

Aus dem Institut für Pathologie und Molekulare Diagnostik des
Universitätsklinikums Augsburg

Stroma AReaktive Invasions Front Areale (SARIFA) als potenzieller Biomarker in pT3a Prostatakarzinomen

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades

Dr. med.

eingereicht an der

Medizinischen Fakultät der Universität Augsburg

von

Matthias Groß

Augsburg, 03.07.2024



Eidesstattliche Versicherung und Erklärung

Hiermit versichere ich an Eides statt, dass die vorliegende Dissertation von mir selbständig und ohne unerlaubte Hilfe angefertigt wurde. Zudem wurden keine anderen als die angegebenen Quellen verwendet. Außerdem versichere ich, dass die Dissertation keiner anderen Prüfungskommission vorgelegt wurde und ich mich nicht anderweitig einer Doktorprüfung ohne Erfolg unterzogen habe.

Statutory declaration and statement

I declare that I have authored this thesis independently, that I have not used other than the declared sources/resources. As well I declare that I have not submitted a dissertation without success and not passed the oral exam. The present dissertation (neither the entire dissertation nor parts) has not been presented to another examination board.

Augsburg, 03.07.2024

Dissertation eingereicht am: 03.07.2024

Erstgutachter (Hauptbetreuerin/Hauptbetreuer): Herr Prof. Dr. med. Märkl

Zweitgutachter: Frau Prof. Dr. med. Weckermann

Tag der mündlichen Prüfung: 27.05.2025

Für meine Familie

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung.....	1
1.1 Epidemiologie des Prostatakarzinoms	1
1.2 Klinische Aspekte des Prostatakarzinoms	1
1.2.1 Risikofaktoren.....	1
1.2.2 Symptome.....	2
1.2.3 Diagnostische Optionen.....	2
1.2.4 Pathologie	4
1.2.4 Therapeutische Ansätze.....	6
1.3 Stroma AReaktive Invasions Front AReale (SARIFA) als histomorphologischer Biomarker.....	7
1.3.1 SARIFA bei gastrointestinalen Tumorerkrankungen	7
1.3.2 Lipidmetabolismus in Krebserkrankungen	8
1.3.3 Die Rolle von Adipozyten und Lipidmetabolismus im Prostatakarzinom.....	11
1.4 Ziele der Arbeit.....	13
2. Material und Methoden	14
2.1 Patientenkohorte, Ethik und Studiendesign.....	15
2.2 Histologische Erhebung des SARIFA-Status	15
2.3 Immunhistochemische Untersuchungen.....	19
2.4 PSMA-PET/CT.....	20
2.5 Statistische Auswertung.....	21

3. Ergebnisse.....	22
3.1 Klinisch-pathologische Charakteristika mit Hinsicht auf den SARIFA-Status	22
3.2 Prognostischer Effekt des SARIFA-Status	28
3.3 Immunhistochemische FABP4- und CD36-Expression an SARIFAs.....	31
3.4 Assoziation zwischen PSMA-PET-Ergebnissen und SARIFA-Status	35
4. Diskussion.....	37
4.1 SARIFA als potenzieller neuartiger Biomarker im Prostatakarzinom	37
4.2 Prognostische Wertigkeit	40
4.3 SARIFA-Status und Lipidmetabolismus	41
4.4 SARIFA und unterschiedliches Metastasierungsmuster	43
4.5 Stärken und Limitationen der Studie	43
4.6 Ausblick: SARIFA als neuartiger histopathologischer Biomarker in verschiedenen Entitäten?	45
5. Zusammenfassung (deutsch und englisch)	47
6. Literaturverzeichnis	49
7. Appendix.....	59
7.1 Abkürzungsverzeichnis	59
7.2 Abbildungsverzeichnis	63
7.3 Tabellenverzeichnis.....	65
7.4 Danksagung	66

1. Einleitung

1.1 Epidemiologie des Prostatakarzinoms

Das Prostatakarzinom ist eine der weltweit häufigsten Krebsarten. Mit einem Anteil von 7,3% an der Anzahl neuer Krebspatienten weltweit im Jahr 2020 liegt es hinter Brustkrebs und Lungenkrebs auf Platz 3 (Sung et al. 2021). Global sollen im Jahr 2020 schätzungsweise knapp über 1,4 Millionen neue Fälle von Prostatakarzinomen aufgetreten sein, damit ist es die insgesamt am häufigsten gestellte Krebsdiagnose bei Männern (Sung et al. 2021). Bei der geographischen Verteilung der Häufigkeit gab es dabei große Unterschiede; generell ist eine höhere Prävalenz in Industrieländern zu beobachten (Rawla 2019). Das erhöhte Auftreten in Industrieländern beruht wohl zum Teil einerseits auf unterschiedlichen Screening-Methoden und andererseits auf einem weltweit sehr ungleichen Zugang zur Prostatakrebs-Früherkennung (Rawla 2019). Im Gegensatz zur hohen Inzidenz ist die Mortalität mit 8,1 pro 100 000 in Industrieländern vergleichsweise gering. Aufgrund des weltweit sehr häufigen Auftretens war das Prostatakarzinom im Jahr 2020 dennoch auf Platz 5 der häufigsten Krebstodesursachen von Männern (Sung et al. 2021). Weiterhin fallen die Überlebensraten, trotz des oft günstigen Erkrankungsverlaufes, mit höheren Erkrankungsstadien deutlich ab (Abdel-Rahman 2017).

Insgesamt ist das Prostatakarzinom ein Krebs des Alters. Sowohl die Inzidenz als auch die Mortalität des Prostatakarzinoms steigen mit höherem Alter deutlich an. Das durchschnittliche Alter zum Zeitpunkt der Diagnose beträgt weltweit 66 Jahre (Rawla 2019) und in Deutschland etwa 70 Jahre (Erdmann et al. 2021).

1.2 Klinische Aspekte des Prostatakarzinoms

1.2.1 Risikofaktoren

Trotz der hohen Krankheitslast des Prostatakarzinoms für die Weltbevölkerung ist relativ wenig über die genauen Risikofaktoren bekannt. Bekannte Risikofaktoren sind unter anderem, wie bereits angesprochen, ein hohes Lebensalter sowie eine positive Familienanamnese (Sung et al. 2021), welche bei etwa 20% der diagnostizierten Patienten mit Prostatakarzinomen vorliegt (Rawla 2019). Männer mit einem ebenfalls an Prostatakrebs erkrankten Vater oder Bruder sind beispielsweise zweimal häufiger von Prostatakrebs betroffen. Männer mit einer hereditären Prädisposition erkranken

statistisch früher und versterben dementsprechend dann unter Umständen auch früher (Carter et al. 1993). Patienten mit einer BRCA-Keimbahnmutation, hauptsächlich BRCA2, erkranken häufiger an einem Prostatakarzinom (Oh et al. 2019; Nyberg et al. 2020). Bei diesen Patienten zeigt sich zudem ein aggressiveres Tumorverhalten mit beispielsweise früherem Ausbilden von Fernmetastasen und kürzerem Gesamtüberleben (Castro et al. 2013; Castro et al. 2019). Ein westlicher Lebensstil (Rawla 2019) sowie Fettleibigkeit werden ebenfalls als weitere Risikofaktoren genannt (Allott, Masko, and Freedland 2013). Als Argument dafür, dass Prostatakrebs mit einem westlichen Lebensstil assoziiert ist, wird unter anderem die Inzidenzrate für Prostatakrebs unter Afroamerikanern angeführt, die 40-mal höher ist als für Afrikaner (Chu et al. 2011).

1.2.2 Symptome

Während es keine charakteristischen Frühsymptome gibt, können in fortgeschrittenen Tumorstadien des Prostatakarzinoms eine Vielzahl von Beschwerden auftreten. Beispiele hierfür sind Miktionsstörungen, Harnstauungsniere und Nykturie. Auch Impotenz wird als Symptom fortgeschrittener Karzinomstadien genannt. Sobald ossäre Metastasen vorliegen, können pathologische Frakturen und häufig damit assoziierte Rückenschmerzen auftreten (Bagi 2003) (Hamilton et al. 2006).

1.2.3 Diagnostische Optionen

Aufgrund des häufig symptomlosen klinischen Verlaufs von Prostatakarzinomen wird Männern ab 45 Jahren in Deutschland die Teilnahme an einem Früherkennungsprogramm angeboten. Das Programm beinhaltet ein ärztliches Aufklärungsgespräch und Anamnese hinsichtlich körperlicher Beschwerden sowie eine körperliche Untersuchung. Diese teilt sich in eine Untersuchung der äußeren Geschlechtsorgane, eine Tastuntersuchung der Lymphknoten und eine digital-rektale Untersuchung der Prostata (DRU) auf. Die Bestimmung des PSA-Wertes (Prostata-spezifisches Antigen) im Serum ist derzeit nicht Bestandteil der gesetzlichen Früherkennung, wird jedoch von vielen Arztpraxen als sogenannte *individuelle Gesundheitsleistung* angeboten (Onkologie 2022). Bei Vorliegen eines auffälligen Tastbefundes, eines klinischen Verdachtes auf ein Prostatakarzinom sowie bei erhöhten

PSA-Werten, wird die Indikation zur histologischen Abklärung durch eine Stanzbiopsie gestellt (Streicher et al. 2019). Bei der PSA-Testung sind ein Gesamtwert von $>4\text{ng/ml}$ beim erstmaligen Testen in der Früherkennungs-Untersuchung sowie eine PSA-Dynamik mit Veränderungen zwischen $0,35\text{ng/ml}$ und $0,75\text{ng/ml}$ eine Indikation für eine biopsische Abklärung (Onkologie 2022). Die Entnahme der Stanzbiopsie erfolgt nach einem festen Schema. So werden systematisch zehn bis zwölf Stanzzyylinder aus der Mitte, der Basis und des Apex der Prostata entnommen. Die aktuelle S3 Leitlinie für Prostatakarzinome (erschienen im Oktober 2021) empfiehlt dafür die transrektal-sonographische Überwachung des Eingriffs; aus palpatorisch auffälligen Arealen soll zusätzlich eine gezielte Entnahme erfolgen. Neben der biopsischen Untersuchung und Einordnung des Primarius erfolgt bei entsprechendem Karzinomnachweis dann eine weitere bildgebende Diagnostik im Rahmen des Tumorstagings.

Hier spielt die PSMA PET/CT (Prostata-spezifisches Membranantigen – gerichtete Positronen-Emissions-Tomographie/Computertomographie) in der Identifikation von Fernmetastasen eine zunehmende Rolle. PSMA, ein Transmembran-Glykoprotein, wird in Prostatakarzinomzellen stark exprimiert und fungiert bei dieser Methode als Tracer, was es zu einem effektiven Werkzeug zur Untersuchung des Lymphknotenbefalls oder der Detektion von Fernmetastasen beim initialen Staging macht (Tsehelidis and Vrachimis 2022). Laut der aktuellen S3 Leitlinie für Prostatakarzinome (erschienen im Oktober 2021) hat das PSMA-PET/CT eine höhere Genauigkeit im Nachweis von Prostatakarzinom-Metastasen als die bisher etablierte Kombination aus Computertomographie und Knochenszintigraphie (Onkologie 2022). Das PSMA-PET/CT ist konventioneller Bildgebung wie Computertomographie (CT) und Magnetresonanztomographie (MRT) Untersuchungen in der Identifikation kleinerer Läsionen ($<8\text{mm}$) überlegen (Tsehelidis and Vrachimis 2022). Beim High-Risk Prostatakarzinom, definiert nach d'Amico durch Gleason-Score 8-10, cT3/cT4 oder einem PSA-Wert $\geq 20\text{ng/ml}$, ist das PSMA-PET/CT dementsprechend die empfohlene Bildgebungsmodalität für das präoperative Staging (D'Amico et al. 1998) (Onkologie 2022).

1.2.4 Pathologie

Der häufigste histologische Subtyp des Prostatakarzinoms ist das azinäre Adenokarzinom, das aus den Drüsenepithelien hervorgeht und etwa 95% aller Prostatakarzinome darstellt. Den übrigen deutlich kleineren Anteil der Primärkarzinome in der Prostata stellen weitere Subtypen des Adenokarzinoms wie das duktales oder neuroendokrine Adenokarzinom dar. Daneben können auch primäre Plattenepithelkarzinome oder Sarkome in der Prostata entstehen (Moch 2022). Prostatakarzinome sind typischerweise in der peripheren Zone der Prostata lokalisiert, lediglich 2,5% sind zentral zu finden.

Die Drüsenmorphologie von Adenokarzinomen der Prostata wird nach dem weltweit angewandten Grading-System nach Gleason eingeteilt (Gleason 1966). Der Gleason-Score gibt vereinfacht an, wie stark sich das Wachstumsmuster des Karzinoms von der normalen Drüsenstruktur der Prostata unterscheidet. Aus dem Gleason-Grad ergibt sich der Gleason-Score. Der Gleason-Score für Gewebeproben einer Stanzbiopsie der Prostata unterscheidet sich dabei von dem für Prostatektomiepräparate. Während man für Stanzbiopsien den am häufigsten vorkommenden Grad und den am höchsten entdifferenzierten Grad addiert, addiert man für den Gleason-Score nach Prostatektomie die beiden am häufigsten vorliegenden Grade (Moch 2022). Neben der Interpretation des Gleason Scores einigten sich die Experten im Jahre 2014 auf der Konferenz der *International Society of Urological Pathology* (ISUP) auf die Einführung von *Grade-Groups*. Die Einteilung in die Gruppen I bis V ermöglicht das Grading mit präziserer Prognose und eine einfachere Kommunikation (Epstein et al. 2016). Das Staging von Adenokarzinomen der Prostata erfolgt, wie für andere Tumorerkrankungen auch, im Rahmen der TNM-Klassifikation anhand der achten Auflage des UICC, *Union for international cancer control* (Wittekind 2016). Wie in Tabelle 1 ersichtlich, beschreibt die T-Kategorie die Ausbreitung des Primarius, beispielsweise im in dieser Arbeit untersuchten Stadium pT3a, bei welchem eine Ausbreitung ins periprostatische Gewebe vorliegt. Die N-Kategorie beschreibt den Befall regionärer Lymphknoten, lokalisiert im kleinen Becken. In der M-Kategorie wird die Abwesenheit (M0) oder das Vorhandensein (M1) von Fernmetastasen ausgedrückt (Wittekind 2016). Weiterhin erfolgt im Rahmen der histopathologischen Routinediagnostik die Untersuchung negativer prognostischer Marker, konkret lymphatischer Invasion (L-Status) (Cheng et al. 2005), Invasion von

Blutgefäßen (V-Status) (van den Ouden et al. 1998) sowie Perineuralscheideninfiltrationen (Pn-Status) (Kapoor et al. 2013). Zusätzlich zu den genannten Markern kann die Ausbreitung des Karzinoms außerhalb der Kapsel, die sogenannte extraprostatistische Extension (EPE), falls vorhanden analysiert werden. Für eine ausgedehnte EPE (non-fokal) konnte bereits gezeigt werden, dass sie als negativer prognostischer Marker mit einem positiven Resektionsstatus (R1) sowie mit erhöhter Rezidivrate einhergeht (Kapoor et al. 2013) (Ball, Partin, and Epstein 2015).

Tabelle 1: T-Klassifikation des Prostatakarzinoms (gemäß TNM-Klassifikation Maligner Tumoren, Achte Auflage) (Wittekind 2016)

T	Lokale Ausbreitung
T1	Klinisch nicht erkennbarer Tumor, der weder tastbar noch in bildgebenden Verfahren sichtbar ist
T1a	Tumor zufälliger histologischer Befund („incidental carcinoma“) in 5% oder weniger des resezierten Gewebes
T1b	Tumor zufälliger histologischer Befund („incidental carcinoma“) in mehr als 5% des resezierten Gewebes
T1c	Tumor durch Nadelbiopsie diagnostiziert
T2	Tumor begrenzt auf die Prostata
T2a	Tumor befällt die Hälfte eines Lappens oder weniger
T2b	Tumor befällt mehr als die Hälfte eines Lappens
T2c	Tumor in beiden Lappen
T3	Tumor durchbricht die Prostatakapsel
T3a	Extraprostatistische Ausbreitung (einseitig oder beidseitig) eingeschlossen mikroskopisch nachweisbare Infiltration des Blasenhalbes
T3b	Tumor infiltriert die Samenblase(n)
T4	Tumor ist fixiert oder infiltriert andere benachbarte Strukturen als Samenblasen, z.B. Sphincter externus, Rektum, und/oder Levatormuskel und/oder ist an Beckenwand fixiert

1.2.4 Therapeutische Ansätze

Um Prostatakarzinom-Patienten eine adäquate stadiengerechte Therapie zu ermöglichen, erfolgt eine Risikostratifizierung. Abhängig vom Tumorstadium, dem PSA-Wert und dem Gleason-Score werden die Patienten in solche mit einem hohen, solche mit einem intermediären und solche mit einem geringen Risiko unterteilt (D'Amico et al. 1998). Auch der klinische Status des Patienten, seine Vorerkrankungen und die Funktionalität seines Urogenitaltraktes sowie die persönlichen Präferenzen sollen dabei miteinbezogen werden (Sekhoacha et al. 2022). Demnach werden Patienten nach der Diagnosestellung eines lokal begrenzten Prostatakarzinoms eine aktive Überwachung (active surveillance) sowie kurative Behandlungsmethoden angeboten. Standardisierte Verlaufskontrollen sowie die Entnahme einer Rebiopsie ermöglichen es, unter kontrollierten Bedingungen eine Intervention und deren mögliche Nebenwirkungen aufzuschieben, sie aber trotzdem rechtzeitig im Falle einer Progression durchzuführen (Onkologie 2022). Die radikale Prostatektomie ist laut aktueller Leitlinie eine zentrale, primäre Therapieoption für Patienten mit lokal begrenzten und fortgeschrittenen Prostatakarzinomen. In Rücksprache mit den Patienten wird neben der Exstirpation der Prostata mit Kontinenserhalt, sofern möglich, ein potenzerhaltendes operatives Vorgehen angestrebt. Abhängig von der individuellen Indikation wird dabei eine zusätzliche Lymphadenektomie und/oder adjuvante Strahlentherapie durchgeführt (Onkologie 2022). Alternativ ist, je nach Risikoprofil, eine Brachytherapie als Monotherapie oder in Kombination mit externer Radiatio möglich. Sie erfolgt durch transperineale Implantation von Jod-125 oder Palladium-103-Seeds (Onkologie 2022).

Abgesehen von kurativen Behandlungsmöglichkeiten sind palliative Therapieoptionen, speziell im metastasierten Setting, notwendig und verfügbar. Während bei nicht-metastasierten Prostatakarzinomen im Rahmen des *watchful waiting* eine Therapie in Abhängigkeit der Beschwerden verzögert wird, kann nach Patientenwunsch auch eine sofortige hormonablativ Therapie begonnen werden. Durch die hormonablativ Therapie, beispielsweise mit den Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH) Blockern Abarelix und Degarelix, kann effektiv eine Verlängerung des progressionsfreien Überlebens erreicht werden (Onkologie 2022). Bei metastasierten Prostatakarzinomen kann laut aktueller Leitlinie in Abhängigkeit der Hormonsensitivität eine Kombination von Androgendeprivation und Chemotherapie durch Docetaxel angeboten werden

(Onkologie 2022). Für metastasierte, kastrationsresistente Prostatakarzinome wurden kürzlich vielversprechende, alternative Behandlungsansätze aufgezeigt. Zusätzlich zu einer vorausgegangenen Androgendeprivation wurde auf dem Boden der *PROfound*-Studie der Einsatz des PARP-Inhibitors Olaparib für Patienten mit BRCA1- oder BRCA2 Mutationen zugelassen (de Bono et al. 2020). Auch die Radioliganden-Therapie mit Lutetium-177-PSMA-617, als Zusatz zur Standardtherapie, zeigte eine verlängerte progressionsfreie Überlebensrate der Patienten sowie zusätzlich ein verbessertes Gesamtüberleben (Sartor et al. 2021). Wenn auch gegenwärtig noch nicht im klinischen Alltag angekommen, werden jedoch medikamentöse Substanzen in Forschungsansätzen erprobt, welche in den Lipidmetabolismus von Prostatakarzinomzellen eingreifen (Scheinberg et al. 2023) (Watt et al. 2019) oder auf die stromalen Komponenten, wie zum Beispiel Krebs-assoziierte Fibroblasten (*CAF*, *cancer-associated fibroblasts*), Einfluss nehmen sollen (Franco and Hayward 2012).

1.3 Stroma AReaktive Invasions Front AReale (SARIFA) als histomorphologischer Biomarker

1.3.1 SARIFA bei gastrointestinalen Tumorerkrankungen

In Augsburg konnte vor kurzem das Auftreten sogenanntes Stroma AReaktive Invasions Front Areale (SARIFAs) als neuer unabhängiger, negativ prognostischer Biomarker sowohl beim kolorektalen Karzinom als auch bei Magenkrebs etabliert werden (Martin et al. 2021) (Grosser et al. 2022) (Reitsam, Grozdanov, et al. 2023). SARIFAs sind durch die direkte Interaktion von Tumor- und Fettzellen ohne dazwischen auftretende desmoplastische oder entzündliche Reaktion gekennzeichnet. SARIFA als Biomarker besitzt den großen Vorteil, dass er einfach und schnell am H&E-Schnitt (Hämatoxylin-Eosin Färbung), rein histopathologisch und somit ohne weitere Kosten erhebbar ist. Zudem ist die Interobserver-Übereinstimmung außerordentlich hoch (Grosser et al. 2022) (Martin et al. 2021).

An solchen SARIFAs kommt es zu einer direkten Interaktion von Tumorzellen mit Adipozyten, die vermutlich auf immunologischen Veränderungen beruht (Reitsam, Markl, et al. 2023) und mit metabolischen, die Tumorprogression begünstigenden Veränderungen einhergeht (Grosser et al. 2022). Interessanterweise konnten auch

Wulczyn et al. unabhängig von uns mittels eines *weakly-supervised* Deep-Learning-Modells genau solche, von dieser Gruppe als *tumor adipose feature* (TAF) bezeichneten Areale, als besonders prädiktiv für das Überleben von Patienten mit Dickdarmkrebs herausarbeiten (Wulczyn et al. 2021) und dieses Phänomen dann auch validieren (Kroguue et al. 2023). In ersten Untersuchungen konnte in den Tumorzellen an SARIFAs anhand RNA-Expressionsprofilen bereits metabolische Veränderungen im Lipidstoffwechsel, wie z.B. die Hochregulation von FABP4 (*fatty acid binding protein 4*) und CD36 (*fatty acid translocase*) nachgewiesen werden (Grosser et al. 2022).

