

Aus der Martini Klinik
Universitätsklinikum Hamburg – Eppendorf
(Direktor: Prof. Dr. Hartwig Huland)

**Prognostische Relevanz der Mikrogefäßdichte beim Prostatakarzinom -
Untersuchungen an einem großen Kollektiv von Prostatektomiepräparaten**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin an der Medizinischen Fakultät
der Universität Hamburg

vorgelegt von

Kira Bird

aus Hamburg

Hamburg 2017

Angenommen von der Medizinischen Fakultät am: 01.12.2017

Veröffentlicht mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. Alexander Haese

Prüfungsausschuss, 2. Gutachter/in: Prof. Dr. Walter Fiedler

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	5
1.1 Einführung	5
1.2 Epidemiologie	5
1.3 Ätiologie	6
1.3.1 Genetische Faktoren	6
1.3.2 Endogene Faktoren	6
1.3.3 Exogene Faktoren	7
1.4 Pathogenese	7
1.4.1 Pathologisches Staging	7
1.4.2 Grading	9
1.4.3 Histologische Typen des Prostatakarzinoms	11
1.5 Klinik	11
1.6 Diagnostische Verfahren	12
1.6.1 Digital rektale Untersuchung (DRU)	12
1.6.2 Tumormarker - PSA	12
1.6.3 TRUS - transrektaler Ultraschall	12
1.6.4 Stanzbiopsie	13
1.6.5 Röntgenuntersuchung / CT / MRT / Knochenszintigraphie	13
1.7 Therapie	14
1.7.1 Prostatektomie	14
1.7.2 Strahlentherapie	15
1.7.3 Lymphadenektomie	16
1.7.4 Hormontherapie	16
1.7.5 Chemotherapie	17
1.8 Prognosefaktoren	17
1.8.1 Prätherapeutische Prognosefaktoren	17
1.8.2 Postoperative Prognosefaktoren	18
1.9 Angiogenese	18

2. Fragestellung	21
3. Materialien und Methoden	22
3.1 Patienten	22
3.2 Tissue microarray Konstruktion	22
3.3 Immunhistochemie	22
3.4 Evaluation	23
3.5 Statistik	23
4. Ergebnisse	25
4.1 Mikrogefäßdichte und Alter	28
4.2 Mikrogefäßdichte und PSA- Wert	30
4.3 Mikrogefäßdichte und Karzinomvolumen	33
4.4 Mikrogefäßdichte und Gleason Score	35
4.5 Mikrogefäßdichte und pathologisches Stadium	37
4.6 Mikrogefäßdichte und Resektionsrandstatus	38
4.7 Mikrogefäßdichte und Rezidiv	39
4.8 Cox-Regressionsanalyse	39
5. Diskussion	41
6. Zusammenfassung	47
7. Literaturverzeichnis	49
8. Danksagung	60
9. Lebenslauf	61
10. Eidesstattliche Versicherung	62

1. Einleitung

1.1 Einführung

Das Prostatakarzinom ist eine Krebsform mit hohen Mortalitätsraten und es zeigt mit zunehmendem Alter einen dramatischen exponentiellen Anstieg in der Häufigkeit. Durch v.a. die verbesserten Früherkennungsprogramme (Bostwick, 1997) ist mit einer weiteren Zunahme von Inzidenz und Mortalität des Prostatakarzinoms zu rechnen.

Das Prostatakarzinom wird vom morphologischen Erscheinungsbild unabhängig in vier Erscheinungsformen eingeteilt:

1. Das manifeste Prostatakarzinom: histologisch gesichertes Karzinom mit klinischem Befund
2. Das inzidente Prostatakarzinom: histologischer Zufallsbefund in transurethral reseziertem Gewebe (in etwa 16% von transurethral reseziertem Gewebe bei klinischer Diagnose einer benignen Prostatahyperplasie) (Eble und Epstein, 1990)
3. Das okkulte Prostatakarzinom: Karzinom mit Erstmanifestation durch eine Metastase
4. Das latente Prostatakarzinom: erstmals autoptisch diagnostiziert, zu Lebzeiten stumm geblieben (bei 80jährigen in 60 - 80 % der Verstorbenen bei systematischer Untersuchung der Prostata zu finden) (Bartha et al., 1996)

1.2 Epidemiologie

Prostatakrebs ist die häufigste Krebserkrankung und die dritthäufigste Todesursache bei Männern in Deutschland. Die Zahl der Neuerkrankungen wird für das Jahr 2016 auf 66.900 geschätzt (Robert-Koch-Institut, Prognose für 2016).

Unter den bei Männern zum Tode führenden Krebserkrankungen lag das Prostatakarzinom 2008 mit 10,4% (etwa 11.900 Fälle) bereits an dritter Stelle, nach dem Bronchialkarzinom (25,4%, ca. 29.000 Fälle) und Kolonkarzinom (12,5%, ca. 14.200 Fälle). Die Mortalität betrug etwa 20 je 100.000 Männer (Sökeland, Weiß, 2011).

1994 war das Prostatakarzinom noch die zweithäufigste Krebstodesursache bei Männern in Deutschland. Es lag mit einer Mortalität von 29,5 auf 100.000 Männer hinter dem Bronchialkarzinom (70,6/100.000) und vor dem Kolonkarzinom (22,6/100.000) (Hinkelbein, 1999).

Im Jahr 2002 wurden in Deutschland mit 82 Millionen Einwohnern 38000 Fälle mit Prostatakarzinom neu registriert. In den USA lag die Erkrankungsrate bei etwa 189000 Fällen auf circa 273 Millionen Einwohner, 2002 sind dort 30200 Patienten an einem Prostatakarzinom gestorben (Bastian, 2004).

Im asiatischen Raum ist die Mortalitätsrate wesentlich geringer (1-5/100.000) als bei der schwarzen Bevölkerung der USA und Nordwesteuropäern (10-35/100.000).

Das mittlere Erkrankungsalter (Median) des Prostatakarzinoms liegt in Deutschland bei 71-72 Jahre, die meisten Patienten versterben nach dem 60. Lebensjahr (95%) (Hinkelbein, 1999).

1.3 Ätiologie

Zur Ätiologie des Prostatakarzinoms lassen sich viele verschiedene Faktoren diskutieren. Die Epidemiologie spricht für einen wesentlichen Einfluss von exogenen Promotorfaktoren, aber auch genetische und endogene Faktoren spielen eine wichtige Rolle in der Entstehung des Prostatakarzinoms.

1.3.1 Genetische Faktoren

Die familiäre Häufung ist in 9-26% der Fälle für die Entstehung eines Prostatakarzinoms mitverantwortlich. Bei 26% aller in einem 10-Jahres-Zeitraum radikal Prostataktomierten wurden Hinweise auf einen genetischen Faktor gefunden (Bastacky et al., 1995). Das Risiko zu erkranken erhöht sich um den Faktor 5-11, wenn 2-3 Verwandte ersten Grades am Prostatakarzinom erkrankt sind.

1.3.2 Endogene Faktoren

Da 92% der Karzinome erst nach dem 60. Lebensjahr manifest werden (Dhom, 1991; Pienta und Esper, 1993), wird deutlich, dass das Alter einen wichtigen Risikofaktor darstellt. Auch wenn bisher keine Klarheit über den pathogenetischen Weg für die Risikoentstehung besteht, wird die Vasektomie als ein weiterer, aber geringerer Risikofaktor angesehen.

Ein kausaler Zusammenhang zwischen benigner Prostatahyperplasie und Adenokarzinom ist nicht anzunehmen (Bostwick et al., 1992), da ca. 80-85% dieser beiden Krankheitsbilder in anatomisch verschiedenen Zonen entstehen. Nur jene Prostatakarzinome, die wie die benigne Prostatahyperplasie in der Transitionszone entstehen, könnten eine Beziehung zur benignen Prostatahyperplasie haben (Bostwick et al., 1992; Voges, 1992).

1.3.3 Exogene Faktoren

Umwelt- und Ernährungsfaktoren scheinen eine wichtige Rolle bei der Entstehung des Prostatakarzinoms zu spielen (Bartha et al., 1996). Dies wird deutlich, wenn man die Häufigkeit der erkrankten Asiaten betrachtet, die bei den in die USA ausgewanderten Asiaten massiv ansteigt und sich der in den USA beobachteten Häufigkeit angleicht. Hier scheint die vermehrte Aufnahme von Getreide, Gemüse, Soja und anderen Nahrungsmitteln der Ausbildung eines Karzinoms vorzubeugen. Dies ist eventuell damit zu erklären, dass faserreiche Kost den Spiegel an freiem Testosteron über eine Erhöhung des Serumspiegels an steroidhormonbindendem Globulin senkt während fettreiche Ernährung zu einer Erhöhung des freien Testosterons führt, welches nach Aufnahme in die Prostatazelle zu Dehydrotestosteron umgewandelt wird und Proliferationsvorgänge stimuliert.

Bei jungen schwarzen Amerikanern bestehen um die 15% höhere Testosteronspiegel im Vergleich zur weißen Kontrollgruppe (Ross et al., 1986), dies könnte die signifikant höhere Inzidenz des Prostatakarzinoms bei schwarzen Amerikanern erklären. Das Prostatakarzinom kommt bei Eunuchen und Kastraten kaum vor, diese weisen einen niedrigen Testosteronspiegel auf.

Rauchen, sozioökonomische Faktoren, venerische Infektionen wie Gonorrhö, Herpes simplex Typ II oder CMV, Familienstand und sexuelle Aktivität scheinen keinen nachweisbaren Einfluss zu haben für das Risiko, ein Prostatakarzinom zu entwickeln (Pienta und Esper, 1993).

1.4 Pathogenese

1.4.1 Pathologisches Staging

Ein zuverlässiges Staging ist ausschließlich am radikalen Prostatavesikulektomiepräparat möglich. Es sind zwei Schemata des Staging für das Prostatakarzinom geeignet: das Whitmore- Jewett- Schema sowie die TNM-Klassifikation. Das Schema nach Whitmore- Jewett wird im angloamerikanischen Raum bevorzugt, ist aber in Deutschland nicht üblich.

Bei der TNM- Klassifikation ist zusätzlich eine Angabe zur Lymphgefäß- bzw. Veneninvasion möglich.

Schema nach Whitmore- Jewett:

A	Tumor nicht tastbar
A1	Fokales Karzinom
A2	Multifokales oder diffuses Karzinom
B	Tastbarer, auf die Prostata begrenzter Tumor
B1	Befall \leq 25% eines Lappens oder Knotens $< 1,5\text{cm}$
B2	Knoten $> 1,5\text{cm}$

C	Tumor jenseits der Prostatakapsel
C1	Minimale extrakapsuläre Tumorausdehnung
C2	Übergreifen des Tumors auf benachbarte Strukturen, z.B. Samenblase
D	Metastasen
D1	Pelvine Lymphknotenmetastasen
D2	Knochenmetastasen, Weichteilmetastasen oder extrapelvine Lymphknotenmetastasen

TNM – System

Bei der Beurteilung des Tumorstadiums nach dem TNM-System werden Größe und örtliche Ausdehnung des Prostata Tumors (T), Lymphknotenbefall (N, von engl. node: Knoten) und Metastasen (M) berücksichtigt.

Die Ziffern hinter den Buchstaben stehen für Größe und Ausdehnung des Primärtumors (T1-T4), das Vorliegen von befallenen Lymphknoten (N0-N1) sowie das Vorhandensein und die Verteilung von Fernmetastasen (M0-M1c).

An der Einordnung in das TNM-Schema orientiert sich die Behandlung. Auch die Prognose kann unter Hinzuziehung weiterer Parameter abgeschätzt werden.

TNM- System, 7.Auflage des UICC (Union for International Cancer Control) und AJCC (American Joint Committee on Cancer):

Stadium

Tx	Es kann keine Aussage zur Ausdehnung des Primärtumors getroffen werden.
T1	Der Tumor ist klein und nicht tastbar. Er wird zufällig im Rahmen einer Prostataoperation wegen BPH oder erhöhter PSA-Werte gefunden (Inzidentaltumor).
T1a	Der Tumor befällt weniger als 5% des Gewebes.
T1b	Der Tumor befällt mehr als 5% des Gewebes.
T1c	Der Tumor wurde durch eine Nadelbiopsie diagnostiziert.
T2	Der Tumor liegt noch innerhalb der Prostatakapsel.
T2a	Der Tumor befällt weniger als 50% eines Seitenlappens.
T2b	Der Tumor befällt mehr als 50% eines Seitenlappens.
T2c	Der Tumor befällt beide Seitenlappen.
T3	Der Tumor hat sich über die Prostatakapsel hinaus ausgebreitet.
T3a	Der Tumor hat sich über die Prostatakapsel ausgebreitet ohne die Samenblasen zu befallen.
T3b	Der Tumor hat sich über die Prostatakapsel ausgebreitet und befällt die Samenblasen.

T4	Der Tumor hat die Nachbarstrukturen befallen (infiltriert) oder ist fixiert (unverschieblich).
Nx	Es kann keine Aussage zu regionären Lymphknotenmetastasen getroffen werden.
N0	Keine Metastasen in den regionären Lymphknoten.
N1	Metastasen in den regionären Lymphknoten.
M0	Keine Fernmetastasen nachweisbar.
M1	Der Tumor hat Fernmetastasen gebildet.
M1a	Metastasen in anderen Lymphknoten (nicht regionäre Lymphknoten).
M1b	Metastasen in den Knochen.
M1c	Metastasen in anderen Organen und/oder Strukturen.
V	Veneninvasion
V0	Keine Veneninvasion.
V1	Veneninvasion mikroskopisch nachweisbar.
V2	Veneninvasion makroskopisch nachweisbar.
L	Lymphgefäßinvasion (Tumorzellen in Lymphbahnen der Tumorregion)
L0	Keine Lymphgefäßinvasion.
L1	Lymphgefäßinvasion nachweisbar.

1.4.2 Grading

Es existieren eine Vielzahl von Gradingssystemen für das Prostatakarzinom. Weltweit am weitesten verbreitet ist das Gleason- Grading (Gleason, 1966-1992), das vom National Cancer Institute in den USA empfohlen wird. In Deutschland wurde auch oft ein anderes Gradingssystem verwendet, das vom Pathologischen Urologischen Arbeitskreis Prostatakarzinom entwickelt wurde Böcking und Sommerkamp, 1981; Müller et al.,1980).

Gleason- Grading

Dieses System beruht ausschließlich auf der Beurteilung des Wachstumsmuster im Prostatakarzinom, die in fünf Gruppen eingeteilt werden. 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. Das Ergebnis des Scores wird als prognostisches Kriterium genutzt.

Score Differenzierungsgrad

2-4	hoch differenziert
5-6	mäßig differenziert
7	mäßig niederdifferenziert
8-10	niederdifferenziert

Dieses Grading ist leicht erlernbar, schnell und zeitsparend. Es ist ausserdem bei kleiner mikroskopischer Vergrößerung anwendbar und galt lange Zeit als gut reproduzierbar. Bain et al. und Gleason sahen die Inter- und Intraobserverreproduzierbarkeit noch bei etwa 80- 90% (Bain et al., 1982; Gleason, 1992).

Neuere Studien zeigten allerdings eine viel stärkere Schwankung der Inter- und Intraobserverreproduzierbarkeit. Es zeigte sich, dass die Klassifizierung von Tumoren durch zwei verschiedene Pathologen in beinahe 40% zu einer unterschiedlichen Beurteilung führt. Dieses gilt sowohl für periphere Pathologen als auch für Experten (Egevad et al., 2013).

Daher wurde ein neues quantitatives Gradierungssystem aufbauend auf das Gleason- Grading entwickelt. In der bisher bestehenden Einteilung des Gleason Befundes führten bereits kleinere Abweichungen zu einem veränderten Gleason-Score. In der erneuerten quantitativen Version wird nun mitgeteilt, dass es sich zum Beispiel nicht einfach um ein Gleason 3+4 handelt, sondern um ein Gleason 3+4 mit quantifiziertem 5% Gleason- 4- Anteil. Hierdurch ergibt sich eine viel genauere Einteilung. Dieses macht Pathologen untereinander vergleichbarer und erlaubt eine genauere prognostische Aussage als die herkömmliche fünfstufige Einteilung (Schlomm, Sauter, 2016). Hierfür muss es eine gute Zusammenarbeit zwischen gut ausgebildeten Pathologen und Urologen geben und der Pathologe übermittelt dem Urologen seine Rohdaten (prozentuale Anteile von Gleason 3, 4 und 5 des Tumors) anstelle von lediglich der Gleason- Kategorie. So kann die Interobserver- Variabilität deutlich verbessert werden.

Die International Society of Urological Pathology (ISUP) machte den Vorschlag die Gleason- Nomenklatur zu verändern, damit die Klassifizierung auch für die Patienten verständlicher wird (Epstein et al., 2016).

Dies soll folgendermaßen aussehen:

- Gleason 3+3=6 zu Prognostic Grade Group I
- Gleason 3+4=7 zu Prognostic Grade Group II
- Gleason 4+3=7 zu Prognostic Grade Group III
- Gleason 8 zu Prognostic Grade Group IV
- Gleason 9 – 10 zu Prognostic Grade Group V

Diese Einteilung macht auch Sinn hinsichtlich der Prognose des Prostatakarzinoms, da ein Gleason von 6 eine sehr gute Prognose hat und dies für die Patienten sehr

viel deutlicher wird, wenn sich ihr Tumorstadium in Gruppe I befindet statt in der Mitte der Gleason Einteilung.

1.4.3 Histologische Typen des Prostatakarzinoms

Das histologische Typing des Prostatakarzinoms beruht auf einer Einteilung in gewöhnliche Adenokarzinome sowie in seltene ungewöhnliche Karzinome (WHO-Klassifikation, Pathologisch-Urologischer Arbeitskreis Prostatakarzinom):

<u>Karzinomtyp</u>	<u>Relative Häufigkeit</u>
Gewöhnliche Adenokarzinome, davon	90-95%
- uniform: glandulär, kribriform oder solide	40-50%
- pluriform	50-60%
Karzinom der Prostatagänge	0,4-0,8%
Muzinöses Adenokarzinom	ca. 50 publizierte Fälle
Ungewöhnliche Karzinome, davon	5-10%
Transitionalzellkarzinom	1-4%
Neuroendokrines Karzinom	1-2%
Plattenepithelkarzinom	ca. 50 publizierte Fälle
Adenoider Basalzelltumor	selten
Sarkomatoides Karzinom	selten
Phylloider Tumor	Rarität

1.5 Klinik

Das Prostatakarzinom zeigt zunächst keine Symptome, da es in der äußersten Zone der Prostata entsteht. Anders hingegen die benigne Prostatahyperplasie, die von der zentralen Zone ausgeht welche die Harnröhre umgibt.

Zu unspezifischen Symptomen kommt es beim Prostatakarzinom erst bei weit fortgeschrittener lokaler Ausbreitung. Häufiger Harndrang, Miktionsbeschwerden bei subvesikaler Obstruktion oder Irritation des Beckenbodens sowie Harnleiterkompression mit Harnstau und postrenaler Niereninsuffizienz können die Folge sein.

Die Metastasierung erfolgt lymphogen in die obturatorischen, iliakalen und später in die lumbalen Lymphknoten, auf hämatogenem Weg streut es über die periprostativen Venen in die perivertebralen Venen wodurch osteoblastische Metastasen entstehen.

Symptome zeigen sich oft als ossäre Schmerzen an der Lendenwirbelsäule und am Becken. Erst im weit fortgeschrittenen Tumorstadium kommt es zu allgemeinen Tumorzeichen wie Kachexie und, durch die Veränderungen im blutbildenden Knochenmark aufgrund der Tumorinvasion, zur Anämie.

