

Aus der Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie
und Radioonkologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. W. Budach

**Evaluierung von Insulin-like growth factor binding
protein-2 als Tumormarker bei verschiedenen
Tumorentitäten**

Dissertation

**zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität
Düsseldorf**

vorgelegt von

Michael Rudoy
2011

Als Inauguraldissertation gedruckt mit der Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
gez.: Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf
Dekan
Referent: PD Dr. Bölke
Korreferent: Prof. Dr. Peiper

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS	3
1 EINLEITUNG	4
1.1 SOLIDE TUMOREN BEI ERWACHSENEN	4
1.2 IGF-SYSTEM	5
1.3 VERÄNDERUNGEN DES IGF-SYSTEMS BEI MALIGNEN ERKRANKUNGEN	7
1.5 FRAGESTELLUNG	8
2 PATIENTEN, MATERIAL UND METHODEN	9
2.1 PATIENTEN.....	9
2.2 METHODISCHES VORGEHEN BEI DER AUSWERTUNG	10
2.2.1 GRUPPENEINTEILUNG DER PATIENTEN NACH DIAGNOSE.....	10
2.2.2 REFERENZWERTE.....	11
2.2.3 BERECHNUNG DER PARAMETER.....	11
2.2.4 STATISTISCHE ANALYSEN	12
2.3 RADIOIMMUNOASSAY RIA ZUR MESSUNG VON IGF-I, IGF-II UND IGFBP-3	12
2.4 ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY ELISA ZUR MESSUNG VON IGFBP-2 UND ALS.....	15
2.5 BERECHNUNG DES QUOTIENTEN AUS IGF-I UND IGFBP-3.....	16
3 ERGEBNISSE	18
3.1 SERUMSPIEGEL VON IGF-I, IGF-II, IGFBP-2, IGFBP-3 UND ALS IM VERGLEICH ZU REFERENZWERTEN GESUNDER PERSONEN	18
3.2 QUOTIENT AUS IGF-I UND IGFBP-3 IM SERUM ERKRANKTER UND GESUNDER ERWACHSENER	31
4 DISKUSSION	34
4.1 ABWEICHUNGEN DER GEMESSENEN PARAMETER VON DEN REFERENZWERTEN	35
4.2 ABHÄNGIGKEIT DER SERUMSPIEGEL DES IGF-SYSTEMS VON DER TUMORMASSE	39
4.3 ZUSAMMENHANG DER SERUMSPIEGEL DES IGF-SYSTEMS MIT DEM KRANKHEITSVERLAUF	40
4.4 ROLLE DER IGFBP-2 SERUMSPIEGEL.....	41
5 SCHLUSSFOLGERUNGEN	44
6 ZUSAMMENFASSUNG	45
7 ANHANG	47
7.1 TABELLEN	47
7.2 PUFFER, LÖSUNGEN UND ANTIKÖRPER.....	55
7.3 GERÄTE	57
7.4 VERWENDETE ABKÜRZUNGEN	57
8 LITERATURNACHWEISE	58

1 Einleitung

1.1 Solide Tumoren bei Erwachsenen

Krebsleiden sind nach den Herz-Kreislauf-Krankheiten die zweithäufigste Todesursache bei Frauen und Männern in Deutschland. Die altersstandardisierte jährliche Neuerkrankungsrate (Inzidenz) stieg bei Frauen zwischen 1990 und 2002 von 307 auf insgesamt 335 Krebsfälle pro 100.000 Einwohnerinnen. Bei Männern erhöhte sich die Zahl von 411 auf 452 Fälle pro 100.000 Personen. Dies entspricht einem Zuwachs von etwa 0,8 Prozent pro Jahr. Durch bösartige Tumoren gehen viele potenzielle Lebensjahre verloren, weil die Betroffenen oft vor dem 70. Lebensjahr versterben. Dabei fallen bei Männern vor allem Lungenkrebs und bei Frauen Brustkrebs ins Gewicht. In höherem Alter dominiert bei Männern der Prostatakrebs und bei beiden Geschlechtern der Darmkrebs.

Das Mammakarzinom ist der häufigste maligne Tumor der Frau, an dem in den westlichen Industrieländern etwa jede Elfte erkrankt. Zu den Risikofaktoren gehören eine frühe Menarche und eine späte Menopause. Das Bronchialkarzinom zeigt die höchste altersstandardisierte Mortalitätsrate. Wichtigster Risikofaktor für das Bronchialkarzinom stellt das Rauchen dar. Das Prostatakarzinom ist der häufigste maligne Tumor des Mannes in der westlichen Welt. Mit zunehmendem Alter der männlichen Bevölkerung gewinnt das Prostatakarzinom medizinisch und gesundheitspolitisch eine immer größere Bedeutung. Kolorektale Karzinome stellen mittlerweile für beide Geschlechter die zweithäufigste Krebserkrankung dar. An Rektumkarzinomen erkranken in Deutschland jährlich ungefähr 15000 Menschen.

Hirntumoren machen etwa 1% der Krebsneuerkrankungen pro Jahr aus und sind für etwa 2% der jährlichen Todesfälle verantwortlich. Der biologischen Wertigkeit WHO-Grad IV werden hochmaligne, wenig differenzierte Tumoren zugeordnet. Neben den morphologischen Parametern spielen zunehmend immunhistochemische Marker wie das saure Gliafaserprotein (GFAP) und das Protein S100 für die neuropathologische Tumordiagnostik eine Rolle. Kopf-Hals-Tumoren machen bei Männern etwa 5% und bei Frauen etwa 1-2% aller malignen Erkrankungen aus. Zu den Risikofaktoren

zählen Alkohol, Tabak, Diät, mangelnde Mundhygiene, HPV 16 und, besonders in Asien, die Epstein-Barr-Virus-Infektion.

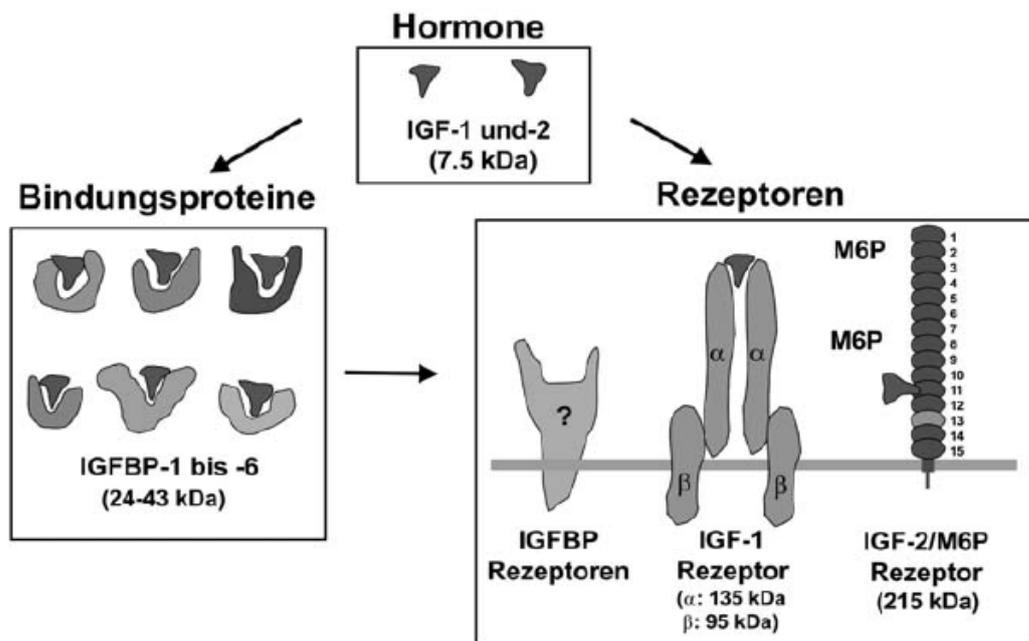
In der vorliegenden Arbeit wurden Patienten mit kolorektalem Karzinom, Prostatakarzinom, Glioblastom, Mammakarzinom, Zervixkarzinom, Endometriumkarzinom, Kopf-Hals-Tumoren, Lymphomen, Bronchialkarzinom, Nierenzellkarzinom, Pankreaskarzinom, Blasenkarzinom, Malignem Melanom, Magenkarzinom, Ösophaguskarzinom und Analkarzinom in Abhängigkeit von der Art und Ausmaß der Erkrankung auf ihre Serumspiegel von Insulin-ähnlichen Wachstumsfaktoren und deren Bindeproteinen untersucht, denen nach neueren wissenschaftlichen Erkenntnissen eine biologische Rolle im Tumorwachstum nachgesagt wird (Camacho-Hubner 2000) (Holly, Gunnell et al. 1999).

1.2 IGF-System

Die insulinähnlichen Wachstumsfaktoren (IGF I+II = insulin-like growth factor I+II), die IGF-Rezeptoren (IGF I+II-Rez.) und die IGF-Bindungs-Proteine (IGFBPs) sind an der Proliferation und Differenzierung von Zellen beteiligt. Die IGF-I und IGF-II, auch bekannt als Somatomedin C und Somatomedin A, sind einzelne Polypeptid-Ketten, dessen Aminosäure-Sequenzen sich ungefähr 47% denen von Insulin und ungefähr 31% denen von Relaxin ähneln und mit ihnen die Insulin-Familie von Polypeptid-Wachstumsfaktoren umfassen (Rinderknecht and Humbel 1978) (Rinderknecht and Humbel 1978). Sie spielen eine wichtige Rolle bei der Entwicklung des Skeletts, seiner Erhaltung und seinem Umbau sowie beim altersabhängigen Knochenverlust (Johansson, Forslund et al. 1994) (Mohan and Baylink 1993) (Lee, Kim et al. 1999) (Shelton, Chang et al. 1999) (Wang, Shen et al. 2003). Veränderungen im Gleichgewicht dieses Systems können einerseits schwere Folgen für die Entwicklung und das Wachstum haben und andererseits die Entstehung von Krebs fördern. Die mitogene Wirkung der IGFs wird über den IGF-Typ1-Rezeptor (IGF-I-R) vermittelt und ihre biologische Aktivität wird im Serum über Komplexbildung mit den Bindeproteinen IGFBP-1 bis 6 und der Säurelabilen Untereinheit (ALS) reguliert. Die Rolle des IGF-II Rezeptors besteht in der Regulierung der IGF-II Wirksamkeit durch dessen Internalisierung und anschließendem lysosomalen Abbau. Eine

Signalübertragung über Phosphorylierungskaskaden ist nur für den IGF-I Rezeptor nachgewiesen (Korner, Nurnberg et al. 1995). Wie IGF-I hat IGF-II antiapoptotische Wirkungen und regelt Zellproliferation und Zelldifferenzierung. Serumkonzentrationen von IGF-II sind höher als diejenigen von IGF-I. Bei Erwachsenen schwanken IGF-II Serumwerte zwischen 400 und 600 ng/mL, wohingegen IGF-I Niveaus zwischen 100 und 200 ng/mL liegen. Während IGF-II hauptsächlich an der Kontrolle des pränatalen Wachstums beteiligt ist, stimuliert IGF-I das Wachstum während der postnatalen Periode. Gebunden im ternären Komplex mit IGFBP-3 und ALS können IGFs die Blutbahn nicht verlassen und haben eine vielfach höhere Halbwertszeit als ungebundene IGFs (Smith, Underwood et al. 1995) (Twigg and Baxter 1998). So hat freies IGF-I eine kurze Halbwertszeit von ca. 7 Min, IGFBP-3 gebundenes IGF-I dagegen ca. 6-7 Stunden. Es wird angenommen, dass hohe ALS-Serumspiegel, zum Beispiel über Erhöhung der Bindungsaffinität von IGFBP-3 gegenüber IGF-I und IGF-II (Barreca, Ponzani et al. 1995), vor raschem Tumorwachstum schützt. Spezifische Proteasen spalten die ternären Komplexe jedoch und setzen damit IGF bei erhöhtem Bedarf, z.B. während der Schwangerschaft frei (Bunn and Fowlkes 2003) (Rajah, Katz et al. 1995).

Abbildung 1



Das IGF-System im Überblick

[A.Hoeflich 2006]

Die Regulatoren des IGF-Systems sind das rhythmisch sekretierte Wachstumshormon (hGH) und die Nahrungsaufnahme (Blum and Ranke 1990). Für die korrekte Interpretation gemessener Serumspiegel ist unbedingt die Altersabhängigkeit der Serumspiegel der IGFs und ihrer Bindeproteine zu berücksichtigen. Behandlungsmethoden wie Chemotherapie oder Bestrahlung, die bei Tumorpatienten eine Rolle spielen, nehmen zudem Einfluss auf dieses komplexe System (Birkebaek, Fisker et al. 1998) (Ranke, Maier et al. 2003) (Rinderknecht and Humbel 1978), z.B. über die hypophysäre hGH-Produktion oder die Leber, bzw. die renale Ausscheidung. Hauptsyntheseort für IGF-I und IGFBP-3 ist die Leber, weshalb bei Patienten mit eingeschränkter Leberfunktion geringere Serumspiegel dieser Faktoren gemessen werden (Blum and Ranke 1990). IGF-II hingegen wird auch peripher, zum Beispiel in Zellen des Immunsystems und in der Niere gebildet.

1.3 Veränderungen des IGF-Systems bei malignen Erkrankungen

Ein weiterer pathophysiologischer Aspekt des IGF-Systems ist malignes Tumorwachstum. IGFs werden von fast allen Geweben produziert (Gosteli-Peter, Winterhalter et al. 1994) (Han, D'Ercole et al. 1987). Wenn sie von malignen Tumoren sezerniert werden, wirken sie autokrin/parakrin innerhalb des Tumorgewebes. Der IGF-I hemmt den programmierten Zelltod (Apoptose). Eine antiapoptotische Wirkung von IGF und IGFBP wurde in Zellkulturen von einigen Geschwülsten bewiesen. Ebenso werden IGF-bindende Rezeptoren, wie der IGF-1R oder einzelne Bindungsproteine in Karzinomen oder Sarkomen sehr hoch exprimiert. Der IGF-II Protein wird in Wilms Geschwülsten überexprimiert (Scott, Cowell et al. 1985). WT1 verzögert blastemale Zellproliferation, indem es die Produktion eines fötalen Wachstumsfaktors in der sich entwickelnden Niere verhindert. Bei Neoplasien des Blutes, der Prostata, der Brust, des Kolons und insbesondere bei Weichteiltumoren wurde z.B. eine erhöhte IGFBP-2 Expression und/oder erhöhte Serumspiegel für IGFBP-2 nachgewiesen (Cohen, Peehl et al. 1993) (Elmlinger, Rauschnabel et al. 1999) (Elmlinger, Wimmer et al. 1996) (Hoflich, Lahm et al. 1998) (Kiess, Koepf et al. 1997) (Mohnike, Kluba et al. 1996) (Wang, Shen et al. 2003)

(Yakar and Rosen 2003) (Yee 1994) (Hoefflich, Weber et al. 2002) (Yun 1998). IGFBP-2 ist durch seinen Einfluss auf die Zellproliferation und Zelladhäsion in der Lage, ein Tumorwachstum zu beschleunigen (Rosen 2000) (Frommer, Reichenmiller et al. 2006) (Menouny, Binoux et al. 1998).

Das IGF-System reguliert in Tumoren neben Proliferation und Apoptosehemmung weitere biologische Effekte, wie Zellmigration oder Metastasierung. Diese biologischen Effekte wurden *in vitro* an Tumorzellkulturen, *in vivo* an Tumorpräparaten oder auch in tierexperimentellen Tumormodellen aufgestellt (Baxter 1986) (Daughaday and Rotwein 1989).

1.5 Fragestellung

Die Wirkung von IGFBP-2 auf das Wachstum von Tumoren *in vivo* ist bislang nur unzureichend untersucht worden.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Blutspiegel von IGF-I und IGF-II sowie von IGFBP-2 und IGFBP-3 bei Patienten mit verschiedenen Erkrankungen untersucht. Dabei wurden die Faktoren zu Beginn und bei Abschluss der Behandlung gemessen.

Ziel der Arbeit ist festzustellen, bei welchen Tumoren der IGFBP-2-Spiegel erhöht ist. Ein Tumormarker kann als Verlaufskontrolle nach einer Resektion des Tumors bzw. einer Radiochemotherapie verwendet werden. Dadurch lässt sich bei einem erneuten Anstieg ein Rezidiv leichter erkennen und gegebenenfalls früher therapieren. Dies kann die Überlebenschance eines Patienten verbessern.

2 Patienten, Material und Methoden

2.1 Patienten

In dieser prospektiven Studie untersuchten wir in den ersten zwei Tagen bei Beginn und in den letzten zwei Tagen bei Abschluss der Radiotherapie bei 67 weiblichen und 109 männlichen Patienten (mittleres Alter 65,0 +/-20 Jahre), welche wegen kolorektalem Karzinom (22), Prostatakarzinom (21), Glioblastom (12), Mammakarzinom (9), Zervixkarzinom (5), Endometriumkarzinom (1), Plattenepithelkarzinom im Kopfhals-Bereich (17), Lymphomen (20), Bronchialkarzinom (34), Nierenzellkarzinom (3), Pankreaskarzinom (3), Blasenkarzinom (1), Malignem Melanom (5), Magenkarzinom (1), Ösophaguskarzinom (5) und Analkarzinom (4) behandelt wurden sowie bei 13 Kontrollpersonen, IGF-I, IGF-II, IGFBP-2, IGFBP-3 und ALS-Spiegel im Serum. Die Proben wurden gesammelt und dann die Werte bei der Firma Mediagnost Tübingen bestimmt. Die Messungen wurden im August 2007 durchgeführt. Die oben genannten Diagnosen der erkrankten Patienten wurden in den Jahren 1981 bis 2006 gestellt. Die Strahlenbehandlungen erfolgten in den Jahren 2006 und 2007. In dem Krankengut waren Patienten mit lokal begrenzten aber auch hämatogen metastasierten Tumoren in der Primär- und Rezidivtherapie enthalten, die die Radiotherapie in kurativer oder palliativer Indikation erhielten. Hieraus ergibt sich ein heterogenes Patientenkollektiv mit unterschiedlichem Alter, unterschiedlicher Diagnose und unterschiedlicher Therapie. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Universitätsklinik Düsseldorf genehmigt. Die Daten der Patienten sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1: Übersicht Patientendaten

Diagnose	Patientenzahl	Mittleres Alter	Geschlecht männlich	Geschlecht weiblich
Kolorektales-Ca	22	67,1	13	9
Prostata-Ca	21	69,4	21	0
Glioblastom	12	54,8	8	4
Mamma-Ca	9	63,3	1	8
Zervix-Ca	5	58,6	0	5
Endometrium-Ca	1	65,9	0	1
HNO-Tumor	17	69,1	7	10
Lymphom	20	60,3	16	4
Bronchial-Ca	34	66,0	25	9
Nierenzell-Ca	3	59,7	2	1
Pankreas-Ca	3	65,4	2	1
Blasen-Ca	1	60,0	1	0
Malignes Melanom	5	77,2	3	2
Magen-Ca	1	70,6	0	1
Ösophagus-Ca	5	66,2	4	1
Anal-Ca	4	58,4	1	3
Kontrollpersonen	13	37,1	5	8
Summe	176	63,2	141	87

2.2 Methodisches Vorgehen bei der Auswertung

2.2.1 Gruppeneinteilung der Patienten nach Diagnose

Die 176 Patienten sind anhand ihrer Diagnose in 17 Gruppen eingeteilt worden (siehe Tabelle 1).

So entstanden 17 Diagnose-Gruppe, die unterschiedlich groß sind. Die Diagnose-Gruppen, die mindestens fünfzehn Patienten beinhalten (Kolorektales-Ca, Prostata-Ca, HNO-Tumor, Lymphom, Bronchial-Ca) sowie Kontrollpatienten werden in den entsprechenden Tabellen gesondert aufgeführt, die Gruppen Glioblastom, Mamma-Ca, Zervix-Ca, Endometrium-Ca, Nierenzell-Ca, Pankreas-Ca, Blasen-Ca, Malignes Melanom, Magen-Ca, Ösophagus-Ca und Anal-Ca werden in den Tabellen wegen der kleinen Gruppengröße als „sonstige Tumore“ zusammengefasst. So wird im Ergebnisteil mit sieben Gruppen gearbeitet.

2.2.2 Referenzwerte

Zum Vergleich der im Patientenserum gemessenen Parameter IGF-I, IGF-II, IGFBP-2, IGFBP-3 und ALS werden die altersentsprechenden Referenzwerte von der Gesellschaft Mediagnost, Tübingen herangezogen (Ranke and Elmlinger 1997). Sie wurden mit den gleichen Radioimmunoassays gemessen, wie die in dieser Studie gemessenen Parameter.

2.2.3 Berechnung der Parameter

Standard Deviation Score (SDS)

Zur Berechnung der standardisierten Normabweichung („Standard Deviation Score“, SDS) der gemessenen Parameter IGF-I, IGF-II, IGFBP-2, IGFBP-3 und ALS wurden Referenzwerte von der Gesellschaft Mediagnost, Tübingen und Juul verwendet (Juul, Moller et al. 1998). Da in die Berechnung der SDS neben den Standardwerten auch die Altersabhängigkeit der Parameter einfließt, hat die Transformation der Absolutwerte in SD-Scores den Vorteil, dass Parameter von Patienten unterschiedlichen Alters miteinander verglichen werden können.

Zur Berechnung der SD-Scores wird der Mittelwert der Verteilung eines Parameters für das jeweilige Alter vom aktuellen Messwert subtrahiert und die sich daraus ergebende Differenz durch die Standardabweichung dividiert.

Für die SDS ergibt sich somit die Formel:

$$\text{SDS} = (X - X_m) / \text{SD} [\text{SDS}]$$

X = gemessener Serumspiegel eines Parameters

X_m = Mittelwert der Serumreferenzwerte in der entsprechenden Altersklasse

SD = Standardabweichung der Referenzwerte in der entsprechenden Altersklasse

SDS-Werte geben somit die Abweichung von dem gemessenen Serumspiegel eines Patienten und dem zu erwartenden Serumspiegel im entsprechenden Alter als Standardabweichungen an. Alle Werte zwischen -2 SDS und +2 SDS liegen definitionsgemäß im Normalbereich.

2.2.4 Statistische Analysen

Die statische Auswertung und die graphischen Darstellungen sind mit Hilfe des Computerprogramms PASW Statistics, Version 18, über Tabellenkalkulation erstellt worden.

Zur statistischen Auswertung der IGF-II und IGFBP-2 Werte bei Patienten mit Prostata- und HNO-Tumoren wurde der Einstichproben-t-Test verwendet.

