

AUS DEM LEHRSTUHL  
FÜR UROLOGIE  
PROF. DR. MED. WOLF F. WIELAND  
DER FAKULTÄT FÜR MEDIZIN  
DER UNIVERSITÄT REGENSBURG

**Einfluss des Prostatakarzinoms auf die Nerven der angrenzenden  
Prostatakapsel – quantitative und planimetrische Analyse am  
Prostatagroßflächenschnitt**

Inaugural – Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der  
Fakultät für Medizin  
der Universität Regensburg

vorgelegt von  
Sebastian Schneider

2013

Dekan:	Prof. Dr. Dr. Torsten E. Reichert
1. Berichterstatter:	Priv.-Doz. Dr. Roman Ganzer
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. Johannes Seitz
Tag der mündlichen Prüfung:	27.11.2013

## Abkürzungsverzeichnis

Aa.	Arteriae
AAH	atypische adenomatöse Hyperplasie
Abb.	Abbildung
BCR	biochemisches Rezidiv
BPH	benigne Prostatahyperplasie
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CT	Computertomographie
D	dorsal
DAB	3.3'-Diaminobenzidin
DL	dorsolateral
Dpi	dots per inch
DRU	digital-rektale Untersuchung
EERPE	extraperitoneale endoskopisch radikale Prostatovesikulektomie
et al.	et alii, et aliae
ggf.	gegebenenfalls
HE	Hämatoxylin-Eosin
HGPIN	high-grade prostatiche intraepitheliale Neoplasie
HRP	horseradish-peroxidase
inkl.	Inklusive
IQR	Interquartilsabstand
M.	Musculus
mind.	Mindestens
PIN	prostatiche intraepitheliale Neoplasie
PNI	perineurale Invasion
PSA	prostataspezifisches Antigen
RPE	radikale Prostatovesikulektomie
Tab.	Tabelle
T-Zone	Transitionalzellzone
V	ventral
vgl.	vergleiche
VL	ventrolateral
z.B.	zum Beispiel

<b>1 Einleitung.....</b>	<b>5</b>
1.1 Epidemiologie .....	6
1.2 Risikofaktoren und Prävention .....	6
1.3 Pathologie .....	7
1.4 Histopathologische Klassifikation.....	8
1.4.1 Staging .....	8
1.4.2 Grading .....	10
1.5 Diagnostik .....	11
1.5.1 PSA-Diagnostik .....	11
1.5.2 Digital-rektale Untersuchung .....	11
1.5.3 Prostatastanzbiopsie .....	12
1.6 Klinik und Verlauf .....	12
1.6.1 Lokal begrenztes Stadium.....	13
1.6.2 Lokal fortgeschrittenes Stadium.....	14
1.6.3 Metastasiertes Stadium.....	16
1.7 Metastasierung des Prostatakarzinoms, Aspekte des organüberschreitenden Wachstums .....	18
1.7.1 Die Rolle der perineuralen Invasion .....	18
1.7.2 Neuroepitheliale Interaktionen beim Prostatakarzinom.....	20
1.8 Fragestellung und Ziel der Arbeit.....	22
 <b>2 Material und Methoden.....</b>	 <b>23</b>
2.1 Präparate .....	23
2.1.1 OP-Methode EERPE.....	23
2.1.2 Großflächenschnitte .....	27
2.1.3 Färbemethoden.....	27
2.2 Histopathologische Diagnostik.....	30
2.3 Digitalisierung der Schnitte .....	32
2.4 Bildbearbeitung der digitalisierten Schnitte.....	32
2.4.1 Einteilung der Schnitte .....	32
2.5 Computergestützte Bildverarbeitung.....	33
2.5.1 Image J Software .....	33
2.5.2 Definition der Prostatakapsel .....	34
2.5.3 Quantifizierung und Planimetrie von Kapselnerven .....	35
2.6 Statistik .....	37
2.6.1 Analyse der Nerven, unabhängig vom Prostatakarzinom .....	37
2.6.2 Analyse der Nerven, abhängig vom Prostatakarzinom, unabhängig von der Lage .....	37
2.6.3 Analyse der Nerven, abhängig von weiteren Kovariablen, unabhängig von der Lage .....	37
2.6.4 Analyse der Nerven, abhängig vom Prostatakarzinom und der Lage.....	38
2.6.5 Statistische Auswertung.....	39
 <b>3 Ergebnisse.....</b>	 <b>40</b>
3.1 Patienten.....	40
3.1.1 Basisdaten .....	40
3.1.2 Histopathologische Ergebnisse.....	41
3.1.3 Anzahl positiver Stenzen.....	42

3.2	Messung der Prostatakapsel .....	42
3.3	Quantifizierung der kapsulären Nerven .....	42
3.3.1	Quantifizierung und Verteilung der Kapselnerven.....	43
3.3.2	Quantifizierung der Kapselnerven in Abhängigkeit von benachbartem Tumor.....	43
3.3.3	Quantifizierung der kapsulären Nerven in Abhängigkeit von weiteren Kovariablen .....	44
3.3.4	Quantifizierung der Kapselnerven in Abhängigkeit von benachbartem Tumor und Lage .....	45
3.4	Planimetrie der Kapselnerven.....	46
3.4.1	Planimetrie und Verteilung der Kapselnerven.....	46
3.4.2	Planimetrie der Kapselnerven in Abhängigkeit von benachbartem Tumor ..	47
3.4.3	Planimetrie der Kapselnerven in Abhängigkeit von weiteren Kovariablen ....	48
3.4.4	Planimetrie der Kapselnerven in Abhängigkeit von benachbartem Tumor und Lage .....	48
<b>4</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>50</b>
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>63</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis.....</b>	<b>65</b>
<b>7</b>	<b>Abbildungsverzeichnis.....</b>	<b>74</b>
<b>8</b>	<b>Tabellenverzeichnis.....</b>	<b>76</b>

# 1 Einleitung

Das Prostatakarzinom ist die häufigste maligne Tumorerkrankung des Mannes in der westlichen Welt und steht an 3. Stelle der Mortalität nach dem Bronchialkarzinom und dem Colo-Rektalen-Karzinom. Es ist erwiesen, dass eine Prostatakreberkrankung in Abhängigkeit von Aggressivität und Tumorstadium nicht unweigerlich zu Beschwerden und zum Tod führt. So entspricht bei einem organbegrenzten Stadium des Karzinoms die Überlebensrate nach operativer Behandlung dem der Normalbevölkerung. Liegt hingegen ein organüberschreitendes Wachstum vor, zeigt sich bei bis zu 44% der Patienten nach einer operativen Therapie im Verlauf ein erneuter Anstieg des prostataspezifischen Antigens (PSA) im Serum, weshalb dann weitere Therapien wie z.B. eine Hormontherapie oder eine Radiatio indiziert sind. Im Vergleich dazu liegt die PSA-Rezidivrate bei einem lokal begrenzten Stadium bei nur ca. 7%. Zudem besteht ein enger Zusammenhang zwischen einem lokal fortgeschrittenen Wachstum des Prostatakarzinoms und der Entwicklung einer systemischen Erkrankung.

Diese Tatsachen unterstreichen die Wichtigkeit eines genauen Verständnisses der Mechanismen des kapselüberschreitenden Wachstums des Prostatakarzinoms. Es ist seit längerem bekannt, dass hierbei die perineurale Invasion eine entscheidende Rolle spielt. Jedoch konnte in unterschiedlichen Arbeiten der letzten Jahre gezeigt werden, dass es sich dabei nicht - wie zunächst angenommen - um einen Mechanismus des geringsten Widerstandes handelt. Vielmehr scheint es sich dabei um einen aktiven, reziproken Prozess zu handeln, der durch verschiedene Wechselwirkungen zwischen Prostatakarzinomzellen, neuroepitheliale Gewebe und prostatichen Stromazellen gekennzeichnet ist. Letztendlich konnte nachgewiesen werden, dass diese Wechselwirkungen eine perineurale Invasion, und damit ein lokales Fortschreiten des Tumors begünstigen und sogar amplifizieren.

Ein genaues Verständnis dieser Wechselwirkungen ist eine zwingende Voraussetzung für die Entwicklung potentieller neuer Therapiekonzepte wie der Inhibierung einer lokalen Progression des Prostatakarzinoms.

Ziel der Arbeit ist es, das Konzept der durch neuroepitheliale Interaktion bedingten Nervinduktionen im Bereich der Prostatakapsel durch eine quantitative Analyse kapsulärer Nerven in Abhängigkeit von benachbartem Tumorgewebe an Prostatektomiepräparaten zu untersuchen.

## 1.1 Epidemiologie

Das Prostatakarzinom ist heutzutage mit 26% die am häufigste diagnostizierte Tumorentität unter den Krebserkrankungen beim Mann in Deutschland und es wurden 2008 63440 Neuerkrankungen registriert. Vergleicht man die Mortalität der verschiedenen Krebserkrankungen, so steht das Prostatakarzinom mit 12134 Sterbefällen mit einem Anteil von 10,5 % nach dem Bronchialkarzinom und dem Colo-Rektalen Karzinom an dritter Stelle aller Krebssterbefälle in Deutschland. Die Inzidenz beträgt bei Männern zwischen 45 und 49 Jahren ca. 15/100000/Jahr, bei den 70 bis 74-jährigen steigt sie auf mehr als 700/100000/Jahr an, wobei sich die jährlich geschätzten Inzidenzzahlen innerhalb von acht Jahren mehr als verdoppelt haben [1]. Diese Entwicklung ist wahrscheinlich mit unter durch die Verbreitung der PSA-basierten Früherkennung zu erklären.

## 1.2 Risikofaktoren und Prävention

Als bedeutendster Risikofaktor für die Entstehung eines Prostatakarzinoms gilt das Alter, daneben werden eine genetische Disposition, Übergewicht, Bewegungsmangel und Rauchen diskutiert [1].

So konnte z.B. gezeigt werden, dass sich das Risiko für die Erkrankung an einem Prostatakarzinom verdoppelt, falls bei einem erstgradig Verwandten diese Erkrankung vorliegt. Sollten zwei oder noch mehr Verwandte ersten Grades von der Erkrankung betroffen sein, steigt das Risiko sogar auf das 5- bis 11-fache an [2, 3]. Eine kleine Gruppe von ca. 9% stellt die der Patienten mit einem hereditären Prostatakarzinom dar. Dies liegt vor bei Patienten mit 3 oder mehr Erkrankten oder mindestens zwei frühzeitig erkrankten Verwandten. Unter „frühzeitig erkrankt“ wird dabei eine Diagnosestellung vor dem Alter von 55 Jahren verstanden [4]. Das hereditäre Prostatakarzinom ist vor allem durch ein 5-6 Jahre früheres Ausbrechen der Erkrankung im Vergleich zur Normalbevölkerung gekennzeichnet, ein anderweitig klinisch relevanter Unterschied scheint nicht vorzuliegen [5].

Auch die vermehrte Aufnahme von tierischen Fetten sowie die verminderte Zuführung von z.B. Selen und Vitamin E wurde als Risikofaktoren für die Entwicklung eines Prostatakarzinoms bisher diskutiert, diese Annahme konnte allerdings zumindest für Selen und Vitamin E in der SELECT-Studie nicht bestätigt werden. Im

Gegenteil war das Risiko eines Prostatakarzinoms sogar unter der Gabe von Vitamin E tendenziell erhöht, was zum vorzeitigen Abbruch der Studie führte [6, 7, 71].

### 1.3 Pathologie

Es handelt sich beim Prostatakarzinom zu 95 % um Adenokarzinome. Dementsprechend selten treten Transitionalzellkarzinome, Karzinosarkome, neuroendokrin differenzierte Tumore, Plattenepithelkarzinome und primäre Sarkome der Prostata auf [8].

Daneben existieren noch potenziell präkanzeröse Epithelveränderungen. Hier sind die prostatistische intraepitheliale Neoplasie (PIN) und mit Einschränkungen auch die atypische adenomatöse Hyperplasie (AAH) zu nennen [9-11].

Der Begriff prostatistische intraepitheliale Neoplasie (PIN) wurde 1987 für Areale der Prostata mit Anaplasie und Hyperproliferation der Kerne des Drüsenepithels eingeführt [12]. Es existiert eine Einteilung zwischen Low-grade PIN und High-grade PIN (HGPIN), wobei erstere als harmlose Veränderung gilt [13]. Die HGPIN hingegen wird vielfach als obligate Präkanzerose angesehen [9-11]. Typischerweise lassen sich PIN-Läsionen in der dorso-peripheren Zone der Prostata nachweisen.

Die AAH wurde früher neben der PIN als Präkanzerose angesehen, es konnte jedoch in den letzten Jahren gezeigt werden, dass es sich dabei lediglich um eine benigne Veränderung mit Proliferation neu gebildeter kleiner Azini (mikroglanduläre Hyperplasie) ohne Kernaplasie handelt, die ein azinäres Adenokarzinom sozusagen imitieren kann [9-11]. Dennoch wird ein Zusammenhang mit dem Auftreten von AAH und dem relativ seltenen Vorkommen eines Prostatakarzinoms in der Transitionalzellzone (T-Zone) kontrovers diskutiert [14]. Dies beruht wohl auch auf der Tatsache, dass die AAH vornehmlich in der Transitional- und zentralen Zone gefunden wird, und diese dann ggf. neben den seltenen Prostatakarzinomen der T-Zone parallel auftritt [15].

Über 70 % der Prostatakarzinome finden sich in der peripheren Zone der Prostata [16]. Daraus erklärt sich, dass eine klinische Symptomatik zumeist erst in lokal fortgeschrittenen bzw. metastasierten Stadien auftritt. Aufgrund dieser späten klinischen Manifestation ergibt sich auch die Besonderheit des latenten Prostatakarzinoms, welches z.B. zufällig als inzidentelles Prostatakarzinom nach

einer transurethralen Resektion der Prostata diagnostiziert wird oder auch während einer Autopsie als Zufallsbefund auffällt. Hierzu wurde interessanterweise in einer Autopsie-Studie bei im Alter zwischen 20 und 40 Jahren Verstorbenen bereits bei 29 % und im Alter von 60 bis 69 Jahren bei 64 % ein Prostatakarzinom beschrieben [17]. Andere Autopsiestudien wiesen bei den 70- und vor allem über 80-jährigen einen großen Anteil unentdeckter und asymptomatischer Prostatakarzinome nach, die keinen Einfluss auf die Lebensqualität bzw. die Lebenserwartung der Erkrankten hatten [1]. In den USA wird bei einem von sechs Männern während seines Lebens ein Prostatakarzinom diagnostiziert [18], dies bedeutet aber auch, dass ein Großteil der latenten Karzinome nicht manifest wird [1, 17].

## **1.4 Histopathologische Klassifikation**

### **1.4.1 Staging**

Die Stadieneinteilung des Prostatakarzinoms erfolgt in Europa nach der von der European Organisation of Research and Treatment of Cancer (EORTC) empfohlenen TNM Classification of Malignant Tumors in der zuletzt erschienen 7. Auflage (2010) der Union internationale contre le cancer (UICC) (Tab. 1).

Prinzipiell muss zwischen einem klinischen und pathologischen Staging unterschieden werden, wobei das klinische Staging auf den Ergebnissen der digital-rektalen Untersuchung (DRU), sowie gegebenenfalls einer Bildgebung basiert [19]. Das pathologische Staging hingegen ist eine postoperative Angabe nach standardisierter histopathologischer Aufarbeitung des Resektates.

<b>T – Primärtumor</b>	
Tx	Primärtumor nicht bestimmbar
T0	Kein Hinweis auf Primärtumor
T1	Klinisch inapparenter Tumor, nicht palpabel oder durch bildgebende Verfahren nachweisbar
T1a	Inzidenteller Tumor: histologisch in 5% oder weniger des Resektionsmaterials
T1b	Inzidenteller Tumor: histologisch in > 5% des Resektionsgewebes
T1c	Tumor indentifiziert durch Nadelbiopsie bei z.B. erhöhtem PSA-Wert
T2	Tumor beschränkt auf Prostata
T2a	Tumor erfasst einen Seitenlappen mit < 50%
T2b	Tumor erfasst einen Seitenlappen mit > 50%
T2c	Tumor erfasst beide Seitenlappen
T3	Tumor überschreitet die Prostatakapsel
T3a	Extrakapsulärer Tumor
T3b	Tumor infiltriert die Samenblase(n)
T4	Tumor ist fixiert oder infiltriert benachbarte Strukturen
<b>N – Regionale Lymphknoten</b>	
NX	Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden
N0	Kein Anhalt für regionäre Lymphknotenmetastasen
N1	Regionärer Lymphknotenbefall
<b>M – Fernmetastasen</b>	
MX	Fernmetastasen können nicht beurteilt werden
M0	Kein Anhalt für Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen
M1a	Extraregionärer Lymphknotenbefall
M1b	Knochenmetastasen
M1c	Andere Manifestation

**Tabelle 1: TNM-Klassifikation des Prostatakarzinoms nach UICC 2010, 7. Auflage**

Da es sich bei der T1c-Kategorie um eine rein klinische Einteilung handelt existiert diese als pathologische Einteilung nicht. Daher werden klinisch inapparente Tumoren, die durch eine Prostatastanzbiopsie diagnostiziert werden, als cT1c-Tumoren klassifiziert.

Unter regionären Lymphknotenmetastasen werden die pelvinen Lymphknoten unterhalb der Bifurkation der Aa. Iliacae communes verstanden. Hierbei muss berücksichtigt werden, dass ein effektives Lymphknotenstaging nur durch eine operative erweiterte Lymphadenektomie gewährleistet wird [19].

### 1.4.2 Grading

Beim Grading des Prostatakarzinoms sind zwei Systeme verbreitet: das WHO-Grading und das Gleason-Grading.

Das WHO-Grading entspricht der Einteilung der UICC. Die Einteilung wurde von der von Mostofi 1975 getroffenen Einteilung in drei Tumorgrade für das Prostatakarzinom übernommen [20] (Tab. 2).

Tumorgrad	Beschreibung
GX	Differenzierungsgrad kann nicht bestimmt werden
G1	Gut differenziert
G2	Mäßig differenziert
G3-4	Schlecht differenziertes oder undifferenziertes Karzinom

**Tabelle 2: WHO-Grading für das Prostatakarzinom**

Die Einteilung nach Gleason (1960) ist das wohl aktuell am meisten verwendete System zur Bestimmung der Differenzierung von Prostatakarzinomen. Zur Bestimmung des Gleason-Score werden entweder Präparatschnitte oder Biopsate von Prostatagewebe benötigt. Eine cytologische Beurteilung ist nicht möglich. Der Gleason-Score basiert auf der Punktebewertung des Wachstumsmusters der Prostatakarzinome unter Berücksichtigung unterschiedlicher Karzinomarchitektur. Je höher hierbei die Abweichung von der originären Drüsenstruktur ist, desto höher erfolgt die Bewertung bei einer Skala von 1 bis 5 Punkten. Die Summe von zwei Punktwerten ergibt den Gleason-Score. Bei unterschiedlichen Wachstumsmustern oder bei multifokalen Tumoren wird der erste Score an den vorherrschenden Wachstumstyp vergeben und der zweite Score an den Zweithäufigsten. Beide Zahlen werden im Anschluss addiert (z.B. 2+3 entspricht Gleason-Score 5) [21, 22]. Abweichend dazu ist zu nennen, dass bei stanzbiologisch gewonnenem Material der schlechteste Grad immer erwähnt werden muss, auch wenn dieser nur in < 5 % des vorliegenden Materials vorkommt [23].

Der Gleason-Score 7 stellt als besonderer Grenzfall eine Sonderform dar, da er in den Score 7a (3+4) und 7b (4+3) unterteilt. Dies begründet sich aus der unterschiedlichen Prognose und den daraus resultierenden zum Teil unterschiedlichen Therapieschemata bezüglich der beiden Entitäten [21, 22].

## **1.5 Diagnostik**

### **1.5.1 PSA-Diagnostik**

Bei der Diagnostik des Prostatakarzinoms spielt die Bestimmung des prostataspezifischen Antigens (PSA) im Serum eine wichtige Rolle, da ein erhöhter Wert auf ein Prostatakarzinom hinweisen kann.

Bezüglich des PSA-Wertes ist zu beachten, dass der PSA-Serumwert organspezifisch, nicht aber karzinomspezifisch ist, da eine benigne Prostatahyperplasie (BPH), genauso wie Harnwegsinfekte und eine mechanische Manipulation einen erhöhten PSA-Wert bedingen können. Demnach spielt auch das Alter der Patienten, und die damit einhergehende BPH eine Rolle für die Beurteilung der PSA-Werte. Ein universell anwendbarer Cut-off-Wert für eine PSA-Serumwerterhöhung existiert aktuell in der entsprechenden Literatur nicht. Allerdings wurde in vielen veröffentlichten Studien ein Grenzwert von 4 ng/ml verwendet [24-26]. Hingegen konnte in einer Serie mit 243 jüngeren Männern im Alter von 50 bis 66 Jahren mit PSA-Werten von 3-4 ng/ml bei 13,2 % ein Prostatakarzinom mittels Prostatastanzbiopsie diagnostiziert werden [27]. In einer anderen retrospektiven Studie von 12078 Männern, die sich einer Prostatastanzbiopsie unterzogen, wurde ein PSA-Grenzwert von 2,3 ng/ml ermittelt [28]. Auch die EAU-Guidelines für das Prostatakarzinom von 2010 spiegeln diese Kontroverse wider, hier wird aktuell nicht eindeutig auf die Verwendung eines bestimmten Cut-off-Wertes hingewiesen [19].

Neben der Höhe des PSA-Wertes spielt auch die Ratio von freiem- zu totalem-PSA eine wichtige Rolle zur Abschätzung des Risikos für das Vorliegen eines Prostatakarzinoms. Allgemein wird eine PSA-Ratio <10% als weiterer Hinweis für das Vorliegen eines Prostatakarzinoms gesehen. Die PSA-Velocity kann nach den aktuellen EAU-Guidelines keine zusätzliche Information zur Diagnose eines Prostatakarzinoms im Vergleich zur PSA-Bestimmung alleine liefern [19].

### **1.5.2 Digital-rektale Untersuchung**

Einen weiteren Hinweis auf ein Prostatakarzinom gibt eine suspekte DRU, wobei es sich dann meist um harte, zum normalen Prostatagewebe abgrenzbare, knotige Strukturen handelt. Ein Nachweis gelingt meist bei Tumoren der peripheren Zone der Prostata ab einem Volumen von ca. 0,2 ml [19]. Allerdings können auch tastbare,

knotige Veränderungen durch Prostatazysten, Granulome oder z.B. Verkalkungen entstehen. Dennoch scheint ein enger Zusammenhang zwischen einem suspekten Tastbefund, der Höhe des PSA-Wertes und dem Risiko für ein Prostatakarzinom zu bestehen [29-31].

Zusammenfassend besteht bei Vorliegen einer adäquaten PSA-Erhöhung nach Ausschluss eines Harnwegsinfektes (inkl. Prostatitis) und/oder einer suspekten digitalen-rektalen Untersuchung die Indikation zur weiteren Diagnostik soweit sich bei dem Patienten aus der etwaigen Diagnose eine therapeutische Konsequenz ergibt. Die allgemein anerkannten und weit verbreiteten Kriterien hierfür sind ein Alter < 70 bis 75 Jahre und/oder eine Lebenserwartung  $\geq 10$  Jahre.

### **1.5.3 Prostatastanzbiopsie**

Als weiterführende Diagnostik wird eine transrektale, ultraschallgesteuerte Prostatastanzbiopsie durchgeführt. Es sollten mindestens 10 systematische lateral geführte Biopsien erfolgen, ggf. in Abhängigkeit des Prostatavolumens auch mehr [19, 32-35]. Die Biopsate sollten einzeln und getrennt zur histologischen Aufarbeitung eingeschickt werden.

## **1.6 Klinik und Verlauf**

Klinisch fallen die Patienten mit einem Prostatakarzinom wie bereits erwähnt meist durch eine Erhöhung des PSA-Wertes oder durch eine suspekte digital-rektale Untersuchung im Rahmen einer urologischen Vorsorgeuntersuchung auf. Nur selten werden ähnliche Beschwerden wie bei der benignen Prostatahyperplasie mit obstruktiven und irritativen Miktionsbeschwerden, Harnstrahlabschwächung, Restharnbildung und Pollakisurie berichtet. Auch B-Symptome wie Nachtschweißigkeit und Gewichtsverlust sind eher selten.

### 1.6.1 Lokal begrenztes Stadium

Als lokal begrenztes Prostatakarzinom wird ein auf die Prostata beschränktes Tumorwachstum ohne Überschreitung der Prostatakapsel bezeichnet. Die entspricht nach der TNM-Klassifikation den Stadien T1-T2.

Die Literatur spiegelt bezüglich des klinischen Verlaufs lokal begrenzter Prostatakarzinome nach radikaler retropubischer Prostatektomie (RPE) ein durchweg hohes karzinomspezifisches Überleben wider. So konnte z.B. Zincke et al. in einer retrospektiven Studie von 3170 Patienten zeigen, dass insgesamt zwar 438 Patienten (14%) im Verlauf der Nachsorge verstarben, davon aber nur 159 Männer (5%) Prostatakarzinom-spezifisch. Die rohe 10- und 15-Jahres-Überlebensrate für das Kollektiv lag bei 75% und 60% und war damit vergleichbar mit den Überlebensraten aus der Kontrollgruppe. Die karzinomspezifische 10- und 15-Jahres-Überlebensrate lag bei 90% und 82% [36]. In einer anderen Studie mit 1143 Patienten mit einem klinisch lokal begrenzten Prostatakarzinom verstarben 113 (10%) der Patienten aufgrund des Tumors, das karzinomspezifische 10- und 15-Jahres-Überleben lag bei 90% +/- 1,1% und 83% +/- 1,9%. Auch hier lag die gesamte 10- und 15-Jahres-Überlebensrate bei 75% bzw. bei 60% [37].