1.6 Diagnostische Verfahren

1.6.1 Digital rektale Untersuchung (DRU)

Die digital-rektale Palpation ist die Basisuntersuchung bei einem Verdacht auf ein Prostatakarzinom wobei ventral liegende Karzinome durch weitere Untersuchungen abgeklärt werden müssen. Typischer Tastbefund der im dorsalen und peripheren Teil der Prostata gelegenen Tumore ist eine diffuse oder auf einen Knoten beschränkte Konsistenzvermehrung der Prostata.

Ca. die Hälfte der tastbaren Indurationen erweisen sich bei der Biopsie als Karzinom (Lowe und Brendler, 1992).

1.6.2 Tumormarker - PSA

In einer Blutprobe des Patienten wird der PSA (Prostata - spezifisches Antigen)- Wert bestimmt. PSA ist ein Eiweiß, das fast ausschließlich in der Vorsteherdrüse gebildet wird. Im Prostatasekret enthalten dient es der Verflüssigung des Samens und tritt in geringen Mengen auch ins Blut über. Mit steigendem PSA- Wert im Blut nimmt das Risiko zu, dass eine Prostataerkrankung vorliegt. Es kann sich neben einem Prostatakarzinom auch um eine benigne Prostatahypertrophie sowie eine akute oder chronische Entzündung der Vorsteherdrüse handeln. In der Diagnostik und Tumornachsorge hat sich die Bestimmung dieses Tumormarkers als unverzichtbar erwiesen (Partin et al., 1990).

1.6.3 TRUS - transrektaler Ultraschall

Bei einer transrektalen Sonographie kann in vielen Fällen der Tumor und auch seine Ausdehnung dargestellt werden. Mit dem B-mode-TRUS (Brightness modulation) wird die Prostata vom umliegenden Gewebe wie Rektum, neurovaskuläre Bündel, Venenplexus und Fettgewebe abgetrennt und stellt somit das kapselüberschreitende Wachstum, die Infiltration des periprostatichen Fettgewebes, die Samenblaseninfiltration, die Invasion des Blasenhalbes und die Infiltration des Rektums dar. Dies sind wichtige Informationen für die Stadieneinteilung des Karzinoms. Desweiteren wird die Methode des TRUS eingesetzt, um bei der Prostatabiopsie die Entnahme von Prostatagewebe gezielter zu steuern.

Jedoch wird die Sensitivität des B-mode-TRUS zur Detektion einer Neoplasie zwischen 44 und 90% und die Spezifität mit 30-74% angegeben (Cornud et al., 1997; Halpern et al., 2000).

Die transrektal ultraschallgesteuerte Punktion wird zwar genau dort durchgeführt wo der Untersucher es auch anvisierte, jedoch bleibt unklar, ob dies die tatsächlich relevanten Areale sind, die den Tumor beinhalten. Hinsichtlich der Detektionsquote zeigen sich somit eher schwache Ergebnisse (Jünemann, 2012).

1.6.4 Stanzbiopsie

Unter Ultraschallkontrolle werden transrektal mehrere Biopsien aus der Prostata mit einer dünnen Nadel entnommen. Die Sextanten- Biopsie zeigte sich als nicht ausreichend, während es bei der 10fach Biopsie eine überlegene Detektionsrate und eine geringe Rate an Komplikationen gibt (Knobloch, 2012). Durch die pathologische Untersuchung der Stenzen kann die Malignität der Prostataveränderung festgestellt werden. Diese Methode ist eine wichtige Voraussetzung für eine individualisierte Therapieplanung des Prostatakarzinoms.

Falls es bei erhöhtem PSA- Wert und Karzinomverdacht zweimalig zu negativen Befunden in der 10fach Biopsie gekommen ist, wird eine Sättigungsbiopsie durchgeführt. Hierbei werden 20 bis 30 Stenzen unter Narkose entnommen.

Bei der MRT- gesteuerten Fusions- Biopsie wird das 3T-MRT mit der TRUS- geführten Biopsie kombiniert. Hierbei markiert der Radiologe auffällige Areale der Prostata in 3D- generierten Daten. Der Urologe zeichnet die 3D- TRUS- Daten auf. Anschließend werden die Daten von MRT und TRUS übereinander gelagert. Die MRT- Daten müssen durch Transformation und Deformation mit einer Software an die Konfiguration der Prostata im TRUS angepasst werden. Im Anschluss können die MRT- suspekten Areale TRUS- gesteuert biopsiert werden (Seitz et al., 2012).

Die Trefferquote konnte in einer Studie von Seitz et al. um den Faktor 2,6 erhöht werden und die Stanzzyylinder wurden um 83% gesenkt (Seitz et al., 2010).

1.6.5 Röntgenuntersuchung / CT / MRT / Knochenszintigraphie

Abhängig vom klinischen Stadium werden MRT, CT, Röntgen- Untersuchungen oder Knochenszintigraphie durchgeführt.

Patienten mit einem Gleason- Score von acht oder höher sollten vor der Entscheidung der therapeutischen Maßnahme eine MRT- oder CT- Untersuchung der Beckenorgane erhalten, um die Ausbreitung des Prostatakarzinoms zu ermitteln (Abuzallouf et al., 2004).

Bei Patienten, die ein histologisch gesichertes Prostatakarzinom und einen PSA- Wert höher als zehn aufweisen oder bei Patienten die unter Knochenschmerzen leiden, sollte eine Skelettszintigraphie durchgeführt werden (Ayyathurai et al., 2006; Ishizuka et al., 2005).

Eine weitere radiologische und eventuell auch neurologische Diagnostik sollte bei unklaren szintigraphischen Befunden oder bei Verdacht auf stabilitätsgefährdende Metastasen veranlasst werden.

Im Rahmen des Stagings ist keine PET/CT notwendig (Krause et al., 2011).

Desweiteren kann eine MRT zur exakten Definition des Zielvolumens durchgeführt werden, wenn ein Verdacht auf ein lokal fortgeschrittenes Prostatakarzinom vorliegt

und eine Strahlentherapie geplant wird (Engelbrecht et al., 2002; Wang et al., 2006; Park et al., 2007).

1.7 Therapie

1.7.1 Prostatektomie

Im Jahre 1867 wurde zum ersten Mal eine perineale Prostatektomie durchgeführt. Diese wurde nur partiell von Billroth vorgenommen, die erste totale perineale radikale Prostatektomie wurde 1889 von Czerny vollzogen. Retropubische Operationen gibt es seit 1947, erstmalig durch von Millin durchgeführt und lange Zeit am häufigsten angewandt (Wöhr et al., 1997).

Durch Walsh et al. wurde die nervschonende Prostatektomie entwickelt, bei der zumindest ein Nervenbündel (Nervi cavernosi) erhalten bleibt (Walsh et al., 1983).

Die radikale Prostatektomie hat sich in den letzten Jahrzehnten deutlich weiterentwickelt. Sie wird sowohl als offener als auch als minimal-invasiver Eingriff durchgeführt. Bei den offenen radikalen Prostatektomien unterscheidet man zwischen der radikalen retropubischen Prostatektomie (RRP) und der radikalen perinealen Prostatektomie (RPP). Bei den minimal-invasiven Verfahren stehen die laparoskopische transperitoneale radikale Prostatektomie (LRPE), die endoskopische extraperitoneale radikale Prostatektomie (EERPE) sowie die Roboter-assistierte radikale Prostatektomie (RARP) zur Verfügung. Die erste RARP wurde bereits im Jahre 2000 von Dr. Jochen Binder in Deutschland durchgeführt. In den USA werden bereits mehr als 75% der radikalen Prostatektomien per roboterassistierter laparoskopischer Operation durchgeführt (Mottrie et al., 2010) und auch in Deutschland nimmt diese Operationsform deutlich zu (Trinh et al., 2012).

Neben den allgemeinen Vorteilen der Laparoskopie wie kürzere Krankenhausverweildauer, geringerer Blutverlust und geringerer Transfusionsrate, gibt es auch Verbesserungen bei der Rate positiver Schnittränder (Ficarra et al., 2009), dem rezidivfreien Überleben sowie bei der Kontinenz- und Potenzrate. Auch gaben die Patienten deutlich geringere Schmerzen nach der RARP an (Menon et al., 2002).

Die Indikation für die radikale Prostatektomie ist das organbegrenzte Prostatakarzinom. Die 10- Jahres- Überlebensraten liegen hierbei zwischen 70 und 90 Prozent (Walsh, 1994; Ohori, 1994; Catalona, 1994).

Aufgrund der verringerten operativen Mortalität sowie Morbidität und der Möglichkeit der Erhaltung der Nervi erigentes wird die radikale Prostatektomie von der Mehrzahl der Urologen heute als Therapie der Wahl beim organbegrenzten Prostatakarzinom angesehen.

1.7.2 Strahlentherapie

Für die Strahlentherapie des Prostatakarzinoms stehen die perkutane Strahlentherapie sowie die Brachytherapie zur Verfügung. Das Zielvolumen für die Strahlentherapie wird aus den Befunden einer CT oder MRT als dreidimensionales Computermodell erstellt. Die Strahlentherapie kann als Alternative zur Operation eingesetzt werden, zum Beispiel bei Patienten, die eine radikale Prostatektomie aufgrund der möglichen Komplikationen ablehnen und die die Nebenwirkungen und möglichen Komplikationen der Strahlentherapie akzeptieren, bei Patienten, die aufgrund von Begleiterkrankungen nicht operiert werden können oder bei Patienten höheren Alters.

Die perkutane Strahlentherapie wird in der Regel ambulant und ohne Narkose durchgeführt. Die Gesamtdosis wird auf mehrere Einzeldosen aufgeteilt, um den Tumor stärker zu schädigen und das gesunde Gewebe zu schonen. Die Gesamtdosis sollte 74 bis unter 80 Gy betragen.

Bei der Brachytherapie wird ein Radionuklid durch Hohlnadeln direkt in die Prostata eingebracht. Dies erfolgt während einer Spinalanästhesie von perianal aus unter TRUS- Kontrolle. Ort und Dosis der Strahlung können dabei geplant, direkt gemessen und korrigiert werden. Man unterscheidet die LDR- (low-dose rate) von der HDR- (high-dose rate) Brachytherapie.

Bei der LDR- Brachytherapie werden kleine Stifte dauerhaft in die Prostata implantiert. Die Strahlung wird über einen längeren Zeitpunkt abgegeben (Strahlenquelle Jod-125 (145 Gy) oder Palladium-103 (125 Gy)). Eine perkutane Strahlentherapie kann zur Erhöhung der Dosis angeschlossen werden.

Bei der HDR- Brachytherapie wird das intensiver strahlende Iridium-192 verwendet. Dies wird während des Eingriffs direkt in die Prostata eingefahren und nach wenigen Minuten wieder entfernt (Afterloading- Technik). Es erfolgen zwei Eingriffe gefolgt von perkutaner Strahlentherapie.

Bei einem lokal begrenzten Prostatakarzinom ist die perkutane Strahlentherapie für alle Risikogruppen eine primäre Therapieoption (Nilsson et al., 2004; Morris et al., 2005). Patienten mit hohem Risikoprofil sollten zusätzlich zur perkutanen Strahlentherapie eine neoadjuvante und/oder adjuvante hormonablativen Therapie erhalten, dies führt zu einer Verbesserung des Überlebens dieser Patienten (Denham et al., 2011; Bolla et al., 2010). Die Dauer der hormonablativen Therapie sollte hierbei individuell entschieden werden, abhängig unter anderem von Komorbidität, Alter, Lebenserwartung und Tumorausdehnung (Pilepich et al., 2005). Für Patienten mit mittlerem Risikoprofil ist es unklar, ob sie von einer zusätzlichen hormonablativen Therapie profitieren (Dearnaley et al., 2007).

Auch die LDR- Brachytherapie ist eine primäre Therapieoption bei Patienten mit lokal begrenztem Prostatakarzinom. Jedoch profitieren lediglich die Patienten mit niedrigem Risikoprofil von dieser Therapie (Beyer et al., 2000). Bei Patienten mit

mittlerem Risikoprofil ist eine Empfehlung nicht möglich und bei Patienten mit hohem Risikoprofil wird sich gegen eine LDR- Brachytherapie ausgesprochen (D'Amico et al., 2003). Eine Kombination von LDR- Brachytherapie und perkutaner Strahlentherapie und ggf. hormonablativer Therapie bei Patienten mit hohem Risikoprofil ist nur in kontrollierten Studien empfohlen (Ash et al., 2000; Potter et al., 2005).

Die HDR- Brachytherapie kann kombiniert mit der perkutanen Strahlentherapie bei lokal begrenztem Prostatakarzinom bei Patienten mit mittlerem und hohem Risikoprofil eingesetzt werden (Deger et al., 2005). Bei Patienten mit niedrigem Risikoprofil jedoch nur in kontrollierten Studien (Vargas et al., 2006).

Für das lokal fortgeschrittene Prostatakarzinom ist die perkutane Strahlentherapie in Kombination mit hormonablativer Therapie eine primäre Therapieoption (Bria et al., 2009). Diese Kombination senkt die Gesamtmortalität gegenüber der Einzeltherapie (Widmark et al., 2009) und ist einer alleinigen Therapie durch die perkutane Strahlentherapie überlegen (Laverdiere et al., 2004). Die Strahlentherapie sollte bei 74 bis unter 80 Gy erfolgen. Die hormonablative Therapie sollte für zwei bis drei Jahre erfolgen, von diesen können sechs Monate auch neoadjuvant durchgeführt werden (Bolla et al., 2010).

Auch die HDR-Brachytherapie kann beim lokal fortgeschrittenen Prostatakarzinom zur Anwendung kommen in Kombination mit perkutaner Strahlentherapie. Der Nutzen einer zusätzlichen Kombination mit hormonablativer Therapie ist nicht geklärt (Deger et al., 2002).

1.7.3 Lymphadenektomie

Die Lymphadenektomie ermöglicht ein exaktes Staging sowie gegebenenfalls die frühe Einleitung einer adjuvanten Therapie bei nachgewiesenen Lymphknotenmetastasen (Bader et al., 2002). Die Patienten sollten in jedem Fall über das Risiko einer Lymphknotenmetastasierung und über Vor- und Nachteile einer Lymphadenektomie aufgeklärt werden (DGU Leitlinien, 2014). Verzichtet werden kann auf die Lymphadenektomie bei Patienten mit einem niedrigen Risiko für ein Fortschreiten (cT1c, PSA<10 und Gleason<=6) (DGU Leitlinien, 2014). Bei Durchführung sollten mindestens zehn Lymphknoten entfernt werden (Briganti et al., 2006). Empfohlen wird die Entnahme der Lymphknoten in jedem Fall bei Patienten mit einem Prostatakarzinom der Kategorie T3 (Heidenreich et al., 2002). Der kurative Nutzen der Lymphadenektomie ist nicht belegt, aber entscheidend für die Planung einer adjuvanten Therapie (DGU Leitlinien, 2014).

1.7.4 Hormontherapie

Die neoadjuvante und/oder adjuvante hormonablative Therapie wird bei dem lokal begrenzten Prostatakarzinom lediglich bei Patienten mit hohem Risikoprofil bei

gleichzeitiger perkutaner Strahlentherapie empfohlen. Hier führt es zur Verbesserung des Überlebens (Denham et al., 2011).

Beim metastasierten Prostatakarzinom sollte eine hormonablativ Therapie erfolgen, falls Symptome bestehen (Boustead et al., 2007). Bei Asymptomie kann eine hormonablativ Therapie angeboten werden (Wilt et al., 2001). Bei Durchführung ist in jedem Fall eine ausführliche Aufklärung notwendig.

Als primäre Therapieoption kommt die Hormontherapie bei Ablehnung der Operation in Frage.

Eine mögliche Therapieform ist die Kastration, die durch eine Orchiektomie (sehr selten) oder medikamentös erfolgen kann. Hier kommen LHRH- Analoga (in Kombination mit Androgenrezeptor- Blockern) oder LHRH- Antagonisten zum Einsatz, die die Testosteron- Produktion unterdrücken. Im Laufe der Hormontherapie kommt es oft zur Kastrationsresistenz. In diesem Fall kann Abirateron (steroidales Antiandrogen) gegeben werden, das die Produktion von Testosteron nicht nur in den Hoden sondern auch in den Nebennieren und im Tumorgewebe unterdrückt.

Typische Nebenwirkungen aller Medikamente sind Hitzewallungen, Abbau der Knochendichte, Rückgang des Libido, Nachlassen der Potenz, Gewichtszunahme, kognitive Einschränkungen und weitere.

1.7.5 Chemotherapie

Die Chemotherapie kommt bei Patienten zum Einsatz bei denen alle hormonellen Möglichkeiten ausgeschöpft sind und wenn eine schnell wirkende Therapie notwendig ist, zum Beispiel bei Knochenschmerzen und bei Leber- und Lungenmetastasen. Das bevorzugte Chemotherapeutikum beim Prostatakarzinom ist als Erstlinientherapie Docetaxel (Taxan). Carbazitaxel (Taxan) kommt als Zweitlinientherapie nach Vorbehandlung mit Docetaxel in Frage (Schmoll et al., 2006).

1.8 Prognosefaktoren

1.8.1 Prätherapeutische Prognosefaktoren

Prätherapeutisch ist der PSA – Wert, das Alter des Patienten, die Komorbidität und das histologische Grading in den Stanzbiopsien prognostisch aussagekräftig (Grignon und Hammond, 1995). Der Gleason- Score (Grading) kann die Aggressivität des Tumors am Tumorgewebe darstellen.

Zu den prätherapeutischen Prognosefaktoren zählt auch das Tumorstadium nach TNM- Klassifikation. Hierzu gehören die Größe und Ausdehnung des Tumors (über Prostatakapsel hinaus gewachsener Tumor, Samenblaseninfiltration,

Nachbarstrukturen betroffen) sowie der Lymphknotenbefall und Fernmetastasen (Schmoll et al., 2006).

1.8.2 Postoperative Prognosefaktoren

Postoperativ gibt der PSA-Verlauf Aufschluss über eine Progression des Prostatakarzinoms. Das Serum- PSA gibt somit Hinweise auf ein biochemisches Rezidiv und gilt hier als unabhängiger Prognoseparameter, es kann aber keine sichere Vorhersage des Prostatakarzinom- assoziierten Todes liefern (Hutter et al., 1996).

Prognostisch ungünstig zeigten sich die positiven Resektionsränder beim radikalen Prostatektomiepräparat (Voges, 1992).

Die extraprostatiche Ausdehnung (Kapselperforation) ist ebenfalls als wichtige unabhängige Variable zur Vorhersage des Progresse eines Prostatakarzinoms anzusehen (Epstein et al., 1996).

Ebenfalls prognostisch ungünstig ist der Nachweis einer Samenblaseninvasion unabhängig vom Ausmaß der Samenblasenbeteiligung (Sakr et al., 1996; Voges, 1992).

Ein sehr wichtiger Faktor für ein aggressives Verhalten des Prostatakarzinoms ist das Tumolvolumen (Voges, 1992). Es korreliert mit dem Gleason- Grading und weiteren prädiktiven Faktoren. Autopsietumoren, die zu Lebzeiten des Patienten nicht symptomatisch waren, zeigten ein extrem kleines Volumen von ca. 0,1 bis 0,2 cm³ (McNeal et al., 1986; Stamey et al., 1988). Tumoren, die durch radikale Prostatektomie entfernt wurden, sind hingegen viel größer und zeigen in über 90 Prozent der Fälle ein Tumolvolumen von über 0,5 cm³. Dies korreliert sehr gut mit dem Tumorprogress. Tumoren, die ein größeres Volumen als 4,0 cm³ haben, zeigen ein höheres Risiko für eine Samenblaseninfiltration und Lymphknotenmetastasierung. Tumoren, die ein größeres Volumen als 12,0 cm³ haben, sind fast immer metastasiert (Stamey et al., 1988).

