

Aus der Urologischen Klinik und Poliklinik
der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. H. Riedmiller

**Morphometrischer Vergleich der
Tumorangiogenese beim Urothelkarzinom der Harnblase
an TUR-B- und Cystektomie-Präparaten**

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg
vorgelegt von
Tim Erik Voegele
aus Minden

Würzburg, April 2004

Referent: Prof. Dr. med. H. Riedmiller
Koreferent: Priv.-Doz. Dr. med. G. Ott
Dekan: Prof. Dr. med. S. Silbernagl

Tag der mündlichen Prüfung: 18. Januar 2005

Der Promovend ist Arzt

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Einführung	1
1.2 Fragestellung	2
1.3 Tumorangiogenese	3
1.3.1 Angiogenesefaktoren	5
1.3.1.1 Angiogenese stimulierende Faktoren	5
1.3.1.2 Angiogenese inhibierende Faktoren	6
1.4 Inzidenz, Mortalität, Epidemiologie und Ätiologie	7
1.4.1 Inzidenz und Mortalität	7
1.4.2 Epidemiologie	8
1.4.3 Ätiologie	9
1.5 Pathologie des Harnblasenkarzinoms	11
1.5.1 Makropathologie	11
1.5.2 Histopathologie	12
1.5.3 TNM-Klassifikation	14
1.6 Therapie	16
1.6.1 Transurethrale Resektion der Blase (TUR-B)	16
1.6.1.1 Adjuvante Instillationstherapie	17
1.6.2 Radikale Cystektomie	17
1.6.2.1 Inkontinente Harnableitungen	18
1.6.2.2 Kontinente Harnableitungen	18
1.6.2.2.1 orthotope Substitute	18
1.6.2.2.2 Urinreservoir mit kontinentem kutanem Stoma	19
1.6.2.2.3 Harnableitung (Stuhl/Urin)	19
1.6.3 Radiotherapie	19
1.6.4 Chemotherapie	20

2. Material und Methoden	21
2.1 Patientengut	21
2.1.1 Patientenkollektiv 1 (TUR-B)	22
2.1.2 Patientenkollektiv 2 (Cystektomie)	24
2.1.3 Patiententabelle	26
2.2 Präparataufbereitung und Färbeverfahren	28
2.2.1 Aufbereitung des Gewebematerials	28
2.2.2 Auswahl des Färbeverfahrens	28
2.2.2.1 Faktor-VIII-Färbung/ PAP-Komplex	28
2.2.2.2 APAAP/ CD 34 Endothelzellmarker Färbung	29
2.3 Vorgehen bei der APAAP/ CD 34 Endothelzellmarker Färbung	29
2.3.1 Entparaffinierung	29
2.3.2 Vorbehandlung	30
2.3.3 Färbung	30
2.3.4 Materialnachweis	31
2.3.5 Färbvorschrift	32
2.3.6 Abbildungen APAAP/ CD 34 Endothelzellfärbung	33
2.4 Methodik der lichtmikroskopischen Auswertung	34
2.5 Methodik der Aktenauswertung	35
2.6 Statistische Methodik	35
3. Ergebnisse	37
3.1 Klinische Auswertung	37
3.1.1 Tumorlokalisation	37
3.1.2 Histologie	37
3.1.3 Metastasierung	38
3.1.4 Risikofaktoren	39
3.1.5 Erstsymptome	39
3.1.6 Harnableitung	40
3.1.7 Langzeitverlauf	41
3.2 Auswertung der TUR-B Präparate	42
3.2.1 Auswertung der TUR-B Präparate nach Stadien	42

3.2.2	Auswertung der TUR-B Präparate nach Grading	43
3.2.3	Grading-Vergleich innerhalb der einzelnen Tumorstadien	45
3.2.3.1	Grading-Vergleich im Tumorstadium pTa	45
3.2.3.2	Grading-Vergleich im Tumorstadium pT1	45
3.2.3.3	Grading-Vergleich im Tumorstadium pT2	46
3.2.3.4	Grading-Vergleich im Tumorstadium pT3	47
3.2.3.5	Grading-Vergleich im Tumorstadium pT4	48
3.2.4	Vergleich der Tumorstadien innerhalb der einzelnen Differenzierungsgrade	49
3.2.4.1	Stadien-Vergleich im Tumorgrading G2	49
3.2.4.2	Stadien-Vergleich im Tumorgrading G2-3	50
3.2.4.3	Stadien-Vergleich im Tumorgrading G3	52
3.3	Auswertung der Cystektomie-Präparate	53
3.3.1	Auswertung der Cystektomie-Präparate nach Stadien	53
3.3.2	Auswertung der Cystektomie-Präparate nach Grading	55
3.3.3	Grading-Vergleich innerhalb der einzelnen Tumorstadien	56
3.3.3.1	Grading-Vergleich im Tumorstadium pT1	56
3.3.3.2	Grading-Vergleich im Tumorstadium pT2	58
3.3.3.3	Grading-Vergleich im Tumorstadium pT3	59
3.3.3.4	Grading-Vergleich im Tumorstadium pT4	60
3.3.4	Vergleich der Tumorstadien innerhalb der einzelnen Differenzierungsgrade	61
3.3.4.1	Stadien-Vergleich im Tumorgrading G2	61
3.3.4.2	Stadien-Vergleich im Tumorgrading G3	62
3.3.5	Auswertung der Cystektomie-Präparate nach lymphogener Metastasierung	64
3.3.6	Auswertung der Cystektomie-Präparate nach hämatogener Metastasierung	67
3.4	Vergleich der TUR-B- und der Cystektomie-Präparate	71
3.4.1	Vergleich nach endgültigem Tumorstadium	71
3.4.2	Vergleich nach endgültigem Differenzierungsgrad	73
4.	Diskussion	76
4.1	Klinische Daten	76
4.2	Neoangiogenese beim Harnblasenkarzinom	77
4.3	Transurethrale Resektion (TUR-B)	78

4.4	Cystektomie	79
4.5	Transurethrale Resektion (TUR-B) versus Cystektomie	82
5.	Zusammenfassung	84
6.	Literaturverzeichnis	87
7.	Anhang	94
7.1	Abkürzungen	94

1. Einleitung

1.1 Einführung

Klinisch und prognostisch ist es von entscheidender Bedeutung, dass Patienten, die an einem bösartigen Tumor der Harnblase leiden, frühestmöglich einer definitiven und möglichst kurativen Therapie zugeführt werden.

Im praktischen Alltag bedingt dies allerdings Probleme:

Die sicherste Therapieoption mit der langfristig besten Prognose bei lokalen, nicht fortgeschrittenen Karzinomen, besteht in einer Cystoprostatektomie beim Mann bzw. der vorderen Exenteratio bei der Frau zu einem möglichst frühen Zeitpunkt nach Diagnosesicherung. Hierbei handelt es sich jedoch immer um einen maximalchirurgischen Eingriff, der nur bei unmittelbarem Handlungsbedarf durchgeführt wird und vor dem eine Reihe möglicher Therapieoptionen stehen, die für den Patienten, physisch und psychisch, wesentlich weniger belastend zu sein scheinen.

An erster Stelle steht hierbei die transurethrale Resektion (TUR-B), die als minimalinvasive diagnostische und therapeutische Maßnahme angewendet wird und einen hohen Akzeptanzgrad in der Bevölkerung hat. Bei der TUR-B werden mittels Resektoskop Tumorareale identifiziert und reseziert.

Aufgrund der hohen Tumorrezidivrate von 50-80% und einer Tumorprogression in 25% der Fälle wirft sich die Frage nach der Validität des im Rahmen einer TUR-B ermittelten histopathologischen Ergebnisses auf [36]. Tatsächlich erfasst die transurethrale Resektion oft nicht zuverlässig die genaue Infiltrationstiefe des Tumors.

Es lässt sich beobachten, dass insbesondere das T-Stadium und das G-Stadium nach TUR-B häufig nicht mit dem T- und G-Stadium des Cystektomiepräparates korrelieren. Insbesondere das Grading unterliegt hierbei dem subjektiven Einfluss des Pathologen.

Aus diesen Gründen ist es von hohem Wert, neue und im Vergleich zur TNM-Klassifikation möglichst objektive Kriterien zur Diagnostik der Infiltrationstiefe und

Differenzierung eines Tumors heranziehen zu können, um somit valide Informationen hinsichtlich der Prognose gewinnen zu können.

Eine Vielzahl vorangegangener Untersuchungen an den verschiedensten malignen Neoplasien haben gezeigt, dass die Tumorprogression und das Metastasierungsverhalten mit der Gefäßdichte (Vesselcount/ Vesseldensity) innerhalb eines Tumorareals korrelierbar sind [9,19,20,21,22,23].

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit dem morphometrischen Vergleich der jeweiligen Gefäßanzahl eines Urotheltumors an TUR-B- und Cystektomie-Präparaten desselben Patienten.

1.2 Fragestellung

Folgende Fragestellungen liegen dieser Arbeit zugrunde:

- Ist es möglich, eine Korrelation der Neoangiogenese an Präparaten nach transurethraler Resektion und radikaler Cystektomie herzustellen?
- Welches Ausmaß nimmt die Tumorneoangiogenese in den verschiedenen Stadien des Harnblasenkarzinoms ein?
- Ist die Tumurvaskularisation abhängig vom histopathologischen Differenzierungsgrad des Karzinoms?
- Besteht ein prinzipieller Unterschied der Gefäßneubildungstendenz eines oberflächlich wachsenden Urothelkarzinoms und eines tiefer infiltrierend wachsenden Tumors?
- Welche Rolle spielen die lymphogene und hämatogene Metastasierung in Bezug auf die Gefäßproliferation?
- Kann die Tumorneoangiogenese eines Urothelkarzinoms als Beurteilungsparameter der Tumorprogression und damit als Wegweiser hinsichtlich der therapeutischen

Konsequenz (Minimalinvasive Resektion versus Radikaloperation) gewertet werden?

- Ist es möglich, anhand des Vesselcounts der TUR-Präparate die Indikation zur radikalen Cystektomie zu stellen?

1.3 Tumorangiogenese

Der Prozess der Neubildung von Gefäßen zur nutritiven Versorgung eines Wachstumsprozesses wurde erstmals 1935 von *A. T. Hertig*, damals in Bezug auf die physiologische Entwicklung plazentarer Gefäße im Rahmen der voranschreitenden Embryonalentwicklung, beobachtet und im Folgenden als Angiogenese beschrieben [37].

Zu derartigen Gefäßneubildungen kommt es im adulten Organismus nur im Rahmen pathologischer Prozesse wie der diabetischen Retinopathie, der Rheumatoiden Arthritis, dem Myokardinfarkt sowie bei Wucherungen solider Tumoren [12].

J. Folkman erbrachte Anfang der Siebziger Jahre experimentelle Beweise für das angiogeneseabhängige Tumorwachstum und formulierte im Zusammenhang damit die Hypothese einer möglichen therapeutischen Blockierung der Tumorprogression durch antiangiogene Maßnahmen [15]. Auch ist es *Folkman* in dieser Zeit gelungen, erste Angiogenesefaktoren zu isolieren und deren therapeutischen Nutzen zu hinterfragen [14].

Man unterteilt die Tumorprogression in eine frühe gefäßlose und eine sich anschließende gefäßreiche Phase [14].

In der avaskulären Wachstumsphase findet keine bzw. eine nur unzureichende Neoangiogenese des Tumors statt. Die Zelltransformationen werden vorzugsweise per diffusionem aus benachbartem Gewebe ernährt. Hierbei liegen die Gefäße in einem Ruhezustand unterhalb der noch intakten Basalmembran. In dieser Phase geht der Wachstumsprozess sehr langsam vor sich, Tumorexpansion und Metastasierung sind begrenzt. Derartige Läsionen können über Jahre bestehen, ohne diagnostiziert zu

werden, da sie allenfalls durch eine nicht regelrecht wirkende Schleimhaut auffällig werden.

Erreicht der Tumor eine Größe von etwa 1-2 mm², setzt die gefäßreiche Phase ein. Jetzt kommt es zu exponentiellem Wachstum mit hoher Geschwindigkeit und Tendenz zur Filiarisierung.

In der vaskulären Phase wird die Angiogenese auf verschiedenen Wegen induziert: Zum einen durch die Tumorzellen selbst, welche angiogene Moleküle produzieren, zum anderen durch die angiogene Aktivität rekrutierter Makrophagen oder durch aus der extrazellulären Matrix mobilisierten Substanzen (z.B. bFGF). Man geht davon aus, dass die im Tumorzentrum herrschende relative Hypoxie zu einer Laktaterhöhung führt, welche wiederum Makrophagen aktiviert. Durch die Neovaskularisierung sind nun ein verbesserter Nährstoff- und Metabolitenaustausch sowie eine verbesserte Verteilung von Wachstumsfaktoren möglich [13,14,15,38].

Die Angiogeneseinduktion stellt demnach einen wichtigen Schritt der Karzinogenese dar [38].

Pathophysiologisch lässt sich die Neoangiogenese folgendermaßen beschreiben:

Von den Zellen des Primärtumors werden angiogene Substanzen ausgeschüttet. Dadurch kommt es zuerst zur Proteolyse der Basalmembran und des den Tumor umgebenden extrazellulären Gewebes. Anschließend folgt die Proliferation von Endothelzellen.

Nun kommt es zur Endothelzellmigration in Richtung der angiogen wirkenden Mediatoren, also in Richtung des neoplastischen Gewebes. Die Endothelzellen reorganisieren sich zu einem kapillären Netzwerk, welches die komplexe Struktur des Tumorzellverbandes durchzieht [18].

In einer an der Universität Sheffield durchgeführten Studie wurde die Bestimmung des Parameters der morphometrischen Gefäßdichte am primären histologischen Präparat eines invasiven Harnblasenkarzinoms als valider prognostischer Indikator gewertet [19]. Eine signifikante Korrelation zwischen Tumorausdehnung (T-Stadium) und Gefäßanzahl konnte in dieser Arbeit für die infiltrierend wachsenden Urothelkarzinome hergestellt werden. Keine Signifikanz konnte für die Beziehung zwischen

Differenzierungsgrad (Grading) der Harnblasentumore und Gefäßanzahl im histologischen Präparat gesichert werden [19].

Eine Assoziation zwischen erhöhter Gefäßdichte und Rezidivneigung sowie verminderter Gesamtüberlebenszeit wurde nachgewiesen [21]. Die Steigerung des Mortalitätsrisikos für Patienten mit erhöhter Gefäßanzahl des Tumors wird mit dem Faktor 2,5 beschrieben [20].

Auch in anderen Neoplasien wie z.B. dem nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinom, dem Mammakarzinom, dem Prostatakarzinom oder dem malignen Melanom konnte in verschiedenen Untersuchungen eine Korrelation der Gefäßneubildung mit der Tumorprogression und dem Metastasierungsverhalten gezeigt werden [23].

Ebenfalls konnte die Anzahl neugebildeter Gefäße bzw. die Gefäßdichte eines untersuchten Areals in Bezug zur lymphogenen Metastasierung (N-Stadium) gesetzt werden [9,22].

1.3.1 Angiogenesefaktoren

1.3.1.1 Angiogenese stimulierende Faktoren

Nachstehende Moleküle stimulieren die Angiogenese:

Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), Acid und Basic Fibroblast Growth Factor (aFGF und bFGF), Platelet-derived Endothelial Cell Growth Factor (PD-ECGF), Platelet-derived Growth Factor (PDGF), Transforming Growth Factor- α und - β (TGF), Angiogenin, Tumor Necrosis Factor α (TNF α), Erythropoietin (EPO), Interleukin-4 und -8 [25], Epidermal Growth Factor (EGF), Prostaglandin E2 (PGE2), Placenta Growth Factor (PlGF) [24], Monobutylin [26], Hepatocyte Growth Factor oder Scatter Factor (HGF/SF) [27].

Eine direkte Stimulation des Endothelzellwachstums in vitro und in vivo erfolgt durch aFGF, bFGF und PD-ECGF. Die als Mediatoren freigesetzten Substanzen üben also selbständig angiogene Aktivitäten aus.

Für den basic Fibroblast Growth Factor, der zuerst aus Hirngewebe isoliert werden konnte, wird eine starke mitogene Aktivität auch auf andere Zellarten als Endothelzellen beschrieben [30].

Im Urin von Patienten mit Urothelneoplasien wurden erhöhte Messwerte der potenten Wachstumsfaktoren bFGF und aFGF gemessen, die sich mit der Schwere der Erkrankung korrelieren ließen [27,29].

Indirekte Angiogenesestimulation wird für die Faktoren TGF- α und - β , EGF, Angiogenin, PGE₂, Monobutylin und TNF- α angenommen. Für diese Substanzen wurde bei der Beschickung in vitro kultivierter Endothelzellen kein mitogener Effekt nachgewiesen, so dass man davon ausgeht, dass die stimulierende Potenz dieser Faktoren an eine sekundäre Freisetzung von Brückensubstanzen gekoppelt ist [26].

Angiogenin beispielsweise wirkt nicht stimulierend auf Endothelzellen, es aktiviert Endothelzellen lediglich und wirkt sekundär stimulierend auf andere primäre Faktoren [30].

Auch die Transforming Growth Factors alpha und beta (TGF α und β) werden als inaktive Propeptide aus Makrophagen sezerniert und erst im Extrazellulärraum enzymatisch in die aktiven Formen gespalten, die dann die Expression von VEGF in der glatten Muskulatur, den Endothelzellen und dem Epithel stimulieren [28].

Bei invasiv wachsenden Harnblasenkarzinomen wurden jeweils signifikant erhöhte Werte des Platelet-derived Endothelial Cell Growth Factors (PD-ECGF) und des Platelet-derived Growth Factors (PDGF) nachgewiesen, die eine Korrelation mit der Tumorprogression zuließen [31,32].

1.3.1.2 Angiogenese inhibierende Faktoren

Es handelt sich um Faktoren, die antiangiogene Potenz besitzen und dadurch Zellen daran hindern, jene Moleküle zu sezernieren, die für die Gefäßneubildung und die damit verbundenen verbesserten Versorgungsverhältnisse einer Neoplasie notwendig sind:

Thrombospondin (TSP), Platelet Factor 4, Interferon- α (IF- α), Interleukin-1 (IL-1), Transforming Growth Factor- α (TGF- α), Protease inhibitors, Angiostatin [25,28].

Interferon- α (IF- α) ist ein Glykoprotein, welches die Endothelzellproliferation unterdrückt. Es findet klinische Anwendung in der Therapie hämato-onkologischer Krankheitsbilder, sowie als Bestandteil einiger immunmodulatorischer Schemata bei der Behandlung solider Tumoren [33].

Auch die Interleukine aktivieren das zelluläre Immunsystem und bewirken eine Hemmung der Tumorpheriferation [33].

In Zellen des Urothelkarzinoms wurde eine 94%ig verminderte Sekretion des Angiogeneseinhibitors Thrombospondin-1 (TSP-1) gegenüber Zellen des physiologischen Übergangsepithels gefunden [34].

Angiostatin ist ein Molekül, welches im Urin von Tumormäusen nachgewiesen wurde. Es hemmt speziell die Endothelzellproliferation und blockiert damit die Neovaskularisation [28].

1.4 Inzidenz, Mortalität, Epidemiologie und Ätiologie

1.4.1 Inzidenz und Mortalität

Das Harnblasenkarzinom ist nach dem Prostatakarzinom die zweithäufigste maligne Neoplasie des Urogenitaltraktes. Im harnableitenden System ist es der häufigste bösartige Tumor, 3% aller malignen Geschwülste des Menschen sind Blasenkarzinome [6].

In der Morbiditätsstatistik für bösartige Neubildungen in der Bundesrepublik Deutschland liegt das Harnblasenkarzinom in der männlichen Bevölkerung hinter dem Bronchialkarzinom, dem Prostatakarzinom und der Gruppe der kolorektalen Karzinome auf dem vierten Platz.

In der weiblichen Bevölkerung rangiert es hinter dem Mammakarzinom, den kolorektalen Karzinomen, dem Uteruskarzinom, dem Ovarialkarzinom, dem Karzinom

des Magens, der Schilddrüsenneoplasie, dem Bronchialkarzinom und den Tumoren des hämatopoetischen Systems auf Platz 9.

Die Mortalität ist für die Gesamtbevölkerung der Bundesrepublik Deutschland mit 8 pro 100.000 beziffert [1,2,3,6,7,8,39].

1.4.2 Epidemiologie

Das Blasenkarzinom stellt eine Erkrankung des fortgeschrittenen Lebensalters dar. Das Altersmaximum ist zwischen dem fünften und siebten Lebensjahrzehnt anzusiedeln, das durchschnittliche Erkrankungsalter beträgt für Männer 66,6 Jahre, für Frauen 69,6 Jahre.

Männer sind im Verhältnis drei zu eins häufiger betroffen. Hierfür werden neben der längeren beruflichen Exposition beim Mann auch eine längere Karzinogenexposition bei obstruktiver Prostatahyperplasie als Gründe diskutiert.

Eine familiäre Disposition für die Erkrankung an einer malignen Neoplasie der Harnblase ist nicht bekannt.

Die Inzidenzen beider Geschlechter für das Auftreten eines Harnblasenkarzinoms liegen, im globalen Vergleich betrachtet, für Bürger der Bundesrepublik Deutschland im mittleren Bereich [6,7]. Generell ist die Inzidenz für die Entstehung eines Harnblasenkarzinoms in den Industrienationen und in industrialisierten Regionen als wesentlich höher zu betrachten als beispielsweise in Entwicklungsländern oder in wenig zivilisierten Ländern. Bundesweit die höchsten Mortalitätsraten finden sich dementsprechend in Nordrhein-Westfalen (Ruhrgebiet), Hamburg und Berlin (Ballungszentren).

Eine Ausnahme stellen hierbei Endemiegebiete der Infektionskrankheit Bilharziose dar (Ägypten). Der Humanparasit *Schistosoma haematobium*, der zur Familie der Trematoden gehört, lebt bei infizierten Menschen im die Harnblase umgebenden Venenplexus. Das Weibchen legt hierbei die Eier im Gefäßlumen ab, von wo aus diese ins ortsständige Gewebe penetrieren und über zelluläre Prozesse eine sehr starke Entzündungsreaktion in der Blase hervorrufen [17].

Weltweit geht man von mehr als 200 Millionen Schistosomiasis-Infizierten aus; eine Größenordnung, die das auf diese Weise induzierte Blasenkarzinom in Endemiegebieten zum häufigsten Tumor avancieren lässt.

1.4.3 Ätiologie

Bereits vor mehr als einem Jahrhundert beschrieb *Ludwig Rehn* (1895) einen möglichen Zusammenhang von Schadstoffexposition und Induktion eines Blasenkarzinoms [40].

Ein gesicherter Kausalzusammenhang für die Entstehung eines Urothelkarzinoms besteht für Arbeitsstoffe aus dem Bereich der Textil-, Farb- und Gummiindustrie [6].

Die bei der Herstellung entstehenden Karzinogene gehören zur chemischen Gruppe der aromatischen Amine. Hier sind vor allem 4-Aminodiphenyl, Benzidin, 4-Chlor-*o*-toluidin und 2-Naphtylamin zu nennen [6], welche die Inzidenz des Blasenkarzinoms um das 70-fache gegenüber der Normalbevölkerung steigern können. Die Latenzzeit zwischen Exposition gegenüber der Noxe und Induktion eines Karzinoms beträgt bei durchschnittlich zweijähriger Expositionsdauer 10 bis 50 Jahre [1,2,6,7,41].

Weiterhin bestehen medikamentöse Ursachen, die das Risiko zur Entstehung eines Karzinoms erhöhen:

Cyclophosphamid, ein Zytostatikum aus der Gruppe der Alkylantien, welches Bestandteil einer Vielzahl verschiedener Polychemotherapieschemata ist, kann durch seine Metaboliten die ableitenden Harnwege schädigen und eine hämorrhagische Cystitis verursachen, die dann wiederum zur Tumorinduktion führen kann [42]. Cyclophosphamid wird sowohl in der Behandlung verschiedener hämatologischer als auch solider Tumoren, wie z.B. dem Hodenkarzinom, dem Mammakarzinom und dem kleinzelligen Bronchialkarzinom eingesetzt [43].

Phenacetin, ein nicht mehr im Handel befindliches Antipyretikum, welches im Organismus kumuliert, wird ebenfalls angeschuldigt, zeit- und dosisabhängig ein Induktor des Urothelkarzinoms zu sein [1,33].

Chronische Irritationen der Schleimhaut, wie das Tragen eines Dauerkatheters oder das Vorhandensein von Blasensteinen, induzieren eine Metaplasie des Urothels mit der Potenz zur malignen Entartung.

Auch bei der Blasenektrophie spielen exogen-irritative Faktoren eine Rolle für das erhöhte Risiko der Entstehung eines Blasentumors. Die Blasenektrophiker stellen die größte Gruppe der seltenen Adenokarzinome und sollten möglichst bereits im frühen Kindesalter einer definitiven harnableitenden Therapie zugeführt werden [1].

Als wichtiger Risikofaktor aus dem Bereich der zivilisatorischen Ursachen ist der Zigarettenkonsum zu nennen. Die Gründe für die Tumorinduktion sind vor allem in dem Gehalt an aromatischen Aminen, Nitrosaminen und Tryptophanmetaboliten im inhalierten Rauch zu suchen. Bei starken Rauchern sind diese Stoffe auch im Urin nachweisbar. Ihr Risiko erhöht sich um den Faktor 2 bis 4 [42].

Die Inzidenz des Blasenkarzinoms nach gynäkologischer Strahlentherapie wird mit 300 pro 100.000 angegeben, womit das Risiko dieser Patientinnen ungefähr 50 mal so hoch ist wie das der weiblichen Durchschnittsbevölkerung [42].

Weitere inzidenzsteigernde Ursachen sind Umweltfaktoren, multifaktorielle Karzinogenerhöhung, die steigende Lebenserwartung sowie Arsen und Saccharin [42]. Auch neue zytogenetische und molekularbiologische Parameter wurden im Zusammenhang mit dem Urothelkarzinom gefunden. Es lassen sich häufig numerische Aberrationen der Chromosomen 7, 8 und 9 [5], sowie strukturelle Veränderungen der Chromosomen 1, 5, 9, 11 und 17 nachweisen [44]. Somit ist auf subchromosomaler Ebene eine Aktivierung von Protoonkogenen, bzw. eine Inaktivierung von Tumorsuppressorgenen möglich.

Am häufigsten treten eine Deletion des langen Arms an Chromosom 9 (Chr. 9q) und der Verlust der Heterozygotie von Chromosom 17p, welches das p53-Tumorsuppressorgen beinhaltet, auf.

1.5 Pathologie des Harnblasenkarzinoms

1.5.1 Makropathologie

Tumoren der ableitenden Harnwege zeigen folgende topografische Verteilung:

Im Nierenbecken treten 6% aller Neubildungen auf, die Harnleiter sind in 2% der Fälle betroffen, in 92% stellt die Harnblase die Tumorlokalisation dar [2,7].

Innerhalb der Harnblase finden sich tumorartige Läsionen in 70% der Fälle im Bereich der Blasenhinter- und Seitenwand, 20% sind im Bereich des Trigonum vesicae und des Blasenhalses lokalisiert, weitere 10% im Blasendach [2,7].

Makroskopisch finden sich in 80–90% papilläre und in 10-20% solide wachsende Tumoren.

Beim Urothelkarzinom handelt es sich um eine multifokal wachsende Geschwulst, deshalb sind in über 25% der Erkrankungsfälle zwei oder mehr neoplastische Foci anzutreffen. In 1-5% der Fälle muss mit einer panurothelialen Ausbreitung (Nierenbecken, Harnleiter, Harnblase und Harnröhre) gerechnet werden [6]. Das multilokuläre Wachstum wird als prognostischer Faktor in Bezug auf eine hohe Rezidivhäufigkeit und eine rasche Tumorprogression gewertet [51].

