

Aus der Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin der Universität Rostock

Direktor: Prof. Dr. med. Bernd Joachim Krause

**Ermittlung des Ansprechens auf eine Docetaxel-Therapie  
bei PC-3- und LNCaP-Prostatakarzinom-Xenograft-Mausmodellen  
mit der [<sup>11</sup>C]Cholin Kleintier PET/CT**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Medizin

der Medizinischen Fakultät

der Universität Rostock

vorgelegt von

David Gunnar Sachs, geb. am 5. Januar 1986 in Traunstein  
aus München

Rostock, 29. November 2012

## **Gutachter**

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Bernd Joachim Krause  
Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin, Universität Rostock
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Oliver Hakenberg  
Urologische Klinik und Poliklinik, Universität Rostock
3. Gutachter: Prof. Dr. med. Dr. phil. Reingard Senekowitsch-Schmidtke  
Nuklearmedizinische Klinik und Poliklinik, Technische Universität  
München

Datum der Einreichung: 16. Januar 2012

Datum der Verteidigung: 21. November 2012

# Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS .....	- 3 -
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....	- 5 -
EINLEITUNG.....	- 9 -
GRUNDLAGEN.....	- 11 -
DIE FRAGESTELLUNGEN DIESER ARBEIT .....	- 23 -
MATERIAL UND METHODEN .....	- 24 -
SYNTHESE VON [ <sup>11</sup> C]CHOLIN .....	- 24 -
PROSTATAKARZINOM-XENOGRAFT-MODELLE.....	- 24 -
KLEINTIER PET/CT BILDGEBUNG .....	- 25 -
DATENANALYSE DER [ <sup>11</sup> C]CHOLIN KLEINTIER-PET/CT .....	- 27 -
STATISTISCHE AUSWERTUNG.....	- 28 -
ERGEBNISSE.....	- 30 -
PC-3-TUMOREN.....	- 30 -
<i>T/M<sub>mean</sub>-Quotienten</i> .....	- 30 -
<i>Analyse der dynamischen Daten</i> .....	- 31 -
<i>Tumordurchmesser</i> .....	- 34 -
LNCAP-TUMOREN.....	- 35 -
<i>T/M<sub>mean</sub>-Quotient</i> .....	- 35 -
<i>Analyse der dynamischen Daten</i> .....	- 36 -
<i>Tumolvolumen</i> .....	- 39 -
<i>Tumordurchmesser</i> .....	- 40 -
DISKUSSION .....	- 42 -
DIE [ <sup>11</sup> C]CHOLIN PET/CT IST GEEIGNET FÜR DIE DARSTELLUNG DER PC-3- UND LNCAP-XENOGRAFT- PROSTATAKARZINOM-MODELLE .....	- 42 -
DIE [ <sup>11</sup> C]CHOLIN-AUFNAHME IN TUMOREN DER LNCAP-ZELLINIE LIEGT IM XENOGRAFT-MODELL ÜBER DER [ <sup>11</sup> C]CHOLIN-AUFNAHME IN TUMOREN DER PC-3-ZELLINIE .....	- 45 -
DAS WACHSTUM DER TUMOREN SOWOHL DER LNCAP-ZELLINIE ALS AUCH DER PC-3-ZELLINIE WERDEN IM XENOGRAFT-MAUSMODELL DURCH DOCETAXEL GEHEMMT .....	- 46 -
IM ZUGE DER THERAPIE MIT DOCETAXEL VERÄNDERT SICH IM XENOGRAFT-MODELL DIE AUFNAHME VON [ <sup>11</sup> C]CHOLIN IN DIE TUMOREN SOWOHL DER LNCAP-ZELLINIE ALS AUCH DER PC-3-ZELLINIE .....	- 47 -
DIE ÄNDERUNG DER AUFNAHME VON [ <sup>11</sup> C]CHOLIN LÄSST SICH BEREITS FRÜHZEITIG IM VERLAUF DER THERAPIE, D. H. NACH EINER WOCHE, NACHWEISEN .....	- 54 -
METHODISCHE LIMITATIONEN .....	- 55 -
ZUSAMMENFASSUNG .....	- 56 -
LITERATURVERZEICHNIS .....	- 58 -
EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG.....	- 67 -

DANKSAGUNG.....	- 69 -
THESEN .....	- 70 -

## Abkürzungsverzeichnis

A	Ampere
Abb.	Abbildung
ATP	Adenosin-Triphosphat
bcl-2	<i>B-cell lymphoma 2</i> ; Apoptose-Protein
Bq	Becquerel
cDNA	<i>copy</i> Desoxynukleinsäure
ChoK	Cholin-Kinase
CHT	<i>High-affinity choline transporter</i>
CT	Computertomografie
CTL	<i>Choline transporter-like</i>
d	Tag
d. h.	das heißt
DAG	Diacylglycerol
DNA	Desoxynukleinsäure
DRU	Digital-rektale Untersuchung
Dtx	Docetaxel
EGF	<i>Epidermal growth factor</i>
et al.	<i>et alii</i> ; und andere
f.	und folgende
ff.	und folgende
FDG	Fluordesoxyglucose
GAP	<i>GTPase-activating protein</i>

GDP	Guanosin-Diphosphat
GEE	<i>General Estimation Equation</i>
GEF	<i>Guanine exchange factor</i>
GTP	Guanosin-Triphosphat
Gy	Gray
HC-3	Hemicholinium-3
HCEKV	<i>Human choline/ethanolamine kinase-related gene variant</i>
HE-Färbung	Hämatoxylin-Eosin-Färbung
HRPC	Hormon-refraktäres Prostatakarzinom
HPLC	<i>high performance liquid chromatography</i> , Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
Hz	Hertz
k	Dissoziationskonstante
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
$K_i$	Inhibitionskonstante
$K_M$	Michaelis-Konstante
M	Mol/Liter
m <sup>2</sup>	Quadratmeter
mg	Milligramm
μl	Mikroliter
mm	Millimeter
MRT	Magnetresonanztomografie
msec	Millisekunde
Na	Natrium
NaCl	Natrium-Chlorid
NMRI	<i>Naval Medical Research Institute</i>

PBS	<i>Phosphate buffered saline</i> , phosphatgepufferte Salzlösung
PCho	Phosphocholin
PDGF	<i>Plateled-derived growth factor</i>
PET	Positronen-Emissions-Tomografie
PI3K	Phosphoinositid 3-Kinase
PLA <sub>2</sub>	Phospholipase A <sub>2</sub>
PLC	Phospholipase C
PLD	Phospholipase D
PLD <sub>1</sub>	Phospholipase D <sub>1</sub>
PSA	Prostata-spezifisches Antigen
PtdCho	Phosphatidylcholin
Raf-1	von <i>Rat fibrosarcoma</i> ; Serin/Threonin-Proteinkinase
Ral	<i>Ras-like protein</i>
Ral-GDS	<i>Ral GDP dissociation stimulator</i>
ras	von <i>rat sarcoma</i> ; G-Protein und Protoonkogen
Rho-GTPase	<i>Ras-homologous GTPase</i>
ROCK	<i>Rho-associated coiled-coil-containing protein kinase</i>
ROI	<i>Region-of-Interest</i>
ROI <sub>M</sub>	<i>Region-of-Interest</i> im Muskel
ROI <sub>T</sub>	<i>Region-of-Interest</i> im Tumor
s.	siehe
S.	Seite
SCID	<i>Severe-combined-immunodeficiency</i>
sec	Sekunden
SD	<i>Standard deviation</i> ; Standardabweichung
SE	<i>Standard Error</i> ; Standardfehler

SPECT	Single-Photon-Emissionscomputertomografie
Tc	Technetium
T/M-Quotient	Tumor/Muskel Quotient
T/M <sub>dyn</sub> -Quotient	dynamischer Tumor/Muskel Quotient
T/M <sub>mean</sub> -Quotient	mittlerer Tumor/Muskel Quotient
TRAMP	<i>Transgenic Adenocarcinoma of the Mouse Prostate</i>
TRUS	Transrektaler Ultraschall
u. a.	unter anderem
V	Volt
v. a.	vor allem
vgl.	vergleiche
V <sub>max</sub>	maximale Umsatzgeschwindigkeit
Wo	Woche
z. B.	zum Beispiel
z. T.	zum Teil



## Einleitung

Das Prostatakarzinom ist der häufigste maligne Tumor des Mannes und stellt eine der häufigsten Todesursachen von Männern dar. Der Behandlung und insbesondere der Früherkennung des Prostatakarzinoms wird viel Aufmerksamkeit geschenkt. Nach der primären Therapie erleidet eine beträchtliche Anzahl von Patienten ein Rezidiv. Ein Anstieg des PSA-Werts kann einem klinisch nachweisbaren Rezidiv bereits Monate oder Jahre vorausgehen. Der Anstieg des PSA-Werts erlaubt jedoch keine Aussage über die Unterscheidung zwischen regionalen Lymphknotenmetastasen und Fernmetastasen. Für die Therapieplanung sind diese Informationen über Lokalisation und Ausmaß der Erkrankung aber entscheidend. Morphologische bildgebende Verfahren wie die Computertomografie (CT) und die Magnet-Resonanz-Tomografie (MRT) weisen in diesen Situationen nur eine geringe Sensitivität und Spezifität auf – insbesondere wenn die PSA-Werte nur geringfügig erhöht sind.

Hybridbildgebungsverfahren wie die PET/CT kombinieren funktionelle und morphologische Daten in einer simultanen Ganzkörperbildgebung. Daraus resultieren verbesserte Möglichkeiten, die Läsionen zu lokalisieren und zu charakterisieren, auch im Hinblick auf die Bildgebung von Prostatakarzinomen.

Der PET-Tracer Fluordesoxyglucose (FDG), der bei vielen anderen Tumorentitäten eingesetzt wird, zeigt beim Prostatakarzinom eine nur begrenzte Sensitivität. Eine Anreicherung mit FDG findet sich v. a. in entdifferenzierten aggressiven und metastasierten Prostatakarzinomen [Oyama N. et al. 1999 S.626; Oyama N. et al. 2002b S.102]. Deswegen werden vermehrt andere Tracer, wie z. B. [<sup>11</sup>C]- und [<sup>18</sup>F]-markierte Cholerivate eingesetzt, v. a. in der Rezidivsituation und in der Detektion von fortgeschrittenen Prostatakarzinomen [Tuncel et al. 2008 S.694; Krause B.J. et al. 2008 S.21].

Patienten mit fortgeschrittenem Prostatakarzinom werden häufig mit einzelnen Chemotherapeutika oder Kombinationen behandelt. Ein Ansprechen auf eine solche Therapie wird für gewöhnlich anhand des PSA-Werts und morphologischen Kriterien,

z. B. mittels der CT oder MRT kontrolliert. Morphologische Veränderungen sind aber oft erst Wochen bis Monate nach Therapiebeginn zu sehen. Es bedarf also weiterer Marker, um möglichst frühzeitig ein Therapieansprechen erkennen zu können.

Nur wenige Daten sind bisher zum Einsatz der [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin PET/CT zur Beurteilung eines Therapieansprechens von Prostatakarzinomen vorhanden.

Xenograft-Mausmodelle mit menschlichen Prostatakarzinom-Zelllinien wurden erfolgreich in der präklinischen Forschung etabliert. Zheng et al. konnten 2004 zeigen, dass die [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin PET dazu geeignet ist, Tumoren aus verschiedenen menschlichen Prostatakarzinom-Zelllinien im Xenograft-Mausmodell darzustellen.

Wir benutzten in dieser Studie die [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin Kleintier-PET/CT, um ein Ansprechen von PC-3- und LNCaP-Tumoren in Prostatakarzinom-Xenograft-Mausmodellen auf eine Docetaxel-Therapie zu ermitteln.

## Grundlagen

Prostatakarzinome gehören zu den am häufigsten diagnostizierten Neoplasien und sind eine der führenden Todesursachen bei Männern. In Deutschland treten 26,2% der Neubildungen in der Vorsteherdrüse auf [Robert-Koch-Institut 2010 S.12]; es ist somit der häufigste bösartige Tumor des Mannes in Deutschland. Die Inzidenz des Prostatakarzinoms ist hierbei deutlich altersabhängig: Liegt die Inzidenz bei den 35- 39-Jährigen noch bei 0,7/100.000 Männer, steigt sie in der Altersgruppe der 65- bis 69-Jährigen auf 905/100.000 [Deutsche Gesellschaft für Urologie e. V. 2009 S.10]; vor dem 50. Lebensjahr tritt es nur in 0,01% der Fälle auf. Das durchschnittliche Erkrankungsalter liegt derzeit bei 71 Jahren [Paul R. et al. 2008 S.1].

Auch die Zugehörigkeit zu einer ethnischen Gruppe spielt eine Rolle: so konnte in epidemiologischen Studien gezeigt werden, dass farbige Männer ein leicht erhöhtes Risiko haben, an einem Prostatakarzinom zu erkranken [Baquet C.R. et al. 1991 S.552ff.]. Als weiterer Risikofaktor wurde eine positive Familienanamnese identifiziert: Männer mit einem betroffenen Bruder haben ein ca. dreifach erhöhtes Risiko, ebenfalls ein Prostatakarzinom zu bekommen [Zeegers M.P.A. et al. 2003 S.1897].

Die Bestimmung des PSA-Werts im Serum (Gesamt-PSA und freies PSA), die digital-rektale Untersuchung (DRU) und der transrektale Ultraschall (TRUS) haben sich als Standard-Methoden bei Verdacht auf ein Prostatakarzinom etabliert. Dem PSA-Wert kommt hier eine entscheidende Stellung zu: ist der PSA-Wert erhöht und fällt der Palpationsbefund negativ aus, findet sich in 36% der Fälle ein Prostatakarzinom [Paul R. et al. 2008 S.8].

Bei PSA-Werten über 4,0 ng/ml sowie bei auffälligem rektalem Tastbefund sollten Prostatastanzbiopsien zur histologischen Sicherung eines Karzinoms gewonnen werden [Krause B.J. et al. 2007 S.181]. Zur Beurteilung der lokalen Tumorausdehnung (T-Status) wird meist der TRUS herangezogen. Eine

Kapselpenetration wird mit einer Sensitivität von 63% und einer Spezifität von 78% und eine Infiltration der Samenblasen mit einer Sensitivität von 63% und einer Spezifität von 81% nachgewiesen. Die Sensitivität und Spezifität einer CT-Untersuchung erscheinen bei der Ermittlung des T-Status als unzureichend [Paul R. et al. 2008 S.14]. Bessere Ergebnisse liefert hier die MRT-Untersuchung. Ein kapselüberschreitendes Wachstum wird hier mit einer Sensitivität von 91% und einer Spezifität von 83% nachgewiesen. Eine Infiltration der Samenblasen weist die MRT mit einer Sensitivität von 86% und einer Spezifität von bis zu 93% nach und ist damit dem TRUS und der CT überlegen [Heuck A. et al. 2003 S.472].

Zur Beurteilung des Lymphknotenstatus (N-Status) erweisen sich weder CT noch MRT mit geringen Sensitivitäten von 28 bis 45% als geeignet. Allein die offen oder laparoskopisch durchgeführte pelvine Lymphadenektomie stellt eine verlässliche Methode dar, den Lymphknotenstatus zu erfassen [Paul R. et al. 2008 S.15f.].

Zum Nachweis von Knochenmetastasen (M-Status) ist die Knochenszintigraphie die sensitivste Methode. Sie wird in der Regel mit [<sup>99m</sup>Tc]-markierten Bisphosphonaten durchgeführt. Die CT allein bringt keinen zusätzlichen Informationsgewinn. Das Hybridbildgebungsverfahren SPECT/CT weist hier eine höhere Sensitivität und Spezifität auf. Die MRT kann durch eine optimale Abbildung des Knochenmarkraums zur Darstellung von Knochenmarksmetastasen hilfreich sein [Paul R. et al. 2008 S.16].

Die meisten Prostatakarzinome sind in ihrem Wachstum von Androgenen abhängig. In diesen Fällen spielt eine therapeutische Androgen-Ablation eine entscheidende Rolle. Doch selbst damit ist die Prognose häufig ungünstig. Denn eine Vielzahl der Prostatakarzinome wird im Laufe der Erkrankung oder im Zuge des Androgenentzugs Androgen-unabhängig.

Unklar ist bisher, wie primär Androgen-abhängige Prostatakarzinome innerhalb von kurzer Zeit resistent gegenüber der Androgen-Ablation werden. Hierzu gibt es zwei Hypothesen:

Androgen-abhängige und Androgen-unabhängige Zellen sind von Anfang an nebeneinander vorhanden. Nach dem Entzug von Androgenen werden die

unabhängigen Tumorzellen selektiert und überleben; es entwickelt sich ein Androgen-unabhängiger Phänotyp [Craft N. et al. 1999 S.5034f.].

Oder aber alle Zellen sind zu Beginn der Tumorentwicklung in ihrem Wachstum abhängig von Androgenen. Im Zuge der Tumorprogredienz und damit einhergehenden genetischen Alterationen jedoch verlieren die Zellen ihre Androgen-Abhängigkeit [Igawa T. et al. 2002 S.223].

Unbekannt ist bisher, über welche Mechanismen Prostatakarzinom-Zellen der Abhängigkeit von Androgenen entgehen. Folgende Wege werden für möglich gehalten [Pienta K.J. et al. 2005 S.300f.; Rumohr J.A. et al. 2006 S.529]:

Es scheint denkbar, dass zum einen die Synthese von Androgen-Rezeptoren in den malignen Zellen im Sinne eines negativen Feedback-Mechanismus gesteigert ist. Die Zellen kommen so auch mit sehr geringen Konzentrationen an Testosteron aus.

Weiterhin werden Mutationen in den Genen der Androgenrezeptoren diskutiert. Dies kann zu einem veränderten Bindungsverhalten der Rezeptoren führen, so dass auch andere Steroide oder ähnliche Moleküle eine Aktivierung der Zelle mittels des Androgenrezeptors bedingen können.

Ferner spielt der Phosphorylierungsstatus des Rezeptors möglicherweise eine Rolle: ist der Rezeptor nicht phosphoryliert, so ist er inaktiv. Ein verändertes Phosphorylierungsverhalten des Rezeptors kann seine konstitutive Aktivierung hervorrufen.

Und schließlich werden alternative Signalwege erwogen, wie z. B. die Hochregulierung von bcl-2, welche es den malignen Zellen erlaubt, der Apoptose auch in Abwesenheit von Androgenen zu entgehen.

Verlieren diese Tumoren ihre Abhängigkeit von Androgenen, so sind sie resistent gegenüber einer sekundären Hormontherapie, was die therapeutischen Möglichkeiten äußerst einschränkt. Um bei fortgeschritteneren Prostatakarzinomen, die weniger Androgen-abhängig sind, bessere Ergebnisse zu erzielen, werden die betroffenen Patienten vermehrt mit Kombinationen aus Chemotherapie und gezielten Therapien behandelt. Auf eine Chemotherapie sprechen aber nur ca. 20-50% der Patienten mit fortgeschrittenem Prostatakarzinom an [Anderson J. et al. 2008 S.1499]. Nichtsdestotrotz konnten in den letzten Jahren klinische Studien zeigen, dass eine Chemotherapie bei Prostatakarzinomen eine bedeutende Rolle in der

Palliativtherapie spielen kann. Docetaxel wurde bei der Behandlung von Hormon-refraktären Prostatakarzinomen (HRPC) ein Standardmedikament [Tannock I.F. et al. 2004 S.1506ff.; Petrylak D.P. et al. 2004 S.1516ff.] und wird in vielen Chemotherapie-Protokollen von metastasierten Prostatatumoren verwendet.

Der Wirkmechanismus von Docetaxel wurde in letzter Zeit intensiv untersucht.

Docetaxel, ein halb-synthetisches Taxan, greift in den Mitoseapparat sich teilender Zellen ein. Unter physiologischen Bedingungen polymerisieren  $\beta$ -Tubuline in Anwesenheit von GTP und anderen Co-Faktoren und bilden so den Spindelapparat aus, der für die Trennung der homologen Chromosomen in der Mitose nötig ist. Docetaxel bindet nun an  $\beta$ -Tubulin und führt somit zu einer statischen Polymerisation der Mikrotubuli; die Depolymerisation wird inhibiert. Dies stört den normalen mitotischen Vorgang und die Zellen verbleiben in der G<sub>2</sub>M-Phase des Zellzyklus. Dies führt schlussendlich zur Apoptose.

Möglicherweise spielt bcl-2, das Produkt eines bekannten Protoonkogens, das die Apoptose inhibiert, in diesem Zusammenhang eine wichtige Rolle. In der G<sub>2</sub>M-Phase wird bcl-2 – auch in gesunden Zellen – phosphoryliert. Normalerweise wird dadurch eine Kaskade von Caspasen zeitweise aktiviert; über weitere Zellstrukturproteine wird die Mitose weiter angetrieben. Dadurch aber, dass Docetaxel die Zellen in der G<sub>2</sub>M-Phase festhält, wird bcl-2 konstitutiv phosphoryliert und die ständige Aktivierung der Caspasen-Kaskade führt schließlich zur Apoptose [Pienta K.J. 2001 S.4; Kolfshoten G.M. et al. 2002 S.740]. Weitere Veränderungen der Regulation von bestimmten Genen werden von Docetaxel bewirkt. Unter anderem werden vermehrt Gene exprimiert, die den programmierten Zelltod einleiten [Li Y. et al. 2004 S.166; Gomez L.A. et al. 2006 S. 1223ff.].

Um herauszufinden, welche Patienten möglicherweise von einer Einzel-, bzw. einer Kombinationstherapie profitieren können, zieht man für gewöhnlich Biomarker (PSA-Spiegel, PSA-Verdopplungszeit, PSA-Anstiegsgeschwindigkeit, PSA-Dichte) und morphologisch bildgebende Verfahren (CT, MRT) heran. Bevor hier aber ein Ansprechen auf die Therapie, d. h. eine Verkleinerung des Tumors, festgestellt werden kann, vergehen häufig Wochen und Monate. Die Suche nach weiteren Parametern, die zudem auch präziser sind für die Ermittlung des Therapieansprechens, ist Gegenstand aktueller Forschung. Solche Marker sollten

möglichst früh nach Beginn der Therapie zu ermitteln sein. Sie könnten dabei helfen, diejenigen Patienten zu selektieren, die keinen klinischen Nutzen von der Therapie haben und die aufgrund dessen alternativen Therapieansätzen zugeführt werden könnten; somit wäre es eventuell möglich, diesen Patienten eine individualisierte Therapie zukommen zu lassen.