Da viele grundlagenwissenschaftliche Arbeiten, die sich mit Fettstoffwechsel in Tumoren beschäftigen, dies aus dem Blickwinkel der Adipositas-Forschung heraus beleuchten (Calle et al. 2003) (Lengyel et al. 2018) (Mukherjee, Bilecz, and Lengyel 2022), wurde auch der Body-Mass-Index von SARIFA-positiven mit dem von SARIFA-negativen von Grosser et al. verglichen. Hier waren die SARIFA-positiven Magenkrebspatienten sogar durch einen geringeren Body-Mass-Index (BMI) charakterisiert – auf alle Fälle waren diese Patienten aber nicht übergewichtig im Vergleich zu den SARIFA-negativen (Grosser et al. 2022). Insgesamt war SARIFA also in den ersten Arbeiten mit Bezug auf den Gastrointestinaltrakt mit einem schlechteren Überleben und Hoch-Risiko Eigenschaften wie vermehrter lymphatischer Invasion und mehr Metastasen verbunden (Grosser et al. 2022) (Martin et al. 2021). Weiterhin sind Proteine des Fettstoffwechsels an SARIFAs hochreguliert (Grosser et al. 2022) (Reitsam, Grozdanov, et al. 2023) (Grosser et al. 2023) .

1.3.2 Lipidmetabolismus in Krebserkrankungen

Die Wechselwirkung zwischen bösartigen Tumorerkrankungen und Fettgewebe bzw. Lipidmetabolismus ist seit Jahren ein zentrales Thema in der Krebsforschung. Sowohl die Menge, als auch die Lokalisation des Fettgewebes im Körper, spielen dabei eine entscheidende Rolle. Fettleibigkeit (BMI $>30 \text{ kg/m}^2$) wird in mehreren Studien als Risikofaktor für maligne Erkrankungen genannt (Calle et al. 2003) (Mukherjee, Bilecz, and Lengyel 2022) (Lengyel et al. 2018). Fettleibigkeit wird darin nicht nur in einen Zusammenhang zu einem erhöhten Krebsrisiko, sondern auch mit einem aggressiveren Verhalten vieler Krebsarten in Verbindung gebracht (Lengyel et al. 2018). Mit einem geschätzten Anteil von 40% an allen Krebstoten des Jahres 2016 in den USA wird der

Fettleibigkeit ein großer Einfluss auf die krebbsbedingte Mortalität zugeschrieben (Lengyel et al. 2018). In Zukunft ist dabei zudem eine weitere Steigerung zu erwarten; die Tendenz des Anteils übergewichtiger Menschen in der Bevölkerung steigt (Kelly et al. 2008).

Viele grundlagenwissenschaftliche Arbeiten haben bereits versucht, mechanistisch die Rolle von Fettgewebe bei malignen Tumorerkrankungen zu verstehen. Tumorzellen und angrenzende Fettzellen, die ein aktiver Bestandteil des Tumor-Mikromilieus sind, stehen in engem wechselseitigem Austausch miteinander (Mukherjee, Bilecz, and Lengyel 2022). Die Tumorzellen beeinflussen die Fettzellen in deren Nähe, diese verändern sich dadurch hin zu sogenannten *cancer-associated adipocytes* (CAA), mit anderen Funktionen und Phänotyp (Dirat et al. 2011) (Laurent et al. 2016) (Iyengar et al. 2016) (Mukherjee, Bilecz, and Lengyel 2022). Es entsteht dabei eine *metabolische Symbiose*, die einen drastischen Einfluss in Richtung eines verstärkten invasiven und proliferativen Verhaltens der Tumorzellen hat, wie in zahlreichen Studien gezeigt werden konnte (Mukherjee, Bilecz, and Lengyel 2022). Das Fettgewebe fungiert dabei nämlich nicht nur als Energiespeicher, sondern auch als dynamisches endokrines Organ, welches Hormone, Wachstumsfaktoren, Chemokine sowie entzündungsfördernde Moleküle sezerniert (Laurent et al. 2016) (Dirat et al. 2011). Hierbei kann es zu einem Missverhältnis zwischen der Blutversorgung und dem Sauerstoffverbrauch im Gewebe kommen, was zu Hypoxie in den Adipozyten bis hin zu deren Apoptose führt. Es entsteht dabei ein Zustand ähnlich dem der Wundheilung (Iyengar et al. 2016). Das mit einer chronischen Entzündung vergleichbar veränderte Fettgewebe bei adipösen Personen schafft dabei ein Milieu mit erhöhter Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS, *reactive oxygen species*), die hohe ROS-Konzentration kann im Weiteren genomische Instabilitäten verursachen (Lengyel et al. 2018). Dieser Mechanismus ist damit eine mögliche Erklärung für die mit Fettleibigkeit verbundene erhöhte DNA-Schädigung und verminderte Reparaturfähigkeit für DNA, sowohl in Tiermodellversuchen, als auch im menschlichen Körper (Lengyel et al. 2018).

Zwei Proteine, die bislang als an SARIFAs hochreguliert beschrieben werden konnten (Reitsam, Grozdanov, et al. 2023; Grosser et al. 2023), sind FABP4 und CD36; beide stehen in enger Verbindung mit dem Fettstoffwechsel und sollen im Folgenden genauer betrachtet werden.

Am Transport von Fettsäuren durch die Plasmamembran sind viele verschiedene membranassoziierte Proteine beteiligt (Vasseur and Guillaumond 2022). Das Glykoprotein CD36 (andere Bezeichnungen hierfür sind: FAT, SCARB3, SR-B2, GP4) ist ein *Scavenger*-Rezeptor in der Plasmamembran (Scaglia, Frontini-Lopez, and Zadra 2021) mit einer hohen Affinität für langkettige Fettsäuren und Cholesterol (Mukherjee, Bilecz, and Lengyel 2022). Auch wenn der genaue Mechanismus für den transmembranösen Transport durch CD36 noch teilweise unklar ist, gibt es reichlich Evidenz für dessen spezifisches Binden von Fettsäuren und deren Transport (Silverstein and Febbraio 2009). CD36 ist in der Prostata, aber auch in anderen Geweben wie Hepatozyten, Myozyten und Epithelzellen in der Mamma regelhaft, aber in unterschiedlicher Ausprägung zu finden (Silverstein and Febbraio 2009). Daneben kann man eine CD36-Expression auch in verschiedenen Karzinomen beobachten; in weiten Teilen unabhängig davon, ob die Patientinnen und Patienten adipös sind oder nicht. Eine erhöhte CD36-Expression geht hier oftmals mit einer schlechteren Prognose einher. So korreliert eine erhöhte CD36-Expression mit einer geringeren tumorfreien Überlebenszeit und kürzerem Gesamtüberleben in Plattenepithelkarzinomen der Lunge und Urothelkarzinomen der Harnblase (Pascual et al. 2017). Der (Über-)Expression von CD36 wird hier eine entscheidende Rolle bei der Metastasierung zugeschrieben, die ja letztlich zu weiten Teilen für die krebisbedingte Mortalität verantwortlich ist (Pascual et al. 2017).

Neben CD36 nehmen auch sogenannte Fettsäurebindepoteine (*fatty acid binding protein*, FABP) eine entscheidende Rolle im Fettsäuremetabolismus ein, allen voran FABP4 (Furuhashi and Hotamisligil 2008). FABP4 reguliert nicht nur die Lipolyse über eine Aktivierung hormonsensitiver Lipasen (HSL) (Smith et al. 2008), sondern ist auch in den Transport der produzierten Fettsäuren sowohl innerhalb der Zelle als auch nach extrazellulär involviert (Mita et al. 2015). FABP4 nimmt zudem eine Schlüsselrolle im engen Zusammenhang zwischen Fettzellen bzw. Lipidmetabolismus und der Progression maligner Erkrankungen ein. Im Mausmodell konnte eine signifikant höhere Tumorlast bei FABP4-Überexpression, vor allem aber das häufigere Auftreten von Metastasen bei Ovarialkarzinomen nachgewiesen werden (Gharpure et al. 2018). Analog dazu konnten Nieman et al. in Metastasen von Ovarialkarzinomen im Vergleich zum Primarius eine erhöhte FABP4-Expression nachweisen (Nieman et al. 2011). So geht eine hohe FABP4-Expression bei Patientinnen mit Ovarialkarzinom mit einer

schlechten Prognose einher; sie wurde mit einem kürzeren progressionsfreien sowie kürzerem Gesamtüberleben assoziiert (Gharpure et al. 2018). Beim Prostatakarzinom korreliert das Serum-FABP4 mit einem höheren Gleason-Score (Huang et al. 2017) (Harraz et al. 2020).

Der Fettsäuremetabolismus der Krebszellen stellt daher einen attraktiven Ansatzpunkt für das Etablieren neuer Therapiemethoden für maligne Erkrankungen dar. Am Beispiel des metastasierten Ovarialkarzinoms konnte gezeigt werden, dass die Kombination einer Inhibition von FABP4 mit der Standardtherapie Carboplatin einen größeren Therapieerfolg erzielt. Die Anzahl sowie die Größe der Metastasen wurden bei zusätzlicher Gabe des FABP4-Inhibitors reduziert (Mukherjee et al. 2020).

Auch das Glykoprotein CD36 ist ein möglicher therapeutischer Ansatzpunkt. Unter Inhibition von CD36 *in vitro* beschreiben Mukherjee et al. beim Ovarialkarzinom ein reduziertes Metastasierungsverhalten; auch bei Kopf-Hals-Tumoren reduzierten Antikörper gegen die CD36-Rezeptoren die Metastasenlast (Mukherjee, Bilecz, and Lengyel 2022). In der Therapie fortgeschrittener, Her2-Inhibitor-resistenter Mammakarzinome könnte eine CD36-Inhibition eine zumindest potentielle Alternative sein, da die Mammakarzinomzellen unter dieser zielgerichteten Therapie eine Hochregulation von CD36 und damit eine erhöhte Fettsäureaufnahme zeigen (Feng et al. 2019).

1.3.3 Die Rolle von Adipozyten und Lipidmetabolismus im Prostatakarzinom

Viele Krebsarten verändern ihren Stoffwechsel hin zu erhöhter Aufnahme von Glukose, erhöhter Glykolyserate und Laktatproduktion, obwohl eine ausreichende Sauerstoffversorgung gewährleistet wäre. Dieser Effekt wird als Warburg-Effekt beschrieben (Liu, Zuckier, and Ghesani 2010; Vander Heiden, Cantley, and Thompson 2009). Prostatakarzinome verhalten sich hier in weiten Teilen metabolisch anders: Sie sind zumeist sowohl durch eine relativ langsame Proliferationsrate, als auch durch eine langsame Glukoseaufnahme und Glykolyse gekennzeichnet (Price et al. 2002). Stattdessen stellen Prostatakarzinome oftmals auf Fettstoffwechsel um; Fettsäuren werden dabei die Hauptenergiequelle (Liu, Zuckier, and Ghesani 2010) (Mukherjee,

Bilecz, and Lengyel 2022) (Watt et al. 2019) und per Beta-Oxidation verstoffwechselt (Lengyel et al. 2018) (Pascual et al. 2017). Die Fettsäureakkumulation in den Zellen kann dabei auf mehreren Wegen erfolgen. Eine Variante ist die *De-novo-Synthese* der Fettsäuren in den Tumorzellen, beim Prostatakarzinom ist die Syntheserate von Fettsäuren erhöht (Pizer et al. 2001). Dass Prostatakarzinome sich selbst über die *De-novo-Synthese* mit Energie versorgen können, ist vor allem auch für potenzielle, neuartige Therapiemethoden interessant und relevant. *In vivo* konnte bereits nachgewiesen werden, dass Prostatakarzinomzellen, wenn sie in ihrer Aufnahme von Fettsäuren durch Inhibitoren gehemmt werden, ihre *De-novo-Syntheserate* steigern (Watt et al. 2019), was noch einmal unterstreicht, wie relevant Fettsäuren für den Tumormetabolismus in Prostatakarzinomzellen sind. Watt et al. konnten weiterhin zeigen, dass der Fettsäuretransporter CD36 bei Prostatakarzinomen für eine aggressivere Tumorbilogie verantwortlich ist und beschrieben bei CD36-Inhibition in sogenannten *patient-derived xenografts* eine potente, antitumorale Wirkung (Watt et al. 2019).

Zusätzlich konnten Laurent et al. zeigen, dass Adipozyten des periprostatischen Weichgewebes, in das Tumoren des Stadiums pT3a hineinwachsen, das Chemokin CCL7 (CC-Chemokin Ligand 7) sezernieren, das dann über eine CCR3-vermittelte Wirkung (CC-Chemokinrezeptor Typ 3) die Migration von Prostatakarzinomzellen fördert. Dieser Effekt wird durch Adipositas nochmals gesteigert. Interessanterweise konnten Laurent et al. zudem validieren, dass eine erhöhte immunhistochemische CCR3 Expression auf Prostatakarzinomzellen mit einem schlechteren Outcome verbunden ist (Laurent et al. 2016).

Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass die enge Interaktion aus Tumorzellen und angrenzenden Adipozyten auch bei Prostatakarzinomen eine entscheidende Rolle in der Tumorprogression einzunehmen scheint.

1.4 Ziele der Arbeit

Da für das Prostatakarzinom bereits, wie gerade erörtert, deutlich gezeigt werden konnte, dass die Interaktion zwischen Tumorzellen und Adipozyten die Krankheitsprogression fördert, und da die Ausdehnung des extraprostatatischen Wachstums bei pT3a Prostatakarzinomen auch ohne Fokus auf die Tumor-Adipozyten-Interaktion bereits ein etablierter Prognosemarker ist (Ball, Partin, and Epstein 2015) (Sung et al. 2007), soll in der aktuellen Arbeit nun das SARIFA-Phänomen speziell bei pT3a Prostatakarzinomen mit Wachstum ins periprostatische Weichgewebe untersucht werden.

Basierend auf den bereits gewonnenen Erkenntnissen zum SARIFA Phänomen im Gastrointestinaltrakt (Grosser et al. 2022; Grosser et al. 2023; Martin et al. 2021; Reitsam, Grozdanov, et al. 2023; Reitsam, Markl, et al. 2023) wurden die nachfolgenden Hypothesen im Rahmen dieser Studie untersucht:

1. SARIFA-Positivität tritt in einem Teil der untersuchten pT3a Prostatakarzinome auf.
2. SARIFA-positive Prostatakarzinome sind mit bereits etablierten negativ prognostischen klinisch-pathologischen Eigenschaften assoziiert.
3. SARIFA-positive Prostatakarzinome sind durch eine erhöhte immunhistochemische Expression von FABP4 und CD36 gekennzeichnet.
4. SARIFA-positive Prostatakarzinome sind durch ein anderes Metastasierungsmuster im PSMA PET/CT gekennzeichnet.

2. Material und Methoden

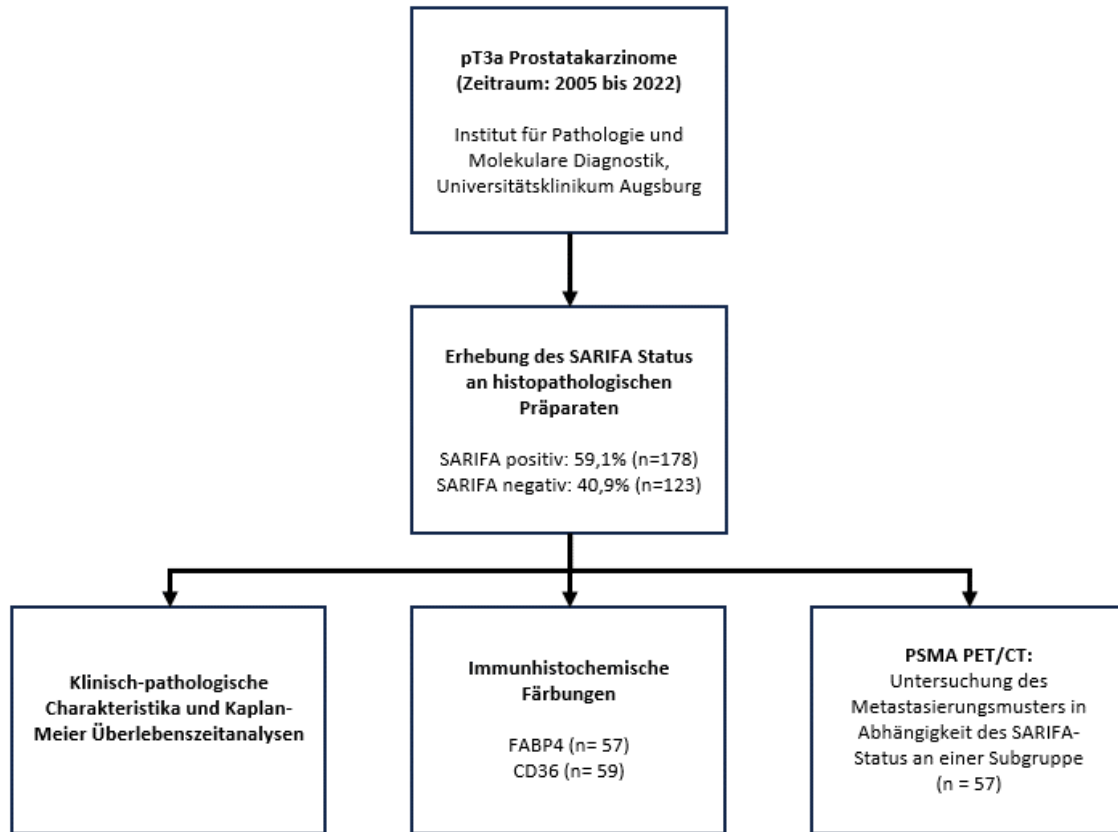


Abbildung 1: Studiendesign des Promotionsprojektes zu SARIFA beim Prostatakarzinom. Die Kohorte an Prostatakarzinomen des Stadiums pT3a wurde lichtmikroskopisch bzgl. des SARIFA-Status analysiert. Darauf folgte eine Auswertung hinsichtlich klinisch-pathologischer Charakteristika und Kaplan-Meier Überlebenszeitanalysen. Es wurden immunhistochemische Färbungen an einem Teil der Kohorte durchgeführt. Des Weiteren wurde der Zusammenhang zwischen SARIFA-Status und Metastasierungsmuster mithilfe von PSMA PET/CT Untersuchungen analysiert. CD36: Glykoprotein CD36; FABP4: Fatty acid binding protein 4; PSMA PET/CT: Prostata-spezifisches Membranantigen - gerichtete Positronen-Emissions-Tomographie/Computertomographie; pT3a: TNM-Klassifikation, Ausdehnung des Primärtumors, Stadium 3a; SARIFA: Stroma AReaktives Invasions Front Areal

2.1 Patientenkohorte, Ethik und Studiendesign

Die Kohorte wurde anhand einer retrospektiven Analyse im institutseigenen Laborinformationssystem Nexus (Nexus/Ag, Donaueschingen Germany) erstellt. Es wurden 301 Patienten in die Studie aufgenommen. Alle Präparate wurden im Rahmen einer kurativen, radikalen Prostatektomie im Zeitraum der Jahre 2005 bis 2020 im Universitätsklinikum Augsburg, Deutschland entnommen. Nur einer der eingeschlossenen Patienten hatte zum Zeitpunkt der initialen Diagnose bereits Metastasen, die aber erst kurz danach auffällig wurden, weshalb primär hier eine radikale Prostatektomie angestrebt wurde (SARIFA-positiver Patient). Die Patienten waren zum Zeitpunkt der Operation im Median 68 Jahre alt (Altersspanne: 46-87 Jahre).

Die Follow-up Daten wurden vom Tumordatenmanagement des Comprehensive Cancer Center Augsburg (CCCA) des Universitätsklinikums Augsburg bereitgestellt. Zusätzlich erfolgte eine Durchsicht der Patientendaten im Klinikinformationssystem Orbis (Dedalus HealthCare, Bonn, Germany) zur weiteren Ergänzung. Detaillierte Daten zur Therapie sowie dem weiteren Verlauf waren aufgrund der weitestgehend außerklinischen Nachsorge nicht verfügbar; auf Anfrage hin erweiterte das *Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, Bayerisches Krebsregister, Regionalzentrum Augsburg* die Datensätze mit den dortig zentral registrierten Überlebensdaten.

Die Studie wurde durch die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München genehmigt (Projekttitle: SARIFA (Stroma AReaktive Invasions Front Areale) als prognostischer Biomarker in Ösophagus- und Kopf/Hals-Karzinomen, Ovarial-, Urothel- und Prostatakarzinomen; Referenz: Projektnummer 22-0960). Die Durchführung erfolgte in Übereinstimmung mit der Deklaration von Helsinki.

2.2 Histologische Erhebung des SARIFA-Status

Im Rahmen einer radikalen Prostatektomie wurden die Prostaten im Ganzen entnommen und anschließend direkt in gepufferter Formalinlösung (4%) für mindestens 12 Stunden fixiert. Die Präparate wurden als Transversalschnitte zugeschnitten und eingebettet. Die Schnitte wurden mit der Großflächen-Technik angefertigt, jeder Objektträger zeigt dabei den kompletten Querschnitt durch das Organ. An den 3 µm

dicken Schnitten wurde anschließend eine H&E Färbung durchgeführt (Merck, Darmstadt, Deutschland). Die initiale pathologische Diagnose samt relevanter weiterer Parameter, beispielsweise die Einordnung der extraprostatatischen Ausdehnung nach Ball et al. (fokal, non-fokal) (Ball, Partin, and Epstein 2015), wurde, wenn vorhanden, aus den Befundberichten der jeweiligen Fachärztinnen und Fachärzte entnommen. Bei einem Teil der Befundberichte waren keine Informationen zur venösen (V), lymphatischen (L) oder perineuralen Invasion (Pn) dokumentiert. Die Einteilung in die (vereinfachten) Risikogruppen für die univariate Cox Regressionsanalyse erfolgte anhand der Graduierungsgruppen nach ISUP2014/WHO 2016 (Epstein et al. 2016). So steht die Risikogruppe 1 für die Grade Group 1, die Risikogruppe 2 für die Grade Groups 2 und 3 sowie Risikogruppe 3 für die Grade Groups 4 und 5.

Der SARIFA-Status wurde analog zu den im Vorfeld publizierten Studien erhoben (Grosser et al. 2022) (Martin et al. 2021) (Reitsam, Markl, et al. 2023). Es wurden dafür insgesamt 2332 Großflächen-Objektträger in H&E Färbung am Lichtmikroskop ausgewertet, die zu den oben genannten 301 Patienten gehörten (im Durchschnitt also 7,7 Großflächen pro Patient verfügbar). In Rücksprache mit dem Institutsleiter und Facharzt Prof. Dr. med. Bruno Märkl wurden schwierige, grenzwertige Fälle erneut evaluiert. Sie wurden am Diskussionsmikroskop gemeinsam begutachtet, eine Konsensus-Diagnose wurde gestellt. Der SARIFA-Status wurde als positiv klassifiziert, wenn in einem Areal des extraprostatatisch lokalisierten Karzinoms direkt an der Tumordinvasionsfront ein unmittelbarer Kontakt zwischen Tumor- und Fettzellen besteht, ohne dass hier dazwischen eine desmoplastische oder entzündliche Reaktion auftritt (Abbildung 2). SARIFA-Positivität liegt dann vor, wenn solch ein direkter Adipozyten-Kontakt zwischen mindestens einer Tumordrüse oder mindestens fünf Tumorzellen besteht. Sofern ein solches SARIFA vorhanden war, wurde der ganze Fall als SARIFA-positiv eingestuft – entsprechend des Vorgehens bei Kolon- und Magenkarzinomen (Grosser et al. 2022) (Martin et al. 2021). Dieses Vorgehen hat sich bei anderen bisher untersuchten Entitäten im Hinblick auf SARIFA bereits bewährt und überzeugt durch seine Einfachheit und Klarheit.