70-80% der Harnblasentumore werden in den nichtinvasiven Stadien pTa und pT1 entdeckt, 20% allerdings werden erst in den muskel- und umgebungsinfiltrierenden Stadien pT2-pT4 diagnostiziert. In diesen Tumorstadien besteht eine hohe Tendenz zur lymphogenen und hämatogenen Filiarisierung [1,7,8,45].

50-60 % der oberflächlichen Tumoren zeigen in den ersten 2 Jahren nach transurethraler Resektion ein Rezidiv. Dies gilt insbesondere für multifokal auftretende und undifferenzierte (G3) Karzinome [4,51]. 10-20 % von ihnen wachsen dann sekundär progredient invasiv in die Blasenwand und gehören demnach höheren Tumorstadien an, die wiederum als prognostischer Faktor der Erkrankung von entscheidender Bedeutung sind. Dagegen wächst die Mehrheit der muskelinfiltrierenden Tumoren (\geq pT2) primär invasiv [4].

Zu lymphogenen Absiedlungen kann es kommen, sobald der Primärtumor die Submukosa erreicht und damit Anschluss an Lymphgefäße erlangt. Die Tumorzellen

folgen dem Lymphabfluss über die iliakalen, obturatorischen, perivesikalen sowie präsakralen Lymphknotenstationen, die als pelvine oder regionäre Lymphknotenstationen bezeichnet werden. Mit weiterem Fortschreiten der lymphogenen Filiarisierung werden die paraaortalen, parakavalen und mediastinalen Lymphknotenstationen erreicht, die als juxtaregionäre Lymphknotenstationen bezeichnet werden.

Eine Lymphknotenbesiedelung erfolgt in Abhängigkeit vom Tumorstadium:

5-10 % in pT1, 30 % in pT2 und pT3a und 50-60 % in pT3b und pT4 [52].

Eine hämatogene Filiarisierung findet sich vor allem in Leber, Lunge, Gehirn und Skelettsystem [1,52]. Im Rahmen der Erstdiagnose eines Harnblasenkarzinoms bestehen bereits bei 6 % der Patienten Fernmetastasen. Fasst man die Tumorstadien pT3 und pT4 zusammen, findet man in bis zu 60 % der Fälle hämatogene Absiedlungen [54].

Im Stadium pT4 kommt es per continuitatem zu einem Tumoreinbruch in Nachbarorgane. Dies betrifft vor allem Rektum, Vagina, Urethra, Prostata und Bauchdecke [52].

Das Kardinal-, und bei 80% der Patienten das Initialsymptom, ist die meist schmerzlose Makrohämaturie. Jede Makro- oder Mikrohämaturie unklarer Genese muss bis zum Beweis des Gegenteils als dringendes Verdachtsmoment für das Vorliegen eines Tumors des Urogenitaltraktes gewertet werden. Weitere Beschwerden können Dysurie und Pollakisurie sein, die im Rahmen einer Begleitcystitis nicht selten anzutreffen sind. Progredientes Tumorwachstum kann mit einer Obstruktion der Ureteren einhergehen, welche die Symptomatik einer Harnttransportstörung im oberen Harnttrakt mit möglichen Flankenschmerzen hervorrufen kann. Weiterhin kann es, je nach Tumorausdehnung, zu suprapubischen Beschwerden kommen [1,45,52].

1.5.2 Histopathologie

Das Urothel, auch als Übergangsepithel bezeichnet, besteht aus drei bis sieben Zellschichten. Die Basalzellschicht sitzt der dünnen, gefäßführenden Lamina propria

mucosae auf, der sich die komplex gebaute Muskulatur der Harnblase (M. destrusor vesicae), bestehend aus einem Netzwerk glatter Muskelfasern, anschließt. Umgeben wird die Harnblase von perivesikalem Fettgewebe [1,60].

Harnblasenkarzinome sind zu mehr als 99% primäre Neoplasien. Über 90% der Karzinome der Harnblase nehmen ihren Ursprung im Urothel.

3 bis 5% sind Plattenepithelkarzinome und nur 2 bis 3% zählen zu der Gruppe der Adeno- bzw. undifferenzierten Karzinome.

Beim Urothelkarzinom kann herdförmig eine plattenepitheliale oder drüsige Metaplasie, oder beide Metaplasieformen nebeneinander auftreten [6].

In weniger als 1% der Fälle handelt es sich um sekundäre Neoplasien, die durch infiltratives Wachstum (weibliches Genitale, Prostata, Kolon) und Metastasierung (Mammakarzinom, Magenkarzinom, Bronchialkarzinom und malignes Melanom) zustande kommen [6,53].

Ebenfalls selten vorkommend sind Harnblasenneubildungen mesenchymalen Ursprungs (<1%). Diese können sowohl benigner (Fibrom, Myxom, Leiomyom, Hämangiom, Neurofibrom, Neurinom, Phäochromozytom), als auch maligner (Leiomyosarkom, Fibrosarkom, Rhabdomyosarkom, retikuloendotheliale Tumoren) Natur sein [6].

Für das Urothelkarzinom ist die papilläre histopathologische Grundstruktur, gestielt oder breitbasig, typisch [6].

Im Rahmen der feingeweblichen Diagnostik bestehen Schwierigkeiten bei der Abgrenzung eines benignen Papilloms ohne Zellatypien (G 0) und eines hochdifferenzierten papillären Urothelkarzinoms (G 1). In 46% der Fälle zeigen die als G 0 Papillome graduierten Tumoren innerhalb von 5 Jahren ein Rezidiv, welches dann einem Progress der Entdifferenzierung der Zellmorphologie unterliegt. Hieraus ergibt sich eine wichtige Korrelation mit dem eruierten Tumorstadium und der daraus resultierenden statistischen Überlebenszeit [6].

Das seltenere solide wachsende Transitionalzellkarzinom ragt vom Epithel plump ins Harnblasenlumen vor. Histologisch handelt es sich grundsätzlich um Tumoren der Grade 2 und 3 mit den jeweiligen zytologischen Kriterien [7].

Plattenepithelkarzinome, am häufigsten im Verlauf chronischer Entzündungen, bilden überwiegend flache, die Wand diffus infiltrierende, ulzerierende Geschwülste [8].

Die sehr seltenen Adenokarzinome der Harnblase entstehen vornehmlich im Blasendach aus persistierenden Resten des Urachus. Auch die Blasenektrophie, eine embryonale Fehlentwicklung, prädisponiert für die Entstehung eines Adenokarzinoms [7].

Eine Sonderform stellt das Carcinoma in situ (Cis) dar. Es infiltriert nicht die Lamina propria mucosae, weist jedoch typische zytologische Veränderungen wie einen erhöhten Chromatingehalt im Zellkern, prominente Nucleoli und erhöhte mitotische Aktivität auf. Ebenfalls lässt sich eine erhöhte Zahl der Zellschichten, die normalerweise 3-7 beträgt, sowie eine unregelmäßige Zellanordnung beobachten [7,60].

1.5.3 TNM-Klassifikation

Die Stadieneinteilung des Harnblasenkarzinoms (Staging) erfolgt nach der überarbeiteten TNM-Klassifikation für urologische Tumoren der Union International Contre Cancer (UICC) und nach dem Differenzierungsgrad der Tumorzellen (Grading) [11].

T- Primärtumor

- TX Primärtumor kann nicht beurteilt werden
- T0 Kein Anhalt für Primärtumor
- Ta Nichtinvasives papilläres Carcinom
- Tis Carcinoma in situ („flat tumor“)
- T1 Tumor infiltriert subepitheliales Bindegewebe
- T2 Tumor infiltriert Muskulatur
 - T2a Tumor infiltriert oberflächliche Muskulatur (innere Hälfte)
 - T2b Tumor infiltriert tiefe Muskulatur (äußere Hälfte)
- T3 Tumor infiltriert perivesikales Fettgewebe

T3a Mikroskopisch

T3b Makroskopisch (extravesikaler Tumor)

- T4 Tumor infiltriert Prostata oder Uterus oder Vagina oder Becken- oder Bauchwand
 - T4a Tumor infiltriert Prostata oder Uterus oder Vagina
 - T4b Tumor infiltriert Becken- oder Bauchwand

N- Regionäre Lymphknoten

- NX Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden
- N0 Keine regionären Lymphknotenmetastasen
- N1 Metastase in solitärem Lymphknoten, 2 cm oder weniger in größter Ausdehnung
- N2 Metastase(n) in solitären Lymphknoten, mehr als 2 cm, aber nicht mehr als 5 cm oder in multiplen Lymphknoten, keine mehr als 5 cm in größter Ausdehnung
- N3 Metastase(n) in Lymphknoten, mehr als 5 cm in größter Ausdehnung

M- Fernmetastasen

- MX Fernmetastasen können nicht beurteilt werden
- M0 Keine Fernmetastasen
- M1 Fernmetastasen

Histopathologisches Grading

- GX Differenzierungsgrad kann nicht bestimmt werden
- G1 Gut differenziert
- G2 Mäßig differenziert
- G3-4 Schlecht differenziert/undifferenziert

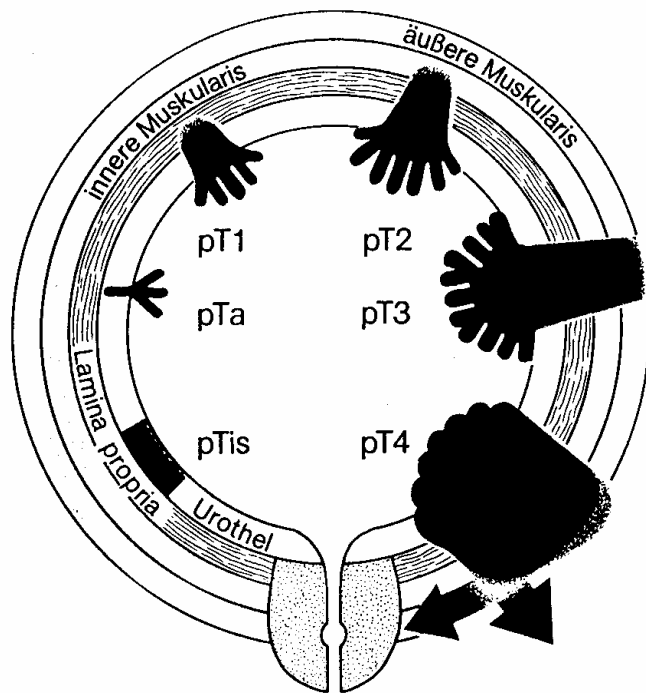


Abbildung 1.5.3: Stadieneinteilung des Harnblasenkarzinoms [54]

1.6 Therapie

Die Therapiemöglichkeiten des Harnblasenkarzinoms sind vielfältig.

In Abhängigkeit des jeweiligen Befundes richtet man sich heute nach folgenden Leitlinien [1,6,49]:

1.6.1 Transurethrale Resektion der Blase (TUR-B)

Indikation für die TUR-B sind in erster Linie die superfizialen Blasentumoren der histopathologischen Stadien pTa, pT1 und pTis.

Ziel dieser Art der Intervention ist es, die Tumorareale komplett zu sanieren und damit eine kurative Therapie anzustreben [6,49].

Als eine Weiterentwicklung kann die photodynamische Diagnostik (PDD) betrachtet werden, bei der nach vorheriger Instillation einer Markerlösung mittels fluoreszierenden Lichtes suspekter Schleimhautbezirke intraoperativ besser identifiziert und reseziert werden können [6,49].

1.6.1.1 Adjuvante Instillationstherapie

Ziel dieser intravesikalen Rezidivprophylaxe ist es, ein Rezidiv und eine Tumorprogression zu verhindern.

Prognostische Faktoren werden für die Entscheidung einer solchen Rezidivprophylaxe in Betracht gezogen. Dabei weiß man, dass Rezidiv- und Progressionshäufigkeit sowie Metastasierung mit dem Staging und Grading korrelieren [6]. Das Auftreten eines Rezidivs bzw. ein Differenzierungsgrad $\geq G2$ bei den oben genannten histopathologischen Stadien stellen die Indikation für die adjuvante Instillationstherapie dar [6].

Weiterhin gelten das Vorliegen eines multifokalen Tumors, eine Tumorgöße ≥ 5 cm, begleitende Urotheldysplasien oder Carinomata in situ als Indikation zur adjuvanten Chemo- oder Immunmodulationstherapie [49,54].

Als Substanzen stehen die Zytostatika Doxorubicin, Epirubicin und Mitomycin C sowie der Immunmodulator BCG (Bacillus Calmette-Guérin), der vor allem bei Carcinomata in situ Mittel der ersten Wahl ist, zur Verfügung [6,33,36,39,47].

Das Therapieschema sollte jeweils eine Induktionsphase unmittelbar nach der transurethralen Resektion und eine anschließende Erhaltungsphase für einige Wochen bis zu 3 Jahren beinhalten [6,49].

1.6.2 Radikale Cystektomie

Die Radikaloperation ist die Standardtherapie bei Blasenkarzinomen der Stadien pT1 G3, pT2-pT4, Nx, M0, sowie bei rezidivierenden Carcinomata in situ (Cis) [49].

Diese Art der operativen Behandlung beinhaltet beim Mann die Resektion von Blase, Prostata und Samenblasen. Fakultativ muss die Urethra mitreseziert werden.

Bei der Frau wird zusätzlich zur Harnblase der Uterus, beide Adnexen, die Vaginalvorderwand und die Urethra reseziert [1].

Geschlechtsunabhängig werden die Patienten gleichzeitig primär diagnostisch und in Einzelfällen auch therapeutisch pelvin lymphadenektomiert. Hierbei werden die Lymphknoten der Fossa obturatoria, der Parailiakal-Region und gegebenenfalls der Aortenbifurkation reseziert [1].

Als Harnableitungen kommen mehrere Möglichkeiten in Frage [1,49]:

1.6.2.1 Inkontinente Harnableitungen

- Ureterokutaneostomie: Hierbei werden die Ureteren unmittelbar über ein Hautstoma ausgeleitet.
- Konduit: Die Harnleiter werden in ein mesenterial versorgtes Darmsegment implantiert und über ein kutanes Stoma abgeleitet. Standardverfahren ist das Ileumkonduit, es eignen sich aber auch Colon sigmoideum oder Colon transversum.

1.6.2.2 Kontinente Harnableitungen

1.6.2.2.1 orthotope Substitute

- Orthotope Ersatzblase: Die Neoblase wird aus Darmsegmenten des Ileums oder des Colons, auch des Rectosigmoids, zum Reservoir umgebildet und anschließend mit der Urethra reanastomosiert. Die Ureteren werden antirefluxiv implantiert, der externe urethrale Sphinkter gewährleistet die Kontinenz, die Miktion erfolgt via Bauchpresse.

1.6.2.2.2 Urinreservoir mit kontinentem kutanem Stoma

- Der aus dem Ileozökal-Segment gebildete Pouch wird über einen Appendixnippel oder einen Ileuminvagnationsnippel durch ein kontinentes Nabel-Stoma abgeleitet. (Mainz Pouch I). Per Selbstkatheterismus kann der Patient die Pouchblase jederzeit problemlos entleeren. In der Regel erfolgt eine antirefluxive Ureterenimplantation.
- Segmente des Ileums, des Magens oder des Colon transversums (Mainz Pouch III), werden zu einem Reservoir gebildet, welches ebenfalls kontinent katheterisiert werden kann.

1.6.2.2.3 Harnableitung (Stuhl/Urin)

- Mainz Pouch II: Der Sigma-Rektum-Pouch wird aus beiden Darmanteilen gebildet. Die Kontinenz ist durch den Analsphinkter gewährleistet. Es wird hierbei ein Stuhl-Urin Gemisch entleert. Der Sigma-Rektum-Pouch stellt eine komfortable Weiterentwicklung der Harnleiterdarmimplantation dar.

Die Vielzahl der operativen Verfahren ermöglicht es, die Therapie den individuellen Bedürfnissen der Patienten optimal anzupassen.

1.6.3 Radiotherapie

Man unterscheidet prinzipiell die Strahlentherapie mit kurativer von der mit palliativer Zielsetzung.

Die Indikation zur definitiven Radiatio bei nicht metastasierten, muskelinvasiven Karzinomen besteht bei Patienten, die für eine Radikaloperation nicht geeignet sind [6,49].

Auch bei nachbarorganinfiltrierenden Tumoren (pT4) kann die Indikation zur primären Radiotherapie gestellt werden [6,49].

1.6.4 Chemotherapie

Bei Patienten mit lymphogener und hämatogener Filiarisierung ist eine chemotherapeutische Behandlung indiziert [6,49]. Hier wird die adjuvante Chemotherapie von der neoadjuvanten und der palliativen Chemotherapie unterschieden.

Als Substanzen stehen Cisplatin und Methotrexat, die als Einzelsubstanzen verabreicht werden können, sowie Vinblastin, Adriamycin, Epirubicin, die in den Polychemotherapieschemata M-VAC und M-VEC zum Einsatz kommen, zur Verfügung [6,33,43].

Weitere Protokolle beinhalten Cisplatin, Methotrexat und Vinblastin (CMV), bzw. Cisplatin und Methotrexat (CM) [6,43].

Die besten Remissionsraten bei Patienten mit Fernmetastasen konnten bislang mit den M-VAC und M-VEC Protokollen (72%) erzielt werden [6].

2. Material und Methoden

2.1 Patientengut

Das Patientenkollektiv der vorliegenden Studie setzt sich aus Blasenkarzinompatienten zusammen, die im Zeitraum von Mai 1996 bis April 2000 in der Urologischen Universitätsklinik Würzburg behandelt wurden.

Voraussetzung zur Aufnahme in die Untersuchung war, dass die Patienten jeweils zuerst einer transurethralen Tumorsektion (TUR-B) unterzogen wurden und anschließend einer radikalen Cystektomie zugeführt wurden.

Beide Interventionen mussten im Hause vorgenommen worden sein, so dass das Untersuchungsmaterial im Pathologischen Institut der Universität Würzburg vorlag.

Weitere Voraussetzungen waren ein invasives Tumorwachstum im Cystektomiepräparat (mindestens pT1), sowie die urotheliale Differenzierung der Präparate.

52 Patienten (n=52) konnten diese Bedingungen erfüllen und gingen in das Patientenkollektiv ein. 40 Patienten waren männlichen Geschlechts (n=40), 12 Patienten waren weiblich (n=12).

Das Durchschnittsalter des Gesamtkollektivs betrug 66,2 Jahre, bei den Frauen lag das durchschnittliche Alter bei 66,3 Jahren, die Männer waren im Durchschnitt 66,1 Jahre alt.

Das gesamte Patientengut wurde nun in zwei Kollektive unterteilt.

Im Kollektiv 1 wurden alle Fälle der transurethralen Resektion betrachtet, wobei von drei Patienten jeweils zwei Präparate in die TUR-B-Auswertung eingingen, da sie je zweimal einer transurethralen Resektion unterzogen wurden (n=55). In das Kollektiv 2 gingen alle Fälle der Cystektomie ein (n=52).

2.1.1 Patientenkollektiv 1 (TUR-B)

Die histopathologische Klassifizierung ergab für 3 TUR-B Präparate einen pTa-Tumor, bei 16 Präparaten konnte das Stadium pT1, bei 26 das Stadium pT2, sowie bei jeweils 5 Präparaten die Tumorstadien pT3 und pT4 gefunden werden.

In einem Fall konnte im transurethralen Resektat ein Carcinoma in situ (Cis) nachgewiesen werden.

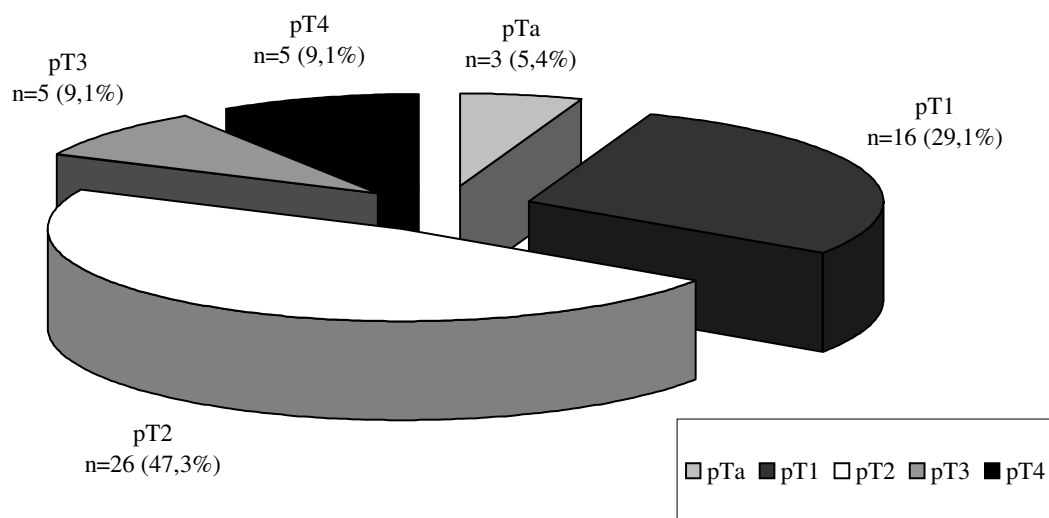


Abbildung 2.1.1.1: Verteilung des Tumorstadiums bei TUR-B-Präparaten

In diesem Kollektiv wurde keiner der Tumoren als gut differenziert (G1) diagnostiziert. 16 Tumoren wurden als mäßig differenziert (G2), 6 als G2-3 und 30 als undifferenziert (G3) klassifiziert.

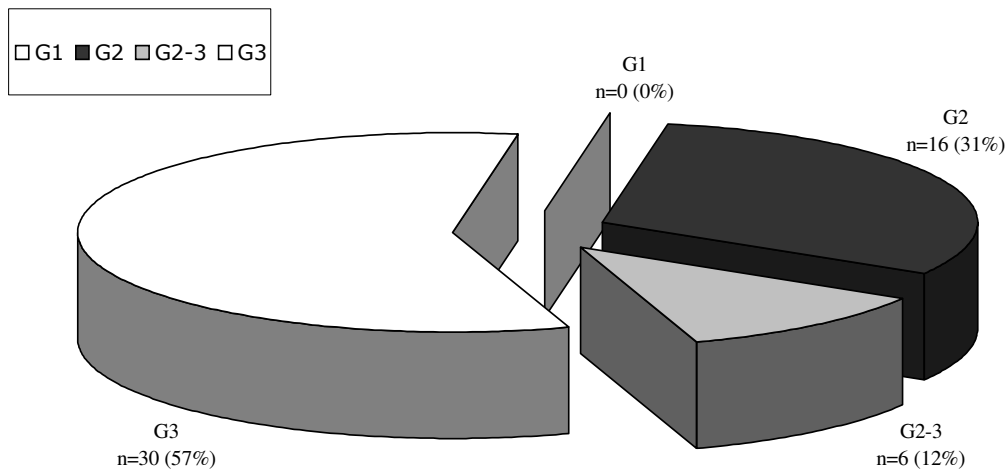


Abbildung 2.1.1.2: Verteilung des Differenzierungsgrades bei TUR-B-Präparaten

Drei Patienten dieses Kollektivs wurden im Verlauf transurethral nachreseziert. Das histopathologische Ergebnis zeigte bei der ersten Resektion einen pTaG2-Tumor, der bei der Nachresektion als pT2G2-Tumor klassifiziert wurde, sowie zwei pT1G2-Tumoren, von denen einer bei der Nachresektion ein pT2G2-Stadium, der andere weiterhin ein pT1G2-Stadium aufwies.

2.1.2 Patientenkollektiv 2 (Cystektomie)

Die histopathologische Klassifizierung ergab in diesem Patientenkollektiv 5 Fälle eines pT1-Karzinoms, 15 pT2-Tumoren, 21 pT3- und 11 pT4-Tumoren.

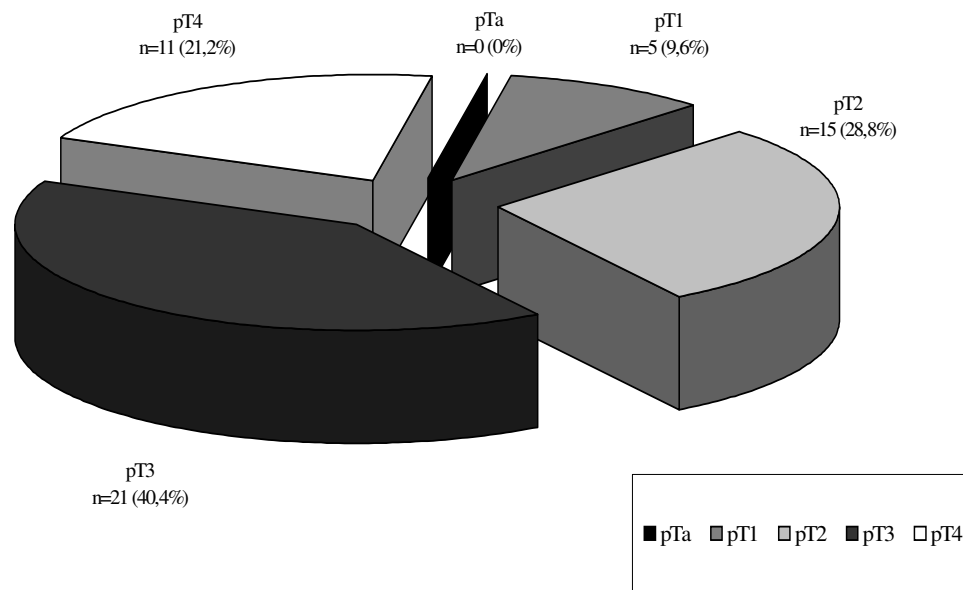


Abbildung 2.1.2.1: Verteilung des Tumorstadiums bei Cystektomie-Präparaten

Auch im Kollektiv 2 konnte keine der Neoplasien als gut differenziert (G1) bezeichnet werden. 16 Tumoren waren mäßig differenziert (G2), einer wurde als mäßig- bis undifferenziert eingestuft, und der Großteil (35 Präparate) wurde als undifferenziert (G3) bezeichnet.

