Universitätsklinikum Ulm

Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe

Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. Rolf Kreienberg

ADIPOKINE –
BINDEGLIEDER ZWISCHEN ADIPOSITAS UND BRUSTKREBS

DISSERTATION

zur

Erlangung des Doktorgrades der Medizin

der Medizinischen Fakultät der Universität Ulm

vorgelegt von

Dorothee Richter, geb. Grubeck

geb. in Wien

2012

Amtierender Dekan: Prof. Dr. Thomas Wirth

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Jürgen Weiss

2. Berichterstatter: PD Dr. Gebhard Fröba

Tag der Promotion: 12. Juli 2013

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis 1

1. Einleitung 3

1.1. Tumorartige Läsionen und Tumoren der Brustdrüse 3

1.2. Übergewicht 8

1.3. Zusammenhang zwischen Übergewicht und Malignomen 10

1.4. Adipokine 13

1.5. Fragestellung 19

2. Patientinnen, Methodik und Material 20

2.1. Patientinnen 20

2.2. Durchführung der Adipokin-Elisa-Tests 26

2.3. Datenorganisation 32

2.4. Statistische Auswertung 35

3. Ergebnisse 36

3.1. Adipokin-Serumkonzentrationen bei Patientinnen und Kontrollen 36

3.2. Adipokin-Serumkonzentrationen in Abhängigkeit vom BMI 39

3.3. Adipokin-Serumkonzentrationen in Abhängigkeit von den Tumorcharakteristika 45

4. Diskussion 47

4.1. Adipokin-Serumkonzentrationen und Brustkrebs 47

4.2. Adipokin-Serumkonzentrationen und Körpergewicht 49

4.3. Adipokin-Serumkonzentrationen und Tumorcharakteristika 50

4.4. Zukunftsperspektiven 51

5. Zusammenfassung 53

6. Literaturverzeichnis 54

7. Abbildungsverzeichnis 62
8. Tabellenverzeichnis 63
9. Danksagung 64
10. Lebenslauf 65
11. Publikationen 66

Abkürzungsverzeichnis

µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
A-FABP	Adipocyte Fatty Acid Binding Protein
AK	Antikörper
ALBP	Adipozytentypisches Lipidbindendes Protein
bzw.	Beziehungsweise
BMI	Body Mass Index
CA 15-3	Cancer-Antigen 15-3
CEA	Carcino-Embryonales Antigen
DCIS	Duktales Karzinom In Situ
EASR	Altersstandardisierte Häufigkeit gemäß der europäischen Standard Bevölkerung
ELISA	Enzyme Linkend Immunosorbent Assay
ER	Estrogen receptor
FABP	Fatty Acid Binding Proteins
G	Grading
Her-2/neu	Human Epidermal Growth Factor Receptor 2
HRP	Horseradish Peroxidase
HRT	Hormone Replacement Therapy
IASO	International Association for the Study of Obesity
ICD	International Classification of Disease
IGF-1	Insulin-like-Growth-Factor-1
kDa	Kilodalton
LCIS	Lobuläres Karzinom In Situ

M	Molar
max.	Maximalwert
min.	Minimalwert
ml	Milliliter
mRNA	Messenger-RNA
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
ob-Gen	obese-Gen
ob-R	ob-Rezeptor
OR	Odds Ratio
PPARγ	Peroxisom-Proliferator-aktivierter-Rezeptor- γ
PR	Progesteronrezeptor
rpm	revolutions per minute
RT	Raumtemperatur
SAP	Informationssystem: Systeme, Anwendungen, Produkte
SAS	Statistical Analysis System
SEM	standard error of the mean
TMB	3,3,5,5-Tetramethylbenzidine
TNF-α	Tumornekrosefaktor-α
TNM	Tumor Nodes Metastasen
UICC	Union Internationale Contre le Cancer
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
WHO	World Health Organization

1. Einleitung

1.1. Tumorartige Läsionen und Tumoren der Brustdrüse

1.1.1. Histologische Klassifikation

Man unterscheidet eine Vielzahl benigner und maligner Läsionen der Brust. Zu den gutartigen Veränderungen der Brust gehören Mastopathien, sekretorische Erkrankungen (Galaktorrhö, pathologische Sekretion) und benigne Tumore. Zu den benignen Tumoren wiederum zählen Fibroadenome, Lipome, Papillome, Hamartome und Zysten. Bei den malignen Läsionen unterscheidet man eine duktale Genese (85-90%) von einer lobulären Genese (10-15%). In beiden Kategorien bestehen invasive und nicht-invasive (Karzinom in situ) Karzinomformen. Als Sonderformen gelten das inflammatorische Karzinom (1-4%) und das Paget-Karzinom.

1.1.2. TNM-Klassifikation

Die Stadieneinteilung des Mammakarzinoms erfolgt nach der TNM-Klassifikation der „Union internationale contre le cancer“ (UICC). T (engl. *tumour*) beschreibt die Größe des Primärtumors, N (engl. *node*) das potentielle Vorhandensein regionärer Lymphknotenmetastasen und M (engl. *metastasis*) das potentielle Vorhandensein von Fernmetastasen. Die detaillierte TNM-Klassifikation ist in Tabelle 1 ersichtlich.

Tabelle 1: TNM-Klassifikation der UICC [78]

T (Tumorgröße)	Kriterien
T0	Kein Anhalt für Primärtumor
Tis (in dieser Studie ausgeschlossen)	Karzinom in situ: intraduktal bzw. lobulär (DCIS bzw. LCIS), Morbus Paget ohne nachweisbaren Tumor
T1	Tumor ≤ 2 cm
T2	Tumor > 2 cm bis 5 cm
T3	Tumor > 5 cm
T4	Tumor jeder Größe mit direkter Ausdehnung auf die Brustwand oder Haut
N (Regionäre Lymphknotenmetastasen)	**Kriterien**
N0	Keine regionären Lymphknotenmetastasen
N1	Metastase(n) in beweglichen, ipsilateralen axillären Lymphknoten
N2	Metastase(n) in ipsilateralen axillären Lymphknoten, untereinander oder an andere Strukturen fixiert bzw. Invasion ipsilateraler Lymphknoten entlang der Arteria mammaria interna ohne Beteiligung der axillären Lymphknoten
N3	Invasion ipsilateraler supra- oder infraklavikulärer Lymphknoten bzw. Invasion ipsilateraler Lymphknoten entlang der Arteria mammaria interna mit Beteiligung der axillären Lymphknoten
M (Fernmetastasen)	**Kriterien**
M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen

Abkürzungen: TNM-Klassifikation: Tumor-Nodes-Metastasen-Klassifikation; UICC: Union internationale contre le cancer

1.1.3. Differenzierungsgrad

Zusätzlich zum allgemeinen TNM-Staging kann bioptisch oder operativ entnommenes Gewebe mikroskopisch bezüglich seines Differenzierungsgrades (engl. *grading*, G) untersucht werden. Pathologen untersuchen dabei die Zellen nach den Kriterien Strukturveränderung der Zellkerne (Tubulusbildung), Gestalt und Größe der Zellen (Kernpolymorphie) und Zellteilungsrate (Mitoserate). Der Differenzierungsgrad beschreibt in welchem Ausmaß Zellen des Tumorgewebes im Vergleich zu gesundem Gewebe verändert sind. Zusammen mit anderen Faktoren wie Tumorstadium, Lymphknotenstatus, Lymphgefäßbefall, Alter, Her-2/neu- (Human epidermal growth factor receptor 2) und Hormonrezeptorstatus dient der Differenzierungsgrad als Prognosefaktor. Höher differenzierte Tumore weisen einen prognostisch günstigeren Verlauf als niedrig differenzierte Tumore auf. Es werden vier unterschiedliche Differenzierungsgrade unterschieden (Tabelle 2) [90].

Tabelle 2: Tumor-Differenzierungsgrade [90]

Grad	Differenzierung
G1	Gut differenziertes bösartiges Gewebe, hohe Übereinstimmung mit dem Ursprungsgewebe
G2	Mäßig differenziertes bösartiges Gewebe
G3	Schlecht differenziertes bösartiges Gewebe
G4	Nicht differenziertes bösartiges Gewebe

1.1.4. Epidemiologie des Brustkrebs

Brustkrebs ist die aktuell häufigste Krebsneuerkrankung deutscher Frauen. Mit 32,1% ist das Mammakarzinom für fast ein Drittel aller neu aufgetretenen Krebserkrankungen deutscher Frauen verantwortlich (Abbildung 1). Laut Daten des statistischen Bundesamtes, gehört das Mammakarzinom zu den zehn häufigsten Todesursachen nach der International Classification of Disease-10 (ICD-10) [73, 80].

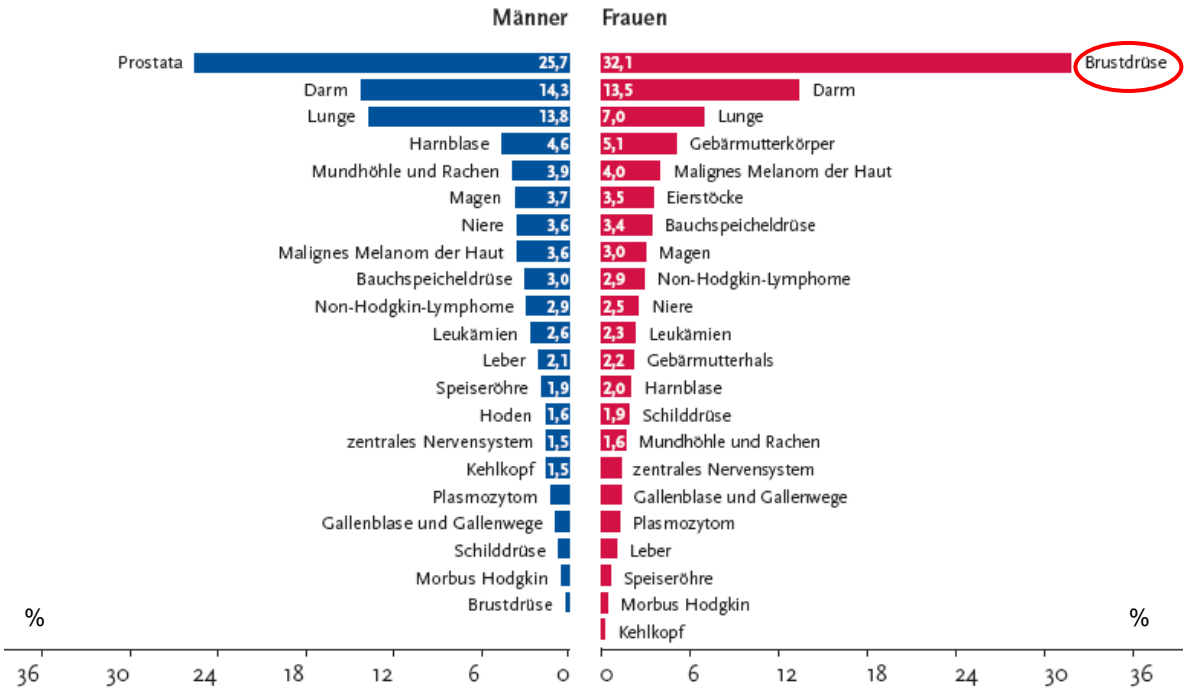
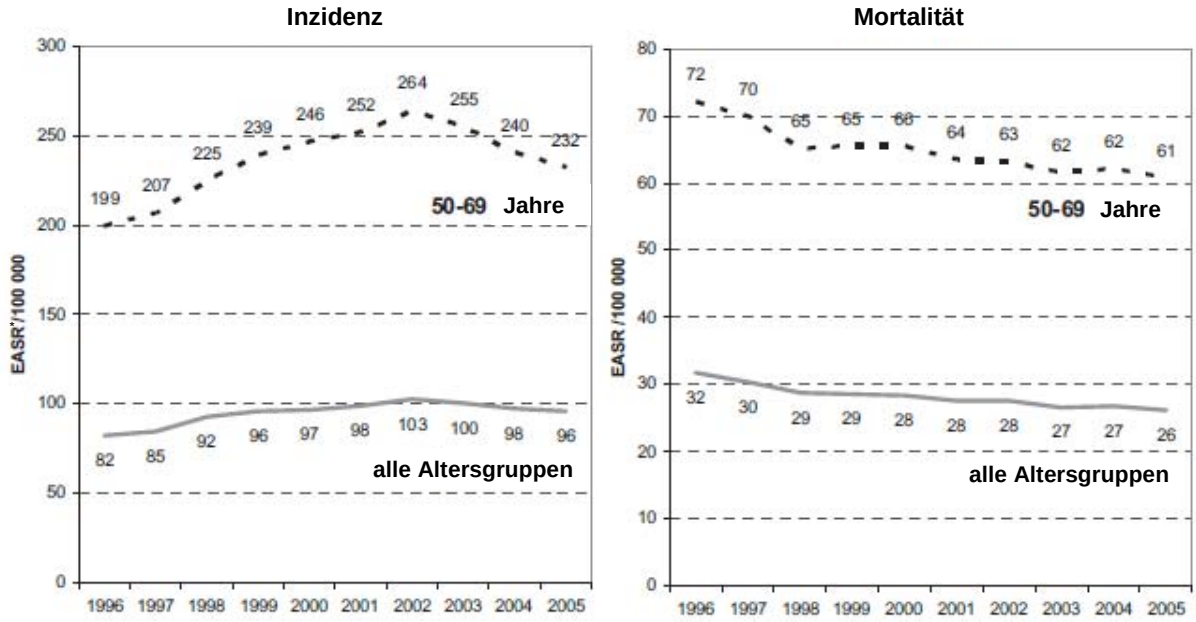


Abbildung 1: Prozentualer Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen an allen Krebsneuerkrankungen in Deutschland 2008 [73], modifiziert

Jährlich erkranken fast 72.000 deutsche Frauen an Brustkrebs, im Laufe ihres Lebens etwa jede achte Frau. Die derzeitige relative 5-Jahres-Überlebensrate für Brustkrebspatientinnen beträgt zwischen 76 und 86 Prozent. Das durchschnittliche Erkrankungsalter liegt derzeit bei 65 Jahren [73].

In Deutschland stieg die Brustkrebsinzidenz bis zum Jahr 2002, danach fand eine diskrete Abnahme (-6,8%) bis 2005 statt. In der Altersgruppe 50-69 Jahre war diese Abnahme am stärksten (-12%). Die Mortalität nahm zwischen 1996 und

2004 um 19% ab, dieser Effekt war bei Frauen unter 55 Jahren am stärksten ausgeprägt (Abbildung 2) [43]. Es wird angenommen, dass die Abnahme von Brustkrebsinzidenz und -mortalität in Deutschland, zumindest teilweise, auf eine verminderte Verschreibung von Hormonersatztherapie zurückzuführen ist. Ähnliche Tendenzen wurden in großen Teilen der westlichen Welt registriert, besonders in den USA sinkt die Brustkrebsmortalität derzeit deutlich [97].



* EASR: Altersstandardisierte Häufigkeit gemäß der europäischen Standardbevölkerung

Abbildung 2: Altersstandardisierte Brustkrebsinzidenz und -mortalität in Deutschland [44], modifiziert.

.

1.1.5. Risikofaktoren für Brustkrebs

Während die genaue Ätiologie des Mammakarzinoms noch unbekannt ist, werden neben Übergewicht noch multiple andere Risikofaktoren für dessen Entwicklung diskutiert.

Die beiden Hauptrisikofaktoren sind weibliches Geschlecht und ein höheres Lebensalter. Gynäkologische Faktoren, die mit erhöhtem Brustkrebsrisiko assoziiert werden, sind ein Mammakarzinom der Gegenseite, Mastopathien 2. und 3. Grades, ein früher Eintritt der Menarche, Kinderlosigkeit, höheres Alter bei der ersten Geburt, später Menopauseneintritt, sowie eine positive Anamnese für

Ovarial-, Endometrium- oder Kolorektalkarzinome. Frauen in deren naher Verwandtschaft Brustkrebserkrankungen aufgetreten sind, tragen ein erhöhtes Brustkrebsrisiko, aber nur 5% bis 10% aller Mammakarzinome werden direkt durch erblich bedingte Genmutationen verursacht. Die am häufigsten betroffenen Gene sind hierbei BRCA1 und BRCA2, die zur Klasse der Tumorsuppressorgene gehören. Eine lebensstilbezogene Risikosteigerung erfolgt durch ionisierende Strahlen, Übergewicht, Bewegungsmangel und in gewissem Umfang durch regelmäßigen Alkoholkonsum [1, 40, 73, 74]. Auch die Hormontherapie mit einer Kombination aus Östrogenen und Gestagenen in Klimakterium und Postmenopause steigert das Brustkrebsrisiko [65]. Bezüglich des Zusammenhangs zwischen der Einnahme oraler Kontrazeptiva und einem dadurch erhöhten Auftreten von Brustkrebs konnte kein klarer Zusammenhang nachgewiesen werden [50, 51].

Als protektive Faktoren im Bezug auf das Brustkrebsrisiko zeigten sich ausgetragene Schwangerschaften in jungen Jahren, mehrere Geburten, längere Stillzeiten und regelmäßige körperliche Aktivität [74].

1.2. Übergewicht

1.2.1. Klassifikation des Übergewichts

Berechnungsgrundlage für die Gewichtsklassifikation ist der Body Mass Index (BMI). Der BMI ist der Quotient aus Gewicht und Körpergröße zum Quadrat (kg/m²). Übergewicht ist definiert als BMI ≥ 25-29,99 kg/m^2, Adipositas als BMI ≥ 30 kg/m^2. Die aktuelle Einteilung der BMI-Klassen wird von der World Health Organization (WHO) festgelegt und ist in Tabelle 3 ersichtlich [92].