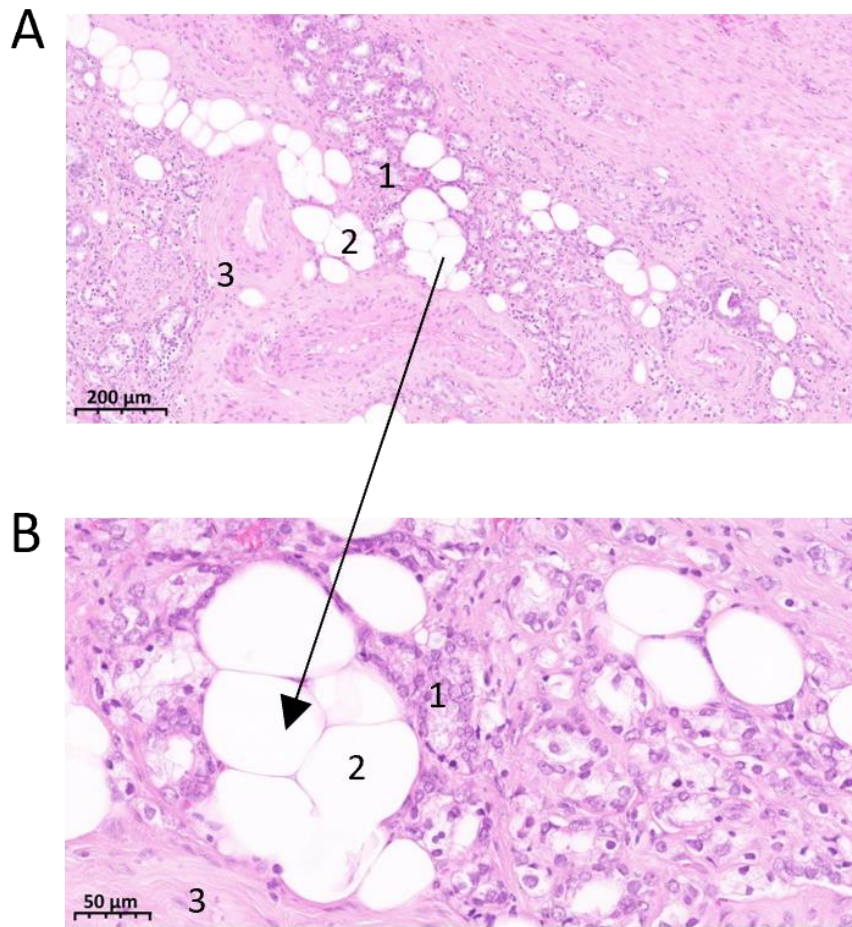


Abbildung 2: Repräsentatives Beispiel eines SARIFA-positiven pT3a Prostatakarzinoms. In diesem SARIFA-positiven Fall besteht ein direkter Kontakt der Karzinomzellen (1) mit den Adipozyten (2), diese sind nicht durch bindegewebiges Stroma (3) getrennt. A: Übersicht, Messbalken 200 µm; B: Auszug, Messbalken 50 µm. pT3a: TNM-Klassifikation, Ausdehnung des Primärtumors, Stadium 3a; SARIFA: Stroma AReaktives Invasions Front Areal

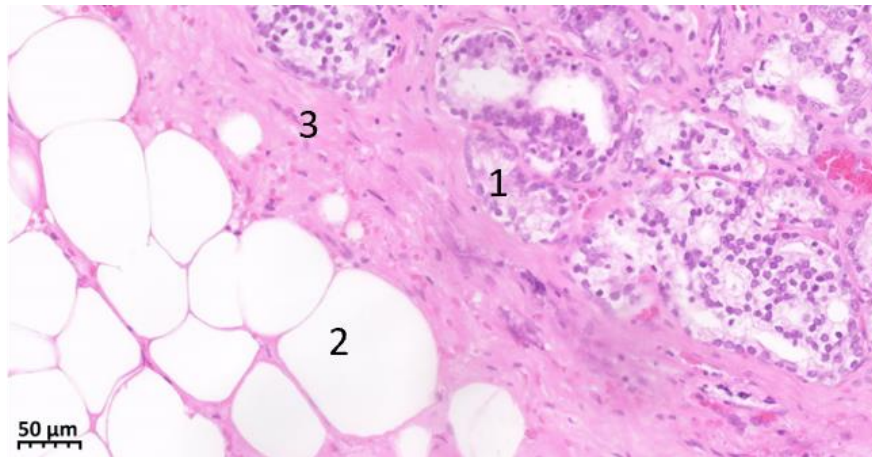


Abbildung 3: Repräsentatives Beispiel eines SARIFA-negativen pT3a Prostatakarzinoms. In diesem SARIFA-negativen Fall sind die Karzinomzellen (1) von den Adipozyten (2) durch bindegewebiges Stroma (3) getrennt. Messbalken 50 µm. pT3a: TNM-Klassifikation, Ausdehnung des Primärtumors, Stadium 3a; SARIFA: Stroma AReaktives Invasions Front Areal

Da im Laufe des Projektes alle vorhandenen Objektträger der eingeschlossenen Präparate auf den SARIFA-Status (positiv vs. negativ) untersucht wurden, war es auch möglich, zu untersuchen, ob ein größerer SARIFA-positiver Anteil innerhalb eines Karzinoms mit einer schlechteren Prognose oder anderen risikobehafteten Charakteristika assoziiert ist. Um zusätzlich zur bewährten Methode den SARIFA-Status der Prostatakarzinome in einer quantitativen Betrachtungsweise zu untersuchen, wurden probeweise verschiedene andere Cut-offs für die positive Einordnung ausgetestet. Hier zeigte ein Anteil an mehr als 1/3 aller Objektträger pro Fall mit SARIFA-Positivität vielversprechende Ergebnisse als möglicher Biomarker: einerseits ergaben sich hier ausreichend große Subgruppen (positiv vs. negativ), andererseits zeigten die Überlebenskurven hier eine distinkte, wenn auch nicht statistisch signifikante Trennung. Mithilfe eines Threshold-Regressionsmodells zur richtigen Cut-off-Findung bei Biomarkern konnte 1/3 dann auch als sinnvoller Cut-off validiert werden. Hier wurde das *R-package* ‚bhm‘ verwendet (Chen, Jiang, and Tu 2014). Der optimale Cut-off lag hier bei 0,318 (95% Konfidenzintervall: 0,271 und 0,404) und somit relativ nah bei 33%, weshalb dann aufgrund der einfacheren Handhabung ein Cut-off von mehr als 1/3 aller Slides mit SARIFA-Positivität für den quantitativen Ansatz festgehalten wurde. Der quantitative Ansatz des SARIFA-Status fand seine Anwendung im Rahmen dieser Arbeit aber lediglich in Bezug auf das Gesamtüberleben und die klinisch-pathologischen

Charakteristika. Bezüglich des Auftretens biochemischer Rezidive und PSMA-positiver Rezidive konnten mit diesem Cut-off keine ausreichend großen Subgruppen gebildet werden.

2.3 Immunhistochemische Untersuchungen

An einer Subgruppe SARIFA-positiver und SARIFA-negativer Präparate wurden zudem immunhistochemische Färbungen zur Evaluation der Proteinexpression durchgeführt. Dazu wurden vorher entsprechende Leerschnitte angefertigt (Dicke: 3 µm).

Während die Färbungen mit den polyklonalen Antikörpern gegen CD36 nach einem in der Arbeitsgruppe bereits bekanntem, im Folgenden dargestellten Protokoll suffiziente Qualität in der Auswertung zeigte, wurden für die Färbung zum Nachweis von FABP4 verschiedene Parameter im Protokoll ausgetestet.

Die immunhistochemischen Färbungen erfolgten im Hinblick auf ein möglichst standardisiertes Vorgehen mit dem Färbeautomaten Leica Bond RX (Leica, Wetzlar, Germany) unter Anwendung eines automatisierten Standardprotokolls auf dieser Plattform. Demnach wurden die Schnitte im Leica Bond RX zunächst entparaffiniert, darauf folgte die Antigen-Demaskierung. Die Schnitte zur CD36 immunhistochemischen Färbung wurden dabei bei 95°C in EDTA-Lösung für 20 Minuten erhitzt, die Schnitte für FABP4 für 25 Minuten bei 100°C, in Citratlösung. Daraufhin folgte ein Peroxidase-Block für 5 Minuten bei 25°C; dieser wird gegen unspezifisches Binden der Chromogene durchgeführt.

Die Inkubation mit den Antikörpern gegen FABP4 (ab13979, *fatty acid binding protein 4, rabbit polyclonal antibody*, 1:200, Abcam, Cambridge, UK) und gegen CD36 (*fatty acid translocase*, Sigma HPA002018, *rabbit polyclonal antibody*, 1:50, Sigma, St. Louis, Missouri, USA), erfolgte für 32 Minuten bei einer Temperatur von 42 °C, nach Zugabe des Antikörperverdünnungsmittels Dako (Dako, DM830). Der letzte Arbeitsschritt des Protokolls sah die Anwendung des Bond Polymer Refine Detection Kits (Leica, Cat. No.: DS9800) vor. Es enthält einen Peroxidaseblock, DAB-Chromogen und Hämatoxylin. Die Applikation des 3,3'-Diaminobenzidins (DAB-Chromogen) ermöglicht die Visualisierung der gebundenen Antikörper, Hämatoxylin dient zur Gegenfärbung der Kerne.

Die Auswertung der Immunhistochemien gegen CD36 (n=59 Präparate) und FABP4 (n=57 Präparate) wurde auf unterschiedliche Weise durchgeführt, wie auch schon in einer vorausgegangenen Arbeit publiziert (Grosser et al. 2022). Am Lichtmikroskop wurden jeweils das Tumorzentrum und die Invasionsfront des Tumors (im periprostatichen Fettbindegewebe) ausgewertet, die Einordnung des Anteils FABP4-positiver Tumorzellen wurde dabei prozentuell quantifiziert. Die CD36-Immunhistochemie wurde anhand des IRS-Scores (Immunreaktiver Score), eines semi-quantitativen Systems zur Einordnung der Immunreaktion nach Remmele und Stegner, ausgewertet (Remmele and Stegner 1987). Die Einordnungen der Färbungen wurde jeweils von zwei Gutachtern durchgeführt (Doktorand: Matthias Groß, promovierter Mitbetreuer: Dr. med Nic Reitsam), es wurde dann jeweils der Mittelwert gebildet.

2.4 PSMA-PET/CT

Bei einer Subgruppe der Kohorte (n= 57) wurden bereits im Rahmen der klinischen Routine der Klinik für Nuklearmedizin [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-PET/CT Scans durchgeführt. Die Ausbreitung des Prostatakarzinoms wird hiermit bildgebend evaluiert – entweder initial bei der Diagnose oder indiziert durch das Auftreten eines biochemischen Rezidivs. Definiert wurde das biochemische Rezidiv nach der American Urological Association (AUA), durch Vorliegen eines Serum-PSA Wertes $\geq 0.2\text{ng/ml}$ und einer darauffolgenden, ebenfalls positiven Kontrolle (Eastham et al. 2022). Die Durchführung der [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-PET/CT erfolgte an zwei verschiedenen Hybrid PET/CT Scannern, dem Siemens Biograph mCT-S40 (Siemens Medical Solutions, Erlangen, Germany) oder dem Discovery MI (GE Medical Systems, Chicago, USA). Sowohl die Bilderfassung, als auch die Interpretation der PSMA-PET/CT Untersuchungen, erfolgte durch die Fachärzte der Nuklearmedizin des Uniklinikums Augsburg, entlang aktueller Leitlinienvorgabe (Fendler et al. 2023). Die PSMA-PET-Untersuchungen wurden im Laufe der klinischen Auswertung nach PSMA-positiven Läsionen untersucht. Zudem wurden, soweit möglich, Falldaten zum Auftreten lokaler Rezidive, dem Befall regionärer oder nicht-regionärer Lymphknoten sowie einer Präsenz hämatogener Metastasen in beispielsweise Knochen oder Lunge entnommen. Als „Nicht-Regionär“ wurde der Befall aller Lymphknoten außerhalb des kleinen Beckens definiert. In sieben Fällen wurde das PSMA-PET/CT initial bei der Diagnose durchgeführt, noch vor der kurativen Entnahme des Karzinoms durch die radikale Prostatektomie. Im Rahmen dieses Projektes wurde nun verglichen,

inwieweit sich SARIFA-positive und SARIFA-negative Prostatakarzinome in ihrem Metastasierungsmuster unterscheiden.

2.5 Statistische Auswertung

Die statistische Analyse der Daten erfolgte mithilfe der Statistiksoftwares IBM SPSS Statistics (Version 29.0.0.0, IBM, Armonk, NY, USA) und R, Version 4.2.1 (R Foundation for Statistical Computing, Vienne, Austria). Die Hypothesentestung auf Unterschiede in den relativen Häufigkeiten der kategorischen Variablen erfolgte unter Durchführung von Chi-Quadrat Tests und Fisher Exact Tests. In Mann-Whitney U Tests wurden kontinuierliche Variablen, in Log-Rank Tests die Kaplan-Meier Überlebenswahrscheinlichkeiten verglichen. Der Zeitraum des medianen Follow-up wurde durch die reverse Kaplan-Meier Methode berechnet (Schemper and Smith 1996). Die Hazard Ratios (HR) wurden als relative Risiken durch Cox Proportional Hazard Modelle erhoben. Keiner der analysierten Risikofaktoren erreichte statistische Signifikanz in der univariaten Cox Regression, deshalb wurde auf eine weitere Analyse im Rahmen einer multivariaten Cox Regression verzichtet, insbesondere um hier ein *Overfitting* des multivariaten Modells zu vermeiden. Berichtet wurden jeweils die Hazard Ratios und die 95% Konfidenzintervalle (KI). p-Werte <0.05 wurden als statistisch signifikant erachtet.

3. Ergebnisse

3.1 Klinisch-pathologische Charakteristika mit Hinsicht auf den SARIFA-Status

Im Rahmen des Projektes konnten nach entsprechender Datenbankrecherche im institutseigenen Laborinformationssystem insgesamt 301 Präparate einer radikalen Prostatektomie in die Kohorte von pT3a Tumoren, also Prostatakarzinome mit Infiltration des periprostatatischen Weichgewebes, eingeschlossen werden. Die histopathologische Bestimmung des SARIFA-Status am H&E-Schnitt, gemäß der initialen, in 2.2 bereits erwähnten Definition, ergab einen Anteil an SARIFA-positiven pT3a Prostatakarzinomen von 59,1% (n=178), 40,9% (n=123) wurden als SARIFA-negativ eingestuft. Repräsentative Beispiele für SARIFA-positive Fälle mit direktem Kontakt der Tumorzellen mit Adipozyten sind in Abbildung 4A und 4B dargestellt; SARIFA-negative Fälle mit trennendem Stroma zwischen Tumorzellen und Adipozyten finden sich in Abbildung 4C und 4D. Das mediane Follow-up lag bei 69 Monaten (95% KI: 55-83 Monate), bestimmt durch die reverse Kaplan-Meier Methode (Schemper and Smith 1996).

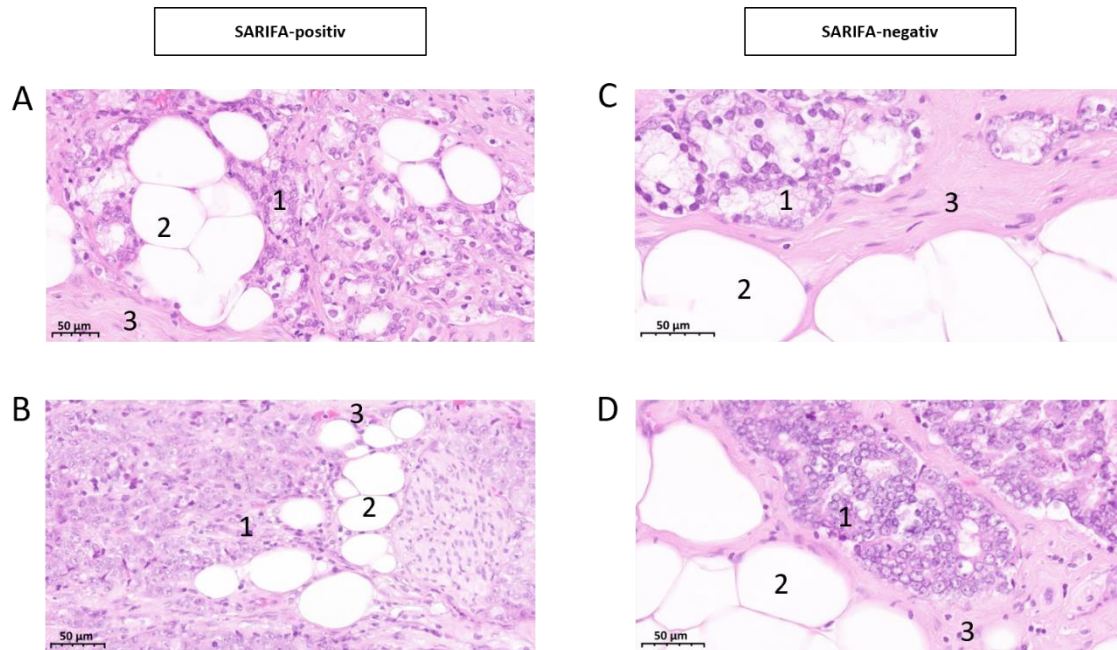


Abbildung 4: Repräsentative Beispiele SARIFA-positiver und SARIFA-negativer pT3a Prostatakarzinome. A, B: In SARIFA-positiven Fällen besteht ein direkter Kontakt der Karzinomzellen (1) mit den Adipozyten (2). C, D: SARIFA-negative Fälle unterscheiden sich hiervon, da hier kein direkter Kontakt zwischen den Adipozyten (2) und den Karzinomzellen (1) besteht; diese sind hier durch beispielsweise bindegewebiges Stroma (3) getrennt. Messbalken 50µm. pT3a: TNM-Klassifikation, Ausdehnung des Primärtumors, Stadium 3a; SARIFA: Stroma AReaktives Invasions Front Areal

SARIFA-Positivität war signifikant mit mehreren relevanten klinisch-pathologischen Charakteristika assoziiert (siehe Tabelle 2). So war SARIFA-Positivität signifikant mit einem mikroskopischen Residualtumor am Resektionsrand (R1-Status, SARIFA-positiv 48% vs. 36% SARIFA-negativ, $p=0,039$) assoziiert. Weiterhin zeigten SARIFA-positive Prostatakarzinome einen höheren Gleason-Score und somit eine schlechtere Differenzierung ($p=0,015$). Den von der WHO im Jahr 2016 neu eingeführten Graduierungsgruppen entsprechend [Grade Groups, siehe (Epstein et al. 2016)], waren die SARIFA-positiven Präparate in 24% der Fälle, also deutlich häufiger als die SARIFA-negativen Präparate mit 11%, in der WHO-Gruppe 5 zu finden ($p=0,029$). Die extraprostatistische Ausbreitung des Tumors, ein negativer prognostischer Marker für pT3a Prostatakarzinome, wird nach Ball et al. in *fokal* und *non-fokal* eingeteilt (Ball, Partin, and Epstein 2015). Ein positiver SARIFA-Status war in 22% der Fälle mit non-fokaler, also ausgedehnterer Ausbreitung assoziiert. Entgegengesetzt dazu wurde eine non-fokale extraprostatistische Ausdehnung in lediglich 6% der SARIFA-negativen Fälle beschrieben

($p < 0,001$). Patienten mit SARIFA-positiven Prostatakarzinomen zeigten höhere initiale, präoperative Serum PSA-Werte als SARIFA-negative. Der initiale Serum-PSA Wert lag nur für eine Subgruppe vor: Innerhalb dieser Subgruppe von 211 Patienten mit einem dokumentierten PSA-Laborwert (SARIFA-positiv $n=123$; SARIFA-negativ $n=88$) wurden bei SARIFA-positiven Patienten signifikant höhere Werte gemessen (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung, SARIFA-positiv: $17,41 \pm 18,39$ ng/ml; SARIFA-negativ $11,28 \pm 7,8$ ng/ml, $p=0,004$). Auch innerhalb der Patienten mit Nodalbefall (pN1-Status) zeigte sich ein relevanter Unterschied in Abhängigkeit vom SARIFA-Status. Während bei den SARIFA-positiven und SARIFA-negativen Patienten mit pN1-Status jeweils eine vergleichbar große Anzahl an Lymphknoten reseziert wurden (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung, SARIFA-positiv: $16,81 \pm 9,03$; SARIFA-negativ: $15,96 \pm 9,50$, $p=0,439$), wurde bei gleichzeitiger SARIFA-Positivität eine signifikant höhere, absolute Zahl an vorliegenden, regionären Lymphknotenmetastasen nachgewiesen (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung, SARIFA-positiv: $2,12 \pm 1,671$; SARIFA-negativ: $29 \pm 0,66$, $p=0,008$). SARIFA-positive Patienten zeigten außerdem einen Trend für eine häufigere lymphatische Invasion (L1-Status), jedoch wurde dafür keine Signifikanz erreicht ($p=0,079$).

