

*Aus der Urologischen Klinik und Poliklinik des
Universitätskrankenhauses Eppendorf*

(Direktor: Prof. Dr. med. H. Huland)

**Mikrogefäßdichte als präoperativer
prognostischer Marker bei Patienten mit
Prostatakarzinom**

Dissertation

*zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
dem Fachbereich Medizin der Universität Hamburg
vorgelegt von*

Maik Pokupić

aus Berlin.

Hamburg 2000

Angenommen von dem Fachbereich Medizin
der Universität Hamburg am: 12.12.2000

Gedruckt mit der Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität Hamburg.

Sprecher: Prof. Dr. H.-P. Leichtweiß

Referent: Priv.Do. Dr. P. Hammerer

Korreferent: Prof. Dr. H. Huland

Diese Dissertation ist meiner Frau Sabine, meinem Sohn Philip
und meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet.

1. EINLEITUNG	6
1.1. Epidemiologie des Prostatakarzinoms	6
1.2. Ätiologie	7
1.2.1. Risikofaktoren	7
1.2.2. Hereditäres Prostatakarzinom	7
1.3. Pathologie	8
1.3.1. klinische Einteilung	8
1.3.2. Tumorstaging	8
1.3.3. Tumorgrading	10
1.4. Klinik	11
1.5. Diagnostische Verfahren	12
1.6. Therapie	12
1.7. Angiogenese	13
2. FRAGESTELLUNG	15
3. PATIENTEN UND METHODE	16
3.1. Präoperative Diagnostik	16
3.2. Immunhistochemie	16
3.2.1. APAAP-Methode: Antikörper-Antigenbindungen	17
3.2.2. Entwicklung der Farbreaktion	18
3.3. Mikroskopische Auswertung	19
3.4. Postoperative Diagnostik	19

3.5. Statistische Methoden	20
4. ERGEBNISSE	21
4.1. Auswertung der Prostatektomiepräparate	22
4.1.1. WHO-Grading	22
4.1.2. TNM-Kategorie	22
4.1.3. Tumorgröße	23
4.1.4. Gleasonscore	24
4.2. Ergebnisse der Kapillardichtemessung	24
4.2.1. Kapillardichte und Karzinomvolumen	25
4.2.2. Kapillardichte und pTNM-Kategorien	26
4.2.3. Kapillardichte und Gradingparameter	27
4.2.4. Kapillardichte und Serum PSA-Wert	29
4.2.5. Kapillardichte in der BPH	30
4.2.6. Progreßfreies Überleben	30
4.2.7. Cox-Regressionsanalyse	31
5. DISKUSSION	32
5.1. Auswertung der Kapillardichte	33
5.1.1. Kapillardichte und prognostische Parameter	35
5.1.2. Progreßfreies Überleben	37
6. ZUSAMMENFASSUNG	39
7. LITERATURVERZEICHNISS	41

1. Einleitung

1.1. Epidemiologie des Prostatakarzinoms

Das Prostatakarzinom ist der häufigste bösartige Tumor des Mannes. In Deutschland werden jährlich 20.000 Neuerkrankungen registriert. In den USA liegt die Zahl der Neuerkrankungen bei 130.000 pro Jahr [MEIKLE et al., 1990]. Durch die hohe Zahl der Neuerkrankungen rückt das Prostatakarzinom stärker in das öffentliche und medizinisch-wissenschaftliche Interesse. Allein 1996 und 1997 wurden zu diesem Thema rund 3000 Artikel veröffentlicht [ZLOTTA und SCHULMANN, 1998].

Die Inzidenzen schwanken zwischen 30 in Nordamerika, West- und Nordeuropa und 100,2 bei schwarzen US Amerikanern. In Asien tritt das klinisch manifeste Prostatakarzinom deutlich seltener auf (China 1,8; Japan 5,1), sodaß Umwelt- und Ernährungseinflüsse möglicherweise einen kausalen Zusammenhang mit dem Prostatakarzinom aufweisen [MUIR et al., 1991]. Dafür spricht die Tatsache, daß das Karzinomrisiko für Asiaten, die in die USA einwandern, proportional zur Dauer des Aufenthaltes in den USA ansteigt. Das Risiko dieser Immigranten bleibt jedoch auch in der 2.Generation unterhalb der Inzidenzen der einheimischen Bevölkerung [CARTER et al., 1993].

In einem nicht ausgewählten Obduktionsgut beträgt der Anteil der an einem Prostatakarzinom verstorbenen Krebstoten etwa 3,5%. In Deutschland sterben jährlich über 11.000, in den USA versterben jährlich annähernd 40.000 Menschen am Prostatakarzinom. Nach einem langjährigen Anstieg der Inzidenzen und Mortalitätsraten kam es in den letzten Beobachtungen zu einer Konsolidierung auf diesem Niveau [MERRIL et al., 1996 und HOEKSEMA et al., 1996]. Der Unterschied zwischen der Inzidenz und der Mortalitätsrate zeigt bereits, daß nicht alle diagnostizierten Prostatakarzinome zum Tod des betreffenden Patienten führen.

1.2. Ätiologie

1.2.1. Risikofaktoren

Die genaue Ätiologie des Prostatakarzinoms ist weitgehend unbekannt.

Sowohl experimentelle als auch klinische Daten sprechen dafür, daß die Höhe des Testosteronspiegels im Serum nicht nur das Fortschreiten, sondern auch die Entstehung eines Prostatakarzinoms beeinflussen könnte [HENDERSON et al., 1997].

Auch sollen der Zeitpunkt des Einsetzens der Pubertät sowie die sexuelle Aktivität in bestimmten Lebensabschnitten das Karzinomrisiko steigern bzw. vermindern. Darüber hinaus wurde ein erhöhter Fett- und Proteingehalt der Ernährung sowie Übergewicht mit einem erhöhten Karzinomrisiko korreliert [ZARIDZE et al. 1987].

1.2.2. Hereditäres Prostatakarzinom

Vergleichende Untersuchungen an Familien, in denen gehäuft Prostatakarzinome aufgetreten sind, haben gezeigt, daß zumindest ein Teil der Prostatakarzinome autosomal dominant, den Mendelschen Gesetzen folgend, vererbt wird. Die Wahrscheinlichkeit für einen Mann, selbst an einem Prostatakarzinom zu erkranken, steigt deutlich, wenn ein oder mehrere Familienmitglieder bereits am Prostatakarzinom erkrankt sind oder waren [STEINBERG et al., 1990].

Dabei ist für das Karzinomrisiko wichtig, ob es sich bei dem erkrankten Angehörigen um einen Verwandten ersten oder zweiten Grades handelt.

Das Risiko für eine Prostataerkrankung schwankt zwischen dem 1,7-fachen und 11-fachen Risiko [STEINBERG et al., 1990].

Es scheinen neben geographischen auch rassisch-genetische Unterschiede ursächlich zu sein. So identifizieren SMITH et al. und COONEY et al. den Genlocus für das hereditary prostate cancer 1 Gen (HPC 1) auf dem Chromosom 1 [SMITH et al., 1996], [COONEY et al., 1997].

Nach WALSH et al. haben unter allen Prostatakarzinompatienten 9% das HPC 1 Gen für die hereditäre Form des Karzinoms [WALSH et al., 1997].

Jedoch läßt sich die Mehrzahl aller neu diagnostizierten Prostatakarzinome nicht in ein genetisches Schema einordnen.

1.3. Pathologie

1.3.1. klinische Einteilung

Bei dem Prostatakarzinom handelt es sich in 95% aller Fälle um ein Adenokarzinom tubuloalveolären oder azinösen Ursprungs.

Es ist ein Karzinom, das meist von den Epithelien der peripheren Drüsenanteile ausgeht und eine sehr unterschiedliche Malignität aufweisen kann. Da es sich beim Prostatakarzinom überwiegend um einen Tumor des älteren Mannes handelt, verstirbt ein Teil der Karzinomträger an verschiedenen Erkrankungen, bevor das Prostatakarzinom soweit fortgeschritten ist, daß es seinen Träger vital bedroht. Ein Teil der Karzinome wird nicht zu Lebzeiten klinisch signifikant und wird nur anlässlich einer Autopsie entdeckt. In diesem Fall wird von einem *latenten Prostatakarzinom* gesprochen.

Teilweise werden Prostatakarzinome bei einer Transurethralen Resektion der Prostata (TURP) oder einer Schnittooperation wegen eines Prostataadenoms zufällig entdeckt, ohne daß vorher aufgrund klinischer oder laborchemischer Befunde mit einem Karzinom gerechnet worden wäre. Diese Tumore werden als *inzidentelle Prostatakarzinome* bezeichnet.

Das *okkulte Prostatakarzinom* benennt einen Tumor, der anhand einer histologischen Aufarbeitung von Metastasen ohne gesicherten Primarius in der Prostata gefunden wird.

1.3.2. Tumorstaging

1.3.2.1. Klassifikation nach Whitmore [WHITMORE, 1956]

Die Karzinome werden in vier Stadien eingeteilt:

- Stadium A: mikroskopische und intrakapsuläre Karzinome.
- Stadium B: makroskopische und intrakapsuläre Karzinome.
- Stadium C: makroskopische und extrakapsuläre Karzinome.
- Stadium D: metastasierende Karzinome.

1.3.2.2. *TNM-Klassifikation*

Die Richtlinien zur Klassifikation maligner Tumoren werden von der UICC (Internationale Union gegen den Krebs) festgelegt. Gegenwärtig gilt die Modifikation nach der 5. Auflage von 1997. Ziel ist, mit Hilfe einer einheitlichen, kasuistischen Dokumentation Vergleichbarkeit herzustellen. Auf dem Boden dieser Dokumentation können Hinweise für die Prognose der Patienten gegeben werden. Sie erleichtert die Auswertung der Behandlungsergebnisse und den Informationsaustausch zwischen Therapiezentren.

Die TNM-Klassifikation ergibt sich aus den klinisch diagnostischen Maßnahmen und ist die Grundlage für die Therapieplanung des Tumors.

Abzugrenzen davon ist die pTNM-Klassifikation, die den Befund auf der Basis der intraoperativen Diagnose, des histologischen Befundes der Stanzbiopsien, des Operationspräparates oder des Autopsiepräparates beschreibt. Nach RÜBBEN und DAHM können sich TNM und pTNM durchaus unterscheiden [RÜBBEN und DAHM, 1979].

T - Primärtumor

TX - Primärtumor kann nicht beurteilt werden

T0 - Kein Anhalt für Primärtumor

T1 - Klinisch inapparenter Tumor, nicht palpabel, in bildgebenden Verfahren nicht darstellbar

T1a - inzidenteller Tumor in 5% oder weniger des histologischen Resektionspräparates

T1b - inzidenteller Tumor in mehr als 5% des histologischen Resektionspräparates

T1c - durch Nadelbiopsie identifizierter Tumor

T2 - auf die Prostata begrenzter Tumor

T2a - Tumorerinfiltration in einem Lappen

T2b - Tumorerinfiltration in beiden Lappen

T3 - extrakapsuläre Tumorausbreitung

- T3a - einseitige oder beidseitige extrakapsuläre Tumorausbreitung
- T3b - Samenblaseninfiltration

- T4 - Tumordinfiltration benachbarter Strukturen (Blasenhals, Sphincter externus, Rektum, Levator-Muskulatur, Beckenwand)

- N - Regionäre Lymphknoten**
- NX - Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden
- N0 - Kein Anhalt für Tumorausbreitung in regionären Lymphknoten
- N1 - Regionärer Lymphknotenbefall

- M - Fernmetastasen**
- Mx - Fernmetastasen können nicht beurteilt werden
- M0 - Kein Anhalt für Fernmetastasen
- M1 - Fernmetastasen
- M1a - Extraregionärer Lymphknotenbefall
- M1b - Knochenmetastasen
- M1c - andere Manifestationen

1.3.3. Tumorigradung

1.3.3.1. WHO-Einteilung

Bereits BRODERS schlug ein vier-Stufen-System zur Einteilung der Prostatakarzinome vor, motiviert durch seine Beobachtung, daß das Verhalten von malignen Zellen durch ihre histologische Erscheinungsform vorausgesagt werden kann [BRODERS, 1925].

MOSTOFI entwickelte ein Drei-Stufen-Schema, das sowohl die zytologischen Merkmale der Kerngröße und Form als auch die Morphologie der Glandulae Prostaticae erfaßt [MOSTOFI, 1975]. Die gültige WHO-Einteilung ist angelehnt an das Gradingssystem von MOSTOFI [MOSTOFI et al., 1980].

