

# **UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF**

Institut für Pathologie

Prof. Dr. med. Guido Sauter

## **Die prognostische Relevanz des Nodalstatus und quantitativer Parameter der nodalen Metastasierung beim Prostatakarzinom**

### **Dissertation**

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

vorgelegt von:

Diane Louise Leleu  
aus Nizza, Frankreich

Hamburg 2018

**Angenommen von der  
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 09.01.2019**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

**Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. Guido Sauter**

**Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: Prof. Dr. Markus Graefen**

INHALTSVERZEICHNIS

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>6</b>
1.1	Epidemiologie, Ätiologie und Diagnostik des Prostatakarzinoms .....	6
1.2	Therapeutische Ansätze beim Prostatakarzinom .....	9
1.2.1	Active Surveillance und watchful waiting.....	9
1.2.2	Primäre Strahlentherapie.....	10
1.2.3	Radikale Prostatektomie und Lymphadenektomie.....	10
1.2.4	Adjuvante Chemotherapie .....	11
1.3	Prognostischer Aussagewert der Lymphadenektomie .....	12
1.4	Fragestellung/Zielsetzung.....	13
<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b> .....	<b>14</b>
2.1	Patientenkollektiv .....	14
2.2	Lymphknotenpräparation.....	15
2.2.1	Traditionelle Lymphknotenpräparation.....	15
2.2.2	Gesamteinbettung des Fettgewebes.....	15
2.2.3	Immunhistochemische Untersuchung $\geq 4$ tumorfreier Lymphknotenblöcke.....	15
2.2.4	Aceton-Einbettung und immunhistochemische Untersuchung von mindestens 8 Lymphknotenblöcken.....	16
2.3	Untersuchte pathologische beziehungsweise histologische Parameter .....	17
2.3.1	TNM-Klassifikation und lokalisiertes vs. fortgeschrittenes Stadium .....	17
2.3.1.1	pT –Stadium .....	17
2.3.1.2	pN-Status.....	19
2.3.1.3	M-Status .....	19
2.3.1.4	Lokalisiertes versus fortgeschrittenes Prostatakarzinom .....	19
2.3.1	Gleason-Score .....	20
2.3.2	Anzahl der Lymphknotenmetastasen.....	21
2.3.3	Durchmesser der größten Lymphknotenmetastase.....	21
2.3.4	PSA- Wert und Biochemisches Rezidiv .....	21
2.4	Statistik .....	22
<b>3</b>	<b>Resultate</b> .....	<b>23</b>
3.1	Größe und Anzahl der detektierten Metastasen .....	23
3.2	Anteil der durchgeführten Lymphadenektomien .....	25
3.3	Einfluss der Verarbeitung auf die Ergebnisse der Lymphadenektomie .....	25
3.3.1	Einfluss der pathologischen Verarbeitung auf die Anzahl der Lymphknoten.....	25
3.3.2	Einfluss der Präparationsmethode auf den Anteil der N1-Patienten.....	28
3.3.3	Einfluss der Präparationstechnik auf die Anzahl der Lymphknoten- Metastasen pro Patient .....	30
3.3.4	Einfluss der Präparationsmethode auf den durchschnittlichen Durchmesser der größten Metastase pro Patient.....	30
3.4	Lymphknoten-Status und Tumorphänotyp .....	33
3.4.1	Lymphknoten-Status und Gleason-Score.....	33
3.4.2	Lymphknoten-Status und Tumorstadium.....	35
3.5	Lymphknotenbefunde und PSA-Rezidiv .....	37
3.5.1	Prognoseunterschied N0 versus N1 .....	37
3.5.2	Prognoseunterschied in Abhängigkeit von der Anzahl positiver Lymphknoten.....	39
3.5.3	Patientenprognose in Abhängigkeit von der Metastasengröße .....	41
<b>4</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>43</b>
4.1	Die prognostische Relevanz des Nodalstatus und quantitativer Parameter.....	43
4.2	Einfluss der Verarbeitung auf den Informationsgewinn der Lymphadenektomie.....	51
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>55</b>
<b>6</b>	<b>Abstract</b> .....	<b>56</b>

<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>57</b>
<b>8</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis.....</b>	<b>57</b>
<b>9</b>	<b>Danksagung.....</b>	<b>68</b>
<b>10</b>	<b>Lebenslauf .....</b>	<b>69</b>
<b>11</b>	<b>Eidesstattliche Versicherung .....</b>	<b>70</b>

**ABBILDUNGSVERZEICHNIS**

**Abbildung 1** Altersstandardisierte Rate der Mortalität in Deutschland, Frankreich, Finnland, USA und Australien zwischen 1980-2015 .....8

**Abbildung 2** Ausschnitt eines tumorbefallenen Lymphknotens in der Routine-HE-Untersuchung .....17

**Abbildung 3** Beispiel eines Lymphknotenpräparates mit Metastase .....20

**Abbildung 4** Beispiel eines Lymphknotenpräparates mit Metastase .....21

**Abbildung 5** Prozentuale Verteilung der durchschnittlichen Anzahl positiver Lymphknoten pro Patient sowie des durchschnittlichen Durchmessers der größten Metastase in mm pro Patient .....23

**Abbildung 6** Prozentualer Anteil erfolgreicher Lymphadenektomien an Gesamtzahl der RPE's im Zeitraum von 2006-2015, unterteilt nach Halbjahren .....26

**Abbildung 7** Durchschnittliche Anzahl identifizierter Lymphknoten pro LND- Patient innerhalb der Aktionszeiträume.....27

**Abbildung 8** Prozentualer Anteil nodalpositiver Patienten an Gesamtzahl der lymphadenektomierten Patienten innerhalb der Aktionszeiträume .....29

**Abbildung 9** Durchschnittliche Anzahl positiver Lymphknoten pro N1-Patient innerhalb der Aktionszeiträume .....31

**Abbildung 10** Durchschnittlicher Durchmesser der größten Lymphknotenmetastasen in mm pro N1-Patient innerhalb der Aktionszeiträume.....31

**Abbildung 11** Prozentualer Anteil nodalpositiver Patienten am Gesamtkollektiv der Patienten mit erfolgreicher Lymphadenektomie in Abhängigkeit einzelner Gleason-Scores .....33

**Abbildung 12** Durchschnittliche Anzahl positiver Lymphknoten pro N1- Patient in Abhängigkeit einzelner Gleason-Scores .....34

**Abbildung 13** Durchschnittlicher Durchmesser der größten Lymphknotenmetastase pro N1-Patient in mm in Abhängigkeit einzelner Gleason-Scores .....34

**Abbildung 14** Prozentualer Anteil nodalpositiver Patienten an Gesamtzahl erfolgreicher Lymphadenektomien in Abhängigkeit einzelner Tumorstadien .....35

**Abbildung 15** Durchschnittliche Anzahl positiver Lymphknoten pro N1-Patient in Abhängigkeit einzelner Tumorstadien .....36

**Abbildung 16** Durchschnittlicher Durchmesser der größten Lymphknotenmetastase pro N1-Patient in Abhängigkeit vom pT-Stadium .....36

**Abbildung 17** Prognoseunterschied nach erfolgreicher RPE mit LND in Hinblick auf das BCR-freie Überleben zwischen pN0- und pN1- Patienten im Gesamtkollektiv .....37

**Abbildung 18** Prognoseunterschied in Hinblick auf das BCR-freie Überleben zwischen pN0- und pN1- Patienten nach erfolgreicher RPE und LND in den einzelnen Gleason-Gruppen .....38

**Abbildung 19** Prognoseunterschied nach erfolgreicher RPE mit Lymphadenektomie in Hinblick auf das BCR-freie Überleben in Abhängigkeit von der Anzahl positiver Lymphknoten pro Patient (N= 10439) .....39

**Abbildung 20** Prognoseunterschied nach erfolgter RPE mit LND in Hinblick auf das BCR-freie Überleben in Abhängigkeit von der Anzahl positiver Lymphknoten in den einzelnen Gleason-Gruppen .....40

**Abbildung 21** Prognoseunterschied zwischen pN0- und pN1-Patienten im Hinblick auf das BCR-freie Überlebens in Abhängigkeit vom durchschnittlichen Durchmesser der größten Lymphknotenmetastase pro Patient .....41

**Abbildung 22** Prognoseunterschied zwischen pN0- und pN1- Patienten bezüglich des BCR-freien Überlebens in Abhängigkeit vom Durchmesser der größten Lymphknotenmetastasen pro Patient in mm .....42

**TABELLENVERZEICHNIS**

**Tabelle 1** TNM-Klassifikation des Prostatakarzinoms ..... 19

**Tabelle 2** Klinische Parameter des Patientengutes.....24

**Tabelle 3** Autorenübersicht .....44

## 1 Einleitung

### 1.1 Epidemiologie, Ätiologie und Diagnostik des Prostatakarzinoms

Das Prostatakarzinom (PCa) ist das häufigste Karzinom des Mannes in Deutschland und vielen anderen Gesellschaften weltweit.<sup>1-4</sup> Die Ätiologie dieser Tumorentität ist bis heute weitgehend ungeklärt, wobei nach aktuellem Wissensstand davon ausgegangen wird, dass Hormone, Genetik sowie Umwelteinflüsse eine entscheidende Rolle bei der Pathogenese spielen; hierbei werden Risikofaktoren wie Adipositas, Vitamin-D-Mangel, erhöhte beziehungsweise erniedrigte Androgen-Serumspiegel, Infektionen und chronische Inflammation sowie prädisponierende Gene wie beispielsweise das HOXB13-, ELAC2- und das BRCA-Gen diskutiert.<sup>5-11</sup> Die multifaktorielle Genese und teilweise widersprüchlichen Studienergebnisse erschweren bislang eine zuverlässige und individuelle Risikoabschätzung.

Global betrachtet variiert die Inzidenz je nach Region und ethnischer Herkunft erheblich, wobei die höchsten Inzidenzraten in Nordamerika und Ozeanien und die niedrigsten in Asien bestehen.<sup>12</sup> In Deutschland wird das Prostatakarzinom aktuell jährlich circa 60.000 mal neu diagnostiziert.<sup>3</sup> Wie in vielen anderen Ländern mit systematischer Krebsregisterabdeckung zeigte sich hierzulande ein deutlicher Anstieg der Inzidenzraten über die letzten vier Jahrzehnte, welcher sich auf mehrere Aspekte zurückführen lässt.<sup>13</sup> Zum einen steigt das Risiko, ein Prostatakarzinom zu entwickeln, mit dem Alter.<sup>12,14</sup> Somit stellt das Prostatakarzinom angesichts des demographischen Wandels ein wachsendes Gesundheitsproblem mit zunehmender Relevanz dar.<sup>11</sup> Zum anderen führten Fortschritte beziehungsweise Veränderungen in der urologischen Diagnostik zu immer mehr und gleichzeitig auch immer früheren Diagnosestellungen.<sup>15</sup>

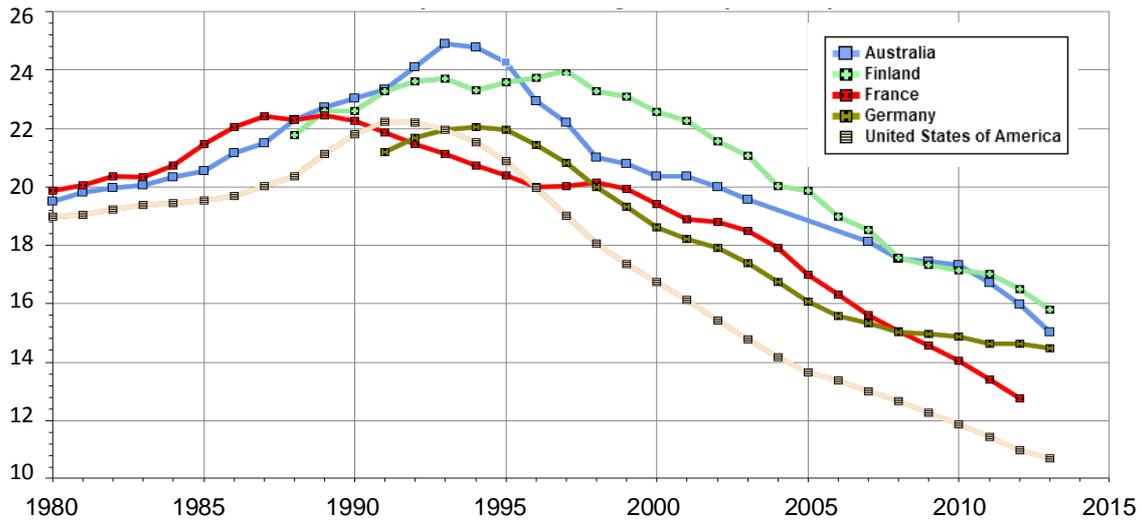
So resultierte die verstärkte Durchführung von TURPs ab Mitte der 1970er Jahre in einer vermehrten Entdeckung inzidenter Karzinome und, damit verbunden, einem bemerkenswerten jährlichen Anstieg der Inzidenz zwischen 1975 und den späten 1980er Jahren.<sup>16,17</sup> Ein weiterer, drastischer Anstieg seit den späten 1980er Jahren wurde darüber hinaus mit der Einführung der PSA-Untersuchung begründet, die in Deutschland für Männer ab 40-50 Jahren nach aktuellen Leitlinien teilweise empfohlen wird.<sup>18,19</sup> Sowohl die TURP als auch die

PSA-Untersuchung gehören inzwischen, zusammen mit der DRU und der Prostatabiopsie, zur Standarddiagnostik des Prostatakarzinoms und trugen in ihrer Gesamtheit zu einer Veränderung des Karzinomprofils bei, welche eine Verschiebung der diagnostizierten Tumorstadien zu niedrigeren und benigneren Tumorstadien zur Folge hatte.<sup>11,15,19</sup>

Zeitgleich entbrannte, gerade im Hinblick auf das PSA-Screening, die Diskussion über Vor- aber auch Nachteile der Vorsorgemaßnahmen.<sup>20–22</sup> Denn die systematische Suche nach einem sehr häufigen Tumor, der unentdeckt oftmals asymptomatisch bleiben würde, ist per se problematisch und birgt das Risiko einer Überdiagnose und -therapie von so detektierten, klinisch jedoch nicht zwangsläufig relevanten Tumoren. In der Tat führt das Prostatakarzinom, da es typischer Weise außen in der Prostata gelegen ist und demzufolge erst spät die, in der Tiefe lokalisierte, Urethra obstruiert, meist erst in späten, oft bereits inoperablen Stadien zu Symptomen wie Hämatospermie, Knochenschmerzen und Harnverhalt.<sup>4,23</sup> Dies geschieht meist entweder durch infiltratives Wachstum in Nachbarorgane wie die Harnblase und den Enddarm, oder aber durch Metastasierung, beispielsweise in die Knochen.<sup>24</sup>

Bei vielen Patienten bleibt das Prostatakarzinom allerdings zeitlebens klinisch irrelevant.<sup>11</sup> In diversen Autopsiestudien der letzten Jahrzehnte lag die Prävalenz latenter, also klinisch inapparenter, Prostatakarzinome in der Altersgruppe <30 Jahren im Schnitt bei 5% (95% KI: 3-8%) und stieg mit dem Alter kontinuierlich; Bei Patienten über 79 Jahren betrug sie im Schnitt 59% (95% KI: 48–71%).<sup>25</sup> Daraus lässt sich ableiten, dass ein Großteil der Patienten mit Prostatakarzinom nie klinische Symptome entwickelt und, als Konsequenz hieraus, viele Patienten heutzutage dem Risiko einer Übertherapie ausgesetzt werden.<sup>25</sup> In einer Analyse von Draisma et al. betrug der geschätzte Anteil der diagnostizierten Prostatakarzinome, welche ohne Screening zeitlebens klinisch stumm geblieben wären, bei 27% für 55-jährige Patienten. In der Altersgruppe der 75-jährigen betrug der Anteil sogar 56%.<sup>26</sup>

Innerhalb der letzten Jahrzehnte zeigte sich in Deutschland und vielen anderen



**Abbildung 1:** Altersstandardisierte Rate der Mortalität in Deutschland, Frankreich, Finnland, USA und Australien zwischen 1980-2015, (Quelle: Mortality Database der WHO, letzter Zugriff über <http://apps.who.int/healthinfo/statistics/mortality/whodpms/> am 01.06.2018)

Ländern nach Einführung des PSA-Screenings jedoch auch ein deutlicher Rückgang der Mortalität (siehe Abb. 1).<sup>27</sup> Lag die Sterberate (altersstandardisiert nach Europastandard) des Prostatakarzinoms in Deutschland beispielsweise 1999 noch bei 27,1 pro 100.000 Einwohner, war sie 10 Jahre später bereits auf 20,0 gesunken.<sup>28</sup>

In absoluten Zahlen betrachtet, zeigte sich – bei stetig steigender Lebenserwartung – trotz sinkender Mortalität, aber auch ein deutlicher Anstieg der Todesfälle. Bundesweit versterben derzeit etwa 13.000 Männer jährlich am Prostatakarzinom, was beinahe einer Verdopplung seit den 1940er Jahren entspricht.<sup>29</sup> Das PCa stellt damit aktuell hinter dem Bronchialkarzinom (29.354 jährlich, Statistisches Bundesamt, Stand 01.06.2018) die zweithäufigste Malignomassoziierte Todesursache in Deutschland dar. Diese große Zahl an Todesfällen macht deutlich, dass zum einen die Früherkennung trotz Verfügbarkeit eines potenten Tests (PSA-Serologie) längst nicht optimal ist und zum anderen auch die Behandlung des PCa noch weiter verbessert werden muss.

## **1.2 Therapeutische Ansätze beim Prostatakarzinom**

Zur Behandlung des Prostatakarzinoms stehen derzeit verschiedene Ansätze zur Verfügung, die sich individuell vor allem nach Alter und Allgemeinzustand des Patienten sowie Stadium des Tumors richten.<sup>4,19</sup> In Abhängigkeit dieser Faktoren und des Patientenwunsches kann zwischen abwartenden und kurativen beziehungsweise palliativen Therapieansätzen entschieden werden. In kurativer Intention werden derzeit standardmäßig die radikale Prostatektomie (RPE) und die Strahlentherapie eingesetzt, wobei die radikale Prostatektomie in den meisten Zentren den Goldstandard darstellt. Darüber hinaus besteht die Option einer zusätzlichen, adjuvanten hormonanblativen Therapie.<sup>19</sup>

### **1.2.1 Active Surveillance und watchful waiting**

Da das Prostatakarzinom durch ein langes, klinisch symptomloses Stadium gekennzeichnet ist, kann es in einigen Fällen sinnvoll sein, das Tumorwachstum abwartend zu beobachten. Dieser Therapieansatz wird auch als „Active Surveillance“ (dt. „Aktive Überwachung“) bezeichnet und eignet sich vor allem für Patienten mit Tumoren im Frühstadium, denen so zumindest vorerst die Nachteile einer invasiven Therapie erspart werden können; er schließt eine kurative Intervention im späteren Verlauf allerdings nicht aus. Der Patient wird hierbei engmaschig durch regelmäßige PSA-Untersuchungen, DRU's und Probenbiopsien kontrolliert, um eine eventuelle Aggressivitätszunahme des Tumors möglichst frühzeitig erkennen und dann gegebenenfalls intervenieren zu können. Gründe für den Übergang zu kurativen Therapiemaßnahmen stellen hierbei ein Herabsinken der PSA-Verdopplungszeit auf weniger als drei Jahre, ein Anstieg des Gleason-Scores auf >6, der bioptische Nachweis von Tumorgewebe in >2 Stanzen sowie zu jedem Zeitpunkt der Patientenwunsch dar. Davon abzugrenzen ist das „Watchful Waiting“ (dt. „Wachsames Zuwarten“), bei welchem konservativ bis zur symptomatischen Progression zugewartet wird. Im Gegensatz zur Active Surveillance ist der Therapieansatz in diesen Fällen jedoch nicht kurativ orientiert und richtet sich vor allem an Patienten mit einer Lebenserwartung von <10 Jahren, bei denen die Risiken einer Therapie überwiegen würden. Eine

Therapie erfolgt bei diesen Patienten palliativ beziehungsweise symptomorientiert, in der Regel in Form einer Hormontherapie.<sup>4,19</sup>

### **1.2.2 Primäre Strahlentherapie**

Zusammen mit der radikalen Prostatektomie stellt die Strahlenbehandlung einen der primären Therapieansätze in kurativer Intention dar. Die Strahlentherapie kann darüber hinaus auch adjuvant nach erfolgter radikaler Prostatektomie erfolgen; insbesondere bei Patienten mit lymphknotenpositivem PCa konnten retrospektive Studien hier eine Verbesserung des Langzeitüberlebens beobachtet werden.<sup>11,30</sup>

Die Bestrahlung kann entweder perkutan, das heißt von außen, oder aber als Brachytherapie, also von innen, erfolgen.<sup>19</sup> Für letzteres stehen wiederum die LDR- und die HDR-Therapie zur Verfügung. Diese unterscheiden sich dadurch, dass die Strahlenquellen entweder als sogenannte „Seeds“ dauerhaft in die Prostata implantiert werden, wo sie kontinuierlich geringe Mengen an Strahlen abgeben (LDR-Therapie) oder aber temporär eingesetzt werden, wobei das entsprechende Gewebe Strahlen höherer Intensität (HDR-Therapie) ausgesetzt wird. Sollte auch nach erfolgter Bestrahlung der Prostata eine Progression nicht zu verhindern sein oder aber der Patient sich zum Zeitpunkt der Diagnosestellung bereits in einem fortgeschrittenen beziehungsweise metastasierten Stadium befinden, besteht die Möglichkeit einer adjuvanten hormonablativen Therapie.<sup>19</sup>

### **1.2.3 Radikale Prostatektomie und Lymphadenektomie**

Die radikale Prostatektomie (RPE) als operativer Ansatz beinhaltet die komplette Entfernung der Prostata und gilt in vielen Zentren als Goldstandard. Sie ist besonders dann erfolgsversprechend, wenn es sich um ein lokal begrenztes Tumorstadium (T1b-T2) handelt, der Tumor also die Prostata noch nicht überschritten hat und die Lebenserwartung des Patienten mindestens 10 Jahre beträgt.<sup>19</sup> Meist werden neben der Prostata außerdem die Samenblasen sowie auch regionäre Lymphknoten entfernt. Dies geschieht primär aus diagnostischen Gründen, darüber hinaus wird auch ein kurativer Effekt der Lymphadenektomie (LND) selbst zunehmend diskutiert.<sup>31-38</sup>

Grundsätzlich können bei einer Prostatektomie nicht sämtliche, potentiell mit Metastasen befallene Lymphknoten entfernt werden. Zum einen kann das Karzinom präoperativ oft nur ungenügend lokalisiert werden, da häufig zwei oder mehrere, simultane Prostatakarzinome vorliegen. Oft breitet sich das Karzinom innerhalb der Prostata über einen relativ großen Bereich aus; geschieht dies kapselnah, besteht mitunter ebenfalls Zugang zu Lymphgefäßen. Die somit in für eine primäre Metastasierung in Frage kommenden Lymphknoten erstrecken sich über den gesamten Bereich des kleinen Beckens einschließlich der Lymphknotenregion entlang der A.Iliaca communis, A. Iliaca externa, A. Iliaca interna, Fossa obturatoria sowie präsakral.<sup>38-41</sup> Zum anderen hinaus wird nicht routinemäßig bei jedem Patienten überhaupt eine Lymphadenektomie durchgeführt, wobei die Ausdehnung der LND möglicherweise auch damit zusammenhängt, inwieweit der Chirurg von der Bedeutung dieser Maßnahme überzeugt ist. Immerhin drohen als Komplikationen unter anderem Lymphödeme, Lymphozelen (Ansammlung von Lymphflüssigkeit im Interstitium), Hämaturie, Harnröhrenstrikturen, Harnleiterstrikturen und erektile Funktionsstörungen.<sup>42</sup> Unter Berücksichtigung der möglichen Komplikationen ist es umso wichtiger, der Lymphadenektomie durch optimale Aufarbeitung einen maximalen diagnostischen Informationsgewinn zu ermöglichen.

