 2
Tab.6, S. 46	Multivariate Analyse in Bezug auf die Verbindung zwischen VEGF Genotypen/Haplotypen und den späten Gewebeschäden mit dem Grad ≥ 2
Tab.7, S. 21	Langzeitergebnisse nach perkutaner Strahlentherapie

Abbildungsverzeichnis

Abb.1, S. 15	Flussdiagramm der Früherkennungsuntersuchung mit PSA und DRU
Abb.2, S. 30	Struktur des VEGF Gens und die Position der ausgewählten Genpolymorphismen
Abb.3, S. 38	Kopplungsungleichgewicht (LD) zwischen VEGF Polymorphismen
Abb .4, S. 41	VEGF -7C>T Polymorphismus und die Entwicklung von rektaler Spättoxizität RTOG Grad ≥ 2 .
Abb. 5, S. 42	Der VEGF ATTGT Haplotyp und die Entwicklung von rektaler Spättoxizität RTOG Grad ≥ 2 .

2. Abkürzungsverzeichnis

ASAP	Atypical small acinar proliferation
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DRU	Digital rektale Untersuchung
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EGF	Epidermal growth factor
EGFR	Epidermal growth factor receptor
EORTC	European Organization for Research and Treatment of Cancer
EPO	Erythropoietin
Gy	Gray, Maßeinheit
HDR	High dose rate
HIF	Hypoxie induzierter Faktor
LDR	Low dose rate
LDR-Brachytherapie	Low dose rate-Brachytherapie
LHRH-Analoga	Luteinisierendes Hormon Releasing-Hormon-Analoga
LHRH-Antagonist	luteinisierendes Hormon Releasing-Hormon-Antagonist
mRNA	Messenger Ribonukleinsäure
PIGF	Placental Growth Factor
PIN	Prostatische intraepitheliale Neoplasie
PSA	Prostata spezifisches Antigen
PSA-Test	Prostata spezifischer Antigen-Test
ROS	Reaktive oxygen spezies
RTOG	Radiation Therapy Oncology Group
SNP	Single nucleotide Polymorphism
sVCAM-1	Soluble vascular cell adhesion molecule-1
TGF-beta	Transforming growth factor-beta
UICC	Union for International Cancer Control
VEGF	Vaskular endothelial growth factor
ZMF	Zentrum für Medizinische Grundlagenforschung

3. Kurzfassung

Bislang gibt es keine verlässlichen Methoden, um PatientInnen mit einem erhöhten Toxizitätsrisiko oder intrinsischer Radioresistenz vor der Therapie zu identifizieren. Somit stellt die Identifikation von genetischen Markern zur Erkennung von PatientInnen mit erhöhter Strahlenempfindlichkeit oder Risiko für ein ungünstiges Radiotherapieansprechen eine große Forschungsaufgabe dar. In der geplanten Studie wurden bei 493 Prostatakarzinompatienten, die eine kurative perkutane 3D konformale Strahlentherapie erhalten haben, Einzelnukleotidpolymorphismen (SNPs) im VEGF Gen analysiert und Zusammenhänge zwischen SNPs und dem Auftreten von radiogenen chronischen Nebenwirkungen sowie dem klinischen Radiotherapieansprechen untersucht.

Während einer medianen Nachbeobachtungszeit von 48 Monaten entwickelten 42 Patienten (8.6%) höhergradige rektale und 47 Patienten (9.6%) urogenitale Nebenwirkungen. Bei 99 Patienten (20.1%) zeigte sich ein biochemisches Rezidiv, und 13 Patienten (2.6%) entwickelten eine Fernmetastasierung. In der statistischen Auswertung zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem VEGF -7C>T Polymorphismus und einem erhöhten Risiko für höhergradige rektale Spätfolgen. Zusätzlich zeigte sich für den ATTGT Haplotyp, bestehend aus fünf vor der kodierenden Sequenz liegenden Polymorphismen, eine signifikante Assoziation mit höhergradiger rektaler Spättoxizität. Keine signifikanten Assoziationen wurden für die übrigen untersuchten Polymorphismen und Haplotypen gefunden. Es zeigten sich auch keine signifikanten Zusammenhänge zwischen den untersuchten Genvarianten und einer Tumorprogression im Sinne eines biochemischen Rezidivs oder Metastasierung.

Die gewonnenen Ergebnisse zeigen, dass VEGF Genvarianten das Risiko für rektale Spätfolgen nach kurativer Radiotherapie des Prostatakarzinoms möglicherweise beeinflussen.

Abstract

Analysis of the association of VEGF polymorphisms with tumor progression and the risk of high-grade adverse reactions after radiotherapy for prostate cancer

Up to now there are no reliable methods to identify patients with a higher risk of severe side effects or intrinsic radioresistance before the start of radiotherapy. Therefore, the identification of genetic markers predictive of radiation response or severe side effects is a big challenge.

In the present study, the association of VEGF gene polymorphisms and haplotypes with high-grade late rectal or urinary toxicity and tumor progression was analyzed using 493 prostate cancer patients who were treated with definitive radiotherapy.

Within a median follow-up time of 48 months, 42 patients (8.6%) developed high-grade late rectal and 47 patients (9.6%) urinary toxicity, respectively. Biochemical recurrence was observed in 99 patients (20.1%), and 13 patients (2.6%) developed distant metastases. Carriers of the VEGF -7C>T polymorphism were at increased risk of high-grade late rectal toxicity, furthermore, the ATTGT haplotype formed by five polymorphisms upstream of the coding sequence demonstrated a significant association with late rectal toxicity grade ≥ 2 . No significant associations were found for the remaining polymorphisms and haplotypes. Additionally, significant associations between the investigated polymorphisms and tumor progression were not found.

The present data suggest that genetic variants in the VEGF gene may influence the risk of high-grade late rectal toxicity after definitive radiotherapy for prostate cancer.

4. Das Prostatakarzinom

4.1. Epidemiologie

Das Prostatakarzinom ist der häufigste aller bösartigen Tumoren beim Mann nach dem 70. Lebensjahr. Weltweit ist die altersstandardisierte Inzidenz des Prostatakarzinoms unterschiedlich. Während in Europa ein Nord-Süd-Gefälle herrscht, wobei im Norden (Schweden) die Inzidenzen bei 90,9 Erkrankten/100.000 Männer und im Süden (Spanien) bei 35,9 Erkrankte/100.000 Männer liegen, findet sich in den USA die weltweit höchste beschriebene Inzidenz mit 124,8 Erkrankten/100.000 Einwohner und dort vor allem in der afroamerikanischen Bevölkerung. [2;3]

Die Mortalität steigt linear mit dem Alter an und hängt des weiteren auch davon ab, in welchem geographischen Gebiet die Männer leben und welcher ethnischen Gruppe sie angehören. [1] Die Mortalität ist in Afrika und Asien signifikant niedriger. Offensichtlich spielen nicht nur genetische Faktoren, sondern auch unbekannte exogene Noxen eine Rolle, denn die Karzinominzidenz liegt bei Asiaten, die nach Amerika ausgewandert sind, höher als in ihren Heimatländern. Das Durchschnittsalter, in dem Männer an einem Prostatakarzinom erkranken, liegt bei 69 Jahren. In den westlichen Industrieländern liegt bei der männlichen Bevölkerung das Risiko im Laufe des Lebens an einem Prostatakarzinom zu erkranken bei 40%, von diesen werden 10% symptomatisch und nur 3% versterben daran.[4]

4.2. Risikofaktoren

4.2.1. Erkrankungsalter

Der größte Risikofaktor an einem Prostatakarzinom zu erkranken, ist das Alter. Untersuchungen bei über 90-Jährigen belegen eine Karzinomhäufigkeit von 70-100%. Hierzu wurden Serienschnitte an Prostatapräparaten angelegt, die dies belegen.[1]

4.2.2. Familiäre Form des Prostatakarzinoms

Die Assoziation zwischen einer positiven Familienanamnese und dem Risiko, an einem Prostatakarzinom zu erkranken, ist durch 2 Metaanalysen belegt.[5;6] Das Risiko ist erhöht, wenn entweder mindestens drei Angehörige betroffen sind, oder mindestens zwei Angehörige unter 55 Jahren an einem Prostatakarzinom erkrankt sind. Ein doppeltes Risiko für die Entwicklung eines PCA haben Männer, die erstgradige Verwandte mit einem Prostatakarzinom haben. [7]

4.2.3. Molekulare Veränderungen

Molekulare Veränderungen spielen in der Entstehung des Prostatakarzinoms eine wichtige Rolle. Eine Mischung von mehreren genetischen Polymorphismen, die einzeln nicht wichtig sind, können in Kombination sehr wohl zu einem Prostatakarzinom führen. Hierzu ist eine Vielzahl von molekularbiologischen Veränderungen angegeben worden: VEGF (Vascular endothelial growth factor), Epidermal growth factor receptor (EGFR), p27 Tumor Suppressor Gen, IGF-1, Aktivierung der PI3/Akt Signaltransduktion, COX-2, Telomerase, p53 Tumor Suppressor Gen, bcl-2, Glutathione-S-Transferase Pi, hochregulierte Angiogenese und sVCAM-1 (soluble vascular cell adhesion molecule-1). [7]

4.2.4. Chronische Entzündung als Prostatakrebsursache

In der Pathogenese des Prostatakarzinoms wird eine nichtandrogen-sensitive Phase von einer androgen-sensitiven Phase unterschieden. In der nichtandrogen-sensitiven Phase werden Karzinogene, O₂-Radikale und bestimmte Mutationen für die Entstehung einer inflammatorischen Atrophie verantwortlich gemacht. Hier

ist der wichtigste Faktor die chronische Entzündungsreaktion. Eine Inaktivierung von bestimmten Genen führt dann zu einer intraepithelialen Neoplasie, und ab diesem Zeitpunkt bezeichnet man die Entwicklung des PCA als androgen-sensitiv. [8]

Diese Theorie stützt die Hypothese, dass sexuell übertragbare Erkrankungen und das Vorliegen einer chronischen Prostatitis mit einem erhöhten Risiko der Prostatakarzinomentstehung verknüpft sind.

4.2.5. Testosteron und Androgenrezeptor

Testosteronwerte in der höchsten Quartile führen zu einem 2,34fach höheren Risiko, an einem Prostatakarzinom zu erkranken. Eine Langzeitbeobachtung (794 Männer) der Baltimore Longitudinal Study of Aging hat ergeben, dass nicht das Gesamttestosteron, sondern das höhere freie Testosteron mit einem erhöhten Erkrankungsrisiko verbunden ist. [9]

4.2.6. Ernährung

Viele Ernährungskomponenten haben Einfluss auf das Prostatakarzinom. Eine schützende Wirkung von Phytoöstrogenen, dort insbesondere Soja [10] und einer lycopenenreichen Kost in Tomaten wurde durch Kohortenstudien und Fall-Kontrollstudien belegt. [11;12]

Ebenfalls Einfluss scheint ein Zuviel an tierischen Fetten, ein zu Wenig an Selen, Fisch und Betacarotin zu haben. Diese Beobachtungen wurden aber bis heute durch wissenschaftliche Studien nicht eindeutig verifiziert. [2]

4.3. Staging des Prostatakarzinoms

Zur Stadieneinteilung wird die UICC 2010 herangezogen.[13], Tabelle 1:

T1	<p>Nicht tastbarer Tumor</p> <p>T1a: Prostatakarzinom in weniger als 5% der Resektionsspäne nach TURP</p> <p>T1b: Prostatakarzinom in mehr als 5% der Resektionsspäne nach TURP</p> <p>T1c: Prostatakarzinom in Stanzbiopsie bei nicht tastbarem Tumor</p>
T2	<p>Tastbarer (auf die Prostata beschränkter) Tumor</p> <p>T2a: Befall von weniger als 50% eines Seitenlappens</p> <p>T2b: Befall von mehr als 50% eines Seitenlappens</p> <p>T2c: in beiden Seitenlappen vorkommender Tumor</p>
T3	<p>Extraprostatisches Tumorwachstum</p> <p>T3a: Durchbruch des Tumors durch die Prostatakapsel</p> <p>T3b: Samenblaseninfiltration</p>
T4	<p>Infiltration von Nachbarorganen: Harnblase, Rektum, Schließmuskel oder Beckenwand</p>
N	<p>Lymphknotenbefall</p> <p>N0: kein Lymphknotenbefall</p> <p>N1: regionärer Lymphknotenbefall</p>
M	<p>Vorliegen von Metastasen</p> <p>M0: keine Fernmetastasen</p> <p>M1a: Nachweis von extraregionären Lymphknotenmetastasen</p> <p>M1b: Knochenmetastasen</p> <p>M1c: weitere Fernmetastasen</p>

Als lokal begrenztes Prostatakarzinom werden die Stadien T1-2 N0 M0 zusammengefasst.