Die größte Schwierigkeit aller Gradingssysteme stellt die Reproduzierbarkeit und Reliabilität der Ergebnisse dar [MOSTOFI et al., 1992].

1.3.3.2. Gleason score

Die Gleasonklassifikation wurde erstmalig 1966 vorgestellt und beruht auf einer Einteilung in fünf Gruppen (1-5), die sich nach den histopathologischen Wachstumsmustern richten [GLEASON, 1966]. Aus dem quantitativ führenden Wachstumsmuster und dem zweitrangigen Wachstumsmuster wird ein Score gebildet, da in den Prostatakarzinomen Areale unterschiedlicher Malignität vorkommen können, die prognostisch unterschiedliche Aussagekraft haben. Der Score wird als prognostisches Kriterium genutzt.

Nach MURPHY et al. gibt Gleason die Reproduzierbarkeit der Klassifikation mit 80% an [MURPHY et al., 1979]. Andere Arbeiten wie HARADA et al. zeigen Reproduzierbarkeiten von 64% - 70% [HARADA et al., 1977].

1.4. Klinik

Unter einem lokalisierten Prostatakarzinom wird ein auf das Organ beschränktes Karzinom verstanden, das der T1- und T2-, N0, M0 Kategorie entspricht.

Nach HUMPHREY et al. befinden sich in einem konsekutiven Patientenkollektiv von 100 Patienten, die in einem PSA (Prostata-spezifisches Antigen) Screening durch erhöhte Serum PSA Werte auffielen, 61 Patienten mit lokal begrenztem Wachstum und 39 Patienten mit fortgeschrittenem Karzinomwachstum [HUMPHREY et al., 1996].

Unter einem fortgeschrittenen Prostatakarzinom wird ein T3 oder T4 Tumor verstanden; das metastasierte Prostatakarzinom umfaßt jede T-Kategorie mit regionärem Lymphknotenbefall oder Fernmetastasen (N1, M1).

Obwohl das Prostatakarzinom ein häufiger Tumor ist, bleibt es teilweise so lange unerkannt, bis die Erkrankung lokal weit fortgeschritten oder metastasiert ist und symptomatisch wird. Solche Symptome können unter anderem Dysurie, obstruktive Miktionsbeschwerden, Knochenschmerzen, Gewichtsverlust, Anämie oder Tumorkachexie sein [JURINČIĆ-WINKLER und KLIPPEL, 1991].

1.5. Diagnostische Verfahren

Zur klinischen Diagnosefindung tragen maßgeblich die digitale rektale Palpation (DRE), die Messung des Prostataspezifischen Antigen Spiegels (PSA) im Serum und der transrektale Ultraschall (TRUS) bei.

Die Sicherung der Diagnose erfolgt durch die transrektale Stanzbiopsie mit anschließender histologischer Aufarbeitung. Insbesondere durch die systematische Sextantenbiopsie (6 Bx) können hinsichtlich Sensitivität und Spezifität Fortschritte in Diagnosesicherung und präoperativem Staging erzielt werden [HAMMERER et al., 1994].

Durch die Option der kurativ operativen Therapie erklärt sich das Bestreben nach frühzeitiger Diagnose und präzisiertem Staging [ZLOTTA et al., 1998]. Aufgrund der in den letzten Jahren in der Literatur erschienenen Arbeiten zur Angiogenese wird versucht, ein verbessertes präoperatives Staging der Karzinome zu erreichen [BRAWER et al., 1994 und HALL et al., 1994].

1.6. Therapie

Die erste vollständige Prostatektomie erfolgte durch CZERNY in Heidelberg 1889. Als Zugang wählte CZERNY den perinealen Weg, da dieser von vorangegangenen Adenomenukleationen bereits bekannt war. Durch FULLER (New York, 1898) erfolgte die erste radikale retropubische Prostatektomie [DUFOUR, 1986].

In einer Studie mit 925 konsekutiven Prostatakarzinompatienten mit klinischem T1 oder T2 Stadium [CATALONA et al., 1994] konnte gezeigt werden, daß durch die radikale Prostatektomie ein progreßfreies 5-Jahresintervall von 78% des Patientenkollektivs erreicht wird.

Insbesondere durch die Option zur Erhaltung der Nervi erigentes (nerve sparing technique) und die damit verbundene Erhaltung der Potenz sowie den verbesserten Inkontinenzraten als auch durch die verringerte operative Mortalität und Morbidität zählt die radikale Prostatektomie zur Therapie der Wahl des lokalisierten Prostatakarzinoms [CATALONA et al., 1994].

Die Therapie des fortgeschrittenen oder metastasierten Prostatakarzinom orientiert sich an den Stadien des Befundes und am individuellen Gesundheitszustand des

Patienten. Die Androgendeprivation und die Analgetische Therapie gemäß des WHO-Stufenschemas von 1986 bilden die Säulen der Therapie des lokal fortgeschrittenen und metastasierten Prostatakarzinoms [COFFEY, 1993].

1.7. Angiogenese

Die Angiogenese ist ein physiologischer Prozeß in der Wundheilung und im Gewebswachstum. Die unphysiologische Angiogenese ist ein kritisches Element verschiedener Erkrankungen, insbesondere der Diabetischen Retinopathie, der Rheumatoiden Arthritis und der Krebserkrankung [O'BRIEN UND HARRIS, 1995].

Die Tumorangiogenese ist ein komplexer multifaktorieller Prozeß zwischen Endothelzellen, Tumorzellen, tumorinfiltrierenden Leukozyten und der Extrazellulärmatrix [HANAHAHAN et al., 1996].

Am Anfang steht die Aktivierung der Endothelzellen, die zu einer Dilatation und Permeabilitätssteigerung der Kapillaren führt. Durch Bindegewebsfibroblasten werden Proteasen freigesetzt, die zur Arrodierung der kapillären Basalmembranen und zur Destruktion des perikapillären Stroma führen. Das ermöglicht die Migration der kapillären Endothelzellen. Die Migration der Endothelzellen richtet sich nach den angiogenetischen Stimuli, den Angiogenesefaktoren aus. Die Endothelzellen formieren sich und beginnen unter dem Einfluß der Angiogenesefaktoren zu proliferieren. So kommt es zur Ausbildung neuer Kapillaren. Sie werden durch eine einzelne Endothelzellschicht gebildet. Die einzelnen Endothelzellen sind mit tight-junctions, gap-junctions und Desmosomen miteinander verbunden. Diese Arten der Verbindung sind für die Funktion der Kapillaren wichtig. Sie ermöglichen die Permission der verschiedenen zellulären Elemente im Rahmen der Infektabwehr, der Restitutio ad Integrum nach Verletzungen und der Zellkommunikation [FOLKMAN et al., 1992].

Die Expansion des Tumorgewebes zeigt eine Abhängigkeit von der Größe der Neovaskularisation. Die Tumoren sind zu Beginn nicht zwingend angiogen (neovaskularisiert), sondern können in einem Ruhestatus verweilen (Tumor dormancy). Ab einem gewissen Zeitpunkt beginnen die Karzinome zu proliferieren und induzieren damit eine Neovaskularisation (angiogenic switch) [FOLKMAN et al., 1992].

Die Regulationsmechanismen, insbesondere das Zusammenwirken der stimulierenden und inhibierenden Angiogenesefaktoren ist noch nicht in letzter Konsequenz geklärt. Zu den stimulierenden Angiogenesefaktoren gehören neben der Gewebshypoxie auch der *basic fibroblast growth factor* (bFGF), *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *Platelet derived endothelial growth factor* (PD-EGF), und *Transforming growth factor- α* (TGF- α) und TGF- β .

Zu den inhibitorischen Faktoren gehört das *Angiostatin*, das *Interferon- α* , - γ , der *Platelet-derived factor 4* und das *Thrombospondin* [FOLKMAN et al., 1992].

Zur Induktion der Angiogenese kommt es nach RASTINEJAD durch eine Dysbalance der stimulierenden und inhibitorischen Angiogenesefaktoren [RASTINEJAD et al., 1989]. Diese Dysbalance kann im Sinne eines Verlustes an gesteuerter Zellfunktion bzw. einer zunehmenden Entdifferenzierung gesehen werden [BOUCK, 1990].

Die Zunahme der Vaskularisation ermöglicht die Versorgung des expandierenden Karzinomgewebes.

Studien an Mammakarzinomen, Endometriumkarzinomen, Kolorektalenkarzinomen, malignen Melanomen und Nierenzellkarzinomen konnten zeigen, daß die Kapillardichte als Maß der Angiogenese ein unabhängiger prognostischer Marker sein kann [OGAWA et al., 1995, KIRSCHNER et al., 1996, TOMISAKI et al., 1996, FOSS et al., 1996, DELAHUNT et al., 1997].

So zeigen Arbeiten von BRAWER et al. sowie HALL et al., daß die Angiogenese des Prostatakarzinoms mit dem Tumorprogress und dem pathologischen Staging korreliert [BRAWER et al., 1994 und HALL et al., 1994]. Das Maß der Angiogenese wird in diesen Arbeiten durch die Messung der Kapillardichte im Karzinomgewebe bestimmt.

2. Fragestellung

Die Therapieform der radikalen Prostatektomie ist nur dann kurativ erfolgreich, wenn das klinische Staging exakt ist. Anhand histologischer Untersuchungen konnte JEWETT zeigen, daß bei 17 % der mit einem klinischen B1-Stadium radikal Prostatektomierten Patienten histo-pathologisch eine Tumorausbreitung über die Prostatakapsel hinaus (pathologisches Stadium C) nachgewiesen werden konnte [JEWETT, 1975]. Bei über 50 % der Patienten mit einem klinisch lokalisierten Prostatakarzinom, die radikal prostatektomiert wurden, zeigte sich, daß die etablierten präoperativen klinischen und pathologischen Untersuchungsmethoden zu einer Unterschätzung des pathologischen Stadiums geführt haben [PARTIN et al., 1997]. Patienten mit lokal fortgeschrittenem bzw. metastasiertem Prostatakarzinom profitieren hinsichtlich der Prognose nicht von der radikalen Prostatektomie. Daher sind die Kliniker bemüht, die Zahl der radikal prostatektomierten Patienten mit lokal fortgeschrittenem oder metastasiertem Karzinom zu senken. Da das Maß für den Erfolg der radikalen Prostatektomie von der tatsächlichen Tumorausbreitung abhängig ist, ist die Forschung bemüht, Methoden zu finden, die die klinische Fehleinschätzung des Tumors reduzieren. Es wird versucht durch zunehmend bessere präoperative Marker eine präzisere Aussage über Eigenschaften, Lokalisation, Aggressivität und Ausprägung des Tumors zu erreichen.

Die Arbeit überprüft am Beispiel des Prostatakarzinoms die Hypothese, ob sich mit Hilfe der Angiogenese das Staging und die Prognose von Karzinomen beurteilen läßt [FOLKMAN et al., 1992].

Es wird untersucht, ob die Kapillardichte (Bloodvessel density, BVD) des Prostatakarzinoms in der systematischen Sextantenbiopsie ein unabhängiger präoperativer prognostischer Marker ist, der zu einem verbesserten präoperativen Staging führen könnte.

So wird der Frage nachgegangen, ob es möglich ist, durch Messung der Kapillardichte zwischen pT2 und pT3 Tumoren zu unterscheiden; bzw. ob es möglich ist, zwischen klinisch inapparenten pT1 und pT2 Tumoren zu differenzieren.

3. Patienten und Methode

Das untersuchte Patientenkollektiv rekrutierte sich aus 104 Patienten der Urologischen Klinik der Universität Hamburg-Eppendorf. Bei allen Patienten wurde ein stanzbiptisch gesichertes Prostatakarzinom diagnostiziert. Die Patienten entsprachen den klinischen Stadien A und B und wurden konsekutiv radikal prostatektomiert (nach Huland modifizierte Walsh Methode) [HULAND, 1991].

Patienten mit präoperativer Hormontherapie wurden von der Studie ausgeschlossen.

3.1. Präoperative Diagnostik

Bei allen Patienten wurde präoperativ neben der üblichen Diagnostik der Serum PSA-Wert (Abbott IMx assay) bestimmt. Nach der digitalen rektalen Palpation (DRE) und dem transrektalen Ultraschall (TRUS) mit 7 MHz Schallkopf (B & K, 1846) wurde die systematische Sextantenbiopsie (6Bx) mit der Biopty Gun[®] (Radiplast, Upsala, Schweden; 0,9mm Kanüle) unter TRUS Kontrolle durchgeführt. Es erfolgte eine begleitende Antibiotikaphylaxe zur Vorbeugung von Infektion.