Tabelle 3: BMI-Klassifikation der WHO [92], modifiziert

Klassifikation	BMI (kg/m²)
Untergewicht	<18,50
- Starkes Untergewicht	<16,00
- Mittleres Untergewicht	16,00 – 16,99
- Mäßiges Untergewicht	17,00 – 18,49
Normalgewicht	18,50 – 24,99
Übergewicht	≥ 25,00
- Prä-Adipositas	25,00 – 29,99
- Adipositas	≥30,00
- Adipositas I	30,00 – 34,99
- Adipositas II	35,00 – 39,99
- Adipositas III	≥40,00

Abkürzungen: BMI: Body Mass Index. WHO: World Health Organization

1.2.2. Epidemiologie des Übergewichts

Weltweit hat die Prävalenz von Übergewicht in den letzten Jahrzehnten stark zugenommen. Eine 2009 erschienene Veröffentlichung der „International Association for the Study of Obesity“ (IASO) zeigt den Anteil an Übergewicht und Adipositas in der deutschen erwachsenen Bevölkerung zwischen 2005 und 2007. Demnach waren mehr als 45% der Männer und knapp 30% der Frauen übergewichtig und bei beiden Geschlechtern mehr als 20% adipös [39]. Obwohl der Anteil an Personen mit Übergewicht in den letzten 20 Jahren etwa gleich blieb, hat der Anteil der Adipösen deutlich zugenommen [53]. Auch in anderen industrialisierten Ländern liegt die Adipositas-Prävalenz bei etwa 20%. Zukunftsprognosen der WHO lassen eine weitere Verschlechterung der Ernährungssituation erwarten [93]. Diese Entwicklung stellt ein gravierendes Gesundheitsproblem dar, da Übergewicht neben der Entstehung von Krebserkrankungen die Entwicklung vieler chronischer Krankheiten, wie

beispielsweise Fettstoffwechselstörungen, Diabetes Mellitus Typ II, Arteriosklerose, Bluthochdruck, Gicht, Arthrose und Gallensteinleiden begünstigen kann [64, 71, 93].

1.2.3. Risikofaktoren für Übergewicht

Ursachen für Übergewicht sind neben genetischen Ursachen vor allem der „moderne“ Lebensstil. Dieser charakterisiert sich durch Bewegungsmangel, Fehlernährung und Stress [52]. Weniger häufige Ursachen von Übergewicht sind Medikamentennebenwirkungen, psychische Störungen oder endokrine Störungen. Abbildung 3 demonstriert die multifaktorielle Genese der Adipositas.

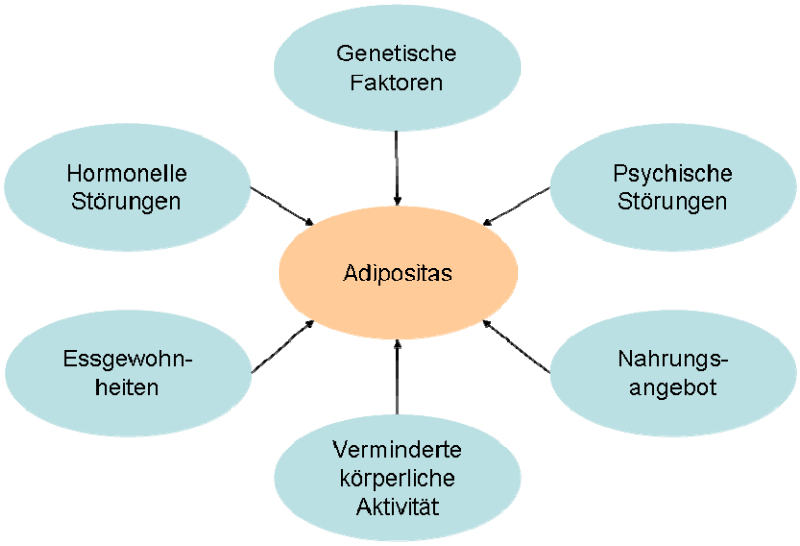


Abbildung 3: Ursachen und Risikofaktoren für Übergewicht [98], modifiziert

1.3. Zusammenhang zwischen Übergewicht und Malignomen

Das Konzept, dass zwischen einem veränderten Stoffwechsel und Krebsentstehung eine Beziehung besteht, wurde vor 80 Jahren erstmals von Otto Warburg formuliert. Diese Idee wurde durch Dekaden nicht weiterverfolgt und gelangte erst vor Kurzem wieder ins Zentrum des Interesses, als neue Methoden es möglich machten, den Stoffwechsel genauer zu untersuchen. Der Zusammenhang zwischen Übergewicht und einem dadurch erhöhten Karzinomrisiko wurde inzwischen in multiplen wissenschaftlichen Studien [66, 70,

71, 79] bestätigt und im Jahr 2008 in einem Review von Renehan et al. in einer Metaanalyse dokumentiert [71].

Im Rahmen dieser Metaanalyse wurden 221 Datensätze untersucht. Die darin beschriebenen Ergebnisse waren für Nordamerika, Europa, Australien und die Asien-Pazifik-Region sehr ähnlich. Bei übergewichtigen und adipösen Männern wurde ab einer BMI-Erhöhung von 5 kg/m^2 ein statistisch hochsignifikanter Zusammenhang mit Ösophagus-Adeno-, Schilddrüsen-, Kolon- und Nierenkarzinomen nachgewiesen. Bei übergewichtigen und adipösen Frauen wurde ab einem BMI-Anstieg von 5 kg/m^2 ein statistisch hochsignifikanter Zusammenhang mit Endometrium-, Gallenblasen-, Ösophagus-Adeno- und Nierenkarzinomen gefunden. Des Weiteren gab es bei Männern eine statistisch signifikante Assoziation mit Rektalkarzinomen und malignen Melanomen, bei Frauen mit postmenopausalem Brustkrebs, Pankreas-, Schilddrüsen- und Kolonkarzinomen. Beide Geschlechter zeigten einen schwachen statistischen Zusammenhang mit Leukämien, multiplen Myelomen und Non-Hodgkin-Lymphomen. Weitere Karzinomtypen werden in aktuellen Studien untersucht.

Dem Zusammenhang zwischen Übergewicht und einem dadurch erhöhten Karzinomrisiko können mehrere mögliche Mechanismen zugrunde liegen. Zurzeit werden einfache lebensstilassoziierte Zusammenhänge genauso untersucht wie komplexe molekulare Mechanismen (Abbildung 4).

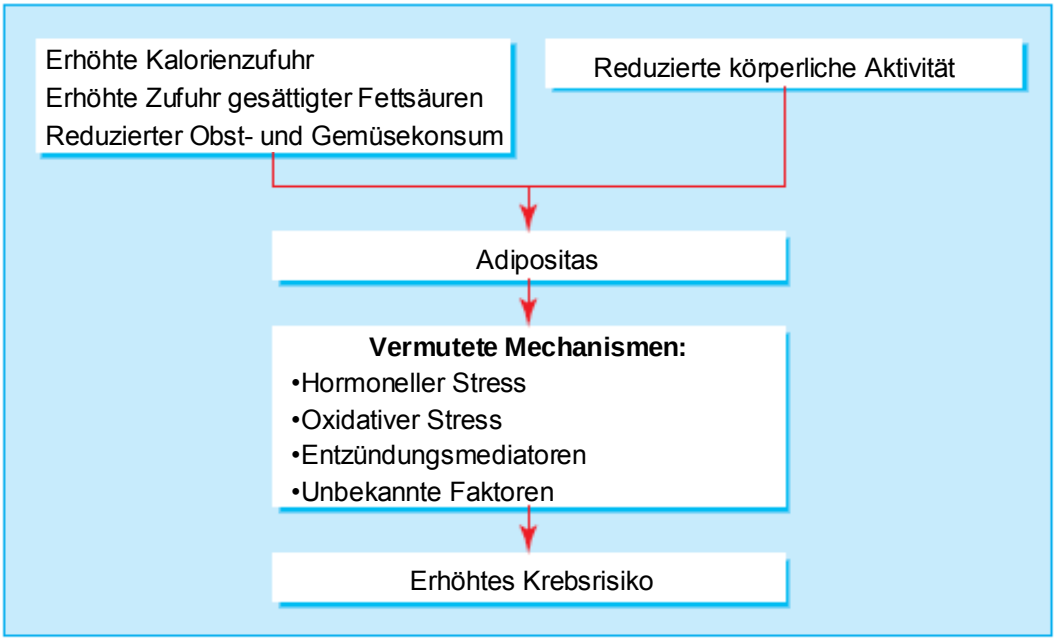


Abbildung 4: Mögliche Mechanismen des erhöhten Karzinomrisikos durch Übergewicht und Adipositas [52], modifiziert

Ein wichtiger pathophysiologischer Mechanismus ist die entstehende Hyperinsulinämie als Folge von Insulinresistenz [52]. Diese führt zu einer erhöhten hepatischen Produktion von Insulin-like-growth-factor-1 (IGF-1), einem für Zellproliferation und Apoptosehemmung zuständigem Wachstumsfaktor [63]. Zusätzlich weisen einige Tumore spezifische Insulin- oder IGF-1-Rezeptoren auf, die bei erhöhten Spiegeln direkt auf den Tumor wachstumsfördernd wirken können [32].

Ein anderer zentraler pathophysiologischer Mechanismus ist das bei erhöhtem Körpergewicht gesteigerte Östrogenangebot des Körpers [63]. Dieses ist zum Einen durch die im Fettgewebe vorhandene Aromatase bedingt, welche Androgenvorstufen zu Östrogen umwandelt, zum Anderen durch die bei Hyperinsulinämie im Ovar gesteigerte Östrogensynthese und die in der Leber verminderte Synthese von Steroidhormon-bindendem Globulin [17, 63]. Östrogen selbst wird ein proliferativer und apoptosehemmender Effekt auf die Epithelzellen seiner Zielorgane zugeschrieben [77].

Ein weiterer pathophysiologischer Mechanismus ist die „chronische Inflammation“ des Fettgewebes bei Adipositas [52, 86, 89]. Adipozyten und im Fettgewebe ansässige Makrophagen produzieren und sezernieren proinflammatorische Wachstumsfaktoren wie Interleukin-1, Interleukin-6 oder Tumornekrosefaktor-α (TNF-α), welche neben multiplen anderen Effekten auch zur Zellproliferation führen können.

In den letzten Jahrzehnten gelangten im Fettgewebe synthetisierte bioaktive Proteine, Adipokine, als potentielle Einflussfaktoren auf die Karzinogenese zunehmend in den Mittelpunkt wissenschaftlicher Untersuchungen (s. Kapitel 1.4. Adipokine).

1.4. Adipokine

1.4.1. Allgemeines

Bis in die 1980er Jahre wurde Fettgewebe als passiver Hauptenergiespeicher des Körpers angesehen. In einer Studie von Siiteri im Jahr 1987 erfolgte allerdings der Nachweis, dass im Fettgewebe Hormone nicht nur metabolisiert, sondern auch synthetisiert und sezerniert werden [77]. Die Klonierung des obese-Gens (ob-Gens) 1994 von Zhang et al. und die Identifikation seines Produktes Leptin bestätigten endgültig den Status des Fettgewebes als „endokrines Organ“ [99]. Ab diesem Zeitpunkt wurde die endokrine Funktion des Fettgewebes zum Mittelpunkt intensiver wissenschaftlicher Untersuchungen.

Heute ist bekannt, dass im Fettgewebe eine Vielzahl bioaktiver Proteine, sogenannter Adipokine, synthetisiert wird. Seit den 1990er Jahren wurden etwa 20 Mitglieder der Adipokin-Familie identifiziert [37]. In der Fachliteratur, besonders im anglosächsischen Sprachraum, werden diese Peptide häufig unter dem Begriff „Adipozytokine“ angeführt. Da die Mehrzahl der Peptide aber weder zytokin- noch zytokinähnliche Struktur hat, wird der missverständliche Begriff der Adipozytokine allmählich vom Begriff der „Adipokine“ abgelöst [86]. Adipokine wirken als biologisch aktive Polypeptide über endokrine, parakrine und autokrine Mechanismen. Sie werden vorwiegend von Präadipozyten und Adipozyten des weißen Fettgewebes sezerniert [75]. Adipokine beeinflussen und regulieren unter anderem systemische Prozesse wie Nahrungsaufnahme und

Nahrungsmetabolismus, Akute-Phase-Reaktion und Entzündungsreaktion des Körpers, Insulinsensitivität und Knochenwachstum [46]. Abbildung 5 gibt einen Überblick über die vielfältigen Wirkungsgebiete der Adipokine. Die vorliegende Arbeit konzentriert sich auf drei Adipokine, die bereits im Zusammenhang mit Brustkrebsentstehung genannt wurden, nämlich Leptin, A-FABP und Adiponektin [34, 75].

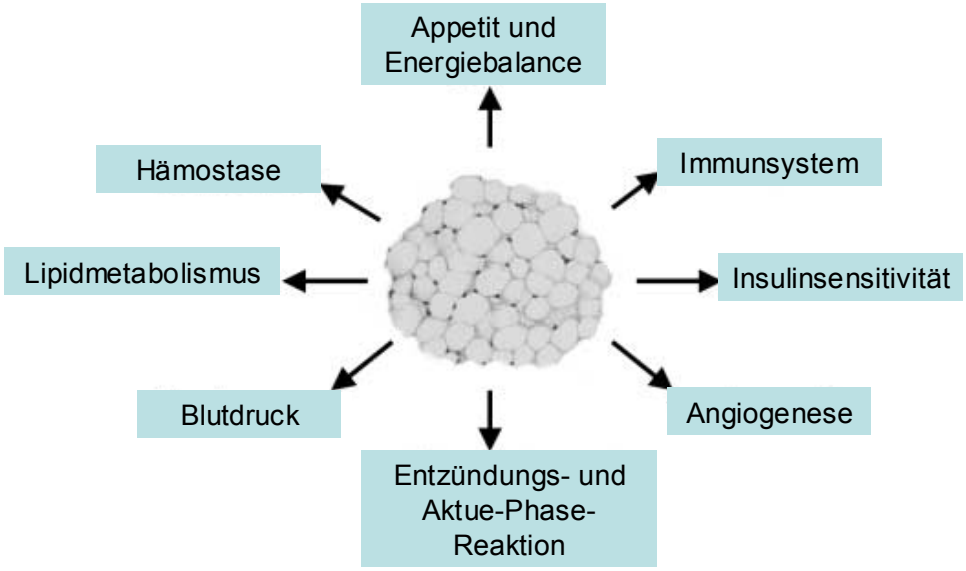


Abbildung 5: Potenzielle Wirkungsgebiete von Adipokinen [86], modifiziert

1.4.2. A-FABP

Das adipozytentypische, fettsäurebindende Protein A-FABP (engl. adipocyte fatty acid binding protein) ist in der Literatur ebenfalls unter den Begriffen FABP-4, aP2, oder adipozytentypisches, lipidbindendes Protein (ALBP) bekannt. Es gehört zur Familie der fettsäurebindenden Proteine, FABP (engl. fatty acid binding proteins) [16, 24].

Bisher sind neun gewebespezifische FABPs bekannt: L (Leber), I (Darm), H (Muskel und Herz), A (Fettgewebe), E (Epidermis), Il (Ileum), B (Gehirn), M (Myelin) und T (Hoden) [16]. Die Mitglieder der FABP-Familie sind niedermolekulare Proteine mit einem Molekulargewicht von etwa 14 bis 15 kDa. Die Rolle aller Mitglieder der FABP-Familie ist die Aufnahme und der intrazelluläre

Transport von Fettsäuren. Sie sind bekannt für ihre Fähigkeit, reversibel hydrophobe Liganden wie Fettsäuren, Eicosanoide und andere Lipide zu binden [24]. Die Struktur aller FABPs ist ähnlich. Sie haben Betafaltblattstruktur und ihr Ligand wird im Inneren des Moleküls, das wassergefüllt ist, gebunden. Trotz Unterschieden in der Proteinsequenz ist die Genstruktur aller Familienmitglieder gleich. Die FABP-Gene bestehen aus vier Exons und drei Introns und manche von ihnen sind in der gleichen chromosomalen Region angesiedelt. Beispielsweise bilden A-FABP, E-FABP und M-FABP einen Gencluster [16].

Bezüglich ihrer zellulären Lokalisation wurden die FABPs primär im Inneren der Zelle, im Zytoplasma, beschrieben, wo sie ihre Shuttle-Funktion ausüben. Über den Ursprung und die Funktion sezernierter FABPs existieren noch wenige Daten, allerdings werden Serumkonzentrationen von FABPs häufig mit Erkrankungen in Zusammenhang gebracht. Dies gilt besonders für A-FABP, welches hauptsächlich in Adipozyten, weniger in Makrophagen produziert wird [25]. Seine Produktion wird durch PPARγ-Agonisten, Insulin und Fettsäuren stimuliert [24]. Mehrere Studien bestätigen seine Aufgabe im Fettstoffwechsel, zeigen aber auch, dass es bei der inflammatorischen Funktion des Fettgewebes eine Rolle spielt [24, 83].

In Versuchen mit Mäusen wurde durch Mutation des A-FABP-Gens die Produktion des entsprechenden Proteins verhindert. Als funktionelle Konsequenz ergab sich ein signifikanter Schutz vor Hyperinsulinämie und Insulinresistenz bei sowohl angeborener als auch ernährungsbedingter Adipositas. Adipozyten aus A-FABP-defizienten Mäusen weisen in vitro und in vivo eine verminderte Lipolyse und eine verbesserte systemische Dyslipidämie auf. Dadurch sind A-FABP defiziente Mäuse auch vor der Entstehung nahrungsinduzierter Artherosklerose geschützt [24, 48, 83].

Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass A-FABP bei der Therapie des Metabolischen Syndroms und dessen Folgeerkrankungen ein interessantes Zielmolekül sein könnte [26].

In mehreren Studien wurde die Expression von A-FABP und anderen Mitgliedern der FABP-Familie in verschiedenen Tumoren wie der Prostata, Niere und Blase diskutiert. Insgesamt scheint es in tumorbefallenem Gewebe, im Vergleich zu gesundem Gewebe, zu einer verminderten Expression von A-FABP zu kommen [9, 20, 21, 56]. Zur Assoziation von A-FABP und Brustkrebs existieren bisher nur

wenige Daten. Hammamieh beschreibt in einer Studie eine herabgesetzte Expression von A-FABP in brustkrebsbefallenem Gewebe [34]. Eine weitere Studie, von Li et al., beschreibt eine hochregulierte Expression mehrerer FABP-Proteine in brustkrebsbefallenem Gewebe, jedoch keine veränderte Expression von A-FABP [45]. In beiden Studien wurde die A-FABP- Produktion allerdings ausschließlich auf transkriptioneller Ebene untersucht.

1.4.3. Leptin

Leptin (vom Griechischen „*leptos*“ – dünn) wurde 1994 von Zhang et al. als Proteinprodukt des ob-Gens identifiziert [99]. Es ist ein einkettiges Polypeptid mit einem Molekulargewicht von 16 kDa und wird vorwiegend von Adipozyten des weißen Fettgewebes produziert [10, 94]. Seine Ausschüttung erfolgt zirkadian mit maximaler Sekretion in der Nacht [42].

In einem Review von Huang et Li wird Leptin treffend als multifunktionales Hormon bezeichnet. Seine Hauptfunktion ist die Regulation der Energiehomöostase des Körpers. Es führt durch Induzierung einer gesteigerten Fettverbrennung zu vermehrtem Energiekonsum des Körpers und damit vermindertem Appetit. Zusätzlich spielt Leptin eine wesentliche Rolle bei Prozessen wie Insulin-Sensitivität, Immunfunktion, Fertilität, Angiogenese und Knochenformation [38].