Die Beurteilung der Stoffwechselfvorgänge von Tumoren anhand der Positronen-Emissions-Tomografie (PET) stellt ein vielversprechendes Verfahren dar, Effekte einer Tumorthherapie früh sichtbar zu machen; mit [<sup>18</sup>F]FDG als Marker für den gesteigerten Glucose-Metabolismus wird es bereits bei einer Vielzahl von Tumoren eingesetzt [Herrmann K. et al. 2009 S.214f.]. FDG wurde sowohl im Tiermodell [Oyama N. et al. 2002a S.786ff.] als auch beim Menschen [Oyama N. et al. 2001 S.22ff.] bezüglich seines Nutzens bei der Beurteilung des Therapieansprechens von Prostatakarzinomen untersucht. Diese Studien zeigten, dass die Veränderungen im Glukose-Stoffwechsel es ermöglichen, nach der Behandlung von Prostata-Tumoren deren Therapieansprechen mithilfe der [<sup>18</sup>F]FDG-PET zu ermitteln. Die Aussagekraft der [<sup>18</sup>F]FDG-PET bei Prostatakarzinomen aber wird durch die relativ niedrige Sensitivität begrenzt, mit der [<sup>18</sup>F]FDG sowohl Primär- als auch Sekundärtumoren aufspürt. Dies liegt an dem nur gering gesteigerten Glukosemetabolismus und der langsamen Proliferationsrate der meisten Prostatakarzinome. Eine FDG-Anreicherung zeigt sich für gewöhnlich nur in entdifferenzierten aggressiven und metastasierten Prostatakarzinomen. [<sup>18</sup>F]FDG wird zudem über den Urin ausgeschieden, so dass man in der Blase in der Regel ein sehr hohes Signal in den PET-Aufnahmen findet, was die Auswertung des Signals der in unmittelbarer Nähe gelegenen Prostata äußerst erschwert [Hara T. et al. 1998 S.995]. Für die molekulare Bildgebung von Prostatakarzinomen wurden deshalb alternative Tracer wie [<sup>11</sup>C]Methionin, [<sup>11</sup>C]Cholin, [<sup>11</sup>C]Acetat oder 16β-[<sup>18</sup>F]Fluoro-5α-Dihydrotestosteron vorgeschlagen [Nuñez R. et al. 2002 S.46ff.; Kotzerke J. et al. 2000 S.1415ff.; Wachter S. et al. 2006 S.2513ff.; Dehdashti F. et al. 2005 S.344ff.; Larson S.M. et al. 2004 S.366ff.]. Darunter zeigen insbesondere [<sup>11</sup>C]- und [<sup>18</sup>F]-markierte Cholinderivate vielversprechende Ergebnisse; im Speziellen auch, wenn es darum geht, die Tumorausdehnung bei Patienten mit einem biochemischen Rezidiv, d. h. mit einem neuen Anstieg des PSA-Werts [Reske S.N. et al. 2008 S.12ff.; Rinnab

L. et al. 2007 S.790ff.; Krause B.J. et al. 2008 S.21], und mit fortgeschrittenem Prostatakarzinom [Tuncel M. et al. 2008 S.691ff.] zu ermitteln.

Cholin spielt als Bestandteil von Phosphatidylcholin (PtdCho) und Sphingomyelin eine wichtige Rolle im Aufbau und der Integrität von Zellmembranen. So trägt PtdCho zu ca. einer Hälfte des gesamten Lipidgehalts in Zellmembranen bei [Michel V. 2006 S.490].

Weiterhin vermitteln von diesen Phospholipiden abgeleitete Metaboliten wie Phosphocholin (PCho) oder Diacylglycerol (DAG) als *second messenger* grundlegende Funktionen im Rahmen von Zellteilung [Ackerstaff E. et al. 2003 S.525f.]. Enge Beziehungen bestehen ebenso zu Entzündungsreaktionen: mit Hilfe von Phospholipase A2 (PLA2) und z. T. auch den Phospholipasen C (PLC) und D (PLD) wird aus PtdCho Arachidonsäure freigesetzt. Arachidonsäure wiederum wird benötigt zur Synthese von Prostaglandinen und Eicosanoiden, wichtigen inflammatorischen Mediatoren.

Veränderungen in der Verstoffwechslung von Cholin sind bei Tumorzellen schon seit langem bekannt. So kommt es in malignen Zellen zu einer Steigerung der Konzentration von Gesamt-Cholin als auch von Phosphocholin (PCho) [Ackerstaff E. et al. 2001 S.3600]. In Krebszellen zählen diese Veränderungen zu den frühesten während der Karzinogenese [Ackerstaff E. et al. 2003 S.528f.]. In vielen Tumorarten (Prostata, Lymphomzellen, Kolon, Mamma) sowie in fetalen, undifferenzierten und schnell proliferierenden Geweben finden sich erhöhte Mengen von PCho [Ackerstaff E. et al. 2003 S.528ff.; Podo F. 1999 S.429ff.].

Weitere Eigenschaften maligner Zellen stehen in Verbindung zum Cholinmetabolismus. Es wird vermutet, dass Krebszellen Wachstumsfaktoren und/oder andere Substanzen sezernieren, die Einfluss auf den Phospholipidmetabolismus von Endothelzellen nehmen, um den Tumor besser zu vaskularisieren und somit seine Versorgung sicher zu stellen [Ackerstaff E. et al. 2003 S.526].



Die erhöhten Mengen von Gesamt-Cholin und PCho werden im Allgemeinen auf drei verschiedene Stoffwechselschritte zurückgeführt:

- i. gesteigerter Cholin-Transport in die Zelle
- ii. gesteigerte Aktivität der Cholin-Kinase
- iii. gesteigerte Aktivität von Phospholipasen

(i) Bisher wurden drei Wege dokumentiert, die für den Transport von Cholin aus dem Blut über die Zellmembran sorgen:

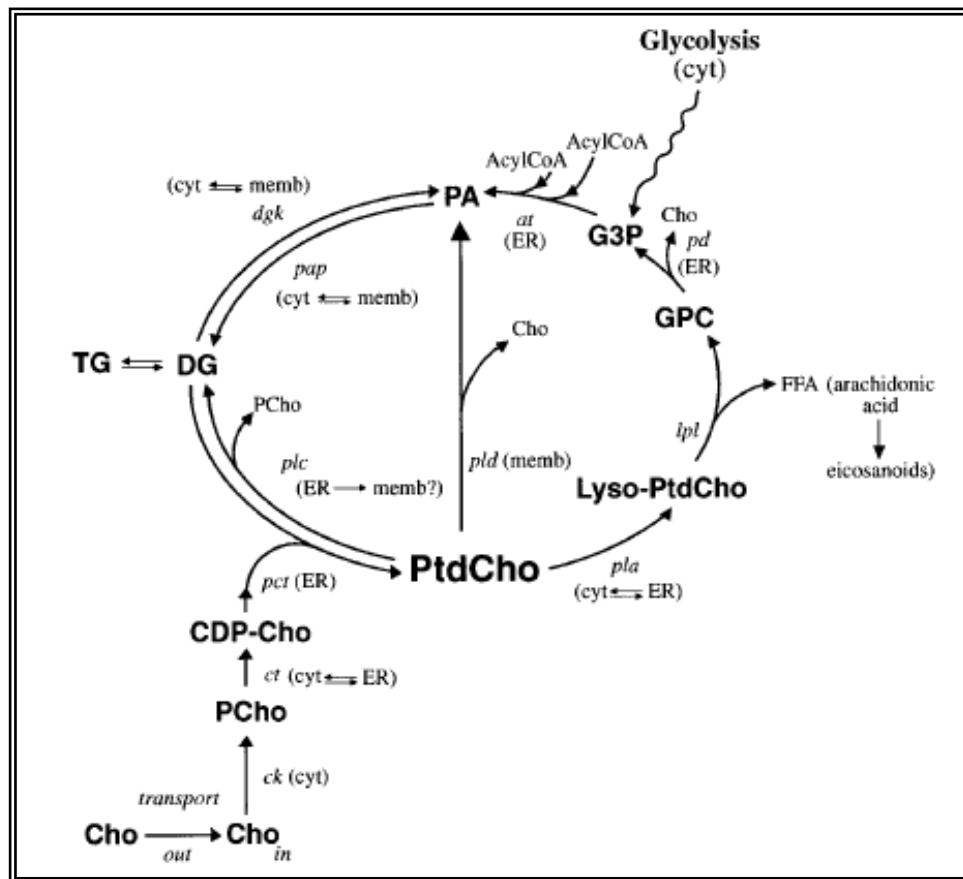
Der erste Mechanismus besteht in der erleichterten Diffusion, die vom Cholin Konzentrationsgradienten über die Membran getrieben wird; dies ist z. B. bei Erythrozyten beschrieben. Die Michaelis-Konstante ( $K_M$ ) für diesen Weg liegt bei ca. 10  $\mu\text{M}$  Cholin [Michel V. et al. 2006 S.493].

Des Weiteren ist das hoch-affine, Energie-abhängige Transportsystem zu nennen. Die  $K_M$  für diesen Mechanismus beträgt 0,5-3  $\mu\text{M}$  Cholin. Er wird durch niedrige Dosen von Hemicholinium-3 (HC-3), einem reversiblen und kompetitiven Inhibitor, gehemmt ( $K_I$  1-3  $\mu\text{M}$ ) und ist zudem  $\text{Na}^+$ - und  $\text{Cl}^-$ -abhängig. Transporter, die für diesen Weg verantwortlich gemacht werden und inzwischen erfolgreich identifiziert wurden, werden unter der Familie der „high-affinity choline transporter“ (CHT) zusammengefasst. Sie finden sich vorzugsweise in den präsynaptischen Membranen von Neuronen; hier stellen sie Cholin für die Synthese von Acetylcholin in cholinergen Neuronen zur Verfügung [Lockman P.R. et al. 2002 S.753ff.; Okuda T. et al. 2003 S.483ff.; Michel V. et al. 2006 S.494f.].

Der dritte Mechanismus findet sich ubiquitär im Gewebe. Er hat eine niedrigere Affinität zu Cholin ( $K_M \approx 20\text{-}200 \mu\text{M}$ ), ist wohl zumindest zum Teil  $\text{Na}^+$ -abhängig und wird weniger effektiv durch HC-3 gehemmt ( $K_I \approx 20\text{-}200 \mu\text{M}$ ) als CHT. Es dient den Zellen für die Bereitstellung von Cholin für die Synthese der Phospholipidmembranen. Hier wurden Transportproteine gefunden und in die Gruppe der „choline transporter-like“ (CTL) eingeordnet [Lockman P.R. et al. 2002 S.751ff.; Hara T. et al. 2006 S. 508; Michel V. et al. 2006 S.497ff.; Müller S.A. et al. 2009 S.1440].

(ii) Die Cholin-Kinase katalysiert in Anwesenheit von  $\text{Mg}^{2+}$  die ATP-abhängige Phosphorylierung von Cholin zu Phosphocholin (PCho); dies stellt den ersten Schritt

im Kennedy-Pathway (s. Abb. 1) dar, der essentiell für den Phospholipidmetabolismus einer Zelle ist.



**Abbildung 1 – Darstellung des Kennedy-Pathway**

Der nach seinem Erstbeschreiber Eugene Kennedy benannte Stoffwechselweg macht die Bedeutung von Cholin im Rahmen der Phospholipidsynthese klar. Cholin (Cho) wird vorwiegend über Cholin-Transporter in die Zellen aufgenommen. Die Cholin-Kinase phosphoryliert daraufhin ATP-abhängig Cholin zu Phosphocholin (PCho). Dadurch wird verhindert, dass das Molekül die Zelle wieder verlassen kann (sog. Trapping-Mechanismus). Phosphocholin steht dann weiteren Stoffwechselvorgängen zur Verfügung wie z. B. der Membransynthese oder der Bereitstellung von Arachidonsäure.

Die [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin-PET-Bildgebung macht sich diesen Weg zunutze: [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin wird über die gleichen Mechanismen in die Zellen aufgenommen und dort phosphoryliert. Das phosphorylierte [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin kann jedoch nicht mehr an den weiteren Stoffwechselwegen teilnehmen. Es akkumuliert in der Zelle und führt zu einem Signal in der PET.

Neben Cholin dient auch Ethanolamin als Substrat der Cholin-Kinase. Beim Menschen wurden bisher 5 Isoformen der Cholin-Kinase beschrieben: ChoK- $\alpha$ 1, - $\alpha$ 2, - $\beta$ 1, ChoK- $\beta$ 2 und HCEKV (*human choline/ethanolamine kinase-*

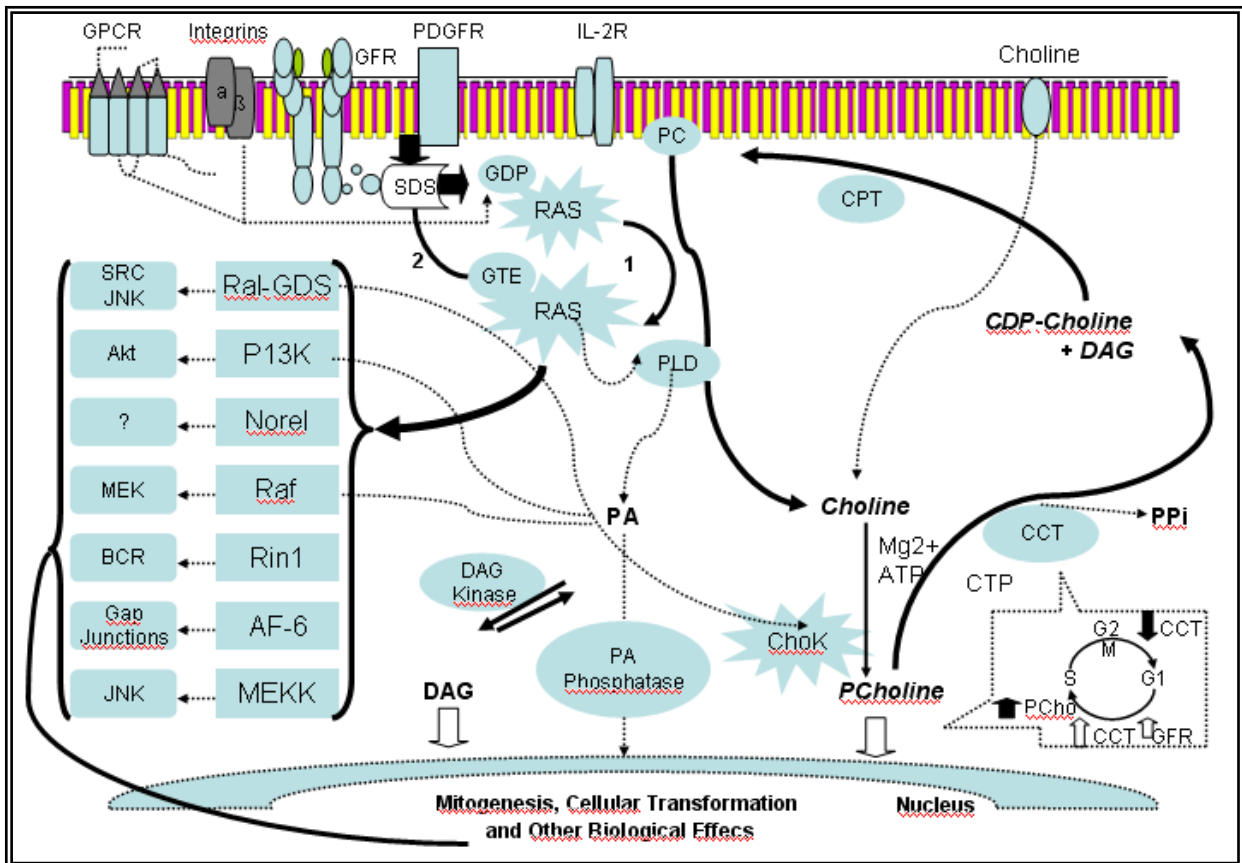
*related gene variant*). Diese Isoformen sind entweder als Homo- oder Hetero-Dimere oder als Oligomere aktiv. Die Regionen der Cholin-Kinase scheinen hoch konserviert zu sein: so sind die Aminosäuresequenzen von cDNAs von Ratten und Menschen nahezu identisch, bis auf zusätzliche 20 Aminosäuren am N-Terminus des menschlichen Stranges [Janardhan S. et al. 2006 S.1177].

In einer Vielzahl von Tumorgeweben, u. a. in Prostatakarzinomen, findet sich eine Überexpression der Cholin-Kinase im Vergleich zu den korrespondierenden gesunden Geweben [Ramírez de Molina A. et al. 2002a S.581ff.]. Und auch die Cholin-Kinase selbst scheint über das Potential zu verfügen, als Onkogen zur Transformation zu führen und die Tumorgenese unter dem Einfluss von entsprechenden Signalmolekülen zu verstärken [Ramírez de Molina A. et al. 2005 S.5651].

(iii) Eine vermehrte Hydrolyse von Phospholipiden durch die Phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) führt zu einer gesteigerten Freisetzung sowohl von PtdCho, bzw. PCho als auch von Arachidonsäure. Abkömmlinge der Arachidonsäure können sich auf Tumorzellen auswirken: so stimuliert Prostaglandin E<sub>2</sub> die Zellproliferation und 12-Hydroxy-Eicosatetraensäure fördert die Adhäsion von Tumorzellen an Endothelzellen [Guthridge C.J. et al. 1994 S.12].

In Brustkrebsgewebe konnte eine Überexpression der Phospholipase D<sub>1</sub> (PLD<sub>1</sub>) festgestellt werden [Noh D.-Y. et al. 2000 S.209f.]. Eine der Hauptfunktionen der Phospholipase D besteht darin, PtdCho in Phosphatidat und Cholin zu spalten. PLD steht somit über Phosphatidat in Verbindung mit einer Vielzahl von Vorgängen, u. a. auch mit Proliferation, Differenzierung, Tumorgenese und Immunantwort.

In letzter Zeit wird zunehmend diskutiert, inwiefern die Cholin-Kinase in ihrer Aktivität unter dem Einfluss des *ras*-Signalwegs (von *rat sarcoma*) steht (s. Abb. 2, S. 20).



**Abbildung 2 –  
ras-Signalweg**

Der *ras*-Signalweg ist besonders relevant durch seine zahlreichen Interaktionen mit anderen Stoffwechselfvorgängen wie Zellproliferation oder Zellentwicklung. Auch der Cholin-Metabolismus steht in Verbindung zum *ras*-Signalweg. Zum einen wird die Phospholipase D (PLD) durch *ras* in seiner Aktivität beeinflusst. Zum anderen übt *ras* über nachgeschaltete Effektoren wie Ral-GDS oder PI3K Einflüsse auf die Cholin-Kinase (Chok) aus.

Das Produkt des *ras*-Gens stellt eine GTPase dar, die Teil von membranständigen Rezeptoren für verschiedene Wachstumsfaktoren wie PDGF (*platelet-derived growth factor*) oder EGF (*epidermal growth factor*) ist. Durch ebendiese wird das *ras*-Protein aktiviert, ebenso wie durch GEFs (*Guanine exchange factors*). Nach Aktivierung des *ras*-Proteins nimmt es über weitere Effektoren, wie z. B. Raf-1, PI3K (*phosphoinositide 3-kinase*), Ral-GDS (*Ral GDP dissociation stimulator*) und *second messenger* eine Vielzahl von Funktionen wahr: es vermittelt Zellproliferation, Zellentwicklung, Differenzierung und Apoptose, Lipidstoffwechsel und Transportmechanismen, Zytoarchitektur etc. [Janardhan S. et al. 2006 S.1171]. Inaktiviert wird das *ras*-Protein durch GAPs (*GTPase-activating proteins*). Diese

führen zu einer Spaltung des gebundenen GTPs (Guanosin-Triphosphat) zu GDP (Guanosin-Diphosphat), wodurch das Ausmaß der Effekte begrenzt wird.

Das *ras*-Protoonkogen gehört zu den Genen, die in menschlichen Tumoren am häufigsten Mutationen aufweisen. Häufig handelt es sich um Punktmutationen, die dazu führen, dass das Genprodukt konstitutiv aktiviert bleibt und es somit zu einer Hyperaktivierung der Zellzyklus-regulierenden Faktoren kommt – ein wichtiger Schritt in der Genese eines Tumors. Mutationen in den verschiedenen Isoformen des *ras*-Produkts wurden in vielen Tumorzellen nachgewiesen, u. a. beim Prostatakarzinom [Janardhan S. et al. 2006 S.1173].

Die Cholin-Kinase sowie auch die Phospholipase D (s.o.) scheinen unter dem Einfluss von *ras*-Proteinen und deren Effektoren, insbesondere von Ral-GDS und PI3K, zu stehen und durch diese aktiviert zu werden [Hernández-Alcoceba R. et al. 1999 S.3116f.; Ramírez de Molina A. et al. 2002b S.938ff.; Janardhan S. et al. 2006 S.1175].

Des Weiteren ist die Cholin-Kinase durch eine zweite Gruppe von GTPasen indirekt über ROCK (*Rho-associated coiled-coil-containing protein kinase*) und andere Effektoren induzierbar, den Rho-GTPasen (*Ras-homologous GTPases*), die eine Rolle im Rahmen von Transkriptions-, Zellzykluskontrolle und Genexpression spielen und ebenfalls an maligner Transformation und der Entstehung von Tumoren beim Menschen beteiligt sind [Ramírez de Molina A. et al. 2005 S.5648ff.].

[<sup>11</sup>C]Cholin wurde als möglicher PET-Imaging-Biomarker für die Bildgebung von Prostata-Tumoren im Mausmodell untersucht. Zheng Q.-H. et al. [2004] verwendeten [<sup>11</sup>C]Cholin erfolgreich als Kleintier-PET-Marker in vier Xenograft-Modellen. Athymischen Mäusen wurden vier Prostatakarzinomzelllinien implantiert: PC-3, LNCaP sowie C4-2 und CWR22rv. Die Autoren untersuchten das Verteilungsverhalten von [<sup>11</sup>C]Cholin in die verschiedenen Gewebe.

Wir benutzten in unserer Studie zwei etablierte und publizierte Prostatakarzinom-Zelllinien: LNCaP und PC-3. Die LNCaP-Zellreihe hat sich als Modell für menschliche androgenabhängige Adenokarzinomzellen der Prostata bewährt. Die Zellen wurden aus supraklavikulären Lymphknotenmetastasen eines Prostatakarzinompatienten gewonnen [Horoszewicz J.S. et al. 1980 S.115ff.]. Sie verfügen über einen aneuploiden Chromosomensatz. Die Zellen exprimieren

Androgen-Rezeptoren und sind in ihrem Wachstum von Androgenen abhängig. Außerdem sezernieren diese Zellen PSA.