#### **1.2.4 Adjuvante Chemotherapie**

Bei vielen Malignomen werden Patienten heutzutage – insbesondere in Hochrisikosituationen – zusätzlich bestrahlt oder chemotherapiert.<sup>43-45</sup> Adjuvante Chemotherapien sind beispielsweise beim Mamma-Karzinom oder beim Kolon-Karzinom bereits Standard.<sup>44,45</sup> Diese Therapie hat das Ziel kleine, klinisch, radiologisch oder serologisch nicht nachweisbare Metastasen zu eradizieren.<sup>44,46</sup> Dabei wird postuliert, dass eine Chemotherapie dann besonders effizient sein sollte, wenn nur eine minimale Tumormenge vorliegt, während die gleiche Chemotherapie bei größerer Tumormenge gegebenenfalls nicht mehr ausreichen könnte, um die gesamte Tumormasse zu zerstören.<sup>47</sup> Seit einiger Zeit wird auch beim Prostatakarzinom der potenzielle Nutzen adjuvanter therapeutischer Maßnahmen vermehrt diskutiert.<sup>48-50</sup> Erste Studien

deuten darauf hin, dass der Einsatz von Chemotherapeutika wie Docetaxel oder Cabazitaxel zu einer Verbesserung der Patientenprognose führen könnte.<sup>4,51–54</sup>

Falls sich diese Daten bewahrheiten und eine adjuvante Chemotherapie beim PCa relevant werden sollte, wäre es nach erfolgter RPE noch wichtiger als zuvor, eine zuverlässige Einschätzung der Patientenprognose vorzunehmen beziehungsweise diejenigen aggressiven Tumore zu identifizieren, welche eine adjuvante Therapie notwendig machen. Etablierte Prognosefaktoren für das Prostatakarzinom sind heute vor allem das pT-Stadium, der Serum-PSA-Wert, der Gleason-Grad des Tumors (nähere Erklärung siehe Kapitel 2.3) sowie der Nodalstatus, dessen prognostische Relevanz im Rahmen dieser Arbeit näher beleuchtet werden soll.

### **1.3 Prognostischer Aussagewert der Lymphadenektomie**

Von besonderem Interesse sollte, im Hinblick auf die Frage, ob der Tumor okkulte Metastasen gesetzt hat oder nicht, auch der Zustand der regionären Lymphknoten sein, denn ein positiver Nodalstatus geht mit einer verschlechterten Prognose einher.<sup>55–59</sup> Mehrere Studien haben jüngst darauf hingedeutet, dass dabei nicht nur die alleinige An- oder Abwesenheit von Lymphknotenmetastasen prognoserelevant ist, sondern auch das Ausmaß der Lymphknotenmetastasierung. So wurde in einzelnen Studien gezeigt, dass sowohl Anzahl der Lymphknotenmetastasen als auch deren Größe beziehungsweise Volumen signifikante prognostische Bedeutung besitzen.<sup>59–63</sup>

Dass die Anzahl der Lymphknotenmetastasen prognoserelevant ist, ist nicht notwendigerweise intuitiv, denn Lymphknotenmetastasen per se töten die betroffenen Patienten nicht.<sup>64</sup> Es könnte argumentiert werden, dass das Vorliegen von Metastasen in Lymphknoten die generelle Metastasierungsfähigkeit des Tumors anzeigt und dass alle Tumore mit mehr oder weniger Lymphknotenmetastasen dann auch – potentiell letale – hämatogene Metastasen absiedeln.<sup>33,64,65</sup> Die meisten Studien, welche quantitative Parameter der Lymphknotenmetastasierung, wie die Zahl der befallenen Lymphknoten oder die Größe der Metastasen untersuchen, sind relativ klein und beinhalten nur wenige metastatische Fälle. Boorjian et al.

(n=507) postulierten, dass der Gleason-Grad, das Vorliegen eines R1-Status sowie das Vorhandensein von  $\geq 2$  positiven Lymphknoten signifikante Auswirkungen auf das Überleben haben. Nach 10 Jahren hatten Patienten in den Gruppen N0, N1 (1 positiver Lymphknoten) und N1 ( $\geq 2$  positive Lymphknoten) eine PSA-Rückfalls-Freiheit von 68%, 57% beziehungsweise 54% ( $p < 0.001$ ).<sup>66</sup> Auch Schumacher et al. konnten in einer Studie mit 122 N1-Patienten zeigen, dass die Anzahl der positiven Lymphknoten und der Gleason-Score den Krankheitsprogress sowie das Überleben signifikant beeinflussen. Das Krebs-spezifische Überleben lag hier bei Patienten mit  $\leq 2$  positiven Lymphknoten bei 78,6%, wohingegen es bei Patienten mit  $\geq 3$  positiven Lymphknoten bei 33,4% lag ( $p < 0.001$ ). Auch die Chance, frei von PSA-Rückfällen, also einem erneuten Anstieg der Serumwerte, zu bleiben, stieg signifikant mit der Anzahl der positiven Lymphknoten (Patienten mit 1, 2 beziehungsweise  $\geq 3$  positiven Lymphknoten hatten nach 5 Jahren eine Chance von 24,7%, 11,8% beziehungsweise 4,9%;  $p < 0.001$ ).<sup>41</sup> Passoni et al. evaluierten zudem in einer Studie mit 484 N1-Patienten den Einfluss der Größe der größten Lymphknotenmetastase und konnten zeigen, dass sowohl die Anzahl der positiven Lymphknoten als auch der Durchmesser der größten Lymphknotenmetastase unabhängige Einflussfaktoren für das PSA-Rückfalls-Risiko sind. Patienten mit  $\geq 3$  positiven Lymphknoten zeigten hierbei ein 2,7-fach höheres Risiko, einen PSA-Rückfall zu erleiden, als Patienten mit  $\leq 2$  positiven Lymphknoten ( $p < 0.0001$ ). Betrug der größte Durchmesser von Lymphknotenmetasen  $< 10$  mm, waren nach 12 Monaten 64% der Patienten frei von einem PSA-Rückfall (BCR), betrug er  $\geq 10$  mm waren es 52% ( $p < 0.001$ ).<sup>67</sup>

#### **1.4 Fragestellung/Zielsetzung**

Am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf besteht mit der Martiniklinik seit nun mehr als 10 Jahren die größte Prostatakarzinom-Klinik der Welt. Aktuell werden am UKE mehr als 2.200 Prostatektomien jährlich durchgeführt. Die an der Martiniklinik operierten Patienten erhalten jährlich einen Fragebogen, der umfangreiche klinische Verlaufsdaten abfragt. Damit besteht mittlerweile eine Datenbank von mehr als 17.000 am UKE operierten Prostatakarzinom-Patienten, von denen bei einer Großzahl klinische Verlaufsdaten vorliegen.

Diese Datenbank erlaubt somit die Beantwortung zahlreicher Fragestellungen, welche die klinische Relevanz von pathologischen, histologischen beziehungsweise molekularen Parametern betreffen.

Die vorliegende Doktorarbeit beschäftigt sich zunächst mit der Frage, inwieweit die quantitativen Parameter der Lymphknotenmetastasierung prognostisch relevant sind. Da prinzipiell die Möglichkeit besteht, bei Hochrisiko-Patienten eine adjuvante Behandlung durchzuführen, ist es wichtig, vorhandene Lymphknoten-Metastasen auch zuverlässig zu detektieren. Der Nachweis von Lymphknoten-Metastasen hängt dabei stark von der Präparationsmethode ab, welche im Laufe der letzten 10 Jahren am Institut für Pathologie mehrfach optimiert worden ist. Da die einzelnen Präparationstechniken über verhältnismäßig lange Zeiträume ausgeführt wurden, sollten die vorhandenen Daten es ebenfalls erlauben, den Einfluss der Präparationstechniken auf die Detektionswahrscheinlichkeit von Lymphknoten zu analysieren. Dementsprechend war das zweite Ziel dieser Arbeit, die Bedeutung verschiedener Aspekte der Lymphknotenpräparation und deren Einfluss auf die Diagnostik bei Prostatakarzinom-Patienten zu evaluieren.

## **2 Material und Methoden**

### **2.1 Patientenkollektiv**

Das Untersuchungskollektiv umfasste 17.137 Patienten, bei denen zwischen 2006 und 2015 eine radikale Prostatektomie am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf (UKE) durchgeführt wurde. Klinische Follow-up Daten (Zeit bis zum biochemischen Rezidiv) waren von 14.308 Patienten vorhanden. Der mittlere Nachbeobachtungszeitraum betrug 34,5 Monate (1-84 Monate). Die Verteilung der Tumorstadien war pT2 bei 11.300, pT3a bei 3.570, pT3b bei 2.185 und pT4 bei 66 Patienten. Die Verteilung des Gleason-Scores war  $\leq 3+3=\leq 6$  bei 2.474,  $3+4=7$  bei 10.265,  $4+3=7$  bei 3083 und  $\geq 4+4$  bei 1.297 Patienten. Eine Lymphadenektomie wurde bei 12.738 Patienten durchgeführt, klinische Follow-up-Daten für diese Patientengruppe waren von 10.439 Patienten vorhanden.

## **2.2 Lymphknotenpräparation**

Der Aufwand für die Präparation und die Untersuchung der Lymphknoten wurde im Laufe der Zeit am Institut für Pathologie mit zunehmendem Bewusstsein der Bedeutung des Parameters „pN“ (pathologisch gesicherter Lymphknotenstatus) laufend optimiert. Die jeweils untersuchten Methoden der Lymphknotenpräparation lassen sich in vier Abschnitte aufteilen, welche in verschiedenen, zeitlich definierten Phasen vorherrschten (siehe Kapitel 2.2.1 bis 2.2.4).

### **2.2.1 Traditionelle Lymphknotenpräparation**

Diese Maßnahme wurde bis zum 12.11.2008 am Institut durchgeführt. Es handelt sich dabei um ein klassisches Verfahren. Die vom Chirurgen übermittelten Lymphknoten wurden hierbei von einem Pathologen manuell untersucht. Zunächst wurde das gesamte Fettgewebe durchpalpiert und die ertasteten Lymphknoten zur histologischen Untersuchung in Kapseln eingebettet. Das übrig gebliebene Fettgewebe wurde verworfen. 3.642 Patienten wurden in diesem Zeitraum prostatektomiert, davon erhielten 1.957 eine Lymphadenektomie.

### **2.2.2 Gesamteinbettung des Fettgewebes**

Dieses Verfahren wurde am UKE vom 13.11.2008 bis zum 06.11.2012 angewandt. Hierbei wurden zunächst, wie in 2.2.1. beschrieben, die palpablen Lymphknoten herauspräpariert und separat eingebettet. Im Anschluss wurde jedoch das gesamte restliche Fettgewebe nicht verworfen, sondern ebenfalls in Kapseln eingebettet und histologisch untersucht. Dieses Verfahren sollte vermeiden, dass schwer zu palpierende Lymphknoten bei der Präparation übersehen werden. Bei 5.917 der 7.902 RPE-Patienten innerhalb dieses Zeitraumes wurde eine Lymphadenektomie durchgeführt.

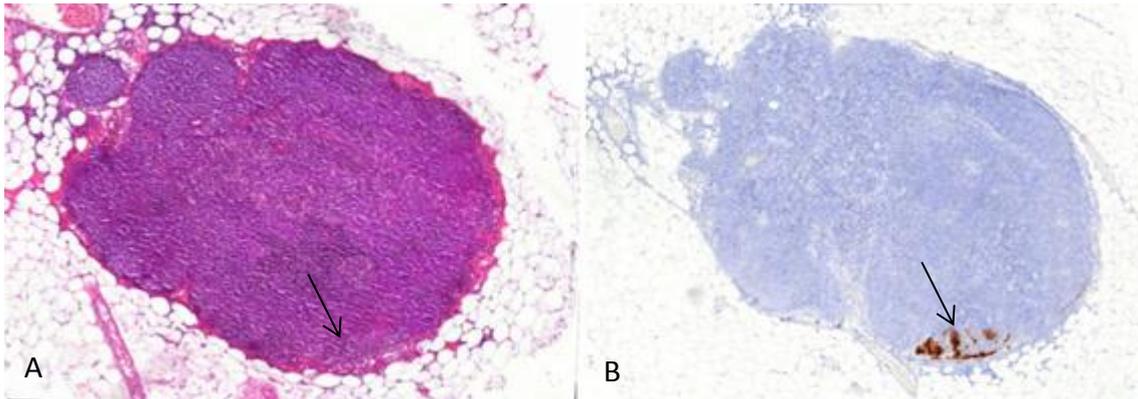
### **2.2.3 Immunhistochemische Untersuchung von mindestens 4 tumorfreien Lymphknotenblöcken**

Dieses Verfahren wurde am 07.11.2012 routinemäßig eingeführt. Dabei wurde vorgegangen wie unter 2.2.2 beschrieben. Die Lymphknotenpräparate wurden histologisch untersucht. Im Falle eines fehlenden Metastasennachweises wurden mindestens 4 Blöcke, welche jeweils Lymphknoten beinhalteten, zusätzlich immunhistochemisch mit Antikörpern gegen Zytokeratine (AE1/3) untersucht. Zur immunhistochemischen Färbung wurden frisch angefertigte Schnitte deparaffinisiert und anschließend für 5 Minuten zum Antigen-Retrieval bei 121°C in Tris-EDTA-Citrat-Pufferlösung (pH 7,8) autoklaviert. Ein spezifisch gegen AE1/3 gerichteter Antikörper (polyklonaler Maus-Antikörper, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO; cat#HPA037888; Verdünnung 1:150) wurde dann für 60 Minuten bei 37° hinzugefügt. Gebundene Antikörper wurden mittels EnVision Kit (Dako, Glostrup, Dänemark) gemäß den Herstelleranweisungen visualisiert (Beispiel siehe Abbildung 2).

Innerhalb dieses Zeitraumes wurden 3.283 prostatektomiert und davon 2.833 Patienten lymphadenektomiert.

### **2.2.4 Aceton-Einbettung und immunhistochemische Untersuchung von mindestens 8 Lymphknotenblöcken**

Dieses Verfahren wird am UKE seit dem 23.06.2014 angewendet. Dabei erfolgte eine doppelte Umstellung. Zuerst wird das vom Chirurgen entfernte Fettgewebe nach erfolgter Formalin-Fixierung einer Aceton-Behandlung unterzogen. Dieses Verfahren hat das Ziel, die Lipide aus dem Fettgewebe zu entziehen, so dass das Gewebe besser präparierbar ist. Wie unter anderem von Basten et al. beschrieben, werden durch die Aceton-Behandlung die anatomischen Strukturen fixiert und den Lipozyten das Fett entzogen, sodass nur noch die Zellmembranen und Kerne übrig bleiben.<sup>68</sup> Richter et al. konnten zeigen, dass durch die Behandlung des Fettgewebes mit Aceton (Verhältnis 1:2) nach 16 Stunden die Lymphknoten derber und somit besser tastbar waren.



**Abbildung 2:** A: Ausschnitt eines Tumorbefallenen Lymphknotens in der Routine-HE-Untersuchung. Der Pfeil zeigt den Ort der Metastase. Die Metastase selber ist auf dem Schnitt nicht erkennbar. Auf dem tieferen Schnitt (B), welcher immunhistochemisch angefärbt worden ist wird die Metastase sichtbar (Pfeil).

In 15% der Fälle wurden hier weitere Lymphknotenmetastasen gefunden und in 8% der Fälle führte dies zu einer Änderung des N-Status.<sup>69</sup>

Auch hier wurde anschließend das restliche Fettgewebe vollständig in Blöcken eingebettet. Gleichzeitig wurde die immunhistochemische Untersuchung mittels AE1/AE3 -Antikörpern von tumorfreien Blöcken auf 8 Blöcke pro Patienten ausgedehnt. Diese Umstellung geschah aufgrund der Erkenntnis, dass viele Lymphknotenmetastasen nicht in den größten Lymphknoten anzutreffen sind, sondern dass sehr viele, sehr kleine Lymphknotenmetastasen auch in sehr kleinen Lymphknoten anzutreffen sind. 2.031 Patienten von insgesamt 2.310 RPE-Patienten wurden bis zu Beginn der vorliegenden Arbeit auf diese Weise untersucht.

## 2.3 Untersuchte pathologische beziehungsweise histologische Parameter

### 2.3.1 TNM-Klassifikation und lokalisiertes vs. fortgeschrittenes Stadium

#### 2.3.1.1 pT –Stadium

Das pT-Stadium richtet sich nach der Ausbreitung des Tumors und wird nach TNM- Klassifikation maligner Tumoren der „Union Internationale Contre Le Cancer“ (UICC) beschrieben (siehe Tabelle 1).<sup>70</sup> Dabei entspricht „T1“ einem zufällig entdeckten Tumor, der weder durch Palpation, noch durch Bildgebung Zentdeckt wurde. „T1a“ beschreibt hierbei Tumoren, die in  $\leq 5\%$  des Gewebes

**Tabelle 1:** TNM-Klassifikation des Prostatakarzinoms, adaptiert von Wittekind, C. & Meyer, H.-J. (2010) TNM: Klassifikation maligner Tumoren. Wiley-VCH Verlag, 7. Auflage<sup>70</sup>

<b>T-Wert</b>	<b>Bedeutung</b>
<b>T1</b>	Der Tumor ist nicht zu tasten und nicht sichtbar durch bildgebende Verfahren.
<b>T1a</b>	Der Tumor wurde zufällig in entferntem Gewebe gefunden und ist in weniger als fünf Prozent des Gewebes nachweisbar.
<b>T1b</b>	Der Tumor wurde zufällig in entferntem Gewebe gefunden und ist in mehr als fünf Prozent des Gewebes nachweisbar.
<b>T1c</b>	Der Tumor wurde durch eine Stanzbiopsie bei erhöhtem PSA-Wert nachgewiesen.
<b>T2</b>	Der Tumor ist auf die Prostata begrenzt.
<b>T2a</b>	Der Tumor nimmt weniger als die Hälfte eines Prostatalappens ein.
<b>T2b</b>	Der Tumor nimmt mehr als die Hälfte eines Prostatalappens ein.
<b>T2c</b>	Der Tumor ist in beide Prostatalappen eingewachsen.
<b>T3</b>	Der Tumor hat die Kapsel durchbrochen.
<b>T3a</b>	Der Tumor hat die Kapsel ein- oder beidseitig durchbrochen.
<b>T3b</b>	Der Tumor ist in die Samenblase eingewachsen.
<b>T4</b>	Der Tumor wächst in die umliegenden Organe (Blasenhals, Blasenschließmuskel, Enddarm, Beckenwand) ein.
<b>N-Wert</b>	<b>Bedeutung</b>
<b>N0</b>	Es sind keine Lymphknoten befallen.
<b>N1</b>	Es sind Lymphknoten befallen.
<b>Nx</b>	Ob Lymphknoten befallen sind, wurde nicht untersucht oder kann nicht beurteilt werden.
<b>M-Wert</b>	<b>Bedeutung</b>
<b>M0</b>	Es sind keine Metastasen vorhanden.
<b>M1</b>	Es sind Metastasen vorhanden.
<b>Mx</b>	Es kann nicht beurteilt werden, ob Metastasen vorhanden sind.

und „T1b“ Tumoren, die in  $\geq 5\%$  des Gewebes nachweisbar sind. Wurde das Gewebe im Rahmen einer Stanzbiopsie bei erhöhtem PSA-Wert entnommen, wird dies mit „T1c“ beschrieben. Im Stadium „T2“ liegt ein auf die Prostata begrenzter Tumor vor. Je nach Ausdehnung auf die Prostatalappen wird zwischen „T2a“ (Befall von weniger als 50% eines Prostatalappens), „T2b“ (Befall von mehr als 50% eines Prostatalappens) und „T2c“ (Befall beider Prostatalappen) unterschieden. Im Stadium „T3“ hat der Tumor die Organkapsel durchbrochen (T3a) und gegebenenfalls die Samenblase infiltriert (T3b). Das Stadium „T4“ bezeichnet das schwerste Stadium und liegt vor, wenn der Tumor bereits in Nachbarorgane, wie etwa den Darm oder die Harnblase eingewachsen ist.<sup>70</sup>

#### **2.3.1.2 pN-Status**

Je nach Vorliegen oder Fehlen von Lymphknotenmetastasen wurde der TNM-Klassifikation entsprechend der pN-Status als „pN0“ oder „pN1“ klassifiziert, wobei „pN0“ das Fehlen und „pN1“ das Vorhandensein von Lymphknotenmetastasen bezeichnet. Kann der Nodalstatus nicht beurteilt werden, wird dies als „Nx“ bezeichnet.<sup>70</sup>

#### **2.3.1.3 M-Status**

Der M-Status beschreibt das Vorliegen von Fernmetastasen. „M1“ kennzeichnet hierbei das Vorhandensein und „M0“ die Abwesenheit von Fernmetastasen. Kann der M-Status nicht eindeutig beurteilt werden, wird dieser als Mx bezeichnet. Als Fernmetastasen werden hierbei Metastasen in anderen Organen oder Knochen gewertet. Auch Metastasen nicht benachbarter Lymphknoten (außerhalb des Beckens) werden als Fernmetastasen klassifiziert.<sup>70</sup>

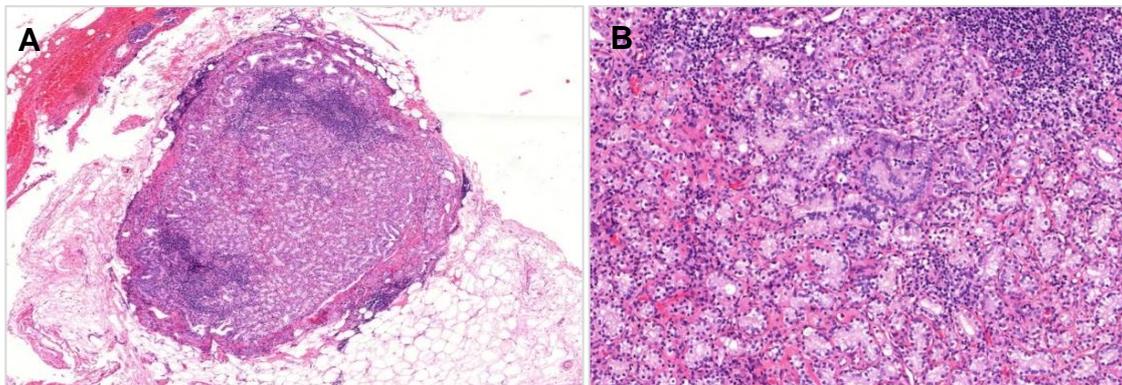
#### **2.3.1.4 Lokalisiertes versus fortgeschrittenes Prostatakarzinom**

Tumoren der Stadien T1-2 N0 M0 bezeichnet man als lokal begrenztes Prostatakarzinome. Das lokal fortgeschrittene Prostatakarzinom liegt bei den Stadien T3-4 N0 M0 vor. Hat bereits eine Metastasierung stattgefunden, liegt

also ein N1- oder M1-Stadium vor. wird von einem fortgeschrittenen beziehungsweise metastasiertem Prostatakarzinom gesprochen.<sup>19</sup>

### 2.3.1 Gleason-Score

Von jedem Tumor wird der Gleason-Score nach einem standardisierten Verfahren festgelegt. Es handelt sich dabei im Wesentlichen um die Parameter, welche in der ISUP Empfehlung von 2005 empfohlen worden waren.<sup>71</sup> Hiernach werden Prostatakarzinome anhand ihrer Morphologie in 5 Muster unterteilt, wobei mit Muster 1 höchstdifferenzierte und Muster 5 entdifferenzierte Tumoren klassifiziert werden. Da die meisten Tumoren mehr als ein Differenzierungsmuster aufweisen, werden sowohl das am meisten vorherrschende als auch das zweithäufigste Muster ermittelt und dann zu einem kombinierten Gleason-Score addiert, wobei an erster Stelle immer das dominierende beziehungsweise häufigste Muster genannt wird.<sup>71,72</sup> Ein Tumor des Gleason-Scores 4+3=7 weist somit eine schlechtere Differenzierung als ein Tumor des Gleason-Scores 3+4=7 auf. Bei Tumoren, die einheitliche Differenzierungsmuster aufweisen, wird das Muster zweifach genannt, zum Beispiel Gleason 3+3. In einigen Fällen weist der Tumor darüber hinaus ein drittes, weniger differenzierteres Gleason-Muster auf, welches dann als Tertiärgrad bezeichnet wird, beispielsweise „Gleason 3+4, Tertiärgrad 5“.