2.3 Radioimmunoassay RIA zur Messung von IGF-I, IGF-II und IGFBP-3

Serum-Blutwerte wurden aus einem peripher-venösen Gefäß am Unterarm des Patienten entnommen. Im Labor der Firma Mediagnost Tübingen wurden die Röhrchen bei 2000 x g für 5 Minuten zentrifugiert, der Überstand aliquotiert und bei -70°C eingefroren.

Mit Radioimmunoassays (RIA) können Proteine wie IGFs mit hoher Sensitivität und Spezifität quantitativ nachgewiesen werden. Grundlage dieser Methode ist eine Antigen-Antikörper-Reaktion, bei der eine unbekannte Menge Antigen mit einer bekannten Menge radioaktiv markierten Antigens um die Bindungsstelle am Antikörper konkurriert (kompetitiver Radioimmunoassay, RIA). Anhand der gemessenen Radioaktivität lässt sich reziprok auf die gesuchte Proteinmenge zurückrechnen. Für die Messung von IGF-I, IGF-II wurden kommerzielle Radioimmunoassays von der Firma Mediagnost Tübingen verwendet.

Die Impräzision aller Assays betrug <9% CV. Die minimale Konzentration der Proteine (Nachweisgrenze), die durch die hier genutzten Assays bestimmt werden konnte, beträgt für IGF-I 0,1 ng/ml, für IGF-II 0,3 ng/ml und für IGFBP-3 0,5 ng/ml.

Im gebrauchsfertigen Analysen-Kit sind enthalten:

- .-Assaypuffer, 2-fach Konzentrat
- Testpuffer
- Antikörper (anti-hIGFBP-3, anti-hIGFBP-3, bzw. anti-hIGF-I, oder anti-hIGF-II)
- Tracer (^{125}I -IGF-I, oder ^{125}I -IGF-II); <1,30 μCi oder <50 kBq
- Kaninchen-Immunglobulin für die Bestimmung der unspezifischen Bindung (NSB – non specific binding)
- Peptid-Standards
- Kontrollseren (humanes Serum)
- Antikörper (anti-Kaninchen-Immunglobulin)
- Präzipitationsreagenz

Probenvorbereitung:

Assayspezifische Verdünnung der Proben mit Assaypuffer:

IGF-I: 1:100

IGF-II: 1:100

IGFBP-3: 1:50

Testdurchführung:

Für IGF-I wurden die Puffer A und B verwendet, bei IGFBP-3 wurde der Assaypuffer verwendet

Die Proben werden nach folgendem Schema pipettiert. Siehe Tabelle 2.

Tabelle 2: Pipettierungsschema

Messwert	A µl	Probe µl	B µl	C µl	D µl	E µl
Total	200				100	
NSB	100		100		100	500
B0	100			100	100	500
Standards		100		100	100	500
Kontrolle 1		100		100	100	500
Kontrolle 2		100		100	100	500
Probe Verdünnt		100		100	100	500

A = Assaypuffer

B = Kaninchen IgG gelöst in A

C = 1. Antikörper (Kaninchen-anti-IGFBP-3, -anti-IGFBP-3, -anti-IGF-I, -anti-IGF-II)

D = Tracer für IGFBP-3, IGF-I, IGF-II

E = 2. AK = Schaf-anti-Kaninchen-IgG-Serum 1:350 in kaltem 4% PEG verdünnt

Total = maximale Bindung

NSB = unspezifische Bindung

B0 = Menge, die vom 1. Antikörper maximal gebunden werden kann.

(Zusammensetzung der Puffer siehe Anhang)

Die Proben und Standards werden als Doppelwerte pipettiert. Zwei Teströhrchen enthalten nur Tracer und 200 ml Assaypuffer, diese Röhrchen werden bis zur Messung beiseite gestellt. Alle Proben werden nun mit dem Vortex-Mixer geschüttelt und über mindestens 24 h, aber maximal 48 h bei 4°C inkubiert.

Nach der Inkubationszeit wird Lösung E dazu pipettiert und erneut mit dem Vortex-Mixer geschüttelt. Der 2. AK, gelöst in 4% PEG führt während einer weiteren Stunde Inkubation bei 4°C zur Bildung von Immunkomplexen. Anschließend werden die Proben für 15 Minuten bei ca. 3100 x g zentrifugiert, wobei die gebildeten Immunkomplexe präzipitieren. Nach vorsichtigem Absaugen des Überstandes erfolgte die Zugabe von 1ml kaltem Wasser und erneute Zentrifugation bei ca. 3100 x g für 5 Minuten. Nach Absaugen des Überstandes wird die Radioaktivität des Pellets im Gammacounter 1 Minute lang gezählt. Es wird eine Standardkurve ermittelt, anhand welcher die Bestimmung der Probenkonzentrationen erfolgt.

2.4 Enzyme-linked Immunosorbent Assay ELISA zur Messung von IGFBP-2 und ALS

Testprinzip:

Die Proben, Standards und Kontrollen werden in vorgefertigte Mikrotiterplatten pipettiert, die mit IGFBP-2 bzw. ALS-Antikörper beschichtet sind. Nach Inkubation bilden sich Immunkomplexe, an die sich ein nun zugefügter enzymmarkierter zweiter IGFBP-2 bzw. ALS-Antikörper anlagern kann. Das Zufügen eines Substrates, welches sich an das Enzym bindet, ergibt einen Farbstoff, der genau photometrisch quantifizierbar ist. Der hier verwendete ACTIVE™ Total IGFBP-2-ELISA-Kit stammt von der Firma Diagnostic Systems Laboratories (DSL, Sinsheim). Alle Reagenzien sind im Analysen-Kit enthalten.

Die Sensitivität des ELISAs liegt bei 0,07 µg/ml, der Intraassaykoeffizient beträgt 3,8% CV, der Interassaykoeffizient beträgt 8,9% CV.

Probenvorbereitung:

Zur Verdünnung der Proben auf 1:101 werden je 10µl Probe auf den Boden eines Polypropylenröhrchens pipettiert und 1 ml Assaypuffer zugegeben. Diese Mischung wird gut gemischt und für 30 min bei Raumtemperatur inkubiert. Standards und Kontrollen werden nicht verdünnt.

Testdurchführung:

Alle Proben werden als Doppelwerte pipettiert. 20 µl Standard, Kontrolle oder verdünnte Probe werden nach Pipettierschema in die entsprechende Vertiefung pipettiert, dann 100 µl IGFBP-2-Assaypuffer mit einem halbautomatischen Dispenser (Hamilton) in jede Vertiefung gegeben und die Mikrotiterplatte auf einem Horizontalschüttler bei 500-700 rpm für 1 Stunde bei 22-28°C inkubiert.

Danach wird die Lösung in den Vertiefungen abgesaugt und insgesamt 5x im Mikrotiterplatten-Wascher mit der Waschlösung gewaschen. Anschließend werden die Mikrotiterplatten auf Fließpapier trockengeklopft.

Als nächstes wird das Antikörper-Enzym-Konjugat frisch hergestellt. Dazu wird ein Teil Antikörper-Enzym-Konjugat mit 50 Teilen Assaypuffer verdünnt. Von diesem Konjugat werden nun mit dem halbautomatischen Dispenser 100 µl in jede Vertiefung gegeben und wieder bei Schütteln mit 500-700 rpm für 1 Stunde bei 22-28°C inkubiert, wobei sich Immunkomplexe bilden. Die Lösung in den Vertiefungen wird erneut abgesaugt und insgesamt 5x im Mikrotiterplatten-Wascher mit der Waschlösung gewaschen und anschließend auf Fließpapier trockengeklopft.

Jetzt wird, wieder mit halbautomatischem Dispenser, je 100 µl der Tetramethylbenzidinlösung zugegeben und diesmal nur für 10 min inkubiert. Die dabei stattfindende Farbreaktion wird durch Zugabe von 100 µl 0,2 M Schwefelsäure gestoppt. Die Absorption der Lösung sollte innerhalb von 30 min bei 450 nm gemessen werden. Die Berechnung der Werte erfolgt nach Erstellen der Standardkurve.

2.5 Berechnung des Quotienten aus IGF-I und IGFBP-3

Aus den im Serum gemessenen Werten der Parameter IGF-I und IGFBP-3 wird deren Verhältnis zueinander bestimmt. Dazu wird der Quotient aus dem in einer Serumprobe gemessenen IGF-I Wert und dem aus der gleichen Probe bestimmten IGFBP-3 Wert berechnet. Hieraus lässt sich die theoretische Menge des ungebundenen und damit mitogen wirksamen IGF-I im Serum abschätzen.

IGF-I liegt im Serum bekanntermaßen zu ca. 98% im Komplex mit IGFBP-3 und ALS gebunden vor, zu ca. 2% liegt es in freier Form vor. Es besteht ein Gleichgewicht zwischen gebundener und freier Form des IGF-I.

$$[98\%] \Leftrightarrow [2\%]$$

$$[\text{IGF-I/IGFBP-3/ALS}] \Leftrightarrow [\text{IGF-I}] + [\text{IGFBP-3}] + [\text{ALS}]$$

Schon bei geringer Abnahme des IGFBP-3-Spiegels verschiebt sich dieses Gleichgewicht entsprechend zugunsten der freien Form von IGF-I, welches dann mitogen wirksam werden kann.

3 Ergebnisse

3.1 Serumspiegel von IGF-I, IGF-II, IGFBP-2, IGFBP-3 und ALS im Vergleich zu Referenzwerten gesunder Personen

In den Blutseren des Patientenkollektivs wurden die Parameter IGF-I, IGF-II und IGFBP-3 mittels Radioimmunoassay und IGFBP-2 sowie ALS mittels Enzym-linked Immunosorbent Assay ermittelt. Siehe Tabellen 3 und 4 im Anhang.

Diese Werte werden unabhängig vom Tumortyp, und unabhängig vom Gesundheitszustand des Patienten mit altersentsprechenden Referenzwerten gesunder Erwachsener im Alter von 25 bis >80 Jahren verglichen (Ranke, Schweizer et al. 2000).

Um zu einer repräsentativen Aussage über die Verteilung der Werte innerhalb der Gruppe eines Tumortyps zu gelangen, werden die fünf Tumortypen, von denen über 15 Messwerte vorliegen, zur Beschreibung herausgegriffen. Dazu zählen das Prostata-Ca mit 21 Messwerten, das Kolorektal-Ca mit 22 Messwerten, die HNO-Tumoren mit 17 Messwerten, das Bronchial-Ca mit 34 Messwerten und die Lymphome mit 20 Messwerten. Bei allen Patienten lag zum Zeitpunkt der Probenentnahme ein makroskopischer Tumor vor.

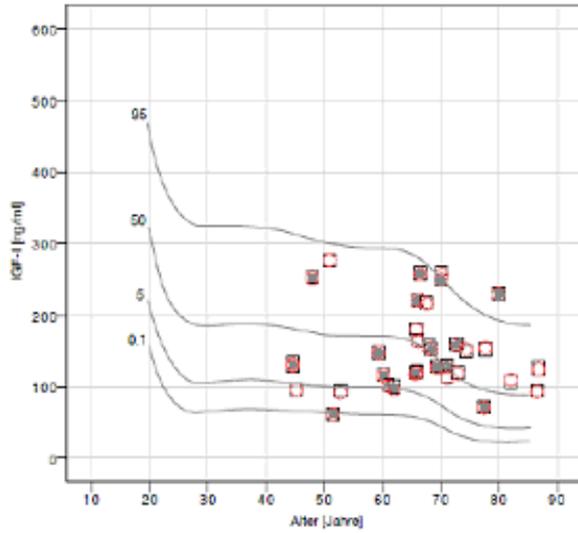
Um eine Aussage über die Höhe der Serumspiegel der gemessenen Parameter in Abhängigkeit vom Tumorstatus zu treffen, wurden die Messwerte der Patienten in zwei Gruppen unterteilt. Patienten mit lokoregionären Tumoren wurden in den unten aufgeführten Abbildungen mit offenem Viereck bzw. Kreis dargestellt. Dagegen kommen Patienten mit bereits stattgefundenener Metastasierung in den Abbildungen mit geschlossenem Viereck bzw. Kreis zur Darstellung.

IGF-I: Vergleich der IGF-I Serumwerte der erkrankten Erwachsenen mit den Referenzwerten. Die am Anfang und gegen Ende der Radiotherapie gemessenen Werte von IGF-I unterscheiden sich bei allen untersuchten Tumorentitäten nur

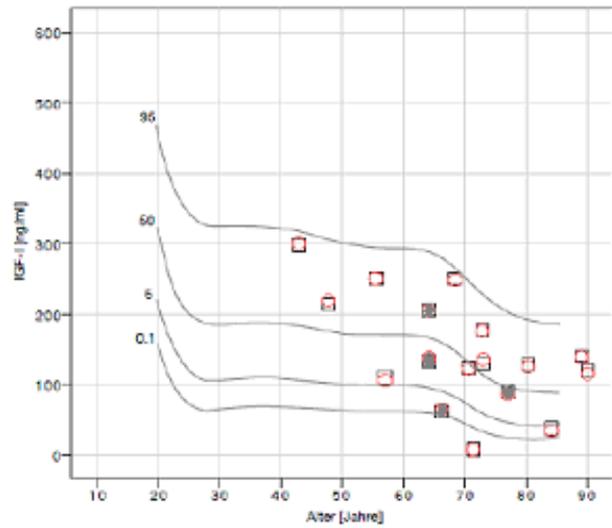
minimal im Rahmen der Messgenauigkeit der Methode. Größere Abweichungen vom Referenzbereich sind hier nicht zu erkennen. Siehe Abbildungen 2-8.

Abbildungen 2-8

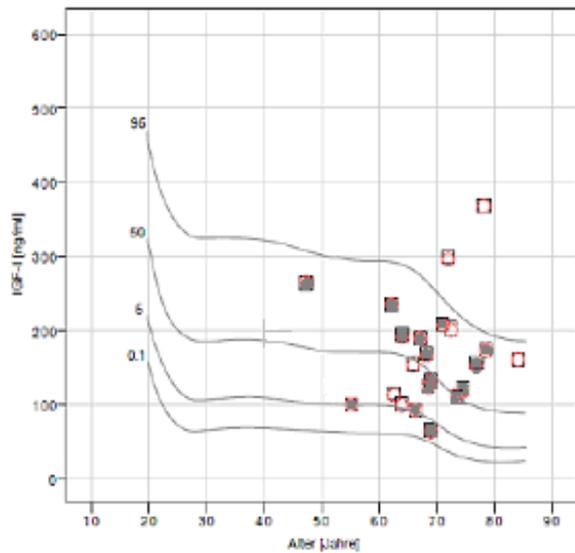
2 Bronchial-Carcinom



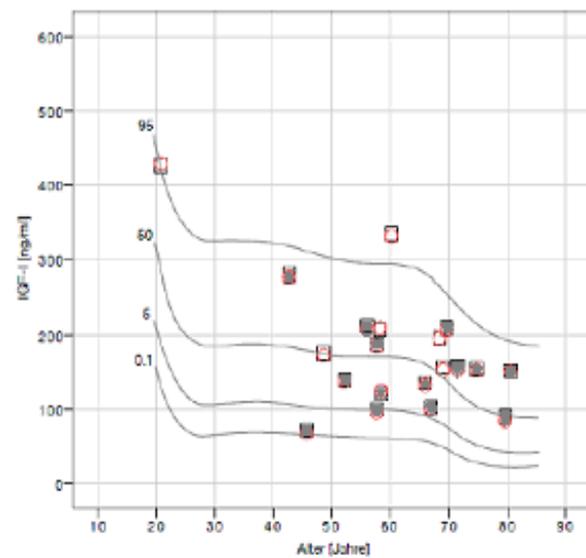
3 HNO-Carcinom



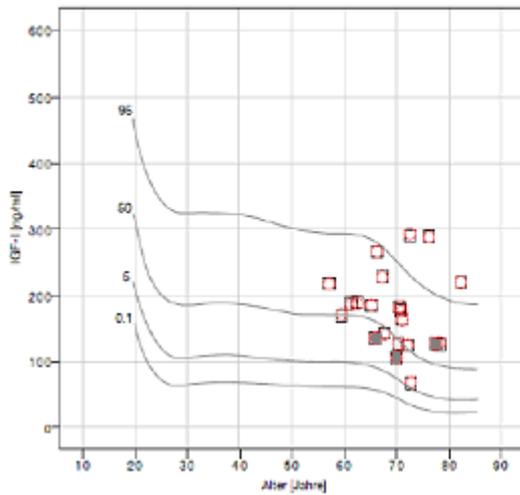
4 Kolorektal-Carcinom



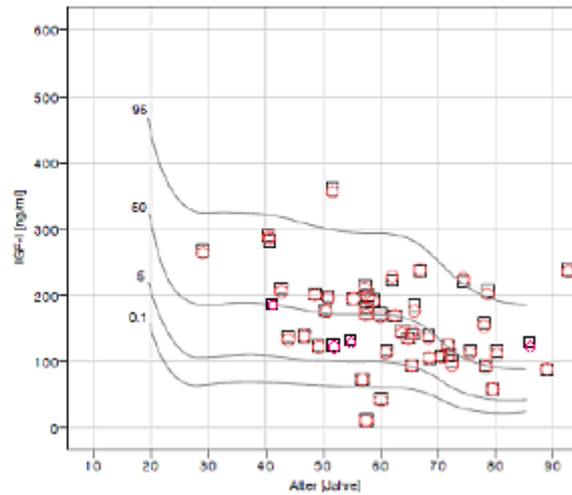
5 Lymphom



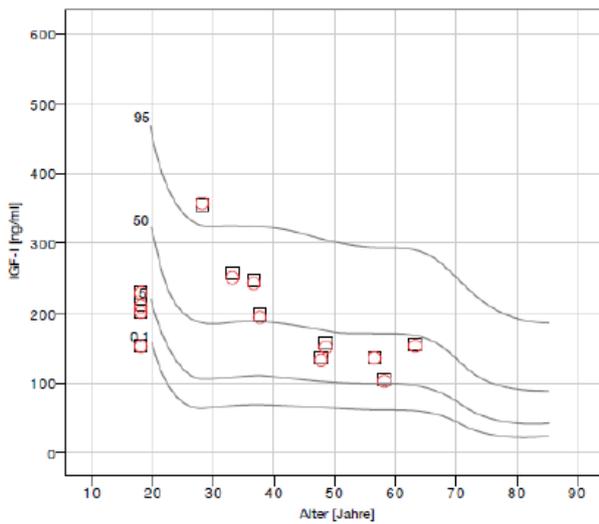
6 Prostata-Carcinom



7 Sonstige



8 Kontrolle



Vergleich der gemessenen Serumwerte aller Tumorpatienten für IGF-I angegeben in ng/ml und dargestellt als Einzelpunkte, mit altersentsprechenden Referenzwerten (Juul, Moller et al. 1998) repräsentiert als Linien des 0., 1., 5., 50. und 95. Perzentils;

□ prätherapeutisch, ○ posttherapeutisch,

offene Symbole: nicht metastasiert, geschlossene Symbole: metastasiert

IGF-II:

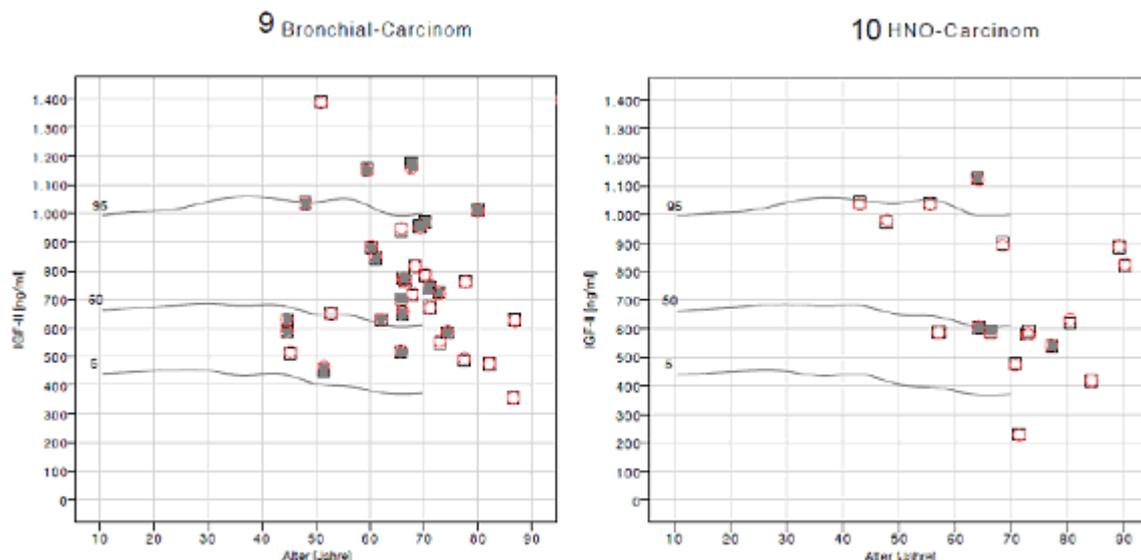
Die IGF-II Serumwerte der untersuchten Patientengruppe weichen bei einigen Tumorentitäten mehr als die gemessenen IGF-I Werte von den Werten der Referenzgruppe ab (Abbildungen 9-16).

Besonders für die Prostata- und Kolorektal-Karzinome zeigen sich bei einer Reihe von Patienten erhöhte IGF-II Werte (Abbildungen 11 und 13). Ein geringer Abfall der Serumspiegel nach der Radiotherapie ist hier festzustellen.

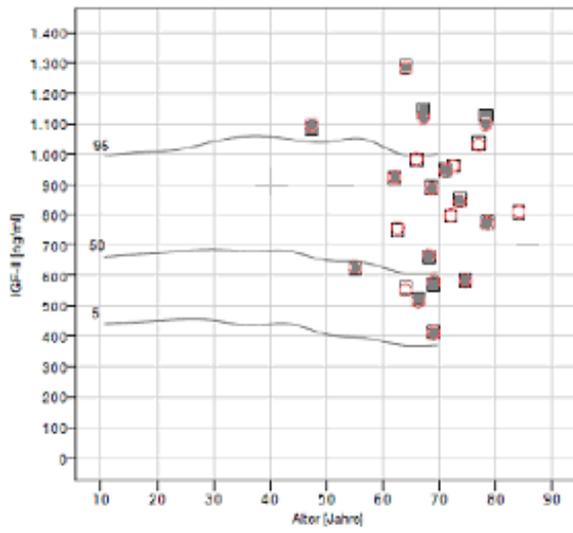
Bei dem Einstichproben t-Test von Patienten mit Prostatakarzinom sind IGF-II Werte signifikant unterschiedlich von publizierten Normalwerten: $p < 0,01$. Die höchste Sensitivität und Spezifität wird bei einem Grenzwert von $+ 0,5243$ STAW des Normalkollektives erreicht: Sensitivität und Spezifität betragen 70%.