Das lokal fortgeschrittene Prostatakarzinom besteht aus den Stadien T3-4 N0 M0. Als das fortgeschrittene bzw. metastasierte Prostatakarzinom bezeichnet man die Stadien N1-3 und/oder M1.[17]

Im Hinblick auf die Entwicklung eines Rezidives wird das lokal begrenzte Prostatakarzinom in 3 Risikogruppen eingeteilt:[17]

Niedriges Risiko: PSA \leq 10ng/ml und Gleason Score \leq 6 und cT-Kategorie 1c oder 2a

Mittleres Risiko: PSA > 10ng/ml bis 20 ng/mL oder Gleason-Score 7 oder cT-Kategorie 2b.

Hohes Risiko: PSA > 20 ng/mL oder Gleason-Score \geq 8 oder cT-Kategorie \geq 2c

4.4. Grading

Für das Grading des Prostatakarzinoms hat sich das Gleason-Grading (Gleason-Score) durchgesetzt. Die Grundlage des Gleason Score liegt in der Beurteilung der Drüsenmorphologie bei relativ geringer Vergrößerung. Es werden der häufigste und der zweithäufigste Drüsentyp beurteilt (Gleason-Pattern). Aus beiden Gleason-Pattern wird der Gleason-Score gebildet. Das Ergebnis des Gleason Score korreliert gut mit der Prognose des Tumors, und wird auch für die weitere Planung der Behandlung verwendet. [1; 2]

Gleason-Grad 1	Hochdifferenziertes Adenokarzinom, das sich nur durch die gestörte Drüsenarchitektur vom normalen Prostatagewebe unterscheidet
Gleason-Grad 2	Zeigt etwas kleinere Drüsen, die aber noch immer einen umschriebenen Herd bilden. Bis auf kleine Nukleolen gibt es keine zytologischen Atypien. Gleason 1 und Gleason 2 sind Karzinome der transitionalen Zone.
Gleason-Grad 3	Ist ein mäßig differenziertes Adenokarzinom. Es ist aus kleinen, ungleichmäßig strukturierten Drüsen aufgebaut, die diffus das umgebende Gewebe infiltrieren.
Gleason-Grad 4	Hier ist eine Fusion der kleinen Drüsen und das kribriforme Muster charakteristisch.
Gleason-Grad 5	Drüsenherkunft ist nicht mehr erkennbar. Hierbei handelt es sich um ein anaplastisches Karzinom, das in Strängen oder intraduktal komedoartig wächst. Die Karzinomzellen sind sehr polymorph, besitzen oft ein basophiles Zytoplasma.

Tabelle 2: Grading des Prostatakarzinoms

4.5. Früherkennung des Prostatakarzinoms

1. Digital rektale Untersuchung
2. Prostata-spezifisches Antigen-Test (PSA-Test)

Ab dem 45. Lebensjahr sollte mit den Früherkennungsuntersuchungen mit jährlichem Intervall begonnen werden. Hat der Patient ein hohes Risiko an einem Prostatakarzinom zu erkranken, sollte die Früherkennung mit dem 40. Lebensjahr beginnen.

Digital rektale Untersuchung:

Die Sensitivität der digital rektalen Untersuchung für das lokalisierte Prostatakarzinom ist nur sehr gering und somit als alleiniges Früherkennungsdiagnostikum nicht geeignet.[2]

PSA:

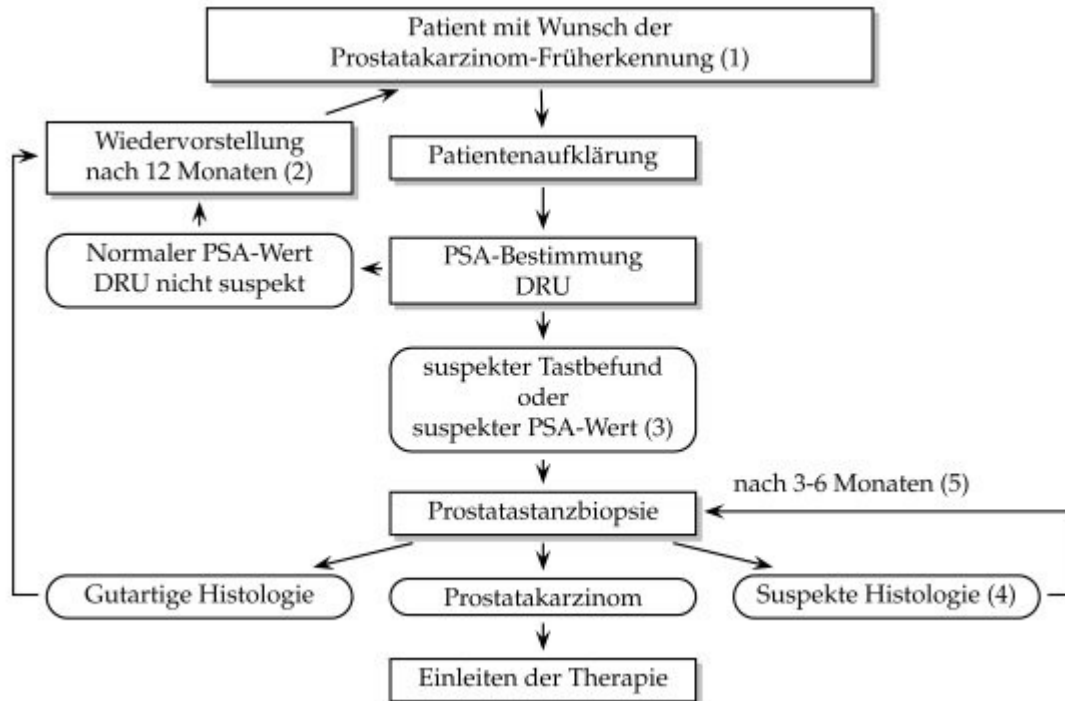
Die Karzinomzellen sezernieren ein prostataspezifisches Antigen (PSA), das im Serum der Patienten nachgewiesen werden kann. Das PSA ist eine 34kD schwere Serin-Protease, welches für die Verflüssigung des Ejakulats zuständig ist.[1]

Bei einem PSA unter 2ng/ml und einer unauffälligen digital rektalen Untersuchung (DRU), können die Intervalle der Untersuchung je nach PSA-Wert auf bis zu 2-4 Jahre verlängert werden,. [2]

Derzeit kann man allerdings nicht eindeutig belegen, dass die Durchführung eines PSA-gestützten Screenings und die damit verbundenen Risiken diagnostischer und therapeutischer Konsequenzen, durch eine Lebensverlängerung aufgewogen werden. [14]

PSA-Grenzwerte: Der PSA-Grenzwert liegt bei 4ng/ml, liegt der Wert darüber, wird eine Stanzbiopsie empfohlen.[15]

Abbildung 1: Flussdiagramm der Früherkennungsuntersuchung mit PSA und DRU:
[62]



Ad (1): Das Alter der Patienten liegt zwischen 45-75 Jahren, wenn der Patient familiär vorbelastet war, beträgt das Alter 40 Jahre.

Ad (2): Die Wiedervorstellung kann auf ein Intervall von 2 Jahren verlängert werden, wenn der PSA-Wert unter 2ng/ml liegt. Liegt der PSA-Wert <1ng/ml ist eine Wiedervorstellung auch nach 3-4 Jahren möglich.

Ad (3): Als suspekt zu werten sind Werte >4ng/ml, bzw. eine PSA Erhöhung von > 0,75ng/ml pro Jahr.

Ad (4): Dem entspricht ein High Grade PIN und atypical small acinar proliferation (ASAP).

Ad (5): Nach 3-6 Monaten ist eine erneute Prostatastanzbiopsie vorgesehen.

4.6. Diagnostik des Prostatakarzinoms

Eine Prostatabiopsie ist bei Vorliegen von mindestens einem der folgenden Kriterien empfohlen:[16]

- Kontrollierter PSA-Wert von mehr als 4ng/ml bei der erstmaligen Konsultation
- Bei einem auffälligen PSA Anstieg (wenn kein Wechsel des Bestimmungsverfahrens stattgefunden hat)
- Wenn bei der digitalen rektalen Untersuchung ein karzinomverdächtiges Ergebnis aufgetreten ist.

Eine Knochenszintigraphie sollten jene Patienten erhalten, die ein histologisch gesichertes Prostatakarzinom aufweisen, und deren PSA-Wert mehr als 10ng/ml oder der Gleason-Score 8 beträgt. [18] Diese dient als Screeningmethode für mögliche Knochenmetastasen des Prostatakarzinoms.

4.7. Therapiemöglichkeiten des Prostatakarzinoms

4.7.1. Watchful Waiting

Watchful Waiting (Beobachten und Abwarten) kann angewendet werden bei:[29]

- Einer Lebenserwartung < 10-15 Jahren
- Tumor T1-T4
- Gleason-Score < 7
- Beliebigen PSA-Werten

4.7.2. Active Surveillance

Active Surveillance (aktives Beobachten) hat die Aufgabe, unter genauer Beobachtung einschließlich Kontrollbiopsien die kurative Behandlung so lange aufzuschieben, bis sich die Tumorbilogie oder der Wunsch des Patienten ändert.[28]

Für das Durchführen der Active Surveillance Strategie sollten folgende Faktoren gegeben sein: [27]

- PSA-Wert $\leq 10\text{ng/ml}$
- Gleason-Score ≤ 6
- Tumor in ≤ 2 Stenzen
- T1c und T2a
- $\leq 50\%$ Tumor in einer Stanze

Um den Tumor richtig beobachten zu können, muss man in den ersten beiden Jahren alle drei Monate den PSA-Wert bestimmen und eine DRU durchführen. Wenn sich der PSA-Wert innerhalb von drei Jahren verdoppelt, oder der Gleason-Score >7 wird, ist ein therapeutisches Agieren mit kurativer Zielsetzung notwendig.[27]

4.7.3. Radikale Prostatektomie

Bei der Durchführung einer radikalen Prostatektomie kommen verschiedene Operationsverfahren in Frage:

- retropubisch
- perineal
- laparoskopisch (intra- oder extraperitoneal)
- Roboter-assistiert (intra- oder extraperitoneal)

Der Goldstandard der kurativen Therapie bei einem lokalisiertem Prostatakarzinom ist die radikale Prostatektomie. Diese Form der Therapie sollte vor allem bei Patienten gewählt werden, bei denen mit großer Sicherheit eine R0-Resektion erreicht werden kann. [19]

Nervenerhaltende Prostatektomie:

Ein Ziel der radikalen Prostatektomie ist der Erhalt der erektilen Funktion. Diese kann durch die intraoperative Schonung der Nervi cavernosi erhalten werden.