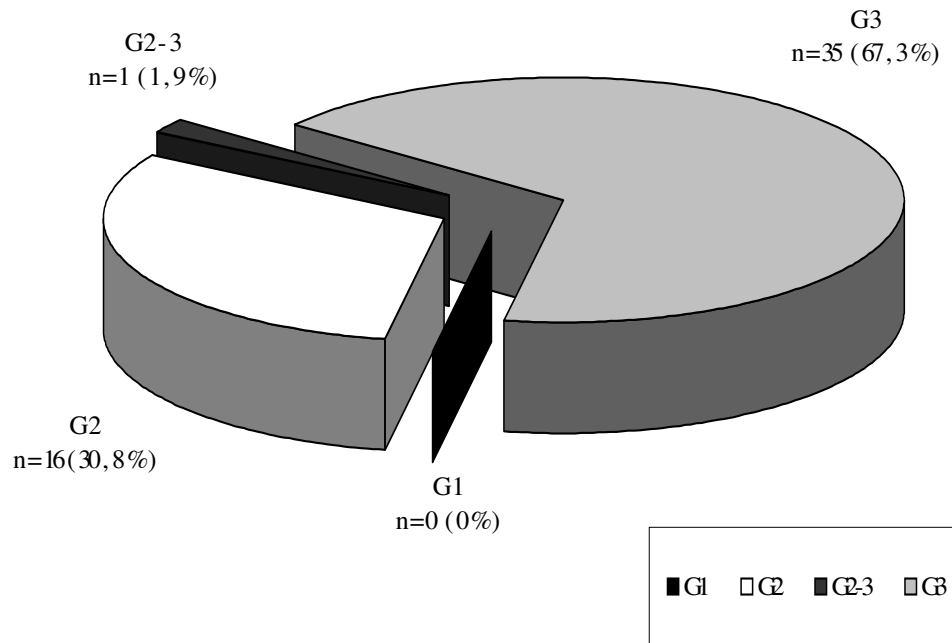


Abbildung 2.1.2.2: Verteilung des Differenzierungsgrades bei Cystektomie-Präparaten

2.1.3 Patiententabelle

Pat.-Nr.	Geschlecht	Alter	T	G	N	M
1	m	62	1	2	0	0
2	m	52	1	2	0	0
3	m	66	2	2	0	0
4	w	75	2	2	0	0
5	w	58	2	2	0	0
6	m	52	2	2	0	0
7	m	71	2	2	0	0
8	m	68	2	2	0	0
9	w	80	3	2	0	0
10	m	63	3	2	0	0
11	w	67	3	2	0	0
12	w	66	3	2	0	0
13	w	74	1	3	0	0
14	m	72	1	3	0	0
15	m	70	1	3	0	0
16	m	74	2	3	0	0
17	m	63	2	3	0	0
18	w	64	2	3	0	0
19	m	73	2	3	0	0
20	m	68	2	3	0	0
21	m	78	3	2-3	0	0
22	w	67	3	3	0	0
23	m	82	3	3	0	0
24	m	70	3	3	0	0
25	m	58	3	3	0	0
26	m	66	3	3	0	0
27	w	79	3	3	0	0

Pat.-Nr.	Geschlecht	Alter	T	G	N	M
28	m	72	3	3	0	0
29	m	76	3	3	0	0
30	m	67	3	3	0	0
31	m	62	3	3	0	0
32	w	58	4	3	0	0
33	m	54	4	3	0	0
34	m	67	4	3	0	0
35	m	51	2	3	1	0
36	m	73	2	3	1	0
37	m	57	3	3	1	0
38	m	66	4	3	1	0
39	m	48	2	3	2	0
40	m	63	3	3	2	0
41	m	62	3	3	2	0
42	m	67	3	3	2	0
43	m	75	4	3	2	0
44	m	71	4	3	2	0
45	m	55	4	3	2	0
46	m	65	2	2	0	1
47	m	70	4	2	0	1
48	m	72	3	3	0	1
49	m	73	4	3	0	1
50	m	71	4	2	1	1
51	w	68	4	2	2	1
52	w	40	3	3	2	1

Tabelle 2.1.3: Patiententabelle mit Geschlecht, Alter, sowie Tumorstadium (T), Grading (G), Lymphknotenstatus (N) und Fernmetastasierung (M) in den Cystektomie-Präparaten

2.2 Präparataufbereitung und Färbeverfahren

2.2.1 Aufbereitung des Gewebematerials

Die das Tumormaterial enthaltenden Paraffinblöcke wurden, der entsprechenden Einlauf-Nummer (E-Nr) folgend, aus dem Archiv des Pathologischen Instituts der Universität Würzburg entnommen.

Mit einem Mikrotom der Firma Leitz-Leica wurden initial Schnitte von 4-6 µm Dicke angefertigt. Diese wurden anschließend auf Super Frost® Plus-Objektträger aufgezogen und über Nacht bei 50-55°C getrocknet.

2.2.2 Auswahl des Färbeverfahrens

Um das geeignetste Färbeverfahren zur spezifischen Anfärbung der Gefäßendothelzellen herauszufinden, wurden Färbereihen angefertigt.

2.2.2.1 Faktor-VIII-Färbung/ PAP-Komplex

Der Antikörper der Faktor-VIII-/ PAP-Komplex-Färbung reagiert relativ spezifisch mit dem von-Willebrand-Faktor (Faktor VIII) in Endothelzellen. Der Peroxidase-Anti-Peroxidase Komplex (PAP-Komplex) wird durch einen Brückenantikörper mit dem von-Willebrand-Antikörper verbunden. Proben in verschiedenen Verdünnungsstufen wurden angefertigt, um die geeignetste Verdünnung zu ermitteln.

Es zeigte sich neben der guten Kontrastierung der Gefäßendothelzellen leider auch eine starke Farbreaktion des die Gefäße umgebenden Bindegewebes.

2.2.2.2 APAAP/ CD 34 Endothelzellmarker Färbung

Auf das Verfahren der APAAP/ CD 34 Endothelzellmarker Färbung wurde zurückgegriffen, da es hiermit möglich ist, eine besonders selektive und umgebungsreaktionsarme Anfärbung der Gefäßendothelzellen durchzuführen. Die immunhistochemische Bearbeitung von Präparaten ist mit Hilfe dieses Verfahrens problemlos möglich, selbst wenn gefrorene oder, wie in dieser Studie, in Paraffin eingebettete Gewebeproben verwendet werden [35]. Untersuchungen an gynäkologischen Patientinnen mit Ovarialkarzinomen zeigten bereits, dass CD 34 ein sehr selektiver Endothelzellmarker ist, um die Neovaskularisation eines solide wachsenden Tumors zu beurteilen [58,59].

Bei dem Primärantikörper CD 34 handelt es sich um einen monoklonalen Maus-Antikörper. Das einkettige Glycoprotein mit einem Molekulargewicht von 110 kD reagiert selektiv mit den von menschlichen Endothelzellen exprimierten CD 34 Antigenen [35].

2.3 Vorgehen bei der APAAP/ CD 34 Endothelzellmarker Färbung

2.3.1 Entparaffinierung

Zu Beginn werden die Präparate entparaffiniert, indem sie 15 Minuten in Xylol geschwenkt werden. Hierdurch wird die Präparatfixierung gelöst und die Antigene (Endothelzell Rezeptoren) werden freigelegt. Da die Gefahr der Austrocknung besteht, werden die Präparate anschließend in Flüssigkeitsbädern abnehmender Alkoholkonzentration rehydriert: Es folgt ein 15 minütiges Bad in Aceton, danach ein 15 minütiges Bad in einem Aceton/ Tris-Puffer-Gemisch im Verhältnis 1:2, anschließend werden die Präparate kurz in der Tris-Pufferlösung abgespült.

2.3.2 Vorbehandlung

Die auf diese Weise entparaffinierten Präparate werden nun zur weiteren Vorbehandlung in einer 10 mMolaren Citronensäurelösung (pH 6,0) bei 1 bar 30 Minuten im Autoklaven erhitzt. Dieser Arbeitsschritt führt zu einem Aufbrechen des Gewebes. Die Zellmembranen werden degeneriert, wodurch der Antikörperkomplex, der im folgenden bei der eigentlichen Färbung verwendet wird, besser an den entsprechenden Antigenrezeptoren binden kann. Zusätzlich werden noch vorhandene Paraffinreste in diesem Arbeitsgang endgültig beseitigt. Die Präparate werden für weitere 25 Minuten zum Abkühlen in der 10 mMolaren Citronensäurelösung belassen.

2.3.3 Färbung

Im Rahmen der eigentlichen Färbung [46,48] werden die Präparate nach jedem Arbeitsschritt mehrfach und sorgfältig mit Tris-Puffer gespült, um jeweils alle in einer Inkubationsphase nicht gebundenen Antikörper zu entfernen.

Die vorbereiteten Präparate werden in einem Gemisch aus dem Primärantikörper und der Nährstofflösung, dem Zellkulturmedium RPMI, im Verhältnis 1:150 für 60 min inkubiert (CD 34/ RPMI). Es folgt viermaliges Spülen der Präparate mittels Trispuffer. Danach inkubiert man die Objektträger 30 min in einem Ansatz, bestehend aus dem 1:25 verdünnten Brücken-Antikörper (Link) sowie RPMI 1:8 verdünnt mit Humanserum. (Link 1:25 mit RPMI/ Humanserum (1:8) verdünnt). Nun werden die Präparate dem APAAP-Komplex, 1:50 verdünnt mit RPMI-Lösung, zugeführt.

Hierbei handelt es sich um einen Alkalische Phosphatase/ Anti Alkalische Phosphatase Antikörperkomplex, der bevorzugt an den Sekundär-Antikörper (Link) bindet.

Anschließend werden die beschriebenen Arbeitsschritte mit dem Sekundär-Antikörper und dem APAAP-Komplex wiederholt, um eine bessere Färbungsrate zu erzielen.

Danach werden die Ansätze für 5 min im Neufuchsin-Kit inkubiert. Dieser Farbstoff bindet an die Alkalische Phosphatase. Die so angefärbten Gefäßendothelzellen stellen sich bräunlich dar, weshalb zur besseren Auswertbarkeit eine Gegenfärbung mit dem

sauren Farbstoff Hämalaun eingeleitet wird, der die darzustellenden Zellen rötlich erscheinen lässt.

Abschließend werden die Präparate im Tris-Puffer stabilisiert und gebläut. Nun werden sie mittels Glyceringelatine eingedeckt und somit fixiert.

2.3.4 Materialnachweis

Trispuffer	Trishydroxymethylaminomethan	4,50	g
	Tris-HCl	34,25	g
	NaCl	43,90	g
	Aqua dest. Ad	5,0	l
	Der pH Wert wird auf 7,5 +/- 0,1 eingestellt		
RPMI (Nährstofflösung)	RPMI	5	ml
	Aqua dest.	45	ml
	Rinderserum	5	ml
Brückenantikörper (Link)	Kaninchen-Anti-Maus-Antikörper, Fa Dako®		
APAAP-Komplex	Monoklonaler Anti-Maus-Antikörper, Fa Dako®		
Neufuchsin Fertigkit	Fertigkit, Fa Dako®		

Tabelle 2.3.4: Materialnachweis

2.3.5 Färbevorschrift

SCHNEIDEN

der Gewebeblöcke mit Schichtdicke 4-6 µm



ENTPARAFFINIERUNG

mit Xylol

Aceton

Aceton/Trispuffer



VORBEHANDLUNG

mit Citratpuffer



FÄRBUNG

mit CD34/ RPMI

LINK/ RPMI /Humanserum

APAAP-Komplex/ RPMI

LINK/ RPMI /Humanserum

APAAP-Komplex/ RPMI

Neufuchsin



GEGENFÄRBUNG

mit Hämalaun



CD34	kräftig rosa gefärbt
Zellkerne	bläulich gefärbt
Zytoplasma	schwach rosa gefärbt

2.3.6 Abbildungen APAAP/ CD 34 Endothelzellfärbung

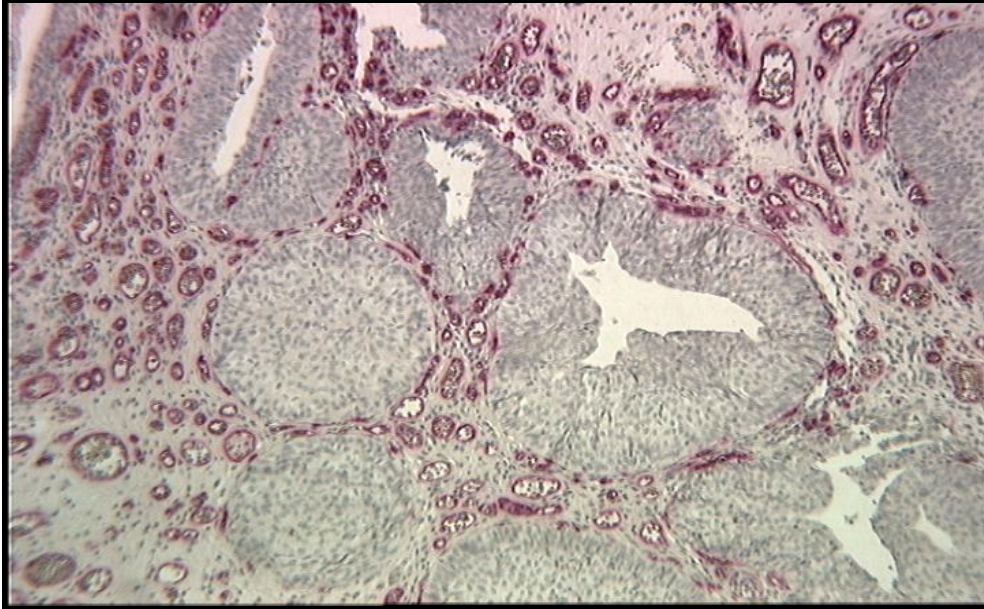


Abbildung 2.3.6.1: Histologisches Präparat Urothelkarzinom der Harnblase, APAAP/ CD 34 Endothelzellfärbung, 250-fache Vergrößerung.

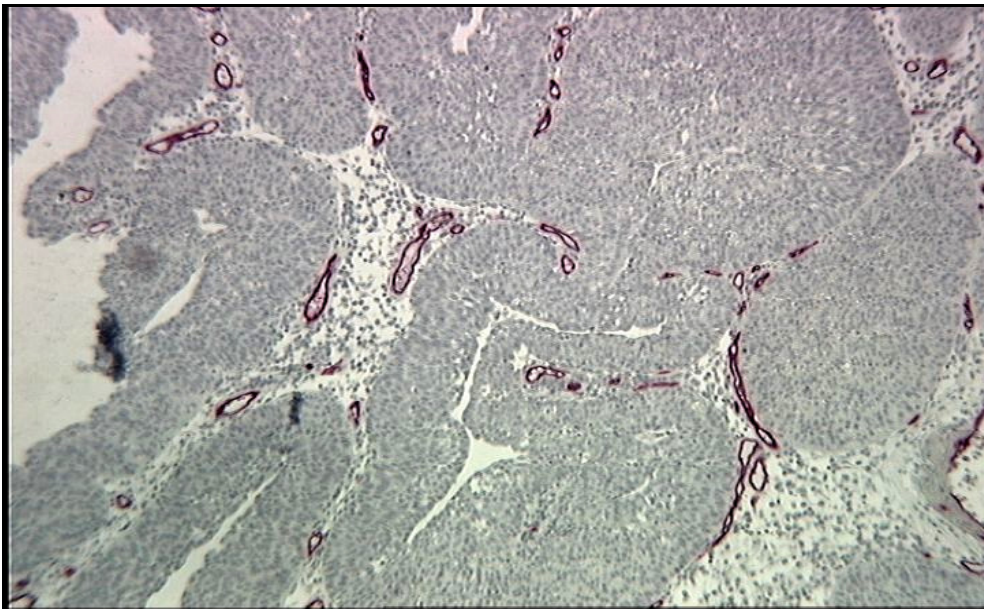


Abbildung 2.3.6.2: Histologisches Präparat: Urothelkarzinom der Harnblase, APAAP/ CD 34 Endothelzellfärbung, 250-fache Vergrößerung

2.4 Methodik der lichtmikroskopischen Auswertung

Die Auswertung wurde mit einem Mikroskop Typ Orthoplan der Marke Leitz-Leica durchgeführt. Es wurden 10er Okulare verwendet. Die Fotografien wurden mit einem Leitz-Leica Fotoapparat erstellt.

Die lichtmikroskopische Auswertung erfolgte, indem die immungefärbten Paraffinschnitte zunächst bei kleinster Vergrößerung (25-fach) durchgemustert wurden. Auf diese Weise wurde das Tumoreal identifiziert. In der nächsten Vergrößerungsstufe (100-fach) wurden sogenannte Hotspots im Bereich der Infiltrationsfront des Tumors aufgesucht.

Als Hotspots werden solche Areale definiert, die an der Infiltrationsfront des Tumors liegen und eine hohe Tumorzell-dichte aufweisen. Tumorzellen fallen durch Polymorphie, zahlreiche Mitosen, prominente Nukleoli, eine atypische Kern-Zytoplasma-Relation und infiltrierendes Wachstum auf [36].

In jedem Präparat wurden je drei solcher Hotspots ausgewählt.

Es erfolgte die Auszählung der Gefäß-dichte in dem jeweiligen Areal bei 250-facher Vergrößerung. Als Hilfsmittel standen hierfür ein Counter sowie ein Rasterokular zur besseren Orientierung zur Verfügung.

Die Zellen der zählbaren Gefäßanschnitte stellten sich hierbei kräftig rötlich gefärbt dar und hoben sich deutlich vom erkennbaren Tumorgewebe ab. Voraussetzung für einen sichtbaren Gefäßanschnitt, der in der Untersuchung berücksichtigt wurde, waren weiterhin ein deutlich erkennbares Lumen, deutliche Darstellung der kernhaltigen Endothelzellen, sowie eine Berücksichtigung des jeweiligen Gefäßverlaufes, um eine Mehrfachregistrierung eines geschlängelt verlaufenden Gefäßes zu verhindern.

Diese hier beschriebene Methodik der Zellidentifikation wurde während der gesamten Auswertung berücksichtigt.

Aus den Zahlenwerten der drei untersuchten Hotspots pro Präparat wurde ein Mittelwert gebildet, um ein möglichst repräsentatives Ergebnis zu erzielen.

Es wurde ausschließlich Tumorgewebe untersucht, Bindegewebszellen und Entzündungsherde wurden nicht berücksichtigt.

Die Auszählung erfolgte ohne Kenntnis der pathohistologischen Tumorstadien. Die Objektträger waren lediglich mit der Einlauf-Nummer des Pathologischen Instituts versehen. Anschließend erfolgte eine Kontrollzählung.

Die Zahlenwerte wurden dann den entsprechenden Patienten zugeordnet und mit der Infiltrationstiefe, dem Tumorgrading, der lymphogenen und hämatogenen Metastasierung korreliert.

2.5 Methodik der Aktenauswertung

Zur Komplettierung des jeweiligen Krankheitsbildes wurden die Krankenakten aller Patienten, deren histologische Präparate in dieser Untersuchung erfasst sind (n=52), aufgearbeitet. Dabei wurden Anamnese, Befund, Verlauf und Therapie zusammengetragen und gesondert dargestellt.

Von besonderer Bedeutung waren das Tumorstadium, Differenzierungsgrad, Histologie, Metastasierung, Risikofaktoren und Erstsymptome.

2.6 Statistische Methodik

Die Datenauswertung erfolgte mit dem Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft® Excel und mit Online Analysis of Data-Perl Programs from Arizona State University College of Education (<http://glass.ed.asu.edu/stats/analysis/>).

Die Grafiken wurden ebenfalls mit dem Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft® Excel erstellt.

Im Folgenden werden die Ergebnisse in Mittelwerten mit Standardabweichung ([s]) angegeben. Die Anzahl der Fälle (n) ist in den Tabellen des Ergebnisteils genannt.

In den Säulen- und Kreisabbildungen werden jeweils die Mittelwerte dargestellt.

Die Irrtumswahrscheinlichkeit (p) wurde mit Hilfe des t-tests berechnet. Die Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ wird als signifikant bezeichnet.

3. Ergebnisse

3.1 Klinische Auswertung

3.1.1 Tumorlokalisation

Bei 16 Patienten (30,8%) war ein unifokales Tumorwachstum nachweisbar.

Die häufigste Lokalisation war die linke Blasenseitenwand, die in 8 Fällen betroffen war. Die Hinterwand war viermal, das Blasendach dreimal, die rechte Seitenwand zweimal, der Blasenboden sowie das Trigonum vesicae waren in je einem Fall betroffen. Im Bereich der Blasenvorderwand war in keinem Präparat ein Tumorareal nachweisbar.

Bei 36 Patienten (69,2%) war das Tumorwachstum jedoch multifokal. Die Hauptlokalisationen waren der Blasenboden in 13 Fällen, die linke Seitenwand in 12 Fällen, sowie die Blasen hinterwand in 11 Fällen. Achtmal war ein Tumor in der rechten Seitenwand nachweisbar, sechsmal im Bereich des Blasendaches, dreimal war die Vorderwand betroffen, zweimal das Trigonum vesicae, je einmal waren der Blasen Hals und die Ureterostien als Lokalisation eines Tumorareals nachweisbar. Bei einem Tumor war ein zusätzliches Wachstum in einem Blasendivertikel zu erkennen.

Von jenen 11 Tumoren, die als pT4-Karzinom klassifiziert wurden, infiltrierten 8 die Prostata, 4 die Urethra bzw. das periurethrale Gewebe, 2 Tumoren infiltrierten das Kolon und in je einem Fall infiltrierte der Primärtumor das Rektum, den Beckenboden, den Uterus, die Vagina, die Portio und die Vulva.

3.1.2 Histologie

Bei allen Tumoren handelte es sich um Urothelkarzinome. Plattenepitheliale Tumoranteile waren zusätzlich in 6 Präparaten (11,5%) nachweisbar.

Das Wachstumsmuster der Neoplasien war in 21 Präparaten (40,4%) solide, 15 Tumoren (28,9%) wuchsen papillär (breitbasig oder gestielt) und 16 Präparate (30,7%) wiesen eine gemischtanteilige Tumorformation auf.

3.1.3 Metastasierung

Lymphogene Metastasierung konnte in 14 der 52 Präparate (26,9%) nachgewiesen werden. In 5 Fällen handelte es sich um regionäre Lymphknotenmetastasen des Stadiums pN1, in 9 Fällen waren es Metastasen des Stadiums pN2.

Fernmetastasen konnten bei 7 Patienten (13,5%) nachgewiesen werden. In je 3 Fällen fanden sich Filiae des Primärtumors in der Leber und im Skelettsystem., je zweimal waren kutane und pulmonale Metastasen vorhanden. In je einem Fall waren die Nebenniere, die Bauchwand und die Ovarien Ort der Metastasierung. Ein Patient entwickelte eine Peritonealkarzinose.

In der pathologischen Aufarbeitung der Zystektomiepräparate wurde weiterhin in 16 Fällen (30,8%) ein Carcinoma in situ (Cis), in 19 Fällen (36,5%) eine Lymphangiosis carcinomatosa und in 7 Fällen (13,5%) eine Hämangiosis carcinomatosa nachgewiesen.

Bei 22 Patienten (42,3%) konnte zusätzlich ein Sekundärtumor nachgewiesen werden. In 14 Fällen handelte es sich dabei um ein Prostatakarzinom, 2 Patienten erkrankten an einem Non-Hodgkin-Lymphom, zwei Patientinnen entwickelten ein Mammakarzinom. Jeweils ein Patient erkrankte zusätzlich an einem Urothelkarzinom der prostatichen Harnröhre, einem Urothelkarzinom des oberen Harntraktes (Ureteren und Nierenbecken), einem Nierenzellkarzinom und einem Endometriumkarzinom.

3.1.4 Risikofaktoren

Im Folgenden werden die bei den 52 in der Studie berücksichtigten Patienten relevanten Risikofaktoren zur Entstehung eines Harnblasenkarzinoms genauer betrachtet.

Hierbei zeigte sich, dass 18 Patienten (34,5%) zum Zeitpunkt der Diagnosestellung aktive Raucher waren, weitere 4 (7,7%) hatten früher stark geraucht.

6 Patienten (11,5%) waren einer beruflichen Exposition gegenüber risikoreichen Stoffen ausgesetzt (z.B. aromatischen Aminen). Bei einem Patienten konnte ein über 10 Jahre bestehender Analgetika-Abusus nachgewiesen werden.

Weitere 10 Patienten (19,2%) litten an einer chronischen Entzündung der Harnblase, bevor bei ihnen ein Harnblasenkarzinom diagnostiziert wurde.

3.1.5 Erstsymptome

Über eine schmerzlose Makrohämaturie zu Beginn der Erkrankung hatten insgesamt 42 Patienten (80,8%) berichtet, welche somit das weitaus häufigste Erstsymptom darstellte. Eine Dysurie wurde von 13 Patienten (25%), eine Pollakisurie von 6 Patienten (11,5%) und eine Nykturie von 5 Patienten (9,6%) als erste Krankheitszeichen beklagt. Bei weiteren 3 Patienten (5,8%) bestand eine Algurie.

Jeweils einmal wurden Flankenschmerzen, Unterbauchschmerzen, Gewichtsverlust, Restharngefühl, Harndrang und eine Mikrohämaturie als Erstsymptome beschrieben.

In Abbildung 3.1.5 werden die häufigsten Erstsymptome dargestellt.

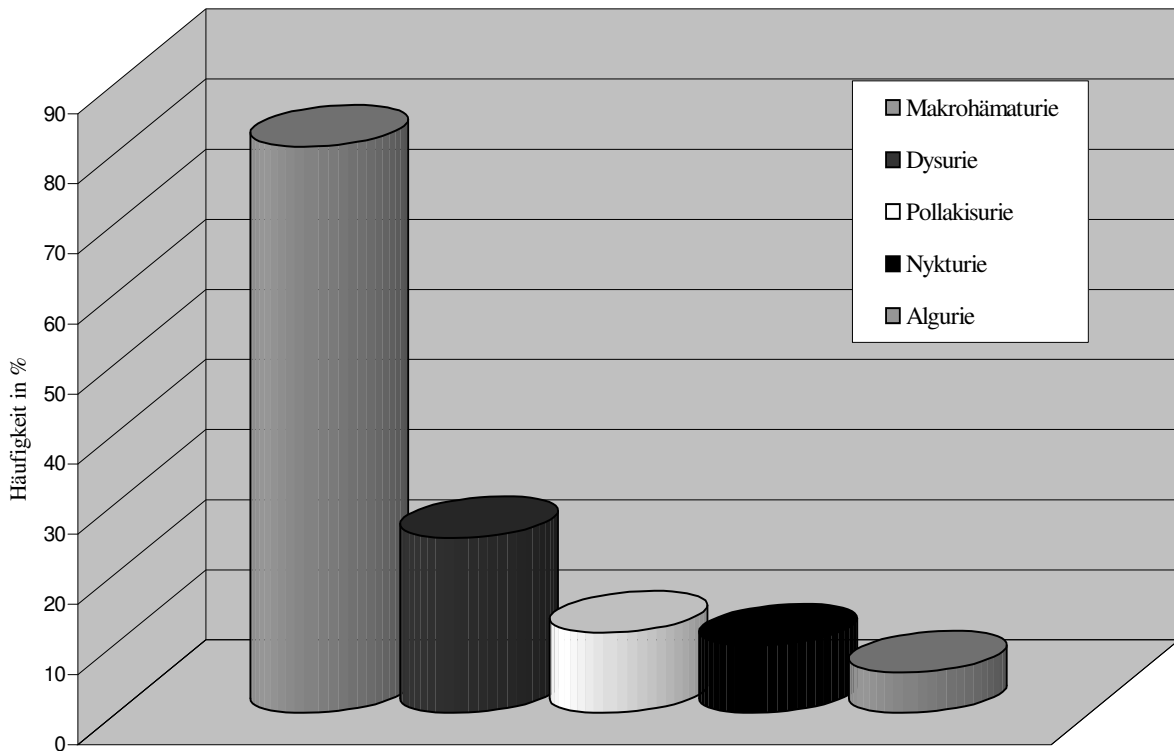


Abbildung 3.1.5: Häufigkeit der Erstsymptome in Prozent (%)

3.1.6 Harnableitung

Nach Cystoprostatektomie bzw. vorderer Exenteration erfolgte die Harnableitung bei 20 Patienten (38,5%) mittels Mainz-Pouch I (Ileozökalpouch). Fünf Patienten (9,6%) erhielten ein orthotopes Blasensubstitut mittels ileozökalem Segment. 25 Patienten (48,1%) wurden mit einem Ileum-Conduit und zwei Patienten (3,8%) mit einem Colon-Conduit versorgt.