Folgende Abbildungen veranschaulichen die Ergebnisse der Serumwerte von Tumorpatienten für IGF-II:

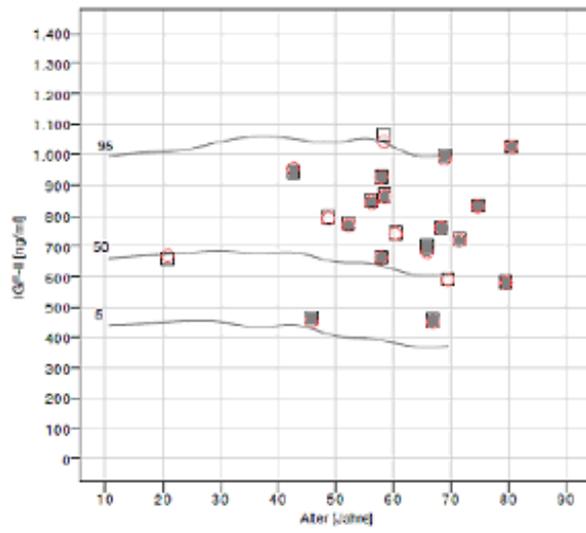
Abbildungen 9-15



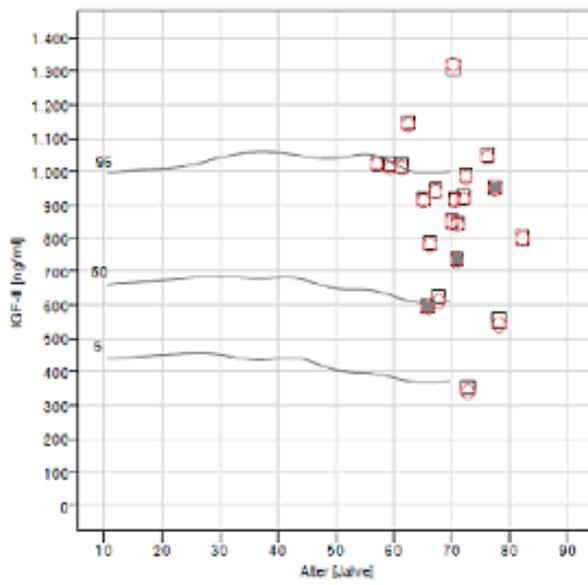
11 Kolorektal-Carcinom



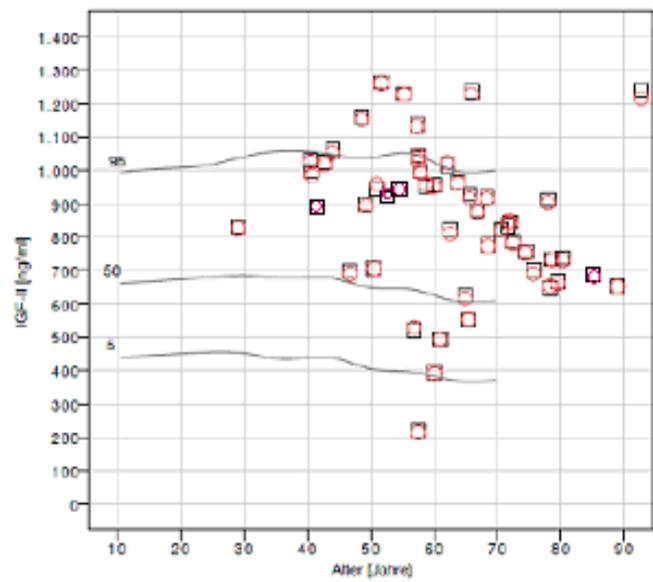
12 Lymphom

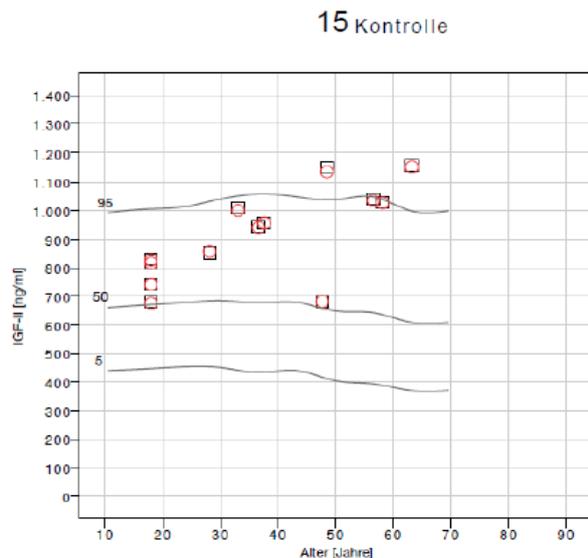


13 Prostata-Carcinom



14 Sonstige





Vergleich der gemessenen Serumwerte aller Tumorpatienten für IGF-II angegeben in ng/ml und dargestellt als Einzelpunkte, mit altersentsprechenden Referenzwerten (Juul, Moller et al. 1998) repräsentiert als Linien des 5., 50. und 95. Perzentils;

□ prätherapeutisch, ○ posttherapeutisch,

offene Symbole: nicht metastasiert, geschlossene Symbole: metastasiert

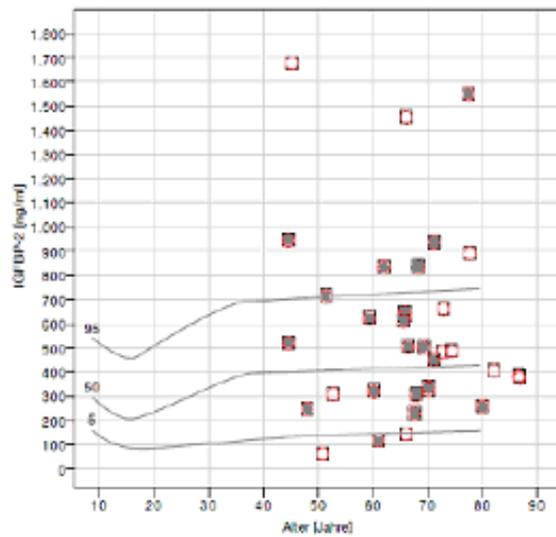
IGFBP-2: Die Ergebnisse der Messungen der IGFBP-2 Konzentrationen sind in den Abbildungen 16-22 dargestellt. IGFBP-2 liegt im Serum des betrachteten Patientenkollektivs bei einigen Tumorentitäten höher als in der Referenzgruppe, insbesondere bei Patienten mit HNO-Tumoren liegen 41% der Werte über dem 95% Perzentil (Abbildung 17). Unterschiede zwischen den bei Beginn und Abschluss der Strahlentherapie gemessenen Werten wurden nicht beobachtet.

Bei dem Einstichproben t-Test von Patienten mit HNO-Karzinom sind IGFBP-2 Werte signifikant unterschiedlich von publizierten Normalwerten: $p < 0,01$. Die höchste Sensitivität und Spezifität wird bei einem Grenzwert von + 0,6058 STAW des Normalkollektivs erreicht: Sensitivität und Spezifität betragen 73%.

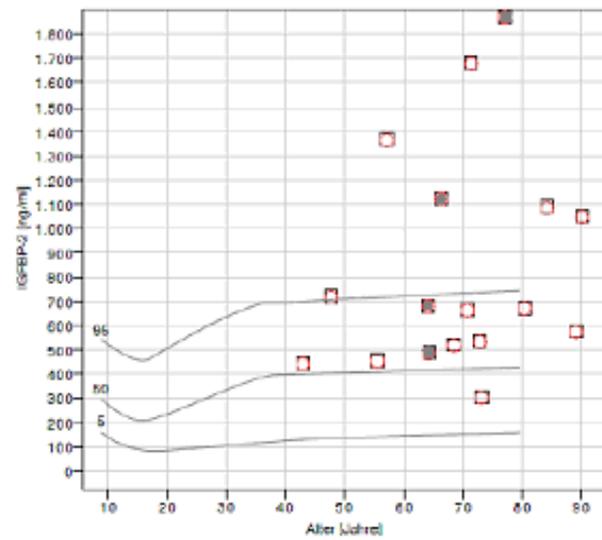
Bei dem Einstichproben t-Test von Patienten mit Prostatakarzinom sind IGFBP-2 Werte auch signifikant unterschiedlich von publizierten Normalwerten: $p < 0,01$. Die höchste Sensitivität und Spezifität wird bei einem Grenzwert von + 0,6676 STAW des Normalkollektivs erreicht: Sensitivität und Spezifität betragen 75%.

Abbildungen 16-22

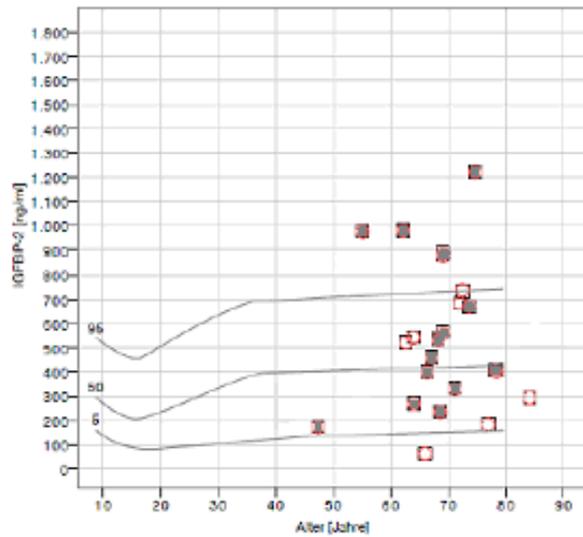
16 Bronchial-Carcinom



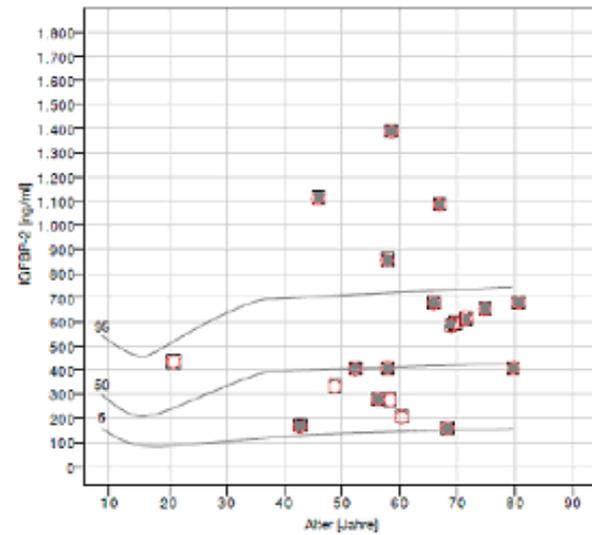
17 HNO-Carcinom



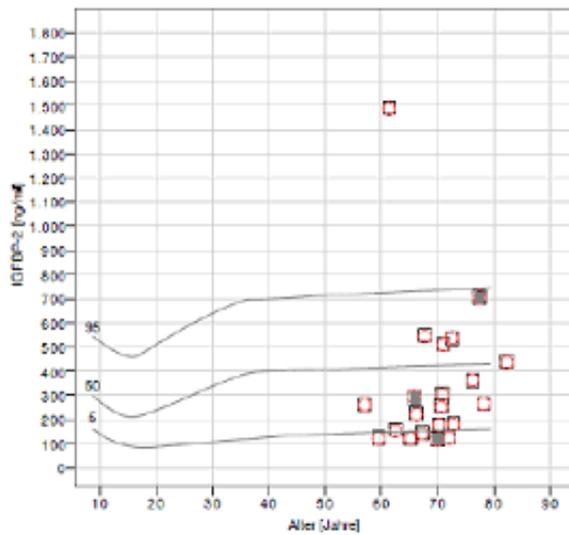
18 Kolorektal-Carcinom



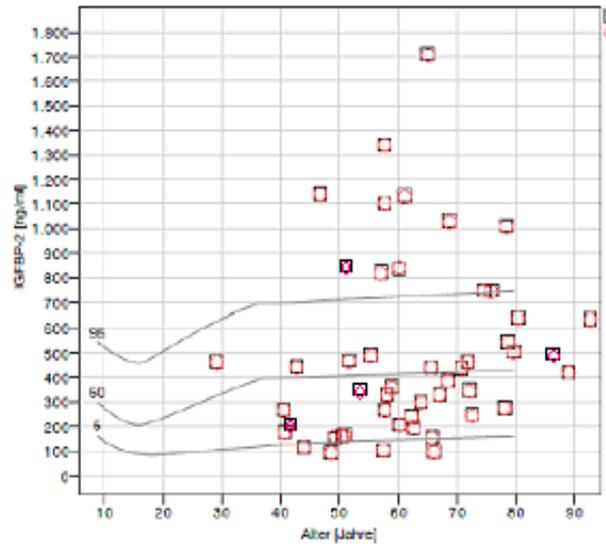
19 Lymphom



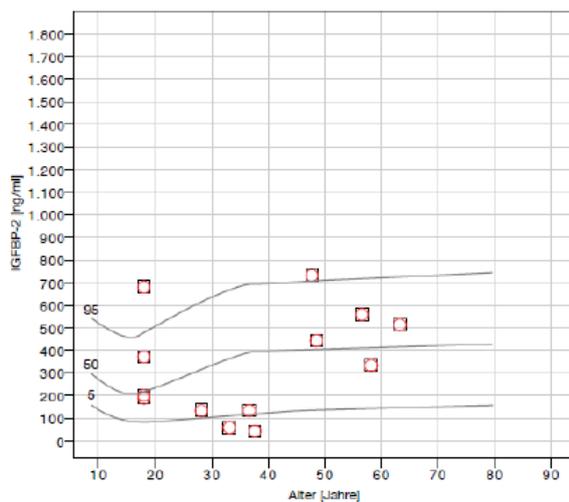
20 Prostata-Carcinom



21 Sonstige



22 Kontrolle



Vergleich der gemessenen Serumwerte aller Tumorpatienten für IGFBP-2 angegeben in ng/ml und dargestellt als Einzelpunkte, mit altersentsprechenden Referenzwerten (Juul, Moller et al. 1998) repräsentiert als Linien des 5., 50. und 95. Perzentils; □ prätherapeutisch, ○ posttherapeutisch, offene Symbole: nicht metastasiert, geschlossene Symbole: metastasiert

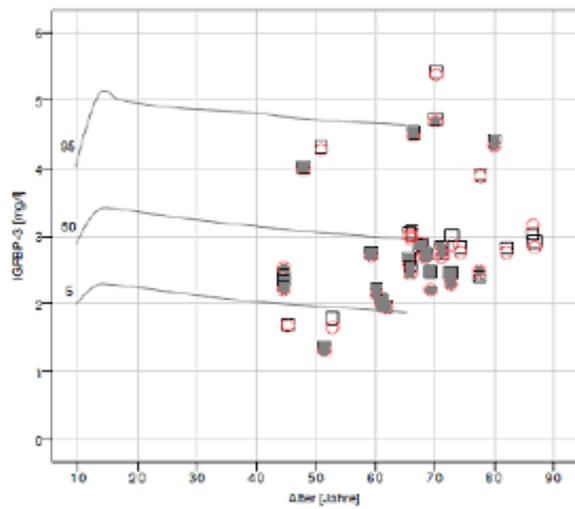
IGFBP-3: Die Serumspiegel von IGFBP-3 sind in den Abbildungen 23-29 dargestellt. IGFBP-3 wurde im Serum des Patientenkollektivs im Vergleich zu der Referenzgruppe in etwa normaler Konzentration gemessen. Es liegen beinahe alle

Werte der Patienten innerhalb der Referenzwerte für gesunde Probanden. Siehe Abbildungen 23-29.

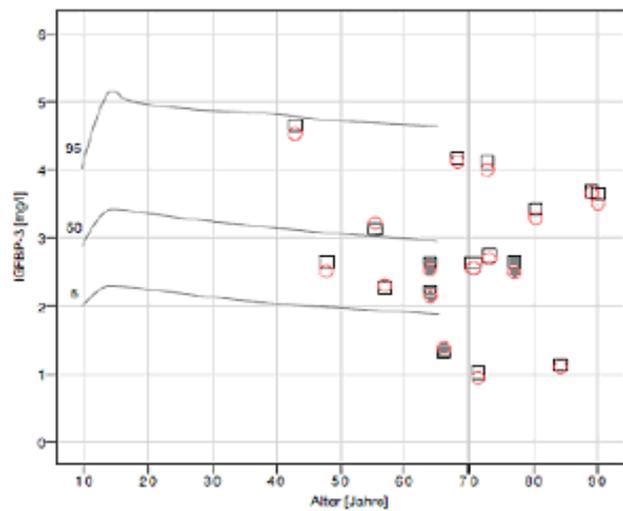
Es ist im Laufe der Therapie weder ein Anstieg noch ein Abfall der Werte zu verzeichnen.