Die nervenerhaltende Prostatektomie kann mit einem erhöhten Risiko für eine R1-Resektion verbunden sein. Daher gelten folgende Faktoren als Kontraindikationen für das nervenerhaltende operative Verfahren : [20]

- Ein hohes Risiko für extrakapsuläres Wachstum
- Gleason-Score > 7
- Mehr als eine positive Biopsie mit Gleason-Score ≥ 7 auf der ipsilateralen Seite

Beim lokal begrenzten Prostatakarzinom ist das Ziel der radikalen Prostatektomie die Heilung, das heißt Tumorfreiheit bis ans Lebensende unter Erhaltung der Harnkontinenz und der erektilen Funktion.

Prognose

Aus dem pathologischen Befund ergeben sich verschiedene Prognosefaktoren:

- Gleason-Graduierung
- Befall der Schnittränder
- Extraprostatisches Wachstum
- Vorhandensein von Lymphknotenmetastasen

Nach einer radikalen Prostatektomie tritt 4-70% ein biochemisches Rezidiv auf. Ausschlaggebend dafür sind die erwähnten pathologischen Risikofaktoren.[2]

4.7.4. Perkutane Strahlentherapie

Beim lokal begrenzten Prostatakarzinom stellt die perkutane Strahlentherapie eine primäre Therapieoption dar.

Aktuelle Standardtechnik in der perkutanen Strahlentherapie ist die 3D-Konformationsstrahlentherapie. Von großer Bedeutung dabei ist eine genaue Lagerung des Patienten mit einer exakten Repositionierung bei den Bestrahlungen [21].

Die 3-D- konformale Strahlentherapie basiert auf einem 3-D-CT-Datensatz des Patienten in Behandlungsposition. Im CT- Datensatz werden die Zielvolumina und die angrenzenden Risikoorgane (Rektum, Harnblase) konturiert. Bei der perkutanen Radiotherapie des Prostatakarzinoms wird als klinisches Zielvolumen (CTV) die Prostata +/- Samenblasen definiert. Das Planungszielvolumen (PTV) beinhaltet das CTV mit einem Sicherheitssaum von 1cm. Anschließend wird die geeignete Bestrahlungstechnik gewählt und die Strahlenfelder und Feldgrößen festgelegt. Zur individuellen Anpassung der Strahlenfelder an die Form der Zielvolumina kommen Multileaf Kollimatoren (MLC) zur Anwendung. Dadurch wird ermöglicht, dass angrenzende Organe optimal geschont werden. Schließlich wird die 3-D-Dosisverteilung berechnet und optimiert.

Bei der perkutanen Strahlentherapie liegt eine Dosis-Wirkungs-Beziehung vor. Im Falle der kurativen Strahlentherapie des Prostatakarzinoms sollte eine Gesamtdosis von zumindest 70 Gy appliziert werden. Allerdings steigt auch die strahlenbedingte Nebenwirkungsrate steigt bei Dosen über 70 Gy deutlich an. Neuerungen in der perkutanen Radiotherapie stellen die intensitätsmodulierte Radiotherapie (IMRT) und die volumetric intensity modulated arc radiotherapy (VMAT) dar.

Im Unterschied zur 3D-Konformationsstrahlentherapie, welche homogene Strahlenfelder ausweist, kann der Querschnitt des Strahlenfeldes bei der Intensitäts-modulierten Radiotherapie inhomogen in der Stärke reguliert werden. Der Vorteil liegt darin, dass Dosisescalationen bis 90Gy bei einem tolerierbaren Nebenwirkungsprofil vorgenommen werden können, denn in prospektiv-randomisierten Studien konnte ein klarer Zusammenhang zwischen einer

dosisabhängigen Wirkung der perkutanen Strahlentherapie und dem rezidivfreien Überleben nachgewiesen werden. Nachteil dieser neuen Techniken ist allerdings der relativ hohe technische und personelle Aufwand.[60]

Nebenwirkungen der perkutanen Strahlentherapie

In der Strahlentherapie werden die Nebenwirkungen in Akut- und Spätnebenwirkungen eingeteilt. Akutnebenwirkungen treten während der ersten 3 Monate ab Beginn der Bestrahlung auf. Spätnebenwirkungen nach mehr als 90 Tagen nach Beginn der Therapie auf.

Als Akutnebenwirkung kann nach Bestrahlung ein Strahlenkater und Müdigkeit entstehen. Darüber hinaus sind lokale Hautreaktionen sowie akut entzündliche Reaktionen an Blase und Rektum möglich. Diese sind gekennzeichnet durch dysurische Beschwerden, gesteigerten Harndrang bzw. gesteigerten Stuhldrang oder Brennen bei der Defäkation, wohingegen Durchfälle selten vorkommen. Schwerwiegende akute Nebenwirkungen an Rektum und Harnblase mit der Notwendigkeit eines Therapieabbruchs sind sehr selten.

Spätnebenwirkungen an Darm und Blase werden nach dem Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) Score folgendermaßen klassifiziert: [60]

Gastrointestinaltrakt:

Grad 1: unter 5 Stühle pro Tag, geringer Blut- oder Schleimabgang, geringe Bauchkrämpfe

Grad 2: reduzierte Stuhlkonsistenz und mehr als 5 Stühle pro Tag, Bauchkrämpfe, viel Schleim und zeitweiliger Blutabgang

Grad 3: massiv vermehrte wässrige Stühle, operationsbedürftige Stenosen, transfusionspflichtige Blutungen

Grad 4: Perforationen, Nekrosen, Fisteln, lebensbedrohliche Blutungen

Urogenitaltrakt:

Grad 1: Mikrohämaturie, geringe Schleimhautatrophie und Teleangiektasien

Grad 2: Pollakisurie, Makrohämaturie, zahlreiche Teleangiektasien

Grad 3: schwere Pollakisurie, schwere Dysurie, Hämaturie, Harnblasenkapazität unter 150ml

Grad 4: Perforationen, Fisteln, schwere hämorrhagische Zystitis, Harnblasenkapazität unter 100ml

Prognose

Wesentliche Prognosefaktoren nach Radiotherapie des Prostatakarzinoms sind der PSA- Wert zum Zeitpunkt der Diagnosestellung, histologisches grading bzw. Gleason Score sowie das T- Stadium. Nach perkutaner Strahlentherapie des Prostatakarzinoms werden folgende Überlebensraten angegeben:

Tumorstadium	5 Jahre Überlebensrate	10 Jahre Überlebensrate	15 Jahre Überlebensrate
Gleason 2-6+T1-2	96%	86%	72%
Gleason 2-6+T3	94%	75%	61%
Gleason 7+T1-2	94%	75%	61%
Gleason 7+T3	83%	62%	39%
Gleason 8-10+T1-2	83%	62%	39%
Gleason 8-10+T3	64%	34%	27%

Tabelle 7, Langzeitergebnisse nach perkutaner Strahlentherapie [57]

4.7.5. Brachytherapie

Zur Behandlung des Prostatakarzinoms kann sowohl die permanente als auch die temporäre Brachytherapie zur Anwendung kommen.

Interstitielle Brachytherapie mit Permanentstrahlern:

Beim lokal begrenzten Prostatakarzinom mit niedrigem Risikoprofil stellt die Permanentimplantation von kleinen ummantelten Strahlenquellen (seeds) eine primäre Therapieoption dar.[18]

Am besten für die Therapie geeignet sind Patienten mit einem PSA-Wert unter 10ng/ml, einem Gleason-Score unter 7 und einem cT1 bis cT2 Tumor.

In der Mitte der 1990er Jahre hat sich die Implantation von Jod-125 bzw.

Palladium-103 zuerst in den USA, und dann in Europa rasch verbreitet.

Derzeit kommen als Strahlenquelle in erster Linie Jod-125 bzw. Palladium-103 zum Einsatz, seltener Gold-198. [2]

Die Grundlage für die Planung der Seedsimplantation ist die Abbildung und Vermessung der Prostata in horizontalen Schichten. Dann wird für die gewünschte Strahlendosis eine Seedsverteilung ermittelt und die Strahlendosis für Harnröhre und Rektum errechnet. Die Seeds werden unter transrektaler Ultraschallkontrolle transperineal implantiert. Als hervorragende Implantation gilt das Erreichen von 100% der Verschreibungsdosis auf mindestens 90% des Prostatavolumens. [22] Vier bis sechs Wochen nach der Implantation, sollte im Rahmen der Qualitätskontrolle eine Computertomographie gemacht werden.

Interstitielle Brachytherapie im Afterloading Verfahren mittels temporärer Strahler:

In Kombination mit der perkutanen Strahlentherapie ist sie beim lokal begrenzten und lokal fortgeschrittenen Prostatakarzinom eine primäre Therapieoption. [23] Bei der Afterload-Technik wird in erster Linie Iridium 192 verwendet.

Die Einbringung der temporären Strahler in die Prostata erfolgt häufig in 2 Sitzungen. Allerdings hat sich noch kein Dosierungsschema durchgesetzt. Ähnlich wie bei der LDR-Brachytherapie wird die Dosisverteilung in der Prostata errechnet. Durch ein ferngesteuertes Afterload-Gerät wird die hoch-radioaktive

Strahlenquelle einzeln in die Prostata eingebracht. Insgesamt beträgt die Bestrahlungsdauer etwa 10 Minuten.[2]

Prognose

Prognosefaktoren für ein rezidivfreies Überleben sind:

- Strahlendosis von 90% des Zielgewebes
- Gleason Score
- PSA-Wert
- Anzahl der positiven Biopsien

Bei der LDR-Brachytherapie liegt das rezidivfreie Überleben bei einem niedrigem Risiko bei 89%, bei mittlerem Risiko bei 78% und bei einem hohen Risiko bei 63%. [58]

4.7.6. Hormontherapie

Eine Hormontherapie wird bei einer PSA-Verdopplungszeit von weniger als 3 Monaten, symptomatischer lokaler Progression und bei nachgewiesenen Fernmetastasen empfohlen.[24]

Hauptsächlich erfolgt die hormonelle Therapie durch Kastration, entweder operativ oder medikamentös oder über die Gabe von Antiandrogenen. Seltener werden Östrogene eingesetzt.

Für die antiandrogene Therapie stehen nicht-steroidale Androgenrezeptorantagonisten wie Flutamid und Bicalutamid zur Verfügung, die medikamentöse Kastration erfolgt mittels LHRH-Analoga wie Goserelin und Leuprorelin sowie LHRH-Antagonisten (Degarelix).[2]

Nebenwirkungen der Hormontherapie: [20]

Kastration:

- Libidoverlust
- Erektile Dysfunktion
- Hitzewallungen, treten bei 55-80% aller Patienten unter Therapie auf
- Gynäkomastie und Brustschmerz
- Zunahme des Körperfetts
- Reduktion der Körperdichte
- Muskelabbau

Östrogene:

- Hier liegt eine Erhöhung des Risikos für ein kardiovaskuläres Ereignis vor, z.B.: chronische Herzinsuffizienz, akuter Myokardinfarkt, tiefe Venenthrombose, Lungenembolie

Steroidale Antiandrogene:

- Libidoverlust
- Erektile Dysfunktion

Nichtsteriodale Antiandrogene:

- Bei 49-66% tritt eine Gynäkomastie auf
- Brustschmerz
- Hitzewallungen

Prognose

Nicht eindeutig zu belegen ist, ob eine Hormontherapie bei symptomlosen Metastasen das Überleben verlängert.