Tabelle 2: Klinisch-pathologische Charakteristika von Prostatakarzinomen (pT3a) im Hinblick auf den SARIFA-Status. Statistisch signifikante p-Werte wurden markiert. pN: Status des Lymphknotenbefalls; pT: Infiltrationstiefe; R-Klassifikation: Resektionsstatus; SARIFA: Stroma AReaktives Invasions Front Areal; Extraprostatische Extension nach Ball et al.; *Alter: Alter in Jahren, zum Zeitpunkt der Operation, im Median (Zeitspanne); **iPSA: Mittelwert $\pm$ Standardabweichung, in ng/ml, Initiale Werte des Prostata-spezifischen Antigens waren nur bei 211 Patienten vorhanden (34 SARIFA-positiv, 177 SARIFA-negativ)

Variable		Gesamt		SARIFA-positiv		SARIFA-negativ		p-Wert
		n=301	100%	n=178	59%	n=123	41%	
Alter*		68 (46-87)		68 (52-87)		68 (46-83)		0,336
iPSA**		14,85 $\pm$ 15,19		17,41 $\pm$ 18,39		11,28 $\pm$ 7,80		0,004
pN Kategorie	pN0	212	70,43%	119	66,85%	93	75,61%	0,162
	pN1	87	28,90%	57	32,02%	30	24,39%	
	NA	2	0,66%	2	1,12%	0	0,00%	
Gleason Score	6	11	3,65%	3	1,69%	8	6,50%	0,015
	7	183	60,80%	107	60,11%	76	61,79%	
	8	48	15,95%	24	13,48%	24	19,51%	
	9	53	17,61%	39	21,91%	14	11,38%	
	10	6	1,99%	5	2,81%	1	0,81%	
Lymphatische Invasion	L0	216	71,76%	128	71,91%	88	71,54%	0,079
	L1	26	8,64%	20	11,24%	6	4,88%	
	NA	59	19,60%	30	16,85%	29	23,58%	
Venen Invasion	V0	230	76,41%	140	78,65%	90	73,17%	0,137
	V1	12	3,99%	9	5,06%	3	2,44%	
	NA	59	19,60%	29	16,29%	30	24,39%	
Perineuralscheideninfiltration	Pn0	8	2,66%	4	2,25%	4	3,25%	0,449
	Pn1	252	83,72%	153	85,96%	99	80,49%	
	NA	41	13,62%	21	11,80%	20	16,26%	
R-Klassifikation	R0	172	57,14%	93	52,25%	79	64,23%	0,039
	R1	129	42,86%	85	47,75%	44	35,77%	
Extraprostatische Extension	fokal	158	52,49%	82	46,07%	76	61,79%	<0,001
	non-fokal	97	32,23%	39	21,91%	7	5,69%	
	NA	46	15,28%	57	32,02%	40	32,52%	

Zur Quantifizierung und damit einer möglicherweise verbundenen präzisieren prognostischen Aussagekraft des SARIFA-Status wurde ein alternativer Cut-off von einem Drittel definiert (siehe Details hierzu auch im Methodenteil unter 2.2). Mit diesem alternativen Cut-off wurden nur Fälle als positiv gewertet, in denen pro Fall mindestens ein Drittel aller Objektträger SARIFAs aufwiesen. Der durchschnittliche Anteil an SARIFA-positiven Objektträgern unter den SARIFA-positiven Fällen lag jeweils bei 25,4% ($\pm$ Standardabweichung, $\pm$ 16,9%, Minimum: 4,6%; Maximum: 100%). Die Anzahl SARIFA-positiver Patienten sank in Anwendung dieses Cut-offs von 178 auf 47, anteilig also nur noch 15,6% (n=47).

SARIFA-Positivität entsprechend der alternativen, quantitativen Kriterien korrelierte signifikant mit häufigerem regionären Lymphknotenbefall (pN1-Status). Unter den SARIFA-positiven Patienten wurde ein Anteil von 49% mit einem initialen, regionären Lymphknotenbefall diagnostiziert. In der Vergleichsgruppe der SARIFA-negativen Patienten lag dieser nur in 25% der Fälle vor ($p=0,004$). Ebenfalls lagen in der Gruppe SARIFA-positiver Patienten hier auch häufiger mikroskopische Residualtumore vor. Sie traten dort in 60% der Fälle auf, bei den SARIFA-negativen Patienten wurde eine R1-Situation dagegen nur in 40% der Fälle festgestellt (R1-Status, $p=0,012$). Nach Einführung des quantitativen Cut-offs korrelierte der SARIFA-Status weiterhin mit einer signifikant häufigeren, ausgedehnten extraprostatatischen Extension (non-fokale EPE). Die SARIFA-negativen Patienten wurden in nur 13% der Fälle als non-fokal eingestuft, dem entgegen stehen 30% der SARIFA-positiven Patienten mit non-fokaler extraprostatatischer Extension ($p=0,005$).

SARIFA-Positivität in Anwendung des alternativen Cut-offs zeigte zudem einen Trend hin zu erhöhten, initialen Serum-PSA Werten – jedoch nicht statistisch signifikant ($p=0,091$). Innerhalb der bereits angesprochenen Subgruppe von 211 Patienten ($n=211$) mit vorhandenen initialen Laborwerten, wurden 34 Patienten als SARIFA-positiv ($n=34$) und 177 Patienten als SARIFA-negativ eingeordnet. Die SARIFA-positiven Patienten zeigten im Mittel einen initialen PSA-Wert von 22,42 ng/ml (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung, 22,42 $\pm$ 26,28 ng/ml), die SARIFA-negativen Patienten lediglich von 13,4 ng/ml (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung, 13,4 $\pm$ 11,52 ng/ml).

Der quantitative SARIFA-Status in Anwendung des Cut-offs war nicht statistisch mit höherem Gleason-Grading assoziiert ($p>0,05$). Eine vollständige Übersicht zum Verhältnis des SARIFA-Status und den klinisch-pathologischen Charakteristika unter Anwendung des Cut-offs ist Tabelle 3 zu entnehmen.

Tabelle 3: Klinisch-pathologische Charakteristika von Prostatakarzinomen (pT3a) im Hinblick auf quantitative Einordnung des SARIFA-Status (> 1/3 der Objektträger). Statistisch signifikante p-Werte wurden markiert. pN: Status des Lymphknotenbefalls; pT: Infiltrationstiefe; R-Klassifikation: Resektionsstatus; SARIFA: Stroma AReaktives Invasions Front Areal; Extraprostatische Extension nach Ball et al.; *Alter: Alter in Jahren, zum Zeitpunkt der Operation, im Median (Zeitspanne); **iPSA: Mittelwert $\pm$ Standardabweichung, in ng/ml, Initiale Werte des Prostata-spezifischen Antigens waren nur bei 211 Patienten vorhanden (34 SARIFA-positiv, 177 SARIFA-negativ)

Variable		Gesamt		SARIFA-positiv		SARIFA-negativ		p-Wert
		n=301	100%	n=47	16%	n=254	84%	
Alter*		68 (46-87)		68 (52-79)		68 (46-87)		0,336
iPSA**		14,85 $\pm$ 15,19		22,42 $\pm$ 26,28		13,4 $\pm$ 11,52		0,091
pN Kategorie	pN0	212	70,43%	24	51,06%	188	74,02%	0,004
	pN1	87	28,90%	23	48,94%	64	25,20%	
	NA	2	0,66%	0	0,00%	2	0,79%	
Gleason Score	6	11	3,65%	2	4,26%	9	3,54%	0,101
	7	183	60,80%	26	55,32%	157	61,81%	
	8	48	15,95%	5	10,64%	43	16,93%	
	9	53	17,61%	11	23,40%	42	16,54%	
	10	6	1,99%	3	6,38%	3	1,18%	
Lymphatische Invasion	L0	216	71,76%	29	61,70%	187	73,62%	0,237
	L1	26	8,64%	6	12,77%	20	7,87%	
	NA	59	19,60%	12	25,53%	47	18,50%	
Venen Invasion	V0	230	76,41%	32	68,09%	198	77,95%	0,151
	V1	12	3,99%	4	8,51%	8	3,15%	
	NA	59	19,60%	11	23,40%	48	18,90%	
Perineuralscheideninfiltration	Pn0	8	2,66%	1	2,13%	7	2,76%	0,777
	Pn1	252	83,72%	41	87,23%	211	83,07%	
	NA	41	13,62%	5	10,64%	36	14,17%	
R-Klassifikation	R0	172	57,14%	19	40,43%	153	60,24%	0,012
	R1	129	42,86%	28	59,57%	101	39,76%	
Extraprostatische Extension	fokal	158	52,49%	17	36,17%	141	55,51%	0,005
	non-fokal	97	32,23%	14	29,79%	32	12,60%	
	NA	46	15,28%	16	34,04%	81	31,89%	

3.2 Prognostischer Effekt des SARIFA-Status

Analog zu vorausgegangenen Projekten, in denen SARIFA-Positivität mit einem schlechteren Überleben assoziiert war (Martin et al. 2021) (Grosser et al. 2022), wurden Kaplan-Meier Überlebenszeitanalysen durchgeführt.

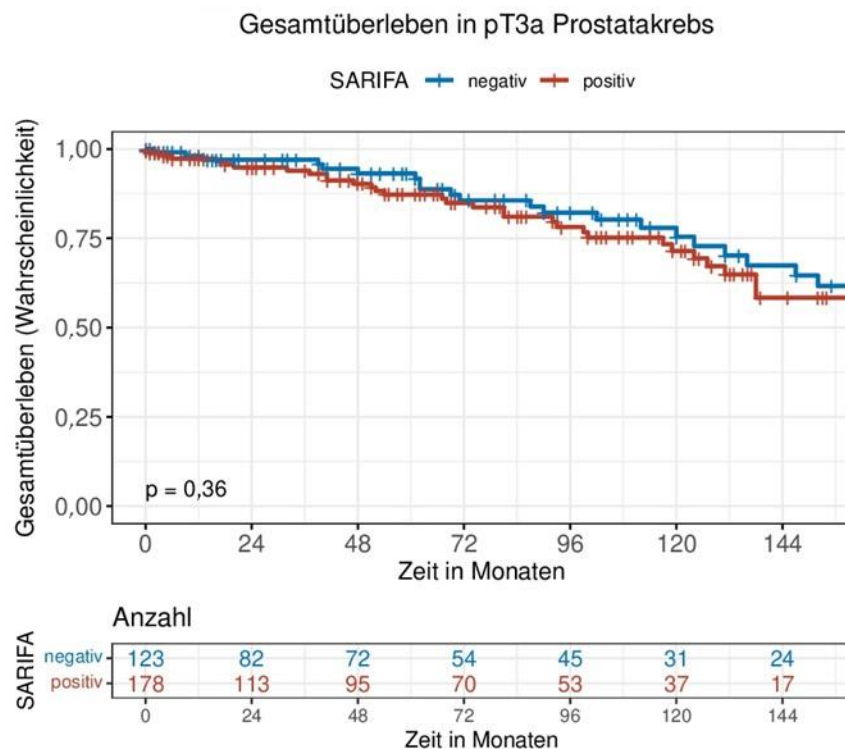


Abbildung 5: Kaplan-Meier Kurven zur Darstellung des Gesamtüberlebens der Patienten mit pT3a Prostatakarzinom, stratifiziert durch den SARIFA-Status. pT3a: TNM-Klassifikation, Ausdehnung des Primärtumors, Stadium 3a; SARIFA: Stroma AReaktives Invasions Front Areal

Dabei wurde der prognostische Effekt des SARIFA-Status für die präsentierte Kohorte an Prostatakarzinomen des Stadiums pT3a im Hinblick auf das Gesamtüberleben untersucht (siehe Abbildung 5). Wenngleich keine statistische Signifikanz erreicht wurde ($p=0,36$), ist zwischen den beiden Überlebenskurven eine visuelle Trennung erkennbar. Die SARIFA-positiven Patienten zeigen somit zumindest tendenziell ein schlechteres Gesamtüberleben ($p=0,36$; HR 1,290; 95% KI: 0,758-2,196).

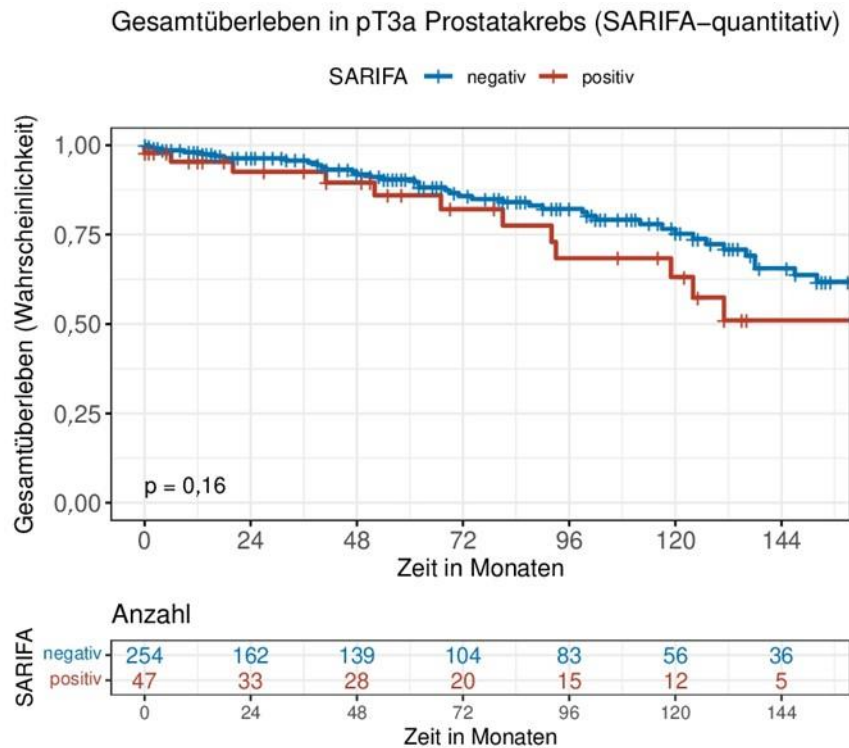


Abbildung 6: Kaplan-Meier Kurven zur Darstellung des Gesamtüberlebens der Patienten mit pT3a Prostatakarzinom, stratifiziert durch den quantitativen Ansatz des SARIFA-Status. Gegenüberstellung SARIFA-positiver und SARIFA-negativer Patienten unter Anwendung des quantitativen Cut-offs von einem Drittel der Objektträger. pT3a: TNM-Klassifikation, Ausdehnung des Primärtumors, Stadium 3a; SARIFA: Stroma AReaktives Invasions Front Areal

Unter Anwendung des bereits beschriebenen, alternativ eingeführten Cut-offs zeigt sich wiederum eine Trennung der Überlebenskurven (siehe Abbildung 6). Auch hier liegt der p-Wert mit $p=0,16$ über dem Signifikanzniveau von $p<0,05$ - suggeriert jedoch einen Trend zu einem schlechteren Überleben der Patienten mit SARIFA-positiven pT3a Prostatakarzinomen (HR 1,547; 95% KI: 0,832-2,876).

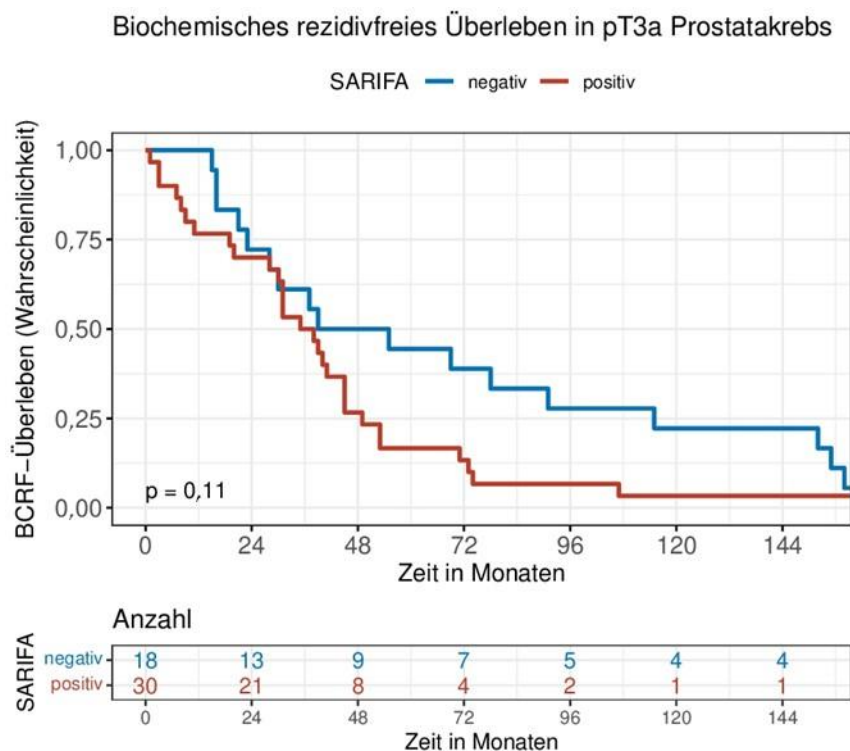


Abbildung 7: Kaplan-Meier Kurven zur Darstellung der Überlebenszeit der Patienten mit pT3a Prostatakarzinom mit Hinblick auf ein biochemisches Rezidiv, stratifiziert nach SARIFA-Status. BCRF: Biochemisch-rezidivfrei; pT3a: TNM-Klassifikation, Ausdehnung des Primärtumors, Stadium 3a; SARIFA: Stroma AReaktives Invasions Front Areal

Weiterhin wurde eine Subgruppe von 48 SARIFA-positiven und SARIFA-negativen Patienten auf einen möglichen Zusammenhang zwischen deren SARIFA-Status und biochemisch-rezidivfreiem Überleben (BCRF-Überleben) untersucht. In der untersuchten Subgruppe sind lediglich Patienten eingeschlossen, die sich aufgrund eines biochemischen Rezidivs in der Klinik für Nuklearmedizin am Universitätsklinikum Augsburg für eine weiterführende Diagnostik vorstellten. Der Begriff des biochemisch-rezidivfreien Überlebens steht dabei für den Zeitraum zwischen der kurativen radikalen Prostatektomie und dem Zeitpunkt eines neu vorliegenden biochemischen Rezidivs. Ein biochemisches Rezidiv nach radikaler Prostatektomie ist definiert durch einen PSA-Wert von $>0,2$ ng/ml, gemessen in mindestens zwei separaten Messungen, im Abstand von mindestens zwei Wochen. Dieser PSA-Anstieg kann entweder durch ein Lokalrezidiv oder Metastasen bedingt sein (Onkologie 2022). Hier zeigte sich wiederum eine

Trennung der Überlebenskurven, mit einem Trend zu einem kürzeren BCRF-Überleben der SARIFA-positiven Patienten ($p=0,11$; siehe Abbildung 7).

Tabelle 4: Überlebenszeit-Analyse bei pT3a Prostatakarzinomen durch Univariate Cox Regressionsanalyse. Statistisch signifikante p-Werte wurden markiert. iPSA: Initiale Werte des Prostata-spezifischen Antigens. Diese waren nur bei 211 Patienten vorhanden (34 SARIFA-positiv, 177 SARIFA-negativ); pN: Status des regionären Lymphknotenbefalls; R-Klassifikation: Resektionsstatus; SARIFA: Stroma Areaktives Invasions Front Areal; Extraprostatische Extension nach Ball et al.; *Einteilung der Risikogruppen: Grade Group 1 = 1; Grade Group 2 und 3 = 2; Grade Group 4 und 5 = 3

Gesamtüberleben	Univariate Cox Regressionsanalyse	
	Hazard Ratio (95%KI)	p-Wert
SARIFA (negativ vs positiv)	1,290 (0,758-2,196)	0,358
Alter > 65	1,743 (0,879-3,454)	0,112
iPSA	1,031 (1,014-1,048)	<0,001
pN (nein vs ja)	0,768 (0,413-1,430)	0,405
Risikogruppe*	1,227 (0,765-1,969)	0,395
Lymphatische Invasion (nein vs ja)	1,097 (0,459-2,621)	0,835
Venen Invasion (nein vs ja)	1,631 (0,386-6,883)	0,506
Perineuralscheideninfiltration (nein vs ja)	2,772 (0,380-20,245)	0,315
R-Klassifikation (R0 vs R1)	1,003 (0,591-1,704)	0,99
Extraprostatische Extension (fokal vs non-fokal)	0,718 (0,293-1,758)	0,469

Zur weiteren Beurteilung der prognostischen Wertigkeit von SARIFA wurde eine univariate Cox Regressionsanalyse durchgeführt (Tabelle 4). Hier wurde nur das initiale Serum-PSA statistisch signifikant, dementsprechend war also ein höherer initialer PSA-Wert mit einem geringfügig kürzeren Gesamtüberleben der Patienten assoziiert ($p<0.001$; HR: 1.031; 95% KI: 1.014–1.048). Alle anderen bekannten Risikofaktoren zeigten, wie auch das Auftreten von SARIFA, keinen relevanten Einfluss auf das Gesamtüberleben (p-Werte jeweils größer 0,05).

3.3 Immunhistochemische FABP4- und CD36-Expression an SARIFAs

In der vorausgegangenen Arbeit zu SARIFA beim Magenkarzinom konnte gezeigt werden, dass die Expression der Fettstoffwechsel-assoziierten Proteine FABP4 und CD36 an SARIFAs erhöht ist (Grosser et al. 2022). Sowohl die Invasionsfront des Tumors (IF), als auch das Tumorzentrum (TZ), wurden daher bei den pT3a Prostatakarzinomen auf eine Expression von FABP4 und CD36 immunhistochemisch

untersucht. Die immunhistochemischen Färbungen sowie die Ergebnisse sind in den Abbildungen 8 und 9 dargestellt.