Die Eigenschaften der Zellen können aus den in-vitro Versuchen auf das Mausmodell übertragen werden [Horoszewicz J.S. et al. 1983 S.1816]. Subkutan in die Flanken von athymischen Mäusen injiziert wachsen die LNCaP-Zellen. Bei männlichen Mäusen entwickeln sich die Tumoren früher und zuverlässiger als bei weiblichen Tieren.

Die Zellen der PC-3-Reihe stammen aus Knochenmarksmetastasen eines Prostatakarzinompatienten [Kaighn M.E. et al. 1979 S.16ff.]. Ihr Chromosomensatz ist stets aneuploid und verfügt über mindestens zehn verschiedene Markerchromosomen. Die Zellen exprimieren keine Androgen-Rezeptoren; zudem sind sie in ihrer Proliferation nur in geringem Maße abhängig von Wachstumsfaktoren und gelten damit als entdifferenzierter als die Zellen der LNCaP-Reihe. Die Verdopplungszeit der PC-3-Zellen beträgt ca. 33 Stunden. Sie sezernieren kein PSA.

In dieser Arbeit wurde überprüft, inwiefern die [<sup>11</sup>C]Cholin-Kleintier-PET/CT dazu geeignet ist, das Therapieansprechen von Prostatakarzinomen infolge einer Chemotherapie zu ermitteln. Dazu wurden PC-3- und LNCaP-Prostatakarzinomzellen subkutan in die Flanken von Xenograft-Mausmodellen injiziert. Die Tumoren wurden daraufhin 4 bis 6 Wochen wachsen gelassen. Um das Ansprechen der PC-3- und LNCaP-Prostatakarzinomtumoren auf eine Behandlung mit Docetaxel zu untersuchen, wurden von den Versuchstieren jeweils im Abstand von je einer Woche insgesamt vier [<sup>11</sup>C]Cholin-PET/CT-Untersuchungen durchgeführt, eine Aufnahme vor und drei Aufnahmen nach der Pharmakointervention. Gleichermaßen wurde mit einer Gruppe von Kontrollmäusen verfahren, denen jedoch anstatt des Chemotherapeutikums Docetaxel lediglich phosphatgepufferte Salzlösung (PBS) verabreicht wurde. Wir ermittelten die Veränderungen im Wachstum der Tumoren; zusätzlich bezogen wir die Effekte einer Docetaxel-Therapie auf die Aufnahme von [<sup>11</sup>C]Cholin in die Tumoren in unsere Ergebnisse mit ein.

Die Fragestellungen dieser Arbeit waren:

Ist die [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin PET/CT für die Darstellung der LNCaP-, bzw. der PC-3-Xenograft-Prostatakarzinom-Modelle geeignet?

Gibt es Unterschiede in der [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin-Aufnahme zwischen den Xenograft-Modellen mit der LNCaP-, bzw. der PC-3-Zelllinie?

Inhibiert eine Behandlung mit Docetaxel das Tumorwachstum in den LNCaP-, bzw. PC-3-Xenograft-Modellen?

Moduliert eine Therapie mit Docetaxel die Aufnahme von [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin in die Tumoren der LNCaP-, bzw. PC-3-Zelllinie?

Lässt sich die Änderung der Aufnahme von [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin frühzeitig im Verlauf der Therapie nachweisen?

## Material und Methoden

### Synthese von [<sup>11</sup>C]Cholin

[<sup>11</sup>C]Cholin wurde mit kleinen Abwandlungen entsprechend der Methode von Pascali et al. 2000 synthetisiert. [<sup>11</sup>C]CO<sub>2</sub> wurde zu [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>I konvertiert durch die katalytische Gas-Phasen-Iodinisierungsreaktion über [<sup>11</sup>C]CH<sub>4</sub> (GE Mel MicroLab). [<sup>11</sup>C]CH<sub>3</sub>I wurde mit einem 50 ml/min Heliumfluss durch eine Light-CM Kartusche mit N,N-Dimethylethanolamin (25 µl) transferiert. Die Säule wurde zuerst mit 10 ml EtOH, dann mit 10 ml Wasser gewaschen. Das Produkt wurde zusammen mit isotoner Kochsalzlösung (2-5 ml 0,9% NaCl) durch einen Millipore-Filter (Millex GS, 0,22 µm) in einen sterilen Flakon gespült. Der pH-Wert der so gewonnenen Lösung betrug ca. 7. Qualitätskontrollen wurden mittels HPLC durchgeführt (LiChrosorb RP18, 250 x 4,6 mm; 1 mM Na-Salz der Naphthalinsulfonsäure, 50 mM H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 1,5 ml/min; k=3,7).

### Prostatakarzinom-Xenograft-Modelle

Die Tierexperimente wurden gemäß eines von der Technischen Universität München genehmigten Protokolls durchgeführt.

Zur Generierung der PC-3-Tumor-Xenograft-Modelle wurden 16 6-8 Wochen alte, männliche athymische nu/nu Mäuse (NMRI nu/nu Naval Medical Research Institute, Charles River Laboratories) verwendet. Subkutan in die linken Flanken wurden ihnen je  $1 \times 10^7$  PC-3-Zellen ohne Matrigel implantiert, gelöst in ca. 100 µl NaCl (0,9%).

Ebenso wurde mit jeweils  $1 \times 10^7$  LNCaP-Zellen verfahren, hier jedoch in die Flanken von 17 Severe-combined-immunodeficiency(SCID)-Mäusen (Charles River Laboratories). In die Nackenfalten dieser Mäuse wurden zusätzlich noch 12,5 mg

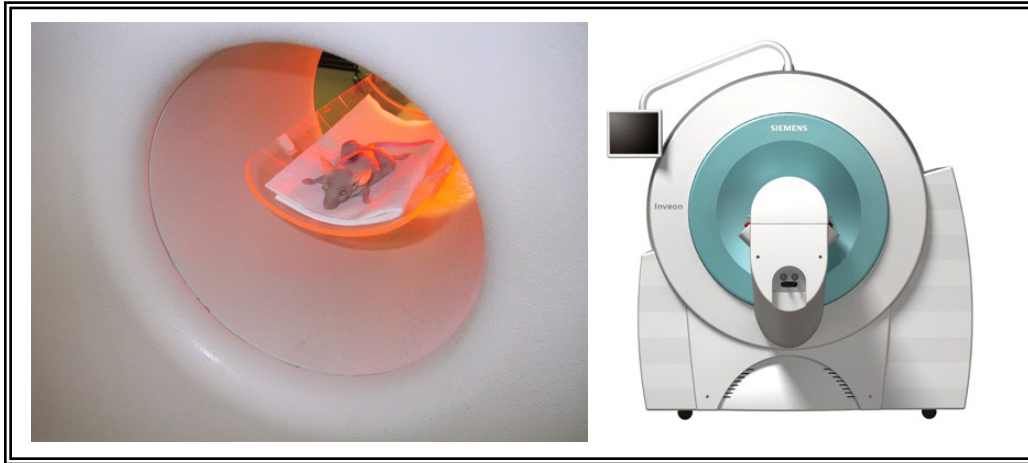


Testosteronplättchen (Innovative Research of America, Saraosta, Florida, USA) implantiert, die das Hormon kontinuierlich über einen Zeitraum von 60 Tagen freisetzen. Dies sichert eine kontinuierlich hohe Konzentration an Androgenen in den Mäusen und verhinderte den Untergang von Androgen-abhängigen Tumorzellen [Wang et al. 2005 S.150f.].

Per Ultraschall (13 MHz) wurde das Wachstum des Tumors über ca. vier bis sechs Wochen überprüft, bis sie ein Volumen von ca. 400 mm<sup>3</sup> erreicht hatten.

### Kleintier PET/CT Bildgebung

Etwa 4-6 Wochen nachdem der Tumor implantiert worden war, wurden von 13 Mäusen mit PC-3-Zellen, bzw. von 16 Mäusen mit LNCaP-Zellen im microPET FOCUS 120 Scanner (Siemens Preclinical Solutions, Knoxville, TN, USA; s. Abb. 3, S. 26) Aufnahmen in Bauchlage gemacht. [vergleiche Kim J.S. et al. 2007 S.1527ff. für die Aufnahmecharakteristiken des microPET FOCUS 120]. Die Auflösung des microPET Focus 120 beträgt zwischen 1,1 und 2,4 mm Halbwertsbreite in allen drei Dimensionen innerhalb eines 2 cm Sichtfelds um die zentrale Achse des Tomografen. Zur Bestimmung der Tumorgrenzen wurde teilweise zusätzlich ein Kleintier-CT mit dem INVEON CT (Siemens Preclinical Solutions; s. Abb. 3, S. 26) gemacht. Die Spannung der Röntgenröhre betrug 80 kV und die Stromstärke belief sich auf 300 µA. Während einer Rotation von 360° wurden je 270 Röntgenbilder gewonnen. Jede Aufnahme dauerte 400 msec. Die Rekonstruktion der CT-Bilder wurde mittels eines modifizierten Feldkamp-Algorithmus durchgeführt.



**Abbildung 3 –  
microPET FOCUS 120 Scanner und INVEON CT**

Die Mäuse wurden mit Isofluran über eine Maske anästhetisiert und im Zentrum des Sichtfelds des Kleintier-PET platziert. Während der Messungen wurden ständig Temperatur, Atmung und Reflexe überwacht. Über einen Mikrokatheter in der Schwanzvene wurde den Mäusen 37 MBq [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin injiziert; daraufhin erfolgte die dynamische PET-Aufnahme der Daten über 60 Minuten. Danach wurden die Tiere in den INVEON CT gelegt, wo eine zusätzliche CT-Aufnahme durchgeführt wurde.

Die Daten aus der dynamischen PET-Aufnahme wurden im Listmode akquiriert und gemäß folgendem Schema rekonstruiert: 20 sec x 15 3D-Datensätze, 60 sec x 10 3D-Datensätze, 300 sec x 9 3D-Datensätze (insgesamt 34 3D-Datensätze). Die 3D-Daten wurden mittels eines Fourier-Rebinning-Algorithmus in 2D-Daten umgewandelt. Die Rekonstruktion erfolgte durch einen Ordered-Subset-Expectation-Maximization-Algorithmus mit 16 Subsets und vier Iterationen. Bei den FOCUS PET-Scans wurde weder die Abschwächung noch die Streustrahlung korrigiert.

Nach der ersten [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin PET/CT-Aufnahme (Tag 0) wurden sieben der Mäuse aus der PC-3-Gruppe, bzw. acht der Mäuse aus der LNCaP-Gruppe mit Docetaxel behandelt; das Medikament wurde ihnen über einen Mikrokatheter in der Schwanzvene an den Tagen 1 und 5 in einer Dosierung von 3 mg/kg Körpergewicht verabreicht. Den restlichen Mäusen (neun PC-3, bzw. acht LNCaP) wurde als

Kontrollgruppe 100µl PBS injiziert. An den Tagen 7, 14 und 21 nach dem initialen PET/CT-Scan wurden die [<sup>11</sup>C]Cholin PET/CT-Aufnahmen gemäß dem bereits beschriebenen Protokoll wiederholt.

Vor jedem PET/CT-Scan wurden mit einer Schieblehre die maximalen Durchmesser des Tumors in allen drei Dimensionen ausgemessen. Das Volumen ergab sich mit Hilfe der Formel:

$$\text{Volumen} = \frac{1}{2} \times \text{maximale Durchmesser in den drei Dimensionen} \\ (\text{Breite} \times \text{Tiefe} \times \text{Höhe})$$

Im Laufe der Studie verstarben in der LNCaP-Gruppe vor der ersten PET-Aufnahme bereits ein Kontrolltier, sowie je ein Kontroll- und ein Therapietier nach der ersten Aufnahme. In der PC-3-Gruppe starben nach der ersten PET/CT-Aufnahme je ein Therapie- und ein Kontrolltier. Zwei Wochen nach dieser Aufnahme musste ein Kontrolltier wegen zu hoher Tumorlast gemäß dem Tierexperimentprotokoll geopfert werden.

Demzufolge wurden die Ergebnisse von 13 PC-3- und 14 LNCaP-Mäusen berücksichtigt.

Drei Wochen nach der ersten PET/CT-Aufnahme wurden alle übrigen Mäuse gemäß des Protokolls geopfert.

### Datenanalyse der [<sup>11</sup>C]Cholin Kleintier-PET/CT

Aus allen einzelnen PET-Aufnahmen wurde ein Summenbild berechnet. Es erfolgte eine Koregistrierung mit den CT-Daten. Je drei *Regions-of-Interest* (ROI) wurden in drei axialen Schichten der CT-Aufnahmen in das Tumorgewebe (ROI<sub>T</sub>) und die Muskulatur des gegenüberliegenden Oberschenkels (ROI<sub>M</sub>) gelegt. Diese ROIs wurden auf die entsprechenden PET-Daten transferiert. Bei den PC-3-Tumoren verwendeten wir rechteckige ROIs mit ca. 10,5 mm<sup>3</sup>, bzw. 5x5x0,421 mm<sup>3</sup>. Für die LNCaP-Tumoren wurden würfelförmige ROIs verwendet. Das Volumen der ROIs betrug ca. 27 mm<sup>3</sup>, bzw. 3x3x3 mm<sup>3</sup>.

Um die Abhängigkeit von der injizierten Aktivität und des Körpergewichts zu eliminieren, wurde das Verhältnis aus den Werten für Tumor und Muskel berechnet:

$$ROI_T/ROI_M = \textit{Tumor/Muscle-Quotient (T/M-Quotient)}.$$

Bei jeder Maus wurden drei T/M-Quotienten ermittelt; aus diesen wurde der Mittelwert errechnet (T/M<sub>mean</sub>-Quotient)

Für die Evaluation der [<sup>11</sup>C]Cholin-Dynamik wurden Zeit-Aktivitäts-Kurven sowohl für den Tumor als auch für den Muskel aus den 34 PET-Volumendatensätzen ermittelt. Dazu wurden die ROIs, die auf den CT-Bildern festgelegt wurden, auf jeden einzelnen PET-Datensatz transferiert. Aus dem Verhältnis der Aktivitätskurven von ROI<sub>T</sub> und ROI<sub>M</sub> über die Zeit ergaben sich die dynamischen T/M-Quotient (T/M<sub>dyn</sub>-Quotient)-Kurven. Sie bilden die relative Radiotracer-Clearance des Tumors ab.

Die [<sup>11</sup>C]Cholin T/M<sub>mean</sub>-Quotienten und die T/M<sub>dyn</sub>-Quotienten der ersten Akquisitionen wurden mit den T/M<sub>mean</sub>-Quotienten und T/M<sub>dyn</sub>-Quotienten der Akquisitionen, die nach einer, zwei und drei Wochen gewonnen wurden, statistisch verglichen. Wegen möglicher Veränderungen der Tumorkonfiguration wurden nach einer, zwei und drei Wochen jeweils neue ROIs platziert.

## Statistische Auswertung

Zur statistischen Auswertung benutzten wir SPSS Software (Version 15.0; SPSS; Inc. Chicago, IL, USA). Quantitative Werte wurden als Mittelwert ± Standardabweichung (SD), bzw. als Mittelwert ± Standardfehler (SE) angegeben. Alle statistischen Tests wurden zweiseitig durchgeführt und ein p-Wert kleiner als 0,05 wurde für statistisch signifikant erachtet.

### T/M<sub>mean</sub>-Quotienten

Um die Daten deskriptiv darzustellen, wurden die mittleren T/M-Quotienten (T/M<sub>mean</sub>-Quotienten) für die einzelnen Messzeitpunkte innerhalb der Therapie- und Kontrollgruppen berechnet. Anstelle bloßer Mittelwerte wurden die T/M<sub>mean</sub>-Quotienten basierend auf der Fläche unter der Kurve (*Area-under-the-Curve; AUC*) berechnet, denn die Aufnahmedauer der einzelnen PET-Akquisition war

unterschiedlich lang. Für die Tumorgröße wurde der mittlere Tumordurchmesser  $\pm$  Standardabweichung (SD) für die Therapie- und Kontrollgruppen berechnet; für das Tumolvolumen der LNCaP-Xenograft-Modelle wurde der Median mit 25. und 75. Perzentile für die Therapie- und Kontrollgruppen ermittelt.

### Analyse der dynamischen Daten

Um die gemessenen Parameter der  $T/M_{\text{dyn}}$ -Quotienten und der Tumorgröße, bzw. des Tumolvolumens zu analysieren, wurde ein Verallgemeinertes Schätzgleichungssystem (*Generalized Estimation Equation; GEE*) verwendet. Dieses Modell berücksichtigt, dass bei demselben Tier mehrere Messungen durchgeführt wurden, die in die statistische Analyse eingehen.

Zur Darstellung der mittleren Gruppenunterschiede und der Zeiteffekte wurden Regressionskoeffizienten  $\pm$  Standardfehler angegeben.

Weiterhin wurden zwei Interaktionsanalysen durchgeführt:

- **Woche x Therapie:** Diese Analyse diente dazu, zu testen, ob es hinsichtlich der  $T/M_{\text{dyn}}$ -Quotienten über drei Wochen eine statistisch signifikante Änderung im Verlauf der Therapie gab.
- **Woche x Dynamik:** Diese Interaktion wurde für jede Gruppe berechnet, um zu testen, ob es eine statistisch signifikante Änderung der Radiotracer-Clearance über drei Wochen ergab, d. h. ob sich die Anstiege der  $T/M_{\text{dyn}}$ -Quotienten im Verlauf der Beobachtungszeit von drei Wochen unterscheiden.

Das Wachstum der Tumoren der Therapie-, bzw. Kontrollgruppen wurde verglichen, indem die mittlere Änderung des Tumordurchmessers, bzw. des Tumolvolumens pro Zeiteinheit, d. h. pro Woche, ermittelt wurde. Dazu wurde der Anstieg der Regressionslinie des mittleren Tumordurchmessers, bzw. des mittleren Tumolvolumens der Therapiegruppe mit dem Anstieg der Regressionslinie der Kontrollgruppe verglichen.

## Ergebnisse

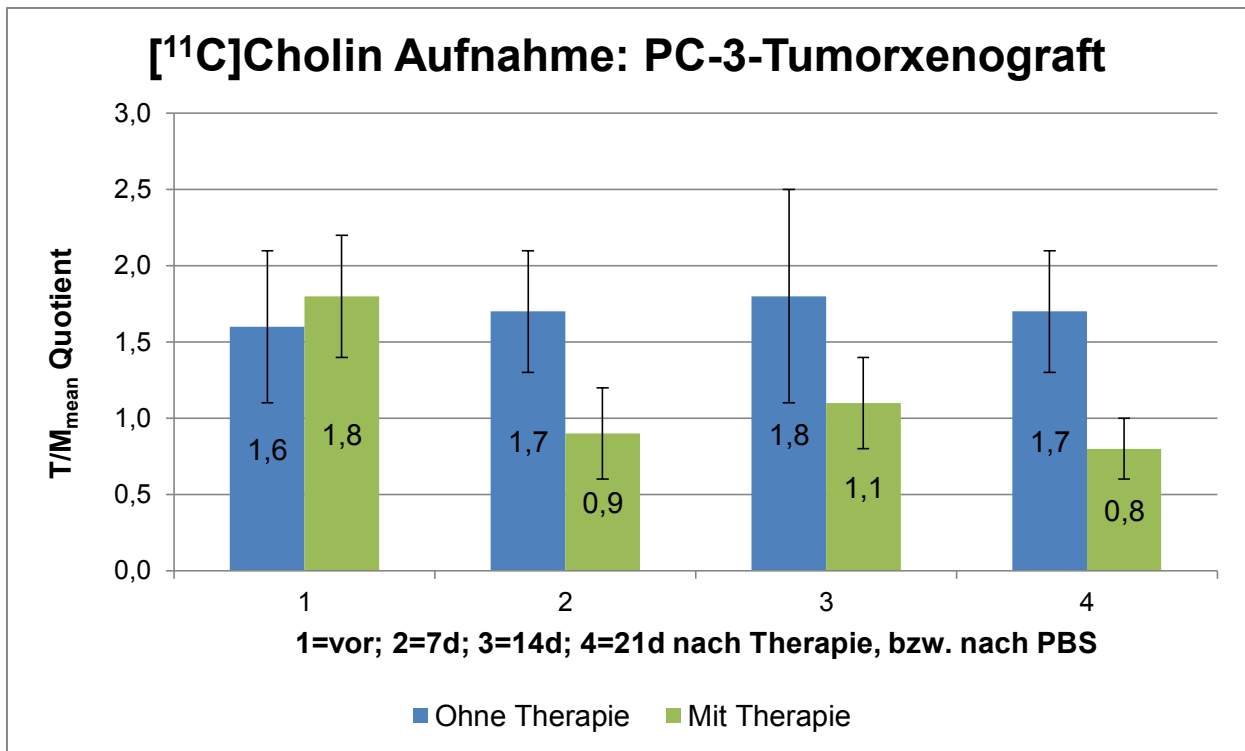
Die Tumoren beider Zelllinien ließen sich sowohl in der CT- als auch in der PET-Bildgebung darstellen (s. Abb. 13, S. 43 und Abb. 14, S. 48). Die Leber und die Nieren zeigten eine hohe Aufnahme von [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin; die Tumoren konnten auf den PET-Bildern jedoch deutlich von Leber und Nieren abgegrenzt werden. Der Kontrast erwies sich insgesamt als nicht sehr hoch; bei den LNCaP-Tumoren lag er über dem der PC-3-Tumoren.

Die PET-Aufnahmen einer Maus mit LNCaP-Zellen waren aus technischen Gründen nicht auswertbar.