Abbildungen 23-29

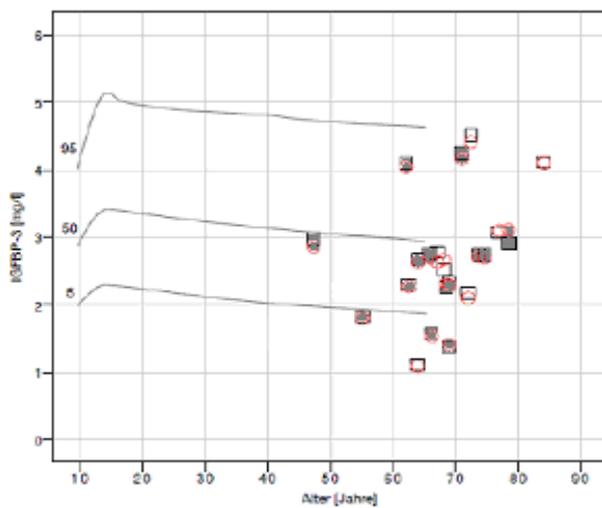
23 Bronchial-Carcinom



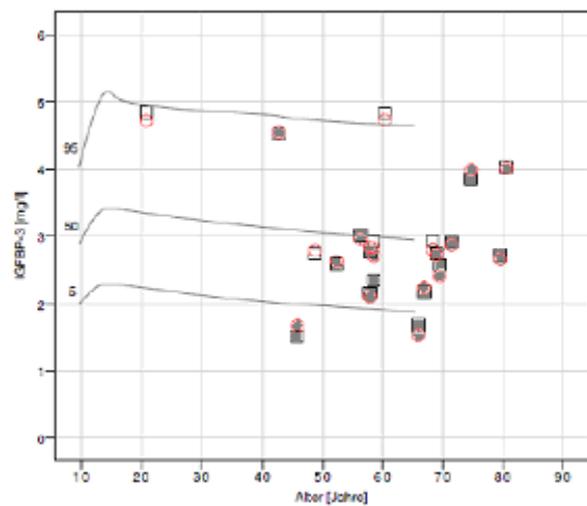
24 HNO-Carcinom



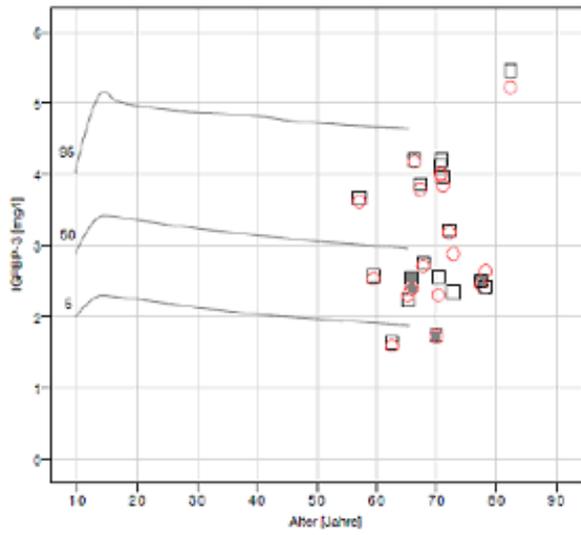
25 Kolorektal-Carcinom



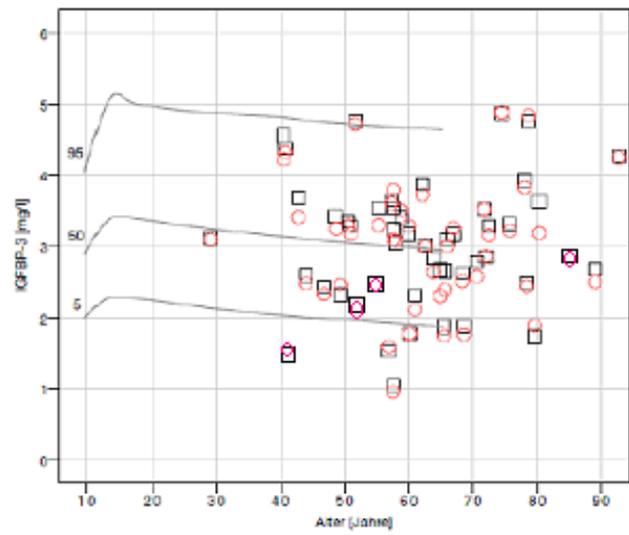
26 Lymphom



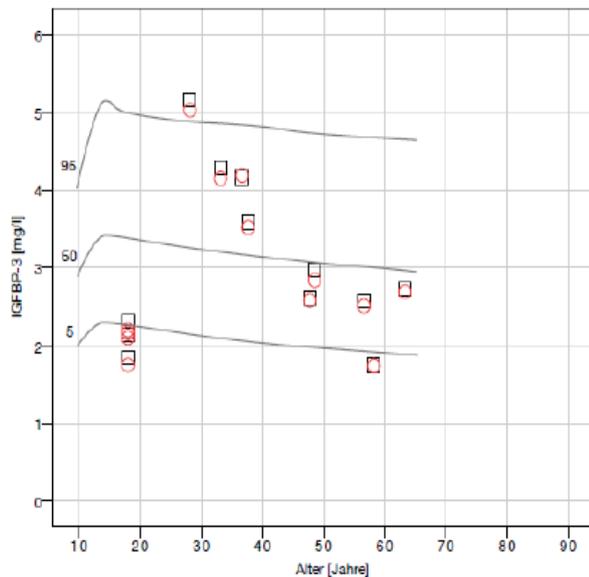
27 Prostata-Carcinom



28 Sonstige



29 Kontrolle

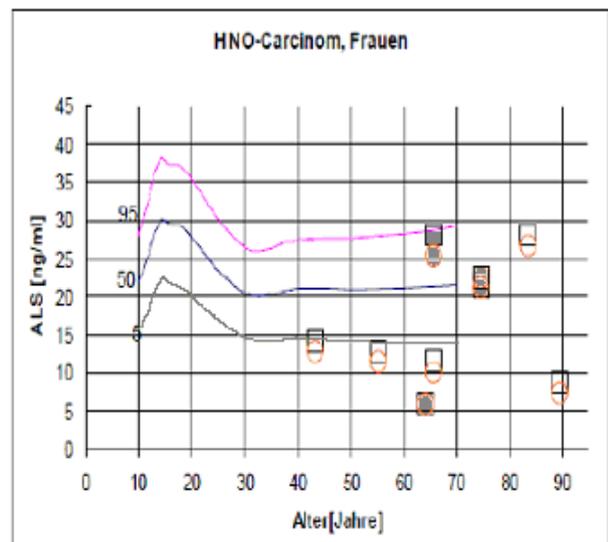
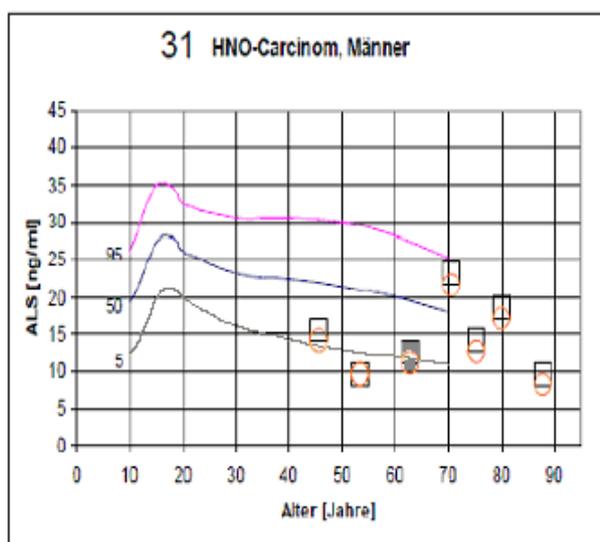
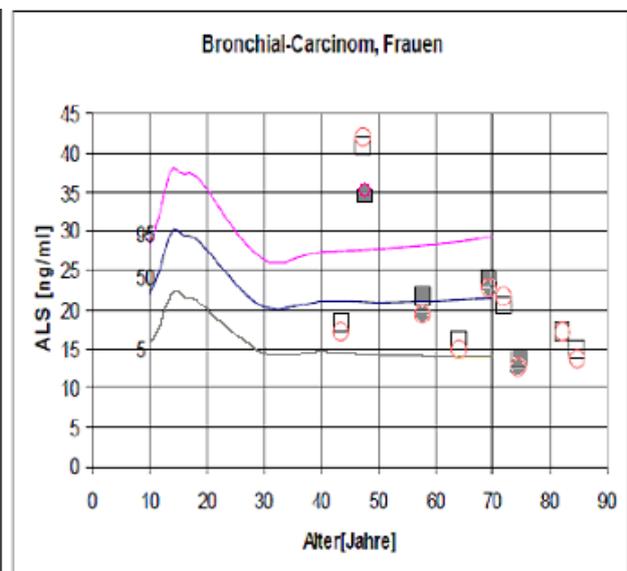
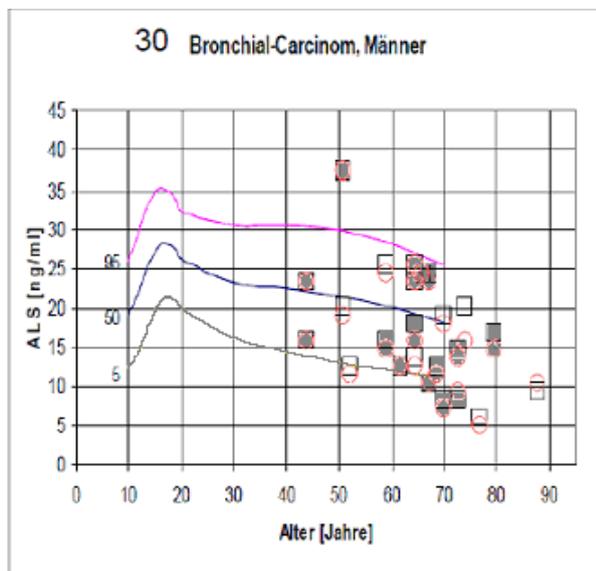


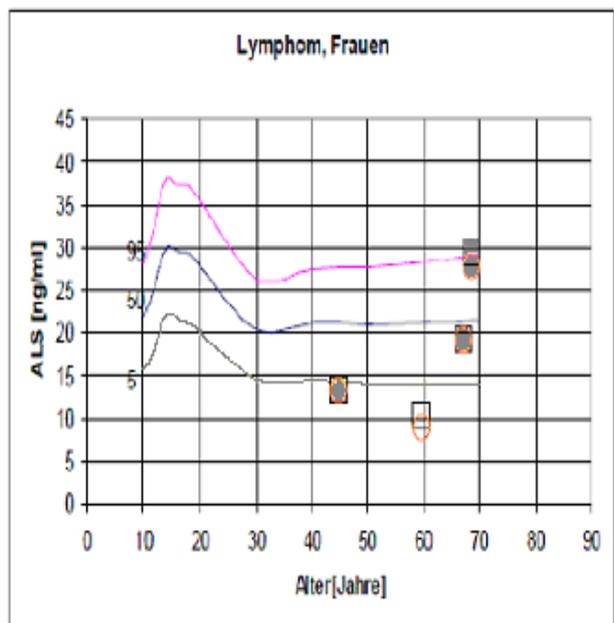
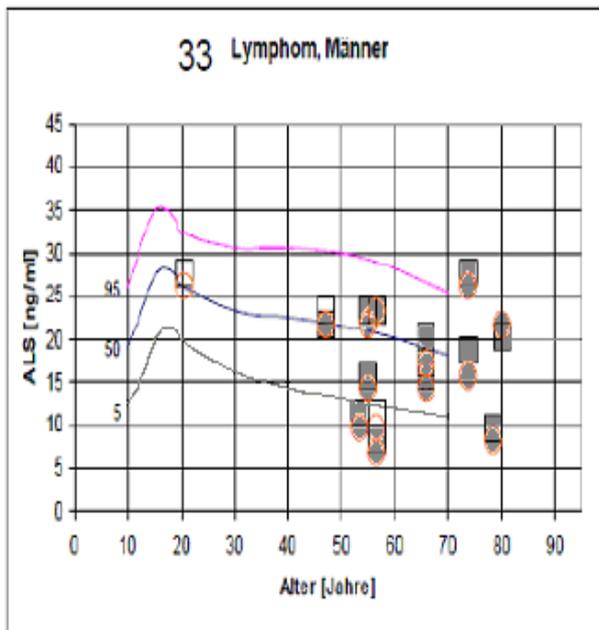
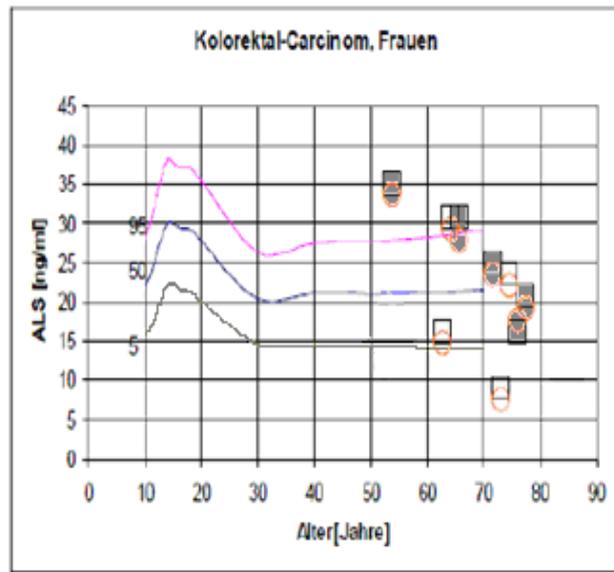
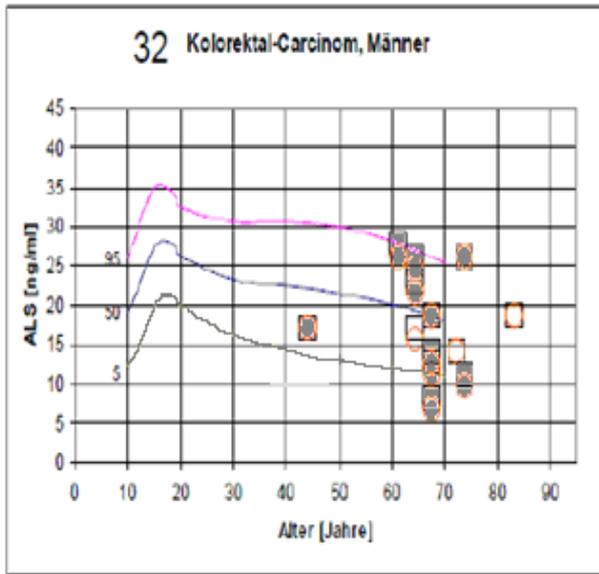
Vergleich der gemessenen Serumwerte aller Tumorpationen für IGFBP-3 angegeben in ng/ml und dargestellt als Einzelpunkte, mit altersentsprechenden Referenzwerten (Juul, Moller et al. 1998) repräsentiert als Linien des 5., 50. und 95. Perzentils; □ prätherapeutisch, ○ posttherapeutisch, offene Symbole: nicht metastasiert, geschlossene Symbole: metastasiert

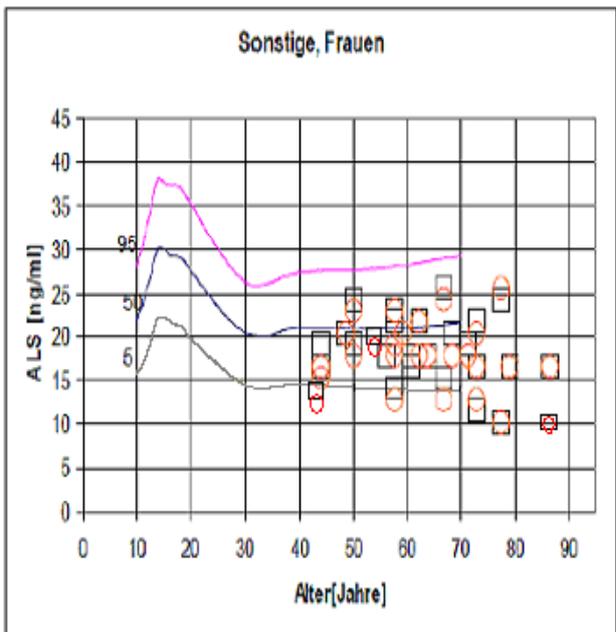
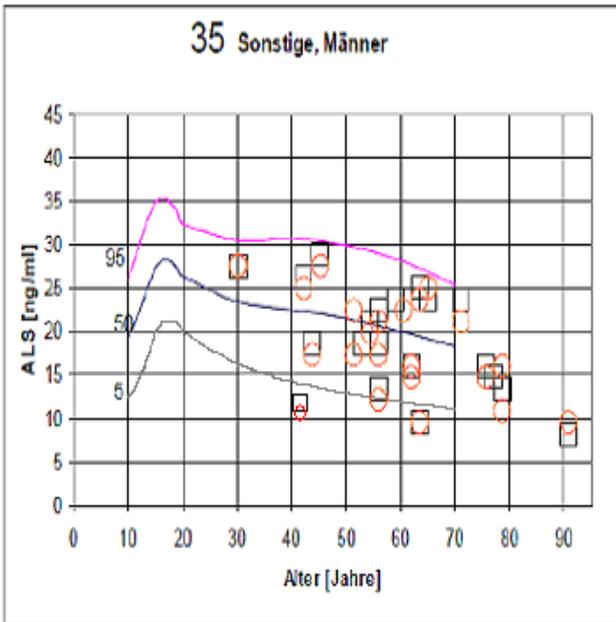
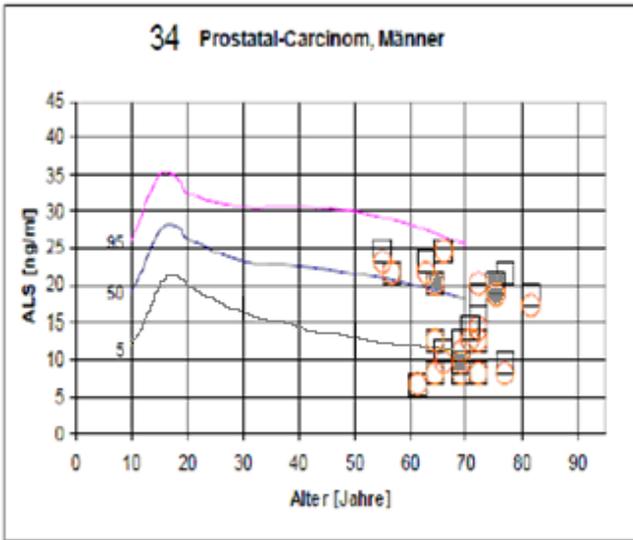
ALS: Die Verteilung der Serumwerte für die Acid-labile-subunit werden in männliche und weibliche Patienten aufgeteilt, da sich die Referenzwerte geschlechtsabhängig unterscheiden.

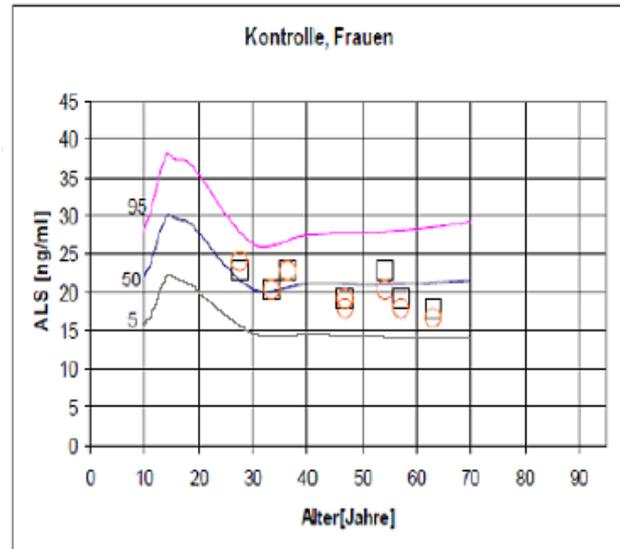
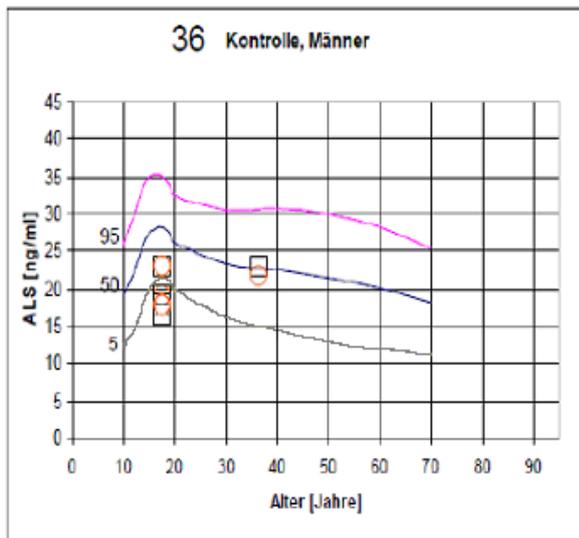
Die Messwerte in beiden Gruppen liegen bei den meisten untersuchten Tumorentitäten innerhalb der bekannten Referenzwerte für gesunde Probanden (Abbildungen 30-36). Bei Patienten mit Bronchialkarzinomen (Abbildung 30), mit HNO-Tumoren (Abbildung 31) und angedeutet auch mit Prostatakarzinomen liegen eine Reihe von Werten unterhalb der 5% Perzentile. Dieser Trend war statistisch nicht signifikant.

Abbildungen 30-36









Vergleich der gemessenen Serumwerte aller Tumorpatienten für ALS angegeben in ng/ml und dargestellt als Einzelpunkte, mit altersentsprechenden Referenzwerten (Juul, Moller et al. 1998) repräsentiert als Linien des 5., 50. und 95. Perzentils;

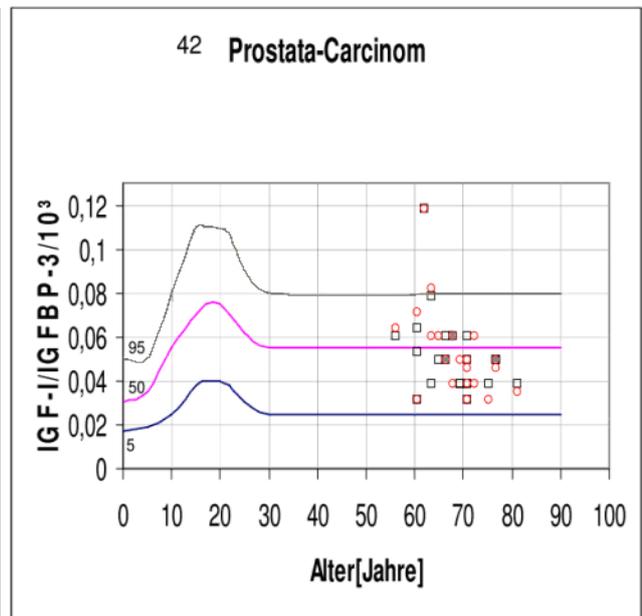
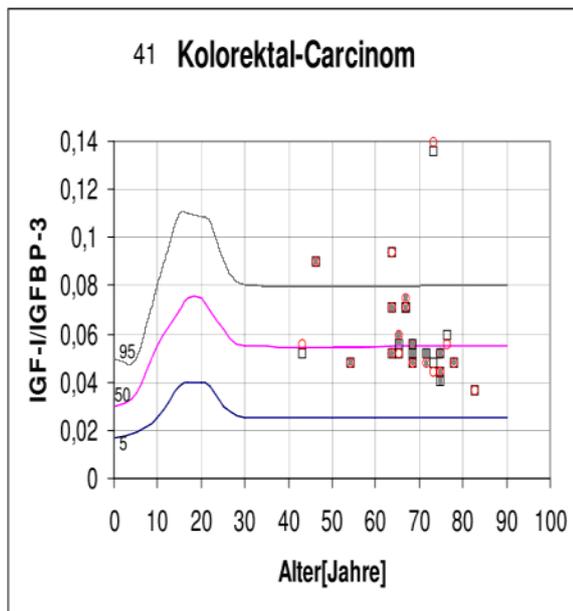
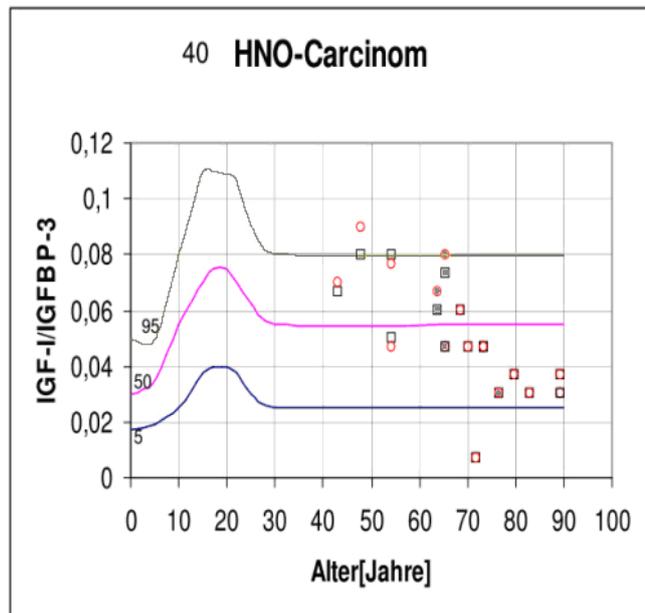
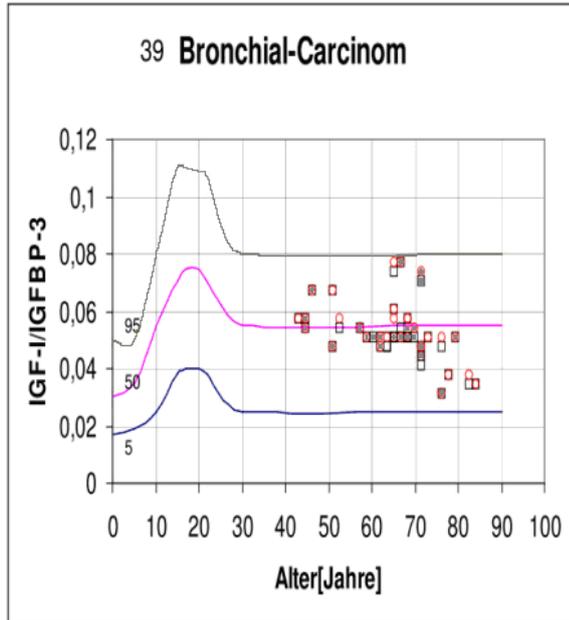
□ prätherapeutisch, ○ posttherapeutisch,

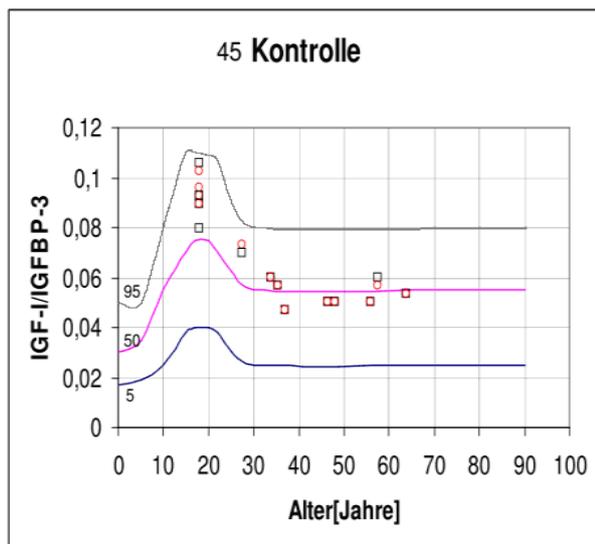
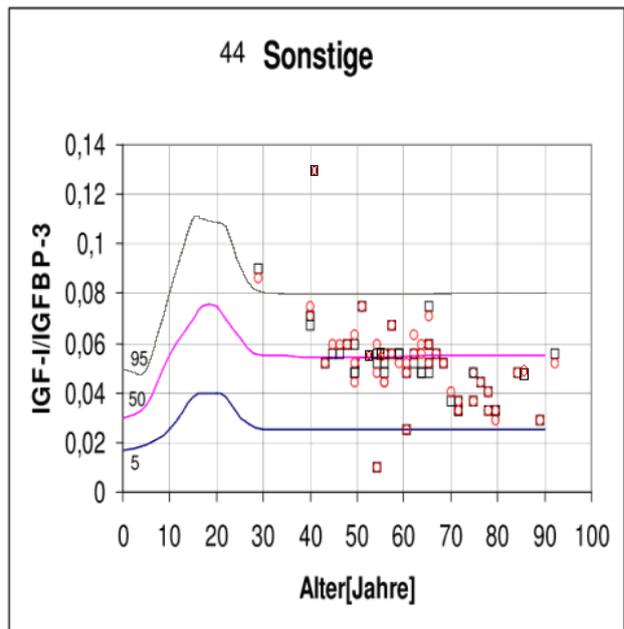
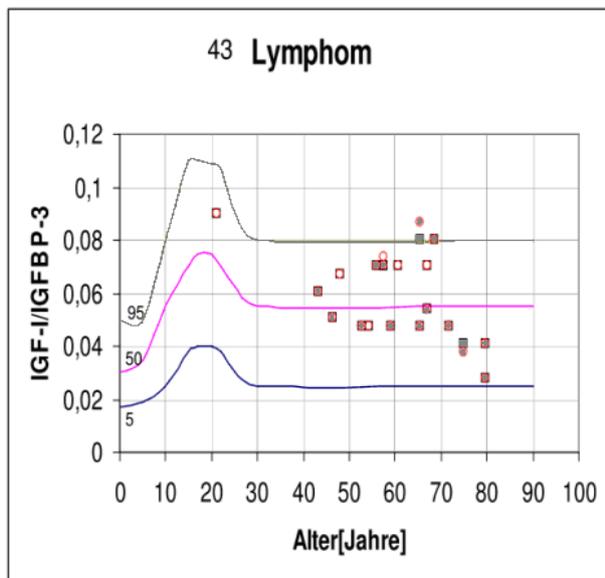
offene Symbole: nicht metastasiert, geschlossene Symbole: metastasiert

3.2 Quotient aus IGF-I und IGFBP-3 im Serum erkrankter und gesunder Erwachsener

In den Abbildungen 40-46 sind die Quotienten aus IGF-I zu IGFBP-3 für die untersuchten Patientengruppen und die eigene Kontrollgruppe im Vergleich zu den altersentsprechenden Referenzwerten dargestellt. Wie in den Ergebnissen unter 3.1 gezeigt wurde, liegen IGF-I und IGFBP-3 in etwa normaler Konzentration im Serum bei erkrankten Personen vor. Auch die Quotienten aus IGF-I zu IGFBP-3 liegen bei ganz überwiegenden bei allen Patientengruppen ebenso wie bei den eigenen Kontrollen im Referenzbereich. Lediglich bei kolorektalen Tumoren lagen 11% der Werte (3/26) anstelle der zu erwarteten 5% Werte oberhalb des Referenzbereichs [p=nicht signifikant] (Abbildung 41).