Eine Knochenszintigraphie zum Ausschluß von Skelettmetastasen wurde ebenfalls durchgeführt [NOLDUS et al., 1998].

Die Stanzbiopsien wurden sowohl für die histopathologische Diagnostik als auch für die immunhistologische Aufarbeitung verwendet.

3.2. Immunhistochemie

Als Primärantikörper für die immunhistochemische Aufarbeitung wurde der gegen Endothelzellen gerichtete Antikörper Anti-CD 31, Klon IC/ 70A (Biogenex[®], Hamburg, Ma 232-5c) verwendet. Er markiert ebenfalls Monocyten, Granulocyten, Lymphocyten und Thrombocyten. Weiterhin eingesetzt wurden Chemikalien (Dianova[®], Hamburg, ADS 101) für die immunhistochemische

Färbung der Stanzbiopsien nach der APAAP-Methode (Alkalische Phosphatase anti Alkalische Phosphatase Methode) [CORDELL et al., 1984].

Eingesetzte Chemikalien:

- Dualsystem APAAP-Komplex (monoklonaler Maus IgG 1)
- Dualsystem Brückenantikörper (polyklonaler Kaninchen anti Maus IgG)
- Alkohollösung zum Entparaffinieren(Xylol, 95 % Ethanol)
- Tris- Puffer
- RPMI- Verdünnungsmedium
- Neufuchsin-Entwicklerlösung (Entwicklungs-Tris-Puffer, AMPD-Levamisol-Lösung, 4 %-ige Na-nitrit Lösung, 5 %-ige Neufuchsin-Stammlösung)

Aus den fixierten und paraffinierten Stanzbiopsien wurden am Schneideblock 4 µm starke Schnittpräparate hergestellt. Die Schnitte wurden im Wasserbad (50°C) auf Objektträger aufgezogen und entparaffiniert. Dazu wurden die Schnitte 20 Minuten in Xylol gewaschen, anschließend fünf Minuten in Ethanol 95%, fünf Minuten in Ethanol 80%, fünf Minuten in Ethanol 50% und weitere zwei Minuten in Leitungswasser gespült. Abschließend wurden die Präparate für eine Minute in Tris-Puffer-Lösung gelegt.

3.2.1. APAAP-Methode: Antikörper-Antigenbindungen

1. Der erste Schritt dieser Methode bestand in der Inkubation der Schnittpräparate mit Kaninchenserum Dianova 011-000-001 für zehn Minuten. Hierbei wurden unspezifische Bindungsstellen für die Antikörper blockiert.
2. Eine Minute waschen in Tris-Puffer. 60 Minuten mit dem Primärantikörper CD 31, Klon IC/ 70A (Biogenex[®]) bei 37°C inkubieren.
3. Zweimal für drei Minuten in Tris-Puffer-Lösung waschen.

4. Inkubation mit Dualsystem-Brückenantikörper für 30 Minuten (Verdünnung 1:75).
5. Danach wurde zweimalig für drei Minuten in Tris-Puffer-Lösung gewaschen.
6. Inkubation mit Dualsystem APAAP-Komplex für 30 Minuten (Verdünnung 1:200 von Progen®).
7. Zweimal für drei Minuten in Tris-Puffer-Lösung waschen.
8. Erneute Inkubation mit Dualsystem-Brückenantikörper für 15 Minuten (Verdünnung 1:75).
9. Zweimal für drei Minuten in Tris-Puffer-Lösung waschen.
10. Inkubation mit Dualsystem APAAP-Komplex für 15 Minuten (Verdünnung 1:200 von Progen®).
11. Abschließend wurde für fünf Minuten in Leitungswasser gewaschen.

3.2.2. Entwicklung der Farbreaktion

Die Schnittpräparate wurden für 30 Minuten bei Raumtemperatur in Neufuchsin-Entwicklerlösung in einem Schüttler bewegt. Dadurch wurden die mit Antikörpern markierten Endothelzellen an roten Farbstoff gekoppelt und sichtbar gemacht. Es folgte ein dreiminütiges Spülen unter Leitungswasser.

Zur Verbesserung der Kernfärbung wurde die Hämalaunfärbung nach Mayer angewandt. Dazu wurde 1g 25 % HCl in 100 ml Aqua destillata gelöst und die Präparate für 15 Minuten in diese Lösung gebracht.

Weitere fünf Minuten wurde unter Leitungswasser gespült. Die Objektträger wurden vorsichtig abgetrocknet und in Aquatex® (Kneister, Hamburg) eingedeckt.

An Kontrollschnittpräparaten wurde die Reaktionsfolge ohne Primärantikörper durchgeführt. Pro Färbansatz wurde je ein Kontrollschnittpräparat eingesetzt. Die Positivkontrolle erfolgte an den mit Primärantikörper inkubierten Präparaten.

3.3. Mikroskopische Auswertung

Der gebundene Primärantikörper wurde nach der Alkalische Phosphatase anti Alkalische Phosphatase Methode (APAAP-Dianova) immunhistochemisch nachgewiesen.

Die mikroskopische Auswertung der gefärbten Präparate der Prostata-Stanzbiopsien erfolgte am Axioplan (Carl Zeiss, Jena) unter Zuhilfenahme des Rasterokulars (Zeiss, 20*10) in der 200-fachen Vergrößerung.

Das Rasterokular hatte eine fest definierte Anzahl von 100 Quadraten, die in einer Anordnung von 10*10 Quadraten lagen. Die auf dem Präparat vom Raster abgedeckte Fläche entsprach in der 200-fachen Vergrößerung $0,3844 \text{ mm}^2$.

Die markierten Endothelzellen wurden den teils orthograd, teils tangential angeschnittenen Kapillaren zugeordnet und das Feld der 100 Quadrate auf diese Weise ausgezählt. Per Definitionem wurde jedes positive Signal pro Quadrat gezählt, da letztlich nicht definitiv abgrenzbar war, ob es sich in den Quadraten um eine mehrfach angeschnittene Kapillare oder um benachbarte Kapillaren handelte.

Es wurden jeweils drei Areale im Tumorgewebe und drei Areale im hyperplastischen Gewebe der Prostatastanzbiopsie (Benigne Prostatahyperplasie, BPH) ausgezählt. Die Auswertung konzentrierte sich auf Areale mit guter Anfärbbarkeit (hot spots). Die drei Zählungen ergaben jeweils einen Mittelwert, der für die weitere Auswertung entscheidend war.

3.4. Postoperative Diagnostik

Postoperativ folgte die histologische Aufarbeitung der Prostatektomiepräparate in 3 mm starke Großflächenschnitte nach dem Stanford-Protokoll [MC NEAL, 1990]. Anhand der exakten Aufarbeitung dieser Präparate konnten Staging- und Gradingeinstufungen, sowie die Einteilung nach dem Gleasonscore vorgenommen werden.

Die Patienten wurden postoperativ in halbjährlichem Abstand zur Tumornachsorge einbestellt. Bestandteil der Nachsorgeuntersuchung waren neben DRE und TRUS das Messen des Serum PSA-Wertes, ein Urinsediment und die

urologische Sonographie.

Als PSA-Progreß gewertet wurden PSA-Werte $> 0,1\text{ng/ml}$ (Abbott-Essay).

3.5. Statistische Methoden

Die elektronische Datenaufbereitung erfolgte am Personal Computer mit dem Prostatanachsorgeprogramm „Urol-Data,“ basierend auf der Datenbank (Filemaker[®]) der Urologischen Klinik. Die statistische Bearbeitung des Datenmaterials wurde mit dem Statistikprogramm SPSS 6.0 durchgeführt. Der Zusammenhang von Merkmalen wurde mit verschiedenen Methoden untersucht. Angewandt wurden sowohl deskriptive Verfahren, der Pearsonstest, als auch der Mann-Whitney-Wilcoxon-U-Test für Korrelationstestverfahren. Zur Prüfung der Unabhängigkeit von Merkmalen wurde die Cox-Regressionsanalyse im Modus „schrittweise vorwärts“ verwendet. Einbezogen in die Analyse wurde die Kapillardichte, der Gleasonscore, der präoperative PSA-Wert und die Anzahl karzinompositiver Stenzen aus der Sextantenbiopsie, sowie der in den Stanzbiopsien gefundene Anteil an Gleason 4/5. Zur Beschreibung der postoperativen Progressfreiheit wurde die Kaplan-Meier-Statistik angewandt. Die Testergebnisse wurden als p-Werte angegeben. Die Formulierung „signifikant“ ($p < 0,05$) bezieht sich auf diese Werte.

4. Ergebnisse

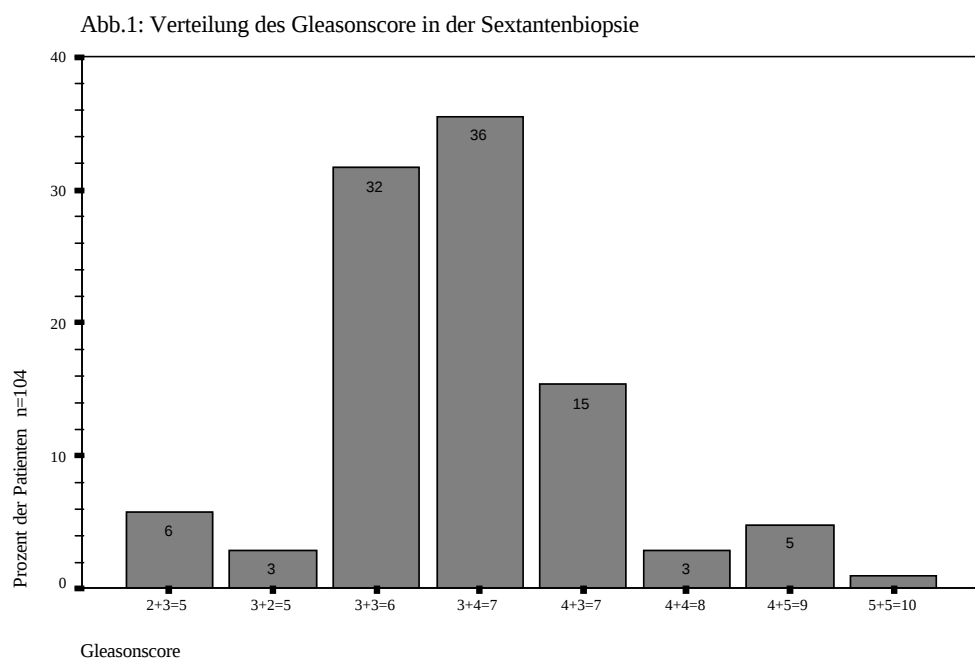
Das Patientenkollektiv entsprach bezüglich Altersverteilung, präoperativem Serum PSA-Wert und Anzahl der positiven Prostatastanzbiopsien einem Standardkollektiv für eine radikale Prostatektomie. Im Mittel hatten die Patienten in 3 von 6 Stanzbiopsien einen Karzinomnachweis.

In Tabelle I sind charakteristische Patientenmerkmale als Median, Standardabweichung und Spannweite dargestellt.

Tabelle I: Charakteristische präoperative Patientenmerkmale:

N = 104	MEDIAN	STD.ABWEICHUNG	RANGE
ALTER	61,6 Jahre	-	42 bis 72 Jahre
PRÄOPERATIVER PSA-WERT	10,4 ng/ml	18,4	1,4 bis 120 ng/ml

In Abbildung 1 ist der prozentuale Anteil der Probanden in Unterteilung des Gleasonscores dargestellt. 36% der Patienten hatten in den Stanzbiopsien einen Gleasonscore von 3+4=7, bei 32% fand sich ein Gleasonscore von 3+3=6.



4.1. Auswertung der Prostatektomiepräparate

Das Patientenkollektiv entsprach bezüglich pTNM-Kategorie, Karzinomvolumen und Differenzierungsgrad einem Standardkollektiv für eine radikale Prostatektomie.

Die Ergebnisse in Tabelle II beziehen sich nur auf die Prostatektomiepräparate.