Überlebensrate beim metastasierten Prostatakarzinom:[59]

- 5 Jahre Überlebensrate:77%
- 5-10 Jahre Überlebensrate: 16%
- >10 Jahre Überlebensrate: 7%

Natürlich ist es möglich und üblich, die Hormontherapie in Kombination mit einer Strahlentherapie anzuwenden. In mehreren randomisierten Studien konnte belegt werden, dass die neo-adjuvante und bei ungünstiger Risikosituation adjuvante Hormontherapie in Kombination mit perkutaner Strahlentherapie einen Überlebensvorteil für die Patienten bringt. [60]

4.7.7. Chemotherapie

Eine Chemotherapie kann Patienten mit asymptomatischer fortschreitender Erkrankung unter Androgendeprivation angeboten werden, wenn der PSA sehr schnell ansteigt, eine Progression in der Bildgebung vorhanden ist oder bei dringendem Behandlungswunsch des Patienten gekoppelt mit raschem PSA Anstieg ist. [25]

Bei symptomatischer fortschreitender Erkrankung unter einer medikamentösen Kastration, sollte eine zytostatische Therapie begonnen werden. Diese beinhaltet Docetaxel 75mg/m² Körperoberfläche alle drei Wochen in Kombination mit Prednisolon 5mg zweimal täglich. [26]

Die Chemotherapie ist gegenüber der Therapie mit antihormonellen Substanzen oder Steroiden mit mehr Nebenwirkungen vergesellschaftet.

Nebenwirkungen [2]

- Übelkeit und Erbrechen
- Allergie: Docetaxel kann schwere Hypersensitivitätsreaktionen hervorrufen
- Neutropenie/Infektionen
- Thrombozytopenie
- Anämie
- Diarrhoe
- Mukositis
- Ödeme
- Neuropathie

Prognose

Klinische Studien haben gezeigt, dass beim Hormon-refraktären Prostatakarzinom durch die Anwendung der Chemotherapie eine mediane Überlebensrate von 12-18 Monaten erreicht wird. Dieses Ergebnis ist durch die Patientenselektion erklärbar, da erst Patienten in einem fortgeschrittenen Stadium oder einem progredienten Stadium eine Chemotherapie erhalten.[2,63]

5. VEGF

5.1. Definition und Wirkung des Vascular endothelial growth factor

Vascular endothelial growth factor (VEGF) ist ein Homodimer von 34 bis 42 kDA, ein Heparin bindendes Glykoprotein, das stark gefäßbildend und mitogen ist und die vaskuläre Permeabilität steigert. Hauptwirkungsort sind die Endothelzellen. In in vitro Versuchen hat sich gezeigt, dass VEGF die Teilung und Migration von Endothelzellen stimuliert.

VEGF aktiviert die Phospholipase C und bewirkt einen raschen Anstieg von Kalzium 2+Ionen, die frei im Zytoplasma vorkommen. Weiters stimuliert es den von Willebrand Faktor, der von Endothelzellen freigesetzt wird sowie die Aktivität des Tissue factors in Endothelzellen und Monozyten. Es hat sich außerdem gezeigt, dass VEGF chemotaktisch für Monozyten und Osteoblasten wirkt [31]. In vivo induziert VEGF die Angiogenese und bewirkt eine Erhöhung der mikrovaskulären Permeabilität. Er wirkt direkt auf das Endothel, degranuliert Mastzellen und fördert das Ausscheiden von Plasmafibrinogen. Dies führt zu Fibrinablagerungen, welche in weiterer Folge die extrazelluläre Matrix des Tumors verändert. Diese veränderte extrazelluläre Matrix bewirkt in weiterer Folge das Einwandern von Fibroblasten, Makrophagen und Endothelzellen [31].

Durch diese in vitro und in vivo Erkenntnisse lässt sich auf eine wichtige Rolle des VEGF bei Entzündungen, bei Wundheilung und beim Wachstum und Metastasieren von soliden Tumoren schließen [31].

Unter VEGF ist eine Familie von Proteinen zusammengefasst, die unterschiedliche Eigenschaften haben. VEGF-A ist als erstes entdeckt worden, wird beim Erwachsenen in fast allen vaskulären Geweben gefunden und ist vermutlich für die vaskuläre Homöostase verantwortlich. Weiters unterscheidet man VEGF-B sowie VEGF-C und VEGF-D. Die beiden letzteren sind für die Bildung von Lymphgefäßen wichtig. Auch der PlGF (Placental Growth Factor) wird der Familie des VEGFs zugeschrieben [41].

Jeder dieser Faktoren benötigt für seine Wirkung einen spezifischen Rezeptor. Dabei handelt es sich um Tyrosinkinasen (VEGFR-1 und VEGFR-2).[38]

5.2. VEGF und Prognose

Es hat sich gezeigt, dass VEGF in bestimmten Tumorgeweben überexprimiert wird. Beim Prostatakarzinom zeigt sich, dass das Vorhandensein einer Überexpression mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für Tumorprogression und einer ungünstigen Prognose verbunden ist. [33].

Die Strahlentherapie des Prostatakarzinoms stellt eine primäre Therapieoption dar. Dabei sollte ein möglichst großer Teil der Tumorzellen zerstört und möglichst wenige gesunde Zellen geschädigt werden. Es hat sich gezeigt, dass eine VEGF-Überexpression in der späten Phase der Strahlenreaktionen in Zusammenhang mit vermehrter Fibrosierung steht. Diese Fibrosierung bewirkt ein weiteres Ansteigen des VEGF wodurch das Auftreten von chronischen Strahlenfolgen gefördert wird. [32]

5.3. Stimulation der Expression des VEGF

Die Expression von VEGF wird in erster Linie durch Hypoxie stimuliert, darüber hinaus wird die VEGF Expression durch verschiedene Zytokine und Wachstumsfaktoren gesteuert.

5.3.1. Hypoxie

Unter Hypoxie versteht man die Unterversorgung eines Gewebes mit Sauerstoff. Beim Menschen bewirkt eine Hypoxie nicht nur die Expression von VEGF, sondern auch von z.B.: HIF 1alpha. Diese Faktoren werden auch als Hypoxie Antwortgene bezeichnet.[34]

5.3.2. Zytokine

Zytokine sind eine Gruppe von Glykoproteinen. Sie regulieren das Wachstum und die Differenzierung von Zellen. Diese Gruppe von Peptiden bewirkt oder reguliert die Proliferation und Differenzierung von Zielzellen.[64]

Die Expression von VEGF wird unter anderem durch den transforming growth factor- beta (TGF- β) über das Smad3 Signal stimuliert. Bei TGF- β handelt es sich um ein Schlüsselzytokin im Prozess der zunehmenden Fibrosierung von Geweben. [36]

Diese TGF-Beta assoziierte VEGF Produktion könnte als autokriner Stimulus wirken und Einfluss auf die durch Strahlentherapie bewirkte Fibrose haben.[37]

5.3.3. Wachstumsfaktoren

Unter Wachstumsfaktoren versteht man verschiedene Proteine. Einige von ihnen wirken fördernd auf Zellproliferation und Zelldifferenzierung, indem sie die Umbildung von Vorläufer- und Stammzellen zu somatischen Zellen bewirken.[64]

Wichtige Wachstumsfaktoren sind Plateled Derived Growth Factor (PDGF), Epidermal Growth Factor (EGF), Erythropoietin (EPO), Granulocyte Colony Stimulating Factor.

5.4. Genvarianten des VEGF

Polymorphismen sind Veränderungen in der DNA, die bei mehr als 1% der Gesamtbevölkerung auftreten (*Mutationen* < 1%) und die Funktionen von Proteinen (Reparaturenzyme, Wachstumsfaktoren, Entgiftungsenzyme, etc.) verändern bzw. beeinträchtigen können.[35]

Einzelnukleotidpolymorphismen (Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs) beinhalten eine Vielzahl an Variationen von einzelnen Basenpaaren innerhalb eines DNA-Stranges. Sie sind verantwortlich für ca. 90% aller genetischen Variationen innerhalb des menschlichen Genoms. Desweiteren ist festzuhalten, dass sie nicht gleichmäßig auftreten, sondern ungleichmäßig in verschiedenen Regionen [35].

Polymorphismen entstehen durch Mutationen innerhalb des Genoms. Man unterscheidet verschiedene Arten von Genmutationen:

Punktmutation durch Substitution: Hierbei findet der Austausch einer einzelnen Base statt. Dies kann entweder der Austausch einer Purinbase gegen die andere (oder einer Pyrimidinbase gegen die andere), oder der Austausch einer Purinbase gegen eine Pyrimidinbase und umgekehrt sein.

Deletionmutation durch Deletion: Bei der Deletion kommt es zum Verlust von einer oder mehrerer Basen. Dabei kann es zu einer Leserasterverschiebung kommen.

Insertionsmutation durch Insertion: Bei dieser Art der Mutation werden Sequenzen in die DNA zusätzlich eingebaut. Zu einer Leserasterverschiebung kommt es nur dann, wenn nicht ganze Tripletts eingebaut werden.

Duplikationsmutation durch Duplikation: Diese treten dann auf, wenn während des Crossing over ein Ungleichgewicht entsteht. Sie können zwischen homologen Chromosomen oder zwischen Schwesterchromatiden entstehen [35,40].

Auch innerhalb des VEGF-Gens wurde eine Vielzahl von genetischen Varianten nachgewiesen. Einige davon wurden in Zusammenhang mit dem Prostatakarzinomrisiko und Progression des Prostatakarzinoms in Verbindung gebracht. [33].

Für die vorliegende Studie wurden folgende sieben Polymorphismen im VEGF Gen ausgewählt und analysiert:

1. -2578C>A (rs699947)
2. -2489C>T (rs1005230)
3. -1498C>T (rs833061)
4. -634G>C (rs2010963)
5. -7C>T (rs25648)
6. 936C>T (rs3025039)
7. 1612G>A (rs10434)

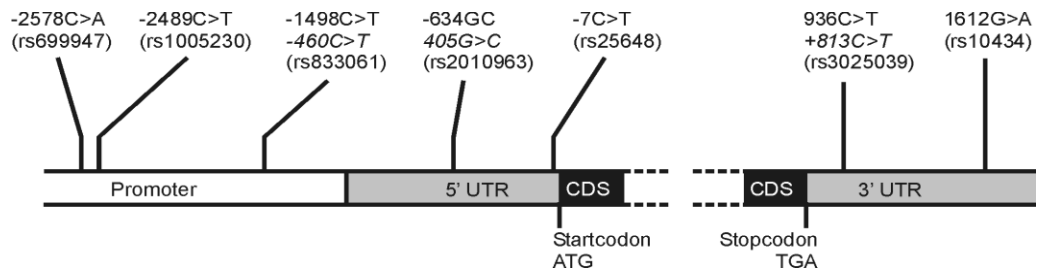


Abbildung 2. Struktur des VEGF Gens und die Position der ausgewählten Genpolymorphismen [61]

6. Ziel der Arbeit

Das Ziel der vorliegenden Studie war die Analyse der Assoziation von oben angeführten VEGF Polymorphismen mit Strahlentherapieansprechen und dem Risiko für höhergradige Nebenwirkungen bei Prostatakarzinompatienten.

Durch die radikale Prostatektomie und die Strahlentherapie haben Patienten in frühen Tumorstadien eine sehr gute Aussicht auf Heilung. Die Bestrahlung sollte möglichst effektiv Tumorgewebe zerstören, wobei auf der anderen Seite das umliegende gesunde Gewebe geschont werden sollte. Die 3D-konformale Radiotherapie, wie sie an der Universitätsklinik für Strahlentherapie-Radioonkologie Graz zur Anwendung kommt, gilt derzeit als Standard in der radioonkologischen Behandlung des Prostatakarzinoms. Idealerweise werden in dieser 3D-Radiotherapie für ein definiertes Tumolvolumen individuell abgestimmte Bestrahlungsfelder verwendet. Obwohl die meisten Patienten diese Art der Therapie gut vertragen, kommt es bei ca. 10% aller Patienten zu höhergradigen chronische Nebenwirkungen an Rektum oder Harnblase.

Warum es derartige interindividuelle Unterschiede in der Empfindlichkeit gegenüber der Strahlentherapie gibt, ist bisher weitgehend noch nicht erklärt. Daher wird in klinischen Studien versucht, mit Hilfe von Biomarkern jene Patienten zu identifizieren, die eine erhöhte Strahlenempfindlichkeit oder eine Strahlenresistenz ausweisen.