Es besteht eine positive lineare Korrelation zwischen der Gesamtkörper-Fettmasse und der Konzentration von sezerniertem Leptin [10]. Im Durchschnitt ist die Leptinfreisetzung per Gramm Fettgewebe bei Übergewichtigen zweimal höher als bei Normalgewichtigen, was darauf zurückzuführen ist, dass die Fettzellgröße und damit auch die Leptin-Sekretion bei Übergewichtigen auf das 2 bis 4-fache gesteigert ist. Zusätzlich soll auch Insulin eine direkte positiv stimulierende Wirkung auf die Leptinproduktion und Sekretion haben [23]. Entgegen den Erwartungen scheinen erhöhte Leptinkonzentrationen bei Übergewichtigen keine ausreichenden Effekte im Bezug auf die Energiehomöostase zu haben, man spricht vom Begriff der „Leptinresistenz“. Der molekulare Mechanismus dieser Resistenz ist noch nicht voll verstanden [88].

Wie in einem Übersichtsartikel von Galic et al. beschrieben, wirkt Leptin hauptsächlich im zentralnervösen System, im Hypothalamus, wo es über den

Leptin-Rezeptor (Ob-R, auch bekannt als LEP-R, LP, DR, Hub219 und CD295) die Nahrungsaufnahme reguliert. Der Leptin-Rezeptor ist ein Mitglied der Interleukin-6-Rezeptor-Familie der Klasse 1-Zytokin-Rezeptoren. Das Ob-R-Gen inkodiert fünf Rezeptor-Isoformen. Leptinrezeptoren sind außerhalb des Gehirns in niedrigerer Konzentration auch in anderen Geweben wie Fettgewebe, Ovarien, Hoden, Leber und Skelettmuskel exprimiert [27].

Seit längerer Zeit wird ein Zusammenhang zwischen Leptin und Brustkrebs diskutiert. Mittels experimenteller Ansätze konnte gezeigt werden, dass Leptin zu einer Dedifferenzierung von Brustzellen und Tumorprogression führt [87, 96]. Auch leptinmediierte Interaktionen zwischen Tumor- und Stromazellen scheinen in diesem Zusammenhang von Bedeutung zu sein [7]. Klinische Studien lassen vermuten, dass Leptin-Serumkonzentrationen einen guten prognostischen Brustkrebsmarker darstellen könnten [5, 31]. Eine große Zahl rezenter Übersichtsartikel über den Zusammenhang zwischen Leptin und Brustkrebs dokumentiert das zunehmende Interesse der Wissenschaftsgemeinschaft an diesem Thema [2, 4, 33, 60].

1.4.4. Adiponektin

Adiponektin (Acrp 30, AdipoQ, apM1 oder GBP28) ist ein adipozytenspezifisches Protein welches nach Sekretion aus dem Fettgewebe im Blut zirkuliert [41, 59]. Das humane Adiponektin-Gen ist auf Chromosom 3q27 lokalisiert und kodiert für ein aus 244 Aminosäuren bestehendes Polypeptid [44]. Es enthält vier Domänen: eine aminoterminale Signalsequenz, eine variable Region, eine kollagenartige Domäne und eine carboxyterminale globuläre Domäne. Die monomere Form von Adiponektin hat ein Molekulargewicht von 30 kDa und scheint nur in Adipozyten vorzukommen. Am häufigsten kommt Adiponektin als Trimer vor, bedingt durch eine starke Assoziation zwischen drei Monomeren in ihrer globulären Domäne. Trimere assoziieren dann über ihre kollagenartige Domäne als Gruppen von 4 bis 6 wodurch es zur Bildung von niedermolekularen Hexameren bzw. hochmolekularen Oligomeren kommt (siehe Abbildung 6) [28].

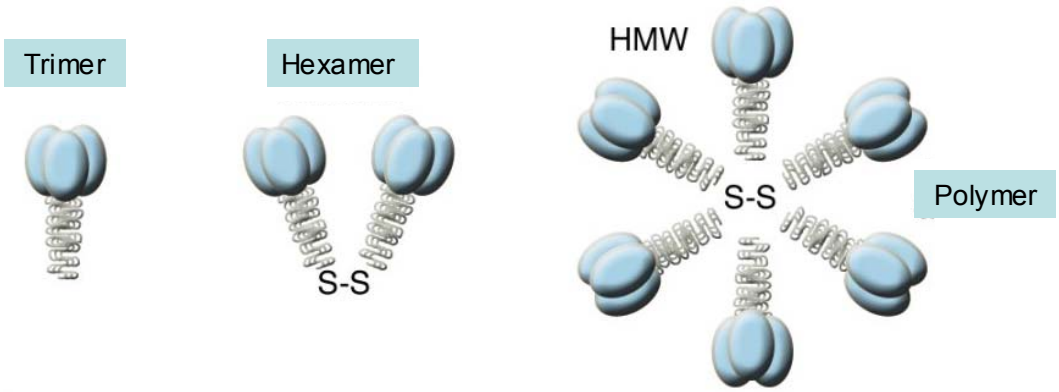


Abbildung 6: Molekulare Adiponektin Struktur [41], modifiziert

Am häufigsten kommt Adiponektin als Trimer vor, bedingt durch eine starke Assoziation zwischen drei Monomeren in ihrer globulären Domäne. Trimere assoziieren dann über ihre kollagenartige Domäne wodurch es zu niedermolekularen Oligomeren (Hexamer) und hochmolekularen Polymeren kommt [28].

Abkürzung: HMW: Hochmolekulares Gewicht (High Molecular Weight)

Die Funktion von Adiponektin wird von Garaulet et al. sehr treffend als „Schutzengel gegen die Pathophysiologie von Adipositas“ beschrieben [28]. Adiponektin zeigt eine inverse Assoziation zu Körpergewicht, insbesondere viszeralem Fettanteil und kardiovaskulären Risikofaktoren wie Insulinresistenz, Bluthochdruck, LDL-, und Triglyzeridkonzentration. Eine positive Korrelation zeigt sich zur HDL-Konzentration im Blut [55]. Weitere Studien zeigen eine antiangiogene, antiinflammatorische, antiatherogene und antidiabetische Funktion von Adiponektin und weisen ihm eine Schlüsselrolle beim Symptomenkomlex des Metabolischen Syndroms zu [11, 41, 57, 68]. Des Weiteren zeigt eine rezente Studie, dass lokal produziertes Adiponektin der Brustkrebsentwicklung entgegenwirken kann [67].

Niedrige Adiponektin-Blutspiegel werden, unabhängig von Alter, Menopausenstatus, Hormonrezeptorstatus, Lymphknotenmetastasierung, ER-Rezeptorstatus und Her2-neu-Status mit einem erhöhtem Brustkrebsrisiko assoziiert [15, 49, 54]. Des Weiteren weisen Studien einen aggressiven Brustkrebs-Phänotyp, definiert durch Tumorgröße und Differenzierungsgrad, bei Frauen mit niedrigen Adiponektinspiegeln nach [44]. Eine rezente Studie zeigt, dass niedrige Adiponektin-Spiegel bei prämenopausalen Frauen mit einem erhöhten Brustkrebsrisiko einhergehen [47].

1.5. Fragestellung

Das Ziel dieser Studie besteht darin, mögliche Zusammenhänge zwischen Adipositas, Adipokinen und Brustkrebs in einem Patientinnenkollektiv zu analysieren und die mögliche Rolle von Adipokinen als klinische Marker zu diskutieren. Untersucht wurden diese Zusammenhänge für die Adipokine Leptin, A-FABP, sowie Adiponektin. Die folgenden spezifischen Fragestellungen wurden behandelt:

1) Unterscheiden sich die Serumkonzentrationen von A-FABP, Leptin und Adiponektin bei Frauen mit Brustkrebs im Vergleich zu Frauen ohne Brustkrebs? Gibt es einen Unterschied bezüglich des Menopausenstatus?
2) Unterscheiden sich die Serumkonzentrationen von A-FABP, Leptin und Adiponektin bei übergewichtigen Frauen im Vergleich zu nicht übergewichtigen Frauen? Gibt es in diesen Kollektiven Unterschiede bezüglich des Menopausenstatus und der Erkrankung Brustkrebs?
3) Gibt es einen Zusammenhang zwischen den Serumkonzentrationen von A-FABP, Leptin und Adiponektin und den Tumorcharakteristika?

2. Patientinnen, Methodik und Material

2.1. Patientinnen

2.1.1. Kollektivbeschreibung

In der vorliegenden Studie wurde ein Kollektiv von 200 Frauen untersucht. Diese waren im Zeitraum von Februar 2005 bis März 2006 von Hausärzten, Fachärzten und Kliniken in die allgemeine Tumorsprechstunde und Brustsprechstunde der Ulmer Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe überwiesen worden. Dort wurden die Frauen für die vorliegende Studie rekrutiert.

Als Patientinnen bezeichnet werden in der Folge Frauen, bei denen Brustkrebs histologisch verifiziert wurde, als Kontrollen solche, bei denen histologisch bestätigte benigne Veränderungen vorlagen. Als postmenopausal wurden alle Frauen betrachtet, die 12 Monate oder länger keine Menstruation hatten und bei denen eine Schwangerschaft ausgeschlossen war. Als übergewichtig wurden Frauen mit einem BMI ≥25 bezeichnet.

Verglichen wurden:

1) Patientinnen (n=159) mit Kontrollen (n=41)
2) prämenopausale Patientinnen (n=40) mit prämenopausalen Kontrollen (n=25)
3) postmenopausale Patientinnen (n=119) mit postmenopausalen Kontrollen (n=16)
4) übergewichtige (n=94) mit nicht übergewichtigen (n=106) Frauen
5) prämenopausale übergewichtige Frauen (n=18) mit prämenopausalen nicht übergewichtigen Frauen (n=47)
6) postmenopausale übergewichtige Frauen (n=76) mit postmenopausalen nicht übergewichtigen Frauen (n=59)
7) nicht übergewichtige (n=26) und übergewichtige (n=15) Kontrollen mit nicht übergewichtigen (n=79) und übergewichtigen (n=80) Patientinnen

Tabelle 4 zeigt eine detaillierte Darstellung des untersuchten Kollektivs.

Tabelle 4: Detaillierte Darstellung des Kollektives

Merkmal	Gesamtkollektiv (n=200)	Patientinnen (n=159)	Kontrollen (n=41)
Durchschnittsalter (min.; max.)	58 (31;86)	61 (33;86)	48 (31;74)
Durchschnittlicher Body Mass Index (min.;max.)	24,7 (18,1;37,9)	25 (18,2;37,9)	23,7 (18,1;34,7)
Anzahl an Patientinnen mit -Untergewicht - Normalgewicht - Übergewicht - Adipositas	 3 (1,5%) 102 (51%) 58 (29%) 37 (18,5%)	 2 (1,3%) 77 (48,4%) 47 (29,6%) 33 (20,7%)	 1 (2,4%) 25 (61%) 11 (26,8%) 4 (9,8%)
Anzahl an Patientinnen mit Menopausenstatus - prämenopausal - postmenopausal	 65 (32,5%) 135 (67,5%)	 40 (25,2%) 119 (74,8%)	 25 (61%) 16 (39%)
Durchschnittsalter bei Eintritt der Menopause in Jahren (97 Angaben) (min.; max.)	50 (34;55)	50 (34;55)	48 (36;55)
Durchschnittsalter bei Eintritt der Menarche in Jahren (75 Angaben) (min.; max.)	13 (10;17)	13 (10;17)	13 (11;17)
Durchschnittskörpergröße in cm (min.;max.)	164 (146;182)	164 (146;182)	165 (149;179,5)
Durchschnittskörpergewicht in kg (min.;max.)	67 (41;110)	67 (41;104)	65 (50;110)
Durchschnittliche Anzahl an Geburten, (min.;max.) (106 Angaben)	2 (0;6)	2,2 (0;6)	1,8 (0;4)

Merkmal	Gesamtkollektiv (n=200)	Patientinnen (n=159)	Kontrollen (n=41)
Anzahl an Patientinnen mit Still-Status - positiv (61 Angaben) - negativ (61 Angaben)	 54 (88,5%) 7 (11,5%)	 33 (89,2%) 4 (10,8%)	 21 (87,5%) 3 (12,5%)
Anzahl an Patientinnen mit positiver Familienanamnese - für Karzinome (160 Angaben) - für Brustkrebs (160 Angaben)	 95 (59,4%) 48 (30%)	 75 (60%) 41 (32,8%)	 20 (57,1%) 7 (20%)
Anzahl an Patientinnen mit Diabetes mellitus	20 (10%)	19 (11,9%)	1 (2,4%)
Anzahl an Patientinnen mit Lipidsenkereinnahme	26 (13%)	23 (14,5%)	3 (7,3%)
Anzahl an Patientinnen mit Hormonersatztherapie (195 Angaben)	19 (9,7%)	16 (10,3%)	3 (7,7%)

Unterschied zwischen Patientinnen und Kontrollen p<0,001.
Abkürzungen: Max.: Maximalwert; Min.: Minimalwert.

2.1.2. Einschlusskriterien

Primär eingeschlossen wurden alle Frauen über 18 Jahren mit dem klinischen Verdacht auf Brustkrebs, die sich im genannten Zeitraum vorgestellt hatten. Tatsächlich in die Studie aufgenommen und weiterer Analyse zugeführt wurden diejenigen Frauen, die nach weitergehender Diagnostik operativ behandelt wurden und, nach Aufklärung bezüglich ihrer Diagnose, in die Teilnahme an der Studie einwilligten.

2.1.3. Ausschlusskriterien

Ausschlusskriterien für die Studie waren ein Alter unter 18 Jahren, das Vorhandensein eines Rezidivkarzinoms oder Patientinnen mit histologisch gesichertem Befund eines DCIS.

2.1.4. Aufklärung der Patientinnen und Einverständniserklärung

Ein Ethikvotum mit der Nummer 219/2004 wurde von der Ethikkommission der Universität Ulm positiv abgeschlossen. Die Blutprobenentnahmen erfolgten im Rahmen der Studie PX-MIP-MAM-01 der Firma Roche® Diagnostics mit dem Titel: “Blutprobensammlung von Patientinnen mit gynäkologischen Karzinomen zur Identifikation und Evaluation neuer Tumormarker mittels immunologischer und molekularer Diagnostik“, in der neben anderen Molekülen Adipokine zu untersuchen waren. Nach ausführlicher Aufklärung über die Zielsetzungen der Studie gaben die Patientinnen eine schriftliche Einverständniserklärung ab, an der Studie teilzunehmen. Mit Eintritt in die Studie erhielt jede Patientin eine anonymisierte Probanden-Identität.

2.1.5. Anamneseerhebung, körperliche Untersuchung und Datendokumentation

Nach Aufnahme in die Studie erfolgte eine routinemäßige Erhebung und Dokumentation von Anamnesedaten und körperlichen Untersuchungsbefunden. Alle Daten wurden in einen standardisierten Anamnesebogen eingetragen. Eine Auflistung der erhobenen Merkmalsgruppen erfolgt in Tabelle 9 (Kapitel 2.3).

2.1.6. Blutentnahme und Aufbereitung der Blutproben

Nach Anamneseerhebung und körperlicher Untersuchung wurden jeder Patientin zwei Serum-Monovetten mit je 9 ml venösem Vollblut entnommen. Punktionsort war die Vena cubitalis. Das entnommene Blut wurde 20 bis 25 Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen, um durch Gerinnung die zellulären von den löslichen Blutanteilen zu trennen. Anschließend wurde durch 10-minütige Zentrifugation bei 4 °C und 3000 Umdrehungen pro Minute (rpm) die Serumfraktion gewonnen. Aus den Serumfraktionen beider Proben wurde in einem 15 ml Cellstar-Probenröhrchen ein Serumpool gebildet und gründlich gemischt. Zuletzt wurden aus dem Serumpool Aliquots zu jeweils 500 bis 1000 µl in Eppendorfgefäße pipettiert. Diese Aliquots wurden bei -80 °C eingefroren und bis zur Analyse gelagert.

Im Bereichslabor Oberer Eselsberg der Klinischen Chemie Ulm erfolgte die Konzentrations-Bestimmung von Routinelabor-Parametern und der spezifischen Tumormarker Cancer-Antigen 15-3 (CA 15-3) und Carcino-Embryonales Antigen (CEA). Die Daten der Tumormarkerbestimmung folgen in Tabelle 6 (Kapitel 2.1.8)

2.1.7. Material für die Blutentnahme und Aufbereitung der Blutproben

Tabelle 5 beschreibt das bei der Blutentnahme verwendete Material.

Tabelle 5: Material für die Blutentnahme

Material	Nähere Charakterisierung	Firma	Artikelnummer
Latex-Handschuhe		Sempermed	
Pur-Zellin Zellstofftupfer	4 x 5 cm	Hartmann	143212
Desinfektionsspray Freka Derm farblos	250 ml	Dr. Schuhmacher GmbH	FR5030025
Serum-Monovetten	9 ml	Sarstedt	02.1063.001
Kanüle für Serum-Monovette	21 G x 1 ½“	Sarstedt	85.1162
Transferpipette	3,5 ml	Sarstedt	86.1173
Cell-star Probenröhrchen	15 ml	Greiner bio-one	188261
Eppendorfgefäße „safe-lock-tubes“	1,5 ml	Eppendorf	0030120.086
Eppendorf-Pipette	1000 µl	Eppendorf	Modell 4700 Serie 16560
Pipettenspitzen	1000 µl	Sarstedt	70.762.100
Zentrifuge	Rotanta 46R	Hettich Zentrifugen	
Kühlschrank		GFL	5107

2.1.8. Intraoperative Probenentnahme und pathologische Analyse

Die histologische Tumorentfernung und Sicherung erfolgte im Rahmen der klinischen Routine der Ulmer Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe. Das Gewebe wurde durch das Institut für Pathologie am Universitätsklinikum Ulm beurteilt. Dort erfolgte außerdem die Einstufung in die TNM - Klassifikation der UICC und die immunhistochemische Bestimmung von ER-, PR- und Her-2/neu-Status. In dieser Studie wurden die Differenzierungsgrade G3 und G4, der UICC entsprechend, zu einem Stadium zusammengefasst. Tabelle 6 bietet einen Überblick über die Ergebnisse der pathologischen Befunde.