Tabelle II: Die entscheidenden Charakteristika der Prostatektomiepräparate:

N = 104	MEDIAN	STD. ABWEICHUNG	RANGE
PTNM KATEGORIE	-	-	pT2a bis pT4
GRAD	-	-	G1 bis G3
KARZINOM VOLUMEN	4,45 cm ³	10,95	0,9cm ³ bis 50,1 cm ³
KARZINOMANTEIL GLEASON 4/5	0,93 cm ³	7,4	46,7 cm ³
GLEASONSCORE	7	-	4 bis 10

4.1.1. WHO-Grading

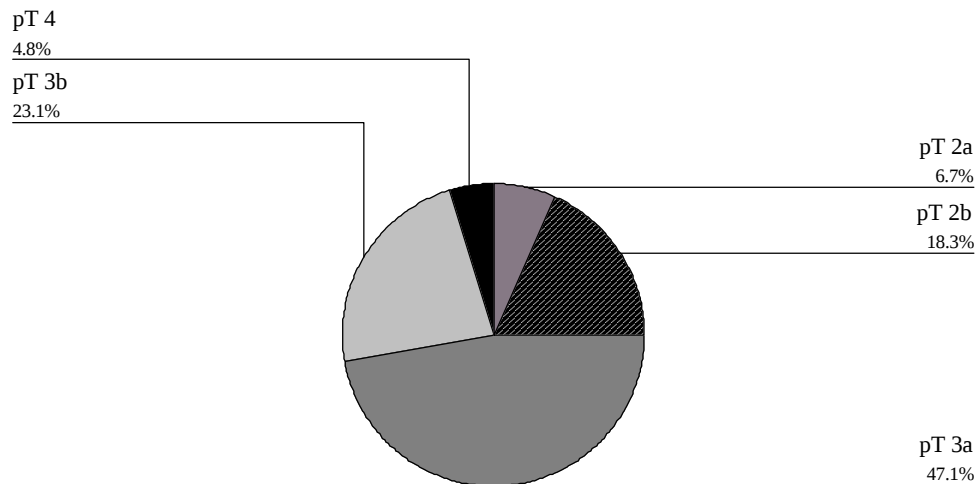
Bei Betrachtung der Karzinomdifferenzierung nach dem WHO-Grading ist die stärkste Gruppe, die der mittelgradig differenzierten Prostatakarzinome G2 mit 74%. Die G3 Karzinome sind mit 25% deutlich stärker vertreten als die hochdifferenzierten G1 Karzinome (1%).

4.1.2. TNM-Kategorie

Die histopathologisch aufgearbeiteten Prostatektomiepräparate zeigten die in Abbildung 2 dargestellte Stagingenteilung. Das Patientenkollektiv umfasst im Staging pT-Kategorien von pT2a bis pT4. Die größte Gruppe zeigte sich in der pT3a-Kategorie. Die Gruppe der pT2 Karzinome umfasste 25%, die der

Karzinome mit extrakapsulärer Ausbreitung (pT3) betrug 50,2%. Die pT4 Karzinome waren in 4,8 % der Fälle zu finden.

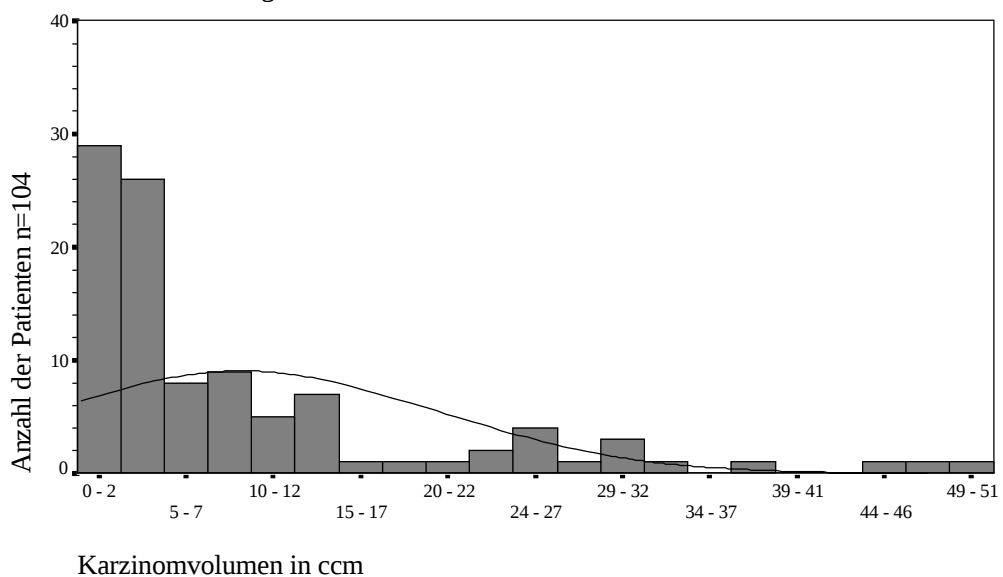
Abb.2: Prozentuale Verteilung der TNM-Kategorien



4.1.3. Tumorgroße

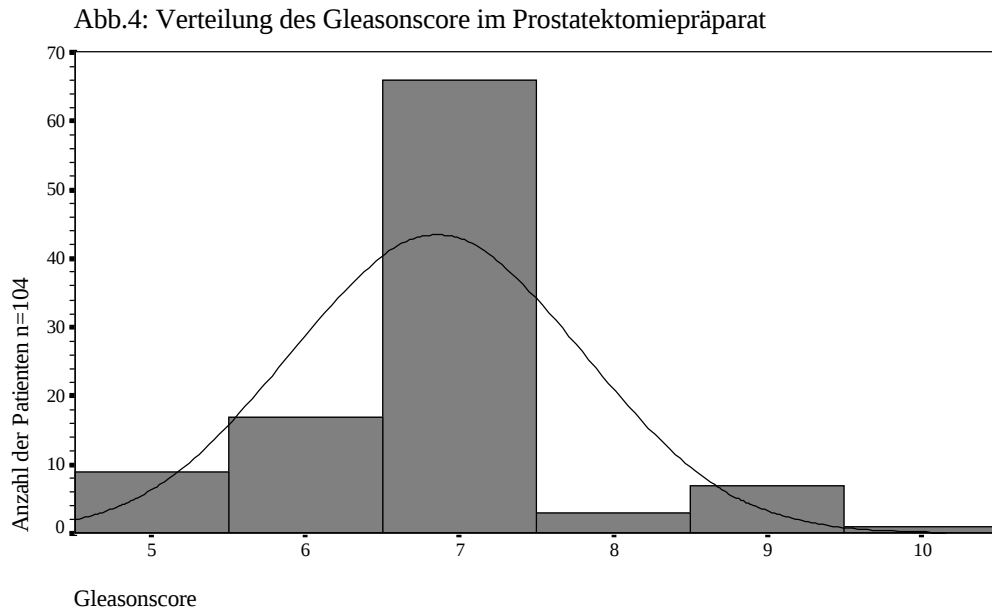
Das in den Prostatektomiepräparaten gemessene Karzinomvolumen variierte zwischen 0,1 mm³ und 50,0 mm³. Die genaue Verteilung der Volumina ist in der Abbildung 3 dargestellt.

Abb.3: Verteilung des Karzinomvolumens



4.1.4. Gleasonscore

Die Differenzierung der Karzinome im histologisch aufgearbeiteten Operationspräparat nach dem Gleasonscore ist der Abbildung 4 zu entnehmen. 68 Patienten hatten einen Gleasonscore von 7.



4.2. Ergebnisse der Kapillardichtemessung

Die als Negativkontrolle ohne Primärantikörper angefertigten Schnittpräparate zeigten keine Anfärbbarkeit der morphologischen Strukturen.

Die Positivkontrollen waren korrekt zu beurteilen.

Aufgrund von Schnittproblematik wurden n=6 Präparate aussortiert.

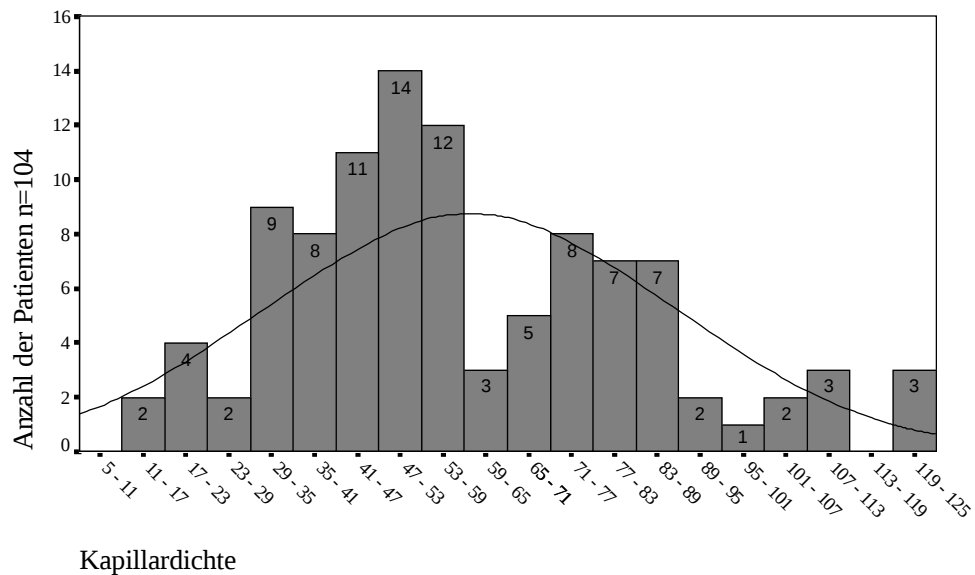
Die Kapillardichte wurde grundsätzlich als Zahl/mm² angegeben. Die Ergebnisse der Kapillardichtebestimmung (Blood vessel density (BVD)) sind der Tabelle III zu entnehmen.

Tabelle III: Die Bestimmung der Kapillardichte:

N=104	MITTELWERT	MEDIAN	STD.ABWEICHUNG	STD.FEHLER	RANGE
BVD IM KAR- ZINOMGEWEBE	60,0/mm ²	53/mm ²	28,3	2,75	183,0
BVD IM BPH- GEWEBE	23,94/mm ²	18/mm ²	16,7	2,23	86,0

Das Ergebnis der BVD-Messung ist in der folgenden Darstellung wiedergegeben.

Abb.5: Verteilung der Kapillardichte im Karzinomgewebe

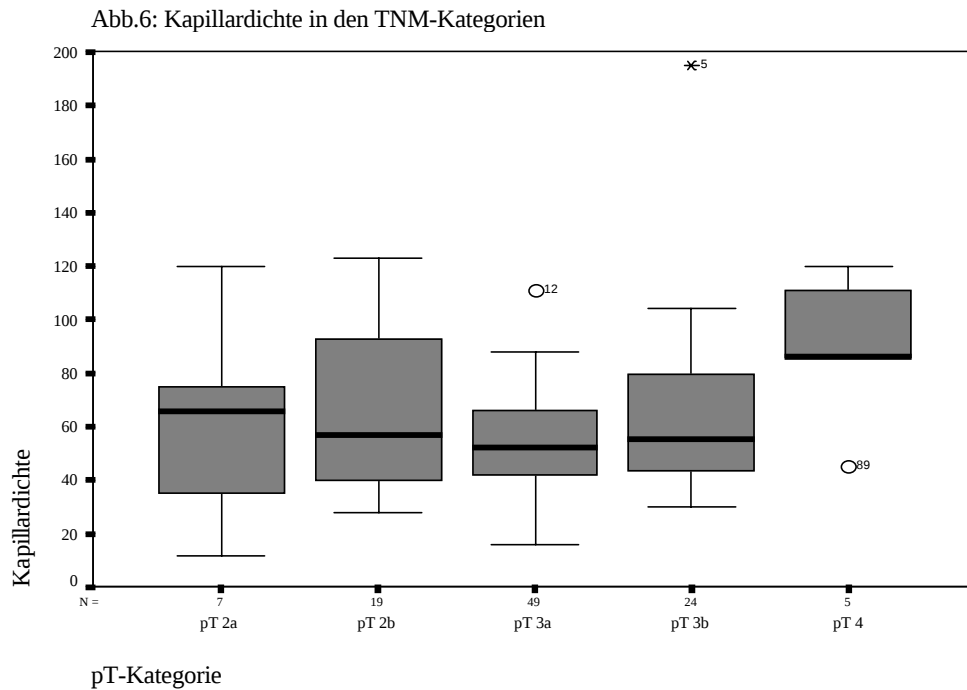


4.2.1. Kapillardichte und Karzinomvolumen

Beim Vergleich der Kapillardichte mit dem Karzinomvolumen im Korrelationstest nach Pearson für bivariate Korrelation zeigte sich ein Korrelationskoeffizient von 0,12 und ein nicht signifikanter p-Wert von $p = 0,237$.