### PC-3-Tumoren

#### T/M<sub>mean</sub>-Quotienten

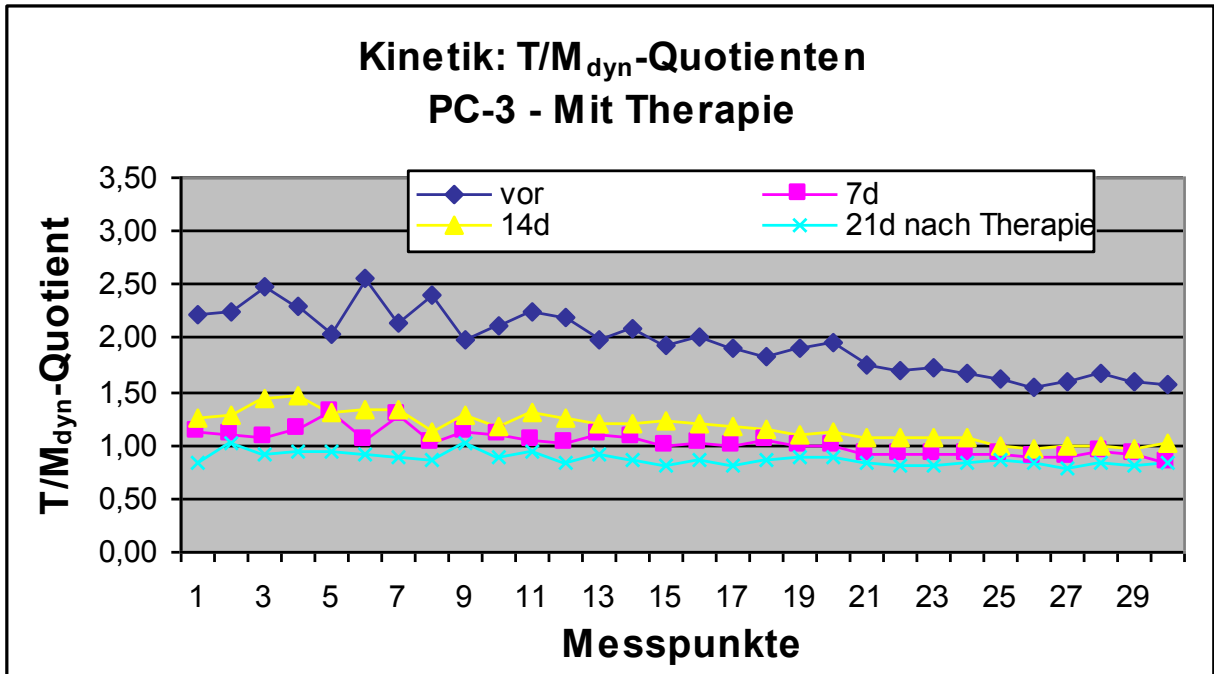
Der T/M<sub>mean</sub>-Quotient der PC-3-Tumoren betrug bei den Versuchstieren im Durchschnitt  $1,8 \pm 0,4$ , bzw.  $1,6 \pm 0,5$  bei den Kontrolltieren. Eine Woche nach Gabe der Therapie fiel der T/M<sub>mean</sub>-Quotient bei den Versuchstieren auf  $0,9 \pm 0,3$ . Nach zwei Wochen lag er bei  $1,1 \pm 0,3$  und nach drei Wochen bei  $0,8 \pm 0,2$ . Die T/M<sub>mean</sub>-Quotienten der Tumoren der Kontrolltiere betrugen nach einer Woche  $1,7 \pm 0,4$ , nach zwei Wochen  $1,8 \pm 0,7$  und nach drei Wochen  $1,7 \pm 0,4$  (s. Abb. 4, S. 31, und Tabelle 1, S. 41).



**Abbildung 4 –**  
**T/M<sub>mean</sub>-Quotienten der PC-3-Tiere zu den verschiedenen Zeitpunkten**

#### Analyse der dynamischen Daten

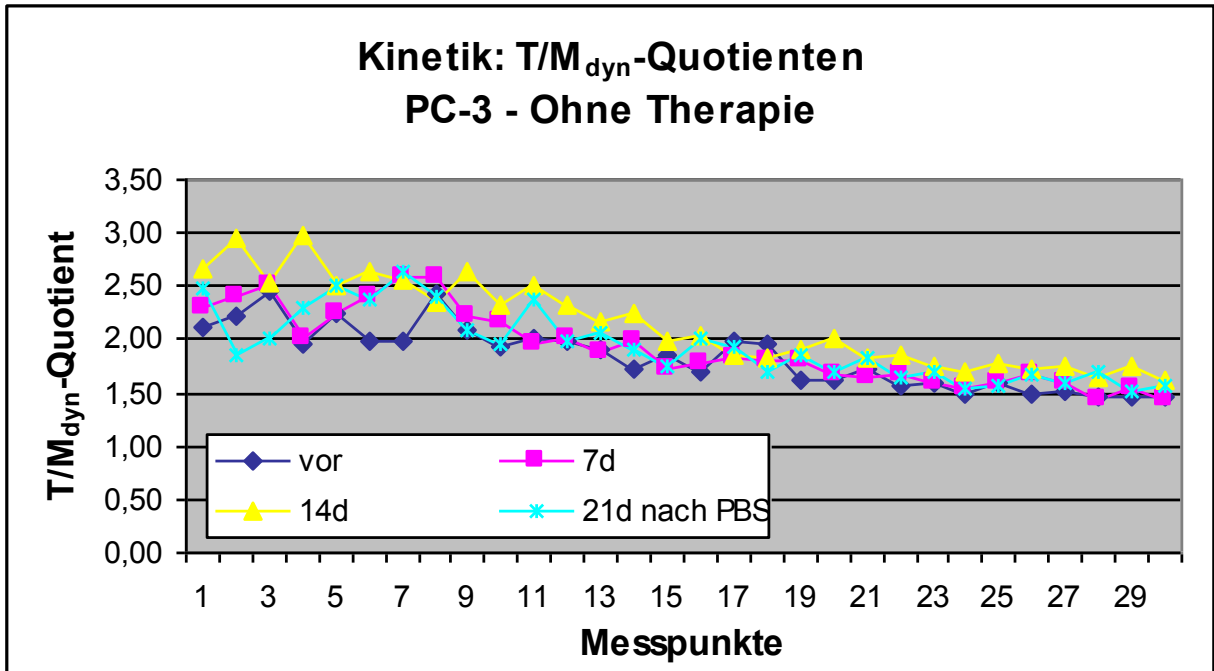
Die dynamischen Aufnahmen über den Zeitraum einer Stunde zeigten bereits nach einer Woche einen Abfall des Signals bei den Versuchstieren; dieser Wert blieb auch bei den folgenden Messungen herabgesetzt (s. Abb. 5, S. 32).



**Abbildung 5 –  
Dynamische T/M-Quotienten der PC-3-Therapietiere zu den verschiedenen  
Zeitpunkten**

Der Verlauf der T/M<sub>dyn</sub>-Quotienten der Kontrolltiere hingegen zeigte keine Änderungen im Vergleich zur Messung vor Gabe von PBS (s. Abb. 6, S. 33).





**Abbildung 6 -  
Dynamische T/M-Quotienten der PC-3-Kontrolltiere zu den verschiedenen  
Zeitpunkten**

Das GEE-Modell wies bereits eine Woche nach Beginn der Gabe von Docetaxel einen signifikanten Abfall der T/M<sub>dyn</sub>-Quotienten in der Therapiegruppe nach: im Mittel betrug der Wert nach einer Woche  $-0,93 \pm 0,24$  Einheiten ( $p < 0,001$ ), nach zwei Wochen  $-0,78 \pm 0,21$  Einheiten ( $p < 0,001$ ), nach drei Wochen  $-1,08 \pm 0,26$  Einheiten ( $p < 0,001$ ) unter den Werten der ersten Messung. Im Gegensatz dazu zeigten die T/M<sub>dyn</sub>-Quotienten in der Kontrollgruppe keinen signifikanten Abfall: im Mittel lagen die Werte nach einer Woche bei  $0,085 \pm 0,39$  Einheiten ( $p = 0,827$ ), nach zwei Wochen bei  $0,31 \pm 0,48$  Einheiten ( $p = 0,517$ ) und nach drei Wochen bei  $0,11 \pm 0,30$  Einheiten ( $p = 0,720$ ) über den Werten der ersten Messung.

Innerhalb beider Gruppen gab es bei der ersten Messung einen signifikanten Abfall der T/M<sub>dyn</sub>-Quotienten über die gesamte Aufnahmedauer von 60 min: in der Therapiegruppe war ein Abfall von  $-0,007 \pm 0,0012$  Einheiten pro Minute ( $p < 0,001$ ) zu verzeichnen, in der Kontrollgruppe von  $-0,016 \pm 0,0017$  Einheiten pro Minute ( $p < 0,001$ ).

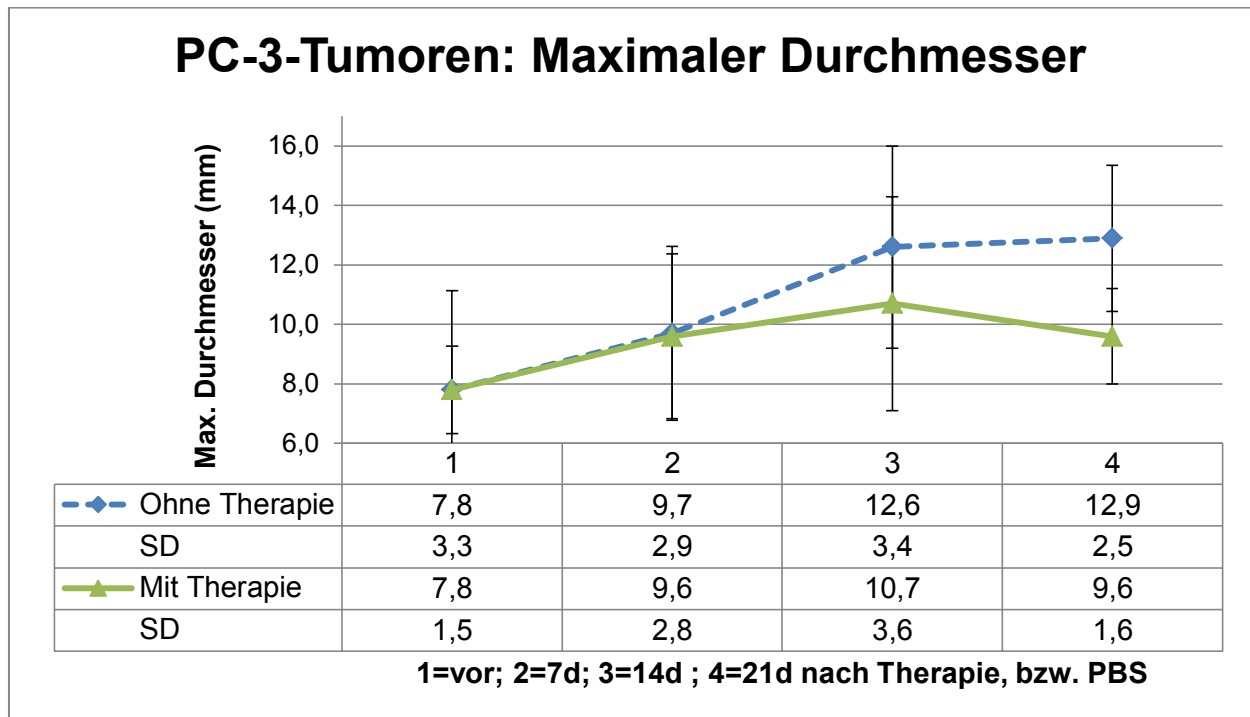
Die Analyse der Therapieeffekte über die Zeit (**Woche x Therapie**) konnte eine signifikante Zunahme der Gruppenunterschiede bezüglich der  $T/M_{\text{dyn}}$ -Quotienten nach einer, zwei und drei Wochen im Vergleich zur Aufnahme vor der Intervention zeigen: im Mittel lagen die  $T/M_{\text{dyn}}$ -Quotienten der Therapiegruppe  $-1,04 \pm 0,46$  Einheiten ( $p=0,025$ ) nach einer Woche,  $-1,10 \pm 0,53$  Einheiten ( $p=0,037$ ) nach zwei Wochen und  $-1,22 \pm 0,41$  Einheiten ( $p=0,003$ ) nach drei Wochen unter den  $T/M_{\text{dyn}}$ -Quotienten der Kontrollgruppe. Vor der Verabreichung von Docetaxel, bzw. PBS konnte indes kein signifikanter Unterschied im Wertenniveau der  $T/M_{\text{dyn}}$ -Quotienten zwischen beiden Gruppen festgestellt werden:  $0,14 \pm 0,30$  ( $p=0,646$ ). Die Gruppenunterschiede wurden über die Wochen größer durch den deutlichen Abfall der  $T/M_{\text{dyn}}$ -Quotienten in der Therapiegruppe, wohingegen es keine statistisch signifikanten Veränderungen in der Kontrollgruppe gab.

Die Analyse der Änderungen in der Dynamik über den Beobachtungszeitraum von drei Wochen (**Woche x Dynamik**) zeigte, dass der Abfall der  $T/M_{\text{dyn}}$ -Quotienten bei den therapierten Tieren von Woche zu Woche signifikant geringer ausfiel im Vergleich zur ersten Aufnahme: im Mittel änderte sich der Abfall um  $0,008 \pm 0,004$  Einheiten ( $p=0,032$ ) nach einer Woche, um  $0,007 \pm 0,003$  Einheiten ( $p=0,003$ ) nach zwei Wochen und um  $0,012 \pm 0,004$  Einheiten ( $p=0,002$ ) nach drei Wochen im Vergleich zur ersten Aufnahme. In der Gruppe der Kontrolltiere hingegen zeigte der Abfall der  $T/M_{\text{dyn}}$ -Quotienten über den Beobachtungszeitraum keine signifikante Änderung: im Mittel änderte sich der Abfall um  $-0,002 \pm 0,008$  Einheiten ( $p=0,816$ ) nach einer Woche, um  $0,005 \pm 0,007$  Einheiten ( $p=0,496$ ) nach zwei Wochen und um  $0 \pm 0,005$  Einheiten ( $p=0,963$ ) nach drei Wochen im Vergleich zur ersten Aufnahme.

### Tumordurchmesser

Abbildung 7 auf Seite 35 zeigt das unterschiedliche Tumorstadiumsverhalten der Therapie-, bzw. der Kontrollgruppe. Der maximale Tumordurchmesser nahm in beiden Gruppen über die Zeit signifikant zu (Therapiegruppe  $p=0,010$ ; Kontrollgruppe  $p<0,001$ ). Der Vergleich des Tumorstadiums der beiden Gruppen über den gesamten Zeitraum von drei Wochen lässt einen signifikanten Unterschied erkennen: die Steigung der Regressionsgeraden in der Therapiegruppe ist signifikant geringer als in der

Kontrollgruppe ( $p=0,025$ ). Dies bedeutet ein signifikant langsames Wachstum der Tumoren der Therapiegruppe.



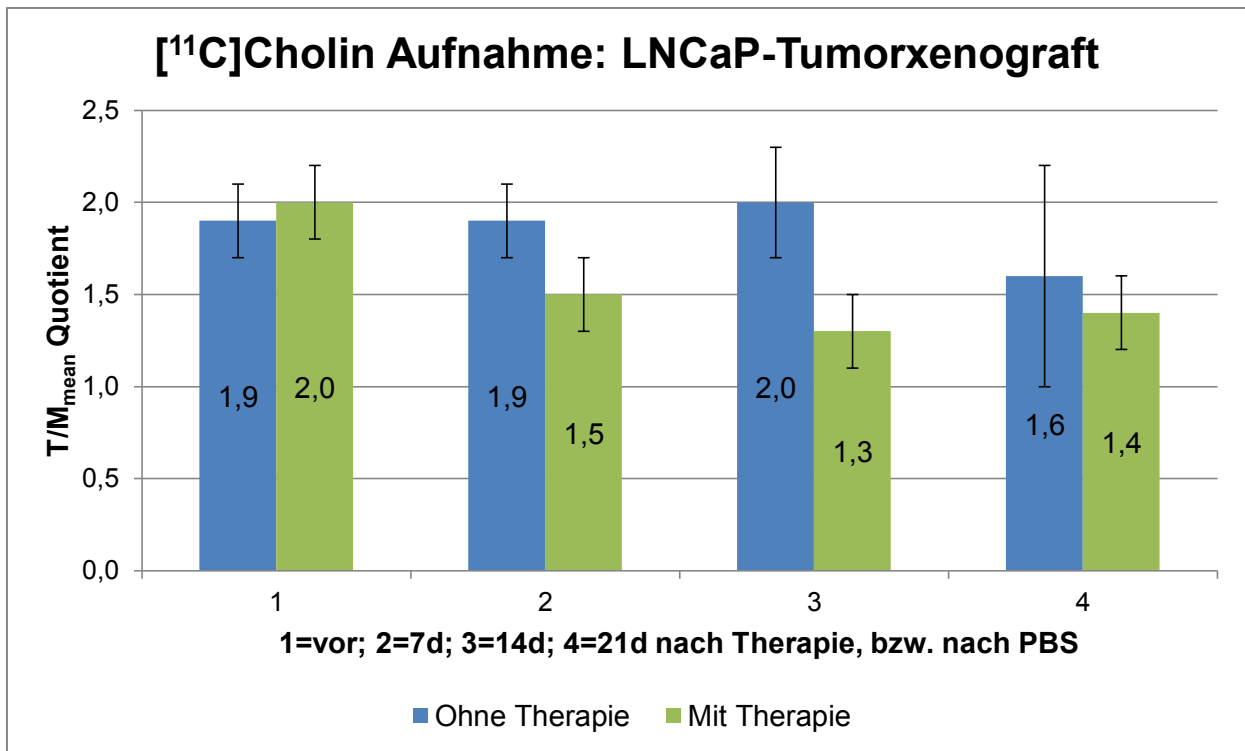
**Abbildung 7 –  
PC-3-Maximaler Tumordurchmesser**

## LNCaP-Tumoren

### T/M<sub>mean</sub>-Quotient

Unter den LNCaP-Mäusen wiesen die Versuchstiere im Median einen T/M<sub>mean</sub>-Quotienten von  $2,0 \pm 0,2$ , die Kontrolltiere einen T/M<sub>mean</sub>-Quotienten von  $1,9 \pm 0,2$  auf. Zu diesem Zeitpunkt konnte im Wertenniveau der T/M<sub>mean</sub>-Quotienten kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen festgestellt werden ( $p=0,837$ ).

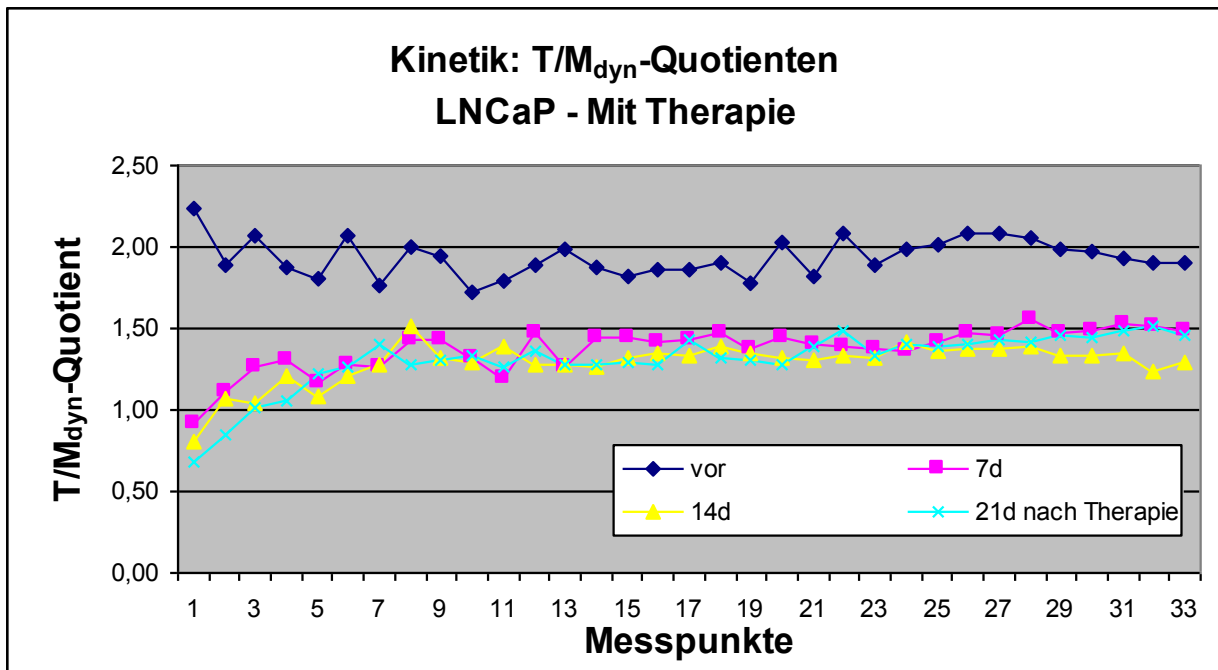
Nach Beginn der Therapie lag der T/M<sub>mean</sub>-Quotient bei den Versuchstieren nach einer Woche bei  $1,5 \pm 0,2$ , nach zwei Wochen bei  $1,3 \pm 0,2$  und nach drei Wochen bei  $1,4 \pm 0,2$ . Die Kontrolltiere zeigten nach einer Woche einen T/M<sub>mean</sub>-Quotienten von  $1,9 \pm 0,2$ , nach zwei Wochen von  $2,0 \pm 0,3$  und nach drei Wochen von  $1,6 \pm 0,6$  (s. Abb. 8, S. 36, und Tabelle 2, S. 41).



**Abbildung 8 -**  
**T/M<sub>mean</sub>-Quotienten der LNCaP-Tiere zu den verschiedenen Zeitpunkten**

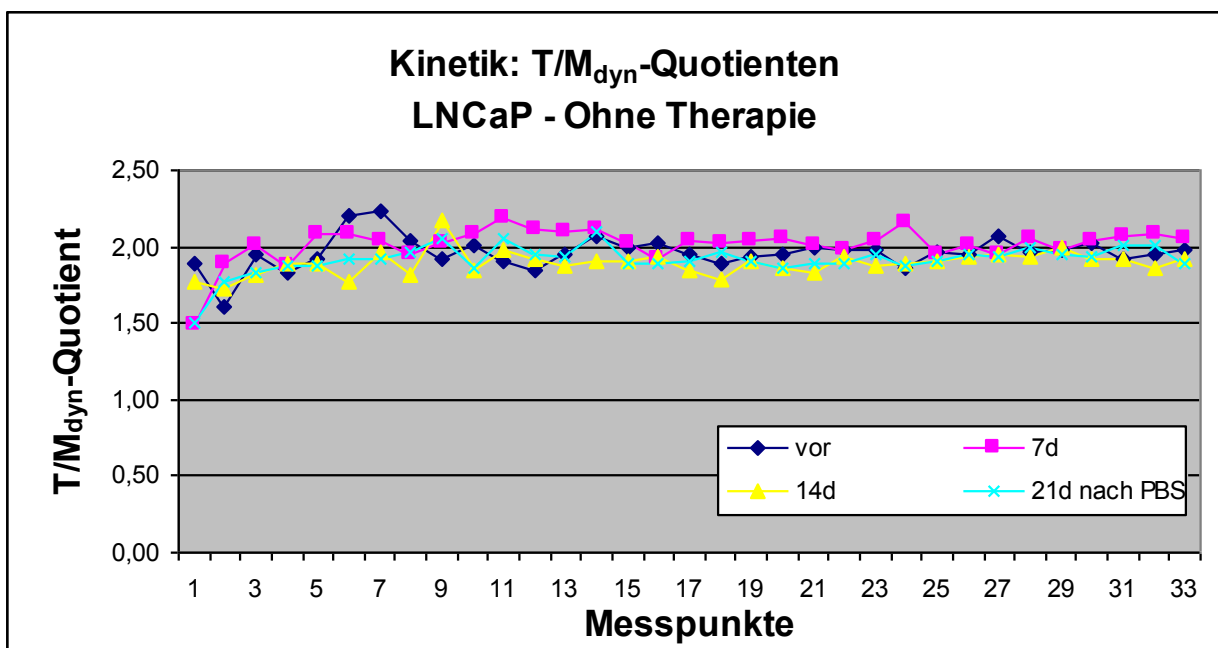
#### Analyse der dynamischen Daten

Den Verlauf der T/M<sub>dyn</sub>-Quotienten der Therapiegruppe zeigt Abb. 9 (S. 37), den der Kontrollgruppe Abb. 10 (S. 37). Bei den Therapietieren ließ sich bereits eine Woche nach Beginn der Docetaxelgabe ein Abfall des Signals nachweisen. Die Werte blieben auf diesem niedrigeren Niveau während des gesamten Beobachtungszeitraums bis drei Wochen nach Therapiebeginn.