Möchte man den klinischen Verlauf von Patienten nach einer potentiell kurativen Therapie eines lokalisierten Prostatakarzinoms, wie z.B. der RPE beurteilen, so ist das PSA-Rezidiv bzw. das PSA-rezidivfreie Überleben ein wichtiger Parameter. Nach den EAU-Guidelines für das Prostatakarzinom kann ein biochemisches PSA-Rezidiv in einer Höhe von 0,2 ng/ml in zwei aufeinanderfolgenden Messungen nach RPE mit einem Resttumor oder einem Rezidiv des Karzinoms assoziiert werden [19], denn an sich sollte der PSA-Wert nach kompletter Entfernung der Prostata und des Tumors auf 0 ng/ml absinken.

Für andere erfolgte Therapien liegen andere Grenzwerte vor, so wird nach Radiotherapie ein Anstieg von 2 ng/ml über den PSA-Nadir nach der Therapie als PSA-Rezidiv gewertet [38].

Auf das lokal begrenzte Prostatakarzinom bezogen demonstrierten Chun et al. in einer Langzeitstudie eine Kohorte aus 2708 Männern, welche einer RPE zugeführt wurden, insgesamt 1741 Patienten (64%) mit einem pathologisch lokal begrenzten Stadium (pT2a-pT2c). Davon entwickelten 133 ein PSA-Rezidiv, das entspricht lediglich einem Anteil von 7% der organbegrenzten Befunde (vgl. Tab. 3). Für die organbegrenzte Erkrankung lag die 10-Jahre-Rezidiv-freie-Überlebensrate bei 80%.

Insgesamt rangierte das PSA-rezidivfreie Überleben zwischen 84%, 70% und 61% für 2, 5 und 8 Jahre Follow-up [46].

Im Hinblick auf das rezidivfreie Überleben erbrachte eine andere Serie 72% und 61% für 10- bzw. 15-Jahre Follow-up, die Rezidiv-freien Raten lagen bei 83% und 75% [36]. Allerdings ist hierbei zu beachten, dass es sich bei dieser retrospektiven Studie um die Untersuchung von Patienten mit einem klinisch lokal begrenzten Prostatakarzinom handelt. Das bedeutet, dass in dieser Kohorte auch Patienten mit einem pathologischen fortgeschrittenem Karzinom (pT3), positiven Absetzungsrändern und sogar Lymphknotenmetastasen vorlagen, da das klinische Stadium oft vom pathologischen Stadium abweicht [36, 37, 40, 43, 46].

### 1.6.2 Lokal fortgeschrittenes Stadium

Bei einem lokal fortgeschrittenen Prostatakarzinom handelt es sich um einen Tumor, der die Prostatakapsel überschreitet. Dies entspricht nach der TNM-Klassifikation den Stadien T3-T4.

Betrachtet man die Verläufe für das lokal fortgeschrittene Prostatakarzinom, so ergeben sich vor allem bezüglich des PSA-rezidivfreien Überlebens zum lokalisierten Prostatakarzinom deutliche Unterschiede (siehe Abb. 1).

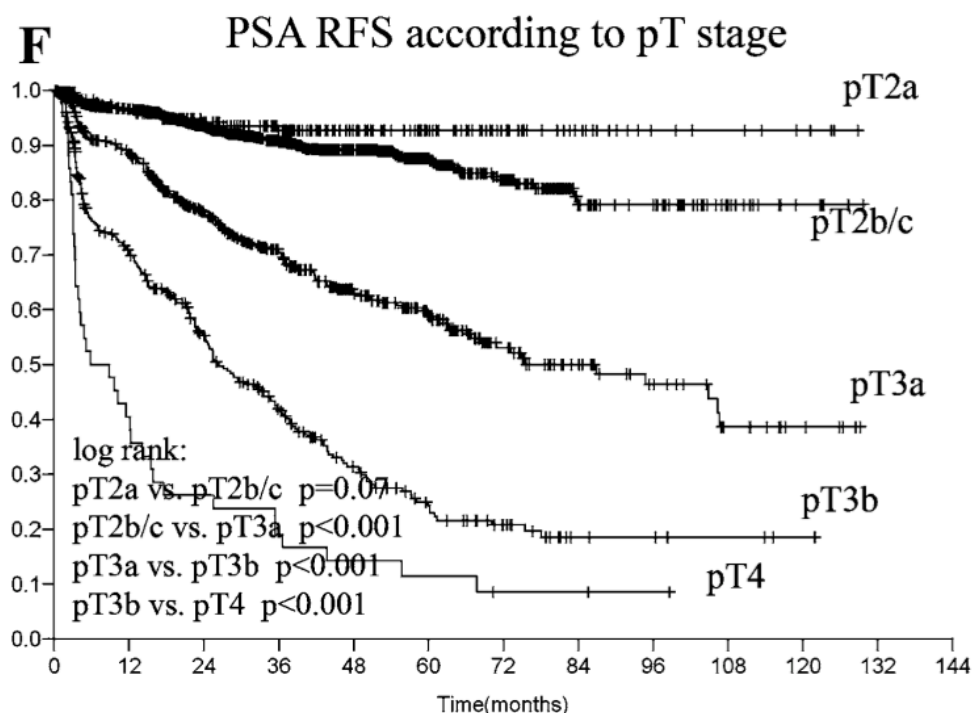


Abbildung 1: PSA-rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit des pT-Stadiums für das Prostatakarzinom [46]

In einer bereits vorher zitierten Serie mit 2708 Patienten für ein klinisch lokal begrenztes Prostatakarzinom zeigten sich insgesamt 967 Männer (36%) mit einem fortgeschrittenen Prostatakarzinom, davon hatten 587 einen pT3a-Tumor, 338 einen pT3b- und 42 einen pT4-Tumor. Von allen Patienten im Stadium pT3-pT4 entwickelten 425 (44%) Patienten ein PSA-Rezidiv im Follow-up. Im Vergleich dazu waren nur 7% im Stadium pT2 mit einem erneuten PSA-Anstieg konfrontiert. Ebenfalls deutlich wird der Unterschied, wenn man die prozentualen Anteile von fortgeschrittenen und begrenzten Prostatakarzinomen an der Gesamtmenge aller PSA-Rezidive vergleicht. So wurde bei 558 von 2708 Männern insgesamt ein biochemisches Rezidiv verzeichnet, bei 76,2% von 558 lag dabei ein Stadium pT3-4 vor. Das pathologisch lokal begrenzte Stadium hatte hingegen lediglich einen Anteil von 23,8%. Betrachtet man die einzelnen Stadien (pT3a, pT3b, pT4) verdeutlicht sich die Abhängigkeit zwischen PSA-rezidivfreiem Überleben und dem pT-Stadium noch mehr. So kam es bei 38 von 46 Männern (82%) mit einem pT4-Tumor zu einem biochemischen Rezidiv. Beim pT3b-Prostatakarzinom wurde bei 203 (60%) von 338 ein PSA-Rezidiv dokumentiert, für das pT3a-Karzinom waren es nur noch 184 von 587, was einem Anteil von 31% entspricht (siehe Tabelle 3) [46].

	<b>Stadium</b>	<b>Anzahl Patienten [n]</b>	<b>BCR [n]</b>	<b>Anteil [%]</b>
Lokal begrenzt	pT2a	279	14	5%
	pT2b/2c	1462	119	8%
Lokal fortgeschritten	pT3a	587	184	31%
	pT3b	338	203	60%
	pT4	42	38	82%

**Tabelle 3: Entwicklung eines biochemischen Rezidivs in Abhängigkeit des pT-Stadiums [46].**  
BCR: PSA-Rezidiv

Im Hinblick auf das karzinomspezifische Überleben nach RPE bei klinisch fortgeschrittenem Prostatakarzinom (cT3) wurden in vielen verschiedenen Studien der letzten Jahre gute Überlebensraten beschrieben. So zeigten Ward et al. in einer Serie mit 841 Patienten ein karzinomspezifisches Überleben von 95% nach 5 Jahren, von 90% nach 10 und von 79% nach 15 Jahren Follow-up [47]. Hsu et al. konnte bei 200 Männern mit 98,7% bei 5 Jahren und 91,6% bei 10 Jahren ähnliche Zahlen präsentieren [48], ebenso waren in einer anderen Studie mit n=176 die Zahlen für

das karzinomspezifische Überleben nach 5 Jahren bei 94%, nach 10 Jahren bei 85% und nach 15 Jahren bei 76% [49]. Dabei ist allerdings zu beachten, dass bei bis zu 67% dieser Patienten ein multimodales Therapieschema angewandt wurde [47]. Diese Tatsache scheint unter anderem für die zum Teil sehr guten karzinomspezifischen Überlebensraten verantwortlich zu sein.

Allgemein wird der Stellenwert der RPE bei Vorliegen eines cT3-Tumors in der aktuellen Literatur kontrovers diskutiert. Nicht zuletzt aufgrund des „Overstaging“ der klinischen Tumore in 13-27% und des doch recht guten karzinomspezifischen Überlebens, wie oben beschrieben, wird in den aktuellen EAU-Guidelines zum Prostatakarzinom trotzdem zumindest für das lokal fortgeschrittene Karzinome mit einem PSA-Wert  $\leq 20$ , einem Gleason-Score  $\leq 8$  und einem klinischen Stadium  $\leq$  cT3a die RPE mit Lymphadenektomie als Therapieoption empfohlen [19].

### **1.6.3 Metastasiertes Stadium**

#### *1.6.3.1 Lymphogen/regional*

Beim Prostatakarzinom sind die regionären Lymphknotenmetastasen im Bereich unterhalb der Bifurkation der Aa. Iliacae communis gelegen. Der Befall dieser Lymphknoten entspricht nach der TNM-Klassifikation dem Stadium N1.

Die bildgebende präoperative Diagnostik, z.B. mittels Computertomographie (CT), hat nur eine beschränkte Aussagekraft im Hinblick auf die Erkennung von Lymphknotenmetastasen beim Prostatakarzinom [50], denn ein suffizientes Lymphknotenstaging ist nur durch eine Lymphadenektomie gewährleistet [19].

Der Befall der regionären Lymphknoten nach RPE ist prognostisch für den Patienten ungünstig, da eine hohe Anzahl von Ihnen einen systemischen Progress entwickeln und damit letztendlich als „Therapie-Versager“ anzusehen sind [19]. Daraus resultiert, dass viele der Patienten mit lokal befallenen Lymphknoten auch nur noch einer palliativen Therapie zugänglich sind [51].

Eine Studie mit 235 Patienten, bei denen histologisch gesichert eine Lymphknotenmetastasierung vorlag, unterstreicht die eher schlechte Prognose für diese Patientengruppe. Hier verstarben nach 13 Jahren Follow-up insgesamt 193 Männer und davon 59,4% an dem Prostatakarzinom [52]. Zu beachten ist, dass

diesen Patienten dabei trotzdem eine antihormonelle Therapie verabreicht wurde. Eine lokale Therapie des Prostatakarzinoms erfuhren die Patienten aus dieser Gruppe allerdings nicht.

Bezüglich des PSA-rezidivfreien Überlebens wurde in einer anderen Serie bei 75% der Patienten im pN+ Stadium im Verlauf ein PSA-Rezidiv verzeichnet [46].

Trotzdem konnte für die Therapie mittels RPE und gleichzeitiger hormoneller Behandlung ein karzinomspezifisches Überleben nach 10 Jahren von 80% gezeigt werden [53].

Nach den EAU-Guidelines kann den Patienten mit Befall der lokoregionären Lymphknoten nach RPE und Lymphadenektomie eine hormonelle Therapie angeboten werden, in speziellen Fällen sei aber auch eine PSA-Verlaufskontrolle und eine hormonelle Therapie erst im Falle eines PSA-Anstiegs möglich. Generell wird im Stadium N+, M0 eine Hormontherapie als Standardtherapie empfohlen [19].

#### *1.6.3.2 Hämatogen/Fernmetastasen*

Das Stadium M1 wird untergliedert in die Gruppen M1a-c. Bei Vorliegen eines M+ Stadiums spricht man auch von Fernmetastasen. Hierbei können extraregionäre Lymphknotenmetastasen auftreten (M1a), liegt eine ossäre Filialisierung vor spricht man vom Stadium M1c, gibt es noch andere Fernmetastasen wird der Befund als Stadium M1c klassifiziert.

Hämatogen metastasiert das Prostatakarzinom primär ossär, Lungen- oder Lebermetastasen sind eher selten.

Liegt ein M1-Stadium vor, so ist die Prognose für den Patienten bezüglich des Krankheitsverlaufs nochmals deutlich schlechter, als bei den Patienten mit lokalen Metastasen. So zeigten Aus et al. 2005 bei 8887 zwischen 1987-1999 im Krebsregister Schweden registrierten Prostatakarzinompatienten, dass sich das karzinomspezifische Überleben zwischen den Stadien M0 und M1 signifikant unterscheidet. Insgesamt lag bei 4121 (46%) Patienten ein M0-Tumor vor, bei 1616 (18%) ein M1 und bei 3150 ein Mx. Dabei lag nach 6 Jahren Follow-up in der M1-Gruppe gerade noch ein karzinomspezifisches Überleben von ca. 20% vor. Im Vergleich dazu lag es in der M0-Gruppe noch deutlich über 80% (siehe Abb. 2). Nach 10 Jahren war das kumulative Überleben immer noch ca. 7-mal höher als in der M1-Gruppe [54].

Liegen Fernmetastasen beim Prostatakarzinom vor, ist letztendlich eine Heilung nicht mehr möglich.

Nach den EAU-Guidelines ist die Hormontherapie im Falle eines M+-Stadiums das primäre Standardverfahren, wobei auch symptomatische Patienten diese Therapie erhalten sollten [19].

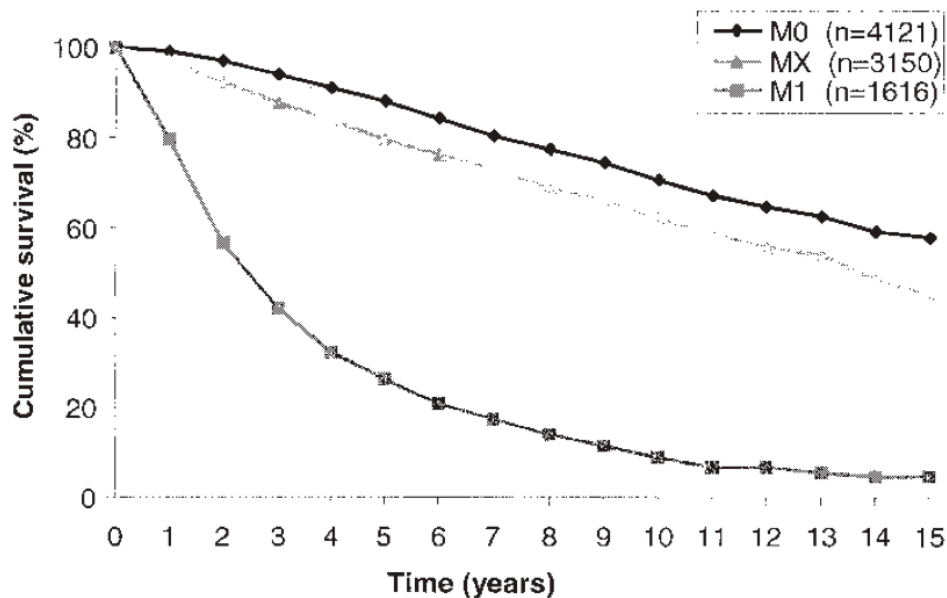


Abbildung 2: Einfluss des M-Stadiums auf das karzinomspezifische Überleben [54]

## 1.7 Metastasierung des Prostatakarzinoms, Aspekte des organüberschreitenden Wachstums

### 1.7.1 Die Rolle der perineuralen Invasion

Das organüberschreitende Wachstum eines Prostatakarzinoms ist ein Prädiktor für eine Metastasierung der Erkrankung. Ein entscheidender Mechanismus für den Durchbruch des Tumors durch die Kapsel ist hierbei die perineurale Invasion des Prostatakarzinoms [55].

Eine einheitliche und genaue Definition des Begriffs „perineurale Invasion“ existiert in der aktuellen Literatur nicht. Ursprünglich wurde 1985 von Batsakis et al. die Definition eines Wachstums des entsprechenden Tumors in, um und durch einen Nerv postuliert [56]. In einer von Liebig et al. 2009 veröffentlichten Arbeit wurden bei der Definition zudem auch jüngere Studien zu diesem Thema berücksichtigt. So sind hier eine enge Nachbarschaft zum Nerv und ein Einschluss von mind. 33% seiner Zirkumferenz so wie der Nachweis von Tumorzellen in einer der drei Schichten der Nervenscheide mit eingeflossen [57].

Die Bedeutung der perineuralen Invasion (PNI) wird durch verschiedene Veröffentlichungen veranschaulicht.

In einer Serie von 2001 mit insgesamt 640 Patienten konnte z.B. eine PNI von Prostatakarzinomzellen in nicht weniger als 75% aller Prostatakarzinom-Präparate nachgewiesen werden, wobei sich eine deutliche Abhängigkeit zwischen dem Durchmesser der PNI im Präparat und dem pT-Stadium fand [58]. So zeigte sich in der Gruppe mit einem PNI-Durchmesser im Präparat von 12,5% bis zu 25% (n=144), wobei 100% dem größten Durchmesser entspricht, bei 72% ein pT1 –pT2 N0 Stadium. Betrachtet man die Gruppe mit 25-50% Durchmesser (n=200), so hatten hier immerhin 52% der Patienten einen pT3a N0-Tumor und sogar insgesamt 76% ein pT3a Stadium oder schlechter bzw. Lymphknotenmetastasen. Bei einer Höhe von 50-75% PNI lag dann sogar bei 92% ein lokal fortgeschrittener Tumor oder bereits eine Metastasierung vor.

In einer anderen Studie im Hinblick auf Patienten ohne Lymphknotenmetastasen konnte bei immerhin 25% in der Prostatastanzbiopsie eine PNI nachgewiesen werden [57].

Villers et al. zeigten in einer Serie von 78 Patienten mit extrakapsulärem Wachstum eines Prostatakarzinoms, dass bei 50% der Präparate der Tumor ausschließlich über den Weg der PNI die Kapsel überschritt. In den restlichen 50% war die PNI der überwiegende Weg der Penetration der Kapsel, daneben lag aber auch ein direkter Durchbruch des Tumors vor [55]. Gerade diese Zahlen unterstreichen die Bedeutung der perineuralen Invasion für die Ausbildung eines lokal fortgeschrittenen Karzinoms, da wohl bei einem Großteil der Karzinome ein Kapseldurchbruch über sie geschieht. McNeal et al. konnten zudem 2001 an 571 Prostatektomiepräparaten zeigen, dass Prostatakarzinome der peripheren Zone mit einem Volumen > 4 ccm hauptsächlich ein Wachstum in Richtung Prostatabasis entlang von Nerven präsentieren. In diesem Bereich lag dann auch am häufigsten ein Durchbruch der Prostatakapsel vor [59].

Außerdem wurde das Vorkommen einer PNI in Prostatastanzbiopsien als zuverlässiger Prädiktor von extrakapsulärem Wachstum identifiziert [60-62]. In einer Serie mit 1550 Patienten zeigt sich die PNI in Prostatektomiepräparaten sowohl in der univariaten als auch in der multivariaten Analyse als signifikanter Prädiktor für das Vorkommen eines höheren pT-Stadiums und das Vorliegen von positiven Absetzungsändern [63].

Trotzdem wird die Bedeutung der PNI in der aktuellen Literatur gerade im Hinblick auf das PSA-rezidivfreie Überleben und die prognostische Signifikanz kontrovers diskutiert [57, 60-64].

Unbestritten bleibt aber dennoch die Tatsache, dass die PNI eine wichtige, wenn nicht sogar die entscheidende Rolle beim kapseldurchbrechenden Wachstum des Prostatakarzinoms spielt [55, 56, 65, 66].

### **1.7.2 Neuroepitheliale Interaktionen beim Prostatakarzinom**

Viele Autoren sehen die PNI vereinfacht als „Weg des geringsten Widerstands“, durch den das PC organüberschreitend wächst und metastasiert [60, 67].

In den letzten Jahren wurden jedoch mehrere Arbeiten veröffentlicht, in denen der Mechanismus der PNI bei der Metastasierung wesentlich komplexer zu sein scheint, als zuvor angenommen wurde.

So zeigten Ayala et al. 2001 erstmals, dass die PNI ein aktiver, spezifischer und reziproker Prozess zu sein scheint, der auf einer Interaktion zwischen Nerven und Prostatakarzinomzellen basiert [68]. Hierbei wurden in vitro verschiedene Prostatakarzinomzelllinien (Du-145, LnCaP, PC3) sowie Stromazellen (HTS-40F) zusammen mit Spinalganglien aus Mäusen in einer Matrigel Matrix angezüchtet. Zudem wurden Kontroll-Kulturen mit den verschiedenen Zelllinien einzeln angelegt. Es wurde zum einen ein verstärktes richtungsgebundenes Wachstum von Neuriten in Richtung von Prostatakarzinomzellkolonien beobachtet. Dabei bestand zudem ein Zusammenhang zwischen der Anzahl der gesäten Tumorzellen und dem Wachstum der Neuriten. So zeigte sich bei einer Konzentration von  $1 \times 10^4$  Zellen/Matrigel-Tropfen kein vermehrtes Wachstum, bei einer Konzentration von  $1 \times 10^5$  und  $1 \times 10^6$  Zellen zeigte sich hingegen ein signifikant verstärktes Wachstum von Neuriten in Richtung Tumorzellkolonie. Zum anderen konnte auch ein vermehrtes Wachstum der Prostatakarzinom-Kolonie in Anwesenheit des Spinalganglions nachgewiesen werden. So war z.B. nach 48 Stunden Anzüchtung der Ko-Kulturen von DU-145 mit Spinalganglien die Fläche der Karzinomzellkolonie ca. 50% größer als die der Kontrollkolonie allein. Auch der Kontakt-Zeitpunkt war hier abhängig von der Konzentration von Tumorzellen. In den Kolonien mit größter Konzentration kam es bereits nach einem Tag zum Kontakt, bei niedriger Zelldichte kam es erst am dritten Tag zur Verbindung zwischen Neurit und Tumorzelle. Nachdem ein Kontakt von dem Neurit mit der Tumorzellkolonie hergestellt war, verringerte sich das Wachstum des

Neurits. Dies war ein weiterer Hinweis auf eine gerichtete Rekrutierung von Neuriten-Wachstum zum Tumor hin.

Anschließend konnte im Verlauf eine retrograde Migration von Karzinomzellen entlang des kontaktierenden Neurits im perineuralen Raum, hin zum ursprünglichen Spinalganglion beobachtet werden. Dies entspricht einer PNI, wobei hier von Ayala et al. angenommen wird, dass der Kontakt von Neuriten epitheliale Karzinomzellen zur Proliferation und Migration entlang der vorbestehenden Nerven stimuliert.

Die oben genannten Phänomene konnten für alle Prostatakarzinom-Zelllinien (LNCaP, PC3) nachgewiesen werden. Hingegen konnten keine Interaktionen von Nervenzellen und Stromazellen der Prostata beobachtet werden.

Cornell et al. setzten die Forschung in diesem Bereich fort und veröffentlichten 2003 eine weitere Arbeit zu diesem Thema, in welcher die neuroepithelialen Interaktionen zwischen Prostatakarzinomzellen und Nervenzellen in Anwesenheit von Stromazellen untersucht wurden [69]. Hierbei wurden wiederum die bereits vorher genannten Prostatakarzinomzelllinien LNCaP, PC3 und DU-145 zusammen mit Spinalganglien der Maus und einer menschlichen humanen Prostatastromazelllinie (HTS-40C) in einer Matrigel Matrix kultiviert. Karzinom/Ganglien Ko-Kulturen allein fungierten als Kontrollgruppe. Dabei wurden sowohl das Wachstum der Karzinomzellen und der Neuriten als auch die perineurale Invasion quantifiziert.

Die mittlere Neuritenausprossung war in Präsenz von Stromazellen und PC3- bzw. LNCaP-Zellen jeweils um bis zu 88,1% bzw. bis zu 70,8% verstärkt. Bei der DU-145-Zelllinie konnte dieses Phänomen nicht beobachtet werden. Allerdings war bei allen 3 Prostatakarzinomzelllinien eine Verstärkung der PNI und des Karzinomzellenwachstums in Verbindung mit Stromazellen zu verzeichnen. So wurde in der LNCaP-Linie eine Zunahme der Zellfläche um 54,7%, in der PC3-Linie um 88,5% und in der DU-145-Linie um 43,3% nachgewiesen. Die PNI der Linien LNCaP, PC3 und DU-145 war jeweils 33,8%, 24,3% und 26,1% verstärkt.

Zusammenfassend konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass neuroepitheliale Interaktionen im Prostatakarzinom in der Anwesenheit von prostaticem Stroma signifikant verstärkt wurden.

Zusammenfassend deuten die zitierten Arbeiten darauf hin, dass der PNI weniger ein Weg des geringsten Widerstands zugrunde liegt. Viel mehr scheint das

Zusammenspiel parakriner, autokriner und endokriner Faktoren eine wichtige Rolle bei einem komplexen aktiven Prozess der Organüberschreitung des Prostatakarzinoms zu spielen. Allerdings sind die Signaltransduktionswege und Botenstoffe die für die Interaktionen zwischen Nervenzelle, Prostatakarzinomzelle und Stroma verantwortlich sind, noch nicht eindeutig identifiziert.

## **1.8 Fragestellung und Ziel der Arbeit**

Wie einleitend zusammengefasst wurde, hat ein organüberschreitendes Prostatakarzinom für den Patienten eine ungünstigere Prognose als ein Tumor im organbegrenzten Stadium. Wie zahlreiche Untersuchungen belegen konnten, handelt es sich bei der lokalen Progression des Prostatakarzinom nicht um ein simples Wachstum des Tumors durch die Kapsel hindurch, vielmehr scheinen komplexe Interaktionen von Prostatakarzinomzellen, neuroepitheliale Gewebe und prostatiche Stromazellen zu existieren, die die Voraussetzung für eine perineurale Invasion und Progression des Tumors bilden.