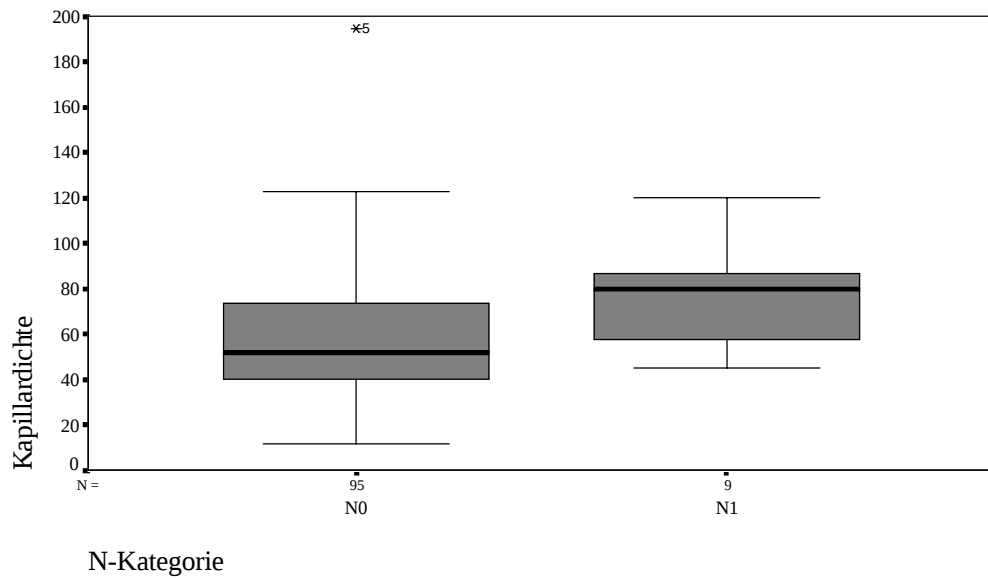
4.2.2. Kapillardichte und pTNM-Kategorien

Die Kapillardichte in den p-TNM-Kategorien reichte bei pT2a mit einem Median von 56,5/mm² (Std.abw. 39,3) bis zu pT4 mit einem Median 89,6/mm² (Std.abw. 29,14), [p-Wert >0,05]. Die folgende Abbildung zeigt die Verteilung der BVD in den jeweiligen pT-Kategorien.



Bezüglich des Lymphknotenbefalls fanden wir in der Gruppe N0 eine mittlere BVD von 58,1/mm² (n=95), in N1 eine mittlere BVD von 82,1/mm² (n=9). Der Unterschied lag an der Signifikants-Grenze mit p=0,05. Die graphische Darstellung ist in Abbildung 7 zu sehen.

Abb.7: Kapillaren bei Patienten mit positiven regionären Lymphknoten

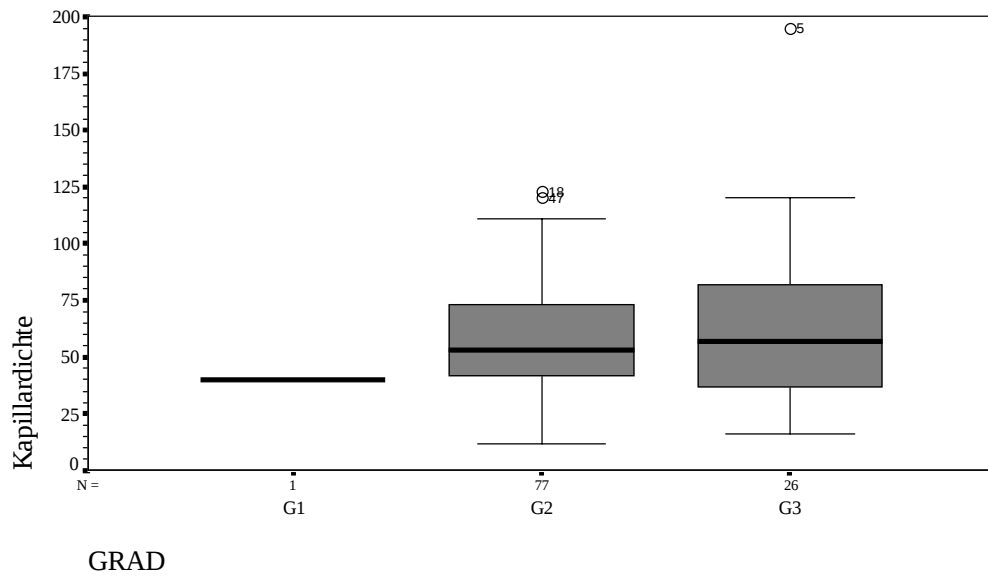


Die Betrachtung der BVD in Bezug auf die Kapselperforation des Prostatakarzinoms zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen lokalisierten Prostatakarzinomen und fortgeschrittenen Tumoren, die die Prostatakapsel bereits durchbrochen hatten.

4.2.3. Kapillardichte und Gradingparameter

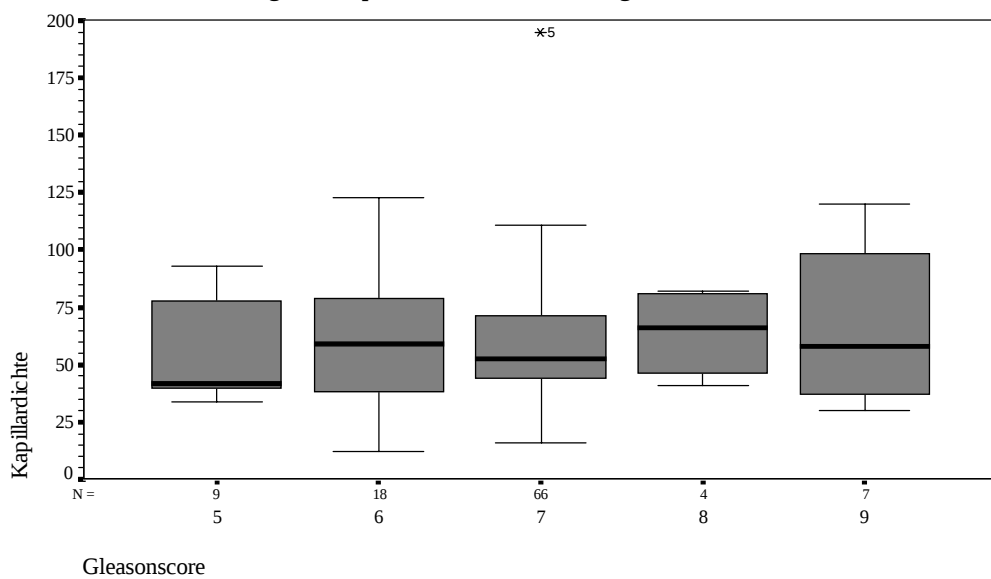
Im Grading G1 bis G3 traten bezüglich der Kapillardichte keine signifikanten Unterschiede auf.(vergl. Abb.8)

Abb.8: Kapillardichte in den Kategorien der WHO-Einteilung



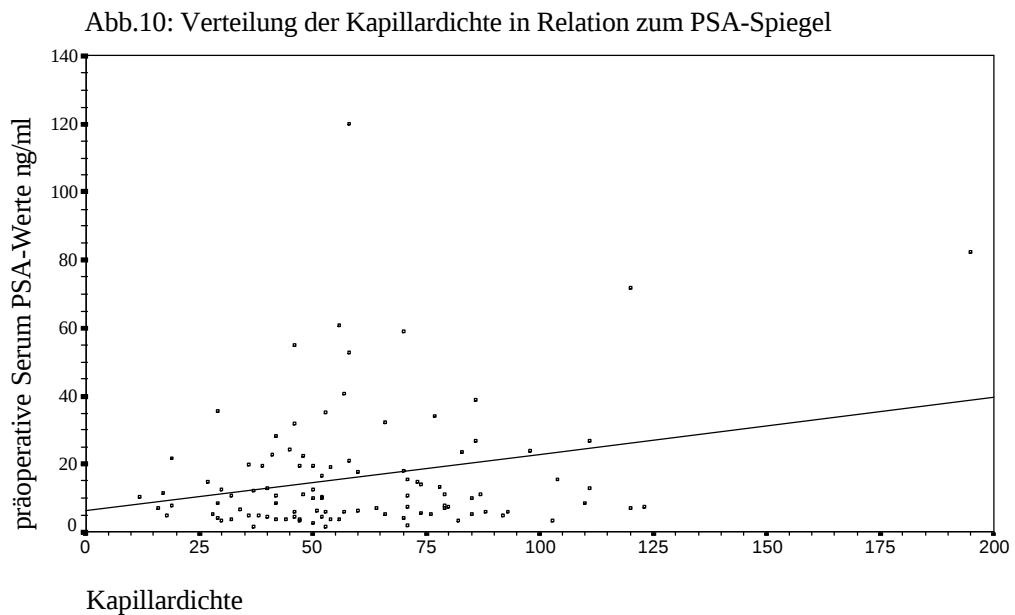
In den Kategorien des Gleasonscores zeigte die Kapillardichte die in Abbildung 9 dargestellte Verteilung. Zu entnehmen ist der Median, das 2. Quartil und das 95 % Konfidenzintervall. Die Mediane differierten zwischen 45/mm² und 65/mm². In den Ausprägungen des Gleasonscores fanden sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der BVD (Abb.9).

Abb.9: Verteilung der Kapillardichte in den Kategorien des Gleasonscores



4.2.4. Kapillardichte und Serum PSA-Wert

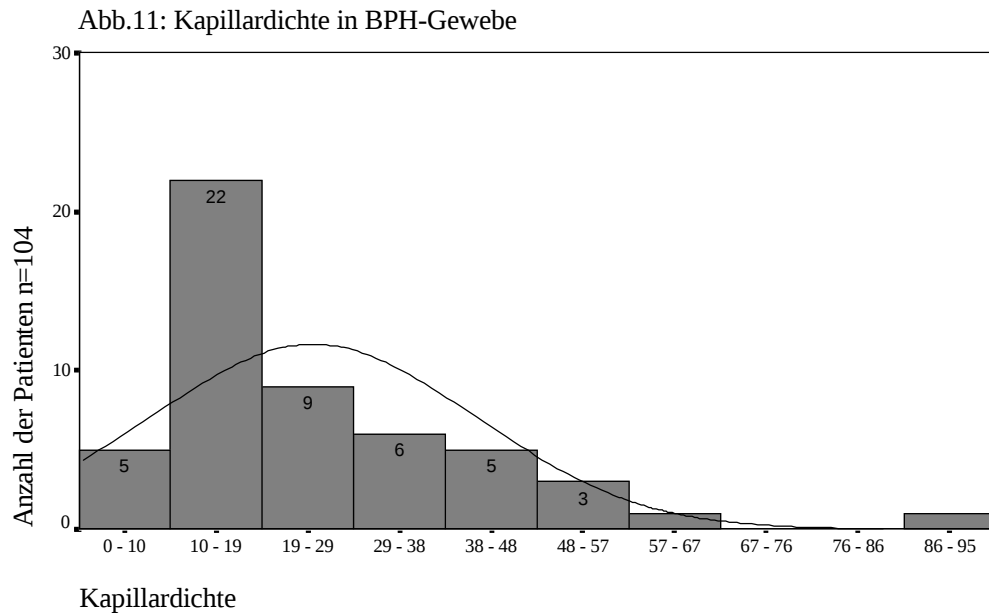
Die Korrelation der BVD im Prostatakarzinomgewebe der Stanzbiopsien mit dem präoperativen PSA-Wert ist in Abbildung 10 zu sehen.



Bei der Messung des PSA-Wertes 12 Monate post Operationem zeigten die Patienten mit einem PSA-Progreß (oberhalb der Nachweisgrenze von 0,1 ng/ml (Abbott-Essay)) eine mediane BVD von 77,4/ mm² (Std.abw. 42,5). Patienten ohne PSA-Progreß hatten eine mediane BVD von 58,0/mm² (Std.abw. 24,9). Dieser Unterschied war im Mann-Whitney-U-Wilcoxon-Rank-Test mit p= 0,034 (n=104) beziffert. Der nach 42 Monaten Follow-up durchgeführte Test zeigte bei einer mittleren BVD von 52,2/mm² versus 58,2/mm² (n=23; n=20) einen p-Wert > 0,05.