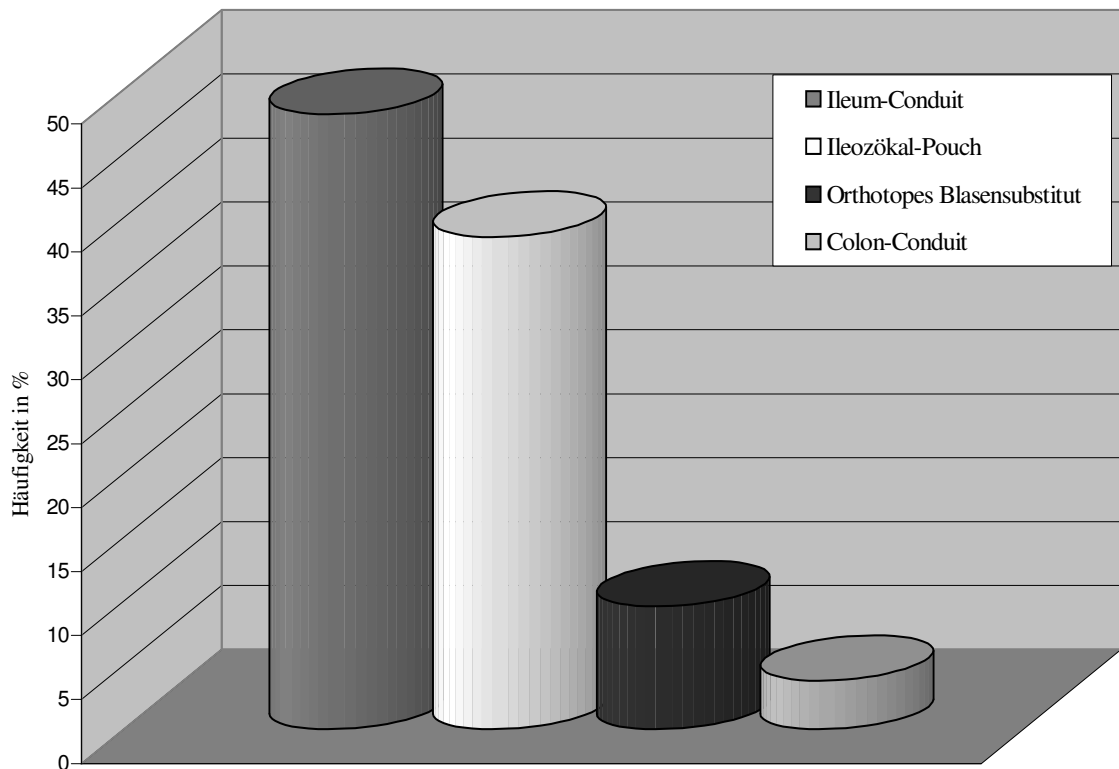


Abbildung 3.1.6: Häufigkeit der verschiedenen Harnableitungen in Prozent (%)

3.1.7 Langzeitverlauf

Zum Zeitpunkt der Aktenauswertung waren 8 Patienten (15,4%) bereits verstorben, ihre mittlere Überlebenszeit nach Cystektomie betrug 7,3 Monate (2 bis 20 Monate). Diese 8 Patienten hatten ein mittleres Lebensalter von 57,5 Jahren erreicht.

Bei einem dieser Patienten konnte im Cystektomie-Präparat ein pT1-Tumor gefunden werden, bei fünf Patienten zeigte sich histologisch ein pT3-Stadium und bei zwei Patienten ein pT4-Stadium.

Der Differenzierungsgrad betrug zum Zeitpunkt der Cystektomie bei sieben dieser Tumoren G3, nur einer war als G2 eingestuft worden.

Vier dieser Patienten wiesen zum Zeitpunkt der Operation eine lymphogene Metastasierung auf (alle im Stadium N2), und bei ebenfalls vier Patienten lagen bereits Fernmetastasen vor.

3.2 Auswertung der TUR-B Präparate

3.2.1 Auswertung der TUR-B Präparate nach Stadien

Die lichtmikroskopische Auswertung der mit dem APAAP/ CD 34 Endothelzellmarker gefärbten TUR-Präparate ergab folgende Ergebnisse, welche in Mittelwerten bei je drei Hot-Spot Auszählungen pro Präparat angegeben werden.

Für das oberflächliche Tumorstadium pTa wurden bei der Auszählung von je 3 Gesichtsfeldern bei 3 Patienten (n=3) im Durchschnitt 33,22 Gefäßanschnitte ermittelt (Standardabweichung [s]: 6,28). Im Stadium pT1 (n=16) fanden sich durchschnittlich 32,06 Gefäße pro Gesichtsfeld ([s]: 10,08), während die Tumoren des Stadiums pT2 (n=26) im Mittel 36,6 Gefäßanschnitte aufwiesen ([s]: 15,75). Im Stadium pT3 (n=5) enthielt ein Gesichtsfeld durchschnittlich 36,33 Gefäßanschnitte ([s]: 8,58). Die höchste Gefäßanzahl zeigte das Tumorstadium pT4 (n=5) mit durchschnittlich 43,27 Anschnitten pro Gesichtsfeld ([s]: 22,82).

Von drei Patienten gingen jeweils zwei Präparate in diese Auswertung ein, da sie je zweimal einer transurethralen Resektion unterzogen wurden. Die Ergebnisse sind in Tabelle und Abbildung 3.2.1 im einzelnen aufgeführt.

Beim Vergleich der Tumorstadien untereinander zeigte sich lediglich zwischen dem Stadium pT1 und dem Stadium pT4 ein signifikanter Unterschied bezüglich der durchschnittlichen Gefäßanzahl ($p < 0,05$).

Tumorstadium	Mittelwert der Gefäßanzahl	Standardabweichung [s]
pTa (n=3)	33,22	6,28
pT1 (n=16)	32,06	10,08
pT2 (n=26)	36,6	15,75
pT3 (n=5)	36,33	8,58
pT4 (n=5)	43,27	22,82

Tabelle 3.2.1: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient im TUR-B Präparat, gruppiert nach Tumorstadien

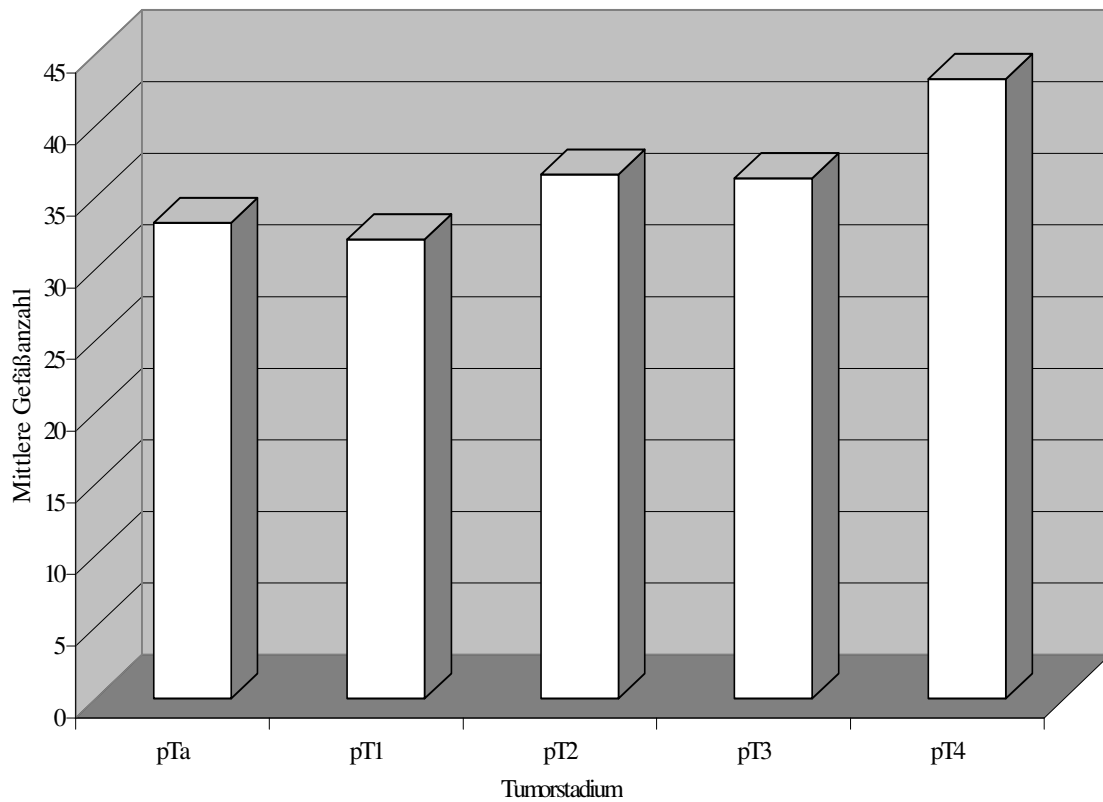


Abbildung 3.2.1: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient im TUR-B Präparat, gruppiert nach Tumorstadien

3.2.2 Auswertung der TUR-B Präparate nach Grading

Desweiteren erfolgte auch eine Auswertung der TUR-B Präparate bezüglich des Grading.

Hierbei ergab sich für das Tumorigrad G2 bei 19 Patienten (n=19) mit jeweils drei Hot-Spot Auszählungen eine durchschnittliche Gefäßanzahl von 35,16 ([s]: 17,94). Für das Grading G2-3 (n=6) lag der Mittelwert der Gefäßanschnitte bei 38,56 ([s]: 8,79), während die Präparate mit G3 (n=30) im Durchschnitt 35,29 Anschnitte aufwiesen ([s]: 12,71) (siehe Tabelle und Abbildung 3.2.2).

Zwischen den einzelnen Differenzierungsgraden zeigte sich kein signifikanter Unterschied in Bezug auf die durchschnittliche Gefäßanzahl der TUR-B Präparate ($p > 0,05$).

Tumorgrading	Mittelwert der Gefäßanzahl	Standardabweichung [s]
G2 (n=19)	35,16	17,94
G2-3 (n=6)	38,56	8,79
G3 (n=30)	35,29	12,71

Tabelle 3.2.2: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient im TUR-B Präparat, gruppiert nach Tumorgrading

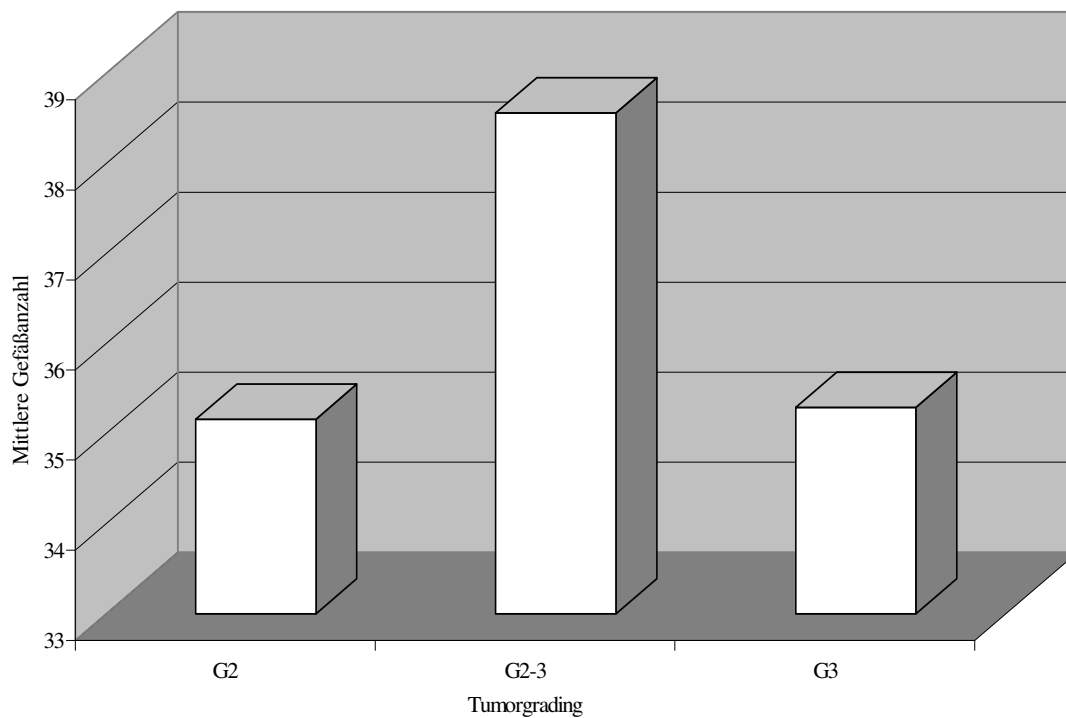


Abbildung 3.2.2: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient im TUR-B Präparat, gruppiert nach Tumorgrading

3.2.3 Grading-Vergleich innerhalb der einzelnen Tumorstadien

3.2.3.1 Grading-Vergleich im Tumorstadium pTa

Die drei Patienten mit Tumoren des oberflächlichen Stadiums pTa im Rahmen der transurethralen Resektion wiesen alle ein Tumorgrading G2 auf mit einem durchschnittlichen Gefäßanteil von 33,22 Anschnitten.

3.2.3.2 Grading-Vergleich im Tumorstadium pT1

Die Auswertung im Stadium pT1 ergab bei 6 Präparaten (n=6) ein Tumorgrading G2 mit einem Mittelwert von 25,72 Gefäßanschnitten ([s]: 11,27). Die Tumoren mit G2-3 enthielten durchschnittlich 37,33 Gefäßanteile ([s]: 5,36), und diejenigen mit G3 im Durchschnitt 35,24 Gefäßanteile ([s]: 7,75).

Im Tumorstadium pT1 zeigte das Tumorgrading G2 jeweils eine signifikant niedrigere mittlere Gefäßanzahl als die Differenzierungsgrade G2-3 und G3 ($p < 0,05$).

Tumorgrading im Stadium pT1	Mittelwert der Gefäßanzahl	Standardabweichung [s]
G2 (n=6)	25,72	11,27
G2-3 (n=3)	37,33	5,36
G3 (n=7)	35,24	7,75

Tabelle 3.2.3.2: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient im Tumorstadium pT1 der TUR-B Präparate, gruppiert nach Tumorgrading

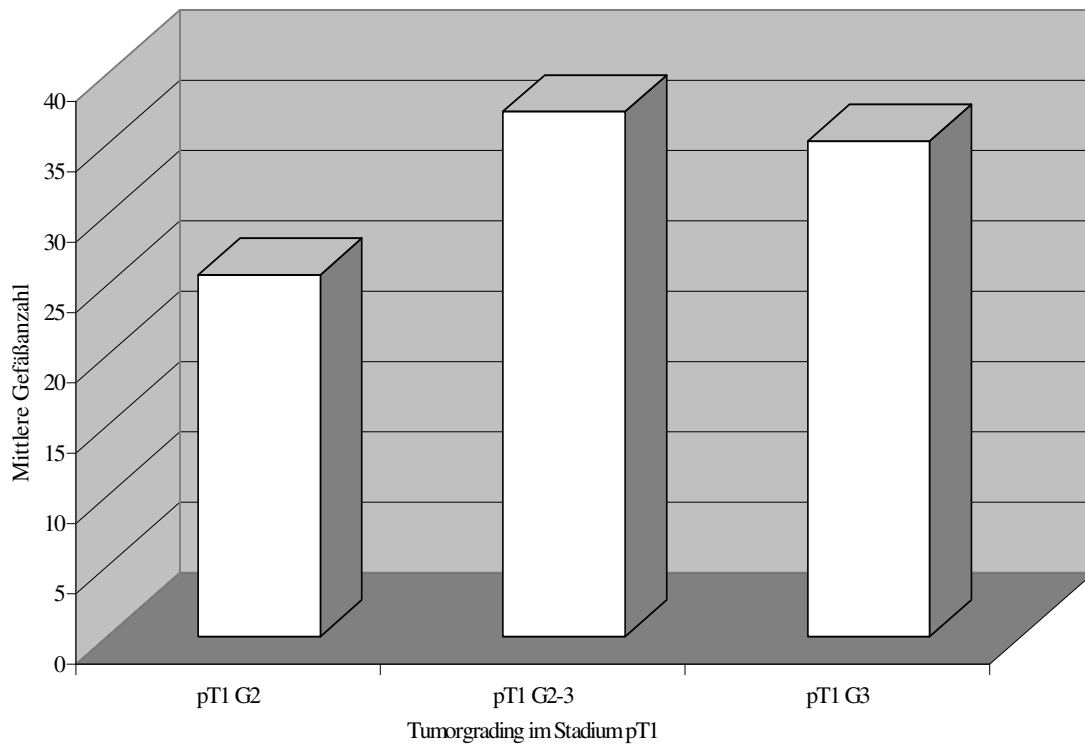


Abbildung 3.2.3.2: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient im Tumorstadium pT1 der TUR-B Präparate, gruppiert nach Tumorgrading

3.2.3.3 Grading-Vergleich im Tumorstadium pT2

Im Tumorstadium pT2 der TUR-B Präparate befanden sich 9 Patienten (n=9) mit G2-Tumoren, die einen mittleren Gefäßanschnitt von 41,15 aufweisen ([s]: 21,93). Der durchschnittliche Gefäßanteil für die Tumore mit dem Grading G2-3 (n=3) lag bei 39,78 ([s]: 11,49), für die G3-Tumore bei 33,0 Anschnitten ([s]: 10,3).

Der Unterschied zwischen dem Grading G2 und G3 war statistisch signifikant ($p < 0,05$).

Tumorgrading im Stadium pT2	Mittelwert der Gefäßanzahl	Standardabweichung g [s]
G2 (n=9)	41,15	21,93
G2-3 (n=3)	39,78	11,49
G3 (n=14)	33,0	10,30

Tabelle 3.2.3.3: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient im Tumorstadium pT2 der TUR-B Präparate, gruppiert nach Tumorgrading

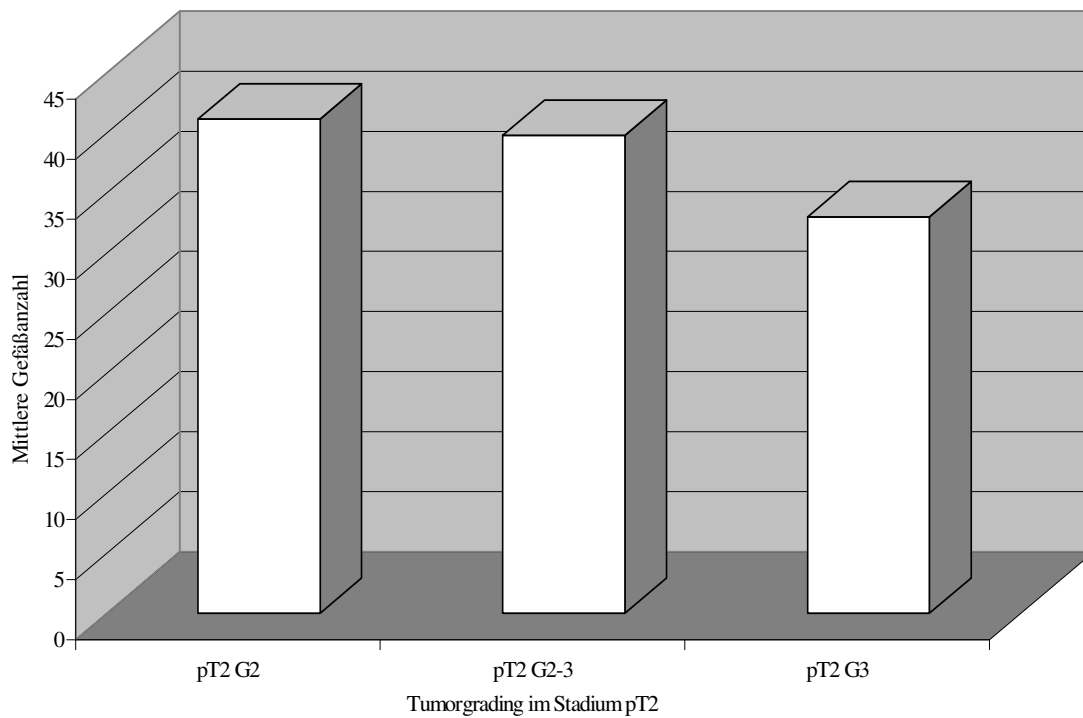


Abbildung 3.2.3.3: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient im Tumorstadium pT2 der TUR-B Präparate, gruppiert nach Tumorgrading

3.2.3.4 Grading-Vergleich im Tumorstadium pT3

Im Stadium pT3 der TUR-B Präparate fanden sich 5 Patienten (n=5) mit einem Tumorgrading G3, bei denen sich ein durchschnittlicher Gefäßanteil der histologischen

Präparate von 36,33 zeigte ([s]: 8,58). G2- und G2-3-Tumoren waren in diesem Tumorstadium nicht vertreten.

3.2.3.5 Grading-Vergleich im Tumorstadium pT4

Ein G2-Tumor war im Stadium pT4 zu finden, der im Rahmen seiner drei Hot-Spot Auszählungen einen mittleren Gefäßanteil von 43,67 aufwies ([s]: 10,69). Während sich keine Tumoren mit G2-3 zeigten, wies das Stadium pT4 vier G3-Tumoren (n=4) mit einem Durchschnitt von 43,17 Gefäßanschnitten auf ([s]: 25,33).

Der Unterschied zwischen dem Grading G2 und G3 war statistisch nicht signifikant ($p > 0,05$).

Tumorgrading im Stadium pT4	Mittelwert der Gefäßanzahl	Standardabweichung [s]
G2 (n=1)	43,67	10,69
G3 (n=4)	43,17	25,33

Tabelle 3.2.3.5: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient im Tumorstadium pT4 der TUR-B Präparate, gruppiert nach Tumorgrading

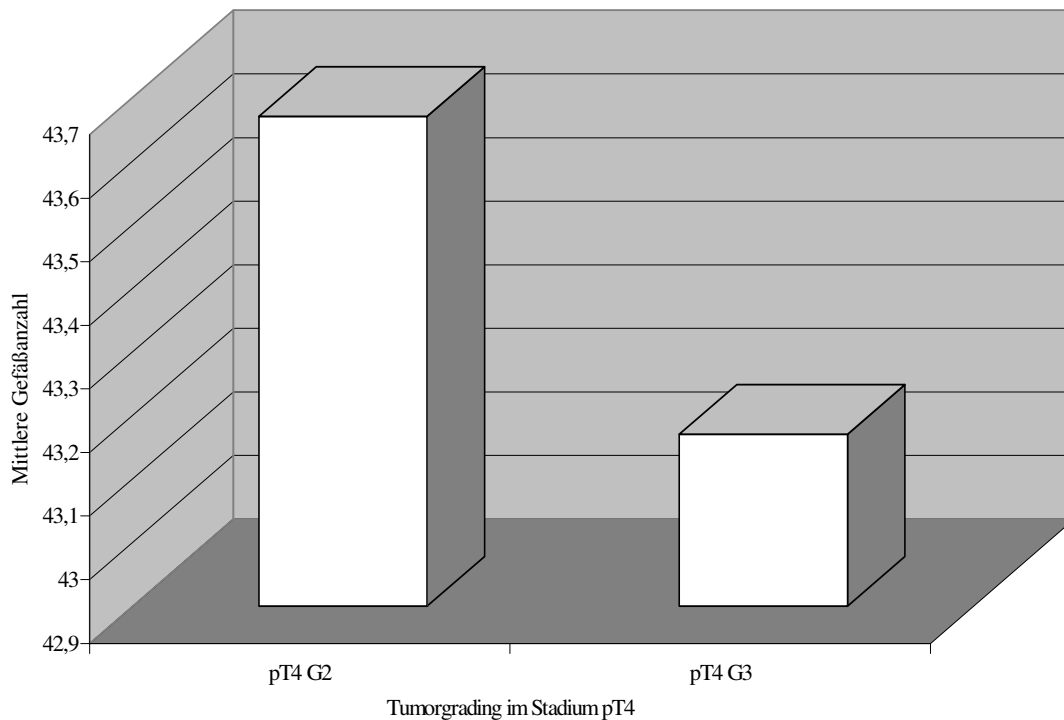


Abbildung 3.2.3.5: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient im Tumorstadium pT4 der TUR-B Präparate, gruppiert nach Tumorgrading

3.2.4 Vergleich der Tumorstadien innerhalb der einzelnen Differenzierungsgrade

3.2.4.1 Stadien-Vergleich im Tumorgrading G2

Unter den TUR-B Präparaten mit dem Tumorgrading G2 fanden sich drei (n=3) mit dem Tumorstadium pTa, die im Mittel 33,22 Gefäßanschnitte aufwiesen ([s]: 6,28). Im Stadium pT1 (n=6) zeigten sich durchschnittlich 25,72 Gefäßanteile ([s]: 11,27), im Stadium pT2 41,15 Gefäßanschnitte ([s]: 21,93). Das Tumorstadium pT3 war bei den Tumoren des Differenzierungsgrades G2 nicht vertreten, ein Patient wies das Stadium pT4 auf mit einem durchschnittlichen Gefäßanteil von 43,67 bei seinen drei Hot-Spot Auszählungen ([s]: 10,69).

Das Tumorstadium pT1 wies im Vergleich zu den Stadien pT2 und pT4 signifikant weniger Gefäßanschnitte in den TUR-B Präparaten mit Grading G2 auf ($p < 0,05$).

Tumorstadien bei Grading G2	Mittelwert der Gefäßanzahl	Standardabweichung [s]
pTa (n=3)	33,22	6,28
pT1 (n=6)	25,72	11,27
pT2 (n=9)	41,15	21,93
pT4 (n=1)	43,67	10,69

Tabelle 3.2.4.1: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient der TUR-B Präparate mit Tumorgrading G2, gruppiert nach den Tumorstadien

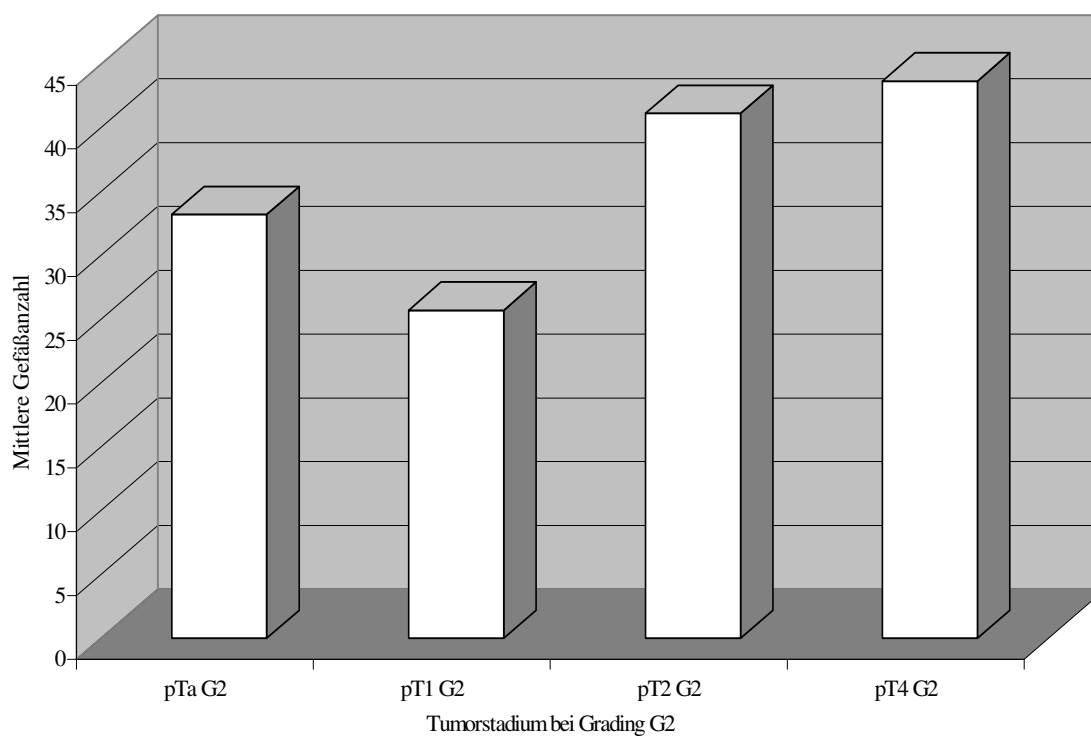


Abbildung 3.2.4.1: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient der TUR-B Präparate mit Tumorgrading G2, gruppiert nach den Tumorstadien

3.2.4.2 Stadien-Vergleich im Tumorgrading G2-3

Bei sechs Patienten (n=6) konnte ein Tumor des Grading G2-3 in den TUR-B Präparaten gefunden werden, von denen drei (n=3) das Tumorstadium pT1 mit einer

mittleren Gefäßanzahl von 37,77 zeigten ([s]: 5,36). Für die übrigen drei (n=3) des Stadiums pT2 konnten im Durchschnitt 39,78 Gefäßanschnitte ermittelt werden ([s]: 11,49).