**Abbildung 9 –  
Dynamische T/M-Quotienten der LNCaP-Therapietiere zu den verschiedenen  
Zeitpunkten**

Im Gegensatz dazu blieb die Aufnahme der Tumoren der Kontrolltiere auf nahezu dem gleichen Niveau.



**Abbildung 10 –  
Dynamische T/M-Quotienten der LNCaP-Kontrolltiere zu den verschiedenen  
Zeitpunkten**

Das GEE-Modell konnte für die Therapiegruppe bereits eine Woche nach Beginn der Behandlung mit Docetaxel einen signifikanten Abfall der  $T/M_{\text{dyn}}$ -Quotienten erkennen lassen: im Mittel betragen die Werte nach einer Woche  $-0,69 \pm 0,22$  Einheiten ( $p=0,002$ ), nach zwei Wochen  $-0,55 \pm 0,29$  Einheiten ( $p=0,055$ ), nach drei Wochen  $-0,75 \pm 0,25$  Einheiten ( $p=0,003$ ) unter den Werten der ersten Messung. Bei der Messung zwei Wochen nach Beginn der Therapie konnte nur ein Trend ermittelt werden, der keine statistische Signifikanz im Vergleich zur Aufnahme vor Therapie ( $p=0,055$ ) erreichte. Die Aufnahme drei Wochen nach Beginn der Therapie erbrachte wieder einen signifikanten Unterschied ( $p=0,003$ ). Im Gegensatz dazu zeigten die  $T/M_{\text{dyn}}$ -Quotienten in der Kontrollgruppe keinen statistisch signifikanten Abfall: im Mittel lagen die Werte nach einer Woche  $-0,20 \pm 0,33$  Einheiten ( $p=0,558$ ), nach zwei Wochen  $-0,11 \pm 0,47$  Einheiten ( $p=0,811$ ) und nach drei Wochen  $-0,13 \pm 0,27$  Einheiten ( $p=0,619$ ) unter den Werten der ersten Messung.

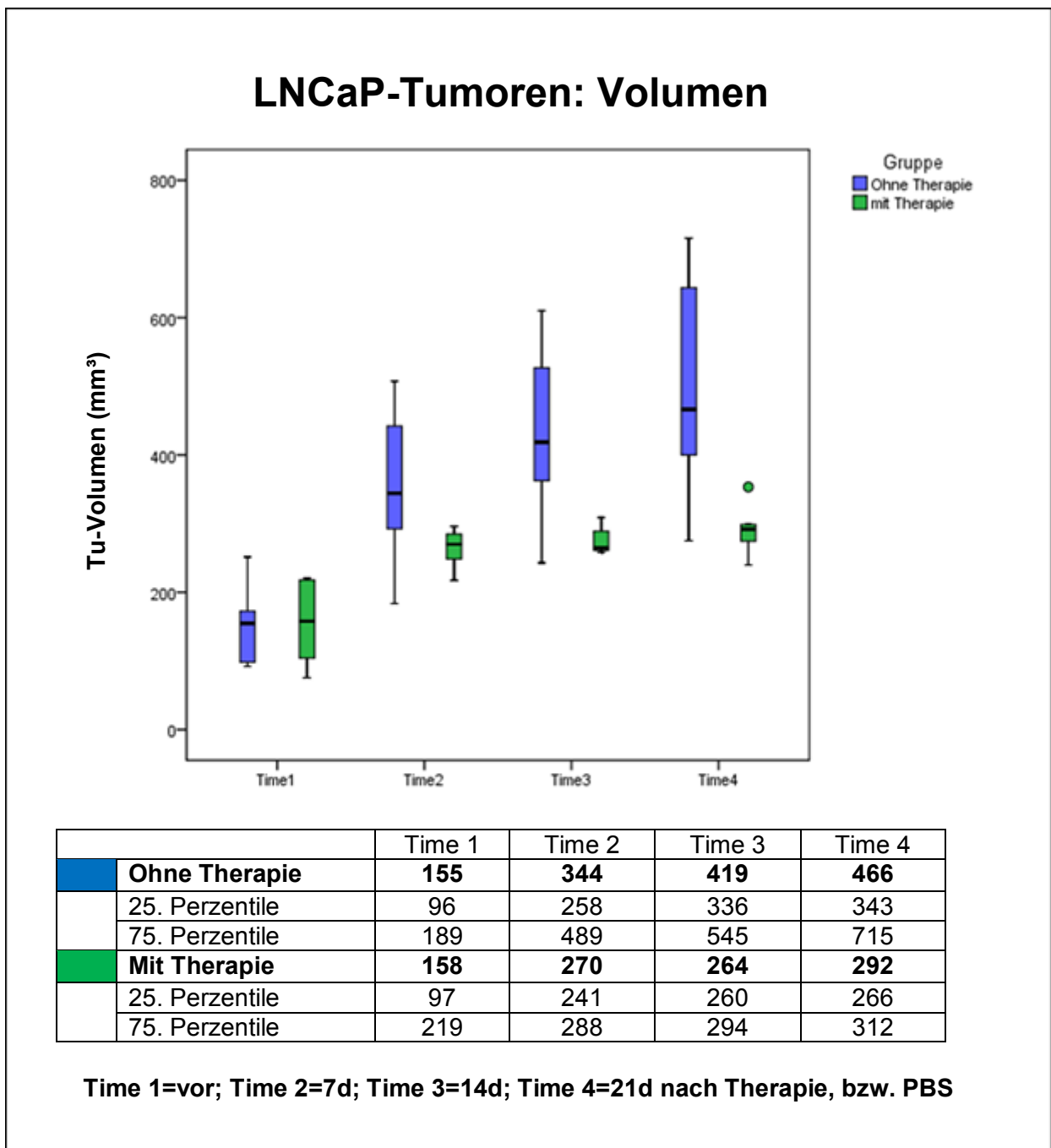
Zum Zeitpunkt der ersten Messung konnte weder in der Kontroll- noch in der Therapiegruppe eine signifikante Änderung des minütlichen Trends festgestellt werden ( $p=0,294$ ).

Bei der Analyse der Therapieeffekte über die Zeit (**Woche x Therapie**) mittels des GEE-Modells konnte keine signifikante Interaktion zwischen Therapie und Woche eruiert werden ( $p=0,921$ ). Im gesamten Beobachtungsverlauf ohne Berücksichtigung der Werte vor Gabe von Docetaxel, bzw. PBS wies die Therapiegruppe jedoch im Mittel  $0,638 \pm 0,22$  Einheiten geringere  $T/M_{\text{dyn}}$ -Quotienten auf als die Kontrollgruppe ( $p=0,004$ ).

Bei Betrachtung der Effekte auf die dynamischen Verläufe der  $T/M_{\text{dyn}}$ -Quotienten über die Wochen (**Woche x Dynamik**) ergab sich keine Evidenz für eine Änderung der zeitlich bedingten  $T/M_{\text{dyn}}$ -Quotienten über die Wochen, weder innerhalb der Therapiegruppe ( $p=0,985$ ) noch innerhalb der Kontrollgruppe ( $p=0,180$ ).

## Tumorvolumen

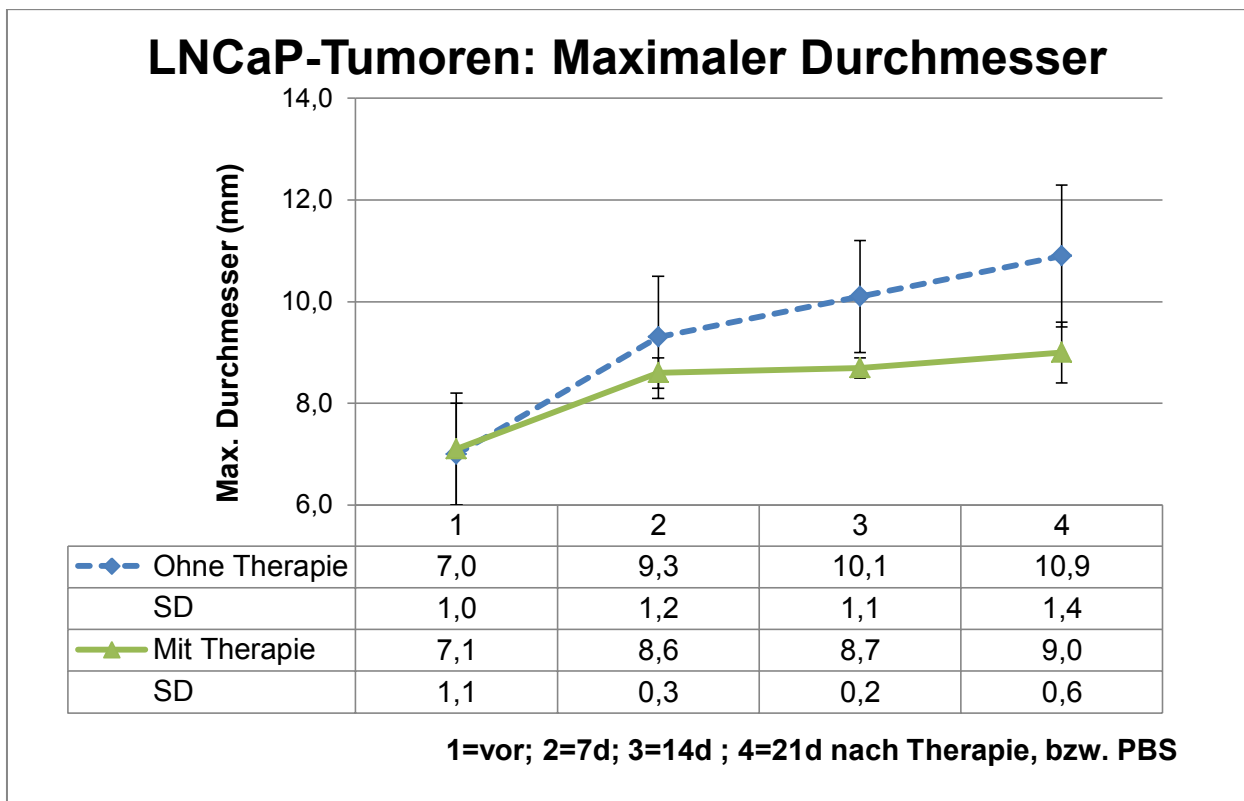
Auch das Tumorwachstum wurde durch die Therapie signifikant verlangsamt. Das Tumorvolumen nahm in beiden Gruppen über die Zeit signifikant zu (Therapiegruppe  $p=0,001$ ; Kontrollgruppe  $p<0,001$ ). Die Tumoren der Therapiegruppe nahmen jedoch über den gesamten Zeitraum von drei Wochen signifikant weniger an Volumen zu als die Kontrolltiere ( $p=0,013$ ) (s. Abb. 11).



**Abbildung 11 –  
LNCaP - Tumorvolumen**

## Tumordurchmesser

Auch der maximal gemessene Durchmesser der Tumoren nahm in beiden Gruppen über den Beobachtungszeitraum signifikant zu (Therapiegruppe  $p=0,002$ ; Kontrollgruppe  $p<0,001$ ). Die Steigung der Regressionsgeraden in der Therapiegruppe war jedoch signifikant geringer als in der Kontrollgruppe ( $p=0,043$ ) (s. Abb. 12).



**Abbildung 12 –  
LNCaP - Maximaler Tumordurchmesser**



PC-3	Initialer T/M-Quotient (Mittelwert±SD)		Änderung des T/M-Quotienten über 10 Minuten (Mittelwert±SE)		Area-under-the-Curve (Mittelwert±SD)		T/M <sub>mean</sub> -Quotient (Mittelwert±SD)	
	Kontrollgruppe	Docetaxelgruppe	Kontrollgruppe	Docetaxelgruppe	Kontrollgruppe	Docetaxelgruppe	Kontrollgruppe	Docetaxelgruppe
Baseline	2,1±1,0	2,2±1,2	-0,03±0,04	-0,14±0,04	90±26	100±21	1,6±0,5	1,8±0,4
nach 1 Woche	2,3±2,0	1,1±0,5	-0,16±0,04	-0,05±0,01	93±24	53±15	1,7±0,4	0,9±0,3
nach 2 Wochen	2,7±1,1	1,3±0,7	-0,18±0,04	-0,06±0,01	102±40	63±15	1,8±0,7	1,1±0,3
nach 3 Wochen	2,5±1,3	0,8±0,6	-0,14±0,03	-0,02±0,01	95±20	47±12	1,7±0,4	0,8±0,2

**Tabelle 1 - T/M<sub>mean</sub>-Quotienten der PC-3-Tiere pro Woche und Behandlungsgruppe**

-  
4  
-

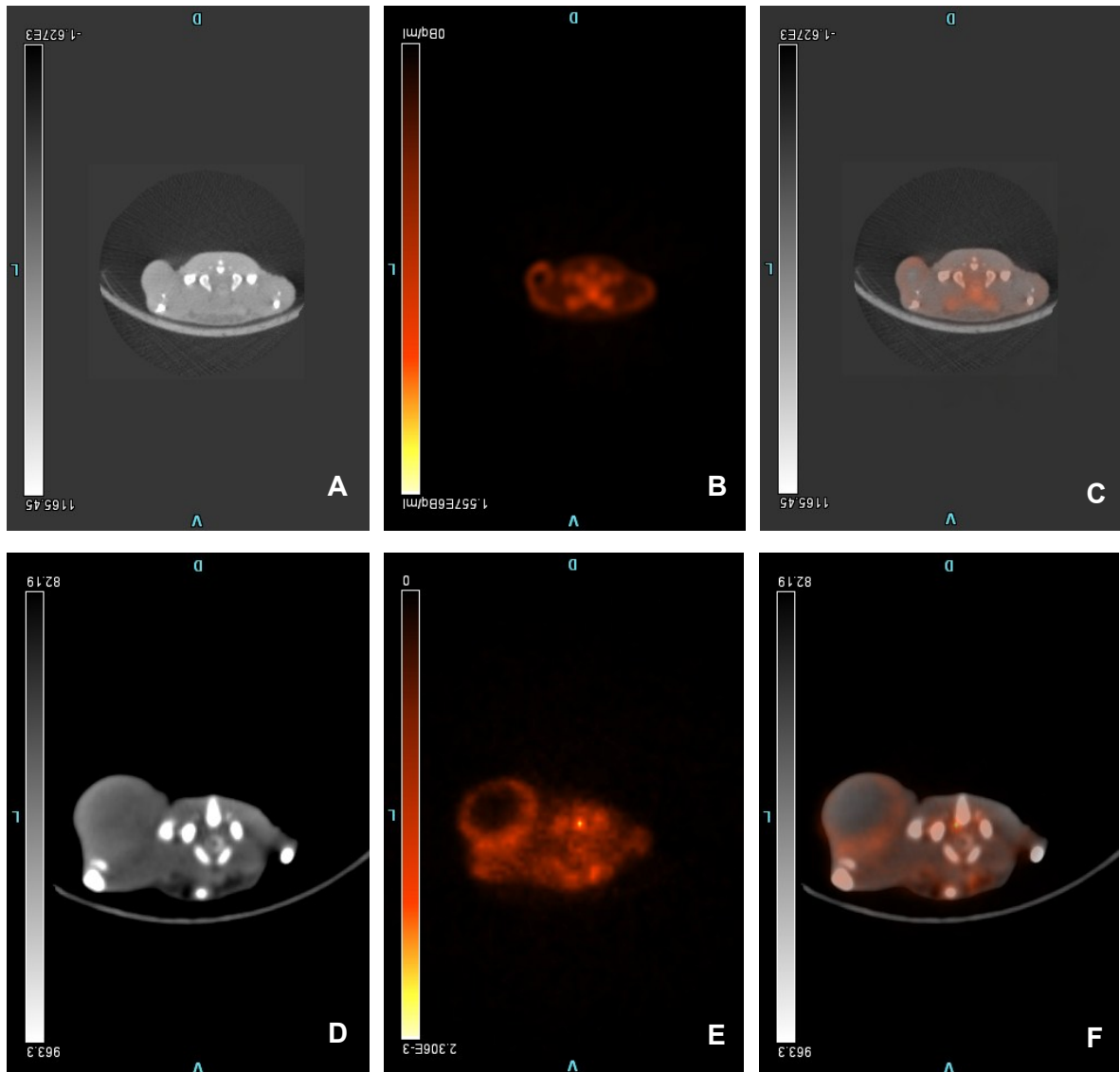
LNCaP	Initialer T/M-Quotient (Mittelwert±SE)		Änderung des T/M-Quotienten über 10 Minuten (Mittelwert±SE)		Area-under-the-Curve (Mittelwert±SE)		T/M <sub>mean</sub> -Quotient (Mittelwert±SE)	
	Kontrollgruppe	Docetaxelgruppe	Kontrollgruppe	Docetaxelgruppe	Kontrollgruppe	Docetaxelgruppe	Kontrollgruppe	Docetaxelgruppe
Baseline	1,9±0,2	1,9±0,2	+0,01±0,01	+0,06±0,02	113±9	112±10	1,9±0,2	2,0±0,2
nach 1 Woche	2,0±0,2	1,3±0,2	+0,03±0,01	+0,08±0,01	110±14	84±9	1,9±0,2	1,5±0,2
nach 2 Wochen	1,9±0,3	1,3±0,2	+0,03±0,01	+0,01±0,01	112±18	42±17	2,0±0,3	1,3±0,2
nach 3 Wochen	1,9±0,3	1,3±0,2	+0,05±0,01	+0,10±0,01	92±34	79±12	1,6±0,6	1,4±0,2

**Tabelle 2 - T/M<sub>mean</sub>-Quotienten der LNCaP-Tiere pro Woche und Behandlungsgruppe**

## Diskussion

### Die [<sup>11</sup>C]Cholin PET/CT ist geeignet für die Darstellung der PC-3- und LNCaP-Xenograft-Prostatakarzinom-Modelle

In unserer Studie konnten die Tumoren beider Xenograft-Modelle (LNCaP- und PC-3-Zelllinien) mit der [<sup>11</sup>C]Cholin Kleintier PET/CT visualisiert werden (s. Abb. 13, S. 43). Insgesamt ergab sich allerdings ein eher niedriger Kontrast, d. h. ein niedriges Tumor/Muskel-Verhältnis mit Werten von 1,6 bis 1,8 im PC-3-Xenograft und 1,9 bis 2,0 im LNCaP-Xenograft.



**Abbildung 13 –**

**CT, PET und Fusionsbild eines PC-3-Tumors (A, B, C), bzw. eines LNCaP-Tumors (D, E, F)**

Die CT-Bilder (A, bzw. D) zeigen den PC-3-Tumor, bzw. den LNCaP-Tumor in der linken Flanke der Maus. Die PET-Aufnahmen (B, bzw. E) lassen den Tumor ebenfalls erkennen, mit der größten  $[^{11}\text{C}]$ Cholin-Aufnahme in den Randzonen des Tumors und geringer Aufnahme im – mutmaßlich – nekrotischen Zentrum. Die Fusionsbilder (C, bzw. F) lassen eine gute anatomische und funktionelle Zuordnung zu.

Bereits Zheng Q.-H. et al. [2004] haben für verschiedene Prostatakarzinomzelllinien gezeigt, dass [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin als PET-Biomarker zur Darstellung von LNCaP- und PC-3-Prostatakarzinomen in Xenograft-Modellen geeignet ist. Anders als diese Autoren, die berichteten, dass einige PC-3-Tumoren auf den PET-Bildern nicht eindeutig auszumachen waren [Zheng Q.-H. et al. 2004 S.2889f.], waren bei uns alle Tumoren abgrenzbar, wenngleich auch mit z. T. niedrigem Kontrast. Hilfreich war in diesem Zusammenhang die Tatsache, dass wir im Gegensatz zu Zheng Q.-H. et al. [2004] zusätzlich ein CT zur Visualisierung der Tumoren benutzen konnten (s. Abb. 13, S. 43).

[ $^{18}\text{F}$ ]Fluorocholin, ein Cholin-Derivat, das mit dem Isotop  $^{18}\text{F}$ , das eine längere Halbwertszeit als  $^{11}\text{C}$  hat, markiert ist, zeigte in einer Studie mit PC-3-Xenograft-Prostatakarzinom-Modellen eine statistisch signifikant niedrigere Aufnahme in die Tumoren als [ $^{18}\text{F}$ ]FDG. Die Aufnahme von [ $^{18}\text{F}$ ]FDG in das Tumorgewebe betrug  $0,106 \pm 0,015$  % dose kg KG/m<sup>2</sup> Gewebegewicht, bzw. in die Skelettmuskulatur  $0,064 \pm 0,011$  % dose kg KG/m<sup>2</sup> Gewebegewicht. Für [ $^{18}\text{F}$ ]Fluorocholin ergaben sich Aufnahme-Werte von  $0,062 \pm 0,009$  % dose kg KG/m<sup>2</sup> Gewebegewicht in den Tumoren, bzw.  $0,047 \pm 0,016$  % dose kg KG/m<sup>2</sup> Gewebegewicht in die Skelettmuskulatur [Price D.T. et al. 2002 S.276]. Dies lässt sich darauf zurückführen, dass sich eine FDG-Anreicherung vor allem nur in entdifferenzierten aggressiven und metastasierten Prostatakarzinomen zeigt [Oyama N. et al. 1999 S.626; Oyama N. et al. 2002b S.102]; eine höhere Anreicherung von Cholin findet sich hingegen in höher differenzierten Tumoren.