Siegsmond et al. führten eine Studie an Prostatektomiepräparaten von 1996 bis 2003 bezüglich des Tumolvolumens durch und kamen zu der Schlussfolgerung, dass die visuelle Schätzung des Tumolvolumens und die Berechnung des prozentualen Tumolvolumenanteils unkomplizierte Verfahren sind und aus dem prozentualen Tumolvolumenanteil unabhängige prognostische Informationen ableitbar sind (Siegsmond et al., 2006).

1.9 Angiogenese

Die Angiogenese ist definiert als Ausbildung von neuen Gefäßstrukturen mit Endothel, glatten Muskelzellen und Perizyten. Physiologisch findet dies als Reperaturprozess zum Beispiel in der Wundheilung und im Gewebswachstum statt.

Die pathologische Angiogenese ist zum Beispiel bei der diabetischen Retinopathie, der exsudativen Form der altersbedingten Makuladegeneration, der rheumatoiden Arthritis sowie bei Tumoren von Bedeutung. Zunächst entsteht durch die Entartung einer Körperzelle ein maligner Zellklon, der im weiteren Verlauf zu einem malignen Tumor heranwachsen kann. Diese Entartung ist nicht angiogeneseabhängig (Hanahan et al., 1996). In der avaskulären Phase wächst der Tumor zunächst unabhängig von der Bildung neuer Blutgefäße. Es besteht ein angiogenes Gleichgewicht. Die Versorgung wird durch Diffusion aufrechterhalten. Wenn der Tumor größer wird, wird die Diffusionsstrecke zu lang (Holmgren et al., 1995) und der Tumor aktiviert die Angiogenese. Die Tumoren benötigen die neuen Blutgefäße zur Versorgung mit Sauerstoff und Nährstoffen, zum Abtransport von Stoffwechselprodukten sowie zur hämatogenen Metastasierung.

Zu Beginn der Angiogenese werden durch Bindung von Wachstumsfaktoren an die Endothelzellen diese aktiviert (Shibuya, 2006). Zu diesen Wachstumsfaktoren zählen unter anderem VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor), bFGF (Basis Fibroblast Growth Faktor), PD-EGF (Platelet Derived Endothelial Growth Factor) sowie TGF-Alpha und TGF-Beta (Transforming Growth Factor Alpha u. Beta) (Ferrara et al., 1997). Es wird eine Signalkaskade zum Kern ausgelöst und Transkriptionsfaktoren werden aktiviert, die die Sekretion von für Endothelzellwachstum erforderlichen Proteinen (MMPs) auslösen (Folkman, 2007). Diese MMPs (matrix metalloproteinases) führen zum enzymatischen Abbau der extrazellulären Basalmembran und somit zur lokalen Degradation der extrazellulären Matrix. Dies ermöglicht die Migration und Proliferation der kapillaren Endothelzellen in Richtung des angiogenen Stimulus und führt somit zur Ausbildung neuer Kapillaren. Die neu entstandenen Blutgefäße erreichen den Tumor und gewährleisten die Versorgung sowie die Möglichkeit der Metastasierung über die Blutbahn. Außerdem stimulieren die Endothelzellen mit den von ihnen produzierten Wachstumsfaktoren die Tumorzellproliferation (Rak et al., 1995). Diese vaskuläre Phase führt somit zur exponentiellen Proliferation der Tumorzellen (Hanahan et al., 1996).

Neben der Expression von Angiogenese- Aktivatoren spielt die Anwesenheit von inhibitorischen Substanzen und deren korrespondierenden Signaltransduktion in den physiologischen sowie pathologischen Prozessen des Gefäßwachstums eine entscheidende Rolle (Campbell et al., 1998). Ihre Wirkung beruht auf der Hemmung der Proliferation und Migration von Endothelzellen, Unterdrückung der Expression von Wachstumsstimulatoren oder Induktion der Apoptose. Einige Inhibitoren verhindern die Freisetzung von MMPs, die den Abbau der Basalmembran einleiten und damit wird das Eindringen der Endothelzellen in die extrazelluläre Matrix und die Ausbildung von Kapillarsprossen unterbunden.

Zu den antiangiogenen Substanzen gehören Angiostatin, Interferon- Alpha, Endostatin, Plasminogen- Aktivator- Inhibitoren, Plättchenfaktor 4 sowie Thrombospondine.

Stellt sich ein Gleichgewicht zwischen den angiogenen und antiangiogenen Faktoren sowie zwischen der Tumorproliferation und der Apoptose ein, führt dies zum Wachstumsstillstand des Tumors, zum sogenannten "dormancy" (Holmgren et al., 1995).

Auslöser für den angiogenetischen Prozeß ist dagegen ein Ungleichgewicht zwischen den stimulierenden und inhibitorischen Angiogenese- Faktoren ("angiogenetic switch") (Hanahan und Folkman, 1996). Eine Zunahme der Vaskularisation ermöglicht die Versorgung des expandierenden Karzinomgewebes.

Die Kapillardichte kann ein unabhängiger prognostischer Marker sein wie einige bereits durchgeführte Studien an Mammakarzinomen, Endometriumkarzinomen, Nierenzellkarzinomen, kolorektalen Karzinomen und malignen Melanomen zeigen (z.B. Ogawa et al., 1995; Kirschner et al., 1996; Tomisaki et al., 1996; Foss et al., 1996; Delahunt et al., 1997).

Auch die Angiogenese des Prostatakarzinoms kann mit dem Tumorprogress und dem pathologischen Staging korrelieren wie zum Beispiel Arbeiten von Brawer et al. (1994), Hall et al. (1994), Bono et al. (2002), Krupski et al. (2000), Erbersdobler et al. (2002) sowie Taverna et al. (2009) darlegen.

2. Fragestellung

Um die Aggressivität, Eigenschaften und Ausprägung eines Tumors besser beurteilen zu können, werden bessere prognostische Marker gesucht. Bisher wird prätherapeutisch der PSA- Wert, der Gleason Grad sowie das klinische Stadium verwendet. In Stanzbiopsien wird der Anteil von tumorbefallenen Prostatastanzen sowie der Tumoranteil pro Prostatastanze zur prognostischen Aussage genutzt. Hierbei kommt es jedoch oft zur Unterschätzung des pathologischen Stadiums des Tumors. Das Maß für den Erfolg der radikalen Prostatektomie ist jedoch von der tatsächlichen Tumorausbreitung abhängig.

Die Mikrogefäßdichte (MVD, microvessel density) hat sich bereits in durchgeführten Studien an anderen Tumoren als prognostischer Marker etabliert (z.B. Ogawa et al., 1995; Kirschner et al., 1996; Tomisaki et al., 1996; Foss et al., 1996; Delahunt et al., 1997). Auch beim Prostatakarzinom konnte schon in einigen Untersuchungen die prognostische Relevanz der MVD bestätigt werden (Brawer et al., 1994; Hall et al., 1994). 2006 bestätigten Byrnes et al. in ihrer Studie den Zusammenhang von MVD und Tumorprogression des Mammakarzinoms (Byrnes et al., 2006). Silberman et al. untersuchten nur Prostatakarzinom-Patienten mit einem Gleason- Grad von 5 bis 7 und zeigten, dass die MVD einen unabhängigen prognostischen Marker darstellt (Silberman et al., 1997). Gettman et al. hingegen untersuchten nur Patienten im pT2- Stadium und fanden keine prognostische Signifikanz in uni- oder multivariaten Analysen (Gettman et al., 1998). Auch die Arbeit von Rubin et al. zeigte keinen Zusammenhang zwischen tumoraler Gefäßdichte und pathologischen Faktoren (Rubin et al, 1999). In mehreren im Anschluß durchgeführten Studien ergaben sich jedoch wiederum signifikante Korrelationen der MVD mit pathologischen Parametern wie Gleason Score, pT-Stadium und dem Patientenüberleben (Bono et al, 2002; Krupski et al., 2000; Erbersdobler et al., 2002). Auch Taverna et al. konnten signifikante Unterschiede im Serum-PSA-Level und Tumolvolumen bei Patienten mit höherer und Patienten mit geringerer MVD nachweisen (Taverna et al., 2009). Die bisher durchgeführten Studien zur prognostischen Relevanz der MVD beim Prostatakarzinom sind zumeist jedoch mit kleinen Kollektiven entstanden. In dieser Arbeit wird die Hypothese, ob sich mit Hilfe der MVD in Prostatakarzinomen die Prognose beurteilen läßt, an einem größeren Kollektiv untersucht.

3. Materialien und Methoden

3.1 Patienten

Zwischen 1994 und 2005 wurde in der Klinik für Urologie, Universitätsklinikum Eppendorf, eine Liste von allen durchgeführten radikalen Prostatektomien erstellt. Darin enthalten waren jeweils der präoperative PSA-Wert, die TNM- Klassifikation, die Tumorlokalisation, der Gleason Grade und der Status des Resektionsrandes einer jeden Prostatektomie- Probe.

Es folgten Follow-Ups der Patienten. Zur Database wurden die Nachsorge-Behandlung und die PSA- Werte hinzugefügt, die alle sechs Monate gemessen wurden. Als Misserfolg wurde ein gleichbleibender oder ansteigender PSA-Wert nach erfolgter Prostatektomie gewertet, entsprechend einem Anstieg des PSA von $>0,1$ ng/ml. Die prognostische Aussage von 978 Patienten konnte nicht in die Auswertungen aufgenommen werden, da für diese keine postoperativen Daten vorlagen.

In der Pathologie wurden die histologischen Präparate durchgesehen und die schlechtesten histologischen Befunde (größter Tumorfokus, schlechtester Gleason Grade) auf der Folie markiert.

3.2 Tissue microarray Konstruktion

Die originalen Paraffinblöcke aus dem Archiv wurden bearbeitet, in dem bei jeder Probe jeweils ein 0,6 mm dicker Gewebeteil aus dem Index tumor gestanzt und in das TMA- (tissue microarray) Format gebracht wurde (Bubendorf et al., 2001). Von den daraus resultierenden sieben TMA- Paraffinblöcken wurden folgende Proben angefertigt: Ein Teil wurde mit Hämatoxylin und Eosin (H&E) gefärbt. Ein weiterer Teil wurde genutzt für Immunohistochemie gegen Basalzellen in normalen Prostatadrüsen und CD31 (hochspezifisch für Endothelialzellen und bereits erfolgreich genutzt in vorherigen Studien) (Silberman et al., 1997; Rogatsch et al., 1997).

3.3 Immunhistochemie

Immunhistochemisch wurde die ABC- Methode (Avidin-Biotin-Complex) angewandt. Als primäre Antikörper und Lösungen wurden Cytokeratin und anti- CD31 genutzt.

Zunächst wurden die Probeteile in einer Autoklave (Hochdruck-Kessel) in Zitratpuffer (pH 6) für 30 Minuten gekocht. Der Nachweis vom ersten Grenz-Antikörper wurde mit dem DAKO Real Envision System mit Diaminobenzidine als Chromogene sichtbar gemacht (DAKO, Germany). Die Experimente beinhalteten interne Kontrollen (Gefäße bereits sichtbar auf H&E gefärbten Teilen) und externe Kontrollen (separate Spots von verschiedenen Tumoren sowie normalem Gewebe auf jedem TMA- Block).

3.4 Evaluation

Das Vorhandensein von Tumorgewebe in den H&E gefärbten Teilen der sieben TMA- Blöcke wurde durch einen Pathologen mit Hilfe von Immunfärbung gegen Basalzellen nachgewiesen. Die Mikrogefäße wurden durch einen Investigator (Untersucher) gezählt (Methode: WEIDNER) ohne Angaben der klinischen Parameter (Alter, PSA-Werte, follow-up-Data) sowie ohne Kenntnis des pathologischen Staging, Grading und Tumorlokalisation, die in den Pathologie-Reports der Prostatektomie- Proben festgehalten wurden. Es wurden alle Mikrogefäße eines jeden Spots (entspricht 0,28 mm² des Gewebes) gezählt, unabhängig ob ein Tumor vorhanden war oder nicht.

Um die Variabilität des Betrachters zu beurteilen wurden die Mikrogefäße von 522 Spots eines TMA- Blocks durch einen zweiten Untersucher, der die Resultate des ersten nicht kannte, erneut gezählt. Die Übereinstimmungen der Resultate waren ausreichend, wenn die Auszählungen nicht mehr als +/- 20 % variierten.

3.5 Statistik

Zur Auswertung der vorhandenen Daten wurde das Statistikprogramm SPSS in der 21 Version herangezogen.

Der unabhängige t- Test und der chi-square-Test T-Test für unabhängige Stichproben und der Chi Quadrat Test wurden für Vergleiche von Mittelwerten und Proportionen genutzt. Die Untersucher- Variabilität wurde mit dem Cohens Kappa Coeffizienten gemessen.

Um die PSA- freie Überlebensrate gegen die Mikrogefäßdichte graphisch darzustellen wurden Kaplan- Meier plots angewandt. Unterschiede zwischen den Gruppen wurden durch den log-rank test gemessen. Univariable und multivariable Cox Regression Modelle testeten den Effekt der MVD auf PSA- Anstieg bzw. - Wiederauftreten.

Zwei Metricstypen wurden angewandt:

Zunächst wurde die MVD in einem unveränderten fortlaufenden Format getestet. Anschließend wurde die prognostische Signifikanz der MVD in einem kategorisierten Format getestet, um die am meisten informativen Cutoffs zu finden, in Benutzung der p-Wert- Methode (Mazumdar und Glassman, 2000).

Weitere unabhängige Variablen (Kovariate) stellten das Alter, der präoperative PSA- Wert, pT-Stage, pN- Stage, der Gleason Score und der Status des Schnittrandes dar. Die univariable vorhersagbare Präzision wurde für jede der Einflussvariablen festgelegt. Die in allen Analysen vorhersagbare Präzision wurde gemäß des Harrell's c-Index (Harrell et al., 1996) gemessen und wurde als eine Prozentangabe von 50 bis 100% angegeben (50% entsprach einem Münzwurf und 100% repräsentierten ideale Vorhersagen).

Die kombinierte vorhersagbare Genauigkeit aller Standardvariablen wurde ebenfalls gemessen und bezeichnete die Genauigkeit des Basis- Einflussvariablen- Modells. Dieses Modell beinhaltete alle Variablen außer MVD. Getestet wurde im Anschluss die Veränderung der multivariablen vorhersagbaren Präzision in Bezug auf die Einbeziehung von MVD.

4. Ergebnisse

In 2557 Spots der TMA- Blöcke konnte eindeutig ein Prostatakarzinom nachgewiesen werden. Hierfür wurden die H&E- gefärbten Teile sowie die Teile mit Immunfärbung gegen Basalzellen untersucht. Die übrigen Spots zeigten tumorfreies Prostatagewebe oder waren nicht verwertbar.

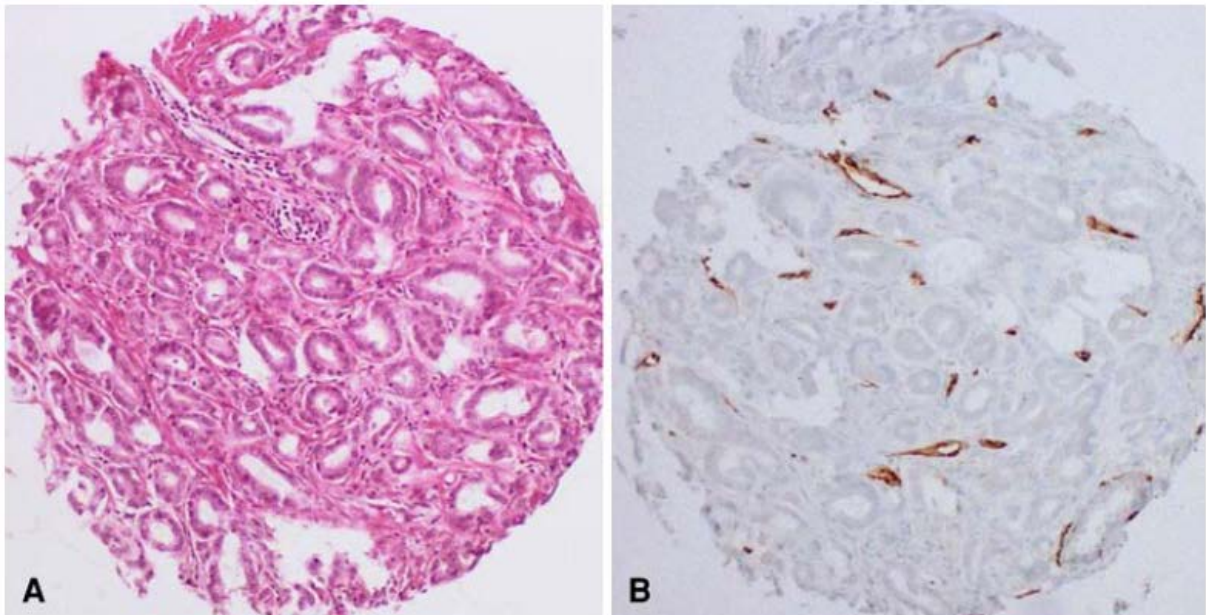
In 2509 Spots mit Prostatakarzinom sowie in 630 Spots mit tumorfreiem Prostatagewebe konnten MVD gezählt werden.

Abb.1:

Tissue microarray spot mit Prostata-Ca; Vergrößerung des Originals x 100

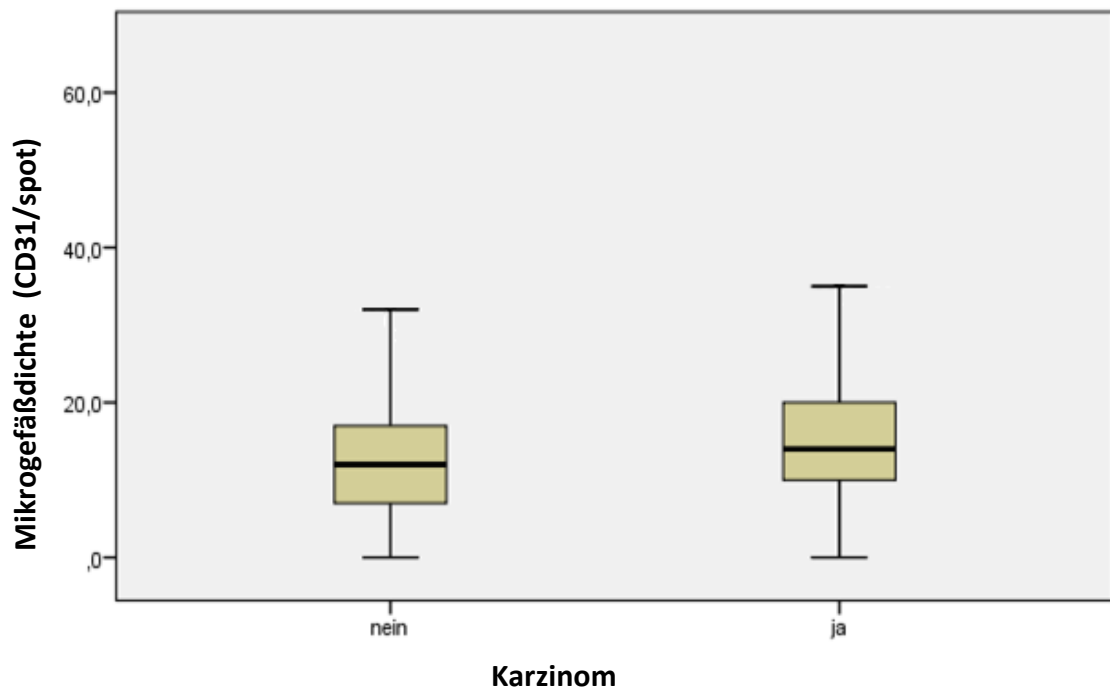
A: Hämatoxylin-Eosin-Färbung

B: Immunohistochemie anti-CD31



Wie unter 3.4. bereits beschrieben wurden 522 Spots von zwei unabhängigen Untersuchern gezählt, um die Variabilität der Untersucher zu beurteilen. In Cohen's Kappa Coefficient zeigte sich eine moderate Übereinstimmung mit 0,545. Somit war die MVD signifikant höher in den TMA- Spots des Prostatakarzinomgewebes (16,1/spot vs. 12,7/spot; $p < 0,001$).