Tabelle 6: Details zur pathologischen Befundung

Merkmal	Gesamtkollektiv der Patientinnen (n=159)	Postmenopausale Patientinnen (n=119)	Prämenopausale Patientinnen (n=40)
Anzahl an Patientinnen mit Erhöhung des Tumormarkers CA 15-3 >29 Unit/ml: (146 Angaben)	24 (16,4%)	21 (18,8%)	3 (8,8%)
Anzahl an Patientinnen mit Erhöhung des Tumormarkers CEA >4,7 µg/l (<40 Jahre) bzw. >5,2 µg/l (>40 Jahre) (146 Angaben)	28 (19,2%)	25 (22,3%)	3 (8,3%)
Anzahl an Patientinnen mit positivem ER-Status (156 Angaben)	108 (69,2%)	96 (82,8%)	12 (30%)
Anzahl an Patientinnen mit positivem PR-Status (156 Angaben)	94 (60,3%)	76 (65,5%)	18 (45%)
Anzahl an Patientinnen mit positivem Her-2/neu-Status - 0, 1+, 2+ - 3+	 146 (91,8%) 13 (8,2%)	 111 (93,3%) 8 (6,7%)	 35 (87,5%) 5 (12,5%)

Merkmal	Gesamtkollektiv der Patientinnen (n=159)	Postmenopausale Patientinnen (n=119)	Prämenopausale Patientinnen (n=40)
Anzahl an Patientinnen mit Differenzierungsgrad (157 Angaben)			
- G1	13 (8,3%)	11 (9,3%)	2 (5,1%)
- G2	106 (67,5%)	84 (71,2%)	22 (56,4%)
- ≥ G3	38 (24,2%)	23 (19,5%)	15 (38,5%)
Anzahl an Patientinnen mit Tumorgröße nach TNM			
- T1	87 (54,7%)	65 (54,6%)	22 (55%)
- T2	64 (40,3%)	48 (40,3%)	16 (40%)
- ≥ T3	8 (5%)	6 (5%)	2 (5%)
Anzahl an Patientinnen mit Lymphknotenbefall nach TNM			
- gesamt	52 (32,7%)	39 (32,8%)	13 (32,5%)
- 1-3 befallene Lymphknoten	34 (21,4%)	25 (21%)	9 (22,5%)
- ≥ 4 befallene Lymphknoten	18 (11,3%)	14 (11,8%)	4 (10%)
Anzahl an Patientinnen mit Metastasierung nach TNM (156 Angaben)	6 (3,8%)	6 (5,1%)	0 (0%)

Abkürzungen: CA 15-3: Cancer-Antigen 15-3; CEA: Carcino-Embryonales Antigen; ER-Status: Östrogenrezeptor-Status; Her-2/neu-Status: Human Epidermal Growth Factor Receptor 2; PR-Status: Progesteronrezeptor-Status; TNM: Tumor Nodes Metastasen-Klassifikation der World Health Organization.

2.2. Durchführung der Adipokin-Elisa-Tests

Im weiteren Verlauf der Studie wurden von der Autorin Enzyme-linked-immunosorbent assay-Tests (Elisa-Tests) im Labor der Firma Biovendor Laboratorní medicína a.s. in Modrice, Tschechien durchgeführt. Diese dienten der Konzentrations-Bestimmung der Adipokine Leptin, A-FABP und Adiponektin.

2.2.1. Testprinzip

Abbildung 7 demonstriert das dem Elisa-Verfahren zugrunde liegende Testprinzip. Elisa ist ein immunologisches Nachweisverfahren, bei dem eine Antigen-

Antikörper-Reaktion zum Nachweis eines bestimmten Proteins, hier eines Adipokins, genutzt wird. Der Nachweis basiert auf einer enzymatischen Farbreaktion. Der während dieses Prozesses entstehende Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplex verhilft dem Testverfahren zu seiner Bezeichnung als „Sandwich-Elisa“.

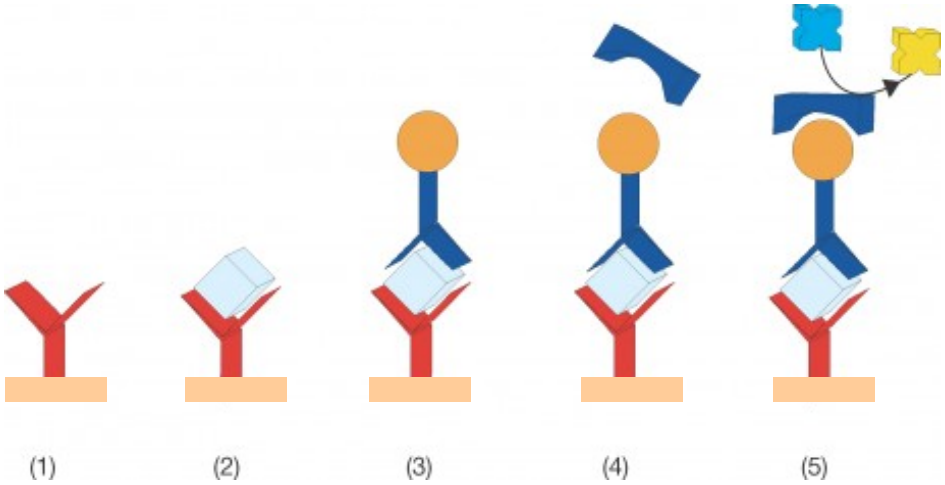


Abbildung 7: Elisa Testprinzip [8], modifiziert

Der zu dem gesuchten Antigen (hier Adipokin) passende Antikörper muss vorab mittels verschiedener gentechnischer und zellbiologischer Methoden hergestellt werden. Der vorgefertigte Antikörper wird an eine feste Phase (Mikrotiterplatte) gebunden und mit der Serumprobe, die das nachzuweisende Adipokin enthält, inkubiert (1). Nach Ablauf der Inkubationsphase wird die Platte gewaschen. Übrig bleibt das an den Antikörper gebundene Adipokin (2). Als nächster Schritt wird ein zweiter, mit einem Enzym (HRP: Meerrettichperoxidase) konjugierter Antikörper zugegeben und bindet ebenfalls an das Adipokin (3). Anschließend wird ein chromogenes Substrat (TMB: 3,3,5,5-Tetramethylbenzidine) hinzugefügt, das von der gebundenen HRP gespalten wird (4). Dadurch schlägt das farblose TMB in eine blaue Farbe um. Die Reaktion wird durch Zugabe einer Stopplösung beendet, dabei schlägt die blaue in eine gelbe Farbe um (5). Die Intensität der gelben Farbe kann mit Hilfe eines Photometers gemessen werden und ist direkt proportional zur Adipokin-Serumkonzentration der Probe.

2.2.2. Ablauf der Versuchsreihen

Zur Bestimmung der Adipokin-Serumkonzentrationen wurden kommerzielle Elisa-Testkits der Firma Biovendor verwendet.

Die Elisa-Testkits wurden bei 2 bis 8 °C gelagert und wurden vor Versuchsbeginn auf Raumtemperatur gebracht. Verdünnungspufferkonzentrate, Waschlösungskonzentrate, Qualitätskontrollen, Standardlösungen, sowie Blutproben wurden vor Versuchsbeginn gemäß der Herstellerinformation mit destilliertem Wasser angesetzt oder mit Verdünnungspuffer verdünnt. Das Biotin-markierte Antikörper-Konzentrat wurde mit einer Biotin-Antikörper-Verdünnungslösung versetzt. Die restlichen Materialien waren gebrauchsfertig.

Nach Beendigung der Vorbereitungen wurden die Elisa-Versuchsreihen nach dem folgenden Protokoll durchgeführt (Abbildung 8). Standards, Kontrollen und Serumproben wurden jeweils doppelt gemessen und der Probenmittelwert für die endgültige Analyse verwendet. A-FABP- und Leptinkonzentrationen wurden in ng/ml, Adiponektinkonzentrationen in µg/ml gemessen.

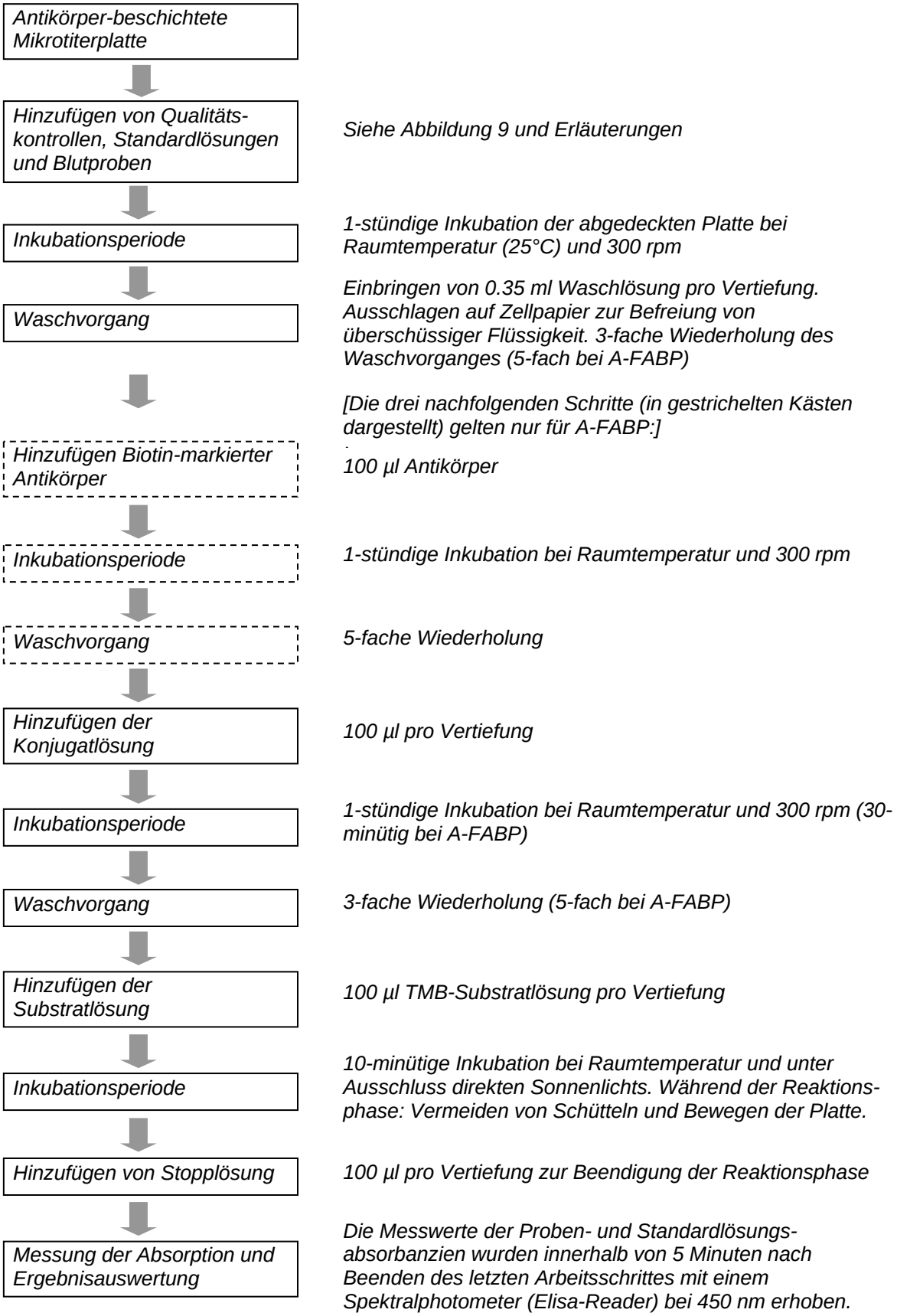


Abbildung 8: Arbeitsschritte Elisa

Abkürzungen: A-FABP: Adipocyte Fatty Acid Binding Protein; Rpm: Umdrehungen pro Minute (revolutions per minute); TMB: 3,3,5,5-Tetramethylbenzidine.

In Abbildung 9 erfolgt die Beschreibung der bei den Elisa-Untersuchungen verwendeten Mikrotiterplatten und Reagenzien sowie der initialen Arbeitsschritte.

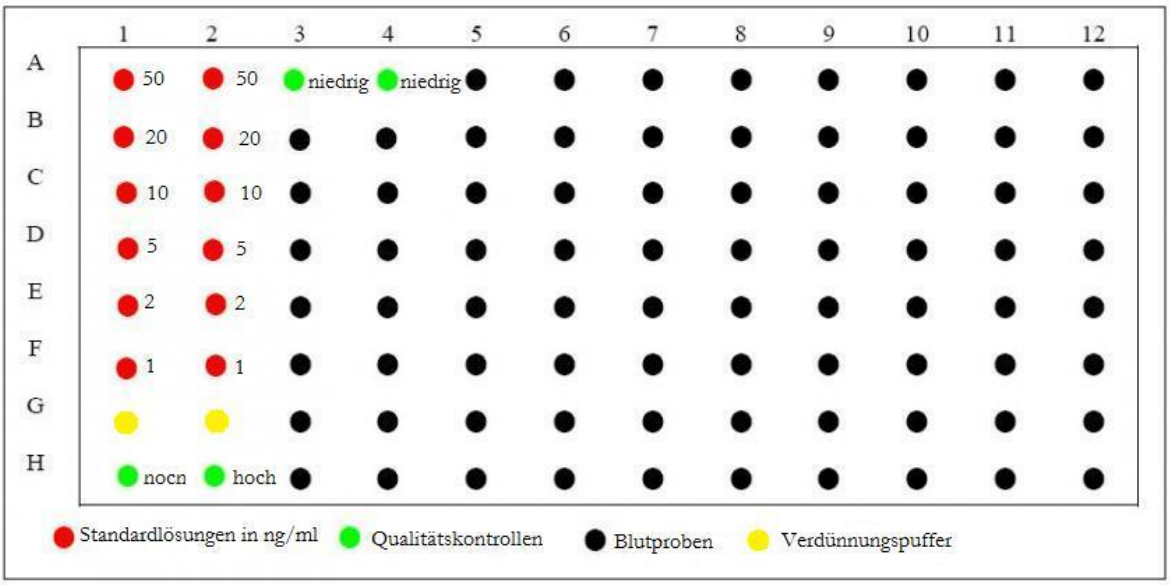


Abbildung 9: Elisa-Mikrotiterplatte, initiale Arbeitsschritte [61], modifiziert

Folgende Reagenzien wurden mit Hilfe einer Pipette paarweise in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte eingebracht: Je 100 µl der seriell verdünnten Adipokin-Standardreihe in absteigender Konzentration: 50, 20, 10, 5, 2 und 1 ng/ml. 100 µl Verdünnungspuffer als Leerprobe. Je 100 µl der Qualitätskontrollen (stabilisiertes menschliches Serum mit festgelegter Adipokinkonzentration) in niedriger und hoher Konzentration. Je 100 µl der Blutproben.

2.2.3. Material für die Elisa-Tests

In Tabelle 7 erfolgt die Auflistung der in den Elisa-Testkits enthaltenen Materialien und Reagenzien.

Tabelle 7: In den Elisa-Testkits enthaltene Reagenzien

Adipokinkit mit Testkitnummer Material	A-FABP RD191036200R	Leptin RD191001100	Adiponektin RD191023100
96-Loch-Mikrotiterplatte	Beschichtung: Polyklonale anti-humane A-FABP-AK	Beschichtung: Polyklonale anti-humane Leptin-AK	Beschichtung: Polyklonale anti-humane Adiponektin-AK
Konjugatlösung (jeweils konjugiert mit HRP)	13 ml Streptavidin	13 ml polyklonale anti-humane Leptin-AK	13 ml polyklonale anti-humane Adiponektin-AK
Antikörper	13 ml Biotin-markierte anti-A-FABP-AK		
Standardlösungen	1 Ampulle humaner A-FABP-Masterstandard	0,35 ml humaner Leptin-Standard pro Ampulle (Konzentrationen: 1, 2, 5, 10, 20 und 50 ng/ml)	1 ml humaner Adiponektin-Standard pro Ampulle (Konzentrationen: 1, 2, 5, 10, 20, 50, 100 und 150 ng/ml)
Qualitätskontrolle * niedrig/hoch	Je 1 Ampulle	Je 1 Ampulle	0,05 ml (300-fach zu verdünnen)
Verdünnungspuffer	2 x 13ml	13 ml	22 ml (10-fach zu verdünnen)
Waschlösungskonzentrat	100 ml (10-fach zu verdünnen)	100 ml (10-fach zu verdünnen)	100 ml (10-fach zu verdünnen)
Farbindikator**	13 ml	13 ml	13 ml
Stopplösung***	13 ml	13 ml	13 ml

* Qualitätskontrolle: Stabilisiertes menschliches Serum mit festgelegter Adipokinkonzentration ** Farbindikator: 3,3,5,5-Tetramethylbenzidine *** Stopplösung: 0,2 molare Schwefelsäure.
Abkürzungen: A-FABP: Adipocyte Fatty Acid Binding Protein; AK: Antikörper; HRP: Meerrettich-Peroxidase (Horseradish-Peroxidase).

Tabelle 8 beschreibt alle Materialien, die bei den Elisa-gestützten Tests genutzt wurden und nicht in den Testkits enthaltenen waren. Falls nicht gesondert angegeben, wurden die Materialien bei allen Adipokinen verwendet.

Tabelle 8: Zusätzlich verwendetes Material

Material	Nähere Spezifizierung
Reagenzgläser	zur Probenverdünnung
Mehrfachkanalpipette	100 µl
Präzisionspipetten	Leptin: 50-200 µl A-FABP: 10-1000 µl Adiponektin: 5-1000 µl
Pipettenspitzen	für Präzisions- und Mehrfachkanalpipetten
Messzylinder und Messgläser	für Waschlösungen
Absorbierendes Material	Befreiung der Mikrotiterplatten von überflüssiger Flüssigkeit nach dem Waschen
Orbitalschüttler für Mikrotiterplatten	300 rpm
Mikroplatten-Leser	450 +/- 10 nm Filter
Mikrotiter-Platten-Wascher	
Vortexmixer	
Destilliertes Wasser	
Software zur Datenerstellung und Analyse	

Abkürzungen: A-FABP: Adipocyte Fatty Acid Binding Protein; Rpm: Umdrehungen pro Minute (revolutions per minute)

2.3. Datenorganisation

Die anamnestischen Daten und körperlichen Untersuchungsbefunde wurden aus dem klinischen Anamnesebogen erfasst. Der BMI wurde errechnet. Die Ergebnisse der Blutuntersuchung, sowie der histopathologischen Untersuchung

des Tumorgewebes wurden über das klinikinterne, digitale Informationssystem SAP abgefragt. Die Ergebnisse der Elisa-basierten Probenanalysen wurden digitalisiert und ebenfalls zur Datensammlung hinzugefügt. Alle erhobenen Daten wurden in ein patienteneigenes Studienstammblatt eingetragen. Darauf basierend wurde eine Datentabelle im Software-Programm Microsoft Excel (Version 2003) erstellt. Tabelle 9 zeigt die in der Tabelle verwendete Einteilung.