Abbildungen 39-45:





Prozentualer Anteil des IGF-I/IGFBP-3 Quotienten im Serum gesunder Erwachsener (=5. 50. und 95.Perzentile) und erkrankter Patienten;

□ prätherapeutisch, ○ posttherapeutisch,

offene Symbole: nicht metastasiert, geschlossene Symbole: metastasiert

4 Diskussion

Als eine Gruppe von wichtigen Zellwachstumsmodulatoren spielen IGFs eine kritische Rolle bei der Regulierung des Zellwachstums und Zelltodes. Diese wichtige Funktion von IGFs hat zur Diskussion bezüglich ihrer möglichen Beteiligung an der Krebs-Entwicklung und dem Wachstum geführt.

Laborexperimente zeigen, dass IGFs im Stande sind, das Wachstum von Krebs-Zellen zu stimulieren und Apoptose zu unterdrücken. Zusätzlich zu ihren direkten Effekten auf Krebs-Zellen wirken IGFs auch synergistisch mit anderen Molekülen miteinander und wirken antiproliferativen Molekülen entgegen, welche an der Krebs-Entwicklung eingeschlossen werden.

Bei Tumorerkrankungen liegen als Begleiterscheinung häufig Veränderungen im Gleichgewicht des IGF-Systems vor, die im Serum nachgewiesen werden können. Bei Vorliegen einer malignen Erkrankung ist bisher wenig über Veränderungen der Serumspiegel der Komponenten des IGF-Systems bekannt. Bei Lymphomen und verschiedenen soliden Tumoren wie Prostata, Lungen, Kolorektalkrebs, Leberzellkarzinomen wird in der Literatur von niedrigen IGF-I, IGF-II und IGFBP-3 Spiegeln und erhöhten IGFBP-2 Spiegeln berichtet (Elminger, Rauschnabel et al. 1999) (Elminger, Bell et al. 2001) (Mohnike, Kluba et al. 1996) (Ohlsson, Bengtsson et al. 1998). Über die Rolle der ALS bei Tumorerkrankungen ist bisher sehr wenig bekannt.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Serumproben von Patienten mit verschiedenen soliden Tumoren auf ihre Serumspiegel der verschiedenen Komponenten des IGF-Systems untersucht, um weitere Zusammenhänge zwischen Erkrankungen und Veränderungen der Serumspiegel der Komponenten des IGF-Systems erkennen zu können.

4.1 Abweichungen der gemessenen Parameter von den Referenzwerten gesunder Personen

In dieser vorliegenden prospektiven Studie wurden bei Patienten mit unterschiedlichen soliden Tumoren die Serumspiegel von IGF-I, IGF-II, IGFBP-2, IGFBP-3 und ALS gemessen und mit Referenzwerten gesunder Personen verglichen. Da die Diagnosen der Patienten siebzehn verschiedene Tumortypen umfassen, ergibt sich eine relativ heterogene Untersuchungsgruppe, die zunächst als Gesamtheit und später unterteilt nach Diagnosen betrachtet wird.

Betrachtet man die Gesamtheit der Gruppe der Patienten mit verschiedenen soliden Tumoren, lässt sich Folgendes feststellen: Die Serumspiegel von IGF-I liegen im Bereich der Referenzwerte gesunder Personen. Die für IGF-II gemessenen Serumspiegel der an Tumoren erkrankten Patienten liegen bei Prostata- und Rektum-Karzinomen etwas höher als die Referenzwerte gesunder Erwachsener.

IGFBP-2 wurde im Serum der Tumorpatienten mit HNO-Karzinom im Vergleich zu den Referenzwerten gesunder Personen bei einigen Patienten deutlich erhöht gemessen. Dies steht im Einklang mit Studien, in denen bei Patienten mit soliden Tumoren, unabhängig vom Tumortyp, niedrige Serumspiegel für IGF-I, IGF-II und IGFBP-3 und deutlich erhöhte Spiegel an IGFBP-2 gemessen wurden (Ohlsson, Bengtsson et al. 1998) (Mohnike, Kluba et al. 1996). Im Gegensatz dazu wurden bei anderen Tumoren erhöhte Serumspiegel an IGF-I nachgewiesen, wie z.B. bei Prostata-Karzinom (Chan, Stampfer et al. 2002), Mammakarzinom (Hankinson, Willett et al. 1998) und Bronchialkarzinom (London, Yuan et al. 2002), bei denen die Serumspiegel zum Teil sogar positiv mit der Tumorlast korreliert waren.

Dies zeigt, dass bislang keine einheitliche Aussage über Veränderungen der Parameter des IGF-Systems im Serum bei Tumorerkrankungen getroffen werden kann, sondern dass diese Veränderungen 1.) für verschiedenartige Tumore unterschiedlich ausfallen und 2.) vermutlich von weiteren Faktoren abhängig sind.

Neben der Apoptose korreliert IGFBP-2 noch mit einem weiteren konzeptionell verwandten Vorgang, welcher die Lebensdauer einer Zelle begrenzt: der

Seneszenz. Mehrere *in vitro* Studien haben eine deutliche Hochregulation der IGFBP-2-Expression in Verbindung mit Seneszenz gezeigt (Hjelmeland, Cristofolo et al. 1999) (Matsunaga, Handa et al. 1999) (Shelton, Chang et al. 1999). In gewisser Weise lässt sich die Seneszenz für die Zellen als Wegweiser in Richtung Zelltod betrachten, denn mit zunehmender Seneszenz rücken Zellen dem programmierten Zelltod näher (Shelton, Chang et al. 1999).

Um Aussagen über die Veränderungen des IGF- Systems im Zusammenhang mit den vorliegenden Tumorerkrankungen treffen zu können, wurden die fünf größten der untersuchten Tumorgruppen (Prostata-Ca, Kolorektal-Ca, HNO-Tumoren, Bronchial-Ca und Lymphome) herausgegriffen und die Abweichung der Messwerte innerhalb dieser Gruppen von den entsprechenden Referenzwerten gemessen.

IGF-I: Bei erkrankten Patienten wurden in der vorliegenden Studie häufig nur minimal von den Referenzwerten für IGF-I abweichende Serumspiegel gemessen. Dies widerspricht der Kenntnis, dass endokrine Zellen auf IGF-I als Wachstumsfaktor ansprechen und vermutlich in der Lage sind, IGF-I und IGF-II mRNA in erhöhtem Maße zu exprimieren und sich damit selbst, d.h. autokrin/parakrin zum Wachstum anzuregen (Yee, Favoni et al. 1990) (Schutt, Langkamp et al. 2004). Möglicherweise war die von den Tumorzellen selbst produzierte Menge an IGF-I aber nur zu gering, als dass sie sich in messbar erhöhten Serumspiegeln feststellen ließ.

Die Höhe der IGF-I Serumspiegel kann mit der Schwere der Erkrankung beziehungsweise der Malignität des Tumors zusammenhängen. Wir haben lediglich hämatogen metastasierte Patienten mit Patienten verglichen, welche nur eine lokoregionäre Tumorausbreitung aufwiesen. Genauere Informationen zur Tumorlast der Patienten lagen uns nicht vor. Ob die Höhe der IGF-I Serumspiegel nicht nur von der Schwere der Erkrankung, sondern auch von der Tumormasse abhängt, konnte hier nicht bestätigt werden.

IGF-II: Die IGF-II Serumspiegel der Gesamtheit der Tumorpatienten lagen im Bereich der Serumspiegel für IGF-II der gesunden Referenzgruppe. Bei der Gruppe der Prostatakarzinome und der Kolorektalkarzinome fielen jedoch bei Einzelpatienten höhere IGF-II Serumspiegel auf.

Bei dem Einstichproben t-Test von Patienten mit Prostatakarzinom sind IGF-II Werte signifikant unterschiedlich von Referenzwerten: $p < 0,01$. Dennoch ist IGF-II beim Prostatakarzinom als Tumormarker ungeeignet, da die höchste Sensitivität und Spezifität 70% betragen. Diese Werte sind somit viel zu schlecht für einen Tumormarker.

So wurden in zahlreichen anderen Studien erhöhte Serumspiegel für IGF-II bei dem Vorliegen einer Tumorerkrankung nachgewiesen. Beispielsweise lagen bei Mammakarzinom Patientinnen erhöhte IGF-II Serumspiegel vor, die mit der Tumorgroße korrelierten, und sogar ein deutlicher Abfall der IGF-II Serumspiegel nach operativer Entfernung des Tumors (Holdaway, Lethaby et al. 2001). Bei Vorliegen eines kolorektalen Karzinoms zeigten sich in einer Studie ebenfalls deutlich erhöhte IGF-II Serumspiegel, allerdings nur bei niedrigmalignen Stadien der Erkrankung (Renehan, Jones et al. 2000).

In einer Studie mit Weichteiltumoren wurde gezeigt, dass Tumorzellen in der Lage sind, IGF-II mRNA in erhöhtem Maße zu exprimieren, wobei die Expression an IGF-II mRNA je höher war, desto weniger differenziert die Zelle war (Yun 1992). Bei erhöhter Expression an IGF-II mRNA ist auch eine erhöhte Sekretion an IGF-II ins Blut anzunehmen, wodurch es zu erhöhten IGF-II Serumspiegeln kommen müsste.

Es wird angenommen, dass IGF-II von Tumorzellen selbst produziert und in das Serum sezerniert wird und dass somit bei kompletter Remission weniger IGF-II im Serum zirkuliert, als bei Vorhandensein eines Tumors.

Es wurden also zahlreiche und teilweise widersprüchliche Ergebnisse für die Höhe der IGF-II Serumspiegel bei Vorliegen einer Tumorerkrankung gefunden. Dies spricht dafür, dass die IGF-II Serumspiegel, ähnlich wie die IGF-I Serumspiegel nicht maßgeblich von der Tumormasse abhängen, sondern dass andere Faktoren einen größeren Einfluss auf die beobachteten Veränderungen nehmen. Eine weitere

Erklärung für widersprüchliche Ergebnisse wäre, dass die bisher durchgeführten Studien zu kleine Fallzahlen oder inhomogene Untersuchungsgruppen aufwiesen.

IGFBP-2: Für IGFBP-2 wurden bei den Patienten mit HNO-Tumoren höhere Serumspiegel gemessen als in der Referenzgruppe gesunder Personen. 21% aller Werte lagen hier über dem 95. Perzentil.

Bei dem Einstichproben t-Test von Patienten mit HNO-Karzinom sind IGFBP-2 Werte signifikant unterschiedlich von Referenzwerten: $p < 0,01$. Dennoch ist IGFBP-2 beim HNO-Karzinom als Tumormarker ungeeignet, da Sensitivität und Spezifität 73% betragen. Diese Werte sind somit viel zu schlecht für einen Tumormarker.

Bei dem Einstichproben t-Test von Patienten mit Prostatakarzinom sind IGFBP-2 Werte auch signifikant unterschiedlich von Referenzwerten: $p < 0,01$. Dennoch ist IGFBP-2 beim Prostatakarzinom als Tumormarker ungeeignet, da die Sensitivität und Spezifität 75% betragen. Diese Werte sind auch viel zu schlecht für einen Tumormarker.

Hohe IGFBP-2 Serumspiegel bei Vorliegen einer Tumorerkrankung wurden auch in zahlreichen anderen Studien gesehen. Beispielsweise wurden beim Bronchialkarzinom (Lee, Kim et al. 1999), Prostatakarzinom (Cohen, Peehl et al. 1993), Kolonkarzinom (Renehan, Jones et al. 2000) und auch bei Tumoren wie ALL, Non-Hodgkin-Lymphom, Nephroblastom (Zhan, Shapiro et al. 1994) und anderen soliden Tumoren (Mohnike, Kluba et al. 1996) erhöhte IGFBP-2 Serumspiegel gemessen. Zum Teil zeigte sich eine positive Korrelation zwischen der Höhe der IGFBP-2 Spiegel und dem Tumorstadium (Cohen, Peehl et al. 1993) (Kanety, Madjar et al. 1993) (Renehan, Jones et al. 2000). Die Korrelation zwischen Tumormasse und IGFBP-2 Serumspiegel wurde in der vorliegenden Studie nicht untersucht. Zwar wurden gehäuft erhöhte Werte für IGFBP-2 gemessen, es traten jedoch gehäuft große Schwankungen in der Höhe der IGFBP-2 Serumspiegel auf.

Bei Betrachtung der Herkunft der Werte der vorliegenden Studie, die über dem 95. Perzentil liegen, fällt auf, dass bei einzelnen Patienten mit einem Lymphom bei einigen Patienten auffällig hohe Werte gemessen wurden. Dieses Ergebnis passt zu der Kenntnis, dass bei malignen lymphatischen Zellen eine erhöhte Expression an IGFBP-2 gefunden wurde (Elmlinger, Wimmer et al. 1996) (Mohnike, Kluba et al. 1996).

IGFBP-3: Die Serumspiegel für IGFBP-3 entsprechen bei den in der vorliegenden Studie untersuchten Tumorkranken etwa den Referenzwerten gesunder Erwachsener. Aus den bereits oben angeführten Studien ist bekannt, dass bei Vorliegen von malignen Erkrankungen niedrige Serumspiegel für IGFBP-3 gemessen wurden (Chan, Stampfer et al. 2002) (Kanety, Madjar et al. 1993) (Mohnike, Kluba et al. 1995) (Mohnike, Kluba et al. 1996). In einer weiteren Studie, in welcher versucht wurde das Risiko für Patienten am Prostatakarzinom zu erkranken abzuschätzen, zeigte sich bei Vorliegen erhöhter IGFBP-3 Serumspiegel ein geringeres Erkrankungsrisiko (Kanety, Madjar et al. 1993) (Liu, Powell et al. 1991).

Das bedeutet, erhöhte IGFBP-3 Serumspiegel könnten durch das Binden des mitogenen IGF-I und IGF-II vor einer malignen Erkrankung schützen sowie niedrige IGFBP-3 Serumspiegel dazu prädisponieren könnten.

Andererseits ist bekannt, dass IGFBP-3 möglicherweise über einen IGF unabhängigen Mechanismus die Apoptose von Zellen induziert und über diesen Weg das Tumorstadium hemmt (Rajah, Valentinis et al. 1997) (Rajah, Lee et al. 2002).

4.2 Abhängigkeit der Serumspiegel des IGF-Systems von der Tumormasse

Die Ergebnisse aus früheren Studien, dass einige Tumorzelllinien in der Lage sind, Faktoren des IGF-Systems zu exprimieren (Elmlinger, Wimmer et al. 1996) (Han, D'Ercole et al. 1987) (Yakar and Rosen 2003) (El-Badry, Romanus et al. 1989) und dass bei einzelnen Tumoren eine Korrelation der Serumspiegel der Komponenten des IGF-Systems mit der Tumormasse festgestellt wurde (Holdaway, Lethaby et al. 2001), führten zu der Annahme, dass auch in der vorliegenden Arbeit die Tumormasse mit der Höhe der Serumspiegel der Parameter des IGF-Systems korreliert.

Bei der Auswertung der Daten in der vorliegenden Studie wurde die Tumormasse nur grob untersucht. Eine genaue Volumetrie hätte zu einer besseren Aussage über die Abhängigkeit der Tumormasse von der Höhe der IGF-Serumspiegel führen können. Die Ergebnisse der Arbeit bestätigen zwar nicht, dass die untersuchten

Tumore die Faktoren des IGF-Systems selbst produzieren, schließen es aber auch nicht aus. Die produzierte Menge eines Parameters des IGF-Systems kann so gering sein, dass sie sich nicht auf den gesamten Serumspiegel auswirkt, aber dennoch über autokrine und parakrine Mechanismen in der Lage ist, das Tumorwachstum zu stimulieren. Im Hinblick auf IGF-II kommen hier „Pro“ IGF-II Formen in Betracht, die durch geringere Bindungsaffinität zu den Bindeproteinen eine höhere biologische Wirksamkeit zeigen (Elmlinger, Rauschnabel et al. 1999).

Von der Tumorgröße kann möglicherweise einerseits die Menge der produzierten Komponenten des IGF-Systems stark abhängen. Andererseits unterliegen die Serumspiegel der Komponenten des IGF-Systems vielen Einflüssen wie Wachstumshormonkonzentration, Ernährungsstatus, Leber- und Nierenfunktion und Nebenwirkungen der Tumorthherapie, welche möglicherweise eine stärkere Auswirkung auf den Serumspiegel haben können, als die vermehrte Produktion der Parameter selbst.

4.3 Zusammenhang der Serumspiegel des IGF-Systems mit dem Krankheitsverlauf

Objektive Daten über Leber- und Nierenfunktion, Wachstumshormonspiegel, Ernährungsstatus oder Ausmaß an weiteren Nebenwirkungen der Therapie wurden in der vorliegenden Studie nicht erhoben. Bei schlechtem Gesundheitszustand mit kataboler Stoffwechsellage, die aufgrund der malignen Erkrankung und der intensiven Therapie häufig besteht, kann sich eine Resistenz gegenüber Wachstumshormon ausbilden, woraus niedrige Serumspiegel an IGF-I, IGF-II und IGFBP-2 resultieren (Dai and Baxter 1994) (LeRoith, Baserga et al. 1995) (Brennan, Gill et al. 1999). Durch Beeinträchtigung der Leber und der Nierenfunktion mittels der eingesetzten Chemotherapeutika oder direkte Bestrahlung der betroffenen Organe resultiert eine geringere Syntheseleistung der Hauptsyntheseorte für die Komponenten des IGF-Systems (Gosteli-Peter, Winterhalter et al. 1994), was bei schwer kranken Patienten, bei denen eine intensivere Therapie notwendig wird, stärkere Auswirkungen zeigt, als bei Patienten, die auf die Chemotherapie gut ansprechen.

Bei Patienten mit Prostata- und Rektum-Karzinomen wurden in der vorliegenden Arbeit in Einzelfällen erhöhte IGF-II Serumspiegel gemessen. Diese Spiegel sind bei Eintreten einer Remission laut einigen Studien rückläufig. Das Ergebnis stünde mit den anfangs zitierten Studien, die für eine Produktion von IGF-II durch den Tumor selbst sprechen (El-Badry, Minniti et al. 1990) (El-Badry, Romanus et al. 1989) (Schmiegelow, Lassen et al. 2000) (Yakar and Rosen 2003) im Einklang.

Der Anstieg der IGFBP-2 Serumspiegel bei Patienten mit HNO-Tumoren entspricht den früheren Studien (Elmlinger, Wimmer et al. 1996) (Reeve, Kirby et al. 1992), welche zeigen konnten, dass IGFBP-2 vom Tumor selbst produziert wird und entspricht auch der Kenntnis, dass sich in vereinzelt Studien eine positive Korrelation der IGFBP-2 Serumspiegel mit der Tumormasse zeigte (Cohen, Peehl et al. 1993) (Kanety, Madjar et al. 1993) (Renehan, Jones et al. 2000). Dieses Ergebnis entspricht auch den zuvor unter Punkt 3.1 gewonnenen Ergebnissen der vorliegenden Studie, in welcher sich höhere IGFBP-2 Serumspiegel bei den einigen erkrankten Patienten mit HNO-Karzinom im Vergleich zu der gesunden Referenzgruppe festzustellen waren.

4.4 Rolle der IGFBP-2 Serumspiegel

In der vorliegenden Studie sollten die Effekte einer IGFBP-2-Konzentration bei verschiedenen Erkrankungen untersucht werden. Dabei sollte IGFBP-2 als möglicher Tumormarker etabliert werden. Zu diesem Zweck wurden bei 176 Tumor-Patienten die IGFBP-2-Spiegel im Serum untersucht.

Da die Wirkungen von IGFBP-2 in Abhängigkeit von der Erkrankung zum Teil unterschiedlich ausfallen, ist eine universelle Aussage über die Auswirkung von IGFBP-2 auf Tumore *in vivo* nicht möglich. So stellten Wang et al. 2003 (Wang, Shen et al. 2003) *in vitro*-Untersuchungen fest, dass IGFBP-2 die Invasivität von Glioblastomen erhöht, indem es die Expression von Matrix-Metalloproteinase 2 (MMP-2) und einigen anderen für die Invasivität relevanten Genen erhöhte. Andererseits könnte für IGFBP-2 bei der Brustkrebslinie Hs578T eine proliferations- und migrationshemmende Wirkung (Schuett et al. 2004) (Schutt, Langkamp et al.