Einer dieser möglichen Biomarker stellt VEGF dar. Wie in der Einleitung erwähnt handelt es sich um einen zentralen Regulator der Gefäßpermeabilität und der Gefäßneubildung [38]. Beides ist assoziiert mit Tumorwachstum und Metastasierung.

Ein erhöhter VEGF-Plasmaspiegel wird mit Fortschreiten und Metastasierung des Prostatakarzinoms in Verbindung gebracht. Weiters wurde ebenfalls eine Erhöhung im Rahmen der späten Strahlenreaktionsphase in Normalgeweben beobachtet, d.h. wenn Patienten chronische Strahlenfolgen entwickelten. Wie oben dargestellt, gibt es eine Vielzahl von VEGF-Genvarianten und in der hier

vorgestellten Studie soll untersucht werden ob die oben genannten Polymorphismen im VEGF-Gen das Risiko für die Entwicklung von höhergradigen Nebenwirkungen nach Ablauf der Strahlentherapie beeinflussen oder aber Einfluss nehmen auf das Ansprechen nach kurativer Strahlentherapie des Prostatakarzinoms.

6.1. Teilnehmer an der Studie

Um den Einfluss von genetischen Varianten auf Strahlentherapieansprechen oder auf das Auftreten von höhergradigen Nebenwirkungen nach Strahlentherapie des Prostatakarzinoms zu untersuchen, wurden zwischen 2004 und 2007 an der Universitätsklinik für Strahlentherapie-Radioonkologie Graz 707 Prostatakarzinompatienten rekrutiert. Selbstverständlich gaben alle Teilnehmer zuvor ihr schriftliches Einverständnis dafür. Jedem Teilnehmer wurde eine EDTA-Blutprobe entnommen, die ca. 5ml Blut enthielt. Die so gesammelten Röhrchen wurden mit Kennnummern versehen und tief gefroren. Danach wurde die DNA isoliert und auf Polymorphismen analysiert.

Von diesen 707 Patienten konnten 493 in diese Studie eingeschlossen werden. Diese Patienten mit histologisch gesicherten Prostatakarzinomen wurden einer definitiven 3D-geplanten Konformationsstrahlentherapie an der Universitätsklinik Strahlentherapie-Radioonkologie Graz unterzogen. Die aus der Studie ausgeschlossenen Patienten, erhielten entweder eine adjuvante Strahlentherapie oder wurden palliativ bestrahlt. Alle Teilnehmer der Studie waren Kaukasier. In weiterer Folge wurden folgende klinische Daten mit Hilfe von Fragebögen erhoben und elektronisch archiviert: PSA-Wert bei Diagnosestellung und bei Strahlentherapiebeginn, Tumorstadium und histologisches Grading, Alter bei Diagnosestellung und Informationen bezüglich des Lebensstil und einer etwaigen neo-adjuvanten oder adjuvanten Hormontherapie.

Tabelle 3, Patienten Charakteristika

Patienten Charakteristika	
n	493
Alter zu Beginn der Strahlentherapie	69,6 ± 5,9
PSA bei Erstdiagnose	14,7 ± 21,4
Stadium	
T1/T2	298 (62,9%)
T3/T4	176 (37,1%)
Grad	
1-2	362 (73,4%)
3	128 (26%)
Neo-adjuvante Hormontherapie	
Ja	404 (81,9%)
Nein	89 (18,1%)
Adjuvante Hormontherapie	
Ja	109 (22,1%)
Nein	384 (77,9%)
Orale Antikoagulation	
Ja	168 (34,1%)
Nein	325 (65,9%)
Raucher	
Ja	26 (5,3%)
Nein	467 (94,7%)
Diabetes mellitus	
Ja	62 (12,6%)
Nein	431 (87,4%)
Mittlere rektale Dosis (Gy)	36,8 ± 8,0
Mittlere V70 Rektum (ccm)	0,9 ± 3,9
Mittlere Dosis der Blase (Gy)	35,1 ± 11,7
Mittlere V70 Blase (ccm)	7,5 ± 9,0

6.2. Art der Strahlentherapie

Als klinisches Zielvolumen wurden Prostata +/- Samenblasen definiert. Das Planungszielvolumen beinhaltete das klinische Zielvolumen mit einem Sicherheitssaum von 1cm. Die Bestrahlung mit hochenergetischen Photonen (X18) erfolgte nach 3-D-Bestrahlungsplanung mittels einer 3- Feldertechnik (einem anterioren und zwei seitlichen Strahlenfeldern). Die Gesamtdosis betrug zwischen 70-70,4 Gy bei Einzeldosen von 1,8-2Gy. Die Bestrahlungen erfolgten 5x / Woche. Bei keinem der Patienten erfolgte die Bestrahlung der regionären Beckenlymphknoten. Zur Beurteilung der Dosisverteilung in Rektum und Harnblase bzw. zur Erstellung von Dosis-Volums-Histogrammen wurden Rektum und Harnblase im Planungs-CT-Datensatz konturiert. Das Rektum wurde dabei als solides Organ von Anus bis zum rektosigmoidalen Übergang eingezeichnet, die Blase ebenfalls als solides Organ.

Das mittlere Alter der Patienten betrug zu Beginn der Strahlentherapie 69,6 Jahre. 404 Patienten erhielten eine neo-adjuvante Hormontherapie, während 109 Patienten adjuvant mit Hormonen betreut wurden.

6.3. Verlauf der Studie

Nach Beendigung der Radiotherapie wurden alle an der Studie teilnehmenden Patienten in regelmäßigen Intervallen untersucht. In den ersten drei Jahren geschah dies in einem drei monatigen Intervall, im vierten und fünften Jahr in einem sechs monatigen und im sechsten bis fünfzehnten Jahr in einem zwölf monatigen Intervall nach der Strahlentherapie. Diese Untersuchungen umfassten die Messung des PSA-Wertes, eine rektale digitale Untersuchung, die Erhebung eines möglichen Komorbiditätsstatus, den Ernährungszustand und die zu diesem Zeitpunkt erfolgte Medikation sowie die Toxizitätsevaluationen.

Die Einteilung der Toxizität an Blase und Rektum erfolgte nach den standardisierten Kriterien der Radiation Therapy Oncology Group (RTOG)/European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) die immer von demselben radiologisch-onkologischem Oberarzt ohne Wissen über einen etwaigen Polymorphismus-Status durchgeführt wurde[42].

6.4. Bestimmung der DNA Polymorphismen

Es wurden Polymorphismen gewählt, die eine minor allele frequency (MAF) von zumindest 0.10 aufweisen und sich in der Promoterregion, in kodierten und unkodierten Abschnitten des VEGF-Gen befinden. Dabei wurden sieben Polymorphismen für weitere Analysen herangezogen:

- -2578C>A (rs699947)
- -2489C>T (rs1005230)
- -1498C>T (rs833061)
- -634G>C (rs2010963)
- -7C>T (rs25648)
- 936C>T (rs3025039)
- 1612G>A (rs10434)

6.5. Vorgang der DNA-Isolierung

Die Isolation der genomischen DNA wurde mit einem vollautomatischen Extraktions-Roboter (GeneMole) durchgeführt. Dieses Gerät wurde für die vollständig automatisierte Extraktion von Nukleinsäuren aus Blut, Zellen oder Gewebe entwickelt und kann 16 Proben in einem Durchlauf verarbeiten.

Das GeneMole-Gerät isoliert Nukleinsäuren basierend auf paramagnetischen

Kügelchen ("Beads"). Das Verfahren umfasst die Lyse der Blutproben, die Bindung der DNA an die paramagnetischen Kügelchen, die Auswaschung unerwünschter Komponenten und abschließend die Elution hochreiner DNA in einem TE-Puffer.

Bestimmung der Einzelnukleotidpolymorphismen

Polymorphismus Analysen wurden mit der fluoreszenz-basierten 5'-Exonuclease (TaqMan) Technologie durchgeführt unter Verwendung des Assay-by-Design service von Applied Biosystems. Diese Methode gilt derzeit als eines der schnellsten und effizientesten Systeme für die Genotypisierung von humanen DNA-Proben.

Beim TaqMan- oder auch 5'-Nuclease- Assay liegt zwischen zwei spezifischen Oligonucleotid-Primern ein zusätzliches, fluoreszenzmarkiertes Oligonukleotid, die so genannte TaqMan-Sonde. Diese Sonde ist mit einem Reporter-Fluoreszenzfarbstoff am 5'-Ende und einem am 3'-Ende liegenden Quencher markiert. Bei der Neustrangsynthese kommt es zum Abbau der Sonde und durch die Trennung von Reporter-Farbstoff und Quencher zum Fluoreszenzsignal. Durch den Vergleich der Fluoreszenzwerte zweier Sonden kann jeder Probe ein eindeutiger Genotyp zugeordnet werden.

6.6. Datenschutz

Um den Datenschutz zu gewährleisten wurden alle Patienten nummeriert, dadurch pseudonymisiert, und ausgewertet. Nur direkt mit der Studie befasste Personen hatten Zugriff auf die Originaldaten. Alle pseudonymisierten Daten wurden direkt an der Universitätsklinik Strahlentherapie-Radioonkologie Graz gespeichert und ausgewertet, wobei an dem dafür verwendeten PC eine Zugriffsbeschränkung eingerichtet wurde.

6.7. Statistische Auswertung

Haplotypen und Kopplungsungleichgewicht wurden durch das Haploview Programm bestimmt.

(Version 3.32, [http:// 121www.broad.mit.edu/personal/jcbarret/haploview/](http://121www.broad.mit.edu/personal/jcbarret/haploview/)).

Die Zuordnung der individuellen Haplotyp-Paare wurde durch die PHASE Version 2.1 Software durchgeführt [43]. Die Analyse der Haplotypen zeigte zwei Blöcke von hohem Kopplungsungleichgewicht.

Der eine Block beinhaltet fünf Polymorphismen:

1. -2578C>A
2. -2489C>T
3. -1498C>T
4. -634G>C
5. -7C>T

Der zweite Block zwei Polymorphismen:

1. 936C>T
2. 1612G>A

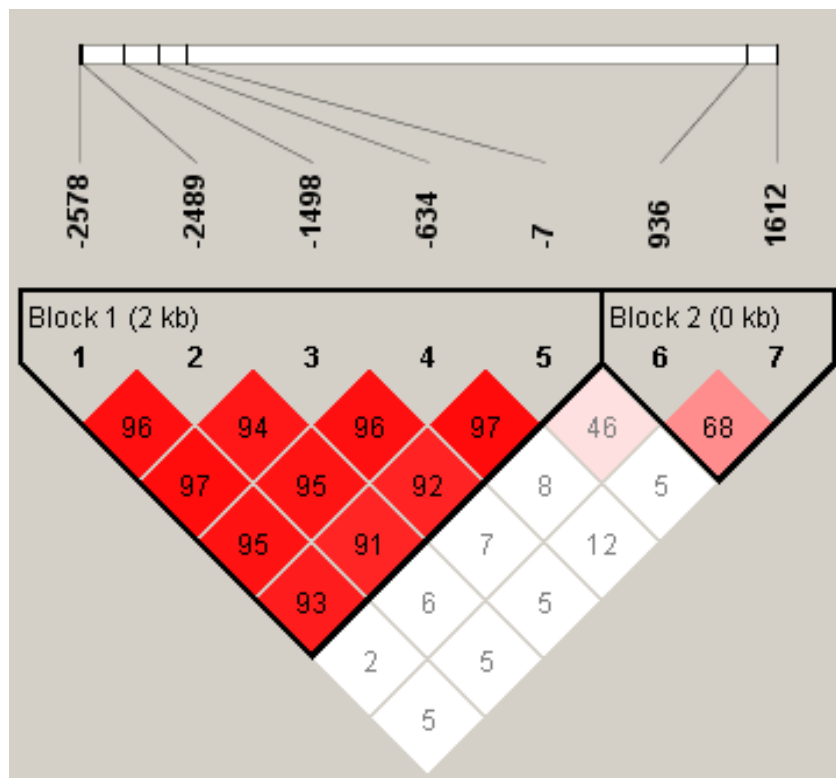


Abbildung 3. Kopplungsungleichgewicht (LD) zwischen VEGF Polymorphismen. Die Werte in den Quadraten stellen das LD' zwischen den einzelnen Markern dar. Dunkle Quadrate zeigen hohe r^2 und helle Quadrate niedrige r^2 Werte.