Trotz der Relevanz dieser Untersuchungen für das Verständnis der Progression des Prostatakarzinoms zum organüberschreitenden und metastasierten Tumor sind bisherige Untersuchungen durch die Tatsache limitiert, dass es sich hierbei ausschließlich um in-vitro Studien mit Zelllinien handelt. Bisher liegen keine Untersuchungen vor, die sich mit einer quantitativen Analyse kapsulärer Nerven der Prostata in Abhängigkeit von Prostatakarzinomgewebe befassen. Aufbauend auf dem Konzept der neuroepithelialen Interaktion befasst sich die vorliegende Dissertation mit der Fragestellung, ob Prostatakarzinomverbände mit einer quantitativen Zunahme von Nerven der benachbarten Prostatakapsel einhergehen. Dies ist die erste Untersuchung, welche die Theorie einer aktiven Nervinduktion bei der Organüberschreitung des Prostatakarzinoms durch eine quantitative Analyse ergänzt.

## **2 Material und Methoden**

### **2.1 Präparate**

#### **2.1.1 OP-Methode EERPE**

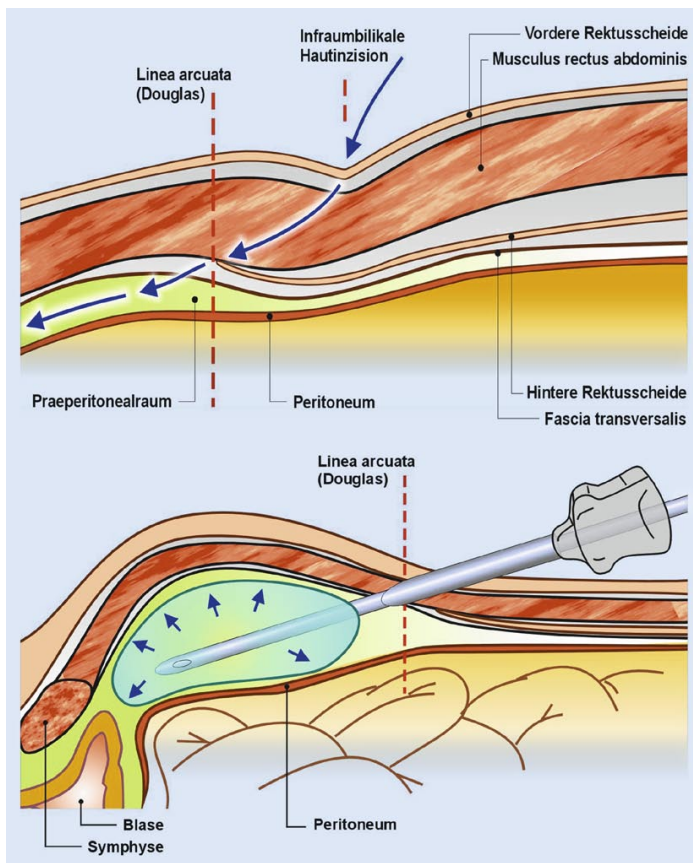
Alle verwendeten Prostatektomiepräparate wurden an der Klinik für Urologie der Universität Regensburg im Rahmen einer endoskopischen extraperitonealen radikalen Prostatovesikulektomie (EERPE) ohne Nervschonung gewonnen.

Hierbei handelt es sich um ein minimal-invasives Operationsverfahren, welches im Jahr 2004 in der Abteilung als Standardmethode der radikalen Prostatektomie eingeführt wurde.

Die Entwicklung der EERPE ist gekennzeichnet durch die erstmals von Schuessler et al. 1997 beschriebene laparoskopische radikale Prostatektomie mit insgesamt 9 Fällen [73]. 1999 berichtete Guillonnet et al. über diese OP-Technik in einer größeren Serie von 40 Patienten. Die mittlere OP-Zeit wurde hierbei von 9,4 Stunden (Schuessler et al.) auf 270 Minuten gesenkt [74]. Der erste extraperitoneale Zugang für eine laparoskopische Prostatektomie wurde 1997 von Raboy et al. veröffentlicht, Bollens et al. legte 2001 eine größere Serie nach [75, 76]. Die Etablierung der EERPE in der Technik, wie sie auch an unserer Abteilung durchgeführt wird, erfolgte letztendlich 2002 durch Stolzenburg et al. [70]. Im Folgenden wird eine kurze Beschreibung der Operationstechnik mit den wichtigsten Teilschritten wiedergegeben. Auf eine Beschreibung der nervschonenden Operationstechnik wird allerdings hierbei verzichtet, da in dieser Arbeit nur Präparate untersucht wurden, die nach EERPE ohne Nervschonung gewonnen wurden.

Nach Lagerung des Patienten in 10-15° Trendelenburglagerung erfolgt eine ca. 1,5 cm lange Inzision unterhalb des Nabels, anschließend eine Querinzision des vorderen Blatts der Rektusscheide und ein stumpfes Auseinanderdrängen des M. rectus abdominis. Nach Darstellung des hinteren Blattes der Rektusscheide erfolgt auf dieser nach distal zunächst stumpf die Entwicklung des Präperitonealraumes. In dieser Schicht erfolgt dann das Einbringen eines Ballontrokars, mit welchem der Präperitonealraum unter Sichtkontrolle etabliert wird (Abb. 3).

Nach Entfernung des Ballontrokars wird ein Optiktrokar eingebracht, über den dann bis zu einem Druck von 12 mmHg CO<sub>2</sub>-Gas insuffliert wird. Außerdem erfolgt die Platzierung von 4 weiteren Arbeitstrokaren. Bei bestehender Indikation wird jetzt die pelvine Lymphadenektomie durchgeführt.

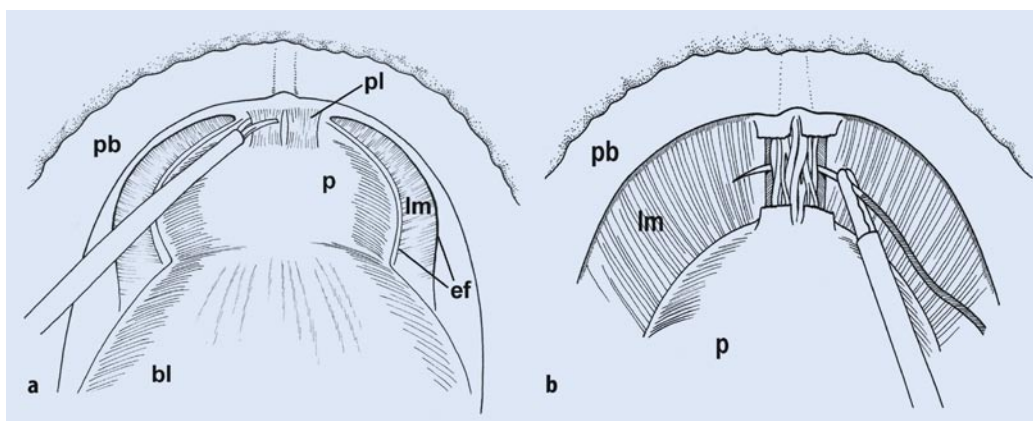


**Abbildung 3: Präparation des Präperitonealraumes [107]**

Obere Abbildung: Dissektion entlang der eingezeichneten Linie (Pfeile) bis auf die hintere Rektusscheide.

Untere Abbildung: Präparation des Präperitonealraumes mittels Ballontrokar

Nach stumpfem Darstellen der Vorderfläche der Prostata und der endopelvinen Faszie wird diese inzidiert und die puboprostatistischen Bänder durchtrennt. Darauf erfolgt die Umstechung des Plexus Santorinii (Abb. 4).



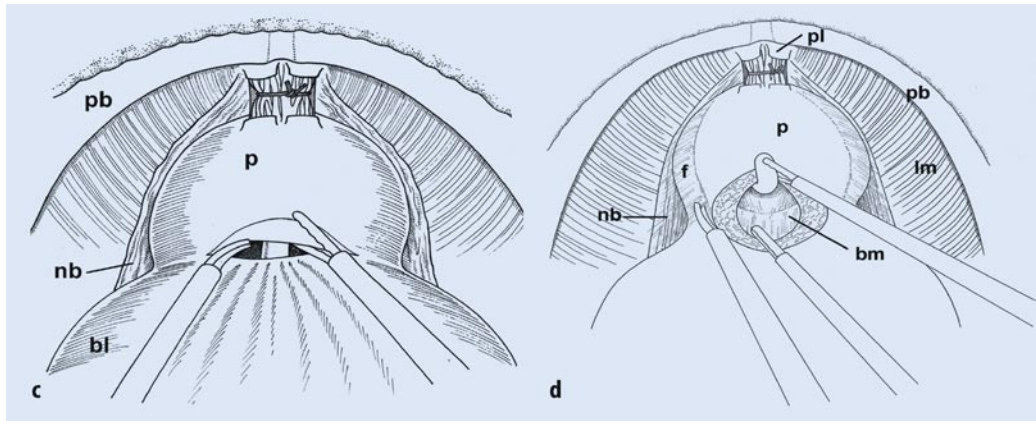
**Abbildung 4: a Darstellen des Blasenhalses und der Prostata, Inzision der endopelvinen Faszie, Durchtrennung der puboprostatistischen Bänder [108].**

**b Ligatur des Plexus Santorinii.**

p Prostata, bl Harnblase, lm M. levator ani, ef endopelvine Faszie (inzidiert), pl puboprostatistische Bänder

Anschließend wird der Blasenhals inzidiert und der entblockte Katheter hervorluxiert. Vom Assistenten wird dieser unter Zug in Richtung Symphyse fixiert und die

Präparation des Blasenhalses mit Durchtrennung der dorsalen Zirkumferenz fortgesetzt (Abb. 5).

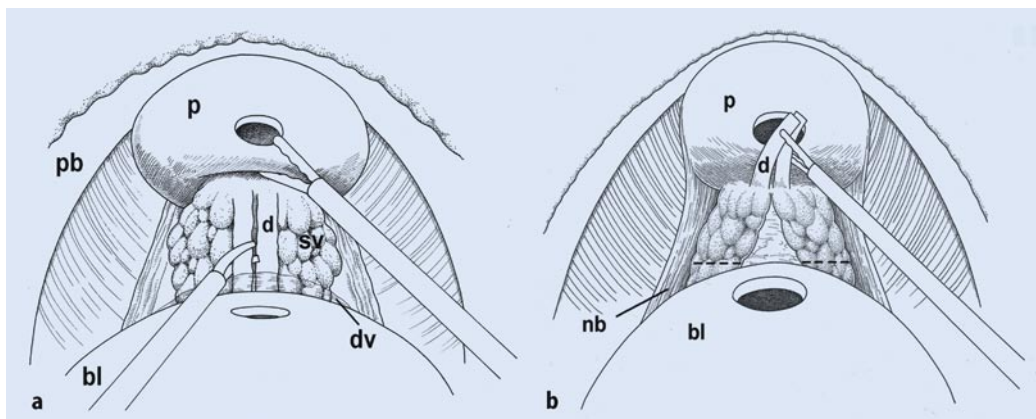


**Abbildung 5: c Anteriore Blasenhaldissektion.**

**d Inzision der Prostatafaszie auf der lateralen Oberfläche zur Mobilisation des Gefäß-Nerven-Bündels vor Durchtrennung der dorsalen Blasenhalzsirkumferenz [108]**

pb Arcus pubis, p Prostata, bl Harnblase, bm Blasenmukosa, lm M. levator ani, pl puboprostatiche Bänder, f Faszie, nb Gefäß-Nerven-Bündel

Nun werden die Ampullen der beiden Ductus deferentes durchtrennt und vom Assistenten nach kranial gehalten, wodurch die Samenblasen zur Darstellung kommen. Anschließend werden diese vorsichtig frei präpariert. (Abb. 6).

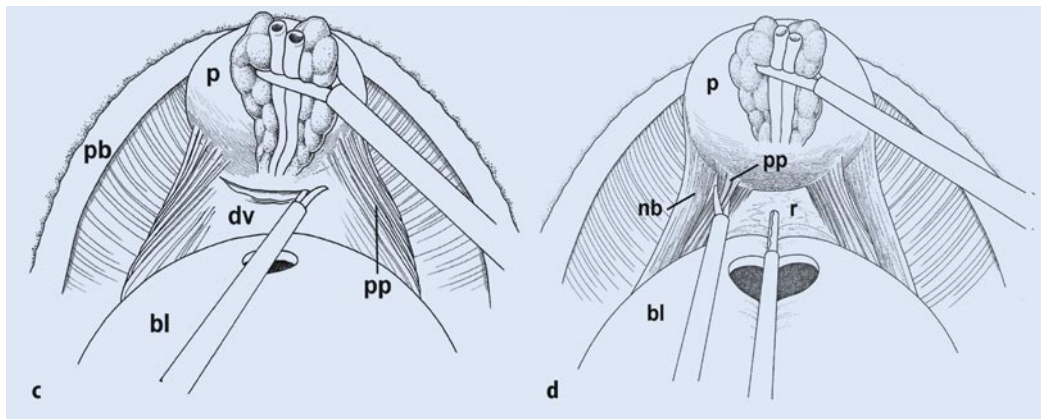


**Abbildung 6: a Durchtrennung der Ampullen der Ductus deferentes.**

**b Präparation der Samenblasen (Dissektion entlang der gestrichelten Linie bei Nervschonung) [108]**

pb Arcus pubis, p Prostata, bl Harnblase, nb Gefäß-Nerven-Bündel, d Ductus deferens, sv Samenblasen, dv Denonvillier-Faszie, pp Prostatapeiler

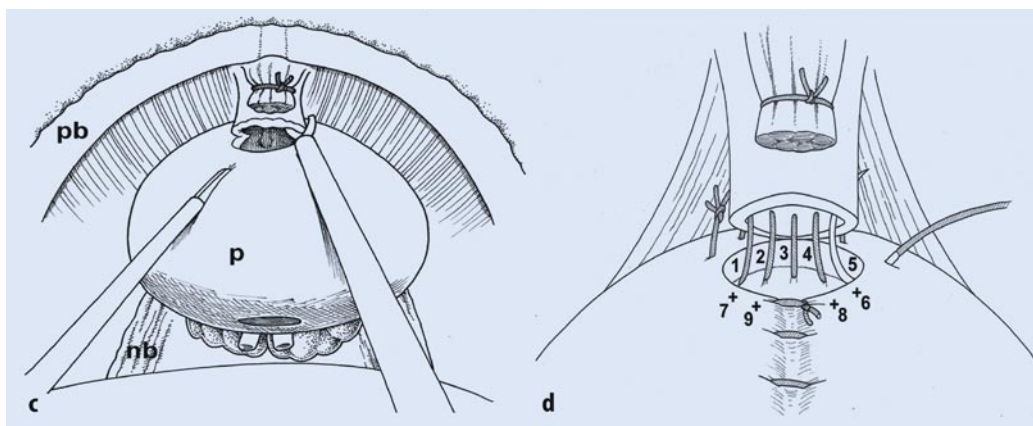
Nach Darstellung der lateralen Prostatapeiler und der Denonvillier-Faszie wird diese unmittelbar kaudal der Prostata querinzidiert und das Rektum in der Mittellinie stumpf abpräpariert. Nach vollständiger Durchtrennung der Denonvillier-Faszie wird die Prostata vom Assistenten nach kranial gehalten, wodurch die Prostatapeiler und das Gefäß-Nerven-Bündel deutlich zur Ansicht kommen (Abb. 7). Nun wird schrittweise der Prostatapeiler der einen Seite mit z.B. einer Ultraschallschere durchtrennt (Abb. 7).



**Abbildung 7: c Inzision der posterioren Denonvillier-Faszie und Mobilisation des Rektums. d Dissektion der kranialen Prostatapfeiler und Separieren des Gefäß-Nerven-Bündels [108]**

pb Arcus pubis, p Prostata, bl Harnblase, nb Gefäß- Nerven-Bündel, dv Ductus deferens, sv Samenblasen, pp Prostatapfeiler, r Rektum

Nach Dissektion des Plexus Santorini wird die Urethra an ihrer Grenze zur Prostata abgesetzt und die apikale Dissektion ventral von lateral nach medial begonnen. Nach Durchtrennung der ventralen Harnröhrenzirkumferenz, Hervorluxieren des Katheters und Fixation in Richtung Symphyse erfolgt die Dissektion der dorsalen Urethra (Abb. 8).



**Abbildung 8: c Apikale Dissektion.**

**d Urethrovesikale Anastomose, Blasenhalseinengung bei 12 Uhr falls erforderlich [108]**

pb Arcus pubis, p Prostata, nb Gefäß-Nerven-Bündel

Das Prostatapräparat wird nun in einen Bergebeutel verbracht und im linken Unterbauch fixiert. Die Bergung des Präparats erfolgt dann erst am Ende der Operation durch eine Erweiterung einer Trokareinstichstelle.

Als letzter Schritt wird jetzt die urethrovesikale Anastomosennaht begonnen. Sie wird meist mit 8-10 Einzelknopfnähten genäht, wobei die Nähte am Blasenhals von Außen nach Innen und an der Urethra von Innen nach Außen gestochen werden. Alle Knoten werden intrakorporal extraluminal geknüpft. Die erste Naht wird in 8 Uhr-

Position gesetzt, darauf folgen die 7, 6 und 5 Uhr Naht, wobei nach jedem Stich der Katheter in die Urethra zurückgezogen wird, um eine Fixierung des Katheters durch die Naht auszuschließen.

Nach der 4 Uhr-Naht wird der Katheter in der Blase platziert. Zuletzt erfolgen die Nähte der lateralen und ventralen Anastomose (Abb. 8).

Nach der Dichtigkeitsprüfung der Anastomose wird eine 20 Ch. Robinson-Drainage über die Trokareinstichstelle im rechten Unterbauch lateral der Anastomose eingelegt.

Abschließend erfolgt die Bergung des Präparats über den Bergebeutel und einer Erweiterung der Trokarinzision im linken Unterbauch. Alternativ kann bei kleinem Prostatavolumen über den subumbilikalen Kameraport erfolgen.

### **2.1.2 Großflächenschnitte**

Die gesamte histopathologische Aufarbeitung der Operationspräparate wurde im pathologischen Institut der Universität Regensburg durchgeführt.

Dabei wurden Großflächenschnitte der Prostatapräparate angefertigt. Hierzu wurde die gesamte Prostata in ca. 1,5 cm dicke transversale Scheiben geteilt, welche dann in Formalinlösung (4%) für 36 Stunden fixiert und anschließend in Paraffin im Format 5 x 7 cm eingebettet wurden.

Anschließend wurden aus den Blöcken mit einem Microtom (HM 430, Microm International GmbH, Deutschland) transversale Großflächenschnitte mit einer Dicke von 10 µm geschnitten. Der Apex des Prostatapräparats wurde hierbei nach dem Stanford-Protokoll aufgearbeitet. Dabei wird der Apex kegelförmig von der Prostata separiert und anschließend in sagittale Schnitte lamelliert [97].

In dieser Arbeit wurden jeweils drei korrespondierende Großflächenschnitte aus dem Apex, der Mitte und der Basis der Prostata angefertigt.

### **2.1.3 Färbemethoden**

#### ***2.1.3.1 Hämatoxylin-Eosin-Färbung***

Von jeder Prostata wurden jeweils ein Schnitt von Basis, Mitte und Apex mittels Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE-Färbung) angefärbt.

Die HE-Färbung ist eine der am weitest verbreiteten Routinefärbemethoden zur morphologischen Untersuchung von Gewebeschnitten. In zwei Einzelfärbungen erfolgt dabei zunächst durch Hämatoxylin eine Tönung der Zellkerne und des rauen endoplasmatischen Retikulums in das typische Blauviolett. Im zweiten Schritt wird durch Eosin eine rötliche Färbung der Zellplasmae Proteine und damit des Zytoplasmas erreicht.

Nach Inkubation des Präparats für 15-20 Minuten im Brutschrank bei 72°C erfolgt die Entparaffinierung über eine absteigende Alkoholreihe. Dabei wird der Schnitt in verschiedene Alkohollösungen in absteigender Konzentration für eine bestimmte Zeit getaucht, wodurch eine Lösung des Paraffins aus dem Gewebe erreicht wird. Zuerst wird der Objektträger jeweils zweimal für 5 Minuten in eine 5% Xylol-Lösung getaucht, anschließend für 2-3 Minuten in 100% Ethanol, dann 2-3 Minuten in 96% Ethanol und zuletzt (allerdings im Gegensatz zu den vorherigen Schritten nur einmal) in 70% Ethanol für 2-3 Minuten. Danach wird der Objektträger gründlich mit destilliertem Wasser gespült.

Nach der absteigenden Alkoholreihe beginnt die eigentliche Färbung des Präparats. Das Präparat wird zu Beginn für 3 Minuten in Hämalaun, ein Inhaltsstoff des Blauholz (*Haematoxylon campechianum*), gebadet und anschließend unter fließendem lauwarmen Wasser gespült. Dieser Vorgang wird auch als „Bläuen“ bezeichnet.

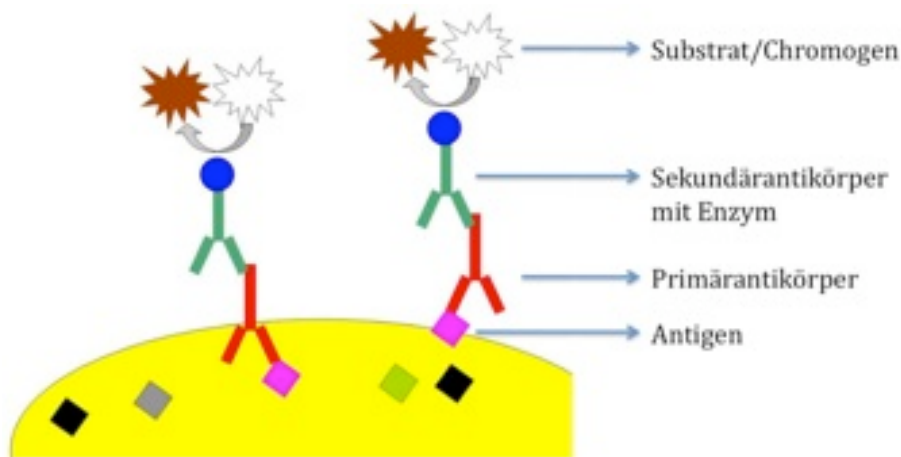
Anschließend erfolgt ein 1-minütiges Bad in Eosin, ein roter, saurer Triphenylmethanfarbstoff (Xanthen-Farbstoff). Auch hier wird im nächsten Schritt die überflüssige Farbe unter fließend lauwarmem Wasser gespült.

Dieser Prozedur schließt sich nun eine aufsteigende Alkoholreihe an. Hierbei handelt es um das genau umgekehrte Vorgehen zur vorher beschriebenen absteigenden Alkoholreihe. Es wird mit der 70%-igen Ethanol-Lösung für eine Einwirkzeit von 2-3 Minuten begonnen, die Reihe endet mit einem zweimaligen 5-minütigen Bad in 5% Xylol-Lösung.

Abschließend wird das nun fertig gefärbte Präparat in typischer Art und Weise mit Etellan und einem Deckglas verschlossen.

#### *2.1.3.2 Immunhistochemische Nervenfärbung (S100)*

Die prinzipielle Funktionsweise einer immunhistochemischen Färbemethode ist in folgender Abbildung dargestellt (Abb. 9).



**Abbildung 9: Schematische Darstellung einer immunhistochemischen Färbung**

In dieser Arbeit wurde zu den HE-Schnitten jeweils zwei direkt benachbarte Schnitte in einer S 100-Färbung angefertigt.

Hierbei handelt es sich um ein immunhistochemisches Färbeverfahren zur Markierung von S-100-Proteinen in Nervengewebe.

S-100 ist eine Multi-Gen-Familie von  $\text{Ca}^{2+}$ -bindenden Proteinen. Sie besteht aus 19 Mitgliedern, die auf verschiedensten Zelltypen vorkommen. Die Untergruppe S100B speziell kommt reichlich in Gliazellen des peripheren und zentralen Nervensystems sowie in Unterpopulationen von Neuronen vor.

Aufgrund dessen entschieden wir uns bei unserer Fragestellung genau für einen Primärantikörper gegen S-100 (polyklonaler Kaninchen-Antikörper, Dako, Dänemark).

Der Sekundärantikörper besteht aus einem mit Peroxidase (Meerrettichperoxidase, horseradish-peroxidase, HRP) markiertem Polymer welches mit einem Ziege-Anti-Kaninchen-Immunglobulin konjugiert wurde (EnVision+ Dual Link System-HRP, Dako, Dänemark).

Als Substratchromogensystem verwenden wir das Liquid DAB+ Substrate Chromogen System ebenfalls der Firma Dako, Dänemark. Dies ist ein hochempfindliches DAB-System welches sich zur Verwendung bei auf Peroxidase basierenden immunhistochemischen Färbemethoden eignet. Das Chromogen DAB (3,3'-Diaminobenzidin) bildet hier nach der Oxidierung am Zielantigen einen braunen Farbstoff. Als Substrat dient, wie bei den meisten auf Peroxidase basierenden immunhistochemischen Färbemethoden als Substrat Wasserstoffperoxid.

Im Folgenden wird das von uns angewandte Färbeprotokoll zur S-100-Färbung näher beschrieben:

Zunächst wird analog zur Anfertigung von HE-Färbungen das Präparat inkubiert und anschließend mit der absteigenden Alkoholreihe entparaffiniert. Sodann werden auf das Präparat ca. 5 Tropfen Proteinase K gegeben. Die Proteinase K wird für die proteolytische Verdauung formalinfixierter, paraffineingebetteter Gewebeschnitte vor der Anwendung immunhistochemischer Verfahren verwendet. Dabei wird die Zugänglichkeit von bestimmten Zielstellen für die Antikörper verbessert. Die proteolytische Verdauung legt bestimmte Epitope bzw. Stellen im Gewebeschnitt frei, die während der Fixierung maskiert wurden. Die Einwirkzeit für Proteinase K (Fa. Dako, Dänemark) beträgt 5 Minuten.