Der Unterschied zwischen den Tumorstadien pT1 und pT2 war statistisch nicht signifikant.

Tumorstadien bei Grading G2-3	Mittelwert der Gefäßanzahl	Standardabweichung [s]
pT1 (n=3)	37,33	5,36
pT2 (n=3)	39,78	11,49

Tabelle 3.2.4.2: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient der TUR-B Präparate mit Tumorgrading G2-3, gruppiert nach den Tumorstadien

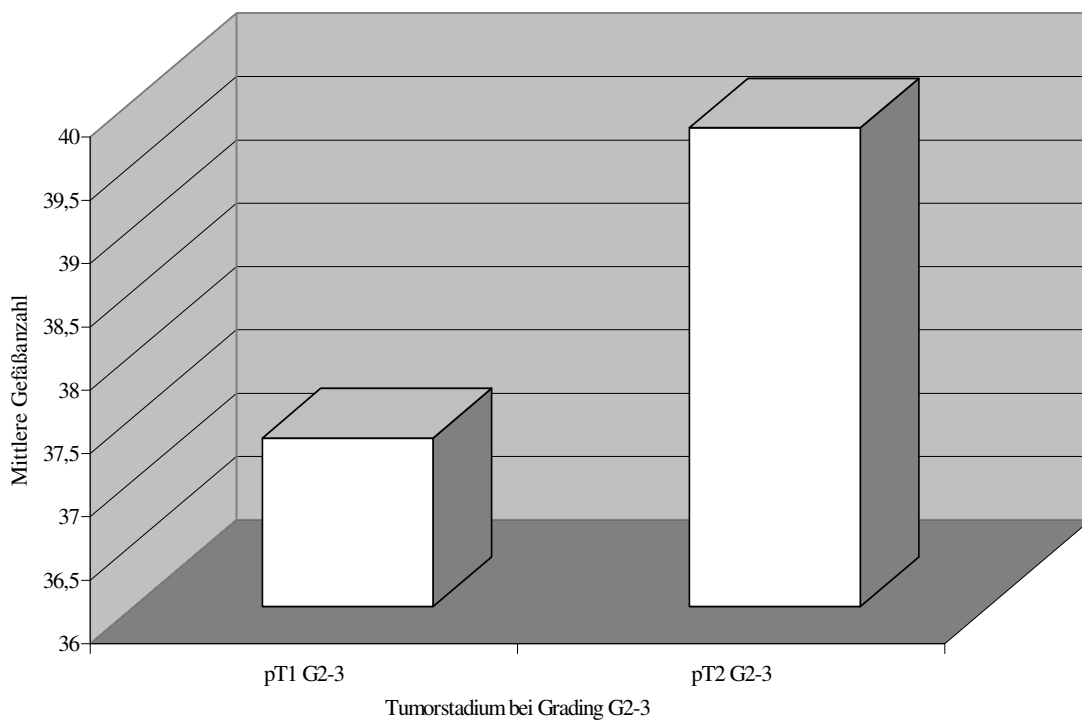


Abbildung 3.2.4.2: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient der TUR-B Präparate mit Tumorgrading G2-3, gruppiert nach den Tumorstadien

3.2.4.3 Stadien-Vergleich im Tumorgrading G3

Bei den G3-Tumoren wiesen sieben (n=7) das Tumorstadium pT1 auf mit einem mittleren Gefäßanschnitt von 35,24 ([s]: 7,75). Im Stadium pT2 (n=14) konnten durchschnittlich 32,69 Gefäßanteile gefunden werden ([s]: 9,92), im Stadium pT3 (n=5) wurden 36,33 Anschnitte ausgezählt ([s]: 8,58). Das Tumorstadium pT4 (n=4) zeigte durchschnittlich 43,17 Gefäßanschnitte bei den G3-Tumoren der TUR-B Präparate ([s]: 25,33).

Zwischen den Tumorstadien pT2 und pT4 zeigte sich ein statistisch signifikanter Unterschied, da die pT4G3-Tumoren eine signifikant größere Anzahl an Gefäßanschnitten aufwiesen als die pT2G3-Tumoren ($p < 0,05$).

Tumorstadien bei Grading G3	Mittelwert der Gefäßanzahl	Standardabweichung [s]
pT1 (n=7)	35,24	7,75
pT2 (n=14)	32,69	9,92
pT3 (n=5)	36,33	8,58
pT4 (n=4)	43,17	25,33

Tabelle 3.2.4.3: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient der TUR-B Präparate mit Tumorgrading G2-3, gruppiert nach den Tumorstadien

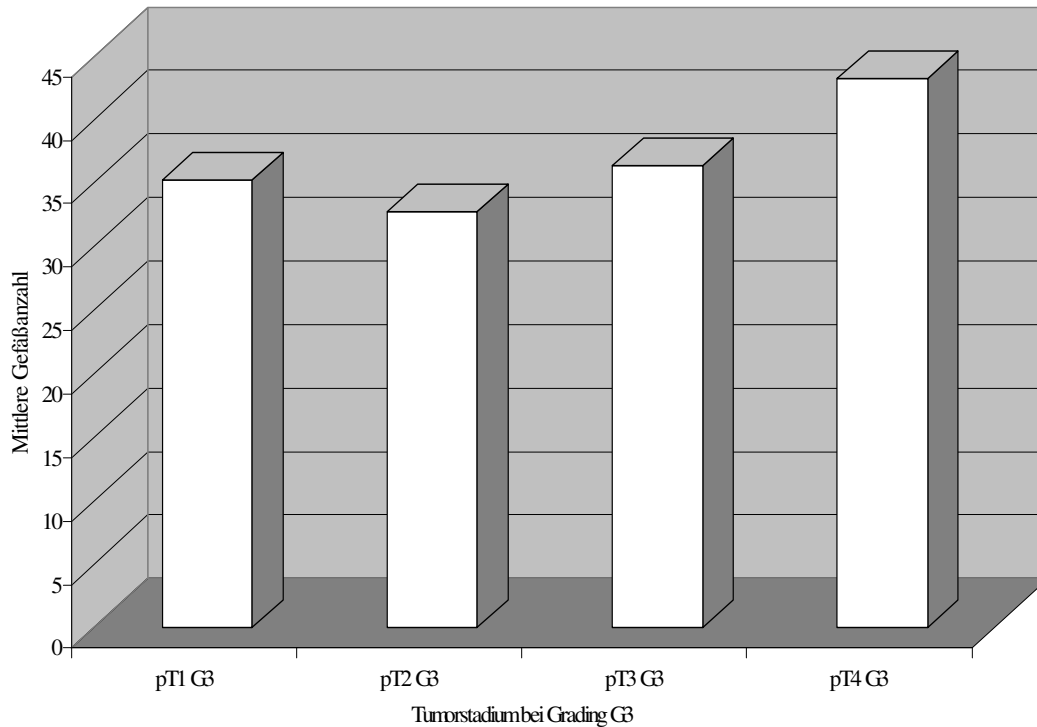


Abbildung 3.2.4.3: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient der TUR-B Präparate mit Tumorgrading G3, gruppiert nach den Tumorstadien

3.3 Auswertung der Cystektomie-Präparate

3.3.1 Auswertung der Cystektomie-Präparate nach Stadien

Die lichtmikroskopische Auswertung der mit dem APAAP/ CD 34 Endothelzellmarker gefärbten Cystektomie-Präparate ergab folgende Ergebnisse, welche in Mittelwerten bei je drei Hot-Spot Auszählungen pro Präparat angegeben werden.

Für das Tumorstadium pT1 (n=5) wurden durchschnittlich 34,93 Gefäßanschnitte ermittelt ([s]: 6,82), im Stadium pT2 (n=15) fanden sich 46,6 Anschnitte ([s]: 23,57). Für das Stadium pT3 (n=21) ergab die Auswertung im Mittel 38,73 Gefäßanteile ([s]: 19,35), während im Tumorstadium pT4 (n=11) durchschnittlich 33,61 Anschnitte gefunden wurden ([s]: 12,37).

Ein signifikanter Unterschied bezüglich der mittleren Gefäßanzahl zeigte sich zwischen den Tumorstadien pT2 und pT4 ($p < 0,05$).

Tumorstadium	Mittelwert der Gefäßanzahl	Standardabweichung [s]
pT1 (n=5)	34,93	6,82
pT2 (n=15)	46,6	23,57
pT3 (n=21)	38,73	19,35
pT4 (n=11)	33,61	12,37

Tabelle 3.3.1: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient im Cystektomie-Präparat, gruppiert nach Tumorstadien

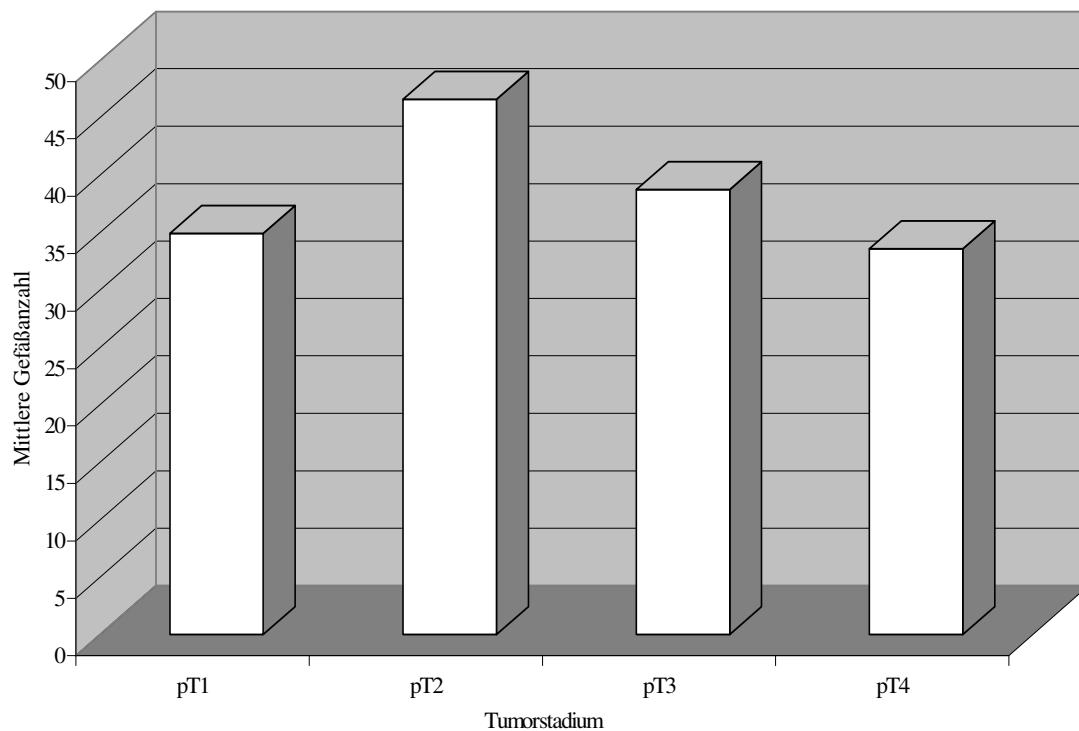


Abbildung 3.3.1: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient im Cystektomie-Präparat, gruppiert nach Tumorstadien

3.3.2 Auswertung der Cystektomie-Präparate nach Grading

Die lichtmikroskopische Auswertung ergab bei 16 Cystektomie-Präparaten (n=16) den histologischen Differenzierungsgrad G2 mit einem durchschnittlichen Gefäßanschnitt von 43,63 ([s]: 26,3). Das Tumorgrading G2-3 konnte bei nur einem Patienten gefunden werden mit einem Mittel von 34,0 Gefäßanteilen bei den drei Hot-Spot Auszählungen ([s]: 4,58), während am weitaus häufigsten G3-Tumoren (n=35) mit einem mittleren Gefäßanteil von 37,85 Anschnitten vertreten waren ([s]: 14,94).

Zwischen den einzelnen Differenzierungsgraden konnte bezüglich der durchschnittlichen Gefäßanzahl kein signifikanter Unterschied festgestellt werden ($p > 0,05$).

Tumorgrading	Mittelwert der Gefäßanzahl	Standardabweichung [s]
G2 (n=16)	43,63	26,30
G2-3 (n=1)	34,0	4,58
G3 (n=35)	37,85	14,94

Tabelle 3.3.2: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient im Cystektomie-Präparat, gruppiert nach Tumorgrading

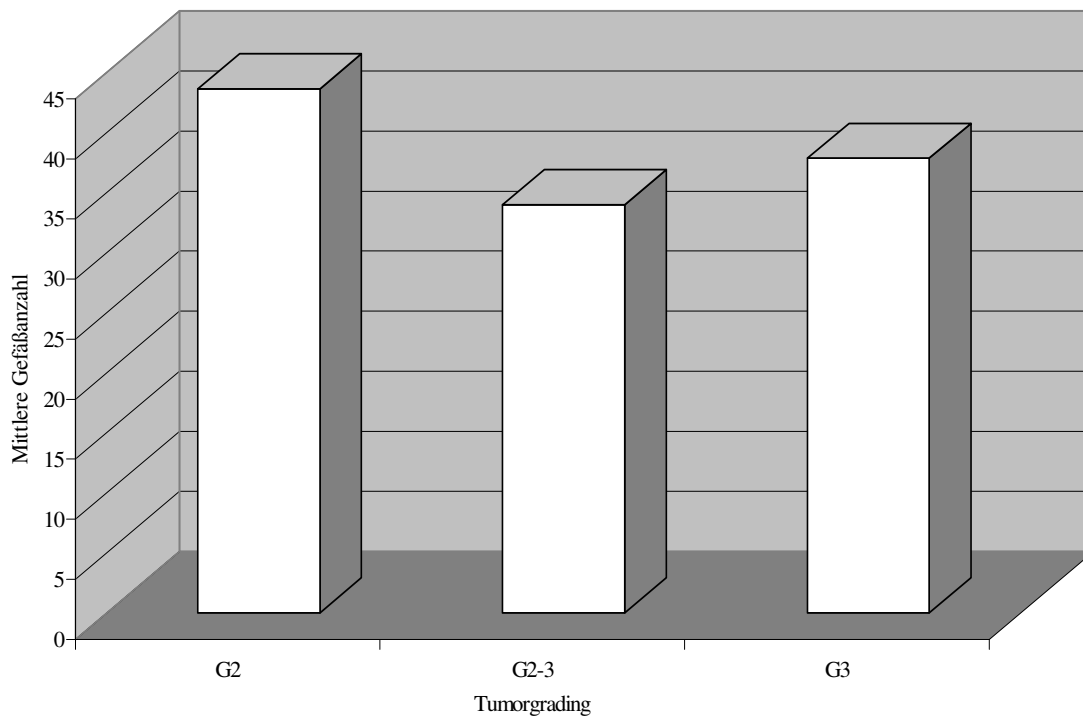


Abbildung 3.3.2: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient im Cystektomie-Präparat, gruppiert nach Tumorgrading

3.3.3 Grading-Vergleich innerhalb der einzelnen Tumorstadien

3.3.3.1 Grading-Vergleich im Tumorstadium pT1

Die pT1-Tumoren des histologischen Differenzierungsgrades G2 (n=2) wiesen im Mittel 33,0 Gefäßanschnitte bei der Auswertung der Cystektomie-Präparate auf ([s]: 8,81), diejenigen des Differenzierungsgrades G3 (n=3) 36,22 Gefäßanteile ([s]: 5,31).

Tumorgrading im Stadium pT1	Mittelwert der Gefäßanzahl	Standardabweichung [s]
G2 (n=2)	33,0	8,81
G3 (n=3)	36,22	5,31

Tabelle 3.3.3.1: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient im Tumorstadium pT1 der Cystektomie-Präparate, gruppiert nach Tumorgrading

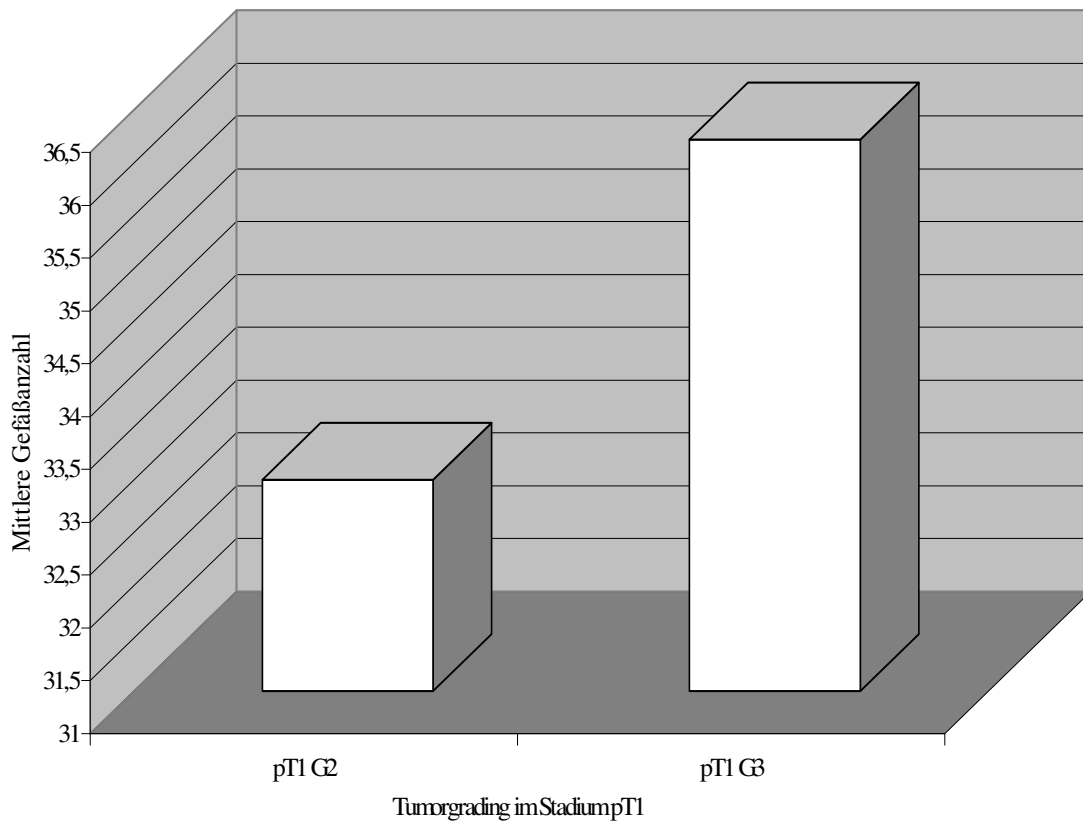


Abbildung 3.3.3.1: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient im Tumorstadium pT1 der Cystektomie-Präparate, gruppiert nach Tumorgrading

3.3.3.2 Grading-Vergleich im Tumorstadium pT2

Im Tumorstadium pT2 wiesen die G2-Tumoren (n=7) im Durchschnitt 49,86 Gefäßanschnitte auf ([s]: 28,68), während die mittlere Gefäßanzahl der G3-Tumoren (n=8) bei 43,75 Anschnitten lag ([s]: 18,14).

Tumorgrading im Stadium pT2	Mittelwert der Gefäßanzahl	Standardabweichung [s]
G2 (n=7)	49,86	28,68
G3 (n=8)	43,75	18,14

Tabelle 3.3.3.2: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient im Tumorstadium pT2 der Cystektomie-Präparate, gruppiert nach Tumorgrading

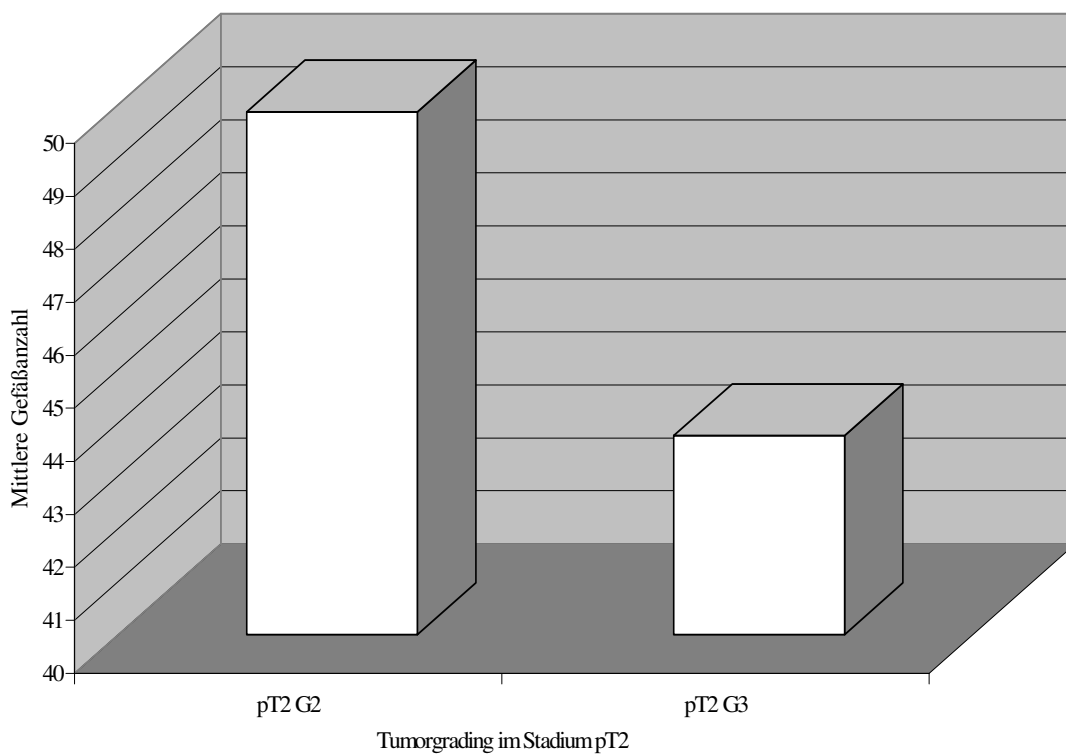


Abbildung 3.3.3.2: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient im Tumorstadium pT2 der Cystektomie-Präparate, gruppiert nach Tumorgrading

3.3.3.3 Grading-Vergleich im Tumorstadium pT3

Die Auswertung im Stadium pT3 ergab bei 4 Präparaten (n=4) ein Tumorgrading G2 mit einem Mittelwert von 48,25 Gefäßanschnitten ([s]: 32,66). Ein Tumor wurde mit dem Grad G2-3 gefunden und enthielt als Mittelwert 34,0 Gefäßanteile ([s]: 4,58). Die G3-Tumoren (n=16) wiesen im Durchschnitt 36,65 Gefäßanteile auf ([s]: 14,64).

Tumorgrading im Stadium pT3	Mittelwert der Gefäßanzahl	Standardabweichung [s]
G2 (n=4)	48,25	32,66
G2-3 (n=1)	34,0	4,58
G3 (n=16)	36,65	14,64

Tabelle 3.3.3.3: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient im Tumorstadium pT3 der Cystektomie-Präparate, gruppiert nach Tumorgrading

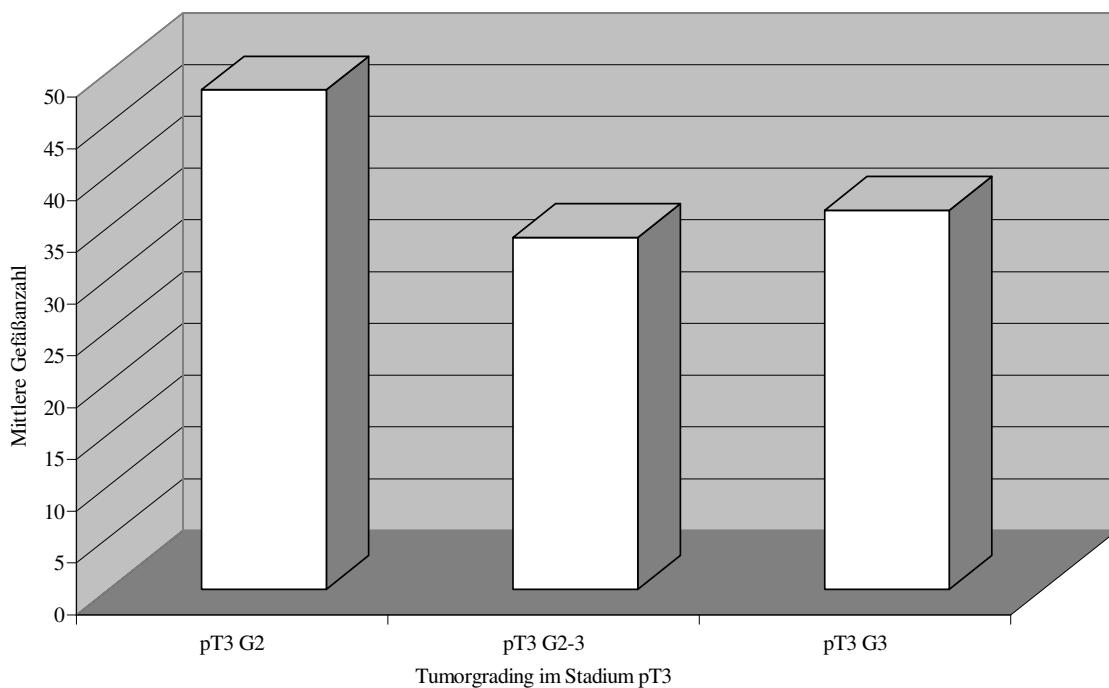


Abbildung 3.3.3.3: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient im Tumorstadium pT3 der Cystektomie-Präparate, gruppiert nach Tumorgrading

3.3.3.4 Grading-Vergleich im Tumorstadium pT4

Drei G2-Tumoren (n=3) waren im Stadium pT4 zu finden, die im Rahmen der Auszählung einen mittleren Gefäßanteil von 30,0 aufwiesen ([s]: 8,03). Während sich keine Tumoren mit dem Differenzierungsgrad G2-3 zeigten, wies das Stadium pT4 acht G3-Tumoren (n=8) mit einem Durchschnitt von 34,96 Gefäßanschnitten auf ([s]: 13,55).