Statistische Analysen wurden unter Verwendung der SPSS 18.0 Software durchgeführt.

Student's t-test, rank sum test, χ^2 test, ANOVA wurden als geeignete statistische Testverfahren angesehen und für Vergleichsanalysen herangezogen. Das COX Regressionsmodell wurde zur Stratifizierung verwendet, da es auch umweltbedingte Wechselwirkungen und andere Einflussfaktoren erkennt und berücksichtigt. Die Beziehung zwischen den verschiedenen Polymorphismen und der Toxizität wurde über die Kaplan-Meier Methode analysiert, wobei ein signifikantes Ergebnis vorlag wenn $P < 0,05$. Die statistischen Analysen wurden in Zusammenarbeit mit dem ZMF der Medizinischen Universität Graz durchgeführt.

6.8. Ergebnisse der Studie

Von den ursprünglich inkludierten 493 Patienten wurden 3 aus der Studie ausgeschlossen wurden, da ihre Nachsorgezeit weniger als 4 Monate betrug. Die verbleibenden 490 Patienten wurden im Durchschnitt 48 Monate weiter betreut. In diesem Zeitraum wurde eine höhergradige chronische Rektumtoxizität bei 42 Patienten (das sind 8,6%) und eine Blasentoxizität bei 47 Patienten (9,6%) festgestellt. In beiden Fällen war der Grad der Schädigung ≥ 2 bezogen auf RTOG Kriterien.

Bei 99 Patienten (20.1%) kam es zum Auftreten eines biochemischen Rezidivs (definiert nach der Phoenix Definition als PSA Nadir + 2 ng/ml), bei 13 Patienten (2.6%) zeigte sich eine Fernmetastasierung.

Tabelle 4. Allelfrequenzen

Allele/ Haplotypen	Number of patients (n=493)	Patients without late rectal and/or urinary toxicity grade ≥ 2 (n=395)	Patients with late rectal toxicity grade ≥ 2(n=42)	Patients with late urinary toxicity grade ≥ 2 (n=47)
Single markers				
-2578C>A	0,556	0,562	0,476	0,596
-2489C>T	0,442	0,435	0,524	0,394
-1498C>T	0,447	0,440	0,536	0,394
-634G>C	0,367	0,369	0,286	0,415
-7C>T	0,170	0,156	0,261	0,170
936C>T	0,163	0,159	0,214	0,149
1612G>A	0,464	0,467	0,429	0,436
Upstream haplotypes (-2578C>A, -2498C>T, -1498C>T, -634G>C, -7C>T)				
CCCCC	0,365	0,367	0,286	0,415
ATTGC	0,271	0,278	0,25	0,223
CCCGC	0,189	0,192	0,190	0,191
ATTGT	0,164	0,149	0,214	0,160
Downstream haplotypes (936C>T, 1612G>A)				
CA	0,456	0,459	0,429	0,426
CG	0,379	0,380	0,351	0,426
TG	0,155	0,152	0,214	0,138

Die Polymorphismen wichen nicht vom Hardy-Weinberg Gleichgewicht ab. Die Träger des VEGF-7C>T Polymorphismus hatten ein erhöhtes signifikantes Risiko an Spätfolgen des Rektum zu leiden (p=0,003; Figur 2)

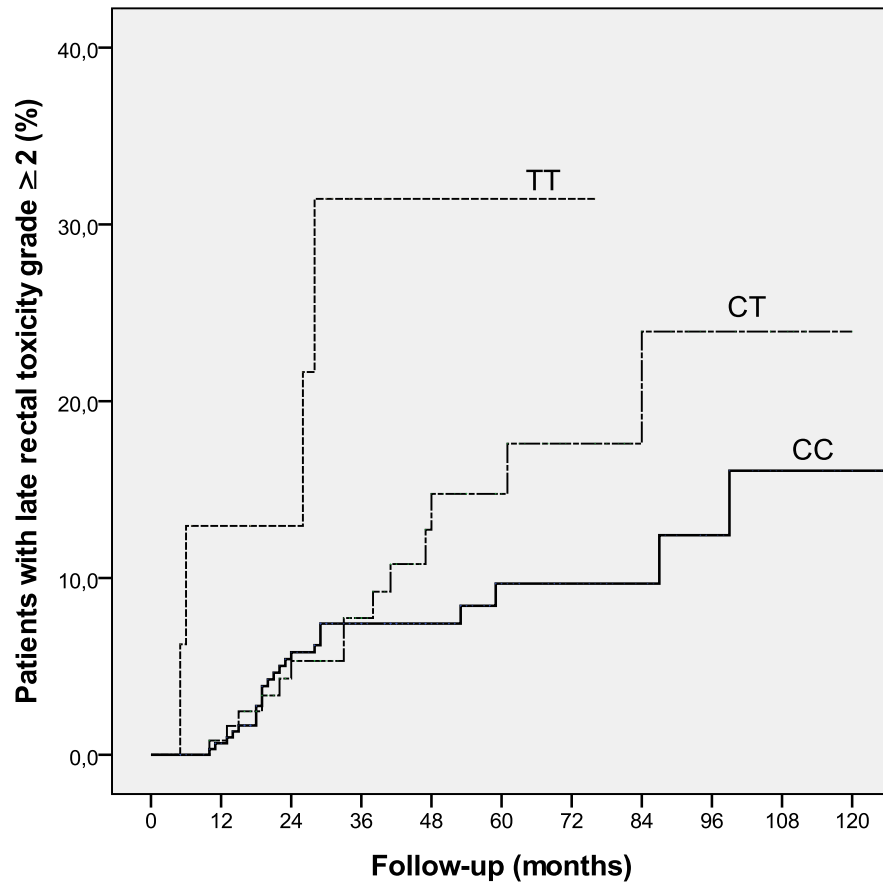


Abbildung 4. Der VEGF -7C>T Polymorphismus und die Entwicklung von rektaler Spättoxizität RTOG Grad ≥ 2 .

Darüber hinaus zeigte sich ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung von rektalen Spätfolgen RTOG ≥ 2 bei Patienten mit dem ATTGT-Haplotyp. Dieser besteht aus 5 Polymorphismen, die der codierten Region vorgeschaltet sind, und beinhaltet ebenfalls die – 7C>T Variante. (p=0,001; Figur 3)

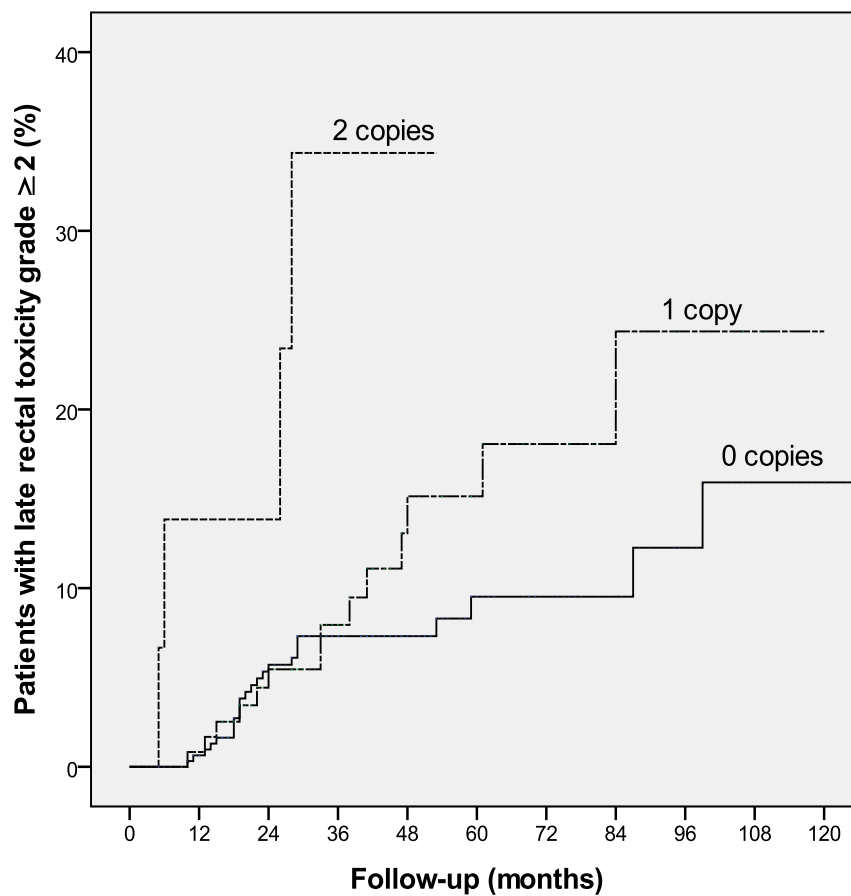


Abbildung 5. Der VEGF ATTGT Haplotyp und die Entwicklung von rektaler Spättoxizität RTOG Grad ≥ 2 .

Die restlichen Polymorphismen wiesen keine Signifikanz bezüglich einer höhergradigen rektalen Spätfolge in der Kaplan-Meier Analyse auf. Dasselbe gilt auch für eine hochgradige Spätfolge für die Blase.

In der univariaten Cox Analyse zeigt sich auch ein höheres Risiko für hochgradige Spätfolgen des Rektums bei Trägern des VEGF-7C>T Polymorphismus (HR=1,899, 95% CI 1,153 bis 3,128; p=0,012) und Trägern des VEGF ATTGT-Haplotyps (HR=2,023, 95% CI 1.223 bis 3,348; p=0,006).

Tabelle 5, Univariate Analyse in Bezug auf die Verbindung zwischen VEGF Genotypen/Haplotypen und den späten Gewebeschäden mit dem Grad ≥ 2

Parameter (number of alleles)	Association with late rectal side effects grade ≥ 2			Association with late urinary side effects grade ≥ 2		
	Hr	95%CI	p-value	HR	95% CI	p-value
-2578C>A	0,664	0,422 to 1,045	0,077	1,180	0,766 to 1,817	0,453
-2489C>T	1,528	0,965 to 2,418	0,071	0,803	0,518 to 1,245	0,327
-1498C>T	1,559	0,990 to 2,455	0,055	0,788	0,510 to 1,217	0,283
-634G>C	0,684	0,422 to 1,109	0,123	1,269	0,826 to 1,949	0,276
-7C>T	1,899	1,153 to 3,128	0,012	1,067	0,620 to 1,836	0,815
936C>T	1,376	0,811 to 2,334	0,237	0,869	0,487 to 1,551	0,635
1612G>A	0,901	0,582 to 1,393	0,639	0,919	0,602 to 1,401	0,694
Upstream haplotypes (-2578C>A, -2489C>T, -1498C>T, -634G>C, -7C>T)						
CCCCC	0,688	0,424 to 1,114	0,128	1,274	0,830 to 1,956	0,268
ATTGC	0,879	0,512 to 1,508	0,639	0,700	0,411 to 1,190	0,187
CCCGC	0,941	0,545 to 1,624	0,826	0,988	0,588 to 1,660	0,963
ATTGT	2,023	1,223 to 3,348	0,006	1,030	0,588 to 1,804	0,917
Downstream haplotypes (936C>T, 1612G>A)						
CA	0,902	0,596 to 1,448	0,744	0,903	0,587 to 1,389	0,642
CG	0,884	0,572 to 1,366	0,578	1,182	0,788 to 1,771	0,419
TG	1,451	0,860 to 2,447	0,163	0,844	0,467 to 1,526	0,574

In die multivariate COX-Analyse wurden mögliche Störfaktoren wie das Alter bei Strahlentherapiebeginn (RT), eine orale Antikoagulation, Hormontherapie, Diabetes mellitus und Raucherstatus, ebenso wie soziometrischer Parameter eingeschlossen. Dabei zeigte sich, dass sich der VEGF- 7C>T Polymorphismus und der VEGF ATTGT-Haplotyp Faktoren sind, die mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung von höhergradigen rektalen Spätfolgen verbunden sind (HR= 2,800, 95% CI 1,349 bis 5,813; p=0,006 und HR=3,157, 95% CI 1,495 bis 6,666; p=0,003).