Belloli S. et al. untersuchten 2009 die [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin- und die [ $^{18}\text{F}$ ]FDG-Aufnahme in subkutane TRAMP-C1-Tumoren von C57BL/6-Mäusen. Die TRAMP-C1-Zellen werden aus TRAMP-Mäusen gewonnen, deren genetischer Defekt dazu führt, dass sie spontan hormon-abhängige und hormon-unabhängige Prostatakarzinome entwickeln. Subkutan injizierte TRAMP-C1-Zellen entwickeln sich im Xenograft-Modell zu niedrig differenzierten, gut vaskularisierten Tumoren. Die Tumoren in den Flanken der Mäuse konnten in der PET-Bildgebung mit [ $^{18}\text{F}$ ]FDG besser visualisiert werden als mit [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin; auch hier lag die [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin-Aufnahme unter der von [ $^{18}\text{F}$ ]FDG. Der T/M-Quotient für [ $^{18}\text{F}$ ]FDG betrug  $15,99 \pm 1,24$ , wohingegen sich für [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin ein T/M-Quotient von  $2,71 \pm 0,53$  ergab [Belloli S. et al. 2009 S.1249].

## Die [<sup>11</sup>C]Cholin-Aufnahme in Tumoren der LNCaP-Zelllinie liegt im Xenograft-Modell über der [<sup>11</sup>C]Cholin-Aufnahme in Tumoren der PC-3-Zelllinie

In unserem Versuch wiesen die LNCaP-Tumoren im Durchschnitt einen T/M<sub>mean</sub>-Quotienten von 2,0 (SE=0,2) in der Therapiegruppe, bzw. von 1,9 (SE=0,2) in der Kontrollgruppe auf, das Verhältnis bei den PC-3-Tumoren lag bei 1,8 (SD=0,4) in der Therapiegruppe, bzw. bei 1,6 (SD=0,5) in der Kontrollgruppe. Damit liegen unsere Ergebnisse in derselben Größenordnung wie die Werte von Zheng Q.-H. et al. [2004], wenn auch etwas darunter.

Zheng Q.-H. et al. [2004] benutzten in ihren Versuchen verschiedene Zellreihen: C4-2, CWR22rv, PC-3 und LNCaP. Auch sie verwendeten zur Analyse der [<sup>11</sup>C]Cholin-Aufnahme das Verhältnis von Tumor zu Muskulatur. Sie konnten zeigen, dass die Zellreihen unterschiedliche T/M-Quotienten aufweisen. Für die LNCaP-Tumoren konnten sie einen T/M-Quotienten von 3,3, für die PC-3-Tumoren einen T/M-Quotienten von 2,1 ermitteln [Zheng Q.-H. et al. 2004 S.2890].

Die T/M<sub>mean</sub>-Quotienten für die [<sup>11</sup>C]Cholin-Aufnahme der LNCaP-Tumoren liegt in beiden Fällen über denen der PC-3-Tumoren. Müller S.A. et al. [2009] konnten ebenfalls zeigen, dass LNCaP-Zellen eine signifikant höhere Aufnahme von [*methyl*-<sup>3</sup>H]Cholin aufweisen als PC-3-Zellen. Dies lässt sich wohl auf den niedrigeren Differenzierungsgrad der Androgen-Rezeptor-negativen PC-3-Zellen im Vergleich zu den LNCaP-Zellen zurückführen. Je entdifferenzierter eine Tumorzelle ist, desto weniger [<sup>11</sup>C]Cholin scheint diese Tumorzelle aufzunehmen, wie auch Zheng Q.-H. et al. vermuten [Zheng Q.-H. et al. 2004 S.2890f.]. Belloli S. et al. [2009] fanden im Prostatakarzinom-Xenograft-Modell mit der TRAMP-C1-Zelllinie für [<sup>11</sup>C]Cholin nach 30 Minuten einen T/M-Quotienten von 2,71 ± 0,53 und für [<sup>18</sup>F]FDG nach 60 Minuten einen T/M-Quotienten von 15,99 ± 1,24. Diesen Unterschied führen die Autoren ebenfalls auf den niedrigen Differenzierungsgrad der verwendeten Zelllinie zurück [Belloli S. et al. 2009 S.1252].

Wie auch wir untersuchten Zheng Q.-H. et al. [2004] zudem die Dynamik der T/M-Quotienten von [<sup>11</sup>C]Cholin. Über die statistische Signifikanz der dynamischen Verläufe der [<sup>11</sup>C]Cholin-Aufnahme in die LNCaP-, bzw. PC-3-Tumoren wird von Zheng Q.-H. et al. [2004] keine Aussage gemacht; sie interpretieren den T/M-Quotienten qualitativ als mehr oder weniger konstant über den gesamten Zeitraum

[Zheng Q.-H. et al. 2004 S.2890]. Der Verlauf der T/M-Quotienten der PC-3-Tumoren zeigt in der Arbeit von Zheng Q.-H. et al. [2004] bei visueller Auswertung nahezu konstante Werte. Dieser Unterschied zu den eigenen Daten mag dadurch erklärt werden, dass Zheng Q.-H. et al. [2004] die Kleintier-PET-Bildgebung mit [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin an nur einer einzigen Maus durchführten, der drei PC-3-Tumoren implantiert wurden. Die Kurven der T/M-Quotienten über die Aufnahmezeit wurden für jeden der drei Tumoren separat dargestellt. Diese drei Kurven weisen eine deutliche Varianz auf. Die Autoren berechneten weder Mittelwerte, noch führten sie eine statistische Analyse durch. Für die dynamische Analyse verwendeten wir 13 Mäuse mit PC-3-Tumoren, von denen sechs mit Docetaxel behandelt wurden und sieben als Kontrolltiere dienten, und 14 Mäuse mit LNCaP-Tumoren, von denen je sieben Docetaxel, bzw. PBS verabreicht wurde. Wir konnten bei den PC-3-Tumoren einen statistisch signifikanten Abfall der T/M-Quotienten nachweisen, sowohl für die Docetaxel-Gruppe ( $p < 0,001$ ) als auch für die Kontrollgruppe ( $p < 0,001$ ). Die LNCaP-Tumoren von Zheng Q.-H. et al. [2004] wiesen einen langsamen Anstieg der T/M-Quotienten auf, bevor die Werte gegen Ende der Beobachtungsdauer wieder etwas abfallen. In unseren dynamischen Aufnahmen der LNCaP-Tumoren ergab sich keine statistisch signifikante Änderung der T/M-Quotienten ( $p = 0,294$ ).

### Das Wachstum der Tumoren sowohl der LNCaP-Zelllinie als auch der PC-3-Zelllinie werden im Xenograft-Mausmodell durch Docetaxel gehemmt

Das Wachstum der Tumoren sowohl der LNCaP-Zelllinie als auch der PC-3-Zelllinie wurde in unserer Studie durch eine Behandlung mit Docetaxel statistisch signifikant gehemmt. Das steht in Einklang mit weiteren Studien.

Oudard S. et al. [2003] untersuchten den Effekt von Docetaxel auf das Wachstum von zwei Prostatakarzinom-Xenograft-Mausmodellen. Die Tumoren der Androgen-abhängigen Zellreihe PAC120 waren 32 Tage nach Behandlung mit Docetaxel um 85% kleiner als die Tumoren der Kontrolltiere; das Wachstum der Androgen-unabhängigen Zellreihen HID25 wurde durchschnittlich um die Hälfte gehemmt im Vergleich zu den unbehandelten Tieren [Oudard S. et al. 2003 S.1731]. Die Autoren konnten histologisch zwar eine Häufung von nukleären Abnormalitäten,

aber keine Apoptose erkennen. Dies erklären sie mit dem mutierten Status des p53-Proteins in PAC120-Zellen [Oudard S. et al. 2003 S.1733].

Tang Y. et al. [2006] untersuchten den Einfluss von Docetaxel und Kastration auf LNCaP-Prostatakarzinom-Xenograft-Mausmodelle. Sie zeigten, dass eine einwöchige Behandlung mit Docetaxel zu ca. 29% Apoptose, eine Behandlung mit Docetaxel für zwei Wochen zu ca. 36% Apoptose führte. Es konnte weiterhin anschaulich gemacht werden, dass die Therapie mit Docetaxel in einem höheren Anteil von apoptotischen Zellen resultiert als die Kastration. Auch waren die Tumoren, die mit Docetaxel behandelt wurden, alle um mindestens 50% kleiner als die Tumoren in den Mäusen, die nur kastriert wurden. Am wirkungsvollsten erwies sich die Gabe von Docetaxel über zwei Wochen und anschließender Kastration [Tang Y. et al. 2006 S.171].

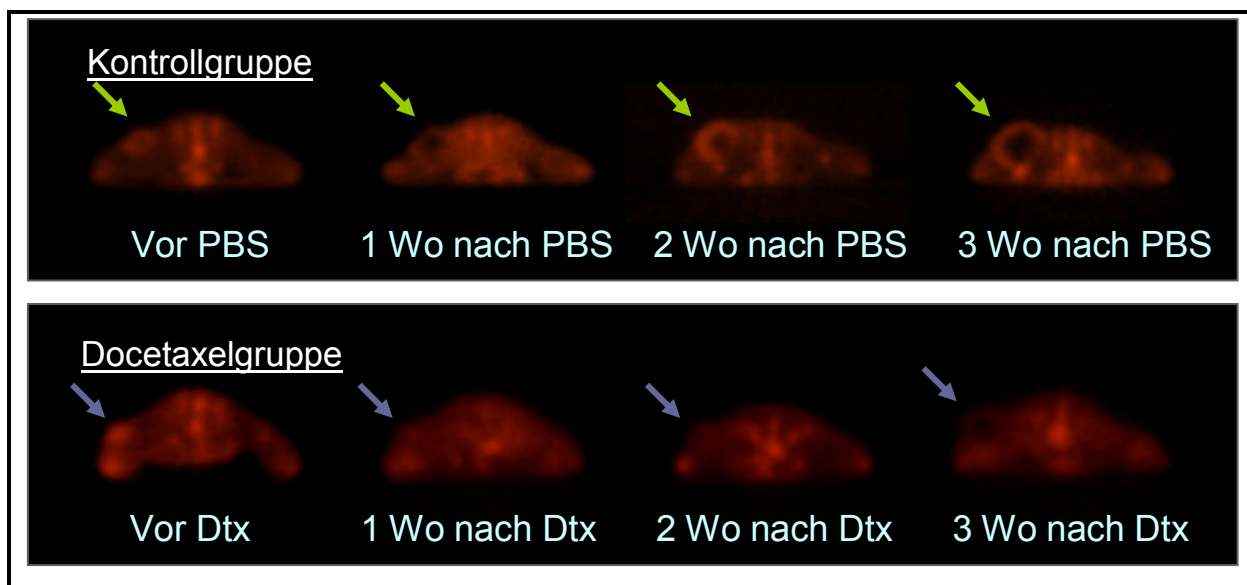
Li Y. et al. [2004] konnten anhand von Genexpressionsanalysen demonstrieren, dass Docetaxel bei beiden Zelllinien in die Regulation von Genen eingreift, die im Zusammenhang mit Zellproliferation, Zellzyklus, Apoptose und Onkogenese stehen. Sie vermuten, dass die LNCaP-Zellen sensibler gegenüber Docetaxel-induzierter Apoptose sind [Li Y. et al. 2004 S.166].

Das Wachstum der Tumoren unserer beiden Zellreihen wurde durch Docetaxel signifikant inhibiert (s. Abb. 14, S. 48). Dies deckt sich mit den Ergebnissen der oben zitierten Studien.

#### Im Zuge der Therapie mit Docetaxel verändert sich im Xenograft-Modell die Aufnahme von [<sup>11</sup>C]Cholin in die Tumoren sowohl der LNCaP-Zelllinie als auch der PC-3-Zelllinie

Innerhalb der Therapiegruppen konnte sowohl bei den PC-3-Tumoren als auch bei den LNCaP-Tumoren eine Verringerung der Aufnahme von [<sup>11</sup>C]Cholin infolge einer Docetaxel-Therapie nachgewiesen werden (s. Abb. 14, S. 48). Die Abnahme des Signals ließ sich bereits nach einer Woche registrieren. Die Verläufe der PC-3-Xenograft-Modelle unterschieden sich in der Therapiegruppe statistisch signifikant von denen der Kontrollgruppe. Im LNCaP-Xenograft-Modell erreichte der Abfall keine statistische Signifikanz; es ließ sich nur ein Trend ablesen, der auf einen

Abfall der  $T/M_{\text{dyn}}$ -Quotienten infolge einer Docetaxel-Therapie hindeutet. Der Verlauf der  $T/M_{\text{dyn}}$ -Quotienten der Therapiegruppe unterschied sich jedoch nicht statistisch signifikant von der der Kontrollgruppe ( $p=0,921$ ). Wir führen dies auf die zum Teil hohen Varianzen zurück, die sich in den  $T/M_{\text{dyn}}$ -Quotienten der LNCaP-Tumoren im Beobachtungszeitraum ergaben. Bei der ersten Aufnahme, d. h. nachdem die Tumoren für ca. vier bis sechs Wochen gewachsen waren und bevor die Mäuse behandelt wurden, scheint die Varianz der  $[^{11}\text{C}]$ Cholin-Aufnahme besonders hoch zu sein. Betrachtet man die  $T/M_{\text{dyn}}$ -Quotienten nach Gabe von Docetaxel, bzw. PBS, d. h. ohne Berücksichtigung der Werte der ersten Aufnahme, waren die  $T/M_{\text{dyn}}$ -Quotienten der Therapiegruppe signifikant niedriger als die der Kontrollgruppe ( $p=0,004$ ).



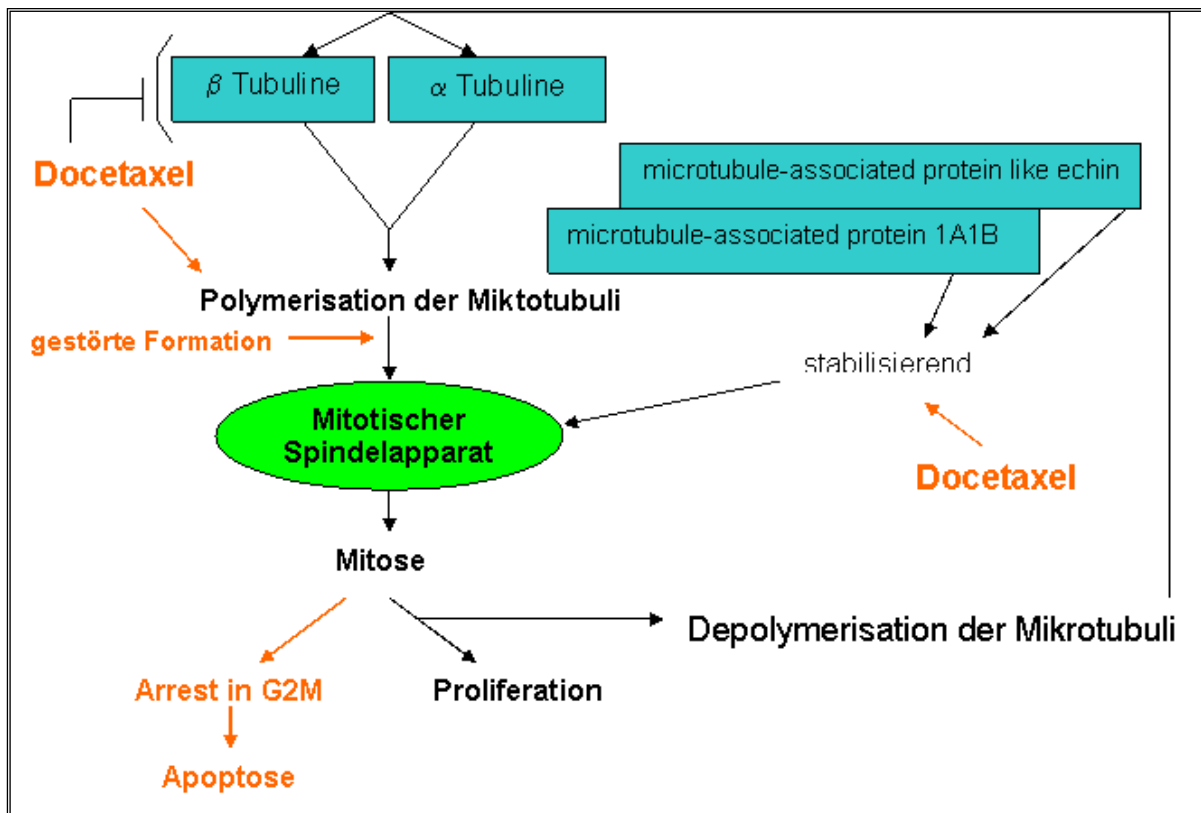
**Abbildung 14 –  $[^{11}\text{C}]$ Cholin-Aufnahme und Tumorwachstum über den Beobachtungszeitraum von 3 Wochen (PC-3-Prostatakarzinomzelllinie; nach Krause B.J. et al. 2010 S. 1865)**

In der Kontrollgruppe zeigen die Tumoren (grüne Pfeile) in den PET-Scans ein kontinuierliches Wachstum, ausgehend von der Aufnahme vor der Gabe von phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) über die drei Wochen (Wo) des Beobachtungszeitraums. Die Tumoren (blaue Pfeile) der mit Docetaxel (Dtx) behandelten Gruppe zeigen nur eine geringe Größenzunahme; zudem nimmt die Intensität der  $[^{11}\text{C}]$ Cholin-Aufnahme ab.

Es stellt sich die Frage, auf welchen Wegen Docetaxel zu einer Verminderung der Cholinaufnahme führt. Der genaue Wirkmechanismus von Docetaxel ist nicht in allen Details bekannt. Man weiß aber, dass es an mehreren Mechanismen ansetzt



(s. Abb. 15). Zum einen inhibiert es die Depolymerisation der Mikrotubuli. Weiterhin vermag Docetaxel, den programmierten Zelltod einzuleiten. Und schließlich greift es in die Regulation bestimmter Gene ein, die durch vermehrte Expression die Apoptose der Zelle vorantreiben [Pienta K.J. 2001 S.4; Li Y. et al. 2004 S.161f.].



**Abbildung 15 – Wirkmechanismus von Docetaxel (nach Li Y. et al. 2004 S.164)**

Der mitotische Spindelapparat erfordert eine regelrechte Polymerisation der Mikrotubuli aus  $\alpha$ - und  $\beta$ -Tubulinen. Weitere Proteine wie *das microtubule-associated protein like echin* oder *das microtubule-associated protein 1A1B* wirken stabilisierend auf den Spindelapparat ein. Der Spindelapparat ist notwendig für die Trennung der homologen Chromosomen während der Mitose. Nach Ablauf der Mitose depolymerisieren die Mikrotubuli wieder in ihre Einzelbestandteile.

**Rot** dargestellt sind in dieser Grafik die Effekte einer Docetaxel-Therapie. Zum einen bewirkt das Taxan eine konstitutive Stabilisierung der Mikrotubuli; der mitotische Spindelapparat kann sich nicht regelrecht ausbilden und die Zellen verbleiben in der G2M-Phase des Mitosevorgangs. Die Apoptose wird eingeleitet und die Zellen gehen in Zuge dessen zugrunde.

Zum anderen wird die Expression einiger Gene beeinflusst: so wird z. B. die Expression von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Tubulinen herunterreguliert, während stabilisierende Proteine vermehrt exprimiert werden.

Mögliche Erklärungsmodelle für den frühen Rückgang der [<sup>11</sup>C]Cholin-Aufnahme in der PET/CT nach einer Therapie mit Docetaxel werden im Folgenden diskutiert:

Im Zuge einer Therapie mit Docetaxel kommt es zu einem erhöhten Zelluntergang. Der Anteil vitaler Zellen nimmt ab und damit einher geht die verminderte Aufnahme von [<sup>11</sup>C]Cholin in die Tumoren. Wir untersuchten in unserer Arbeit längerfristige Effekte einer Docetaxel-Therapie auf die Cholin-Aufnahme in die Tumoren: wir beobachteten das Verhalten der Tumoren in [<sup>11</sup>C]Cholin-PET/CT-Aufnahmen über drei Wochen, wobei erst eine Woche nach Behandlung mit Docetaxel die erste Verlaufsaufnahme gewonnen wurde. Alle bisherigen Studien haben lediglich die kurzfristigen Änderungen in der Aufnahme von Cholin in Folge einer Chemotherapie untersucht.

Müller S.A. et al. [2009] demonstrierten in ihren Experimenten, dass eine Behandlung von LNCaP- und PC-3-Zellen mit Docetaxel zu einem signifikanten Anstieg der Cholin-Aufnahme führt. Sie vermuten, dass der erhöhte zelluläre Stress als Folge der Docetaxel-Behandlung zu erhöhtem zellulären Metabolismus führt und vermehrt Cholin in die Zellen zur Synthese von Zellmembranen aufgenommen wird. Veränderungen in der Zusammensetzung der Zellmembranen als Folge der Einleitung von Apoptose durch Docetaxel mögen zu einer erhöhten Durchlässigkeit der Membranen für Cholin führen. Müller S.A. et al. haben jedoch die Cholin-Aufnahme bereits fünf Tage nach der Behandlung mit Docetaxel ermittelt [Müller S.A. et al. 2009 S.1436]. Wir hingegen haben den Einfluss von Docetaxel über mehrere Wochen evaluiert. Die Ergebnisse von Müller S.A. et al. [2009] sind deswegen nicht auf unsere Studie übertragbar. Doch auch sie konnten gleichermaßen einen erheblichen Zelluntergang in Folge der Docetaxel-Behandlung feststellen: in ihren Versuchen ergab sich für die verwendete Dosis von Docetaxel nach fünf Tagen nur ein klonogenes Überleben von ca. 50% sowohl der PC-3-, als auch der LNCaP-Zellen [Müller S.A. et al. 2009 S.1440].