Tabelle 9: Übersicht über die Kategorien der Excel Datentabelle

Probanden-Identität
Alter bei Blutentnahme in Jahren
Adipokin- Serumkonzentrationen von A-FABP in ng/ml, Adiponektin in µg/ml, Leptin in ng/ml
Körpergröße in cm
Körpergewicht in kg
BMI
Einteilung in grobe BMI-Klassen nach Richtlinien der WHO [92]: Untergewicht 0-18,49 Normalgewicht 18,5-24,99 Übergewicht 25,0-29,99 Adipositas ≥30
Einteilung in feine BMI-Klassen nach Richtlinien der WHO [92]: Starkes Untergewicht 0-15,99 Mäßiges Untergewicht 16-16,99 Leichtes Untergewicht 17-18,49 Normalgewicht 18,5-24,99 Präadipositas 25-29,99 Adipositas I 30-34,99 Adipositas II 35-39,99 Adipositas III ≥40
Diabetes mellitus ja/nein
Lipidsenkende Medikation ja/nein
Hormonersatztherapie ja/nein
Familienanamnese für Brustkrebs, alle Malignome, Malignome außer Brustkrebs negativ/positiv
Alter bei Eintritt der Menarche in Jahren
Anzahl an Geburten
Stillstatus gestillt/nicht gestillt
Menopausenstatus prä-/postmenopausal
Alter bei Eintritt der Menopause in Jahren
Brustkrebs histologisch gesichert ja/nein
Differenzierungsgrad des Tumors: G1-≥G3
Tumorgröße nach TNM-Klassifikation der UICC: T0-T4
Lymphknotenbefall nach TNM-Klassifikation der UICC: N0-N3
Anzahl an befallenen Lymphknoten
Vorhandensein von Metastasen nach TNM-Klassifikation der UICC: M0/M1
Metastasenlokalisation in Knochen, Leber oder Lunge
Östrogenrezeptor-Status (ER-Status) negativ/positiv
Progesteronrezeptor-Status (PR-Status) negativ/positiv
Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Status (Her2/neu- Status): 0-3+
Tumormarker Cancer-Antigen 15-3 (CA15-3) erhöht/nicht erhöht
Tumormarker Carcino-Embryonales Antigen (CEA) erhöht/nicht erhöht

Abkürzungen: A-FABP: Adipocyte Fatty Acid Binding Protein; BMI: Body mass Index; TNM-Klassifikation: Tumor Nodes Metastasen Klassifikation; UICC: Union Internationale Contre le Cancer; WHO: World Health Organization.

2.4. Statistische Auswertung

Mit Hilfe des Excel-Programms wurden die Daten einer umfangreichen generellen Plausibilitätskontrolle unterzogen. Ebenso wurden grundlegende statistische Auswertungen durchgeführt und dazugehörige Tabellen erstellt. Zur Anwendung spezifischer statistischer Testverfahren wurden die Daten zusätzlich in das Softwareprogramm Statistical Analysis System (SAS), Version 9.1. importiert und damit ausgewertet.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Ergebnisse als Mittelwerte plus/minus Standardfehler der Mittelwerte (SEM) für Patientinnen und Kontrollen dargestellt.

Patientinnen und Kontrollen wurden zusätzlich nach ihrem menopausalen Status, sowie ihrem BMI unterteilt. Der Vergleich zwischen den Gruppen erfolgte mittels Mann-Whitney-U-Test. Eine logistische Regressionsanalyse mit Rückwärtseliminierung wurde durchgeführt um die Auswirkungen von A-FABP und anderen untersuchten Parametern auf das Brustkrebsrisiko zu analysieren. Ein p-Wert von $<0,05$ wurde als statistisch signifikant betrachtet.

3. Ergebnisse

3.1. Adipokin-Serumkonzentrationen bei Patientinnen und Kontrollen

3.1.1. Adipokin-Serumkonzentrationen bei Patientinnen und Kontrollen: Gesamtkohorte

Bei der Analyse des Gesamtkollektives zeigte sich, dass Patientinnen höhere Serumkonzentrationen von A-FABP hatten als Kontrollen, im Mittelwert 34,65 ng/ml gegenüber 24,47 ng/ml ($p< 0,0001$; Tabelle 10). Die Leptin-Serumkonzentrationen waren ebenfalls bei Patientinnen signifikant höher als bei den Kontrollen, 20,87 ng/ml gegenüber 14,90 ng/ml ($p<0,05$). Demgegenüber waren die Adiponektin-Serumkonzentrationen bei Patientinnen und Kontrollen nicht unterschiedlich.

Unsere Ergebnisse zeigen also, dass Brustkrebspatientinnen höhere Serumkonzentrationen von A-FABP und Leptin haben als Kontrollen.

Tabelle 10: Adipokin-Serumkonzentrationen bei Patientinnen und Kontrollen: Gesamtkohorte

Gesamtkollektiv (n=200, Patientinnen n=159, Kontrollen n=41)			
	Mittelwert	SEM	p-Wert
A-FABP ng/ml			
Kontrollen	24,47	2,1	
Patientinnen	34,65	1,0	<0,0001
Leptin ng/ml			
Kontrollen	14,90	2,1	
Patientinnen	20,87	1,2	<0,05
Adiponektin µg/ml			
Kontrollen	17,77	1,0	
Patientinnen	18,53	0,6	0,662

In der vorliegenden Studie wurde ein Kollektiv von 200 Frauen untersucht. Diese waren im Zeitraum von Februar 2005 bis März 2006 von Hausärzten, Fachärzten und Kliniken in die allgemeine Tumorsprechstunde und Brustsprechstunde der Ulmer Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe überwiesen worden. Dort wurden die Frauen für die vorliegende Studie rekrutiert. Als Patientinnen bezeichnet werden Frauen, bei denen Brustkrebs histologisch verifiziert wurde, als Kontrollen solche, bei denen histologisch bestätigte benigne Veränderungen vorlagen. Abkürzungen: A-FABP: Adipocyte Fatty Acid Binding Protein; SEM: standard error of the mean

3.1.2. Adipokin-Serumkonzentrationen bei Patientinnen und Kontrollen: Abhängigkeit vom menopausalen Status

Die Mittelwerte der A-FABP-Serumkonzentrationen waren bei postmenopausalen Patientinnen höher als bei postmenopausalen Kontrollen, im Mittelwert 38,11 ng/ml gegenüber 30,44 ng/ml ($p<0,05$; Tabelle 11). Die Serumkonzentrationen von Leptin waren bei postmenopausalen Patientinnen ebenfalls höher als bei postmenopausalen Kontrollen, im Mittelwert 22,76 ng/ml gegenüber 15,06 ng/ml, dieser Unterschied erreichte aber keine statistische Signifikanz. Auch ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen postmenopausalen Patientinnen und Kontrollen für die Serumkonzentrationen von Adiponektin.

Bei prämenopausalen Patientinnen und Kontrollen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede für die untersuchten Adipokine.

Diese Daten zeigen, dass bei Berücksichtigung des menopausalen Status postmenopausale Patientinnen, aber nicht prämenopausale Patientinnen signifikant höhere Konzentrationen für A-FABP aufweisen als Kontrollen.

Tabelle 11: Adipokin-Serumkonzentration bei Patientinnen und Kontrollen in Abhängigkeit vom Menopausenstatus

	Postmenopausale n=135 (Patientinnen n=119, Kontrollen n=16)			Prämenopausale n=65 (Patientinnen n=40, Kontrollen n=25)		
	Mittelwert	SEM	p-Wert	Mittelwert	SEM	p-Wert
A-FABP ng/ml						
Kontrollen	30,44	4,1	<0,05	20,65	2,1	0,058
Patientinnen	38,11	1,4		24,36	1,54	
Leptin ng/ml						
Kontrollen	15,06	2,5	0,078	14,83	2,9	0,522
Patientinnen	22,76	1,5		15,26	1,8	
Adiponektin µg/ml						
Kontrollen	18,77	1,7	0,804	17,14	1,2	0,399
Patientinnen	19,45	0,7		15,78	0,95	

In der vorliegenden Studie wurde ein Kollektiv von 200 Frauen untersucht. Diese waren im Zeitraum von Februar 2005 bis März 2006 von Hausärzten, Fachärzten und Kliniken in die allgemeine Tumorsprechstunde und Brustsprechstunde der Ulmer Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe überwiesen worden. Dort wurden die Frauen für die vorliegende Studie rekrutiert. Als Patientinnen bezeichnet werden in der Folge Frauen, bei denen Brustkrebs histologisch verifiziert wurde, als Kontrollen solche, bei denen histologisch bestätigte benigne Veränderungen vorlagen. Als postmenopausal wurden alle Frauen betrachtet, die 12 Monate oder länger keine Menstruation hatten und bei denen eine Schwangerschaft ausgeschlossen war. Abkürzungen: A-FABP: Adipocyte Fatty Acid Binding Protein; SEM: standard error of the mean

3.1.3. Logistische Regressionsmodelle

Logistische Regressionsmodelle wurden angewandt, um einen möglichen Einfluss der verschiedenen untersuchten Parameter auf das Brustkrebsrisiko zu untersuchen. Die Modelle waren bezüglich Alter, BMI, menopausalem Status, Hormontherapie und Familienanamnese von Brustkrebs adjustiert. Die Odds-Ratios (OR) sind in Tabelle 12 zusammen mit dem 95%-Konfidenzintervall sowie den zugehörigen p-Werten zusammengefasst.

Eine Erhöhung der Serumkonzentration von A-FABP um 1 ng/ml führte zu einer signifikanten Erhöhung des Brustkrebsrisikos (OR 1,036; $p<0,05$). Die Serumkonzentrationen von Leptin und Adiponektin hatten keinen signifikanten Einfluss auf das Brustkrebsrisiko. Die Analysen zeigten außerdem, dass das Risiko für Brustkrebs bei postmenopausalen Frauen, verglichen mit prämenopausalen Frauen signifikant erhöht war (OR 3,378; $p<0,005$).

Tabelle 12: Evaluation des Brustkrebsrisikos durch logistische Regression

	Odds ratio	95% Konfidenzintervall	p-Wert
A-FABP	1,036	1,001 – 1,072	0,044
Leptin	1,021	0,992 – 1,051	0,163
Adiponektin	1,005	0,945 – 1,069	0,883
Menopausaler Status	3,378	1,478 – 7,721	0,004

In der vorliegenden Studie wurde ein Kollektiv von 200 Frauen untersucht. Diese waren im Zeitraum von Februar 2005 bis März 2006 von Hausärzten, Fachärzten und Kliniken in die allgemeine Tumorsprechstunde und Brustsprechstunde der Ulmer Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe überwiesen worden. Dort wurden die Frauen für die vorliegende Studie rekrutiert. Adjustierung nach Alter, BMI, menopausalem Status, Hormonersatztherapie und Familienanamnese von Brustkrebs. Abkürzungen: A-FABP: Adipocyte Fatty Acid Binding Protein; BMI: Body Mass Index

3.2. Adipokin-Serumkonzentrationen in Abhängigkeit vom BMI

3.2.1. Adipokin-Serumkonzentrationen in Abhängigkeit vom BMI: Gesamtkohorte

Die mittleren A-FABP-Serumkonzentrationen waren bei übergewichtigen Frauen höher als bei nicht übergewichtigen Frauen, im Mittelwert 41,16 ng/ml gegenüber 24,95 ng/ml ($p<0,0001$, Tabelle 13). Die mittleren Serumkonzentrationen von Leptin waren ebenfalls bei übergewichtigen Frauen signifikant höher als bei nicht übergewichtigen Frauen, im Mittelwert 29,21 ng/ml gegenüber 11,18 ng/ml ($p<0,0001$). Im Unterschied dazu waren die mittleren Serumkonzentrationen von Adiponektin bei Übergewichtigen signifikant niedriger als bei nicht Übergewichtigen, 17,26 gegenüber 19,36 µg/ml ($p<0,05$).

Die Ergebnisse zeigen somit einen signifikant positiven Zusammenhang von A-FABP und Leptin mit dem BMI sowie einen signifikant negativen von Adiponektin mit dem BMI.

Tabelle 13: Adipokin-Serumkonzentrationen bei Frauen mit hohem oder niederem BMI: Gesamtkohorte

Gesamtkollektiv n=200	Nicht übergewichtige Frauen BMI ≤ 24,99; n=106	Übergewichtige Frauen BMI ≥ 25,0; n=94
	Mittelwert (SEM)	Mittelwert (SEM)
A-FABP ng/ml	24,95 (1,0)	41,16 (1,6)
	p<0,0001	
Leptin ng/ml	11,18 (0,7)	29,21 (1,6)
	p<0,0001	
Adiponektin µg/ml	19,36 (0,8)	17,26 (0,7)
	p<0,05	

In der vorliegenden Studie wurde ein Kollektiv von 200 Frauen untersucht. Diese waren im Zeitraum von Februar 2005 bis März 2006 von Hausärzten, Fachärzten und Kliniken in die allgemeine Tumorsprechstunde und Brustsprechstunde der Ulmer Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe überwiesen worden. Dort wurden die Frauen für die vorliegende Studie rekrutiert. Als übergewichtig wurden Frauen mit einem BMI ≥25 bezeichnet. Abkürzungen: A-FABP: Adipocyte Fatty Acid Binding Protein; BMI: Body Mass Index; SEM: standard error of the mean

3.2.2. Adipokin-Serumkonzentrationen in Abhängigkeit von BMI und menopausalen Status

Sowohl bei prä- als auch bei postmenopausalen Frauen waren die A-FABP-Serumkonzentrationen bei Übergewichtigen signifikant höher als bei Nicht übergewichtigen (Tabelle 14). Sowohl bei prä- als auch bei postmenopausalen Frauen waren auch die Leptin-Serumkonzentrationen bei Übergewichtigen signifikant höher als bei Nicht übergewichtigen. Die Adiponektin-Serumkonzentrationen waren bei übergewichtigen prämenopausalen, nicht aber bei postmenopausalen Frauen signifikant niedriger als bei nicht übergewichtigen Frauen.

Unsere Daten zeigen somit, dass der Zusammenhang von A-FABP- und Leptin-Serumkonzentrationen mit dem BMI vom menopausalen Status unabhängig ist. Für Adiponektin fand sich nur bei prämenopausalen Frauen ein negativer Zusammenhang zwischen der Adipokin-Serumkonzentration und dem BMI.

Tabelle 14: Adipokin-Serumkonzentrationen bei Frauen mit hohem oder niederen BMI: Abhängigkeit vom Menopausenstatus

	Postmenopausale n=135 (Übergewichtige n=76, Nicht übergewichtige n=59)		Prämenopausale n=65 (Übergewichtige n=18, Nicht übergewichtige n=47)	
	BMI ≤ 24,9 Mittelwert (SEM)	BMI ≥ 25,0 Mittelwert (SEM)	BMI ≤ 24,9 Mittelwert (SEM)	BMI ≥ 25,0 Mittelwert (SEM)
A-FABP ng/ml	29,48 (1,4)	43,2 (1,8)	19,26 (1,1)	32,54 (2,5)
	p<0,0001		p<0,0001	
Leptin ng/ml	12,09 (1,1)	29,43 (1,8)	10,04 (0,9)	28,28 (3,8)
	p<0,0001		p<0,0001	
Adiponektin µg/ml	20,67 (1,2)	18,36 (0,8)	17,71 (0,95)	12,64 (0,9)
	p = 0,1513		p = 0,0006	

In der vorliegenden Studie wurde ein Kollektiv von 200 Frauen untersucht. Diese waren im Zeitraum von Februar 2005 bis März 2006 von Hausärzten, Fachärzten und Kliniken in die allgemeine Tumorsprechstunde und Brustsprechstunde der Ulmer Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe überwiesen worden. Dort wurden die Frauen für die vorliegende Studie rekrutiert. Als postmenopausal wurden alle Frauen betrachtet, die 12 Monate oder länger keine Menstruation hatten und bei denen eine Schwangerschaft ausgeschlossen war. Als übergewichtig wurden Frauen mit einem BMI ≥ 25 bezeichnet. Abkürzungen: A-FABP: Adipocyte Fatty Acid Binding Protein; BMI: Body Mass Index; SEM: standard error of the mean

3.2.3. Adipokin-Serumkonzentrationen bei Patientinnen und Kontrollen in Abhängigkeit vom BMI und menopausalen Status

Unsere Ergebnisse zeigen also, dass die A-FABP- und Leptin-Serumkonzentrationen bei übergewichtigen Frauen zunehmen und außerdem bei Patientinnen höher sind als bei Kontrollen. Unser nächster Schritt galt der Frage, wie sich die Adipokin-Serumkonzentrationen bei Patientinnen und Kontrollen in Abhängigkeit vom BMI verhielten. Als Erstes wurden die Adipokin-Serumkonzentrationen von übergewichtigen und nicht übergewichtigen Kontrollen miteinander verglichen. Anschließend wurden in gleicher Weise die Adipokin-Serumkonzentrationen übergewichtiger und nicht übergewichtiger Patientinnen verglichen. In einem weiteren Schritt wurden die Serumkonzentrationen von übergewichtigen Kontrollen mit denen übergewichtiger Patientinnen verglichen und die von nicht übergewichtigen Kontrollen mit denen nicht übergewichtiger Patientinnen. Anschließend wurde zusätzlich der menopausale Status in Betracht gezogen.

3.2.3.1. Adipokin-Serumkonzentrationen bei Patientinnen und Kontrollen in Abhängigkeit vom BMI: Gesamtkohorte

Die mittleren A-FABP- Serumkonzentrationen waren bei den übergewichtigen Kontrollen höher als bei den nicht übergewichtigen ($p<0,005$, Tabelle 15) und ebenfalls signifikant höher bei den übergewichtigen Patientinnen als bei den nicht übergewichtigen ($p<0,0001$). Zusätzlich waren die mittleren A-FABP-Serumkonzentrationen bei Patientinnen beider Gewichtsgruppen höher als bei Kontrollen: $p=0,0002$ bei den nicht übergewichtigen und $p<0,05$ bei den übergewichtigen Patientinnen.

Diese Ergebnisse zeigen, dass sowohl Übergewicht als auch Brustkrebs mit erhöhten A-FABP- Serumkonzentrationen assoziiert sind.