**Abbildung 3:** **A:** Beispiel eines Lymphknotenpräparates mit Metastase, 10-fache Vergrößerung. Der Lymphknoten ist komplett mit metastatischem Gewebe eines Adenokarzinoms durchsetzt. **B:** Metastatisches Gewebe in 40-facher Vergrößerung. Der Gleason-Score des Gewebes entspricht einem Gleason-Score 4+4.

### 2.3.2 Anzahl der Lymphknotenmetastasen

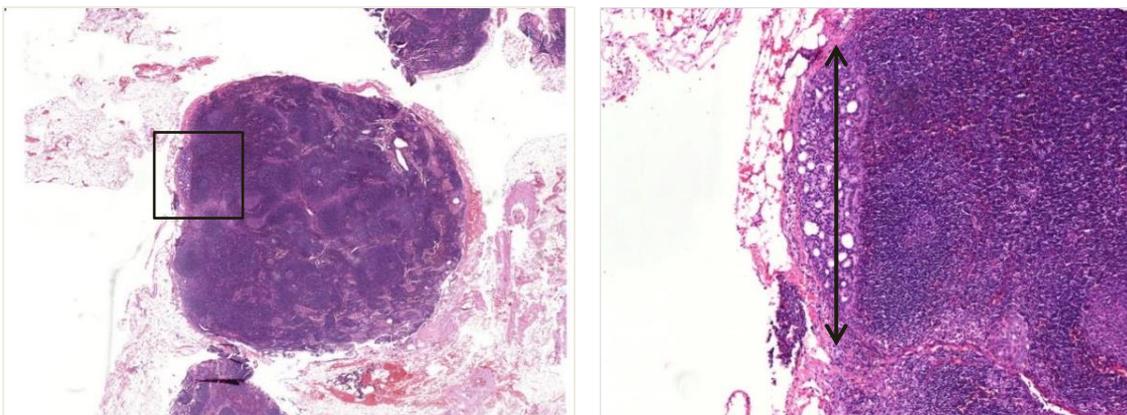
Die Zahl der Lymphknotenmetastasen wurde entweder den initialen Pathologieberichten entnommen beziehungsweise, falls nicht dokumentiert, anhand der Original-Schnittpräparate mikroskopisch ausgewertet.

### 2.3.3 Durchmesser der größten Lymphknotenmetastase

Der Durchmesser der größten Lymphknotenmetastase in mm wurde für jedes der Schnittpräparate unter dem Durchlichtmikroskop ausgemessen (siehe Abbildung 4).

### 2.3.4 PSA- Wert und Biochemisches Rezidiv

Die Serum-PSA-Bestimmung hat sich in den letzten 40 Jahren zu einem zentralen Bestandteil der Diagnostik und Behandlung des Prostatakarzinoms etabliert. Das Prostata-spezifische-Antigen (PSA) ist ein Glykoprotein, welches ausschließlich von prostatistischen Epithelzellen produziert wird. Physiologisch wird es in die Samenflüssigkeit sezerniert, wo es mit 1 zu 5 mg/ml eine bis zu eine Million stärkere Konzentration erreicht als im Serum.<sup>73,74</sup> Erhöhte Serumwerte deuten auf Abnormalitäten der Prostata hin. Somit ist eine Erhöhung des PSA- Wertes nicht spezifisch für das Prostatakarzinom, sondern



**Abbildung 4:** **A:** Beispiel eines Lymphknotenpräparates mit Metastase, welche 1 mm misst, 10-fache Vergrößerung. **B:** Markierter Ausschnitt aus Abbildung A in 40-facher Vergrößerung. Der Pfeil kennzeichnet die Metastase in ihrer größten Ausdehnung.

findet sich ebenfalls bei der benignen Prostatahyperplasie, Prostatitis und in geringem Maße auch bei Traumata.<sup>4</sup>

Im Rahmen dieser Arbeit wird der PSA-Wert als Verlaufsparemeter nach erfolgter RPE beziehungsweise Lymphadenektomie benutzt. Da das PSA, wie der Name schon impliziert, ein organspezifisches Enzym ist, sollte man davon ausgehen können, dass nach erfolgter RPE kein PSA mehr im Serum nachweisbar sei. In einigen Fällen kann jedoch auch nach erfolgter Operation der PSA-Wert weiterhin erhöht bleiben. Dies bedeutet im Umkehrschluss, dass nicht alle Krebszellverbände (oder nicht die komplette Prostata) entfernt werden konnten. In anderen Fällen sinkt der PSA-Wert initial nach erfolgter Operation unter die Nachweisgrenze ab und beginnt erst Jahre später wieder anzusteigen. Auch dies spricht für das Verbleiben einzelner Krebszellen, die allerdings aufgrund ihrer kleinen Zahl vorerst nicht in der Lage waren, PSA in laborchemisch fassbarem Umfang zu produzieren. Beginnen diese Krebszellen sich im Laufe der Zeit zu vermehren, so nimmt auch deren messbare Produktion des PSA zu; dies wird dann als biochemisches Rezidiv (biochemical recurrence, kurz BCR) bezeichnet.

### **2.4 Statistik**

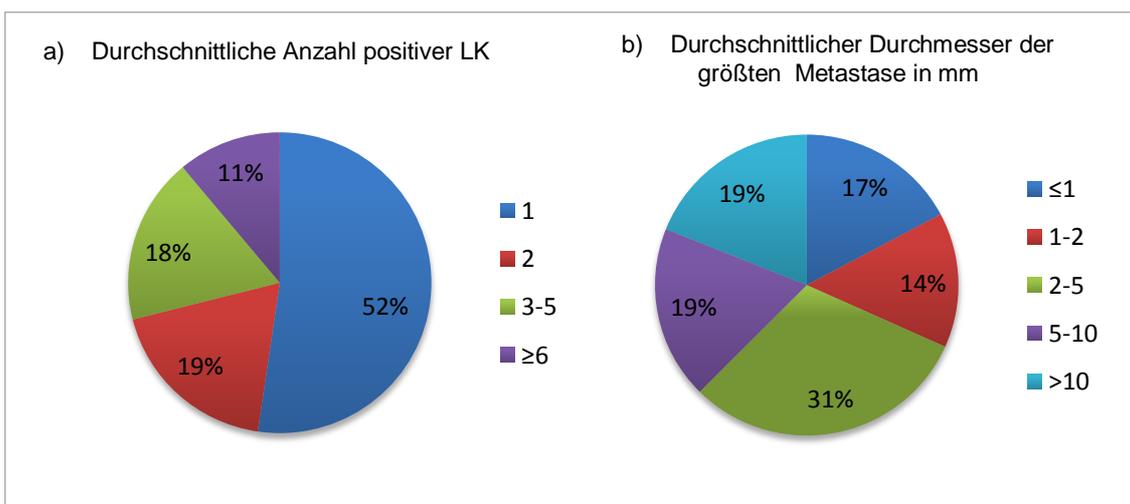
Statistische Analysen erfolgten mittels JMP 14.0.1. Software (SAS Institute Inc., NC, USA). Die Signifikanz der Beziehung zwischen dem Tumorphänotyp und dem Lymphknotenstatus wurde mit dem Chi-Quadrat Test, die Beziehung zur Anzahl der Lymphknotenmetastasen und deren Größe mit dem ANOVA-Test (Varianzanalyse) bestimmt. Überlebenskurven wurden nach Kaplan-Meier erstellt und die Signifikanz von Unterschieden zwischen den Gruppen nach Cox (Proportional Hazards-Test) berechnet. Als Endpunkt diente das biochemische Rezidiv nach erfolgter RPE, definiert als Anstieg des PSA-Wertes auf >0.2ng/ml in mindestens zwei Messungen.

### 3 Resultate

Das Patientengut umfasste 17.137 Patienten, bei denen in den Jahren 2006-2015 am UKE beziehungsweise der Martini-Klinik eine radikale Prostatektomie durchgeführt worden war. Die klinischen Parameter des Patientengutes sind in Tabelle 2 dargestellt.

#### 3.1 Größe und Anzahl der detektierten Metastasen

Bei 1.510 dieser Patienten war im Rahmen der Aufarbeitung der Lymphknoten mindestens eine Metastase gefunden worden. Die Anzahl der gefundenen, positiven Lymphknoten pro Patient ist in Abbildung 5a dargestellt. Bei mehr als der Hälfte (52%, n=790) der Patienten war nur eine Metastase gefunden worden, bei immerhin 11% (n=167) der Patienten mindestens 6 Metastasen. In etwa gleich vielen Fällen fanden sich 2 (19%, n= 283) und 3-5 Metastasen (18%, n=270). Die Ergebnisse der Ausmessungen für die maximale Länge der größten Metastasen ist in Abbildung 5b dargestellt. Bei immerhin 17% der Patienten (n=260) maßen die Metastasen  $\leq 1$  mm. Metastasen  $\geq 1$  cm fanden sich ungefähr in gleicher Häufigkeit (19%, n=286).



**Abbildung 5:** Prozentuale Verteilung der a) durchschnittlichen Anzahl positiver Lymphknoten pro Patient sowie des b) durchschnittlichen Durchmessers der größten Metastase in mm pro Patient

## Resultate

**Tabelle 2:** Klinische Parameter des Patientengutes

	Anzahl der Patienten (%)		
	Alle Patienten 17137	Anzahl Patienten mit Follow-up 14308 (83.5%)	Biochemische Rezidive absolut und prozentualer Anteil an Follow- up-Untergruppen 2924 (20.4%)
<b>Follow-up (Monate)</b>			
Mittel	-	34,5	-
Median	-	25,6	-
<b>Alter (Jahre)</b>			
≤50	857 (5,0%)	666 (4,7%)	96 (14,4%)
51-59	3873 (22,6%)	3138 (21,9%)	595 (19,0%)
60-69	8980 (52,4%)	7629 (53,3%)	1555 (20,4%)
≥70	3247 (20,0%)	2889 (20,2%)	678 (23,5%)
<b>PSA (ng/ml) Prä-OP</b>			
<4	2410 (14,1%)	2978 (14,5%)	296 (14,2%)
4-10	10092 (59,0%)	8405 (58,8%)	1306 (15,5%)
10-20	3308 (19,4%)	2727 (19,1%)	806 (29,6%)
>20	1272 (7,4%)	1092 (7,6%)	512 (46,9%)
<b>pT-Status</b>			
pT2	11300 (66,0%)	9309 (65,0%)	940 (10,1%)
pT3a	3570 (20,9%)	3022 (21,1%)	898 (29,7%)
pT3b	2185 (12,8%)	1924 (13,4%)	1055 (54,8%)
pT4	66 (0,4%)	58 (0,4%)	30 (51,7%)
<b>Gleason-Score</b>			
≤3+3	2474 (14,5%)	2102 (14,7%)	83 (4,0%)
3+4	10265 (60,0%)	8449 (59,0%)	1124 (13,3%)
4+3	3083 (18,0%)	2618 (18,2%)	1084 (41,41%)
≥4+4	1297 (7,6%)	1144 (8,0%)	632 (55,2%)
<b>pN-Status</b>			
pN0	11228 (65,5%)	9138 (63,9%)	1830 (20,0%)
pN1	1510 (8,8%)	1301 (9,1%)	753 (57,7%)
pNx	4399 (25,7%)	3869 (27,0%)	341 (8,8%)
<b>pL-Status</b>			
pL0	13590 (86,3%)	11223 (86,0%)	1726 (15,4%)
pL1	2126 (13,5%)	1805 (13,9%)	918 (50,8%)
<b>R-Status</b>			
R0	14006 (81,5%)	11560 (80,8%)	1822 (15,8%)
R1	2842 (16,6%)	2500 (17,5%)	1007 (40,3%)

### **3.2 Anteil der durchgeführten Lymphadenektomien**

Der prozentuale Anteil der lymphadenektomierten Patienten bei RPE ist in Abbildung 6 sowohl für alle Patienten (Gesamtkollektiv), als auch für Patienten mit Gleason  $\leq 3+3$ , Gleason 3+4, Gleason 4+3 und Gleason  $\geq 4+4$  Karzinomen dargestellt.

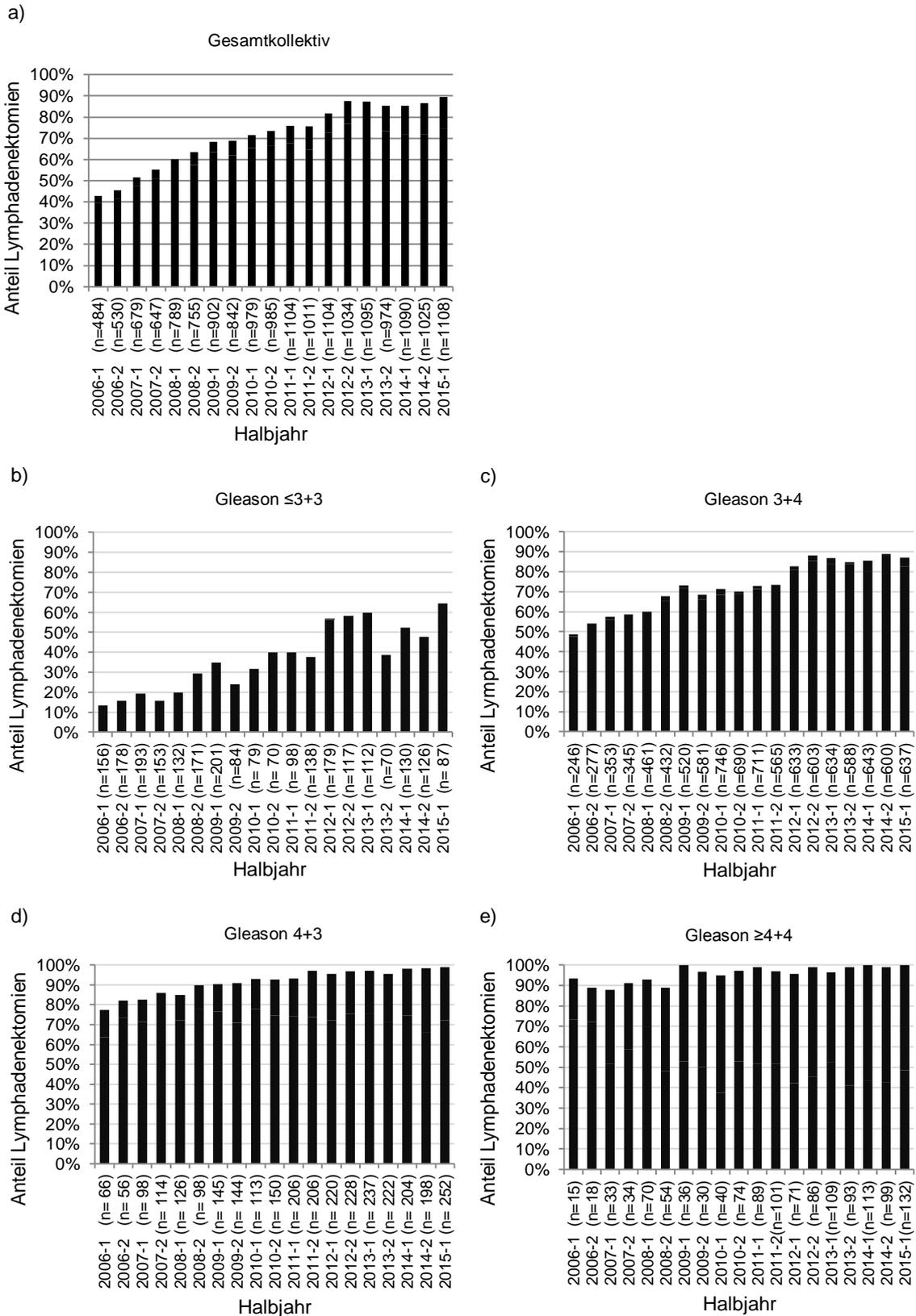
Die Graphiken machen deutlich, dass die Häufigkeit der durchgeführten Lymphadenektomien im Zeitraum von 2006-2015 markant angestiegen ist, und zwar von etwas über 40% auf beinahe 90%. Die Analyse der Tumor-Subgruppen macht deutlich, dass die Steigerung insbesondere bei Patienten mit Gleason  $\leq 3+3=\leq 6$  und  $3+4=7$  Karzinomen erfolgte, während bei Gleason  $4+3=7$  und  $\geq 4+4=8-10$  Karzinomen schon 2006 bei 84-90% der Fälle eine LND erfolgte. Für Karzinome mit einem Gleason  $\leq 3+3=\leq 6$  stieg in dem Zeitraum von 2006-2015 die LND-Rate von etwa 13% auf über 60%. Für  $3+4=7$  Karzinome stieg die LND-Rate von etwas unter 50% in 2006 auf beinahe 90% in 2015.

### **3.3 Einfluss der Verarbeitung auf die Ergebnisse der Lymphadenektomie**

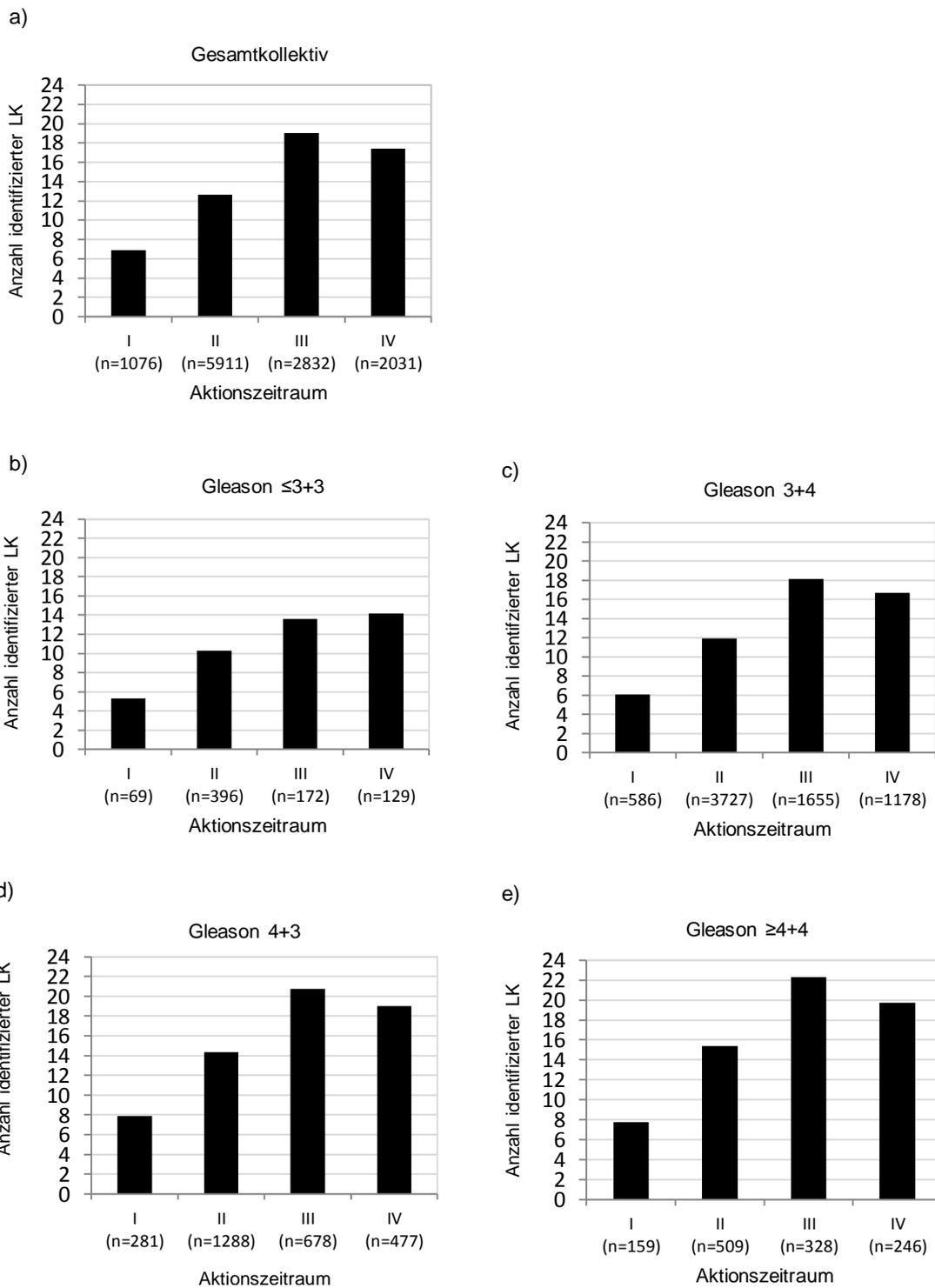
#### **3.3.1 Einfluss der pathologischen Verarbeitung auf die Anzahl der Lymphknoten**

Im Laufe des Untersuchungszeitraumes wurde die Verarbeitung von Lymphadenektomie-Präparaten mehrfach verändert. Bis November 2008 wurden Lymphknoten manuell getastet und aus dem Fettgewebe gelöst. Anschließend erfolgte die histologische Untersuchung.