2004) gezeigt werden. Insofern scheint es notwendig zu sein, die Wirkung von IGFBP-2 immer in Hinblick auf einen bestimmten Tumortyp zu betrachten.

Im Blut sind IGF-I und II zu über 99% an spezifische IGF-Bindungsproteine (IGFBPs) gebunden (Firth and Baxter 2002). Bei einer Gesamtkonzentration von ~1000 ng/ml im Serum beträgt die Konzentration an freiem, biologisch aktivem IGF-I und IGF-II nur 1–3 ng/ml und weist keine wesentlichen Tagesschwankungen auf.

Sowohl IGF-I als auch IGF-II wirken über einen spezifischen Rezeptor, den IGF-Typ-I Rezeptor, der Wachstumssignale vermittelt. Die IGF-Wirkungen über den IGF-Typ-I Rezeptor werden durch die IGF-Bindungsproteine (IGFBP-1 bis -6) unterschiedlich moduliert (Kelley, Oh et al. 1996). IGFBP-2 ist nach IGFBP-3 das zweithäufigste IGFBP im menschlichen Blut.

Der IGFBP-2-Spiegel ist im Laufe des Tages vom Ernährungszustand, dem Insulinspiegel, wenn auch in schwächerem Maße als IGFBP-1 (Ranke and Elmlinger 1997), vom Metabolismus des Körpers, sowie wahrscheinlich von verschiedenen Hormonen, z.B. Wachstumshormon, abhängig. Obwohl Wachstumshormon scheinbar keinen direkten Einfluss auf den IGFBP-2-Spiegel zu haben scheint, werden *in vivo* bei Wachstumshormon-Insuffizienz erhöhte IGFBP-2-Spiegel gefunden (Hardouin, Gourmelen et al. 1989). In Neuroblastomzellen wurde eine Verringerung der IGFBP-2-Produktion durch Vitamin A beschrieben (Bernardini, Cianfarani et al. 1994).

Reduzierte Proteinaufnahme erhöht den IGFBP-2-Spiegel mehr als allgemeines Fasten (Toogood, Jones et al. 1998). Erhöhte IGFBP-2-Spiegel sind bei Unterernährung und Anorexia nervosa beschrieben worden. Im Verlauf des Lebens verändert sich der IGFBP-2-Spiegel ebenfalls. Er ist bei Kindern relativ hoch, erreicht bei jungen Erwachsenen ein Minimum, um dann im Alter wieder anzusteigen.

IGFBP-2 wird im Körper weder glykolysiert noch phosphoryliert und wird in allen Körperflüssigkeiten gefunden. Hierbei ist der IGFBP-2-Spiegel im Seminal-Plasma der höchste und IGFBP-2 ist durch die Produktion in neuralem Gewebe das Haupt-IGFBP im Liquor (Bernardini, Cianfarani et al. 1994).

Ein direkter Zellkontakt von IGFBP-2 ist über Glykosaminoglykane möglich.

Die Funktion des IGFBP-2 ist nach wie vor relativ unerforscht. Im Falle eines Verlustes von IGFBP-2 ist der Körper sehr gut in der Lage dies zu kompensieren (Sussenbach, Steenbergh et al. 1992). Eine mögliche Funktion ist der Transport von IGF-I durch Zellmembranen. Ein wachstumssteigernder Effekt von IGFBP-2 wurde für Prostata-Karzinomzelllinien *in vitro* gezeigt (Kaplan, Mohan et al. 1999). *In vivo* wurden in Prostata-Karzinomen bis zu dreifach der Norm entsprechende IGFBP-2-Spiegel (Kaplan, Mohan et al. 1999) und bei verschiedenen ZNS-Tumoren erhöhte Spiegel von IGFBP-2 im Liquor gemessen.

Die Weiterentwicklung von Wechselbeziehungen, die Mitglieder der IGF-Familie verbinden, wird unser Verstehen der Karzinom-Ätiologie und Pathogenese erweitern und könnte Gelegenheiten für die Krebs-Verhinderung und Therapie bieten.

Es existieren Beweise, dass durch eine energiereiche Diät das IGF-System betroffen werden kann, welches Zellen für die Gefahr der bösartigen Transformation geneigt machen kann. Zurzeit unbekannt ist die Möglichkeit, diätetisches Eingreifen durchzuführen, um IGF Niveaus absichtlich zu reduzieren, um Krebs zu verhindern. Studien, die dieses Problem und die Beziehung zwischen Nahrungsmittelaufnahme und Niveaus von IGFs untersuchen, können von Wichtigkeit für die Krebs-Vorsorge und Kontrolle sein.

Diese neuen Erkenntnisse könnten dabei helfen, ein besseres Verständnis der Rolle des IGFBP-2 bei physiologischen und pathophysiologischen Vorgängen, insbesondere bei der Tumorentwicklung und Tumorprogression, zu erlangen; und dies könnte für den Einsatz von IGFBP-2 als diagnostischen Marker und für die Entwicklung neuer Strategien zur Behandlung der mit veränderten IGFBP-2-Serumspiegeln einhergehenden Krankheiten von Bedeutung sein.

In wie weit diese Ergebnisse Rückschlüsse auf die Langzeitprognose von Malignomen zulassen bzw. ob Aussagen hinsichtlich des Zeitpunkts einer eventuellen Rezidiventwicklung möglich sind, kann zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht abschließend beurteilt werden und sollte in weiteren Untersuchungen weiter verfolgt werden.

5 Schlussfolgerungen

1.)

Die bei Patienten mit soliden Tumoren gemessenen Serumspiegel der Parameter des IGF-Systems (IGF-I, IGF-II, IGFBP-2, IGFBP-3 und ALS) weichen bis auf Einzelfälle bei allen untersuchten Tumorentitäten nur minimal von den altersentsprechenden Referenzwerten gesunder Personen ab.

2.)

Bei der Einzelauswertung der Tumortypen Prostata-Ca, Kolorektal-Ca, HNO-Ca, Bronchial-Ca und Lymphome zeigten sich uneinheitliche und zum Teil gegensätzliche Abhängigkeiten der Serumspiegel der Parameter des IGF-Systems, was der Grund dafür sein kann, dass bei der Gesamtheit der Patienten mit unterschiedlichen Tumoren keine Abhängigkeit der Serumspiegel der Parameter des IGF-Systems von der Tumormasse festgestellt werden kann.

3.)

Bei der Gesamtheit der Patienten unterschieden sich die Serumspiegel der Parameter des IGF-Systems bei Patienten mit Fernmetastasen nicht von denen mit nur lokoregionär begrenztem Tumor. Lediglich bei einzelnen Patienten mit nachweisbarer Metastasierung lagen höhere Serumspiegel der Parameter des IGF-Systems vor als in der Gruppe mit lokoregionären Tumoren.

6 Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurde die Bedeutung des IGF-Systems auf verschiedene solide Tumore untersucht. IGFBP-2 (Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-2) ist Teil des IGF-Systems und spielt als solches eine wichtige Rolle bei der Regulation vieler zellulärer und physiologischer Vorgänge. Auch in der Tumorbilogie besitzt IGFBP-2 eine bedeutende Rolle.

Da die Parameter des IGF-Systems eine Schlüsselrolle bei essentiellen Zellfunktionen spielen, sind sie auf der Zellebene eng mit der Entstehung von Krebs verknüpft. Tumorzellen produzieren Parameter des IGF-Systems häufig in veränderter Menge, was sich in Veränderungen der Serumspiegel im Vergleich zu den Referenzbereichen gesunder Population widerspiegelt.

In dieser Studie wurden die Serumspiegel von IGF-I, IGF-II, IGFBP-2, IGFBP-3 und ALS bei Patienten mit makroskopischen Tumormanifestationen verschiedener Tumorerkrankungen vor und nach einer kurativ oder palliativ intendierten Strahlentherapie gemessen und mit Referenzwerten gesunder Personen verglichen. Hier wurde festgestellt, dass die Serumspiegel an IGF-II bei Patienten mit Prostata- und Kolorektal-Karzinomen durchschnittlich höher als die altersentsprechenden Referenzwerte lagen. Auch IGFBP-2 lag bei einigen Patienten mit HNO-Tumoren deutlich erhöht im Serum. Für IGFBP-2 kann eine vermehrte Produktion durch den Tumor aufgrund der erhöhten Serumspiegel angenommen werden. Allerdings waren die Abweichungen der Messwerte vom Referenzbereich auch bei Patienten mit metastasierter Erkrankung zu gering, um als Tumormarker oder prognostischer Marker eingesetzt werden zu können.

In der Gesamtbetrachtung der Gruppen zeigte sich bei der Auswertung der Serumspiegel der Komponenten des IGF-Systems kein Unterschied zwischen Patienten mit lokoregionär begrenzten Tumoren und metastasierten Erkrankungen und auch kein Unterschied vor und nach der Strahlenbehandlung. Da die Gruppengröße der einzelnen Tumorentitäten teilweise relativ klein war, können in dieser Studie nur Trends beschrieben, aber keine endgültigen Aussagen abgeleitet

werden. Dennoch kann man aus den Untersuchungen schon schließen, dass die gemessenen Parameter des IGF-Systems in der Gruppe der untersuchten Tumorpatienten nicht nennenswert von den Normalwerten abweichen und wahrscheinlich nicht als Tumormarker verwendbar sind.

7 Anhang

7.1 Tabellen

Tabelle 3: IGF-I, IGF-II, IGFBP-2, IGFBP-3 und ALS-Werte der Patienten mit Tumorerkrankung vor der Therapie (ng/ml)

Geschlecht	RT-Datum	Alter	Diagnose	IGF-I	IGF-II	IGFBP-2	IGFBP-3	ALS
f	11-12/06	68,53	Mamma-Ca	104,1 3	776,8	1033,08	1,88	24,45
f	11-12/06	74,44	Mamma-Ca	220,6	758,1	747,86	4,87	20,56
f	11-12/06	49,27	Mamma-Ca	124,2	899,0	150,39	2,32	23,64
f	12/06	79,55	Mamma-Ca	57,2	667,2	504,23	1,73	15,72
f	12/06	71,98	Mamma-Ca	109,0	843,1	347,55	2,85	17,23
f	01-03/07	58,7	Mamma-Ca	192,0	951,9	360,93	3,41	22,23
m	02/07	46,74	Mamma-Ca	138,3	696,6	1140,92	2,43	28,57
f	02/07	57,53	Mamma-Ca	180,5	1039,4	1104,21	3,24	18,39
f	04/07	62,54	Mamma-Ca	168,5	824,0	194,63	3,03	20,95
m	11-12/06	82,26	Prostata-Ca	220,7	802,7	442,28	5,45	18,07
m	11-12/06	67,71	Prostata-Ca	142,3	625,1	548,79	2,74	24,54
m	10-12/06	70,82	Prostata-Ca	176,5	738,8	306,68	4,21	12,32
m	09-11/06	76,22	Prostata-Ca	289,6	1048,9	360,88	7,23	20,25
m	11/06-01/07	71,04	Prostata-Ca	162,9	842,3	512,83	3,96	15,29
m	10-12/06	62,5	Prostata-Ca	189,5	1147,6	156,92	1,63	23,34
m	11/06-01/07	72,52	Prostata-Ca	290,3	990,3	535,08	6,89	19,22
m	01-02/07	61,34	Prostata-Ca	187,7	1017,1	1488,30	7,21	7,42
m	01-02/07	72,8	Prostata-Ca	67,1	352,9	182,72	2,34	12,26
m	12/06-01/07	77,46	Prostata-Ca	126,9	952,2	705,82	2,50	21,98
m	01-02/07	70,28	Prostata-Ca	127,5	1311,7	178,97	2,56	8,57
m	01-02/07	78,18	Prostata-Ca	125,8	553,6	266,79	2,41	10,38
m	12/06-2/07	70,61	Prostata-Ca	182,9	916,4	255,31	4,11	14,27
m	01-03/07	67,27	Prostata-Ca	228,8	943,7	145,13	3,86	12,36
m	02-03/07	57,06	Prostata-Ca	217,5	1025,4	262,26	3,66	25,35
m	03/07	65,84	Prostata-Ca	134,8	596,5	289,39	2,54	20,07
m	01-02/07	65,19	Prostata-Ca	184,7	917,3	121,41	2,23	9,95
m	01-03/07	66,24	Prostata-Ca	266,5	785,6	223,39	4,20	13,64
m	02-03/07	59,44	Prostata-Ca	169,1	1020,2	124,71	2,57	21,62
m	02/07	69,98	Prostata-Ca	105,9	853,8	119,73	1,74	10,52
m	03-04/07	72,08	Prostata-Ca	123,1	923,5	126,92	3,21	8,47
m	11-12/06	63,92	Kol-Ca	100,5	560,3	547,79	1,11	17,63
m	9-11/06	66,24	Kol-Ca	92,9	522,3	401,12	1,56	25,67
m	9-11/06	74,58	Kol-Ca	120,9	586,5	1223,48	2,75	27,35
f	11-12/06	62,58	Kol-Ca	114,3	748,5	522,60	2,30	16,49

f	10-12/06	51,86	Kol-Ca	124,5	921,3	851,49	2,21	14,64
m	11/06	84,12	Kol-Ca	159,6	808,6	295,17	4,12	19,48
f	11/06-01/07	71,02	Kol-Ca	208,9	949,8	333,91	4,25	25,51
f	12/06	78,47	Kol-Ca	173,7	773,9	406,86	2,91	21,84
m	01-02/07	41,00	Kol-Ca	199,6	900,6	228,17	1,53	12,38
f	12/06-02/07	86,06	Kol-Ca	126,9	699,0	504,75	2,82	10,39
m	12/06-01/07	62,09	Kol-Ca	234,5	921,5	981,01	4,10	27,37
m	01-03/07	72	Kol-Ca	299,5	795,6	686,43	2,18	14,32
f	12/06-02/07	54,5	Kol-Ca	140,3	952,8	367,54	2,43	20,36
m	01/07	73,61	Kol-Ca	110,1	851,1	669,47	2,74	10,47
f	01-02/07	65,92	Kol-Ca	154,8	979,6	63,04	2,76	31,59
f	02-03/07	72,43	Kol-Ca	202,7	961,4	734,78	4,52	9,41
f	02-03/07	55,09	Kol-Ca	98,9	622,6	977,87	1,83	35,68
f	03-04/07	78,19	Kol-Ca	368,5	1127,1	406,45	7,39	17,43
f	03-04/07	67,1	Kol-Ca	189,3	1144,8	460,75	2,78	30,74
m	03-05/07	68,59	Kol-Ca	124,8	890,1	235,80	2,27	19,22
m	04-05/07	63,98	Kol-Ca	195,0	1290,5	270,39	2,68	23,57
m	04-05/07	68,15	Kol-Ca	168,2	661,7	536,48	2,52	9,28
m	04/07	47,31	Kol-Ca	263,3	1081,4	173,76	2,98	17,57
m	02-03/07	69	Kol-Ca	131,5	569,9	888,46	2,32	12,55
f	02/07	76,93	Kol-Ca	156,9	1035,5	182,58	3,08	24,58
m	02-03/07	69	Kol-Ca	65,3	413,7	567,91	1,37	13,69
m	11-12/06	57,28	Glioblastom	213,2	1137,0	103,92	3,65	21,68
f	11-12/06	50,52	Glioblastom	177,3	707,6	159,50	3,35	18,53
m	11-12/06	65,59	Glioblastom	141,6	929,5	155,91	2,65	23,62
f	11/06-01/07	62,06	Glioblastom	221,9	1015,7	239,38	3,87	17,63
m	12/06-01/07	55,27	Glioblastom	195,1	1229,7	487,59	3,54	21,57
m	02-03/07	50,94	Glioblastom	198,4	946,2	163,59	3,28	18,64
m	12/06-01/07	65,43	Glioblastom	94,0	551,9	437,88	1,87	15,57
m	12/06-02/07	40,73	Glioblastom	282,5	996,3	177,83	4,38	18,74
f	01-03/07	60,08	Glioblastom	<u>44,3</u>	395,5	204,91	1,78	18,47
f	01-02/07	57,56	Glioblastom	171,6	1044,7	266,33	3,54	12,62
m	03-04/07	51,66	Glioblastom	360,8	1264,7	467,47	4,76	19,33
m	03-04/07	40,52	Glioblastom	290,6	1028,9	269,22	4,56	26,53
m	11-12/06	29,09	Nieren-Ca	267,7	831,9	462,39	3,12	28,54
f	01-02/07	78,33	Nieren-Ca	93,6	646,7	1009,72	2,49	24,31
m	02/07	71,72	Nieren-Ca	123,2	833,4	463,46	3,53	22,47
f	11-12/06	73,01	HNO-Tumor	130,1	592,3	305,13	2,74	21,79
f	11-12/06	42,96	HNO-Tumor	298,3	1043,1	444,59	4,65	14,76
f	12/06-02/07	84,18	HNO-Tumor	37,8	417,1	1091,41	1,13	28,58
f	01-02/07	68,35	HNO-Tumor	250,5	900,8	521,10	4,17	11,66
m	02-03/07	89,06	HNO-Tumor	140,9	885,7	577,26	3,68	9,34
m	02-03/07	64,01	HNO-Tumor	206,2	1125,5	680,28	2,62	12,34
f	12/06-01/07	70,63	HNO-Tumor	123,9	478,2	665,05	2,62	10,69
m	02-03/07	72,76	HNO-Tumor	177,3	578,8	535,46	4,11	14,33
m	02-04/07	71,31	HNO-Tumor	8,1	230,8	1680,00	1,02	23,45
f	03-04/07	56,97	HNO-Tumor	110,7	589,0	1369,80	2,27	13,51
f	03/07	66,21	HNO-Tumor	61,3	592,5	1124,29	1,32	27,8
m	03-05/07	47,8	HNO-Tumor	213,8	974,2	719,25	2,64	15,77

m	11-12/06	80,33	HNO-Tumor	128,3	619,6	672,18	3,43	18,79
f	01-03/07	64,1	HNO-Tumor	133,1	602,7	490,77	2,21	7,32
f	02-03/07	77,01	HNO-Tumor	88,5	538,6	1871,25	2,64	23,44
m	04-05/07	55,47	HNO-Tumor	250,9	1038,8	455,47	3,13	10,32
f	04-05/07	90,09	HNO-Tumor	119,3	820,5	1049,55	3,65	8,65
m	11-12/06	67,9	Bronchial-Ca	158,4	714,7	307,35	2,87	11,44
m	11-12/06	66,47	Bronchial-Ca	258,2	761,4	508,71	4,53	26,58
f	11-12/06	82,09	Bronchial-Ca	107,3	472,7	405,72	2,82	15,48
m	11-12/06	62,05	Bronchial-Ca	100,3	627,9	836,61	1,97	11,52
m	11-12/06	44,55	Bronchial-Ca	129,0	626,9	947,89	2,34	16,58
m	11-12/06	70,21	Bronchial-Ca	259,1	781,4	340,41	5,42	12,54
f	01-02/07	65,78	Bronchial-Ca	181,0	942,4	635,25	3,05	14,66
m	12/06	60,18	Bronchial-Ca	116,7	878,9	322,86	2,21	16,84
m	11-12/06	51,45	Bronchial-Ca	61,1	452,9	714,96	1,36	37,98
m	12/06-01/07	74,38	Bronchial-Ca	150,1	582,7	488,33	2,83	19,77
m	12/06-02/07	66,13	Bronchial-Ca	221,3	773,2	1458,99	3,06	12,56
f	12/06	86,84	Bronchial-Ca	126,1	630,3	379,05	2,92	13,59
m	01/07	72,71	Bronchial-Ca	160,5	727,4	486,25	2,46	14,68
m	01/07	61,02	Bronchial-Ca	102,9	845,8	120,00	2,05	24,98
m	01-02/07	65,62	Bronchial-Ca	119,7	514,5	612,52	2,67	17,68
f	01-02/07	45,24	Bronchial-Ca	96,4	510,1	1680,00	1,69	16,37
m	01-02/07	79,99	Bronchial-Ca	229,1	1014,4	259,37	4,41	17,38
m	01-02/07	50,87	Bronchial-Ca	277,0	1390,2	63,23	4,31	20,31
m	01-02/07	86,56	Bronchial-Ca	93,9	359,3	389,40	3,03	9,34
m	01-02/07	72,88	Bronchial-Ca	120,2	548,1	663,11	3,01	8,27
f	01-02/07	47,96	Bronchial-Ca	253,2	1037,0	249,36	4,02	35,54
f	01-02/07	59,33	Bronchial-Ca	148,3	1153,9	626,87	2,75	19,63
m	02/07	68,36	Bronchial-Ca	152,8	812,5	837,54	2,74	24,69
m	02/07	52,77	Bronchial-Ca	93,9	653,0	310,58	1,79	11,32
m	02-03/07	77,69	Bronchial-Ca	152,4	763,1	893,14	3,91	6,74
m	02-03/07	65,89	Bronchial-Ca	122,4	701,4	648,51	2,54	23,94
f	02-03/07	77,46	Bronchial-Ca	72,0	486,3	1551,81	2,41	12,55
m	03/07	44,56	Bronchial-Ca	133,9	588,0	520,79	2,43	23,38
m	03/07	71,11	Bronchial-Ca	130,4	741,9	940,44	2,84	19,42
m	03/07	67,57	Bronchial-Ca	218,0	1176,8	229,41	2,86	25,32
m	03/07	70,16	Bronchial-Ca	249,1	971,0	327,17	4,73	8,57
m	04/07	66,1	Bronchial-Ca	165,4	648,1	146,20	3,01	24,63
f	04/07	69,28	Bronchial-Ca	128,6	955,1	502,37	2,48	21,48
f	03-04/07	71,13	Bronchial-Ca	114,4	672,4	451,56	2,73	18,44
m	12/06	60,94	Ösophag-Ca	116,7	496,5	1132,88	2,31	16,33
f	02-03/07	57,88	Ösophag-Ca	200,3	996,2	328,38	3,05	20,95
m	02-03/07	64,88	Ösophag-Ca	136,1	623,4	1709,55	2,67	10,22
m	03/07	80,28	Ösophag-Ca	115,9	736,5	638,07	3,64	11,53
m	04/07	66,88	Ösophag-Ca	236,9	879,6	331,92	3,17	24,31
m	11/06	20,82	Lymphom	426,7	661,3	436,00	4,84	27,44
f	11-12/06	68,9	Lymphom	156,9	996,7	587,66	2,75	28,23
m	11-12/06	68,31	Lymphom	196,1	762,7	161,20	2,94	16,94
m	12/06	48,74	Lymphom	175,2	798,5	332,95	2,75	23,43
f	12/06	60,36	Lymphom	334,5	744,0	204,72	4,83	10,06