Auch Leptin war bei übergewichtigen Kontrollen signifikant höher als bei nicht übergewichtigen Kontrollen ($p<0,0001$) und ebenfalls höher bei übergewichtigen Patientinnen als bei nicht übergewichtigen Patientinnen ($p<0,0001$). Beim

Vergleich von Patientinnen und Kontrollen beider Gewichtsgruppen ergab sich allerdings kein signifikanter Unterschied.

Diese Ergebnisse zeigen, dass Übergewicht mit hohen Leptin-Konzentrationen assoziiert ist, dass aber in unserem Kollektiv sowohl bei übergewichtigen als auch bei nicht übergewichtigen Frauen keine Assoziation zwischen Leptin und dem Vorliegen von Brustkrebs nachzuweisen war.

Im Gegensatz zu A-FABP und Leptin konnte für Adiponektin kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen Adiponektin, BMI und Erkrankung nachgewiesen werden.

Tabelle 15: Adipokin-Serumkonzentrationen bei Patientinnen und Kontrollen in Abhängigkeit vom BMI: Gesamtkohorte

Gesamtkohorte (n=200)	BMI ≤ 24,9 Mittelwert (SEM)	BMI ≥ 25,0 Mittelwert (SEM)	p-BMI**
A-FABP ng/ml			
Kontrollen (n=41)	18,34 (1,0) (n=26)	34,05 (4,4) (n=15)	<0,005
Patientinnen (n=159)	27,18 (1,2) (n=79)	42,22 (1,7) (n=80)	<0,0001
p-Brustkrebs*	0,0002	<0,05	
Leptin ng/ml			
Kontrollen	12,07 (1,3)	24,58 (1,4)	<0,0001
Patientinnen	12,00 (0,9)	29,86 (1,8)	<0,0001
p-Brustkrebs	0,523	0,1978	
Adiponektin µg/ml			
Kontrollen	19,72 (1,2)	16,31 (1,8)	0,0712
Patientinnen	19,56 (0,9)	17,48 (0,8)	0,1677
p-Brustkrebs	0,9251	0,3273	

In der vorliegenden Studie wurde ein Kollektiv von 200 Frauen untersucht. Diese waren im Zeitraum von Februar 2005 bis März 2006 von Hausärzten, Fachärzten und Kliniken in die allgemeine Tumorsprechstunde und Brustsprechstunde der Ulmer Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe überwiesen worden. Dort wurden die Frauen für die vorliegende Studie rekrutiert. Als Patientinnen bezeichnet werden in der Folge Frauen, bei denen Brustkrebs histologisch verifiziert wurde, als Kontrollen solche, bei denen histologisch bestätigte benigne Veränderungen vorlagen. Als übergewichtig wurden Frauen mit einem BMI ≥ 25 bezeichnet. Die Fallzahlen für die einzelnen Adipokine entsprechen den für A-FABP angeführten Werten.
* p-Brustkrebs: p-Wert Patientinnen/p-Wert Kontrollen. ** p-BMI: p-Wert Übergewichtige/p-Wert nicht Übergewichtige.
Abkürzungen: A-FABP: Adipocyte Fatty Acid Binding Protein; BMI: Body Mass Index; SEM: standard error of the mean

3.2.3.2. Adipokin-Serumkonzentrationen bei Patientinnen und Kontrollen in Abhängigkeit vom BMI: prä- und postmenopausale Frauen

Postmenopausale Gruppe: In dieser Gruppe hatten übergewichtige Kontrollen und Patientinnen stets signifikant höhere mittlere A-FABP- Serumkonzentrationen als nicht übergewichtige ($p<0,05$ bzw. $p<0,0001$; Tabelle 16). Bei einem Vergleich zwischen Kontrollen und Patientinnen ergab sich, dass nicht übergewichtige Patientinnen im Vergleich zu den Kontrollen signifikant höhere A-FABP-Serumkonzentrationen hatten ($p<0,05$). Dies war bei den Übergewichtigen nicht der Fall.

Die mittleren Leptin-Serumkonzentrationen waren bei übergewichtigen Kontrollen und Patientinnen ebenfalls signifikant höher als bei nicht übergewichtigen ($p<0,005$ bzw. $p<0,0001$). Bei einem Vergleich zwischen Kontrollen und Patientinnen ergab sich kein signifikanter Unterschied der Serum-Leptinkonzentration.

Für die mittleren Adiponektin-Serumkonzentrationen ergaben sich in der postmenopausalen Gruppe keine Unterschiede, weder im Bezug auf BMI noch auf das Vorhandensein von Brustkrebs.

Prämenopausale Gruppe: Wie in der postmenopausalen Gruppe ergaben sich für A-FABP und Leptin stets höhere Serumkonzentrationen für übergewichtige Patientinnen und Kontrollen (Tabelle 16).

Im Unterschied zu der postmenopausalen Gruppe fanden sich bei prämenopausalen übergewichtigen Patientinnen und Kontrollen signifikant niedere Adiponektinwerte.

Prämenopausale Patientinnen und Kontrollen unterschieden sich in keinem der drei gemessenen Parameter voneinander.

Insgesamt ist anzumerken, dass, bei der Unterteilung in Subgruppen, die Fallzahlen, besonders in der Kontrollgruppe, häufig sehr niedrig sind und die Interpretation der Daten deshalb mit Vorsicht erfolgen muss.

Tabelle 16: Adipokin-Serumkonzentrationen bei Patientinnen und Kontrollen in Abhängigkeit vom BMI: prä- und postmenopausale Frauen

	Postmenopausale (n=135; 119 Patientinnen, 16 Kontrollen)			Prämenopausale (n=65; 40 Patientinnen, 25 Kontrollen)		
	BMI ≤ 24,9 Mittelwert (SEM)	BMI ≥ 25,0 Mittelwert (SEM)	p-BMI	BMI ≤ 24,9 Mittelwert (SEM)	BMI ≥ 25,0 Mittelwert (SEM)	p-BMI**
A-FABP ng/m						
Kontrollen	21,19 (1,6) (n=8)	39,69 (6,7) (n=8)	<0,05	17,00 (1,2) (n=18)	28,40 (5,1) (n=7)	0,051
Patientinnen	30,78 (1,6) (n=51)	43,61 (1,9) (n=68)	<0,0001	20,84 (1,5) (n=28)	33,63 (2,4) (n=12)	0,0001
p-Brustkrebs*	<0,05	0,3475		0,1062	0,1731	
Leptin ng/ml						
Kontrollen	7,62 (1,9)	22,49 (2,7)	<0,005	9,27 (1,5)	26,65 (7,2)	<0,05
Patientinnen	12,79 (1,2)	30,24 (1,9)	<0,0001	10,62 (1,2)	27,47 (3,9)	0,0002
p-Brustkrebs	0,0694	0,2901		0,4391	0,6497	
Adiponektin µg/ml						
Kontrollen	18,03 (1,5)	19,50 (3,0)	0,9591	19,03 (1,5)	13,11 (1,2)	<0,05
Patientinnen	21,09 (1,3)	18,22 (0,8)	0,1334	16,87 (1,1)	12,92 (1,5)	<0,05
p-Brustkrebs	0,5875	0,9662		0,3748	0,6497	

In der vorliegenden Studie wurde ein Kollektiv von 200 Frauen untersucht. Diese waren im Zeitraum von Februar 2005 bis März 2006 von Hausärzten, Fachärzten und Kliniken in die allgemeine Tumorsprechstunde und Brustsprechstunde der Ulmer Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe überwiesen worden. Dort wurden die Frauen für die vorliegende Studie rekrutiert. Als Patientinnen bezeichnet werden in der Folge Frauen, bei denen Brustkrebs histologisch verifiziert wurde, als Kontrollen solche, bei denen histologisch bestätigte benigne Veränderungen vorlagen. Als postmenopausal wurden alle Frauen betrachtet, die 12 Monate oder länger keine Menstruation hatten und bei denen eine Schwangerschaft ausgeschlossen war. Als übergewichtig wurden Frauen mit einem BMI ≥ 25 bezeichnet. Die Fallzahlen für die einzelnen Adipokine entsprechen den für A-FABP- angeführten Werten.
* p-Brustkrebs: p-Wert Patientinnen/p-Wert Kontrollen. ** p-BMI: p-Wert Übergewichtige/p-Wert nicht Übergewichtige. Abkürzungen: A-FABP: Adipocyte Fatty Acid Binding Protein; BMI: Body Mass Index; SEM: standard error of the mean.

3.3. Adipokin-Serumkonzentrationen in Abhängigkeit von den Tumorcharakteristika

Tabelle 17 zeigt die Adipokin-Serumkonzentrationen in Abhängigkeit von den Tumorcharakteristika, wobei Differenzierungsgrad (G), Tumorgröße (T-Stadium) und Lymphknotenbeteiligung (N) berücksichtigt wurden. Angesichts der Tatsache, dass nur bei sechs Patientinnen (alle postmenopausal) Metastasen vorlagen, wurde dieser Parameter bei unserer Analyse nicht berücksichtigt. Die Analysen wurden ausschließlich für die Gesamtkohorte durchgeführt. Auf eine Unterteilung in Subgruppen in Abhängigkeit vom Menopausenstatus wurde im Hinblick auf die relativ kleinen Fallzahlen in den Untergruppen verzichtet.

3.3.1. Adipokin-Serumkonzentrationen und Tumor-Differenzierungsgrad

Die mittlere A-FABP- Serumkonzentration nahm tendenziell mit abnehmender Differenzierung zu. Es konnten allerdings für keines der gemessenen Adipokine statistisch signifikante Differenzen erhoben werden (Tabelle 17).

3.3.2. Adipokin-Serumkonzentrationen und Tumorgröße

Die mittleren A-FABP- Serumkonzentrationen waren bei fortgeschritteneren T-Stadien signifikant höher ($p<0,05$). Die mittleren Leptin-Serumkonzentrationen waren bei fortgeschritteneren T-Stadien höher, allerdings wurde keine statistische Signifikanz erreicht. Im Bezug auf die mittleren Adiponektin-Serumkonzentrationen ergab sich keine Differenz für Patientinnen mit fortgeschrittener Tumorgröße (Tabelle 17).

3.3.3. Adipokin-Serumkonzentrationen und Lymphknotenstatus

Die mittleren A-FABP- Serumkonzentrationen waren bei Patientinnen mit Lymphknotenbefall signifikant erhöht ($p<0,05$). Bei der Untersuchung von Adiponektin und Leptin ergab sich kein signifikanter Unterschied der Serumkonzentrationen in Abhängigkeit vom Lymphknotenbefall (Tabelle 17).

Tabelle 17: Adipokin-Serumkonzentrationen bei Patientinnen (n=159) in Abhängigkeit von den Tumorcharakteristika

	G			T			N		
	G1 n=13	≥ G2 n=144	p	T1 n=87	≥ T2 n=72	p	N0 n=107	≥ N1 n=52	p
A-FABP ng/ml	31,37* (5,8**)	34,11 (1,2)	0,27	32,7 (1,6)	36,29 (1,9)	<0,05	32,76 (1,5)	36,3 (1,7)	<0,05
Leptin ng/ml	20,95 (4,6)	19,87 (1,2)	0,54	19,18 (1,6)	23,08 (1,9)	0,09	20,83 (1,5)	18,14 (1,8)	0,44
Adiponektin µg/ml	18,10 (2,1)	18,44 (0,6)	0,88	18,45 (0,7)	18,80 (1,1)	0,51	18,31 (0,7)	18,61 (1,2)	0,79

In der vorliegenden Studie wurde ein Kollektiv von 200 Frauen untersucht. Diese waren im Zeitraum von Februar 2005 bis März 2006 von Hausärzten, Fachärzten und Kliniken in die allgemeine Tumorsprechstunde und Brustsprechstunde der Ulmer Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe überwiesen worden. Dort wurden die Frauen für die vorliegende Studie rekrutiert. Als Patientinnen bezeichnet werden in der Folge Frauen, bei denen Brustkrebs histologisch verifiziert wurde.
* Werte als Mittelwerte ausgedrückt ** standard error of the mean. Abkürzung: A-FABP: Adipocyte Fatty Acid Binding Protein

4. Diskussion

Unsere Studie zeigt, dass die Adipokin-Serumkonzentrationen nicht nur bei übergewichtigen Frauen, sondern auch bei Patientinnen mit Brustkrebs verändert sind. Sie unterstützt somit die Hypothese, dass Adipokine für den Zusammenhang zwischen Übergewicht und Krebs bedeutsam sind.

4.1. Adipokin-Serumkonzentrationen und Brustkrebs

AFABP: In unserer Studie sind die mittleren A-FABP-Serumkonzentrationen bei Patientinnen signifikant höher als bei Kontrollen, und die Multivarianzanalyse bestätigt, dass eine Erhöhung der Serumkonzentration von A-FABP zu einer Erhöhung des Brustkrebsrisikos führt. Auch bei Unterteilung in prä- und postmenopausale Frauen ergeben sich höhere Werte bei Patientinnen als bei Kontrollen, jedoch ist der Unterschied nur bei den Postmenopausalen signifikant. Dies lässt vermuten, dass der Zusammenhang zwischen A-FABP und Brustkrebs nach der Menopause stärker ist als zuvor.

Bislang gibt es nur sehr wenige und kontroverse Daten über einen möglichen Zusammenhang zwischen A-FABP und dem Brustkrebsrisiko. So zeigt eine Studie eine signifikant niedrigere Expression von A-FABP-mRNA in humanen Brustkrebszelllinien im Vergleich zu normalen, primären Brustzellen [34]. Eine weitere Studie findet keinen Unterschied zwischen der Expression von A-FABP-mRNA in duktal invasiven Brustkrebszellen und Fibroadenomen [45]. Da beide Studien allerdings mRNA in Brustkrebszellen untersuchen, sind die Daten mit unserer Studie, in der wir Serumproben verwenden, nicht direkt vergleichbar.

Neben Brustkrebszellen werden auch Malignome des Urogenitaltrakts bezüglich ihrer A-FABP-Produktion untersucht. So wird gezeigt, dass ein Verlust bzw. eine Verminderung der Expression von A-FABP in Urothelkarzinomen mit einer erhöhten Krankheitsprogredienz einhergeht [9, 56]. Weitere Studien dokumentieren eine verminderte A-FABP-Produktion in Prostatakarzinom-Zellen [20, 21]. Serumkonzentrationen von A-FABP werden allerdings im Rahmen dieser Studien nicht bestimmt.

Der Ursprung des im Serum gemessenen A-FABP ist nicht sicher bekannt, es ist aber anzunehmen, dass A-FABP zum Großteil aus dem Zytosol von Fettzellen in das Blut sezerniert wird [95]. Angesichts der Tatsache, dass in unserer Studie bei Brustkrebspatientinnen unabhängig vom Körpergewicht erhöhte A-FABP-Serumkonzentrationen gemessen werden, ist im Hinblick auf die in Malignomzellen scheinbar verringerte A-FABP-Produktion nicht auszuschließen, dass das Adipokin zumindest anteilig außerhalb des Tumors und des Fettgewebes produziert wird.

Leptin: Die Leptin-Analyse der Gesamtkohorte zeigt in unserer Studie für Brustkrebspatientinnen höhere Leptin-Serumkonzentrationen als für Kontrollen. Dieser Unterschied ist allerdings nach Unterteilung des Kollektivs nach Menopausenstatus und BMI nicht mehr nachweisbar. Auch die Multivarianzanalyse ergibt keinen Zusammenhang zwischen Leptin-Serumkonzentrationen und Brustkrebsrisiko. Aufgrund einer großen Anzahl an Studien erscheint nach derzeitigem Wissensstand ein Zusammenhang zwischen erhöhter Leptinproduktion und Brustkrebs wahrscheinlich [2, 4, 5, 7, 15, 31, 33, 35, 60, 84, 85, 87, 96]. Allerdings sprechen die Ergebnisse mancher Studien auch gegen einen solchen Zusammenhang: So berichtet eine Studie über eine inverse Relation zwischen Leptin und Brustkrebs bei prämenopausalen Frauen, nicht aber bei Postmenopausalen [62]. Andere Studien zeigen keinen Zusammenhang zwischen der Leptin-Serumkonzentration und Brustkrebs [19, 58, 76, 91].

Inwieweit unsere Daten tatsächlich gegen einen Zusammenhang zwischen Leptin und Brustkrebs sprechen ist unklar. Problematisch sind allerdings die niedrigen Fallzahlen nach Unterteilung der Gesamtkohorte in die Untergruppen. Auch die Tatsache, dass die Phase des Menstruationszyklus bei der Anamneseerhebung bei prämenopausalen Frauen nicht berücksichtigt wurde, könnte zumindest teilweise für die Heterogenität der Leptinwerte in unserem Kollektiv verantwortlich sein, da Leptinwerte in der Lutealphase des Menstruationszyklus charakteristischerweise erhöht zu sein scheinen [14, 29, 72].

Diese zum Teil unterschiedlichen Zusammenhänge zwischen Leptin und Brustkrebs unterstreichen allerdings die Wertigkeit von A-FABP als möglichem neuem prognostischem Parameter. Im Unterschied zu Leptin ist es in unserer

Studie möglich, mittels der A-FABP-Serumkonzentrationen auch bei kleinen und heterogenen Kollektiven klar zwischen Brustkrebspatientinnen und Kontrollen zu unterscheiden.

Adiponektin: Bezüglich Adiponektin zeigen bisherige Daten eine inverse Beziehung zwischen der Adiponektin-Serumkonzentration und dem Brustkrebsrisiko, vor allem bei postmenopausalen Frauen [6, 15, 49, 54]. In unserer Studie kann allerdings weder im Gesamtkollektiv noch nach Unterteilung in prä- und postmenopausale Frauen ein Zusammenhang zwischen Adiponektin und Brustkrebs gefunden werden. Diese negativen Ergebnisse sind allerdings im Hinblick auf die relativ kleinen Fallzahlen, besonders in den Untergruppen, zu relativieren.

4.2. Adipokin-Serumkonzentrationen und Körpergewicht

AFABP: Wie schon in früheren Studien, die eine positive Korrelation zwischen A-FABP-Serumkonzentrationen und BMI zeigen [69, 82, 95], sind auch in unserer Kohorte die mittleren Serumkonzentrationen von A-FABP bei übergewichtigen Frauen signifikant höher als bei Normalgewichtigen, unabhängig vom menopausalen Status. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass das Fettgewebe Ursprung des zirkulierenden A-FABP ist. Die Möglichkeit, dass hormonell bzw. inflammatorisch überaktives Fettgewebe mit erhöhter A-FABP Produktion in Folge die Tumorentstehung und Progression fördert, ist nicht außer Acht zu lassen.