Die dann erfolgte Einführung der Einbettung des übrig bleibenden Fettgewebes mit der Chance, makroskopisch nicht entdeckte Lymphknoten histologisch zu untersuchen, führte zu einer massiven Vermehrung der Anzahl untersuchter Lymphknoten (Abbildung 7). Bei Zusammenfassung sämtlicher Tumorgrade war ein Anstieg von durchschnittlich 6,8 auf 17,4 zu verzeichnen. Die separate Untersuchung von Tumoren mit identischen Gleason-Scores resultierte bei jeder Kategorie in einem Anstieg um mindestens 94%.



**Abbildung 6:** Prozentualer Anteil erfolgreicher Lymphadenektomien (N=12.738) an Gesamtzahl der RPE's (N= 17.137) im Zeitraum von 2006-2015, unterteilt nach Halbjahren für a) Gesamtkollektiv, b) Gleason-Score ≤3+3, c) Gleason-Score 3+4, d) Gleason-Score 4+3, e) Gleason-Score ≥4+4



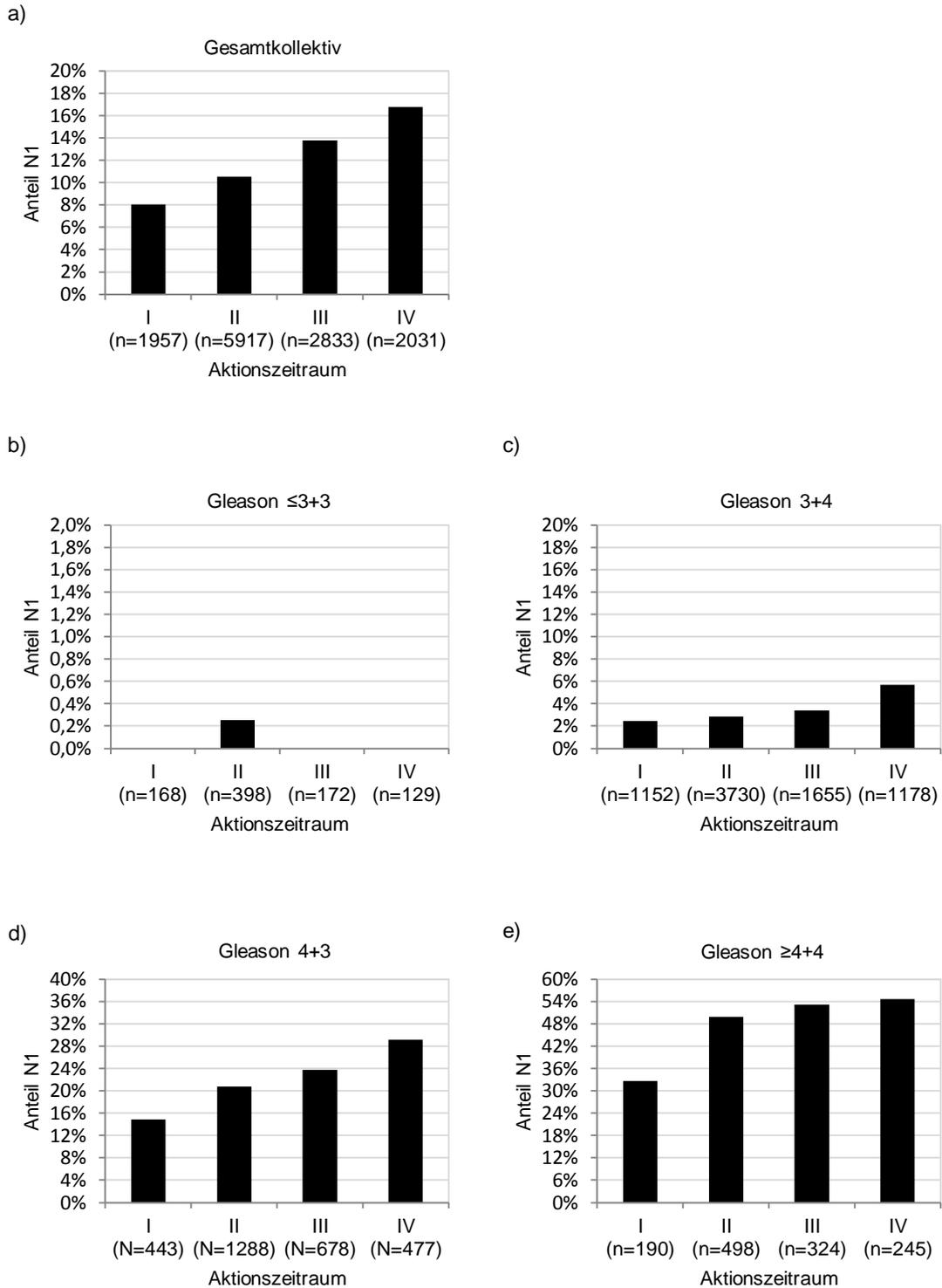
**Abbildung 7:** Durchschnittliche Anzahl identifizierter Lymphknoten pro LND- Patient (N=11850) innerhalb der Aktionszeiträume für a) Gesamtkollektiv, b) Gleason-Score  $\leq 3+3$ , c) Gleason-Score 3+4, d) Gleason-Score 4+3, e) Gleason-Score  $\geq 4+4$

[Aktionszeitraum I: Manuelle Lymphknotenpräparation, Aktionszeitraum II: Einbettung des gesamten Fettgewebes; Aktionszeitraum III: Immunhistochemische Untersuchung von mindestens 4 Lymphknoten; Aktionszeitraum IV: Acetonverarbeitung und immunhistochemische Untersuchung von mindestens 8 Lymphknoten]

Am 7.11.2012 wurde die routinemäßige immunhistochemische Untersuchung (AE1/AE3) von mindestens 4 Lymphknotenblöcken etabliert. Dieses Verfahren ging mit einem weiteren, wenn auch geringfügigeren Anstieg der Anzahl identifizierter Lymphknoten einher. Die letzte Änderung erfolgte im Zeitraum von Mai-September 2014. Hier wurden in kurzem zeitlichem Abstand zuerst eine Verarbeitung der Lymphknoten mit Aceton sowie anschließend eine routinemäßige immunhistochemische Anfärbung von mindestens 8 Lymphknotenpräparaten installiert. Wie zu erwarten, hatte die letzte Maßnahme keinen Einfluss auf die Zahl der gefundenen Lymphknoten. Der Einfluss der verschiedenen Präparationsmethoden auf die Zahl der identifizierten Lymphknoten ist in den Abbildungen 7 a-e) dargestellt.

### **3.3.2 Einfluss der Präparationsmethode auf den Anteil der N1-Patienten**

Der Einfluss der unterschiedlichen Präparationsmethoden auf den prozentualen Anteil der identifizierten Patienten mit Lymphknoten-Metastasen ist in den Abbildungen 8 a-e) für das Gesamtkollektiv sowie für Untergruppen mit identischen Gleason-Scores dargestellt. Insgesamt erfolgte ein Anstieg von 8,0% auf 16,7%. Bei getrennter Untersuchung einzelner Gleason-Gruppen wird deutlich, dass die Veränderung der Präparationsmethoden vor allem bei Tumoren mit Gleason-Score 3+4=7 oder 4+3=7 einen herausragenden positiven Effekt ergaben. Hervorzuheben ist hier die große Steigerung durch die Ausweitung der immunhistochemischen Untersuchung auf mindestens 8 Lymphknotenblöcke. Vergleichsweise gering waren die Effekte der Präparationsmethode in den Untergruppen der Patienten mit den Gleason-Scores  $\leq 3+3=\leq 6$  und  $\geq 4+4=\geq 8$ . Dies ist durch die bei der einen Gruppe besonders geringen und bei der anderen wiederum besonders großen Metastasierungswahrscheinlichkeit bedingt. Bei Karzinomen des Gleason-Scores  $\leq 3+3$  zeigen sich nur ausnahmsweise Lymphknoten-Metastasen (n=1). Der N1-Anteil stieg bei Patienten mit Gleason-Score 3+4=7 von 2,4% auf 5,7%. Bei Patienten mit Gleason-Score 4+3=7 führte die Gesamtheit der Maßnahmen zu einem Anstieg des N1-Anteils von 14,9% auf 29,1%. Bei Tumoren mit Gleason-Score  $\geq 4+4$  zeigte sich ein Anstieg von 32,6% auf 54,7%.



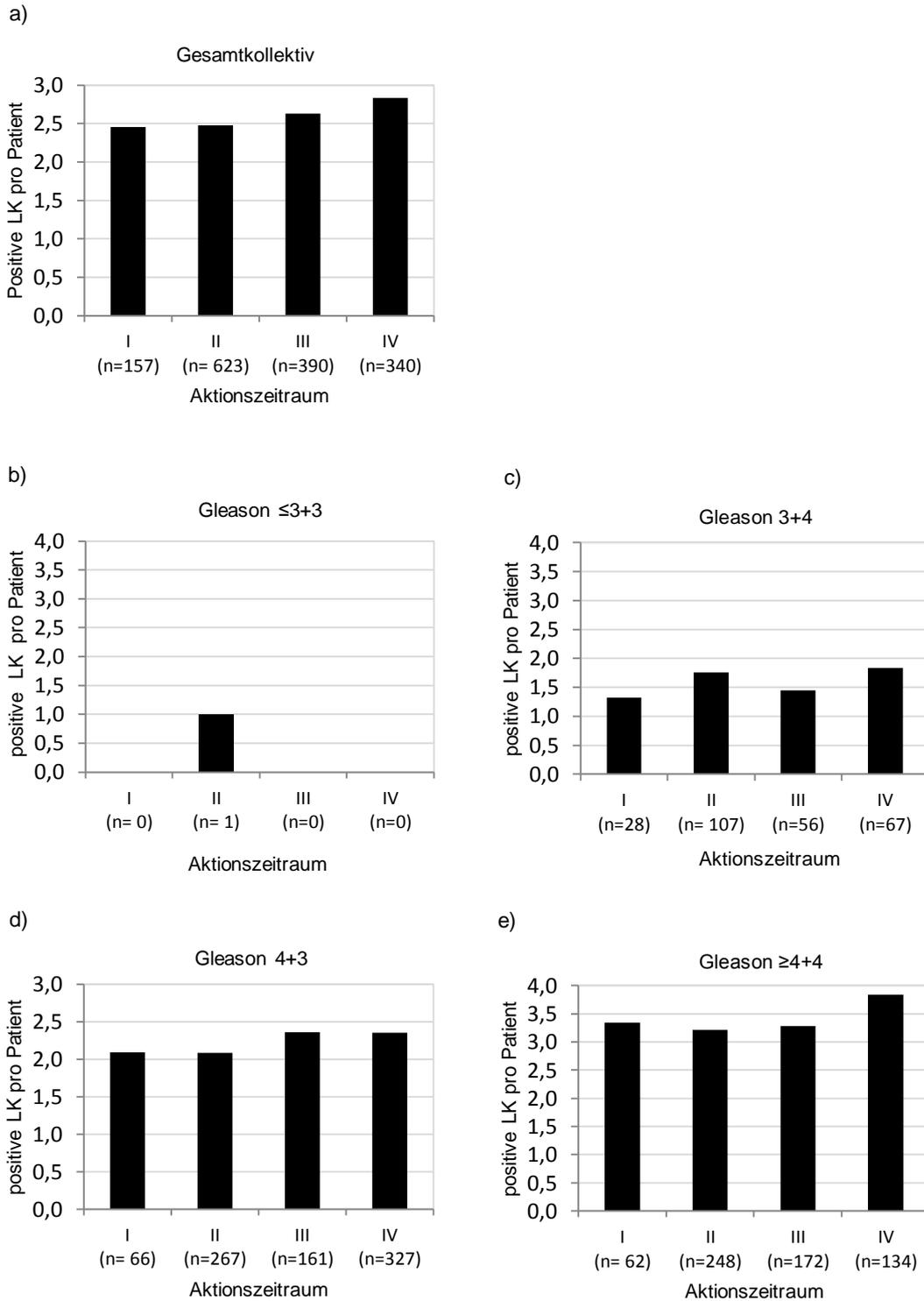
**Abbildung 8:** Prozentualer Anteil nodalpositiver Patienten (N=1510) an Gesamtzahl der lymphadenektomierten Patienten (N=12738) innerhalb der Aktionszeiträume für a) Gesamtkollektiv, b) Gleason-Score  $\leq 3+3$ , c) Gleason-Score 3+4, d) Gleason-Score 4+3, e) Gleason-Score  $\geq 4+4$   
 [Aktionszeitraum I: Manuelle Lymphknotenpräparation, Aktionszeitraum: Einbettung des gesamten Fettgewebes; Aktionszeitraum III: ICH-Untersuchung von mindestens 4 Lymphknoten; Aktionszeitraum IV: Acetonverarbeitung und IHC-Untersuchung von mindestens 8 Lymphknotenblöcken]

### **3.3.3 Einfluss der Präparationstechnik auf die Anzahl der Lymphknoten-Metastasen pro Patient**

Der Einfluss der Präparationsmethode auf die durchschnittliche Anzahl positiver Lymphknoten pro Patient ist in Abbildung 9 dargestellt. Trotz eines eher geringen Effektes in den einzelnen Gleason-Score-Gruppen lässt sich bei Betrachtung des Gesamtkollektives eine Steigerung beobachten. Die Gesamtheit der Maßnahmen führte insgesamt zu einer Erhöhung der Anzahl positiver Lymphknoten von durchschnittlich 2,4 auf 2,8 pro Patient. Gerade die letzte Maßnahme (Ausweitung der Immunhistochemie auf mindestens 8 Lymphknotenpräparate) führte in allen Subsets zu einer Erhöhung der durchschnittlichen Anzahl der als positiv identifizierten Lymphknoten.

### **3.3.4 Einfluss der Präparationsmethode auf den durchschnittlichen Durchmesser der größten Metastase pro Patient**

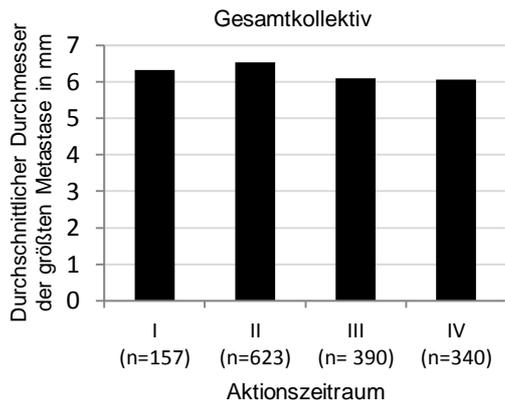
Der Einfluss der Präparationsmethode auf den durchschnittlichen Durchmesser der größten Metastase (in mm) ist in Abbildung 10 dargestellt. Bei Betrachtung des Gesamtkollektives zeigte sich eine leichte Verminderung des durchschnittlichen Maximaldurchmessers der Metastasen von 6,3 auf 6,0 mm. Während die Analyse für das Subset Gleason  $\leq 3+3$  aufgrund der zu kleinen Fallzahl ( $n=1$ ) keinen Aussagewert besitzen, zeigte sich bei den Gleason-Scores  $3+4=7$  beziehungsweise  $4+3=7$  ebenfalls eine Verringerung des durchschnittlichen Metastasendurchmessers. Am deutlichsten ist der Effekt nach Einführung der routinemäßigen immunhistochemischen Untersuchung zu beobachten. Dies ist darauf zurückzuführen, dass durch die immunhistochemischen Untersuchungen vermehrt kleine Metastasen detektiert wurden, welche bei der mikroskopischen Untersuchung nach früheren Methoden eventuell übersehen worden wären. In diesen Fällen wären die Patienten fälschlicher Weise als N0 klassifiziert worden. Für das Subset Gleason  $\geq 4+4$  lässt sich diese Aussage nicht reproduzieren. Da bei diesem Tumorstadium meist bereits größere Metastasen vorliegen und das Auffinden weiterer, kleinerer Metastasen dementsprechend keine Veränderung des Parameters mit sich brachten, war dies zu erwarten.



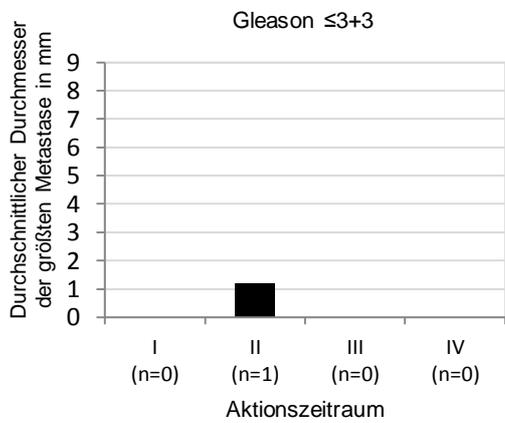
**Abbildung 9** Durchschnittliche Anzahl positiver Lymphknoten pro N1-Patient (N=1510) innerhalb der Aktionszeiträume für a) Gesamtkollektiv, b) Gleason-Score  $\leq 3+3$ , c) Gleason-Score 3+4, d) Gleason-Score 4+3, e) Gleason-Score  $\geq 4+4$

[Aktionszeitraum I: Manuelle Lymphknotenpräparation; II: Einbettung des gesamten Fettgewebes; III: IHC-Untersuchung von mindestens 4 Lymphknoten; IV: Acetonverarbeitung und immunhistochemische Untersuchung von mindestens 8 Lymphknoten]

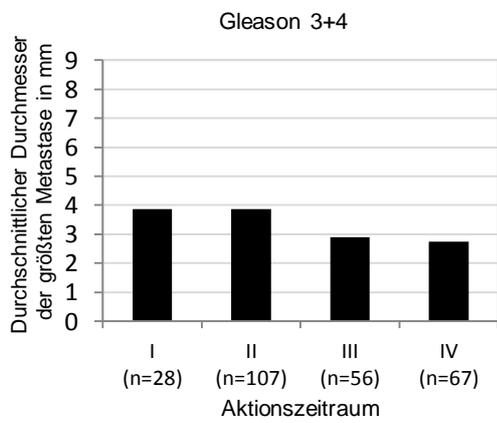
a)



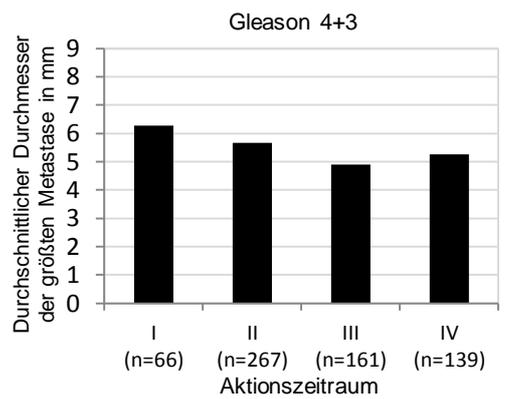
b)



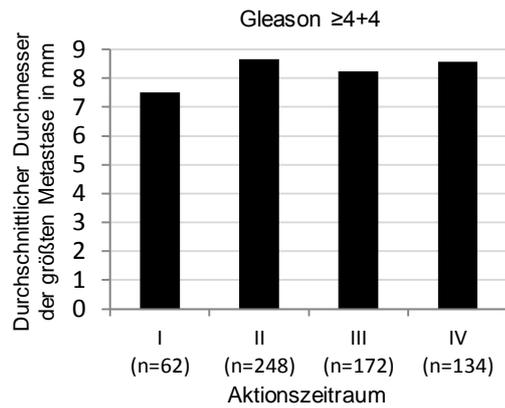
c)



d)



e)



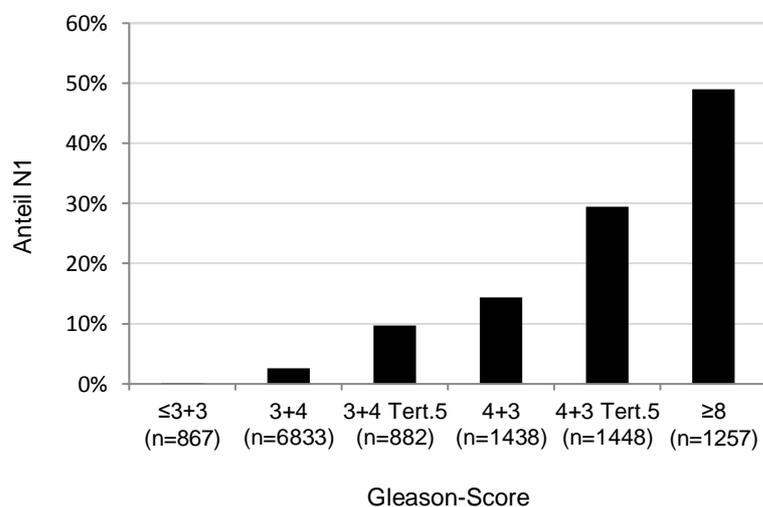
**Abbildung 10:** Durchschnittlicher Durchmesser der größten Lymphknotenmetastasen in mm pro N1-Patient (N=1.510) innerhalb der Aktionszeiträume für a) Gesamtkollektiv, b) Gleason-Score ≤3+3, c) Gleason-Score 3+4, d) Gleason-Score 4+3, e) Gleason-Score ≥4+4  
 [Aktionszeitraum I: Manuelle Lymphknotenpräparation, II: Einbettung des gesamten Fettgewebes; III: IHC-Untersuchung von mindestens 4 Lymphknoten; IV: Acetonverarbeitung und IHC-Untersuchung von mindestens 8 Lymphknotenblöcken]

### 3.4 Lymphknoten-Status und Tumorphänotyp

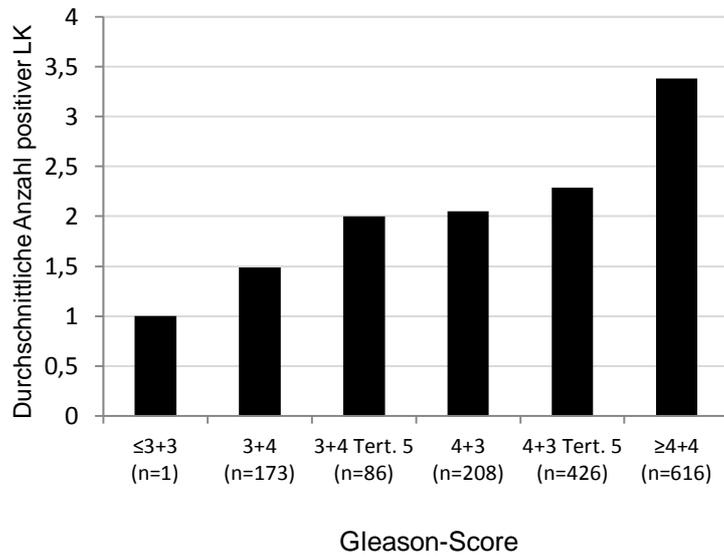
#### 3.4.1 Lymphknoten-Status und Gleason-Score

Mit steigendem Gleason-Score ergab sich insgesamt ein höheres Risiko der Metastasierung. Die Zahl der N1-Patienten stieg von <1% bei Patienten mit Gleason-Score  $\leq 3+3$  Karzinomen auf beinahe 50% bei Gleason-Score  $\geq 4+4$  Karzinomen (Abbildung 11).