Anschließend wird der Schnitt mit destilliertem Wasser gewaschen, für 1 Minute mit Wasserstoffperoxid behandelt und dann mit einer Pufferlösung gewaschen.

Nun werden 300 µl des Primärantikörpers gegen S-100 in einer Verdünnung von 1:200 für 30 Minuten auf das Präparat gegeben. Darauf folgt ein 5-minütiges Reinigen mit Wasch-Puffer-Lösung.

Anschließend erfolgt die Inkubation des Gewebes mit dem Sekundärantikörper. Dazu werden 300 µl der gebrauchsfertigen EnVision+ Dual Link System-HRP-Lösung aufgetragen. Nach 30 Minuten Inkubation wird auch dieser Arbeitsschritt mit einer 5-minütigen Reinigung durch eine Wasch-Puffer-Lösung abgeschlossen.

Als letzter Schritt der immunhistochemischen Färbung werden 300 µl der Liquid DAB+ Substrate-Lösung in einer Verdünnung von 1:50 auf das Präparat aufgetragen. Nach einer Einwirkzeit von 10 Minuten wird dann mit destilliertem Wasser der Überschuss abgewaschen.

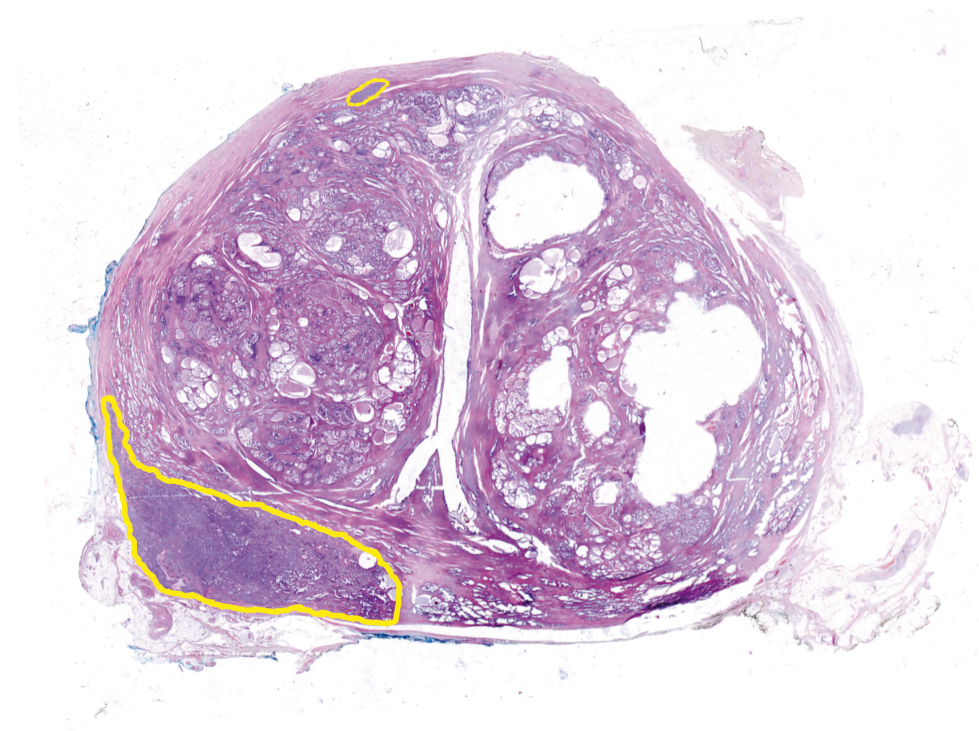
Hiermit ist die eigentliche immunhistochemische Färbung abgeschlossen, allerdings führten wir bei unseren Präparaten im Anschluss noch eine Hämatoxylin-Färbung durch. Dadurch sind die Präparate später wesentlich besser beurteilbar, da nun auch das restliche Prostatagewebe gefärbt erscheint.

Es schließen sich noch eine aufsteigende Alkoholreihe und das Versiegeln des fertigen Präparats mit Etellan als letzte Schritte an.

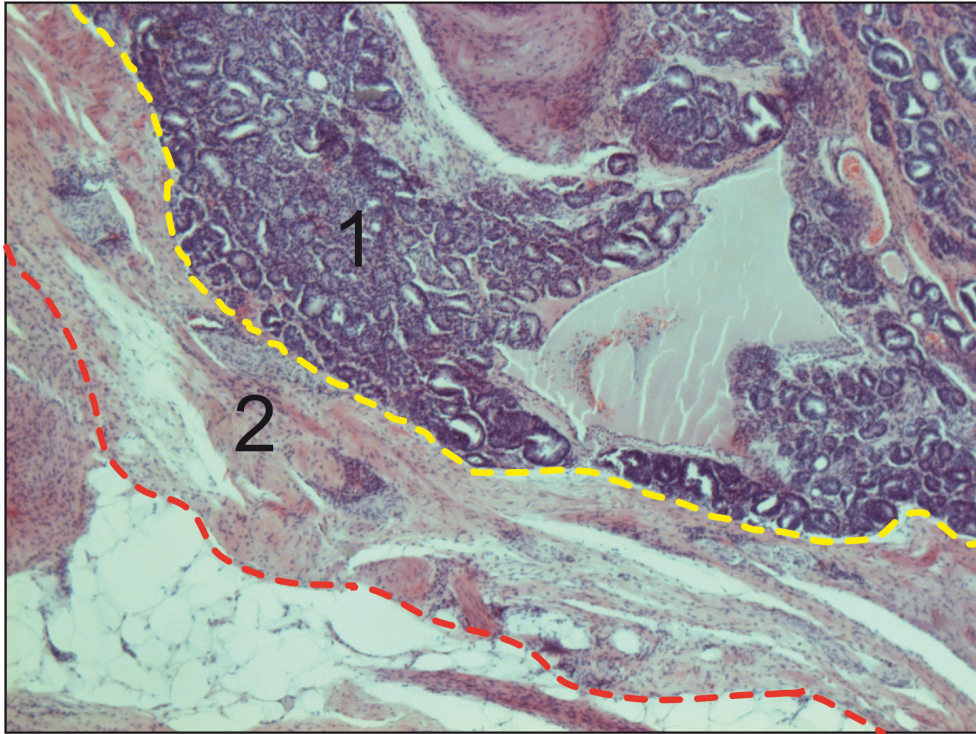
## **2.2 Histopathologische Diagnostik**

Anhand der HE-Schnitte erfolgte zunächst die reguläre pathologische Routinediagnostik.

Die Markierung der Tumorfoci erfolgte bei allen Präparaten anschließend durch ein und denselben Pathologen (Klinik für Pathologie der Universität Regensburg) um eine Konstanz der Bewertung der Schnitte zu gewährleisten. Hierbei wurden zunächst die Tumorherde auf den HE-Schnitten digital markiert. Hierbei erfolgte gleichzeitig eine Einteilung der Erkrankung nach dem TNM-System (Abb. 10 und 11). Eine Markierung der Tumorfoci mit einem Marker auf den benachbarten S 100-Schnitten erfolgte nicht, um einen Bias bei der Messung der Nerven durch die Markierung zu vermeiden. Außerdem ist zu beachten, dass die Diagnostik ohne Zeitverzögerung im Vergleich zur alltäglichen Routinediagnostik erfolgte.



**Abbildung 10: HE-Großflächenschnitt mit digital gekennzeichneten Prostatakarzinom-Foci**  
Einteilung nach dem TNM-System: Prostatakarzinom, pT3a, Gleason-Score 7



**Abbildung 11: HE-Großflächenschnitt (10fach vergrößert) mit Prostatakarzinom-Focus und Prostatakapsel**

1: Prostatakarzinom-Focus mit angrenzender Prostatakapsel (Grenze durch gelbe Linie gekennzeichnet);  
2: Prostatakapsel mit angrenzendem periprostatischem Gewebe (Grenze durch rote Linie gekennzeichnet)

## 2.3 Digitalisierung der Schnitte

Zur Digitalisierung der Schnitte wurden diese in einen hochauflösenden Flachbettscanner (Perfection V750, Epson, Meerbusch, Deutschland) eingelegt und mit einer Auflösung von 3200 dpi eingescannt. Die Bildinformationen wurden dann als Bilddatei im jpeg.-Format generiert und weiter bearbeitet.

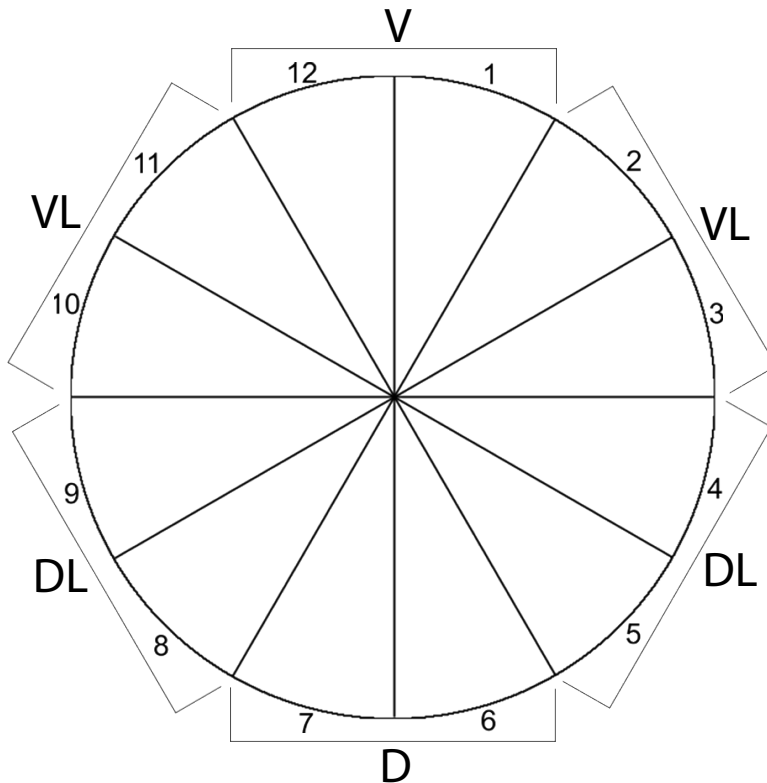
## 2.4 Bildbearbeitung der digitalisierten Schnitte

Die Bildbearbeitung erfolgte in dieser Arbeit mit dem Programm Photoshop Elements 6 und Adobe Illustrator CS3 (Adobe Systems, San José, USA).

### 2.4.1 Einteilung der Schnitte

Nach Ausrichtung der jeweiligen Schnitte mit dem dorsalen Anteil der Prostata nach unten wurde ein vorher angefertigtes Raster über das Bild des Prostataschnittes gelegt.

Das Raster (Abb. 12) teilt den Großflächenschnitt in 12 gleich große Sektoren. Die Nummerierung beginnt rechts neben der 12-Uhr-Position und verläuft im Uhrzeigersinn. Jeweils zwei Sektoren wurden dann folgendermaßen zu Regionen zusammengefasst: Sektoren 1/12: ventral (V), 2/3 und 10/11: ventro-lateral (VL), 4/5 und 8/9: dorsolateral (DL) und 6/7: dorsal (D).



**Abbildung 12: Raster zur Unterteilung eines Präparats in 12 Sektoren**  
V ventral; D dorsal; VL ventro-lateral, DL dorso-lateral

## 2.5 Computergestützte Bildverarbeitung

### 2.5.1 Image J Software

Die Auswertung bzw. weitere Untersuchung der Schnitte erfolgte mit dem frei zugänglichen und auf Java basierenden Computerprogramm ImageJ (open source). Dabei handelt es sich um ein Bildbearbeitungs- und Bildverarbeitungsprogramm, welches in verschiedenen Bereichen der Wissenschaft z.B. zur Bildanalyse eingesetzt wird. Es ermöglicht unter anderem eine Vermessung und Oberflächenberechnung von bestimmten Farbarealen eines Bildes, sowie eine Zählung einzelner Farbareale in einem Bild. In der vorliegenden Arbeit wurde das Programm zur Messung der Nervenanzahl (Quantifizierung) in der Prostatakapsel im jeweiligen Sektor

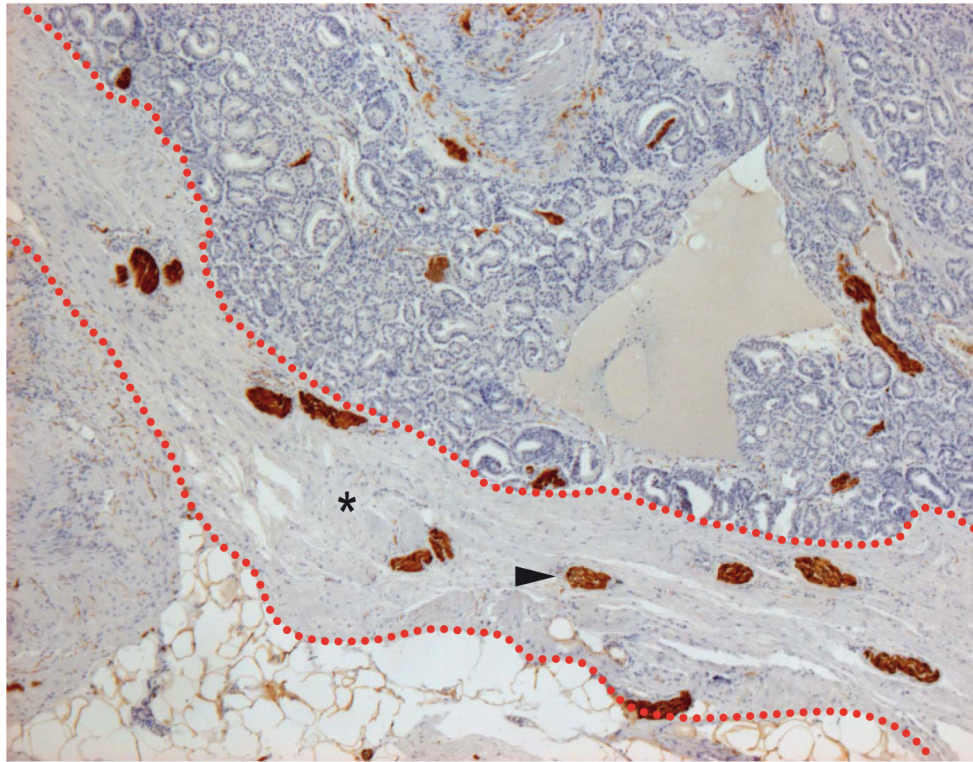
verwendet. Um eine genauere Aussage über die Nervenmenge bzw. die Nervendichte der Prostatakapsel zu ermöglichen, erfolgte neben der Quantifizierung eine Planimetrie, d.h. eine Oberflächenbestimmung, der kapsulären Nerven in jedem Sektor. Darüber hinaus wurde auch die Dicke der Prostatakapsel, sowie die Fläche der Prostatakapsel in jedem Sektor mit ImageJ bestimmt. Die Planimetrie, d.h. die Flächenmessung der einzelnen Nerven pro Schnitt und Sektor erfolgte in der Maßeinheit Pixel, in einem zweiten Schritt erfolgte die Umrechnung in  $\text{mm}^2$ .

### **2.5.2 Definition der Prostatakapsel**

Basierend auf der kontroversen Debatte über die Existenz einer definierbaren Prostatakapsel wurde in dieser Arbeit das kondensierte fibromuskuläre Stroma, welches die Prostata umgibt, als Prostatakapsel definiert (siehe Abb. 13).

Diese Definition beruht auf mehreren vorangegangenen Veröffentlichungen zum Thema der Anatomie der Prostata. So beschreibt Epstein in einer Arbeit 2001 das häufige Auftreten einer prostatistischen Kapsel als eine eigenständige äußere klar definierte Schicht aus glattem muskulärem Stroma [101]. Walz et al beschreiben 2010 ergänzend hierzu eine Kapsel-ähnliche Struktur, welche die Prostata umgibt und zudem den äußeren Rand des Organs repräsentiert [102]. Nach ihren Erkenntnissen handelt es sich bei dieser Struktur allerdings nicht um eine umschriebene Kapsel im anatomischen Sinn, sondern um eine aus fibromuskulären Faszikeln bestehende Schicht, die ein fester und nicht trennbarer Bestandteil des prostatistischen Stromas ist [102-105]. Allerdings ist zu berücksichtigen, dass diese Kapsel häufig nicht im Bereich der anterioren Prostata sowie am Apex und an der Basis der Prostata zu finden sind [104].

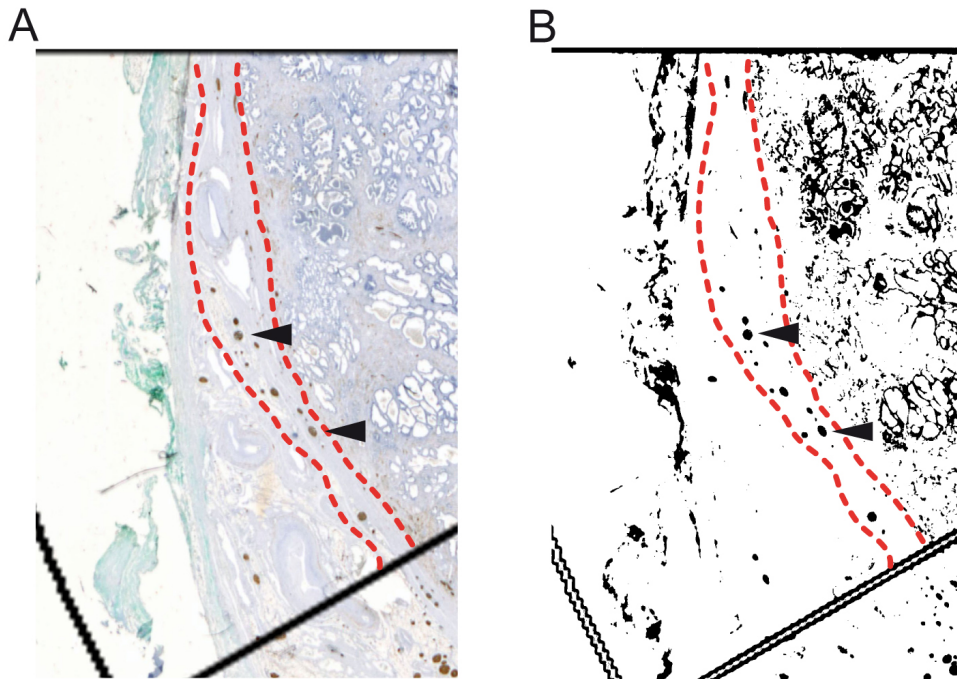
Die vordefinierte Prostatakapsel wurde in dieser Arbeit in jedem Sektor einzeln untersucht. So wurde sowohl die Dicke der Kapsel, als auch die Fläche der Kapsel in jedem Sektor aller Präparate untersucht.



**Abbildung 13: S-100 Großflächenschnitt mit digital gekennzeichneter Prostatakapsel (10fach vergrößert)**  
 Stern: fibromuskuläres kondensiertes Stroma; Pfeil: durch S-100 gefärbte Nervenfasern, Prostatakapsel mit roter Linie gekennzeichnet.

### 2.5.3 Quantifizierung und Planimetrie von Kapselnerven

Um den möglichen Effekt eines Prostatakarzinom-Focus auf die kapsuläre Nervenzahl bzw. Nervenfläche zu untersuchen wurden zunächst in jedem Sektor jeden Schnittes die kapsuläre Nervenanzahl und Nervenoberfläche mit dem Programm ImageJ bestimmt (Abb. 14).

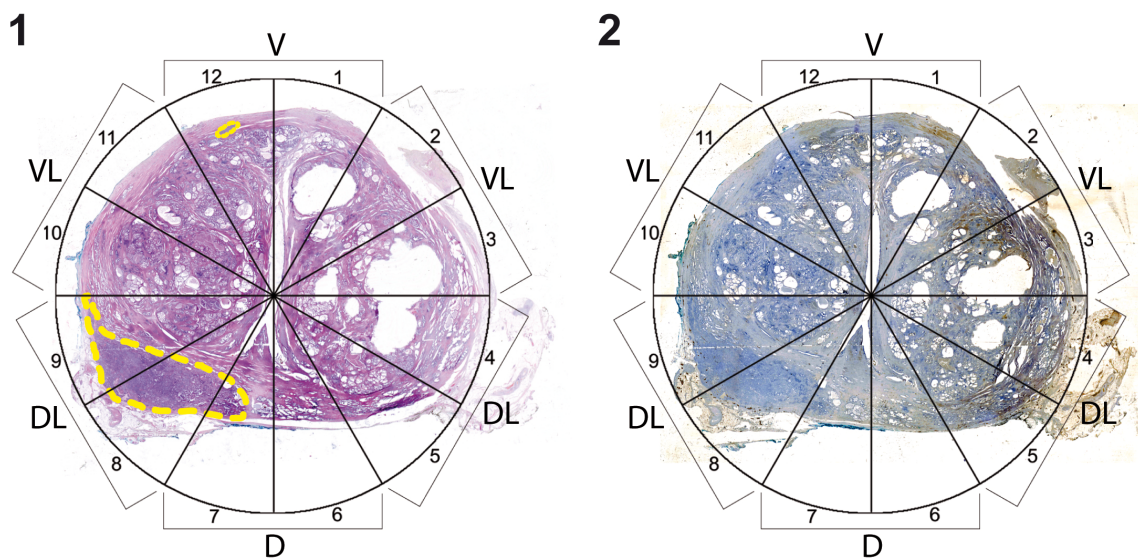


**Abbildung 14: Bestimmung der Nerven der Prostatakapsel mit dem Programm ImageJ (5fach vergrößert)**

A: S100-Großflächenschnitt mit gleicher Vergrößerung zum Vergleich; Prostatakapsel mit roter Linie markiert  
Pfeile: korrespondierende Nerven der Prostatakapsel

B: Ansicht bei der Messung der Prostatakapselnerven, Prostatakapsel mit roter Linie gekennzeichnet, zur Auszählung wurden die innerhalb der roten Markierung gelegenen Nerven (dunkle Punkte) definiert.

Zudem wurde ein Tumorbefall, bzw. eine Tumorfreiheit für jeden Sektor durch einen Vergleich mit dem korrespondierenden HE-Sektor zum S-100 Schnitt vermerkt (Vgl. Abb. 15).



**Abbildung 15: HE-Schnitt und korrespondierender S-100 Schnitt**

1: HE-Schnitt mit markierten Tumorealen (gelbe Markierung) mit Sektoreneinteilung

2: Zum HE-Schnitt korrespondierender S-100 Schnitt mit Sektoreneinteilung

V ventral; D dorsal; VL ventro-lateral, DL dorso-lateral

## **2.6 Statistik**

### **2.6.1 Analyse der Nerven, unabhängig vom Prostatakarzinom**

Anschließend erfolgte eine Untersuchung der Verteilung der kapsulären Nerven in der Prostatakapsel, unabhängig von der Gegenwart eines Tumors. Nachdem bei den Untersuchungen davon ausgegangen wurde, dass die Nerven in der Prostata symmetrisch verteilt sind, d.h. die Verteilung der Nerven in der Kapsel der rechten und linken Prostatahälfte identisch sind, wurden hierzu entsprechend Sektoren verbunden. Für die Beurteilung des Einflusses der Region auf das Nervenwachstum wurden also Sektorenpaare gebildet (Paare: 1/12, 2/11, 3/10, 4/9, 5/8 und 6/7) und deren kapsuläre Nerven ausgewertet. So konnte die tumorunabhängige Verteilung der Nerven der Prostatakapsel und deren Nervenfläche ermittelt werden.

### **2.6.2 Analyse der Nerven, abhängig vom Prostatakarzinom, unabhängig von der Lage**

Anschließend erfolgte eine Untersuchung des Nervenwachstums in der Prostatakapsel in Abhängigkeit von der Anwesenheit eines Prostatakarzinoms. Bei dieser Untersuchung, in der die Fragestellung eines prinzipiellen Einflusses des Prostatakarzinoms auf die Anzahl der Nerven in der Prostatakapsel bzw. auf die Nervenoberfläche in der Prostatakapsel in den Segmenten der Prostataschnitte hat, wurden alle Segmente miteinander verglichen. Hierbei wurde die Lage, bzw. die Nummer des Segments oder das Segmentpaar nicht berücksichtigt. Es wurden demnach alle tumortragenden mit den nicht tumortragenden Segmenten unabhängig von der Lage untersucht und statistisch ausgewertet.

Analog hierzu wurde mit den Messungen der Nervenfläche verfahren.