Tumorgrading im Stadium pT4	Mittelwert der Gefäßanzahl	Standardabweichung [s]
G2 (n=3)	30,0	8,03
G3 (n=8)	34,96	13,55

Tabelle 3.3.3.4: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient im Tumorstadium pT4 der Cystektomie-Präparate, gruppiert nach Tumorgrading

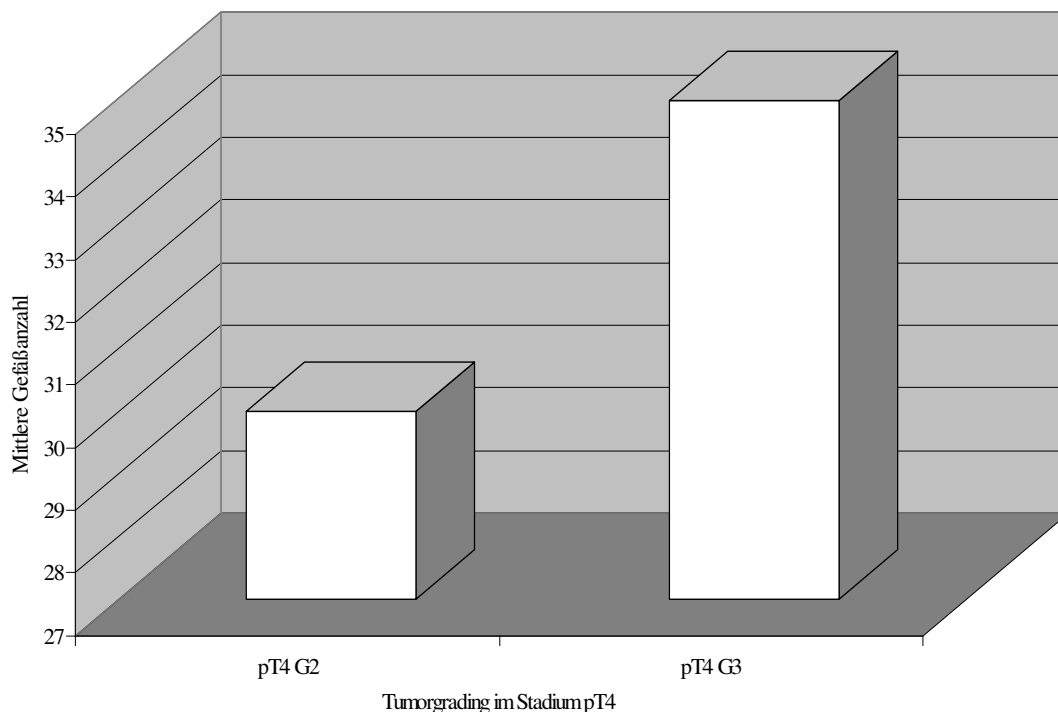


Abbildung 3.3.3.4: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient im Tumorstadium pT4 der Cystektomie-Präparate, gruppiert nach Tumorgrading

In keinem der Tumorstadien war der Unterschied zwischen den einzelnen Differenzierungsgraden bezüglich der mittleren Gefäßanzahl signifikant ($p > 0,05$).

3.3.4 Vergleich der Tumorstadien innerhalb der einzelnen Differenzierungsgrade

Im Folgenden werden die Differenzierungsgrade G2 und G3 bezüglich ihrer jeweiligen Tumorstadien genauer betrachtet. Der einzige Patient, dessen Cystektomie-Präparat einen G2-3-Tumor aufwies, zeigte ein Tumorstadium pT3 mit durchschnittlich 34 Gefäßanschnitten.

3.3.4.1 Stadien-Vergleich im Tumorgrading G2

Bei den Cystektomie-Präparaten des Differenzierungsgrades G2 wurden für das Tumorstadium pT1 (n=2) durchschnittlich 33,0 Gefäßanschnitte ermittelt ([s]: 8,81), während bei den pT2-Tumoren (n=7) im Mittel 49,43 Gefäßanteile ausgezählt wurden ([s]: 28,16). Im Stadium pT3 (n=4) betrug die durchschnittliche Gefäßanzahl 48,25 ([s]: 32,66), im Stadium pT4 (n=3) fanden sich dagegen nur 30,0 Gefäßanschnitte ([s]: 8,03).

Der Unterschied zwischen den einzelnen Tumorstadien bei den Tumoren des Differenzierungsgrades G2 war statistisch nicht signifikant ($p > 0,05$).

Tumorstadien bei Grading G2	Mittelwert der Gefäßanzahl	Standardabweichung [s]
pT1 (n=2)	33,0	8,81
pT2 (n=7)	49,43	28,16
pT3 (n=4)	48,25	32,66
pT4 (n=3)	30,0	8,03

Tabelle 3.3.4.1: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient der Cystektomie-Präparate mit Tumorgrading G2, gruppiert nach den Tumorstadien

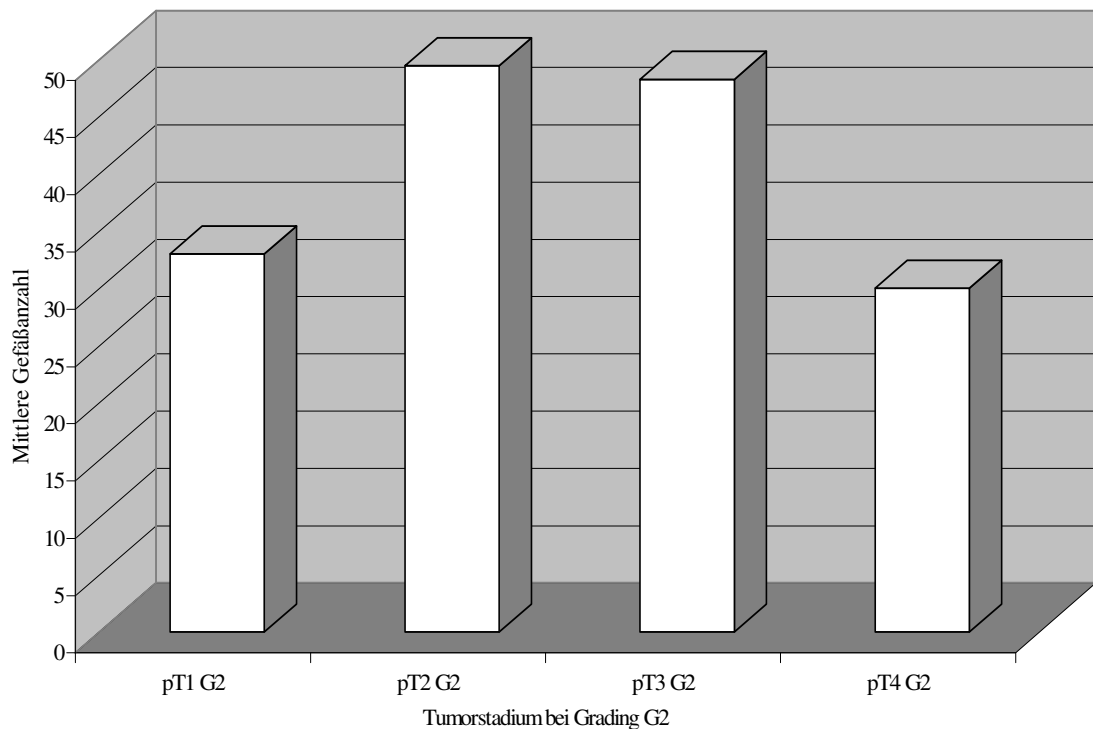


Abbildung 3.3.4.1: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient der Cystektomie-Präparate mit Tumorgrading G2, gruppiert nach den Tumorstadien

3.3.4.2 Stadien-Vergleich im Tumorgrading G3

Bei insgesamt 35 Patienten konnte im Cystektomie-Präparat ein Tumor des Differenzierungsgrades G3 gefunden werden, von denen drei (n=3) das Tumorstadium pT1 mit einer mittleren Gefäßanzahl von 36,22 zeigten ([s]: 5,31). Im Stadium pT2 (n=8) konnten im Durchschnitt 43,75 Gefäßanschnitte ermittelt werden ([s]: 18,14). Die pT3-Tumoren (n=16) enthielten durchschnittlich 36,65 Gefäßanteile ([s]: 14,64), die pT4-Tumoren (n=8) 34,96 Anschnitte ([s]: 13,55).

Auch hier zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Tumorstadien ($p > 0,05$).

Tumorstadien bei Grading G3	Mittelwert der Gefäßanzahl	Standardabweichung [s]
pT1 (n=3)	36,22	5,31
pT2 (n=8)	43,75	18,14
pT3 (n=16)	36,65	14,64
pT4 (n=8)	34,96	13,55

Tabelle 3.3.4.2: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient der Cystektomie-Präparate mit Tumorgrading G3, gruppiert nach den Tumorstadien

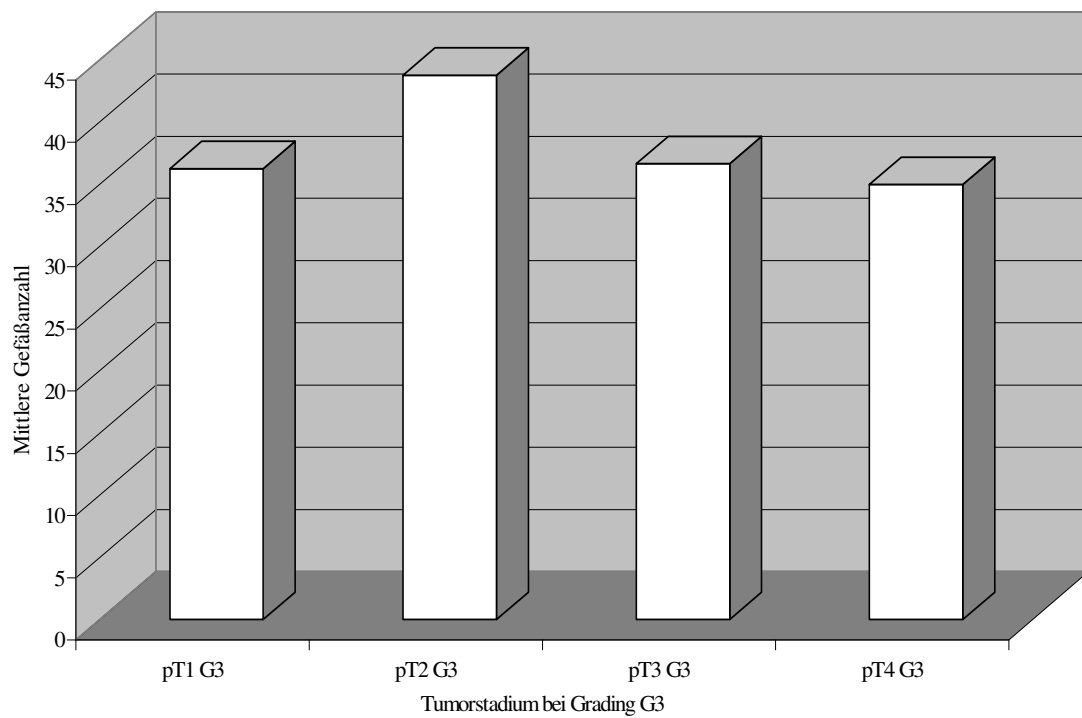


Abbildung 3.3.4.2: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient der Cystektomie-Präparate mit Tumorgrading G3, gruppiert nach den Tumorstadien

3.3.5 Auswertung der Cystektomie-Präparate nach lymphogener Metastasierung

Bei 14 Patienten (n=14) konnte im Cystektomie-Präparat eine lymphogene Metastasierung nachgewiesen werden, die durchschnittliche Gefäßanzahl in diesen Präparaten betrug 37,74 ([s]: 16,33). Bei den Tumoren ohne Lymphknotenbefall (n=38) wurden im Mittel 39,21 Gefäßanschnitte gefunden ([s]: 20,1).

Lymphknotenstatus	Mittelwert der Gefäßanzahl	Standardabweichung [s]
negativ (n=38)	39,21	20,10
positiv (n=14)	37,74	16,33

Tabelle 3.3.5.1: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient der Cystektomie-Präparate, gruppiert nach Lymphknotenstatus

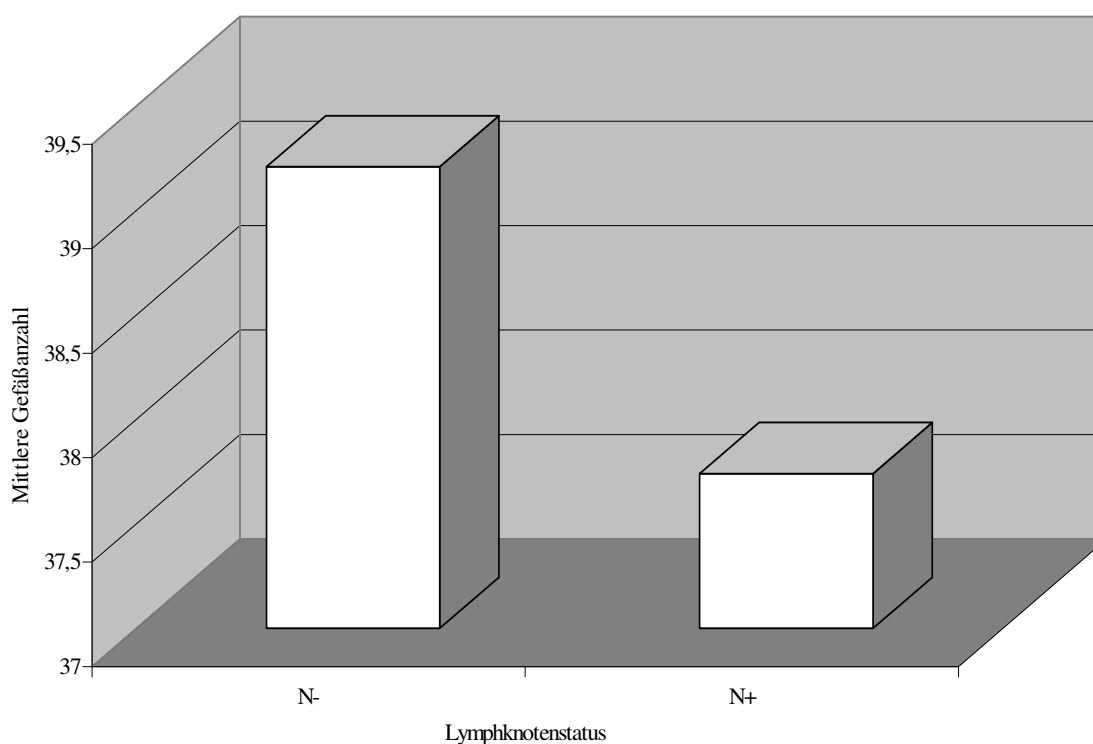


Abbildung 3.3.5.1: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient der Cystektomie-Präparate, gruppiert nach Lymphknotenstatus (N)

Bei den 14 Patienten mit lymphogener Metastasierung handelte es sich in 5 Fällen um eine regionäre Lymphknotenmetastasierung pN1, die durchschnittlich 41,47 Gefäßanschnitte aufwies ([s]: 16,6). In den übrigen 9 Fällen waren Metastasen des Stadiums pN2 zu finden mit einem mittleren Gefäßanschnitt von 39,93 ([s]: 16,84).

Der Unterschied bezüglich der Gefäßanzahl war weder zwischen den Stadien pN1 und pN2, noch zwischen diesen und dem Stadium pN0 statistisch signifikant ($p > 0,05$).

Im Folgenden werden jeweils die einzelnen Tumorstadien der Patienten mit und ohne lymphogener Metastasierung miteinander verglichen. Das Tumorstadium pT1 war nur bei fünf Patienten ohne Lymphknotenbefall zu finden mit einer mittleren Gefäßanzahl von 34,93 ([s]: 6,82), so dass in diesem Stadium kein Vergleich möglich war.

Unter den lymphknoten-negativen Patienten fanden sich 12 ($n=12$) mit einem pT2 Tumorstadium und durchschnittlich 45,47 Gefäßanschnitten ([s]: 25,18), während die drei lymphknoten-positiven Patienten ($n=3$) des Stadiums pT2 41,69 Anschnitte zeigten ([s]: 22,04).

Im Stadium pT3 konnten bei den Tumoren ohne lymphogene Metastasierung ($n=16$) durchschnittlich 38,35 Gefäßanteile gefunden werden ([s]: 20,02), bei den Tumoren mit lymphogener Metastasierung ($n=5$) im Durchschnitt 39,93 ([s]: 17,62).

Bei den lymphknoten-negativen pT4-Tumoren ($n=5$) lag die mittlere Gefäßanzahl bei 31,2 Anschnitten ([s]: 9,63), bei den lymphknoten-positiven ($n=6$) dagegen bei 35,61 Gefäßanschnitten ([s]: 14,23).

Bezüglich der durchschnittlichen Gefäßanzahl zeigte sich weder zwischen den Patienten mit und ohne lymphogene Metastasierung noch zwischen den einzelnen Tumorstadien dieser beiden Patientenkollektive ein signifikanter Unterschied ($p > 0,05$).

Tumorstadium	Mittelwert der Gefäßanzahl			
	ohne Lymphknotenbefall		mit Lymphknotenbefall	
pT2	45,47	[s]=25,18	41,69	[s]=22,04
pT3	38,35	[s]=20,02	39,93	[s]=17,62
pT4	31,20	[s]=9,63	35,61	[s]=14,23

Tabelle 3.3.5.2: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient der Cystektomie-Präparate, gruppiert nach Tumorstadien mit und ohne Lymphknotenbefall

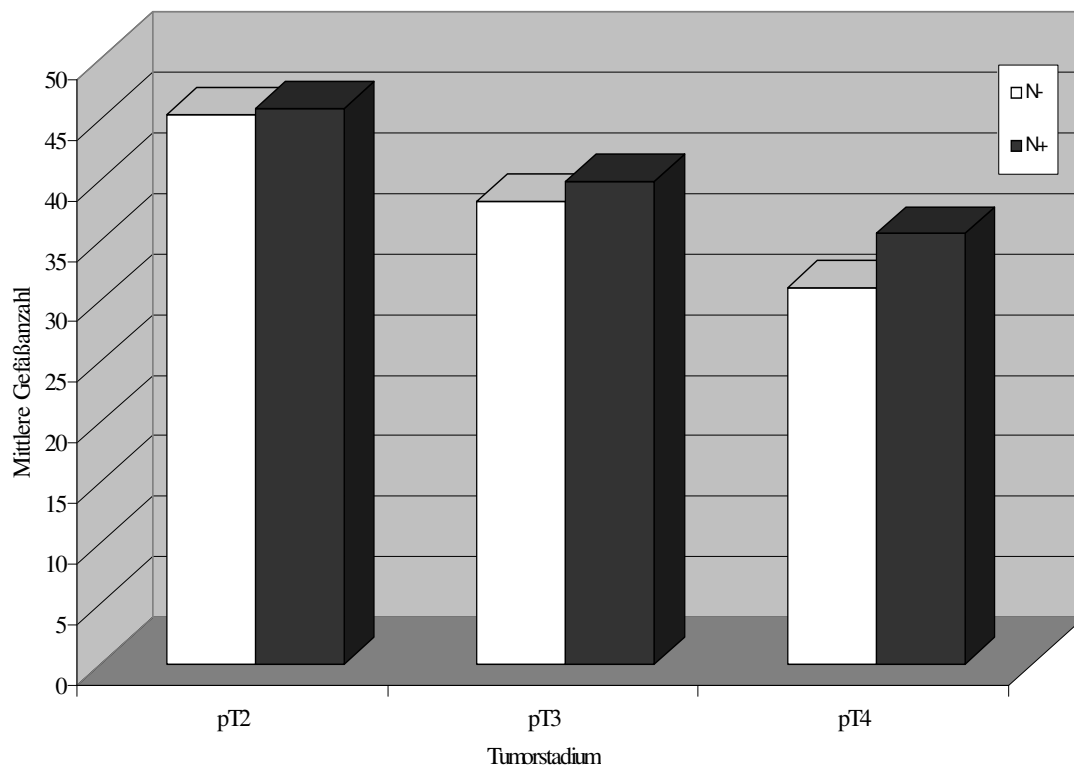


Abbildung 3.3.5.2: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient der Cystektomie-Präparate, gruppiert nach Tumorstadien mit (N+) und ohne (N-) Lymphknotenbefall.

3.3.6 Auswertung der Cystektomie-Präparate nach hämatogener Metastasierung

Von den 52 in die Auswertung eingegangenen Patienten wiesen 7 zum Zeitpunkt der Cystektomie eine Fernmetastasierung auf. Diese metastasierten Tumoren zeigten im Durchschnitt 29,81 Gefäßanschnitte ([s]: 9,73), wohingegen bei den Tumoren ohne hämatogene Metastasierung (n= 45) eine mittlere Gefäßanzahl von 41,07 ermittelt werden konnte ([s]: 19,84).

Die Patienten mit Fernmetastasen wiesen eine signifikant niedrigere mittlere Gefäßanzahl in den Cystektomie-Präparaten auf als die Patienten ohne Fernmetastasen ($p < 0,05$).

Hämatogene Metastasierung	Mittelwert der Gefäßanzahl	Standardabweichung [s]
negativ (n=45)	41,07	19,84
positiv (n=7)	29,81	9,73

Tabelle 3.3.6.1: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient der Cystektomie-Präparate, gruppiert nach hämatogener Metastasierung

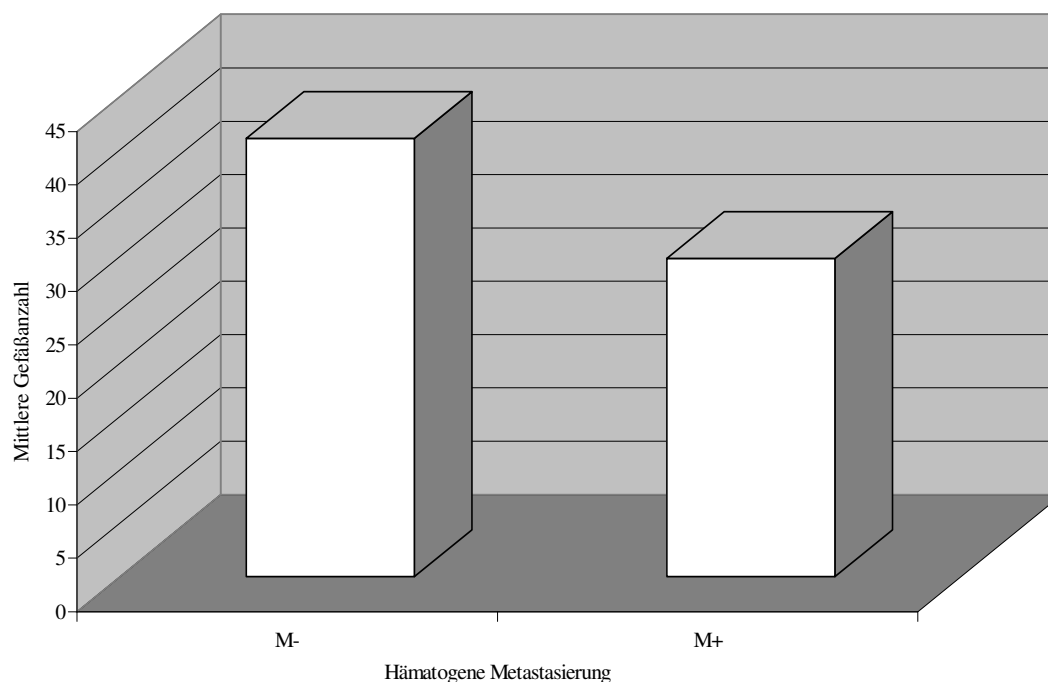


Abbildung 3.3.6.1: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient der Cystektomie-Präparate, gruppiert nach hämatogener Metastasieru ng (M)

Im Folgenden werden jeweils die einzelnen Tumorstadien der Patienten mit und ohne hämatogener Metastasieru ng miteinander verglichen. Das Tumorstadium pT1 war nur bei fünf Patienten ohne Fernmetastasen zu finden mit einer mittleren Gefäßanzahl von 34,93 ([s]: 6,82), so dass in diesem Stadium kein Vergleich möglich war.

Bei den nicht metastasierten pT2-Tumoren (n=14) wurden im Durchschnitt 48,38 Gefäßanschnitte ausgezählt ([s]: 23,34). Lediglich ein pT2-Tumor wies zum Zeitpunkt der Cystektomie Fernmetastasen auf, er enthielt durchschnittlich 21,67 Gefäßanteile ([s]: 7,02).

Für die Patienten ohne hämatogene Filialisierung wurde im pT3-Stadium (n=19) eine mittlere Gefäßanzahl von 39,12 ermittelt ([s]: 19,94), für diejenigen mit Fernmetastasen (n=2) betrug die Gefäßanzahl 35,0 ([s]: 13,07).

Im Tumorstadium pT4 wurden sieben Patienten ohne hämatogene Metastasen (n=7) gefunden mit einem durchschnittlichen Gefäßanteil von 36,1 ([s]: 14,07), sowie vier Patienten mit Fernmetastasen (n=4) mit einem Gefäßanteil von 29,25 ([s]: 7,25).

Zwischen den einzelnen Tumorstadien dieser beiden Patientenkollektive zeigte sich kein signifikanter Unterschied ($p > 0,05$).

Tumorstadium	Mittelwert der Gefäßanzahl			
	ohne Fernmetastasen		mit Fernmetastasen	
pT2	48,38	[s]=23,34	21,67	[s]=7,02
pT3	39,12	[s]=19,94	35,00	[s]=13,07
pT4	36,1	[s]=14,07	29,25	[s]=7,25

Tabelle 3.3.6.2: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient der Cystektomie-Präparate, gruppiert nach Tumorstadien mit und ohne Fernmetastasen

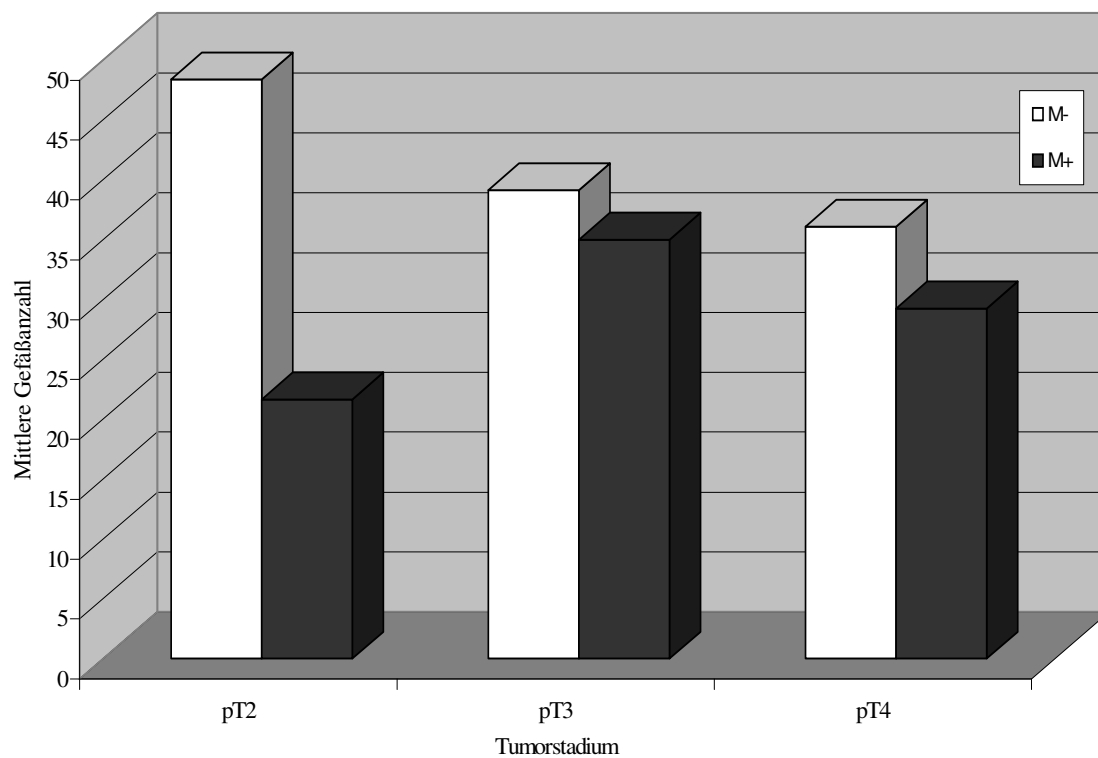


Abbildung 3.3.6.2: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient der Cystektomie-Präparate, gruppiert nach Tumorstadien mit (M+) und ohne (M-) hämatogener Metastasierung

Von den sieben Patienten mit Fernmetastasen zum Zeitpunkt der Cystektomie zeigten lediglich drei auch eine lymphogene Metastasierung. Bei diesen drei Patienten konnte eine mittlere Gefäßanzahl von 36,56 ermittelt werden ([s]: 10,83), bei den vier Patienten mit hämatogenen, aber ohne lymphogenen Metastasen fanden sich im Durchschnitt 24,75 Gefäßanschnitte ([s]: 4,67).