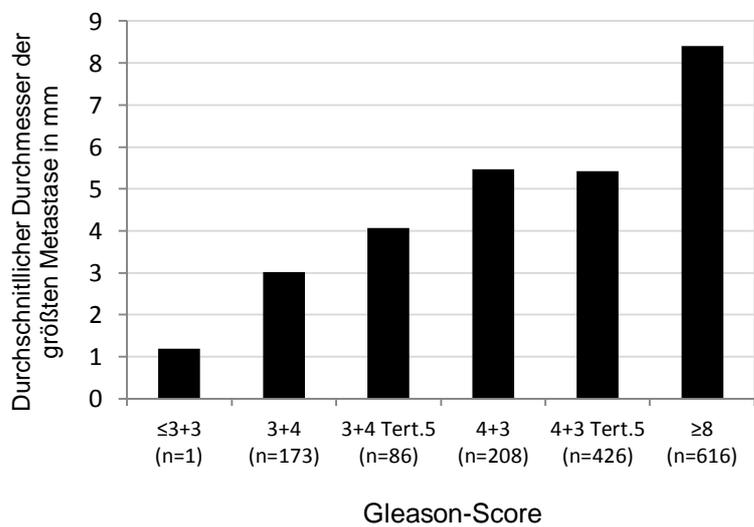
Darüber hinaus nahm mit steigendem Gleason-Score auch die Zahl der nachgewiesenen Metastasen (Abbildung 12) und der Durchmesser der größten Metastase (Abbildung 13) statistisch signifikant zu (jeweils  $p < 0.0001$ ). Lag die durchschnittliche Anzahl positiver Lymphknoten pro Patient für Tumoren mit Gleason-Score  $\leq 3+3$  noch bei circa 1, stieg sie für Gleason-Score  $\geq 4+4$  Tumoren auf über 3. Der durchschnittliche Maximaldurchmesser der Metastasen pro Patient stieg von 1,2 mm auf 8,4 mm an.



**Abbildung 11** Prozentualer Anteil nodalpositiver Patienten am Gesamtkollektiv der Patienten mit erfolgter Lymphadenektomie in Abhängigkeit einzelner Gleason-Scores ( $p < 0.0001$ )



**Abbildung 12** Durchschnittliche Anzahl positiver Lymphknoten pro N1- Patient (N=1510) in Abhängigkeit einzelner Gleason-Scores ( $p < 0.0001$ )

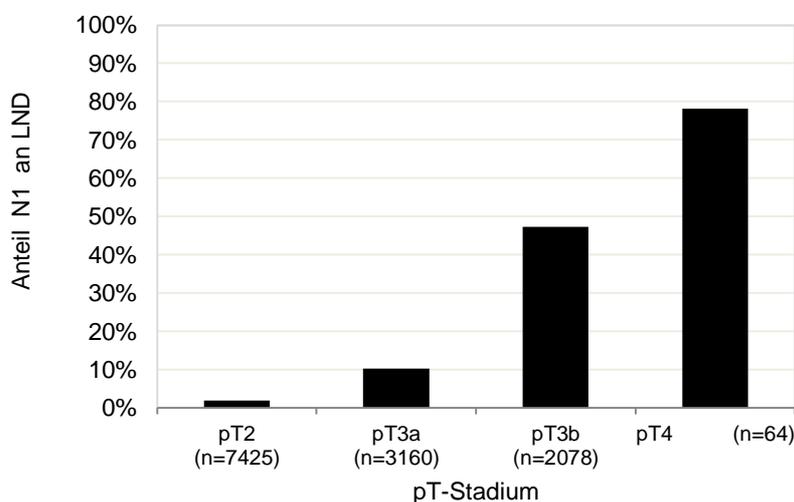


**Abbildung 13** Durchschnittlicher Durchmesser der größten Lymphknotenmetastase pro N1-Patient (N=1510) in mm in Abhängigkeit einzelner Gleason-Scores ( $p < 0.0001$ )

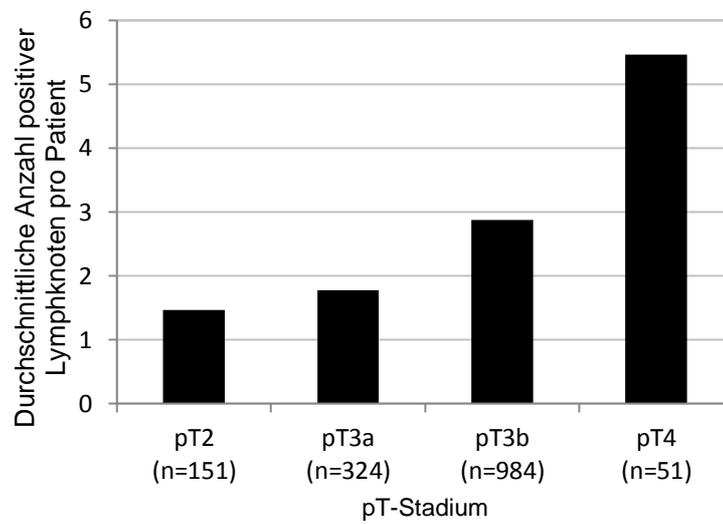
### 3.4.2 Lymphknoten-Status und Tumorstadium

Das Risiko eines Lymphknotenbefalls nahm auch mit dem Tumorstadium signifikant zu ( $p < 0.0001$ ). Das Risiko eines positiven Nodalstatus betrug bei pT2-Karzinomen  $< 5\%$  und bei pT3a-Karzinomen  $10\%$ . In den höheren Stadien stieg das Risiko der Lymphknoten-Metastasierung dramatisch an. Im Stadium pT3b waren mehr als  $40\%$ , im Stadium pT4 beinahe  $80\%$  der Patienten nodalpositiv (siehe Abbildung 14).

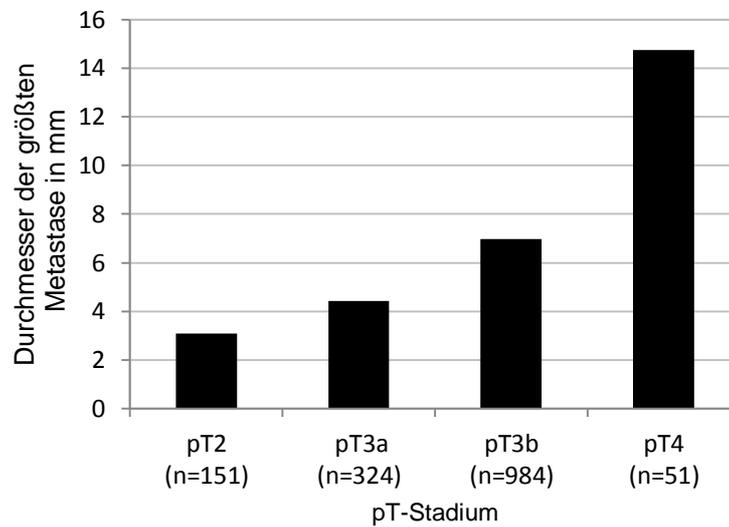
Darüber hinaus zeigte sich ein statistisch hochsignifikanter Zusammenhang zwischen der Anzahl positiver Lymphknoten beziehungsweise des Durchmessers der größten Lymphknoten-Metastase und steigendem Tumorstadium (jeweils  $p < 0.0001$ ). Die Beziehung zwischen pT-Stadium und Anzahl beziehungsweise Maximalausdehnung der Metastasen sind in Abbildung 15-16 dargestellt.



**Abbildung 14** Prozentualer Anteil nodalpositiver Patienten (N=1510) an Gesamtzahl erfolgter Lymphadenektomien (N=12.727) in Abhängigkeit einzelner Tumorstadien ( $p < 0.0001$ )



**Abbildung 15** Durchschnittliche Anzahl positiver Lymphknoten pro N1-Patient (N=1.510) in Abhängigkeit einzelner Tumorstadien ( $p < 0.0001$ )



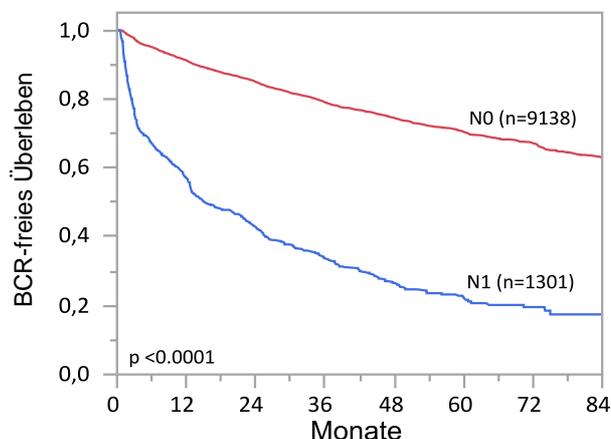
**Abbildung 16** Durchschnittlicher Durchmesser (in mm) der größten Lymphknotenmetastase pro N1-Patient (N=1510), in Abhängigkeit vom pT-Stadium ( $p < 0.0001$ )

### 3.5 Lymphknotenbefunde und PSA-Rezidiv

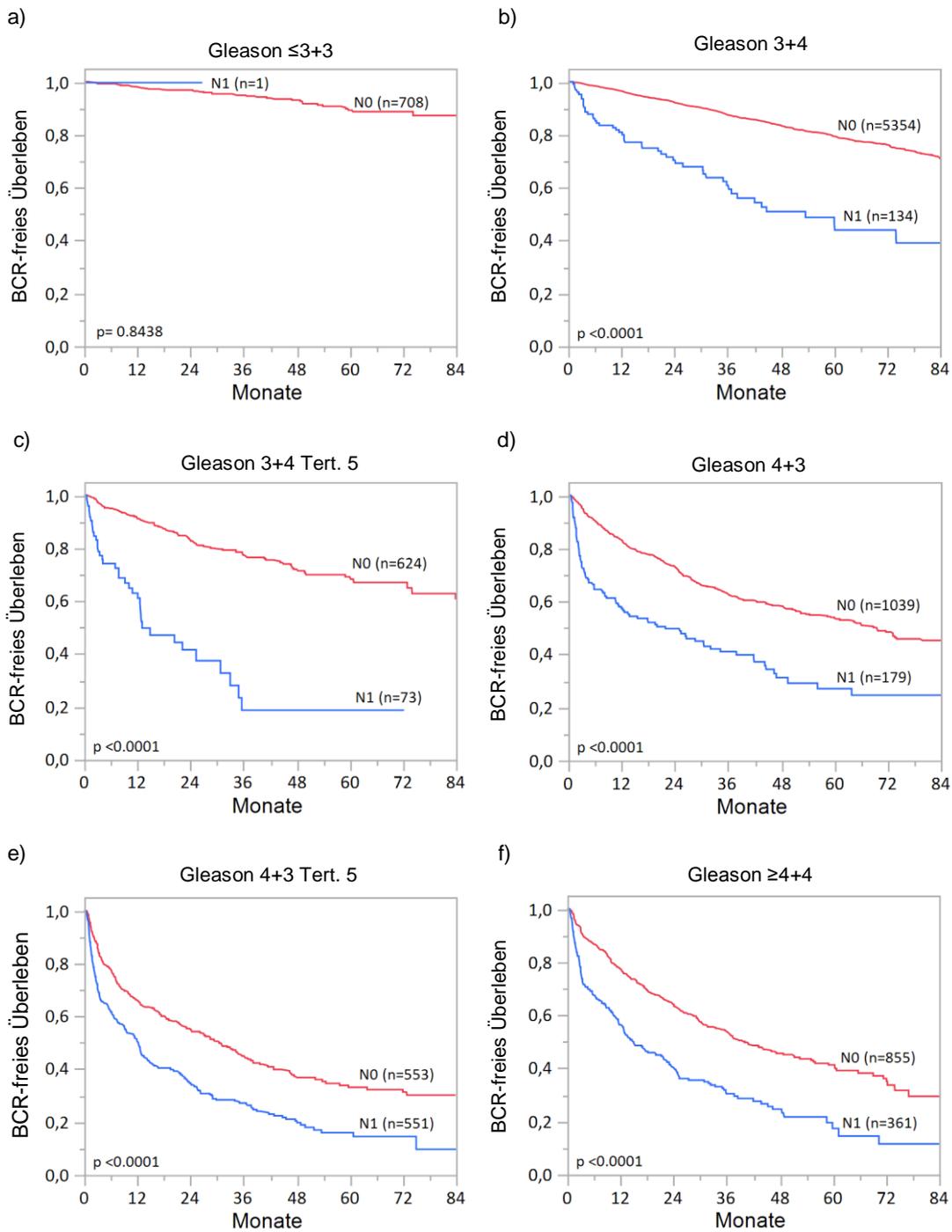
#### 3.5.1 Prognoseunterschied N0 versus N1

Klinische Verlaufsdaten bezüglich des Auftretens eines PSA-Rezidives waren für insgesamt 10.439 Patienten vorhanden, bei denen eine Lymphadenektomie durchgeführt worden war. Der dramatische Prognoseunterschied zwischen nodalnegativen und nodalpositiven Patienten ist in Abbildung 17 dargestellt ( $p < 0.0001$ ).

Die separate Untersuchung von Tumoren mit identischem Gleason-Score (Abbildung 18 a-f) zeigt, dass der Nodalstatus bei allen Untergruppen einen hoch signifikanten Prognosefaktor darstellt ( $p < 0.0001$ ). Eine Ausnahme ist auch hier wieder die Untergruppe von Patienten mit Gleason-Score  $\leq 3+3$  Karzinomen, wo die Zahl der nodalpositiven Patienten mit  $n=1$  für eine statistische Evaluation nicht ausreichte ( $p=0.8438$ ).



**Abbildung 17:** Überlebenskurve nach Kaplan-Meier, dargestellt ist der Prognoseunterschied nach erfolgter RPE mit LND in Hinblick auf das BCR-freie Überleben zwischen pN0- und pN1- Patienten im Gesamtkollektiv (N= 10439,  $p < 0.0001$ )

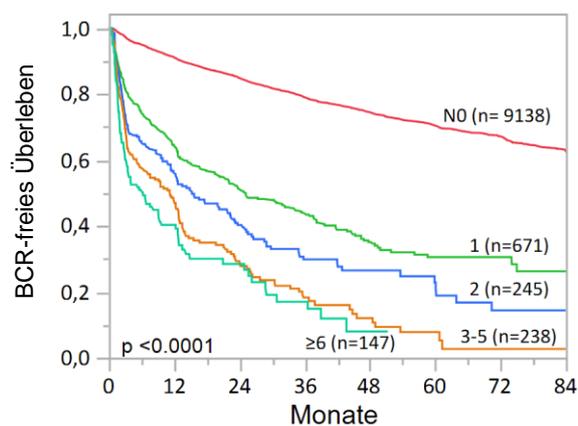


**Abbildung 18:** Überlebenskurven nach Kaplan-Meier zum Prognoseunterschied in Hinblick auf das BCR-freie Überleben zwischen pN0- und pN1- Patienten nach erfolgter RPE und LND in den einzelnen Gleason-Gruppen für a) Gleason-Score  $\leq 3+3$ , b) Gleason-Score 3+4 c) Gleason-Score 3+4, Tertiärgrad 5, d) Gleason-Score 4+3, e) Gleason-Score 4+3, Tertiärgrad 5, f) Gleason-Score  $\geq 4+4$

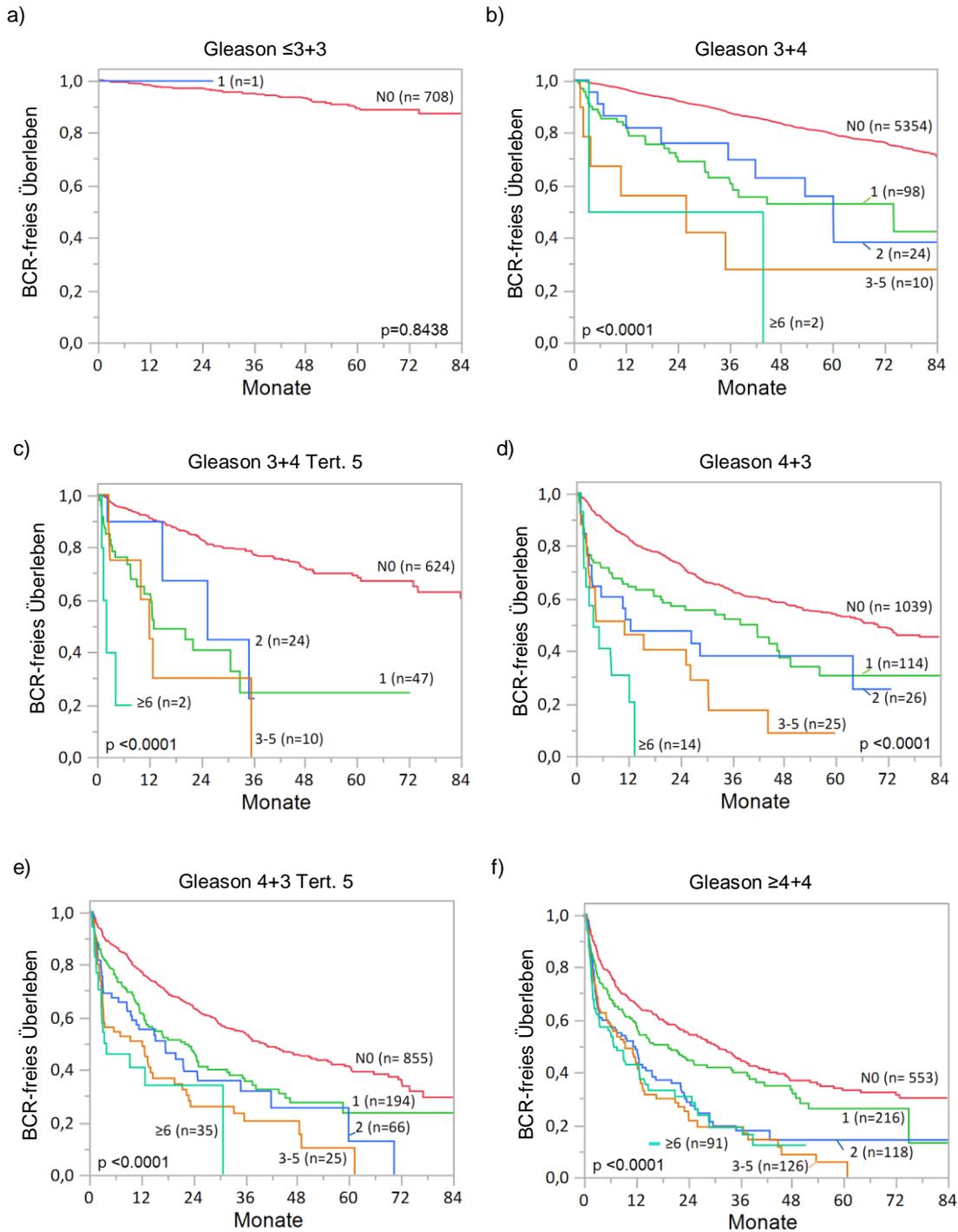
### 3.5.2 Prognoseunterschied in Abhängigkeit von der Anzahl positiver Lymphknoten

Nicht nur der Nodalstatus, sondern auch die Anzahl der positiven Lymphknoten war hoch signifikant prognoserelevant ( $p < 0.0001$ ). Dies ist in Abbildung 20 dargestellt. Hier wird auch deutlich, dass der größte Prognoseunterschied zwischen den N0-Patienten und N1-Patienten liegt.

Die Prognose wird allerdings auch innerhalb der Kohorte der nodalpositiven Patienten mit zunehmender Zahl befallener Lymphknoten immer ungünstiger (Abbildung 19). Die gleiche Untersuchung ist in Abbildung 20 a-f) für die Untergruppen von Patienten mit identischen Gleason-Scores dargestellt. Wiederum ist die Gruppe der Patienten mit Gleason  $\leq 3+3 = \leq 6$  Karzinomen aufgrund der zu kleinen Fallzahlen statistisch nicht beurteilbar ( $p = 0.8438$ ). Die anderen Subsets beinhalten teilweise ebenfalls nur relativ wenige Patienten mit nodalen Metastasen ( $n = 2-216$ ). Dennoch zeigen die Kurven, dass auch in den Untergruppen eine gleiche Tendenz wie bei Betrachtung des Gesamtkollektivs besteht; je mehr Metastasen vorhanden sind, desto ungünstiger ist die Prognose.



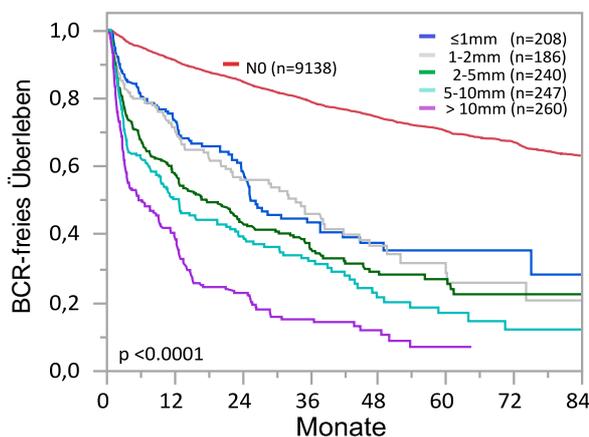
**Abbildung 19** Überlebenskurve nach Kaplan-Meier. Dargestellt ist der Prognoseunterschied nach erfolgter RPE mit Lymphadenektomie in Hinblick auf das BCR-freie Überleben in Abhängigkeit von der Anzahl positiver Lymphknoten pro Patient (N= 10439,  $p < 0.0001$ ).