Abb. 2:
Mikrogefäßdichte kein Karzinom vs. Karzinom



978 Fälle von den 2509 Fällen mit Prostatakarzinom mussten von den Analysen ausgeschlossen werden, da die postoperativen Follow-Ups fehlten. In Tabelle 1 sind umfassend die klinischen und histopathologischen Daten von den übrigen Fällen aufgeführt. Keiner der Patienten erhielt eine neoadjuvante Hormontherapie (Androgen-Entzug).

Tab. 1:
1531 Patienten mit radikaler Prostatektomie mit kompletten klinischen und pathologischen Daten

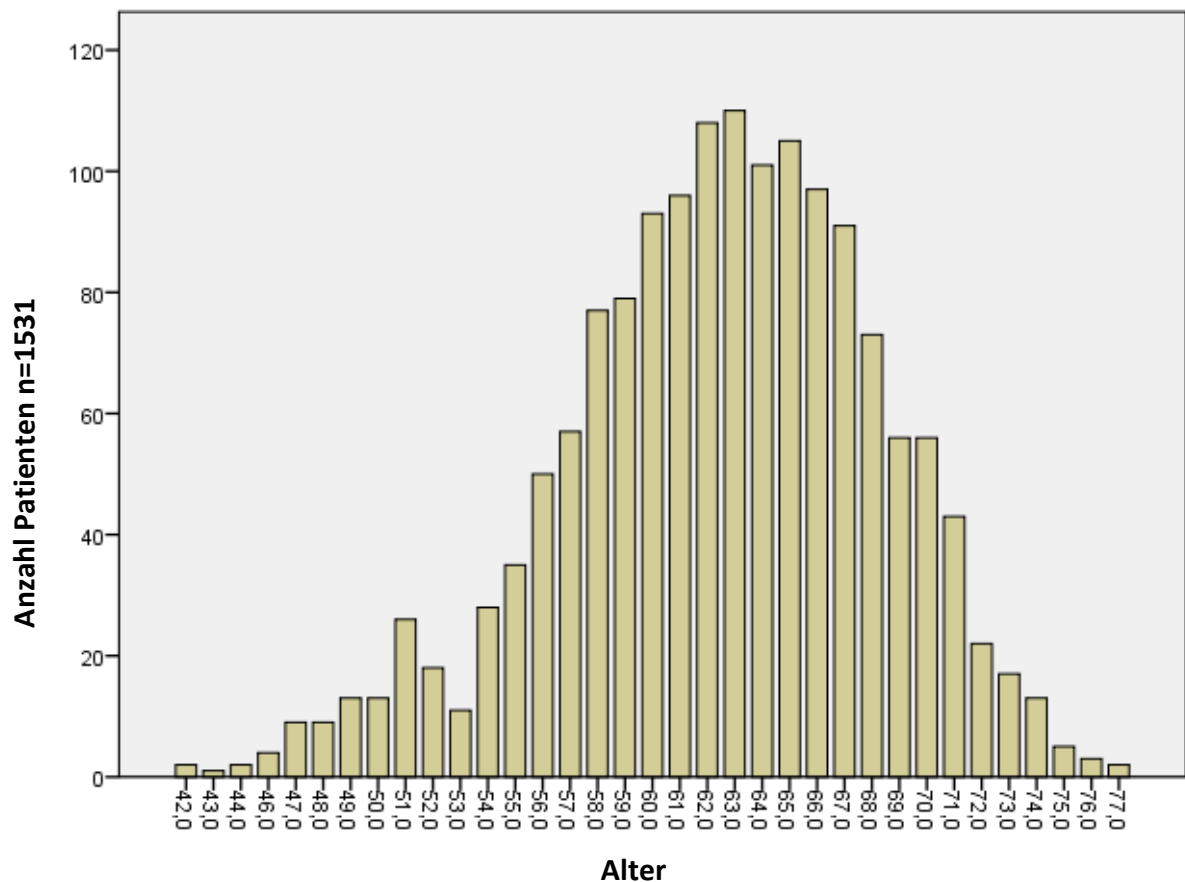
	Anzahl Patienten	fehlend	Mittelwert	Median	Standardabweichung	Spannweite Min Max	
Alter (Jahre)	1525	6	62	63	5,79	42	77
PSA (ng/dl)	1527	4	10,4	7,5	9,83	0,01	120
follow-up (month)	1531		35,3	31,1	27,72	0	143
Mikrogefäßdichte (CD 31/spot)	1531		16	14	9,35	0	89
Karzinomvolumen (cm³)	1044	487	2,13		3,72	<0,001	32,1

	Anzahl Patienten	Prozent
pT	1531	100
pT2	920	60,1
pT3a	370	24,2
pT3b+c	215	14
pT4	25	1,7
pN	1531	100
pN0	953	62,2
pN1	57	3,7
pNx	521	34
Gleason score	1531	100
<=6	610	39,8
3+4	712	46,5
4+3	177	11,6
>=8	32	2,1
Randstatus	1531	100
fehlend	2	
positiv	362	23,7
negativ	1167	76,3

4.1 Mikrogefäßdichte und Alter

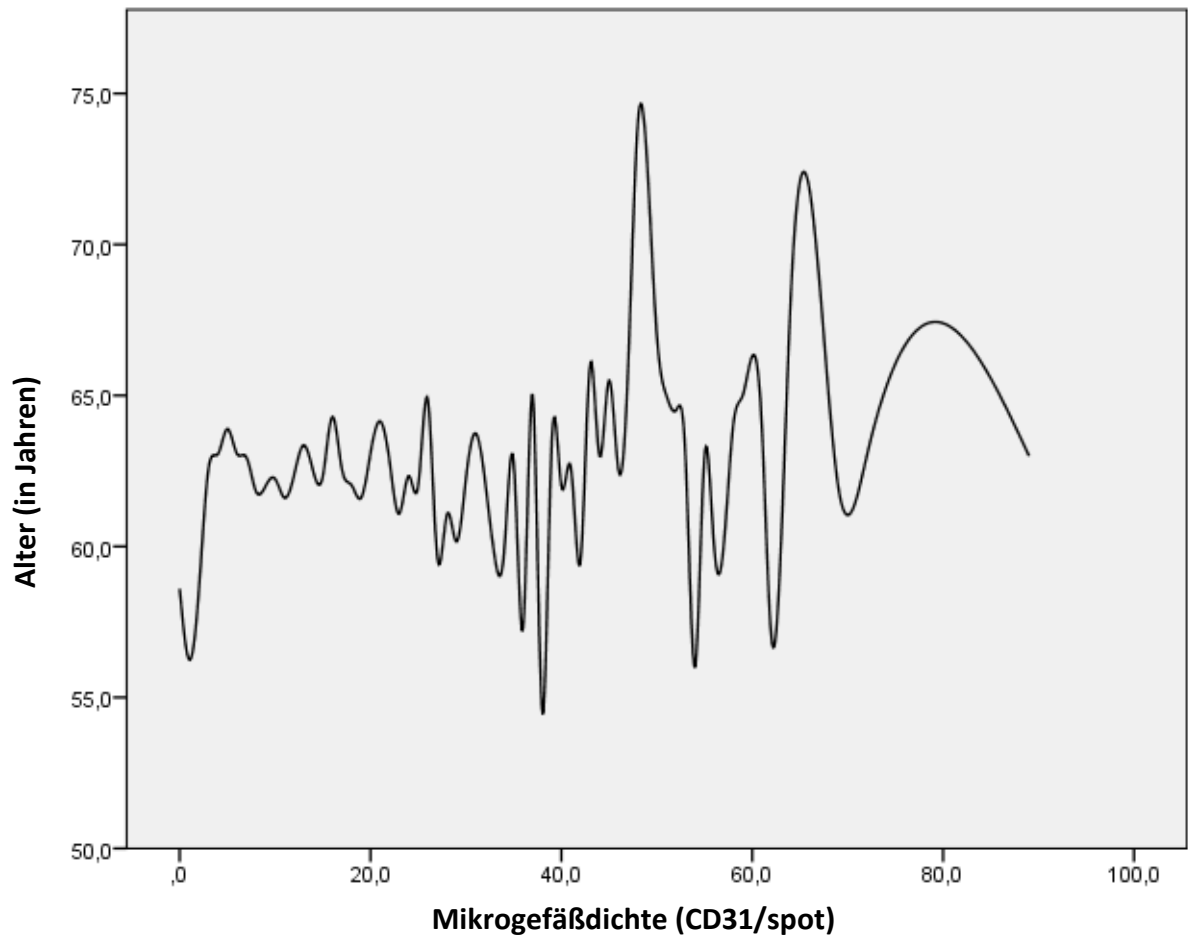
In Tabelle 1 wird die Altersaufteilung des Patientenkollektivs dargestellt. Es zeigte sich ein durchschnittliches Alter von 62 Jahren mit einer Spannweite von 42 bis 77 Jahren.

Abb. 3:
Verteilung des Alters der Probanden



Wir führten eine Korrelation nach Pearson durch, um den Zusammenhang zwischen dem Alter und der MVD zu beschreiben. Der Pearson- Korrelationskoeffizient r ergab einen Wert von 0,023, zeigte also nur eine schwache positive Korrelation, die mit einem p -Wert von 0,377 nicht signifikant war. Somit liegt kein Zusammenhang zwischen dem Alter und der MVD vor. Dies wird auch in der Graphik (Abb.4) verdeutlicht.

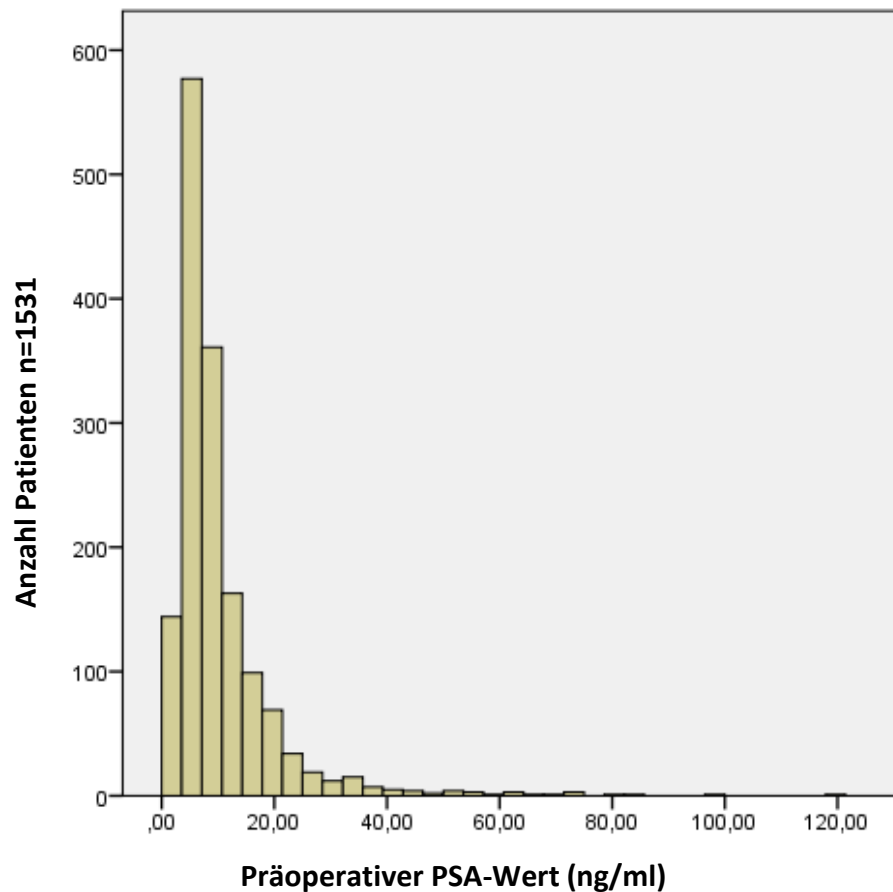
Abb. 4:
Pearson- Korrelation zwischen Alter und MVD



4.2 Mikrogefäßdichte und PSA- Wert

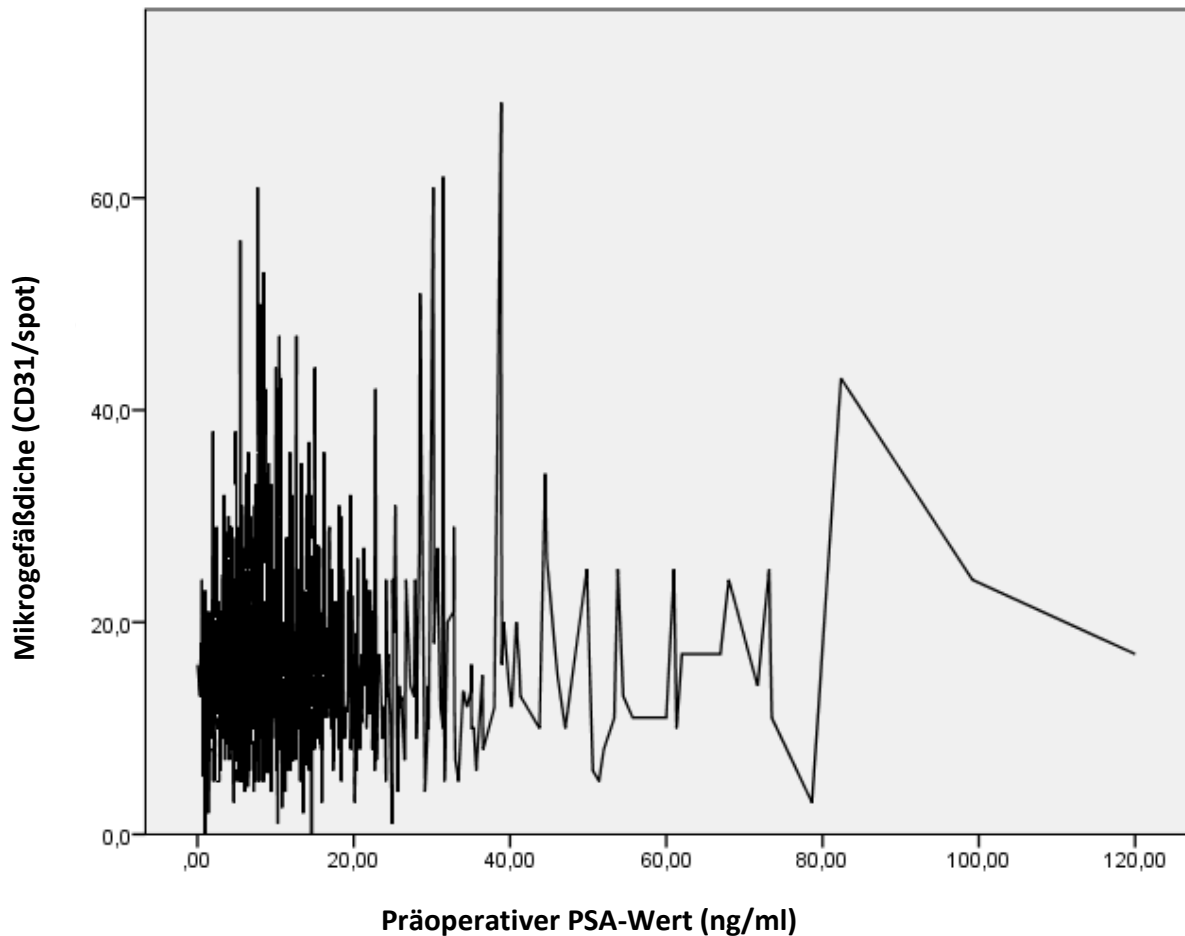
In Tabelle 1 wird der präoperative PSA- Wert des gesamten Patientenkollektivs gezeigt. Das Mittel beträgt 10.4 ng/ml mit einer Spannweite von 0,01 bis 120 ng/ml. Die Verteilung der PSA- Werte wird in Abbildung 5 deutlich.

Abb. 5:
Verteilung des präoperativen PSA-Wertes



Die Pearson- Korrelation zwischen der MVD und dem präoperativen PSA- Wert ergab einen Korrelationskoeffizienten von $r = 0,037$, es zeigte sich mit $p = 0,147$ keine Signifikanz. Dies geht aus der Abb. 6 hervor.

Abb. 6:
Pearson- Korrelation zwischen präoperativem PSA-Wert und MVD

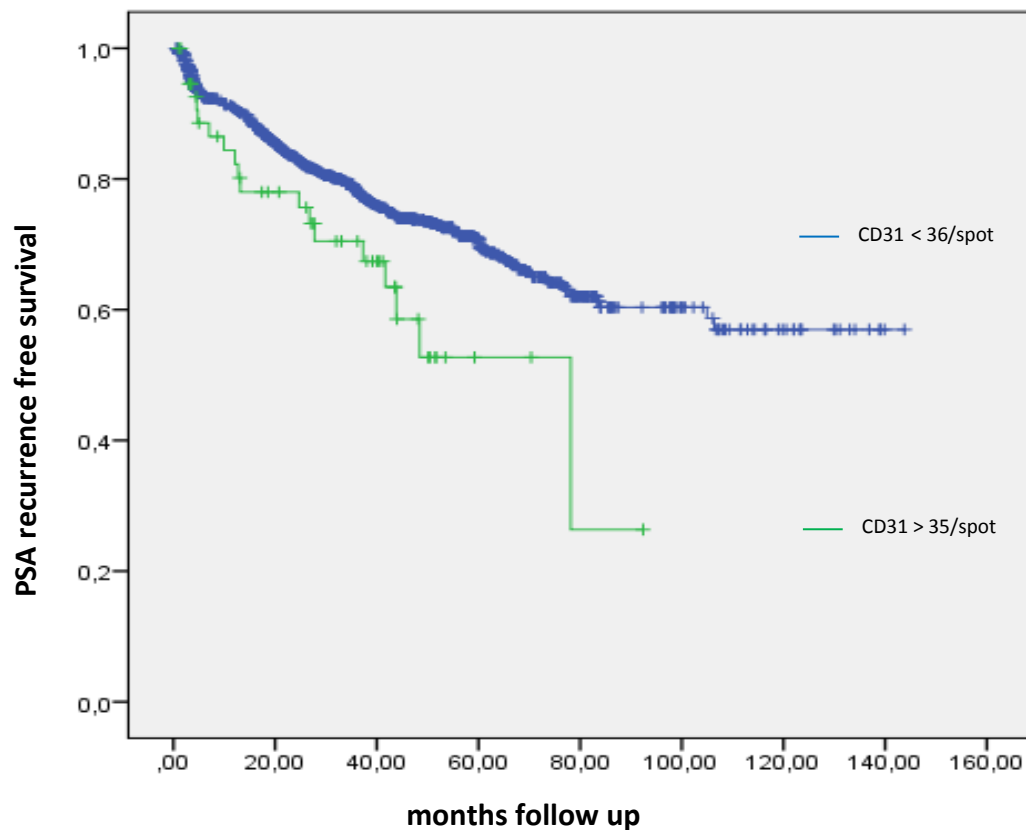


Desweiteren wurde der postoperative PSA- Verlauf betrachtet. Um herauszufinden, ab welcher Mikrogefäßdichte ein höheres Risiko des PSA- Anstiegs nach radikaler Prostatektomie besteht, muss man einen Schnittpunkt finden, der die Patienten aufgrund der Höhe ihrer MVD in zwei Kategorien aufteilt. Diese Kategorien können dann zum Beispiel für Behandlungsempfehlungen oder Prognose-Voraussagen eingesetzt werden. Hierbei wurde die Methode von Mazumdar und Glassman angewandt. Durch eine graphische Betrachtung der Daten wurden die größten Unterschiede ermittelt und der Wert aufgesucht, der die Gruppen am besten gemäß eines Chi-Quadrat-Testes einteilt. Diese sogenannte minimale p-Wert- Annäherung involviert vielfaches Testen (Mazumdar and Glassman, 2000), welches jedoch die Typ I- Fehlerrate ("falsch positiv") erhöht. Um diese sogenannte Alphafehler-Kumulierung zu umgehen, passt man das Signifikanzniveau für die einzelnen Tests an. Dieses erfolgte durch die Bonferroni- Holm- Methode (Holm, 1979).