Tabelle 6, Multivariate Analyse in Bezug auf die Verbindung zwischen VEGF Genotypen/Haplotypen und den späten Gewebeschäden mit dem Grad ≥ 2

Parameter (number of alleles)	Association with late rectal side effects grade ≥ 2			Association with late urinary side effects grade \geq		
	Hr	95%CI	p-value	HR	95% CI	p-value
-2578C>A	0,498	0,247 to 1,005	0,052	1,051	0,605 to 1,824	0,860
-2489C >T	2,061	1,012 to 4,197	0,046	0,954	0,546 to 1,666	0,867
-1498C >T	1,962	0,977 to 3,943	0,058	0,835	0,490 to 1,484	0,573
-634G >C	0,553	0,243 to 1,258	0,158	1,240	0,713 to 2,157	0,447
-7C >T	2,800	1,349 to 5,813	0,006	1,448	0,749 to 2,799	0,270
936C >T	1,292	0,546 to 3,055	0,560	1,346	0,661 to 2,741	0,413
1612G >A	0,887	0,445 to 1,767	0,733	0,950	0,550 to 1,638	0,852
Upstream haplotypes (-2578C>A, -2489C>T, -1498C>T, -634G>C, -7C>T)						
CCCCC	0,554	0,244 to 1,260	0,159	1,242	0,713 to 2,161	0,444
ATTGC	0,919	0,405 to 2,088	0,840	0,637	0,311 to 1,307	0,219
CCCGC	0,690	0,264 to 1,802	0,449	0,799	0,387 to 1,652	0,545
ATTGT	3,157	1,495 to 6,666	0,003	1,389	0,697 to 2,770	0,350
Downstream haplotypes (936C>T, 1612G>A)						
CA	0,920	0,453 to 1,870	0,817	0,917	0,512 to 1,614	0,764
CG	0,933	0,474 to 1,837	0,842	0,927	0,539 to 1,593	0,783
TG	1,377	0,591 to 3,209	0,458	1,285	0,624 to 2,2649	0,496

Ein grenzwertig signifikanter Zusammenhang wurde zwischen dem VEGF-2489C>T Polymorphismus und rektalen Spätfolgen Grad ≥ 2 wurde in der Multivariat Analyse beobachtet (HR= 2,061, 95% CI 1,012 bis 4,197; p=0,046). Bei den verbleibenden VEGF Polymorphismen und Haplotypen zeigten sich keine signifikanten Zusammenhänge bei der Entstehung von toxischen Spätfolgen mit dem Grad ≥ 2 . (siehe Tabelle 5 und 6).

Darüber hinaus konnten auch keine signifikanten Zusammenhänge zwischen den untersuchten Polymorphismen und Haplotypen mit dem Auftreten von höhergradigen Spätfolgen an der Harnblase festgestellt werden.

Außerdem zeigte sich kein signifikanter Einfluss der analysierten Polymorphismen oder Haplotypen auf das Auftreten eines biochemischen Rezidivs oder Metastasierung nach kurativer Strahlentherapie des Prostatakarzinoms.

7.Diskussion

In der vorliegenden Studie wurde untersucht, ob es einen Zusammenhang zwischen verschiedenen SNPs im VEGF Gen und dem Auftreten von hochgradigen chronischen rektalen und urogenitalen Nebenwirkungen (definiert als Spätfolgen RTOG ≥ 2) nach perkutaner Strahlentherapie des Prostatakarzinoms gibt und ob VEGF SNPs das Auftreten eines biochemischen Rezidivs oder Metastasierung beeinflussen. Am auffälligsten war eine signifikante Assoziation zwischen dem -7C>T Polymorphismus und dem Auftreten von hochgradigen rektalen Spätfolgen. Weiters zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang des ATTGT-Haplotyps, in welchem die – 7C>T Variante vorkommt, mit einem erhöhten Risiko von rektalen Spätschäden. Es konnten allerdings keine signifikanten Zusammenhänge mit dem Auftreten von höhergradigen urogenitalen Spätfolgen oder Tumorprogression nach kurativer Strahlentherapie gefunden werden.

Die Pathogenese von Strahlenspätfolgen ist komplex und eine Vielzahl von Signalkaskaden ist darin involviert. In den letzten Jahren hat sich zunehmend gezeigt, dass die Hypoxie, die nach einer Strahlenbehandlung das Gewebe betrifft, wesentlich an der Entstehung von Strahlenspätschäden beteiligt ist. [44,45,46,47]

Hypoxie induziert die Bildung von sogenannten ROS (reaktive oxygen species). Diese Moleküle besitzen freie Elektronen und reagieren sehr leicht und gerne mit anderen Molekülen. Die dadurch entstandenen Moleküle bewirken eine Produktion von entzündlichen und fibrosierenden Zytokinen. Dadurch steigt die Durchblutung und die Umwandlung des Gewebes in Kollagengewebe wird gefördert. Die Unterversorgung mit Sauerstoff spielt auch eine Schlüsselrolle in der Entstehung von VEGF. [38,44,46,48]

Eine Erhöhung des VEGF wurde in der chronischen Strahlenreaktionsphase im Rektum und einigen anderen Geweben nachgewiesen und im Rahmen der Entstehung von Fibrosen in Normalgeweben wurde eine gesteigerte Expression von VEGF gezeigt. [32,49]

VEGF ist ein zentraler Regulator der Gefäßpermeabilität.[50,51] Eine erhöhte Gefäßpermeabilität bewirkt eine gesteigerte Extravasation von Plasmaproteinen wie z.B.: Albumin und wird in der Spätphase der Bestrahlung vermehrt beobachtet. In Studien konnte gezeigt werden, dass dies einer beginnenden Fibrosierung vorangeht. [51] Die Erhöhung des VEGF in der späten Phase bewirkt nicht nur ein Ansteigen der Gefäßpermeabilität, sondern wird auch mit interstitiellen Bluthochdruck und niedrigen Blutfluß in Verbindung gebracht. [34] Dadurch entstehen hypoxische und saure Bedingungen, die eine Heilung des Gewebes unmöglich machen und so eine zweite Kaskade von Schäden bewirken und das Auftreten von Strahlenspät Schäden vorantreiben.[34,52] Die Hypothese, dass VEGF eine wesentliche Rolle bei der Entstehung von Strahlenspätfolgen hat, wird dadurch unterstützt, dass Pharmaka, die gegen VEGF wirken, effektiv in der Behandlung von Strahlenspät Schäden eingesetzt werden können. Bevacizumab, ein anti- VEGF Antikörper wird zunehmend zur Behandlung von zerebralen Nekrosen, die durch Bestrahlung verursacht wurden, verwendet. In experimentellen Studien zeigte sich, dass die Blockade des VEGF auch die Fibrosierung im rektalen Gewebe, die durch Bestrahlung verursacht wurde, verhindert.[32,53,54]

Die Hypothese, dass Polymorphismen im VEGF Gen möglicherweise das Risiko der durch Strahlentherapie entstandenen späten Gewebeschädigung modulieren, beruht darauf, dass VEGF Polymorphismen die VEGF Genexpression beeinflussen. Der -7C>T Polymorphismus, welcher in der 5'UTR lokalisiert ist, wurde mit dem Ansteigen der VEGF mRNA in kolorektalen Adenokarzinomen in Verbindung gebracht. [55] Die 5'UTR beinhaltet eine Reihe von regulatorischen Elementen, welche zur hohen Variabilität der VEGF Expression in verschiedenen Geweben wesentlich beitragen, und es konnte gezeigt werden, dass Haplotypen in der 5'UTR des VEGF Gens die Genexpression beeinflussen.

In dieser Studie wurden 7 verschiedene Polymorphismen in Hinblick auf deren Einfluss auf das Risiko für Strahlenspätfolgen bzw. Tumorprogression untersucht. Ein wesentliches Problem bei genetischen Assoziationsstudien ist die Erhöhung von Typ 1 Fehlern. Dies ist die Bezeichnung für falsch positive Ergebnisse bei multiplen Tests. Durch die Anwendung von statistischen Korrekturverfahren (z.B.:

Bonferroni correction), kann dieses Typ 1 Fehlerrisiko minimiert werden, allerdings bewirkt dies andererseits, dass das Typ 2 Fehlerrisiko (falsch negative Ergebnisse) ansteigt. Aus diesem Grund sollten die Resultate dieser Studie vorsichtig interpretiert werden, bis sie durch weitere Studien bestätigt werden.

Diese Studie hatte 3 Vorteile:

1. Die Anzahl an Patienten, die daran beteiligt waren, war relativ groß.
2. Alle Patienten entstammten derselben ethnischen Herkunft.
3. Weder Patient noch klinisches Personal wussten vom Polymorphismusstatus der einzelnen Patienten.

Die in dieser Studie analysierten Polymorphismen sind nur ein Teil der Varianten im VEGF Gen. Vielleicht beeinflussen auch andere VEGF Varianten oder Polymorphismen in den Genen von VEGF Rezeptor 1 und VEGF Rezeptor 2, die Entstehung von späten Normalgewebsreaktionen nach Strahlentherapie des Prostatakarzinoms.

8.Schlussfolgerung

Mit dieser Studie konnte gezeigt werden, dass Polymorphismen im VEGF Gen das Risiko für die Entwicklung von höhergradigen Spätfolgen nach Radiotherapie möglicherweise beeinflussen. Sollten sich die gewonnenen Ergebnisse in zukünftigen Studien bestätigen, werden die vorliegenden Daten zur Erstellung von prädiktiven Modellen für die Entwicklung von höhergradigen Spätfolgen beitragen. Das zunehmende Wissen um genetische Faktoren, welche die individuelle Strahlenempfindlichkeit beeinflussen, wird zur Entstehung einer maßgeschneiderten Radiotherapie beitragen. Damit kann eine Minimierung von gravierenden radiogenen Nebenwirkungen erreicht werden, was zu einer Verbesserung der Lebensqualität von strahlentherapeutisch behandelten PatientInnen beitragen wird.

9.Literaturverzeichnis

1. Böcker, Denk, Heitz: Pathologie, 3. Auflage; 23: 895-898
2. S3-Leitlinie Prostatacarcinom, Version 1.03., März 2011
3. Haas GP, Delongchamps N, Brawley OW, Wang CY, de la RG. The worldwide epidemiology of prostate cancer: perspectives from autopsy studies. *Can J Urol* 2008; 15: 3866-71.
4. Robert Koch Institut, Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland. Krebs in Deutschland 2003-2004. Häufigkeiten und Trends. 6th ed. Berlin: Robert Koch Institut; 2008
5. Zeegers MP, Jellema A, Ostrer H. Empiric risk of prostate carcinoma for relatives of patients with prostate carcinoma: a meta-analysis. *Cancer* 2003; 97: 1894-903.
6. Johns LE, Houlston RS. A systematic review and meta-analysis of familial prostate cancer risk. *BJU Int* 2003; 91: 789-94.
7. Bratt 2002 BRATT, O.: Hereditary prostate cancer: clinical aspects. *J Urol* 168 (2002), Nr. 3, 906-13.
8. Nelson WG. Prostate cancer prevention. *Curr Opin Urol* 2007;17(3):157-67.
9. Parsons JK, Carter HB, Platz EA, Wright EJ, Landis P, Metter EJ. Serum testosterone and the risk of prostate cancer: potential implications for testosterone therapy. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005;14(9):2257-60.
10. Ozasa K, Nakao M, Watanabe Y, Hayashi K, Miki T, Mikami K, Mori M, Sakauchi F, Washio M, Ito Y, Suzuki K, Wakai K, Tamakoshi A. Serum phytoestrogens and prostate cancer risk in a nested case-control study among Japanese men. *Cancer Sci* 2004;95(1):65-71.
11. Etminan M, Takkouche B, Caamano-Isorna F. The role of tomato products and lycopene in the prevention of prostate cancer: a meta-analysis of observational studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004;13(3):340-5.
12. Wertz K, Siler U, Goralczyk R. Lycopene: modes of action to promote prostate health. *Arch Biochem Biophys* 2004;430(1):127-34.
13. American Joint Committee on Cancer (AJCC). Cancer staging manual. In: 6th ed. Berlin: Springer; 2002.