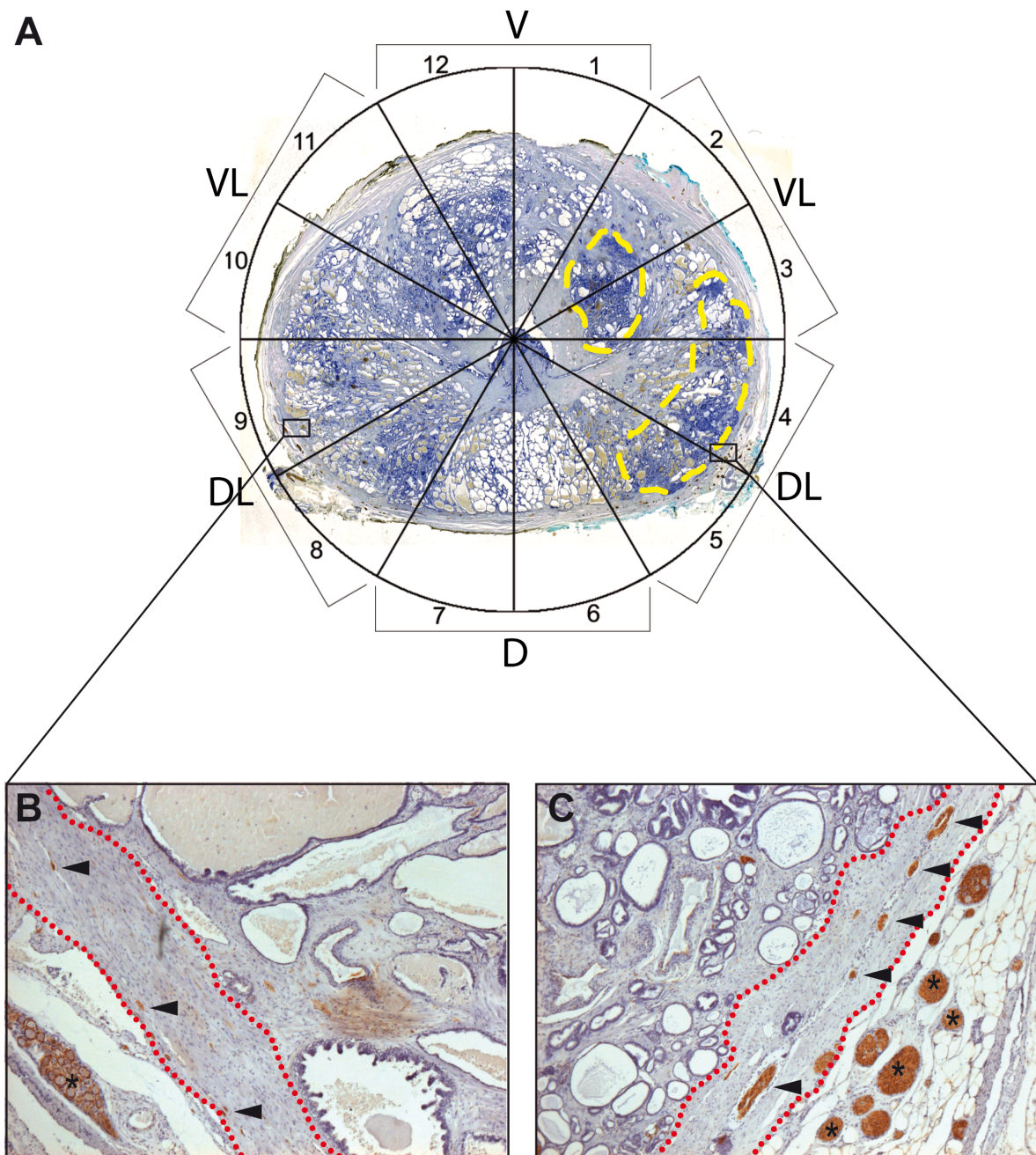
### **2.6.3 Analyse der Nerven, abhängig von weiteren Kovariablen, unabhängig von der Lage**

Das statistische Modell wurde zudem jeweils für die kapsuläre Nervenanzahl sowie die kapsuläre Nervenfläche pro Segment um die statistische Analyse der Kovariablen Prostatavolumen, PSA-Wert, pT-Stadium und Gleason-Score ergänzt um einen eventuellen Einfluss der Kovariablen auf die Nervenmenge der Prostatakapsel

auszuschließen bzw. nachzuweisen. Bei dieser Analyse wurde die Region und der Tumorbefall nicht berücksichtigt.

#### **2.6.4 Analyse der Nerven, abhängig vom Prostatakarzinom und der Lage**

Hierzu wurden wiederum die gegenüberliegenden Sektoren aller Präparate zusammengefasst und zusammen ausgewertet. Hierbei erfolgte eine Unterscheidung zwischen den kapsulären Nerven der tumorbefallenen Sektoren aller Sektorenpaare (z.B. aller Sektoren 1 und 12) und den tumorfreien Sektoren aus z.B. den Sektoren 1 und 12 aller Präparate (siehe Abb. 15).



**Abbildung 16: Nerven der Prostatakapsel in Abhängigkeit von Prostatakarzinom-Foci und der Lage**

A: S-100 Prostata großflächenschnitt; Prostatakarzinom-Foci gelb markiert; V ventral; D dorsal; VL ventro-lateral, DL dorso-lateral; TNM-Stadium: Prostatakarzinom, pT2a, Gleason-Score 6

B: 10fache Vergrößerung des links markierten, tumorfreien Bereichs (Sektor 9) in A; Prostatakapsel rot markiert, Pfeile: Prostatakapselnerven; Stern: periprostatischer Nerv

C: 10fache Vergrößerung des rechts markierten, tumorbefallenen Bereichs (Sektor 4) in A; Prostatakapsel rot markiert; Pfeile: Prostatakapselnerven; Sterne: periprostatische Nerven

## 2.6.5 Statistische Auswertung

Aufgrund der schiefen Verteilung der kapsulären Nervenanzahl und der kapsulären Nervenoberfläche wurde für die Analyse ein gemischtes lineares Rechenmodell ausgewählt.[98]. Zunächst wurde alleinig jeweils der Einfluss der Tumorpräsenz

(Ja/nein) sowie der Region auf die kapsuläre Nervenanzahl und Nervenoberfläche untersucht. Für die Beurteilung des Einflusses der Region auf das Nervenwachstum wurden, wie bereits oben erläutert, Sektorenpaare gebildet.

Falls signifikante Unterschiede nachgewiesen werden konnten, wurden Bonferonni Post-hoc-Analysen für einen paarweisen Vergleich durchgeführt.

Im gemischten linearen Modell wurde die Region als Wiederholungseffekt verwendet, die Korrelationsstruktur zwischen den Regionen wurde als zusammengesetzte Symmetrie gewählt. Das Modell wurde zudem um eine weitere Analyse der Kovariablen Gleason-Score, DRU, T-Stadium und Prostatavolumen ergänzt.

Um eine aussagekräftige Interpretation der Ergebnisse zu gewährleisten, wurden die kapsuläre Nervenanzahl sowie die Nervenfläche als Median und Interquartilsabstand bei einem 95% Konfidenzintervall dargestellt. Der Interquartilsabstand (IQR) beschreibt die Werte, innerhalb denen 50% aller Messwerte liegen. Die Besonderheit hierbei ist, dass dieser Wert unempfindlich gegenüber starken Schwankungen (sog. „Ausreißern“) der gemessenen Werte ist. Dies gilt auch für den Median.

Ein p-Wert  $< 0,05$  wurde als statistisch signifikant definiert. Die statistische Analyse erfolgte mit dem Statistikprogramm SAS 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA), wobei die Einstellung „PROC MIXED“ für die Messungen gewählt wurde.

## **3 Ergebnisse**

### **3.1 Patienten**

#### **3.1.1 Basisdaten**

Es wurden Prostataschnitte von 33 Patienten ausgewertet, die 2008 einer EERPE aufgrund eines stanzbiologisch gesicherten Prostatakarzinoms unterzogen wurden. Die Basisdaten der Patienten sind in folgender Tabelle zusammengefasst (vgl. Tabelle 4).

Parameter	Mittelwert	Median	Standardabweichung
Alter (Jahre)	65,12	66	± 6,65
PSA-Wert (ng/ml)	9,37	7,5	± 4,87
Prostatavolumen (ml)	29,97	30	± 7,91

**Tabelle 4: Basisdaten der Patienten**

### 3.1.2 Histopathologische Ergebnisse

Etwa die Hälfte der Präparate erbrachte nach der histopathologischen Aufarbeitung nach der TNM-Einteilung ein Prostatakarzinom pT2c (54,6%). Daneben fand sich zu jeweils gleichen Hälften ein kapselüberschreitendes Wachstum mit dem Tumorstadium pT3a oder pT3b (zusammen 42,4%).

Bezüglich des Gleason-Scores fand sich bei 39,4% der untersuchten Präparate ein Gleason-Score 7. Dies war das am häufigsten gefundene Wachstumsmuster der 33 untersuchten Präparate. Daneben fanden sich als zweithäufigstes Wachstumsmuster Gleason-Score 6 Prostatakarzinome (24,2%) gefolgt von Gleason-Score 5 Karzinomen (15,2%) (Tab. 5).

pT-Stadium	n (n gesamt: 33)	Anteil (%)
pT2a	1	3,0
pT2b	0	0
pT2c	18	54,6
pT3a	7	21,2
pT3b	7	21,2
Gleason-Score	n (n gesamt 33)	Anteil (%)
4	1	3,0
5	5	15,2
6	8	24,2
7	13	39,4
8	3	9,1
9	3	9,1

**Tabelle 5: Histopathologische Ergebnisse**

### **3.1.3 Anzahl positiver Stenzen**

Angaben zur Anzahl der positiven Prostatastanzbiopsien lagen nur bei 24 Patienten vor. Dies liegt unter anderem an der unterschiedlichen Methodik der Untersuchung. So wurden in einigen Fällen keine einzeln voneinander getrennten Stanzbiopsien zur histopathologischen Untersuchung eingeschickt, sondern z.B. jeweils die Stenzen einer Seite zusammen in einem Gefäß verschickt. Somit wurde vom Pathologen nach Begutachtung nur eine Aussage über den prozentualen Anteil des Prostatakarzinoms in den eingeschickten Biopsien einer Seite gefällt. Auch die Methodik der Stanzbiopsie an sich unterscheidet sich im Patientenkollektiv. So wurden Sextanten-, Oktanten- und Dekantenbiopsien durchgeführt. In einem Fall wurden nur gezielte Biopsien von suspekten Arealen durchgeführt.

Der Mittelwert der positiven, d.h. tumorbefallenen Stanzbiopsien lag bei 4,25, im Median bei 4,5 ( $\pm 2,55$ ). Die Range reichte von einer positiven Stanze von 4 durchgeführten bzw. einer von 12 Stenzen, bis zu 9 von 10 bzw. 8 von 8 positiven Biopsien.

## **3.2 Messung der Prostatakapsel**

In allen verwendeten Präparaten und Schnitten war die Prostatakapsel intakt und ohne Artefakte. Die Kapseldicke lag im Median bei 1,13 mm mit einem IQR von 0,88-1,45 mm.

Ein Einfluss von benachbarten Tumorarealen auf die Kapseldicke konnte nicht nachgewiesen werden ( $p=0,34$ ).

## **3.3 Quantifizierung der kapsulären Nerven**

Im Folgenden werden die unterschiedlichen Einflüsse auf die Anzahl der Nerven im Bereich der Prostatakapsel beschrieben.

Zur Untersuchung der kapsulären Nerven wurden 33 Schnitte von jeweils 33 Patienten untersucht. Dementsprechend wurden  $n= 396$  Sektoren untersucht.

Wie bereits beschrieben wurden jeweils die gegenüberliegenden Sektoren (z.B. 2 und 11) als Paare zusammengefasst ( $n= 198$ ).

### 3.3.1 Quantifizierung und Verteilung der Kapselnerven

Bei der Untersuchung aller Segmentpaare aller Schnitte (n=198) unabhängig vom Tumor konnte ein signifikanter Unterschied der Nervenverteilung im Bereich der Prostatakapsel nachgewiesen werden. Der Hauptteil der Nerven wurde in der dorsolateralen Region der Kapsel gefunden. Insgesamt wurden 1957 Nerven gezählt, wobei dorsolateral 1482 (75,7%) Nerven gezählt wurden. Pro Schnitt konnten im Median im Segmentpaar 5&8 11,0 (IQR 8,0; 17,0) und im Segmentpaar 4&9 8,0 (IQR 4,0; 14,0) Nerven gefunden werden. Das bedeutet, dass bei allen untersuchten Segmentpaaren 5&8 bei 50% die Anzahl der gezählten Nerven zwischen 8 und 17 lag, bei Segmentpaar 4&9 lag die Anzahl zwischen 4 und 14 Nerven. In den übrigen Regionen (Ventral, Ventrolateral und Dorsal) fanden sich deutlich weniger Nerven im Median pro Schnitt (Tab. 6).

Es konnte allgemein eine unterschiedliche Verteilung der Nerven in der Prostatakapsel, unabhängig von anderen Faktoren; mit einer Signifikanz von  $p < 0,001$  gezeigt werden (siehe Tab. 6).

Region	Nervenzahl gesamt	%	Segmente	Nervenzahl gesamt pro Segmentpaar	Nervenzahl pro Schnitt (median (IQR))
Ventral	8	0,4	1&2	8	0,0 (0,0; 0,0)
Ventrolateral	326	16,7	2&11	26	0,0 (0,0; 0,0)
			3&10	300	3,0 (2,0; 5,0)
Dorsolateral	1482	75,7	4&9	641	8,0 (4,0; 14,0)
			5&8	841	11,0 (8,0; 17,0)
Dorsal	141	7,2	6&7	141	1,0 (0,0; 4,0)

Tabelle 6: Nervenanzahl und die Verteilung in der Prostatakapsel, unabhängig vom Prostatakarzinom

### 3.3.2 Quantifizierung der Kapselnerven in Abhängigkeit von benachbartem Tumor

Bei der Untersuchung, ob in den Segmenten der Prostataschnitte das Prostatakarzinom prinzipiell einen Einfluss auf die Anzahl der Nerven in der Prostatakapsel hat, wurden alle Segmente miteinander verglichen. Hierbei wurde die Lage, bzw. die Nummer des Segments oder das Segmentpaar nicht berücksichtigt.

Es wurden demnach alle tumortragenden mit den nicht tumortragenden Segmenten unabhängig von der Lage miteinander verglichen. Hierbei war die abhängige Variable die Nervenanzahl, der Haupteffekt in diesem Test war der Tumorbefall (Ja/nein).

Hierbei konnte mit einer Signifikanz von  $p=0,005$  ein deutlicher Effekt für die Anwesenheit eines Prostatakarzinoms im Segment auf die Nervenanzahl in der Prostatakapsel nachgewiesen werden. So lag die Nervenanzahl im Median bei den tumortragenden Segmenten bei 4,0, (IQR 0,0 bis 12,0). Das bedeutet, dass bei 50% der tumorbefallenen Segmente eine Nervenanzahl zwischen 0,0 und 12,0 in der Prostatakapsel gemessen wurde.

In den tumorfreien Segmenten fanden sich hingegen im Median nur 1,0 Nerven (Vgl. Tab. 7)

	tumorbefallen	tumorfrei	p-Wert
<b>Nervenanzahl (median; (IQR))</b>	4,0 (0,0; 12,0)	1,0 (0,0; 4,0)	0,005

**Tabelle 7: Nervenanzahl in der Prostatakapsel in Abhängigkeit vom Tumorbefall**

### 3.3.3 Quantifizierung der kapsulären Nerven in Abhängigkeit von weiteren Kovariablen

Anschließend erfolgte eine Untersuchung der kapsulären Nervenanzahl in Abhängigkeit der Kovariablen Prostatavolumen, PSA-Wert, pT-Stadium und Gleason-Score. Es erfolgte also eine Analyse, ob die o.g. Kovariablen prinzipiell einen Einfluss auf die Anzahl der Prostatakapselnerven haben. Insgesamt konnte für keine der hier aufgeführten Kovariable ein signifikanter Einfluss auf die kapsuläre Nervenanzahl nachgewiesen werden (Tabelle 8).

Kovariable	p-Wert
Volumen	$p = 0,50$
PSA-Wert	$p = 0,51$
pT-Stadium	$p = 0,23$
Gleason-Score	$p = 0,41$

**Tabelle 8: Analyse des Einflusses der Kovariablen auf die Nervenanzahl der Prostatakapsel**

### 3.3.4 Quantifizierung der Kapselnerven in Abhängigkeit von benachbartem Tumor und Lage

Als nächster Schritt erfolgte die Untersuchung der Anzahl der Kapselnerven in Anhängigkeit vom Tumorbefall und der Lage des Segmentpaares. Hierbei fanden sich in den dorsolateralen Segmentpaaren 4&9 und 5&8 jeweils signifikante Unterschiede im Vergleich von korrespondierenden tumorbefallenen und tumorfreien Segmentpaaren. So fanden sich z.B. in den tumorbefallenen Segmenten des Paares 4&9 in der Prostatakapsel im Median 11,0 Nerven (IQR 6,0 bis 16,0). Im Vergleich hierzu fanden sich in den tumorfreien Segmenten des Paares 4&9 5,0 Nerven im Median (IQR 3,0 bis 8,0). Der Unterschied war hier signifikant mit einem adjustierten p-Wert von 0,016. Noch deutlicher wird der Effekt des Tumors auf die Nervenanzahl in der Prostatakapsel im Segmentpaar 5&8. Hier wurden in den tumorbefallenen Segmenten im Median 14,0 Nerven (IQR 9,0 bis 21,0) gezählt. In den tumorfreien Segmenten fanden sich im Median 8,5 Nerven (IQR 4,0 bis 11,5). Für den Effekt des Tumors im Segment auf die gezählten Nerven in der Prostatakapsel konnte hier eine Signifikanz mit einem adjustierten p-Wert von 0,004 gezeigt werden.

Nachdem sich im Segmentpaar 3&10, also im ventrolateralen Anteil der Prostata, im Median 3,0 Nerven in den tumortragenden (IQR 1,0 bis 6,0) und tumorfreien (IQR 2,0 bis 5,0) fanden konnte hier keine Signifikanz für ein unterschiedliches Wachstum gezeigt werden. Insgesamt konnte weder für die ventrolateralen, noch die ventralen oder dorsalen Segmentpaare ein signifikanter Unterschied der Nervenanzahl in der Prostatakapsel der tumorbefallenen im Vergleich zu den tumorfreien Segmenten im jeweiligen Paar gezeigt werden (Tab. 9).

		Nervenanzahl		
Region	Segmente	Tumorbefallen (Median; (IQR))	Tumorfrei (Median; (IQR))	Adj. p-Wert
Ventral	1&12	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,0)	1,0
Ventrolateral	2&11	0,0 (0,0; 0,0)	0,0 (0,0; 0,5)	1,0
	3&10	3,0 (1,0; 6,0)	3,0 (2,0; 5,0)	1,0
Dorsolateral	4&9	11,0 (6,0; 16,0)	5,0 (3,0; 8,0)	0,016
	5&8	14,0 (9,0; 21,0)	8,5 (4,0; 11,5)	0,004
Dorsal	6&7	1,0 (0,0; 3,0)	1,0 (0,0; 4,0)	1,0

Tabelle 9: Nervenanzahl und Verteilung in der Prostatakapsel in Abhängigkeit vom Tumorbefall

Die Verteilung der kapsulären Nervenfläche in Abhängigkeit vom Tumorwachstum und der Region mit dem signifikanten Effekt des Tumorwachstums auf die Nervenanzahl der Kapsel in den Segmentpaaren 4&9 und 5&8 (dorsolaterale Anteil) wird auch durch die folgende Grafik verdeutlicht (Abb. 17).

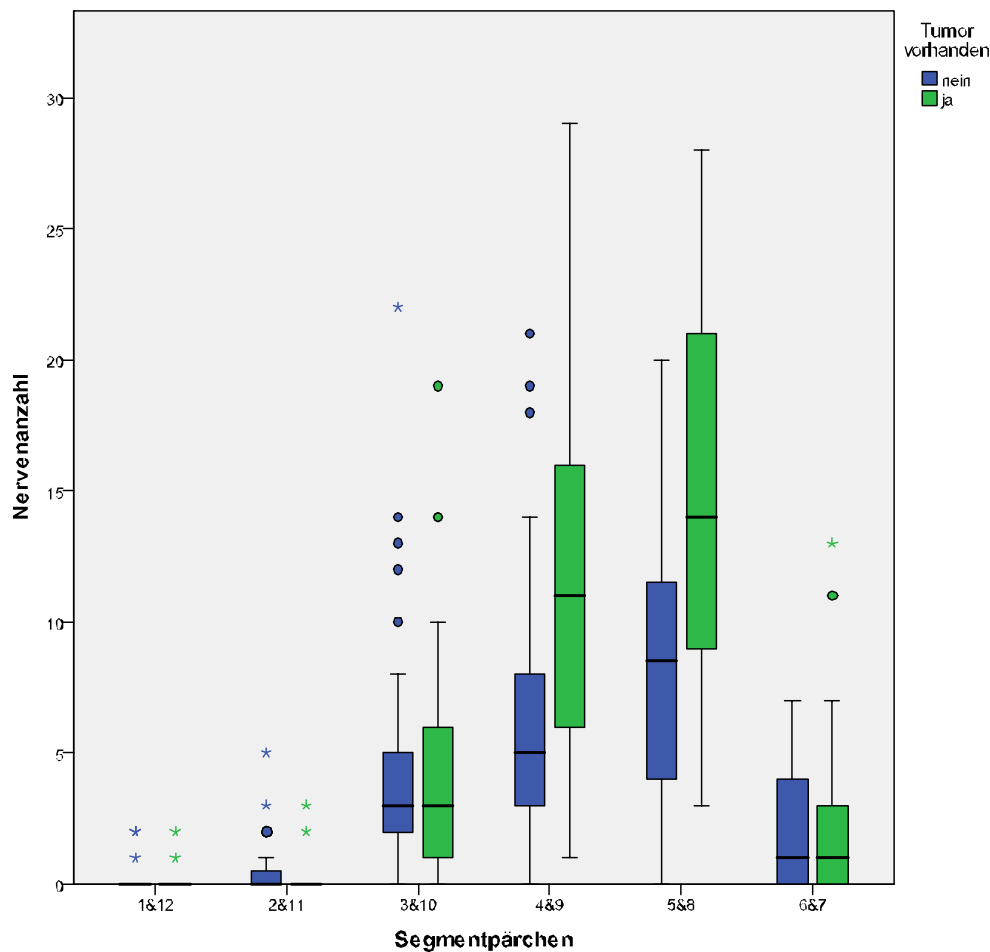


Abbildung 17: Nervenanzahl pro Segmentpaar in Abhängigkeit vom Tumorbefall

### 3.4 Planimetrie der Kapselnerven

Im Folgenden werden die unterschiedlichen Einflüsse auf die Gesamtfläche der Nerven beschrieben.

#### 3.4.1 Planimetrie und Verteilung der Kapselnerven

Bei der Untersuchung aller Segmentpaare aller Schnitte (n=198) unabhängig vom Tumor konnte ein signifikanter Unterschied der Verteilung der Nervenfläche im Bereich der Prostatakapsel nachgewiesen werden. Die größte Nervenfläche in der Prostatakapsel konnte analog zur Nervenanzahl in der dorsolateralen Region der

Kapsel gefunden werden. Hier wurde in allen Schnitten zusammen eine Nervenfläche von 20,711 mm<sup>2</sup> gemessen, was einem Anteil von 78,3% der gesamt gemessenen Nervenfläche entspricht. Im Median lag die Fläche pro Schnitt hier im Segmentpaar 5&8 bei 0,137 mm<sup>2</sup> (IQR 0,63 bis 0,247 mm<sup>2</sup>), im Segmentpaar 4&9 lag sie bei 0,075 mm<sup>2</sup> im Median (IQR 0,034 bis 0,171 mm<sup>2</sup>). Ventrolateral fand sich insgesamt eine Fläche von 4,111 mm<sup>2</sup> (15,5%) und dorsal von 1,552 mm<sup>2</sup> (5,9%). Ventral fand sich lediglich eine Nervenfläche von 0,063 mm<sup>2</sup>, was einem Anteil von 0,3% entspricht.

Es konnte allgemein eine unterschiedliche Verteilung der Nervenfläche in der Prostatakapsel, unabhängig von anderen Faktoren; mit einer Signifikanz von  $p < 0,001$  gezeigt werden (siehe Tab. 10).

Lage	Nervenfläche gesamt (mm <sup>2</sup> )	%	Segmente	Nervenfläche pro Schnitt in mm <sup>2</sup> (median; IQR)
Ventral	0,063	0,3	1&2	0,0 (0,0; 0,0)
Ventrolateral	4,111	15,6	2&11	0,0 (0,0; 0,0)
			3&10	0,033 (0,014; 0,072)
Dorsolateral	20,711	78,3	4&9	0,075 (0,034; 0,171)
			5&8	0,137 (0,063; 0,247)
Dorsal	1,552	5,9	6&7	0,007 (0; 0,037)

Tabelle 10: Nervenfläche und die Verteilung in der Prostatakapsel, unabhängig vom Prostatakarzinom

### 3.4.2 Planimetrie der Kapselnerven in Abhängigkeit von benachbartem Tumor

Bei der Untersuchung, ob in den Segmenten der Prostataschnitte das Prostatakarzinom einen Einfluss auf Nervenfläche in der Prostatakapsel hat, wurden alle Segmente miteinander verglichen. Hierbei wurde die Lage des Segments nicht berücksichtigt. Es wurden demnach alle tumortragenden und nicht tumortragenden Segmente unabhängig von der Lage miteinander verglichen. Hierbei war die abhängige Variable die Nervenfläche, der Haupteffekt in diesem Test war der Tumorbefall (Ja/Nein).

Auch hier konnte ein signifikanter Effekt für die Anwesenheit eines Prostatakarzinoms im Segment auf die Nervenfläche der Prostatakapsel nachgewiesen werden. So lag die Nervenfläche im Median bei den tumortragenden

Segmenten bei 0,045 mm<sup>2</sup> (IQR 0 bis 0,158 mm<sup>2</sup>). In den tumorfreien Segmenten fand sich hingegen im Median nur eine Fläche von 0,008 mm<sup>2</sup> (Vgl. Tab. 11).

	Tumorbefallen	Tumorfrei	p-Wert
<b>Nervenfläche in mm<sup>2</sup> (median; IQR)</b>	0,045 (0; 0,158)	0,008 (0; 0,047)	0,006

Tabelle 11: Nervenfläche in der Prostatakapsel in Abhängigkeit vom Tumorbefall

### 3.4.3 Planimetrie der Kapselnerven in Abhängigkeit von weiteren Kovariablen

Nun erfolgte eine Untersuchung der kapsulären Nervenfläche in Abhängigkeit der Kovariablen Prostatavolumen, PSA-Wert, pT-Stadium und Gleason-Score. Es erfolgte demnach eine Analyse, ob die o.g. Kovariablen prinzipiell einen Einfluss auf die kapsuläre Nervenfläche haben. Insgesamt konnte für keine der hier aufgeführten Kovariable ein signifikanter Einfluss auf die kapsuläre Nervenfläche nachgewiesen werden. Die p-Werte hierzu können aus der folgenden Tabelle entnommen werden (Tabelle 12).