Somit wurde durch die genannten Methoden der aussagekräftigste Cutoff identifiziert.

Dieser befand sich bei $\leq 35/\text{spot}$ versus $\geq 36/\text{spot}$. Bei der MVD $\geq 36/\text{spot}$ konnte in der Kaplan- Meier- Überlebenskurve ein signifikant höheres Risiko des PSA- Anstiegs nach radikaler Prostatektomie dargestellt werden (log rank $p=0,02$, Abb. 7).

Abb. 7:
Kaplan- Meier- Kurve: PSA recurrence free survival / months follow up

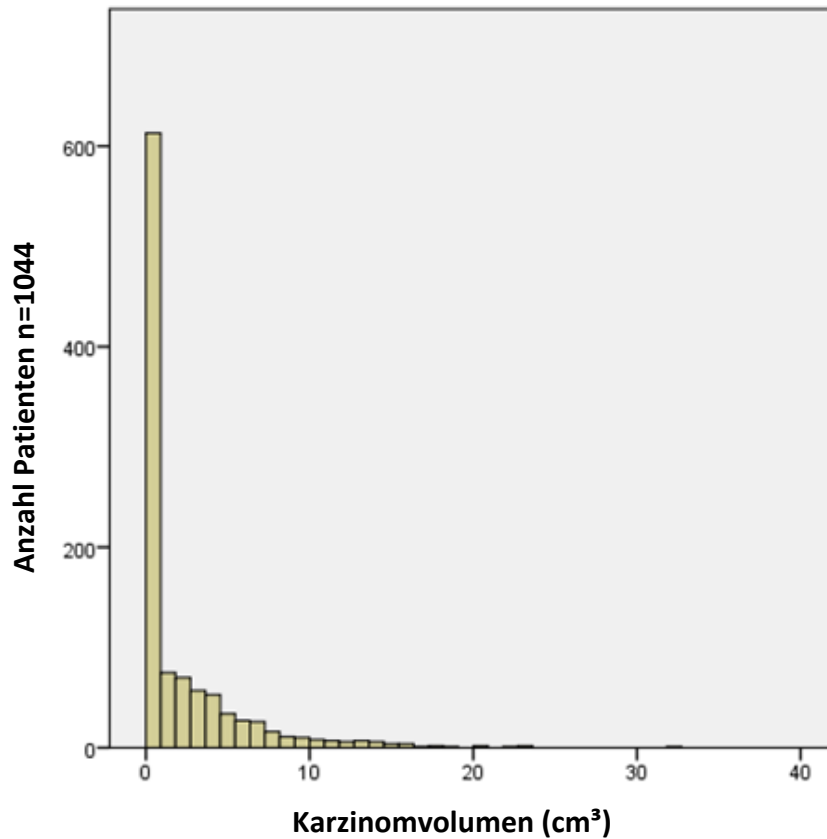


Die Kaplan- Meier- Kurve zeigt das Überleben ohne PSA-Wiederaanstieg nach radikaler Prostatektomie bei einer Mikrogefäßdichte kleiner oder gleich 35 ($CD31 < 36/spot$) bzw. höher als 35 ($CD31 > 35/spot$). Die beiden Patientenkollektive unterscheiden sich nach dem Log Rank Test signifikant voneinander, ($\chi^2(1, N=1531) = 5,38, p = .020$).

4.3 Mikrogefäßdichte und Karzinomvolumen

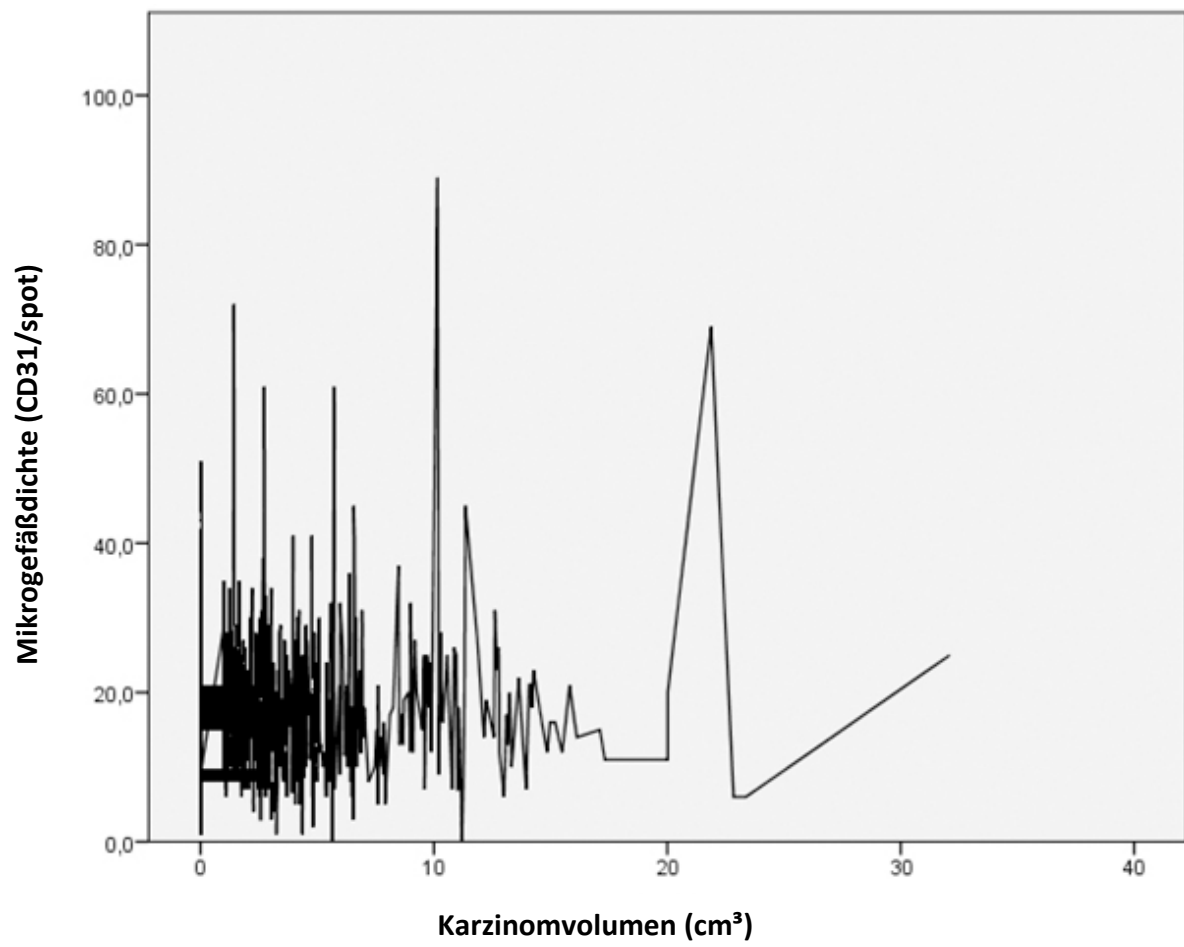
Ebenfalls in Tabelle 1 ablesbar ist das mittlere Karzinomvolumen von 2,13 cm³ sowie die Spannweite von kleiner als 0,001 cm³ bis 32,1 cm³. Hierzu wird die Abb. 8 gezeigt.

Abb. 8: Verteilung des Karzinomvolumens



Durch die Korrelation von Pearson konnte der angenommene Zusammenhang zwischen MVD und Karzinomvolumen nachgewiesen werden und ist auf dem 5% Niveau signifikant ($p < 0,001$) und schwach negativ ($r = -0,063$). In Abbildung 9 ist dieses graphisch dargestellt.

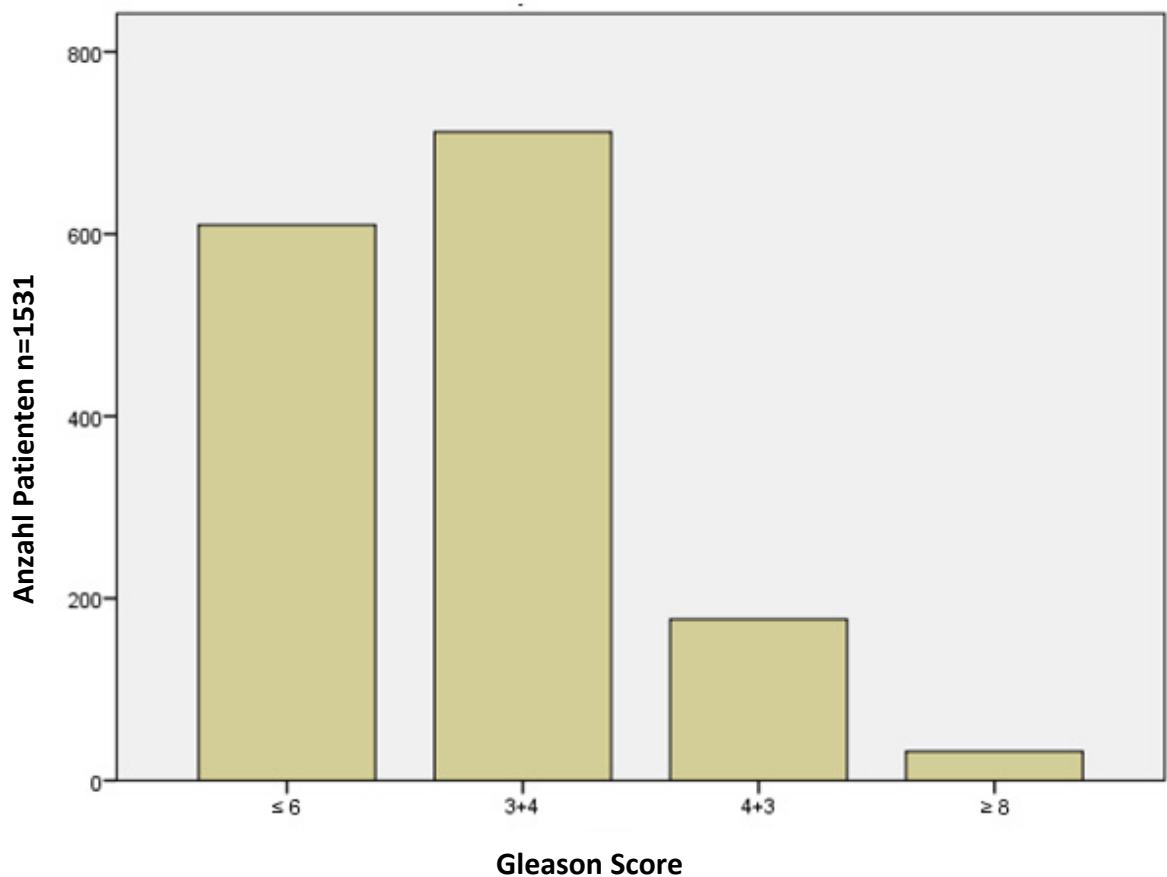
Abb. 9:
Pearson- Korrelation zwischen Karzinomvolumen und MVD



4.4 Mikrogefäßdichte und Gleason Score

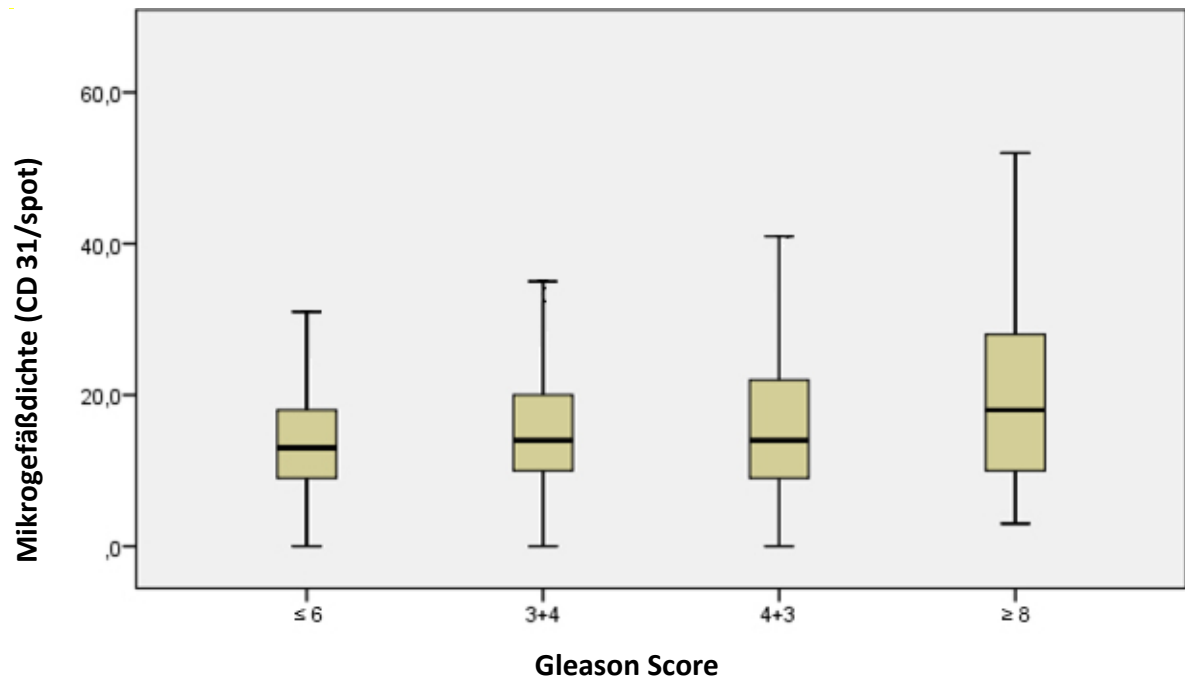
46,5% der Patienten (in Anzahl 712 Patienten) haben einen Gleason Score von 3+4, 11,6% der Patienten (Anzahl 177 Patienten) haben einen Gleason Score von 4+3, 39,8% (610 Patienten) blieben bei einem Gleason Score ≤ 6 und nur 2,1% der Patienten (32 Patienten) haben einen Gleason Score ≥ 8 . In Abbildung 10 wird die Gleason Score Verteilung graphisch dargestellt.

Abb. 10:
Verteilung des Gleason Score



Mit einem Korrelationskoeffizienten von $r = 0,131$ und einem p- Wert von $p < 0,001$ konnte durch die Pearson- Korrelation eine signifikante Korrelation zwischen MVD und Gleason Score nachgewiesen werden (siehe Abb. 11). Das bedeutet, dass bei den Patienten mit Prostatakarzinom und höherem Gleason Score auch eine höhere Mikrogefäßdichte zu finden war als bei Patienten mit Prostatakarzinom und niedrigerem Gleason Score.

Abb. 11:
Mikrogefäßdichte in den verschiedenen Kategorien des Gleason Score

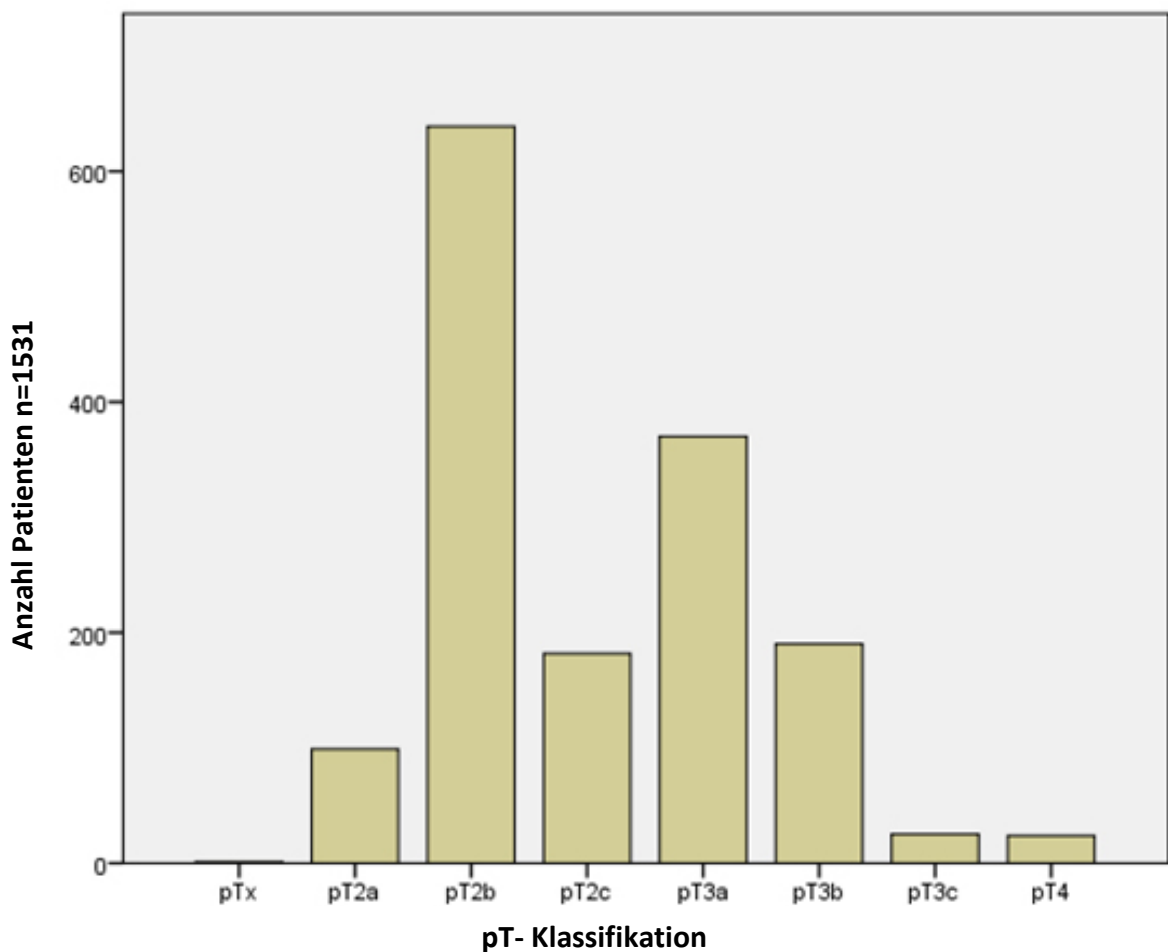


Es besteht ein schwacher positiver Zusammenhang zwischen dem Gleason Score und der Mikrogefäßdichte, ($r(1531) = .131$, $p < .001$).