4.2.5. Kapillardichte in der BPH

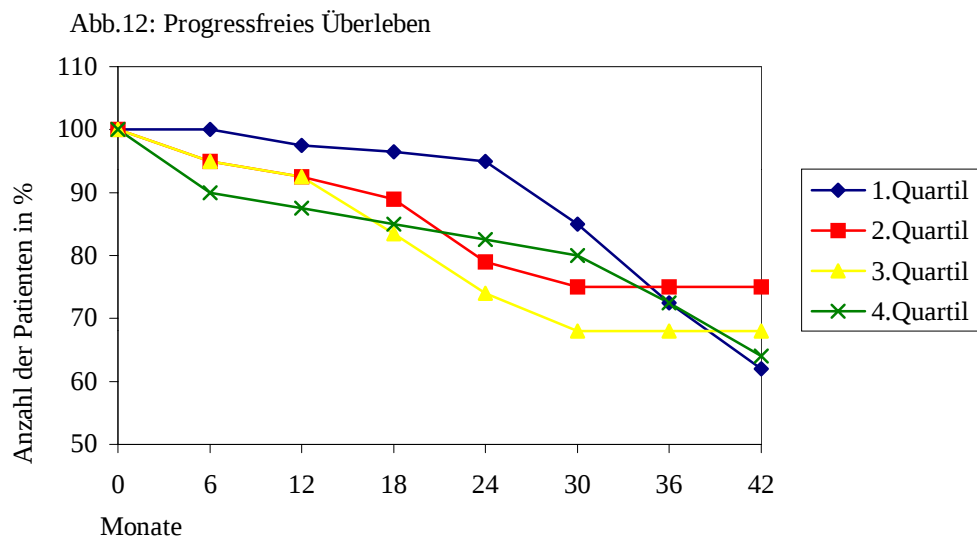
Abbildung 11 zeigt die Verteilung der Kapillardichte in nicht karzinomatös veränderten Gewebeabschnitten der Prostatastanzbiopsien.



Bei der Auswertung der BVD im BPH-Gewebe der Stanzbiopsien lag der Minimalwert bei $4/\text{mm}^2$ versus dem Maximum von $90/\text{mm}^2$. Die Std.Abweichung lag bei 16,7. Der Mittelwert lag bei $23,94/\text{mm}^2$ und der Median bei $18,0/\text{mm}^2$.

4.2.6. Progreßfreies Überleben

Die Kaplan-Meier Überlebenskurve zur Beurteilung der prozentualen Progreßfreiheit ist in Abbildung 12 zu sehen. Die Kaplan-Meier Statistik zeigt die in Quartile klassierte Kapillardichte in Abhängigkeit zum PSA-progressfreien Überleben. Das mittlere Patienten Follow-up lag bei 36 Monaten (Range 6-42 Monate, Median 32 Monate).



4.2.7. Cox-Regressionsanalyse

Um die Frage zu klären, ob es sich bei der Kapillardichte um einen unabhängigen präoperativen Marker handelt, wurden die Daten mit der Cox-Regressionsanalyse untersucht. Einbezogen in die Analyse wurde die Kapillardichte, der Gleasonscore, der präoperative PSA-Wert und die Anzahl karzinompositiver Stanzen aus der Sextantenbiopsie sowie der in den Stanzbiopsien gefundenen Anteil an Gleason 4.

Die Analyse zeigte für die BVD, den PSA-Wert und den Gleasonscore keine Korrelation. Für die Parameter Anzahl karzinompositiver Stanzen sowie Gleason 4 in der Stanzbiopsie zeigten sich hoch signifikante p-Werte ($p=0,0024$; $p=0,0003$).

5. Diskussion

Die frühzeitige Erkennung und ein zuverlässiges Staging sind die Voraussetzungen für die kurative Therapie des Prostatakarzinoms. Trotz aller Verbesserungen der bildgebenden Diagnostik bleibt als Methode der Wahl zur Verifikation des Karzinoms nur die Entnahme einer Gewebeprobe durch eine Stanzbiopsie. Aufgrund verbesserter Aussagekraft wird die Diagnose zweckmäßigerweise mit der Sextantenbiopsie gesichert [HAMMERER et al., 1994]. Die Sextantenbiopsie verbessert die Stagingaussage gegenüber der Monobiopsie zur Indikationsstellung zur radikalen Prostatektomie insbesondere, wenn eine operative Nerverhaltung geplant ist [GRAEFEN et al., 1998].

Das bezüglich der Angiogenese untersuchte Patientenkollektiv ist ein Standardkollektiv für die radikale Prostatektomie. Es ist mit anderen Kollektiven vergleichbar [CATALONA et al., 1994, RUBIN et al., 1999, HULAND et al., 1996 und BETTENCOURT et al., 1998].

Durch die Bestimmung von PSA-Fraktionen wie dem freien PSA und durch Bestimmung von PSA-Velocity und PSA-Density konnte die Sensitivität des PSA-Wertes in der Karzinomerkennung verbessert werden [CATALONA et al., 1997], [LILJA et al., 1991].

Die Betrachtung des Tumorumfanges zeigt im Vergleich zur Arbeit von BRAWER et al. eine deutlich größere Range mit 0,9 bis 50,1 cm³ versus 0,6 bis 8,6 cm³ [BRAWER et al., 1994]. Der Median dieser Arbeit liegt bei 4,45 cm³; bei BRAWER differieren die Mittelwerte zwischen 0,7 und 3,9 cm³.

MCNEAL konnte zeigen, daß das Karzinomvolumen direkt mit dem pathologischen Stadium und dem Gleasonscore korreliert und somit eine prognostische Aussagekraft besitzt [MCNEAL, 1992].

Das prognostische Parameter mit der höchsten Aussagekraft ist nach HUMPHREY et al. das Karzinomvolumen. Dagegen stellt STAPELTON et al. das Karzinomvolumen als dasjenige Kriterium mit der niedrigsten Aussagekraft dar [HUMPHREY et al., 1990, STAPELTON et al., 1997].

In der Analyse des Gleasonscore bezeichnen die Gleasonscore 7 Karzinome (3+4=7 und 4+3=7) mit 70,7 % die größte Gruppe der Prostatakarzinome. Wobei

der Anteil an Gleason 4 die prognostisch stärkste Aussagekraft hat. Arbeiten von GRAEFEN et al. und MCNEAL et al. konnten zeigen, daß die Patienten ab einem Karzinomvolumenanteil mit Gleason 4 von 2 cm^3 , respektive $3,2 \text{ cm}^3$ als erhöht Progressgefährdet gelten [GRAEFEN et al., 1999 und MCNEAL et al., 1990]. Das Karzinomvolumen von Gleason 4/5 liegt mit einem Median von $0,925 \text{ cm}^3$ unterhalb der kritischen Grenze von 2 cm^3 . Allerdings haben 36,54 % der Patienten ein Karzinomvolumen Gleason 4/5 oberhalb dieser kritischen Grenze von 2 cm^3 .

5.1. Auswertung der Kapillardichte

Die Angiogenese ist ein Ansatz auf der Suche nach verbesserten präoperativen Staging- und Gradingaussagen. Die Ausdehnung der Tumorvaskularisation korreliert bei soliden Tumoren mit der Tumorprognose [ZLOTTA et al., 1998].

Die meisten in der Literatur veröffentlichten Arbeiten betrachten die Kapillardichte auf der Grundlage von Prostatektomiepräparaten (RUBIN et al., BRAWER et al., VARTANIAN et al., BETTENCOURT et al.), an Präparaten der Transurethralen Resektion der Prostata (TURP) (HALL et al.) oder wie FURUSATO et al. an entdeckten latenten Karzinomen [RUBIN et al., 1999, BRAWER et al., 1994, VARTANIAN et al., 1995, BETTENCOURT et al., 1998, HALL et al., 1994, FURUSATO et al., 1994]. BOSTWICK et al. untersuchten ebenso wie diese Arbeit stanzbioptisch gewonnenes Prostatagewebe [BOSTWICK et al., 1996].

In den zitierten Arbeiten schwanken die Fallzahlen zwischen 15 und 87. Lediglich bei Bostwick et al. werden 146 Probanden untersucht [BOSTWICK et al., 1996].

Da insbesondere die präoperative Aussage von großer Wichtigkeit für das weitere Procedere ist, besteht die Besonderheit dieser Arbeit darin, daß zur Bestimmung der Gefäßdichte (BVD) stanzbioptisch gewonnenes Gewebe untersucht wurde. Somit steht nur eine relativ kleine Fläche von ca. $0,108 \text{ cm}^2$ als Ausgangsmaterial bereit (ca. 12 mm Länge und 0,9 mm Breite). Im Gegensatz zum Prostatektomiepräparat, bei dem oft multiple Herde Karzinomgewebes zur

Auswahl stehen, ist die Auswahl an Adenokarzinom im Biopsiegewebe relativ eingeschränkt. Zur Auswahl der Meßareale werden, wie in der Literatur häufig beschrieben, Areale mit hoher Anfärbbarkeit (hot spots) herangezogen. Um die subjektiven Einflüsse beim Zählen zu reduzieren, wurde das Zählkammerokular verwendet. In anderen Studien wurde, bei vergleichbaren Detektionsergebnissen, ein computerunterstütztes bildgebendes Analyseverfahren angewandt [KOHLEBERGER et al., 1996], [GETTMANN et al., 1998].

Bei der Auswertung der Kapillardichte (BVD) im Prostatakarzinomgewebe dieser Stanzbiopsien fällt eine ähnlich große Streuung der Einzelwerte wie bei RUBIN und Bettencourt auf [RUBIN et al., 1999], [BETTENCOURT et al., 1998]. Der Minimalwert liegt bei $12/\text{mm}^2$ versus dem Maximum von $195/\text{mm}^2$. Das spiegelt sich auch in der Standard Abweichung von 28,3 wieder. Der Mittelwert liegt bei $60,0/\text{mm}^2$ und der Median bei $53,0/\text{mm}^2$. Der Mittelwert liegt somit etwas niedriger als bei BETTENCOURT et al., jedoch ähnlich hoch wie bei RUBIN et al.. Die Messung der Kapillardichte durch BETTENCOURT et al. zeigt eine ähnliche Range von 18 bis $315/\text{mm}^2$ mit einem etwas höheren Mittelwert von $116,7/\text{mm}^2$ [BETTENCOURT et al., 1998].

Bei VARTANIAN et al. ergibt sich eine Range von $40\text{-}129/\text{mm}^2$ mit einem Median von $72/\text{mm}^2$ [VARTANIAN et al., 1995]. Allerdings ist die Patientenzahl mit $n = 20$ relativ gering.

Im Vergleich dieser Studien konnten meistens ähnliche Kapillardichten detektiert werden. Um sich der Erklärung der teilweise gegensätzlichen Ergebnisse zu nähern, ist es sinnvoll, die benutzten Antikörper zu betrachten. In den Angiogenesestudien von WEIDNER et al., BOSTWICK et al. und BRAWER et al. wurden Antikörper gegen den Faktor VIII (v. Willebrand-Faktor) benutzt, bei BETTENCOURT und VARTANIAN hingegen wurde ein Antikörper gegen CD 34 verwendet [WEIDNER et al., 1993, BOSTWICK et al., 1996, BRAWER et al., 1994, BETTENCOURT et al., 1998, VARTANIAN et al., 1995]. Im Gegensatz dazu wurde in dieser Arbeit, wie auch bei RUBIN et al. ein Antikörper gegen CD 31 verwendet [RUBIN et al., 1999]. Der CD 34 ist Antikörper gegen Endothelzellen und ein Ligand für L-Selectin sowie für hämatopoietische Zellen. Der Faktor VIII ist ebenfalls ein Endothelmarker. Sowohl für den Faktor VIII, als auch für CD 31 und

CD 34 sind gegensätzliche Ergebnisse in der Literatur veröffentlicht [KOHLEBERGER et al., 1996, GETTMANN et al., 1998, RUBIN et al., 1999]. Ein weiterer Aspekt, der Berücksichtigung finden sollte, ist die Auswahl der hot spots. Die Anwendung von hot spots zur Bestimmung der Kapillardichte ist ein in der Literatur häufig verwendetes Vorgehen. Die Grundlage hierfür ist die Annahme, daß die gewählten Areale eine repräsentative Kapillardichte des Tumors darstellen und sich nicht signifikant voneinander unterscheiden. In einer Studie, in der die Heterogenität der Tumorkapillardichten untersucht wurde, konnte DEJONG am Beispiel des Mammakarzinoms zeigen, daß sich die Kapillardichten in verschiedenen Arealen signifikant unterscheiden können [DEJONG et al., 1995]. Dieser Aspekt könnte die Ergebnisse der Arbeiten beeinflusst haben. Es stellt sich außerdem die Frage nach der Entstehung von hot spots; sind es technische oder möglicherweise biologische Ursachen? Diese Frage ist bisher noch nicht abschließend beurteilt worden.