Hierbei zeigte sich, dass die Patienten mit lymphogener und hämatogener Metastasierung eine signifikant höhere durchschnittliche Gefäßanzahl im Cystektomie-Präparat aufwiesen als diejenigen mit ausschließlich hämatogenen Metastasen und fehlendem Lymphknotenbefall ($p < 0,05$).

Lymphknotenstatus bei M+	Mittelwert der Gefäßanzahl	Standardabweichung [s]
negativ (n=4)	24,75	4,67
positiv (n=3)	36,56	10,83

Tabelle 3.3.6.3: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient der Cystektomie-Präparate, gruppiert nach Lymphknotenstatus, bei den 7 Patienten mit hämatogener Metastasierung (M+)

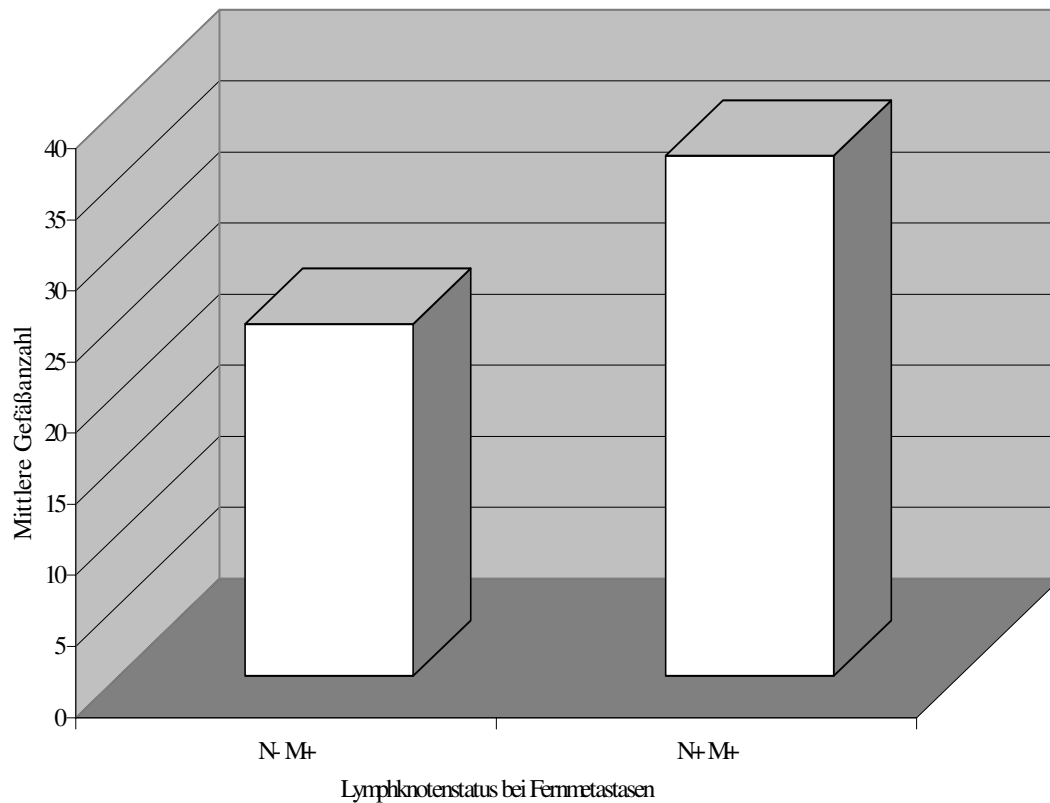


Abbildung 3.3.6.3: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient der Cystektomie-Präparate, gruppiert nach Lymphknotenstatus, bei den 7 Patienten mit hämatogener Metastasierung (M+)

3.4 Vergleich der TUR-B- und der Cystektomie-Präparate

3.4.1 Vergleich nach endgültigem Tumorstadium

Um die TUR-B- und die Cystektomie-Präparate hinsichtlich der mittleren Gefäßanzahl miteinander vergleichen zu können, erfolgte nun die Zuordnung zu den einzelnen Tumorstadien für beide Patientenkollektive gemäß der endgültigen histologischen Befundung nach Cystektomie. Im Folgenden werden die Ergebnisse der durchschnittlich gezählten Gefäßanschnitte in den TUR-B- und den Cystektomie-Präparaten der jeweiligen Tumorstadien einander gegenüber gestellt.

Im Stadium pT1 (n=5) lag der durchschnittliche Gefäßanteil in den TUR-B-Präparaten bei 29,67 ([s]: 10,69) im Vergleich zu 34,93 Anschnitten in den Cystektomie-Präparaten ([s]: 6,82).

Bei den pT2-Tumoren (n=15) fand sich in den TUR-B-Präparaten eine mittlere Gefäßanzahl von 36,78 ([s]: 18,76), während die Anzahl in den Cystektomie-Präparaten mit 46,6 ([s]: 23,57) deutlich höher lag.

Im Stadium pT3 (n=21) wurden für die TUR-B-Präparate durchschnittlich 34,11 ([s]: 9,36) und für die Cystektomie-Präparate 38,73 ([s]: 19,35) Gefäßanteile ermittelt.

Für die pT4-Tumoren (n=11) fand sich in der TUR-B-Auswertung ein Mittelwert von 40,0 Gefäßanschnitten ([s]: 17,44), in der Cystektomie-Auswertung dagegen von 33,61 Gefäßanteilen ([s]: 12,37).

Ein signifikanter Unterschied zeigte sich lediglich im Stadium pT2, in dem die TUR-B-Präparate eine signifikant niedrigere mittlere Gefäßanzahl aufwiesen als die Cystektomie-Präparate ($p < 0,05$).

Tumorstadium	Mittelwert der Gefäßanzahl			
	TUR-B-Präparate		Cystektomie-Präparate	
pT1 (n=5)	29,67	[s]=10,69	34,93	[s]=6,82
pT2 (n=15)	36,78	[s]=18,76	46,60	[s]=23,57
pT3 (n=21)	34,11	[s]=9,36	38,73	[s]=19,35
pT4 (n=11)	40,00	[s]=17,44	33,61	[s]=12,37

Tabelle 3.4.1: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient in den TUR-B- bzw. den Cystektomie-Präparaten, gruppiert nach Tumorstadien

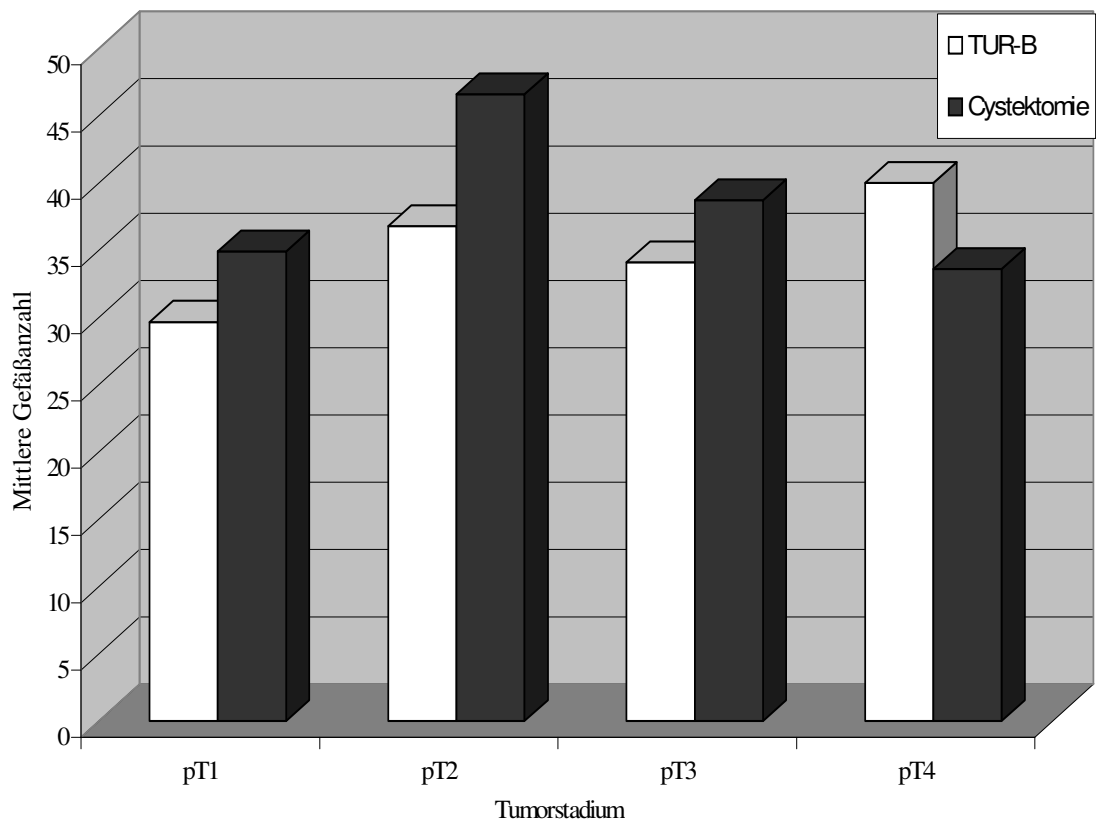


Abbildung 3.4.1: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient in den TUR-B- bzw. den Cystektomie-Präparaten, gruppiert nach Tumorstadien

3.4.2 Vergleich nach endgültigem Differenzierungsgrad

Als nächstes erfolgte die Zuordnung zu den einzelnen Differenzierungsgraden für beide Patientenkollektive gemäß der endgültigen histologischen Befundung nach Cystektomie. Im Folgenden werden die Ergebnisse der durchschnittlich gezählten Gefäßanschnitte in den TUR-B- und den Cystektomie-Präparaten der jeweiligen Differenzierungsgrade einander gegenüber gestellt.

Bei den Tumoren des Differenzierungsgrades G2 (n=16) wurden in den TUR-B-Präparaten durchschnittlich 38,21 Gefäßanschnitte ([s]: 21,62) und in den Cystektomie-Präparaten 43,63 Gefäßanteile ([s]: 26,3) ausgezählt.

Ein Grading G2-3 konnte gemäß der endgültigen histologischen Befundung bei nur einem Patienten gefunden werden, der in seinen TUR-B-Präparaten eine mittlere Gefäßanzahl von 34,33 ([s]: 2,08), und in seinen Cystektomie-Präparaten 34 Gefäßanschnitte ([s]: 4,58) aufwies.

Im Grading G3 (n=35) lag der mittlere Gefäßanteil bei den TUR-B-Präparaten bei 34,47 ([s]: 10,26), bei den Cystektomie-Präparaten dagegen bei 37,85 ([s]: 14,94).

Die Unterschiede zwischen den beiden Patientenkollektiven hinsichtlich der mittleren Gefäßanzahl waren bei den einzelnen Differenzierungsgraden statistisch nicht signifikant ($p > 0,05$).

Tumorgrading	Mittelwert der Gefäßanzahl			
	TUR-B-Präparate		Cystektomie-Präparate	
G2 (n=16)	38,21	[s]=21,62	43,63	[s]=26,30
G2-3 (n=1)	34,33	[s]=2,08	34,00	[s]=4,58
G3 (n=35)	34,47	[s]=10,26	37,85	[s]=14,94

Tabelle 3.4.2: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient in den TUR-B- bzw. den Cystektomie-Präparaten, gruppiert nach Tumorgrading

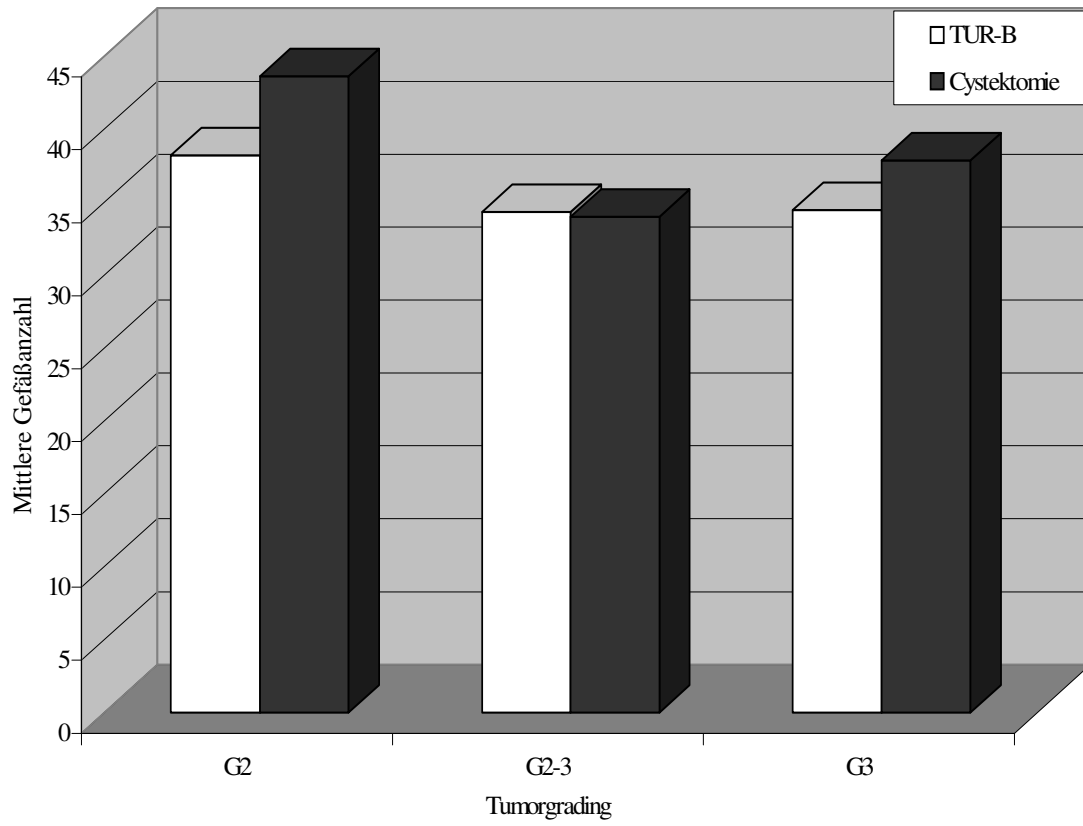


Abbildung 3.4.2: Mittlere Gefäßanzahl pro Patient in den TUR-B- bzw. den Cystektomie-Präparaten, gruppiert nach Tumorgrading

4. Diskussion

4.1 Klinische Daten

In der vorliegenden Studie wurden die Daten von 52 Patienten mit Harnblasenkarzinomen ausgewertet, die zunächst einer transurethralen Resektion und im Verlauf einer radikalen Cystektomie unterzogen wurden.

Bei allen untersuchten Präparaten handelte es sich um Urothelzellkarzinome mit einer multifokalen Tumorlokalisation in 69% der Fälle, was mit bisher veröffentlichten Studien korreliert, die von einem über 90%igen Anteil an Urothelzellkarzinomen bei Harnblasenkarzinomen [1,6,49] und einem multifokalen Tumorwachstum von über 25% ausgehen [6]. Am häufigsten war das Tumorwachstum solide (40%), während andere Autoren ein überwiegend papilläres Wachstumsmuster beschreiben [1,6,45].

27% der Patienten wiesen zum Zeitpunkt der Cystektomie eine lymphogene und 13,5% eine hämatogene Metastasierung auf, ein Sekundärtumor wurde bei 42% der Patienten beobachtet.

In Industrienationen wird der Nikotinkonsum als bedeutendster Risikofaktor für die Entstehung eines Harnblasenkarzinoms gewertet, auch in unserer Studie waren 42% der Patienten langjährige Raucher. Das Altersmaximum der Erkrankung liegt zwischen der 5. und 7. Lebensdekade [6], der Altersdurchschnitt des betrachteten Kollektivs betrug 66 Jahre. Eine berufliche Exposition gegenüber Gefahrstoffen, langjähriger Analgetika-Abusus sowie chronische Cystitiden konnten als weitere wichtige Risikofaktoren bestätigt werden [1,6,41,49,55].

Die Makrohämaturie ist das Kardinalsymptom eines Harnblasenkarzinoms [1,6,49,54] und stellte auch in unserer Studie in 81% der Fälle das weitaus häufigste Erstsymptom dar. Weiterhin wurden Dysurie, Pollakisurie, Nykturie und Algurie als häufige Erstsymptome genannt, weshalb bei zystitischen Symptomen unbedingt das Vorliegen eines Harnblasenkarzinoms ausgeschlossen werden muss [1,6,54].

4.2 Neoangiogenese beim Harnblasenkarzinom

Die Neoangiogenese von Tumorgewebe wird als notwendig angesehen für das Tumorwachstum, die Proliferation und die Bildung von Metastasen [9,16]. An die Angiogenese als Schlüsselfunktion des Tumorwachstums werden deshalb in der Onkologie große Hoffnungen bezüglich Diagnostik und Therapie und damit einer verbesserten Prognose der Tumorerkrankung geknüpft.

Die klinische Stadieneinteilung des Harnblasenkarzinoms erfolgt bisher nach dem TNM-System, aus dem sich Kriterien für die Therapie und eine Aussage zur Prognose ableiten lassen. Hierfür werden neben dem klinischen Bild und der histologischen Beurteilung des bioptisch gewonnenen Materials die Ergebnisse von Sonographie, Computertomographie, Ausscheidungsurographie und Urinzytologie zusammengetragen [50].

Anhand dieser Methoden treten jedoch häufig signifikante Unterschiede zwischen der klinischen Stadieneinteilung vor Therapiebeginn und der postoperativen Tumorklassifikation auf [50].

Eine sichere Aussage über die Eindringtiefe des Tumors ist präoperativ auch mit Hilfe der Computertomographie nicht möglich. Ebenso entgehen dem CT beim präoperativen Lymphknotenstaging nicht vergrößerte tumorbefallene Lymphknoten (<2 cm), wodurch die Rate falsch-negativer Befunde bezüglich der lymphogenen Metastasierung bei bis zu 50% liegt [45].

Auch die urinzytologischen Untersuchungen, die bei der Diagnostik, der Nachsorge urothelialer Tumoren und beim Screening von Risikogruppen zur Anwendung kommen, weisen bei gut differenzierten Tumoren bei 25% falsch-negativer Resultate keine sehr hohe Sensitivität auf [45].

Die Erforschung der Angiogenese hat zum Ziel, einen neuen, zuverlässigen Prognoseparameter bezüglich Rezidiv- und Metastasierungsneigung zu schaffen und damit zur richtigen Therapiewahl beim Harnblasenkarzinom beizutragen.

4.3 Transurethrale Resektion (TUR-B)

In dieser Arbeit konnte bei der lichtmikroskopischen Auswertung der TUR-Präparate im Tumorstadium pT4 die höchste durchschnittliche Gefäßanzahl ermittelt werden, gefolgt von den Stadien pT2 und pT3 mit fast gleich vielen Gefäßanschnitten pro Gesichtsfeld. Die geringste mittlere Gefäßanzahl zeigte sich im oberflächlichen Stadium pT1, der Unterschied zum Tumorstadium pT4 war statistisch signifikant.

Eine englische Studie, in der 113 Patienten mit Harnblasenkarzinom einem Tumorstaging und -grading sowie einer Analyse der Blutgefäßdichte in den histologischen Präparaten unterzogen wurden, zeigte bereits eine signifikante Korrelation zwischen den Tumorstadien und der jeweiligen Blutgefäßdichte. Die Kombination aus mittlerer Gefäßanzahl und Tumorstadium konnte hieraus als entscheidender prognostischer Indikator des Harnblasenkarzinoms abgeleitet werden [19].

Auch in unserer Studie zeigte sich mit zunehmender Tiefenausdehnung des Tumors eine zwar statistisch nicht signifikante, jedoch fast stetig steigende mittlere Anzahl an Gefäßanschnitten in den TUR-Präparaten. Dies unterstreicht bisherige Untersuchungsergebnisse, in denen die Neoangiogenese neben dem TNM-System einen validen Parameter zur Beurteilung der Prognose des Harnblasenkarzinoms darstellt [19,20].

Die verstärkte Vaskularisation bei zunehmender Tumorausdehnung lässt sich durch den steigenden Nährstoff- und Sauerstoffbedarf invasiv wachsender Karzinome erklären. Ab einer gewissen Tumorgöße herrscht im Tumorzentrum eine relative Hypoxie, die zelluläre Aktivierungsprozesse in Gang setzt. Hierdurch kommt es zu einer vermehrten Neoangiogenese mit verbessertem Nährstoff- und Metabolitenaustausch und somit zu einem exponentiellen Tumorwachstum [13,14,15,38].

Desweiteren erfolgte ein Grading-Vergleich innerhalb der einzelnen Tumorstadien. Hierbei zeigte sich, dass bei den pT1-Tumoren das Tumorgrading G2 jeweils eine signifikant niedrigere mittlere Gefäßanzahl aufwies als die weniger differenzierten pT1-Tumoren. Bei den pT2-Tumoren ließ sich ein umgekehrtes Verhältnis mit signifikant abnehmender Gefäßdichte bei zunehmend schlechterem Differenzierungsgrad erkennen. In den übrigen Tumorstadien zeigten sich keine signifikanten Unterschiede.

Zwischen den einzelnen Differenzierungsgraden G2, G2-3 und G3 zeigte sich bezüglich der durchschnittlichen Gefäßanzahl der TUR-B Präparate kein signifikanter Unterschied, der höchste Mittelwert an Gefäßanschnitten fand sich beim Differenzierungsgrad G2-3.

Im Gegensatz zur Tiefenausdehnung des Tumors, welche in unserer Studie mit der Anzahl an Gefäßanschnitten positiv korreliert, konnten beim Vergleich der Differenzierungsgrade untereinander sowie innerhalb der einzelnen Tumorstadien keine relevanten Aussagen bezüglich Therapie und Prognose des Harnblasenkarzinoms abgeleitet werden.

Beim Vergleich der Tumorstadien innerhalb der einzelnen Differenzierungsgrade fanden sich wiederum signifikante Unterschiede beim Grading G2 und G3. In den TUR-Präparaten mit dem Differenzierungsgrad G2 wies das Tumorstadium pT1 im Vergleich zu den Stadien pT2 und pT4 signifikant weniger Gefäßanschnitte auf. Bei den G3-Tumoren konnte ebenfalls eine fast linear steigende Gefäßdichte bei zunehmendem Tumorstadium mit einem signifikanten Unterschied zwischen pT2 G3 und pT4 G3 festgestellt werden.

Diese Ergebnisse bestätigen nun auch innerhalb der einzelnen Differenzierungsgrade obige Aussage, dass die mittlere Gefäßanzahl in den TUR-Präparaten mit zunehmender Tiefenausdehnung des Tumors fast stetig ansteigt und somit als Prognoseparameter des Harnblasenkarzinoms herangezogen werden kann.

4.4 Cystektomie

Bei der lichtmikroskopischen Auswertung der Cystektomie-Präparate zeigte sich ein anderes Verteilungsmuster bezüglich der mittleren Gefäßanzahl der einzelnen Tumorstadien als bei den TUR-Präparaten. Im pT2-Stadium fanden sich deutlich mehr Gefäßanschnitte als im pT1-Stadium, bei weiterer Tumorausdehnung nahm die Gefäßdichte jedoch wieder ab mit der niedrigsten Gefäßanzahl im Tumorstadium pT4. Anhand dieser Ergebnisse ist zu diskutieren, dass beim Nachweis einer erhöhten mittleren Gefäßanzahl im histologischen Präparat sicher kein oberflächlich wachsender Tumor mehr vorliegen kann, sondern ein zumindest beginnend muskelinvasiv

wachsendes Karzinom. Bezüglich der Fragestellung nach einer sinnvollen Indikationsstellung zur radikalen Cystektomie besteht gemäß der existierenden Therapierichtlinien des Harnblasenkarzinoms [49] ab dem muskelinvasiven Tumorstadium pT2 eine absolute Operationsindikation. Laut unserer Ergebnisse liegt beim Nachweis einer erhöhten mittleren Gefäßanzahl zumindest ein Stadium pT2 vor, womit anhand einer vermehrten Neoangiogenese ebenfalls eine absolute Indikation zur radikalen Cystektomie gestellt werden könnte.

Bei den oberflächlich wachsenden Tumoren nimmt das undifferenzierte Karzinom (pT1G3) bezüglich der Therapiewahl eine Sonderstellung ein, da es aufgrund seiner schlechten Prognose ebenfalls frühzeitig der radikalen Cystektomie zugeführt werden muss [49]. Beim Vergleich der Differenzierungsgrade innerhalb des Tumorstadiums pT1 zeigte sich in unserer Studie beim Grading G3 eine deutlich höhere mittlere Gefäßanzahl als beim Grading G2. Dies bestätigt die Studienaussage von *Chaudhary et al.*, dass eine höhere mittlere Gefäßdichte mit einer schlechteren Prognose assoziiert ist [57]. Bei oberflächlich wachsenden Karzinomen mit erhöhter mittlerer Gefäßanzahl ist also von einem niedrigen Differenzierungsgrad auszugehen, so dass die vermehrte Tumorneoangiogenese in diesem Zusammenhang als Indikation zur frühzeitigen radikalen Cystektomie betrachtet werden muss.

Beim Grading-Vergleich innerhalb der übrigen Tumorstadien (pT2-pT4) der Cystektomie-Präparate konnten zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede bezüglich der mittleren Gefäßanzahl gefunden werden, und es zeigte sich auch keine Korrelation zwischen zunehmender Tiefenausdehnung der Tumoren und höherer Gefäßdichte.

Zwischen den einzelnen Differenzierungsgraden konnte bezüglich der durchschnittlichen Gefäßanzahl in den Cystektomie-Präparaten ebenfalls kein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

Innerhalb der einzelnen Differenzierungsgrade G2 und G3 zeigte sich das gleiche Verteilungsmuster wie bei der Gesamtzahl der Cystektomie-Präparate mit der jeweils höchsten Gefäßanzahl im Tumorstadium pT2 und abnehmender Gefäßanzahl mit zunehmender Tumorausdehnung bis zum Stadium pT4. Dies bestätigt die oben

getroffene Aussage nun auch innerhalb der einzelnen Differenzierungsgrade, dass bei erhöhter mittlerer Gefäßanzahl zumindest ein beginnend muskelinvasiv wachsendes Karzinom vorliegt und somit die Indikation zur radikalen Cystektomie gestellt werden muss.

Bei der Auswertung der Cystektomie-Präparate nach lymphogener Metastasierung fand sich bei den Tumoren ohne Lymphknotenbefall eine höhere mittlere Gefäßanzahl als bei den Tumoren mit Lymphknotenmetastasen. Dieser Unterschied war nur gering und statistisch nicht signifikant, jedoch konnte die bereits in anderen Studien beschriebene positive Korrelation der Tumorangiogenese mit der Anwesenheit von Lymphknotenmetastasen hier nicht bestätigt werden [9].

In einer von *Jäger et al.* durchgeführten Studie wurden die histologischen Präparate von 27 lymphknotennegativen und 14 lymphknotenpositiven Harnblasenkarzinomen der Tumorstadien pT2 bis pT4 auf die mittlere Gefäßanzahl untersucht. Die Gruppe mit lymphogener Metastasierung zeigte hierbei eine signifikant höhere Gefäßdichte als die Gruppe ohne Lymphknotenbefall [9]. Die daraus gezogene Schlussfolgerung, dass von der Gefäßanzahl der Tumoren das Risiko von Lymphknotenmetastasen abgeleitet werden kann, konnte durch die abweichenden Ergebnisse in unserer Arbeit nicht bestätigt werden.