Kovariable	p-Werte
Volumen	p = 0,28
PSA-Wert	p = 0,44
pT-Stadium	p = 0,14
Gleason-Score	p = 0,41

Tabelle 12: Analyse des Einflusses der Kovariablen auf die Nervenfläche der Prostatakapsel

### 3.4.4 Planimetrie der Kapselnerven in Abhängigkeit von benachbartem Tumor und Lage

Als letzter Schritt erfolgte die Untersuchung der Nervenfläche der Prostatakapsel in Abhängigkeit vom Tumorbefall und der Lage des Segmentpaares. Hierbei fanden sich in den dorsolateralen Segmentpaaren 4&9 und 5&8 jeweils signifikante Unterschiede beim Vergleich der tumorbefallenen zu den korrespondierenden tumorfreien Segmenten. So fand sich z.B. in den tumorbefallenen Segmenten des Paares 4&9 in der Prostatakapsel im Median eine Fläche von 0,139 mm<sup>2</sup> (IQR 0,063 bis 0,24 mm<sup>2</sup>). Im Vergleich hierzu fand sich in den tumorfreien Segmenten des

Paares 4&9 0,055 mm<sup>2</sup> Nervenfläche im Median, der IQR lag zwischen 0,029 und 0,139 mm<sup>2</sup>. Der Unterschied war hier Signifikant mit einem adjustierten p-Wert von 0,025.

Noch deutlicher zeigte sich eine vermehrte Nervenfläche in der Prostatakapsel im tumorbefallenen Segmentpaar 5&8. Hier wurde in den tumorbefallenen Segmenten im Median eine Fläche von 0,172 mm<sup>2</sup> gezählt (IQR 0,102 bis 0,295 mm<sup>2</sup>). In den tumorfreien Segmenten lag im Median eine Fläche von 0,071 mm<sup>2</sup> (IQR 0,047 bis 0,151 mm<sup>2</sup>) vor. Für den Effekt des Tumors im Segment auf die Nervenfläche in der Prostatakapsel konnte hier eine Signifikanz mit einem adjustierten p-Wert von 0,005 gezeigt werden (Vgl. Tab. 13).

Weder für die ventrolateralen, noch die ventralen oder dorsalen Segmentpaare konnte ein signifikanter Unterschied der Nervenfläche in der Prostatakapsel der tumorbefallenen im Vergleich zu den tumorfreien Segmenten gezeigt werden. Die Nervenfläche unterschied sich in diesen Segmenten nur marginal, in allen zugehörigen Segmentpaaren waren die zugehörigen adjustierten p-Werte bei 1,0. (Vgl. Tab. 13).

Die Verteilung der kapsulären Nervenfläche in Abhängigkeit vom Tumorwachstum und der Region mit den signifikanten Unterschieden in den Segmentpaaren 4&9 und 5&8 (dorsolaterale Anteil) wird auch durch die folgende Grafik verdeutlicht (Abb. 18).

		Nervenfläche in mm <sup>2</sup>		
Lage	Segmente	Tumorbefall (Median; IQR)	Tumorfrei (Median; IQR)	Adj. p-Wert
Ventral	1&12	0 (0; 0)	0 (0; 0)	1,0
Ventrolateral	2&11	0 (0; 0)	0 (0; 0,002)	1,0
	3&10	0,033 (0,004; 0,080)	0,033 (0,016; 0,065)	1,0
Dorsolateral	<b>4&amp;9</b>	<b>0,139 (0,063; 0,240)</b>	<b>0,055 (0,029; 0,139)</b>	<b>0,025</b>
	<b>5&amp;8</b>	<b>0,172 (0,102; 0,295)</b>	<b>0,071 (0,047; 0,151)</b>	<b>0,005</b>
Dorsal	6&7	0,007 (0; 0,038)	0,009 (0; 0,037)	1,0

Tabelle 13: Nervenfläche und Verteilung in der Prostatakapsel in Abhängigkeit vom Tumorbefall

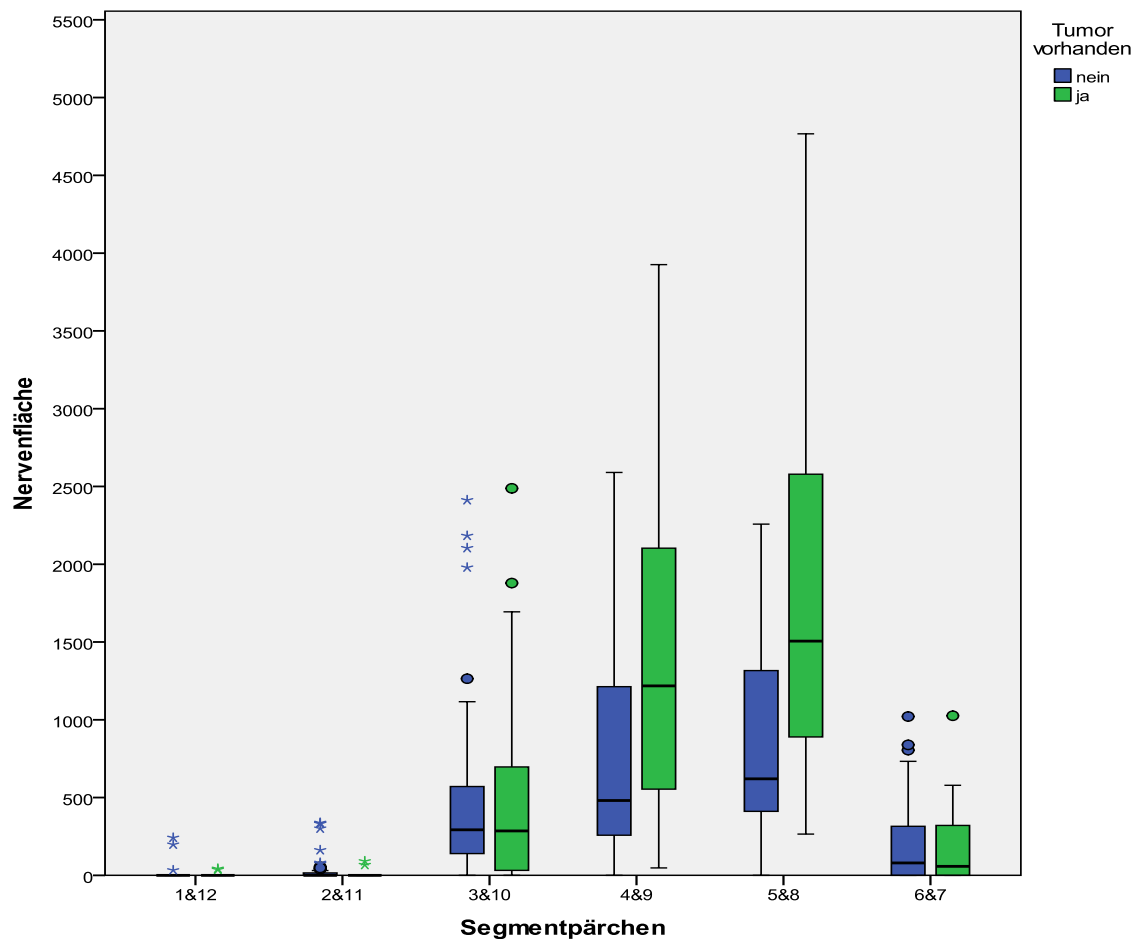


Abbildung 18: Nervenfläche pro Segmentpaar in Abhängigkeit vom Tumorbefall

## 4 Diskussion

Das lokal fortgeschrittene Wachstum des Prostatakarzinoms ist häufig verbunden mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung einer metastasierten Erkrankung. Eine erhöhte Mortalität bei Prostatakarzinompatienten ist demnach prinzipiell neben anderen Faktoren auch einem kapselüberschreitenden Wachstum zuzuschreiben [78]. Eine Schlüsselrolle bei der Penetration des Prostatakarzinoms durch die Prostatakapsel spielt hierbei die PNI [55, 59, 65, 66]. Die PNI ist ein häufig auftretendes Phänomen bei der histopathologischen Untersuchung von Prostatektomiepräparaten, so wird in der Literatur ein Vorkommen bei 75 bis 85% der untersuchten Präparate beschrieben [55, 57, 58, 79, 80]. Liebig et al. beschrieben 2009 in einem Review-Artikel eine PNI in 75% der untersuchten Prostatapräparate [57]. Villers konnte bei 85% der untersuchten Prostatakarzinompatienten eine PNI nachweisen und bei mindestens 50% der Fälle mit extrakapsulärem Wachstum des Karzinoms dies auf eine PNI zurückführen [55].

Hinsichtlich der prognostischen Relevanz einer im Prostatektomiepräparat vorliegenden PNI besteht eine kontroverse Diskussion. Der Einfluss auf ein PSA-Rezidiv nach radikaler Prostatektomie bzw. auf einen Progress der Erkrankung wird hierbei von den verschiedenen Arbeitsgruppen unterschiedlich dargestellt.

So untersuchten Byar et al bereits 1972 208 Prostatektomiepräparate hinsichtlich histologischer Prognosefaktoren für die Progression eines Prostatakarzinoms. Hierbei wurde der PNI keine prognostische Signifikanz zugeschrieben [79]. In neueren Arbeiten schrieben auch van den Ouden 1998 und Bostwick et al. 1999 der PNI keine prognostische Signifikanz hinsichtlich eines klinischen Progress oder der Entwicklung eines PSA-Rezidivs zu [80, 81]. 2008 beschrieben Merrilees et al in einer Serie mit 105 prostatektomierten Patienten in der multivariaten Analyse keine prognostische Signifikanz für die Entwicklung eines PSA-Rezidivs, in der univariaten Analyse konnte zumindest für das Vorliegen einer extraprostatatischen PNI eine Korrelation mit dem Behandlungsergebnis gezeigt werden [64].

Ozcan et al zeigten hingegen 2001 in einem Kollektiv von 191 Patienten, die einer Prostatektomie zugeführt wurden, die PNI als signifikant prognostischen Faktor hinsichtlich eines PSA-Rezidivs, dem histopathologischen Stadium, dem Gleason-Score im Präparat sowie der Prognose positiver Absetzungsränder [82].

Maru et al beschrieben 2001, dass der maximale Durchmesser einer PNI durch Prostatakarzinome ein unabhängiger Prädiktor für die Entwicklung eines kapselüberschreitenden Wachstumsmuster ist. Es handelt sich hierbei um eine multivariate Analyse von 640 Patienten, die zwischen 1989 und 1995 operiert wurden. Es wurden verschiedene PNI-Läsionen untersucht und hinsichtlich des Durchmessers ausgewertet. Hierbei wurde postuliert, dass ein Durchmesser  $> 0,25\text{mm}$  der PNI-Foci grundlegend mit einer höheren Progressionsrate korreliert. Allein für das Vorliegen einer PNI konnte allerdings keine prognostische Signifikanz dargestellt werden. [58].

Trotz der unterschiedlichen Daten bezüglich der prognostischen Signifikanz der PNI gilt sie dennoch als ein wichtiger Faktor für das kapselüberschreitende Wachstum. Villers zeigte 1982 an 176 Prostatektomiepräparaten bei 78 Patienten eine Kapselpenetration, davon war bei 39 Patienten (50%) eine primäre Penetration der Prostatakapsel durch den perineuralen Raum nachweisbar. Bei der anderen Hälfte war das kapselüberschreitende Wachstum über den perineuralen Raum der hauptsächlich vorzufindende Weg, allerdings konnte hier auch eine direkte Penetration der Kapsel gefunden werden [55]. Durch diese Ergebnisse wird die

Bedeutung der PNI beim Vorgang der Kapselpenetration der Prostata durch ein Karzinom verdeutlicht. Auch Ayala postuliert 2004, dass nach den gängigen Theorien die PNI eine Schlüsselrolle im Mechanismus des extraprostatatischen Wachstums eines Prostatakarzinoms spielt [65]. Ebenso unterstützt die Arbeit von Liebig et al 2009 die wichtige Rolle der PNI bei der lokalen Ausbreitung eines Prostatakarzinoms [57].

Wie bereits in der Einleitung beschrieben demonstrierte die Arbeitsgruppe um Ayala et al. in vitro einen Zusammenhang zwischen dem Wachstum bzw. der Anzahl von Nerven in Anwesenheit von Prostatakarzinomzellen und definierten eine Interaktion zwischen den beiden Zelltypen [68]. 2008 wurden von der gleichen Arbeitsgruppe eine Axonogenese und eine Neurogenese in diesem Zusammenhang beschrieben [83]. Bei genauerer Analyse wurden bereits mehrere Faktoren, die eine Rolle in diesem komplexen Vorgang spielen identifiziert. So besteht bei Prostatakarzinomzellen, die sich im perineuralen Spalt aufhalten, eine herabgesetzte Apoptoserate und eine erhöhte Proliferation. Dies konnte mit einer vermehrten Expression des „nuclear factor  $\kappa$ B“ (NF $\kappa$ B) und dessen Effektormolekülen PIM-2 und „defender against cell death“ (DAD-1) erklärt werden, die allesamt eine entscheidende Rolle in den Signalkaskaden der Regulation von Apoptose und Antiapoptose spielen. Eine Überexpression von NF $\kappa$ B führte so zu einer verminderten Apoptose und umgekehrt zu einer vermehrten Proliferation der perineuralen Prostatakarzinomzellen. Dies konnte sowohl in vitro, als auch in menschlichen Prostatakarzinomschnitten nachgewiesen werden [65].

2008 wurde eine weitere Arbeit zu diesem Thema veröffentlicht. Hierbei wurde eine Überexpression von S4F in Prostatakarzinomzellen mit einer verstärkten Neurogenese gezeigt [83]. S4F ist ein Transmembranprotein, das zur Semaphorin-Familie gezählt wird. Semaphorine sind an der Steuerung des Wachstums von Nervenzellen beteiligt [95]. Allerdings ist im speziellen wenig über die Biologie, den Aufbau und die Funktion des Proteins SF4 bekannt, so dass dort weitere Studien nötig sind. Zudem wurde in dieser Studie eine erhöhte Nervendichte sowohl in Prostatakarzinomarealen, als auch in PNI-Läsionen nachgewiesen. Dies konnte in 2- und 3-dimensionalen Rekonstruktionen der Prostatapräparate gezeigt werden [83].

Fromont et al veröffentlichten zuletzt 2012 zum Thema der PNI und den damit verbundenen Interaktionen einen weiteren Wachstumsvorteil für Prostatakarzinomzellen im Bereich der PNI. Sie konnten eine erhöhte Proliferation für den EGF-Rezeptor (EGFR) und den CD74-Rezeptor bei Prostatakarzinomzellen

im Bereich einer PNI im Vergleich zu nervenentfernten Zellen nachweisen [89]. Der immunhistologische Nachweis des Tyrosinkinaserzeptors EGFR in Prostatakarzinomen konnte schon vorher mit einer vermehrten Aggressivität und Progression des Tumors in Verbindung gebracht werden [90, 91, 92]. Auch für die vermehrte Expression des CD74-Rezeptors und dessen Ligand MIF (migration inhibitory factor) konnte bereits zuvor eine erhöhte Proliferation und Migration von Prostatakarzinomzellen gezeigt werden [93]. In Pankreaskarzinomen war die Expression von CD74 stark mit dem Grad der PNI in dieser Tumorentität verbunden [94]. Demzufolge weist die von Fromont et al. gezeigte Überexpression von EGFR und CD74 im Rahmen der PNI auf eine vermehrte Proliferation, Aggressivität und Migration der Tumorzellen im perineuralen Raum hin. Insgesamt lässt sich daraus ein Wachstumsvorteil für diese Zellen ableiten [89].

Aufgrund der gewonnen Erkenntnisse über die PNI und die dabei postulierten neuro-epithelialen Interaktionen liegt die Überlegung nah, dass sowohl die Nervenanzahl als auch die Nervenfläche im Bereich der Prostata kapsel in der Anwesenheit von Prostatakarzinomzellverbänden erhöht ist. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, zu untersuchen, ob sich das Konzept einer neuroepithelialen Interaktion durch eine quantitative Analyse der kapsulären Nerven der Prostata in Relation zu benachbarten Prostatakarzinomarealen, und ggf. vermehrtem Nervenwachstum in der Prostata kapsel in den tumorbefallenen Arealen, unterstützen lässt.

Um diese Fragestellung adäquat beantworten zu können, wurde in dieser Arbeit die Quantifizierung der kapsulären Nerven mit einer computergestützten Planimetrie der Nervenoberfläche kombiniert. Hierdurch kann eine präzisere Aussage zur Menge des Nervengewebes der Prostata kapsel getroffen werden, da hierbei nicht nur ein Augenmerk auf die Anzahl der Nerven geworfen wird, sondern auch der Durchmesser der Nerven berücksichtigt wird. Diese Methodik wurde bereits in vorangegangenen Studien etabliert und konnte eine exaktere Bestimmung von Nervengewebe bzw. vom Nervenwachstum im Vergleich zur Auszählung von Nerven alleine zeigen [72].

Um mögliche quantitative Auswirkungen von Prostatakarzinomverbänden auf die Nervenzahl bzw. Nervenfläche der Prostata kapsel zu zeigen sind grundlegende Überlegungen über die Anatomie der Prostata kapsel sowie deren Nervenverteilung notwendig.

Die Existenz einer echten Prostatakapsel wird in der aktuellen Literatur kontrovers diskutiert. Der Begriff „Prostatakapsel“ wird unter Urologen weitverbreitet verwendet, so wird z.B. in den Leitlinien der EORTC zur Beurteilung des TNM-Stadiums die Penetration der Prostatakapsel als Kriterium für ein pT3-Prostatakarzinom erwähnt [99]. Auch in der aktuellen anatomischen Nomenklatur wird der Begriff Prostatakapsel verwendet [100]. Dennoch besteht schon seit längerem eine kontroverse Diskussion über die Definition der Prostatakapsel. Dies wird z.B. durch ein von Myers et al 2010 veröffentlichten Review verdeutlicht. Hier wird die über die Jahre wechselnde Nomenklatur bezüglich der Existenz einer Prostatakapsel aufgezeigt. So wurde z.B. in den Versionen 1-3 der Nomina Anatomica eine Prostatakapsel nicht erwähnt, in den Versionen 4-6 der Nomina Anatomica wurde der Begriff einer Prostatakapsel darauf hinzugefügt. Ebenso wurde in der ersten Ausgabe der Terminologia Anatomica das Vorhandensein einer Prostatakapsel postuliert [100]. Epstein beschreibt hingegen 2001 das häufige Auftreten einer prostatistischen Kapsel als eine eigenständige äußere klar definierte Schicht aus glattem muskulärem Stroma. Diese Schicht konnte allerdings nicht in allen Prostatapräparaten nachgewiesen werden [101]. Walz et al beschreiben 2010 eine, einer Kapsel ähnelnden Struktur, welche die Prostata umgibt und den äußeren Rand des Organs repräsentiert [102]. Hierbei handelt es sich allerdings nicht um eine umschriebene Kapsel im anatomischen Sinn, sondern um eine aus fibromuskulären Faszikeln bestehende Schicht, die ein fester und nicht trennbarer Bestandteil des prostatistischen Stromas ist [102-105]. Beachtenswert ist allerdings, dass diese Struktur im Bereich der anterioren Prostata sowie am Apex und an der Basis der Prostata nicht vorhanden ist [104]. Aufgrund der kontroversen Diskussion über die Definition einer Prostatakapsel wird in der vorliegenden Arbeit das verdichtete, fibromuskuläre Gewebe am Rand der Prostata als Prostatakapsel definiert.

Hinsichtlich der Verteilung der kapsulären Nerven der Prostata zeigte sich in der vorliegenden Arbeit eine signifikant unterschiedliche Verteilung der Nerven der prostatistischen Kapsel in den untersuchten Schnitten. Der Hauptanteil der Nerven konnte im dorsolateralen Anteil (75,7%), entsprechend den Segmenten 4&9 und 5&8, der Prostatakapsel gefunden werden. Es waren im Median 8 Nerven im Segmentpaar 4&9 und 11 Nerven im Paar 5&8 vorhanden. Im ventrolateralen Anteil (16,7%) fanden sich im Median 3 Nerven in Segmentpaar 3&10, im Paar 2&11 waren es 0 Nerven im Median.

Diese Ergebnisse decken sich mit der Literatur zu diesem Thema. Ganzer et al. konnten in 30 Prostatagroßflächenschnitten zeigen, dass im Bereich der Kapsel der Prostata eine unterschiedliche Verteilung von Nerven vorliegt. So wurde in dieser Arbeit in Schnitten des Apex, der Mitte und der Basis der Prostata der Hauptanteil kapsulärer Nerven im dorsolateralen Anteil der Prostata gefunden. In den mittleren Schnitten wurden so zum Beispiel im Median dorsal 8,3 Nerven gezählt, dorsolateral 37, ventrolateral 9,5 und ventral 2,0 Nerven. Eine ähnliche Verteilung fand sich auch in den apikalen Schnitten und in den Präparaten aus der Prostatabasis. Hier lag zwar ein Unterschied in der Gesamtanzahl der gemessenen Nerven, die Verteilung war allerdings nahezu identisch. Es liegt also demnach nicht nur eine unterschiedliche Verteilung der periprostatischen Nerven mit einem Hauptteil im dorsolateralen Anteil der Prostata vor, sondern auch die genähert gleiche Verteilung der kapsulären Nerven der Prostata [72].

Clarebrough et al. beschreibt in einer Studie an 13 pelvinen Blockpräparaten ebenfalls die Verteilung der kapsulären Nerven der Prostata, allerdings wird hier nur auf die unterschiedliche bzw. ähnliche Verteilung der Nerven der gesamten Kapsel im Vergleich von Apex, Mitte und Basis der Prostata eingegangen. Eine weitere Differenzierung im jeweiligen Schnitt (z.B. im apikalen Schnitt) mit einer weiteren Einteilung erfolgte nicht. Es wurden hierbei jeweils im Durchschnitt 35,8 Nerven in der Kapsel basisnah, 36,8 Nerven im Schnitt aus der Prostatamitte und 32,8 Nerven apikal in der gesamten Prostatakapsel gezählt. Periprostatisch fanden sich die meisten Nerven dorsolateral jeweils in den Schnitten der Basis (87,7%), der Mitte (87,5%) und des Apex (82,2%) [84]. Powell et al führten 2005 zumindest eine Untersuchung der kapsulären Nerven mit einer Unterteilung in posterior und anterior bei tumorfreien Prostata durch. Hierbei handelte es sich um Präparate aus Autopsien von 40-70 jährigen Männern. Hinsichtlich der kapsulären Nerven konnte die Gruppe zeigen, dass signifikant mehr Nerven im posterioren Anteil der Kapsel im Vergleich zum anterioren Anteil vorhanden sind ( $p < 0,0001$ ) [87].

Zur Verteilung der periprostatischen Nerven existieren neben der Serie von Ganzer et al weitere Arbeiten, die ähnliche Daten präsentieren. So beschrieb Eichelberg et al. 2007 ebenfalls eine unterschiedliche Verteilung der die Prostata umgebenden Nerven. Die meisten Nerven fanden sich auch hier dorsolateral und machten im Median bis zu 65% der gesamten periprostatischen Nerven aus [85]. Diese Lokalisation entspricht auch den anatomischen Studien von Walsh und Donker, die die Anatomie des neurovaskulären Bündels und dessen Rolle bei der Ausbildung

einer postoperativen Impotenz nach Prostatektomie beschrieben [86]. Auch Powell konnte die größte Nervendichte im Bereich dorsolateral der untersuchten Präparate zeigen [87]. Ebenso konnte Alsaid et al 2011 an vier männlichen Blockpräparaten aus Autopsien erwachsener Männer sowie 7 fetalen männlichen Präparaten eine entsprechende Verteilung der Nerven aufzeigen. Auch in dieser Serie waren die meisten Nerven mit 73% im basisnahen Schnitt dorsolateral zu finden [88]

Zusammenfassend muss hier beachtet werden, dass die existierende Literatur zur Verteilung und Messung von kapsulären Nerven in der Prostata sehr limitiert ist. Aufgrund der doch großen Bedeutung für das operative Vorgehen im Rahmen einer nerverhaltenden Prostatektomie existieren verhältnismäßig viele Daten und Studien über die Verteilung von periprostatistischen Nerven. Über die kapsulären Nerven der Prostata gibt es hingegen nur wenig verfügbare Daten. Eine der wenigen Arbeiten, die hier eine Aussage bezüglich der Verteilung von ventral nach dorsal in der Prostatakapsel zulässt ist die Arbeitsgruppe um Ganzer. Hier erfolgte eine suffiziente Einteilung und Beschreibung sowohl der ventralen, ventrolateralen, dorsolateralen und dorsalen Kapselnerven [72]. In anderen Arbeiten besteht diesbezüglich entweder überhaupt keine Einteilung, so wird z.B. bei Clarebrough nur die Summe der Kapselnerven jeweils im apikalen-, basis- und mittleren Bereich dargelegt [84]. Powell stellte zumindest eine Unterteilung zwischen anterior und posterior dar um die Verteilung der kapsulären Nerven darzustellen [87]. Insgesamt ist anzumerken, dass die wenigen existierenden Arbeiten zur Neuroanatomie der Prostatakapsel rein deskriptiv eine Verteilung der Nerven beschreiben. Eine quantitative Untersuchung der Nerven in Abhängigkeit anderer Co-Faktoren, wie z.B. dem Vorhandensein von Prostatakarzinomverbänden in der Nähe der Prostatakapsel, wurden bis jetzt nicht durchgeführt. Aufgrund der ungenügenden Datenlage bezüglich der Neuroanatomie der Prostatakapsel bedarf es umfassender weiterer Untersuchungen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit hinsichtlich der Nervenanzahl der Prostatakapsel korrelierten mit der Nervenfläche der kapsulären Nerven. Es konnte in den Vergleichen der verschiedenen Segmentpaare unabhängig vom Vorliegen eines Prostatakarzinoms die größte Nervenfläche durch Planimetrie in der dorsolateralen Region beobachtet werden. Die Nervenfläche lag dabei im Segmentpaar 5&8 im Median bei  $0,137 \text{ mm}^2$ , im Segmentpaar 4&9 bei  $0,075 \text{ mm}^2$ . Diese Segmentpaare entsprechen dem dorsolateralen Anteil, in dem sich 78,3% der gemessenen Nervenfläche fand. Im ventrolateralen Anteil konnte ein Anteil der Nervenfläche von der gemessenen Gesamtfläche von 15,6% ermittelt werden.