5.1.1. Kapillardichte und prognostische Parameter

Im untersuchten Patientenkollektiv konnte keine Abhängigkeitsbeziehung zwischen der Angiogenese und dem Karzinomvolumen nachgewiesen werden. Die bivariate Korrelation nach Pearson von Kapillardichte und Karzinomvolumen verlief nicht signifikant ($p=0,237$). Dieses Ergebniss verhält sich adäquat zu BRAWERS Untersuchung ($p=0,655$).

In einer Studie an 65 Patienten zeigten FURUSATO et.al., daß die Kapillardichte in Karzinomen mit einem Volumen $>83 \text{ mm}^3$ signifikant ansteigt, im Gegensatz zu solchen Karzinomen mit einem Volumen $<83 \text{ mm}^3$ [FURUSATO et.al., 1994]. Dieser Cut off läßt sich weder in dieser Studie noch bei RUBIN et al. nachweisen [RUBIN et al., 1999].

Die Einteilung der histologisch aufgearbeiteten Prostatektomiepräparate in pT-Kategorien ermöglichen dem Kliniker erste prognostische Aussagen über den kurativen Erfolg der Therapie. Die Unterscheidung der pT-Kategorien mit dem Kriterium der Kapillardichte zeigt keine Korrelation und hat keine zusätzliche prognostische Aussagekraft. Die Mediane der BVD in den pT-Kategorien unterscheiden sich nicht signifikant voneinander (vergl. Abb. 6).

Die primäre lymphogene Metastasierung in die Lymphknoten der Fossae Obturatoriae kann ein erster Nachweis einer vollzogenen Streuung des Primärtumors sein. Die Betrachtung des Lymphknotenbefalls N0 versus N1 zeigt für die Kapillardichte einen Unterschied an der Signifikantsgrenze von $p=0,05$ (BVD in N0 58,1 versus 82,1 bei N1). Dieser signifikante Unterschied könnte für eine BVD abhängige Tumorprogredienz sprechen. WEIDNER et al. konnten zeigen, daß die Kapillardichte mit stattgefundenener Metastasierung zunimmt und im Gegensatz zu den nicht metastasierten Prostatakarzinomen signifikant höhere Dichten aufweist [WEIDNER et al., 1995].

Bei der Karzinomdifferenzierung nach dem WHO-Grading zeigt sich für die Gruppen G1 bis G3 kein signifikanter Unterschied in der Kapillardichte. Wobei lediglich bei einem Patienten ein G1-Karzinom und bei 26 Patienten G3-Karzinome aber bei 77 Patienten G2-Karzinome analysiert werden konnten. Die unterschiedlichen Gruppengrößen schränken die Aussagekraft der Analyse etwas ein.

BOSTWICK et al. konnten an Biopsiepräparaten der Prostata zeigen, daß die Kapillardichte ein unabhängiger prognostischer Marker ist, der mit dem Gleason score und dem präoperativen PSA-Wert korreliert [BOSTWICK et al., 1996].

Im Gegensatz dazu findet sich in dieser Arbeit weder eine signifikante Korrelation der Kapillardichte mit dem Gleasonscore noch ein signifikanter Unterschied der Mediane in den Untergruppen des Gleasonscore (vergl. Abb.9).

Bei der Korrelation der BVD im Prostatakarzinomgewebe der Stanzbiopsien mit dem präoperativen PSA-Wert zeigt sich ein signifikanter P-Wert von 0,009 bei einem Korrelationskoeffizienten von 0,255.

In der Arbeit von POKUPIĆ et al. an 64 Patienten mit lokalisiertem Prostatakarzinom fand sich ein signifikanter Unterschied in der Kapillardichte bei Patienten, die 12 Monate post operativ einen PSA-Progreß entwickelten, im Vergleich zu denen, die progreßfrei blieben (durchschnittliche Kapillardichte $96/\text{mm}^2$ (SD 50,6) versus $57,7$ (SD 23,4) $p=0,043$ im Mann-Whitney-U-Wilcoxon-Rank-Test) [POKUPIĆ et al., 1997].

Die Kapillardichte im BPH-Gewebe der Prostata unterscheidet sich signifikant von der BVD im Karzinomgewebe ($p < 0,05$). Eine Arbeit von BIGLER et al. an 15 radikal Prostatektomierten Patienten zeigt vergleichbare Ergebnisse bei Betrachtung des neoplastischen und benignen Prostatagewebes [BIGLER et al., 1993].

VARTANIAN et al. konnten an einer Studie mit 20 Prostatakarzinompatienten eine vergleichbare Kapillardichte im BPH-Gewebe zwischen 21 und 66/mm², mit einem Median von 38/mm² zeigen [VARTANIAN et al., 1995].

5.1.2. Progreßfreies Überleben

Bei der Messung des PSA-Wertes 12 Monate post operativ zeigten die Patienten mit einem PSA-Progress (oberhalb der Nachweisgrenze von 0,1 ng/ml (Abbott-Essay)) eine deutlich höhere BVD 77,4/mm² (Std.abw. 42,5) als Patienten ohne PSA-Progreß (58,0/mm² Std.abw. 24,9). Dieser Unterschied ist im Mann-Whitney-U-Wilcoxon-Rank-Test mit $p = 0,034$ ($n = 104$) als signifikant anzusehen. Der nach 42 Monaten Follow-up durchgeführte Test zeigt bei einer stark reduzierten Fallzahl von $n = 43$ mit einer mittleren BVD von 52,2/mm² versus 58,2/mm² ($n = 23$; $n = 20$) keinen signifikanten Unterschied.

So ist die Beobachtung, daß sich die radikal prostatektomierten Patienten mit PSA Progreß von denen ohne PSA Progreß signifikant unterscheiden (BVD 77,4 versus 58,0; $p = 0,034$), vorsichtig zu bewerten. Es scheint die häufig gemachte Aussage, daß die Kapillardichte mit dem Tumorprogreß korreliert [BRAWER et al., 1994], [BETTENCOURT et al., 1998], [BOSTWICK et al., 1996] zu stützen. Daß der gleiche Test nach 42 Monaten keinen signifikanten Unterschied zeigt, könnte an den niedrigen Fallzahlen pro Gruppe ($n = 23$, $n = 20$) liegen.

Die Kaplan-Meier Statistik (vergl. Abb.12) zeigt für die in Quartile unterteilte BVD keine signifikant unterschiedlichen Überlebenswahrscheinlichkeiten. Allerdings fanden BETTENCOURT et al. in der Kaplan-Meier Analyse für zwei unterschiedliche Gruppen mit einem Cut off von 90 Kapillaren signifikant unterschiedliche Überlebenswahrscheinlichkeiten nach 48 Monaten von 71,2 %

(BVD>90) versus 51,4 % (BVD<90) [BETTENCOURT et al.,1998]. Ein Cut off für zwei Gruppen bietet sich in dieser Arbeit nicht an.

Um die Frage zu klären, ob es sich bei der Kapillardichte um einen unabhängigen präoperativen Marker handelt, wurden die Daten mit der Cox- Regressionsanalyse untersucht. Die Analyse zeigte für die BVD, den PSA-Wert und den Gleasonscore keinen unabhängigen Informationsgehalt. Für die Parameter: Anzahl karzinompositiver Stanzbiopsien und Karzinomanteil Gleason 4/5 in der Stanzbiopsie zeigten sich signifikante p-Werte für einen unabhängigen Informationsgehalt ($p=0,0024$; $p=0,0003$).

In dieser Arbeit ist die Kapillardichte des Prostatakarzinoms in der Analyse der Cox-Regression kein unabhängiger prognostischer Parameter.

EPSTEIN et al. zeigten in einer Multivarianzanalyse, daß die Parameter Gleasonscore und positive Absetzungsränder unabhängige prognostische Parameter darstellen [EPSTEIN et al., 1996].

BETTENCOURT et al. fanden in der Cox-Regression, daß die BVD nur solange ein unabhängiger prognostischer Marker war, wie das präoperative PSA nicht in der Auswertung als Variable gewertet wurde [BETTENCOURT et al., 1998] . Das bedeutet, daß in der Arbeit von BETTENCOURT et al. korrekterweise nicht von einem unabhängigen Parameter gesprochen werden darf, da eine Abhängigkeit vom präoperativen PSA-Wert besteht. In einer Literaturübersicht konnte RUBIN et al. zeigen, daß der prognostische Wert der Kapillardichtemessung größtenteils nur in eng begrenzten Fällen Gültigkeit hatte [RUBIN et al., 1999].

Es zeigen sich somit zum Teil gegensätzliche Ergebnisse, deren Verifizierung letztlich weiterer Untersuchungen an größeren Patientenkollektiven bedarf.

6. Zusammenfassung

FRAGESTELLUNG: Die Ausdehnung der Tumervaskularisation korreliert bei soliden Tumoren mit der Tumorprognose. Diese Arbeit untersucht, ob die Mikrogefäßdichte in Prostatastanzbiopsien bei Patienten mit lokalisiertem Prostatakarzinom ein unabhängiger prognostischer Parameter sein könnte.

PATIENTEN UND METHODE: Bei 104 konsekutiv untersuchten Patienten mit klinisch lokalisiertem Prostatakarzinom (T1-T2) werden vor radikaler Prostatektomie systematische Sextantenbiopsien entnommen und die Kapillaren des Biopsats immunhistochemisch mit einem monoklonalen Antikörper markiert. Dieser war gegen Endothelzellen (Anti-CD31, Biogenex[®]) gerichtet. Bei allen Patienten erfolgte die radikale retropubische Prostatektomie mit anschließender histologischer Aufarbeitung des Präparates in 3 mm Großflächenschnitten. Die Mikrogefäßdichte (BVD) wurde in den Biopsaten in Karzinomarealen und in Arealen mit benigner Prostatahyperplasie (BPH) in je drei verschiedenen Bereichen (hot spots) ausgezählt. Das mittlere Patienten follow-up lag bei 36 Monaten (von 6 bis 42 Monaten).

ERGEBNISSE: Die Mikrogefäßdichte in den präoperativen Prostatastanzbiopsien betrug in den Tumorarealen im Mittel 60,0 pro mm² (St.Abw.: 28,30), in Arealen mit BPH 23,94 pro mm² (St.abw.: 16,7). Der Unterschied zwischen Karzinom- und BPH-Gewebe war signifikant ($p < 0,001$).

Patienten, die 12 Monate nach der rad. Prostatektomie einen PSA-Progress entwickelten, wiesen eine deutlich höhere Kapillardichte auf (77,4 pro mm², St.Abw.: 42,5) versus Patienten, die in diesem Zeitraum PSA-negativ blieben (58,0 pro mm², St.Abw.: 24,9), ($p = 0,034$ Mann-Whitney U Test).

In der Cox-Regressionsanalyse zeigte sich jedoch, daß die BVD *kein* unabhängiger präoperativer prognostischer Marker ist.

Es zeigte sich auch keine Korrelation hinsichtlich der Tumordifferenzierung, der pT-Kategorie, dem Gleasonscore oder dem Tumolvolumen.

SCHLUßFOLGERUNG: Die Mikrogefäßdichte in den präoperativen Prostatastanzbiopsien scheint ein abhängiger prognostischer Parameter mit eingeschränkter Aussagekraft für einen PSA-Progress nach radikaler Prostatektomie zu sein.

7. Literaturverzeichnis

BETTENCOURT MC, BAUER JJ, SESTERHENN IA, CONNELLY RR, MOUL JW: CD34 Immunohistological Assessment of Angiogenesis as a prognostic marker for prostate cancer recurrence after radical prostatectomie. J Urol 1998; 160, 459-465.

BOSTWICK DG, WHEELER TM, BLUTE M, BARRETT DM, MAC LENNAN GT, SEBO TJ, SCARDINO PT, HUMPHREY PA, HUDSON MA, FRADET Y, MILLER GJ, CRAWFORD ED, BLUMENSTEIN BA, MAHRAN HE, MILES BJ: Optimized microvessel density analysis improves prediction of cancer stage from prostate needle biopsies. Urol 1996; 48:47.

BOUCK NP: Tumor angiogenesis:the role of oncogenes and tumor suppressor gene. Cancer Cells 1990;2:179-185.

BRAWER MK, DEERING RE, BROWN M, PRESTON SD, BIGLER SA: Predictors of pathologic stage in prostate carcinoma. The role of neovascularity. Cancer 1994;73:678-687.

BRODERS AC: The grading of carcinoma. Minn Med 1925; 8:726-730.

CARTER BS, BOVA GS, BEATY TH, STEINBERG GD, CHILDS B, ISSACS WB, WALSH PC: Epidemiology and clinical features. J Urol 1993;150:797-802.

CATALONA WJ, SMITH DS: 5-Year tumor recurrence rates after anatomical radical retropubic prostatectomy for prostate cancer. J Urol 1994;152:1837-1842.