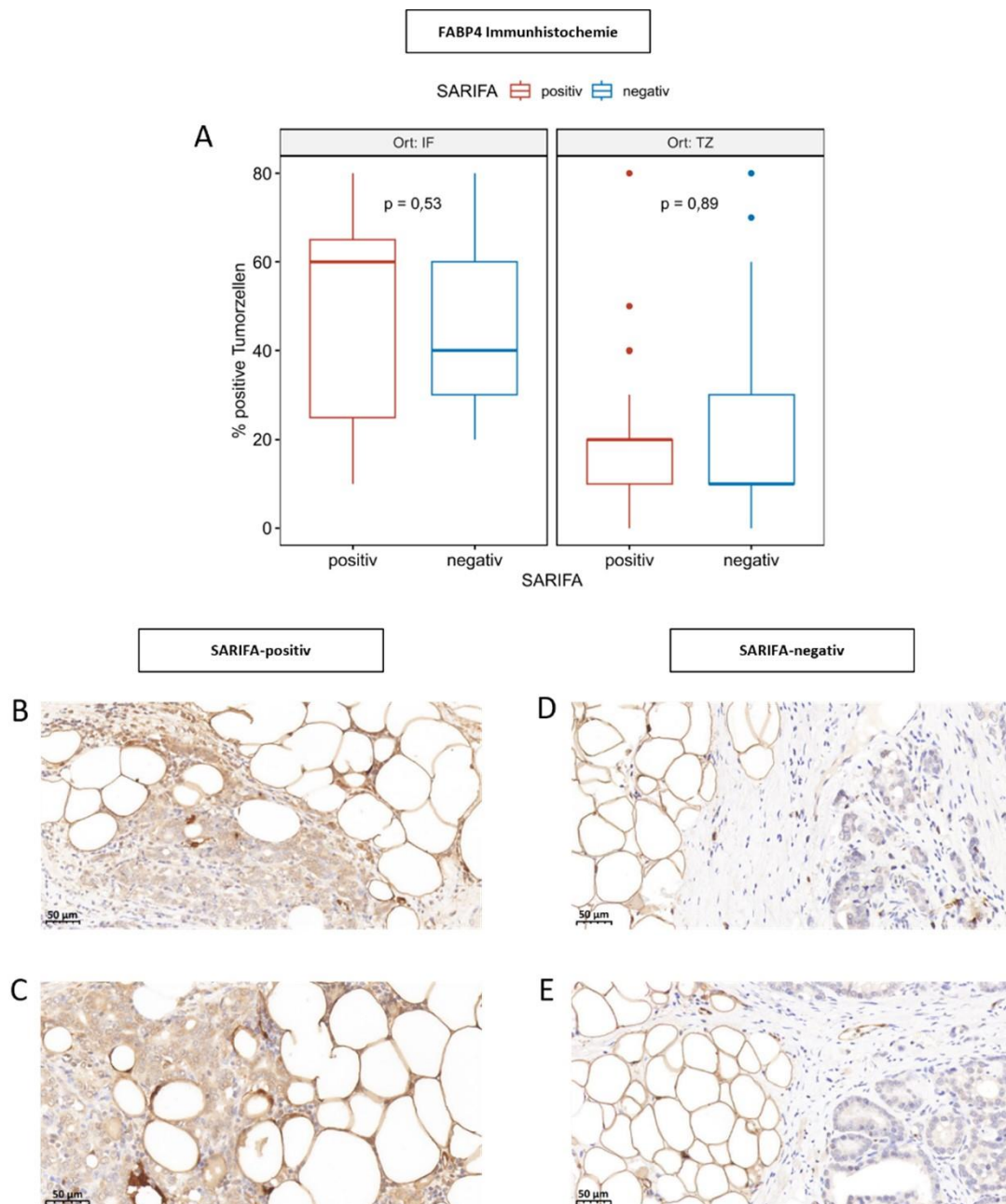


Abbildung 8: Immunhistochemische Färbungen für FABP4. A: Es besteht kein statistisch signifikanter Unterschied in der FABP4-Expression zwischen SARIFA-positiven und SARIFA-negativen Fällen, weder an der Invasionsfront noch im Tumorzentrum (p jeweils $>0,05$). B, C: Dennoch zeigten einige SARIFA-positive Fälle eine relevante FABP4-Expression an der Invasionsfront; D, E: Tendenziell fiel die FABP4-Expression hier bei den SARIFA-negativen Fällen hingegen etwas geringer aus (dieser Unterschied war nicht statistisch signifikant, und war dementsprechend auch nicht in allen Fällen ausgeprägt). Die FABP4-Expression wurde anhand

des Prozentsatzes positiver Tumorzellen eingeordnet. FABP4: Fatty acid binding protein 4; IF: Invasionsfront des Tumors; SARIFA: Stroma Areaktives Invasions Front Areal; TZ Tumorzentrum. Messbalken 50 μ m

Die Untersuchung der Expression des Fettsäurebindepoteins FABP4 (Anteil positiver Tumorzellen in Prozent) zeigte keine statistisch signifikanten SARIFA-abhängigen Unterschiede. Bei den SARIFA-positiven Präparaten konnte im Vergleich zur SARIFA-negativen Subgruppe keine signifikant erhöhte FABP4-Expression nachgewiesen werden (IF: $p=0.53$; TZ: $p=0.89$). Trotzdem gab es zumindest einige Fälle SARIFA-positiver Karzinome, die an der Invasionsfront eine relevante FABP4-Expression zeigten (siehe Abbildung 8B und 8C).

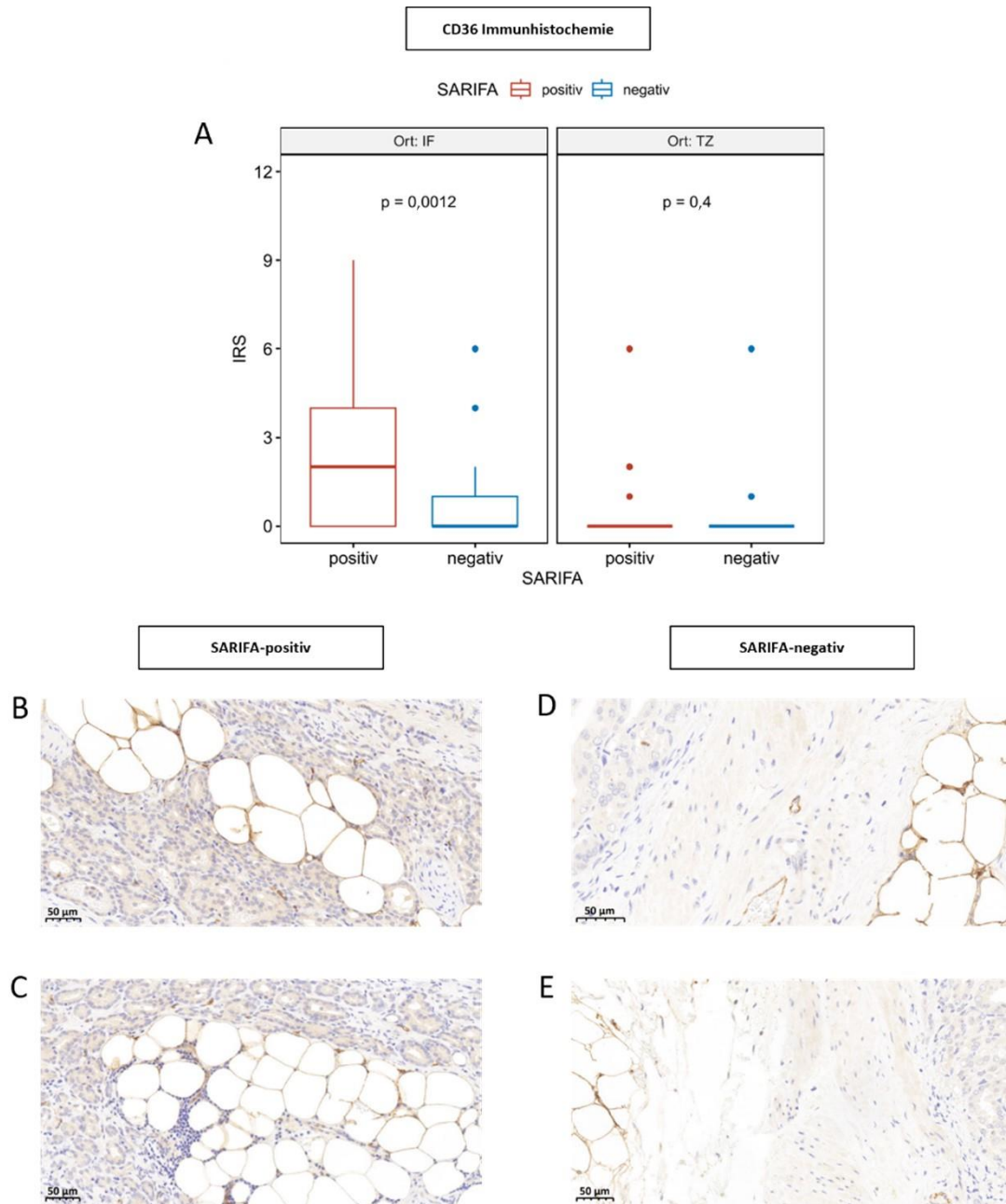


Abbildung 9: Immunhistochemische Färbungen für CD36. A: Es besteht eine statistisch signifikant erhöhte CD36-Expression in der Invasionsfront SARIFA-positiver Fälle ($p=0,0012$). B, C: Repräsentative Darstellung SARIFA-positiver Fälle mit erhöhter CD36-Expression an der Invasionsfront; D, E: Dagegen war die Expression des CD36 an der Invasionsfront bei den SARIFA-negativen Fällen nicht erhöht. Die CD36-Expression wurde gemäß dem Vorgehen von Grosser et al. bei der CD36-Auswertung am Magenkarzinom durchgeführt (Grosser et al. 2022). CD36: Glykoprotein CD36; IF: Invasionsfront des Tumors; IRS: Immunreaktiver Score nach Remmele und Stegner; SARIFA: Stroma Areaktives Invasions Front Areal; TZ Tumorzentrum. Messbalken 50 µm

Im Gegensatz dazu konnte bezüglich der CD36-Expression eine erhöhte Proteinexpression von CD36 an der Invasionsfront der SARIFA-positiven Prostatakarzinome beobachtet werden ($p=0.0012$). Insgesamt war die CD36-Expression auf immunhistochemischer Ebene aber relativ gering (siehe Abbildung 9 B-E).

Aufgrund der Tatsache, dass eine erhöhte Expression von FABP4 und CD36 in bereits vorhandener Literatur in den Kontext von Fettleibigkeit gebracht wird (Bonen et al. 2006) (Xu et al. 2006), wurde in einer Subgruppe des Kollektivs der Body-Mass-Index (BMI) anhand der verfügbaren Daten aus dem Klinikinformationssystem errechnet und zwischen jeweils 30 SARIFA-positiven und 30 SARIFA-negativen Patienten verglichen. Die Gruppe SARIFA-positiver Patienten zeigte zum Zeitpunkt der Prostataktomie keinen höheren BMI als die SARIFA-negativen Patienten (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung, SARIFA-positiv: 28.73 ± 3.85 ; SARIFA-negativ: 27.99 ± 4.30 , $p=0.487$).

3.4 Assoziation zwischen PSMA-PET-Ergebnissen und SARIFA-Status

Anhand der Gruppe ($n=57$) der Patienten mit vorliegender [^{68}Ga]Ga-PSMA-PET/CT Bildgebung, durchgeführt durch die Klinik der Nuklearmedizin, konnte untersucht werden, inwieweit bei SARIFA-positiven pT3a Prostatakarzinomen ein unterschiedliches Metastasierungsmuster besteht. Ein Anteil von 59,6% ($n=34$) der Patienten mit einem PSMA-positiven Rezidiv war SARIFA-positiv, die restlichen 40,4% ($n=23$) SARIFA-negativ. Zwischen den Gruppen SARIFA-positiver und SARIFA-negativer Patienten zeigte sich kein signifikanter Unterschied im Vorliegen eines Lokalrezidivs ($p=0,877$). Aus unseren Daten geht jedoch eine Tendenz zum häufigeren Befall regionärer und nicht-regionärer Lymphknoten hervor (regionär: $p=0,160$, nicht-regionär: $p=0,066$). Bei SARIFA-positiven Patienten wurde ein regionärer Lymphknotenbefall doppelt so häufig (35,3% der Fälle) wie bei SARIFA-negativen Patienten (17,4% der Fälle) nachgewiesen. Ein nicht-regionärer Lymphknotenbefall trat in 14,7% der Fälle auf, bei den eingeschlossenen SARIFA-negativen Patienten konnte hingegen kein nicht-regionärer Lymphknotenbefall beobachtet werden. In der gesamten Kohorte wurde keine Weichgewebismetastase detektiert. Auch bezüglich eines Lungenbefalls zeigte sich keine signifikant unterschiedliche Verteilung zwischen der SARIFA-positiven und SARIFA-negativen Gruppe ($p=0,799$). Für SARIFA-Positivität war jedoch ein deutlicher

Trend hin zu einem häufigeren Knochenbefall der PSMA-positiven Rezidive erkennbar – auch wenn die statistische Signifikanz hier wiederum knapp nicht erreicht wurde ($p=0,061$). 35,3% der SARIFA-positiven Patienten zeigten einen Knochenbefall, dagegen nur 13% der SARIFA-negativen Patienten. Eine Übersicht mit allen erhobenen Daten ist in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5: Stroma AReaktives Invasions Front Areal und PSMA-positive Rezidive in der PET/CT Bildgebung im Verhältnis zueinander. Statistisch signifikante p-Werte wurden rot markiert. Als „Nicht-Regionär“ wurde der Befall aller Lymphknoten außerhalb des kleinen Beckens definiert. PET/CT: Positronen-Emissions-Tomographie/Computer Tomographie; PSMA: Prostata-spezifisches Membranantigen; SARIFA: Stroma AReaktives Invasions Front Areal

		SARIFA-positiv		SARIFA-negativ		p-Wert
		n	in %	n	in %	
n gesamt: 57						
PSMA-positive Rezidive		34	60%	23	40%	
Lokal	nein	20	59%	14	61%	0,877
	ja	14	41%	9	39%	
Regionärer Lymphknotenbefall	nein	22	65%	19	83%	0,14
	ja	12	35%	4	17%	
Nicht-Regionärer Lymphknotenbefall	nein	29	85%	23	100%	0,066
	ja	5	15%	0	0%	
Knochen	nein	22	65%	20	87%	0,061
	ja	12	35%	3	13%	
Lunge	nein	32	94%	22	96%	0,799
	ja	2	6%	1	4%	
Weichgewebe	nein	34	100%	23	100%	//
	ja	0	0%	0	0%	

4. Diskussion

Grundlegendes Ziel der pathologischen Aufarbeitung von Prostatektomie-Präparaten ist, durch Analyse zahlreicher histologischer Eigenschaften sowie zunehmend auch molekularer Diagnostik prognostische und prädiktive Aussagen zu treffen, die dann zusammen mit klinischen und laborchemischen Parametern die weitere Behandlungsstrategie steuern. Während beim Prostatakarzinom grundsätzlich mit einem relativ langen Gesamtüberleben zu rechnen ist, sind fortgeschrittene Krankheitsstadien trotzdem mit einem ungünstigen Krankheitsverlauf verbunden. Dieser äußert sich, auch bei den in dieser Arbeit eingeschlossenen Prostatakarzinomen im Stadium pT3a, durch ein aggressiveres Wachstumsverhalten und eine erhöhte Wahrscheinlichkeit für ein Rezidiv (Epstein et al. 1993).

Daher war es Ziel dieses Dissertationsprojektes, den neu etablierten histopathologischen Biomarker SARIFA (Grosser et al. 2022; Grosser et al. 2023; Martin et al. 2021; Reitsam, Grozdanov, et al. 2023; Reitsam, Markl, et al. 2023) erstmals an Prostatakarzinomen, und somit auch erstmals außerhalb des Verdauungstraktes, zu untersuchen.

Dazu wurde der SARIFA-Status histopathologisch am H&E-Schnitt bestimmt. Basierend darauf wurden dann die klinisch-pathologischen Charakteristika, die Überlebensdaten, die immunhistochemische Expression von FABP4 und CD36 sowie das Metastasierungsmuster zwischen SARIFA-positiven und SARIFA-negativen Fällen verglichen.

4.1 SARIFA als potenzieller neuartiger Biomarker im Prostatakarzinom

Für einen positiven SARIFA-Status konnte eine statistische Assoziation mit mehreren klinisch-pathologischen Charakteristika nachgewiesen werden, die auch schon in früheren Arbeiten mit einer schlechteren Prognose in Prostatakarzinomen in Zusammenhang gebracht wurden. SARIFA-positive Prostatakarzinome besaßen einen höheren Gleason-Score und somit einen schlechteren Differenzierungsgrad als SARIFA-negative. Während die Einteilung der Karzinome in einen höheren Gleason-Score nach

d'Amico bereits eine schlechtere Prognose aufzeigt (D'Amico et al. 1998), erreichten SARIFA-positive Patienten ebenfalls häufiger die höchste Graduierungsgruppe V nach der durch die WHO im Jahr 2016 neu eingeführte Einteilung der Prostatakarzinome in das 5-stufige Gradingssystem. SARIFA-Positivität ist also mit einem höheren Gleason-Score bzw. höheren Graduierungsgruppen assoziiert; beide Faktoren gehen mit einem höheren Rezidivrisiko einher (Epstein et al. 2016).

Prostatakarzinome des Stadiums pT3a sind durch eine Ausbreitung ins extraprostatatische Fettbindegewebe definiert. Die Ausdehnung der extraprostatatischen Ausdehnung (EPE) wurde schon in früheren Studien als Hochrisikofaktor etabliert. SARIFA-Positivität war statistisch signifikant mit einer ausgedehnteren, non-fokalen extraprostatatischen Ausdehnung assoziiert, welche mit einer schlechteren Prognose einhergeht (Ball, Partin, and Epstein 2015). Bei SARIFA-positiven Patienten lag zudem häufiger ein mikroskopischer Residualtumor (R1-Situation) vor. Ein R1-Status ist als negativer prognostischer Faktor bei Prostatakarzinomen für ein kürzeres Gesamtüberleben sowie ein kürzeres biochemisch-rezidivfreies Überleben bekannt (Zhang, Wu, et al. 2018). Im Gegensatz zur Bestimmung des R-Status oder der EPE zeigt die Erhebung des SARIFA-Status unserer Ansicht nach einen wesentlichen Vorteil. Während für die beiden genannten Marker eine relevante Interobserver-Variabilität bekannt ist (van der Kwast et al. 2006) (Evans et al. 2008), konnte für die Bestimmung des SARIFA-Status eine geringe Interobserver-Variabilität herausgearbeitet werden (Martin et al. 2021) (Grosser et al. 2022).

Lymphknotenmetastasen sind beim Prostatakarzinom, wie auch bei anderen Krebserkrankungen, generell mit einer schlechteren Prognose assoziiert. Darüber hinaus verschlechtert eine höhere Anzahl positiver Lymphknoten bei vorliegendem positivem Befund laut Boorjian et al. die Prognose (Boorjian et al. 2007). Interessanterweise konnte in der präsentierten Studie innerhalb aller Patienten mit regionärem Lymphknotenbefall (pN1-Status) bei SARIFA-positiven Patienten eine vergleichsweise höhere Anzahl an befallenen Lymphknoten nachgewiesen werden. Die Anzahl an dissezierten Lymphknoten unterschied sich zwischen SARIFA-positiven und SARIFA-negativen Fällen nicht signifikant, und erklärt somit nicht die Unterschiede, wieso SARIFA-positive Patienten mehr Lymphknotenmetastasen aufweisen.

SARIFA-positive Patienten zeigten höhere initiale präoperative PSA-Werte als SARIFA-negative Patienten. Höhere initiale PSA-Werte, mit unterschiedlichen Cut-offs, sind beim Prostatakarzinom ebenfalls generell mit einer schlechten Prognose assoziiert (Kestin, Vicini, and Martinez 2002). Des Weiteren zeigten SARIFA-positive Patienten einen Trend hin zu häufigerer lymphatischer Invasion (L1), einem histopathologischen Marker, der mit kürzerem Überleben ohne biochemisches Rezidiv assoziiert ist (Cheng et al. 2005).

Somit ist das Vorliegen von SARIFA-Positivität, also dem direkten Kontakt zwischen Tumorzellen und Adipozyten, bei Prostatakarzinomen mit einer Reihe bekannter Risikofaktoren assoziiert: R1-Status, non-fokale EPE, mehr regionäre Lymphknotenmetastasen, höhere initiale PSA-Werte und tendenziell häufigerer L1-Status. Für die extraprostatistische Extension konnte bereits gezeigt werden, dass eine non-fokale, d.h. ausgedehntere EPE, mit einer schlechteren Prognose assoziiert ist (Ball, Partin, and Epstein 2015). Da auch SARIFA als Biomarker unterschiedlich ausgeprägt sein kann, d.h. einerseits nur Kontakt zwischen wenigen Tumordrüsen und Adipozyten, andererseits großflächige Tumor-Adipozyten-Interaktion, wurde auch ein quantitativer Ansatz im Rahmen dieses Projektes untersucht. Dazu wurde ein alternativer Cut-off von einem Drittel definiert, nach dem jeder Patient ab einem Anteil von mindestens 33% SARIFA-positiven Objektträgern als SARIFA-positiv eingeordnet wird. Dieser Cut-off ist zum einen praktikabel und relativ einfach umsetzbar, zum anderen ist er auch durch das im Methodenteil beschriebene *Biomarker Threshold Regression Model* validiert. Unter Anwendung dieses strikteren Cut-offs sank der Anteil SARIFA-positiver Patienten von 59% auf 15,6%. Des Weiteren veränderten sich zumindest teilweise die Assoziationen des SARIFA-Status hin zu anderen klinisch-pathologischen Charakteristika. Während weiterhin eine signifikante Korrelation mit positiven Resektionsrändern (R1-Status) und ausgedehnter extraprostatistischer Extension (non-fokaler EPE) beobachtet werden konnte, zeigte sich zudem ein signifikant häufigerer Befall regionärer Lymphknoten (pN1-Status), was ebenfalls ein negativer prognostischer Marker ist (Boorjian et al. 2007) (Ball, Partin, and Epstein 2015) (Zhang, Wu, et al. 2018). Bei den SARIFA-positiven Patienten zeigte sich, wenn auch keine statistische Signifikanz erreicht wurde, weiterhin ein Trend hin zu höheren initialen PSA-Werten als die der SARIFA-negativen Patienten. Höhere initiale PSA-Werte sind beim Prostatakarzinom eng mit einem kürzeren Überleben ohne biochemisches Rezidiv assoziiert (Gonzalez et al. 2004).

4.2 Prognostische Wertigkeit

Mittels Kaplan-Meier-Überlebenszeitanalysen wurde die Auswirkung des SARIFA-Status auf das Gesamtüberleben der Patienten untersucht. Patienten mit Prostatakarzinom weisen im Vergleich zu anderen Entitäten grundsätzlich eine relativ hohe 5-Jahres-Überlebensrate auf (Siegel et al. 2023). Die Kaplan-Meier-Überlebenskurven in Abhängigkeit des SARIFA-Status in unserem Kollektiv an pT3 Prostatakarzinompatienten zeigen in ihrem Verlauf eine zumindest visuelle Trennung (siehe Abbildungen 5 und 6); eine statistische Signifikanz wurde mit p-Werten von 0,35 beziehungsweise 0,16 jedoch jeweils nicht erreicht. Tendenziell scheint es so, dass SARIFA-Positivität analog zu den Daten aus dem Gastrointestinaltrakt (Grosser et al. 2022) (Martin et al. 2021) möglicherweise mit einem schlechteren Gesamtüberleben bei pT3a Prostatakarzinomen assoziiert ist.

Obwohl der quantitative SARIFA-Cut-off von 1/3 in der Kaplan-Meier-Analyse tendenziell besser zu trennen scheint, zeigen gerade die Ergebnisse von Martin et al. sowie Grosser et al., dass eine binäre SARIFA-Klassifikation den Vorteil mit sich bringt, sie sehr schnell und mit geringer Interobserver-Variabilität erheben zu können (Martin et al. 2021; Grosser et al. 2022). Insofern rechtfertigen die Daten dieser Arbeit nicht eindeutig, dass von einer binären Klassifikation des SARIFA-Status Abstand genommen werden sollte. Vielmehr könnte in zukünftigen Studien neben einer binären SARIFA-Klassifikation auch ein quantitativer Ansatz verfolgt werden, um die zugrunde liegende Biologie besser einzuordnen. Für andere prognostische Faktoren wie die Anzahl an Myofibroblasten sowie dem Anteil des Stromas bei verschiedenen Tumorentitäten wurde bereits eine Abhängigkeit des klinischen Effekts von der quantitativen Ausprägung des untersuchten Merkmals beschrieben (Tsujino et al. 2007) (Lan et al. 2015) (Tothill et al. 2008). Auch für das Verhältnis von Karzinomen mit Adipozyten in deren näheren Umgebung zeigt sich die quantitative Ausprägung als relevant. So wurde beim kolorektalen Karzinom für eine erhöhte Anzahl an TAFs, sogenannten *tumor adipose features*, eine schlechtere Prognose für betroffene Patientinnen und Patienten beschrieben (L'Imperio et al. 2023).