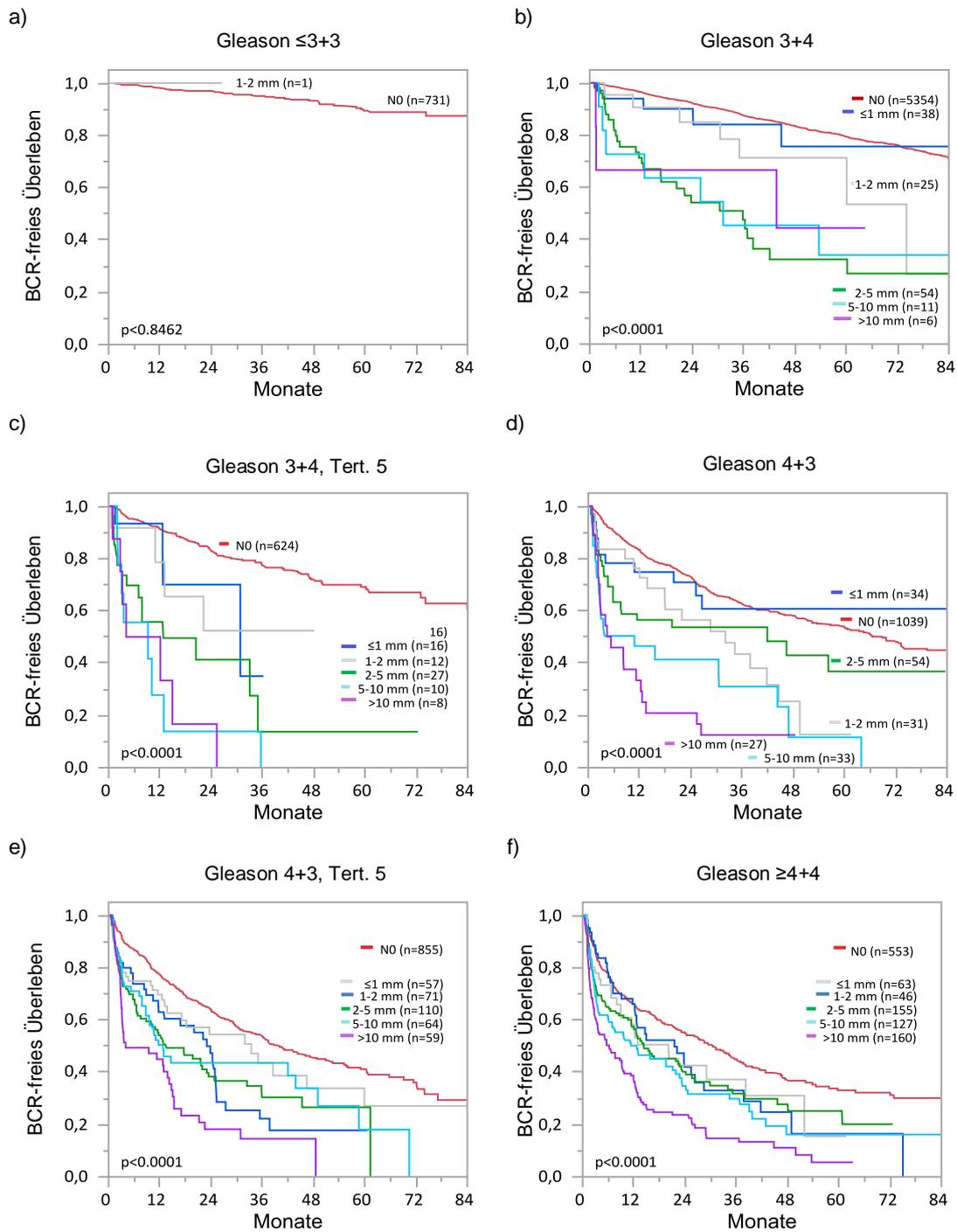
**Abbildung 20:** Kaplan-Meier-Kurven zum Prognoseunterschied nach erfolgter RPE mit LND in Hinblick auf das BCR-freie Überleben in Abhängigkeit von der Anzahl positiver Lymphknoten (N0 vs. 1, 2, 3-5 bzw.  $\geq 6$  positive LK) in den einzelnen Gleason-Gruppen für a) Gleason-Score  $\leq 3+3$ , b) Gleason-Score 3+4 c) Gleason-Score 3+4 Tertiärgrad 5, d) Gleason-Score 4+3, e) Gleason-Score 4+3 Tertiärgrad 5, f) Gleason-Score  $\geq 4+4$

### 3.5.3 Patientenprognose in Abhängigkeit von der Metastasengröße

Die Patientenprognose war auch von der Metastasengröße abhängig. Abbildung 21 zeigt den Zusammenhang zwischen dem Vorliegen von PSA-Rezidiven und dem Durchmesser der (größten) Metastase in mm. Herausragend in dieser Untersuchung ist die ungünstige Prognose der 208 Patienten mit Metastasen  $\leq 1$  mm Durchmesser, welche sich statistisch nicht signifikant von den 186 Patienten mit Metastasen zwischen 1 und 2 mm Durchmesser ( $p=0,6128$ ) unterschieden. Dies bedeutet in der Konsequenz, dass selbst kleinste Metastasen bereits einen signifikanten Einfluss auf die Patientenprognose ausüben. Der Prognoseunterschied zwischen Patienten mit Metastasen von 1-2 mm versus 2-5 mm ist verhältnismäßig nur gering, wenn auch statistisch knapp signifikant ( $p=0,0206$ ). Der deutlichste Sprung ist allerdings bei einem Metastasendurchmesser von 1 cm zu beobachten. Patienten mit Metastasen  $>10$ mm zeigten eine markant ungünstigere Prognose. Die gleichen Berechnungen sind in Abbildung 22 a-f) für die



**Abbildung 21:** Prognoseunterschied zwischen pN0- und pN1-Patienten (N= 10479) im Hinblick auf das BCR-freie Überleben in Abhängigkeit vom durchschnittlichen Durchmesser der größten Lymphknotenmetastase pro Patient in mm ( $p < 0.0001$ )



**Abbildung 22:** Prognoseunterschied zwischen pN0- und pN1- Patienten (N= 10479) bezüglich des BCR-freien Überlebens in Abhängigkeit vom Durchmesser der größten Lymphknotenmetastasen pro Patient in mm für a) Gleason-Score  $\leq 3+3$ , b) Gleason-Score 3+4, c) Gleason-Score 3+4 Tertiärgrad 5, d) Gleason-Score 4+3 e) Gleason-Score 4+3 Tertiärgrad 5, f) Gleason-Score  $\geq 4+4$

Untergruppen von Patienten mit identischen Gleason-Scores aufgezeichnet. Bei Analyse der Gleason-Score- Untergruppen spielt die Metastasengröße eine vergleichsweise geringe Rolle, Immerhin zeigen aber auch hier die Kurven ein ähnliches Bild; Gerade bei den 3+4 beziehungsweise 4+3 Tumoren wird auch hier wieder ein deutlicher Sprung bei Überschreitung der Metastasengröße auf >10mm deutlich.

Insgesamt zeigen diese Daten, dass prinzipiell auch kleinste Metastasen mit einer ungünstigen Prognose vergesellschaftet sind und die Prognose mit zunehmender Metastasengröße schlechter wird.

## **4 Diskussion**

### **4.1 Die prognostische Relevanz des Nodalstatus und quantitativer Parameter**

Die in dieser Dissertation beschriebene Untersuchung umfasst 17.139 Patienten, welche in den Jahren 2006-2015 prostatektomiert worden sind. Hiervon wiesen 1.510 Patienten Lymphknoten-Metastasen auf, was einem Anteil von 8,8% entspricht. Mit dieser Fallzahl handelt es sich um die bisher größte monozentrische Untersuchung dieser Art. Die Ergebnisse zeigen, dass die Lymphknoten-Metastasierung beim Prostatakarzinom sehr stark mit einer ungünstigen Prognose vergesellschaftet ist und auch sehr eng mit dem pT-Stadium und dem Gleason-Score zusammenhängt. So lag das Risiko einer Lymphknoten-Metastasierung für GS  $\leq 3+3 = \leq 6$  Karzinome praktisch bei 0% und für Patienten mit einem pT2 Stadium bei unter 5%. Unsere Ergebnisse passen gut zu Daten früherer Studien (exemplarischer Überblick der Literatur siehe Tabelle 3).<sup>56,75-79</sup> In einer Untersuchung von Heidenreich et al. hatten beispielsweise 26 von insgesamt 27 N1- Patienten einen Gleason-Score von über 7, bei Diolombi et al. betrug der Anteil nodalpositiver Patienten bei Gleason  $\leq 3+3 = \leq 6$  Tumoren sogar 0%.<sup>75,80</sup> In einer Studie von Batra et al. an 452 Patienten stieg die Wahrscheinlichkeit einer Lymphknotenbeteiligung von 8,1% für Patienten mit Tumorstadium  $\leq T2a$  auf 42,9% für solche mit einem Stadium von  $\geq T2c$  ( $p < 0,004$ )<sup>81</sup>. Maccio et al. konnten in ihren Analysen

**Tabelle 3: Autorenübersicht**

<b>Autoren</b>	<b>Fragestellung</b>	<b>Kollektiv</b>	<b>Ergebnis der Studie</b>
<b>Maccio et al<sup>77</sup></b>	Beziehung zwischen der Anzahl histologisch untersuchter Lymphknoten und der Detektion positiver Lymphknoten bei Patienten mit RPE	1690 N1 und N0-Patienten mit RP + LND bzw. eLND	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Prognose N1 &lt; N0 (p&lt;0.0001)</li> <li>• N1 korreliert mit Alter (p = 0.0466)</li> <li>• Korrelation von N1 mit PT Status (p&lt;0.0001)</li> <li>• Korrelation von N1 mit höherem Gleason Score (p&lt;0.0001)</li> <li>• Komplette histologische Aufarbeitung führt zu erhöhtem N1 Anteil (p&lt;0.0001)</li> <li>• Patienten mit &lt;10 entnommenen LK zeigten niedrigeres PSA-freies Überleben (p=0.0151).</li> </ul>
<b>Passoni et. al<sup>67</sup></b>	Prognostische Rolle der Größe der größten Lymphknotenmetastase für das BCR-freie Überleben bei Patienten mit N1 nach RPE	484 N1 Patienten nach RPE	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Patienten mit Metastasen &gt;10 mm zeigen signifikant schlechteres BCR-freies Überleben (p&lt;0.01).</li> <li>• Anzahl der positiven LKs (≤2 vs. &gt;2) und Durchmesser der LK -Metastasen (≤10 vs. &gt;10 mm), sind signifikante Prädiktoren des BCR-freien Überlebens (jeweils p&lt; 0.003)</li> </ul>
<b>Boorjan et al<sup>66</sup></b>	Einfluss des Nodalstatus und prognostische Faktoren für das Outcome bei Patienten nach RPE	507 N1-Patienten nach RPE	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ≥2 positive LK als negativ prognostischer Wert (p=0.001)</li> <li>• Gesamtzahl entnommener LK nicht signifikant mit BCR-freiem Überleben assoziiert</li> </ul>
<b>Briganti et al.<sup>82</sup></b>	Risikostratifizierung in Abhängigkeit der Anzahl positiver Lymphknoten	703 N1-M0-Patienten nach RPE	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Signifikant besseres Krebspezifisches Überleben für Patienten mit ≤2 positiven LK als für ≥2 positive LK (84% vs. 62%; p&lt;0.001).</li> </ul>
<b>Schumacher et al.<sup>41</sup></b>	Langzeit-Outcome bei N1 Patienten nach RPE+ LND	122 N1-Patienten nach RPE	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Krebspezifisches Überleben über 10 Jahre bei Patienten mit ≤2 bzw. ≥3 positiven LK, 78.6% vs. 33.4% (p&lt;0.001).</li> </ul>

von 1.690 Patienten eine signifikante Assoziation zwischen Lymphknotenmetastasierung und höherem pT-Status (p<0,0001) und höherem Gleason Score (p<0,0001) zeigen; darüber hinaus zeigten nodalpositive

Patienten insgesamt eine signifikant schlechtere Prognose im Hinblick auf ihr krebsspezifisches Überleben als N0-Patienten ( $p < 0,0001$ ).<sup>77</sup>

Die große Zahl der in unserer Untersuchung eingeschlossenen Patienten erlaubte die Ausweitung der statistischen Analysen auch auf die Untergruppen für einzelne Gleason-Scores und Tumorstadien. Diese Ausweitung zeigt, wie erwartet, dass die prognostische Relevanz des Nodalstatus auch für durch die Gleason-Scores definierten Subgruppen Gültigkeit besitzt. Eine Sonderstellung mit begrenzter statistischer Aussagekraft besaßen hierbei Tumoren mit einem Gleason-Score von  $\leq 3+3$ . Wie bereits erwähnt, ist dies durch die ausgesprochen geringe Metastasierungswahrscheinlichkeit bei Tumoren dieses Differenzierungsgrades bedingt. Verschiedene Autoren hatten aus diesem Grund bereits konstatiert, dass die Lymphadenektomie bei diesen Patienten vernachlässigt werden könne.<sup>75,83,84</sup> Interessant ist aber die Tatsache, dass die prognostische Aussagekraft der Lymphknoten-Metastasierung ausgerechnet in der Gruppe der Gleason-Score 3+4=7 Karzinome mit einem Tertiärgrad Gleason 5 besonders ausgeprägt ist. Bei dieser Subgruppe handelt es sich um vergleichsweise benigne Karzinome, bei denen das wenig gefährliche Gleason-3-Muster insgesamt dominiert. Das zweithäufigste Gleason-Muster ist bei diesem Tumor ein Gleason-4-Muster, während die Anteile mit Gleason-5-Muster in diesen Karzinomen definitionsgemäß besonders klein sind. Es handelt sich also insgesamt um relativ gut differenzierte Karzinome mit einem sehr kleinen entdifferenzierten Anteil. Die Beobachtung, dass die Metastasierung bei Tumoren ausgerechnet dieser Untergruppe besonders relevant ist, könnte so interpretiert werden, dass es von entscheidender Bedeutung ist, ob der kleine entdifferenzierte Teil mit Gleason-5-Muster-Anteil bereits Anlass zur Metastasierung gegeben hat oder nicht. Für den Fall, dass dies eingetreten ist, ist es darüber hinaus besonders wahrscheinlich, dass der metastasierende Klon dem Gleason-5-Muster-Zellverband entspricht und somit maximal enddifferenziert ist, sodass ein besonders maligner metastasierender Klon vorliegt.

Erste Ergebnisse weisen außerdem darauf hin, dass nicht nur der Differenzierungsgrad des Primärtumors, sondern auch der der

Lymphknotenmetastase prognoserelevant sein könnte.<sup>62</sup> Tatsächlich ist Betrachtung unserer Ergebnisse die Prognose bei metastasierten 3+4 (Tertiärgrad 5) Karzinomen offenbar ungünstiger als bei metastasierten 3+4 oder selbst  $\geq 4+4$  Tumoren. Hat ein Karzinom mit einem Gleason-Score von 3+4 (Tertiärgrad 5) aber keine nachweisbaren Lymphknoten-Metastasen, ist die Prognose günstiger als bei GS  $\geq 4+4$  oder GS 4+3 (Tertiärgrad 5) Karzinomen. Somit könnte für die nicht-metastasierten Karzinome mit GS 3+4 (Tertiärgrad 5) angenommen werden, dass zwar ein sehr entdifferenzierter Klon im Tumor vorlag, dieser aber durch die Operation vor dem Eintreten der Metastasierung eradiziert werden konnte.

Die vorliegende Arbeit erlaubt mit ihrer großen Fallzahl nicht nur Aussagen über den Nodalstatus im Sinne des Prognoseunterschiedes N0 versus N1, sondern auch darüber hinausgehende Angaben, wie den maximalen Tumordurchmesser der größten Metastase und die Zahl der tumorbefallenen Lymphknoten. Es hat sich gezeigt, dass beide Parameter eine über den Nodalstatus allein hinausgehende prognostische Bedeutung besitzen. Es geht also bei der Lymphknoten-Metastasierung nicht nur um die Frage des Vorhandenseins, sondern auch um ihr Ausmaß. Diese Beobachtung wird von zahlreichen anderen Studien gestützt.<sup>58,59,67,82,85</sup> Briganti et al. etwa beobachteten bei einer Untersuchung von 703 N-positiven Patienten mit  $>2$  positiven Lymphknoten eine signifikante Verschlechterung des krebsspezifischen Überlebens nach 15 Jahren, gegenüber Patienten mit  $\leq 2$  positiven Lymphknoten (62% vs. 84%;  $p < 0,001$ ).<sup>82</sup> In einer Studie von Schiavina et al. an 411 N1-Patienten lag die kritische Grenze bei 3 Metastasen (krebsspezifische Mortalität nach 8 Jahren 27,4% versus 44,8% für Patienten mit  $\leq 3$  versus  $>3$  positiven LK,  $p < 0,001$ )<sup>85</sup>

Unsere (größere) Studie deutet darauf hin, dass sich die Prognose der Patienten tatsächlich nicht entlang einer klar definierten „cut-off-Grenze“, sondern kontinuierlich mit der Zahl der befallenen Lymphknoten verschlechtert. Trotz dieser Beobachtungen über die Wichtigkeit der Nodalbeteiligung und dessen Ausmaß, bietet die aktuelle TNM-Klassifikation keine Möglichkeit zur Subklassifizierung, welche unserer Meinung nach für die individuelle Prognoseabschätzung und optimale Therapieplanung jedoch unverzichtbar ist.

Cheng et al. hatten daher beispielsweise bereits die Forderung formuliert, die TNM-Klassifikation zu ergänzen und Tumoren mit singulären Metastase <2mm als N1a, >2mm als N1b und Patienten mit  $\geq 2$  Lymphknotenmetastasen als N2 zu klassifizieren.<sup>86</sup>

Im Hinblick auf den Zusammenhang zwischen dem Nodalstatus und der damit assoziierten Prognoseverschlechterungen sollten auch einige grundlegende Aspekte der Lymphknotenmetastasierung näher betrachtet werden. Beim Prostatakarzinom – ebenso wie bei vielen anderen malignen Tumoren – versterben die Patienten nicht an Lymphknoten-Metastasen per se.<sup>64,87</sup> Selbst große Lymphknoten führen in der Regel nicht zu einer Kompromittierung wichtiger Organfunktionen und die tumoröse Zerstörung eines Lymphknotens hat keine klinisch relevanten Funktionsausfälle zur Folge. Bei malignen Erkrankungen besteht jedoch eine signifikante Beziehung zwischen der Lymphknoten-Metastasierung und dem Vorliegen einer hämatogenen Tumoraussaat.<sup>64,65,87</sup> Die Untersuchung der Lymphknoten hat deswegen bei vielen Tumorarten vor allem die Bedeutung, dass metastasierungsfähige von nicht-metastasierungsfähigen Tumoren unterschieden werden können, wobei die Tumoren mit nodalen Metastasen dann gegebenenfalls von einer adjuvanten Therapie profitieren könnten.

Auch in unserer Studie besteht eine hochsignifikante Assoziation zwischen dem Vorhandensein von Lymphknoten-Metastasen und dem Auftreten eines späteren PSA-Rezidives ( $p < 0.0001$ ). Obwohl ein PSA-Rezidiv natürlich nicht automatisch mit einer hämatogenen Metastasierung gleichzusetzen ist, kann aufgrund der sehr eindeutigen statistischen Beziehung davon ausgegangen werden, dass nodal-positive Karzinome mit höherer Wahrscheinlichkeit hämatogen metastasieren, als nodal-negative.<sup>88</sup> Gleichzeitig muss aber auch in Betracht gezogen werden, dass sehr viele Patienten Jahre beziehungsweise Jahrzehnte lang mit einem PSA-Rezidiv leben, ohne dass hämatogene Metastasen auftreten oder klinische Symptome entstehen. Es wäre ohne weiteres möglich, dass zumindest ein Teil dieser Patienten ihr PSA-Rezidiv wegen des Vorliegens weiterer, im Rahmen der chirurgischen Maßnahmen nicht entfernten, Lymphknoten-Metastasen herleiten, wobei diese über die

Jahre kontinuierlich wachsen, jedoch auf die Lymphknoten beschränkt bleiben und damit nicht vital bedrohlich werden. Die Ergebnisse unserer Untersuchung zeigen, dass ein signifikanter Anteil der nodalpositiven Patienten nach ihrer Behandlung kein PSA-Rezidiv erleidet. Dies stützt die Hypothese, dass nicht zwangsläufig alle Prostatakarzinom-Patienten mit nodalen Metastasen bereits hämatogen metastasiert sind. Fraglich ist in diesem Zusammenhang allerdings, ob sich metastatisches Gewebe in Lymphknoten so weiterentwickeln kann, dass letztlich sekundär eine hämatogene Metastasierungsfähigkeit entsteht. Diese Frage kann aufgrund der Befunde dieser Studie nicht abschließend beantwortet werden und bedarf weiterer Analysen.

Eine weitere Frage mit erheblicher klinischer Relevanz ist zudem, ob die Lymphadenektomie beim nodal-positiven PCa-Patienten einen kurativen Effekt haben kann.<sup>89</sup> Diese Hypothese wird auch bei vielen anderen Karzinomen diskutiert, so zum Beispiel beim Mamma- oder Blasenkarzinom.<sup>90–93</sup> Geht man davon aus, dass die bei unseren Patienten im Rahmen der Lymphadenektomie entfernten Metastasen unbehandelt weitergewachsen wären, hätten sie durch unkontrolliertes Wachstum und PSA-Produktion im Laufe der Zeit alle zu einem PSA-Rezidiv geführt.

Gerade bei Patienten mit nur einer Lymphknotenmetastase beziehungsweise Patienten mit einer insgesamt geringen Menge an metastasierten Zellen konnten in unserer Untersuchung häufig durch Lymphadenektomie eine langfristige Rezidiv-Freiheit erreicht werden. Ähnliches konnte auch bei anderen Tumorentitäten beobachtet werden. So konnten beispielsweise Patienten mit lokalisiertem Blasenkarzinom und minimaler Lymphknotenbeteiligung durch eine Cystektomie mit begleitender Lymphadenektomie dauerhaft geheilt werden.<sup>92,93</sup> Diese Hypothese wird durch verschiedene Studien gestützt, die gezeigt haben, dass besonders ausgedehnte Lymphadenektomien mit einer günstigeren Prognose verbunden sind, als „limitierte“ Lymphadenektomien.<sup>36,37,94–97</sup> In einer retrospektiven Analyse von 13.020 Fällen basierend Daten auf der SEER- Datenbank (Surveillance, Epidemiology, and End Results), konnte bei der Entfernung von  $\leq 10$  Lymphknoten sowohl für N0 als auch für N1 Patienten eine Verminderung

der Krebspezifischen Sterberate gegenüber den Patienten festgestellt werden, bei denen keine Lymphknoten entfernt wurden.<sup>37</sup> Allaf et al. beobachteten einen höheren Anteil okkulten Metastasen bei erweiterter Lymphadenektomie als bei limitierter Lymphadenektomie und folgerten, dass gerade Patienten mit (noch) minimaler Nodalbeteiligung von einer erweiterten Lymphadenektomie profitierten.<sup>95</sup> Masterson et al. konstatierten in ihrer Studie mit 4.611 Patienten einen positiven Effekt der Lymphadenektomie auf das BCR-freie Überleben für N0- Patienten und führten dies auf das eventuelle Vorliegen von Mikrometastasen zurück, die pathologisch nicht entdeckt worden, aber durch die Entfernung der betroffenen Lymphknoten rechtzeitig eliminiert werden konnten.<sup>98</sup> Diese Beobachtung gibt Anlass zur Vermutung, dass es im Krankheitsverlauf des Prostatakarzinoms eine Phase in der Progression gibt, bei der eine frühe Dissemination von Tumorzellen durch Maßnahmen wie beispielsweise eine Lymphadenektomie positiv beeinflusst werden kann.