Hinsichtlich eines Effektes von Prostatakarzinomzellen auf das Nervenwachstum und umgekehrt existieren verschiedene Arbeiten, die bereits zuvor ausführlich erläutert wurden. Es konnten verschiedene Interaktionen zwischen den beteiligten Zelltypen (Prostatakarzinomzellen, Nervenzellen und Stromazellen der Prostata) sowie eine Neurogenese als auch eine Axonogenese, wie auch Vorteile hinsichtlich der Proliferation und Migration für die Tumorzellen im Rahmen einer PNI gezeigt werden [57, 58, 65, 68, 69 83, 89]. Für diese Phänomene konnten verschiedene Veränderungen in den Prostatakarzinomzellen im Bereich der PNI identifiziert werden. So konnte eine Überexpression von NF $\kappa$ B, einem bei der Zellapoptose beteiligten Transkriptionsfaktor, sowie ein vermehrtes Vorkommen von EGRF, welches ein Transmembranrezeptor ist, in den PNI-Arealen der Prostatakarzinome nachgewiesen werden [65, 89].

Des Weiteren konnte eine vermehrte Expression von SF4 in den bei der PNI beteiligten Prostatakarzinomzellen gefunden werden. Semaphorine sind an der Koordination und Steuerung des Nervenzellwachstums maßgeblich beteiligt, wodurch sich auch ein vermehrtes Nervenwachstum im Zusammenhang mit der PNI erklären lassen würde [83, 95].

Um diese beschriebenen Phänomene in der vorliegenden Studie ggf. zu untermauern erfolgte zunächst eine Untersuchung aller Segmente, unabhängig von der Lage, mit der Fragestellung nach einem prinzipiellen Einfluss von Prostatakarzinomverbänden auf das kapsuläre Nervenwachstum. Bei dieser Untersuchung wurden keine Segmentpaare gebildet, sondern alle Segmente miteinander verglichen. Als Effekt wurde in der statistischen Untersuchung der Tumorbefall im Segment gewählt, als abhängige Variable wurde die Nervenanzahl bzw. die Nervenfläche im Segment gewählt. Ziel dieser Untersuchung war es, eventuelle Effekte eines vorhandenen Tumors auf die kapsulären Nerven des jeweiligen Segments zu finden. Es fand sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen der kapsulären Nervenmenge und dem Vorhandensein eines Prostatakarzinoms im jeweiligen Segment. So konnten im Median 4 Nerven in der Kapsel der tumorbefallenen Segmente gefunden werden, in den tumorfreien Segmenten war es hingegen im Median nur 1 Nerv. Die gleichen Ergebnisse fanden sich bei der Untersuchung der Nervenfläche. Hier konnte eine Signifikanz mit einem p-Wert von 0,006 für den Einfluss eines vorhanden Prostatakarzinoms auf die Nervenfläche im Bereich der prostaticischen Kapsel gezeigt werden.

Diese Ergebnisse stützen das Konzept der neuroepithelialen Interaktionen sowie das der Neurogenese im Rahmen einer PNI. Hierbei ist zu beachten, dass bei der Untersuchung bereits die unterschiedliche physiologische Verteilung der Nerven in der Prostatakapsel berücksichtigt wurde.

Anhand der bis zu diesem Schritt durchgeführten Untersuchungen lässt sich noch keine Aussage darüber machen, ob der oben beschriebene Effekt in allen Sektoren auftritt, oder ob es ein lokalisiertes Phänomen in einigen wenigen Sektoren ist. Um diese Frage zu klären erfolgte anschließend eine Untersuchung der Nervenanzahl bzw. Nervenfläche der Prostatakapsel in Abhängigkeit vom Tumorbefall und der Lage. Hierzu wurden unter der Annahme eines symmetrischen Aufbaus der Prostata die gegenüberliegenden Segmente zusammengefasst. Diese Segmente wurden nun hinsichtlich des Attributs eines Tumorbefalls bzw. einer Tumorfreiheit und der kapsulären Nervenanzahl bzw. Nervenfläche ausgewertet. Die Paarbildung der Segmente erfolgte, um der Tatsache Schuld zu tragen, dass es ja prinzipiell möglich ist, dass eine unterschiedliche individuelle physiologische Verteilung der Kapselnerven in der Prostata bei den verschiedenen Prostatektomiepräparaten vorliegen könnte. Durch dieses Vorgehen war es möglich, verschiedene Segmentpaare aus bestimmten Bereichen miteinander zu vergleichen. So wurden z.B. 20 Segmentpaare 5&8 bezüglich eines Tumorbefalls und Tumorfreiheit und dazu gehörigen Nervenanzahl dargestellt. Zu beachten ist hierbei, dass trotzdem die Segmentpaare mit beidseitigem Tumorbefall und Tumorfreiheit in die statistische Berechnung mit einfließen und diesbezüglich auch der p-Wert entsprechend adjustiert wurde. In der statistischen Berechnung bedeutet das, dass in der nichtparametrischen Testung als abhängige Variable die Nervenanzahl bzw. die Nervenoberfläche gewählt wurde, und in dieser Untersuchung speziell ein Interaktionseffekt von Tumor und Segment bzw. Segmentpaar untersucht wurde. So lässt sich eine Aussage über das Wachstumsmuster der Nerven im Bereich der Prostatakapsel in Abhängigkeit vom Tumorbefall und der Lage fällen, und letztlich auch beurteilen, wie stark ein möglicher Effekt der Prostatakarzinomzellen auf das Nervenwachstum jeweils im dorsalen, ventralen, dorsolateralen und ventrolateralen Anteil der Prostatakapsel ist.

Bei Betrachtung der Nervenanzahl und der Nervenfläche in der Prostatakapsel in Abhängigkeit vom Tumorwachstum und der Lage konnte ein signifikanter Effekt für die tumortragenden Segmente der untersuchten Paare im dorsolateralen Anteil der Prostata gezeigt werden. Bei genauerer Betrachtung des Segmentpaares 5&8

fanden sich im Median in den tumortragenden Segmenten 14 Nerven (IQR 9 bis 21). Demnach lag bei 50% der hier tumortragenden Segmente in der Nervenkapself die Nervenanzahl zwischen 9 und 21. Hingegen fanden sich im Median in den nicht tumortragenden Segmenten der Segmentpaare 5&8 im Median nur 8,5 Nerven (IQR 4 bis 11,5). In den übrigen Lokalisationen ventral, dorsal und ventrolateral konnte kein signifikanter Effekt im Vergleich von tumortragenden zu tumorfreien Segmenten gefunden werden. Hier lagen die p-Werte jeweils bei  $p = 1,0$ .

Der berechnete Interaktionseffekt eines vorhandenen Tumors in Abhängigkeit vom Segment konnte dennoch mit einer Signifikanz  $p=0,034$  gezeigt werden. Demnach konnte im vorliegenden linearen nichtparametrischen Modell, trotz des nur in den dorsolateralen Anteilen zu beobachtenden Effektes, insgesamt ein signifikanter Einfluss bei vorhandenem Tumor auf die angrenzenden Kapselnerven nachgewiesen werden.

Vergleichbare Ergebnisse fanden sich bei den Untersuchungen hinsichtlich der Nervenfläche. Das bedeutet, dass ein Effekt vom Tumorbefall im Segment auf die kapsuläre Nervenfläche nur für die dorsolateralen Kapselanteile bzw. Segmente aufgezeigt werden konnte.

Der lageabhängige Effekt des Tumorbefalls auf die kapsuläre Nervenanzahl und -fläche lässt sich zum einen durch die Tatsache erklären, dass eine unterschiedliche Nervenverteilung in der prostatistischen Kapsel vorliegt. Das konnte auch in dieser Untersuchung veranschaulicht werden.

Untermauert wird dieses Ergebnis auch durch die bereits zuvor erwähnte Arbeit von Ganzer et al., in der eine signifikant unterschiedliche Verteilung von kapsulären Nerven in der Prostatakapsel nachgewiesen werden konnte. Allerdings ist hier bei der Interpretation der Daten zu berücksichtigen, dass es sich bei den durch Ganzer untersuchten Großflächenschnitten um Präparate nach Prostatektomie handelt und ein Tumorbefall, wie auch in der vorliegenden Untersuchung, generell besteht [72]. Allerdings beschreibt Powell 2005 auch eine unterschiedliche Verteilung von kapsulären und periprostatistischen Nerven in Kadavern von Männern ohne Prostatakarzinom [87].

Geht man also von einer unterschiedlichen Verteilung der kapsulären Nerven in der Prostata aus und orientiert sich hierbei an den vorliegenden Daten, so ist festzustellen, dass der Hauptteil der Nerven im dorsolateralen Anteil der Prostata zu finden ist. Demnach könnte man davon ausgehen, dass einfach zu wenige Nervenzellen außerhalb der dorsolateralen Region in der Prostatakapsel vorliegen,

um dort eine signifikante Interaktion zwischen Nervenzellen und Prostatakarzinomzellen zu entwickeln. So würde sich der alleinige Effekt des Tumorbefalls im dorsolateralen Anteil der Prostata durch die geringe Nervenanzahl im dorsalen, ventralen und ventrolateralen Anteil der Prostata erklären lassen.

McNeal et al konnten 2001 durch anatomische Untersuchungen an Prostatektomipräparaten zeigen, dass das Prostatakarzinom vornehmlich im dorsolateralen Anteil der Prostata die Kapsel penetriert und dort organüberschreitend wächst. Dabei wurden 571 Präparate nach radikaler Prostatektomie untersucht. Es wurden unterschiedliche Wachstumsmuster der Tumore in der Prostata in Abhängigkeit vom Volumen des Tumors beschrieben. Zudem wurde auch das extrakapsuläre Wachstum des Tumors beschrieben, hierbei zeigte sich am häufigsten ein Durchbruch des Tumors durch die Prostatakapsel im Bereich der Prostatabasis entlang an Nerven hin zum superioren Prostatapedikel [59]. Diese Lokalisation entspricht in der vorliegenden Arbeit dem dorsolateralen Teil der Prostata bzw. der Prostatakapsel.

Nachdem sich nach den vorliegenden Daten nun die meisten Nerven im Bereich der dorsolateralen Prostatakapsel finden und sich zudem auch ein positiver Effekt eines Prostatakarzinoms auf das Nervenwachstum zeigt, lässt sich daraus auch schließen, dass auch hier eine perineurale Invasion häufiger vorkommt und damit ein Durchbruch des Prostatakarzinoms durch die Kapsel in diesem Bereich wahrscheinlicher ist als in anderen Bereichen der Prostata.

Des Weiteren zeigten McNeal et al, dass ein Fortschreiten des Prostatakarzinoms und damit auch das kapselüberschreitende Wachstum auch abhängig vom Tumolvolumen ist. So wurde hier für Prostatakarzinome mit einem Volumen über 4ccm ein vermehrt bilaterales Wachstum und Invasion der Transitionalzellzone beschrieben. Für diese Tumore wurde darüber hinaus auch ein vornehmliches Wachstumsmuster durch die Basis entlang von Nerven in die Prostatapedikel beschrieben [59].

Die vorliegende Untersuchung enthält einige Limitierungen: es erfolgte keine Berücksichtigung der Größe des Tumors im jeweiligen Segment. Es erfolgte lediglich eine Einteilung ob Tumor im Segment vorhanden ist oder nicht. Dies gewährleistete eine Vereinfachung der statistischen Auswertung. Das angewandte nichtparametrische lineare Modell beschreibt die vorliegenden Verhältnisse sehr genau. Prinzipiell wäre möglich gewesen, den prozentualen Tumorbefall im Segment als weiteren Effekt in die statistische Berechnung mit einfließen zu lassen. Allerdings

hätte die Statistik dabei aufgrund der zu geringen Fallzahl an Aussagekraft eingebüsst. Es wäre eine wesentlich höhere Präparatezahl notwendig gewesen, um einen signifikanten Effekt des Tumorzells nachzuweisen.

Prinzipiell wäre es aber durchaus denkbar, dass eine größere Tumorzelllast auch einen größeren Effekt auf das Nervenwachstum in der Prostatakapsel hat.

Weiterhin erfolgte keine Berücksichtigung des Abstands des Tumorfokus zur Prostatakapsel. Fromont et al beschreiben eine Abhängigkeit zwischen der Entfernung von Prostatakarzinomzellen zu Nervenzellen und konnten eine Überexpression von EGFR aufzeigen. Die Expression des Rezeptors für EGF nimmt demnach deutlich ab, je weiter die Tumorzellen von Nerven entfernt sind. [89]. Ayala beschreibt eine höhere Nervendichte in High grade-PIN-Läsionen in der Prostata sowie in Prostatakarzinombereichen [83]. Die räumliche Nähe zwischen den Tumorzellen und dem Nervengewebe scheint also eine Rolle für das Ausmaß einer Interaktion zu spielen.

Hier sind weitere Studien hinsichtlich eines Effektes des Tumorzells bzw. des Abstands des Tumors zur Kapsel auf das kapsuläre Nervenwachstum notwendig.

Auch eine Abhängigkeit zwischen dem Volumen der Prostata und der Nervenanzahl und der Nervenfläche in der Prostatakapsel erscheint durchaus denkbar. Hierzu existieren in der Literatur allerdings keine verfügbaren Daten. Diesbezüglich sind sicherlich weitere Studien notwendig.

Ganzer et al untersuchten 2009 einen fraglichen Zusammenhang zwischen dem Prostatavolumen und der Verteilung der periprostatistischen Nerven. Hierzu wurden insgesamt 45 Prostaten untersucht, die in zwei Gruppen eingeteilt wurde, nämlich eine Gruppe mit einem medianen Prostatavolumen von 21ccm und eine zweite Gruppe mit 40ccm. Letztlich konnte hier kein Unterschied im Verteilungsmuster der periprostatistischen Nerven zwischen beiden Gruppen gezeigt werden [96].

In der vorliegenden Arbeit konnte zumindest kein Effekt auf die Nervenanzahl in der Prostatakapsel durch das Prostatavolumen gezeigt werden, allerdings ist hierbei zu berücksichtigen, dass bei dieser quantitativen Studie nur eine relativ geringe Anzahl von Prostatektomiepräparaten untersucht wurde (n=33) und daher sicherlich weitere Studien mit höheren Fallzahlen notwendig sind.

Ein weiterer Kritikpunkt der vorliegenden Studie besteht aufgrund der geringen Anzahl der untersuchten Schnitte. Hierbei besteht prinzipiell das Risiko eines Selektions-Bias, der letztlich die Ergebnisse verfälschen könnte.

Auffällig ist auch, dass weder der präoperative PSA-Wert, noch der Gleason-Score einen Einfluss auf die kapsuläre Nervenanzahl oder die Nervenfläche hat. Dies erscheint in sofern merkwürdig, als durch vorangegangene Studien bekannt ist, dass der präoperative Gleason-Score zusammen mit dem präoperativen PSA-Wert ein wichtiger Prädiktor für ein kapselüberschreitendes Wachstumsmuster des Prostatakarzinoms ist [106]. Die vorliegenden Ergebnisse könnten hier durch die geringe Fallzahl verfälscht sein, eventuell wäre ein Effekt des PSA-Wertes und des Gleason-Score erst bei höheren Fallzahlen statistisch signifikant nachweisbar.

Auch die chirurgische Prozedur, d.h. die EERPE, könnte zu einer Verfälschung der kapsulären Nervenanzahl führen. Zwar wurden alle Patienten, die in diese Studie eingeschlossen wurden, nicht nerverhaltend operiert und die Prostatektomie erfolgte in der sogenannten „wide-excision“-Technik, dennoch lässt sich ein Effekt auf die Anatomie der Prostatakapsel nicht gänzlich ausschließen. Hier wären ggf. weitere Studien mit Untersuchungen von Blockpräparaten des kleinen Beckens von menschlichen Kadavern im Rahmen einer Sektion notwendig.

Des Weiteren ist zu beachten, dass die vorliegende Studie eine rein quantitative und deskriptive Studie ist. Das Wachstumsmuster der kapsulären Nerven der Prostata wurde rein quantitativ dargelegt, eine Erklärung für die zugrundeliegenden Mechanismen der Induktion des Nervenwachstums in der Prostatakapsel durch ein PC lässt sich hieraus nicht direkt ableiten.

Nicht zuletzt ist bei der Interpretation der erhobenen Daten ebenfalls zu berücksichtigen, dass bei den histopathologischen Untersuchungen der Präparate nicht standardmäßig eine Untersuchung auf das Merkmal einer perineuralen Invasion stattgefunden hat. Das bedeutet, dass letztlich die untersuchten Schnitte nicht alle nachweislich mit einer perineuralen Invasion befallen waren. Betrachtet man allerdings die Arbeiten von z.B. Liebig et al und Villers et al ist die Eigenschaft einer PNI bei 75% bis 85% der Prostatakarzinome zu finden [55, 57, 58, 79, 80], so dass auch bei den hier untersuchten Präparaten von einer entsprechenden Verteilung der perineuralen Invasion ausgegangen werden kann.

Allerdings ist bei der Bewertung der Ergebnisse wiederum die geringe Fallzahl mit nur 33 untersuchten Präparaten zu berücksichtigen. Es kann hierbei nicht zwingend von einer Normalverteilung der perineuralen Invasion ausgegangen werden, dazu wären wesentlich höhere Fallzahlen nötig.

Abschließend ist zu bemerken, dass bei zukünftigen Studien zum einen darauf geachtet werden sollte, dass die PNI im postoperativen histopathologischen Bericht

erwähnt wird. Zum Anderen sollten die Untersuchungen mit einer größeren Fallzahl reproduziert werden, um den Ergebnissen mehr Ausdruckstärke zu verleihen.

Trotz der genannten Limitierungen der vorliegenden Studie sind Erkenntnisse über den Mechanismus einer neuroepithelialen Interaktion von Nerven- und Tumorzellen, und damit auch die Ergebnisse dieser Studie von klinischer Bedeutung. Wie zuvor erläutert fand sich ein signifikanter Effekt des Prostatakarzinoms auf die Nervenmenge nur im dorsolateralen Anteil der Prostatakapsel. Dies ist der Bereich, in dem der Hauptteil der erektilen Nerven des neurovaskulären Bündels entlang der Prostatakapsel verläuft [72, 85, 86, 96, 102]. Die neugewonnenen Erkenntnisse über die perineurale Invasion und die Nervenanzahl der Prostatakapsel in Abhängigkeit von Tumor-Foci könnten in Zukunft auch zur Entscheidung über den Grad der Radikalität einer nerverhaltenden OP-Prozedur beitragen.

Sollten die der PNI zugrundeliegenden komplexen Mechanismen entschlüsselt werden können, wären in Zukunft auch neue Therapieansätze denkbar. Könnte man den Mechanismus der PNI mit seinem daraus resultierenden fortschreitenden Tumorwachstum mit einer zielgerichteten Inhibition der Signaltransduktionswege zwischen den verschiedenen Zellen hemmen, so ließe sich damit auch eine Tumorprogression und letztlich ein Fortschreiten der Erkrankung verhindern bzw. verzögern. Dies könnte z.B. einem ausgewählten Patientengut mit lokal begrenztem low-risk Prostatakarzinom ermöglichen, die Phase unter Active Surveillance bei vergleichbarer onkologischer Sicherheit zu verlängern.

## **5 Zusammenfassung**

Analog zu den wenigen vorliegenden Studien der aktuellen Literatur fand sich in dieser Arbeit der Hauptteil der Kapselnerven in der dorsolateralen Region der Prostata. Es wurden 75,7 % der quantifizierten kapsulären Nerven im dorsolateralen Bereich der Prostatakapsel gefunden, 16,7% fanden sich ventrolateral. Ein vergleichbares Verteilungsmuster fand sich bei der Messung der Gesamtfläche der Kapselnerven.

In Abhängigkeit von Tumorbefall im untersuchten Segment der Prostata wurde ein signifikanter Effekt eines angrenzenden Prostatakarzinoms auf die Nervenmenge der Prostatakapsel nachgewiesen. Sowohl die Nervenzahl als auch die Nervenfläche

waren in tumorbefallenen Segmenten im Vergleich zu tumorfreien Segmenten signifikant erhöht .

Dieser signifikante Effekt war lageabhängig: nur im dorsolateralen Anteil der Prostata war eine signifikante Zunahme der Nervenanzahl und der Nervenfläche im Bereich der Prostatakapsel nachzuweisen. In den übrigen Regionen der Prostata konnte kein signifikanter Effekt nachgewiesen werden.

Der in dieser Arbeit erstmals nachgewiesene quantitative Zusammenhang der Menge an Nerven in der dorsolateralen Prostatakapsel und angrenzendem Prostatakarzinomgewebe kann als Ergänzung zu vorangegangenen Studien über den Mechanismus der PNI angesehen werden. Die Ergebnisse unterstützen die These einer komplexen neuroepithelialen Interaktion zwischen Tumorzellen und Nervenzellen mit einem daraus resultierenden vermehrten Wachstum an Nervenzellen. Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine rein deskriptive, quantitative Untersuchung, die demnach nur indirekte Rückschlüsse zum Vorliegen einer neuroepithelialen Interaktion zulässt.

Weitere Studien sind für ein genaueres Verständnis des Mechanismus der PNI notwendig. Daraus ließen sich potentiell Ansätze für ein zielgerichtetes Eingreifen in die Mechanismen der Tumorprogression des Prostatakarzinoms ableiten. So könnte ein Tumorprogress bei Patienten, die unter Active Surveillance stehen, verzögert oder gar verhindert werden.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Krebs in Deutschland 2007/2008. Häufigkeiten und Trends. 7. Ausgabe. Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e. V. (Hrsg). Berlin, 2012.
2. Gronberg, H., L. Damber, and J.E. Damber, Familial prostate cancer in Sweden. A nationwide register cohort study. *Cancer*, 1996. 77(1): p. 138-43.
3. Steinberg, G.D., et al., Family history and the risk of prostate cancer. *Prostate*, 1990. 17(4): p. 337-47.
4. Carter, B.S., et al., Mendelian inheritance of familial prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1992. 89(8): p. 3367-71.
5. Bratt, O., Hereditary prostate cancer: clinical aspects. *J Urol*, 2002. 168(3): p. 906-13.
6. Denis, L., M.S. Morton, and K. Griffiths, Diet and its preventive role in prostatic disease. *Eur Urol*, 1999. 35(5-6): p. 377-87.
7. Meyer, F., et al., Dietary fat and prostate cancer survival. *Cancer Causes Control*, 1999. 10(4): p. 245-51.
8. Helpap, Histopathologie, in Aktuelle Therapie des Prostatakarzinoms, A.J. Ackermann R, Faul P, Editor. 1991, Springer Verlag: Berlin Heidelberg New York London Paris Tokyo Hong Kong Barcelona Budapest. p. 11-42.
9. Helpap, B., The biological significance of atypical hyperplasia of the prostate. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol*, 1980. 387(3): p. 307-17.
10. Helpap, B., et al., Relationship between atypical adenomatous hyperplasia (AAH), prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) and prostatic adenocarcinoma. *Pathologica*, 1997. 89(3): p. 288-300.
11. Helpap, B.G., D.G. Bostwick, and R. Montironi, The significance of atypical adenomatous hyperplasia and prostatic intraepithelial neoplasia for the development of prostate carcinoma. An update. *Virchows Arch*, 1995. 426(5): p. 425-34.
12. Bostwick DG, B.M., Prostatic intra-epithelial neoplasia and early invasion in prostate cancer. *Cancer*, 1987. 59(4): p. 788-94.
13. Epstein, J.I., et al., Interobserver reproducibility in the diagnosis of prostatic intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol*, 1995. 19(8): p. 873-86.
14. Armah, H.B. and A.V. Parwani, Atypical adenomatous hyperplasia (adenosis) of the prostate: a case report with review of the literature. *Diagn Pathol*, 2008. 3: p. 34.

15. Bostwick, D.G., et al., Atypical adenomatous hyperplasia of the prostate: morphologic criteria for its distinction from well-differentiated carcinoma. *Hum Pathol*, 1993. 24(8): p. 819-32.
16. G.C. Durkan, N.S., P. Johnson, A.J. Hildreth, D.R. Greene,, Improving prostate cancer detection with an extended-core transrectal ultrasonography-guided prostate biopsy protocol. *BJU International*, 2002. 89(1): p. 33-39.
17. Sakr, W.A., et al., High grade prostatic intraepithelial neoplasia (HGPIN) and prostatic adenocarcinoma between the ages of 20-69: an autopsy study of 249 cases. *In Vivo*, 1994. 8(3): p. 439-43.
18. Jemal, A., et al., Cancer statistics, 2006. *CA Cancer J Clin*, 2006. 56(2): p. 106-30.
19. Heidenreich, A., et al., EAU guidelines on prostate cancer. Update 2011.
20. Mostofi, F.K., Grading of prostatic carcinoma. *Cancer Chemother Rep*, 1975. 59(1): p. 111-7.
21. Epstein, J.I., et al., Update on the Gleason grading system for prostate cancer: results of an international consensus conference of urologic pathologists. *Adv Anat Pathol*, 2006. 13(1): p. 57-9.
22. Epstein, J.I., et al., The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. *Am J Surg Pathol*, 2005. 29(9): p. 1228-42.
23. Amin, M., et al., Prognostic and predictive factors and reporting of prostate carcinoma in prostate needle biopsy specimens. *Scand J Urol Nephrol Suppl*, 2005(216): p. 20-33.
24. Djavan, B., et al., Are repeat biopsies required in men with PSA levels < or =4 ng/ml? A Multiinstitutional Prospective European Study. *Eur Urol*, 2005. 47(1): p. 38-44; discussion 44.
25. Djavan, B., S. Milani, and M. Remzi, Prostate biopsy: who, how and when. An update. *Can J Urol*, 2005. 12 Suppl 1: p. 44-8; discussion 99-100.
26. Roobol, M.J., I.W. van der Crujsen, and F.H. Schroder, No reason for immediate repeat sextant biopsy after negative initial sextant biopsy in men with PSA level of 4.0 ng/mL or greater (ERSPC, Rotterdam). *Urology*, 2004. 63(5): p. 892-7; discussion 897-9.
27. Lodding, P., et al., Characteristics of screening detected prostate cancer in men 50 to 66 years old with 3 to 4 ng./ml. Prostate specific antigen. *J Urol*, 1998. 159(3): p. 899-903.
28. Sun, L., et al., Prostate-specific antigen (PSA) and PSA velocity for prostate cancer detection in men aged <50 years. *BJU Int*, 2007. 99(4): p. 753-7.