Das Auftreten eines biochemischen Rezidivs nach radikaler Prostatektomie ist in der Literatur bereits als unabhängiger Risikofaktor für die krebsspezifische Mortalität der Patienten sowie für erhöhtes Risiko zum Auftreten von Metastasen bekannt (Freedland

et al. 2005) (Zhang, Wu, et al. 2018). Bei einer Subgruppe der untersuchten Patienten (n=48) konnte der Zeitraum des biochemisch-rezidivfreien Überlebens (BCRF-Überleben) anhand von Kaplan-Meier Kurven ausgewertet werden. Wenngleich mit einem p-Wert von 0,11 keine statistische Signifikanz erreicht wurde, zeigt sich in Abbildung 7 die klare Trennung der Überlebenskurven der jeweiligen Gruppen (SARIFA-positiv vs. SARIFA-negativ) – und zeigt damit ebenfalls einen Trend auf, dass SARIFA-Positivität mit einer schlechteren Prognose verbunden zu sein scheint.

4.3 SARIFA-Status und Lipidmetabolismus

Die Rolle des Fettstoffwechsels in der Pathogenese von Krebserkrankungen rückte in den letzten Jahren zunehmend in den Fokus wissenschaftlicher Bestrebungen. Zahlreiche Publikationen beschreiben die diversen Funktionen von Fettgewebe als Energiequelle und Energiespeicher sowie als dynamisches endokrines Organ, welches mit den Karzinomzellen interagiert (Dirat et al. 2011) (Mukherjee, Bilecz, and Lengyel 2022). Dem vermehrten Lipidmetabolismus in Karzinomzellen, hauptsächlich bereitgestellt durch *De-novo-Synthese* (Louie et al. 2013), aber auch durch Aufnahme sezernierter Fettsäuren wird ein Einfluss auf eine erhöhte Progression der Krebserkrankungen durch eine verstärkte Aktivität von Enzymen wie Monoacylglycerol Lipase zugeschrieben (MAGL) (Nomura et al. 2010). Ein erhöhter Lipidmetabolismus in Tumorzellen soll auch zu vermehrter Therapieresistenz beitragen (Corn, Windham, and Rafat 2020).

In der Pathogenese von Prostatakarzinomen nimmt der Fettstoffwechsel eine Schlüsselrolle ein, Fettsäuren werden als Hauptenergiequelle der Prostatakarzinomzellen angesehen (Liu, Zuckier, and Ghesani 2010) (Watt et al. 2019). Die Bereitstellung dafür erfolgt einerseits durch eben erwähnte *De-novo Synthese* der Fettsäuren (Pizer et al. 2001), andererseits durch die Aufnahme der Fettsäuren von extrazellulär (Liu, Zuckier, and Ghesani 2010). Verschiedene membranassoziierte Proteine sind hier am Transport der Fettsäuren durch die Plasmamembran beteiligt (Vasseur and Guillaumond 2022).

Dem Glykoprotein CD36 wird mit seiner Funktion als *Scavenger*-Rezeptor in der Plasmamembran (Scaglia, Frontini-Lopez, and Zadra 2021), auch wenn der genaue

Mechanismus noch unklar ist, eine wichtige Rolle im Transport (Silverstein and Febbraio 2009) und Stoffwechsel der Fettsäuren zugeschrieben. Das Fettsäurebindeprotein FABP4 (*fatty acid binding protein*, FABP) ist durch Regulation der Lipolyse in den Zellen (Smith et al. 2008) und Transport der Fettsäuren (Mita et al. 2015) ebenfalls maßgeblich am Fettmetabolismus der Karzinomzellen beteiligt. Für die beiden Proteine wurde von Grosser et al. bereits eine erhöhte Expression beim Magenkarzinom an SARIFAs, und hier insbesondere in den Tumorzellen, mittels spatialer Transkriptomanalysen nachgewiesen (Grosser et al. 2022). Aufgrund der hohen Relevanz des Fettstoffwechsels für die Pathogenese und Progression bei Prostatakarzinomen wurde im Rahmen dieses Dissertationsprojektes die Proteinexpression von CD36 und FABP4 immunhistochemisch untersucht. Für das Fettsäurebindeprotein FABP4 wurde dabei generell keine erhöhte Expression nachgewiesen. Es zeigten sich aber durchaus Fälle, bei denen es an SARIFAs zu einer relevanten Expression von FABP4 in den Tumorzellen kam. Bezüglich CD36 konnte eine erhöhte Expression an SARIFAs der untersuchten pT3a Prostatakarzinome nachgewiesen werden (auch wenn die CD36-Expression hier teilweise relativ gering ausfiel). Sollte diese erhöhte CD36-Expression an SARIFAs, unter anderem auch auf bulk-RNA bzw. spatialen RNA-Daten, validiert werden können, gäbe es hier insbesondere bei Prostatakarzinomen spannende therapeutische Anknüpfungspunkte; denn Watt et al. beschrieben bereits eine potente, antitumorale Wirkung eines Therapieversuchs mit monoklonalen Antikörpern gegen CD36 an von Patienten generierten Xenograft-Modellen mit lokal fortgeschrittenen Prostatakarzinomen (Watt et al. 2019). Sollte die angesprochene, von Watt et al. beschriebene Therapieoption mittels CD36-Antikörpern in Zukunft etabliert werden, könnte die lichtmikroskopische Erhebung des SARIFA-Status hier einen geeigneten, prädiktiven Biomarker für diese Therapieform darstellen.

Auch wenn die an SARIFAs beschriebene Tumor-Adipozyten-Interaktion sowie FABP4 und CD36 hier als Schlüsselproteine immer wieder im Zusammenhang mit Adipositas untersucht wurden und werden (Bonen et al. 2006) (Xu et al. 2006), konnte in dieser Studie kein Zusammenhang zwischen dem SARIFA-Status und Adipositas gefunden werden. Dies steht im Einklang damit, dass auch SARIFA-positive Magenkarzinompatienten keinen höheren BMI als SARIFA-negative aufweisen (Grosser et al. 2022).

4.4 SARIFA und unterschiedliches Metastasierungsmuster

Anhand einer Subgruppe des Patientenkollektivs mit Prostatakarzinom pT3a wurde der Biomarker SARIFA auf eine Korrelation mit einem möglicherweise charakteristischen Metastasierungsmuster untersucht. Dafür wurden [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-PET/CT Scans, durchgeführt in der diagnostischen Routine der Klinik für Nuklearmedizin, bei SARIFA-positiven und SARIFA-negativen Patienten ausgewertet. Es zeigte sich dabei ein Trend hin zu häufigerer ossärer Metastasierung und zu nicht-regionärem Lymphknotenbefall. Somit lässt sich vermutlich mithilfe des positiven SARIFA-Status beim Prostatakarzinom, allein von der histopathologischen Untersuchung des Primärtumors auf eine Tendenz zur Metastasierung in bestimmte Lokalisationen schließen. Dass bestimmte histologische Subtypen oder molekulare Alterationen unterschiedliche Metastasierungspotenziale besitzen, konnte auch in anderen Studien gezeigt werden. So wurde für die verschiedenen histologischen Subtypen kolorektaler Karzinome bereits unterschiedliche Metastasierungsmuster nachgewiesen (Hugen et al. 2014) (Wang et al. 2020); auch wurden beim Magen- und Ösophaguskarzinom ebenfalls für die unterschiedlichen histologischen Subtypen charakteristische Metastasierungsmuster beschrieben (Verstegen et al. 2020). Abhängig von der Expression bestimmter Onkogene unterscheidet sich beispielsweise beim nicht-kleinzelligen Lungenkarzinom (NSCLC) sowie dem duktalem Mammakarzinom das Metastasierungsverhalten (Doebele et al. 2012) (Nguyen et al. 2022). Ob SARIFA tatsächlich mit einem bestimmten Metastasierungsmuster korreliert und welche Aussagen hierdurch auf die Tumorbilogie übertragen werden können, sollte basierend auf den ersten hier gezeigten, vielversprechenden Ergebnissen dieser Arbeit in einem größeren Kollektiv und auch an anderen Entitäten nochmals intensiver beforscht werden.

4.5 Stärken und Limitationen der Studie

Als Stärke dieser Studie ist insbesondere anzuführen, dass mit dem SARIFA-Status ein neuartiger histopathologischer, am H&E-Schnitt sicher und schnell zu erhebender Biomarker hier erstmalig an einer Tumorentität außerhalb des Gastrointestinaltraktes, nämlich an Prostatakarzinomen, untersucht wurde. Über seine rein prognostische Wertigkeit hinaus konnte schon in vorhergehenden Arbeiten gezeigt werden, dass der histopathologische SARIFA-Status mutmaßlich eine distinkte Tumorbilogie

widerspiegelt (Grosser et al. 2022) (Martin et al. 2021) (Grosser et al. 2023) (Reitsam, Grozdanov, et al. 2023). Weiterhin ist hervorzuheben, dass alle untersuchten Prostatektomiepräparate vollständig in Großflächen aufgearbeitet wurden, was eine sehr zuverlässige Bestimmung des SARIFA-Status ermöglichte, da somit der gesamte Tumor begutachtet werden konnte. Darüber hinaus wurde in dieser Arbeit auch erstmalig der potenzielle Zusammenhang zwischen SARIFA-Status und einem bestimmten Metastasierungsmuster untersucht, was sicherlich auch für zukünftige Projekte Anknüpfungspunkte bieten kann.

Als Limitation ist zu nennen, dass SARIFA-Positivität zwar scheinbar mit einem kürzeren Gesamtüberleben assoziiert ist, dies aber keine statistische Signifikanz erreicht. Das liegt wohl vor allem am insgesamt sehr günstigen Überleben von Prostatakarzinompatienten, weshalb in zukünftigen Studien ein Surrogatmarker als Endpunkt gewählt werden sollte, passenderweise bei Prostatakarzinompatienten das biochemisch-rezidivfreie Überleben. Das Gesamtüberleben der Patienten konnte durch Recherche in den klinik- und institutseigenen Informationssystemen, der Zusammenarbeit mit dem Tumordatenmanagement des Comprehensive Cancer Center Augsburg und durch Bereitstellung von Daten des *Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, Bayerisches Krebsregister, Regionalzentrum Augsburg* zwar verlässlich erhoben werden, jedoch lagen hier nur sehr spärliche Daten zum biochemischen Rezidiv vor. Der PSA-Wert war präoperativ bei einer Mehrheit der Patienten in der Datenbank der Klinik registriert, postoperative PSA-Werte im Verlauf sind dagegen nicht Teil der klinikeigenen Datensätze. Viele der Prostatakarzinompatienten befinden sich nach Resektion in ambulanter urologischer Betreuung; auf diese Daten konnte im Rahmen dieser Arbeit nicht zugegriffen werden. Des Weiteren liegen für die Patienten dieser Kohorte keine detaillierten Therapiedaten vor. Aufgrund des bereits bekannten Einflusses einer Hormontherapie (Androgendeprivation, ADT) auf das Tumor-Immun-Microenvironment (TIM) des lokal fortgeschrittenen Prostatakarzinoms (Long et al. 2020) sollten auch die Therapiedaten der Patienten im Hinblick auf potenzielle Auswirkung auf den SARIFA-Status bei künftigen Projekten miteinbezogen werden. Anknüpfend an diese Arbeit könnte eine genauere Selektion der Patienten für ein Folgeprojekt, in das nur Patienten mit pT3a Prostatakarzinomen und ausschließlich non-fokaler extraprostatischer Extension eingeschlossen werden, eine interessante Option bieten, da so nur Prostatakarzinome

mit ausgedehnter Ausbreitung im periprostatischen Weichgewebe inkludiert wären, bei denen auch ein relevantes Tumor-Fett-Interface besteht. In der Dauer des Follow-ups zeigt sich letztlich eine weitere Limitation dieses Projektes; denn mit dem eingeschlossenen Patientenkollektiv aus den Jahren 2005 bis 2020 besteht die Möglichkeit eines zu kurzen Follow-up Zeitraums, insbesondere, wenn man die langen Überlebenszeiten von Prostatakarzinompatienten bedenkt.

4.6 Ausblick: SARIFA als neuartiger histopathologischer Biomarker in verschiedenen Entitäten?

Die im Rahmen dieser Arbeit erhobenen Ergebnisse zeigen das Potenzial des SARIFA-Status als neuer histopathologischer Biomarker bei lokal fortgeschrittenen Prostatakarzinomen.

Auch wenn die prognostische Wertigkeit des SARIFA-Status in weiteren Studien an pT3-Prostatakarzinomen mit dem biochemisch-rezidivfreien Überleben als entsprechendem Endpunkt weiter validiert werden muss, zeigt die hier vorliegende Arbeit, dass der SARIFA-Status auch über den Gastrointestinaltrakt hinaus ein Marker einer potenziell aggressiveren Tumorbilogie ist. Zahlreiche bereits bekannte Hoch-Risiko-Faktoren wie beispielsweise die non-fokale extraprostatische Extension (EPE) korrelieren bei pT3a-Prostatakarzinomen mit SARIFA-Positivität, die auch mit einer erhöhten Expression von CD36, und somit einem verstärkten Lipidmetabolismus, assoziiert zu sein scheint. Die Erhebung des SARIFA-Status als kostengünstigen H&E-basierten histopathologischen Biomarker bietet viele Vorteile. Er lässt sich einfach und schnell beurteilen und zeigt eine hohe Interobserver-Übereinstimmung (Grosser et al. 2022) (Martin et al. 2021).

Da die Interaktion von Tumorzellen und Adipozyten natürlich nicht nur auf den Gastrointestinaltrakt oder Prostatakarzinome beschränkt ist, sondern auch beispielsweise bei Urothelkarzinomen oder auch Plattenepithelkarzinomen aus anderen unterschiedlichsten Lokalisationen, welche in Fettbindegewebe infiltrieren, auftreten können, könnte der SARIFA-Status dadurch über Entitäten hinweg relevant werden und das morphologische Korrelat einer distinkten Tumorbilogie sein.

Bereits bei mehreren weiteren Entitäten wurde der Tumor-Adipozyten-Interaktion ein negativer Einfluss auf Wachstumsverhalten und den klinischen Verlauf zugeschrieben. So trägt bei Melanomen die Tumor-Adipozyten-Interaktion ganz wesentlich zur Krankheitsprogression bei (Zhang, Di Martino, et al. 2018). Beim Ovarialkarzinom fördert ein Austausch von Fettsäuren von Adipozyten hin zu den Tumorzellen deren Proliferation und metabolische Veränderung (Nieman et al. 2011). Auch beim Mammakarzinom begünstigt ein metabolischer Austausch zwischen Tumor- und Fettzellen die Tumordinvasion und Metastasierung (Wang et al. 2017).

Prinzipiell ist es auch denkbar, dass neuartige Therapien hier direkt am Tumormetabolismus ansetzen, wie beispielsweise von Flaveny et al. beschrieben, durch Suppression des Kernrezeptoren LXR (Leber-X-Rezeptor). Die daraus resultierende verminderte Expression der betroffenen Gene für Glykolyse und Lipogenese resultiert durch seine duale Wirkung, sowohl auf den Warburg Effekt als auch auf Fettstoffwechsel der Tumorzellen, in einer Hemmung des Tumorwachstums (Flaveny et al. 2015).

Über das in dieser Arbeit untersuchte Fettstoffwechsel-assoziierte Protein FABP4 wurde bereits der Ansatz einer antitumoralen Therapie publiziert. Durch den selektiven FABP4-Inhibitor BMS309403 konnte an Xenograft-Mausmodellen ein Effekt auf Wachstum und Metastasierung des Prostatakarzinoms gezeigt werden (Huang et al. 2017). Das an der Invasionsfront der SARIFA-positiven Prostatakarzinome erhöht exprimierte CD36 wurde ebenfalls als Ansatzpunkt für potenzielle Therapie beschrieben. An Xenograft-Modellen mit lokal fortgeschrittenen Prostatakarzinomen zeigte die Applikation monoklonaler Antikörper gegen CD36 eine starke antitumorale Wirkung (Watt et al. 2019).

Der SARIFA-Status würde dann vermutlich als histopathologischer, prädiktiver Biomarker dienen können, der abschätzen lässt, welche Tumore besonders anfällig auf eine Inhibition entsprechender Pathways wären.

5. Zusammenfassung (deutsch und englisch)

Die Diagnose eines Prostatakarzinoms ist grundsätzlich mit einem relativ guten Gesamtüberleben der betroffenen Patienten vergesellschaftet. Dennoch zeigen Prostatakarzinome in fortgeschrittenen Stadien, wie beispielsweise im durch Ausbreitung des Tumors in das periprostatische Weichgewebe definierten Stadium pT3a, einen schlechteren Krankheitsverlauf mit einer erhöhten Anzahl an Rezidiven und aggressiverem Wachstumsverhalten. Ziel dieser Arbeit ist es, das Auftreten von SARIFAs (Stroma AReaktive Invasions Front Areale) beim Prostatakarzinom und damit erstmals bei einem Organ außerhalb des Verdauungstraktes zu untersuchen, um dadurch einen neuen, unabhängigen, negativ prognostischen Biomarker für Prostatakarzinome zu etablieren. Dafür wurden 301 Prostatakarzinome des Stadiums pT3a histologisch auf direkten Kontakt zwischen Tumor- und Fettzellen (SARIFA-Positivität) untersucht und dementsprechend nach deren SARIFA-Status klassifiziert. An Entitäten wie dem kolorektalen Karzinom und Magenkarzinom konnte am Institut für Pathologie und molekulare Diagnostik des Uniklinikums Augsburg bereits das Auftreten von SARIFAs mit einer schlechteren Prognose der betroffenen Patientinnen und Patienten in Verbindung gebracht werden. Die Subgruppen SARIFA-positiver und SARIFA-negativer Patienten wurden nach der histologischen Einordnung hinsichtlich pathologischer und klinischer Merkmale ausgewertet. Es zeigte sich für SARIFA-Positivität ein Trend zu einem kürzeren rezidivfreien Überleben und Gesamtüberleben sowie eine Korrelation mit verschiedenen klinisch-pathologischen Charakteristika mit schlechter klinischer Prognose, wie non-fokaler extraprostatischer Ausbreitung (EPE) und einem mikroskopischen Residualtumor (R1-Situation). Unter Durchführung immunhistochemischer Färbungen an einem Teil der Präparate konnte eine erhöhte Proteinexpression von CD36 an der Invasionsfront SARIFA-positiver Prostatakarzinome nachgewiesen werden, was nochmals die wichtige Rolle des Lipidmetabolismus in Zusammenhang mit SARIFA zu bestätigen scheint. Die Auswertung von PSMA-PET/CT Untersuchungen einer Patientengruppe auf deren Metastasierungsmuster zeigt für SARIFA-Positivität zudem einen Trend hin zu häufigerer ossärer Metastasierung und zu nicht-regionärem Lymphknotenbefall auf. Zusammenfassend zeigt diese Arbeit erstmals das Potenzial von SARIFA als histopathologischer Biomarker außerhalb des Verdauungstraktes auf und legt nahe, dass SARIFA-Positivität auch in pT3a Prostatakarzinomen mit einem aggressiveren Tumorverhalten assoziiert ist.

Englische Zusammenfassung

Being diagnosed for prostate cancer in general is related to a relatively long survival period. However, prostate cancers of higher stages, as the stage pT3a (defined by the presence of extraprostatic tumor extension), yield worse clinical prognosis, including higher frequency of tumor recurrence and a more aggressive growth pattern.

This project aims for the investigation and potential establishment of SARIFA-status (Stroma AReactive Invasion Front Area) in prostate cancer as a potentially new histopathologic biomarker. Thereby this project aims at working up SARIFAs beyond the alimentary tract, following investigations on colorectal and gastric cancer, which already indicated negative prognostic significance of SARIFA for those entities. While a total of 301 radical prostatectomy specimens (stage pT3a) were evaluated on light microscopy, SARIFA-positivity was defined by direct tumor-adipocyte interaction at the invasion front, which is in line with our previous studies. In the subgroup of SARIFA-positive patients (59,1%; n=178), a trend towards shorter overall survival (OS) and biochemical recurrence-free survival (BRFS) was observed. Additionally, SARIFA-positivity showed statistical correlation with known high-risk clinicopathological markers like non-focal extraprostatic extension (EPE) and the presence of positive residual margins (R1-situation), indicating a worse clinical prognosis for those patients. After immunohistochemical staining against CD36 and FABP4 on a subgroup of the cohort, a CD36 upregulation at the invasion front of the SARIFA-positive prostate carcinoma specimens could be observed, which may offer a therapeutic opportunity in case of further establishment of known monoclonal antibodies against CD36. On a subgroup of patients with available results of [⁶⁸Ga]Ga-PSMA-PET/CT Scans, the presence of SARIFA was evaluated for a distinct pattern of metastatic dissemination. While no difference in local recurrence frequency was seen, a positive SARIFA-status correlated with metastases in bone and lymph nodes (both, regional and non-regional); however, slightly not reaching statistical significance. To sum up, this study highlights the potential of SARIFA as novel histopathologic biomarker beyond the alimentary tract for the first time. The presented data suggest that SARIFA-positivity is indeed associated with a more aggressive tumor behavior in pT3a prostate carcinomas.

6. Literaturverzeichnis

- Abdel-Rahman, O. 2017. 'Assessment of the prognostic value of the 8th AJCC staging system for patients with clinically staged prostate cancer; A time to sub-classify stage IV?', *PLoS One*, 12: e0188450.
- Allott, E. H., E. M. Masko, and S. J. Freedland. 2013. 'Obesity and prostate cancer: weighing the evidence', *Eur Urol*, 63: 800-9.
- Bagi, C. M. 2003. 'Skeletal implications of prostate cancer', *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 3: 112-7.
- Ball, M. W., A. W. Partin, and J. I. Epstein. 2015. 'Extent of extraprostatic extension independently influences biochemical recurrence-free survival: evidence for further pT3 subclassification', *Urology*, 85: 161-4.
- Bonen, A., N. N. Tandon, J. F. Glatz, J. J. Luiken, and G. J. Heigenhauser. 2006. 'The fatty acid transporter FAT/CD36 is upregulated in subcutaneous and visceral adipose tissues in human obesity and type 2 diabetes', *Int J Obes (Lond)*, 30: 877-83.
- Boorjian, S. A., R. H. Thompson, S. Siddiqui, S. Bagniewski, E. J. Bergstralh, R. J. Karnes, I. Frank, and M. L. Blute. 2007. 'Long-term outcome after radical prostatectomy for patients with lymph node positive prostate cancer in the prostate specific antigen era', *J Urol*, 178: 864-70; discussion 70-1.
- Calle, E. E., C. Rodriguez, K. Walker-Thurmond, and M. J. Thun. 2003. 'Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults', *N Engl J Med*, 348: 1625-38.
- Carter, B. S., G. S. Bova, T. H. Beaty, G. D. Steinberg, B. Childs, W. B. Isaacs, and P. C. Walsh. 1993. 'Hereditary prostate cancer: epidemiologic and clinical features', *J Urol*, 150: 797-802.
- Castro, E., C. Goh, D. Olmos, E. Saunders, D. Leongamornlert, M. Tymrakiewicz, N. Mahmud, T. Dadaev, K. Govindasami, M. Guy, E. Sawyer, R. Wilkinson, A. Ardern-Jones, S. Ellis, D. Frost, S. Peock, D. G. Evans, M. Tischkowitz, T. Cole, R. Davidson, D. Eccles, C. Brewer, F. Douglas, M. E. Porteous, A. Donaldson, H. Dorkins, L. Izatt, J. Cook, S. Hodgson, M. J. Kennedy, L. E. Side, J. Eason, A. Murray, A. C. Antoniou, D. F. Easton, Z. Kote-Jarai, and R. Eeles. 2013. 'Germline BRCA mutations are associated with higher risk of nodal involvement, distant metastasis, and poor survival outcomes in prostate cancer', *J Clin Oncol*, 31: 1748-57.