An dieser Stelle soll jedoch auch erwähnt werden, dass andere Autoren diese Beobachtungen nicht oder nur teilweise reproduzieren konnten und der erweiterten Lymphadenektomie keine beziehungsweise nur eingeschränkt therapeutische Bedeutung zusprechen. So konnten DiMarco et al. in ihrer Untersuchung von 7036 pTxN0-Fällen keine Verbesserung der Prognose durch Ausweitung der Lymphadenektomie feststellen.<sup>99</sup> Auch Murphy et al. kamen nach Untersuchung von 964 pT2-4/N0/M0 Patienten zu ähnlichen Ergebnissen.<sup>100</sup> Schiavina et al. hatten in ihrer Untersuchung von 872 Patienten mit pT2-4 N0/N1/Nx nach radikaler Prostatektomie entsprechend ihres Risikos für Nodalbeteiligung in Risikogruppen unterteilt. Innerhalb dieser Gruppen wurde das BCR-freie Überleben derjenigen Patienten, denen  $\geq 10$  Lymphknoten entfernt wurden, dem BCR-freien Überleben der Patienten, denen 0-9 Lymphknoten entfernt wurden, gegenübergestellt. Während bei Patienten mit Low-Risk-Tumoren kein signifikanter Unterschied im BCR-freien Überleben zwischen den beiden Gruppen gezeigt werden konnte ( $p=0.599$ ), zeigte sich für die Intermediate- und High-Risk-Tumoren eine signifikant bessere Prognose, wenn  $\geq 10$  Lymphknoten entfernt wurden ( $p<0.0001$ ).<sup>96</sup> Diese vermeintlich widersprüchlichen Ergebnisse wurden in fast ausschließlich

retrospektiven Studien mit sehr unterschiedlichen Einschlusskriterien und Settings erzielt und machen deutlich, dass es weiterer Analysen bedarf, um zu klären, welche Patientengruppen von einer limitierten beziehungsweise erweiterten Lymphadenektomie profitieren und welche nicht.

Ein wesentliches Problem im Zusammenhang mit der diagnostischen Zuverlässigkeit Lymphadenektomie stellt das diffuse Metastasierungsverhalten des Prostatakarzinoms dar. Da es beim diesem Tumor keinen klar definierten Sentinel-Lymphknoten, wie etwa beim Mammakarzinom, gibt, werden im Rahmen der Lymphadenektomie beim Prostatakarzinom grundsätzlich nicht alle potentiell tumorbefallenen Lymphknoten entfernt. Aus diesem Grund besteht immer das Risiko, dass trotz ausgedehnter Lymphadenektomie noch Lymphknoten-Metastasen im Patienten zurück bleiben. Bedenkt man jedoch, dass sich bei N1-Patienten durch die Entfernung von Lymphknoten im Rahmen einer Lymphadenektomie eine Verbesserung der Prognose beobachten lässt, liegt die Vermutung nahe, dass möglicherweise eine Nachbehandlung der verbliebenen Lymphknoten im Falle eines N1-Befundes (insbesondere, wenn mehrere Lymphknoten-Metastasen vorliegen) zu einer Eliminierung der restlichen im Patienten verbliebenen Lymphknoten-Metastasen führen könnte. Gerade im Hinblick auf adjuvante Maßnahmen nach erfolgter Prostatektomie konnten verschiedene Studien zeigen, dass eine adjuvante Nachbestrahlung mit weitem Feld, welches auch die regionären Lymphknoten mit abdeckt, zu einer Prognoseverbesserung führt.<sup>30,101–104</sup> Abdollah et al. postulierten, dass der positive Effekt einer adjuvanten Radiotherapie (aRT) stark von individuellen Tumorcharakteristika abhängt. Nach Unterteilung der 1.107 N1-Patienten in Risikogruppen, konnte eine signifikante Verbesserung des krebsspezifischen Überlebens vor allem für zwei der Risikogruppen beobachtet werden: a) Patienten mit intermediate bis high-grade Risiko Tumoren (GS 7 bis 10, pT3b/pT4-Stadium, oder R1) und niedriger Nodalbeteiligung ( $\leq 2$  positive Lymphknoten) sowie b) Patienten mit mittlerer Nodalbeteiligung (3 bis 4 positive LK), unabhängig der übrigen Tumorcharakteristika, stellten hiernach die ideale Kandidaten für eine aRT nach radikaler Prostatektomie dar.<sup>105</sup> In den letzten Jahren geht die Tendenz darüber hinaus nun auch beim

Prostatakarzinom zur adjuvanten Chemotherapie bei Hoch-Risiko-Patienten, zu welchen N1- Karzinome zweifellos gehören.<sup>52,53</sup>

Wir sind daher der Auffassung, dass das Ausmaß nodaler Beteiligung in Zukunft ein zentraler Bestandteil bei Prognoseabschätzung und Therapieplanung für einzelne Patientengruppen werden muss. Unbestreitbar zeigen die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung, dass es in diesem Zusammenhang wichtig ist, zu klären, ob beim Patienten Lymphknoten-Metastasen vorliegen oder nicht und wenn ja, wie viele Lymphknoten-Metastasen und wie groß jene sind. Dafür ist es großer Bedeutung für den Chirurgen und Pathologen, die Gewinnung, Verarbeitung und Untersuchung der histologischen Präparate optimal zu gestalten.

#### **4.2 Einfluss der Verarbeitung auf den Informationsgewinn der Lymphadenektomie**

Wie im vorigen Kapitel bereits erläutert, ist eine möglichst präzise Beurteilung der Nodalbeteiligung beim Prostatakarzinom-Patienten sinnvoll, da sie die Voraussetzung für eine genaue Bestimmung des Lymphknoten-Status und der Patientenprognose zur optimalen Therapieplanung ist und darüber hinaus möglicherweise selbst einen therapeutischen Effekt ausübt.<sup>34,89,106</sup> Für den Pathologen heißt dies, dass die Untersuchung des Materials der Lymphadenektomie auf optimale Weise erfolgen muss. Dennoch konnte für die Praxis bislang keine allgemein gültigen Empfehlungen zu Indikation, Ausmaß und Übermittlung beziehungsweise Prozessierung der Lymphadenektomie beziehungsweise Lymphadenektomiepräparate gefunden werden.

Wesentliches Ziel der vorliegenden Doktorarbeit war es dementsprechend, zu klären, inwieweit die in den letzten Jahren am Institut für Pathologie des UKE mit dem Ziel der Prozessverbesserung etablierten Optimierungsmaßnahmen der Lymphknotendiagnostik einen positiven Effekt erzielten. Die Befunde machen in der Tat deutlich, dass es im Laufe des in der Studie überblickten Jahrzehntes zu einer substantiellen Verbesserung gekommen ist. Die Zahl der untersuchten Lymphknoten pro Patient verdoppelte sich von circa 7 auf über 17. Der Anteil der detektierten N1 Patienten steigerte sich im gleichen Zeitraum von 8 auf über 16%. Die erste Maßnahme erfolgte am 13.11.2008 und bestand

in einer vollständigen Einbettung sämtlicher, bei der Operation entnommener, palpatorisch unauffälliger Fettgewebsfragmente. Diese Maßnahme hatte bereits zu einer massiven Vermehrung der untersuchten Lymphknoten geführt, mit einer Steigerung von im Mittel 6,8 auf circa 12,7 Lymphknoten pro Patient. Da Lymphknoten palpatorisch nicht regelmäßig entdeckt werden können, war zu erwarten, dass diese Maßnahme zu einer Vermehrung von entdeckten Lymphknoten führt. Auch andere Untersucher hatten gezeigt, dass eine Einbettung des Fettgewebes zu einer Vermehrung der untersuchbaren Lymphknoten führt und an Einzelfällen konnte aufgezeigt werden, dass dadurch N1-Fälle entdeckt werden können, die sonst nicht diagnostiziert würden.<sup>34,107,108</sup>

So beobachteten Perry-Keene et al. In ihrer Studie eine Erhöhung der durchschnittlichen Anzahl detektierter Lymphknoten durch Gesamteinbettung des entnommenen Gewebes von 3,8 auf 10,8.<sup>107</sup> In einer Studie von Montironi et al. befanden sich 6,5% der Lymphknotenmetastasen in makroskopisch nicht entdeckten Lymphknoten.<sup>109</sup> Dennoch haben diese Berichte (an kleineren Fallzahlen) nicht dazu geführt, dass die routinemäßige Fetteinbettung bei der Lymphadenektomie beim Prostatakarzinom zu einem Standardverfahren wurde- Kritiker bemängelten unter anderem die Kosteneffektivität.<sup>34,110</sup> Unsere Daten machen nun deutlich, dass die Fetteinbettung ein unverzichtbarer Bestandteil der Lymphadenektomie-Untersuchung ist. Bei 1.957 Patienten ohne komplette Fetteinbettung lag die die N1 Rate bei 8,0%, bei 5.917 Patienten mit kompletter Fetteinbettung betrug sie 10,5%, was einer 25%igen Steigerung der N1-Rate entspricht ( $p < 0.0001$ ). Die isolierte Untersuchung von Tumoren identischer Gleason-Scores zeigt diesen Effekt nur bei Gleason 4+3=7 und Gleason  $\geq 4+4$  Karzinomen, aber nicht bei Gleason 3+4=7 Karzinomen. Wir führen diesen Effekt auf die relativ kleine Größe der Lymphknoten-Metastasen bei Gleason 3+4=7 Karzinomen zurück und glauben, dass gerade bei diesen Tumoren Lymphknoten-Metastasen ohne Verwendung von Immunhistochemie gerne übersehen werden.

Die routinemäßige Immunhistochemie wurde am 07.11.2012 eingeführt, wobei mindestens 4 Lymphknoten pro Patienten immunhistochemisch untersucht wurden. Auch hier hatten andere Autoren in kleineren Studien gezeigt, dass die

Maßnahme zu einer Vermehrung des Nachweises von Lymphknoten-Metastasen führt.<sup>111</sup> Die Daten unserer Untersuchung ergaben einen Anstieg der N1-Rate von 10,5% bei 5.917 ohne Routineanwendung der Immun-Histochemie auf 13,8% bei 2.833 Patienten mit routinemäßiger Anwendung der Immunhistochemie, was einem mehr als 30%-igen Anstieg der N1-Rate entspricht. Angesichts der hohen Bedeutung des N-Status für die Patientenprognose und für die damit wohl in Zukunft verbundene Indikation zu adjuvanten Maßnahmen denken wir, dass eine routinemäßige Anwendung der Immunhistochemie bei Lymphadenektomien für das Prostatakarzinom Standard werden muss. Dabei stellt sich die Frage, wie viele Lymphknoten letztlich routinemäßig immunhistochemisch untersucht werden sollen. Unter dem Eindruck von vielen immunhistochemisch gefundenen, sehr kleinen Lymphknoten-Metastasen, welche im HE-Präparat nicht identifizierbar oder leicht zu übersehen gewesen waren, wurde der Einsatz der Immunhistochemie im Juli 2014 auf mindestens 8 Lymphknotenblöcke ausgedehnt. Diese Maßnahme führte zu einer weiteren signifikanten Steigerung der N1-Rate von 13,8% auf 16,7% was einer Steigerung um 21% entspricht. Die N1-Rate stieg insbesondere bei den Gleason 3+4=7 Karzinomen (von 3,4 auf 5,8%, Steigerung um 70%) und bei 4+3=7 Karzinomen. Hier von 23,7 auf 29,2% (Steigerung um 22,8%).

Interessant ist der Effekt der über die Fetteinbettung hinausgehenden Maßnahmen auf die Zahl der untersuchten Lymphknoten. Dabei zeigte sich in der Periode nach Einführung der Immunhistochemie von 4 Lymphknotenblöcken auch eine Steigerung der pro Patienten identifizierten Lymphknoten. Dieser Effekt kann nicht durch die Immunhistochemie bedingt sein, sondern entspricht offensichtlich dem Ergebnis vermehrter chirurgischer Bemühungen, die Lymphadenektomie gründlicher durchzuführen. Bemerkenswert ist die Reduktion der Lymphknotenzahl durch die letzte Maßnahme, welche neben der Ausweitung der Immunhistochemie auch eine routinemäßige Aceton-Behandlung der Fettgewebspakete beinhaltete. Zwar kann nicht ausgeschlossen werden, dass der Rückgang der Lymphknotenzahl durch eine Verminderung der chirurgischen Qualität bedingt ist, wir meinen

aber, dass dieser „Rückgang“, ganz im Gegenteil, durch eine Verbesserung der Qualität der pathologischen Untersuchung bedingt ist. Die Fettgewebseinbettung hat nämlich den Nachteil, dass Lymphknoten zum Teil artifiziell fragmentiert werden, sodass einzelne, halbierte Lymphknoten dann irrtümlicher Weise doppelt in die Zahl der untersuchten Lymphknoten eingehen können.<sup>34</sup> Die Aceton-Präparation erleichtert die Präparation der Lymphknoten und reduziert somit Schwierigkeiten, Lymphknoten zu identifizieren.

Zusammengefasst zeigt die vorliegende Untersuchung, dass der Lymphknoten-Status ein sehr starker Prognosefaktor beim Prostatakarzinom ist, wobei nicht nur die Tatsache, ob Lymphknoten-Metastasen vorliegen oder nicht, sondern auch das Ausmaß der Metastasierung eine prognostische Bedeutung besitzt. Die Art der histopathologischen Aufarbeitung des Lymphadenektomie-Materials ist für die Zuverlässigkeit der histologischen Beurteilung entscheidend. Unsere Daten zeigen, dass die Kombination von Kompletteinbettung, auch makroskopisch lymphknotenfreien Fettgewebes, in Kombination mit Aceton-Behandlung und ausgedehnten immunhistochemischen Untersuchungen die besten Ergebnisse erzielt. Auch im Lichte zunehmender Möglichkeiten der adjuvanter Therapie nach Prostatektomie, wie die ausgeweitete Bestrahlung sowie in Zukunft gegebenenfalls auch chemotherapeutische Maßnahmen, ist eine umfassende histologische Aufarbeitung von Lymphadenektomie-Präparaten zur optimalen Einschätzung des Patientenrisikos unumgänglich.

## 5 Zusammenfassung

Das Prostatakarzinom (Pca) ist die häufigste Tumorerkrankung bei Männern in Deutschland. Die Prostatektomie stellt unter kurativer Intention den Goldstandard dar, wobei der Nutzen adjuvanter Maßnahmen zunehmend diskutiert wird. Hierfür ist eine zuverlässige Prognoseabschätzung unverzichtbar. Ziel der Studie war es, an einem Patientenkollektiv von 17.139 Patienten die prognostische Relevanz quantitativer Parameter der Nodalbeteiligung zu bestimmen sowie zu evaluieren, inwieweit sich präparatorische Maßnahmen auf die diagnostische Zuverlässigkeit auswirken. Die vorliegende Studie umfasst 11.228 N0-Patienten (9.138 mit Verlaufsdaten) und 1.510 N1-Patienten (1.301 mit Verlaufsdaten). Darüber hinaus wurde für die N1-Patienten sowohl die Anzahl der Nodalmetastasen als auch deren Maximaldurchmesser ermittelt. Die Analysen ergaben, dass nicht nur der N-Status, sondern auch die Anzahl und Größe der Lymphknoten-Metastasen hochsignifikant mit pT-Stadium, Gleason-Score und PSA-Rezidiven assoziiert waren (jeweils  $p < 0.0001$ ). Bemerkenswerterweise unterschied sich die Prognoserelevanz kleinster Metastasen ( $< 1$  mm) nicht erheblich von der größerer Metastasen (2-9mm), während Metastasen  $\geq 1$  cm mit einer besonders ungünstigen Prognose assoziiert waren ( $p < 0.0001$ ). Diese Zahlen belegen die hohe prognostische und klinische Relevanz selbst geringster nodalen Metastasierung. Es ist also wichtig, Lymphknotenmetastasen zuverlässig zu entdecken und deren Ausmaß zu evaluieren. Am Institut für Pathologie wurde der Prozess der Lymphknotenpräparation über die Jahre daher stetig optimiert. Nachdem LK initial palpatorisch identifiziert, selektiv eingebettet und histologisch untersucht wurden, wurde der Prozess um mehrere Schritte erweitert, welches die Kompletteinbettung des beiliegenden Fettgewebes, die routinemäßige Untersuchung mit Zytokeratin-Antikörpern sowie die Aceton-Behandlung des Fettgewebes beinhaltete. Der N1-Anteil stieg von 8,0% auf 16,7%. Die Anzahl untersuchter LK stieg von durchschnittlich 6,8 auf 17,4. Insgesamt zeigen die Daten, dass dem N-Status beim PCa eine enorme klinische Bedeutung zukommt und die akkurate Evaluation nur durch erheblichen technischen Aufwand mit vernünftiger Zuverlässigkeit erhoben werden kann.

## 6 Abstract

PCa is the most common cancer among men in western societies. Radical prostatectomy is the standard treatment in curative intention, with the possibility of adjuvant measures like post-irradiation or drug treatment being discussed increasingly. Thus, a reliable assessment of prognosis is essential. In our study we analyzed the prognostic relevance of LN involvement and its extent based on 17.139 cases. We also evaluated the impact of several diagnostic measures on the accuracy of histological assessment. The study included 11.228 N0 patients, 4.399 Nx patients and 1.510 N1 patients with follow-up data in 10.451 cases. Aside from LN we assessed the number of retrieved LN, the number of positive LN and their maximum size in mm. The analysis of LN state and tumor-phenotype respectively prognosis showed that not only the nodal state but also the number of positive LN, as well as the maximal diameter of metastases were significantly correlated with pT-stage, Gleason-Score and risk of BCR (each  $p < 0.0001$ ). Interestingly, metastases measuring  $< 1$  mm versus 2-9mm did not drastically differ in their outcomes, whereas metastases  $> 1$ cm showed a significant impairment of prognosis ( $p < 0.0001$ ). Considering the high prognostic and clinical relevance of LN metastases, it is important to reliably detect existing metastases and determine their extent. At the Institute of Pathology, UKE, there has been a continuous improvement of LN assessment over the years. Initially, LN had to be identified manually in order to get embedded and histologically examined. In 2008, this process got extended by the entire embedding of all fat tissue. Since 2012, a minimum of 4 LN had to be examined immunohistochemically additionally. From 2014 on the embedded fat tissue got treated with acetone and the immunohistochemical examination got extended to an amount of 8 LN minimum. Each series of tumors that had been examined according to one of the described methods consisted of at least 1.000 cases. The rate of LN positive patients increased from 8,0% to 16,7%. The average number of identified LN increased from 6,8 to 17,4. The represented increases were also reproducible for sub-analyses in collectives of identical Gleason-Scores. Overall, the data show that LN metastases have a high impact on outcome in PCa and that their reliable detection and assessment can only be enabled by considerable technical effort.

## 7 Literaturverzeichnis

1. Center MM, Jemal A, Lortet-Tieulent J, et al. International Variation in Prostate Cancer Incidence and Mortality Rates. *Eur Urol.* 2012;61(6):1079-1092.
2. Global Burden of Disease Cancer Collaboration. Global, Regional, and National Cancer Incidence, Mortality, Years of Life Lost, Years Lived With Disability, and Disability-Adjusted Life-years for 32 Cancer Groups, 1990 to 2015. A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study. *JAMA Oncol.* 2017;3(4):524–548.
3. Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregisterdaten in Deutschland e. V. (Hrsg). Krebs in Deutschland für 2013/2014. 11. Auflage: 92-95.
4. Ohlmann C.-H. Prostatakarzinom. In: Urologie. Hegele A., Skrobek L. (Hrsg.), Urologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart. 2016; 251-263.
5. Brechka H, Bhanvadia RR, Van Opstall C, Vander Griend DJ. HOXB13 mutations and binding partners in prostate development and cancer: Function, clinical significance, and future directions. *Genes Dis.* 2017;4(2):75-87.
6. Cheng HH, Pritchard CC, Montgomery B, Lin DW, Nelson PS. Prostate Cancer Screening in a New Era of Genetics. *Clin Genitourin Cancer.* 2017;15(6):625-628.
7. Perez-Cornago A, Appleby PN, Pischon T, et al. Tall height and obesity are associated with an increased risk of aggressive prostate cancer: results from the EPIC cohort study. *BMC Med.* 2017;15:115.
8. Kristal AR, Till C, Song X, et al. Plasma vitamin D and prostate cancer risk: Results from the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2014;23(8):1494-1504.
9. De Marzo AM, Platz EA, Sutcliffe S, et al. Inflammation in prostate carcinogenesis. *Nat Rev Cancer.* 2007;7(4):256-269.
10. Wang K, Chen X, Bird VY, Gerke TA, Manini TM, Prosperi M. Association between age-related reductions in testosterone and risk of prostate cancer—An analysis of patients' data with prostatic diseases. *Int J Cancer.* 2017;141(9):1783-1793.
11. Börgermann C, Chun FK-H, Bastian PJ, et al. Prostatakarzinom. In: Uroonkologie. Rübber H (Hrsg.) Springer Berlin Heidelberg; 2014:513-676.

12. Zhou CK, Check DP, Lortet-Tieulent J, et al. Prostate cancer incidence in 43 populations worldwide: An analysis of time trends overall and by age group. *Int J Cancer*. 2016;138(6):1388-1400.
13. Haberland J, Wolf U. Trendanalysen zur Inzidenz und Mortalität an Krebs in Deutschland seit 1970. In: *GMS Med Inform, Biom Epidemiologie*. Robert Koch-Institut, Epidemiologie und Gesundheitsberichterstattung (Hrg.), 2015;11(1):1-10.
14. Jahn JL, Giovannucci EL, Stampfer MJ. The High Prevalence of Undiagnosed Prostate Cancer at Autopsy: Implications for Epidemiology and Treatment of Prostate Cancer in the Prostate-Specific Antigen-Era. *Int J Cancer*. 2015;137(12):2795-2802.
15. Fossati N, Passoni NM, Moschini M, et al. Impact of stage migration and practice changes on high risk prostate cancer: results from patients treated with radical prostatectomy over the last two decades. *BJU Int*. 2016;117(5):740-747.
16. Potosky AL, Kessier L, Gridley G, Brown CC, Horm JW. Rise in prostatic Cancer Incidence Associated With Increased Use of Transurethral Resection. *J Natl Cancer Inst*. 1990;82(20):1624-1628.
17. Levy IG, Gibbons L, Collins JP, Perkins DG, Mao Y. Prostate cancer trends in Canada: rising incidence or increased detection? *C Can Med Assoc J*. 1993;149(5):617-624.
18. Etzioni R, Penson DF, Legler JM, et al. Overdiagnosis Due to Prostate-Specific Antigen Screening: Lessons From U.S. Prostate Cancer Incidence Trends. *J Natl Cancer Inst*. 2002;94(13):981-990.
19. Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V. Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF): Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur Früherkennung, Diagnose und Therapie der verschiedenen Stadien des Prostatakarzinoms, Langversion 5.0, 2018: 81-225. AWMF Registernummer:043/022OL, (<https://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/Leitlinien/Prostatakarzinom>, Online-Zugriff am 20.04.2018.)
20. Brewster DH, Fraser LA, Harris V, Black RJ. Rising incidence of prostate cancer in Scotland: increased risk or increased detection? *BJU Int*. 2000;85(4):463-473.
21. Auvinen A, Moss SM, Tammela TLJ, et al. Absolute Effect of Prostate Cancer Screening: Balance of Benefits and Harms by Center within the European Randomized Study of Prostate Cancer Screening. *Clin Cancer Res*. 2016;22(1):243-239.