Davoodpour P. et al. publizierten 2004 weitere interessante Ergebnisse. Sie untersuchten die Wirkung von 2-Methoxyestradiol, einem Östrogenmetaboliten mit bewiesenermaßen zytotoxischen Effekten auf u. a. menschliche Prostatatumorzelllinien, im Hinblick auf Proliferation, Apoptose und [<sup>3</sup>H]Cholin-Aufnahme von PC-3-Zellen. Sie fanden eine dosis-abhängige Hemmung des Wachstums von Zellaggregaten und einen signifikanten Anstieg des Anteils an

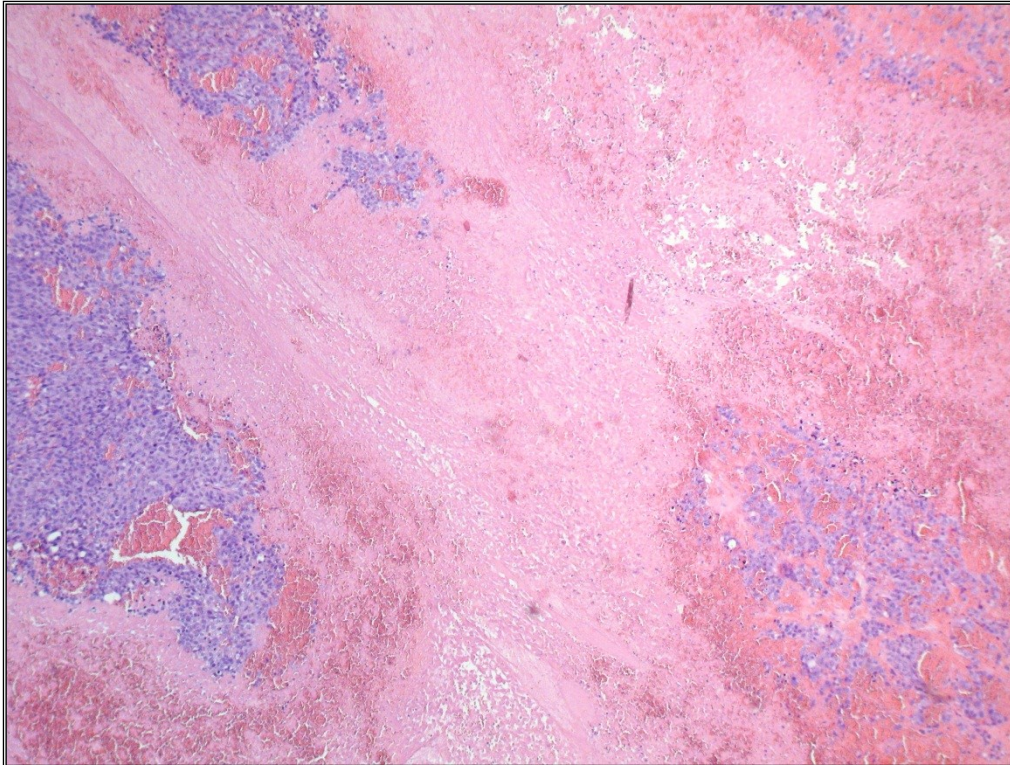
apoptotischen Kernen. Im Gegensatz dazu führte die Behandlung mit 2-Methoxyestradiol zu keinen signifikanten Unterschieden in der Aufnahme von [<sup>3</sup>H]Cholin im Vergleich zu unbehandelten Zellen [Davoodpour P. et al. 2004 S.870]. Hier ist aber zu bedenken, dass die Zellen lediglich 24 Stunden mit 2-Methoxyestradiol inkubiert wurden, während das Wachstum der PC-3-Zellen über einen Zeitraum von zwölf Tagen verfolgt wurde.

Weiterhin ermittelten Bjurberg M. et al. [2009] die frühen Veränderungen in der Aufnahme von [<sup>18</sup>F]FDG in Plattenepithelkarzinom-Xenograft-Mausmodelle in Folge einer Chemotherapie mit Cisplatin. Einen Tag nach Verabreichung von Cisplatin stieg das [<sup>18</sup>F]FDG-Signal an. Die Autoren erklären dies mit einem möglicherweise erhöhten Metabolismus in Folge des zellulären Stresses oder mit einem möglichen Einströmen von [<sup>18</sup>F]FDG durch zerstörte Zellmembranen – Prozesse, die dem eigentlichen Tumorzelltod vorangehen. Denn nach dem initialen Anstieg fiel die [<sup>18</sup>F]FDG-Aufnahme bereits am folgenden Tag unter die der Kontrollen und sank über weitere sieben Tag noch weiter ab [Bjurberg M. et al. 2009 S.329]. Parallel dazu nahm der Anteil vitaler Tumorzellen über den Beobachtungszeitraum rapide ab; es muss also zu einem Zelluntergang gekommen sein.

Die Erfassung kurzfristiger Veränderungen in der [<sup>11</sup>C]Cholin-Aufnahme war nicht Bestandteil unserer Studie. Unsere Daten legen nahe, dass die längerfristigen Effekte einer Behandlung mit Docetaxel über Wochen zu einem verstärkten Zelluntergang führen. Sowohl die unbehandelten als auch die behandelten Tumoren wachsen weiterhin, doch ist die Wachstumsgeschwindigkeit der behandelten Tumoren signifikant geringer als die der unbehandelten. Docetaxel führt demnach zudem zu einer signifikanten Wachstumsverzögerung der behandelten Tumoren.

Die Tumoren unserer Versuchstiere wurden nach Ablauf des Protokolls mittels HE-Färbung histologisch aufgearbeitet (s. Abb. 16, S. 52). Docetaxel führt durch die Hemmung der mitotischen Teilung zu einem erhöhten Zellverlust. Histologisch finden sich neben einem hohen Anteil an nekrotischen Zellen aber auch weiterhin vitale Zellen (persönliche Kommunikation mit Frau Dr. Frauke Neff, Helmholtz Zentrum München). Unter Umständen sind die Tumorzellen nur in einer bestimmten Phase des Zellzyklus empfindlich für Docetaxel; eine zweimalige Behandlung könnte demnach weniger effektiv sein als eine mehrmalige Gabe des Chemotherapeutikums, wodurch sich die Wahrscheinlichkeit erhöht, die malignen Zellen in der sensiblen Phase des Zellzyklus zu treffen. Interessant wäre es in

weiteren Studien zu untersuchen, ob eine repetitive Verabreichung von Docetaxel zu einem erhöhten Anteil an zugrunde gegangenen Zellen führt und ob sich dies auch in einem Abfall der [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin-Aufnahme in der PET-Bildgebung widerspiegelt.



**Abbildung 16 –  
Schnittbild LNCaP-Tumor nach Docetaxel-Therapie mit ca. 70% diffuser  
Nekrose (HE-Färbung)**

Es wäre auch möglich, dass Docetaxel zu einem veränderten Cholinmetabolismus in den Zellen führt, z. B. indem es den Cholintransport oder die Aktivität der Cholin kinase moduliert. Ein Hinweis dafür könnte sein, dass sich in Folge der Intervention mit Docetaxel in unserer Studie die Dynamik der [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin-Aufnahme in die PC-3-Tumoren veränderte. Die PC-3-Tumoren sowohl der Therapie- als auch der Kontrollgruppe zeigten vor der Behandlung mit dem Chemotherapeutikum einen signifikanten Abfall der T/M-Quotienten. Die Dynamik änderte sich bei den Kontrolltieren über die Wochen nicht signifikant. Die dynamischen Kurven der T/M-Quotienten der Therapietiere hingegen flachten sich im Verlauf des Beobachtungszeitraums ab. Hier konnte ein positiver Interaktionseffekt nachgewiesen werden, d. h. der Einfluss der Zeit auf den Verlauf der T/M-Quotienten wurde über die Wochen signifikant schwächer.

Die dynamischen Verläufe der T/M-Quotienten der LNCaP-Tumoren zeigten ein anderes Bild: vor der Gabe von Docetaxel, bzw. PBS gab es weder in der Therapie-, noch in der Kontrollgruppe signifikante Trends im Verlauf über 60 Minuten. Auch im Verlauf des Beobachtungszeitraums änderte sich die Dynamik der T/M-Quotienten nicht signifikant.

Wie Modifikationen im dynamischen Verlauf der T/M-Quotienten zustande kommen, bleibt unklar. Zur Diskussion stehen zum einen Veränderungen in der Kinetik der Cholin-Transporter oder der Cholin-Kinase als Folge einer Docetaxel-Therapie. So könnte eine durch die Behandlung erniedrigte Affinität des Cholin-Transporters, bzw. der Cholin-Kinase zu einer herabgesetzten Aufnahme von [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin zu Beginn des PET-Scans führen. Müller S.A. et al. [2009] fanden die Aufnahme von [methyl- $^3\text{H}$ ]Cholin in PC-3- und LNCaP-Zellen nach einer Therapie mit Docetaxel erhöht. Die  $K_M$ - und  $v_{\max}$ -Werte für die Cholin-Aufnahme von PC-3-Zellen waren jedoch kaum verändert. In LNCaP-Zellen ergab sich eine leicht erhöhte  $K_M$  und eine um das dreifach erhöhte  $v_{\max}$  für die Cholin-Aufnahme nach einer Behandlung mit Docetaxel. Dabei handelte es sich aber um Ergebnisse, die bereits zehn Minuten nach Behandlung mit dem Chemotherapeutikum gewonnen wurden; inwiefern sich langfristige Effekte auf die Kinetik auswirken, wurde nicht ermittelt. Schlussendlich spielen längerfristige Modulationen in der Kinetik von Cholin-Transportern, bzw. der Cholin-Kinase durch Docetaxel unserer Meinung nach eher keine Rolle.

Weiterhin ist zu diskutieren, dass die Zellen, die die Behandlung mit dem Chemotherapeutikum überleben, infolgedessen auch einen veränderten Cholinmetabolismus aufweisen könnten, was sich in einer verminderten Aufnahme von [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin widerspiegeln würde. Möglicherweise führt die Beeinträchtigung des Spindelapparats direkt oder indirekt über Signalwege zu entsprechenden Veränderungen im Cholinstoffwechsel wie einer veränderten Kinetik der Cholin-Transporter, bzw. der Cholin-Kinase.

Am plausibelsten erscheint uns jedoch die Erklärung, dass das Chemotherapeutikum Docetaxel Apoptose induziert und es dadurch zu einem erhöhten Zelluntergang kommt. Dies geht einher mit einem Abfall der Aufnahme von [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin [Krause B.J. et al. 2010 S.1866 f.]

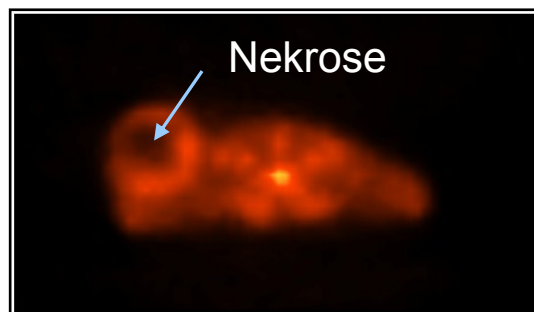
## Die Änderung der Aufnahme von [<sup>11</sup>C]Cholin lässt sich bereits frühzeitig im Verlauf der Therapie, d. h. nach einer Woche, nachweisen

Einen erheblichen Vorteil gegenüber der bloßen Messung der Tumorgröße, die sich erst spät im Verlauf der Therapie ändert, stellt die frühzeitige Detektion eines Therapieansprechens mittels [<sup>11</sup>C]Cholin dar. Bereits nach einer Woche zeigt sich ein signifikanter Abfall des Signals. Die morphologischen Unterschiede im Tumorwachstum wurden erst spät im Verlauf, d. h. Wochen nach Therapiebeginn, deutlich. Ein Ansprechen auf die Therapie aber möglichst frühzeitig zu erkennen, kann entscheidende Bedeutung im klinischen Management von Patienten mit Prostatakarzinom haben. Gelingt es, Patienten, die auf die jeweilige Behandlung nicht ansprechen, früh zu selektieren, könnte diese Behandlung abgebrochen werden, mögliche Nebenwirkungen vermieden werden sowie unnötige Kosten für eine wirkungslose Therapie eingespart werden. Frühzeitig könnte bei diesen Patienten eine alternative Therapie initiiert werden.

[<sup>18</sup>F]FDG wird heute zum Monitoring eines Therapieansprechens bereits bei einer Vielzahl von Tumoren eingesetzt [Herrmann K. et al. 2009 S.214f.]. Vielversprechende Ergebnisse hat [<sup>18</sup>F]FDG bei Lymphomen, Ösophaguskarzinomen, Magenkarzinomen, Mammakarzinomen und weiteren Tumorentitäten gezeigt. Weiterhin wird die Rolle untersucht, die [<sup>18</sup>F]FLT als Proliferationsmarker oder Hypoxietracer wie FMISO bei der Evaluierung eines Therapieansprechens von bösartigen Tumoren spielen können. Oyama N. et al. [2004] verwendeten [<sup>18</sup>F]FLT zur Ermittlung eines Ansprechens auf eine chemotherapeutische, bzw. chirurgische Androgen-Ablation bei CWR22-Prostatakarzinom-Xenograft-Mausmodellen. Auch in dieser Studie mit der Androgen-abhängigen Prostatakarzinomzelllinie CWR22 war ein Abfall der T/M-Quotienten bereits nach einer Woche festzustellen [Oyama N. et al. 2004 S.522]. [<sup>18</sup>F]FLT ist aber wegen seiner hohen Anreicherung im Knochenmark besonders bei der Evaluierung von Knochenmetastasen, die bei vielen Patienten mit fortgeschrittenem Prostatakarzinom zu finden sind, kritisch zu beurteilen.

## Methodische Limitationen

Limitationen könnten sich bei unserer Analyse der ROI-Werte der mit dem microPET FOCUS 120 gemessenen Daten insbesondere durch Partialvolumeneffekte ergeben haben. Zum einen waren die Tumore bei der ersten Messung kleiner und nahe am Auflösungsvermögen des Scanners. Außerdem war im Verlauf der Studie eine unterschiedlich stark ausgeprägte Nekrose aller Tumoren mit zum Teil nur randständig erhaltenem, vitalem und damit [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin-aufnehmendem Tumorgewebe zu verzeichnen (s. Abb. 17). Entscheidend hierbei war die Abgrenzung der nekrotischen Areale vom vitalen Tumorgewebe, um geeignete Regionen für die Analyse der [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin-Aufnahmen zu finden. Dies kann dazu beigetragen haben, dass sich hier hohe Varianzen bei der Berechnung der T/M-Quotienten ergeben haben.



**Abbildung 17 –  
PET-Aufnahme von zentral nekrotischem Tumor mit vitalem Randsaum**

Die geringe Anzahl an Versuchstieren schränkt die Aussagekraft unserer Daten zudem ein. Zu Beginn der Untersuchung standen uns 16 Mäuse in der PC-3-Gruppe, bzw. 16 Mäuse in der LNCaP-Gruppe zur Verfügung. Jede dieser beiden Gruppen wurde noch einmal aufgeteilt in Tiere, die mit dem Chemotherapeutikum Docetaxel behandelt wurden, und in Tiere, denen zur Kontrolle PBS injiziert wurde. Schlussendlich wurden somit in der PC-3-Gruppe die Aufnahmen von sechs mit Docetaxel, bzw. von sieben mit PBS behandelten Mäusen ausgewertet; in der LNCaP-Gruppe analysierten wir die Aufnahmen von je acht mit Docetaxel, bzw. mit PBS behandelten Tieren.

## Zusammenfassung

[<sup>11</sup>C]Cholin als PET-Tracer hat vielversprechende Ergebnisse bei der Bildgebung von Prostatakarzinomen erzielt, v. a. in der Rezidivsituation.

Die Aufnahme von [<sup>11</sup>C]Cholin in die Tumoren war zwar in unserer Studie gegenüber der Aufnahme in die Muskulatur gesteigert, erlaubte aber nur eine Bildgebung der Tumoren mit niedrigem Kontrast. [<sup>11</sup>C]Cholin erwies sich in der Kleintier-PET/CT als geeigneter bildgebender Marker, um das frühe Ansprechen von Prostatakarzinom-Xenograft-Mausmodellen auf eine Therapie mit Docetaxel zu ermitteln.

In den Xenograft-Mausmodellen mit den beiden untersuchten Zelllinien PC-3 und LNCaP ergaben sich bezogen auf die [<sup>11</sup>C]Cholin-Aufnahme mit der [<sup>11</sup>C]Cholin-Kleintier-PET/CT Unterschiede, die am ehesten auf den unterschiedlichen Differenzierungsgrad der Zellen zurückzuführen sind. Die Aufnahme von [<sup>11</sup>C]Cholin in die Tumoren der Androgen-Rezeptor-positiven LNCaP-Zellen lag über der Aufnahme in die Tumoren der PC-3-Zellen, die niedrig differenzierter sind. Je entdifferenzierter eine Tumorzelle ist, desto weniger [<sup>11</sup>C]Cholin scheint diese Tumorzelle aufzunehmen.

Bereits eine Woche nach Verabreichung des Chemotherapeutikums Docetaxel, das beim Menschen bei der Behandlung von fortgeschrittenen Prostatakarzinomen eingesetzt wird, zeigte sich ein statistisch signifikanter Rückgang der [<sup>11</sup>C]Cholin-Aufnahme in die PC-3-Tumoren. Die Aufnahme von [<sup>11</sup>C]Cholin in die LNCaP-Tumoren fiel ebenfalls ab. Die Ergebnisse für die LNCaP-Zelllinie erreichten allerdings keine statistische Signifikanz, es konnte nur ein Trend festgestellt werden. Die großen Varianzen der [<sup>11</sup>C]Cholin-Aufnahme in die LNCaP-Tumoren sind wahrscheinlich der Grund, weshalb keine statistische Signifikanz erreicht wurde.

Zudem wurde die Bedeutung der Dynamik der [<sup>11</sup>C]Cholin-Aufnahme in die Tumor-Xenograftmodelle über 60 Minuten genauer analysiert. Der Verlauf der T/M-Quotienten der PC-3-Tumoren fiel über die Dauer der PET-Untersuchung signifikant ab; dieser Abfall über die Zeit ging in der behandelten Gruppe über den Verlauf der



Beobachtung von vier Wochen verloren. Die LNCaP-Tumoren zeigten keine signifikanten Veränderungen im Verlauf der [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin-Aufnahme über 60 Minuten, weder in der therapierten Gruppe noch in der Kontrollgruppe.

Der Rückgang der Aufnahme von [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin in die Tumoren in Folge der Docetaxel-Therapie ist vor den Auswirkungen auf das Tumorwachstum zu detektieren. Ein erhöhter Zelluntergang, ausgelöst durch das Chemotherapeutikum, der zu einer Wachstumsverzögerung führt, scheint hierfür pathophysiologisch am ehesten entscheidend zu sein. Die veränderte Dynamik der PC-3-Tumoren ist alternativ möglicherweise auch auf Veränderungen in der Kinetik der Cholin-Transporter, bzw. der Cholin-Kinase als Folge einer Behandlung mit Docetaxel zurückzuführen.

Wir haben mit unserer Studie gezeigt, dass die [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin PET/CT im Tiermodell dabei helfen kann, die Effekte einer Chemotherapie frühzeitig zu ermitteln. Weitere Tiermodellstudien müssen folgen, um zusätzliche Erkenntnisse zum Nutzen der [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin PET/CT für die Ermittlung des Therapieansprechens zu gewinnen. Diese Erfahrungen können dann gegebenenfalls an Patienten verifiziert werden, sodass eventuell in Zukunft die Möglichkeit besteht, das Therapiemanagement von Patienten mit Prostatakarzinomen zu verbessern.

## Literaturverzeichnis

- Ackerstaff E., Pflug B.R., Nelson J.B., Bhujwala Z.M. *Detection of Increased Choline Compounds with Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy Subsequent to Malignant Transformation of Human Prostatic Epithelial Cells.* Cancer Res 61 (2001) 3599-3603
- Ackerstaff E., Glunde K., Bhujwala Z.M. *Choline Phospholipid Metabolism: A Target in Cancer Cells?* J Cell Biochem 90 (2003) 525-533
- Anderson J., Abrahamsson P.-A., Crawford D., Miller K., Tombal B. *Management of advanced prostate cancer: can we improve on androgen deprivation therapy?* BJU Int 101 (2008) 1497-1501
- Baquet C.R., Horm J.W., Gibbs T., Greenwald P. *Socioeconomic factors and cancer incidence among blacks and whites.* J Natl Cancer Inst 83 (1991) 551–557.
- Belloli S., Jachetti E., Moresco R.M., Picchio M., Lecchi M., Valtorta S., Freschi M., Michelini R.H., Bellone M., Fazio F. *Characterization of preclinical models of prostate cancer using PET-based molecular imaging.* Eur J Nucl Med Mol Imaging 36 (2009) 1245-1255
- Bjurberg M., Henriksson E., Brun E., Ekblad L., Ohlsson T., Brun A., Kjellén E. *Early Changes in 2-Deoxy-2-[<sup>18</sup>F]Fluoro-d-Glucose Metabolism in Squamous-Cell Carcinoma During Chemotherapy in Vivo and In Vitro.* Cancer Biother Radio 24 (2009) 327-332

- Craft N., Chhor C., Tran C., Beldegrun A., DeKernion J., Witte O.N., Said J., Reiter R.E., Sawyers C.L. *Evidence for Clonal Outgrowth of Androgen-independent Prostate Cancer Cells from Androgen-dependent Tumors through a Two-Step Process*. *Cancer Res* 59 (1999) 5030-5036
- Davoodpour P., Bergström M., Landström M. *Effects of 2-methoxyestradiol on proliferation, apoptosis and PET-tracer uptake in human prostate cancer cell aggregates*. *Nucl. Med Biol* 31 (2004) 867-874
- Dehdashti F., Picus J., Michalski J.M., Dence C.S., Siegel B.A., Katzenellenbogen J.A., Welch M.J. *Positron tomographic assessment of androgen receptors in prostatic carcinoma*. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 32 (2005) 344-350
- Deutsche Gesellschaft für Urologie e. V. (Hrsg.) *Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur Früherkennung, Diagnose und Therapie der verschiedenen Stadien des Prostatakarzinoms*. Düsseldorf 2009 6-620.
- Gomez L.A., de las Pozas A., Perez-Stable C. *Sequential combination of flavopiridol and docetaxel reduces the levels of X-linked inhibitor of apoptosis and AKT proteins and stimulates apoptosis in human LNCaP prostate cancer cells*. *Mol Cancer Ther* 5 (2006) 1216-1226
- Guthridge C.J., Stampfer M.R., Clark M.A., Steiner M.R. *Phospholipases A2 in ras-transformed and immortalized human mammary epithelial cells*. *Cancer Lett* 86 (1994) 11-21
- Hara T., Kosaka N., Kishi H. *PET Imaging of Prostate Cancer Using Carbon-11-Choline*. *J Nucl Med* 39 (1998) 990-995
- Hara T., Bansal A., DeGrado T.R. *Choline Transporter as a Novel Target for Molecular Imaging of Cancer*. *Mol Imaging* 5 (2006) 498-509