f	12/06	69,49	Lymphom	209,7	592,3	595,33	2,57	19,6
m	01-02/07	57,85	Lymphom	99,5	665,0	858,39	2,15	22,47
m	01-02/07	66,87	Lymphom	103,3	456,6	1087,49	2,18	15,48
m	02/07	79,62	Lymphom	90,5	585,4	408,22	2,72	9,78
m	02-03/07	58,42	Lymphom	206,9	1066,8	275,92	2,94	11,32
m	02/07	58,56	Lymphom	119,7	867,7	1390,23	2,35	23,55
m	02/07	71,45	Lymphom	158,4	727,4	613,86	2,92	17,48
m	02-03/07	52,28	Lymphom	139,1	778,7	408,29	2,59	12,01
m	03/07	56,25	Lymphom	211,8	850,9	280,07	3,02	15,21
m	03-04/07	74,71	Lymphom	154,6	835,0	655,09	3,86	27,39
m	03/07	80,59	Lymphom	151,1	1026,2	681,29	4,03	20,29
m	04-05/07	57,87	Lymphom	188,4	926,8	408,73	2,76	8,41
m	12/06	65,91	Lymphom	135,7	699,4	679,37	1,68	20,7
f	02-03/07	42,68	Lymphom	280,6	941,5	169,92	4,52	14,39
m	02/07	45,79	Lymphom	70,9	466,5	1115,71	1,52	21,29
f	11-12/06	68,32	Melanom	139,9	920,3	387,73	2,62	19,48
m	01/07	57,51	Melanom	11,7	220,3	1339,13	1,05	12,02
m	02-03/07	78,62	Melanom	207,3	733,7	543,86	4,76	15,35
f	02-04/07	88,98	Melanom	87,2	653,3	417,88	2,68	17,36
m	04-05/07	92,68	Melanom	239,2	1239,2	632,55	4,27	9,28
f	02-03/07	78	Zervix-Ca	157,8	912,9	275,64	3,92	10,37
f	03-04/07	72,43	Zervix-Ca	100,4	785,9	245,47	3,28	11,25
f	03-04/07	43,96	Zervix-Ca	137,2	1060,3	114,43	2,59	18,39
f	04-05/07	42,74	Zervix-Ca	210,8	1025,0	441,89	3,68	16,03
f	04-05/07	48,62	Zervix-Ca	202,3	1160,6	91,31	3,42	20,18
f	04/07	65,92	Endom-Ca	184,0	1234,8	97,65	3,09	14,18
m	02-03/07	75,69	Pankreas-Ca	116,6	701,3	747,02	3,32	15,31
m	01-02/07	56,85	Pankreas-Ca	73,1	521,5	821,61	1,53	19,39
f	12/06-02/07	63,77	Pankreas-Ca	146,5	964,2	297,84	2,83	17,36
m	04/07	59,97	Blasen-Ca	171,5	956,0	834,40	3,17	23,42
f	02-04/07	70,59	Magen-Ca	108,0	823,6	435,69	2,78	18,37
f	---	56,56	Kontrolle	136,4	1042,7	559,57	2,57	21,78
f	---	58,2	Kontrolle	104,3	1030,6	333,98	1,75	19,31
m	---	36,63	Kontrolle	246,9	943,7	134,56	4,16	22,56
f	---	63,25	Kontrolle	155,1	1159,2	515,21	2,73	17,32
f	---	48,51	Kontrolle	155,9	1150,3	443,25	2,97	19,41
f	---	33,1	Kontrolle	256,7	1009,4	58,75	4,29	20,12
f	---	47,71	Kontrolle	135,3	680,0	733,60	2,61	19,39
f	---	37,63	Kontrolle	198,6	956,2	43,06	3,59	22,47
f	---	28,13	Kontrolle	354,7	853,5	136,62	5,16	23,06
m	---	18	Kontrolle	153,3	741,3	200,03	1,85	19,5
m	---	18	Kontrolle	211,9	680,7	371,09	2,31	18,32
m	---	18	Kontrolle	230,0	821,4	682,79	2,17	17,33
m	---	18	Kontrolle	202,6	831,2	189,43	2,14	23,02

Tabelle 4: IGF-I, IGF-II, IGFBP-2, IGFBP-3 und ALS-Werte der Patienten mit Tumorerkrankung nach der Therapie (ng/ml)

Geschlecht	RT-Datum	Alter	Diagnose	IGF-I	IGF-II	IGFBP-2	IGFBP-3	ALS
f	11-12/06	68,53	Mamma-Ca	105,53	773,1	1025,30	1,76	24,11
f	11-12/06	74,44	Mamma-Ca	225,3	752,3	745,78	4,88	20,16
f	11-12/06	49,27	Mamma-Ca	121,8	893,7	158,34	2,46	23,27
f	12/06	79,55	Mamma-Ca	58,2	661,5	500,34	1,89	15,58
f	12/06	71,98	Mamma-Ca	111,2	842,3	342,43	2,86	17,03
f	01-03/07	58,7	Mamma-Ca	191,2	960,2	355,78	3,51	21,87
m	02/07	46,74	Mamma-Ca	138,0	690,1	1138,41	2,33	27,99
f	02/07	57,53	Mamma-Ca	179,3	1030,4	1100,43	3,10	18,02
f	04/07	62,54	Mamma-Ca	169,4	810,2	190,30	3,00	20,65
m	11-12/06	82,26	Prostata-Ca	219,4	800,1	435,89	5,22	17,38
m	11-12/06	67,71	Prostata-Ca	141,2	610,5	542,34	2,71	24,02
m	10-12/06	70,82	Prostata-Ca	175,3	732,3	300,58	4,00	12,00
m	09-11/06	76,22	Prostata-Ca	288,5	1042,3	362,34	7,34	18,99
m	11/06-01/07	71,04	Prostata-Ca	162,4	841,2	509,34	3,84	14,36
m	10-12/06	62,5	Prostata-Ca	187,4	1140,2	152,39	1,59	23,48
m	11/06-01/07	72,52	Prostata-Ca	293,5	982,1	537,33	6,49	20,31
m	01-02/07	61,34	Prostata-Ca	186,4	1011,0	1485,56	7,11	7,28
m	01-02/07	72,8	Prostata-Ca	68,3	340,2	179,34	2,88	12,18
m	12/06-01/07	77,46	Prostata-Ca.	127,4	950,0	703,23	2,44	19,29
m	01-02/07	70,28	Prostata-Ca	125,9	1320,4	176,89	2,30	9,37
m	01-02/07	78,18	Prostata-Ca	128,4	540,5	264,78	2,64	9,78
m	12/06-2/07	70,61	Prostata-Ca	182,5	913,2	250,56	4,00	13,69
m	01-03/07	67,27	Prostata-Ca	227,4	940,1	142,37	3,79	11,59
m	02-03/07	57,06	Prostata-Ca	216,9	1020,3	259,94	3,62	24,87
m	03/07	65,84	Prostata-Ca	135,3	593,4	294,39	2,39	19,59
m	01-02/07	65,19	Prostata-Ca	185,0	912,0	120,38	2,30	9,43
m	01-03/07	66,24	Prostata-Ca	266,4	781,1	220,38	4,18	13,22
m	02-03/07	59,44	Prostata-Ca	171,5	1011,2	121,00	2,53	20,55
m	02/07	69,98	Prostata-Ca	105,3	850,2	113,98	1,72	9,58
m	03-04/07	72,08	Prostata-Ca	124,6	916,9	123,28	3,18	8,30
m	11-12/06	63,92	Kol-Ca	98,5	551,2	542,39	1,09	16,89
m	9-11/06	66,24	Kol-Ca	92,4	515,2	398,39	1,53	24,37
m	9-11/06	74,58	Kol-Ca	117,4	581,2	1220,34	2,69	27,33
f	11-12/06	62,58	Kol-Ca	112,3	757,1	520,38	2,27	15,30
f	10-12/06	51,86	Kol-Ca	123,4	928,3	848,29	2,19	12,29
m	11/06	84,12	Kol-Ca	160,7	810,0	293,49	4,10	18,44
f	11/06-01/07	71,02	Kol-Ca	206,9	945,1	330,28	4,16	23,86
f	12/06	78,47	Kol-Ca	172,5	771,9	402,38	3,11	20,11
m	01-02/07	41,00	Kol-Ca	200,4	903,1	229,37	1,55	10,32
f	12/06-02/07	86,06	Kol-Ca	125,8	701,2	503,28	2,77	10,19
m	12/06-01/07	62,09	Kol-Ca	235,1	923,4	979,39	4,04	25,88
m	01-03/07	72	Kol-Ca	295,6	797,5	683,48	2,10	12,88
f	12/06-02/07	54,5	Kol-Ca	135,6	950,8	362,89	2,39	18,99
m	01/07	73,61	Kol-Ca	113,7	843,4	672,38	2,71	8,59

f	01-02/07	65,92	Kol-Ca	152,4	983,7	61,29	2,69	30,58
f	02-03/07	72,43	Kol-Ca	200,5	960,8	739,47	4,41	7,95
f	02-03/07	55,09	Kol-Ca	99,4	627,3	974,90	1,80	33,72
f	03-04/07	78,19	Kol-Ca	367,9	1098,0	403,98	7,37	18,44
f	03-04/07	67,1	Kol-Ca	188,8	1120,8	458,38	2,63	28,49
m	03-05/07	68,59	Kol-Ca	123,7	886,9	234,39	2,30	19,33
m	04-05/07	63,98	Kol-Ca	191,0	1281,1	268,30	2,63	21,29
m	04-05/07	68,15	Kol-Ca	165,9	665,8	532,39	2,67	6,88
m	04/07	47,31	Kol-Ca	264,9	1097,7	172,45	2,86	17,33
m	02-03/07	69	Kol-Ca	130,7	578,8	882,30	2,29	10,79
f	02/07	76,93	Kol-Ca	152,1	1030,6	182,36	3,10	22,86
m	02-03/07	69	Kol-Ca	63,1	410,8	560,47	1,41	12,85
m	11-12/06	57,28	Glioblastom	210,4	1132,6	101,37	3,61	19,95
f	11-12/06	50,52	Glioblastom	175,2	704,7	157,22	3,29	17,48
m	11-12/06	65,59	Glioblastom	145,2	915,9	152,39	2,39	22,49
f	11/06-01/07	62,06	Glioblastom	228,4	1023,8	237,49	3,73	18,33
m	12/06-01/07	55,27	Glioblastom	194,9	1227,6	484,98	3,30	20,85
m	02-03/07	50,94	Glioblastom	195,3	958,9	161,74	3,18	17,39
m	12/06-01/07	65,43	Glioblastom	93,6	553,7	438,11	1,74	13,86
m	12/06-02/07	40,73	Glioblastom	285,3	985,9	173,44	4,33	17,40
f	01-03/07	60,08	Glioblastom	41,2	390,6	203,78	1,77	19,50
f	01-02/07	57,56	Glioblastom	170,0	1042,5	263,47	3,80	11,30
m	03-04/07	51,66	Glioblastom	355,9	1260,5	463,48	4,72	20,54
m	03-04/07	40,52	Glioblastom	288,0	1025,7	263,26	4,22	24,72
m	11-12/06	29,09	Nieren-Ca	263,7	826,7	460,36	3,10	27,94
f	01-02/07	78,33	Nieren-Ca	90,7	653,9	1003,48	2,44	25,88
m	02/07	71,72	Nieren-Ca	123,9	848,0	460,34	3,52	20,72
f	11-12/06	73,01	HNO-Tumor	135,6	580,3	301,27	2,69	20,37
f	11-12/06	42,96	HNO-Tumor	300,6	1035,8	441,24	4,53	13,29
f	12/06-02/07	84,18	HNO-Tumor	34,6	419,6	1085,38	1,10	26,50
f	01-02/07	68,35	HNO-Tumor	248,5	890,2	517,28	4,12	9,89
m	02-03/07	89,06	HNO-Tumor	138,6	889,2	573,49	3,66	9,55
m	02-03/07	64,01	HNO-Tumor	204,7	1120,8	681,29	2,53	10,79
f	12/06-01/07	70,63	HNO-Tumor	122,6	473,8	662,38	2,55	9,86
m	02-03/07	72,76	HNO-Tumor	175,9	580,5	532,38	4,00	13,88
m	02-04/07	71,31	HNO-Tumor	7,5	228,9	1675,49	0,94	22,69
f	03-04/07	56,97	HNO-Tumor	105,7	587,3	1365,75	2,30	12,36
f	03/07	66,21	HNO-Tumor	64,5	580,0	1122,94	1,38	25,36
m	03-05/07	47,8	HNO-Tumor	219,4	979,8	716,21	2,51	14,83
m	11-12/06	80,33	HNO-Tumor	125,3	632,6	671,29	3,29	17,39
f	01-03/07	64,1	HNO-Tumor	137,3	605,8	485,74	2,14	7,22
f	02-03/07	77,01	HNO-Tumor	86,4	543,8	1869,41	2,49	21,64
m	04-05/07	55,47	HNO-Tumor	250,6	1034,7	452,37	3,22	10,50
f	04-05/07	90,09	HNO-Tumor	115,3	825,8	1047,33	3,50	7,46
m	11-12/06	67,9	Bronchial-Ca	155,6	719,8	302,31	2,77	10,65
m	11-12/06	66,47	Bronchial-Ca	257,4	767,9	503,42	4,48	27,10
f	11-12/06	82,09	Bronchial-Ca	109,8	475,8	404,38	2,76	15,20
m	11-12/06	62,05	Bronchial-Ca	95,8	630,7	835,44	1,95	11,20
m	11-12/06	44,55	Bronchial-Ca	129,5	629,7	944,39	2,21	16,30

m	11-12/06	70,21	Bronchial-Ca	256,9	786,9	337,41	5,38	11,80
f	01-02/07	65,78	Bronchial-Ca	179,9	947,8	631,22	3,01	13,88
m	12/06	60,18	Bronchial-Ca	115,8	884,8	319,39	2,15	15,96
m	11-12/06	51,45	Bronchial-Ca	61,5	464,8	711,77	1,31	37,44
m	12/06-01/07	74,38	Bronchial-Ca	152,4	587,9	485,99	2,76	17,03
m	12/06-02/07	66,13	Bronchial-Ca	220,5	769,5	1453,41	3,00	11,42
f	12/06	86,84	Bronchial-Ca	124,6	625,8	374,32	2,84	12,53
m	01/07	72,71	Bronchial-Ca	157,8	720,9	483,29	2,29	12,55
m	01/07	61,02	Bronchial-Ca	100,7	849,7	117,33	1,97	23,55
m	01-02/07	65,62	Bronchial-Ca	117,9	518,7	611,21	2,59	15,20
f	01-02/07	45,24	Bronchial-Ca	95,3	516,8	1678,54	1,68	15,30
m	01-02/07	79,99	Bronchial-Ca	228,9	1009,7	258,32	4,33	15,40
m	01-02/07	50,87	Bronchial-Ca	276,4	1386,9	61,22	4,27	18,96
m	01-02/07	86,56	Bronchial-Ca	93,0	355,9	379,49	3,16	10,10
m	01-02/07	72,88	Bronchial-Ca	118,7	554,9	661,29	2,88	9,04
f	01-02/07	47,96	Bronchial-Ca	251,6	1032,7	246,72	3,97	36,29
f	01-02/07	59,33	Bronchial-Ca	147,5	1149,7	621,83	2,71	17,50
m	02/07	68,36	Bronchial-Ca	152,0	816,9	832,79	2,69	23,29
m	02/07	52,77	Bronchial-Ca	91,4	648,9	307,39	1,65	10,40
m	02-03/07	77,69	Bronchial-Ca	154,3	759,9	889,60	3,88	5,06
m	02-03/07	65,89	Bronchial-Ca	119,9	689,9	645,38	2,44	24,75
f	02-03/07	77,46	Bronchial-Ca	70,3	493,8	1549,37	2,48	11,49
m	03/07	44,56	Bronchial-Ca	131,8	590,9	518,75	2,53	22,91
m	03/07	71,11	Bronchial-Ca	127,9	750,3	937,83	2,77	19,33
m	03/07	67,57	Bronchial-Ca	215,9	1159,0	227,85	2,89	24,90
m	03/07	70,16	Bronchial-Ca	248,9	967,9	324,83	4,69	8,20
m	04/07	66,1	Bronchial-Ca	162,9	656,8	142,99	2,95	25,33
f	04/07	69,28	Bronchial-Ca	126,7	951,0	501,21	2,21	20,11
f	03-04/07	71,13	Bronchial-Ca	112,1	670,3	448,93	2,69	19,22
m	12/06	60,94	Ösophag-Ca	112,7	493,9	1126,85	2,11	15,30
f	02-03/07	57,88	Ösophag-Ca	197,3	991,9	325,82	3,08	19,44
m	02-03/07	64,88	Ösophag-Ca	134,8	616,7	1704,77	2,30	10,27
m	03/07	80,28	Ösophag-Ca	110,8	729,4	637,23	3,19	10,20
m	04/07	66,88	Ösophag-Ca	238,6	873,9	328,37	3,26	24,93
m	11/06	20,82	Lymphom	428,6	669,4	433,48	4,72	25,33
f	11-12/06	68,9	Lymphom	152,9	984,8	583,40	2,73	27,90
m	11-12/06	68,31	Lymphom	195,3	762,5	160,33	2,80	15,47
m	12/06	48,74	Lymphom	172,5	793,4	330,88	2,79	22,83
f	12/06	60,36	Lymphom	331,2	742,8	202,39	4,73	9,60
f	12/06	69,49	Lymphom	206,7	591,0	593,21	2,41	18,30
m	01-02/07	57,85	Lymphom	95,7	662,9	853,40	2,10	21,33
m	01-02/07	66,87	Lymphom	100,8	451,9	1084,98	2,24	13,77
m	02/07	79,62	Lymphom	84,3	581,2	407,77	2,66	8,99
m	02-03/07	58,42	Lymphom	209,7	1042,8	274,97	2,83	10,49
m	02/07	58,56	Lymphom	125,3	863,2	1388,87	2,71	23,11
m	02/07	71,45	Lymphom	153,5	720,4	612,32	2,87	15,49
m	02-03/07	52,28	Lymphom	137,4	771,3	403,88	2,63	11,37
m	03/07	56,25	Lymphom	207,5	845,2	277,99	2,96	14,99
m	03-04/07	74,71	Lymphom	152,3	832,8	652,39	3,99	26,40

m	03/07	80,59	Lymphom	150,3	1025,2	679,58	4,01	21,30
m	04-05/07	57,87	Lymphom	185,3	924,9	408,80	2,84	7,36
m	12/06	65,91	Lymphom	132,5	683,2	677,00	1,53	19,40
f	02-03/07	42,68	Lymphom	276,4	953,0	164,59	4,55	13,95
m	02/07	45,79	Lymphom	67,4	453,4	1111,42	1,67	20,47
f	11-12/06	68,32	Melanom	135,4	915,4	384,22	2,51	18,73
m	01/07	57,51	Melanom	10,4	215,3	1338,44	0,96	11,04
m	02-03/07	78,62	Melanom	201,5	731,7	541,20	4,84	14,83
f	02-04/07	88,98	Melanom	88,4	651,8	416,33	2,50	16,54
m	04-05/07	92,68	Melanom	235,7	1216,3	631,88	4,25	9,44
f	02-03/07	78	Zervix-Ca	153,4	903,4	273,10	3,83	10,22
f	03-04/07	72,43	Zervix-Ca	93,6	781,2	241,88	3,16	12,33
f	03-04/07	43,96	Zervix-Ca	132,6	1053,2	112,31	2,48	17,94
f	04-05/07	48,62	Zervix-Ca	200,4	1152,4	91,33	3,25	20,11
f	04-05/07	42,74	Zervix-Ca	205,4	1017,3	438,99	3,41	14,24
f	04/07	65,92	Endom-Ca	175,9	1227,3	94,30	3,00	12,30
m	02-03/07	75,69	Pankreas-Ca	112,7	690,4	742,39	3,22	14,82
m	01-02/07	56,85	Pankreas-Ca	72,5	528,5	817,32	1,59	17,07
f	12/06-02/07	63,77	Pankreas-Ca	142,3	961,4	295,00	2,64	18,44
m	04/07	59,97	Blasen-Ca	167,4	951,3	840,32	3,29	22,33
f	02-04/07	70,59	Magen-Ca	105,7	820,0	437,44	2,58	17,90
f	---	56,56	Kontrolle	135,4	1035,8	558,99	2,51	20,36
f	---	58,2	Kontrolle	102,3	1027,8	332,34	1,74	18,43
m	---	36,63	Kontrolle	242,6	941,4	132,99	4,19	21,46
f	---	63,25	Kontrolle	152,7	1154,3	512,84	2,69	16,39
f	---	48,51	Kontrolle	151,0	1136,9	442,87	2,84	18,43
f	---	33,1	Kontrolle	250,7	1000,9	57,90	4,15	20,00
f	---	47,71	Kontrolle	132,5	682,3	731,29	2,58	18,97
f	---	37,63	Kontrolle	194,0	957,3	42,39	3,52	23,20
f	---	28,13	Kontrolle	357,3	858,2	132,39	5,03	23,89
m	---	18	Kontrolle	152,3	742,4	200,33	1,75	19,40
m	---	18	Kontrolle	209,6	675,7	371,22	2,16	18,49
m	---	18	Kontrolle	228,9	817,9	680,48	2,20	18,45
m	---	18	Kontrolle	201,3	827,9	188,00	2,10	23,68

7.2 Puffer, Lösungen und Antikörper

Radioimmunoassay

Puffer zur Ansäuerung der Zellüberstände

0,5 M Ortho-Phosphorsäure

1% BSA1

1% Triton X-100

0,1% NaN₃

1 mM PMSF

Assaypuffer

0,05 M Natriumphosphat (7,1g/l Na₂HPO₄ x 2 H₂O, 1,35 g/l NaH₂PO₄ x H₂O)

0,1 M NaCl (5,83 g/l)

0,05% NaN₃

0,2% fettsäurefreies BSA

0,1% Triton X-100

pH = 7,4 (mit NaOH eingestellt)

Puffer A

20 mM Phosphatpuffer, pH = 2,8 (mit konz. HCl eingestellt)

2,5926 mM Ortho-Phosphorsäure

16,409 mM NaH₂PO₄ x H₂O

5 mM EDTA

120 mM NaCl

0,02% NaN₃

0,2% BSA fettfrei

0,1% Triton X-100

Puffer B

100 mM Phosphatpuffer, pH = 7,8

75,55 mM Na₂ HPO₄ x 2H₂O

24,45 mM NaH₂PO₄ x H₂O

40 mM NaCl

0,02% NaN₃

0,2% BSA fettfrei

0,1% Triton X-100

4°C kaltes deionisiertes Wasser

4% Polyethylenglycol 6000

IgG: Kaninchen-Gammaglobulinlösung: 50 mg Lyophilisat/10 ml Assaypuffer

(wird zur unspezifischen Bindung 1:100 eingesetzt)

1. Antikörper: polyklonal, aus Kaninchen, durch Immunisierung mit rekombinantem IGF-I, IGF-II, IGFBP-2 bzw. IGFBP-3 gewonnen.