Leptin: Wir zeigen ferner eine stark positive Assoziation zwischen den Leptin-Konzentrationen und dem BMI und bestätigen somit publizierte Daten, denen zu Folge die Leptin-Serumkonzentration mit dem prozentualen Körperfettanteil korreliert [18, 22].

Adiponektin: Adiponektin ist charakteristischerweise bei übergewichtigen Frauen vermindert [3, 81]. Dies ist auch in unserem Kollektiv nachweisbar, obwohl der Zusammenhang zwischen Adiponektin und dem BMI schwach ist. Dies ist

vermutlich wiederum am ehesten auf die niedrige Fallzahl besonders nach Untergliederung in die Subgruppen entsprechend dem Menopausenstatus zurückzuführen.

4.3. Adipokin-Serumkonzentrationen und Tumorcharakteristika

AFABP: Bislang gab es noch keine Daten darüber, ob die A-FABP-Serumkonzentration mit der Progredienz von Brustkrebs assoziiert ist. Wir zeigen nun erstmals, dass die A-FABP-Serumkonzentration mit einer erhöhten Tumorgröße und Lymphknotenbefall, nicht aber mit dem Differenzierungsgrad der Tumore assoziiert ist. Erhöhte A-FABP-Serumkonzentrationen scheinen also mit einer schlechteren Prognose bei Brustkrebs einherzugehen. Dies ist insofern bemerkenswert, als bisher zwar bekannt ist, dass neben dem generell erhöhten Brustkrebsrisiko übergewichtiger Frauen, übergewichtige Patientinnen im Vergleich zu übergewichtigen Kontrollen eine erhöhte Gesamtmortalität, Tumorgröße bei Diagnosestellung und generelle Tumorgröße aufweisen [12, 13, 66], jedoch noch sehr wenig über die Assoziation von Adipokinen und Tumorprogression bekannt ist.

Leptin: Über eine mögliche Assoziation von Leptin und Brusttumorprogredienz ist bisher Folgendes bekannt: Einerseits wurde eine positive Korrelation zwischen erhöhten Leptinkonzentrationen und Tumorgröße, Differenzierungsgrad, sowie Lymphknotenmetastasen bei Brustkrebs nachgewiesen [30, 36]. Andererseits steht dies im Gegensatz zu der Studie von Rasouli et al, die keine Korrelation zwischen Leptin und dem Differenzierungsgrad oder Lymphknotenmetastasen bei Mammakarzinomen feststellen konnten [15, 68]. Unsere Studie zeigt nicht signifikant erhöhte Leptinkonzentrationen bei höherem Tumorstadium in der Gesamtkohorte. Wir finden allerdings keine Beziehung zwischen Leptin und dem Differenzierungsgrad oder dem Lymphknotenbefall. Auf Grund unserer Daten und der kontroversen Literatur ist es zurzeit nicht möglich, eine definitive Aussage zu treffen, ob Leptin als negativ-prognostischer Marker zu werten ist.

Adiponektin: Auch die Möglichkeit eines Zusammenhangs zwischen der Serumkonzentration von Adiponektin und den klinisch-pathologischen Charakteristika von Tumoren wurde mehrfach untersucht. Auch hier gibt es widersprüchliche Ergebnisse. Während einerseits von einer inversen Korrelation zwischen der Serumkonzentration von Adiponektin und der Tumorprogression berichtet wird [49, 54], ist dies andererseits nicht nachweisbar [36]. Unsere Studie bestätigt letztere Ergebnisse, indem wir keinen Zusammenhang zwischen Adiponektin-Serumkonzentrationen und Tumorcharakteristika nachweisen können. Diese uneinheitlichen Ergebnisse können am ehesten auf die kleine Zahl von Studien zu diesem Thema, sowie die insgesamt niedrigen Fallzahlen (174 Patientinnen gegenüber 166 Kontrollen [49]; 80 Patientinnen gegenüber 50 Kontrollen [36] und 159 Patientinnen gegenüber 41 Kontrollen in unserer Studie) zurückgeführt werden. Eine weitere Erklärungsmöglichkeit für die widersprüchlichen Daten ist das Problem, dass mittels Elisa-Technik keine Unterscheidung über das Vorliegen von Mono-, Tri-, Hexa- oder Multimeren von Adiponektin möglich ist. Dieser Faktor könnte aber für die Funktion von Adiponektin und, in der Folge, für seine Rolle bei der Entstehung von Tumoren wesentlich sein [28].

Zusammenfassend zeigt unsere Studie erstmals, dass hohe A-FABP-Serumkonzentrationen mit einem erhöhten Brustkrebsrisiko, mit Übergewicht, höheren Tumorstadien und Lymphknotenbefall assoziiert sind. Ein entsprechender Zusammenhang war für Leptin und Adiponektin nicht mit Sicherheit nachweisbar.

4.4. Zukunftsperspektiven

Um unsere Ergebnisse zu unterstützen, sollten weitere, auch prospektive Studien an größeren Kollektiven folgen, um endgültige Klarheit darüber zu schaffen, unter welchen Bedingungen Adipokine als diagnostische oder prognostische Parameter klinisch eingesetzt werden können. Vielversprechend wären in diesem Zusammenhang vor allem Untersuchungen über A-FABP. So wäre es interessant, die A-FABP-Serumkonzentrationen auch bei anderen Malignomtypen in Abhängigkeit vom BMI und menopausalen Status zu bestimmen. Ebenfalls

wünschenswert wären Untersuchungen über die Produktion von A-FABP durch verschiedene Zelltypen, unter verschiedenen stimulatorischen Bedingungen, so wie beispielsweise unter unterschiedlichen Glukose-/Insulinkonzentrationen in An- bzw. Abwesenheit von inflammatorischen Zytokinen. Daraus resultierende neue Erkenntnisse sollten zu einem besseren Verständnis der Zusammenhänge zwischen Gewicht, Adipokinen und Brustkrebs beitragen und uns helfen, neue Ansätze für die Prävention, Verlaufskontrolle und Therapie von Adipositas-assoziierten Karzinomformen zu entwickeln. Sollten sich Adipokinkonzentrationen im peripheren Blut als geeignete klinische Marker beweisen, so wäre dies ein großer Schritt in Richtung einer neuartigen und hochwertigen Diagnostik bzw. Verlaufskontrolle von Malignomen.

5. Zusammenfassung

In dieser Studie wurde der Zusammenhang zwischen Adipositas, Adipokinen und Brustkrebs untersucht. Speziell hinterfragt wurden mögliche Unterschiede in den Serumkonzentrationen von A-FABP (adipozytentypisches, fettsäurebindendes Protein), Leptin und Adiponektin bei Frauen mit Brustkrebs im Vergleich zu Frauen ohne Brustkrebs, der Einfluss von menopausalem Status und Übergewicht auf die Konzentrationen der genannten Adipokine sowie ein möglicher Zusammenhang zwischen Adipokin-Serumkonzentrationen und Tumorcharakteristika.

Untersucht wurden 159 Patientinnen mit histologisch bestätigtem Brustkrebs und 41 Frauen mit benignen Läsionen, die als Kontrollgruppe fungierten. Mittels Elisa wurden die Serumkonzentrationen der Adipokine A-FABP, Leptin und Adiponektin untersucht und die Assoziation mit Body-Mass-Index (BMI), Brustkrebs und den Tumorcharakteristika analysiert. Mittels logistischer Regression wurden Alter, BMI, menopausaler Status, Hormonersatztherapie und Familienanamnese bezüglich Brustkrebses berücksichtigt. Unabhängig von diesen Faktoren wurde eine Assoziation zwischen der A-FABP-Serumkonzentration und dem Risiko für Brustkrebs nachgewiesen. Ebenso wurden Zusammenhänge zwischen der A-FABP-Serumkonzentration und Übergewicht, Tumorgröße, sowie Lymphknotenbefall festgestellt. Aus diesen Zusammenhängen lässt sich ableiten, dass Patientinnen mit erhöhten A-FABP-Serumkonzentrationen eine schlechtere Brustkrebsprognose haben. Die Leptin- Serumkonzentrationen korrelierten mit dem BMI und waren bei Brustkrebspatientinnen signifikant höher als bei den Kontrollen. Im Unterschied dazu konnte kein Zusammenhang zwischen Adiponektin und Brustkrebs nachgewiesen werden.

Zusammenfassend zeigt unsere Studie erstmals, dass hohe A-FABP-Serumkonzentrationen mit Übergewicht, Brustkrebsrisiko und prognostisch ungünstigen Tumorcharakteristika assoziiert sind. Weitere Studien sind geplant, um unsere Daten zu bestätigen und zusätzliche Informationen über den prognostischen Wert von A-FABP und dessen Einfluss auf das Brustkrebsrisiko zu gewinnen.

6. Literaturverzeichnis

[1] American Cancer Society. What are the risk factors for breast cancer? http://www.cancer.org/acs/groups/cid/documents/webcontent/003090-pdf.pdf (25.03.2013).

[2] Ando S, Catalano S: The multifactorial role of leptin in driving the breast cancer microenvironment. Nature Reviews Endocrinology. Epub ahead of print (2011)

[3] Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Takahashi M, Maeda K, Miyagawa J, Hotta K, Shimomura I, Nakamura T, Miyaoka K, Kuriyama H, Nishida M, Yamashita S, Okubo K, Matsubara K, Muraguchi M, Ohmoto Y, Funahashi T, Matsuzawa Y: Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. Biochemical and biophysical research communications. 257: 79-83 (1999)

[4] Artac M, Altundag K: Leptin and breast cancer: an overview. Medical Oncology. Epub ahead of print: (2011)

[5] Artac M, Boczuk H, Kiyici A, Eren OO, Boruban MC, Ozdogan M: Serum leptin level and waist-to-hip ratio (WHR) predict the overall survival of metastatic breast cancer (MBC) patients treated with aromatase inhibitors (AIs). Breast Cancer. Epub ahead of print: (2011)

[6] Barb D, Williams CJ, Neuwirth AK, Mantzoros CS: Adiponectin in relation to malignancies: a review of existing basic research and clinical evidence. The American journal of clinical nutrition. 86: 858-866 (2007)

[7] Barone I, Catalano S, Gelsomino L, Marsico S, Giordano C, Panza S, Bonofiglio D, Bossi G, Covington KR, Fuqua SA, Ando S: Leptin mediates tumor-stromal interactions that promote the invasive growth of breast cancer cells. Cancer Research. 72: 1416-1427 (2012)

[8] Bender MedSystems. Sandwich-ELISA. http://www.google.de/imgres?q=http://images.google.co.uk/imgres%3Fimgurl%3Dhttp://www.bendermedsystems.com/bm_images/22/214-sandwich%252520elisa.jpg%26imgrefurl%3Dhttp://www.bendermedsystems.com/elisa--22%26usg%3D__NpYwSvM0K1Zp2qThIANdfhu5qYo%3D% 26h%3D233%26w%3D460%26sz%3D16%26hl%3Den%26start%3D1%26um%3D1%26tbnid%3DT56WvLJ1Zf0PqM:%26tbnh%3D65%26tbnw%3D128%26prev%3D/images%253Fq%253DSandwich%252BELISA%2526um%253D1%2526hl%253Den%2526rlz%253D1T4GZAZ_en-GBSG281SG281 &um=1&hl=de&safe=off&client=safari&sa=N&rls=en&biw=1280&bih=617&tbm=isch&tbnid=4sNj3GABjf5t4M:&imgrefurl=http://veryviciousviruses.blogspot.com/2009/02/enzyme-linked-immunosorbent-assay-elisa.html&docid= WFuQ4rCkPGRFeM&imgurl=http://2.bp.blogspot.com/_93hmLKk8GkM/SYVGcxh3nWI/AAAAAAAAAB5w/Rg7ze-1iWqE/s400/ SANDWICH.jpg&w=400 &h=203&ei=KSBQUcDvKIT5sgb-8oC4DA&zoom =1&iact=rc&dur=454&page=1&tbnh=140&tbnw=276&start=0&ndsp=7&ved=1t:429,r:4,s:0,i:94&tx=63&ty=124 (25.03.2013).

[9] Boiteux G, Lascombe I, Roche E, Plissonnier ML, Clairotte A, Bittard H, Fauconnet S: A-FABP, a candidate progression marker of human transitional cell carcinoma of the bladder, is differentially regulated by PPAR in urothelial cancer cells. International Journal of Cancer. 124: 1820-1828 (2009)

[10] Brabant G, Nave H, Mayr B, Behrend M, Van Harmelen V, Arner P: Secretion of Free and Protein-Bound Leptin from Subcutaneous Adipose Tissue of Lean and Obese Women. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 87: 3966-3970 (2002)

[11] Bråkenhielm E, Veitonmäki N, Cao R, Kihara S, Matsuzawa Y, Zhivotovsky B, Funahashi T, Cao Y: Adiponectin-induced antiangiogenesis and antitumor activity involve caspase-mediated endothelial cell apoptosis. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 101: 2476-2481 (2004)

[12] Calle EE, Rodriguez C, Walker-Thurmond K, Thun MJ: Overweight, obesity, and mortality from cancer in a prospectively studied cohort of U.S. adults. New England journal of medicine. 348: 1625-1638 (2003)

[13] Carmichael AR: Review article: Obesity as a risk factor for development and poor prognosis of breast cancer. BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology. 113: 1160-1166 (2006)

[14] Cella F, Giordano G, Cordera R: Serum leptin concentrations during the menstrual cycle in normal-weight women: effects of an oral triphasic estrogen-progestin medication. European journal of endocrinology. 142: 174-178 (2000)

[15] Chen DC, Chung YF, Yeh YT, Chaung HC, Kuo FC, Fu OY, Chen HY, Hou MF, Yuan SS: Serum adiponectin and leptin levels in Taiwanese breast cancer patients. Cancer letters. 237: 109-114 (2006)

[16] Chmurzyñska A: The multigene family of fatty acid-binding proteins (FABPs): Function, structure and polymorphism. Journal of applied genetics. 47: 39-48 (2006)

[17] Cleary MP, Grossmann ME, Ray A: Effect of Obesity on Breast Cancer Development. Veterinary pathology. 47: 202-213 (2010)

[18] Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL: Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. The New England journal of medicine. 334: 292-295 (1996)

[19] Coskun U, Günel N, Toruner FB, Sancak B, Onuk E, Bayram O, Cengiz O, Yilmaz E, Elbeg S, Ozkan S: Serum leptin, prolactin and vascular endothelial growth factor (VEGF) levels in patients with breast cancer. Neoplasma. 50: 41-46 (2003)

[20] Das R, Hammamieh R, Neill R, Melhem M, Jett M: Expression pattern of fatty acid-binding proteins in human normal and cancer prostate cells and tissues. Clinical cancer research. 7: 1706-1715 (2001)

[21] De Santis ML, Hammamieh R, Das R, Jett M: Adipocyte-fatty acid binding protein induces apoptosis in DU145 prostate cancer cells. Journal of experimental therapeutics & oncology. 4: 91-100 (2004)

[22] der Merwe MT, Panz VR, Crowther NJ, Schlaphoff GP, Gray IP, Froguel P, Joffe BI, Lönnroth PN: Free fatty acids and insulin levels--relationship to leptin levels and body composition in various patient groups from South Africa. International journal of obesity and related metabolic disorders. 23: 909-917 (1999)

[23] Fried SK, Ricci MR, Russell CD, Laferrère B: Regulation of Leptin Production in Humans. The Journal of Nutrition. 130: 3127-3131 (2000)

[24] Furuhashi M, Hotamisligil GS: Fatty acid-binding proteins: role in metabolic diseases and potential as drug targets. Nature Reviews Drug Discovery. 7: 489-503 (2008)

[25] Furuhashi M, Ishimura S, Ota H, Hayashi M, Nishitani T, Tanaka M, Yoshida H, Shimamoto K, Hotamisligil GS, Miura T: Serum fatty acid-binding protein 4 is a predictor of cardivascular events in end-stage renal disease. PLoS ONE. 6: epub e27356 (2011)

[26] Furuhashi M, Tuncman G, Görgün CZ, Makowski L, Atsumi G, Vaillancourt E, Kono K, Babaev KR, Fazio S, Linton MF, Sulsky R, Robl RA, Parker RA, Hotamisligil GS: Treatment of diabetes and atherosclerosis by inhibiting fatty-acid-binding protein aP2. Nature. 447: 959-965 (2007)

[27] Galic S, Oakhill JS, Steinberg GR: Adipose tissue as an endocrine organ. Molecular and Cellular Endocrinology. 316: 129-139 (2010)

[28] Garaulet M, Hernández-Morante JJ, de Pérez Heredia F, Tébar FJ: Adiponectin, the controversial hormone. Public Health Nutrition. 10: 1145-1150 (2007)

[29] Geisthövel F, Jochmann N, Widjaja A, Horn R, Brabant G: Serum pattern of circulating free leptin, bound leptin, and soluble leptin receptor in the physiological menstrual cycle. Fertility & Sterility. 81: 398-402 (2004)

[30] Goodwin PJ, Ennis M, Fantus IG, Pritchard KI, Trudeau ME, Koo J, Hood N: Is Leptin a Mediator of Adverse Prognostic Effects of Obesity in Breast Cancer? Journal of clinical oncology. 23: 6037-6042 (2005)

[31] Goodwin PJ, Ennis M, Pritchard KI, Trudeau ME, Koo J, Taylor SK, Hood N: Insulin- and obesity-related variables in early stage breast cancer: correlations and time course of prognostic associations. Journal of clinical oncology. 30: 164-171 (2012)

[32] Gunter MJ, Hoover DR, Yu H, Wassertheil-Smoller S, Rohan TE, Manson JE, Li J, Ho GYF, Xue X, Anderson GL, Kaplan RC, Harris TG, Howard BV, Wylie-Rosett J, Burk RD, Strickler HD: Insulin, Insulin-Like Growth Factor-I, and Risk of Breast Cancer in Postmenopausal Women. Journal of the National Cancer Institute. 101: 48-60 (2009)

[33] Guo S, Liu M, Wang G, Torroella-Kouri M, Gonzales-Perez RR: Oncogenic role and therapeutic target of leptin signaling in breast cancer and cancer stem cells. Biochimica et biophysica acta. 1825: 207-222 (2012)

[34] Hammamieh R, Chakraborty N, Barmada M, Das R, Jett M: Expression patterns of fatty acid binding proteins in breast cancer cells. Journal of experimental therapeutics & oncology. 5: 133-143 (2005)

[35] Han C, Zhang HT, Du L, Liu X, Jing J, Zhao X, Yang X, Tian B: Serum levels of leptin, insulin, and lipids in relation to breast cancer in china. Endocrine. 26: 19-24 (2005)

[36] Hou WK, Xu XY, Yu T, Zhang L, Zhang WW, Fu CL, Sun Y, Wu Q, Chen L: Adipocytokines and breast cancer risk. Chinese medical journal. 120: 1592-1596 (2007)

[37] Housa D, Housová J, Vernerová Z, Haluzík M: Adipocytokines and cancer. Physiological research. 55: 233-244 (2006)

[38] Huang L, Li C: Leptin: a multifunctional hormone. Cell research. 10: 81-92 (2000)

[39] International Association for the Study of Obesity. Global Overweight & Obesity - Prevalence of overweight and obesity in adults around the globe. http://www.iaso.org/site_media/uploads/Global_Prevalence_ of_Adult_Obesity_3rd_March_2011.pdf (25.3.2013).