- Hernández-Alcoceba R., Fernández F., Lacal J.C. *In Vivo Antitumor Activity of Choline Kinase Inhibitors: A Novel Target for Anticancer Drug Discovery*. *Cancer Res* 59 (1999) 3112-3118
- Herrmann K., Krause B.J., Bundschuh R.A., Dechow T., Schwaiger M. *Monitoring Response to Therapeutic Interventions in Patients With Cancer*. *Sem Nucl Med* 39 (2009) 210-232
- Heuck A., Scheidler J., Sommer B., Graser A., Müller-Lisse U.G., Maßmanns J. *MR-Tomographie des Prostatakarzinoms*. *Radiologe* 43 (2003) 464-473
- Holzapfel K., Müller S.A., Seidl C., Grosu A.-L., Schwaiger M., Senekowitsch-Schmidtke R. *Effects of Irradiation on the [Methyl-<sup>3</sup>H]Choline Uptake in the Human Prostate Cancer Cell Lines LNCaP and PC3*. *Strahlenther Onkol* 184 (2008) 319-324
- Horoszewicz J.S., Leong S.S., Chu T.M., Wajzman Z.L., Friedman M., Papsidero L., Kim J., Chai L.S., Kakati S., Arya S.K., Sandberg A.A. *The LNCaP cell line a new model for studies on human prostatic carcinoma*. In: Murphy G.P. (Hrsg.). *Models for Prostate Cancer*. New York 1980. 115-132
- Horoszewicz J.S., Leong S.S., Kawinski E., Karr J.P., Rosenthal H., Chu M., Mirand E.A., Murphy G.P. *LNCaP Model of Human Prostatic Carcinoma*. *Cancer Res* 43 (1983) 1809-1818
- Igawa T., Lin F.-F., Lee M.-S., Karan D., Batra S.K., Lin M.-F. *Establishment and Characterization of Androgen-Independent Human Prostate Cancer LNCaP Cell Model*. *Prostate* 50 (2002) 222-235
- Janardhan S., Srivani P., Narahari Sastry G. *Choline Kinase: An Important Target for Cancer*. *Curr Med Chem* 13 (2006) 1169-1186

- Kaighn M.E., Narayan K.S., Ohnuki Y., Lechner J.F., Jones L.W. *Establishment and Characterization of a Human Prostatic Carcinoma Cell Line (PC-3)*. Invest Urol 17 (1979) 16-23
- Katz-Brull R., Degani H. *Kinetics of Choline Transport and Phosphorylation in Human Breast Cancer Cells; NMR Application of the Zero Trans Method*. Anticancer Res 16 (1996) 1375-1380
- Kim J.S., Lee J.S., Im K.C., Kim S.J., Kim S.-Y., Lee D.S., Moon D.H. *Performance Measurement of the microPET Focus 120 Scanner*. J Nucl Med 48 (2007) 1527-1535
- Kolfschoten G.M., Hulscher T.M., Duyndam M.C.A., Pinedo H.M., Boven E. *Variation in the kinetics of caspase-3 activation, Bcl-2 phosphorylation and apoptotic morphology in unselected human ovarian cancer cell lines as a response to docetaxel*. Biochem Pharmacol 63 (2002) 733-743
- Kotzerke J., Prang J., Neumaier B., Volkmerz B., Guhlmann A., Kleinschmidt K., Hautmann R., Reske S.N. *Experience with carbon-11 choline positron emission tomography in prostate carcinoma*. Eur J Nucl Med 27 (2000) 1415-1419
- Krause B.J., Tuncel M., Souvatzoglou M., Buck A.K., Treiber U., Schwaiger M. *Prostatakarzinom*.  
In: Krause B.J., Buck A.K., Schwaiger M. (Hrsg.). *Nuklearmedizinische Onkologie*. Ecomed Verlag. Landsberg 2007. 1. Auflage. 181-197
- Krause B.J., Souvatzoglou M., Tuncel M., Herrmann K., Buck A.K., Praus C., Schuster T., Geinitz H., Treiber U., Schwaiger M. *The detection rate of [<sup>11</sup>C]-Choline-PET/CT depends on the serum PSA-value in patients with biochemical recurrence of prostate cancer*. Eur J Nucl Med Mol Imaging 35 (2008) 18-23

- Krause B.J., Souvatzoglou M., Herrmann K., Weber A.W., Schuster T., Buck A.K., Nawroth R., Weirich G., Treiber U., Wester H.-J., Ziegler S.I., Senekowitsch-Schmidtke R., Schwaiger M. *[<sup>11</sup>C]-Choline as pharmacodynamic marker for therapy response assessment in a prostate cancer xenograft model.* Eur J Nucl Med Mol Imaging 37 (2010) 1861-1868
- Krebs in Deutschland 2005/2006. Häufigkeiten und Trends.* 7. Ausgabe. Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e. V. (Hrsg). Berlin, 2010
- Larson S.M., Morris M., Gunther I., Beattie B., Humm J.L., Akhurst T.A., Finn R.D., Erdi Y., Pentlow K., Dyke J., Squire O., Bornmann W., McCarthy T., Welch M., Scher H. *Tumor Localization of 16β-<sup>18</sup>F-Fluoro-5α-Dihydrotestosterone Versus <sup>18</sup>F-FDG in Patients with Progressive Metastatic Prostate Cancer.* J Nucl Med 45 (2004) 366-373
- Li Y., Li X., Hussain M., Sarkar F.H. *Regulation of Microtubule, Apoptosis, and Cell Cycle-Related Genes by Taxotere in Prostate Cancer Cells Analyzed by Microarray.* Neoplasia 6 (2004) 158-167
- Lockman P.R., Allen D.D. *The Transport of Choline.* Drug Dev Ind Pharm 28 (2002) 749-771
- Michel V., Yuan Z., Ramsudir S., Bakovic M. *Choline Transport for Phospholipid Synthesis.* Exp Biol Med 231 (2006) 490-504
- Müller S.A., Holzapfel K., Seidl C., Treiber U., Krause B.J., Senekowitsch-Schmidtke R. *Characterization of choline uptake in prostate cancer cells following bicalutamide and docetaxel treatment.* Eur J Nucl Med Mol Imaging 36 (2009) 1434-1442
- Noh D.-Y., Ahn A.-J., Lee R.-A., Park I.-A., Kim J.-H., Suh P.-G., Ryu S.-H., Lee K.-H., Han J.-S. *Overexpression of phospholipase D1 in human breast cancer tissues.* Cancer Lett 161 (2000) 207-214

- Nuñez R., Macapinlac H.A., Yeung H.W., Akhurst T., Cai S., Osman I., Gonen M., Riedel E., Scher H.I., Larson S.M. *Combined <sup>18</sup>F-FDG and <sup>11</sup>C-Methionine PET Scans in Patients with Newly Progressive Metastatic Prostate Cancer*. J Nucl Med 43 (2002) 46-55
- Okuda T., Haga T. *High-Affinity Choline Transporter*. Neurochem Res 28 (2003) 483-488
- Oudard S., Legrier M.-E., Boyé K., Bras-Gonçalves R., De Pinieux G., De Cremoux P., Poupon M.-F. *Activity of Docetaxel with or without Estramustine Phosphate versus Mitoxantrone in Androgen Dependent and Independent Human Prostate Cancer Xenografts*. J Urology 169 (2003) 1729-1734
- Oyama N., Akino H., Suzuki Y., Kanamaru H., Sadato N., Yonekura Y., Okada K. *The Increased Accumulation of [<sup>18</sup>F]Fluorodeoxyglucose in Untreated Prostate Cancer*. Jpn J Clin Oncol 29 (1999) 623-629
- Oyama N., Akino H., Suzuki Y., Kanamaru H., Ishida H., Tanase K., Sadato N., Yonekura Y., Okada K. *FDG PET for evaluating the change of glucose metabolism in prostate cancer after androgen ablation*. Nucl Med Biol 22 (2001) 963-969
- Oyama N., Kim J., Jones L.A., Mercer N.M., Engelbach J.A., Sharp T.L., Welch M.J. *MicroPET assessment of androgenic control of glucose and acetate uptake in the rat prostate and a prostate cancer tumor model*. Nucl Med Biol 29 (2002a) 783-790
- Oyama N., Akino H., Suzuki Y., Kanamaru H., Miwa Y., Tsuka H., Sadato N., Yonekura Y., Okada K. *Prognostic Value of 2-Deoxy-2-[F-18]Fluoro-D-Glucose Positron Emission Tomography Imaging for Patients with Prostate Cancer*. Mol Imag Biol 4 (2002b) 99-104

- Oyama N., Ponde D.E., Dence C., Kim J., Tai Y.-C., Welch M.J. *Monitoring of Therapy in Androgen-Dependent Prostate Tumor Model by Measuring Tumor Proliferation*. J Nucl Med 45 (2004) 519-525
- Pascali C., Bogni A., Iwata R., Cambiè M., Bombardieri E. *[<sup>11</sup>C]Methylation on a C<sub>18</sub> Sep-Pak cartridge: a convenient way to produce [N-methyl-<sup>11</sup>C]choline*. J Labelled Compd Rad 43 (2000) 195-203
- Paul R., Zimmermann F., Dettmar P., van Randenborgh H., Alschibaja M., Herkommer K., Seitz M. *Prostatakarzinom*. In: *Urogenitale Tumoren. Empfehlungen zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge*. Treiber U., Zaak D. (Hrsg.). W. Zuckschwerdt Verlag. München-Wien-New York. 2008. 4. Auflage. 1-65.
- Petrylak D.P., Tangen C.M., Hussain M.H.A., Lara P.N.Jr., Jones J.A., Taplin M.E., Burch P.A., Berry D., Moinpour C., Kohli M., Benson M.C., Small E.J., Raghavan D., Crawford E.D. *Docetaxel and Estramustine Compared with Mitoxantrone and Prednisone for Advanced Refractory Prostate Cancer*. N Engl J Med 351 (2004) 1513-1520
- Pienta K.J. *Preclinical Mechanisms of Action of Docetaxel and Docetaxel Combinations in Prostate Cancer*. Semin Oncol 28 (2001) 3-7
- Pienta K.J., Smith D.C. *Advances in prostate cancer chemotherapy: A new era begins*. CA Cancer J Clin 55 (2005) 300-318
- Podo F. *Tumour phospholipid metabolism*. NMR Biomed 12 (1999) 413-439
- Price D.T., Coleman R.E., Liao R.P., Robertson C.N., Polascik T.J., DeGrado T.R. *Comparison of [<sup>18</sup>F]Fluorocholine and [<sup>18</sup>F]Fluorodeoxyglucose for Positron Emission Tomography of Androgen Dependent and Androgen Independent Prostate Cancer*. J Urology 168 (2002) 273-280



- Ramírez de Molina A., Rodríguez-González A., Gutiérrez R., Martínez-Piñeiro L., Sánchez J.J., Bonilla F., Rosell R., Lacal J.C. *Overexpression of choline kinase is a frequent feature in human tumor-derived cell lines and in lung, prostate, and colorectal human cancers*. *Biochem Bioph Res Co* 296 (2002a) 580-583
- Ramírez de Molina A., Penalva V., Lucas L., Lacal J.C. *Regulation of choline kinase activity by Ras proteins involves Ral-GDS and PI3K*. *Oncogene* 21 (2002b) 937-946
- Ramírez de Molina A., Gallego-Ortega D., Sarmentero J., Bañez-Coronel M., Martín-Cantalejo Y., Lacal J.C. *Choline Kinase Is a Novel Oncogene that Potentiates RhoA-Induced Carcinogenesis*. *Cancer Res* 65 (2005) 5647-5653
- Reske S.N., Blumstein N.M., Glatting G. *[<sup>11</sup>C]choline PET/CT imaging in occult local relapse of prostate cancer after radical prostatectomy*. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 35 (2008) 9-17
- Rinnab L., Mottaghy F.M., Blumstein N.M., Reske S.N., Hautmann R.E., Hohl K., Möller P., Wiegel T., Kuefer R., Gschwend J.E. *Evaluation of [<sup>11</sup>C]-choline positron-emission/computed tomography in patients with increasing prostate-specific antigen levels after primary treatment for prostate cancer*. *BJU Int* 100 (2007) 786-793
- Rumohr J.A., Chang S.S. *Current chemotherapeutic approaches for androgen-independent prostate cancer*. *Curr Opin Invest Dr* 7 (2006) 529-533
- Tang Y., Khan M.A., Goloubeva O., Lee D.I., Jelovac D., Brodie A.M., Hussain A. *Docetaxel Followed by Castration Improves Outcomes in LNCaP Prostate Cancer – Bearing Severe Combined Immunodeficient Mice*. *Clin Cancer Res* 12 (2006) 169-174

- Tannock I.F., de Wit R., Berry W.R., Horti J., Pluzanska A., Chi K.N., Oudard S., Théodore C., James N.D., Turesson I., Rosenthal M.A., Eisenberger M.A. *Docetaxel plus Prednisone or Mitoxantrone plus Prednisone for Advanced Prostate Cancer*. N Engl J Med 351 (2004) 1502-1512
- Tuncel M., Souvatzoglou M., Herrmann K., Stollfuss J., Schuster T., Weirich G., Wester H.-J., Schwaiger M., Krause B.J. *[<sup>11</sup>C]Choline positron emission tomography/computed tomography for staging and restaging of patients with advanced prostate cancer*. Nucl Med Biol 35 (2008) 689-695
- Wachter S., Tomek S., Kurtaran A., Wachter-Gerstner N., Djavan B., Becherer A., Mitterhauser M., Dobrozemsky G., Li S., Pötter R., Dudczak R., Kletter K. *<sup>11</sup>C-Acetate Positron Emission Tomography Imaging and Image Fusion With Computed Tomography and Magnetic Resonance Imaging in Patients With Recurrent Prostate Cancer*. J Clin Oncol 24 (2006) 2513-2519
- Wang Y., Revelo M.P., Sudilovsky D., Cao M., Chen W.G., Goetz L., Xue H., Sadar M., Shappell S.B., Cunha G.R., Hayward S.W. *Development and Characterization of Efficient Xenograft Models for Benign and Malignant Human Prostate Tissue*. Prostate 64 (2005) 149-159
- Zeegers M.P.A., Jellema A., Ostrer H. *Empiric Risk of Prostate Carcinoma for Relatives of Patients with Prostate Carcinoma. A Meta-Analysis*. Cancer 97 (2003) 1894-1903
- Zheng Q.-H., Gardner T.A., Raikwar S., Kao C., Lee Stone K., Martinez T.D., Mock B.H., Fei X., Wang J.-Q., Hutchins G.D. *[<sup>11</sup>C]Choline as a PET biomarker for assessment of prostate cancer tumor models*. Bioorgan Med Chem 12 (2004) 2887-2893

## Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre an Eides statt, dass ich die der Fakultät für Medizin der Universität Rostock zur Promotionsprüfung vorgelegte Arbeit mit dem Titel:

**Ermittlung des Ansprechens auf eine Docetaxel-Therapie bei PC-3- und LNCaP-Prostatakarzinom-Xenograft-Mausmodellen mit der [<sup>11</sup>C]Cholin Kleintier PET/CT**

in der

**Klinik und Poliklinik für Nuklearmedizin  
der Universität Rostock**

**Direktor: Prof. Dr. med. Bernd Joachim Krause**

unter der Anleitung und Betreuung durch

**Prof. Dr. med. Bernd Joachim Krause**

ohne sonstige Hilfe erstellt und bei der Abfassung bei der Anfertigung der Dissertation keine anderen als die in der Arbeit genannten Hilfsmittel benutzt habe.

(X) Ich habe die Dissertation in dieser oder ähnlicher Form in keinem anderen Prüfungsverfahren als Prüfungsleistung vorgelegt.

( ) Die vollständige Dissertation wurde in .....  
..... veröffentlicht. Die Fakultät für  
..... hat der  
Vorveröffentlichung zugestimmt.

(X) Ich habe den angestrebten Doktorgrad noch nicht erworben und bin nicht in einem früheren Promotionsverfahren für den angestrebten Doktorgrad endgültig gescheitert.

( ) Ich habe bereits am ..... bei der  
Fakultät für .....  
der Hochschule .....  
unter Vorlage einer Dissertation mit dem Thema .....  
.....  
die Zulassung zur Promotion beantragt mit dem Ergebnis:  
.....

Die Promotionsordnung der Universität Rostock ist mir bekannt.

Heilbronn, den 29. November 2012

.....  
David Gunnar Sachs

## Danksagung

Am Ende dieser meiner Dissertation ist es mir wichtig, noch einmal einigen Menschen zu danken, die maßgeblich zum Zustandekommen der Arbeit beigetragen haben und die mich auf dem Weg dabei und durch das Medizinstudium insgesamt begleitet haben.

Mein ganz herzlicher Dank gilt zuvörderst meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Bernd Joachim Krause, der mir das Thema vorgeschlagen hat und mir mit viel Geduld, Engagement, fachlichem Rat und immer einem offenen Ohr zur Seite stand. Die Arbeit mit ihm hat mein Studium sehr bereichert; auch jenseits der Doktorarbeit wurde er mir ein hochgeschätzter Ansprechpartner.

Ich danke Herrn Dipl. Stat. Tibor Schuster für die Unterstützung und Geduld bei der statistischen Auswertung meiner Daten.

Weiterhin danke ich Frau Annette Frank und dem ganzen Assistententeam der Arbeitsgruppe unter Prof. Krause für die freundliche und hilfsbereite Zusammenarbeit.

Schließlich möchte ich meiner Familie und meinen Freunden danken.

Ich danke meinen Eltern, Isolde und Dr. med. Gunnar Sachs, und meinen Brüdern, Maximilian und Stephan, für ihre Unterstützung und ihre Geduld. Mein Medizinstudium wäre ohne meine Familie nicht möglich gewesen. Ich danke ihnen, dass sie immer für mich da waren.

Meine Freunde in Studium und Freizeit waren mir eine ständige Stütze und Bereicherung. Ich danke ihnen, dass sie mich auf diesem meinem Weg begleitet haben und es manches Mal verstanden haben, mich abzulenken.

## Thesen

Die wichtigsten Befunde dieser Dissertation waren:

Die Tumoren sowohl der PC-3- als auch der LNCaP-Zelllinie konnten sowohl in der CT- als auch in der PET-Bildgebung dargestellt werden. Insgesamt ergab sich jedoch ein eher niedriger Kontrast.

Die [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin-Aufnahme in Tumoren der LNCaP-Zelllinie lag im Xenograft-Modell über der [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin-Aufnahme in Tumoren der PC-3-Zelllinie. Im Durchschnitt ergab sich bei den LNCaP-Tumoren ein  $T/M_{\text{mean}}$ -Quotient von 2,0 (SE=0,2) in der Therapiegruppe, bzw. von 1,9 (SE=0,2) in der Kontrollgruppe. Das Verhältnis bei den PC-3-Tumoren lag bei 1,8 (SD=0,4) in der Therapiegruppe, bzw. bei 1,6 (SD=0,5) in der Kontrollgruppe.

Das Wachstum der Tumoren sowohl der LNCaP-Zelllinie als auch der PC-3-Zelllinie wurde im Xenograft-Mausmodell durch Docetaxel gehemmt.

Der maximale Tumordurchmesser der PC-3-Tumoren nahm in beiden Gruppen über die Zeit signifikant zu (Therapiegruppe  $p=0,010$ ; Kontrollgruppe  $p<0,001$ ). In der Therapiegruppe zeigte sich jedoch ein signifikant langsames Wachstum der Tumoren ( $p=0,025$ ).

Das Volumen der LNCaP-Tumoren nahm in beiden Gruppen über die Zeit signifikant zu (Therapiegruppe  $p=0,001$ ; Kontrollgruppe  $p<0,001$ ). Die Tumoren der Therapiegruppe nahmen jedoch über den gesamten Zeitraum von drei Wochen signifikant weniger an Volumen zu als die Kontrolltiere ( $p=0,013$ ).

Auch der maximal gemessene Durchmesser der LNCaP-Tumoren nahm in beiden Gruppen über den Beobachtungszeitraum signifikant zu (Therapiegruppe  $p=0,002$ ; Kontrollgruppe  $p<0,001$ ). Das Wachstum in der Therapiegruppe war jedoch signifikant geringer als in der Kontrollgruppe ( $p=0,043$ ).

Bei den PC-3-Tumoren konnte innerhalb der Therapiegruppe bei den PC-3-Tumoren bereits nach einer Woche eine statistische signifikante Verringerung der Aufnahme von [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin infolge einer Docetaxeltherapie nachgewiesen werden (jeweils  $p < 0,001$ ), im Gegensatz zu den Werten in der Kontrollgruppe ( $p=0,827$ , bzw.  $p=0,517$ , bzw.  $p=0,720$ ).

Innerhalb sowohl der Therapie- als auch der Kontrollgruppe gab es bei der ersten Messung einen signifikanten Abfall der  $T/M_{\text{dyn}}$ -Quotienten über die gesamte Aufnahmedauer (jeweils  $p < 0,001$ ). Dieser Abfall der  $T/M_{\text{dyn}}$ -Quotienten fiel bei den therapierten Tieren von Woche zu Woche signifikant geringer aus im Vergleich zur ersten Aufnahme. In der Gruppe der Kontrolltiere hingegen zeigte der Abfall der  $T/M_{\text{dyn}}$ -Quotienten über den Beobachtungszeitraum keine signifikante Änderung.

Bei den LNCaP-Tumoren ließ sich für die Therapiegruppe bereits eine Woche nach Beginn der Behandlung mit Docetaxel ein signifikanter Abfall der  $T/M_{\text{dyn}}$ -Quotienten erkennen ( $p=0,002$ ). Bei der Messung zwei Wochen nach Beginn der Therapie konnte nur ein Trend ermittelt werden, der keine statistische Signifikanz im Vergleich zur Aufnahme vor Therapie ( $p=0,055$ ) erreichte. Die Aufnahme drei Wochen nach Beginn der Therapie erbrachte wieder einen signifikanten Unterschied ( $p=0,003$ ). Im Gegensatz dazu zeigten die  $T/M_{\text{dyn}}$ -Quotienten in der Kontrollgruppe keinen statistisch signifikanten Abfall ( $p=0,558$ , bzw.  $p=0,811$ , bzw.  $p=0,619$ ).

Zum Zeitpunkt der ersten Messung der LNCaP-Tumoren konnte weder in der Kontroll- noch in der Therapiegruppe eine signifikante Änderung des minütlichen Trends festgestellt werden ( $p=0,294$ ). Es ergab sich keine Evidenz für eine Änderung der zeitlich bedingten  $T/M_{\text{dyn}}$ -Quotienten über die Wochen, weder innerhalb der Therapiegruppe ( $p=0,985$ ) noch innerhalb der Kontrollgruppe ( $p=0,180$ ).

Wir haben mit unserer Studie gezeigt, dass die [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin PET/CT im Tiermodell dabei helfen kann, die Effekte einer Chemotherapie frühzeitig zu ermitteln. Weitere Tiermodellstudien müssen folgen, um zusätzliche Erkenntnisse zum Nutzen der [ $^{11}\text{C}$ ]Cholin PET/CT für die Ermittlung des Therapieansprechens zu gewinnen. Diese Erfahrungen können dann gegebenenfalls an Patienten verifiziert werden, sodass eventuell in Zukunft die Möglichkeit besteht, das Therapiemanagement von Patienten mit Prostatakarzinomen zu verbessern.