22. Heijnsdijk E, Wever EM, Auvinen A, et al. Quality-of-Life Effects of Prostate-Specific Antigen Screening. *N Engl J Med.* 2012;367(7):595-605.
23. McNeal JE, Redwine EA, Freiha FS, Stamey TA. Zonal distribution of prostatic adenocarcinoma. Correlation with histologic pattern and direction of spread. *Am J Surg Pathol.* 1988;12(12):897-906.
24. Hertle L, Bierer S., Gschwend J. E., Tschirdewahn F. v. Dorp, Rübben H., Hautmann R, Hautmann S., Protzel C., Hakenberg O.W., Dieckmann K.-P., Alber P. GM. Prostatakarzinom. In: Hautmann S, Gschwend JE (Hrsg), eds. *Urologie.* 5. Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer; 2014:217-230.
25. Bell KJL, Del Mar C, Wright G, Dickinson J, Glasziou P. Prevalence of incidental prostate cancer: A systematic review of autopsy studies. *Int J Cancer.* 2015;137(7):1749-1757.
26. Draisma G, Boer R, Otto SJ, et al. Lead Times and Overdetection Due to Prostate-Specific Antigen Screening: Estimates From the European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2003;95(12):868-878.
27. Wong MCS, Goggins WB, Wang HHX, et al. Global Incidence and Mortality for Prostate Cancer: Analysis of Temporal Patterns and Trends in 36 Countries. *Eur Urol.* 2016 Nov;70(5):862-874.
28. Kaatsch P, Spix C, Hentschel S, et al. Krebs in Deutschland 2009/2010. Robert Koch-Institut und die Gesellschaft der Epidemiol Krebsregister Deutschl eV (Hrsg), 9. Ausgabe. Berlin. 2013;9:88-91
29. Zentrum für Krebsregisterdaten im Robert Koch-Institut. Bericht zum Krebsgeschehen in Deutschland 2016: 40-43. (Online-Zugriff am 14.04.2018 auf <https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebsgeschehen/>)
30. Briganti A, Karnes RJ, Pozzo LF Da, et al. Combination of Adjuvant Hormonal and Radiation Therapy Significantly Prolongs Survival of Patients With pT2–4 pN+ Prostate Cancer: Results of a Matched Analysis. *Eur Urol.* 2011;59(5):832-840.
31. Kluth LA, Xylinas E, Rieken M, et al. Does increasing the nodal yield improve outcomes in contemporary patients without nodal metastasis undergoing radical prostatectomy? *Urol Oncol Semin Orig Investig.* 2014;32(1):41–48.
32. Suardi N, Gandaglia G, Gallina A, et al. Long-term Outcomes of Salvage Lymph Node Dissection for Clinically Recurrent Prostate Cancer: Results

- of a Single-institution Series with a Minimum Follow-up of 5 Years. *Eur Urol.* 2017;67(2):299-309.
33. Demir A, Karadag MA, Türkeri L. Is there a relationship between the number of lymph nodes and disease parameters in patients who underwent retropubic prostatectomy. *Int Urol Nephrol.* 2014;46(8):1537-1541.
34. Prendeville S, van der Kwast TH. Lymph node staging in prostate cancer: perspective for the pathologist. *J Clin Pathol.* August 2016; 69: 1039-1045.
35. Lughezzani G, Gallina A, Larcher A, et al. Radical prostatectomy represents an effective treatment in patients with specimen-confined high pathological Gleason score prostate cancer. *BJU Int.* 2013;111(5):723-730.
36. Muck A, Langesberg C, Mugler M, Rahnenführer J, Wullich B, Schafhauser W. Clinical Outcome of Patients with Lymph Node-Positive Prostate Cancer following Radical Prostatectomy and Extended Sentinel Lymph Node Dissection. *Urol Int.* 2015;94:296–306.
37. Joslyn SA, Konety BR. Impact of extent of lymphadenectomy on survival after radical prostatectomy for prostate cancer. *Urology.* 2006;68(1):121-125.
38. Gakis G, Boorjian SA, Briganti A, et al. The role of radical prostatectomy and lymph node dissection in lymph node-positive prostate cancer: A systematic review of the literature. *Eur Urol.* 2014;66(2):191-199.
39. Joniau S, den Bergh L Van, Lerut E, et al. Mapping of Pelvic Lymph Node Metastases in Prostate Cancer. *Eur Urol.* 2013;63(3):450-458.
40. Paño B, Sebastià C, Buñesch L, et al. Pathways of Lymphatic Spread in Male Urogenital Pelvic Malignancies. *RadioGraphics.* 2011;31(1):135-160.
41. Schumacher MC, Burkhard FC, Thalmann GN, Fleischmann A, Studer UE. Good Outcome for Patients with Few Lymph Node Metastases After Radical Retropubic Prostatectomy. *Eur Urol.* 2008;54(2):344-352.
42. Wiegand LR, Hernandez M, Pisters LL, Spiess PE. Surgical management of lymph-node-positive prostate cancer: improves symptomatic control. *BJU Int.* 2011;107(8):1238-1242.
43. Jegadeesh N, Liu Y, Zhang C, et al. The role of adjuvant radiotherapy in pathologically lymph node-positive prostate cancer. *Cancer.* 2017;123(3):512-520.
44. Anampa J, Makower D, Sparano JA. Progress in adjuvant chemotherapy for breast cancer: an overview. *BMC Med.* 2015;13(1):1-13.

45. Schmoll HJ, Van Cutsem E, Stein A, et al. ESMO Consensus Guidelines for management of patients with colon and rectal cancer. A personalized approach to clinical decision making. *Ann Oncol* . 2012;23(10):2479-2516.
46. Miller K, Lein M, Schostak M, Schrader M. Adjuvant and neoadjuvant drug therapy for prostate cancer. *Urologe*. 2008;47(11):1460-1464.
47. Schmidt CG, Seeber S. Neue Perspektiven für eine adjuvante Chemotherapie bei soliden Tumoren\*. *Dtsch med Wochenschr*. 1975;100(45):2342-2348.
48. Matsumoto T, Hatakeyama S, Ookubo T, et al. Cost-effectiveness comparison between neoadjuvant chemohormonal therapy and extended pelvic lymph node dissection in high-risk prostate cancer patients treated with radical prostatectomy: a multi-institutional analysis. *Med Oncol*. 2017;34(12):189-199.
49. Seisen T, Vetterlein MW, Karabon P, et al. Efficacy of Local Treatment in Prostate Cancer Patients with Clinically Pelvic Lymph Node-positive Disease at Initial Diagnosis. *Eur Urol*. 2018; 73: 452-461.
50. Wong AT, Schwartz D, Osborn V, Safdieh J, Weiner J, Schreiber D. Adjuvant radiation with hormonal therapy is associated with improved survival in men with pathologically involved lymph nodes after radical surgery for prostate cancer. *Urol Oncol Semin Orig Investig*. 2016;34(12):529e15-529e20.
51. Ohlmann C-H. Chemotherapy of prostate cancer. *Urologe*. 2015;54(10): 1461-1470.
52. Gravis G, Boher J-M, Joly F, et al. Androgen Deprivation Therapy (ADT) Plus Docetaxel Versus ADT Alone in Metastatic Non castrate Prostate Cancer: Impact of Metastatic Burden and Long-term Survival Analysis of the Randomized Phase 3 GETUG-AFU15 Trial. *Eur Urol*. 2016;70(2):256-262.
53. Bergstrom CP, Ruffell B, Ho CMT, et al. Docetaxel and mitoxantrone before radical prostatectomy in men with high-risk prostate cancer: 10-year follow-up and immune correlates. *Anticancer Drugs*. 2017;28(1): 120–126.
54. Garzotto M, Myrthue A, Higano CS, Beer TM. Neoadjuvant mitoxantrone and docetaxel for high-risk localized prostate cancer. *Urol Oncol Semin Orig Investig*. 2006;24(3):254-259.
55. Gervasi LA, Mata J, Easley JD, et al. Prognostic significance of lymph nodal metastases in prostate cancer. *J Urol*. 1989;142(2 Pt 1):332-336.

56. Eggener SE, Scardino PT, Walsh PC, et al. Predicting 15-year prostate cancer specific mortality after radical prostatectomy. *J Urol.* 2011;185(3):869-875.
57. Von Bodman C, Godoy G, Chade DC, et al. Predicting Biochemical Recurrence-Free Survival for Patients With Positive Pelvic Lymph Nodes at Radical Prostatectomy. *J Urol.* 2010;184(1):143-148.
58. Boormans JL, Wildhagen MF, Bangma CH, Verhagen PC, Van Leenders GJ. Histopathological characteristics of lymph node metastases predict cancer-specific survival in node-positive prostate cancer. *BJU Int.* 2008;102(11):1589-1593.
59. Cheng L, Bergstralh EJ, Chevillet JC, et al. Cancer volume of lymph node metastasis predicts progression in prostate cancer. *Am J Surg Pathol.* 1998;22:1491-1500.
60. Gugliemetti G, Sukhu R, Conca Baenas MA, et al. Number of metastatic lymph nodes as determinant of outcome after salvage radical prostatectomy for radiation-recurrent prostate cancer. *Actas Urol Esp.* 2016; 40(7): 434-439.
61. Carlsson S V, Tafe LJ, Chade DC, et al. Pathological Features of Lymph Node Metastasis for Predicting Biochemical Recurrence After Radical Prostatectomy for Prostate Cancer. *J Urol.* 2013;189(4):1314-1319.
62. Ko K, Jeong IG, Choi WS, et al. Effect of Gleason scores of lymph node metastases on prognosis of patients with prostate cancer. *Int J Clin Exp Pathol.* 2014;7(9):6141-6148.
63. Touijer KA, Mazzola CR, Sjoberg DD, Scardino PT, Eastham JA. Long-term outcomes of patients with lymph node metastasis treated with radical prostatectomy without adjuvant androgen-deprivation therapy. *Eur Urol.* 2014;65(1):20-25.
64. Sleeman JP, Thiele W. Tumor metastasis and the lymphatic vasculature. *Int J Cancer.* 2009;125(12):2747-2756.
65. Datta K, Muders M, Zhang H, Tindall DJ. Mechanism of lymph node metastasis in prostate cancer. *Future Oncol.* 2010;6(5):823-836.
66. Boorjian SA, Thompson RH, Siddiqui S, et al. Long-Term Outcome After Radical Prostatectomy for Patients With Lymph Node Positive Prostate Cancer in the Prostate Specific Antigen Era. *J Urol.* 2007;178(3):864-871.
67. Passoni NM, Fajkovic H, Xylinas E, et al. Prognosis of patients with pelvic lymph node (LN) metastasis after radical prostatectomy: Value of

- extranodal extension and size of the largest LN metastasis. *BJU Int.* 2014;114(4):503-510.
68. Basten O, Bandorski D, Bismarck C, Neumann K, Fisseler-Eckhoff A. Acetone compression [Acetonkompression]. *Pathologe.* 2010;31(3):218-224.
69. Richter D, Lorenz D, Isemer FE, Braun S, Fisseler-Eckhoff A. Acetone treatment of lymph node preparations in staging colorectal specimens [Acetonbehandlung zur Lymphknotenpräparation beim Staging von kolorektalen Resektaten]. *Pathologe.* 2007;28(4):269-272.
70. Wittekind C. Urologische Tumoren. In: TNM Klassifikation maligner Tumoren, Wittekind C (Hrg), Meyer HJ (Hrg.), Wiley-VCH, Weinheim. 2010;7:234-238.
71. Epstein JI, Allsbrook WCJ, Amin MB, Egevad LL. *The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma.* 2005; 29(9):1228-1242.
72. Kumar Vinay, Abbas Abul K, Aster Jon C. RSL. Male Genital System and Lower Urinary Tract. In: *Robbins Basic Pathology.* 9th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; 2013;9. Editon:665-668.
73. Catalona WJ, Smith DS, Ratliff TL, et al. Measurement of Prostate-Specific Antigen in Serum as a Screening Test for Prostate Cancer. *N Engl J Med.* 1991;324(17):1156-1161.
74. Lilja H, Ulmert D, Vickers AJ. Prostate-specific antigen and prostate cancer: prediction, detection and monitoring. *Nat Rev Cancer.* 2008;8(4):268-278.
75. Diolombi ML, Epstein JI. Metastatic potential to regional lymph nodes with Gleason score  $\leq 7$ , including tertiary pattern 5, at radical prostatectomy. *BJU Int.* 2016;119(6):872-878.
76. Briganti A, Larcher A, Abdollah F, et al. Updated Nomogram Predicting Lymph Node Invasion in Patients with Prostate Cancer Undergoing Extended Pelvic Lymph Node Dissection: The Essential Importance of Percentage of Positive Cores. *Eur Urol.* 2017;61(3):480-487.
77. Maccio L, Barresi V, Domati F, et al. Clinical significance of pelvic lymph node status in prostate cancer: review of 1690 cases. *Intern Emerg Med.* 2016;11(3):399-404.
78. Winter A, Kneib T, Henke R-P, Wawroschek F. Sentinel lymph node dissection in more than 1200 prostate cancer cases: Rate and prediction of

- lymph node involvement depending on preoperative tumor characteristics. *Int J Urol*. 2014;21(1):58-63.
79. Liu J-J, Lichtensztajn DY, Gomez SL, et al. Nationwide prevalence of lymph node metastases in Gleason score 3 + 3 = 6 prostate cancer. *Pathology*. 2014;46(4):306-310.
80. Heidenreich A, Varga Z, Von Knobloch R. Extended Pelvic Lymphadenectomy In Patients Undergoing Radical Prostatectomy: High Incidence Of Lymph Node Metastasis. *J Urol*. 2002;167(4):1681-1686.
81. Batra V, Gautam G, Jaipuria J, Suryavanshi M, Khera R, Ahlawat R. Predictive factors for lymph node positivity in patients undergoing extended pelvic lymphadenectomy during robot assisted radical prostatectomy. *Indian J Urol*. 2015;31(3):217-222.
82. Briganti A, Karnes JR, Pozzo LF Da, et al. Two Positive Nodes Represent a Significant Cut-off Value for Cancer Specific Survival in Patients with Node Positive Prostate Cancer. A New Proposal Based on a Two-Institution Experience on 703 Consecutive N+ Patients Treated with Radical Prostatectomy, E. *Eur Urol*. 2009;55(2):261-270.
83. Thurairaja R, Studer UE, Burkhard FC. Indications, Extent, and Benefits of Pelvic Lymph Node Dissection for Patients with Bladder and Prostate Cancer. *Oncol*. 2009;14(1):40-51.
84. Mandel P, Kriegmair MC, Veleva V, et al. The Role of Pelvic Lymph Node Dissection During Radical Prostatectomy in Patients With Gleason 6 Intermediate-risk Prostate Cancer. *Urology*. 2016;93:141-146.
85. Schiavina R, Bianchi L, Borghesi M, et al. Predicting survival in node-positive prostate cancer after open, laparoscopic or robotic radical prostatectomy: A competing risk analysis of a multi-institutional database. *Int J Urol*. 2016;23(12):1000-1008.
86. Cheng L, Montironi R, Bostwick DG, Lopez-Beltran A, Berney DM. Staging of prostate cancer. *Histopathology*. 2012;60(1):87-117.
87. Ran S, Volk L, Hall K, Flister MJ. Lymphangiogenesis and lymphatic metastasis in breast cancer. *Pathophysiology*. 2010;17(4):229-251.
88. Shariat SF, Khoddami SM, Saboorian H, et al. Lymphovascular Invasion is a Pathological Feature of Biologically Aggressive Disease in Patients Treated With Radical Prostatectomy. *J Urol*. 2004;171(3):1122-1127.
89. Krag DN, Single RM. Breast Cancer Survival According to Number of Nodes Removed. *Ann Surg Oncol*. 2003;10(10):1152-1159.

90. Polednak AP. Survival of Lymph Node-Negative Breast Cancer Patients in Relation to Number of Lymph Nodes Examined. *Ann Surg.* 2003;237(2): 163–167.
91. Skinner DG. Management of invasive bladder cancer: a meticulous pelvic node dissection can make a difference. *J Urol.* 1982;128(1):34-36.
92. Lerner SP, Skinner DG, Lieskovsky G, et al. The rationale for en bloc pelvic lymph node dissection for bladder cancer patients with nodal metastases: long-term results. *J Urol.* 1993;149(4):755-758.
93. Bader P, Burkhard FC, Markwalder R, Studer URSE. Disease Progression and Survival of Patients With Positive Lymph Nodes After Radical Prostatectomy. Is there a Chance of Cure? *J Urol.* 2003;169(3):849-854.
94. Eden CG, Arora A, Rouse P. Extended vs standard pelvic lymphadenectomy during laparoscopic radical prostatectomy for intermediate- and high-risk prostate cancer. *BJU Int.* 2010;106(4):537-542.
95. Allaf ME, Palapattu GS, Trock BJ, Carter HB, Walsh PC. Anatomical extent of lymph node dissection: impact on men with clinically localized prostate cancer. *J Urol.* 2004;172:1840-1844.
96. Schiavina R, Manferrari F, Garofalo M, et al. The extent of pelvic lymph node dissection correlates with the biochemical recurrence rate in patients with intermediate- and high-risk prostate cancer. *BJU Int.* 2011;108(8):1262-1268.
97. Preisser F, Bandini M, Marchioni M, et al. Extent of lymph node dissection improves survival in prostate cancer patients treated with radical prostatectomy without lymph node invasion. *Prostate.* 78(6):469-475.
98. Masterson TA, Bianco FJ, Vickers AJ, et al. The Association Between Total and Positive Lymph Node Counts, and Disease Progression in Clinically Localized Prostate Cancer. *J Urol.* 2006;175(4):1320-1325.
99. DiMarco DS, Zincke H, Sebo TJ, et al. The extente of lymphadenectom< for pTxN0 Prostate Cancer does not affect prostate cancer outcome in prostate specific antigen era. *J Urol.* 2005;173(4):1121-1125.
100. Murphy AM, Berkman DS, Desai M, Benson MC, McKiernan JM, Badani KK. The number of negative pelvic lymph nodes removed does not affect the risk of biochemical failure after radical prostatectomy. *BJU Int.* 2010;105(2):176-179.
101. Rischke CH, Schultze-Seemann W, Wieser G, et al. Adjuvant radiotherapy after salvage lymph node dissection because of nodal relapse of prostate cancer versus salvage lymph node dissection only.

*Strahlentherapie und Onkol.* 2015;191(4):310-320.

102. Da Pozzo LF, Cozzarini C, Briganti A, et al. Long-Term Follow-up of Patients with Prostate Cancer and Nodal Metastases Treated by Pelvic Lymphadenectomy and Radical Prostatectomy: The Positive Impact of Adjuvant Radiotherapy. *Eur Urol.* 2009;55(5):1003-1011.
103. Thompson IM, Tangen CM, Paradelo J, et al. Adjuvant Radiotherapy for Pathological T3N0M0 Prostate Cancer Significantly Reduces Risk of Metastases and Improves Survival: Long-Term Followup of a Randomized Clinical Trial. *J Urol.* 2009;181(3):956-962.
104. Bolla M, van Poppel H, Tombal B, et al. Postoperative radiotherapy after radical prostatectomy for high-risk prostate cancer: long-term results of a randomised controlled trial (EORTC trial 22911). *Lancet.* 8AD;380(9858):2018-2027.
105. Abdollah F, Karnes RJ, Suardi N, et al. Impact of adjuvant radiotherapy on survival of patients with node-positive prostate cancer. *J Clin Oncol.* 2014;32(35):3939-3947.
106. Muck A, Langesberg C, Mugler M, Rahnenführer J, Wullich B, Schafhauser W. Clinical Outcome of Patients with Lymph Node-Positive Prostate Cancer following Radical Prostatectomy and Extended Sentinel Lymph Node Dissection. *Urol Int.* 2015;94(3):296-306.
107. Perry-Keene J, Ferguson P, Samaratunga H, Nacey JN, Delahunt B. Total submission of pelvic lymphadenectomy tissues removed during radical prostatectomy for prostate cancer increases lymph node yield and detection of micrometastases. *Histopathology.* 2014;64(3):399-404.
108. Montironi R, Scarpelli M, Galosi AB, et al. Total submission of lymphadenectomy tissues removed during radical prostatectomy for prostate cancer: possible clinical significance of large-format histology. *Hum Pathol.* 2014;45(10):2059-2062.
109. Montironi R, van der Kwast T, Boccon-Gibod L, Bono A V, Boccon-Gibod L. Handling and Pathology Reporting of Radical Prostatectomy Specimens. *Eur Urol.* 2003;44(6):626-636.
110. Varma M, Griffiths DFR. Effective maybe, but is it cost-effective? *Histopathology.* 2015;66(2):315-316.
111. Clobes H, Fosså SD, Wæhre H, Jocham D, Berner A. The immunohistochemical assessment of occult regional lymph node metastases in patients with T3pN0M0 prostate cancer before definitive radiotherapy. *BJU Int.* 2000;85(3):270-275.

## 8 Abkürzungsverzeichnis

aRT	Adjuvante Radiotherapie
BCR	Biochemical recurrence/ Biochemisches Rezidiv
DRU	Digital-rektale Untersuchung
GS	Gleason-Score
HE	Hämatoxylin-Eosin
IHC	Immunhistochemie
KI	Konfidenzintervall
LK	Lymphknoten
LND	Lymphadenektomie
eLND	extended lymph node dissection / erweiterte Lymphadenektomie
PCa	Prostatakarzinom
PSA	Prostata-spezifisches-Antigen
TURP	Transurethrale Prostatektomie
RPE	Radikale Prostatektomie
pN	Pathologisch gesicherter Nodalstatus

## 9 Danksagung

Allen voran danke ich selbstverständlich Herrn Prof. Dr. med. Sauter für die Vergabe des Dissertationsthemas und seine kontinuierliche Betreuung während meiner Zeit am Institut für Pathologie des Universitätsklinikum-Eppendorfs.

Für ihre stetige Hilfsbereitschaft möchte ich mich am Institut darüber hinaus ganz besonders bei Frau Christina Koop, Dr. Ronald Simon und Dr. Stefan Steurer bedanken, die bei Fragen jederzeit ein offenes Ohr hatten und mir über die Jahre eine große Unterstützung waren.

Zum Schluss danke natürlich auch meiner Familie, insbesondere Sarah Leleu, Renate Leleu-Lemke sowie Dr. Klaus-Ulrich Lemke.

## 10 Lebenslauf

Name: Diane Louise Leleu  
Geburtsdatum: 15. Februar 1991  
Geburtsort:: Nice, Frankreich  
Nationalität: Deutsch / Französisch

### Schulbildung

1995 - 2004 Lycée Francais d'Antoine de St. Exupery  
2004 - 2010 Sophie-Barat-Schule, Hamburg  
2004 - 2010 Sankt-Ansgar-Schule, Hamburg

### Universitäre Laufbahn

2010 - 2017 Studium der Humanmedizin am Universitätsklinikum  
Hamburg-Eppendorf

Sept 2012 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
Apr 2016 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
Nov 2017 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung  
Dez 2017 Erlangung der ärztlichen Approbation

### Promotion

Nov 2015 Beginn der Promotion am Institut für Pathologie (UKE) zum  
Thema „Die Prognostische Relevanz des Nodalstatus und  
quantitativer Parameter der nodalen Metastasierung beim  
Prostatakarzinom“

### Publikation

Mai 2018 Co-Autorenschaft bei der Publikation:  
Wilczak W., Wittmer C., Clauditz T. et al. „Marked  
prognostic Impact of Minimal Lymphatic Tumor Spread in  
Prostate Cancer“, European Urology 2018; 74(3):376-386

Hamburg, den 25.08.2018

## **11 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: .....