29. Carvalhal, G.F., et al., Digital rectal examination for detecting prostate cancer at prostate specific antigen levels of 4 ng./ml. or less. *J Urol*, 1999. 161(3): p. 835-9.
30. Catalona, W.J., et al., Comparison of digital rectal examination and serum prostate specific antigen in the early detection of prostate cancer: results of a multicenter clinical trial of 6,630 men. *J Urol*, 1994. 151(5): p. 1283-90.
31. Eastham, J.A., et al., Development of a nomogram that predicts the probability of a positive prostate biopsy in men with an abnormal digital rectal examination and a prostate-specific antigen between 0 and 4 ng/mL. *Urology*, 1999. 54(4): p. 709-13.
32. Aus, G., et al., Outcome of laterally directed sextant biopsies of the prostate in screened males aged 50--66 years. Implications for sampling order. *Eur Urol*, 2001. 39(6): p. 655-60; discussion 661.
33. Eskew, L.A., R.L. Bare, and D.L. McCullough, Systematic 5 region prostate biopsy is superior to sextant method for diagnosing carcinoma of the prostate. *J Urol*, 1997. 157(1): p. 199-202; discussion 202-3.
34. Hodge, K.K., et al., Random systematic versus directed ultrasound guided transrectal core biopsies of the prostate. *J Urol*, 1989. 142(1): p. 71-4; discussion 74-5.
35. Stamey, T.A., Making the most out of six systematic sextant biopsies. *Urology*, 1995. 45(1): p. 2-12.
36. Zincke, H., et al., Long-term (15 years) results after radical prostatectomy for clinically localized (stage T2c or lower) prostate cancer. *J Urol*, 1994. 152(5 Pt 2): p. 1850-7.
37. Zincke, H., et al., Radical prostatectomy for clinically localized prostate cancer: long-term results of 1,143 patients from a single institution. *J Clin Oncol*, 1994. 12(11): p. 2254-63.
38. Roach, M., 3rd, et al., Defining biochemical failure following radiotherapy with or without hormonal therapy in men with clinically localized prostate cancer: recommendations of the RTOG-ASTRO Phoenix Consensus Conference. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2006. 65(4): p. 965-74.
39. Aus, G., Current status of HIFU and cryotherapy in prostate cancer--a review. *Eur Urol*, 2006. 50(5): p. 927-34; discussion 934.
40. Amling, C.L., et al., Long-term hazard of progression after radical prostatectomy for clinically localized prostate cancer: continued risk of biochemical failure after 5 years. *J Urol*, 2000. 164(1): p. 101-5.
41. Porter, C.R., et al., Prostate cancer-specific survival in men treated with hormonal therapy after failure of radical prostatectomy. *Eur Urol*, 2007. 52(2): p. 446-52.

42. Roehl, K.A., et al., Cancer progression and survival rates following anatomical radical retropubic prostatectomy in 3,478 consecutive patients: long-term results. *J Urol*, 2004. 172(3): p. 910-4.
43. Han, M., et al., Long-term biochemical disease-free and cancer-specific survival following anatomic radical retropubic prostatectomy. The 15-year Johns Hopkins experience. *Urol Clin North Am*, 2001. 28(3): p. 555-65.
44. Simmons, M.N., A.J. Stephenson, and E.A. Klein, Natural history of biochemical recurrence after radical prostatectomy: risk assessment for secondary therapy. *Eur Urol*, 2007. 51(5): p. 1175-84.
45. Freedland, S.J., et al., Risk of prostate cancer-specific mortality following biochemical recurrence after radical prostatectomy. *Jama*, 2005. 294(4): p. 433-9.
46. Chun, F.K., et al., Anatomic radical retropubic prostatectomy-long-term recurrence-free survival rates for localized prostate cancer. *World J Urol*, 2006. 24(3): p. 273-80.
47. Ward, J.F., et al., Radical prostatectomy for clinically advanced (cT3) prostate cancer since the advent of prostate-specific antigen testing: 15-year outcome. *BJU Int*, 2005. 95(6): p. 751-6.
48. Hsu, C.Y., et al., Comparing results after surgery in patients with clinical unilateral T3a prostate cancer treated with or without neoadjuvant androgen-deprivation therapy. *BJU Int*, 2007. 99(2): p. 311-4.
49. Carver, B.S., et al., Long-term outcome following radical prostatectomy in men with clinical stage T3 prostate cancer. *J Urol*, 2006. 176(2): p. 564-8.
50. Wolf, C.M., Dall'era M, Presti JC Jr, Hricak H, Carroll PR, The use and accuracy of cross-sectional imaging and fine needle aspiration cytology for detection of pelvic lymph node metastases before radical prostatectomy. *J Urol*, 1995. 153(3 Pt. 2): p. 993-9.
51. Iversen, P., et al., Is the efficacy of hormonal therapy affected by lymph node status? data from the bicalutamide (Casodex) Early Prostate Cancer program. *Urology*, 2004. 63(5): p. 928-33.
52. Schroder, F.H., et al., Early Versus Delayed Endocrine Treatment of T2-T3 pN1-3 M0 Prostate Cancer Without Local Treatment of the Primary Tumour: Final Results of European Organisation for the Research and Treatment of Cancer Protocol 30846 After 13 Years of Follow-up (A Randomised Controlled Trial) Editorial by Mario A. Eisenberg on pp. x-y of this issue. *Eur Urol*, 2008.
53. Ghavamian, R., et al., Radical retropubic prostatectomy plus orchiectomy versus orchiectomy alone for pTxN+ prostate cancer: a matched comparison. *J Urol*, 1999. 161(4): p. 1223-7; discussion 1227-8.

54. Aus, G., et al., Survival in prostate carcinoma--outcomes from a prospective, population-based cohort of 8887 men with up to 15 years of follow-up: results from three countries in the population-based National Prostate Cancer Registry of Sweden. *Cancer*, 2005. 103(5): p. 943-51.
55. Villers, A., et al., The role of perineural space invasion in the local spread of prostatic adenocarcinoma. *J Urol*, 1989. 142(3): p. 763-8.
56. Batsakis, J.G., Nerves and neurotropic carcinomas. *Ann Otol Rhinol Laryngol*, 1985. 94(4 Pt 1): p. 426-7.
57. Liebig, C., et al., Perineural invasion in cancer: a Review of the Literature. *Cancer*, 2009.
58. Maru, N., et al., Prognostic significance of the diameter of perineural invasion in radical prostatectomy specimens. *Hum Pathol*, 2001. **32**(8): p. 828-33.
59. McNeal, J.E. and O. Haillot, Patterns of spread of adenocarcinoma in the prostate as related to cancer volume. *Prostate*, 2001. 49(1): p. 48-57.
60. Bastacky, S.I., P.C. Walsh, and J.I. Epstein, Relationship between perineural tumor invasion on needle biopsy and radical prostatectomy capsular penetration in clinical stage B adenocarcinoma of the prostate. *Am J Surg Pathol*, 1993. 17(4): p. 336-41.
61. de la Taille, A., et al., Perineural invasion on prostate needle biopsy: an independent predictor of final pathologic stage. *Urology*, 1999. 54(6): p. 1039-43.
62. Rubin, M.A., et al., Predictors of Gleason pattern 4/5 prostate cancer on prostatectomy specimens: can high grade tumor be predicted preoperatively? *J Urol*, 2001. 165(1): p. 114-8.
63. Lee, I.H., et al., Perineural invasion is a marker for pathologically advanced disease in localized prostate cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2007. 68(4): p. 1059-64.
64. Merrilees, A.D., et al., Parameters of perineural invasion in radical prostatectomy specimens lack prognostic significance. *Mod Pathol*, 2008. 21(9): p. 1095-100.
65. Ayala, G.E., et al., Growth and survival mechanisms associated with perineural invasion in prostate cancer. *Cancer Res*, 2004. 64(17): p. 6082-90.
66. Rodin, A.E., D.L. Larson, and D.K. Roberts, Nature of the perineural space invaded by prostatic carcinoma. *Cancer*, 1967. 20(10): p. 1772-9.
67. Hassan, M.O. and J. Maksem, The prostatic perineural space and its relation to tumor spread: an ultrastructural study. *Am J Surg Pathol*, 1980. 4(2): p. 143-8.

68. Ayala, G.E., et al., In vitro dorsal root ganglia and human prostate cell line interaction: redefining perineural invasion in prostate cancer. *Prostate*, 2001. 49(3): p. 213-23.
69. Cornell, R.J., et al., Neuroepithelial interactions in prostate cancer are enhanced in the presence of prostatic stroma. *Urology*, 2003. 61(4): p. 870-5.
70. Stolzenburg, J.U., et al., The endoscopic extraperitoneal radical prostatectomy (EERPE): technique and initial experience. *World J Urol*, 2002. 20(1): p. 48-55.
71. <http://www.aerzteblatt.de/v4/news/news.asp?id=34200>
72. Ganzer R, et al., Topographical Anatomy of Periprostatic and Capsular Nerves: Quantification and Computerised Planimetry, *Eur Urol* (2008), doi:10.1016/j.eururo.2008.04.018
73. Schuessler W, et al., Laparoscopic radical prostatectomy: Initial short-term experience. *Urology* 1997. 50(6) ,p: 854-857
74. Guillonneau B, et al., Laparoscopic radical prostatectomy: technical and early oncological assessment of 40 operations. *Eur Urol* (1999); 36(1):14-20.
75. Raboy B, et al., Initial experience with extraperitoneal endoscopic radical retropubic prostatectomy. *Urology* 1997; 50(6): 849-53.
76. Bollens R, et al., Extraperitoneal laparoscopic radical prostatectomy. Results after 50 cases. *Eur Urol*. 2001 Jul;40(1):65-9.
77. D'Amico AV, Whittington R, Malkowicz SB et al.: Biochemical outcome after radical prostatectomy, external beam radiation therapy, or interstitial radiation therapy for clinically localized prostate cancer. *JAMA* 1998; 280: 969–74.
78. Scardino PT, Weaver R, Hudson MA, Early detection of prostate cancer, *Hum Pathol*. 1992 Mar;23(3):211-22. Review.
79. Byar DP, Mostofi FK, The Veterans Administration Cooperative Urological Research Group: Carcinoma of the prostate: Prognostic evaluation of certain pathologic features in 208 radical prostatectomies. Examined by the Stepp-section technique. *Cancer* 1972, 30:5-13
80. van den Ouden D, Kranse R, Hop WC, et al: Microvascular invasion in prostate cancer: Prognostic significance in patients treated by radical prostatectomy for clinically localized carcinoma. *Urol Int*. 1998 60:17-24
81. Bostwick DG, Foster CS: Predictive factors in prostate cancer: current concepts from the 1999 College of American Pathologists Conference on Solid Tumor Prognostic Factors and the 1999 World Health Organization Second International Consultation on Prostate Cancer. *Semin Urol Oncol* 1999, 17:222-272

- 82 Ozcan F: Correlation of perineural invasion on radical prostatectomy specimens with other pathologic prognostic factors and PSA failure. *Eur Urol.* 2001 Sep;40(3):308-12.
- 83 Ayala GE, Dai H, Powell M, Li R, Ding Y, Wheeler TM, Shine D, Kadmon D, Thompson T, Miles BJ, Ittmann MD, Rowley D: Cancer-related axonogenesis and neurogenesis in prostate cancer, *Clin Cancer Res.* 2008 Dec 1;14(23):7593-603.
- 84 Clarebrough EE, Challacombe BJ, Briggs C, Namdarian B, Weston R, Murphy DG, Costello AJ: Cadaveric analysis of periprostatic nerve distribution: an anatomical basis for high anterior release during radical prostatectomy? *J Urol* 2011 Apr;185(4):1519-25
- 85 Eichelberg C, Erbersdobler A, Michl U, Schlomm T, Salomon G, Graefen M, Huland H: Nerve distribution along the prostatic capsule; *Eur Urol.* 2007 Jan;51(1):105-10
- 86 Walsh PC, Donker PJ; Impotence following radical prostatectomy: insight into etiology and prevention; *J Urol.* 1982 Sep;128(3):492-7
- 87 Powell MS, Li R, Dai H, Sayeeduddin M, Wheeler TM, Ayala GE; Neuroanatomy of the normal prostate; *Prostate.* 2005 Sep 15;65(1):52-7
- 88 Alsaïd B, Bessede T, Diallo D, Moszkowicz D, Karam I, Benoit G, Droupy S; Division of autonomic nerves within the neurovascular bundles distally into corpora cavernosa and corpus spongiosum components: immunohistochemical confirmation with three-dimensional reconstruction; *Eur Urol.* 2011 Jun;59(6):902-9
- 89 Fromont G, Godet J, Pires C, Yacoub M, Dore B, Irani J; Biological significance of perineural invasion (PNI) in prostate cancer; *Prostate.* 2012 Apr;72(5):542-8
- 90 de Muga S, Hernández S, Agell L, Salido M, Juanpere N, Lorenzo M, Lorente JA, Serrano S, Lloreta J; Molecular alterations of EGFR and PTEN in prostate cancer: association with high-grade and advanced-stage carcinomas; *Mod Pathol.* 2010 May;23(5):703-12
- 91 Di Lorenzo G, Tortora G, D'Armiento FP, De Rosa G, Staibano S, Autorino R, D'Armiento M, De Laurentiis M, De Placido S, Catalano G, Bianco AR, Ciardiello F; Expression of epidermal growth factor receptor correlates with disease relapse and progression to androgen-independence in human prostate cancer; *Clin Cancer Res.* 2002 Nov;8(11):3438-44
- 92 Schäfer W, Funke PJ, Kunde D, Rausch U, Wennemuth G, Stützer H; Intensity of androgen and epidermal growth factor receptor immunoreactivity in samples of radical prostatectomy as prognostic indicator: correlation with clinical data of long-term observations; *J Urol.* 2006 Aug;176(2):532-7

- 93 Meyer-Siegler KL, Iczkowski KA, Leng L, Bucala R, Vera PL; Inhibition of macrophage migration inhibitory factor or its receptor (CD74) attenuates growth and invasion of DU-145 prostate cancer cells; *J Immunol.* 2006 Dec 15;177(12):8730-9
- 94 Koide N, Yamada T, Shibata R, Mori T, Fukuma M, Yamazaki K, Aiura K, Shimazu M, Hirohashi S, Nimura Y, Sakamoto M; Establishment of perineural invasion models and analysis of gene expression revealed an invariant chain (CD74) as a possible molecule involved in perineural invasion in pancreatic cancer; *Clin Cancer Res.* 2006 Apr 15;12(8):2419-26
- 95 Rosa-Eva Hüttl, Andrea Huber Brösamle: Durch Kommunikation ans Ziel - Nervenfaserverinteraktionen während der Embryonalentwicklung. In: *DZKF, Jahrgang 16 (1/2), 2012, S.20–23*
- 96 Ganzer R, Blana A, Stolzenburg JU, Rabenalt R, Fritsche HM, Wieland WF, Denzinger S; Nerve quantification and computerized planimetry to evaluate periprosthetic nerve distribution-does size matter? *Urology.* 2009 Aug;74(2):398-403
- 97 Samaratunga H, Montironi R, True L, et al. International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Handling and Staging of Radical Prostatectomy Specimens. Working group 1: specimen handling. *Mod Pathol* 2011;24:6–15
- 98 Brunner E, Domhof S, Langer F. Nonparametric analysis of longitudinal data in factorial experiments, exp. and trans ed. New York. NY: Willey; 2001
- 99 Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind C: UICC: TNM classification of malignant tumors. 7th edition, Wiley-Blackwell, Oxford 2009
- 100 Myers RP, Cheville JC, Making anatomic terminology of the prostate and contiguous structures clinically useful: historical review and suggestions for revision in the 21st century. *Clin Anat* 2010 Jan;23(1):18-29
- 101 Epstein JI. Pathologic assessment of the surgical specimen. *Urol Clin North Am* 2001 Aug;28(3):567-94.
- 102 Walz J, Burnett AL, Costello AJ, et al. A critical analysis of the current knowledge of surgical anatomy related to optimization of cancer control and preservation of continence and erection in candidates for radical prostatectomy. *Eur Urol* 2010;57:179-92.
- 103 Kiyoshima K, Yokomizo A, Yoshida T, et al. Anatomical features of periprosthetic tissue and its surroundings: a histological analysis of 79 radical retropubic prostatectomy specimens. *Jpn J Clin Oncol* 2004;34:463-8
- 104 Ayala AG, Ro JY, Babaian R, Troncoso P, Grignon DJ. The prostatic capsule: does it exist? Its importance in the staging and treatment of prostatic carcinoma. *Am J Surg Pathol* 1989;13:21-7

- 105 McNeal JE. The prostate and prostatic urethra: a morphologic synthesis. J Urol 1972;107:1008-16
- 106 Partin AW, Kattan MW, Subing EN, et al. Combination of prostate-specific antigen, clinical stage, and Gleason score to predict pathological stage of localized prostate cancer: a multi-institutional update. JAMA 1997;277:1445-51
- 107 Stolzenburg JU, Truss MC, Rabenalt R, Do M, Pfeiffer H, Bekos A, Neuhaus J, Stief CG, Jonas U, Dorschner W. Die endoskopische extraperitoneale radikale Prostatektomie (EERPE). Ergebnisse nach 300 Eingriffen. Urologe [A] 2004; 43:698–707
- 108 Stolzenburg JU, Truss MC, Do M, Rabenalt R, Pfeiffer H, Dunzinger M, Aedtner B, Stief CG, Jonas U, Dorschner W. Evolution of endoscopic extraperitoneal radical prostatectomy (EERPE)--technical improvements and development of a nerve-sparing, potency-preserving approach. World J Urol. 2003 Aug;21(3):147-52

## 7 Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1:</b> PSA-rezidivfreies Überleben in Abhängigkeit des pT-Stadiums für das Prostatakarzinom.....	14
<b>Abbildung 2:</b> Einfluss des M-Stadiums auf das karzinomspezifische Überleben.....	18
<b>Abbildung 3:</b> Präparation des Präperitonealraumes .....	24
<b>Abbildung 4:</b> a Darstellen des Blasenhalses und der Prostata, Inzision der endopelvinen Faszie, Durchtrennung der puboprostatichen Bänder .....	24
<b>Abbildung 5:</b> c Anteriore Blasenhaldissektion.....	25
<b>Abbildung 6:</b> a Durchtrennung der Ampullen der Ductus deferentes.....	25
<b>Abbildung 7:</b> c Inzision der posterioren Denonvillier-Faszie und Mobilisation des Rektums .....	26
<b>Abbildung 8:</b> c Apikale Dissektion.....	26
<b>Abbildung 9:</b> Schematische Darstellung einer immunhistochemischen Färbung ....	29
<b>Abbildung 10:</b> HE-Großflächenschnitt mit digital gekennzeichneten Prostatakarzinom-Foci.....	31
<b>Abbildung 11:</b> HE-Großflächenschnitt (10fach vergrößert) mit Prostatakarzinom-Focus und Prostatakapsel.....	32
<b>Abbildung 12:</b> Raster zur Unterteilung eines Präparats in 12 Sektoren.....	33
<b>Abbildung 13:</b> S-100 Großflächenschnitt mit digital gekennzeichneter Prostatakapsel (10fach vergrößert).....	35
<b>Abbildung 14:</b> Bestimmung der Nerven der Prostatakapsel mit dem Programm ImageJ (5fach vergrößert).....	36
<b>Abbildung 15:</b> HE-Schnitt und korrespondierender S-100 Schnitt.....	36

<b>Abbildung 16:</b> Nerven der Prostatakapsel in Abhängigkeit von Prostatakarzinom-Foci und der Lage .....	39
<b>Abbildung 17:</b> Nervenanzahl pro Segmentpaar in Abhängigkeit vom Tumorbefall ..	46
<b>Abbildung 18:</b> Nervenfläche pro Segmentpaar in Abhängigkeit vom Tumorbefall ..	50

## 8 Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1:</b> TNM-Klassifikation des Prostatakarzinoms nach UICC 2010, 7. Auflage ..	9
<b>Tabelle 2:</b> WHO-Grading für das Prostatakarzinom.....	10
<b>Tabelle 3:</b> Entwicklung eines biochemischen Rezidivs in Abhängigkeit des pT-Stadiums .....	15
<b>Tabelle 4:</b> Basisdaten der Patienten .....	41
<b>Tabelle 5:</b> Histopathologische Ergebnisse .....	41
<b>Tabelle 6:</b> Nervenanzahl und die Verteilung in der Prostatakapsel, unabhängig vom Prostatakarzinom .....	43
<b>Tabelle 7:</b> Nervenanzahl in der Prostatakapsel in Abhängigkeit vom Tumorbefall ...	44
<b>Tabelle 8:</b> Analyse des Einflusses der Kovariablen auf die Nervenanzahl der Prostatakapsel .....	44
<b>Tabelle 9:</b> Nervenanzahl und Verteilung in der Prostatakapsel in Abhängigkeit vom Tumorbefall .....	45
<b>Tabelle 10:</b> Nervenfläche und die Verteilung in der Prostatakapsel, unabhängig vom Prostatakarzinom .....	47
<b>Tabelle 11:</b> Nervenfläche in der Prostatakapsel in Abhängigkeit vom Tumorbefall ..	48
<b>Tabelle 12:</b> Analyse des Einflusses der Kovariablen auf die Nervenfläche der Prostatakapsel .....	48
<b>Tabelle 13:</b> Nervenfläche und Verteilung in der Prostatakapsel in Abhängigkeit vom Tumorbefall .....	49

# Curriculum Vitae

## Persönliche Daten

Name	Sebastian Schneider
Geb.-Datum	30.12.1976
Geb.-Ort	München
Staatsangehörigkeit	Deutsch

## Ausbildung

1983 – 1987	Grundschule West in Fürstenfeldbruck
1987 – 1997	Viscardi-Gymnasium in Fürstenfeldbruck
1997	Allgemeine Hochschulreife / Abitur
1997 – 1998	Zivildienst in einer HPT der Stiftung Kinderhilfe Fürstenfeldbruck
1999 – 2000	Krankenpflegepraktikum in der Kreisklinik Fürstenfeldbruck
2000 – 2002	Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilian- Universität München, vorklinischer Abschnitt, Physikum
2002 – 2007	Studium der Humanmedizin an der Technischen Universität München, klinischer Abschnitt
05/2007	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung nach neuer ÄappO

## Praktische Erfahrungen

2003 – 2005

### Famulaturen:

03/03	Praxis Dr. med. univ. Franz Torka, Praktischer Arzt
08/03	Clinic Dr. Decker GmbH, Innere Medizin
08/04	Praxis Dr. med. Frank Gradinger, Internist
03/05	Urologische Klinik und Poliklinik der TU München, Klinikum Rechts der Isar, Univ. Prof. Dr. med. Rudolf Hartung

2005 – 2006

**Praktisches Jahr:**

08/05 - 12/05 Urologische Klinik und Poliklinik  
der TU München, Klinikum Rechts der  
Isar, Univ.- Prof. Dr. med. Rudolf Hartung

12/05 - 03/06 Krankenhaus München Bogenhausen,  
Abteilung, für Chirurgie,  
Prof. Dr. W. Heitland

04/06 - 07/06 III. Medizinische Klinik und Poliklinik  
Klinikum Rechts der Isar der TU München  
Univ.- Prof. Dr. med. C. Peschl

**Beruflicher  
Werdegang**

10/2007 – 02/2008

Assistenzarzt der Abteilung für Allgemein-, Visceral- und  
Gefäßchirurgie, St. Barbara Krankenhaus Schwandorf,  
CA Dr. med. Detlef Schoenen

03/2008 -

Assistenzarzt der Klinik für Urologie der Universität  
Regensburg am Caritas-Krankenhaus St. Josef  
Prof. Dr. med. Wolf F. Wieland

**Kenntnisse**

Fremdsprachen	Englisch - fließend in Wort und Schrift, Französisch – Grundkenntnisse
PC / EDV	MS Office, MacOS
Fahrerlaubnis	Führerschein Klasse 3

**Hobbys / Interessen**

Sport (Ski, Rad, Tennis, Kampfkunst), Freunde, Musik,  
Kochen

## **Danksagung**

Meinem Betreuer Priv.-Doz. Dr. med. Roman Ganzer gilt mein ganz besonderer Dank für die Überlassung des Themas. Seiner ständigen Unterstützung, der persönlichen Förderung durch ihn, sowie der anregenden Kritik habe ich das Gelingen dieser Arbeit zu verdanken.

Des Weiteren gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. med. Wolf. F. Wieland, Direktor der Klinik für Urologie der Universität Regensburg am Caritas-Krankenhaus St. Josef, für dessen wohlwollende Unterstützung bei der Erstellung dieser Arbeit.

Ebenso möchte ich besonders meinem Kollegen Dr. med. Johannes Bründl für die konstruktive und eifrige Zusammenarbeit bei der Durchführung der Studie danken.

Daneben danke ich auch Herrn Florian Zeman vom Zentrum für klinische Studien am Universitätsklinikum Regensburg für die hilfreiche und freundliche Unterstützung bei der Planung und Umsetzung der Statistik.

Herzlicher Dank gilt darüber hinaus auch Frau Nina Niessl als Medizinisch-Technische Assistentin des urologischen Forschungslabors der Urologischen Klinik für die enorme Unterstützung bei der Aufarbeitung des histologischen Materials.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinen lieben Eltern, die mich stets in allen Lebenslagen bedingungslos unterstützen und mir immer mit Rat und Tat zur Seite stehen.