[40] Jalid Sehouli: Tumorartige Läsionen und Tumoren der Brustdrüse. In: Bühling KJ, Friedmann W (Hrsg.). Intensivkurs Gynäkologie und Geburtshilfe, 2. Auflage, Urban & Fischer, 432-444 (2009)

[41] Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K: Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. The Journal of Clinical Investigation. 116: 1784-1792 (2006)

[42] Kanabrocki EL, Hermida RC, Wright M, Young RM, Bremner FW, Third JL, Ryan MD, Ayala DE, Johnson M, Nemchausky BA, Shirazi P, Scheving LE, Olwin JH: Circadian variation of serum leptin in healthy and diabetic men. Chronobiology international. 18: 273-283 (2001)

[43] Katalinic A, Pritzkuleit R, Waldmann A: Recent Trends in Breast Cancer Incidence and Mortality in Germany. Breast Care (Basel). 4: 75-80 (2009)

[44] Kelesidis I, Kelesidis T, Mantzoros CS: Adiponectin and cancer: a systematic review. British Journal of Cancer. 94: 1221-1225 (2006)

[45] Li H, Lu Q, Dong LH, Xue H, Zhou HY, Yang HJ: Expression of fatty acid binding protein in human breast cancer tissues. Chinese journal of cellular and molecular immunology. 23: 312-316 (2007)

[46] MacDougald OA, Burant CF: The Rapidly Expanding Family of Adipokines. Cell metabolism. 6: 159-161 (2007)

[47] Macis D, Gandini S, Guerrieri-Gonzaga A, Johansson H, Magni P, Ruscica P, Lazzeroni M, Serrano D, Cazzaniga M, Mora S, Feroce I, Pizzamiglio M, Sandri MT, Gulisano M, Bonanni B, Decensi A: Prognostic effect of circulating adiponectin in a randomized 2 x 2 trial of low-dose tamoxifen and fenretinide in premenopausal women at risk for breast cancer. Journal of clinical oncology. 30: 151-157 (2012)

[48] Maeda K, Cao H, Kono K, Gorgun CZ, Furuhashi M, Uysal KT, Cao Q, Atsumi G, Malone H, Krishnan B, Minokoshi Y, Kahn BB, Parker RA, Hotamisligil GS: Adipocyte/macrophage fatty acid binding proteins control integrated metabolic responses in obesity and diabetes. Cell metabolism. 1: 107-119 (2005)

[49] Mantzoros C, Petridou E, Dessypris N, Chavelas C, Dalamaga M, Alexe DM, Papadiamantis Y, Markopoulos C, Spanos E, Chrousos G, Trichopoulos D: Adiponectin and breast cancer risk. Journal of clinical endocinology and metabolism. 89: 1102-1107 (2004)

[50] Marchbanks PA, Curtis KM, Mandel MG, Wilson HG, Jeng G, Folger SG, McDonald JA, Daling JR, Bernstein L, Malone KE, Wingo PA, Simon MS, Norman SA, Strom BL, Ursin G, Weiss LK, Burkman RT, Spirtas R: Oral contraceptive formulation and risk of breast cancer. Contraception. 85: 342-350 (2012)

[51] Marchbanks PA, McDonald JA, Wilson HG, Folger SG, Mandel MG, Daling JR, Bernstein L, Malone KE, Ursin G, Strom BL, Norman SA, Wingo PA, Burkman RT, Berlin JA, Simon MS, Spirtas R, Weiss LK: Oral contraceptives and the risk of breast cancer. New England journal of medicine. 346: 2025-2032 (2002)

[52] McMillan DC, Sattar N, Lean M, McArdle CS: ABC of obesity. Obesity and Cancer. British Medical Journal. 333: 1109-1111 (2006)

[53] Mensink GB, Lampert T, Bergmann E: Übergewicht und Adipositas in Deutschland 1984 - 2003. Bundesgesundheitsblatt. 48: 1348 - 1356 (2005)

[54] Miyoshi Y, Funahashi T, Kihara S, Taguchi T, Tamaki Y, Matsuzawa Y, Noguchi S: Association of Serum Adiponectin Levels with Breast Cancer Risk. Clinical cancer research. 9: 5699-5704 (2003)

[55] Nishida M, Funahashi T, Shimomura I: Pathophysiological significance of adiponectin. Medical molecular morphology. 40: 55-67 (2007)

[56] Ohlsson G, Moreira JM, Gromov P, Sauter G, Celis JE: Loss of expression of the adipocyte-type fatty acid-binding protein (A-FABP) is associated with progression of human urothelial carcinomas. Molecular & cellular proteomics. 4: 570-581 (2005)

[57] Okamoto Y, Kihara S, Funahasi T, Matsuzawa Y, Libby P: Adiponectin: a key adipocytokine in metabolic syndrome. Clinical Science. 110: 267 - 278 (2006)

[58] Ozet A, Arpaci F, Yilmaz MI, Ayta H, Ozturk B, Komurcu S, Yavuz AA, Tezcan Y, Acikel C: Effects of tamoxifen on the serum leptin level in patients with breast cancer. Japanese journal of clinical oncology. 31: 424-427 (2001)

[59] Pajvani UB, Hawkins M, Combs TP, Rajala MW, Doebber T, Berger JP, Wagner JA, Wu M, Knopps A, Xiang AH, Utzschneider KM, Kahn SE, Olefsky JM, Buchanan TA, Scherer PE: Complex distribution, not absolute amount of adiponectin, correlates with thiazolidinedione-mediated improvement in insulin sensitivity. The journal of biological chemistry. 279: 12152-12162 (2004)

[60] Paz-Filho G, Lim EL, Wong ML, Licinio J: Associations between adipokines and obesity-related cancer. Frontiers in bioscience. 16: 1634-1650 (2011)

[61] Pests and Diseases Image Library. Elisa plates. http://old.padil.gov.au/pbt/files/uall/pbt23-elisaplate.gif (25.03.2013).

[62] Petridou E, Papadiamantis Y, Markopoulos C, Spanos E, Dessypris N, Trichopoulos D: Leptin and insulin growth factor I in relation to breast cancer (Greece). Cancer causes & control. 11: 383-388 (2000)

[63] Pischon T, Nöthlings U, Boeing H: Obesity and cancer. The proceedings of the Nutrition Society. 67: 128-145 (2008)

[64] Poirier P, Giles TD, Bray GA, Hong Y, Stern JS, Pi-Sunyer FX, Eckel RH: Obesity and Cardivascular disease. Pathophysiology, Evaluation, and Effect of Weight Loss. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 26: 968-976 (2006)

[65] Prentice RL, Anderson GL: The women's health initiative: lessons learned. Annual Review of Public Health. 29: 131-150 (2008)

[66] Protani M, Coory M, Martin JH: Effect of obesity on survival of women with breast cancer: systematic review and meta-analysis. Breast cancer research and treatment. 123: 627-635 (2010)

[67] Rahal OM, Simmen RC: Paracrine-acting adiponectin promotes mammary epithelial differentiation und synergizes with genistein to enhance transcriptional response to estrogen receptor beta-signaling. Endocrinology. 152: 3409-3421 (2011)

[68] Rasouli N, Kern PA: Adipocytokines and the Metabolic Complications of Obesity. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 93: 64-73 (2008)

[69] Reinehr T, Stoffel-Wagner B, Roth CL: Adipocyte fatty acid-binding protein in obese children before and after weight loss. Metabolicm: clinical and experimental. 56: 1735-1741 (2007)

[70] Renehan AG, Roberts DL, Dive C: Obesity and Cancer: pathophysiological and biological mechanisms. Archives of physiology and biochemistry. 114: 71-83 (2008)

[71] Renehan AG, Tyson M, Egger M, Heller RF, Zwahlen M: Body-mass index and incidence of cancer: a systematic review and meta-analysis of prospective observational studies. Lancet. 371: 569-578 (2008)

[72] Riad-Gabriel MG, Jinagouda SD, Sharma A, Boyadjian R, Saad MF: Changes in plasma leptin during the menstrual cycle. European journal of endocrinology. 139: 528-531 (1998)

[73] Robert-Koch-Institut, Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V (Hrsg): Krebs in Deutschland 2007/2008. 8. Ausgabe. 12-13, 64-68 (2012)

[74] Robert-Koch-Institut (Hrsg.): Verbreitung von Krebserkrankungen in Deutschland. Entwicklung der Prävalenzen zwischen 1990 und 2010. Beiträge zur Gesundheitsberichterstattung des Bundes. 77-83 (2010)

[75] Rose DP, Komninou D, Stephenson GD: Obesity, adipocytokines, and insulin resistance in breast cancer. Obesity reviews. 5: 153-165 (2004)

[76] Sauter ER, Garofalo C, Hewett J, Hewett JE, Morelli C, Surmacz E: Leptin expression in breast nipple aspirate fluid (NAF) and serum is influenced by body mass index (BMI) but not by the presence of breast cancer. Hormone and metabolic research. 36: 336-340 (2004)

[77] Siiteri PK: Adipose tissue as a source of hormones. The American journal of clinical nutrition. 45: 277-282 (1987)

[78] Sobin L, Gospodarowicz M, Wittekind C: Breast Tumours. In: UICC (Hrsg.). TNM - Classification of Malignant Tumours, 7. Auflage, Wiley-Backwell, 181-193 (2009)

[79] Stark A, Stahl MS, Kirchner HL, Krum S, Prichard J, Evans J: Body mass index at the time of diagnosis and the risk of advanced stages and poorly differentiated cancers of the breast: findings from a case-series study. International Journal of Obesity. 34: 1381-1386 (2010)

[80] Statistisches Bundesamt Wiesbaden: Todesursachen in Deutschland. Fachserie 12. Reihe 4: 1 (2012)

[81] Steffes MW, Gross MD, Schreiner PJ, Yu X, Hilner JE, Gingerich R, Jacobs Jr. DR: Serum adiponectin in young adults--interactions with central adiposity, circulating levels of glucose, and insulin resistance: the CARDIA study. Annals of epidemiology. 14: 492-498 (2004)

[82] Stejskal D, Karpisek M, Bronsky J: Serum adipocyte-fatty acid binding protein discriminates patients with permanent and temporary body weight loss. Journal of clinical laboratory analysis. 22: 380-382 (2008)

[83] Storch J, Thumser AE: Tissue-specific Functions in the Fatty Acid-binding Protein Family. The journal of biological chemistry. 285: 32679-32683 (2010)

[84] Tessitore L, Vizio B, Jenkins O, De Stefano I, Ritossa C, Argiles JM, Benedetto C, Mussa A: Leptin expression in colorectal and breast cancer patients. International journal of molecular medicine. 5: 421-426 (2000)

[85] Tessitore L, Vizio B, Pesola D, Cecchini F, Mussa A, Argiles JM, Benedetto C: Adipocyte expression and circulating levels of leptin increase in both gynaecological and breast cancer patients. International Journal of oncology. 24: 1529-1535 (2004)

[86] Trayhurn P, Wood IS: Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. British Journal of Nutrition. 92: 347-355 (2004)

[87] Valle A, Sastre-Serra J, Oliver J, Roca P: Chronic leptin treatment sensitizes MCF-7 breast cancer cells to estrogen. Cell Physiology Biochemistry. 28: 823-832 (2011)

[88] Wauman J, Tavernier J: Leptin receptor signaling: pathways to leptin resistance. Frontiers in bioscience. 16: 2771-2793 (2011)

[89] Wellen KE, Hotamisligil GS: Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. The Journal of Clinical Investigation. 112: 1785–1788 (2003)

[90] Wittekind C, Tannapfel A: Prinzipien der Pathologie in der Onkologie. In: Schmoll H, Höffken K, Possinger K (Hrsg.). Kompendium Internistische Onkologie, 4. Auflage, Springer 351-382 (2006)

[91] Woo HY, Park H, Ki CS, Park YL, Bae WG: Relationships among serum leptin, leptin receptor gene polymorphisms, and breast cancer in Korea. Cancer letters. 237: 137-142 (2006)

[92] World Health Organization. The International Classification of adult underweight, overweight and obesity according to BMI. 2006. http://www.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html (25.03.2013).

[93] World Health Organization. Obesity and overweight. 2012. http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html (25.03.2013).

[94] Wozniak SE, Gee LL, Wachtel MS, Frezza EE: Adipose Tissue: The New Endocrine Organ? A Review Article. Digestive diseases and sciences. 54: 1847-1856 (2009)

[95] Xu A, Wang Y, Xu JY, Stejskal D, Tam S, Zhang J, Wat NM, Wong WK, Lam KS: Adipocyte fatty acid-binding protein is a plasma biomarker closely associated with obesity and metabolic syndrome. Clinical chemistry. 52: 405-413 (2006)

[96] Yan D, Avtanski D, Saxena NK, Sharma D: Leptin-induced Epithelial-Mesenchymal Transition in Breast Cancer Cells Requires Beta-Catenin Activation via Akt/GSK3- and MTA1/Wnt1 Protein-dependent Pathways. Journal of Biological Chemistry. 287: 8598-8612 (2012)

[97] Zbuk K, Anand SS: Declining incidence of breast cancer after decreased use of hormone replacement therapy: magnitude and time lags in different countries. Journal of Epidemiology & Community Health. 66: 1-7 (2011)

[98] Zentrum für morbide Adipositas Klinikum Augsburg. Ursachen der Adipositas. http://www2.klinikum-augsburg.de/2512/Ursachen_der_Adipositas.htm (25.03.2013).

[99] Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedmann JM: Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. Nature. 372: 425-432 (1994)

7. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Prozentualer Anteil der häufigsten Tumorlokalisationen an allen Krebsneuerkrankungen in Deutschland 2008 [73], modifiziert 6

Abbildung 2: Altersstandardisierte Brustkrebsinzidenz und -mortalität in Deutschland [44], modifiziert. 7

Abbildung 3: Ursachen und Risikofaktoren für Übergewicht [98], modifiziert 10

Abbildung 4: Mögliche Mechanismen des erhöhten Karzinomrisikos durch Übergewicht und Adipositas [52], modifiziert..... 12

Abbildung 5: Potenzielle Wirkungsgebiete von Adipokinen [86], modifiziert..... 14

Abbildung 6: Molekulare Adiponektin Struktur [41], modifiziert..... 18

Abbildung 7: Elisa Testprinzip [8], modifiziert..... 27

Abbildung 8: Arbeitsschritte Elisa..... 29

Abbildung 9: Elisa-Mikrotiterplatte, initiale Arbeitsschritte [61], modifiziert 30

8. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: TNM-Klassifikation der UICC [78] 4

Tabelle 2: Tumor-Differenzierungsgrade [90] 5

Tabelle 3: BMI-Klassifikation der WHO [92], modifiziert 9

Tabelle 4: Detaillierte Darstellung des Kollektives 21

Tabelle 5: Material für die Blutentnahme 24

Tabelle 6: Details zur pathologischen Befundung 25

Tabelle 7: In den Elisa-Testkits enthaltene Reagenzien 31

Tabelle 8: Zusätzlich verwendetes Material 32

Tabelle 9: Übersicht über die Kategorien der Excel Datentabelle 34

Tabelle 10: Adipokin-Serumkonzentrationen bei Patientinnen und Kontrollen: Gesamtkohorte 36

Tabelle 11: Adipokin-Serumkonzentration bei Patientinnen und Kontrollen in Abhängigkeit vom Menopausenstatus 37

Tabelle 12: Evaluation des Brustkrebsrisikos durch logistische Regression 38

Tabelle 13: Adipokin-Serumkonzentrationen bei Frauen mit hohem oder niederem BMI: Gesamtkohorte 39

Tabelle 14: Adipokin-Serumkonzentrationen bei Frauen mit hohem oder niederen BMI: Abhängigkeit vom Menopausenstatus 40

Tabelle 15: Adipokin-Serumkonzentrationen bei Patientinnen und Kontrollen in Abhängigkeit vom BMI: Gesamtkohorte 42

Tabelle 16: Adipokin-Serumkonzentrationen bei Patientinnen und Kontrollen in Abhängigkeit vom BMI: prä- und postmenopausale Frauen 44

Tabelle 17: Adipokin-Serumkonzentrationen bei Patientinnen (n=159) in Abhängigkeit von den Tumorcharakteristika 46

9. Danksagung

Hiermit möchte ich allen danken, die zum Entstehen dieser Arbeit beigetragen haben. Mein aufrichtiger Dank gilt meinem Doktorvater, Professor Jürgen Weiss, für die Überlassung der interessanten und anspruchsvollen Promotions-Thematik, das mir entgegengebrachte Vertrauen sowie die Unterstützung bei Organisation, Durchführung und Korrektur der vorliegenden Arbeit. Ganz spezieller Dank gebührt meiner Betreuerin, Frau Dr. Kataharina Hancke, die mir zu jeder Zeit mit Rat und Tat zur Seite stand. Durch ihr großes Engagement, ihre fachliche Kompetenz und ihre kontinuierliche Unterstützung hat sie entscheidend zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen. Weiterhin danke ich der Firma Biovendor, im Besonderen Michal Karpisek, für die außerordentliche Gastfreundschaft und die professionelle Zusammenarbeit. Meinem Mann Wolfgang danke ich für seinen fortwährenden Zuspruch sowie seine nie endende Geduld. Nicht zuletzt möchte ich meiner Familie und besonders meinen Eltern danken, deren bedingungsloser und uneingeschränkter Unterstützung ich mir schon mein ganzes Leben lang sicher sein konnte – ich danke euch für euren Rückhalt und eure Geduld!

10. Lebenslauf

Lebenslauf aus Gründen des Datenschutzes entfernt.

11. Publikationen

Im Rahmen dieser Dissertation entstand folgende Veröffentlichung:

K Hancke, D Grubeck, N Hauser, R Kreienberg, JM Weiss: Adipocyte fatty acid-binding protein as a novel prognostic factor in obese breast cancer patients. Breast Cancer Research and Treatment. 119: 367-7 (2010).