4.5 Mikrogefäßdichte und pathologisches Stadium

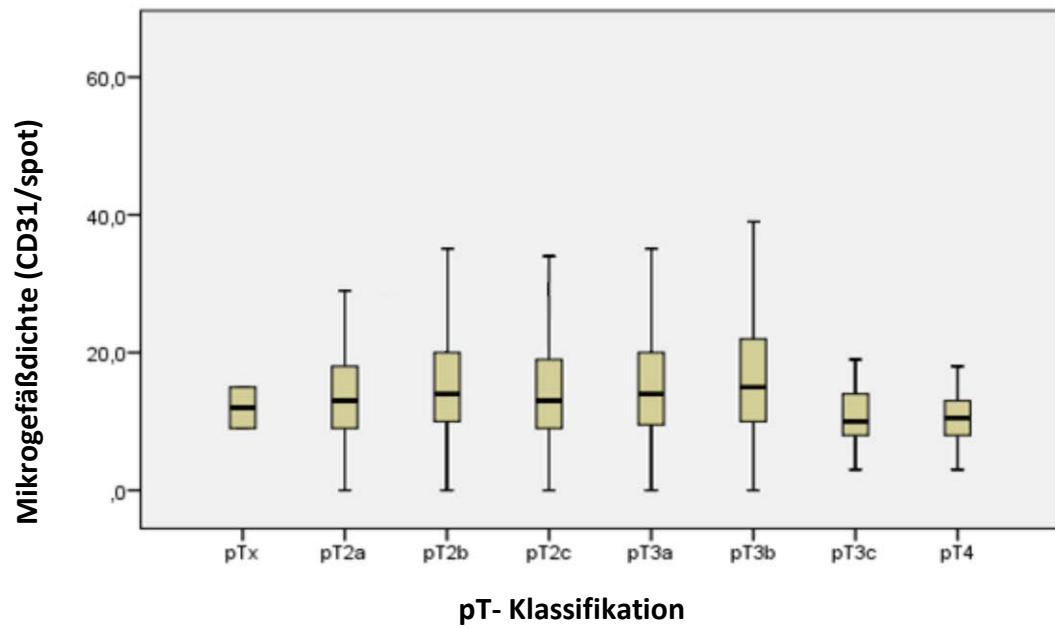
Mit 920 Patienten (60,1%) war pT2 das am häufigsten gemessene Tumorstadium, aufgeteilt auf 99 Patienten (6,5%) im Stadium pT2a, 639 Patienten (41,7%) im Stadium pT2b und 182 Patienten (11,9%) im Stadium pT2c. Hingegen zeigten 585 Patienten (38,2%) das Tumorstadium pT3, das sich auf 370 Patienten (24,2%) mit Stadium pT3a, 190 Patienten (12,4%) mit Stadium pT3b und 25 Patienten (1,6%) mit pT3c aufteilte und nur 25 Patienten (1,7%) hatten das Stadium pT4. pN0 war beim Staging am häufigsten im Patientenkollektiv vertreten (953 Patienten, 62,2%) gefolgt von pNx (521 Patienten, 34,0%) und pN1 (57 Patienten, 3,7%) (siehe Tabelle 1).

Abb. 12:
Verteilung der Stadien der pT- Klassifikation



Durch die Pearson- Korrelation konnte mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,003 und am keine Signifikanz der Korrelation zwischen MVD und pT- Staging gefunden werden. Als signifikant mit einem p- Wert von $p= 0,014$ zeigte sich jedoch die Korrelation von MVD und pN-Status.

Abb. 13:
Mikrogefäßdichte in den verschiedenen Stadien der pT-Klassifikation

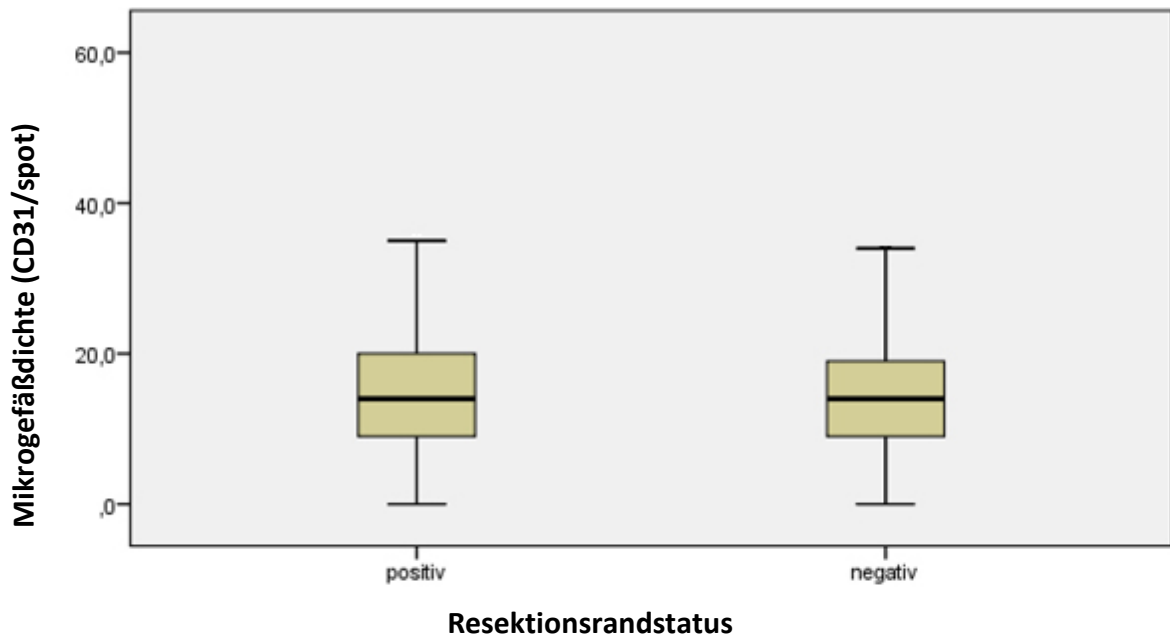


Der Zusammenhang zwischen der Mikrogefäßdichte und pT konnte sich nicht als signifikant herausstellen ($r(1531) = 0,003$, $p = 0,922$).

4.6 Mikrogefäßdichte und Resektionsrandstatus

Unter den 1531 Patienten befanden sich 1167 Patienten (76,3%) bei denen der Resektionsrand keine Karzinomzellen aufwies (negativer Befund) und 362 Patienten (23,7%) bei denen der Resektionsrand von Karzinomzellen befallen war (positiver Befund). Bei der Pearson- Korrelation von MVD und Resektionsrandstatus zeigte sich jedoch keine Signifikanz ($p= 0,758$).

Abb. 14:
Mikrogefäßdichte und Resektionsrandstatus



4.7 Mikrogefäßdichte und Rezidiv

74,1% der Patienten zeigten im postoperativen 5-Jahres-Intervall Rezidiv-Freiheit. Korrelierte man durch das Chi-Quadrat nach Pearson MVD und Rezidiv miteinander, zeigte sich mit $p = 0,062$ eine lediglich leichte Signifikanz. Bei erhöhter Mikrogefäßdichte trat gehäuft ein Rezidiv im 5 Jahres-Intervall auf.

4.8 Cox-Regressionsanalyse

Um herauszufinden, ob MVD als unabhängiger präoperativer Marker einsetzbar ist, wurden vorhandene Daten mit der Cox-Regressionsanalyse untersucht. MVD zeigte jedoch keine Bedeutung in den univariablen und multivariablen Cox-Regressionsmodellen. Im multivariablen Basis-Modell wurden Alter, PSA, Stage, Gleason Score und operativer Resektionsrandstatus untersucht. Die vorhersagbare Präzision dieses Modells wurde durch die Hinzunahme von MVD nicht zusätzlich verbessert (79,2% vs. 79,3%).

Tab.2:
 Univariables und multivariables Cox- Regressions- Model: Test des Effekts der
 Mikrogefäßdichte auf das biochemische Wiederauftreten des Karzinoms nach
 radikaler Prostatektomie

Variable	Univariabel		Multivariabel			
	HR	p-Wert	MVD konstant		MVD sortiert	
			HR	p-Wert	HR	p-Wert
MVD			1,003	0,600	0,995	0,984
kontinuierlich kodiert	1,010	0,076				
kategorial	0,582	0,022				
nicht kategorial	1,718	0,022				
Alter	1,008	0,389	1,003	0,713	1,004	0,667
PSA	1,037	<0,001	1,011	0,001	1,011	0,002
pT	1,838	<0,001	1,474	<0,001	1,468	<0,001
Gleason	2,930	<0,001	2,073	<0,001	2,091	<0,001
Randstatus	0,392	<0,001	0,580	<0,001	0,580	<0,001
Präzision des Multivariablen Basis-Modells			79,20%			
Präzision des Basis-Modells mit zusätzlich MVD			79,30%			

5. Diskussion

Auf die Angiogenese in Tumoren fokussierte man sich seit Judah Folkman (Folkman et al., 1972) beobachtete, dass Tumoren ihre eigene Blutversorgung erneuerten. Die Mikrogefäßdichte in den Tumoren, die durch histologische Methoden nachgewiesen werden konnte, wurde ein anerkanntes wichtiges Feld von Studien über viele verschiedene Karzinomtypen.

Verschiedene Studien von MVD in Prostatakarzinomen zeigten eine signifikante Korrelation mit einer Krankheitsprogression des Patienten und höheren Gleason Scores (Weidner et al., 1993; Silberman et al., 1997; Concato et al., 2009; Brawer et al., 1994; Bono et al., 2002).

Viele Studien zeigen, dass die Mikrogefäßdichte das Wiederauftreten eines Karzinoms gegebenenfalls vorhersagen und die Überlebensrate verbessern kann.

1997 untersuchte zum Beispiel Bostwick et al. 186 zufällig ausgewählte Nadelbiopsien und benutzte zur Messung der Mikrogefäßdichte das automatisierte digitale Bild Analysis System. Die Studie ergab, dass die Mikrogefäßdichte, der Gleason Score und das Serum- PSA die Möglichkeit der Vorhersagbarkeit der extraprostatatischen Ausbreitung signifikant verbesserten. Jedoch sprach Bostwick von einer "signifikanten, aber nicht fabelhaften" Verbesserung.

Eine Studie von Mucci et al. spezialisierte sich sowohl auf die Mikrogefäßdichte als auch auf die Gefäßgröße und die Unregelmäßigkeit des Gefäßlumens. Dieses wurde unter Anwendung von CD34 bei 572 Patienten untersucht. Es zeigte sich, dass in weniger differenzierten Tumoren eine größere MVD, eine höhere Unregelmäßigkeit des Gefäßlumens und kleinere Gefäße vorhanden waren. Dies stand für eine höhere Wahrscheinlichkeit auf eine letale Erkrankung. MVD war jedoch nicht verbunden mit der Karzinom- spezifischen Mortalität nach dem Abgleich mit klinischen Faktoren.

Mucci fand heraus, dass die Gefäßgröße sowie die Unregelmäßigkeit des Lumens das angiogenetische Potential des Prostatakarzinoms widerspiegeln und gegebenenfalls als Biomarker dienen, um die Mortalität des Prostatakarzinoms vorauszusagen.

Bono et al. hatte 2002 91 Patienten untersucht, 75 Patienten konnten in die Studie aufgenommen werden. Von diesen zeigten 45 Patienten eine Mikrogefäßdichte > 90 und 30 Patienten eine Mikrogefäßdichte < 90. Es zeigte sich, dass MVD positiv mit einem höheren pathologischen Stadium assoziiert war. Bei 20% der Patienten mit MVD < 90 zeigte sich eine Krankheitsprogression, jedoch sogar 51% der Patienten mit MVD > 90 hatten eine Krankheitsverschlechterung zu vermerken. Es zeigte sich also deutlich eine Korrelation von MVD und Krankheitsprogression, ebenso auch eine Korrelation von MVD und Zeitpunkt bis zur Progression. Bezüglich des Gleason Scores zeigte sich bei niedrigem Score (2 - 4) keine erhöhte MVD, bei mittlerem Score (5 - 6) waren ca. die Hälfte der Fälle mit höherem MVD und bei hohem Score war auch MVD immer erhöht. Bei begrenztem Tumor war MVD prädiktiv, jedoch nicht

bei lokal fortgeschrittener Erkrankung. Bono empfiehlt bezüglich der Mikrogefäßdichte in Prostatakarzinomen weitere Untersuchungen und beschreibt, dass die Untersuchung mit CD31 weniger signifikant ist als mit CD34.

Auch Offersen et al. (1998) fand heraus, dass die maximale Mikrogefäßdichte ein unabhängiger Prognosefaktor ist. Silberman et al. schränkte diese Aussage etwas ein, bei seiner Studie zeigte sich MVD als unabhängiger signifikanter Prädiktor der Krankheitsprogression nach radikaler Prostatektomie für Tumoren mit einem Gleason Score von 5 bis 7.

In einer Studie von 74 Patienten (29 mit Metastasen, 45 ohne Metastasen) von Weidner et al. fand man eine signifikant niedrigere Mikrogefäßdichte bei den Patienten ohne Metastasen. Außerdem erhöhte sich MVD mit Erhöhung des Gleason Scores. Somit korrelierte der Gleason score mit den Metastasen, aber multivariable Analysen zeigten, dass der Gleason score keine zusätzlichen Informationen zum alleinigen Auszählen der Mikrogefäße lieferte. Weidner folgerte, dass MVD in invasiven Tumoren verwertbar ist, um Patienten für eine aggressive adjuvante Therapie bei frühem Stadium des Prostatakarzinoms auszuwählen.

Auch Brawer et al. schlußfolgerte in der Studie, dass eine quantitative Auswertung von MVD wichtige prognostische Informationen liefert, z. B. bezüglich der Einteilung der Patienten für neoadjuvante und adjuvante Therapien.

In einer der neuesten Studien wurde 2015 die Verbindung von tumorassozierten Makrophagen und der Mikrogefäßdichte bei Progression des Prostatakarzinoms untersucht. Um die Infiltration von tumorassozierten Makrophagen und die Mikrogefäßdichte als mögliche prognostische Faktoren für die Progression des Prostatakarzinoms zu evaluieren, untersuchten Yuri et al. 25 Proben mit hochgradiger intraepithelialer Prostata- Neoplasie (HGPIN) sowie 25 Proben mit Prostatakarzinom nach transurethraler Resektion der Prostata (TURP). Die Steigerung von tumorassozierten Makrophagen (TAM) stand nicht in Verbindung zur Erhöhung der Mikrogefäßdichte (Spearman Test $P=0,103$). Es gab keinen relevanten Unterschied zwischen der Anzahl der TAM und der MVD, zwischen Prostatakarzinom und HGPIN; der Mittelwert der TAM war jedoch höher bei Prostatakarzinom als HGPIN. Dennoch gab es Unterschiede des Mittelwerts von PSA zwischen Prostatakarzinom und HGPIN ($p<0,001$). Die TAM- Infiltration war nicht prädiktiv für den PSA- Wiederanstieg nach radikaler Prostatektomie. In dieser Studie zeigte sich kein Unterschied zwischen MVD in HGPIN und Prostatakarzinom mit Metastasen oder extrakapsulärer Ausbreitung.

Das Ergebnis von Yuri et al. zeigte wie auch weitere Studien zuvor, dass MVD mit einigen Parametern des Prostatakarzinoms nicht assoziiert war (Tumorgrad, vaskuläre Invasion, lymphatische Invasion, kapsuläre Penetration, PSA- Wiederanstieg und Überleben). Yuri et al. vermuten, dass das Fehlen einer Korrelation von MVD und Prostatakarzinom- Parametern vermutlich durch die

geringe Anzahl der Proben, die unterschiedlichen Methoden der MVD- Auszählung und die verschiedenen Färbemethoden verursacht ist.

Bis 2015 wurde keine Untersuchung mit der Steigerung von TAM und MVD assoziiert. Abschließend können Yuri et al. festhalten, dass TAM und MVD im Prostatakarzinom gesteigert auftraten jedoch nicht als unabhängiger Prädiktor brauchbar sind.

Als Therapieansatz könnte die Hemmung der Angiogenese eine effektive Methode sein, v.a. bei Patienten mit hohem Risiko für ein Prostatakarzinom.

In der Studie von Locher (2012) über die Expression des Neoangiogenesemarkers ED-B beim Adenokarzinom der Prostata konnte ein entsprechender Therapieansatz nachgewiesen werden. Er besteht in dem gezielten Angriff auf Tumorgefäße unter Verwendung des perivaskulär lokalisierten Neoangiogenesemarkers ED-B als Target, da solide Tumore auf Neoangiogenese angewiesen sind, um ihr Wachstum aufrechtzuerhalten. Locher konnte das Vorhandensein von ED-B, ebenso wie seine Ko-Lokalisation mit CD34 (endothelialer Gefäßmarker), in allen Prostatakarzinompräparaten und in den Lymphknotenmetastasen nachweisen, während sich im Normalgewebe der Prostata und in den Präparaten mit Prostatahyperplasie nur eine sehr geringe oder gar keine ED-B-Expression nachweisen ließ. Es zeigte sich eine signifikant höhere Gefäßdichte im Prostatakarzinom aller drei Differenzierungsgrade im Vergleich zu angrenzendem normalen Prostatagewebe. Ebenso war die Anzahl der ED-B-positiven Gefäße und die Gefäßneubildungsrate (also der prozentuale Anteil ED-B-positiver Gefäße an der Gesamtzahl der Gefäße) gleichfalls erhöht.

Bei dieser beschriebenen Untersuchung von Locher konnte gezeigt werden, dass die Expression von ED-B ein spezifisches Diskriminierungsmerkmal zwischen normalem oder hyperplastischem und tumorös verändertem Prostatagewebe ist. Hierdurch ergeben sich neue Ansätze in der Diagnostik sowie in der Therapie des Adenokarzinoms der Prostata.

Viele Studien zeigten aber auch keine signifikante Korrelation zwischen MVD und Gleason Score, Tumorstadium, Resektionsrandstatus oder Rezidiv, trotz einer guten Vergleichbarkeit des MVD-Status.

Dies zeigte die Studie von Rubin et al., bei der von 1993 bis 1995 100 Patienten untersucht wurden. In dieser Studie wurde wie in unserer Studie Immunfärbung des endothelial- spezifischen Antikörpers gegen CD31 angewandt, genutzt wurden die sogenannten "hot spots" (Areale mit dem größten Anteil an gefärbten Mikrogefäßen). Rubin fand heraus, dass die Mikrogefäßdichte in seiner Studie zuverlässig von einem Untersucher gemessen werden kann. Jedoch erwies sich hier die MVD nicht als brauchbarer prognostischer Faktor, da MVD weder mit Gleason Score noch mit Tumorstadium, Resektionsrandstatus, Blaseninfiltration oder PSA- Anstieg assoziiert war.