- Castro, E., N. Romero-Laorden, A. Del Pozo, R. Lozano, A. Medina, J. Puente, J. M. Piulats, D. Lorente, M. I. Saez, R. Morales-Barrera, E. Gonzalez-Billalabeitia, Y. Cendon, I. Garcia-Carbonero, P. Borrega, M. J. Mendez Vidal, A. Montesa, P. Nombela, E. Fernandez-Parra, A. Gonzalez Del Alba, J. C. Villa-Guzman, K. Ibanez, A. Rodriguez-Vida, L. Magraner-Pardo, B. Perez-Valderrama, E. Vallespin, E. Gallardo, S. Vazquez, C. C. Pritchard, P. Lapunzina, and D. Olmos. 2019. 'PROREPAIR-B: A Prospective Cohort Study of the Impact of Germline DNA Repair Mutations on the Outcomes of Patients With Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer', *J Clin Oncol*, 37: 490-503.
- Chen, Bingshu E., Wenyu Jiang, and Dongsheng Tu. 2014. 'A hierarchical Bayes model for biomarker subset effects in clinical trials', *Computational Statistics & Data Analysis*, 71: 324-34.
- Cheng, L., T. D. Jones, H. Lin, J. N. Eble, G. Zeng, M. D. Carr, and M. O. Koch. 2005. 'Lymphovascular invasion is an independent prognostic factor in prostatic adenocarcinoma', *J Urol*, 174: 2181-5.
- Chu, L. W., J. Ritchey, S. S. Devesa, S. M. Quraishi, H. Zhang, and A. W. Hsing. 2011. 'Prostate cancer incidence rates in Africa', *Prostate Cancer*, 2011: 947870.
- Corn, K. C., M. A. Windham, and M. Rafat. 2020. 'Lipids in the tumor microenvironment: From cancer progression to treatment', *Prog Lipid Res*, 80: 101055.
- D'Amico, A. V., R. Whittington, S. B. Malkowicz, D. Schultz, K. Blank, G. A. Broderick, J. E. Tomaszewski, A. A. Renshaw, I. Kaplan, C. J. Beard, and A. Wein. 1998. 'Biochemical outcome after radical prostatectomy, external beam radiation therapy, or interstitial radiation therapy for clinically localized prostate cancer', *JAMA*, 280: 969-74.
- de Bono, J., J. Mateo, K. Fizazi, F. Saad, N. Shore, S. Sandhu, K. N. Chi, O. Sartor, N. Agarwal, D. Olmos, A. Thiery-Vuillemin, P. Twardowski, N. Mehra, C. Goessl, J. Kang, J. Bургents, W. Wu, A. Kohlmann, C. A. Adelman, and M. Hussain. 2020. 'Olaparib for Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer', *N Engl J Med*, 382: 2091-102.
- Dirat, B., L. Bochet, M. Dabek, D. Daviaud, S. Dauvillier, B. Majed, Y. Y. Wang, A. Meulle, B. Salles, S. Le Gonidec, I. Garrido, G. Escourrou, P. Valet, and C. Muller. 2011. 'Cancer-associated adipocytes exhibit an activated phenotype and contribute to breast cancer invasion', *Cancer Res*, 71: 2455-65.
- Doebele, R. C., X. Lu, C. Sumey, D. A. Maxson, A. J. Weickhardt, A. B. Oton, P. A. Bunn, Jr., A. E. Baron, W. A. Franklin, D. L. Aisner, M. Varella-Garcia, and D. R. Camidge. 2012. 'Oncogene status predicts patterns of metastatic spread in treatment-naive nonsmall cell lung cancer', *Cancer*, 118: 4502-11.

- Eastham, J. A., G. B. Aufferberg, D. A. Barocas, R. Chou, T. Crispino, J. W. Davis, S. Eggener, E. M. Horwitz, C. J. Kane, E. Kirkby, D. W. Lin, S. M. McBride, A. K. Morgans, P. M. Pierorazio, G. Rodrigues, W. W. Wong, and S. A. Boorjian. 2022. 'Clinically Localized Prostate Cancer: AUA/ASTRO Guideline, Part II: Principles of Active Surveillance, Principles of Surgery, and Follow-Up', *J Urol*, 208: 19-25.
- Epstein, J. I., M. J. Carmichael, G. Pizov, and P. C. Walsh. 1993. 'Influence of capsular penetration on progression following radical prostatectomy: a study of 196 cases with long-term followup', *J Urol*, 150: 135-41.
- Epstein, J. I., L. Egevad, M. B. Amin, B. Delahunt, J. R. Srigley, P. A. Humphrey, and Committee Grading. 2016. 'The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma: Definition of Grading Patterns and Proposal for a New Grading System', *Am J Surg Pathol*, 40: 244-52.
- Erdmann, Friederike, Claudia Spix, Alexander Katalinic, Monika Christ, Juliane Folkerts, Jutta Hansmann, Kristine Kranzhöfer, Beatrice Kunz, Katrin Manegold, and Andrea Penzkofer. 2021. 'Krebs in Deutschland für 2017/2018'.
- Evans, A. J., P. C. Henry, T. H. Van der Kwast, D. C. Tkachuk, K. Watson, G. A. Lockwood, N. E. Fleshner, C. Cheung, E. C. Belanger, M. B. Amin, L. Boccon-Gibod, D. G. Bostwick, L. Egevad, J. I. Epstein, D. J. Grignon, E. C. Jones, R. Montironi, M. Moussa, J. M. Sweet, K. Trpkov, T. M. Wheeler, and J. R. Srigley. 2008. 'Interobserver variability between expert urologic pathologists for extraprostatic extension and surgical margin status in radical prostatectomy specimens', *Am J Surg Pathol*, 32: 1503-12.
- Fendler, W. P., M. Eiber, M. Beheshti, J. Bomanji, J. Calais, F. Ceci, S. Y. Cho, S. Fanti, F. L. Giesel, K. Goffin, U. Haberkorn, H. Jacene, P. J. Koo, K. Kopka, B. J. Krause, L. Lindenberg, C. Marcus, F. M. Mottaghy, D. E. Oprea-Lager, J. R. Osborne, M. Piert, S. P. Rowe, H. Schoder, S. Wan, H. J. Wester, T. A. Hope, and K. Herrmann. 2023. 'PSMA PET/CT: joint EANM procedure guideline/SNMMI procedure standard for prostate cancer imaging 2.0', *Eur J Nucl Med Mol Imaging*, 50: 1466-86.
- Feng, W. W., O. Wilkins, S. Bang, M. Ung, J. Li, J. An, C. Del Genio, K. Canfield, J. DiRenzo, W. Wells, A. Gaur, R. B. Robey, J. Y. Guo, R. L. Powles, C. Sotiriou, L. Pusztai, M. Febbraio, C. Cheng, W. B. Kinlaw, and M. Kurokawa. 2019. 'CD36-Mediated Metabolic Rewiring of Breast Cancer Cells Promotes Resistance to HER2-Targeted Therapies', *Cell Rep*, 29: 3405-20 e5.
- Flaveny, C. A., K. Griffett, D. El-Gendy Bel, M. Kazantzis, M. Sengupta, A. L. Amelio, A. Chatterjee, J. Walker, L. A. Solt, T. M. Kamenecka, and T. P. Burris. 2015. 'Broad Anti-tumor Activity of a Small Molecule that Selectively Targets the Warburg Effect and Lipogenesis', *Cancer Cell*, 28: 42-56.

- Franco, O. E., and S. W. Hayward. 2012. 'Targeting the tumor stroma as a novel therapeutic approach for prostate cancer', *Adv Pharmacol*, 65: 267-313.
- Freedland, S. J., E. B. Humphreys, L. A. Mangold, M. Eisenberger, F. J. Dorey, P. C. Walsh, and A. W. Partin. 2005. 'Risk of prostate cancer-specific mortality following biochemical recurrence after radical prostatectomy', *JAMA*, 294: 433-9.
- Furuhashi, M., and G. S. Hotamisligil. 2008. 'Fatty acid-binding proteins: role in metabolic diseases and potential as drug targets', *Nat Rev Drug Discov*, 7: 489-503.
- Gharpure, K. M., S. Pradeep, M. Sans, R. Rupaimoole, C. Ivan, S. Y. Wu, E. Bayraktar, A. S. Nagaraja, L. S. Mangala, X. Zhang, M. Haemmerle, W. Hu, C. Rodriguez-Aguayo, M. McGuire, C. S. L. Mak, X. Chen, M. A. Tran, A. Villar-Prados, G. A. Pena, R. Kondetimmahalli, R. Nini, P. Koppula, P. Ram, J. Liu, G. Lopez-Berestein, K. Baggerly, S. Eberlin L, and A. K. Sood. 2018. 'FABP4 as a key determinant of metastatic potential of ovarian cancer', *Nat Commun*, 9: 2923.
- Gleason, D. F. 1966. 'Classification of prostatic carcinomas', *Cancer Chemother Rep*, 50: 125-8.
- Gonzalez, C. M., K. A. Roehl, J. V. Antenor, L. W. Blunt, M. Han, and W. J. Catalona. 2004. 'Preoperative PSA level significantly associated with interval to biochemical progression after radical retropubic prostatectomy', *Urology*, 64: 723-8.
- Grosser, B., M. I. Gluckstein, C. Dhillon, S. Schiele, S. Dintner, A. VanSchoiack, D. Kroeppler, B. Martin, A. Probst, D. Vlasenko, G. Schenkirsch, and B. Markl. 2022. 'Stroma AReactive Invasion Front Areas (SARIFA) - a new prognostic biomarker in gastric cancer related to tumor-promoting adipocytes', *J Pathol*, 256: 71-82.
- Grosser, B., C. M. Heyer, J. Austgen, E. Sipos, N. G. Reitsam, A. Hauser, A. VanSchoiack, D. Kroeppler, D. Vlasenko, A. Probst, A. Novotny, W. Weichert, G. Keller, M. Schlesner, and B. Markl. 2023. 'Stroma AReactive Invasion Front Areas (SARIFA) proves prognostic relevance in gastric carcinoma and is based on a tumor-adipocyte interaction indicating an altered immune response', *Gastric Cancer*.
- Hamilton, W., D. J. Sharp, T. J. Peters, and A. P. Round. 2006. 'Clinical features of prostate cancer before diagnosis: a population-based, case-control study', *Br J Gen Pract*, 56: 756-62.
- Harraz, A. M., N. Atia, A. Ismail, A. Shady, H. Farg, H. Gabr, M. Fouda, H. Abol-Enein, and A. F. Abdel-Aziz. 2020. 'Evaluation of serum fatty acid binding protein-4 (FABP-4) as a novel biomarker to predict biopsy outcomes in prostate biopsy naive patients', *Int Urol Nephrol*, 52: 1483-90.

- Huang, M., S. Narita, T. Inoue, A. Koizumi, M. Saito, H. Tsuruta, K. Numakura, S. Satoh, H. Nanjo, T. Sasaki, and T. Habuchi. 2017. 'Fatty acid binding protein 4 enhances prostate cancer progression by upregulating matrix metalloproteinases and stromal cell cytokine production', *Oncotarget*, 8: 111780-94.
- Hugen, N., C. J. H. van de Velde, J. H. W. de Wilt, and I. D. Nagtegaal. 2014. 'Metastatic pattern in colorectal cancer is strongly influenced by histological subtype', *Ann Oncol*, 25: 651-57.
- Iyengar, N. M., A. Gucalp, A. J. Dannenberg, and C. A. Hudis. 2016. 'Obesity and Cancer Mechanisms: Tumor Microenvironment and Inflammation', *J Clin Oncol*, 34: 4270-76.
- Kapoor, J., B. Namdarian, J. Pedersen, C. Hovens, D. Moon, J. Peters, A. J. Costello, P. Ruljancich, and N. M. Corcoran. 2013. 'Extraprostatic extension into periprostatic fat is a more important determinant of prostate cancer recurrence than an invasive phenotype', *J Urol*, 190: 2061-6.
- Kelly, T., W. Yang, C. S. Chen, K. Reynolds, and J. He. 2008. 'Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030', *Int J Obes (Lond)*, 32: 1431-7.
- Kestin, L. L., F. A. Vicini, and A. A. Martinez. 2002. 'Practical application of biochemical failure definitions: what to do and when to do it', *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 53: 304-15.
- Kroguue, J. D., S. Azizi, F. Tan, I. Flament-Auvigne, T. Brown, M. Plass, R. Reihs, H. Muller, K. Zatloukal, P. Richeson, G. S. Corrado, L. H. Peng, C. H. Mermel, Y. Liu, P. C. Chen, S. Gombard, T. Montine, J. Shen, D. F. Steiner, and E. Wulczyn. 2023. 'Predicting lymph node metastasis from primary tumor histology and clinicopathologic factors in colorectal cancer using deep learning', *Commun Med (Lond)*, 3: 59.
- L'Imperio, V., E. Wulczyn, M. Plass, H. Muller, N. Tamini, L. Gianotti, N. Zucchini, R. Reihs, G. S. Corrado, D. R. Webster, L. H. Peng, P. C. Chen, M. Lavitrano, Y. Liu, D. F. Steiner, K. Zatloukal, and F. Pagni. 2023. 'Pathologist Validation of a Machine Learning-Derived Feature for Colon Cancer Risk Stratification', *JAMA Netw Open*, 6: e2254891.
- Lan, C., A. Heindl, X. Huang, S. Xi, S. Banerjee, J. Liu, and Y. Yuan. 2015. 'Quantitative histology analysis of the ovarian tumour microenvironment', *Sci Rep*, 5: 16317.
- Laurent, V., A. Guerard, C. Mazerolles, S. Le Gonidec, A. Toulet, L. Nieto, F. Zaidi, B. Majed, D. Garandeau, Y. Socrier, M. Golzio, T. Cadoudal, K. Chaoui, C. Dray, B. Monsarrat, O. Schiltz, Y. Y. Wang, B. Couderc, P. Valet, B. Malavaud, and C. Muller. 2016. 'Periprostatic adipocytes act as a driving force for prostate cancer progression in obesity', *Nat Commun*, 7: 10230.

- Lengyel, E., L. Makowski, J. DiGiovanni, and M. G. Kolonin. 2018. 'Cancer as a Matter of Fat: The Crosstalk between Adipose Tissue and Tumors', *Trends Cancer*, 4: 374-84.
- Liu, Y., L. S. Zuckier, and N. V. Ghesani. 2010. 'Dominant uptake of fatty acid over glucose by prostate cells: a potential new diagnostic and therapeutic approach', *Anticancer Res*, 30: 369-74.
- Long, X., H. Hou, X. Wang, S. Liu, T. Diao, S. Lai, M. Hu, S. Zhang, M. Liu, and H. Zhang. 2020. 'Immune signature driven by ADT-induced immune microenvironment remodeling in prostate cancer is correlated with recurrence-free survival and immune infiltration', *Cell Death Dis*, 11: 779.
- Louie, S. M., L. S. Roberts, M. M. Mulvihill, K. Luo, and D. K. Nomura. 2013. 'Cancer cells incorporate and remodel exogenous palmitate into structural and oncogenic signaling lipids', *Biochim Biophys Acta*, 1831: 1566-72.
- Martin, B., B. Grosser, L. Kempkens, S. Miller, S. Bauer, C. Dhillon, B. M. Banner, E. M. Brendel, E. Sipos, D. Vlasenko, G. Schenkirsch, S. Schiele, G. Muller, and B. Markl. 2021. 'Stroma AReactive Invasion Front Areas (SARIFA)-A New Easily to Determine Biomarker in Colon Cancer-Results of a Retrospective Study', *Cancers (Basel)*, 13.
- Mita, T., M. Furuhashi, S. Hiramitsu, J. Ishii, K. Hoshina, S. Ishimura, T. Fuseya, Y. Watanabe, M. Tanaka, K. Ohno, H. Akasaka, H. Ohnishi, H. Yoshida, S. Saitoh, K. Shimamoto, and T. Miura. 2015. 'FABP4 is secreted from adipocytes by adenylyl cyclase-PKA- and guanylyl cyclase-PKG-dependent lipolytic mechanisms', *Obesity (Silver Spring)*, 23: 359-67.
- Moch, Holger. 2022. 'Urinary and Male Genital Tumours: WHO Classification of Tumours, Volume 8'.
- Mukherjee, A., A. J. Bilecz, and E. Lengyel. 2022. 'The adipocyte microenvironment and cancer', *Cancer Metastasis Rev*, 41: 575-87.
- Mukherjee, A., C. Y. Chiang, H. A. Daifotis, K. M. Nieman, J. F. Fahrman, R. R. Lastra, I. L. Romero, O. Fiehn, and E. Lengyel. 2020. 'Adipocyte-Induced FABP4 Expression in Ovarian Cancer Cells Promotes Metastasis and Mediates Carboplatin Resistance', *Cancer Res*, 80: 1748-61.
- Nguyen, B., C. Fong, A. Luthra, S. A. Smith, R. G. DiNatale, S. Nandakumar, H. Walch, W. K. Chatila, R. Madupuri, R. Kundra, C. M. Bielski, B. Mastrogiacono, M. T. A. Donoghue, A. Boire, S. Chandarlapaty, K. Ganesh, J. J. Harding, C. A. Iacobuzio-Donahue, P. Razavi, E. Reznik, C. M. Rudin, D. Zamarin, W. Abida, G. K. Abou-Alfa, C. Aghajanian, A. Cercek, P. Chi, D. Feldman, A. L. Ho, G. Iyer, Y. Y. Janjigian, M. Morris, R. J. Motzer, E. M. O'Reilly, M. A. Postow, N. P. Raj, G. J. Riely, M. E. Robson, J. E. Rosenberg, A. Safonov, A. N.

- Shoushtari, W. Tap, M. Y. Teo, A. M. Varghese, M. Voss, R. Yaeger, M. G. Zauderer, N. Abu-Rustum, J. Garcia-Aguilar, B. Bochner, A. Hakimi, W. R. Jarnagin, D. R. Jones, D. Molena, L. Morris, E. Rios-Doria, P. Russo, S. Singer, V. E. Strong, D. Chakravarty, L. H. Ellenson, A. Gopalan, J. S. Reis-Filho, B. Weigelt, M. Ladanyi, M. Gonen, S. P. Shah, J. Massague, J. Gao, A. Zehir, M. F. Berger, D. B. Solit, S. F. Bakhoun, F. Sanchez-Vega, and N. Schultz. 2022. 'Genomic characterization of metastatic patterns from prospective clinical sequencing of 25,000 patients', *Cell*, 185: 563-75 e11.
- Nieman, K. M., H. A. Kenny, C. V. Penicka, A. Ladanyi, R. Buell-Gutbrod, M. R. Zillhardt, I. L. Romero, M. S. Carey, G. B. Mills, G. S. Hotamisligil, S. D. Yamada, M. E. Peter, K. Gwin, and E. Lengyel. 2011. 'Adipocytes promote ovarian cancer metastasis and provide energy for rapid tumor growth', *Nat Med*, 17: 1498-503.
- Nomura, D. K., J. Z. Long, S. Niessen, H. S. Hoover, S. W. Ng, and B. F. Cravatt. 2010. 'Monoacylglycerol lipase regulates a fatty acid network that promotes cancer pathogenesis', *Cell*, 140: 49-61.
- Nyberg, T., D. Frost, D. Barrowdale, D. G. Evans, E. Bancroft, J. Adlard, M. Ahmed, J. Barwell, A. F. Brady, C. Brewer, J. Cook, R. Davidson, A. Donaldson, J. Eason, H. Gregory, A. Henderson, L. Izatt, M. J. Kennedy, C. Miller, P. J. Morrison, A. Murray, K. R. Ong, M. Porteous, C. Pottinger, M. T. Rogers, L. Side, K. Snape, L. Walker, M. Tischkowitz, R. Eeles, D. F. Easton, and A. C. Antoniou. 2020. 'Prostate Cancer Risks for Male BRCA1 and BRCA2 Mutation Carriers: A Prospective Cohort Study', *Eur Urol*, 77: 24-35.
- Oh, M., N. Alkushaym, S. Fallatah, A. Althagafi, R. Aljadeed, Y. Alsowaida, J. Jeter, J. R. Martin, H. M. Babiker, A. McBride, and I. Abraham. 2019. 'The association of BRCA1 and BRCA2 mutations with prostate cancer risk, frequency, and mortality: A meta-analysis', *Prostate*, 79: 880-95.
- Onkologie, Leitlinienprogramm. 2022. "S3-Leitlinie Prostatakarzinom, Langversion 6.2, 2021, AWMF Registernummer: 043/022OL." In.
- Pascual, G., A. Avgustinova, S. Mejetta, M. Martin, A. Castellanos, C. S. Attolini, A. Berenguer, N. Prats, A. Toll, J. A. Hueto, C. Bescos, L. Di Croce, and S. A. Benitah. 2017. 'Targeting metastasis-initiating cells through the fatty acid receptor CD36', *Nature*, 541: 41-45.
- Pizer, E. S., B. R. Pflug, G. S. Bova, W. F. Han, M. S. Udan, and J. B. Nelson. 2001. 'Increased fatty acid synthase as a therapeutic target in androgen-independent prostate cancer progression', *Prostate*, 47: 102-10.
- Price, D. T., R. E. Coleman, R. P. Liao, C. N. Robertson, T. J. Polascik, and T. R. DeGrado. 2002. 'Comparison of [18 F]fluorocholine and [18 F]fluorodeoxyglucose for positron emission tomography of androgen dependent and androgen independent prostate cancer', *J Urol*, 168: 273-80.