14. Ilic D, O'Connor D, Green S, Wilt T. Screening for prostate cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2006;3:CD004720
15. Catalona WJ, Richie JP, Ahmann FR, Hudson MA, Scardino PT, Flanigan RC, deKernion JB, Ratliff TL, Kavoussi LR, Dalkin BL, . Comparison of digital rectal examination and serum prostate specific antigen in the early detection of prostate cancer: results of a multicenter clinical trial of 6,630 men. *J Urol* 1994;151(5):1283-90.
16. Harris R, Lohr KN, Beck R, Fink K, Godley P, Bunton AJ. Screening for prostate cancer. Rockville: AHRQ; 2002.
17. D'Amico AV, Whittington R, Malkowicz SB, Schultz D, Blank K, Broderick GA, Tomaszewski JE, Renshaw AA, Kaplan I, Beard CJ, Wein A. Biochemical outcome after radical prostatectomy, external beam radiation therapy, or interstitial radiation therapy for clinically localized prostate cancer. *JAMA* 1998;280(11):969-74.
18. Abuzallouf S, Dayes I, Lukka H. Baseline staging of newly diagnosed prostate cancer; a summary of the literature. *J Urol* 2004; 171: 2122-7.
19. Swindle P, Eastham JA, Ohori M, Kattan MW, Wheeler T, Maru N, Slawin K, Scardino PT. Do margins matter? The prognostic significance of positive surgical margins in radical prostatectomy specimens. *J Urol* 2005; 174: 903-7.
20. Heidenreich A, Aus G, Abbou CC, Bolla M, Joniau S, Matveev V, Schmid HP, Zattoni F, European Association of Urology (EAU). EAU guidelines on prostate cancer. Arnhem: EAU; 2007.
21. Morris u.a. 2005 MORRIS, D.E. ; Emami B, Mauch PM, Konski AA, Tao ML, Klein EA, Modideen N, Hurwitz MD, Fraas BA, Roach 3rd, Gore EM, Tepper JE: evidence based review of three-dimensional conformal radiotherapy for localized prostate cancer: an ASTRO outcomes initiative. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 62 (2005), Nr. 1, 3-19
22. D'Souza WD, Thames HD, Kuban DA. Dose-volume conundrum for response of prostate cancer to brachytherapy: summary dosimetric measures and their relationship to tumor control probability. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004; 58: 1540-8.
23. Martinez AA, Demanes DJ, Galalae R, Vargas C, Bertermann H, Rodriguez R, Gustafson G, Altieri G, Gonzalez J. Lack of benefit from a short course of androgen deprivation for unfavorable prostate cancer patients treated with an accelerated hypofractionated regime. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005; 62(5): 1322-31.
24. Boustead G, Edwards SJ. Systematic review of early vs deferred hormonal treatment of locally advanced prostate cancer: a meta-analysis of randomized controlled trials. *BJU Int* 2007; 99(6): 1383-9.

25. Miller K, Becker K, Finke F, Geiges G, Gockel-Beining B, Hossfeld DK, Miller K, Osieka R, Russel C, Tesch H, Weissbach L, Wirth M, Wolff JM. Interdisziplinäre Therapieempfehlungen zur Behandlung des hormonrefraktären Prostatakarzinoms. *Aktuelle Urol* 2006; 37(3): 201-4.
26. Tannock IF, de WR, Berry WR, Horti J, Pluzanska A, Chi KN, Oudard S, Theodore C, James ND, Turesson I, Rosenthal MA, Eisenberger MA. Docetaxel plus prednisone or mitoxantrone plus prednisone for advanced prostate cancer. *N Engl J Med* 2004; 351(15): 1502-12.
27. Klotz L. Active surveillance for prostate cancer: for whom? *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology* 2005; 23(32): 8165-9.
28. Parker C. Active surveillance: towards a new paradigm in the management of early prostate cancer. *Lancet Oncol* 2004; 5(2): 101-6.
29. Parker C. The Scandinavian Prostate Cancer Group Study: the case for conservative management. *BJU Int* 2005; 96(7): 952-3.
30. Yla-Herttuala S, Rissanen TT, Vajanto I, Hartikainen J: Vascular endothelial growth factors: biology and current status of clinical applications in cardiovascular medicine. *J Am Coll Cardiol*. 2007 Mar 13; 49: 1015-26
31. [http:// www.rndsystems.com/molecule_detail.aspx](http://www.rndsystems.com/molecule_detail.aspx)
32. Liu Y, Kudo K, Abe Y, Hu DL, et al. Inhibition of transforming growth factor beta, hypoxia-inducible factor-1alpha and vascular endothelial growth factor reduced late rectal injury induced by irradiation. *J Radiat Res* 2009; 50: 233-239
33. Peyromaure M, Camparo P, Badoual C, Descazeaud A, Dinh-Xuan AT. The expression of vascular endothelial growth factor is associated with the risk of cancer progression after radical prostatectomy. *BJU Int* 2007; 99: 1150-3
34. Nordal RA, Nagy A, Pintilie M, et al. Hypoxia and hypoxia-inducible factor-1 target genes in central nervous system radiation injury: a role for vascular endothelial growth factor. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 3342-3353
35. Murken J, Cleve H: *Humangenetik*, 6. Auflage, Kap. 1: 1-17.
36. Kobayashi T, Liu X, Wen FQ, et al Smad3 mediates TGFbeta 1 induction of VEGF production in lung fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 339: 290-295.
37. Beddy D, Watson RW, Fitzpatrick JM, et al. Increased vascular endothelial growth factor production in fibroblasts isolated from strictures in patients with Crohn's disease. *Br J Surg* 2004; 91: 72-77

38. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003; 9: 669-676.
39. Langsenlehner U, Krippel P, Renner W, et al. Interleukin-10 promoter polymorphism is associated with decreased breast cancer risk. *Breast Cancer Res Treat* 2005; 90: 113-115.
40. Horn F, Moc I, Schneider N, Grillhösl Ch, Berghold S, Lindenmeier G: *Biochemie des Menschen*, Thieme: Kap15; S 306-315
41. Keck PJ, Hauser SD, Krivi G, et al. Vascular permeability factor, an endothelial cell mitogen related to PDGF. *Science* 1989; 246: 1309-12.
42. Cox JD, Stetz J, Pajak TF. Toxicity criteria of the Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) and the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1995; 31: 1341-1346.
43. Stephens M, Smith NJ, Donnelly P. A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. *Am J Hum Genet* 2001; 68: 978-989.
44. Vujaskovic Z, Anscher MS, Feng QF, et al. Radiation-induced hypoxia may perpetuate late normal injury. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001; 50: 851-855.
45. Rabbani ZN, Mi J, Zhang Y, et al. Hypoxia inducible factor 1alpha signaling in fractionated radiation-induced lung injury: role of oxidative stress and tissue hypoxia. *Radiat Res* 2010; 173: 165-174.
46. Anscher MS, Chen L, Rabbani Z, et al. Recent progress in defining mechanisms and potential targets for prevention of normal tissue injury after radiation therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2005; 62: 255-259.
47. Barcellos-Hoff MH, Park C, Wright EG. Radiation and the microenvironment-tumorigenesis and therapy. *Nat Rev Cancer* 2005; 5: 867-875.
48. Rofstad EK, Gaustad JV, Egeland TA, et al. Tumors exposed to acute cyclic hypoxic stress show enhanced angiogenesis, perfusion and metastatic dissemination. *Int J Cancer* 2010; 127: 1535-1546.
49. Lui Y, Kudo K, Abe Y, et al. Hypoxia expression in radiation-induced late rectal injury. *J Radiat Res* 2008; 49: 261-268.
50. Dvorak HF. Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy. *J Clin Oncol* 2002; 20: 4368-80.

51. Jaal J, Dörr W. Radiation induced late damage to the barrier function of small blood vessels in mouse bladder. *J Urol* 2006; 176: 2696-2700.
52. Anscher MS, Vujaskovic Z. Mechanisms and potential targets for prevention and treatment of normal tissue injury after radiation therapy. *Semin Oncol* 2005; 32: 86-91.
53. Liu AK, Macy ME, Foreman NK. Bevacizumab as therapy for radiation necrosis in four children with pontine gliomas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2009; 75: 1148-1154.
54. Torcuator R, Zuniga R, Mohan YS, et al. Initial experience with bevacizumab treatment for biopsy confirmed cerebral radiation necrosis. *J Neurooncol* 2009; 94: 63-68.
55. Yamamori M, Sakaeda T, Nakamura T, et al. Association of VEGF genotype with mRNA level in colorectal adenocarcinomas. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 325: 144-150.
56. Epstein u.a. 1993 Epstein J, Pizov G, Walsh PC: Correlation of pathologic findings with progression after radical retropubic prostatectomy. In: *Cancer* 71(1993), Nr.11, S. 3582-93.
57. Roach u.a. 2000 Roach M, Lu J, Pilepich MV, Asbell SO, Mohiuddin M, Terry R, Grignon D, Mohiidden M: Four prognostic groups predict long-term survival from prostate cancer following radiotherapy alone on Radiation Therapy Oncology Group clinical trials. In: *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 47(2000), Nr. 3, S. 609-15.
58. Potters u.a. 2005 Potters L, Morgenstern C, Calugaru, et a.: 12 years outcomes following permanent prostate brachytherapy in patients with clinically localized prostate cancer. *J Urol* 173 (2005), Nr.5, 1562-6.
59. Halabi u.a. 2003 Halabi S, Small EJ, Kantoff, et al: Prognostic model for predicting survival in men with hormone-refractory metastatic prostate cancer. *J Clin Oncol* 21 (2003), Nr. 7, 1232-7.
60. http://www.urologielehrbuch.de/prostatakarzinom_07.html
61. Langsenlehner T et al.: Single nucleotide polymorphisms and haplotypes in gene for vascular endothelial growth factor and risk of prostate cancer, *Eur J Cancer* 2008, doi:10.016/j.ejca.2008.04.021
62. http://www.urologielehrbuch.de/prostatakarzinom_03.html
63. http://www.urologielehrbuch.de/prostatakarzinom_10.html
64. Horn F, Moc I, Schneider N, Grillhösl Ch, Berghold S, Lindenmeier G: *Biochemie des Menschen*, Thieme 3. Auflage, Kap11,23: 262-64, 408-14.

10. Danksagung

Zuerst möchte ich mich bei meiner Diplomarbeitsbetreuerin Frau Ass. Prof. Priv. Doz. Dr. med.univ. Tanja Langsenlehner bedanken, die mich während des Schreibens ermutigte und mir jederzeit mit Rat helfend zur Seite stand.

Für die Zweitbetreuung bedanke ich mich bei Herrn Univ. Ass. Dr. Günter Hofmann.

Nichts ist wichtiger als eine Person die ständig hinter einem steht, den Rücken freihält und unerschütterliches Vertrauen ausstrahlt. Diese Person ist meine Mutter: Mama, du bist der Grund, warum ich diese Zeilen schreibe.

Gewidmet ist diese Arbeit meiner Oma.