Zwischen den einzelnen Tumorstadien der Patienten mit und ohne lymphogener Metastasierung waren die durchschnittlichen Gefäßanzahlen nicht signifikant verschieden. In den Stadien pT2 bis pT4 wiesen jedoch die Patienten mit Lymphknotenmetastasen jeweils eine geringgradig höhere mittlere Gefäßanzahl auf als diejenigen ohne Lymphknotenbefall. Unter Betrachtung der einzelnen Tumorstadien pT2 bis pT4 muss oben getroffene Aussage, das Gesamtkollektiv betreffend, relativiert werden, da laut unserer Ergebnisse innerhalb der einzelnen Stadien bei einer höheren mittleren Gefäßanzahl ein größeres Risiko für das Vorhandensein von Lymphknotenmetastasen zu vermuten ist.

Auch bei Betrachtung der hämatogenen Metastasierung fand sich in den Cystektomie-Präparaten ohne Fernmetastasen eine signifikant höhere Gefäßanzahl als in den

Präparaten mit Fernmetastasierung. Zwischen den einzelnen Tumorstadien dieser beiden Patientenkollektive zeigte sich kein signifikanter Unterschied bezüglich der Gefäßdichte. Im Gegensatz zur Betrachtung des Lymphknotenbefalls boten hier jedoch auch innerhalb der einzelnen Tumorstadien pT2 bis pT4 die Patienten mit hämatogener Metastasierung jeweils eine niedrigere mittlere Gefäßanzahl als diejenigen ohne Fernmetastasen.

In unserer Auswertung zeigte sich weiterhin, dass die Patienten mit lymphogener und hämatogener Metastasierung eine signifikant höhere durchschnittliche Gefäßanzahl im Cystektomie-Präparat aufwiesen als diejenigen mit ausschließlich hämatogenen Metastasen und fehlendem Lymphknotenbefall.

Da man bei zusätzlichem Lymphknotenbefall von einer schlechteren Prognose des Harnblasenkarzinoms ausgehen muss als bei rein hämatogener Metastasierung, bestätigen diese Ergebnisse die bereits mehrfach in bisherigen Studien beschriebene positive Assoziation zwischen steigender Gefäßdichte und schlechterer Prognose des Harnblasenkarzinoms [20,21,57].

Bei getrennter Betrachtung der lymphogenen und hämatogenen Metastasierung lag die mittlere Gefäßanzahl bei den Patienten mit Nachweis von Lymphknoten- bzw. Fernmetastasen jedoch nicht über derjenigen der Patienten ohne Metastasennachweis. Die Schlussfolgerung von *Chaudhary et al.*, dass die Gefäßdichte als sicherer unabhängiger prognostischer Parameter bei Harnblasenkarzinomen angesehen werden kann [57], konnte somit nicht bestätigt werden.

4.5 Transurethrale Resektion (TUR-B) versus Cystektomie

Um die TUR-B und die Cystektomie-Präparate hinsichtlich der mittleren Gefäßanzahl miteinander vergleichen zu können, erfolgte hierfür die Zuordnung zu den einzelnen Tumorstadien für beide Patientenkollektive gemäß der endgültigen histologischen Befundung nach Cystektomie.

Beim Vergleich der einzelnen Tumorstadien lag die mittlere Gefäßanzahl in den Stadien pT1, pT2 und pT3 bei den TUR-Präparaten jeweils unter derjenigen der Cystektomie-

Präparate, ein signifikanter Unterschied fand sich allerdings nur im Stadium pT2. Bei den pT4-Tumoren hingegen wurden in den TUR-Präparaten mehr Gefäßanschnitte ermittelt als in den Cystektomie-Präparaten.

Nach Einteilung gemäß der endgültigen Histologie zeigte das Tumorstadium pT2 auch in den TUR-Präparaten eine deutlich höhere mittlere Gefäßanzahl als das Tumorstadium pT1. Dies bestätigt die bereits anhand der Cystektomie-Präparate getroffene Aussage, dass es sich bei einer höheren durchschnittlichen Gefäßanzahl sicher um keinen oberflächlich wachsenden Tumor, sondern zumindest um ein beginnend muskelinvasiv wachsendes Karzinom handelt. Bereits bei Vorliegen einer höheren mittleren Gefäßanzahl pro Gesichtsfeld im TUR-Präparat muss also die Indikation zu einer frühzeitigen radikalen Cystektomie gestellt werden.

Die signifikant höhere mittlere Gefäßanzahl bei der Cystektomie-Auswertung des Tumorstadiums pT2 im Vergleich zur Auswertung der TUR-Präparate zeigt, dass in einem relativ kurzen Zeitintervall zwischen TUR und Cystektomie eine starke Tumolvaskularisation mit hoher Gefäßneubildungstendenz stattgefunden hat. Im Tumorstadium pT2 muss also aufgrund der vermehrten mittleren Gefäßanzahl von einer höheren Invasivität des Tumors mit einer schlechteren Gesamtprognose der Erkrankung ausgegangen werden, wodurch verschiedene Studienergebnisse bestätigt werden, die eine erhöhte Gefäßanzahl als wichtigen prognostischen Faktor auch bezüglich der Gesamtmortalität des Harnblasenkarzinoms bezeichnen [19,20,57].

Bei der Zuordnung der beiden Patientenkollektive zu den einzelnen Differenzierungsgraden zeigten sich hinsichtlich der durchschnittlichen Gefäßanzahl keine signifikanten Unterschiede. Bei den Graden G2 und G3 wiesen die TUR-Präparate weniger Gefäßanschnitte auf, beim Grading G2-3 war die mittlere Gefäßanzahl in beiden Kollektiven annähernd gleich groß. Bezüglich des Tumorgradings nach endgültiger Histologie kann festgestellt werden, dass zwischen den TUR- und den zeitlich später gewonnenen Cystektomie-Präparaten nur eine geringe Progredienz der Gefäßneubildung nachweisbar ist.

5. Zusammenfassung

Um Aussagen über die Validität der Gefäßneubildungstendenz zur Indikationsstellung bezüglich einer frühzeitigen und definitiven Therapie des Harnblasenkarzinoms treffen zu können, wurden im Rahmen dieser Studie die Präparate von 52 Patienten mit Harnblasenkarzinom in der Urologischen Universitätsklinik Würzburg untersucht. Von allen Patienten wurden sowohl von der transurethralen Resektion als auch von der radikalen Cystektomie gewonnene Gewebeschnitte mit dem sensitiven Endothelzellmarker CD 34 gefärbt und hinsichtlich der Tumorneoangiogenese ausgewertet. Beurteilt wurde die mittlere Gefäßanzahl der Präparate pro Gesichtsfeld in Bezug auf das Tumorstadium, den Differenzierungsgrad, sowie das hämatogene und lymphogene Metastasierungsverhalten.

Die Untersuchung der TUR-Präparate zeigte eine fast stetig ansteigende mittlere Gefäßanzahl mit zunehmender Tiefenausdehnung des Tumors.

Beim Vergleich der Tumorstadien innerhalb der einzelnen Differenzierungsgrade wies beim Grad G2 das Tumorstadium pT1 im Vergleich zu den Stadien pT2 und pT4 signifikant weniger Gefäßanschnitte auf. Bei den G3-Tumoren konnte ebenfalls eine fast linear steigende Gefäßdichte bei zunehmendem Tumorstadium mit einem signifikanten Unterschied zwischen pT2 G3 und pT4 G3 festgestellt werden.

Die Untersuchungsergebnisse bestätigten bisherige Studienaussagen, dass die Quantifizierung der Neoangiogenese neben dem TNM-System einen validen Parameter zur Beurteilung von Krankheitsverlauf und Prognose des Harnblasenkarzinoms darstellen kann.

Bei der Auswertung der Cystektomie-Präparate konnten im Tumorstadium pT2 deutlich mehr Gefäßanschnitte gezählt werden als in den übrigen Tumorstadien mit einem signifikanten Unterschied zwischen pT2 und pT4. Beim Vergleich innerhalb der einzelnen Differenzierungsgrade konnte ebenfalls dem Tumorstadium pT2 die jeweils höchste mittlere Gefäßanzahl zugeordnet werden.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass bei deutlich erhöhter mittlerer Gefäßanzahl pro Gesichtsfeld zumindest das Tumorstadium pT2 und damit ein beginnend muskelinvasiv wachsendes Karzinom vorliegt. Entsprechend der Therapierichtlinien des Harnblasenkarzinoms, die ab dem Tumorstadium pT2 eine frühzeitige operative bzw. adjuvante Therapie empfehlen, könnte somit auch durch positiven Nachweis einer erhöhten Tumorneoangiogenese die Operationsindikation gestellt werden. Um eine definitive Therapieindikation anhand der Tumorangiogenese stellen zu können, sind jedoch weitere Studien mit größeren Patientenkollektiven und die Festlegung von Cut-off-Werten erforderlich.

Bei ebenfalls deutlich erhöhter mittlerer Gefäßanzahl im Stadium pT1G3 im Vergleich zum Stadium pT1G2 könnte dann auch für dieses Karzinom, welches aufgrund seiner schlechten Prognose eine Sonderstellung einnimmt, die Operationsindikation anhand der vermehrten Neoangiogenese frühzeitig gestellt werden.

Bei der Auswertung der Cystektomie-Präparate nach lymphogener Metastasierung fand sich bei den Tumoren ohne Lymphknotenbefall eine höhere mittlere Gefäßanzahl als bei denjenigen mit Lymphknotenmetastasen. Innerhalb der einzelnen Stadien pT2 bis pT4 wiesen jedoch die Patienten mit Lymphknotenmetastasen jeweils eine geringgradig höhere mittlere Gefäßanzahl auf als diejenigen ohne Lymphknotenbefall.

Die durch bisherige Studien beschriebene positive Korrelation zwischen vermehrter Tumorneoangiogenese und dem Vorhandensein von Lymphknotenmetastasen ließ sich in unserer Studie nur innerhalb der einzelnen Tumorstadien, nicht jedoch im Gesamtkollektiv nachweisen, und kann somit nicht als uneingeschränkt gültige Aussage bestätigt werden.

Bei Betrachtung der hämatogenen Metastasierung fand sich in den Cystektomie-Präparaten ohne Fernmetastasen ebenfalls eine signifikant höhere Gefäßanzahl als in den Präparaten mit Fernmetastasierung, auch innerhalb der einzelnen Tumorstadien.

Die Patienten mit hämatogener und lymphogener Metastasierung zeigten eine signifikant höhere durchschnittliche Gefäßanzahl als diejenigen mit ausschließlich hämatogenen Metastasen und fehlendem Lymphknotenbefall.

Im weiteren erfolgte die Zuordnung zu den einzelnen Tumorstadien für beide Patientenkollektive gemäß der endgültigen histologischen Befundung nach Cystektomie mit anschließendem Vergleich zwischen den TUR- und den Cystektomie-Präparaten. Im Tumorstadium pT2 zeigten sich hierbei signifikant mehr Gefäßanschnitte in den Cystektomie-Präparaten als Zeichen einer progredienten Tumolvaskularisation zwischen den beiden durchgeführten Eingriffen.

Desweiteren wies das Tumorstadium pT2 nach Umverteilung der Präparate gemäß der endgültigen Histologie auch in den TUR-Präparaten eine deutlich höhere mittlere Gefäßanzahl auf als das Tumorstadium pT1. Dies bestätigt die bereits anhand der Cystektomie-Präparate getroffene Aussage, dass es sich bei einer höheren durchschnittlichen Gefäßanzahl sicher um keinen oberflächlich wachsenden Tumor mehr handelt, und somit anhand der Tumorneoangiogenese die Indikation zu einer frühzeitigen radikalen Cystektomie gestellt werden kann.

Bei der Zuordnung der beiden Patientenkollektive zu den einzelnen Differenzierungsgraden konnte zwischen den TUR- und den zeitlich später gewonnenen Cystektomie-Präparaten nur eine geringe Progredienz der Gefäßneubildung nachgewiesen werden, aus der sich keine Aussage bezüglich einer therapeutischen Konsequenz ableiten lässt.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die Tumorneoangiogenese beim Harnblasenkarzinom einen objektiven und gut quantifizierbaren diagnostischen Parameter darstellt. Anhand unserer Ergebnisse scheint es jedoch nicht möglich, die Therapieindikation allein anhand der Tumorangioenese zu stellen. In der klinischen Anwendung kann die Tumorangioenese zum momentanen Zeitpunkt allenfalls als Ergänzung zum etablierten TNM-System angesehen werden.

6. Literaturverzeichnis

1. Wetterauer, U., Rutishauser, G., Sommerkamp, H.
Urologie
De Gruyter Verlag, 1995, S. 214-23
2. Thomas, C.
Spezielle Pathologie
Schattauer Verlag, 1996, S.: 375-77
3. Schmoll, H.-J., Höffken, K., Possinger, K.:
Kompendium Internistische Onkologie
Springer Verlag, 2.Auflage, 1997, S.: 1332-74
4. Fradet, Y., Cordon-Cardo, C.:
Critical Appraisal of Tumor Markers in Bladder Cancer
Seminars in Urology, Vol. 11, No. 3, August 1993, S.: 145-53
5. Brauers, A., Jakse, G.:
Neue zytogenetische und molekularbiologische Parameter für die Entstehung und
Prognose des Urothelkarzinoms
Aktuelle Urologie, Vol. 27, 1996, S.: 12-19
6. Block, T., Kriegmair, M., Busch, M., Weiss, M.
Harnblasenkarzinom
Tumorzentrum München – Manual: Urogenitale Tumoren 1997, S.: 37-73
7. Riede, U.-N., Schaefer, H.-E.
Allgemeine und spezielle Pathologie
Thieme Verlag, 4.Auflage, 1995, S.: 839-44
8. Grundmann
Spezielle Pathologie
Urban & Schwarzenberg, 7. Auflage, 1986, S.: 549-52

9. Jaeger, T.M., Weidner, N., Chew, K., Moore, D.H., Kerschmann, R.L., Waldman, F.M., Carroll, P.R.
Tumor angiogenesis correlates with lymphnode metastases in invasive bladder cancer
Journal of Urology, Vol. 154, Juli 1995, S.: 69-71
10. Weidner, N., Semple, J.P., Welch, W.R., Folkman, J.
Tumor angiogenesis and metastasis – Correlation in invasive breast carcinoma
The New England Journal of Medicine, Vol. 324, No. 1, Januar 1991, S.: 1-7
11. TNM Klassifikation
Springer Verlag, 5. Auflage, 1997, S.: 309-14
12. Risau, W.
Mechanisms of angiogenesis
Nature, Vol. 386, April 1997, S.: 671-74
13. Folkman, J., Klagsbrun, M.
Angiogenic Factors
Science, Vol. 253, Januar 1987, S.: 442-47
14. Folkman, J.
The role of angiogenesis in tumor growth
Seminars in Cancer Biology, Vol. 3, 1992, S.: 65-71
15. Folkman, J.
What Is the Evidence That Tumors Are Angiogenesis Dependent?
Journal of the National Cancer Institute, Vol. 82, No. 1, Januar 1990, S.: 4-6
16. Campbell, S.C.
Advances in angiogenesis research: Relevance to urological oncology
The Journal of Urology, Vol. 158, November 1997, S.: 1663-74
17. Brandis, H., Pulverer, G.
Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie
Gustav Fischer Verlag, 4. Auflage, 1988, S.: 566-68
18. Siegenthaler, W.
Klinische Pathophysiologie
Thieme Verlag, 8. Auflage, 2001, S.: 1109-20

19. Philp, E.A., Stephenson, T.J., Reed, M.W.R.
Prognostic significance of angiogenesis in transitional cell carcinoma of the human urinary bladder
British Journal of Urology, Vol. 77, 1996, S.: 352-57
20. Dickinson, A.J., Fox, S.B., Persad, R.A., Hollyer, J., Sibley, G.N.A., Harris A.L.
Quantification of angiogenesis as an independent predictor of prognosis in invasive bladder carcinomas
British Journal of Urology, Vol. 74, 1994, S.: 762-66
21. Bochner, B.H., Cote, R.J., Weidner, N., Groshen, S., Chen, S., Skinner, D.G., Nichols, P.W.
Angiogenesis in Bladder Cancer: Relationship Between Microvessel Density and Tumor Prognosis
Journal of the National Cancer Institute, Vol. 87, No. 21, November 1995,
S.: 1603-12
22. Bonfig, R., Seseke, F., Beecken, W.-D., Riedmiller, H.
Neoangiogenesis in infiltrating bladder cancer with or without lymphnode metastases
European Journal of Urology, Vol. 30, 1996, Abstract No. 287, S.: 88
23. Stein, J.P., Grossfeld, G.D., Ginsberg, D.A., Esrig, D., Freeman, J.A., Figueroa, A.J., Skinner, D.G., Cote, R.J.
Prognostic markers in bladder cancer: a contemporary review of the literature
Journal of Urology, Vol. 160, September 1998, S.: 645-59
24. Amoroso, A., Del Porto, F., Di Monaco, C., Manfredini, P., Afeltra, A.
Vascular Endothelial Growth Factor: A key mediator of neoangiogenesis. A review
European Review for Medical and Pharmacological Sciences, Vol. 1, 1997,
S.: 17-25
25. Le Querrec, A., Duval, D., Tobelem, G.
Tumour angiogenesis
Baillière's Clinical Haematology, Blood constituents and the vessel wall,
Vol. 6, No. 3, September 1993, S.: 711-30

26. Ferrara, N., Houck, K., Jakeman, L., Leung, D.W.
Molecular and Biological Properties of the Vascular Endothelial Growth Factor Family of Proteins
Endocrine Reviews, Vol. 13, No. 1, Februar 1992, S.: 18-32
27. Crew, J.P., O'Brien, T.S., Harris, A.L.
Bladder cancer angiogenesis, its role in recurrence, stage progression and as a therapeutic target
Cancer and Metastasis Reviews, Vol. 15, Juni 1996, S.: 221-30
28. Bikfalvi, A.
Significance of Angiogenesis in Tumour Progression and Metastasis
European Journal of Cancer, Vol. 31A, Nos. 7/8, 1995, S.: 1101-04
29. Nguyen, M., Wantanabe, H., Budson, A.E., Richie, J.P., Folkman, J.
Elevated levels of the angiogenic peptide basic fibroblast growth factor in urine of bladder cancer patients
Journal of the National Cancer Institute, Vol 85, 1993, S.: 241-42
30. Bicknell, R., Harris, A.L.
Novel Growth Regulatory Factors and Tumour Angiogenesis
European Journal of Cancer, Vol. 27, No. 6, 1991, S.: 781-85
31. Li, N.-C., Kanda, K., Fukumori, T., Inoue, Y., Nishitani, M., Kanayama, H., Kagawa, S.
Expression of vascular endothelial growth factor isoforms and platelet-derived endothelial cell growth factor in bladder cancer
Urologic Oncology, Vol. 6, 2001, S.: 10-15
32. O'Brien, T., Cranston, D., Fuggle, S., Bicknell, R., Harris, A.L.
Different Angiogenic Pathways Characterize Superficial and Invasive Bladder Cancer
Cancer Research, Vol. 55, Februar 1995, S.: 510-13
33. Scholz, H., Schwabe, U.
Taschenbuch der Arzneibehandlung
Gustav Fischer Verlag, 11.Auflage, 1997, S.: 658-61

34. Campbell, S.C., Volpert, O.V., Ivanovich, M., Bouck, N.P.
Molecular Mediators of Angiogenesis in Bladder Cancer
Cancer Research, Vol. 58, März 1998, S.: 1298-304
35. Novo castra Data Sheet
Endothelial Cell Marker (CD 34) NCL-END
Mouse Monoclonal Antibody
36. Thomas, C.
Histopathologie
Schattauer Verlag, 12. Auflage, 1998, S.: 33, 216-18
37. Hertig, A.T.
Angiogenesis in the early human chorio and in the primary placenta of the
Macaque monkey
Contributions to Embryology, Vol. 25, 1935, S.: 37
38. Folkman, J., Watson, K., Ingber, D., Hanahan, D.
Induction of angiogenesis during the transition from hyperplasia to neoplasia
Nature, Vol. 339, 1989, S.: 58-61
39. Willmanns, W., Huhn, D., Wilms, K.
Internistische Onkologie
Thieme Verlag, 1994, 1. Auflage, S.: 21-38
40. Rehn, L.
Blasengeschwülste bei Fuchsin-Arbeitern
Archiv der Klinischen Chirurgie, Nr 50, 1895, S.: 588-600
41. Hohenfellner, R., Zingg, E.J.
Urologie in Klinik und Praxis
Thieme Verlag, 1. Auflage 1982, S.: 520-50
42. Gehrke, S., Staehler, G., Kälble, T.
Ätiologie des Harnblasenkarzinoms – Fakten und Spekulation
Aktuelle Urologie, Vol. 27, 1996, S.: 391-99
43. Heidmann, E.
Therapieschemata Onkologie und Hämatologie
Urban & Schwarzenberg, 3. Auflage, 1996, S.: 8-29, 35-41

44. Strohmeyer, T.
Urotheliale Karzinome
Der Urologe, Vol. 33, 1994, S.: 122-27
45. Merkle, W.
Urologie
Hippokrates Verlag, 1. Auflage, 1997, S.: 159-68
46. Naish, Sally J.
Handbuch II immunchemischer Färbemethoden
DAKO® Diagnostika GmbH Hamburg, 1989, S.: 9-48
47. Kurth, K.H., Tunn, U., et al.
Adjuvant chemotherapy for superficial transitional cell bladder carcinoma: Long-term results of a European Organisation for Research and treatment of cancer. Randomized trial comparing Doxorubicin, Ethoglucid and Transurethral resection alone.
Journal of Urology, Vol. 158, 1997, S.: 378-84
48. Bourne, Janice A.
Handbuch I der Immunperoxidase-Färbemethoden
DAKO® Diagnostika GmbH Hamburg, 1983, S.: 7-37
49. Miller, K., Weißbach, L.
Leitlinien zur Diagnostik und Therapie des Harnblsenkarzinoms der Deutschen Gesellschaft für Urologie (DGU)
Urologe A, Vol. 37, 1998, S.: 440-57
50. Denis, L., Logothetis, C.
The role of haematopoietic growth factors
Urothelial Cancer, Consultant Series No 17, 1996, S.: 2-52
51. Jocham, D., Miller, K.
Praxis der Urologie Band II; Spezielle Urologie
Thieme Verlag, 1994, S.: 49-108; 321-41
52. Alken, P., Walz, P.H.
Urologie
Chapman & Hall GmbH, 2. Auflage, 1998, S.: 221-29

53. Laissue, J.-A., Gebbers, J.-O.
Einführung in die spezielle Pathologie
Gustav Fischer Verlag, 1991, S.: 325-27
54. Altwein, J.E., Rübber, H.
Urologie
Enke-Verlag, 4. Auflage, 1993, S.: 194-203
55. Johannson, S.L., Cohen, S.M.
Epidemiology and Etiology of bladder cancer
Semin. Surg. Oncol. 1997 Sep-Oct, 13 (5): 291-98
56. Crew, J.P.
Vascular Endothelial Growth Factor: An Important Angiogenic Mediator in
Bladder Cancer
European Urology, Vol. 35, 1999, S.: 2-8
57. Chaudary, R., Bromley, M., Clarke, N.W., Betts, C.D., Barnard, R.J.
Prognostic relevance of micro-vessel density on cancer of the urinary bladder
Anticancer Research 1999 Jul-Aug; 19 (4C), S.: 3479-84
58. Heimbürg, S., Oehler, M.K., Kristen, P., Papadopoulos, T., Caffier, H.
The endothelial marker CD 34 in the assessment of tumour vascularisation in
ovarian cancer
Anticancer Research 1997 Jul-Aug; 17 (4B), S.: 3149-51
59. Heimbürg, S., Oehler, M.K., Papadopoulos, T., Caffier, H., Kristen, P.
Prognostic relevance of endothelial marker CD 34 in ovarian cancer
Anticancer Research 1999 Jul-Aug; 19 (4A), S.: 2527-9
60. Kühnel, W.
Taschenatlas der Zytologie, Histologie und mikroskopischen Anatomie
Thieme Verlag, 8. Auflage, 1992, S. 70

7. Anhang

7.1 Abkürzungen

°C	Grad Celcius
µm	Mikrometer
APAAP	Alkalische Phosphatase/ Antialkalische Phosphatase
bzw.	beziehungsweise
CD	cluster determinants
Cis	Carcinoma in situ
cm	centimeter
CT	Computertomographie
Fa	Firma
G	Grading
kD	Kilo Dalton
M	Metastasen
Mainz	Mixed augmented ileum and zökum
min	Minuten
mm ²	Quadratmillimeter
mMolar	Milli Molar
M-VAC	Methotrexat, Vinblastin, Adriamycin, Cisplatin
M-VEC	Methotrexat, Vinblastin, Epirubicin, Cisplatin
n	Numerus
N	Nodus (Lymphknoten)
p	pathologisch gesichert
PAP	Peroxidase-Anti-Peroxidase
T	Tumor
TUR-B	Transurethrale Resektion der Blase
z.B.	zum Beispiel

Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. H. Riedmiller, Direktor der Urologischen Klinik und Poliklinik der Universität Würzburg, danke ich für die Überlassung des Themas sowie für die Bereitstellung der Geräte, Materialien und Räumlichkeiten.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. med. R. Bonfig für die umfassende Betreuung, die gewährte Unterstützung sowie für die ständige Diskussion und Kritik, die ich in jeder Phase der Arbeit erfahren habe.

Herrn Priv.-Doz. Dr. med. G. Ott, Institut für Pathologie der Universität Würzburg, und seinen Mitarbeitern danke ich für Hilfe bei der praktischen Durchführung und für die Bereitstellung der Präparate und Materialien.

Herrn Dr. med. W. Kieser danke ich für die Einführung in die Thematik sowie die Betreuung und konstruktive Kritik in der Frühphase der Arbeit.

Frau B. Dexler, Frau R. Fleischer und Frau V. Schwartz danke ich für die gute Zusammenarbeit, die praktische Einarbeitung in die angewendeten Verfahren der Präparataufbereitung und für ihren großen zeitlichen Einsatz.

Curriculum vitae

Persönliche Daten

Name	Tim Erik Voegele
Geburtsdatum	03.06.1974
Geburtsort	Minden
Anschrift	Thorwaldsenstrasse 35, 80335 München
Konfession	evangelisch
Familienstand	ledig

Schulbildung

08/1980 – 06/1984	Grundschule Minden
08/1984 – 06/1993	Herder-Gymnasium Minden, Abschluss: Abitur

Zivildienst

11/1993 – 01/1995	Rettungsdienst Berufsfeuerwehr Minden
-------------------	---------------------------------------

Hochschulausbildung

05/1995 – 03/1997	Vorklinisches Studium an der Universität Würzburg
03/1997	Ärztliche Vorprüfung
05/1997 – 08/2000	Klinisches Studium an der Universität Würzburg
03/1998	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
08/2000	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
10/2000 – 09/2001	Praktisches Jahr in den Abteilungen: Internal Medicine, McGill University Montreal/Canada Chirurgische Klinik, Kantonsspital Liestal/ Schweiz Urologische Klinik u. Poliklinik, Universität Würzburg
11/2001	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Berufserfahrung

01/2002 – 06/2003

Arzt im Praktikum am Städt. Krankenhaus München Schwabing, Abt. f. Allgemein- und Viszeralchirurgie,
Prof. Dr. Helmut Waldner

seit 06/2003

Assistenzarzt am Städt. Krankenhaus München Schwabing, Abt. f. Allgemein- und Viszeralchirurgie,
Prof. Dr. Helmut Waldner

Promotion

Thema

Morphometrischer Vergleich der Tumorangiogenese beim Urothelkarzinom der Harnblase an TUR-B- und Cystektomie-Präparaten

Doktorvater

Prof. Dr. med H. Riedmiller
Direktor der Urologischen Klinik und Poliklinik der Universität Würzburg

München, April 2004