2. Antikörper: polyklonal, Ziege-Anti-Kaninchen-Immunglobulin-Serum 1:160 mit 4°C kaltem 4% Polyethylenglycol 6000-Lösung ver dünnt (frisch hergestellt)

Die rekombinanten humanen Proteine IGF-I, IGF-II, IGFBP-2 und IGFBP-3 wurden von der Firma Mediagnost (Tübingen, Deutschland) bezogen.

IGFBP-2-ELISA

Anti-IGFBP-2-IgG beschichtete Mikrotiterplatten

Total-IGFBP-2-Standards (A-F), lyophilisiert

Total-IGFBP-2-Kontrollen, lyophilisiert

IGFBP-2-Assaypuffer

Total-IGFBP-2-Antikörper-Enzym-Konjugat, an Meerrettichperoxydase gekoppelt, in Proteinpuffer (BSA) und Konservierungsmittel

TMB-Chromogen-Lösung: Mischung aus Tetramethylbenzidin (TMB) in Zitratpuffer mit Wasserstoffperoxyd

Waschkonzentrat: gepufferte NaCl-Lösung mit einem nichtionischen Detergenz

IGFBPP-2-Probenpuffer

Stopp-Lösung: 0,2 M Schwefelsäure

7.3 Geräte

Vortex-Mixer: Multi-Tube-Vortexer (Baxter Scientific Products)

Pipettiermaschine: Hamilton Microlab 2200 (Hamilton Company)

Zentrifuge: Rotixa 50 RS (Hettich)

Gammacounter: LB 2111 (Berthold Technologies GmbH&Co.KG)

ELISA-Reader: Mikroplatten Reader MRX-II (Dynex Technology)

7.4 Verwendete Abkürzungen

ALS	Acid Labile Subunit
B/T%	Bindungsprozentsatz
CV	Coefficient of variation
EDTA	Ethylendiamintertraessigsäure
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
HCC	Hepatozelluläres Karzinom
hGH	human Growth Hormone
HPV 16	Humanes Papillomavirus 16
IGF	Insulin-like Growth Factor
IGFBP	Insulin-like Growth Factor Binding Protein
IGF-I-R	Insulin-like Growth Factor-I-Rezeptor
IGF-II-R	Insulin-like Growth Factor-II-Rezeptor
mRNA	messenger Ribonucleic Acid
PEC	Plattenepithelkarzinom
RIA	Radioimmunoassay
STAW	Standardabweichung
WT1, WT2	Wilms Tumor Gen1,2

8 Literaturnachweise

- Barreca, A., P. Ponzani, et al. (1995). "Functions and regulation of the acid-labile subunit of the 150 K complex." Prog Growth Factor Res **6**(2-4): 231-239.
- Baxter, R. C. (1986). "The somatomedins: insulin-like growth factors." Adv Clin Chem **25**: 49-115.
- Bernardini, S., S. Cianfarani, et al. (1994). "Expression and down-regulation by retinoic acid of IGF binding protein-2 and -4 in medium from human neuroblastoma cells." J Neuroendocrinol **6**(4): 409-413.
- Birkebaek, N. H., S. Fisker, et al. (1998). "Growth and endocrinological disorders up to 21 years after treatment for acute lymphoblastic leukemia in childhood." Med Pediatr Oncol **30**(6): 351-356.
- Blum, W. F. and M. B. Ranke (1990). "Use of insulin-like growth factor-binding protein 3 for the evaluation of growth disorders." Horm Res **33 Suppl 4**: 31-37.
- Brennan, B. M., M. Gill, et al. (1999). "Insulin-like growth factor I, IGF binding protein 3, and IGFBP protease activity: relation to anthropometric indices in solid tumours or leukaemia." Arch Dis Child **80**(3): 226-230.
- Bunn, R. C. and J. L. Fowlkes (2003). "Insulin-like growth factor binding protein proteolysis." Trends Endocrinol Metab **14**(4): 176-181.
- Camacho-Hubner, C. (2000). "Insulin-like growth factor-binding proteins and neoplasia: an overview." Growth Horm IGF Res **10 Suppl A**: S14-15.
- Chan, J. M., M. J. Stampfer, et al. (2002). "Insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF binding protein-3 as predictors of advanced-stage prostate cancer." J Natl Cancer Inst **94**(14): 1099-1106.
- Cohen, P., D. M. Peehl, et al. (1993). "Elevated levels of insulin-like growth factor-binding protein-2 in the serum of prostate cancer patients." J Clin Endocrinol Metab **76**(4): 1031-1035.
- Dai, J. and R. C. Baxter (1994). "Regulation in vivo of the acid-labile subunit of the rat serum insulin-like growth factor-binding protein complex." Endocrinology **135**(6): 2335-2341.
- Daughaday, W. H. and P. Rotwein (1989). "Insulin-like growth factors I and II. Peptide, messenger ribonucleic acid and gene structures, serum, and tissue concentrations." Endocr Rev **10**(1): 68-91.
- El-Badry, O. M., C. Minniti, et al. (1990). "Insulin-like growth factor II acts as an autocrine growth and motility factor in human rhabdomyosarcoma tumors." Cell Growth Differ **1**(7): 325-331.
- El-Badry, O. M., J. A. Romanus, et al. (1989). "Autonomous growth of a human neuroblastoma cell line is mediated by insulin-like growth factor II." J Clin Invest **84**(3): 829-839.
- Elmlinger, M. W., M. Bell, et al. (2001). "Transactivation of the IGFBP-2 promoter in human tumor cell lines." Mol Cell Endocrinol **175**(1-2): 211-218.
- Elmlinger, M. W., U. Rauschnabel, et al. (1999). "Secretion of noncomplexed 'Big' (10-18 kD) forms of insulin-like growth factor-II by 12 soft tissue sarcoma cell lines." Horm Res **52**(4): 178-185.
- Elmlinger, M. W., K. Wimmer, et al. (1996). "Insulin-like growth factor binding protein 2 is differentially expressed in leukaemic B- and T-cell lines." Growth Regul **6**(3): 152-157.

- Firth, S. M. and R. C. Baxter (2002). "Cellular actions of the insulin-like growth factor binding proteins." Endocr Rev **23**(6): 824-854.
- Frommer, K. W., K. Reichenmiller, et al. (2006). "IGF-independent effects of IGFBP-2 on the human breast cancer cell line Hs578T." J Mol Endocrinol **37**(1): 13-23.
- Gosteli-Peter, M. A., K. H. Winterhalter, et al. (1994). "Expression and regulation of insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-binding protein messenger ribonucleic acid levels in tissues of hypophysectomized rats infused with IGF-I and growth hormone." Endocrinology **135**(6): 2558-2567.
- Han, V. K., A. J. D'Ercole, et al. (1987). "Cellular localization of somatomedin (insulin-like growth factor) messenger RNA in the human fetus." Science **236**(4798): 193-197.
- Hankinson, S. E., W. C. Willett, et al. (1998). "Circulating concentrations of insulin-like growth factor-I and risk of breast cancer." Lancet **351**(9113): 1393-1396.
- Hardouin, S., M. Gourmelen, et al. (1989). "Molecular forms of serum insulin-like growth factor (IGF)-binding proteins in man: relationships with growth hormone and IGFs and physiological significance." J Clin Endocrinol Metab **69**(6): 1291-1301.
- Hjelmeland, L. M., V. J. Cristofolo, et al. (1999). "Senescence of the retinal pigment epithelium." Mol Vis **5**: 33.
- Hoeflich, A., M. M. Weber, et al. (2002). "Insulin-like growth factor binding protein 2 (IGFBP-2) separates hypertrophic and hyperplastic effects of growth hormone (GH)/IGF-I excess on adrenocortical cells in vivo." FASEB J **16**(13): 1721-1731.
- Hoflich, A., H. Lahm, et al. (1998). "Insulin-like growth factor-binding protein-2 inhibits proliferation of human embryonic kidney fibroblasts and of IGF-responsive colon carcinoma cell lines." FEBS Lett **434**(3): 329-334.
- Holdaway, I. M., A. E. Lethaby, et al. (2001). "Effect of breast surgery on serum levels of insulin-like growth factors (IGF-I, IGF-II, and IGF binding protein-3) in women with benign and malignant breast lesions." Ann Surg Oncol **8**(1): 25-31.
- Holly, J. M., D. J. Gunnell, et al. (1999). "Growth hormone, IGF-I and cancer. Less intervention to avoid cancer? More intervention to prevent cancer?" J Endocrinol **162**(3): 321-330.
- Johansson, A. G., A. Forslund, et al. (1994). "Growth hormone-dependent insulin-like growth factor binding protein is a major determinant of bone mineral density in healthy men." J Bone Miner Res **9**(6): 915-921.
- Juul, A., S. Moller, et al. (1998). "The acid-labile subunit of human ternary insulin-like growth factor binding protein complex in serum: hepatosplanchnic release, diurnal variation, circulating concentrations in healthy subjects, and diagnostic use in patients with growth hormone deficiency." J Clin Endocrinol Metab **83**(12): 4408-4415.
- Kanety, H., Y. Madjar, et al. (1993). "Serum insulin-like growth factor-binding protein-2 (IGFBP-2) is increased and IGFBP-3 is decreased in patients with prostate cancer: correlation with serum prostate-specific antigen." J Clin Endocrinol Metab **77**(1): 229-233.
- Kaplan, P. J., S. Mohan, et al. (1999). "The insulin-like growth factor axis and prostate cancer: lessons from the transgenic adenocarcinoma of mouse prostate (TRAMP) model." Cancer Res **59**(9): 2203-2209.

- Kelley, K. M., Y. Oh, et al. (1996). "Insulin-like growth factor-binding proteins (IGFBPs) and their regulatory dynamics." Int J Biochem Cell Biol **28**(6): 619-637.
- Kiess, W., G. Koepf, et al. (1997). "Human neuroblastoma cells use either insulin-like growth factor-I or insulin-like growth factor-II in an autocrine pathway via the IGF-I receptor: variability of IGF, IGF binding protein (IGFBP) and IGF receptor gene expression and IGF and IGFBP secretion in human neuroblastoma cells in relation to cellular proliferation." Regul Pept **72**(1): 19-29.
- Korner, C., B. Nurnberg, et al. (1995). "Mannose 6-phosphate/insulin-like growth factor II receptor fails to interact with G-proteins. Analysis of mutant cytoplasmic receptor domains." J Biol Chem **270**(1): 287-295.
- Lee, D. Y., S. J. Kim, et al. (1999). "Serum insulin-like growth factor (IGF)-I and IGF-binding proteins in lung cancer patients." J Korean Med Sci **14**(4): 401-404.
- LeRoith, D., R. Baserga, et al. (1995). "Insulin-like growth factors and cancer." Ann Intern Med **122**(1): 54-59.
- Liu, F., D. R. Powell, et al. (1991). "Insulin-like growth factors (IGFs) and IGF-binding proteins in the developing rhesus monkey." J Clin Endocrinol Metab **72**(4): 905-911.
- London, S. J., J. M. Yuan, et al. (2002). "Insulin-like growth factor I, IGF-binding protein 3, and lung cancer risk in a prospective study of men in China." J Natl Cancer Inst **94**(10): 749-754.
- Matsunaga, H., J. T. Handa, et al. (1999). "The mRNA phenotype of a human RPE cell line at replicative senescence." Mol Vis **5**: 39.
- Menouny, M., M. Binoux, et al. (1998). "IGFBP-2 expression in a human cell line is associated with increased IGFBP-3 proteolysis, decreased IGFBP-1 expression and increased tumorigenicity." Int J Cancer **77**(6): 874-879.
- Mohan, S. and D. J. Baylink (1993). "Characterization of the IGF regulatory system in bone." Adv Exp Med Biol **343**: 397-406.
- Mohnike, K., U. Kluba, et al. (1995). "[Serum concentrations of insulin-like growth factors (IGF)-I and IGF-II and IGF binding proteins (IGFBP)-2 and IGFBP-3 in 49 children with ALL, NHL or solid tumors]." Klin Padiatr **207**(4): 225-229.
- Mohnike, K. L., U. Kluba, et al. (1996). "Serum levels of insulin-like growth factor-I, -II and insulin-like growth factor binding proteins -2 and -3 in children with acute lymphoblastic leukaemia." Eur J Pediatr **155**(2): 81-86.
- Ohlsson, C., B. A. Bengtsson, et al. (1998). "Growth hormone and bone." Endocr Rev **19**(1): 55-79.
- Rajah, R., L. Katz, et al. (1995). "Insulin-like growth factor binding protein (IGFBP) proteases: functional regulators of cell growth." Prog Growth Factor Res **6**(2-4): 273-284.
- Rajah, R., K. W. Lee, et al. (2002). "Insulin-like growth factor binding protein-3 mediates tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis: role of Bcl-2 phosphorylation." Cell Growth Differ **13**(4): 163-171.
- Rajah, R., B. Valentini, et al. (1997). "Insulin-like growth factor (IGF)-binding protein-3 induces apoptosis and mediates the effects of transforming growth factor-beta1 on programmed cell death through a p53- and IGF-independent mechanism." J Biol Chem **272**(18): 12181-12188.
- Ranke, M. B. and M. Elmlinger (1997). "Functional role of insulin-like growth factor binding proteins." Horm Res **48 Suppl 4**: 9-15.

- Ranke, M. B., K. P. Maier, et al. (2003). "Pilot study of elevated levels of insulin-like growth factor-binding protein-2 as indicators of hepatocellular carcinoma." Horm Res **60**(4): 174-180.
- Ranke, M. B., R. Schweizer, et al. (2000). "Significance of basal IGF-I, IGFBP-3 and IGFBP-2 measurements in the diagnostics of short stature in children." Horm Res **54**(2): 60-68.
- Reeve, J. G., L. B. Kirby, et al. (1992). "Insulin-like growth-factor-binding protein gene expression and protein production by human tumour cell lines." Int J Cancer **51**(5): 818-821.
- Renehan, A. G., J. Jones, et al. (2000). "Elevated serum insulin-like growth factor (IGF)-II and IGF binding protein-2 in patients with colorectal cancer." Br J Cancer **83**(10): 1344-1350.
- Rinderknecht, E. and R. E. Humbel (1978). "The amino acid sequence of human insulin-like growth factor I and its structural homology with proinsulin." J Biol Chem **253**(8): 2769-2776.
- Rinderknecht, E. and R. E. Humbel (1978). "Primary structure of human insulin-like growth factor II." FEBS Lett **89**(2): 283-286.
- Rosen, C. J. (2000). "Pathophysiology of osteoporosis." Clin Lab Med **20**(3): 455-468.
- Schmiegelow, M., S. Lassen, et al. (2000). "Cranial radiotherapy of childhood brain tumours: growth hormone deficiency and its relation to the biological effective dose of irradiation in a large population based study." Clin Endocrinol (Oxf) **53**(2): 191-197.
- Schutt, B. S., M. Langkamp, et al. (2004). "Integrin-mediated action of insulin-like growth factor binding protein-2 in tumor cells." J Mol Endocrinol **32**(3): 859-868.
- Scott, J., J. Cowell, et al. (1985). "Insulin-like growth factor-II gene expression in Wilms' tumour and embryonic tissues." Nature **317**(6034): 260-262.
- Shelton, D. N., E. Chang, et al. (1999). "Microarray analysis of replicative senescence." Curr Biol **9**(17): 939-945.
- Smith, W. J., L. E. Underwood, et al. (1995). "Effects of caloric or protein restriction on insulin-like growth factor-I (IGF-I) and IGF-binding proteins in children and adults." J Clin Endocrinol Metab **80**(2): 443-449.
- Sussenbach, J. S., P. H. Steenbergh, et al. (1992). "Structure and expression of the human insulin-like growth factor genes." Growth Regul **2**(1): 1-9.
- Toogood, A. A., J. Jones, et al. (1998). "The diagnosis of severe growth hormone deficiency in elderly patients with hypothalamic-pituitary disease." Clin Endocrinol (Oxf) **48**(5): 569-576.
- Twigg, S. M. and R. C. Baxter (1998). "Insulin-like growth factor (IGF)-binding protein 5 forms an alternative ternary complex with IGFs and the acid-labile subunit." J Biol Chem **273**(11): 6074-6079.
- Wang, H., W. Shen, et al. (2003). "Insulin-like growth factor binding protein 2 enhances glioblastoma invasion by activating invasion-enhancing genes." Cancer Res **63**(15): 4315-4321.
- Yakar, S. and C. J. Rosen (2003). "From mouse to man: redefining the role of insulin-like growth factor-I in the acquisition of bone mass." Exp Biol Med (Maywood) **228**(3): 245-252.
- Yee, D. (1994). "The insulin-like growth factor system as a target in breast cancer." Breast Cancer Res Treat **32**(1): 85-95.

- Yee, D., R. E. Favoni, et al. (1990). "Insulin-like growth factor I expression by tumors of neuroectodermal origin with the t(11;22) chromosomal translocation. A potential autocrine growth factor." J Clin Invest **86**(6): 1806-1814.
- Yun, K. (1992). "A new marker for rhabdomyosarcoma. Insulin-like growth factor II." Lab Invest **67**(5): 653-664.
- Yun, K. (1998). "Genomic imprinting and carcinogenesis." Histol Histopathol **13**(2): 425-435.
- Zhan, S., D. N. Shapiro, et al. (1994). "Activation of an imprinted allele of the insulin-like growth factor II gene implicated in rhabdomyosarcoma." J Clin Invest **94**(1): 445-448.

Danksagung

Bedanken möchte ich mich bei Herrn Univ.-Professor Dr. med. Wilfried Budach für die Überlassung des Themas dieser Arbeit.

Ein herzlicher Dank geht an Herrn Professor Dr. med. Bertram Flehmig für die Bestimmung von Daten.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Edwin Bölke für seine gute Betreuung mit Diskussion hinsichtlich aller Fragen und Probleme zu jeder Zeit.

Ich danke meinen Eltern für ihre moralische und praktische Unterstützung, die wesentlich zur Fertigstellung dieser Arbeit beigetragen haben.

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Rudoy
Vorname: Michael
Geburtsdatum: 08. Januar 1976
Geburtsort: Charkow/Ukraine

Schulbildung und Weiterbildung:

09.1983-04.1992 Mittelschule, Charkow/Ukraine
08.1992-06.1996 Fanny-Leicht-Gymnasium, Stuttgart-Vaihingen
04.1997-11.2004 Studium der Humanmedizin, Rheinische Friedrich-Wilhelms
Universität Bonn
15.11.2004 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Seit 05/2005 Wissenschaftlicher Mitarbeiter der Klinik für Strahlentherapie
und Radioonkologie, Universitätsklinikum Düsseldorf
(Chefarzt: Univ.-Prof. Dr. W. Budach)

Abstract

Evaluierung von Insulin-like growth factor binding protein-2 als Tumormarker bei verschiedenen Tumorentitäten

Michael Rudoy

Hintergrund und Ziele: IGF-I, IGF-II sowie IGF-Bindungs-Proteine (IGFBPs) sind an der Proliferation und Differenzierung von Zellen beteiligt. Ziel der Arbeit ist die Evaluation des IGF-Systems für Etablierung neuer Tumormarker bei verschiedenen malignen Tumorerkrankungen.

Patienten und Methoden: In dieser prospektiven Studie untersuchten wir bei Beginn und bei Abschluss der Radiotherapie bei 176 Patienten (mittleres Alter 65,0+/-20 Jahre) mit kolorektalem-Ca (22), Prostata-Ca (21), Glioblastom (12), Mamma-Ca (9), Zervix-Ca (5), Endometrium-Ca (1), HNO-Ca (17), Lymphomen (20), Bronchial-Ca (34), Nierenzell-Ca (3), Pankreas-Ca (3), Blasen-Ca (1), Malignem Melanom (5), Magen-Ca (1), Ösophagus-Ca (5), Anal-Ca (4) und 13 Kontrollpersonen IGF-I, IGF-II, IGFBP-3 (Radioimmunoassay) sowie IGFBP-2 und ALS-Spiegel (ELISA) im Serum. In dem Krankengut waren Patienten mit lokal begrenzten und hämatogen metastasierten Tumoren in der Primär- und Rezidivtherapie enthalten, die die Radiotherapie in kurativer oder palliativer Indikation erhielten.

Ergebnisse: Die Serumspiegel an IGF-I, IGFBP-3 und ALS wurden im Vergleich zu der Referenzgruppe in etwa normaler Konzentration gemessen. Für IGF-II zeigen sich für die Prostata- und Kolorektal-Ca bei einigen Patienten erhöhte IGF-II Werte. Bei dem Einstichproben t-Test von Patienten mit Prostata-Ca sind IGF-II Werte signifikant unterschiedlich von publizierten Normalwerten: $p < 0,01$. Die höchste Sensitivität und Spezifität wird bei einem Grenzwert von + 0,5243 STAW des Normalkollektives erreicht. IGFBP-2 liegt im Serum bei Patienten mit HNO-Ca höher als in der Referenzgruppe (41% der Werte liegen über dem 95% Perzentil). Bei dem Einstichproben t-Test von Patienten mit HNO-Ca sind IGFBP-2 Werte signifikant unterschiedlich von publizierten Normalwerten: $p < 0,01$. Die höchste Sensitivität und Spezifität wird bei einem Grenzwert von + 0,6058 STAW des Normalkollektives erreicht. Bei dem Einstichproben t-Test von Patienten mit Prostata-Ca sind IGFBP-2 Werte auch signifikant unterschiedlich von publizierten Normalwerten: $p < 0,01$. Die höchste Sensitivität und Spezifität wird bei einem Grenzwert von + 0,6676 STAW des Normalkollektives erreicht. Bei der Auswertung der Serumspiegel der Komponenten des IGF-Systems zeigte sich weder Unterschied zwischen Patienten mit lokoregionär begrenzten Tumoren und metastasierten Erkrankungen noch Unterschied vor und nach der Strahlenbehandlung.

Diskussion, Fazit: IGF-II und IGFBP-2 sind beim Prostata-Ca als Tumormarker ungeeignet, da die höchste Sensitivität und Spezifität 70% bzw. 75% betragen. IGFBP-2 ist beim HNO-Ca als Tumormarker auch ungeeignet, da Sensitivität und Spezifität 73% betragen. Bei der Gesamtheit der Patienten mit unterschiedlichen Tumoren kann keine Abhängigkeit der Serumspiegel der Parameter des IGF-Systems von der Tumormasse festgestellt werden. Somit können sie zum gegenwärtigen Zeitpunkt nicht als Tumormarker verwendet werden.