Desweiteren zeigte auch die Studie von Tretiakova in 2012 keinen Nutzen der Messung der Mikrogefäßdichte. Tretiakova teilte die Patienten in eine Gruppe von 60 Patienten mit gewöhnlichen histologischen Präparaten sowie eine weitere Gruppe von 136 Patienten mit angefertigten tissue micorarrays ein. Genutzt wurde ebenfalls die Immunfärbung des Antikörpers gegen CD31. Es konnte hier keine Signifikanz von erhöhtem MVD in Tumorgewebe dargestellt werden und es gab keine Assoziation mit dem Gleason Score. Die Mikrogefäßdichte war in Tretiakovas Studie somit nicht erhöht in Prostatakarzinomen im Vergleich zu normalem Prostatagewebe.

Krupski et al. zeigte, dass MVD und Chromogranin A (Tumormarker, der aus der Familie der Sekretogranine stammt) keine zusätzliche signifikante Addition zur Prognose darstellten.

Da es wie bei allen morphologischen Untersuchungen ein Risiko der Untersucher-Variabilität gibt, wurden in unserer Studie zwei unabhängige Untersucher eingesetzt. Es ergab sich ein akzeptables Resultat mit einem Kappa Koeffizienten von 0,545. In großangelegten Studien und großen Tumoren hängt die MVD-Bestimmung auch vom Betrachter ab, der das auszuzählende Areal aussucht, welches die höchste Mikrogefäßdichte aufweist. Somit könnten Studien mit Auszählungen der Mikrogefäßdichte allein durch die Tumorgöße und Auswahl des Auszähl- Areals nicht repräsentativ sein, v.a. wenn der verantwortliche Betrachter andere prognostische Variablen bereits kennt.

Auch umstritten ist der Nutzen der Mikrogefäßdichte als prognostischer Marker in kleineren Gewebeproben, in denen die Beurteilung von "hot spots" nicht möglich ist. In 221 Prostata- Nadelbiopsie- Proben wurde Immunohistochemie gegen Faktor VIII angewandt, es zeigte sich eine statistische Korrelation von MVD mit klinischem Stadium, Grade und Überlebensrate (Borre et al., 1998).

Um eine extra-prostatische Ausbreitung des Prostatakarzinoms vorauszusagen, berichteten Bostwick et al. in einer multiinstitutionellen Studie von der Stärke der MVD-Analysen kombiniert mit Gleason Score und Serum-PSA. Genutzt wurden wahllos ausgesuchte Prostata- Nadelbiopsie- Proben und ein automatisiertes digitales "Bild-Analysis-System". Die Vorhersagbarkeit von extra-prostatischer Ausbreitung erhöhte sich signifikant, aber die Vorhersagbarkeit war nicht erhöht für das Resultat bei Patienten mit tumorfreiem Resektionsrand und organbegrenztem Karzinom mit einer Gleason Score- Summe von 6 bis 9 (Bostwick et al., 1996).

In einer anderen Studie von Rogatsch et al. korrelierte die Mikrogefäßdichte in Prostata- Kern- Biopsien mit Karzinom gut mit der Mikrogefäßdichte im Tumor der nachfolgenden Prostatektomie- Proben und sagten extraprostatische Ausbreitung voraus.

Bubendorf et al. untersuchte 2001 die Methode der tissue microarrays (TMA). Diese erlauben eine massive Beschleunigung, um die Korrelation von Studien mit molekularen in situ Ergebnissen mit klinisch-pathologischen Informationen durchzuführen. Außerdem werden TMA für alle verschiedenen Typen von in situ

Gewebeanalysen angewandt. TMA ist hoch repräsentativ für das Spendergewebe trotz der kleinen Größe der individuellen Einzelprobe. Eine schnelle Durchführung von Studien mit tausenden Tumoren ist durch TMA möglich. TMAs werden eine signifikante Beschleunigung der Überleitung von wesentlichen Forschungsergebnissen zur klinischen Anwendung herbeiführen, stellte sich in Bubendorfs Studie heraus.

In unserer Studie wurden tissue microarrays angewandt, die jedoch nicht der Auszählung der Mikrogefäßdichte in Prostatektomie- Proben entsprachen, da eine "hot spot" Zählung nicht möglich war. Eher simulierten die TMA die Situation von Nadelbiopsie- Proben. Mit 0,6 mm Durchmesser war die Größe der TMA Kerne vergleichbar mit dem Durchmesser einer Nadelbiopsie.

Außerdem wurde für weitere Untersuchungen von den verschiedenen Biopsien die Biopsie mit dem höchsten Gleason Score oder größten Tumor-Anteil gewählt, der am wahrscheinlichsten den Index-Tumor repräsentiert. Dennoch ist es bedeutend, dass die Prostatabiopsien mehr oder weniger wahllos erhalten wurden, wohingegen wir in unserer TMA- Konstruktions- Methode den Index- Tumor der Prostatektomie- Probe kannten.

Der große Vorteil der TMA ist natürlich die Möglichkeit von großflächigen Analysen. Eine Untersuchung von mehr als 2500 Fällen könnte nur sehr schwer durch Nadelbiopsien durchgeführt werden.

Diese Studie ist die bisher größte Studie bezüglich Mikrogefäßdichte in Karzinomen. Wir beobachteten eine signifikante Korrelation zwischen MVD und Stage sowie Gleason Score, diese Parameter scheinen eng miteinander verbunden zu sein.

Die Tumorlokalisierung wird nur selten bei Studien von prognostischen Faktoren betrachtet, doch es gibt Hinweise, dass Unterschiede zwischen peripher gelegenen Karzinomen und Karzinomen in der Übergangszone der Prostata bestehen (Erbersdobler et al., 2004). In einer vorangegangenen Studie wurde bereits eine niedrigere Mikrogefäßdichte in Karzinomen in der Übergangszone gefunden (Erbersdobler et al., 2002).

Dieses konnten wir in unserer Studie an einer viel größeren Fallnummer bestätigen. Da Tumoren der Transitionszone weniger schmerzhaft zu sein scheinen, passt die niedrigere MVD gut in den Faktor-Komplex welche zur Tumor- Aggressivität beitragen.

Eine medizinische Therapie, die die Angiogenese beeinflusst, ist derzeit nicht für Prostatakarcinome eingeführt. Aber wenn diese Art der Therapie eine Option für diesen Tumortyp wäre, ist das Wissen über die Unterschiede der Mikrogefäßdichte zwischen individuellen Tumoren und Tumorlokalisierung von großer Bedeutung.

Einige Einschränkungen dieser Studie bestehen darin, dass das Wiederauftreten von PSA- Anstieg lediglich ein Ersatz- Marker für Rezidiv- freies Überleben ist und die mittlere Follow-up Periode nur 38,9 Monate betrug. Es kann möglich sein, dass die

Mikrogefäßdichte mit dem krankheitsspezifischen Überleben enger in Beziehung steht als mit dem PSA- Anstieg, dies zeigte die Studie von Concato et al..

Eine weitere Einschränkung ist, dass das "Hot Spot- Counting" von Mikrogefäßen von großen Teilen eines erfahrenen Pathologen höher und besser ausfällt als das Auszählen aller Mikrogefäße in jedem TMA- Spot eines unerfahrenen Untersuchers.

Es verbleibt die Frage, ob das sehr zeit-intensive Auszählen von Mikrogefäßen in präoperativen Biopsien eine nützliche zusätzliche prognostische Information für den individuellen Patienten liefern kann.

Obwohl die Resultate einer TMA- Studie nicht direkt in das Biopsie- Szenario transferiert werden können, stellte sich in unseren Analysen trotz der großen Fallzahlen heraus, dass der Zusatz der Mikrogefäßdichte neben den bereits gut etablierten prognostischen Faktoren von PSA- Wiederanstieg die multivariable vorhersagbare Genauigkeit nicht verbesserte.

Zusammenfassend zeigten unsere Untersuchungen, dass die Mikrogefäßdichte in Prostatakarzinomen in enger Beziehung zu anderen Faktoren steht, die die Tumoraggressivität prognostisch beurteilen.

Wie bereits vom American College of Pathologists in 1999 angegeben, ist die Durchsetzung dieses Parameters in die pathologischen Routine- Reporte von Prostatakarzinomen, besonders in kleinen Biopsie- Proben, auch bezüglich unserer Resultate, nicht empfohlen.

6. Zusammenfassung

Fragestellung:

Die Angiogenese ist ein wichtiger Faktor für die Tumorentwicklung. Die Mikrogefäßdichte (microvessel density, MVD) korrelierte in verschiedenen soliden Tumoren mit der Tumorphgnose. Der Wert der MVD in Prostatakarzinomen ist noch unklar, daher untersuchten wir das prognostische Potential der MVD in einer großen, einheitlichen Kohorte von Prostatakarzinomen. Wir korrelierten die MVD mit anderen pathologischen Parametern, um herauszufinden, ob die Mikrogefäßdichte ein unabhängiger prognostischer Parameter sein könnte.

Patienten und Methode:

Es wurden von 3261 Patienten, bei denen zwischen 1994 und 2005 im Universitätsklinikum Eppendorf eine radikale Prostatektomie durchgeführt wurde, die originalen Paraffinblöcke aus dem Archiv bearbeitet und als TMA angefertigt. Diese wurden immunhistochemisch mit Antikörpern gegen CD31 gefärbt. Die Mikrogefäße wurden in einer Blindstudie ausgezählt. Die Ergebnisse wurden mit prä- und postoperativen klinischen und pathologischen Parametern sowie klinischer Follow-up Data verglichen und korreliert. Das mittlere Follow-up lag bei 35,3 Monaten, mit einer Range von 0 bis 143 Monaten.

Ergebnisse:

Die Mikrogefäßdichte betrug im Mittel 16 mit einer Range von 0 bis 89. Die Mikrogefäßdichte war signifikant höher in TMA spots, die Gewebe des Prostatakarzinoms enthielten als in benignem Gewebe ($P < 0,001$). Es gab keine signifikante Korrelation von der Mikrogefäßdichte mit präoperativen Parametern, jedoch von MVD mit pathologischer T- Klassifikation und Gleason Score (jeweils $P < 0,001$).

Außerdem war die MVD höher bei Tumoren, die in der peripheren Zone lokalisiert waren ($P = 0,01$).

Für 1531 Patienten war verwertbare Follow- up Data vorhanden. MVD von ≥ 36 pro Spot war ein signifikanter Prädiktor von Wiederauftreten bzw. Wiederanstieg des PSA- Wertes nach radikaler Prostatektomie ($P = 0,03$).

Jedoch zeigte unsere Studie die Mikrogefäßdichte nicht als unabhängigen prognostischen Faktor in Verbindung mit Standard- Prädiktoren in einer multivariablen Analyse.

Schlußfolgerung:

Die Mikrogefäßdichte in Prostatakarzinomen ist eng verbunden mit anderen Faktoren, die zur Tumoraggressivität beitragen.

Dennoch scheint die Anwendung von MVD in routinierten pathologischen Reporten nicht empfohlen.

Abstract

Problem:

Angiogenesis is an important factor for tumor progression. The microvessel density (MVD) showed a correlation in different solid tumors with the prognosis of the tumor. Because the value of the MVD is still obscure we researched the prognostic potential of the MVD in a large consistent cohort of prostate cancers. The MVD was correlated with other pathologic parameters to find out if the MVD is an independent prognostic parameter.

Patients and methods:

The original compounds of prostatectomy were taken from 3261 patients which had a radical prostatectomy between 1994 and 2005. These compounds were made as a tissue microarray and were immunostained with the endothelial- specific antibody CD31. The microvessels were counted in an observer-blinded study. The results were compared and correlated with pre- and postoperative clinical and pathological parameters and clinical follow-up data. The mean follow-up showed 35,3 months, the range was between 0 and 143 months.

Results:

The MVD of prostate cancer had a mean of 16, the range was represented from 0 to 89. The MVD was significantly higher in TMA spots which had tissue of prostate cancer than in TMA spots with benign tissue ($P < 0,001$). There was no significant correlation between the MVD and preoperative parameters but there was a significant correlation between MVD and pathological T-classification or Gleason score ($P < 0,001$ each). MVD was higher in tumors which were localized in the peripheric zone ($P = 0,01$).

There was usable follow-up data for 1531 patients. The MVD of ≥ 36 per spot was a significant predictor for recurrence of PSA after radical prostatectomy ($P = 0,03$).

However, our study did not show the MVD as an independent prognostic factor in connection with the standard predictors in multivariable analysis.

Conclusions:

The MVD in prostate cancer is closely related with other factors which add to tumor aggression, nevertheless the use of MVD in routine pathological reports is not recommended.

7. Literaturverzeichnis

AJCC - American Joint Committee on Cancer

UICC - Union for International Cancer Control

Abuzallouf S, Dayes I, Lukka H (2004)

Baseline staging of newly diagnosed prostate cancer: a summary of the literature. *Journal of Urology* 171(6 Pt 1): 2122-7

Ash D, Flynn A, Battermann J, de RT, Lavagnini P, Blank L (2000)

ESTRO/EAU/EORTC recommendations on permanent seed implantation for localized prostate cancer. *Radiother Oncol*;57(3):315-21

Ayyathurai R, Mahapatra R, Rajasundaram R, Srinivasan V, Archard NP, Toussi H (2006)

A study on staging bone scans in newly diagnosed prostate cancer. *Urol Int* 76(3):209-12

Bader P, Burkhard FC, Markwalder R, Studer UE (2002)

Is a limited lymph node dissection an adequate staging procedure for prostate cancer? *Journal of Urology*;168(2):514-8

Bain GO, Koch M, Hanson J (1982)

Feasibility of grading prostate carcinomas. *Arch Pathol Lab Med* 106: 265-267

Bartha R, Griffiths K, Altwein JE (1996)

Der Einfluß nutritiver und non-nutritiver Nahrungsinhaltsstoffe auf die Inzidenz des Prostatakarzinoms. *Akt Urol* 27: 373-380

Bastacky SI, Wojno KJ, Walsh PC, Carmichael MJ, Epstein JI (1995)

Pathological features of hereditary prostate cancer
J. Urol. 153: 987-992

Beyer DC, Brachman DG (2000)

Failure free survival following brachytherapy alone for prostate cancer: comparison with external beam radiotherapy. *Radiother Oncol*;57(3):263-7

Böcking A, Sommerkamp H (1981)

Histologisches Malignitätsgrading des Prostatakarzinoms. Prognostische Validität, Reproduzierbarkeit und Repräsentativität. *Verh Dtsch Ges Urol* 32: 63-65

Bolla M, Collette L, Blank L, Warde P, Dubois JB, Mirimanoff RO, Storme G, Bernier J, Kuten A, Sternberg C, Mattelaer J, Lopez TJ, Pfeffer JR, Lino CC, Zurlo A, Pierart M (2002)

Long-term results with immediate androgen suppression and external irradiation in patients with locally advanced prostate cancer (an EORTC study): a phase III randomised trial. *Lancet*;360(9327):103-6

Bolla M, Van TG, Warde P, Dubois JB, Mirimanoff RO, Storme G, Bernier J, Kuten A, Sternberg C, Billiet I, Torecilla JL, Pfeffer R, Cutajar CL, van der KT, Collette L (2010) External irradiation with or without long-term androgen suppression for prostate cancer with high metastatic risk: 10-year results of an EORTC randomised study. *Lancet Oncol*;11(11):1066-73

Bono AV, Celato N, Cova V, Salvatore M, Chinetti S, Novario R (2002) Microvessel density in prostate carcinoma. *Prostate Cancer Prostatic Dis* 5: 123–127

Borre M, Offersen BV, Nerstrom B, Overgaard J (1998) Microvessel density predicts survival in prostate cancer patients subjected to watchful waiting. *Br J Cancer* 78: 940–944

Bostwick DG (1997a) Prostate Cancer; Microvessel density in needle biopsies may help to predict stage. In: *Cancer Network, Home of the journal oncology*

Bostwick DG (1997b) Neoplasms of the prostate. In: Bostwick DG, Eble JN (eds) *Urological surgical pathology* Mosby, St.Louis Baltimore Boston, pp 343-421

Bostwick DG, Cooner WH, Denis L, Jones GW, Scardino PT, Murphy GP (1992) The association of benign prostatic hyperplasia and cancer of the prostate. *Cancer* 70: 291-301

Bostwick DG, Grignon DJ, Hammond ME, Amin MB, Cohen M, Crawford D, Gospodarowicz M, Kaplan RS, Miller DS, Montironi R, Pajak TF, Pollack A, Srigley JR, Yarbrow JW (2000) Prognostic factors in prostate cancer. *College of American Pathologists Consensus Statement 1999. Arch Pathol Lab Med* 124: 995–1000

Bostwick DG, Wheeler TM, Blute M, Barrett DM, MacLennan GT, Sebo TJ, Scardino PT, Humphrey PA, Hudson MA, Fradet Y, Miller GJ, Crawford ED, Blumenstein BA, Mahran HE, Miles BJ (1996) Optimized microvessel density analysis improves prediction of cancer stage from prostate needle biopsies. *Urology* 48: 47–57

Boustead G, Edwards SJ (2007) Systematic review of early vs deferred hormonal treatment of locally advanced prostate cancer: a meta-analysis of randomized controlled trials. *BJU Int*;99(6): 1383-9

Brawer MK (1996) Quantitative microvessel density; A staging and prognostic marker for human prostatic carcinoma. *Cancer* 78: 345-9.