- Rawla, P. 2019. 'Epidemiology of Prostate Cancer', *World J Oncol*, 10: 63-89.
- Reitsam, N. G., V. Grozdanov, C. M. L. Loffler, H. S. Muti, B. Grosser, J. N. Kather, and B. Markl. 2023. 'Novel biomarker SARIFA in colorectal cancer: highly prognostic, not genetically driven and histologic indicator of a distinct tumor biology', *Cancer Gene Ther.*
- Reitsam, N. G., B. Markl, S. Dintner, E. Sipos, P. Grochowski, B. Grosser, F. Sommer, S. Eser, P. Nerlinger, F. Jordan, A. Rank, P. Lohr, and J. Waidhauser. 2023. 'Alterations in Natural Killer Cells in Colorectal Cancer Patients with Stroma AReactive Invasion Front Areas (SARIFA)', *Cancers (Basel)*, 15.
- Remmele, W., and H. E. Stegner. 1987. '[Recommendation for uniform definition of an immunoreactive score (IRS) for immunohistochemical estrogen receptor detection (ER-ICA) in breast cancer tissue]', *Pathologe*, 8: 138-40.
- Sartor, O., J. de Bono, K. N. Chi, K. Fizazi, K. Herrmann, K. Rahbar, S. T. Tagawa, L. T. Nordquist, N. Vaishampayan, G. El-Haddad, C. H. Park, T. M. Beer, A. Armour, W. J. Perez-Contreras, M. DeSilvio, E. Kpamegan, G. Gericke, R. A. Messmann, M. J. Morris, B. J. Krause, and Vision Investigators. 2021. 'Lutetium-177-PSMA-617 for Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer', *N Engl J Med*, 385: 1091-103.
- Scaglia, N., Y. R. Frontini-Lopez, and G. Zadra. 2021. 'Prostate Cancer Progression: as a Matter of Fats', *Front Oncol*, 11: 719865.
- Scheinberg, T., B. Mak, L. Butler, L. Selth, and L. G. Horvath. 2023. 'Targeting lipid metabolism in metastatic prostate cancer', *Ther Adv Med Oncol*, 15: 17588359231152839.
- Schemper, M., and T. L. Smith. 1996. 'A note on quantifying follow-up in studies of failure time', *Control Clin Trials*, 17: 343-6.
- Sekhoacha, M., K. Riet, P. Motloun, L. Gumenu, A. Adegoke, and S. Mashele. 2022. 'Prostate Cancer Review: Genetics, Diagnosis, Treatment Options, and Alternative Approaches', *Molecules*, 27.
- Siegel, R. L., K. D. Miller, N. S. Wagle, and A. Jemal. 2023. 'Cancer statistics, 2023', *CA Cancer J Clin*, 73: 17-48.
- Silverstein, R. L., and M. Febbraio. 2009. 'CD36, a scavenger receptor involved in immunity, metabolism, angiogenesis, and behavior', *Sci Signal*, 2: re3.
- Smith, A. J., M. A. Sanders, B. E. Juhlmann, A. V. Hertz, and D. A. Bernlohr. 2008. 'Mapping of the hormone-sensitive lipase binding site on the adipocyte fatty acid-binding protein

- (AFABP). Identification of the charge quartet on the AFABP/aP2 helix-turn-helix domain', *J Biol Chem*, 283: 33536-43.
- Streicher, J., B. L. Meyerson, V. Karivedu, and A. Sidana. 2019. 'A review of optimal prostate biopsy: indications and techniques', *Ther Adv Urol*, 11: 1756287219870074.
- Sung, H., J. Ferlay, R. L. Siegel, M. Laversanne, I. Soerjomataram, A. Jemal, and F. Bray. 2021. 'Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries', *CA Cancer J Clin*, 71: 209-49.
- Sung, M. T., H. Lin, M. O. Koch, D. D. Davidson, and L. Cheng. 2007. 'Radial distance of extraprostatic extension measured by ocular micrometer is an independent predictor of prostate-specific antigen recurrence: A new proposal for the substaging of pT3a prostate cancer', *Am J Surg Pathol*, 31: 311-8.
- Tothill, R. W., A. V. Tinker, J. George, R. Brown, S. B. Fox, S. Lade, D. S. Johnson, M. K. Trivett, D. Etemadmoghadam, B. Locandro, N. Traficante, S. Fereday, J. A. Hung, Y. E. Chiew, I. Haviv, Group Australian Ovarian Cancer Study, D. Gertig, A. DeFazio, and D. D. Bowtell. 2008. 'Novel molecular subtypes of serous and endometrioid ovarian cancer linked to clinical outcome', *Clin Cancer Res*, 14: 5198-208.
- Tsechelidis, I., and A. Vrachimis. 2022. 'PSMA PET in Imaging Prostate Cancer', *Front Oncol*, 12: 831429.
- Tsujino, T., I. Seshimo, H. Yamamoto, C. Y. Ngan, K. Ezumi, I. Takemasa, M. Ikeda, M. Sekimoto, N. Matsuura, and M. Monden. 2007. 'Stromal myofibroblasts predict disease recurrence for colorectal cancer', *Clin Cancer Res*, 13: 2082-90.
- van den Ouden, D., R. Kranse, W. C. Hop, T. H. van der Kwast, and F. H. Schroder. 1998. 'Microvascular invasion in prostate cancer: prognostic significance in patients treated by radical prostatectomy for clinically localized carcinoma', *Urol Int*, 60: 17-24.
- van der Kwast, T. H., L. Collette, H. Van Poppel, P. Van Cangh, K. Vekemans, L. DaPozzo, J. F. Bosset, K. H. Kurth, F. H. Schroder, M. Bolla, Research European Organisation for, Radiotherapy Treatment of Cancer, and Groups Genito-Urinary Cancer. 2006. 'Impact of pathology review of stage and margin status of radical prostatectomy specimens (EORTC trial 22911)', *Virchows Arch*, 449: 428-34.
- Vander Heiden, M. G., L. C. Cantley, and C. B. Thompson. 2009. 'Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation', *Science*, 324: 1029-33.
- Vasseur, S., and F. Guillaumond. 2022. 'Lipids in cancer: a global view of the contribution of lipid pathways to metastatic formation and treatment resistance', *Oncogenesis*, 11: 46.

- Verstegen, M. H., M. Harker, C. van de Water, J. van Dieren, N. Hugen, I. D. Nagtegaal, C. Rosman, and R. S. van der Post. 2020. 'Metastatic pattern in esophageal and gastric cancer: Influenced by site and histology', *World J Gastroenterol*, 26: 6037-46.
- Wang, J., S. Li, Y. Liu, C. Zhang, H. Li, and B. Lai. 2020. 'Metastatic patterns and survival outcomes in patients with stage IV colon cancer: A population-based analysis', *Cancer Med*, 9: 361-73.
- Wang, Y. Y., C. Attane, D. Milhas, B. Dirat, S. Dauvillier, A. Guerard, J. Gilhodes, I. Lazar, N. Alet, V. Laurent, S. Le Gonidec, D. Biard, C. Herve, F. Bost, G. S. Ren, F. Bono, G. Escourrou, M. Prentki, L. Nieto, P. Valet, and C. Muller. 2017. 'Mammary adipocytes stimulate breast cancer invasion through metabolic remodeling of tumor cells', *JCI Insight*, 2: e87489.
- Watt, M. J., A. K. Clark, L. A. Selth, V. R. Haynes, N. Lister, R. Rebello, L. H. Porter, B. Niranjana, S. T. Whitby, J. Lo, C. Huang, R. B. Schittenhelm, K. E. Anderson, L. Furic, P. R. Wijayaratne, M. Matzaris, M. K. Montgomery, M. Papargiris, S. Norden, M. Febbraio, G. P. Risbridger, M. Frydenberg, D. K. Nomura, and R. A. Taylor. 2019. 'Suppressing fatty acid uptake has therapeutic effects in preclinical models of prostate cancer', *Sci Transl Med*, 11.
- Wittekind, Christian. 2016. *TNM: Klassifikation maligner Tumoren* (John Wiley & Sons).
- Wulczyn, E., D. F. Steiner, M. Moran, M. Plass, R. Reihs, F. Tan, I. Flament-Auvigne, T. Brown, P. Regitnig, P. C. Chen, N. Hegde, A. Sadhwani, R. MacDonald, B. Ayalew, G. S. Corrado, L. H. Peng, D. Tse, H. Muller, Z. Xu, Y. Liu, M. C. Stumpe, K. Zatloukal, and C. H. Mermel. 2021. 'Interpretable survival prediction for colorectal cancer using deep learning', *NPJ Digit Med*, 4: 71.
- Xu, A., Y. Wang, J. Y. Xu, D. Stejskal, S. Tam, J. Zhang, N. M. Wat, W. K. Wong, and K. S. Lam. 2006. 'Adipocyte fatty acid-binding protein is a plasma biomarker closely associated with obesity and metabolic syndrome', *Clin Chem*, 52: 405-13.
- Zhang, L., B. Wu, Z. Zha, H. Zhao, J. Yuan, Y. Jiang, and W. Yang. 2018. 'Surgical margin status and its impact on prostate cancer prognosis after radical prostatectomy: a meta-analysis', *World J Urol*, 36: 1803-15.
- Zhang, M., J. S. Di Martino, R. L. Bowman, N. R. Campbell, S. C. Baksh, T. Simon-Vermot, I. S. Kim, P. Haldeman, C. Mondal, V. Yong-Gonzales, M. Abu-Akeel, T. Merghoub, D. R. Jones, X. G. Zhu, A. Arora, C. E. Ariyan, K. Birsoy, J. D. Wolchok, K. S. Panageas, T. Hollmann, J. J. Bravo-Cordero, and R. M. White. 2018. 'Adipocyte-Derived Lipids Mediate Melanoma Progression via FATP Proteins', *Cancer Discov*, 8: 1006-25.

7. Appendix

7.1 Abkürzungsverzeichnis

[⁶⁸ Ga]Ga-PSMA-PET/CT Scans	Positronen-Emissions-Tomographie/Computertomographie mit dem Liganden PSMA, gekoppelt an ⁶⁸ Gallium
ADT	Androgendeprivationstherapie
AUA	American Urological Association
BCRF	Biochemisch-rezidivfrei
BMI	Body-Mass-Index
BRCA1	Breast Cancer 1, Brustkrebsgen 1
BRCA2	Breast Cancer 2, Brustkrebsgen 2
BRFS	Überleben ohne Biochemisches Rezidiv
CAA	Cancer-associated-adipocytes
CCCA	Comprehensive Cancer Center Augsburg des Universitätsklinikums Augsburg
CCL7	C-C Chemokin Ligand 7
CCR3	C-C Chemokinrezeptor Typ 3
CD36	Glykoprotein CD36 (andere Bezeichnungen: FAT, SCARB3, SR-B2, GP4)
CT	Computertomographie

cT3/cT4	Klinisches Tumorstadium 3; klinisches Tumorstadium 4
DAB	3,3'-Diaminobenzidins
DNA	Deoxyribonucleic acid
DRU	Digital-rektale Untersuchung
EDTA-Lösung	Ethylendiamintetraacetat-Lösung
EPE	Extraprostatistische Extension
FABP4	Fatty acid binding protein
GnRH	Gonadotropin-Releasing-Hormon
H&E	Hämatoxylin-Eosin Färbung
HR	Hazard Ratio
HSL	Hormonsensitive Lipase
IF	Invasionsfront
iPSA	Initialer Wert des Prostata-spezifischen Antigens
ISUP Pathology	International Society of Urological
KI	Konfidenzintervall
L-Status	Status Lymphatische Invasion
LXR	Leber-X-Rezeptor
M0	Absenz von Fernmetastasen

M1	Präsenz von Fernmetastasen
MAGL	Monoacylglycerol Lipase
M-Kategorie	Kategorie der TNM-Klassifikation zur Beschreibung der Präsenz oder Abwesenheit von Fernmetastasen
MRT	Magnetresonanztomographie
N-Kategorie	Kategorie der TNM-Klassifikation zur Beschreibung der Präsenz oder Abwesenheit von Lymphknotenbefall
NSCLC	Nicht-kleinzelliges Lungenkarzinom
OS	Overall survival
PARP-Inhibitors	Poly(ADP-ribose)-Polymerase Hemmer
PET/CT	Positronen-Emissions-Tomographie/Computer Tomographie
Pn-Status	Status der Perineuralscheideninfiltration
PSA	Prostata-spezifisches Antigen
PSMA	Prostata-spezifisches Membranantigen
PSMA PET/CT	Prostata-spezifisches Membranantigen – gerichtete Positronen-Emissions-Tomographie/Computer Tomographie
pT3a	Ausdehnung des Primärtumors, Stadium 3a, Teil der TNM-Klassifikation
R1	Positiver Resektionsstatus
RNA	Ribonucleic acid

ROS	Reactive oxygen species
SARIFA	Stroma AReaktives Invasions Front Areal
TAF	Tumor adipose feature
TIM	Tumor-Immun-Microenvironment
TNM-Klassifikation	Staging-Schema für Tumorerkrankungen
TZ	Tumorzentrum
UICC	Union for International Cancer Control
V-Status	Status der Veneninvasion
WHO	World Health Organization

7.2 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Studiendesign des Promotionsprojektes zu SARIFA beim Prostatakarzinom. Die Kohorte an Prostatakarzinomen des Stadiums pT3a wurde lichtmikroskopisch bzgl. des SARIFA-Status analysiert. Darauf folgte eine Auswertung hinsichtlich klinisch-pathologischer Charakteristika und Kaplan-Meier Überlebenszeitanalysen. Es wurden immunhistochemische Färbungen an einem Teil der Kohorte durchgeführt. Des Weiteren wurde der Zusammenhang zwischen SARIFA-Status und Metastasierungsmuster mithilfe von PSMA PET/CT Untersuchungen analysiert. CD36: Glykoprotein CD36; FABP4: Fatty acid binding protein 4; PSMA PET/CT: Prostata-spezifisches Membranantigen - gerichtete Positronen-Emissions-Tomographie/Computertomographie; pT3a: TNM-Klassifikation, Ausdehnung des Primärtumors, Stadium 3a; SARIFA: Stroma AReaktives Invasions Front Areal 14

Abbildung 2: Repräsentatives Beispiel eines SARIFA-positiven pT3a Prostatakarzinoms. In diesem SARIFA-positiven Fall besteht ein direkter Kontakt der Karzinomzellen (1) mit den Adipozyten (2), diese sind nicht durch bindegewebiges Stroma (3) getrennt. A: Übersicht, Messbalken 200 µm; B: Auszug, Messbalken 50 µm. pT3a: TNM-Klassifikation, Ausdehnung des Primärtumors, Stadium 3a; SARIFA: Stroma AReaktives Invasions Front Areal 17

Abbildung 3: Repräsentatives Beispiel eines SARIFA-negativen pT3a Prostatakarzinoms. In diesem SARIFA-negativen Fall sind die Karzinomzellen (1) von den Adipozyten (2) durch bindegewebiges Stroma (3) getrennt. Messbalken 50 µm. pT3a: TNM-Klassifikation, Ausdehnung des Primärtumors, Stadium 3a; SARIFA: Stroma AReaktives Invasions Front Areal 18

Abbildung 4: Repräsentative Beispiele SARIFA-positiver und SARIFA-negativer pT3a Prostatakarzinome. A, B: In SARIFA-positiven Fällen besteht ein direkter Kontakt der Karzinomzellen (1) mit den Adipozyten (2). C, D: SARIFA-negative Fälle unterscheiden sich hiervon, da hier kein direkter Kontakt zwischen den Adipozyten (2) und den Karzinomzellen (1) besteht; diese sind hier durch beispielsweise bindegewebiges Stroma (3) getrennt. Messbalken 50µm. pT3a: TNM-Klassifikation, Ausdehnung des Primärtumors, Stadium 3a; SARIFA: Stroma AReaktives Invasions Front Areal 23

Abbildung 5: Kaplan-Meier Kurven zur Darstellung des Gesamtüberlebens der Patienten mit pT3a Prostatakarzinom, stratifiziert durch den SARIFA-Status. pT3a: TNM-Klassifikation, Ausdehnung des Primärtumors, Stadium 3a; SARIFA: Stroma AReaktives Invasions Front Areal 28

Abbildung 6: Kaplan-Meier Kurven zur Darstellung des Gesamtüberlebens der Patienten mit pT3a Prostatakarzinom, stratifiziert durch den quantitativen Ansatz des SARIFA-Status. Gegenüberstellung SARIFA-positiver und SARIFA-negativer

Patienten unter Anwendung des quantitativen Cut-offs von einem Drittel der Objektträger. pT3a: TNM-Klassifikation, Ausdehnung des Primärtumors, Stadium 3a; SARIFA: Stroma AReaktives Invasions Front Areal..... 29

Abbildung 7: Kaplan-Meier Kurven zur Darstellung der Überlebenszeit der Patienten mit pT3a Prostatakarzinom mit Hinblick auf ein biochemisches Rezidiv, stratifiziert nach SARIFA-Status. BCRF: Biochemisch-rezidivfrei; pT3a: TNM-Klassifikation, Ausdehnung des Primärtumors, Stadium 3a; SARIFA: Stroma AReaktives Invasions Front Areal 30

Abbildung 8: Immunhistochemische Färbungen für FABP4. A: Es besteht kein statistisch signifikanter Unterschied in der FABP4-Expression zwischen SARIFA-positiven und SARIFA-negativen Fällen, weder an der Invasionsfront noch im Tumorzentrum (p jeweils $>0,05$). B, C: Dennoch zeigten einige SARIFA-positive Fälle eine relevante FABP4-Expression an der Invasionsfront; D, E: Tendenziell fiel die FABP4-Expression hier bei den SARIFA-negativen Fällen hingegen etwas geringer aus (dieser Unterschied war nicht statistisch signifikant, und war dementsprechend auch nicht in allen Fällen ausgeprägt). Die FABP4-Expression wurde anhand des Prozentsatzes positiver Tumorzellen eingeordnet. FABP4: Fatty acid binding protein 4; IF: Invasionsfront des Tumors; SARIFA: Stroma Areaktives Invasions Front Areal; TZ Tumorzentrum. Messbalken 50 μm 32

Abbildung 9: Immunhistochemische Färbungen für CD36. A: Es besteht eine statistisch signifikant erhöhte CD36-Expression in der Invasionsfront SARIFA-positiver Fälle ($p=0,0012$). B, C: Repräsentative Darstellung SARIFA-positiver Fälle mit erhöhter CD36-Expression an der Invasionsfront; D, E: Dagegen war die Expression des CD36 an der Invasionsfront bei den SARIFA-negativen Fällen nicht erhöht. Die CD36-Expression wurde gemäß dem Vorgehen von Grosser et al. bei der CD36-Auswertung am Magenkarzinom durchgeführt (Grosser et al. 2022). CD36: Glykoprotein CD36; IF: Invasionsfront des Tumors; IRS: Immunreaktiver Score nach Remmele und Stegner; SARIFA: Stroma Areaktives Invasions Front Areal; TZ Tumorzentrum. Messbalken 50 μm 34

7.3 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: T-Klassifikation des Prostatakarzinoms (gemäß TNM-Klassifikation Maligner Tumoren, Achte Auflage) (Wittekind 2016).....	5
---	---

Tabelle 2: Klinisch-pathologische Charakteristika von Prostatakarzinomen (pT3a) im Hinblick auf den SARIFA-Status. Statistisch signifikante p-Werte wurden markiert. pN: Status des Lymphknotenbefalls; pT: Infiltrationstiefe; R-Klassifikation: Resektionsstatus; SARIFA: Stroma AReaktives Invasions Front Areal; Extraprostatistische Extension nach Ball et al.; *Alter: Alter in Jahren, zum Zeitpunkt der Operation, im Median (Zeitspanne); **iPSA: Mittelwert $\pm$ Standardabweichung, in ng/ml, Initiale Werte des Prostata-spezifischen Antigens waren nur bei 211 Patienten vorhanden (34 SARIFA-positiv, 177 SARIFA-negativ).....	25
--	----

Tabelle 3: Klinisch-pathologische Charakteristika von Prostatakarzinomen (pT3a) im Hinblick auf quantitative Einordnung des SARIFA-Status (> 1/3 der Objektträger). Statistisch signifikante p-Werte wurden markiert. pN: Status des Lymphknotenbefalls; pT: Infiltrationstiefe; R-Klassifikation: Resektionsstatus; SARIFA: Stroma AReaktives Invasions Front Areal; Extraprostatistische Extension nach Ball et al.; *Alter: Alter in Jahren, zum Zeitpunkt der Operation, im Median (Zeitspanne); **iPSA: Mittelwert $\pm$ Standardabweichung, in ng/ml, Initiale Werte des Prostata-spezifischen Antigens waren nur bei 211 Patienten vorhanden (34 SARIFA-positiv, 177 SARIFA-negativ).....	27
--	----

Tabelle 4: Überlebenszeit-Analyse bei pT3a Prostatakarzinomen durch Univariate Cox Regressionsanalyse. Statistisch signifikante p-Werte wurden markiert. iPSA: Initiale Werte des Prostata-spezifischen Antigens. Diese waren nur bei 211 Patienten vorhanden (34 SARIFA-positiv, 177 SARIFA-negativ); pN: Status des regionären Lymphknotenbefalls; R-Klassifikation: Resektionsstatus; SARIFA: Stroma Areaktives Invasions Front Areal; Extraprostatistische Extension nach Ball et al.; *Einteilung der Risikogruppen: Grade Group 1 = 1; Grade Group 2 und 3 = 2; Grade Group 4 und 5 = 3	31
--	----

Tabelle 5: Stroma AReaktives Invasions Front Areal und PSMA-positive Rezidive in der PET/CT Bildgebung im Verhältnis zueinander. Statistisch signifikante p-Werte wurden rot markiert. Als „Nicht-Regionär“ wurde der Befall aller Lymphknoten außerhalb des kleinen Beckens definiert. PET/CT: Positronen-Emissions-Tomographie/Computer Tomographie; PSMA: Prostata-spezifisches Membranantigen; SARIFA: Stroma AReaktives Invasions Front Areal.....	36
--	----

7.4 Danksagung

Zuerst möchte ich mich ganz herzlich bei Prof. Dr. Bruno Märkl bedanken, dass ich in seiner Abteilung, dem Institut für Pathologie und Molekulare Diagnostik des Universitätsklinikums Augsburg im Rahmen des sehr interessanten Forschungsprojektes SARIFA promovieren durfte. Den gleichermaßen konstruktiven und sehr freundlichen Umgangston im Institut trotz des allzeit laufenden Klinikbetriebes weiß ich sehr zu schätzen.

Mein Dank gilt natürlich auch meinem Betreuer Dr. Nic Reitsam. Angefangen bei der Einarbeitung in die Arbeit am Lichtmikroskop und später durch persönliches Feedback zu konkreten fachlichen Fragen hattest du einen wesentlichen Anteil an meiner Freude bei der Durchführung und der ständigen Motivation zum erfolgreichen Abschluss des Projektes.

Ebenfalls bedanke ich mich bei Johanna Enke für die unkomplizierte Zusammenarbeit und Bereitstellung der Daten seitens der Klinik für Nuklearmedizin des Uniklinikum Augsburg.

Weiterhin bedanken will ich mich bei Christian Beul und Eva Sipos für die Beantwortung meiner Fragen und technische Unterstützung im Labor des Instituts.

Letztlich bleibt mir nur noch mich bei meinen Eltern und meinem Bruder zu bedanken, die mich auch bei diesem Projekt auf verschiedenste Weise wie selbstverständlich unterstützt haben.