CATALONA WJ, SMITH DS, ORNSTEIN DK: Prostate cancer detection in men with serum PSA concentrations of 2.6 to 4.0 ng/ml and benign prostate examination. Enhancement of specifity with free PSA measurements. JAMA 1997, 277:1452-1455.

COFFEY DS: Prostate cancer: An overview of an Increasing Dilemma. Cancer (Suppl.) 1993;71:(3):880-886.

COONEY KA, MCCARTHY JD, LANGE E, HUANG L, MIESFELD S, MONTIE JE, OESTERLING JE, SANDLER HM, LANGE K: Prostate cancer susceptibility locus on chromosome 1q: A confirmatory study. J Natl Cancer Inst 1997;89:955-959.

CORDELL JL, FALINI B, ERBER WN, GOSH AK, ABDULAZIZ Z, MACDONALD S, PULFORD KAF, STEIN H, MASON DY: Immunoenzymatic labelling of monoclonal antibodies using immune complexes of alkaline phosphatase and monoclonal antialkaline phosphatase (APAAP-complexes). J Histochem Cytochem 1984;32:219-229.

DEJONG JS, VAN DIEST PJ, BAAK JP: Heterogenity and reproducibility of microvessel counts in breast cancer. Lab Invest 1995;73:922-926.

DELAHUNT B, BETHWAITE PB, AND THORNOTN A: Prognostic significance of microscopic vascularity for clear cell renal cell carcinoma. Br J Urol 1997;80:401-404.

DUFOUR A: Geschichte der Urologie. In: Toellner R, Illustrierte Geschichte der Medizin, (3), Andreas&Andreas, Salzburg 1986, 1432-1435.

EPSTEIN IJ, PARTIN AW, SAUVAGEOT J, WALSH PC: Prediction of progression following radical prostatectomy. A multivariate analysis of 721 men with long-term follow-up. Am J Surg Pathol 1996;20:286-295.

FOLKMAN J, SHING Y: Angiogenesis. J Biol Chem 1992; 267:109, 31-40.

FOSS AJ, ALEXANDER RA, JEFFRIES LW: Microvessel count predicts survival in uveal melanoma. Cancer Res 1996;56:2900-2903.

FURUSATO M, WAKUI S, SASAKI H, ITO K, USHIGOME S: Tumor angiogenesis in latent prostatic carcinoma. Br J Cancer 1994; 70,1244-1246.

GLEASON DF, THE VETERANS ADMINISTRATION COOPERATIVE UROLOGICAL RESEARCH GROUP: Histologic grading and staging of prostatic carcinoma. In: Tannenbaum M, ed. Urologic pathologie: The prostate. Lea & Febinger, Philadelphia 1977, 171-197.

GRAEFEN M, HAMMERER P, MICHL U, NOLDUS J, HAESE A, HENKE RP, HULAND E, HULAND H: Incidence of positive surgical margins after biopsy-selected nerve-sparing radical prostatectomy. Urol 1998;51:437-442.

GRAEFEN M, NOLDUS J, PICHELMEIER U, HAESE A, HAMMERER P, FERNANDEZ S, CONRAD S, HENKE RP, HULAND E, HULAND H: Early prostata-specific antigen relapse after radical retropubic prostatectomy: Prediction on the basis of preoperative and postoperative tumor characteristics. Eur Urol 1999;36(1): 21-30.

HALL MC, TRONCOSO P, POLLACK A, ZHAU HYE, ZAGARS GK, CHUNG LWK, ESCHENBACH AC: Significance of tumor angiogenesis in clinically localized prostate carcinoma treated with external beam radiotherapy. Urol 1994; 44;6 869-875.

HAMMERER P, HULAND H: Systematic sextant biopsies in 651 Patients referred for prostate evaluation. J Urol 1994;151(1):99-102.

HANAHAN D, FOLKMAN J: Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. Cell 1996; 86:353.

HENDERSON RJ, EASTHAM JA, CULKIN DJ, KATTAN MW, WHATLEY T, MATA J, VENABLE D, SARTOR O: Prostate specific antigen (PSA) and PSA density: racial differences in men without prostate cancer. J Natl Cancer Inst 1997;89:134-138.

HOEKSEMA MJ, LAW C: Cancer mortality rates fall: A turning point for the nation. JNCI 1996;88:1706-1707.

HULAND H: Morphologische Grundlagen zur radikalen Prostatektomie. Urologe [A] 1991; 30: 361-367.

HULAND H, HAMMERER P, HENKE RP, HULAND E: preoperative prediction of tumor heterogeneity and recurrence after radical prostatectomy for localized prostatic carcinoma with digital rectal examination, prostatic specific antigen and the results of 6 systematic biopsies. J Urol 1996; 155:1344-1347.

HUMPHREY PA, VOLLMER RT: Intraglandular tumor extent and prognosis in prostatic carcinoma: Application of a grid method to prostatectomy specimen. Hum Pathol 1990;21:799-805.

HUMPHREY PA, KEETCH DW, SMITH DS, SHEPHERD DL, CATALONA WJ: Prospective characterization of pathological features of prostatic carcinomas detected via serum prostata specific antigen based screening. J Urol 1996;155:816-820.

JEWETT HJ: The present status of radical prostatectomy for stages A and B prostatic cancer. Urol Clin North Am 1975;2:105

JURINČIĆ-WINKLER CD, KLIPPEL KF: Das Prostatakarzinom-eine Übersicht. Uroscop 7 1991; 1:5-12.

KIRSCHNER CV, ALANIS-AMEZCUA JM, MARTIN VG: Angiogenesis factor in endometrial carcinoma: a new prognostic indicator? Am J Obstet Gynecol 1996;174:1879-1884.

LILJA H, CHRISTENSSON A, DAHLEN U, MATIKAINEN MT, NILSSON O, OETTERSSON K: Prostate specific antigen occurs at high concentration in human

seminal plasma and complexes with prostate specific antigen. Thromb Res 1991; 64:309.

MC NEAL JE, VILLERS AA, REDWINE EA, FREIHA FS, STAMEY TA: Histologic differetiation, cancer volume and pelvic lymph node metastasis in adenocarcinoma of the prostate. Cancer 1990;66:1225-1233.

MCNEAL JE. Cancer Volume and Site of Origin of Adenocarcinoma in the Prostate: Relationship to Local and Distant Spread. Hum Pathol 1992;23,258-266.

MEIKLE AW, SMITH, J A: Epidemiology of Prostate cancer. Urol Clin N Am 1990;17, 709-718.

MERRIL RM, POTOSKY AL, FEUER EJ: Changing trends in US prostate cancer incidence rates. JNCI 1996;88:1683-1685.

MOSTOFI FK: Grading of prostatic carcinoma.Cancer Chemother Res 1975; 59:111.

MOSTOFI FK, SESTERHENN JA, SOBIN LH: Histological typing of prostate tumors. International histological classification of tumors No 22. World Health Organisation, Geneva,1980.

MOSTOFI FK, SESTERHENN JA, DAVIS CJ JR.: Prostatic carcinoma: Problems in the interpretation of prostatic biopsies. Hum Path 1992; 23:223-241.

MUIR CS, NECTOUX J, STASZEWSKI J: The Epidemiologie of prostatic cancer. Acta Oncologica 1991; 30: 133-140.

NOLDUS J, GRAEFEN M, HAMMERER P, HENKE RP, HULAND H: Entwicklung der Tumorselektion anhand des pathologischen Stadiums beim klinisch lokalisierten Prostatakarzinom. Urologe[A] 1998;37: 195-198.

O'BRIEN TS, HARRIS AL: Angiogenesis in urological malignancy. Br J Urol 1995; 76: 675-682.

PARTIN AW, KATTAN MW, SUBONG EN: Combination of prostate-specific antigen, clinical stage, and gleason score to predict pathological stage of localized prostate cancer. A multi-institutional update. JAMA 1997;277:1445-1451.

POKUPIĆ M, HENKE RP, HAMMERER P, GRAEFEN M, HULAND H: Microvessel density as a prognostic Marker in Patients with Prostate Cancer. Urol Res. 1997;25:1:82.

RASTINEJAD F, POLVERINI PJ, BOUCK NP: Regulation of the activity of a new inhibitor of angiogenesis by a cancer suppressor gene. Cells 1989;56:345-355.

RÜBBEN H, DAHM HH, UELFT W, LUTZEYER W: TNM-Klassifikation. Urologe[A] 1979; 18:238-246.

RUBIN MA, BUYYOUNOUSKI M, BAGIELLA E, SHARIR S, NEUGUT A, BENSON M, TAILLE DE LA A, KATZ AE, OLSSON CA, ENNIS RD: Microvessel density in prostate cancer: lack of correlation with tumor grade, pathologic stage, and clinical outcome. Urol 1999;53:542-547.

SMITH JR, FREIJE D, CARPTEN JD, GRONDBERG H, XU J, ISSACS SD, BROWNSTEIN MJ, BOVA MJ, GUO H, BUJNOVSKI P, NUSSKERN DR, DAMBER JE, BERGH A, EMANUELSSON M, KALLIONIEMI OP, WALKER-DANIELS J, BAILEY-WILSON JE, BEATY TH, MEYERS DA, WALSH PC, COLLINS FS, TRENT JM, ISSACS WB: Major susceptibility locus for prostate cancer on chromosome 1 suggested by a genome-wide search. Science 1996;274:1371-1374.

STAPELTON AMF, KATTAN MW, EASTHAM JA, WHEELER TM, SCARDINO PT: Which factors best predict treatment failure after radical prostatectomy for clinically localized prostate cancer? J Urol 1997;157:391, abstr.1533.

STEINBERG GS, CARTER BS, BEATY TH, CHILDS B, WALSH PC: Family history and the risk of prostate cancer. *Prostate* 1990;17: 337.

TOMISAKI S, OHNO S, ICHIYOSHI Y: Microvessel quantification and its possible relation with liver metastasis in colorectal cancer. *Cancer* 1996;77:1722-1728.

VARTANIAN RK, WEIDNER N: Endothelial Cell Proliferation in Prostatic Carcinoma and Prostatic Hyperplasia: Correlation with Gleason's Score, Microvessel Density, and Epithelial Cell Proliferation. *Lab Invest* 1995; 73;6, 844.

WEIDNER N: Commentary. Intratumoral microvessel density as a prognostic factor in cancer. *Am J Path* 1995;147:9-19.

WHITMORE WF JR.: Hormone therapy in prostatic cancer. *Am J Med* 1956; 21:697.

ZARIDZE DG, BOYLE P: Cancer of the Prostate: Epidemiology and Aetiology. *Brit J Urol* 1987; 59,493-502.

ZLOTTA AR, SCHULMANN CC: Etiology and Diagnosis of prostate cancer: What's new? *Eur Urol* 1998; 33:351-358.

Lebenslauf:

Name: Maik Pokupić

Geburtstag: 15.09.1970

Geburtsort: Berlin-Nikolassee

Eltern: Dr. med. M.Pokupić, Arzt f. Urologie
A. Pokupić, Lehrerin für Krankenpflege

Familienstand: verheiratet, Sohn Philip Milan

Staatsangehörigkeit: deutsch

Schulbildung:

09.1977-07.1982 Malteser Grundschule Berlin

08.1982-03.1984 Gustav-Heinemann Gesamtschule Berlin

04.1984-01.1989 Gesamtschule Fürstenau

02.1989-07.1990 Gymnasium Marienhöhe Darmstadt

Zivildienst:

08.1990-03.1992 Rettungsdienst DRK Lingen

Berufsausbildung:

04.1992-12.1999 Medizinstudium an den medizinischen Fachbereichen
der Universität Hamburg

08.1994 Ärztliche Vorprüfung

04.1996 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

09.1998 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

12.1999 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

seit Januar 2000 Arzt im Praktikum bei Prof. Dr. med. A. Eggert
in der Chirurgischen Klinik des Krankenhauses
Reinbek, St. Adolf-Stift.

Danksagung:

Für die Überlassung des Themas und die freundliche Unterstützung während der Bearbeitung und Veröffentlichung danke ich ganz besonders Herrn PD Dr. med. P.G. Hammerer.

Herrn Prof. Dr. med. H. Huland danke ich für die Möglichkeit, in seiner Abteilung zu dissertieren.

Herrn Prof. Dr. med. R.P. Henke danke ich für die Unterstützung in den Aspekten der pathologischen Fragestellungen.

Erklärung:

Ich versichere ausdrücklich, daß ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfaßt, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe, Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe, und daß ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

M.Pokupić