Brawer MK, Deering RE, Brown M, Preston SD, Bigler SA (1994) Predictors of pathologic stage in prostate carcinoma. The role of neovascularity. *Cancer* 73: 678-687

- Bria E, Cuppone F, Giannarelli D, Milella M, Ruggeri EM, Sperduti I, Pinnaro P, Terzoli E, Cognetti F, Carlini P (2009)
Does hormone treatment added to radiotherapy improve outcome in locally advanced prostate cancer?: meta-analysis of randomized trials. *Cancer*;115(15):3446-56
- Briganti A, Chun FK, Salonia A, Zanni G, Scattoni V, Valiquette L, Rigatti P, Montorsi F, Karakiewicz PI (2006)
Validation of a nomogram predicting the probability of lymph node invasion among patients undergoing radical prostatectomy and an extended pelvic Literatur © Leitlinienprogramm Onkologie | S3-Leitlinie Prostatakarzinom | Version 3.1, Oktober 2014 311 lymphadenectomy. *Eur Urol*;49(6):1019-26
- Bubendorf L, Nocito A, Moch H, Sauter G (2001)
Tissue microarray (TMA) technology: miniaturized pathology archives for high-throughput in situ studies. *Journal of Pathology*; J Pathol 195: 72-79
- Byrnes K, White S, Chu Q, Meschonat C et al. (2006)
High eIF4E, VEGF and microvessel density in stage I to III breast cancer. *Ann Surg*; 243: 684-690
- Campbell SC, Volpert OV, Ivanovich M, Bouck NP (1998)
Molecular mediators of angiogenesis in bladder cancer. *Cancer Res*; 58: 1298-304
- Concato J, Jain D, Uchio E, Risch H, Li WW, Wells CK (2009)
Molecular markers and death from prostate cancer. *Ann Intern Med* 150: 595–603
- Cornud F, Belin X, Piron D et al. Color Doppler-guided prostate biopsies in 591 patients with an elevated serum PSA level: impact on Gleason score for nonpalpable lesions. *Urology* 1997; 49: 709-715
- D'Amico AV, Tempany CM, Schultz D, Cormack RA, Hurwitz M, Beard C, Albert M, Kooy H, Jolesz F, Richie JP (2003)
Comparing PSA outcome after radical prostatectomy or magnetic resonance imaging-guided partial prostatic irradiation in select patients with clinically localized adenocarcinoma of the prostate. *Urology*;62(6):1063-7
- Dearnaley DP, Sydes MR, Graham JD, Aird EG, Bottomley D, Cowan RA, Huddart RA, Jose CC, Matthews JH, Millar J, Moore AR, Morgan RC, Russell JM, Scrase CD, Stephens RJ, Syndikus I, Parmar MK (2007)
Escalated-dose versus standard-dose conformal radiotherapy in prostate cancer: first results from the MRC RT01 randomised controlled trial. *Lancet Oncol*;8(6):475-87
- Deger S, Boehmer D, Roigas J, Schink T, Wernecke KD, Wiegel T, Hinkelbein W, Budach V, Loening SA (2005)
High dose rate (HDR) brachytherapy with conformal radiation therapy for localized prostate cancer. *Eur Urol*;47(4):441-8
- Deger S, Boehmer D, Turk I, Roigas J, Wernecke KD, Wiegel T, Hinkelbein W, Dinges S, Budach V, Loening SA (2002)
High dose rate brachytherapy of localized prostate cancer. *Eur Urol*;41(4):420-6

Delahunt B, Bethwaite PB, Thornotn A (1997)
Prognostic significance of microscopic vascularity for clear cell renal cell carcinoma.Br J Urol 80: 401-404

Denham JW, Steigler A, Lamb DS, Joseph D, Turner S, Matthews J, Atkinson C, North J, Christie D, Spry NA, Tai KH, Wynne C, D'Este C (2011)
Short-term neoadjuvant androgen deprivation and radiotherapy for locally advanced prostate cancer: 10-year data from the TROG 96.01 randomised trial. Lancet Oncol;12(5):451-9

DGU Leitlinienprogramm Onkologie 2014
S3-Leitlinie Prostatakarzinom | Version 3.1, Oktober 2014

Dhom G (1991)
Prostata In: Doerr W, Seiffert G (Hrsg) Pathologie des männlichen Genitale, Bd.21. Springer, Berlin Heidelberg New York, S 455-642

Eble JN, Epstein JI (1990)
Stage A Carcinoma of the prostate. In: Bostwick DG (ed) Pathology of the prostate, seminal vesicles and male urethra. Churchill-Livingstone, New York, pp 61-82

Egevad L, Ahmad AS, Algaba F, Berney DM, Boccon-Gibod L, Comperat E, et al. (2013)
Standardization of Gleason grading among 337 European pathologists.Histopathology 2013; 62 (2): 247-56

Engelbrecht MR, Jager GJ, Laheij RJ, Verbeek AL, van Lier HJ, Barentsz JO (2002)
Local staging of prostate cancer using magnetic resonance imaging: a meta-analysis. Eur Radiol 12(9):2294-302

Epstein JI, Carmichael M, Partin AW, Walsh PC (1993)
Is tumor volume an independent predictor of progression following radical prostatectomy? A multivariate analysis of 185 clinical stage B adenocarcinomas of the prostate with 5 years of followup. J Urol 149: 1478-1481

Epstein JI, Egevad L, Amin MB, Delahunt B, Srigley JR, Humphrey PA, et al. (2016)
The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma: definition of grading patterns and proposal for a new grading system. Am J Surg Pathol 2016; 40 (2): 244-52

Epstein JI, Partin AW, Sauvageot J, Walsh PC (1996)
Prediction of progression following radical prostatectomy: a multivariate analysis of 721 men with long term follow up. Am J Surg Pathol 20: 286-292

Erbersdobler A, Augustin H, Schlomm T, Henke RP (2004)
Prostate cancers in the transition zone.Part 1.Pathological aspects. BJU Int 94:1221–1225

Erbersdobler A, Fritz H, Schnöger S, Graefen M, Hammerer P, Huland H, Henke R-P (2002)

Tumour grade, proliferation, apoptosis, microvessel density, p53, and bcl-2 in prostate cancers: differences between tumours located in the transition zone and in the peripheral zone. *Eur Urol* 41:40–46

Ferrara N, Davis-Smyth T (1997)

The biology of vascular endothelial growth factor; *Endocr Rev*;18:4–25

Ficarra V, Novara G, Artibani W et al. (2009)

Retropubic, laparoscopic, and robot-assisted radical prostatectomy: a systematic review and cumulative analysis of comparative studies. *Eur Urol* 55: 1037-1063

Foss AJ, Alexander RA, Jeffries LW (1996)

Microvessel count predicts survival in uveal melanoma. *Cancer Res* 56: 2900-2903

Folkman J (2007)

Angiogenesis: an organizing principle for drug discovery? *Nat Rev Drug Discov*; 6: 273-286

Gettman MT, Bergstralh EJ, Blute M, Zincke H et al. (1998)

Prediction of patient outcome in pathologic stage T2 adenocarcinoma of the prostate: lack of significance for microvessel density analysis. *Urology*; 51: 79-85

Gimbrone MA Jr, Leapman SB, Cotran RS, Folkman J (1972)

Tumor dormancy in vivo by prevention of neovascularization. *J Exp Med* 136: 261–276

Gleason DF (1966)

Classification of prostatic carcinomas. *Cancer Chemother Rep* 50: 125-128

Gleason DF (1977)

The veterans administration cooperative urological research group. Histologic grading and clinical staging of prostatic carcinoma. In: Tannenbaum M (ed) *Urologic pathology: the prostate*. Lea & Febiger, Philadelphia, pp 171-197

Gleason DF (1990)

Histologic grading of prostatic carcinoma. In: Bostwick DG (ed) *Pathology of the prostate*. Churchill Livingstone, New York, pp 83-93

Gleason DF (1992)

Histologic grading of prostate cancer: a perspective. *Hum Pathol* 23: 273-279

Grignon DJ, Hammond EH (1995)

College of american pathologists conference XXVI on clinical relevance of prognostic markers in solid tumors. Report of the prostate cancer working group. *Arch Pathol Lab Med* 119: 1122-1126

- Hall MC, Troncoso P, Pollack A, Zhau HYE, Zagars GK, Chung LWK, Eschenbach AC (1994)
Significance of tumor angiogenesis in clinically localized prostate carcinoma treated with external beam radiotherapy. *Urol* 44:6 869-875
- Halpern EJ, Strup SE (2000)
Using gray-scale and color and power Doppler sonography to detect prostatic cancer. *AJR Am J Roentgenol* 2000; 174: 623-627
- Hanahan D, Folkman J (1996)
Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis. *Cell* 86: 353-64
- Harrell FE Jr, Lee KL, Mark DB (1996)
Multivariable prognostic models: issues in developing models, evaluating assumptions and adequacy, and measuring and reducing errors. *Stat Med* 15:361–387
- Heidenreich A, Varga Z, von Knobloch R (2002)
Extended pelvic lymphadenectomy in patients undergoing radical prostatectomy: high incidence of lymph node metastasis. *Journal of Urology*;167(4):1681-6
- Hinkelbein W, Miller K, Weigel T (1999)
Prostatakarzinom- urologische und strahlentherapeutische Aspekte. Berlin: pp 2- 42
- Holm S (1979)
A Simple Sequentially Rejective Multiple Test Procedure. *Scandinavian Journal of Statistics*, 6(2), 65-70
- Holmgren L, O'Reilly MS, Folkman J (1995)
Dormancy of micrometastases: balance proliferation and apoptosis in the presence of angiogenesis suppression. *Nat Med.* 1:149–53.
- Hutter RVP, Montie JE, Busch CH, Grignon DJ, Lieber M, Logothetis CH et al. (1996)
Workgroup 3: Current prognostic factors and their relevance to staging. *Cancer* 78: 369-371
- Ishizuka O, Tanabe T, Nakayama T, Kawakami M, Kinebuchi Y, Nishizawa O (2005)
Prostatespecific antigen, Gleason sum and clinical T stage for predicting the need for radionuclide bone scan for prostate cancer patients in Japan. *Int J Urol* 12(8):728-32
- Jünemann KP (2012)
Die computergestützte Prostatabiopsie: die Technik von morgen? *Urologik: Frühjahrstagung des Berufsverbandes der Österreichischen Urologen* 2012
- Kirschner CV, Alanis-Amezcuca JM, Martin VG (1996)
Angiogenesis factor in endometrial carcinoma: a new prognostic indicator? *Am J Obstet Gynecol* 174: 1879-1884

- Knobloch R, Marghawal D (2012)
Laterale 10-fach- Biopsie der Prostata liefert bei Karzinomverdacht überlegene Detektionsraten. *J Urol Urogynäkol* 2012; 19 (3)
- Krause BJ, Souvatzoglou M, Treiber U (2011)
Imaging of prostate cancer with PET/CT and radioactively labeled choline derivatives. *Urol Oncol*
- Krupski T, Petroni GR, Frierson HF, Theodorescu D (2000)
Microvessel density, p53, retinoblastoma and chromogranin A, immunohistochemistry as predictors of disease-specific survival following radical prostatectomy for carcinoma of the prostate. *Urology* 55: 743-749
- Laverdiere J, Nabid A, De Bedoya LD, Ebacher A, Fortin A, Wang CS, Harel F (2004)
The efficacy and sequencing of a short course of androgen suppression on freedom from biochemical failure when administered with radiation therapy for T2-T3 prostate cancer. *Journal of Urology*;171(3):1137-40
- Locher RJ (2012)
Die Expression des Neoangiogenesemarkers ED-B beim Adenokarzinom der Prostata. urn:nbn:de:kobv:188-fudissthesis000000037335-3
- Lowe F, Brendler CB (1992)
Evaluation of the urological patient. In: Walsh P et al. (eds) *Cambell's urology*, 6th edn. Saunders, Philadelphia
- Mazumdar M, Glassman JR (2000)
Categorizing a prognostic variable: review of methods, code for easy implementation and applications to decision-making about cancer treatments. *Stat Med* 19:113-132
- McNeal JE, Bostwick DG, Kindratchuk RA, Redwine EA, Freiha FS, Stamey TA (1986)
Patterns of progression in prostate cancer. *Lancet* 1986; 1: 60–63
- Menon M, Tewari A, Baize B et al. (2002)
Prospective comparison of radical retropubic prostatectomy and robot-assisted anatomic prostatectomy: the Vattikuti Urology Institute experience. *Urology* 60: 864-868
- Morris DE, Emami B, Mauch PM, Konski AA, Tao ML, Ng AK, Klein EA, Mohideen N, Hurwitz MD, Fraas BA, Roach M, III, Gore EM, Tepper JE (2005)
Evidence-based review of threedimensional conformal radiotherapy for localized prostate cancer: an ASTRO outcomes initiative. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*;62(1): 3-19
- Mottrie A, Ficarra V (2010)
Can robot-assisted radical prostatectomy still be considered a new technology pushed by marketers? The IDEAL evaluation. *Eur Urol* 58: 525-527

- Mucci LA, Powolny A, Giovannucci E, Liao Z, Kenfield SA, Shen R, Stampfer MJ, Clinton SK (2009)
Prospektive study of prostate tumor angiogenesis and cancer-specific mortality in the health, professionals follow-up study. *J Clin Oncol* 27(33):5627-33. doi: 10.1200/JCO.2008.20.8876.
- Müller H-A, Altenähr E, Böcking A, Dhom G, Faul P, Göttinger H et al. (1993)
Über Klassifikation und Grading des Prostatakarzinoms. *Verh Dtsch Ges Path* 64: 609-611
- Nilsson S, Norlen BJ, Widmark A (2004)
A systematic overview of radiation therapy effects in prostate cancer. *Acta Oncol*;43(4):316-81
- Offersen VB, Borre M, Overgaard J (1998)
Immunohistochemical determination of tumor angiogenesis measured by the maximal microvessel density in human prostate cancer. *APMIS* 106: 463-469
- Ogawa Y, Maeda K, Chung Y-S, Takatsuka S, Onoda N, Sawada T, Kato Y, Nitta A, Arimoto Y, Kondo Y, Sowa M (1995)
Tumour angiogenesis and tumour cell proliferation as prognostic indicators in gastric carcinoma. *British Journal of Cancer* 72: 319- 323
- Park BK, Kim B, Kim CK, Lee HM, Kwon GY (2007)
Comparison of phased-array 3.0-T and endorectal 1.5-T magnetic resonance imaging in the evaluation of local staging accuracy for prostate cancer. *J Comput Assist Tomogr* 31(4):534-8
- Partin A et al. (1990)
Prostate specific antigen in the staging of localized prostate cancer: Influence of tumor differentiation, tumor volume and benign hyperplasia. *J Urol* 143: 747
- Pienta KJ, Esper PS (1993)
Risk factors for prostate cancer. *Ann of Intern Med* 118: 793-803
- Pilepich MV, Winter K, Lawton CA, Krisch RE, Wolkov HB, Movsas B, Hug EB, Asbell SO, Grignon D (2005)
Androgen suppression adjuvant to definitive radiotherapy in prostate carcinoma--long-term results of phase III RTOG 85-31. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*;61(5): 1285-90
- Potters L, Morgenstern C, Calugaru E, Fearn P, Jassal A, Presser J, Mullen E (2005)
12-year outcomes following permanent prostate brachytherapy in patients with clinically localized prostate cancer. *Journal of Urology*;173(5):1562-6
- Rak JW, St.Croix BD, Kerbel RS (1995)
Consequences of angiogenesis for tumor progression, metastasis, and cancer therapy. *Anticancer Drugs*; 6: 3-18
- Robert – Koch – Institut (2015)
Prognose für 2016

Rogatsch H, Hittmair A, Reissigl A, Mikuz G, Feichtinger H (1997)
Microvessel density in core biopsies of prostatic adenocarcinoma: a stage predictor?
J Pathol 182:205–210

Ross RK, Bernstein L, Judd H, Hanisch R, Pike M, Henderson B (1986)
Serum testosterone levels in healthy young black and white man. J Nat Canc Inst 76:
45-48

Rubin MA, Buyyounouski M, Bagiella E, Sharir S, Neugut A, Benson M, de la Taille
A, Katz AE, Olsson CA, Ennis RD (1999)
Microvessel density in prostate cancer: lack of correlation with tumor grade,
pathologic stage and clinical outcome. Urology 53(3): 542-7

Sakr WA, Wheeler TM, Blute M, Bodo M, Calle-Rodrigue R, Henson DE et al. (1996)
Workgroup 2: staging and reporting of prostate cancer - sampling of the radical
prostatectomy specimen. Cancer 78 (2): 366-368

Schlomm T, Sauter G (2016)
Beurteilung des Prostatakarzinoms: Gleason- Score- Status 2016. Dtsch Arztebl; 113
(33-34): [14]

Schmoll HJ, Höffken K, Possinger K (2006)
Kompendium Internistische Onkologie, Springer Verlag

Seitz M, Gratzke C, Stief C, Tilki D (2012)
Bildgestützte Prostatastanzbiopsie. Akt Urol 2012; 43:321-329

Seitz M, Weiss C, Nanke R et al. (2010)
MRT/real-time TRUS Fusions-gesteuerte Prostatastanzbiopsie bei der Detektion des
Prostatakarzinoms- Eine Pilotstudie. Urologe A Suppl 2010; 143: 54

Shibuya M (2006)
Differential roles of vascular endothelial growth factor receptor-1 and receptor-2 in
angiogenesis. J Biochem Mol Biol; 39: 469-478.

Siegsmund M, Loy V, Hammermann F, May M (2006)
Tumorzvolumen und Tumorzvolumen/Prostatazvolumen als Prognoseparameter nach
radikaler Prostatektomie. Aktuel Urol; 37-V46

Silberman MA, Partin AW, Veltri RW, Epstein JI (1997)
Tumor angiogenesis correlates with progression after radical prostatectomy but not
with pathologic stage in Gleason sum 5 to 7 adenocarcinoma of the prostate. Cancer
79: 772–779

Sökeland J, Weiß HE (2011)
Häufigkeit des Prostatakarzinoms; www.prostata.de

Stamey TA, McNeal JE, Freiha FS, Redwine EA (1988)
Morphometric and clinical studies on 68 consecutive radical prostatectomies. J Urol
1988; 139: 1235–1241

- Taverna G, Colombo P, Grizzi F, Franceschini B et al. (2009)
Fractal analysis of two-dimensional vascularity in primary prostate cancer and surrounding non-tumoral parenchyma. *Pathol Res Pract*; 205: 438-444
- Tomisaki S, Ohno S, Ichiyoshi Y (1996)
Microvessel quantification and its possible relation with liver metastasis in colorectal cancer. *Cancer* 77: 1722-1728
- Tretiakova M, Antic T, Binder D, Kocherginsky M, Liao C, Taxy JB, Oto A (2012)
Microvessel density is not increased in prostate cancer: digital imaging of routine sections and tissue microarrays. *Hum Pathol*. 44(4): 495-502.
doi:10.1016/j.humpath.2012.06.009.
- Trinh QD, Sammon J, Sun M et al. (2012)
Perioperative outcomes of robot-assisted radical prostatectomy compared with open radical prostatectomy: results from the nationwide inpatient sample. *Eur Urol* 61: 679-685
- Vargas CE, Martinez AA, Boike TP, Spencer W, Goldstein N, Gustafson GS, Krauss DJ, Gonzalez J (2006)
High-dose irradiation for prostate cancer via a high-dose-rate brachytherapy boost: results of a phase I to II study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*;66(2):416-23
- Voges GE (1992)
Das klinisch organbegrenzte, radikal operierte Adenokarzinom der Prostata: Invasionscharakteristika, Prognosefaktoren sowie ihr Einfluß auf diagnostische und therapeutische Entscheidungen. Habilitationsschrift Johannes Gutenberg Universität Mainz
- Walsh PC, Lepor H, Egglestone JC (1983)
Radical prostatectomy with preservation of sexual function: anatomical and pathological consideration. *Prostate* 4: 473-485
- Wang L, Hricak H, Kattan MW, Schwartz LH, Eberhardt SC, Chen HN, Scardino PT (2006)
Combined endorectal and phased-array MRI in the prediction of pelvic lymph node metastasis in prostate cancer. *AJR Am J Roentgenol* 186(3):743-8
- Weidner N, Carroll PR, Flax J, Blumenfeld W, Folkman J (1993)
Tumor angiogenesis correlates with metastasis in invasive prostate carcinoma. *Am J Pathol* 143: 401-409
- Widmark A, Klepp O, Solberg A, Damber JE, Angelsen A, Fransson P, Lund JA, Tasdemir I, Hoyer M, Wiklund F, Fossa SD (2009)
Endocrine treatment, with or without radiotherapy, in locally advanced prostate cancer (SPCG-7/SFUO-3): an open randomised phase III trial. *Lancet*;373(9660):301-8
- Wilt TJ, air B, MacDonald R, Rutks I (2001)
Early versus deferred androgen suppression in the treatment of advanced prostatic cancer. *Cochrane Database Syst Rev*;(4):CD003506

Yuri P, Hendri AZ, Danarto R (2015)
Association between tumor-associated macrophages and microvessel density on
prostate cancer progression. *Prostate Int* 3 (2015) 93-98

8. Danksagung

Zunächst möchte ich mich insbesondere bei Herrn Prof. Dr. med. Haese für seine gute Betreuung, Ausdauer und Unterstützung während der gesamten Zeit der Doktorarbeit bedanken.

Mein Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. med. Erbersdobler vor allem für die Bereitstellung der Präparate aus dem Bestand der Pathologie des UKE.

Ganz herzlich bedanke ich mich bei meinem Ehemann Clinton Bird für seine großartige Unterstützung und Geduld.

Und außerdem danke ich meiner Mutter, Frau Almut Dix, für ihre Liebe und Zeit während des gesamten Studiums und während der Arbeit an der Doktorarbeit für mich und meine Familie.

9. Lebenslauf

entfällt aus datenschutzrechtlichen Gründen

10. Eidesstattliche Versicherung

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 (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: