

Aus der Klinik für Urologie  
der Universität zu Lübeck  
Direktor: Prof. Dr. med. D. Jocham

---

**Korrelation von Prognose und verschiedenen immunhistochemischen Parametern  
bei Patienten mit Nierenzellkarzinom im Stadium T3**

Inauguraldissertation

Zur Erlangung der Doktorwürde  
der Universität zu Lübeck  
~ **Aus der Sektion Medizin** ~

vorgelegt von Daniel Foss  
aus Cuxhaven

Lübeck 2011

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Ingo Kausch von Schmelling
2. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Wolfgang Küpker

Tag der mündlichen Prüfung: 10.12.2012

Zum Druck genehmigt: Lübeck , den 10.12.2012

- Promotionskommission der Sektion Medizin-

# Inhalt

| <b><u>Inhaltsangabe</u></b>                           | <b>Seite</b> |
|-------------------------------------------------------|--------------|
| <b>I. Inhalt</b>                                      | <b>3</b>     |
| <b>II. Abkürzungsverzeichnis</b>                      | <b>6</b>     |
| <b>1. Einleitung</b>                                  | <b>7</b>     |
| 1.1 Historischer Rückblick                            | 7            |
| 1.2 Epidemiologie                                     | 7            |
| 1.3 Ätiologie                                         | 7            |
| 1.4 Klassifikation                                    | 9            |
| 1.5 Klinik                                            | 11           |
| 1.6 Diagnostik                                        | 12           |
| 1.7 Therapie                                          | 15           |
| 1.8 Prognose                                          | 20           |
| 1.9 Beschreibung der Marker                           | 23           |
| 1.9.1 P53                                             | 23           |
| 1.9.2 Bcl-2                                           | 24           |
| 1.9.3 Survivin                                        | 25           |
| 1.9.4 MDR-1                                           | 25           |
| 1.9.5 PAX 2                                           | 26           |
| <b>2. Fragestellung</b>                               | <b>27</b>    |
| <b>3. Material und Methoden</b>                       | <b>28</b>    |
| 3.1 Beschreibung des ausgewählten Patientenkollektivs | 28           |
| 3.2 Datenerhebung                                     | 28           |
| 3.3 Allgemeine Beschreibung der Immunhistochemie      | 28           |
| 3.4 Das Tumormaterial                                 | 29           |
| 3.4.1 Entparaffinierung                               | 29           |
| 3.4.2 Verdünnung und Vorbehandlung                    | 29           |
| 3.4.3 Färbeprozedur                                   | 30           |
| 3.4.4 Chemikalien und Materialien                     | 31           |
| 3.4.5 Primärantikörper                                | 31           |
| 3.4.6 Geräte und Zubehör                              | 31           |
| 3.5 Auswertung der Immunhistochemischen Färbungen     | 31           |
| 3.6 Abbildung der Immunhistochemischen Färbung        | 32           |
| 3.7 Statistische Auswertung:                          | 35           |

|                                                                              |           |
|------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>4. Ergebnisse</b>                                                         | <b>36</b> |
| 4.1 Kohortenzusammensetzung                                                  | 36        |
| 4.2 deskriptive Statistik                                                    | 36        |
| 4.2.1 T-Status                                                               | 36        |
| 4.2.2 M-Status                                                               | 37        |
| 4.2.3 N-Status                                                               | 38        |
| 4.2.4 Grading                                                                | 39        |
| 4.2.5 Tumor-Größe                                                            | 40        |
| 4.2.6 Alter bei Operation                                                    | 41        |
| 4.2.7 Histologischer Subtyp                                                  | 42        |
| 4.3 Kreuztabellen / Signifikanz Berechnung nach Fischer- Exakt- Test         | 43        |
| 4.4 Überlebenszeiten/Kaplan-Meier-Kurve vs. Klinisch/pathologischer Faktoren | 46        |
| 4.4.1 Kaplan-Meier-Kurve abhängig vom TNM- Stadium                           | 46        |
| 4.4.2 Kaplan-Meier-Kurve abhängig vom M-Stadium                              | 47        |
| 4.4.3 Kaplan-Meier-Kurve abhängig vom N-Stadium                              | 48        |
| 4.4.2 Kaplan-Meier-Kurve abhängig vom Grading                                | 49        |
| 4.4.3 Kaplan-Meier-Kurve abhängig von Tumorgöße                              | 50        |
| 4.4.4 Kaplan-Meier-Kurve abhängig vom histologischen Typ                     | 51        |
| 4.4.5 Kaplan-Meier-Kurve abhängig vom Alter bei OP                           | 52        |
| 4.5 Kaplan-Meier-Kurven vs. Tumormarker                                      | 53        |
| 4.5.1 Kaplan- Meier- Kurve abhängig von BCL-2                                | 53        |
| 4.5.2 Kaplan- Meier- Kurve abhängig von MDR-1                                | 54        |
| 4.5.3 Kaplan- Meier- Kurve abhängig von Survivin                             | 57        |
| 4.5.4 Kaplan- Meier- Kurve abhängig von P53                                  | 58        |
| 4.5.5 Kaplan- Meier- Kurve abhängig von PAX-2                                | 60        |
| <b>5. Diskussion</b>                                                         | <b>61</b> |
| 5.1 Allgemeine Diskussion                                                    | 61        |
| 5.1.1 Epidemiologische Daten                                                 | 61        |
| 5.1.2 T- Stadium                                                             | 61        |
| 5.1.3 N-Stadium                                                              | 62        |
| 5.1.4 M-Stadium                                                              | 63        |
| 5.1.5 Grading                                                                | 63        |
| 5.1.6 Histologischer Subtyp                                                  | 64        |
| 5.1.7 Tumorgöße                                                              | 65        |

## Inhalt

|                                                                    |            |
|--------------------------------------------------------------------|------------|
| 5.2 Tumormarker                                                    | 66         |
| 5.2.1 Survivin                                                     | 66         |
| 5.2.2 P53                                                          | 67         |
| 5.2.3 PAX-2                                                        | 68         |
| 5.2.4 MDR-1                                                        | 69         |
| 5.2.5 Bcl-2                                                        | 70         |
| 5.3 Limitation und Stärken dieser Arbeit                           | 71         |
| <b>6. Zusammenfassung</b>                                          | <b>73</b>  |
| <b>7. Literaturverzeichnis</b>                                     | <b>74</b>  |
| <b>8. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis</b>                      | <b>87</b>  |
| <b>9. Anhang</b>                                                   | <b>89</b>  |
| 7.1 Anschreiben an Patienten (erster Durchgang)                    | 89         |
| 7.2 Anschreiben Patienten (zweiter Durchgang)                      | 90         |
| 7.3 Anschreiben Krebsregister der Vertrauensstelle der Ärztekammer | 91         |
| 7.4 Anschreiben an Ordnungsamt/ Krankenkasse                       | 92         |
| 7.5 Erklärung für Patienten                                        | 93         |
| 7.6 Auflistung Kreuztabellen nach dem Lok-rank-Test                | 94         |
| <b>10. Danksagung</b>                                              | <b>110</b> |
| <b>11. Lebenslauf</b>                                              | <b>111</b> |

### **II. Abkürzungsverzeichnis:**

|        |                                        |
|--------|----------------------------------------|
| Bax:   | proapoptotisches Bcl-2-Homolog         |
| Bak:   | proapoptotisches Bcl-2-Homolog         |
| Bcl-2: | B-Zell-Lymphoma-Gen-2 <i>B</i>         |
| BH:    | Bcl-2-Homologiedomäne                  |
| CDE:   | Cell cycle dependent elements          |
| Cdk4:  | Cyclin dependent kinase 4              |
| ECOG:  | Eastern cooperative oncology Group     |
| EGF:   | Epidermal – Growth - Factor            |
| Ggf.:  | Gegebenenfalls                         |
| HRP:   | Horse raddish peroxide                 |
| Kb     | Kilobase                               |
| kD:    | Kilo Dalton                            |
| MDR:   | Multi drug receptor                    |
| mTOR   | mammalien Target of Rapamycin          |
| MSKCC: | Memorial Sloan-Kettering Cancer Center |
| OP:    | Oktapeptidmotiv                        |
| PAX:   | paired domain homeobox                 |
| PDGF   | Platelet Derived Growth Factor         |
| P-Gp:  | P - Glykoprotein                       |
| Rb     | Retinoblastom                          |
| TBS:   | Tris - buffered - saline               |
| UICC:  | Union internationale contre le cancer  |
| VEGF   | Vascular Endothelial Growth Factor     |
| z.B.:  | zum Beispiel                           |

# Einleitung

## 1. Einleitung

### **1.1 Historischer Rückblick**

Der Erstbeschreiber dieses Karzinoms, der Chirurg P. Grawitz, stellte 1883 eine gewisse Ähnlichkeit zwischen der Struktur und Beschaffenheit der Nebennierenrinde und der des untersuchten Nierentumors fest.

Aus diesem Ergebnis erstellte er die Hypothese, dass der Tumor von in der Niere versprengtem Nebennierengewebe ausgehe (Grawitz 1883). Bis vor kurzen haben sich daher gebräuchliche Synonyme des Nierenzellkarzinoms wie Hypernephrom, hypernephroides Karzinom, Grawitz – Tumor oder renales Adenokarzinom erhalten, obwohl bereits 1959 der Ursprung des Nierenzellkarzinoms in den Tubuluszellen der Niere vermutet wurde (Oberling, Riviere et al. 1959) und somit viele der Synonyme ihre histopathologische Grundlage verloren hatten.

Um eine korrekte und einheitliche Benennung dieses Nierentumors zu erreichen, wird die alleinige Verwendung der Begriffe Nierenzellkarzinom oder Nierenparenchymkarzinom vorgeschlagen (Burger). Zusammenfassend beinhalten diese beiden Begriffe verschiedene Tumorsubtypen, die sich klinisch, histopathologisch und zytogenetisch unterscheiden (Motzer, Bander et al. 1996)

### **1.2 Epidemiologie**

Bei bösartigen Neuerkrankungen der Niere, handelt es sich zu 85% um Nierenzellkarzinome ([www.rki.de](http://www.rki.de), 2011). Es ist der dritthäufigste urologische Tumor, nach dem Prostatakarzinom und dem Blasenkarzinom. Für 2002 in Deutschland gibt das Robert-Koch-Institut aus Berlin die Zahl der Neuerkrankungen pro Jahr mit 21,3 Männern und 10 Frauen pro 100.000 Einwohner an ([www.rki.de](http://www.rki.de)). Die Inzidenz des Nierenzellkarzinoms weist geographische, ethnische und altersspezifische Unterschiede auf. Es besteht ein Nord – Süd – Gefälle, wobei das Nierenzellkarzinom in Nordamerika und Nordeuropa am häufigsten, in Südeuropa, Asien und Afrika relativ selten auftritt.

Generell kann das Nierenzellkarzinom sich in jedem Alter manifestieren, die Inzidenz steigt aber mit zunehmendem Alter und hat ihren Häufigkeitsgipfel zwischen dem 5. und 7. Lebensjahrzehnt (Bretheau, Koutani et al. 1998). Am stärksten betroffen sind die über 70-jährigen Frauen bzw. über 60-jährigen Männer. Im Jahr 2004 waren damit etwa die Hälfte der betroffenen Frauen und etwas mehr als ein Drittel der erkrankten Männer 70 Jahre und älter ([www.rki.de](http://www.rki.de), 2011).

Letztendlich kann ein Anstieg der Inzidenz beobachtet werden, Gründe hierfür scheinen die zunehmende Industrialisierung und die verbesserte Diagnostik bei bildgebenden Verfahren zu sein. Die 5- bzw. 10-Jahres-Prävalenzen haben sich seit 1990 bei den Männern in etwa verdoppelt, bei den Frauen betrug der Anstieg 50 % bzw. 65 % ([www.rki.de](http://www.rki.de), 2011).

### **1.3 Ätiologie**

Es gibt bis heute nur wenige Faktoren, die als gesicherte potentielle Auslöser für das Nierenzellkarzinom betrachtet werden können. Die meisten Faktoren, die sich herauskristallisiert

## Einleitung

haben, sind bis heute Gegenstand von zahlreichen Diskussionen. Risikofaktoren findet man im familiär - genetisch, sozioökonomisch, hormonell und im chemischen Bereich.

Es konnte gezeigt werden, dass ein erhöhtes Risiko für eine Erkrankung bei Angehörigen von erkrankten Verwandten besteht (Schlichter, Wunderlich et al. 2000).

Genetische Faktoren, die zu einer Erkrankung führen können sind: die tuberöse Sklerose, polyzystische Nierendegeneration, Sichelzellanämie und die autosomal – rezessive vererbte von Hippel – Lindau – Erkrankung (Anding R.). Bei all den hier genannten Erkrankungen liegt der Altersgipfel zur Zeit der Diagnosestellung des Nierenzellkarzinom häufig bedeutend früher. Das Erkrankungsalter liegt im Median bei ca. 40 Jahren.

Das Rauchen und Passivrauchen stellt einen weiteren Risikofaktor dar (www.rki.de, 2011).

Es zeigt sich, je Jünger man mit dem Nikotinabusus beginnt und je größer die Anzahl der Zigaretten pro Tag ist, desto höher die Wahrscheinlichkeit, an einem Nierenzellkarzinom zu erkranken (McLaughlin, Lindblad et al. 1995). Welche Stoffe genau das Nierenzellkarzinom verursachen ist nicht geklärt. Es wird aber vermutet, dass es sich dabei um N- Nitrodimethylamin handelt. Diskutiert wird, dass der Stoff durch ständigen Kontakt mit den Tubuluszellen des Nierenparenchyms, die maligne Entartung verursacht (Bulgheroni, Costa et al. 2000).

Das Ernährungsverhalten spielt ebenfalls eine bedeutende Rolle. So kann es bei proteinreicher Diät sowie bei Verzicht auf Obst und Gemüse bzw. bei häufigen Gewichtsschwankungen, besonders bei Frauen, zu einer erhöhten Inzidenz des Nierenzellkarzinom kommen (Shapiro, Williams et al. 1999).

Außerdem wurde ein Nierenzellkarzinom- Risiko für adipöse Frauen und übergewichtige Männer mit androgener Fettverteilung nachgewiesen (Pischon, Lahmann et al. 2006). Körperliche Aktivität scheint dagegen die Erkrankungswahrscheinlichkeit zu senken (Menezes, Tomlinson et al. 2003).

Auch gewisse Medikamente stehen im Zusammenhang mit dem Auftreten des Nierenzellkarzinoms. Hierzu zählen zum Beispiel Diuretika (Shapiro, Williams et al. 1999). Die Rolle dieser Medikamentenklasse beim Nierenzellkarzinom wird kontrovers diskutiert. So zeigte sich bei Setiawan et al eine erhöhte Erkrankungsrate bei Frauen mit Diuretika- Therapie (Setiawan, Stram et al. 2007). Bei Shapiro et al konnte keine vermehrte Inzidenz nachgewiesen werden. (Shapiro, Williams et al. 1999). Es haben sich unter der Behandlung mit Antihypertensiva auch fraglich inhibierende Wirkungen auf das Tumorwachstum gezeigt (Hii, Nicol et al. 1998). Inzwischen wurde hier festgestellt, dass die Einnahme von Antihypertensiva kein unabhängiger Risikofaktor ist, sondern es scheint, dass die arterielle Hypertension selbst mit einer erhöhten Inzidenz des Nierenzellkarzinom einhergeht (Shapiro, Williams et al. 1999; Flaherty, Fuchs et al. 2005; Moore, Wilson et al. 2005)

Auch Diabetes Mellitus, chronische Niereninsuffizienz und konsekutive Dialysebehandlung können eine Rolle bei der Entstehung des Nierenzellkarzinoms darstellen. Bei den unter Dialyse entstehenden Nierenzysten gehen in knapp 6 % der Fälle Nierenzellkarzinome hervor (Motzer, Bander et al. 1996).

Sozioökonomisch zeigen sich mehrere Stoffe als mögliche Risikofaktoren für ein Nierenzellkarzinom. Hier sind es vor allem Arbeitsstoffe aus der chemischen Industrie und Eisen - und Stahlindustrie. Besondere Beachtung finden Arbeitsstoffe wie Kadmium, Benzin und Lösungsmittel (Vamvakas, Bruning et al. 2000).

## Einleitung

Dass auch hormonelle Risikofaktoren zu berücksichtigen sind, zeigt sich daran, dass Frauen mit mehr als 5 Geburten oder früher Menarche, sowie Frauen nach gynäkologischen Operationen, welche in die hormonelle Versorgung des Körpers eingreifen, (Hysterektomie und Adnexektomie) ein vermehrtes Auftreten von Nierenzellkarzinom aufweisen. Diese Annahme wird dadurch unterstützt, dass Frauen mit dauerhafter Einnahme von Kontrazeptiva (Lindblad, Mellemgaard et al. 1995) eine niedrigere Inzidenzrate zeigen.

### 1.4 Klassifikation

#### TNM:

Analog zu vielen anderen Tumoren hat sich auch beim Nierenzellkarzinom die TNM – Klassifikation der Weltgesundheitsorganisation (WHO) durchgesetzt.

T steht hierbei für die Ausbreitung und Größe des Primärtumors, dabei spielen morphologisches Bild oder molekulargenetische Unterschiede keine Rolle. N steht für eine Absiedelung in Lymphknoten und M für die Absiedelung in entferntes Gewebe.

Zusätzlich zu der TNM – Unterteilung gibt es noch eine Einteilung für R (Residualtumor oder Tumorrest nach Behandlung), L (Lymphgefäßinvasion) und V (Veneninvasion).

Die einzelnen T, N und M – Stadien können einer Stadiengruppierung zugeordnet werden. Hierdurch resultiert eine Unterteilung der Tumore in die Stadien I–IV.

Zu unterscheiden ist das TNM – Stadium (präoperativ) vom pTNM – Stadium (postoperativ), das erst nach histopathologischer Untersuchung des Operations- Präparates erhoben werden kann und prognostische Aussagekraft hat.

In Tabelle 7 ist die UICC – Klassifikation (Union internationale contre le cancer) aufgelistet. Diese Einteilung ist Ausgangspunkt für die möglichen folgenden Therapieformen.

Tabelle 1: Kurzfassung der UICC – Klassifikation des Nierenzellkarzinom aus dem Jahre 2010  
7. Auflage; (Wittekind)

|       |                                                                       |
|-------|-----------------------------------------------------------------------|
| T     | Primärtumor                                                           |
| Tx    | Nicht beurteilbar                                                     |
| T0    | Kein Anhalt für einen Primärtumor                                     |
| T1    | 7 cm / Tumor auf die Niere begrenzt                                   |
| - T1a | - 4 cm                                                                |
| - T1b | - 4cm - 7 cm                                                          |
| T2a   | 7cm-10cm / Tumor auf Niere begrenzt                                   |
| T2b   | >10cm/ Tumor auf Niere begrenzt                                       |
| T3    | größere Vene befallen oder perirenales Gewebe                         |
| - T3a | - Infiltration Nebenniere oder perirenales Gewebe                     |
| - T3b | - Infiltration in Nierenvene oder Vena cava unterhalb des Zwerchfells |
| - T3c | - Tumordinfiltration in die Vena cava oberhalb des Diaphragmas        |
| T4    | Tumordinfiltriert über die Gerota Faszie                              |

## Einleitung

|    |                                                         |
|----|---------------------------------------------------------|
| N  | Regionäre Lymphknoten                                   |
| Nx | Nicht beurteilbar                                       |
| N0 | Keine regionären Lymphknoten befallen                   |
| N1 | Metastasen in einem regionären Lymphknoten (<2cm)       |
| N2 | Metastasen in mehr als einem Lymphknoten (>2cm bis 5cm) |
| N3 | Metastasen in mehr als einem Lymphknoten (>5cm)         |
| M  | Fernmetastasen                                          |
| Mx | Nicht beurteilbar                                       |
| M0 | Keine Fernmetastasen                                    |
| M1 | Fernmetastasen vorhanden                                |

Eine weitere Stadieneinteilung stellt die Einteilung nach Robson dar. Diese Einteilung wird vor allem im angloamerikanischen Raum eingesetzt.

Tabelle 2 : Stadieneinteilung nach Robson aus dem Jahre 1969

|                                                  |                                                                                                                                                                                                                 |
|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Stadium I                                        | Auf die Niere beschränkt                                                                                                                                                                                        |
| Stadium II                                       | Infiltration in das peri - / pararenale Fettgewebe innerhalb der Gerota Faszia                                                                                                                                  |
| Stadium III<br><br>- III a<br>- III b<br>- III c | Makroskopische Veneneinbrüche und / oder Lymphknotenmetastasen<br>- Makroskopische Veneninvasion<br>- Regionäre Lymphknotenmetastasen<br>- Makroskopische Veneninvasion zusammen mit regionären LK - Metastasen |
| Stadium IV                                       | Infiltration in Nachbarorgane oder Fernmetastasen                                                                                                                                                               |

### Grading:

Zu jedem Staging des Nierenzellkarzinom gehört auch die Beurteilung des histologischen Differenzierungsgrad (Grading) des Tumorgewebes.

Das Grading Stadium, welches nach Thoenes zwischen G1 und G3 und nach Fuhrmann zwischen G1 und G4 differenziert, liefert einen Rückschluss über die Aggressivität des Tumors und damit über dessen Prognose (Gunia, May et al. 2004).

Grading des Nierenzellkarzinoms:

GX: Präparat nicht beurteilbar

G0: keine Kernveränderungen

G1: Zellkerne sind weitestgehend unauffällig, fein verteiltes Chromatin, kaum Mitosenachweis

G2: größere Zellkerne mit variabler Gestalt, verklumptes Chromatin,

## Einleitung

gelegentlicher Mitosenachweis

G3 vergrößerte polymorphe Zellkerne (Riesenkerne), grobscholliges

Chromatin, vergrößerte Nukleolen, viele und atypische Mitosen

## Histologie:

Die Vielseitigkeit des histologischen Bildes vom Nierenzellkarzinom imponiert auch ihr makroskopisches Erscheinen. Der meist solitäre, selten multifokale, rundliche, von einer Kapsel begrenzte - Tumor weist gerade im fortgeschrittenen Stadium ein so genanntes „buntes Bild“ auf. Diese Morphologie im Querschnitt rührt von Hämorrhagien und zentralen Nekrosen her, die gerade bei langjährigen, unentdecktem Tumorleiden zu Verkalkungen führen. Die Oberfläche erscheint durch Fibrinbeläge gelblich. Für die histologische Klassifikation des Nierenzellkarzinom existieren verschiedene Einteilungen. Eine Möglichkeit stellt die sogenannte „Mainz – Klassifikation“ dar. Hier werden die verschiedenen histologischen Typen des Nierenzellkarzinoms nach zytogenetischen und immunhistologischen Eigenschaften gegliedert. Es wird eine Unterteilung in fünf Zelltypen vorgenommen. In das klarzellige, das chromophile - zellige (weiter Unterteilt in basophil und eosinophil), das chromophobe - zellige (weiter Unterteilung in typisch und eosinophil), das spindelzellige oder pleomorphe (auch Duct – Bellini - Karzinom genannt) und dem Onkozytom.

Wobei das chromophil-zellige, sowohl Typ I und II, in der neueren Literatur als papilläres Karzinom bezeichnet wird. Das Wachstumsmuster wird bei dieser Klassifikation unterteilt in kompakt (96%), zystisch (3%) und tubulopapillär (1%).

Die histopathologische Klassifizierung erfolgt nach den international anerkannten Empfehlungen der WHO (1998), modifiziert durch Einbeziehung der Ergebnisse von Thoenes (1986) und Störkel (1993):

Tabelle 3.: Wachstumsmuster und UICC- Klassifikation nach Störkel 1997

|                         |                                                        |
|-------------------------|--------------------------------------------------------|
| <u>Wachstumsmuster:</u> | a. kompakt (trabekulär, solide, azinär etc.)           |
|                         | b. tubulopapillär (tubulär, papillär oder Kombination) |
|                         | c. zystisch                                            |
| <u>Tumorzelltyp:</u>    | a. klarzellig Häufigkeit ca. 70 %                      |
|                         | b. papilläres Häufigkeit ca.10-15 %                    |
|                         | c. chromophobes Häufigkeit ca. 5%                      |
|                         | d. Collecting- duct – Karzinome Häufigkeit ca. 1%      |
|                         | e. Unklassifizierte Nierenkarzinome Häufigkeit ca. 10% |

## 1.5 Klinik

Es gibt keine typischen Frühsymptome beim Nierenzellkarzinom. 60 % der Nierenzellkarzinome sind heute asymptomatische sonographische Zufallsbefunde. Die sogenannte B-Symptomatik, wie Nachtschweiß, Gewichtsverlust und Temperaturen, kann in jedem Stadium der Erkrankung auftreten. Das klassische Symptom Trias besteht aus Flankenschmerz, Hämaturie und tastbaren abdominellen Tumor. Durch die Einführung der sonographischen Untersuchung bzw. des CT und MRT wird die

## Einleitung

klinische Trias aber nur noch bei 5- 15% der Fälle beobachtet (Pomer, Klopp et al. 1997). Die Mikro – bzw. die Makrohämaturie tritt dennoch bei ca. 60 % der Patienten auf (Rassweiler, Fornara et al. 1998). Die Makrohämaturie entsteht aufgrund eines Durchbruches des Tumors in das Nierenbecken bzw. in das Kelchsystem. Der Flankenschmerz ist oft Ausdruck der erhöhten Kapselspannung durch den Tumor. 5 – 9% der Tumore werden erst entdeckt, wenn Symptome aufgrund einer Streuung von Metastasen auftreten (Steinbach, Stockle et al. 1992). Grund dafür ist, dass sich im Stadium des metastasierten Nierenzellkarzinoms eine Reihe von Symptomen zeigen wie z.B.: Polyglobulie, Anämie und beschleunigte Blutkörperchensenkung. Weitere mögliche Symptome bei Metastasierung sind Husten, Atemnot, Knochenschmerzen, neurologische Ausfälle oder Ikterus. Da die Niere bei der Bildung einer Reihe von Hormonen beteiligt ist, wie z. B. Renin und Prorenin, Prolaktin, Erythropin, parathormonähnliche Substanzen, Zytokine, insulinähnliches Hormon, Enteroglukagon, Gonadotropin oder hepatotoxische Substanzen, können verschiedenste paraneoplastische Syndrome resultieren. Im Rahmen eines paraneoplastischen Syndroms kann es zur Hyperkalzämie (Parathormon – related protein = PTHrP), Hypertonie (Renin), Polyglobulie (Erythropoetin), Stauffer – Syndrom (Leberfunktionsstörung mit erhöhter AP), Libidoverlust (Gonadotropin), Galaktorrhoe (Prolaktin), Amyloidose und bullöses Pemphigoid kommen (Jabs, Busse et al. 2005).

Tabelle 4: Häufigkeitsverteilung einzelner Symptome (Pomer, Klopp et al. 1997)

| <b>Symptome</b>                                                                   | <b>Häufigkeit in %</b> |
|-----------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| Hämaturie                                                                         | 50 – 60                |
| Flankenschmerz                                                                    | 40                     |
| Tastbarer Tumor                                                                   | 30                     |
| Gewichtsverlust                                                                   | 25 – 30                |
| Fieber                                                                            | 20                     |
| Hypertonie                                                                        | 10 – 20                |
| Erhöhtes BSG                                                                      | 60                     |
| Varikozele                                                                        | 5                      |
| Klassisches Trias<br>(Flankenschmerz, Hämaturie,<br>tastbarer abdomineller Tumor) | 5 – 15                 |

## 1.6 Diagnostik

Wie bei den meisten Erkrankungen steht auch beim Nierenzellkarzinom die körperliche Untersuchung und die Anamneseerhebung am Anfang der Diagnostik. Hierbei ist zu berücksichtigen, dass die klinische Untersuchung im Anfangsstadium des Nierenzellkarzinoms häufig nicht zur Diagnosestellung beitragen kann. Denn selbst bei symptomatischen Patienten und besten Untersuchungsbedingungen ist der Versuch der Tumorpalpation meist frustan.

## Einleitung

Der allgemeinen körperlichen Untersuchung schließt sich eine Blut – und Serumdiagnostik an. (Leber- und Nierenwerte, wichtige Parameter des Blutbildes und der Gerinnung). Die Urinanalyse zum Nachweis von Entzündungszeichen oder eine Mikrohämaturie gehört zur Basisdiagnostik.

Trotz langjähriger Forschung konnte sich bis jetzt kein aussagekräftiger Tumormarker für das Nierenzellkarzinom etablieren. Als möglicher Marker wurde z.B. die Bestimmung des transforming growth factors – beta I (TGF-  $\beta$ 1), welcher bei Patienten mit Nierenzellkarzinom erhöht ist, diskutiert (Wunderlich, Steiner et al. 1998). Die Aussagekraft von TGF –  $\beta$ 1 ist aber beschränkt, da er wohl nur im metastasierten und nicht im lokal begrenzten Stadium erhöht ist (Hegele, Varga et al. 2002).

Durch den medizintechnischen Fortschritt, insbesondere durch die Einführung der Sonographie (mit über 95 % Sensitivität in der Diagnose des Nierenzellkarzinom) als Routinediagnostikum, ist es zu einem deutlichen Anstieg bei der Erkennung des Nierenzellkarzinoms gekommen. Es werden ca. 70 % aller Tumore zufällig im Rahmen der Oberbauch – Sonographie entdeckt (Hautmann R 2001), meistens in einem Stadium, das ohne bildgebende Verfahren noch lange nicht auffällig werden würde. Die Spezifität und die Sensitivität werden bei der Sonographie von Nierentumoren ab einer Größe von 2,5 cm mit 93 – 98 % bzw. 90 – 98 % beschrieben. Dadurch, dass die Sonographie flächendeckend verfügbar ist, kostengünstig und mit geringem Aufwand durchführbar, gehört sie zum Goldstandard bei der Diagnostik des Nierenzellkarzinoms. Durch die verbesserte Bildgebung, die frühe Erkennbarkeit von Tumoren hat sich auch der Anteil von organerhaltenden Eingriffen erhöht (Pahernik, Gillitzer et al. 2004). Wie wichtig die frühzeitige Diagnose des Nierenzellkarzinom ist, beweist eine Untersuchung, in der gezeigt wurde, dass die Überlebensrate von Zufallsbefunden deutlich über der von symptomatischen Nierenzellkarzinom – Patienten liegt (Ficarra, Prayer-Galetti et al. 2003).

Im Falle einer geplanten Operation, dem allgemeinem Staging vom Tumor oder bei unklaren Befunden bedarf es weitere Untersuchungen. Hierzu zählen zum Beispiel das CT und das MRT (Siemer and Uder). Beide Methoden sind zur Bestimmung der lokalen Tumorausdehnung mit einer Sensitivität von 80 – 95 % CT, bzw. 85 – 96 % MRT gleichwertig.

Wird eine Nierenteilresektion angestrebt, sollte nach Meinung mehrerer Autoren die MRT – Untersuchung vorgezogen werden, da hier mehr Schnittebene zur Verfügung steht und daher eine genauere Aussage über die anatomische Besonderheit der tumortragenden Niere möglich ist. Das gleiche trifft auf die Beurteilung vom Einbruch des Tumors als Tumorzapfen in die Vena cava zu. Hier ist das MRT mit Gadolinium, dem konventionellen CT vorzuziehen (Hallscheidt, Stolte et al. 1998), (Kalinka, Gerlach et al. 2006). Weitere Untersuchungstechniken, die zur Abklärung von vermuteter Tumorthrombenausbildung dienen sind die Doppler – oder Duplexsonographie oder auch die Cavographie.

Zur allgemeinen präoperativen Staging Untersuchung gehört auch der Röntgen – Thorax in zwei Ebenen zum Ausschluss einer pulmonalen Metastasierung. Sollten sich dabei auffällige Befunde ergeben ist eine CT – Untersuchung des Thoraxes anzuschließen.

## Einleitung

Von einer Biopsie des tumorverdächtigen Bereiches sollte aufgrund der möglichen Entstehung von Impfmetastasen oder starken Blutungen abgesehen werden, auch wenn diese offenbar sehr selten sind. Hinzu kommt, dass die Biopsie nur eine eingeschränkte Aussagefähigkeit besitzt.

Ausnahmen, welche eine Biopsie begründen, stellen der Verdacht auf Lymphom oder eine Metastasierung in die Niere dar.

Allgemein lässt sich sagen, dass die Art der erweiterten Diagnostik, sich nach der Art der klinischen Symptomatik und der bildgebenden Verfahren richtet.

Gerade bei Verdacht auf ein fortgeschrittenes, nicht mehr organbegrenztes Tumorleiden, kommen bereits im Rahmen einer optimalen Therapieplanung weitere Untersuchungen in Betracht. Bei Auftreten von Rückenschmerzen oder Knochenschmerzen vor oder nach Primärtherapie ist eine Skelettszintigrafie eine erweiterte diagnostische Maßnahme, um ossäre Metastasen auszuschliessen. Die Aussage dieser Untersuchung bleibt heutzutage aber nicht unumstritten (Staudenherz, Steiner et al. 1999). Hinzu kommen hierbei auch die Untersuchung der alkalischen Phosphatase und des Serumkalziums im Blut. Die Deutsche Gesellschaft für Urologie (DGU) empfiehlt solch eine erweiterte Diagnostik nur noch zur Abklärung objektivierbarer Befunde in der Laborchemie oder am Patienten selbst.

Tabelle 5: Zusammenfassung der allgemeinen diagnostischen Maßnahmen (eigene Tab.)

|                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|-------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Basisdiagnostik:</b>       | Allgemeine Anamnese, körperliche Untersuchung<br>Sonographie<br>Allg. Labordiagnostik<br>Röntgen Thorax a.p. in zwei Ebenen<br>MRT und CT ggf. mit Kontrastmittel                                                                                                                                                                                                                   |
| <b>Erweiterte Diagnostik:</b> | Ausscheidungsurographie<br>Erweiterte Labordiagnostik (z.B.: alkalische Phosphatase)<br>Doppler / Duplexsonographie<br>Phlebografie<br>Herzecho/TEE (Cavazapfen im Vorhof)<br>Seitengetrennte MAG - 3 – Clearance (bds. Nierenerkrankung)<br>CT – Thorax bei pulmonaler Beteiligung<br>CT – Schädel bei mögl. Hirnmetastasen<br>Angiographie<br>Tumorbiopsie<br>Skelettszintigrafie |

## Einleitung

### 1.7 Therapie

Wie bei allen Tumorerkrankungen gibt es auch beim Nierenzellkarzinom mehrere Therapieansätze. Wobei sich die Therapieform, wie oben erwähnt, nach der Diagnostik und dem daraus folgendem Staging richtet. Die wohl wichtigste Therapieform beim lokal begrenzten und beim metastasierten Nierenzellkarzinom stellt die chirurgische Intervention dar.

#### **Chirurgische Therapie:**

Die chirurgische Therapie unterscheidet sich nach dem Stadium des Nierenzellkarzinoms. Hier gibt es die Möglichkeit der Totalresektion oder Teilresektion.

#### **Organerhaltende Verfahren**

Durch den Fortschritt der apparativen Diagnostik, vor allem der Verbesserung der Sonographie, kommt es heutzutage immer häufiger zum Erkennen organbegrenzter Tumore. Dieser diagnostische Fortschritt ist der Grund für eine steigende Bedeutung der Nierenteilresektion.

Die erste Partialresektion der Niere wurde 1884 von Wells durchgeführt und die erste Teilresektion aufgrund eines malignen Nierentumors beschrieb Czerny 1890.

Das operative Ziel dieses Eingriffes ist die Entfernung des örtlichen begrenzten Tumors, bei Belassung des gesunden Nierengewebes, der Nierenfettkapsel mit Gerota – Faszie sowie der Nebenniere.

Die in der Vergangenheit erhobene Kritik an einer Nierenteilresektion konnten sich nicht bestätigen. Nach einer großen prospektiven Studie von Go et al führt der Verlust der Nierenfunktion zu einer erhöhten kardiovaskulären Sterblichkeit und einer verkürzten Lebenserwartung (Go, Chertow et al. 2004). Mit einer Rezidivrate von 2 – 5 % bei einer Nierenteilresektion, entspricht dieses etwa der einer totalen Nephrektomie (Pahernik, Gillitzer et al. 2004), (Carini, Minervini et al. 2006). Es zeigte sich, dass die Nierenteilresektion im Rahmen kleiner, organbegrenzter Nierenzellkarzinom, in Bezug auf die kurative Bedeutung gleichwertig zur Tumornephrektomie ist (Zucchi, Mearini et al. 2003), (Lundstam, Jonsson et al. 2003). Hinsichtlich der Tumorlokalisation in der Niere existieren keine operationstechnischen Unterschiede (Drachenberg, Mena et al. 2004). Aufgrund dieser Ergebnisse wird von einigen Autoren die Nierenteilresektion bei kleineren Tumoren als Mittel der Wahl in der Therapie des Nierenzellkarzinoms empfohlen (Becker, Siemer et al. 2006).

Neben den Bedingungen für eine elektive Nierenteilresektion, gibt es auch Situationen in denen eine Nierenteilresektion obligat ist. Gründe hierfür sind zum einen, dass der Betroffene nur über eine funktionstüchtige Niere verfügt. Aber auch der sehr seltene Fall, dass beide Nieren von einem Tumor befallen sind, bedingt als therapeutische Konsequenz meist eine Teilresektion.

Daraus resultiert, dass vor jedem operativen Eingriff eine Ermittlung der bilateralen Nierenfunktion erfolgen muss. Zeigt sich beim Test der Nierenfunktion, dass die tumorkontralateral gelegene Niere die Ausscheidungsfunktion nicht mehr gewährleisten kann, so müsste auf eine organerhaltene Tumorsektion umgestellt werden.

## Einleitung

Bei der imperativen Indikation ist die Tumorgröße zweitrangig, wichtiger ist es hier, den Patienten durch Erhalt der Restniere vor den Einschränkungen durch Verlust der kompletten Nierenfunktion zu bewahren (Fergany, Hafez et al. 2000), (Gacci, Rizzo et al. 2001), (Novick), (Novick, Streem et al. 2002)

Natürlich gibt es auch bei den organerhaltenden Eingriffen Pro- und Contra. Als Vorteil gilt die Tatsache, dass die Totalnephrektomie teils als „Übertherapie“ angesehen wird, da die Dignität bei kleinen Tumoren häufig vor einem operativen Eingriff nicht klar zu definieren ist. Eine mögliche Entstehung des Tumors in der kontralateralen Niere spricht für einen Erhalt von möglichst viel funktionstüchtigem Nierengewebe.

Als Nachteil zählt die Möglichkeit eines Lokalrezidivs, welches durch unvollständige Entfernung des Tumorgewebes, Streuung bzw. infiltratives Wachstum und eine Multifokalitätsrate von 20 – 30 % zustande kommen kann (Novick), (Ljungberg, Alamdari et al. 1998), (Pyrhonen, Salminen et al. 1999) (Schlichter, Wunderlich et al. 2000).

## Radikale Nephrektomie

Hierzu gehören neben der Entnahme der Niere mitsamt der dazugehörigen Fettkapsel einschließlich Gerotascher Faszie, oberer Harnleiter auch die Entnahme der regionalen paraaortalen und parakavalen Lymphknoten, sowie der ipsilateralen Nebenniere (Hautmann R 2001).

Diese Therapie des Nierenzellkarzinoms wurde als erstes von Robson 1969 beschrieben. Es zeigte sich, dass das Nierenzellkarzinom in 45 % der Fälle zum Operationszeitpunkt in das perirenale Fettgewebe eingebrochen ist und in immerhin 6 % die ipsilaterale Nebenniere befallen hat (Hautmann R 2001)

Heutzutage wird die Bedeutung der Adrenalectomie als obligater Bestandteil der radikalen Tumornephrektomie kontrovers diskutiert. Von den meisten Autoren wird die Adrenalectomie nur noch bei erhöhten Risiko empfohlen, wie z. B. große Tumore, Tumore am oberen Nierenpol, und bei Metastasen- Verdacht in der Nebenniere.

Die Lymphadenektomie ist nach heutigem Standard verzichtbar. Die Meinung, dass eine elektive Lymphadenektomie keine Relevanz hat, setzte sich in den letzten Jahren durch (Lam, Shvarts et al. 2004). Bei dem Fall das Tumorzapfen vorliegen, die immerhin bei gut einem Drittel der Fälle in der Vena renalis und ca. 8 % in der Vena cava nachweisbar sind, gilt der Grundsatz diese zu entfernen.

## Strahlentherapie:

Die Strahlentherapie ist beim Nierenzellkarzinom nur von untergeordneter Rolle. Sie wird überwiegend im Bereich der palliativen Therapie eingesetzt. Das Nierenzellkarzinom ist überwiegend nicht strahlensensibel. Eine Studie konnte zeigen, dass postoperative Bestrahlung des Tumorbettes nach Nephrektomie im Stadium T3 Kollektiv eine Senkung des Lokalrezidivrisikos von 37 % auf 10 % bewirkt (Stein, Kuten et al. 1992).

## Einleitung

Die Bestrahlung wird vor allem in der Schmerztherapie des Nierenzellkarzinoms bei Patienten mit ossären Metastasen eingesetzt (Lee, Hodgson et al. 2005). Hinzu kommt die Möglichkeit der stereotaktischen Bestrahlung von Hirnmetastasen, welche eine Alternative zur chirurgischen Exstirpation darstellt (Siebels, Oberneder et al. 2002),(Pomer, Klopp et al. 1997). Um einen möglichst großen Therapieerfolg zu erzielen, sollte die Strahlentherapie in Verbindung mit systemischer oder lokaler Therapie kombiniert werden.

## Systemische Therapie

Es sei noch einmal darauf hingewiesen, dass die chirurgische Therapie des Nierenzellkarzinoms zuerst voll ausgeschöpft wird, da die Chemo – und Hormonsensibilität des Nierenzellkarzinoms sehr gering ist. Aufgrund der raschen Entwicklung neuer medikamentöser Therapieformen ist ein einheitlicher Behandlungslogarithmus ständig im Wandel.

Die systematische Therapie stützt sich auf mehreren Säulen. So besteht die Möglichkeit einer Hormontherapie, zytostatische Therapie, Immuntherapie und die sogenannte „targeted Therapie“. Tabelle 6 bietet einen Überblick über die im Moment möglichen Therapieformen.

Tabelle 6: Potenzieller Therapiealgorithmus beim metastasierten Nierenzellkarzinom:

Empfehlung einer interdisziplinären Arbeitsgruppe Nierenzellkarzinom der Deutschen Krebsgesellschaft. 2010

| Histologie/<br>Therapielinie | Progressionsgruppe                           | Therapie<br>1. Wahl | Therapie<br>Alternative                 |
|------------------------------|----------------------------------------------|---------------------|-----------------------------------------|
| Klarzellig / Erstlinie       | Niedriges oder Mittleres Risiko<br>(80%-90%) | Sunitinib           | Bevacizumab<br>plus Interferon<br>alpha |
|                              | Hohes Risiko<br>(10%-20%)                    | Temsirolimus        | Sunitinib                               |
| Klarzelliges / Zweitlinien   | Zytokinvorthherapie                          | Sorafenib           | Sunitinib                               |
|                              | TKI-Vorthherapie                             | Everolimus          | TKI<br>(Sunitinib,<br>Sorafenib)        |

## Einleitung

### Hormontherapie

Die Hormontherapie mit Gestagenen, Androgenen und Antiandrogenen zeigte nur eine marginale Remissionsrate von maximal 10 – 20 %, daher kann dieser Therapieansatz als unwirksam angesehen werden.

### Zytostatische Therapie

Mit Remissionsraten bis maximal 20 % ist das Zytostatikum Vinblastin im Augenblick das potenteste Chemotherapeutikum, das in der Behandlung des Nierenzellkarzinom eingesetzt wird.

Die gute Wirksamkeit dieser Stoffe ist durch bestimmte positive Wechselwirkungen zwischen Vinblastin und 5 – Fluorouracil mit Interferonen zu sehen. Allgemein ist der Einsatz dieser Chemotherapeutika aber eher additiv zur Immuntherapie zu sehen, wobei hier die Betonung auf den immunmodulierenden Substanzen liegt (Aulitzky and Kaufmann).

Eine signifikante Verbesserung der Prognose ist mit den heutzutage zur Verfügung stehenden Substanzen wohl nicht zu erwarten.

### Immuntherapie

Bei der Immuntherapie handelt es sich um verschiedene Ansätze. Die Immuntherapie versucht physiologische Vorgänge im Körper nachzuahmen bzw. zu unterstützen. Beim Auftreten von entarteten Körperzellen wird bei einem funktionstüchtigem Immunsystem eine Reaktion ausgelöst, welche im günstigsten Fall die tumoröse Zelle abtötet und so die Krebsentstehung verhindert (Aulitzky and Kaufmann).

Interferon-alpha und Interleukin-2: Interferon- alpha hat eine nachgewiesene Wirksamkeit beim metastasierten Nierenzellkarzinom. Die Gabe von Interferon – Alpha wird zurzeit gegenüber Interleukin 2 als am aussichtsreichsten angesehen (Coppin, Porzsolt et al. 2005).

Im Vergleich zur aktiven Immunisierung ist die immunmodulierende Therapie etablierter und kann als Standardtherapie des metastasierten Nierenzellkarzinoms bezeichnet werden (Drucker). Um diese Immunmodulation durchzuführen, werden verschiedene Zytokine verabreicht. Unabhängig von einer Kombination mit anderen Zytokinen, wie Interleukin – 2 oder Interferon – Gamma oder mit Chemotherapeutika werden Remissionsraten von bis zu 40 % erzielt (Aulitzky and Kaufmann).

Begrenzt wird der Einsatz dieser Therapeutika durch die sehr oft unangenehmen Nebenwirkungen wie Abgeschlagenheit und grippeähnlichen Symptomen, die durch die hohe Toxizität der Zytokine verursacht werden (Heinzer, Huland et al. 2003). Insgesamt haben die genannten Substanzen die in sie gesetzten Erwartungen beim Nierenzellkarzinom nicht erfüllen können.

### Zielgerichtete Therapie / „targed“ Therapie

Durch ein verbessertes Verständnis der Tumorgenese ergaben sich neue Therapieansätze mit neuen Substanzen. Durch das Entdecken und richtige Beurteilen von proangioneser und

## Einleitung

proliferationsfördernder Faktoren wie VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) und PDGF (Platelet Derived Growth Factor) sowie mTOR (mammalian Target of Rapamycin) als Schlüsselmolekül einer intrazellulären Signalkaskade, ermöglichten sich neue therapeutische Ansätze für die Intervention in Zellproliferation und dem Zellüberleben.

Es zeigen sich in den letzten Jahren viel versprechende Ansätze in der Therapie mit Medikamenten wie z.B. Sunitinib, Sorafenib, Everolimus, Temsirolimus, und Bevacizumab in Kombination mit Interferon-alpha (Merseburger, Waalkes et al. 2009).

So konnte in einer neuen Studie von Staehler et al. eine komplette Remission des Nierenzellkarzinoms in Kombination von einer chirurgischen und systemischen Therapie mit Sorafenib und Sunitinib erreicht werden (Staehler, Haseke et al.).

Die neuen zielgerichteten Substanzen zeigen gegenüber den Zytokinen ein deutlich günstigeres Nutzen-Risiko-Profil.

Als Standard Therapie bei niedrigem und mittlerem Progressionsrisiko nach MSKCC-Kriterien (Memorial Sloan-Kettering Cancer Center) hat sich Sunitinib etabliert.

Es kam unter Sunitinib zu einer Verbesserung des progressionsfreien Überlebens von 5 auf 11 Monaten gegenüber Interferon-alpha. Das mediane Gesamtüberleben liegt unter dem Multi- Kinase-Inhibitor bei mehr als 2 Jahren (Motzer, Bacik et al. 2002), (Motzer, Hudes et al. 2009).

Als Alternativtherapie bei Patienten mit mittlerer bis guter Prognose stellt eine Therapie mit Interferon-alpha plus Bevacizumab dar. Hierbei verbesserte sich das progressionsfreie Überleben von 5,4 auf 10,2 Monate (Escudier 2007).

### Weitere Therapieformen:

Weitere Therapieformen sind auch heute Bestand vieler Studien- und Forschungsreihen, hier müssen aber noch die Ergebnisse der Untersuchungen abgewartet werden. Behandlungsmethoden mit antiangiogenetischen wirksamen Substanzen wie Thalidomid bzw. Neovastat werden derzeit erprobt (Rohde).

Bisher zeigte sich jedoch, dass eine von Margulis et al. durchgeführte Studie, bei der eine randomisierte Gruppe von Nierenzellkarzinom- Patienten die Einnahme von Thalidomid keine Verbesserung der 2-3 Jahres Überlebensrate mit sich brachte (Margulis, Matin et al. 2009).

Eine weitere Therapieoption ist eine Behandlung im Rahmen einer Impfung (Impfstoffe wie z.B. Reniale und Vitespen). Gerade bei Patienten mit T3-Tumoren, konnte hier ein Vorteil in der 5 Jahres Überlebensrate erzielt werden, so dass hier vielleicht in Zukunft eine weitere Säule der Therapie entstehen könnte (Van Poppel, Joniau et al. 2009).

Auch eine adjuvante Behandlung mit autologen Impfstoff scheint vorteilhaft zu sein. Dies bezieht sich in einer Studie von Jocham et al. auf Patienten mit Z.n. Nephrektomie bei einer initialen Tumorgroße von mehr als 2,5cm (Jocham, Richter et al. 2004).

## Einleitung

### 1.8 Prognose

Die Prognose des Nierenzellkarzinoms hängt von Tumorgröße, Lymphknotenstatus, Ort und Zeitpunkt der Fernmetastasierung, dem histologischen Differenzierungsgrad des Tumorgewebes und auch vom Patientenalter ab (Mejean, Oudard et al. 2003), (Ficarra, Righetti et al. 2002). Der wichtigste Einzelparameter zur Beurteilung der Prognose von Nierenzellkarzinomen ist das Stadium zum Zeitpunkt der Therapie, insbesondere die Frage der Metastasierung. Ein Grund für diese dramatische Verschlechterung der Überlebensrate, stellt die Einschränkung der Therapieoption bei metastasierten Nierenzellkarzinom dar.

Molekularbiologische Parameter rücken beim metastasierten Nierenzellkarzinom zunehmend in den Blickpunkt der aktuellen Forschung. Es hat sich gezeigt, dass bei einer Überexpression von mutiertem Tumorsuppressorgen p53, welches im nicht alterierten Zustand Hemmfaktoren von Zellwachstum und Zellteilung aktiviert (Vogelstein and Kinzler), eine erhöhte Rezidiv – und schlechtere Überlebensrate resultiert (Shvarts, Seligson et al. 2005), (Pinto, Monteiro et al. 2005). Auch das in der funktionsweise unklare Ki67 zeigte ähnliche Ergebnisse (Shvarts, Seligson et al. 2005), (Pinto, Monteiro et al. 2005), (Brown and Gatter).

Faktoren, die sich auf die Prognose des Nierenzellkarzinoms auswirken, kann man in zwei Gruppen einteilen. Es gibt eine Gruppe prognostischer Parameter, die sich auf den erkrankten Patienten bezieht und eine Gruppe prognostischer Parameter, welche sich auf den Tumor bezieht.

Folgende Tabelle zeigt eine Auflistung der einzelnen prognostischen Faktoren nach Srigley, wobei die einzelnen Faktoren in Hinblick auf ihre Evidenz, deutlich zu unterscheiden sind.

Tabelle 7: Auf Patienten bezogene prognostische Faktoren nach Srigley (Srigley, Hutter et al. 1997):

| <b>Faktoren</b>             | <b>Prognostisch ungünstig</b> |
|-----------------------------|-------------------------------|
| Alter                       | -                             |
| Geschlecht                  | -                             |
| Rasse                       | -                             |
| Geografische Lage           | -                             |
| Sozioökonomischer Status    | -                             |
| Klinik                      | Symptomatisch                 |
| Gewichtsverlust             | >10% des Körpergewichtes      |
| Allgemeinzustand            | ECOG 2-3                      |
| Blutsenkungsgeschwindigkeit | >30                           |
| C- reaktives Protein        | -                             |
| Anämie                      | <10 g/dl weiblich             |
|                             | <12 g/dl männlich             |
| Serumkalzium                | Hyperkalzämie                 |

## Einleitung

|                        |   |
|------------------------|---|
| Alkalische Phosphatase | - |
|------------------------|---|

Tabelle 8: Auf den Tumor bezogene prognostische Faktoren nach Srigley (Srigley, Hutter et al. 1997):

| <b>Faktoren</b>                      | <b>Prognostisch ungünstig</b> |
|--------------------------------------|-------------------------------|
| <b>Makroskopisch</b>                 |                               |
| Resektionsränder                     | Infiltriert                   |
| <b>Metastasen</b>                    |                               |
| Anzahl                               | Multipel                      |
| Solitär                              | nicht resektabel              |
| Lokalisation                         | Leber, Lunge                  |
| <b>Mikroskopisch</b>                 |                               |
| pTNM                                 | -                             |
| Differenzierung                      | niedrig differenziert         |
| Histologischer Typ                   | Klarzellig                    |
|                                      | vom Sammelrohr ausgehend      |
| Architektur                          | Sarkomatoid                   |
| Kernmorphometrie                     | groß, Formvarianten           |
| <b>Molekularbiologische Faktoren</b> |                               |
| DNA-Gehalt                           | Aneuploidie                   |
| <b>Proliferationsmarker</b>          |                               |
| Ki-67 (MIB-1)                        | Hoch                          |
| Agryophile Kernproteine              | Hoch                          |
| S-Phase Fraktion                     | Hoch                          |
| Proliferierendes Zellkern Antigen    | Hoch                          |
| <b>Apoptosemarker</b>                |                               |
| P53                                  | -                             |
| Bcl-2                                | -                             |
| P21                                  | -                             |
| Wachstumsfaktoren                    | -                             |
| Zelladhäsionsmoleküle                | -                             |
| Angiogenese                          | -                             |
| Gewebsreaktion des Wirtes            | -                             |
| Tumorsuppressorgene/ Onkogene        | -                             |
| Widerstandsfaktoren                  | -                             |
| Zytokine                             | -                             |

## Einleitung

|             |   |
|-------------|---|
| Zytogenetik | - |
|-------------|---|

Für eine Prognoseabschätzung orientiert man sich an verschiedenen Prognosescores. Beispiel hierfür ist der Prognose–SCORE nach Motzer. Dieser Score setzt sich aus der Höhe des Karnofsky Index (ggf. ECOG), der Höhe der LDH, der Höhe des Hb-Wertes, der Höhe des Serumkalziums und der Zeit von einer Tumornephrektomie zur möglichen Metastasenentstehung, zusammen.

Zur Einschätzung der postoperativen 5–Jahresüberlebensrate beim lokalisierten Nierenzellkarzinom erstellte man am MSKCC (Memorial Sloan-Kettering Cancer Center) ein prognostisches Nomogram. Als prognostische Faktoren wurden herangezogen Symptome des Patienten (keine, lokale und systemische), Histologie, Tumorgroße und pathologisches Stadium (Kattan, Reuter et al. 2001). Die einzelnen Stadien des Nierenzellkarzinoms unterscheiden sich zum Teil deutlich in ihrer 5 Jahres Überlebensrate.

Tabelle 9: T-Stadium und 5 Jahresüberlebensrate nach Tumornephrektomie (Tsui, Shvarts et al. 2000):

| T-Stadium | 5JÜR |
|-----------|------|
| pT1       | 91%  |
| pT2       | 74%  |
| pT3       | 67%  |
| pT4       | 32%  |

Tabelle 10: Klinisches Stadium des Nierenzellkarzinom und 5 Jahresüberleben nach Tumornephrektomie (Guinan, Vogelzang et al. 1995):

| Stadium nach Robson                  | 5JÜR    |
|--------------------------------------|---------|
| Stadium I ( begrenzt auf Niere)      | 75-92 % |
| Stadium II (innerhalb. Gerot-Faszie) | 63-77 % |
| Stadium III (Veneninvasion, pN+)     | 38-47 % |
| Stadium IV (pT4 oder M1)             | 11-12 % |

## 1.9 Beschreibung der Immunhistochemischen Marker

### 1.9.1 P 53

Das humane Tumorsuppressorprotein p53 besteht aus 393 Aminosäuren (murin 387 AS) bei einer Größe von 53 kDa, seine genetische Information ist auf dem Chromosom 17p3.1 lokalisiert (Lane and Crawford 1979). In normalen Zellen ist die Konzentration des p53-Proteins im Allgemeinen so niedrig, dass sie mit immunhistochemischen Verfahren nicht nachgewiesen werden kann.

## Einleitung

Das p53 - Tumorsuppressorgen wird durch Beschädigungen der DNA, Signalen eines abnormalen Wachstums sowie anderen intrinsischen und extrinsischen Stressfaktoren aktiviert. Die zentrale Funktion von p53 ist es, Zellen, die genetische Schäden aufweisen, nicht mehr zur Vermehrung zuzulassen. Diese Zellen gehen dann durch Apoptose zugrunde.

Es hat somit antiproliferative und proapoptotische Wirkung, die durch Kombination von Genaktivierung (zum Beispiel Bax), Genunterdrückung (zum Beispiel IGF II und Bcl-2) und durch direkte Interaktionen zwischen Proteinen (zum Beispiel Helicase und Caspase) vermittelt werden (Gottlieb and Oren 1998; Lohrum and Vousden 2000).

Aufgrund der Funktionen von P53 wird es auch als „guard of the genome“ bezeichnet (Kern, Kinzler et al. 1991; Lane 1992).

Mutationen des p53-Gens gehören zu den bei Tumorerkrankungen am häufigsten beobachteten molekularen Veränderungen. So zeigte sich, dass eine Mutation des p53-Gens beim Menschen in unterschiedlichen Tumortypen auftritt. Viele dieser Mutationen treten an der Bindungsdomäne für DNA des Proteins auf, wodurch eine korrekte Bindung des mutanten p53 an die DNA-Ziele verhindert wird. Diese Mutationen können zu einer Akkumulation und Überexpression des mutanten p53 - Proteins führen. Wenn eine Punktmutation im p53-Gen vorhanden ist, die die Funktion des Proteins einschränkt, reichert sich das defekte Protein im Kern an. Es kann dann immunhistologisch nachgewiesen werden.

### 1.9.2 bcl 2:

Das Bcl – 2 – Gen befindet sich auf dem Chromosomen 18q21 und kodiert für ein Protein von 25 kDa, das Bcl – 2 Onkoprotein, kurz Bcl – 2 genannt. 1984 wurde eine Überexpression von bcl 2 bei prä – B – Zell – Leukämie gefunden. Ca. 85 % der folliculären Lymphome und ca. 20 % der diffusen B – Zell – Lymphome (Korsmeyer) weisen diesen Befund auf, der mit einer t (14,18) Translokation des bcl 2 – Gens assoziiert ist. Daher ist Bcl - 2 die Abkürzung für „B – Zell – Lymphom / Leukämie 2 Gen“.

Bcl 2 gehört zu einer Gruppe von Onkogenen, welche als Regulatoren der Apoptose gelten. Eine strukturelle Verwandtschaft und gleichzeitig eine intensive gemeinsame Interaktion mit anderen, strukturell ähnlichen Genprodukten hat den Namen der Bcl 2 Familie geprägt. Die Familie der Bcl – 2 - Onkoproteine teilt sich in zwei Unterklassen: die antiapoptotischen Mitglieder, wie Bcl-2 und Bcl-xL, die die Zelle vor Apoptose schützen, und die proapoptotischen Proteine, wie Bax, Bak und die große Gruppe der „BH3-only“ Proteine (Antonsson), die den Ablauf der Apoptose unterstützen oder zumindest die Zelle dafür sensibilisieren.

Im Gegensatz zu anderen Protoonkogenen besteht die Funktion von Bcl-2 also nicht darin, die Proliferation zu stimulieren, sondern die Zellen vor Apoptose zu schützen (Hockenbery, Nunez et al. 1990), (Korsmeyer). Das BCL2-Onkoprotein ist ein Hemmer der Zellapoptose.

## Einleitung

Eine weitere wichtige Funktion der Mitglieder der Bcl-2 Familie ist die Kontrolle der mitochondrialen Membranpermabilität. „Bax-artige“ Proteine erhöhen die mitochondriale Permeabilität, während „Bcl-2-artige“ Proteine diesen Prozess blockieren (Antonsson), (Cory and Adams).

Durch Experimente zum Gentransfer wurde nachgewiesen, dass erhöhte Spiegel dieses Proteins eine große Vielzahl von Zellen vor unterschiedlichen, zu Zelltod führenden Stimuli schützen können.

Es schützt die Zelle vor z.B. Wachstumsfaktor-Entzug und zytotoxischen Lymphokinen bis hin zu Virusinfektion und DNA-Schäden, Zytostatika und Strahlentherapie.

So wird schließlich eine Überexpression von Bcl 2 in einen Zusammenhang mit dem Entstehen von Neoplasien gebracht, da diese Zellen einem natürlichen Zelltod entgehen und ungehindert proliferieren können.

### 1.9.3 Survivin:

Das für die Expression von Survivin verantwortliche Gen ist 14,7 kb (Kilobase) groß und liegt auf dem Chromosom 17q25. Das Gen kodiert für das Protein, welches aus 142 Aminosäuren besteht und eine molare Masse von 16.390 Dalton aufweist. Survivin ist das kleinste von den Inhibitor-Protein der Apoptose (IAP) und wird in der G2/M-Phase des Zellzyklus exprimiert.

In der Zytokinese spielt Survivin eine wichtige Rolle. Eine Unterbindung der Funktion von Survivin verursacht Zellteilungsdefekte, die durch multipolare, mitotische Spindeln und multinukleäre, polyploide Zellen gekennzeichnet sind (Li, Ackermann et al. 1999).

Survivin initiiert den Eintritt in den Zellzyklus: Nach Translokation in den Zellkern kommt es zu einer Interaktion von Survivin und Cdk4 (Cyclin-dependent-kinase). Es folgt eine Aktivierung des Cdk2/CyclinE-Komplexes, der eine Rb-Phosphorylierung (Retinoblastom) induziert und so den Zellzyklus aus dem G1-Arrest in die S-Phase überführt (Suzuki, Hayashida et al. 2000)

Survivin wird während der Embryonalentwicklung exprimiert, ist jedoch in den meisten normalen, nicht proliferierenden, adulten Geweben, mit Ausnahme von Thymus und Plazenta, mittels Northernblotanalysen nicht detektierbar (Ambrosini, Adida et al. 1997). Es scheint eine Kopplung zwischen Zellproliferation und der Expression von Survivin zu bestehen, da Survivin auch in einigen stark proliferierenden, nicht-neoplastischen Geweben nachweisbar ist (Gianani, Jarboe et al. 2001), (Konno, Yamakawa et al. 2000)

Die Survivin-Expression ist in humanen Tumoren auf das 14-Fache erhöht (Velculescu, Madden et al. 1999) und konnte in nahezu allen bislang untersuchten menschlichen Tumoren nachgewiesen werden.

### 1.9.4 MDR-1

P-Glykoprotein ist das Genprodukt des MDR1-Gens und gehört zur großen Gruppe der ATP-binding – cassette Transportproteine (daher auch ABC-Protein genannt).

## Einleitung

Menschen besitzen zwei verschiedene MDR-Gene, MDR1 und MDR2. Das P-Glykoprotein wurde erstmals 1976 von Victor Ling und Kollegen in Cholicin resistenten Ovarzelllinien von Hamstern beschrieben (Juliano and Ling 1976). Das „multi drug resistance“-Gen (MDR-Gen) befindet sich auf dem langen Arm des Chromosoms Nummer 7 (7q21.1) und es besteht aus 209kb.

MDR1 hat mehrere Funktionen wie z.B. intestinale Schutzfunktion zur Vermeidung einer überschießenden Immunreaktion, eine Barriere gegenüber Toxinen an Gehirn, Nerven, Hoden und Plazenta. Außerdem trägt es zur Aufrechterhaltung der Blut-Hirn-Schranke bei und es übernimmt Funktionen beim Steroid-Transport und beim Cholesterin-Metabolismus. MDR-1 übt allgemein vermutlich eine Schutzfunktion auf das Gewebe aus, das in besonderem Maße endogenen toxischen Substanzen, potenziellen Mutagenen und Zellabfallsprodukten ausgesetzt ist, indem es die entsprechenden Substanzen wieder aus der Zelle befördert (Sugawara 1990; van der Valk, van Kalken et al. 1990). Für eine Vielzahl von Tumorentitäten, wie z. B. Tumoren des Gastrointestinaltraktes (Leber, Pankreas), das Mammakarzinom und Tumoren des hämatopoetischen Systems (Leukämie, Lymphom) konnte eine Korrelation zwischen der MDR1-Überexpression und dem Ansprechen auf die Chemotherapie hergestellt werden (Trock, Leonessa et al. 1997), (Leith, Kopecky et al. 1999).

Demzufolge ist das Bestreben in der biomedizinischen Forschung groß, über die Hemmung des P-Glykoprotein-abhängigen Zytostatikatransports eine positive Wirkung auf den Erfolg einer Chemotherapie auszuüben.

### 1.9.5 PAX-2

Das menschliche PAX-2 ist auf Chromosom 10q25 lokalisiert (Stapleton, Weith et al. 1993) und umspannt dort mit 12 Exonen etwa 70 kb.

Bislang konnten fünf durch alternatives Spleißen erzeugte Transkriptvarianten (PAX-2A bis PAX-2E) identifiziert werden.

PAX-Gene erhielten ihren Namen aufgrund eines konservierten DNA-Motivs, der paired domain (PD). Das PAX-2-Gen wird während der Embryonalentwicklung im Auge, Ohr, Zentralnervensystem und Urogenitaltrakt expremiert (Dressler, Deutsch et al. 1990). Eine kritische Rolle für PAX-2 in der Genese dieser Organe wurde durch die Analyse von Mausmodellen mit gestörter Expression von PAX-2 beschrieben.

Die Nierenentwicklung betreffend erscheint PAX-2 mit dem Beginn der mesenchymo-epithelialen Transformation im Urnierengang und dessen Abkömmlingen, im metanephrogenem Blastem sowie in den frühen epithelialen Derivaten des Blastems.

PAX-2 wird demgemäß in allen Geweben expremiert, die an der Entstehung der adulten Niere beteiligt sind. Mit fortschreitender Reifung der tubulären Strukturen in der Niere sistiert die Expression in den genannten Geweben. PAX-2 ist demnach an der Entwicklung und Differenzierung beider nephrogener Ausgangsgewebe entscheidend beteiligt. In der gesunden reifen Niere ist eine Expression von PAX-2 nicht mehr nachweisbar (Dressler, Deutsch et al. 1990).

## Einleitung

Es zeigte sich, dass nicht nur der Mangel sondern auch die abnorme Überexpression des Transkriptionsfaktors ein pathogenes Potential besitzt. Hyperproliferative Gewebe wie Wilms Tumorgewebe und Nierenkarzinomzellen zeigen zum Teil eine Deregulation der PAX-2-Expression passend zu einer Aufhebung der PAX-2-assoziierten antiapoptotischen Effekte (Gnarra and Dressler). Die onkogene Kapazität von PAX-2 beruht in erster Linie auf einer Inhibition des Tumorsuppressorgans p53 (Stuart, Haffner et al. 1995). Außerdem erzeugt die murine, transgene Überexpression von PAX-2 dysfunktionales Nierengewebe (Dressler, Wilkinson et al. 1993).

## Fragestellung

### **2. Fragestellung:**

Aufgrund der schlechten Prognose des metastasierten Nierenzellkazinoms stellt seine Therapie eine große medizinische Herausforderung dar. Eine individuelle Beurteilung und Therapie der einzelnen Tumore rückt daher zunehmend in den Mittelpunkt des klinischen Alltags.

Der Fortschritt im Bereich der Erforschung von Tumorentstehung im molekulargenetischen Bereich hat eine große Anzahl von neuen Parametern aufgetan, die mit relativ einfachen immunhistochemischen Methoden dargestellt werden können. Einige dieser Parameter gelten als vielversprechenden Kandidaten, um neue Prognosefaktoren beim Nierenzellkarzinom zu generieren.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Korrelation von Prognose und verschiedenen immunhistochemischen Parametern bei Patienten mit Nierenzellkarzinom im Stadium T3 untersucht.

Folgende Fragen bestanden:

- 1) Kann die prognostische Aussagekraft etablierter Prognoseparameter (Tumorstadium, Lymphknotenstadium, Malignitätsgrad) am vorliegenden Kollektiv bestätigt werden?
- 2) Welche prognostische Bedeutung besitzen andere „konventionelle „Parameter“ (Histologie, Alter bei Operation, Geschlecht, Tumorgroße)?
- 3) Welcher prognostische Stellenwert kommt der immunhistochemischen MDR-1, Bcl-2, P53-, PAX-2, und Survivin- Expression im Lok rank-Test zu?
- 4) Wie Verhält es sich zwischen der Expression von immunhistochemischen Markern und klinisch pathologischen Faktoren im Fischer-Exakt-Test?

### **3. Material und Methoden**

#### **3.1 Beschreibung des ausgewählten Patientenkollektivs:**

Das Patientenkollektiv setzte sich initial aus allen Patienten zusammen, die im Zeitraum 1993 bis 2002 am Universitätsklinikum zu Lübeck aufgrund eines Nierenzellkarzinoms im T-Stadium T3 a und b nephrektomiert wurden.

Nach Überarbeitung einer ersten angefertigten Liste, mit Vergleich aller Daten und Recherche des jeweiligen Tumorstadiums bei OP, Histologischen Subtyp und OP-Datum aus den im Archiv vorhandenen Patientenakten entstand ein Kollektiv von 122 Patienten.

Um das Tumormaterial verwenden zu dürfen, bedurfte es laut Ethikkommission (Antragsnummer 06-134, vom 21.7.2008) bei nicht verstorbenen Patienten einer Einwilligungserklärung.

Um eine Einwilligungserklärung zu erhalten oder Informationen über das Überleben oder Ableben der Probanden zu erhalten, wurden verschiedene Institutionen angeschrieben.

Hierzu gehörten die Eigenauskunft der Patienten sowie deren Angehörigen. Erweitert wurde das Kollektiv durch Informationen folgender Institutionen: dem Ordnungsamt der Stadt Lübeck, dem zuletzt behandelnden Arzt aus der Patientenakte, der Vertrauensstelle der Ärztekammer Schleswig- Holstein und der Krankenkassen (Anschreiben siehe Anhang). Bei 26 Patienten war kein Kontakt über die genannten Institutionen oder über das direkte Patientinanschreiben zu ermitteln.

Hier raus resultiert ein Kollektiv von 96 Gewebsschnitten, die in unserer Studie mit einbezogen werden konnten.

Zu einer weiteren Reduktion des Kollektivs kam es, da 3 Gewebeproben nicht auffindbar waren oder durch vorherige Untersuchungen nur noch ungenügend repräsentatives Material vorhanden war. Im Verlauf wurde eine weitere Probe als Urothelkarzinom identifiziert und somit nicht in die Studie aufgenommen. Das Kollektiv setzte sich somit letztendlich aus 92 Patienten zusammen.

#### **3.2 Datenerhebung:**

Die benötigten Daten wie Diagnose, histopathologisches Stadium oder Therapie konnten retrospektiv den Krankenakten entnommen werden und gegebenenfalls durch Auskünfte der Patienten, deren Angehörigen oder Hausärzte ergänzt werden. Im Einzelnen wurden erhoben: Geschlecht, Alter bei Operation, Todesdatum, Tumorgroße- bzw. -ausdehnung, Grading, histologischer Befund.

Der Datenerhebungszeitpunkt war am 12.11.2008.

Die Nachbeobachtungszeit der Patienten lag im Mittel bei 129,2 Monaten (min: 72 Monate, max: 186 Monate)

#### **3.3 Allgemeine Beschreibung der Immunhistochemie:**

Eine immunologische Reaktion zwischen Antigen und monoklonalen bzw. polyklonalen Antikörper stellt den ersten Schritt jeder Immunhistologischenfärbung dar. Daher auch das Synonym Antikörperfärbung. Ein Antigen selbst erhält seine Färbung durch den passenden Antikörper.

## Material und Methoden

Zu unterscheiden ist eine direkte und indirekte Färbung.

Bei der direkten Immunhistochemie wird der Antikörper (Primärantikörper) zuvor mit einem Enzym verbunden, welches eine Reaktion katalysiert. So entsteht unter Zugabe eines Chromogens ein Farbstoff, welcher die Lokalisation des Antigens sichtbar macht.

Wird jedoch nicht der Primärantikörper mit einem Enzym konjugiert, sondern in einem zweiten Schritt ein enzymmarkierter Sekundärantikörper mit dem primären verbunden, spricht man von indirekter Immunhistochemie.

Diese Technik wurde in der vorliegenden Arbeit verwendet und hat den Vorteil, das Farbsignal zu verstärken. Dieser Sekundärantikörper war mit Meerrettichperoxidase konjugiert. Diese katalysiert unter Zugabe von Wasserstoffperoxid eine Reaktion, bei der Protonen frei werden. Die freigesetzten Protonen oxidieren Chromogen 3,3'-Diaminobenzidin (DAB). Das zuvor farblose Substrat wird in ein braunes Produkt umgewandelt.

### 3.4 Das Tumormaterial

Das Tumormaterial besteht aus Gewebestücken, die in den Jahren 1993 bis 2002 im Rahmen der Primäroperation von Patienten mit Nierenzellkarzinom gewonnen wurden.

Die Schnitte wurden in Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet. Anschließend erfolgte eine Archivierung im Universitätsklinikum zu Lübeck.

Für die immunhistochemische Bestimmung der Tumorentigene bcl 2, MDR 1, p53, Survivin, Pax 2, wurden die archivierten Gewebestücke erneut aufgearbeitet.

Von den Blöcken wurden mit Hilfe des Mikrotoms (Microm, Walldorf) 5 µm dicke Schnitte angefertigt, im 37° C warmen Wasserbad gestreckt und auf die beschichteten Objektträger aufgebracht. Nach dem Trocknen bei 37°C über Nacht konnten die Schnitte weiter verarbeitet werden.

Hier wird kurz der Ablauf der einzelnen Schritte bei der Färbung des jeweiligen Markers beschrieben:

#### 3.4.1 Entparaffinierung

Für alle Marker gleich:

- 3 x 10 min Behandlung mit Xylol
- 2x100% Alkohol
- 96% Alkohol
- 96% Alkohol
- 90% Alkohol

#### 3.4.2 Verdünnung und Vorbehandlung

- a) p 53
  - Verdünnung: 1:50
  - Vorbehandlung: DG (DG: Dampfgerar) pH- Wert: 9,0
  - Puffer: Novcastra, Epitope retrieval

## Matrrial und Methoden

### b) MDR-1

- Verdünnung 1:40
- Vorbehandlung: DT 15 min (DT: Dampftopf)
- Puffer: Citratpuffer ph- Wert: 6,1

### c) Survivin

- Verdünnung 1:50
- Vorbehandlung: DG ph- Wert: 9,0
- Puffer: Novcastra, Epitope retrieval

### d) Pax 2

- Verdünnung 1:20
- Vorbehandlung: DG ph-Wert: 6,1
- DAKO S1699

### e) bcl 2

- Verdünnung 1:100
- Vorbehandlung: DT 15 min
- Citratpuffer ph- Wert: 6,1

### 3.4.3 Färbeprozedur

Für alle Marker gleich:

- 5 min TBS (Tris-buffered-saline)
- 30 min primär Antikörper
- 5 min TBS
- 15 min sekundär Antikörper(Enhancer)
- 5 min TBS
- 3 x 5 min H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Blockierung)
- 5 min TBS
- 15 min HRP (horseradish peroxidase)
- 3x 5 min TBS
- 8-10 min DAB (Diaminobenzidin)
- 3x 5 min H<sub>2</sub>O
- 3 min Gegenfärbung mit Hämetoxilin
- fließend bläuen (H<sub>2</sub>O)
- Aufsteigender Alkoholreihe (3 x Xylol)
- eindecken

### 3.4.4 Chemikalien und Materialien

|                               |                  |
|-------------------------------|------------------|
| H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> | Roth             |
| Aqua d.                       | Selbsterstellung |
| Xylol                         | Roth             |
| Objektträger                  | Dako             |
| Peroxidase                    | Eigenherstellung |
| TBS                           | Eigenherstellung |

### 3.4.5 Primärantikörper

|          |               |
|----------|---------------|
| p53      | Dako, Hamburg |
| Survivin | Dako, Hamburg |
| Bcl-2    | Dako, Hamburg |
| MDR-1    | Cemicon       |
| Pax-2    | Zyto - med    |

### 3.4.6 Geräte und Zubehör

|            |            |
|------------|------------|
| Dampftopf  | WMF        |
| Dampfgarer | Braun      |
| Microtom   | Walldorf   |
| Mikroskop  | Carl-Zeiss |
| Mikrowelle | Miele      |

## 3.5 Auswertung der Immunhistochemischen Färbungen:

Die einzelnen gefärbten Schnitte wurden im Rahmen einer Konsensusentscheidung durch drei unabhängige Untersucher, darunter ein erfahrener Facharzt für Pathologie, ausgewertet.

Durch ein Auflichtmikroskop von Carl-Zeiss wurde zunächst ein repräsentativer Bereich des Tumors aufgesucht. Es wurden 200 Zellen pro Tumorgewebe hinsichtlich ihres Anfärbemusters beurteilt. Je nach Antigen wiesen die Tumorzellen eine hohe nukleäre, zytoplasmatische, membranständige oder gleichmäßig nukleäre und zytoplasmatische Reaktivität auf. Einen Überblick über die jeweilige Lokalisation der einzelnen Marker Expression gibt Tabelle 11.

Tabelle 11: Übersicht zur Lokalisation der Markerexpression

| Marker/Lokalisation | Kerne | Zytoplasma | Membran |
|---------------------|-------|------------|---------|
| Survivin            | +     | +          | -       |
| P53                 | +     | -          | -       |
| Bcl-2               | -     | +          | +       |
| MDR-1               | -     | +          | +       |
| PAX-2               | +     | -          | -       |

## Matrrial und Methoden

Bei den Kernfärbungen erfolgte die Auswertung in Zehnerschritten in Prozent (0%-100%). Die so ermittelten Prozentsätze werden im Ergebnisteil als Marker-Name angegeben.

Bei der Auswertung der Zytoplasmafärbung erfolgte eine Auswertung in „Niedrigexprimierer“, weniger als 50% des Zytoplasmas sind angefärbt und „Hochexprimierer“ mehr als 50 % des Zytoplasmas sind angefärbt. Bei der statistischen Auswertung erfolgte eine Einteilung in 0= keine Zytoplasmafärbung, 1= weniger als 50 % des Zytoplasmas und 2= mehr als 50 % des Zytoplasmas sind angefärbt. Die so ermittelten Werte werden im Ergebnisteil als Marker+zytoplasma angegeben.

Auch bei der Membranfärbung erfolgte die Auswertung in Zehnerschritten in Prozent (0%-100%). Die so ermittelten Prozentsätze werden im Ergebnisteil als Marker+membran angegeben.

Zusätzlich erfolgte bei den Marker P53 und MDR-1 eine Beurteilung der Färbeintensität. Hierbei unterteilten wir in starke und schwache Färbeintensität (1=schwache Färbeintensität, 2=starke Färbeintensität).

### 3.6 Abbildungen der Immunhistochemischen Färbungen

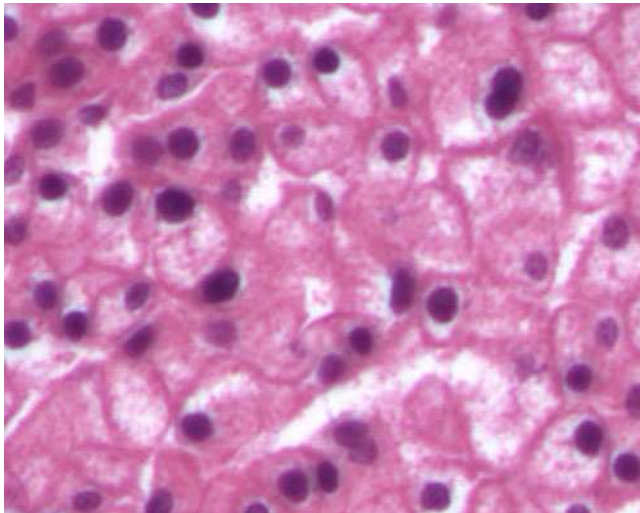


Abbildung 1: Aus dem Institut für Pathologie der Universität zu Lübeck eine Gewebsschnitt eines Nierenzellkarzinoms in HE-Färbung.

P53:

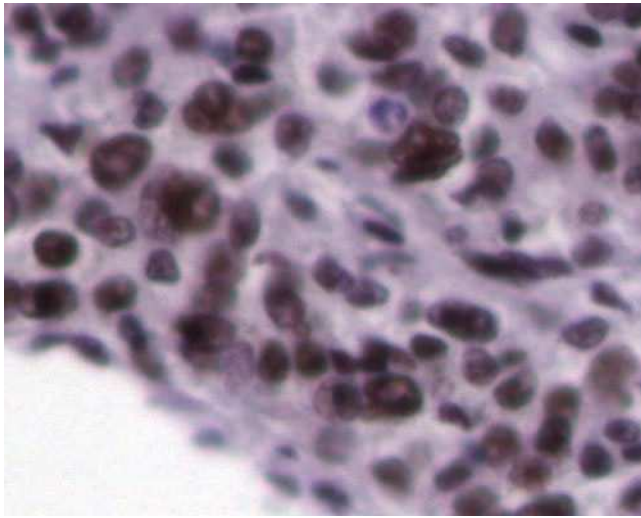


Abbildung 2: Positive P53 Expression. P53 exprimiert sich rein nukleär. Es zeigt sich eine bräunliche Kernfärbung (Institut der Pathologie der Universität zu Lübeck)

MDR-1:

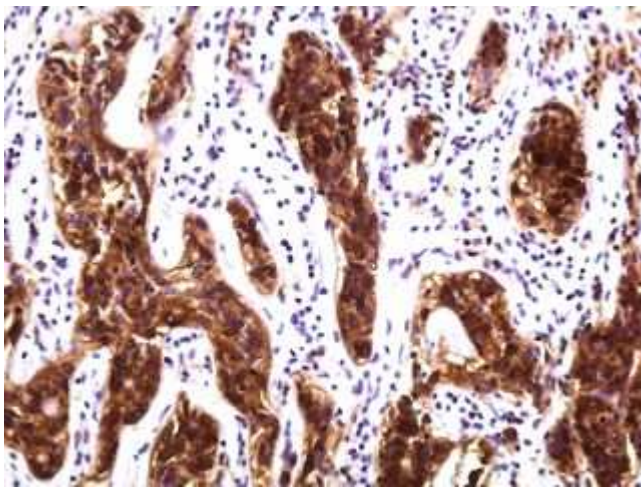


Abbildung 3: Positive MDR-1 Expression. MDR-1 exprimiert sich in der Zellmembran und im Zytoplasma (Institut der Pathologie der Universität zu Lübeck)

## Matrrial und Methoden

Bcl2:

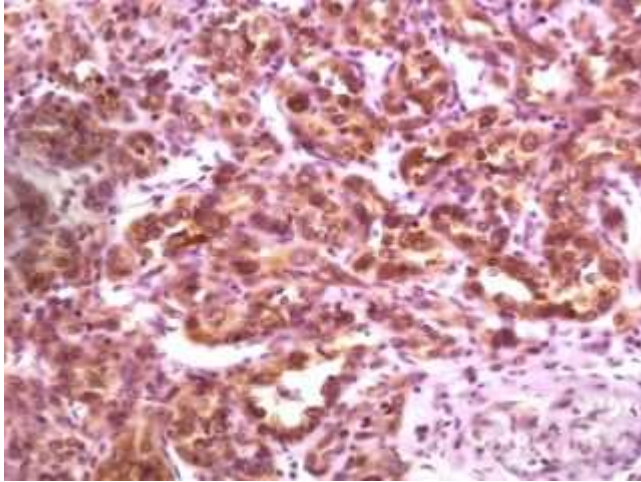


Abbildung 4: Positive Bcl2- Expression. Bcl-2 exprimiert sich im Zytoplasma und Zellmembran. (Institut für Pathologie der Universität zu Lübeck)

Survivin:

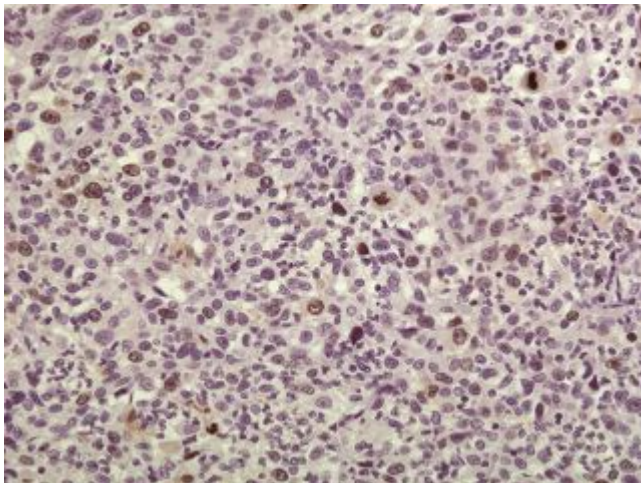


Abbildung 5: Positive Survivin- Expression. Survivin wird nukleär exprimiert. (Institut für Pathologie der Universität zu Lübeck)

PAX2:

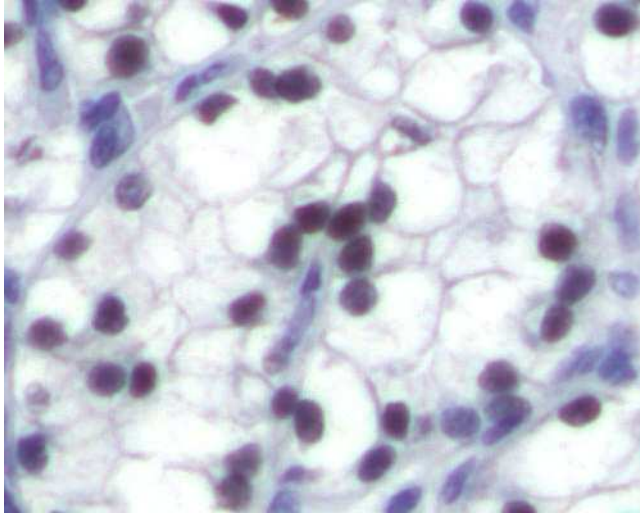


Abbildung 6: Positive PAX-2 –Expression. PAX-2 wird nukleär exprimiert. (Institut für Pathologie der Universität zu Lübeck)

### 3.7 Statistische Auswertung

Zur Planungsvorbereitung dieser retrospektiven Studien wurde das Kooperationsangebot des Institutes für Medizinische Biometrie und Statistik (IMBS) der Universität zu Lübeck genutzt. Nach Durchführung und Datenerhebung wurde erneut das vorliegende Datenmaterial durch das IMBS gesichtet.

Die erhobenen Daten wurden in einer Excel-Tabelle (Microsoft Office Excel®) zusammengeführt und dann in das Statistikprogramm SPSS (SPSS für Windows Version 11.5.1®) importiert.

Aus den numerischen Parametern wurde der Median ermittelt und von diesem ausgehend die Unterteilung in zwei gleich starke Gruppen ( $\leq$  oder  $>$  Median) vorgenommen. Alle anderen Parameter wurden semiquantitativ nach jeweils definierten Kriterien in Gruppen aufgeteilt.

Die Darstellung der Überlebenszeitanalyse erfolgte durch Kaplan-Meier-Kurven. Mit dieser Methode wird der Verlauf der Überlebenszeitkurve durch eine fallende Treppenfunktion dargestellt: Die X-Achse zeigt die Überlebenszeit an, die Y-Achse den prozentualen Anteil der zum jeweiligen Zeitpunkt noch lebenden Patienten. Alle Überlebensanalysen wurden mittels des Log-rank-Tests durchgeführt.

Assoziative Beziehungen zwischen verschiedenen Parametern wurden mit dem exakten Test nach Fischer berechnet. Das Signifikanzniveau lag bei  $p < 0,05$ . Ab einem Signifikanzwert von  $p < 0,1$  wurde von einem Trend gesprochen, der weiterer Abklärung bedarf.

## Ergebnisse

### **4. Ergebnisse:**

#### **4.1 Kohortenzusammensetzungen**

Von den 92 Patienten waren 63 männlich und 29 weiblichen Geschlechts (Verhältnis von 68,8% Männer/ 31,2% Frauen). Das Durchschnittsalter lag zum Zeitpunkt des operativen Eingriffes bei 64,8 Jahren (Range 34-87Jahre). Zum Zeitpunkt des Datenerhebungsendpunkt (12.11.2008) waren bereits 76 Patienten des Kollektivs verstorben (82,6 % der Patienten).

Die Nachbeobachtungszeit belief sich im Mittel auf 129,2 Monaten. Das entsprach einer Spannweite von 114 Monaten. (Range 72 -186 Monaten).

#### **4.2. deskriptive Statistik**

##### **4.2.1 Auswertung T-Status**

In unserer Arbeit wurden nur Patienten mit einem T- Stadium der Klasse 3 a und b einbezogen. Zum Zeitpunkt des Staging, zeigten 42 (45,7%) Patienten ein Stadium T3a auf und 50 (54,3%) Patienten ein Stadium T3b.

## Ergebnisse

### 4.2.2 Auswertung M-Status

Bei der Auswertung des M-Stadium zeigten sich 12 Patienten (13%) mit dem Stadium M1, 22 Patienten (23,9%) mit dem Stadium M0 und 58 Patienten (63%) mit einem Stadium Mx  
Mx bedeutet keinen sicheren Hinweis oder Ausschluss von Metastasen.

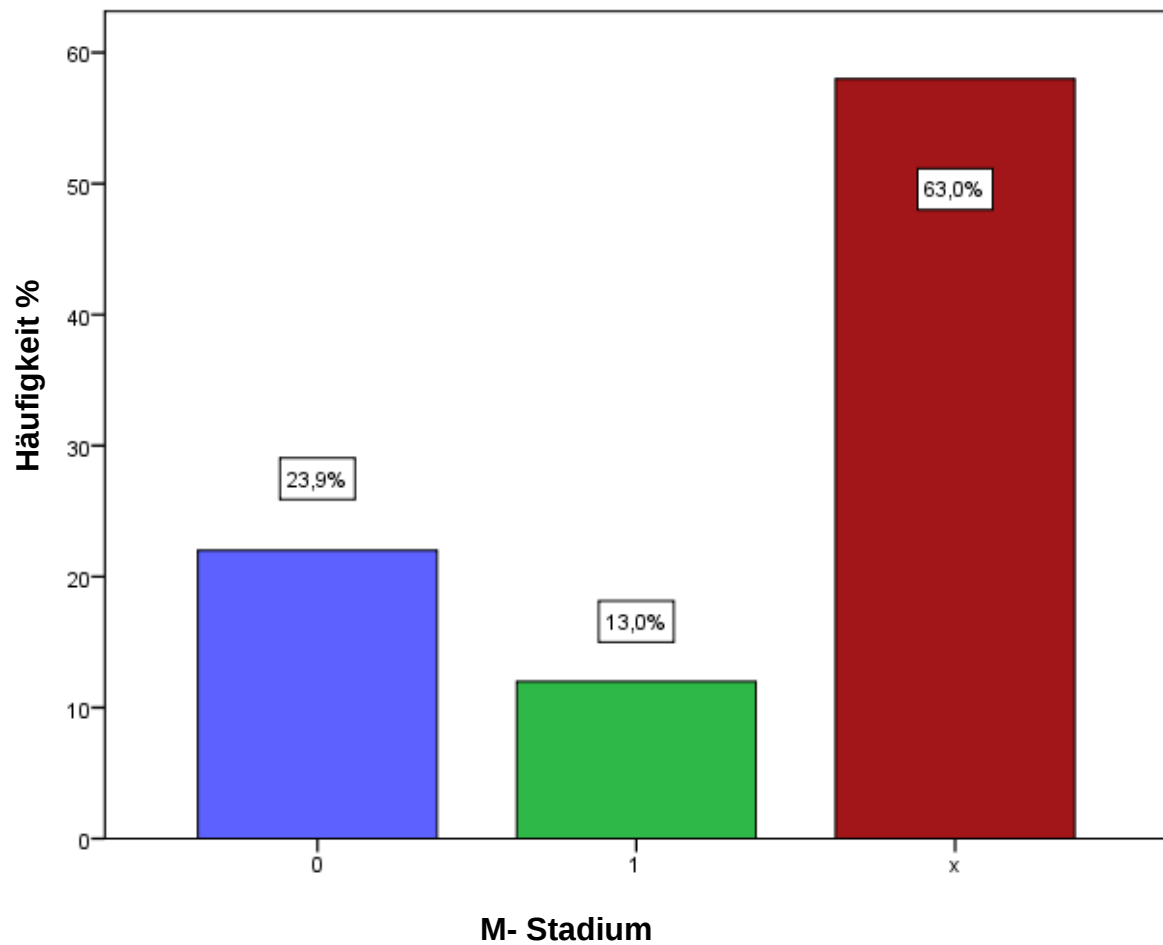


Abbildung 7: Auftreten von Fernmetastasen

### 4.2.3 Auswertung N-Status

Bei der Auswertung des N- Stadium zeigte sich, dass 46 Patienten (50%) ein Stadium N0, 6 Patienten (6,5 %) ein Stadium N1, 9 Patienten (9,8%) ein Stadium N2 und 31 Patienten (33,7%) ein Stadium Nx zum Zeitpunkt des Staging aufwiesen.

Mit Nx werden alle Personen bezeichnet, die keiner sicheren Differenzierung zugeordnet werden konnten.

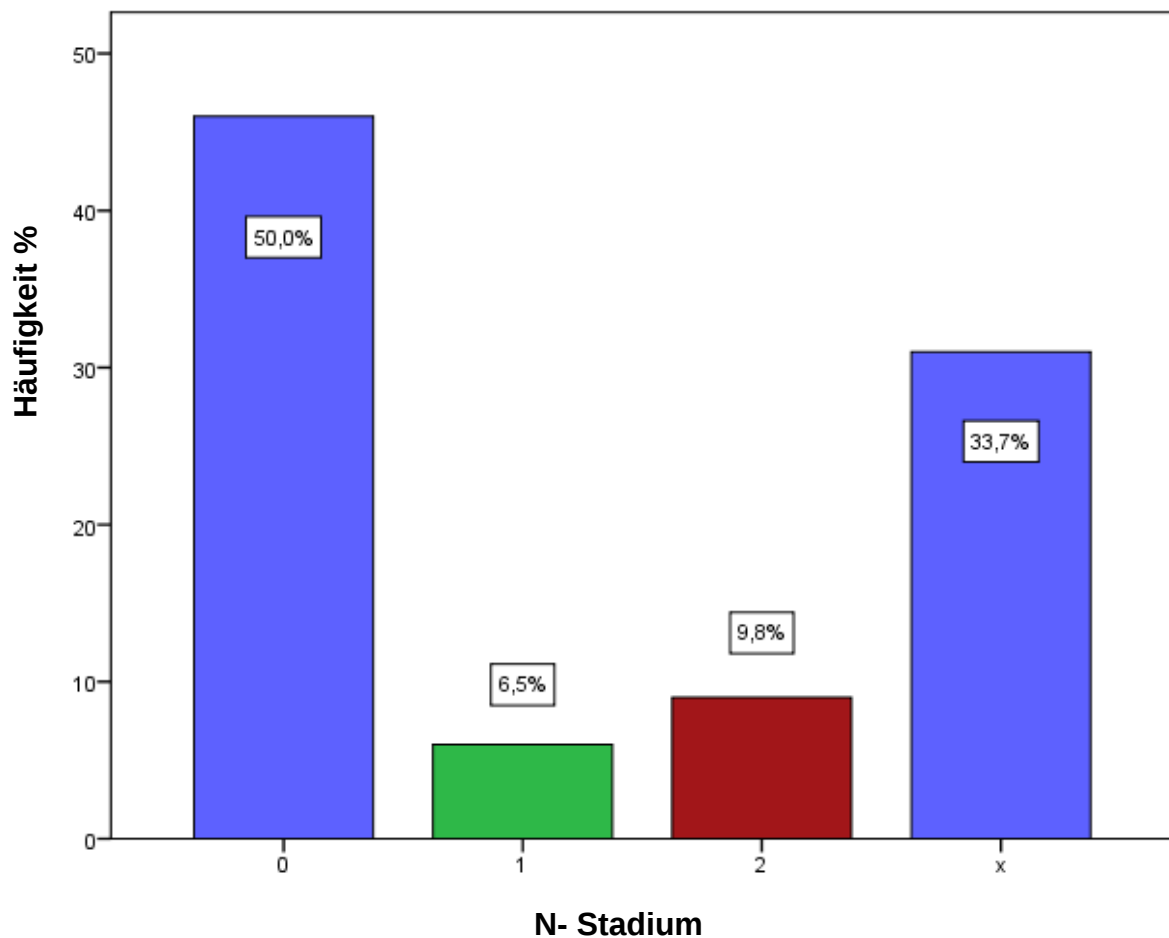


Abbildung 8: Verteilung der einzelnen Nodalstadien

#### 4.2.4 Auswertung des Gratings

Zum Zeitpunkt des Stagings zeigten sich 10 Patienten (10,9%) mit dem Stadium G1, 60 Patienten (65,2%) mit dem Stadium G2 und 22 Patienten (23,9%) mit dem Stadium G3.

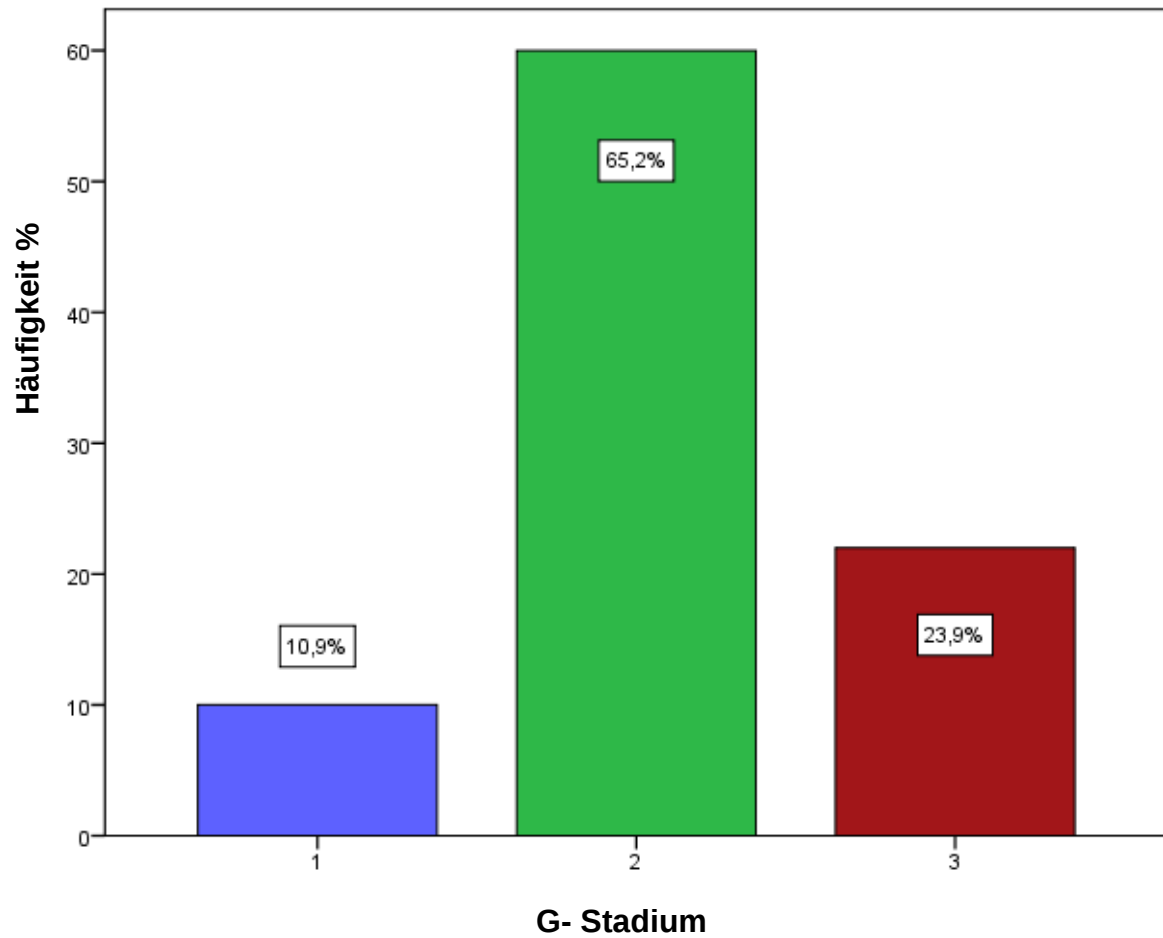


Abbildung 9: Verteilung der einzelnen Grading-Stadien

#### 4.2.5 Auswertung Tumor-Größe

Die folgende Tabelle zeigt die Tumorgöße in Zentimeter in Intervall. Die einzelnen Grenzen wurden aus Vergleichsarbeiten abgeleitet. Wie zum Beispiel bei in einer Studie von Scoll 2009 und orientieren sich an der aktuellen TNM-Klassifikation (Juliano and Ling).

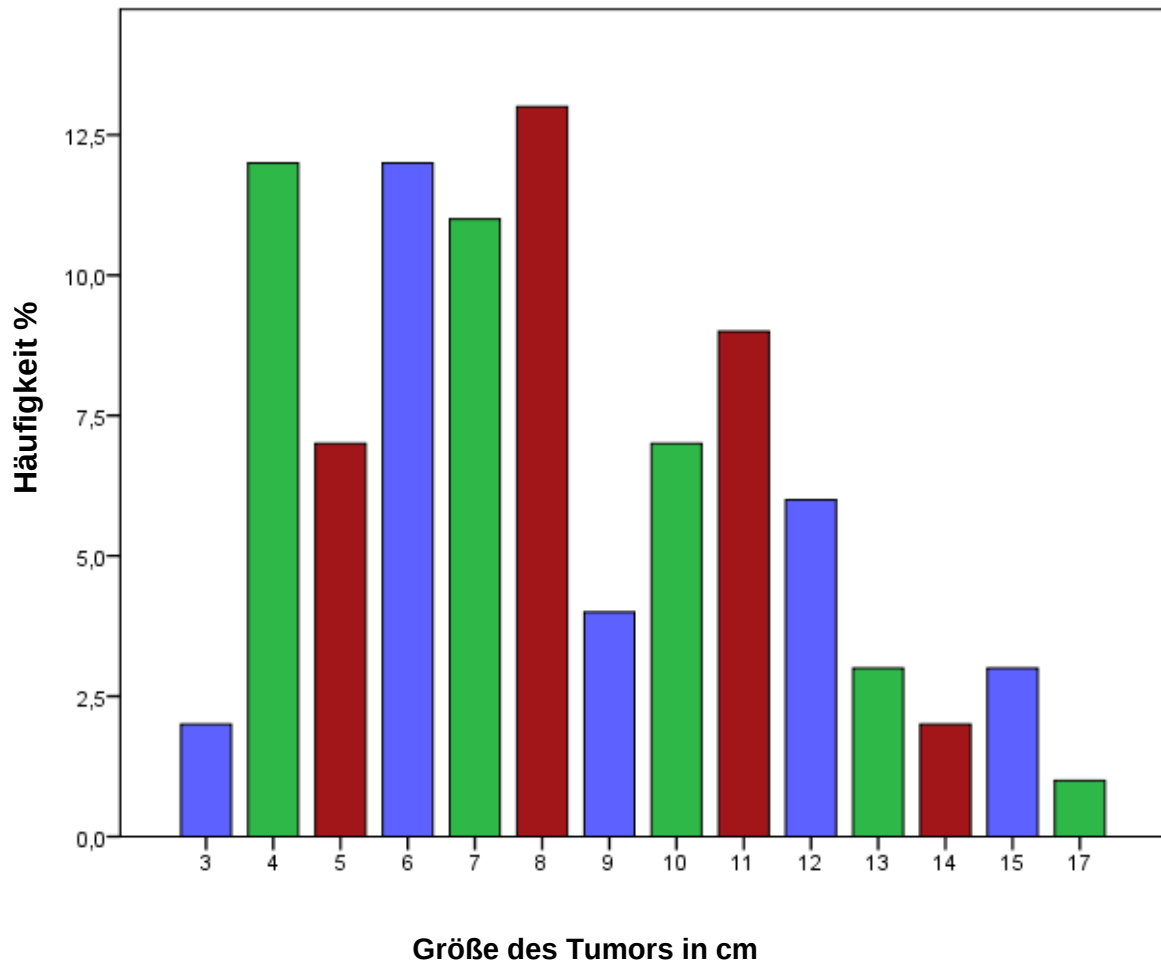


Abbildung 10: Allgemeine Größenverteilung der Tumor in Zentimeter und ihre Häufigkeit.

Tabelle 12: Tumorgröße

| Zentimeter | Häufigkeit | Prozent |
|------------|------------|---------|
| <4         | 10         | 10,9    |
| 4-7        | 34         | 37      |
| >7         | 48         | 52,2    |
| Gesamt     | 92         | 100,0   |

## 4.2.6 Auswertung des Alters bei Operation

Das Durchschnittsalter zum Zeitpunkt des operativen Eingriffes lag bei 64,8 Jahren. Der größte Anteil von Patienten ist zum Zeitpunkt des operativen Eingriffes zwischen 60 und 69 Jahren alt. In diesem Alter befinden sich in unserer Kohorte 38 Patienten (41,3 %).

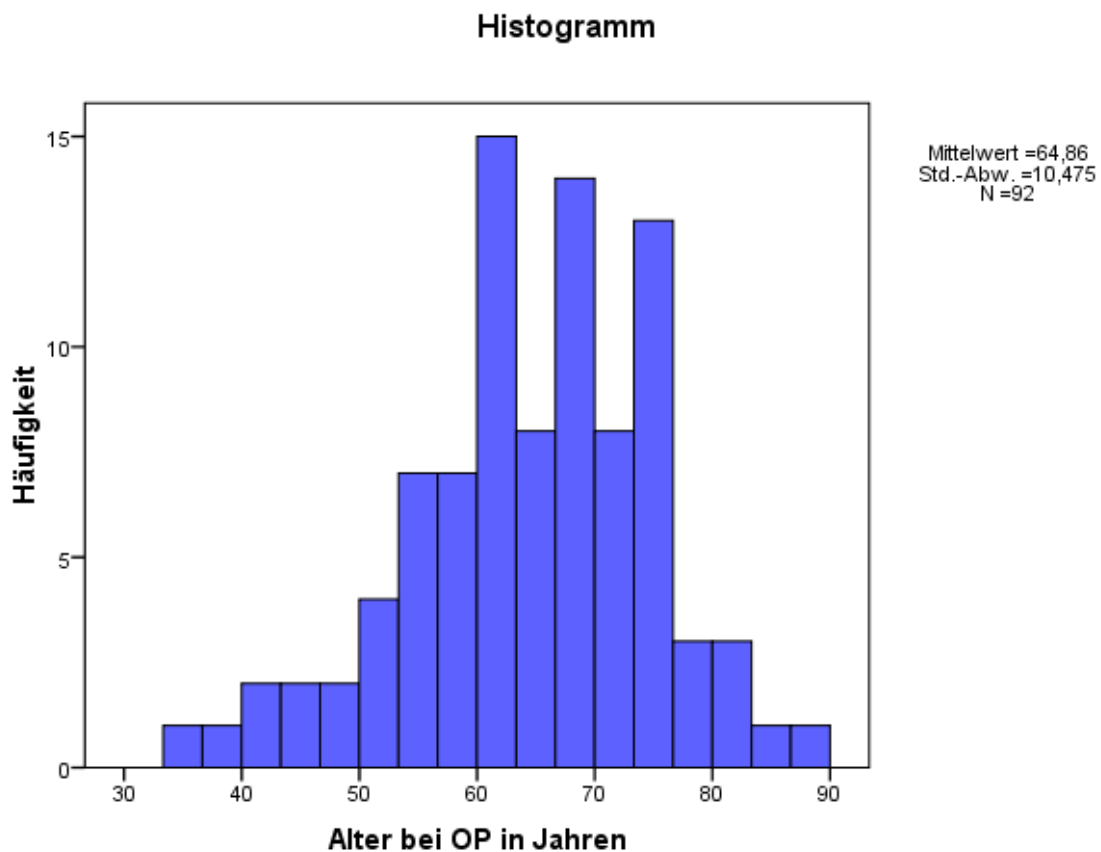


Abbildung 11: Alter bei OP

#### 4.2.7 Histologischer Subtyp

Es überwog erwartungsgemäß das klarzellige Nierenzellkarzinom. Von den 92 Patienten wurde dieser histologische Typ bei 82 (89,1%) Personen diagnostiziert.

Bei den anderen 10 Patienten (10,1%) handelt es sich zusammenfassend um Nierenzellkarzinome anderer histologischer Subtypen wie z.B. papilläres und chromophobes Nierenzellkarzinom.

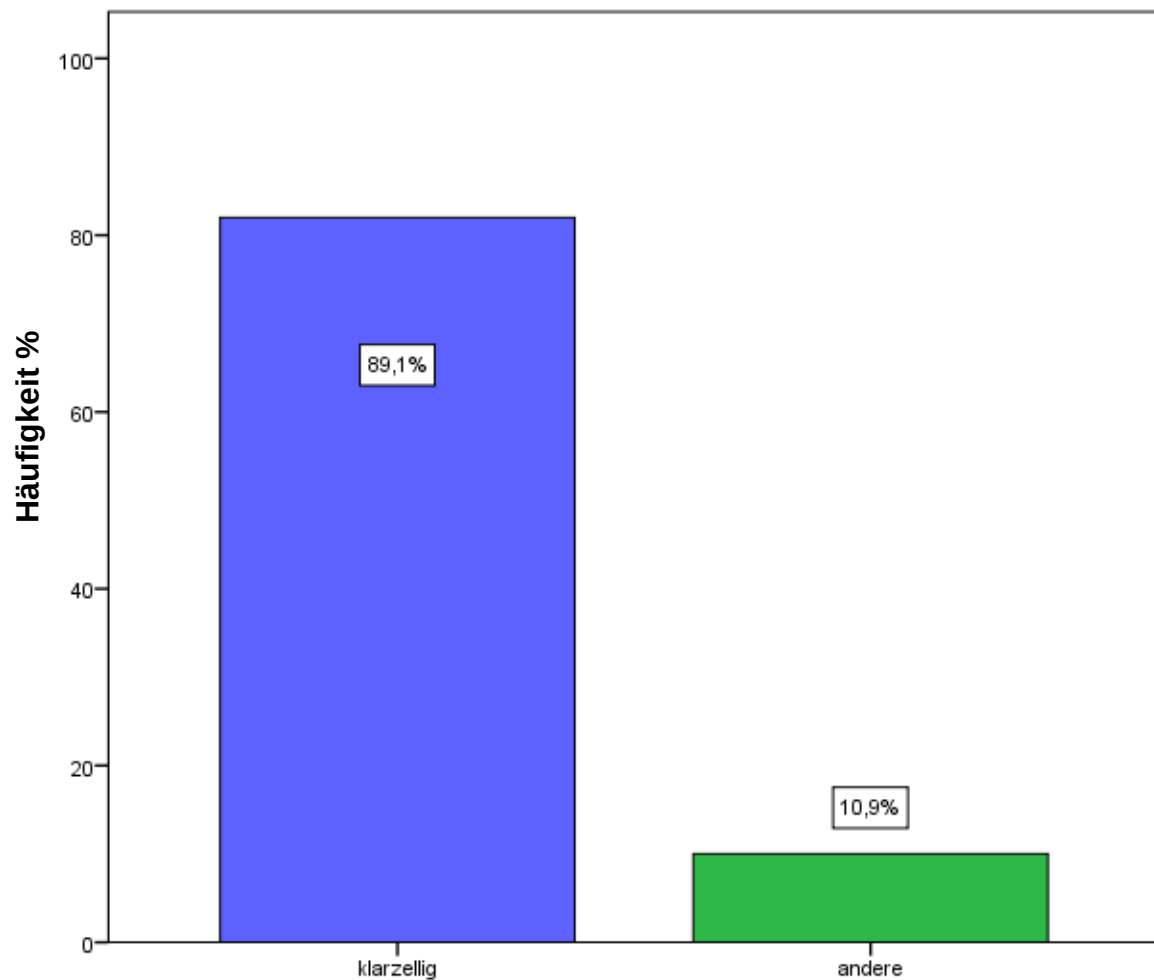


Abbildung 12: Verteilung der histologischen Subtypen

#### 4.3 Kreuztabellen / Signifikanz Berechnung nach dem Exakten Test nach Fischer

In diesem Abschnitt folgt eine Aufreihung der 4-Felder-Tafeln bezüglich der pathologischen Faktoren (Geschlecht, TNM, Grading, Tumorgröße in Zentimeter, Alter bei Operation und Histologischer Subtyp) im Vergleich mit der Expression der einzelnen immunhistochemischen Markern. Zur besseren Übersicht erfolgt initial eine Auflistung der signifikanten Ergebnisse und der Ergebnissen mit einem Trend. Die weiteren Kreuztabellen sind im Anhang aufgelistet.

Das Abweichen der einzelnen Gesamtzahl der einbezogenen Kohorte resultiert aus nicht sicher auswertbaren histologischen Schnitten.

Eine Berechnung der einzelnen P-Werte erfolgte durch den Exakten Test nach Fischer. Die Signifikanten P- Werte werden abschließend zur Übersicht tabellarisch zusammengefasst.

**Tabelle 13: p53 dichotomisiert nach Median (10) vs.Grading**

|                                        |         | Grading |    |    |        |
|----------------------------------------|---------|---------|----|----|--------|
|                                        |         | 1       | 2  | 3  | Gesamt |
| p53 dichotomisiert nach<br>Median (10) | 0-10%   | 10      | 30 | 7  | 47     |
|                                        | 10-100% | 0       | 28 | 14 | 42     |
|                                        | Gesamt  | 10      | 58 | 21 | 89     |

Hier zeigte sich eine deutliche Signifikanz zwischen dem Grading und der Expression von P53. ( $p=0,001$ ). Eine erhöhte p53 Expression ging mit einem erhöhten Grading-Stadium einher.

**Tabelle 14: Survivin dichotomisiert nach Median (0) vs. Grading**

|                                            |        | Grading |    |    |        |
|--------------------------------------------|--------|---------|----|----|--------|
|                                            |        | 1       | 2  | 3  | Gesamt |
| Survivin dichotomisiert nach<br>Median (0) | 0%     | 9       | 36 | 8  | 53     |
|                                            | >0%    | 1       | 23 | 13 | 37     |
|                                            | Gesamt | 10      | 59 | 21 | 90     |

Bei der Korrelation von Survivin- Expression und dem Grading zeigte sich eine deutliche Signifikanz ( $p=0,020$ ). Eine erhöhte Survivin Expression ging mit einem erhöhten Grading-Stadium einher.

## Ergebnisse

**Tabelle 15: bcl2 dichotomisiert nach Median (0) vs. M0/Mx;M1**

|                                     |                  | M0/Mx vs M1 |    |        |
|-------------------------------------|------------------|-------------|----|--------|
|                                     |                  | M0/Mx       | M1 | Gesamt |
| bcl2 dichotomisiert nach Median (0) | negative Färbung | 56          | 11 | 67     |
|                                     | Postive Färbung  | 22          | 0  | 22     |
|                                     | Gesamt           | 78          | 11 | 89     |

Hier erreichten wir in dem Exakt Test nach Fischer einen P-Wert von 0,059. Es ist ein Trend erkennbar. Ein Auftreten von Metastasen ging mit einer erhöhten Expression von Bcl-2 einher.

**Tabelle 16: MDR Färbeintensität vs.M0/Mx; M1**

|                     |        | M0/Mx vs M1 |    |        |
|---------------------|--------|-------------|----|--------|
|                     |        | M0/Mx       | M1 | Gesamt |
| MDR Färbeintensität | 0      | 15          | 2  | 17     |
|                     | 1      | 28          | 8  | 36     |
|                     | 2      | 29          | 1  | 30     |
|                     | Gesamt | 72          | 11 | 83     |

Beim Metastasenstatus erfolgte eine Dichotomisierung nach M0/Mx gegenüber M1. Hierbei konnte mit einem P-Wert von 0,070 ein Trend dargestellt werden. MDR-1 in der Färbeintensität tritt vermehrt bei Patienten mit dem Stadium M0/Mx auf.

Bei zwei Markern zeigte sich eine Korrelation zwischen klinischen Faktoren und Marker- Expression. Zum einem zwischen der Survivin Expression und dem Grading Status, hier zeigte sich ein P-Wert von 0,02. Zum anderen zeigte sich ein Korrelation zwischen der P 53 Expression und dem Grading-Status mit einem P-Wert von 0,001.

Zusätzlich konnten wir zweimal einen Trend erkennen. Bei der Korrelation zwischen MDR/Färbeintensität und Bcl-2 in Zusammenhang mit dem Metastasenstatus. Hier verfehlten wir nur knapp das Signifikanzniveau.

## Ergebnisse

Tabelle 17: Überblick der signifikanten und Trend- P-Werte:

| Marker                 | P-Wert | Signifikant | Trend |
|------------------------|--------|-------------|-------|
| Survivin               | 0,020  | Ja          | Nein  |
| P 53                   | 0,001  | Ja          | Nein  |
| Bcl- 2                 | 0,059  | Nein        | Ja    |
| MDR-1/ Färbeintensität | 0,070  | Nein        | Ja    |

#### 4.4 Kaplan-Meier-Kurve vs TNM/Grading/Op-Alter/Histo/Tumorggr.

In diesem Abschnitt folgt die Darstellung der Korrelation von klinischen/pathologischen Faktoren und dem Überleben der Patienten. Es erfolgte die Darstellung mit Hilfe von Kaplan-Meier-Kurven. Die einzelnen P-Werte werden nach dem Log-rank-Test bestimmt.

Am Ende dieses Abschnittes schliesst sich eine tabellarische Übersicht an.

##### 4.4.1 Überlebenszeiten/ Kaplan-Meier-Kurven abhängig von T-Stadium

Zwischen einem T3a und T3b Stadium zeigte sich in unserer Kohorte kein Unterschied hinsichtlich der Prognose. Nach dem log-rank –Test zeigte sich hier keine Signifikanz,  $p=0,968$ .

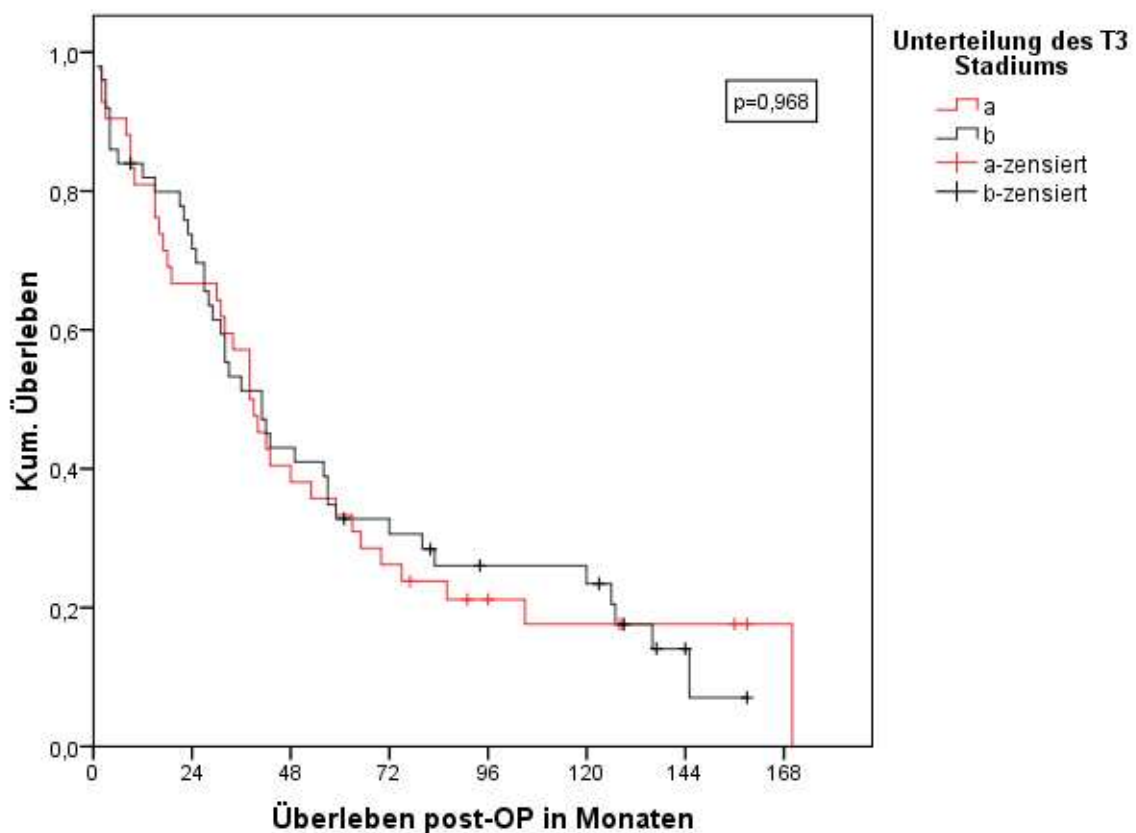


Abbildung 13: Kaplan-Meier-Kurve in Abhängigkeit vom T-Stadium

#### 4.4.2 Überlebenszeit/Kaplan-Meier-Kurve abhängig vom M-Stadium

Wie zu erwarten erzielten wir beim Vergleich von M0 zu Mx/>M0 in der Kaplan- Meier- Kurve eine Signifikanz von  $p=0,016$ . Das Auftreten von Metastasen führt zu einer deutlichen Reduktion der Überlebenszeit, daher erscheint die von uns vorgenommene Dichotomisierung von M0 gegenüber Mx/>M0 als am aussagekräftigsten.

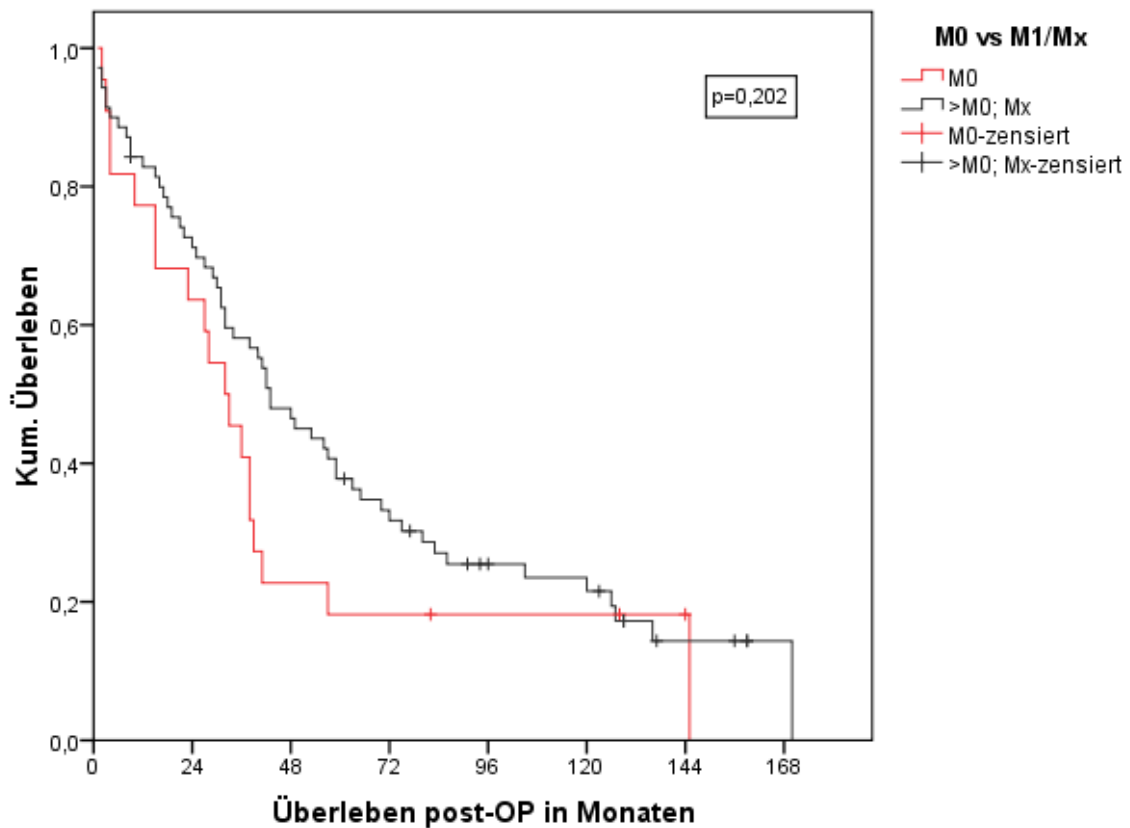


Abbildung 14: Kaplan- Meier – Kurve in Abhängigkeit vom Metastasestadium

#### 4.4.3 Überlebenszeit/Kaplan-Meier-Kurve abhängig vom N-Stadium

Für die Berechnung des tumorspezifischen Überlebens in Abhängigkeit der lymphogenen Metastasierung wurde das Stadium N0 mit den Stadien Nx,>N0 verglichen. Die vorgenommene Dichotomisierung erscheint hier sinnvoll, da das Auftreten von Lymphknotenbesiedlung mit einer deutlichen Verschlechterung der allgemeinen Prognose einhergeht.

Im log-rang-Test, zeigte sich ein P-Wert von  $P = 0,914$ .

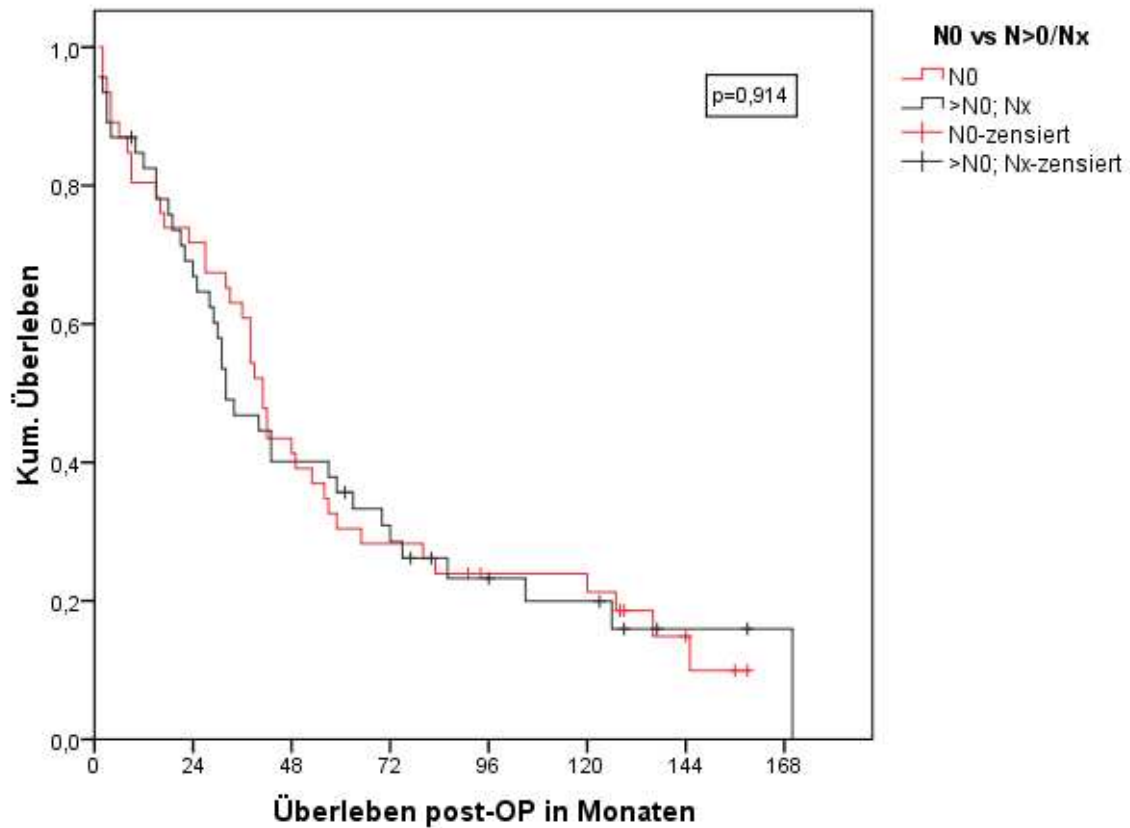


Abbildung 15: Kaplan- Meier – Kurve in Abhängigkeit vom Nodalstadium

#### 4.4.4 Kaplan-Meier-Kurven abhängig vom Grading

Für das Überleben im Hinblick auf das Grading zeigte sich nach dem log-rank-Test ein p-Wert von 0,020. Somit zeigte sich hier eine signifikante Korrelation zwischen dem Grading und dem Überleben von Patienten mit Nierenzellkarzinom.

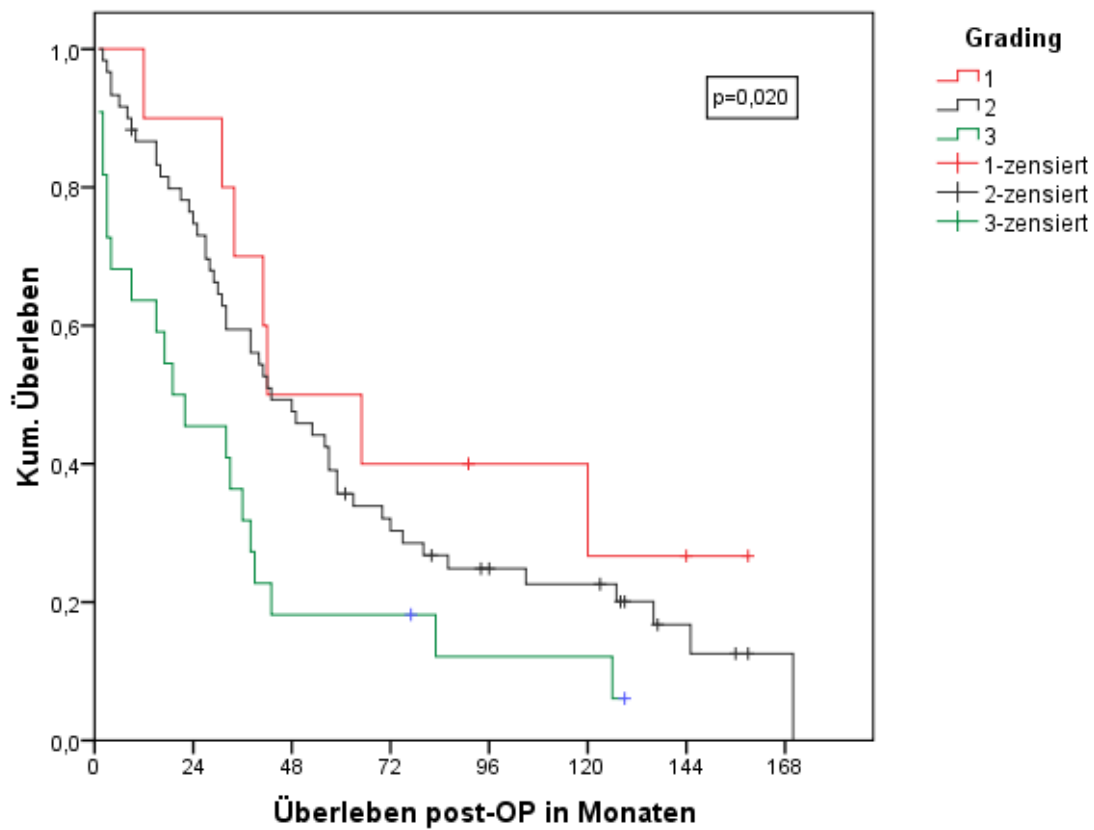


Abbildung 16: Kaplan- Meier – Kurve in Abhängigkeit vom Grading

#### 4.4.5 Kaplan-Meier-Kurve abhängig von Tumorgröße/ Dichotomisiert nach Median (8cm)

Es erfolgte eine Dichotomisierung nach Median, der bei 8 cm lag. Hierbei ergab sich nach dem Log-rank-Test ein  $p = 0,568$ .

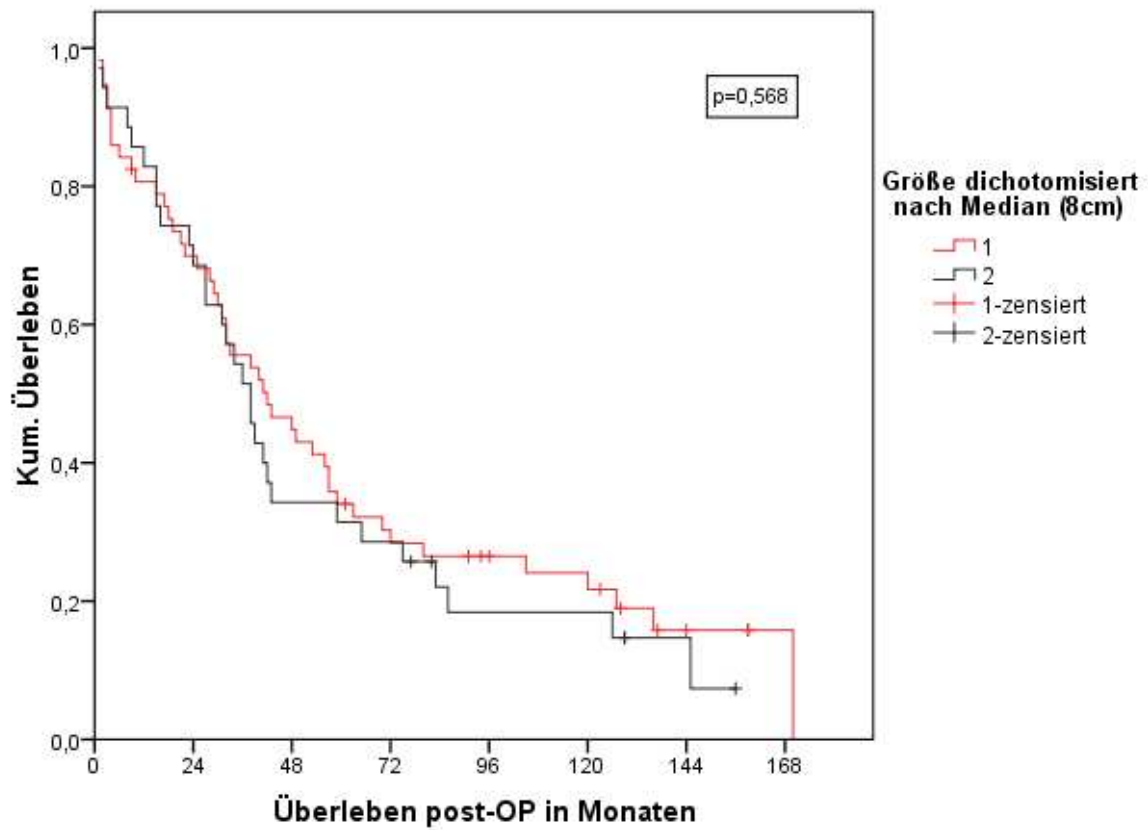


Abbildung 17: Kaplan-Meier-Kurve in Abhängigkeit von Tumorgröße

#### 4.4.6 Kaplan-Meier-Kurven abhängig vom histologischen Typ

Die Kohorte wurde auch hier zur Erstellung einer Kaplan-Meier-Kurve dichotomisiert. Wir unterteilten die Patienten in die Gruppe der Klarzelligen Nierenzellkarzinom und einer Zusammenfassung anderer Subtypen zusammen. Mit einem P-Wert von 0,221 verfehlten wir das Signifikanz- Niveau.

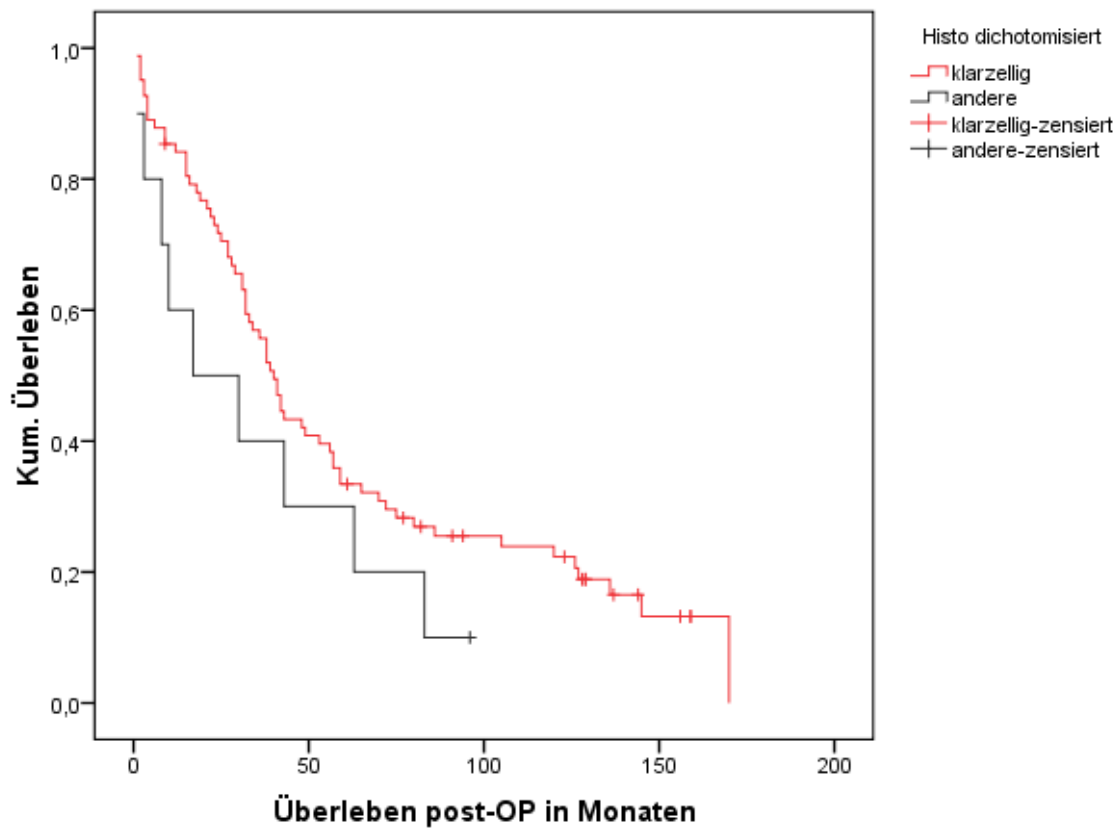


Abbildung 18: Kaplan-Meier-Kurve in Abhängigkeit vom histologischen Subtyp.

#### 4.4.7 Überlebenszeiten/ Kaplan-Meier-Kurven abhängig vom Alter bei OP

Bezüglich des Alters erfolgte eine Dichotomisierung nach dem Median. Der Median lag bei 66 Jahren. Auch hier konnten wir mit einem P- Wert von 0,564 keinen Zusammenhang von Alter bei Operation und Überleben herstellen.

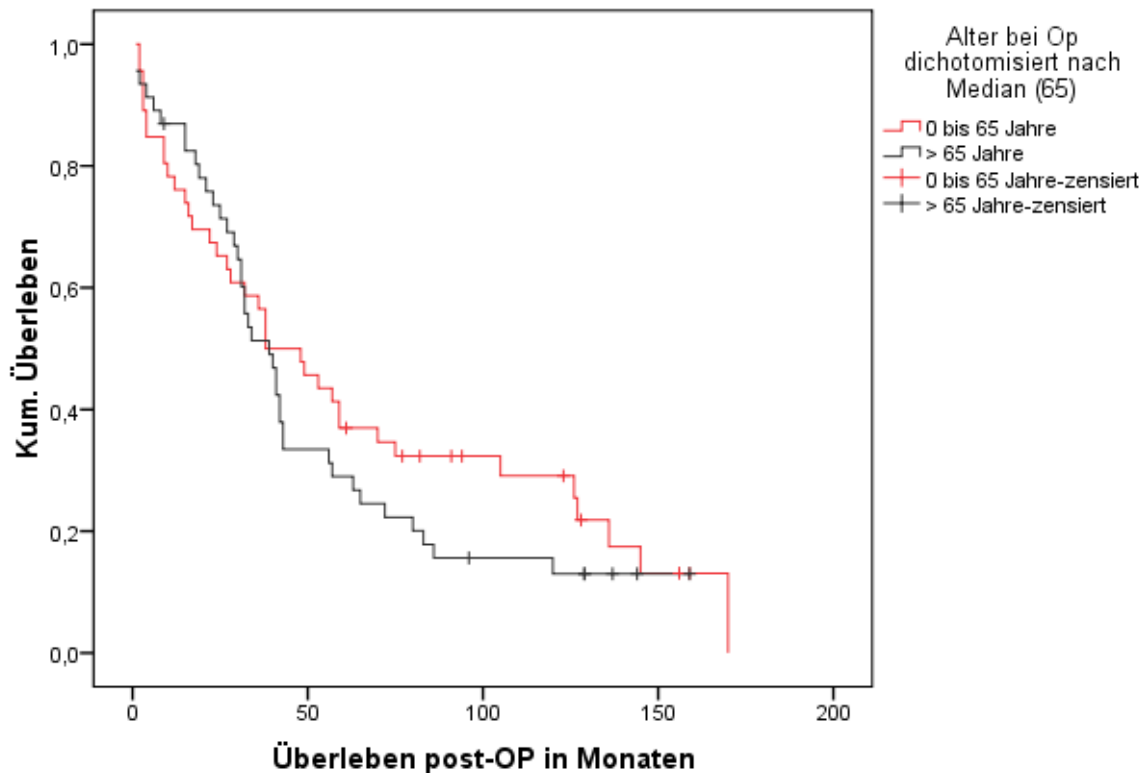


Abbildung 19: Kaplan-Meier-Kurve in abhängigigkeit vom Alter bei OP

Zusammenfassend:

In der Auswertung der Korrelation vom Überleben von Patientin mit Nierenzellkarzinom und klinisch-pathologischen Faktoren, zeigte sich in unserer Studie eine Signifikanz im Hinblick auf das Auftreten von Metastasen und einer Reduktion des Überlebens ( $p=0,016$ ). Hierbei erfolgte eine Dichotomisierung der Gruppen in M0 gegenüber Mx und größer M0.

Zusätzlich konnte eine Signifikanz zwischen dem Überleben und der Höhe des Grading-Stadium hergestellt werden ( $p=0,020$ ).

### 4.5 Überlebenszeiten/ Kaplan-Meier-Kurven vs. Tumormarker

Die Überlebenszeiten wurden mit der Kaplan-Meier-Methode berechnet. Der Vergleich der Faktoren erfolgte im Log-rank- Test.

In diesem Abschnitt folgt eine Auflistung der einzelnen Kaplan-Meier Kurven für die Tumormarker.

Am Ende schließt sich eine Übersicht über die signifikanten Ergebnisse an.

#### 4.6.1 Bcl-2

Für den Marker Bcl-2 erfolgte die Dichotomisierung nach dem Median.

Der Median lag bei 0 %. Dies bedeutet eine Unterteilung in eine Gruppe von nicht angefärbten (negativ) und einen andere Gruppe von angefärbten (positive) Zellen.

Es zeigte sich eine Verlängerung des Überlebens bei nicht Vorhandensein einer positiven Färbung durch Bcl-2.

Es ergab sich für diese Einteilung eine hohe Signifikanz nach dem Log-rank-Test von  $P=0,00$ .

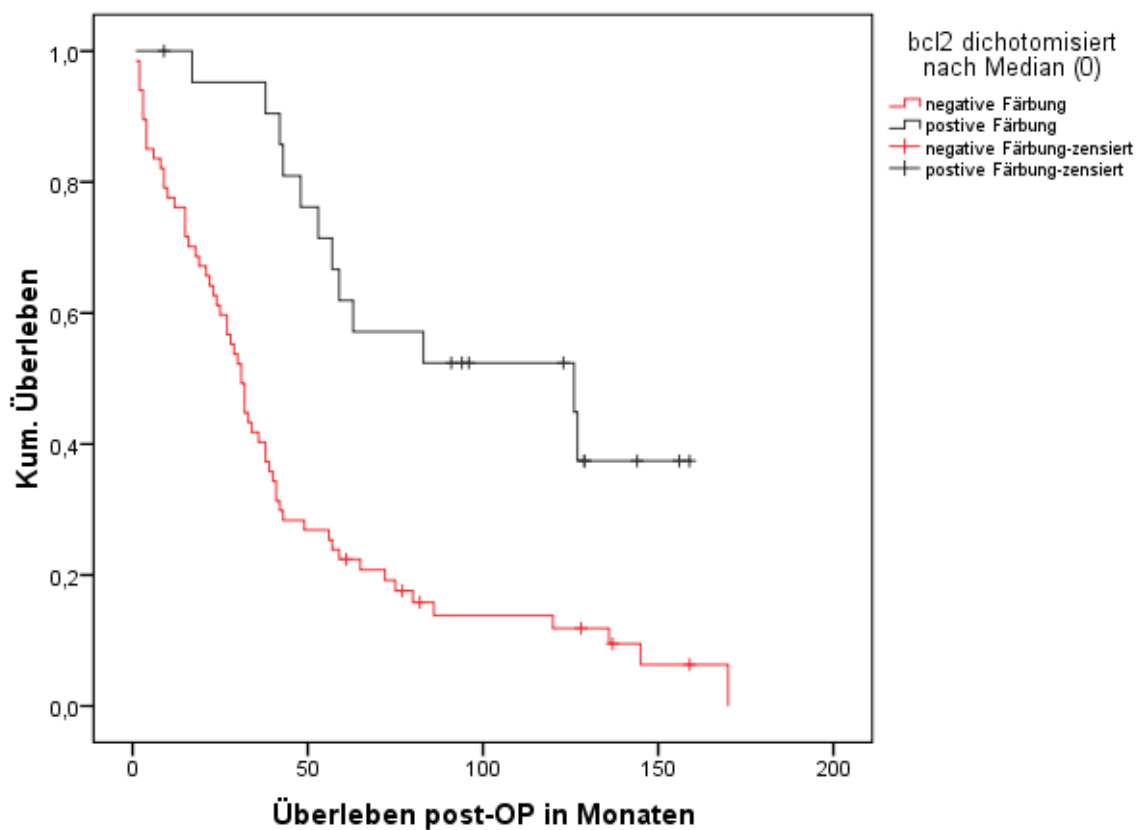


Abbildung 20: Kaplan-Meier-Kurve in Abhängigkeit von der Bcl-2- Expression

### 4.6.2 MDR-1

Aufgrund der Auszählmodalität ergaben sich für MDR-1 drei unabhängige Kaplan- Meier- Kurven.

Für die Auswertung der Daten der Membranfärbung von MDR-1, erfolgte eine Dichotomisierung nach Median. Der Median lag hier bei 20 %.

Eine positive Expression von über 20 % der Zellmembranen eines histologisch Schnittes, führte zu einer Reduktion des Gesamtüberlebens nach Kaplan-Meier.

Bei der Auswertung von mit MDR-1 angefärbten Zellmembranen in Prozent zeigt sich im Log- Rank- Test ein P-Wert von hoher Signifikanz  $p = 0,01$ .

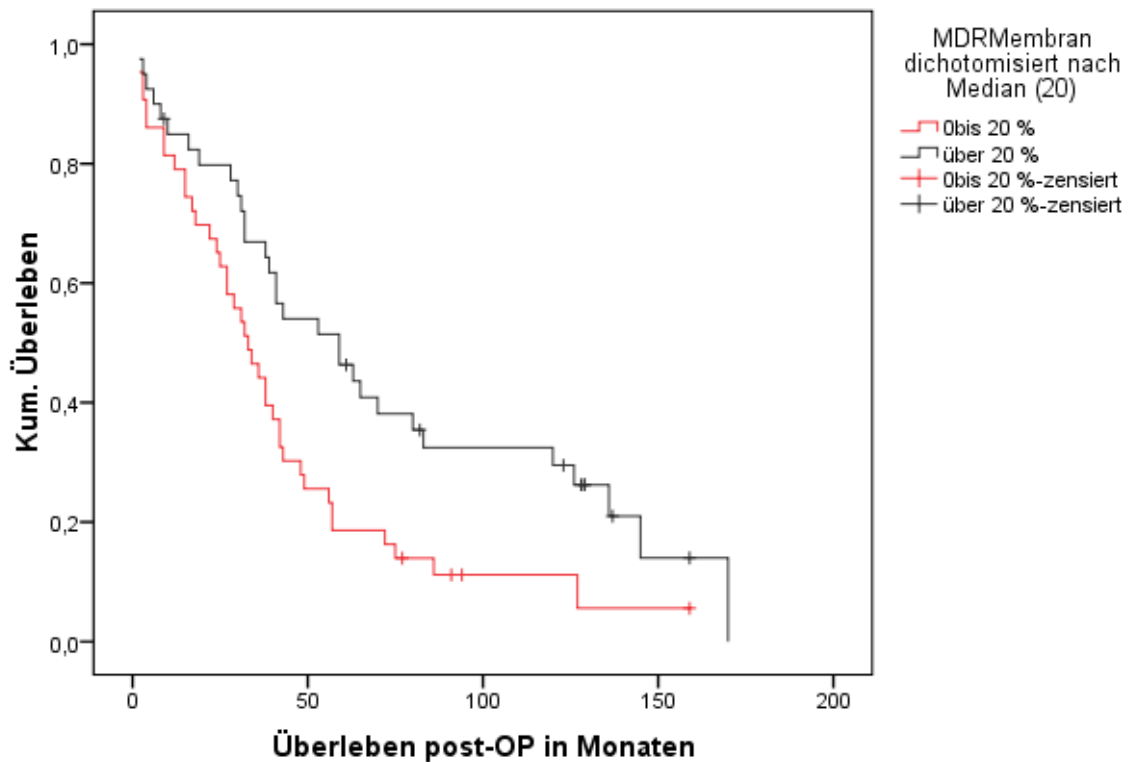


Abbildung 21: Kaplan-Meier-Kurven in Abhängig von MDR-1 als Membranfärbung

## Ergebnisse

Es erfolgt eine weitere Kaplan-Meier-Kurve, welche die Korrelation von Überleben und der MDR-1 Färbintensität darstellt. Aufgrund der Auszählprozedur zeigen sich hier drei Kurven. Wir erreichten hier einen P-Wert nach dem Log- Rang Test von  $P = 0,389$ .

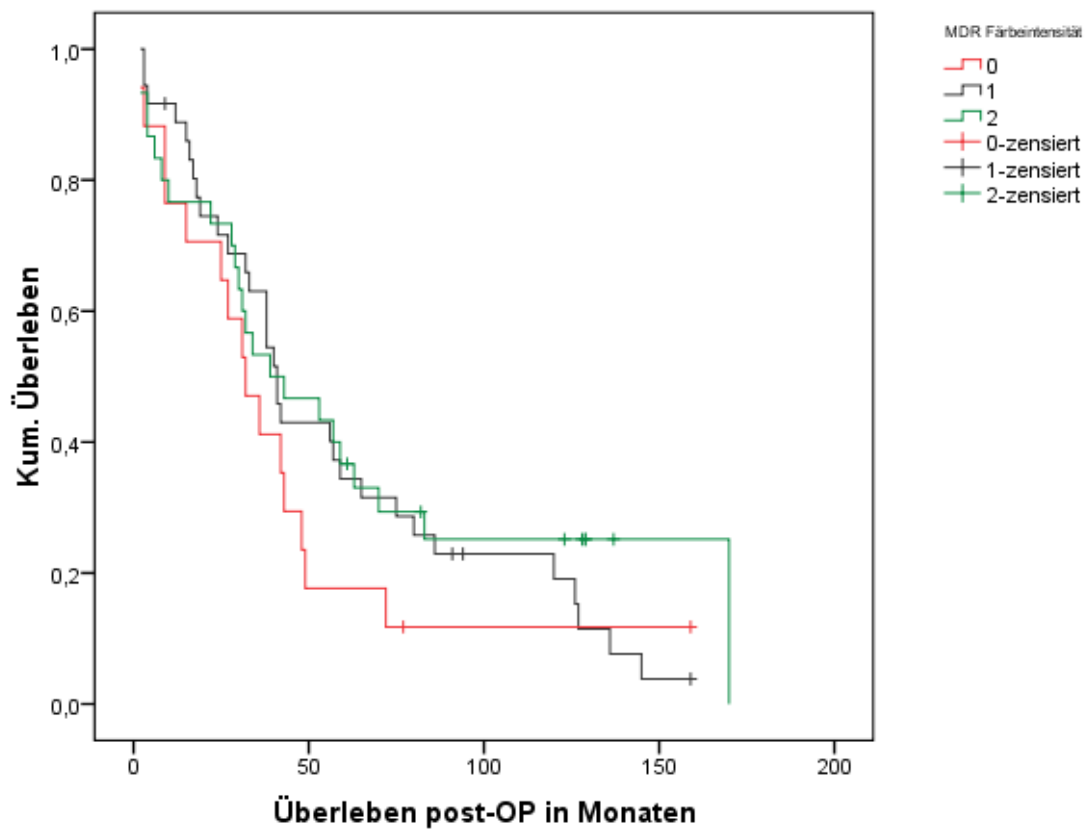


Abbildung 22: Kaplan-Meier-Kurve in Abhängigkeit von der MDR 1 –Färbintensität

## Ergebnisse

Gegenüber der Zytoplasmafärbung von MDR-1 erstellten wir eine Kaplan–Meier-Kurve. Hier zeigte sich mit einem P-Wert von  $P = 0,151$  kein signifikanter Hinweis zwischen der Korrelation der Zytoplasmafärbung und dem Überleben von Patienten mit Nierenzellkarzinom.

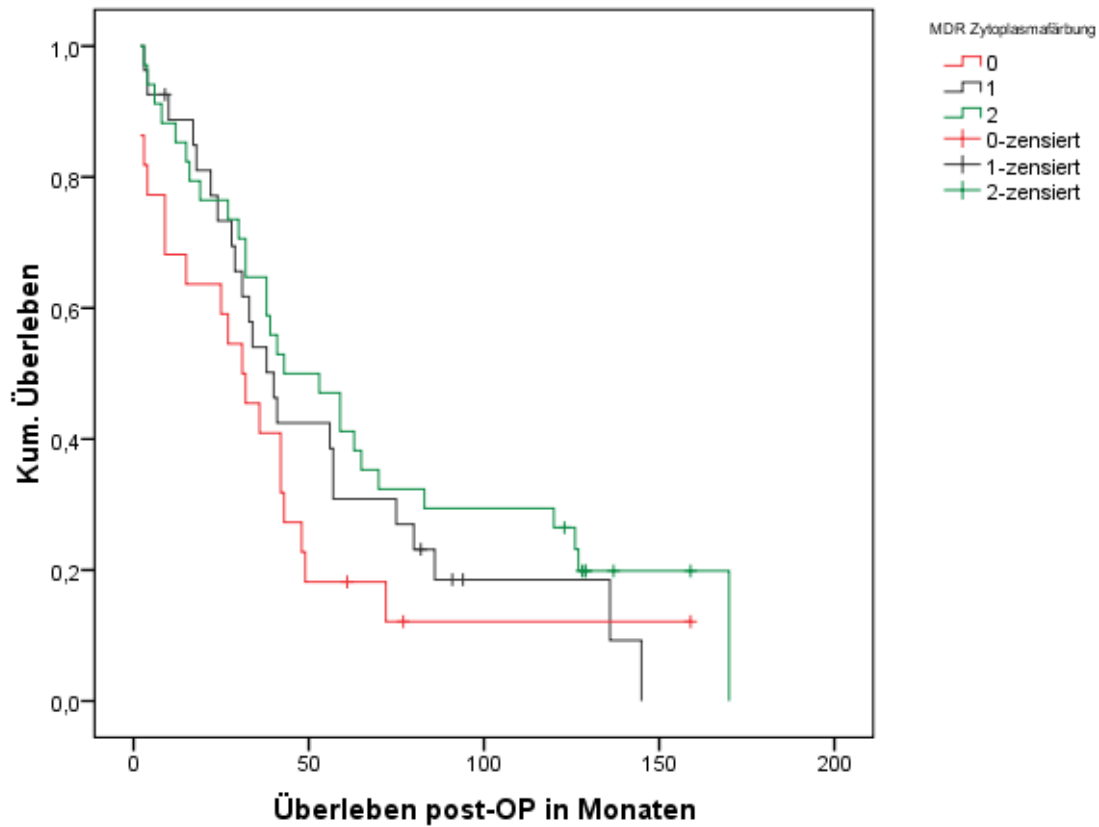


Abbildung 23: Kaplan-Meier-Kurve in Abhängigkeit von MDR-1 Zytoplasmafärbung

## Ergebnisse

### 4.6.3 Survivin

Zur Erstellung einer Kaplan- Meier – Kurve für Survivin erfolgte die Dichotomisierung nach Median. Der Median lag bei 0 %. Es erfolgte somit die Einteilung in einer Gruppe mit positiver Survivin Expression und in eine Gruppe mit negativer Survivin Expression. Mit einem P-Wert von  $P = 0,947$ , verfehlten wir deutlich das Signifikanz- Niveau. Somit konnte keine Korrelation zwischen einer Survivin Expression und dem Überleben hergestellt werden.

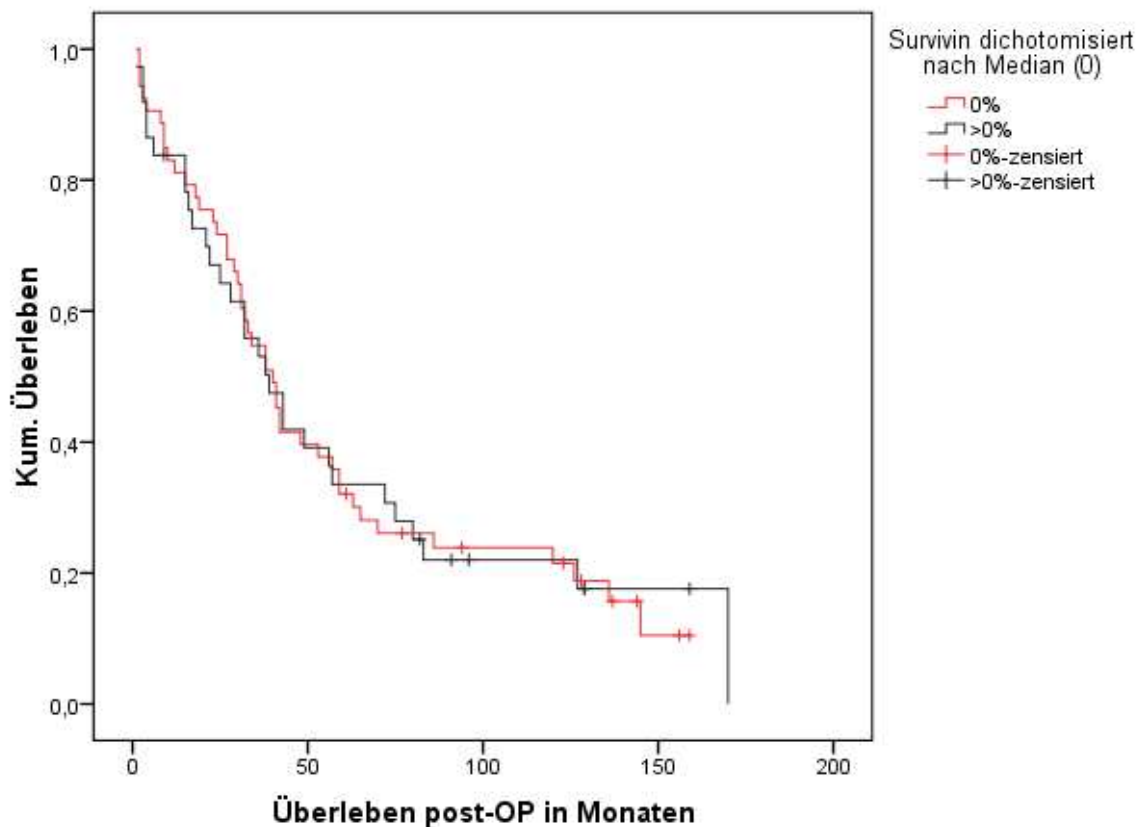


Abbildung 24: Kaplan-Meier –Kurve in Abhängigkeit von der Survivin Expression

#### 4.6.4 P53

Zur Erstellung einer Kaplan- Meier- Kurve für P53 als Kernfärbung erfolgte auch hier eine Dichotomisierung nach Median. Der Median lag hier bei 10 %. Der Log- Rank-Test zeigte eine Signifikanz von  $p = 0,329$ . somit zeigte sich kein Trend oder eine Signifikanz bei der Korrelation zwischen P53 als Kernfärbung und dem Überleben.

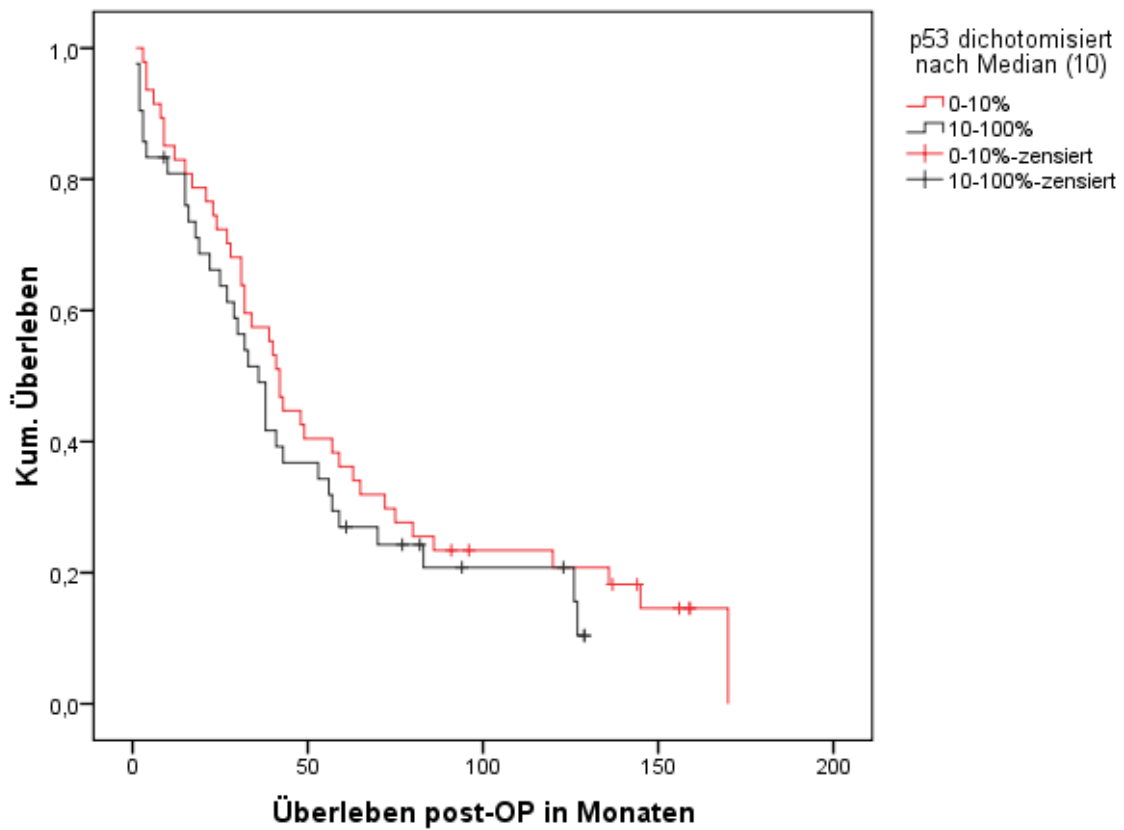


Abbildung 25: Kaplan-Meier-Kurve in Abhängigkeit von der P 53 Expression

## Ergebnisse

Zwischen dem Überleben und der Expression von P53 als zytoplasmatische Färbung konnten wir keine signifikante Korrelation darstellen. Im Log-rank-Test zeigte sich ein P-Wert von  $P = 0,881$ .

Somit besteht hier keine Korrelation von P53 Expression und dem Überleben.

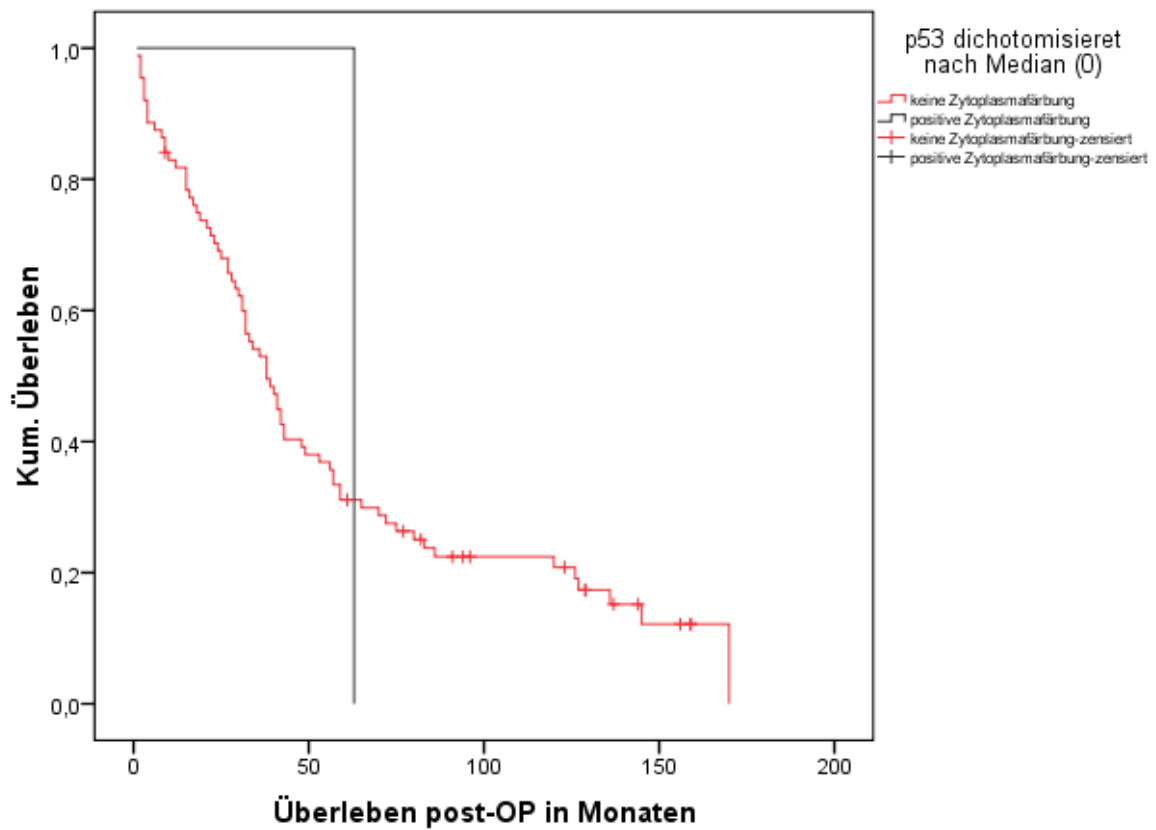


Abbildung 26: Kaplan-Meier-Kurve in Abhängigkeit von P53 Zytoplasmafärbung

## Ergebnisse

### 4.6.5 Pax-2

Zur Darstellung der Kaplan- Meier- Kurve für PAX-2 Kernfärbung erfolgte ebenfalls eine Unterteilung der Ergebnisse. Die Dichotomisierung erfolgte nach dem Median.

Der Median lag bei 10 %. Im Log- Rang- Test zeigte sich eine Signifikanz von  $p = 0,49$ .

Wir konnten hier keine Korrelation zwischen der PAX-2 Expression und dem Überleben herstellen.

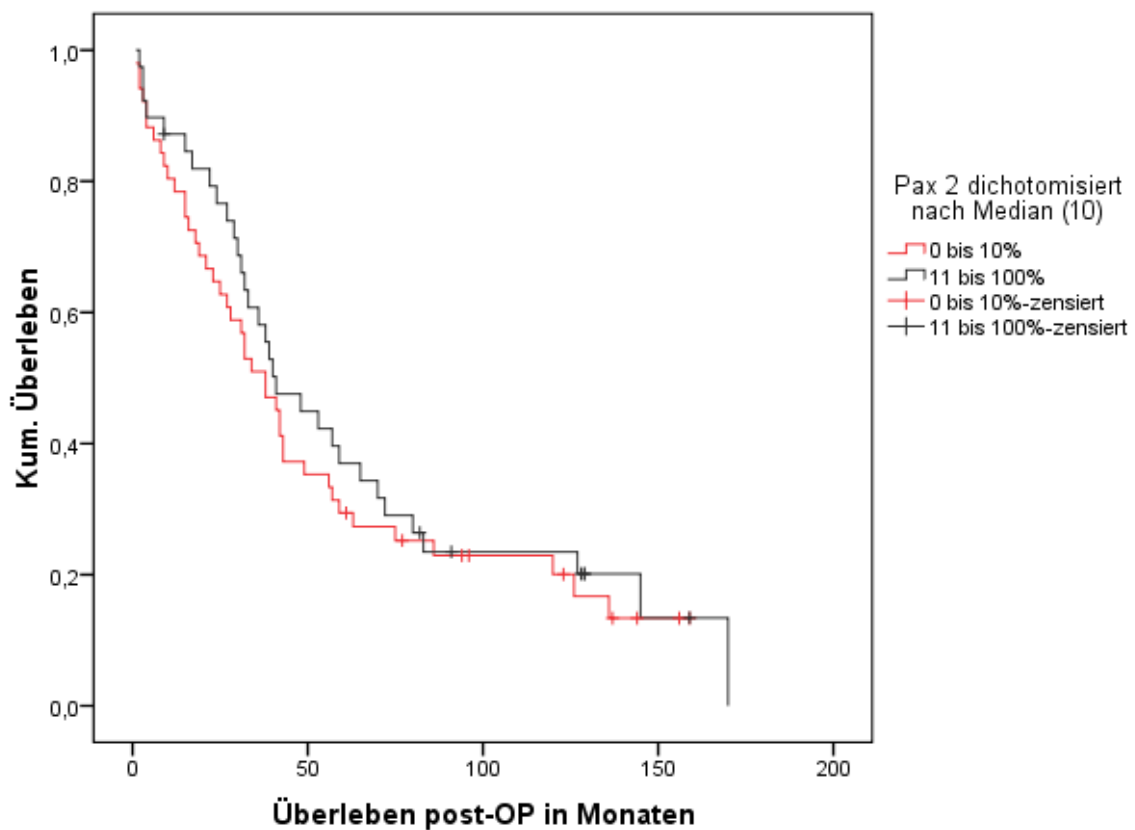


Abbildung 27: Kaplan-Meier-Kurve in Abhängigkeit von der PAX-2 Expression

Tabelle 18: Darstellung der einzelnen P-Werte:

| Marker             | P-Wert | Signifikant |
|--------------------|--------|-------------|
| Bcl-2              | 0,000  | Ja          |
| MDR-1 (Intensität) | 0,389  | Nein        |
| MDR-1 (Membran)    | 0,017  | Ja          |
| MDR-1 (Zytoplasma) | 0,151  | Nein        |
| Survivin           | 0,947  | Nein        |
| P53 (Kern)         | 0,329  | Nein        |
| P53 (Zytoplasma)   | 0,881  | Nein        |
| PAX-2              | 0,947  | Nein        |

### **5. Diskussion:**

#### **5.1 Allgemeine Diskussion**

Aufgrund der steigenden epidemiologischen Bedeutung des Nierenzellkarzinoms wird der Bedarf an Prognosefaktoren zur individuellen Prognoseeinschätzung klar. Ein Anstieg der Inzidenz des Nierenzellkarzinoms in den letzten 20 Jahren ist überwiegend auf die Ausweitung der Ultraschalldiagnostik zurückzuführen. Durch die frühe Diagnostik resultiert ein vermehrtes Auftreten von kleinen, gut lokalisierbaren und asymptomatischen Tumoren.

Viele aktuelle Studien beschäftigen sich mit der möglichen diagnostischen und prognostischen Aussagekraft von molekularen Markern beim Nierenzellkarzinom (Eichelberg, Junker et al. 2009).

So war das Ziel dieser Arbeit, aufgrund der immer noch eingeschränkten therapeutischen Möglichkeiten bei der Behandlung des metastasierten Nierenzellkarzinoms und der raschen Progredienz der Erkrankung im hohen T-Stadium, das Etablieren von immunhistochemischen prognostischen Markern neben den bereits bekannten prognostischen Parametern beim Nierenzellkarzinom der Klasse T3 a und b.

Es gibt derzeit die etablierten Prognoseparameter wie das Tumorstadium nach der TNM-Klassifikation und das histopathologische Tumorgrading (Tsui, Shvarts et al. 2000).

Zusätzlich gibt es klinische Faktoren wie Alter, Allgemeinzustand des Patienten und das Vorhandensein von Symptomen oder paraneoplastischen Syndromen bei Erstdiagnose, welche die Prognose bei Patienten mit Nierenzellkarzinom beeinflussen können (Mejean, Oudard et al. 2003). Für den Einsatz von Prognosefaktoren im klinischen Alltag gibt es mehrere Studien die sich mit Prognose-Scores auseinander setzten. So entwickelte Motzer einen Score für die Prognose des metastasierten Nierenzellkarzinoms (Motzer, Mazumdar et al. 1999). Dieser Score setzt sich aus der Höhe des Karnofsky Index (ggf. ECOG), der Höhe der LDH, der Höhe des Hb-Wertes, der Höhe des Serum Kalzium und der Zeit von einer Tumornephrektomie zur möglichen Metastasenentstehung, zusammen. Dabei gliedert sich das Score –System von Faktor 0 für low, über Faktor 1-2 für intermediär bis größer, gleich Faktor 3 für hoch.

Im ersten Teil der Diskussion erfolgt die Auswertung der klinisch-pathologischen Faktoren (Epidemiologie, TNM-Stadium, Grading, histologischer Subtyp, Tumorgröße) und ihre Auswirkung im Hinblick auf das Gesamtüberleben. In einem zweiten Teil erfolgt die Auswertung der in unserer Studie eingesetzten immunhistochemischen Markern in Hinblick auf das Gesamtüberleben und ein Betrachten möglicher Korrelationen von klinisch/pathologischen Faktoren mit einer Markerexpression. Letztendlich schließen sich Gedanken zur Limitation und Stärken dieser Arbeit am Ende der Diskussion an.

##### **5.1.1 Epidemiologische Angaben**

Bei der Auswertung der deskriptiven Statistik zeigte sich, dass das Durchschnittsalter der Patienten zum Zeitpunkt des operativen Eingriffes bei 64,8 Jahren lag. Der jüngste Patient war 34 Jahre, der älteste Patient 87 Jahre. Diese Daten entsprechen in etwa den Daten in der aktuellen Literatur. So

## Diskussion

liegt das aktuelle Durchschnittsalter laut der Deutschen Krebsgesellschaft bei Diagnosestellung zwischen 65 und 70 Jahren (Krebsgesellschaft 2011).

Im Hinblick auf das Geschlechterverhältnis, zeigte sich in unserer Kohorte eine Verteilung ähnlich dem der Literatur. In unserer Studie waren 63 der Patienten männlichen und 29 der Patienten weiblichen Geschlechts. Das entspricht in Prozent einem Verhältnis von 68,8% Männer und 31,2% Frauen. Eine große Studie zeigte für das Geschlechterverhältnis von Patienten mit Nierenzellkarzinom, 75,6 % für das männliche Geschlecht und 24,5 % für das weibliche Geschlecht (Atzpodi, Kirchner et al. 2001). Ursächlich für die unterschiedliche Geschlechterverteilung könnten die allgemeinen Lebensumstände sein mit den verbundenen Risikofaktoren (Fettleibigkeit, Rauchen, Arbeitsstoffe).

### 5.1.2 T-Stadium

Das pathologische Tumorstadium ist unbestritten ein wichtiger prognostische Marker beim Nierenzellkarzinom (Delahunt 1998), (Rini and Vogelzang 2000).

Vergleicht man die prognostische Aussage von T3a gegenüber T3b so zeigt sich in der aktuellen Literatur eine divergierende Meinung.

In vielen Studien zeigte sich, dass ein T3a Stadium gegenüber ein T3b Stadium keine Auswirkung auf eine Verlängerung oder Verkürzung des Überlebens bei Patienten mit Nierenzellkarzinom hat (Kim, Zisman et al. 2004), (Staehler and Brkovic 2000), (Klatte, Pantuck et al. 2007), (Storkel, Thoenes et al. 2004).

In anderen Studien konnte eine Verlängerung der Überlebenszeit bei Patienten mit T3a-Stadium gegenüber T3b- Stadium dargestellt werden (Moinzadeh and Libertino 2004), (Wagner, Patard et al. 2009), (Gettman, Boelter et al. 2003), (Klaver, Joniau et al. 2008).

In unserer Studie waren 42 Tumore (45,7 %) eines Nierenzellkarzinoms des Stadiums der Klasse T3a und 50 Tumore (53,8 %) eines Nierenzellkarzinoms des Stadiums der Klasse T3b. Es zeigte sich in der Kaplan-Meier-Kurve kein Hinweis auf eine Abweichung der Überlebenszeiten beider T-Stadien voneinander. Im Log-Rank-Test erreichten wir keine Signifikanz ( $p=0,968$ ).

Das Stadium T3 weist häufiger bei Diagnosestellung schon eine Fernmetastasierung auf. Dieses könnte die ähnliche Lebenserwartung beider T-Stadien (T3a und T3b) erklären.

In Hinblick auf eine Korrelation von Marker- Expression und dem T-Stadium erreichten wir für keinen der Marker einen signifikanten Wert.

### 5.1.3 Lymphknoten –Status, pN-Stadium

Der Status der Lymphknoteninfiltration ist ein etablierter unabhängiger Prognosemarker beim Nierenzellkarzinom (Delahunt, Kittelson et al. 2002), (Masuda, Kurita et al. 1998), (Inoue, Hashimura et al. 2000). In diesen Studien zeigte sich, dass ein Auftreten von Lymphknotenbefall bei einem Nierenzellkarzinom mit einer Reduktion des Überlebens einher geht.

## Diskussion

Von den 92 Patienten in unserer Studie hatten 46 Patienten (50 %) kein Hinweis auf eine Lymphknoten Besiedlung, somit ein Stadium N0. Bei 15 (16,3 %) Patienten zeigte sich ein N-Stadium größer N0. Somit liegt die Anzahl von Patienten mit regionalen Lymphknoten Metastasen im Bereich von dem in der Literatur beschriebenen 6%-32% (Blom, van Poppel et al. 1999), (Allan, Tolley et al. 2001). Bei 31 (33,7 %) der Patienten bestand ein Stadium Nx. Hier war ein Lymphknoten Beteiligung nicht sicher beurteilbar.

Im Bezug auf eine Korrelation von N-Stadium und Überleben dichotomisierten wir die Stadien nach N0/Nx gegenüber >N0. Wir bevorzugten diese Einteilung, weil das sichere Auftreten von Lymphknotenmetastasen mit einer deutlichen Lebenszeitverkürzung einhergeht.

Hierbei konnten wir im Gegensatz zur allgemeinen Literatur keine Korrelation zwischen dem Auftreten eines erhöhten N-Stadium und einer Verkürzung des Überlebens in der Kaplan-Meier-Kurve aufzeigen. Nach dem Log-rank-Test verfehlten wir eindeutig das Signifikanzniveau ( $p=0,791$ ).

Als mögliche Fehlerquellen kommen hier die Aufteilung der Patienten in N0/Nx gegenüber >N0 in Frage, sowie die Größe dieser Kohorte von Patienten mit Nx und somit eine nicht sichere Zugehörigkeit im Staging.

### 5.1.4 M-Stadium, pM-Stadium

Das Vorhanden sein von Metastasen ist ein unabhängiger prognostischer Parameter beim Nierenzellkarzinom. So zeigten sich in vielen großen Studien in der Vergangenheit eine Korrelation vom Auftreten von Metastasen und einer Verkürzung der Überlebenszeit (Motzer, Bacik et al. 2002), (Moch, Gasser et al. 2000), (Minervini, Minervini et al. 2000).

In unserer Studie waren 22 Patienten (23,9 %) ohne das Auftreten von Metastasen und 12 Patienten (13 %) mit sicheren Fernmetastasen zum Zeitpunkt des Stagings.

Eine Gruppe von 58 Patienten (63 %) konnte nicht sicher zugeordnet werden und wurde so in den Patientenakten als M-Stadium Mx bezeichnet.

In der Berechnung nach dem Log-rank-Test erfolgte eine Dichotomisierung der M-Stadien in M0/Mx gegenüber M1. Diese Einteilung des M0/Mx- Stadium erscheint als sinnvoll, da ein Auftreten von Metastasen die Prognose deutlich verschlechtert. Wie in den meisten großen Studien so zeigte sich auch bei uns eine Signifikanz zwischen der Korrelation von Überleben von Patienten mit einem Nierenzellkarzinom und dem Auftreten von Metastasen. Der Log-rank-Test ist signifikant ( $p=0,016$ ). Dieses Ergebnis stimmt mit der allgemeinen Auffassung der Literatur, dass es sich beim M-Stadium um einen unabhängigen prognostischen Parameter handelt, überein.

### 5.1.5 Grading

Hinsichtlich des Tumorgradings ist darauf hinzuweisen, dass zwei verschiedene Grading-Klassifikationen bestehen. Es gibt das im angloamerikanischen Raum eingesetzte Fuhrmann Grading und das in Deutschland überwiegend gebrauchte dreistufige nukleäre Grading in Anlehnung an die

## Diskussion

WHO. In unserer Arbeit wurden die Grading- Stadien aus den Patientenakten entnommen, wobei hier die Einteilung nach der allgemeinen WHO Grading-Klassifikation erfolgte.

Auch das Tumorgading ist ein unabhängiger Prognosefaktor beim Nierenzellkarzinom (Usabutun, Ayhan et al. 1998) (Frank, Blute et al. 2002), (Erdogan, Demirel et al. 2004).

Mit steigendem G-Stadium, also mit zunehmender Entdifferenzierung des Tumors sinkt die 5-Jahresüberlebenswahrscheinlichkeit von etwa 89% bei G1-Tumoren, etwa 65% bei G2- auf etwa 46% bei G3-Tumoren (Tsui, Shvarts et al. 2000).

Es zeigte sich in unserer Studie ein Auftreten von 10 Patienten mit dem G- Stadium 1, 60 Patienten mit dem Stadium G2 und 22 Patienten mit dem Stadium G3 nach der Einteilung der WHO-Klassifikation.

Eine Korrelation vom Grading- Stadium und dem Überleben der Patienten konnte auch in unserer Kohorte nachgewiesen werden. ( $G1 > G2 > G3$ ). Es zeigte sich, dass mit progredienter Zellanaplasie eine Reduktion des Gesamtüberlebens einhergeht.

Im Log-Rank-Test erreichten wir eine Signifikanz im P-Wert ( $p = 0,024$ ), somit bestätigt sich in unserer Studie die allgemeine Meinung der Literatur, dass es sich beim Grading um einen unabhängigen Prognosefaktor beim Nierenzellkarzinom handelt.

### 5.1.6 Histologischer Subtyp

Es gibt verschiedene histologische Subtypen des Nierenzellkarzinoms.

In unserer Studie zeigte sich bei 82 (89,1%) Patienten ein Nierenzellkarzinom vom klarzelligen Typ. Aufgrund der geringen Anzahl anderer Subtypen erfolgte eine Zusammenfassung als Nierenzellkarzinome anderen histologischen Subtyp, dieses entsprach einer Zahl von 10 Patienten (10,1%). Hierzu zählt das papilläre und chromophobe Nierenzellkarzinom.

Diese Häufigkeiten der einzelnen histologischen Subtypen stimmten überwiegend mit dem in der Literatur genannten Häufigkeiten überein. So zeigte es sich in einer Studie von Moch et al. Aus dem Jahre 2000 bei 558 Präparaten der Niere eine Verteilung von 83 % auf das klarzellige Nierenzellkarzinom (Moch, Gasser et al. 2000).

Auch in einer aktuelleren Studie von 2007 zeigte sich eine Verteilung von 63-88,7 % klarzelligen Nierenzellkarzinomen zum Verhältnis der anderen Subtypen. Die Unterteilung in die zwei häufigsten Subtypen, neben dem klarzelligen Nierenzellkarzinom: papilläre 7,3-18,5% und chromophobe 2,1-6,2 %. (Delahunt, Bethwaite et al. 2007). In mehreren Studien zeigte sich, dass das klarzellige Nierenzellkarzinom gegenüber dem papillären und chromophoben Nierenzellkarzinom mit einer schlechteren Prognose einhergeht (Patard, Leray et al. 2005), (Cheville, Lohse et al. 2003; Gudbjartsson, Hardarson et al. 2005).

Beim Vergleich des histologischen Subtyps mit dem Überleben der Patienten mit Nierenzellkarzinom in unserer Studie verfehlten wir im Log-rank-Test ( $p = 0,211$ ) das Signifikanzniveau. Dieses Ergebnis spiegelt nicht die allgemein Datenlage in der aktuellen Literatur wieder.

## Diskussion

Ein Grund für die Diskrepanz unserer Ergebnisse gegenüber der aktuellen Literatur könnte die geringe Fallzahl von Patienten mit anderen Tumoren als das klarzellige Nierenzellkarzinom in unserer Studie sein. Außerdem bleibt festzuhalten, dass eine Unterteilung des papillären Nierenzellkarzinom in einen Typ I und einem Typ II mit deutlich differierenden Überlebensprognosen in unserer Studie nicht berücksichtigt wurde (Delahunt, Eble et al. 2001).

Für eine Etablierung des histologischen Subtypes als prognostischen unabhängigen Marker werden in Zukunft weitere Studien notwendig sein. Sinnvoll ist hier ein Vergleich von ähnlichen Kohortengrößen der einzelnen Subtypen.

### 5.1.7 Tumorgröße

In vielen großen Studien zeigte sich, dass die Tumorgröße einen möglichen weiteren prognostischen Faktor beim Nierenzellkarzinom darstellt (Ficarra, Prayer-Galetti et al. 2004), (Ficarra, Novara et al. 2004), (Steiner, Knels et al. 2004), (Patard, Dorey et al. 2004).

Bis jetzt besteht jedoch noch keine Einigkeit beim Bestimmen der sinnvollsten Einteilung der Tumorgrößen nach Zentimetern (Ficarra, Prayer-Galetti et al. 2004), (Ficarra, Novara et al. 2004). Auch zwischen Europa und angloamerikanischen Raum kommt es bei dieser Frage zu divergierenden Meinungen (Frank, Blute et al. 2002), (Ficarra, Guille et al. 2005).

Zwischen 1987 und 2002 lag der Grenzwert für die Tumorgröße in der TNM-Klassifikation zwischen 2,5cm und 7cm. Es erfolgte ab 2002 eine Verschiebung des Grenzwertes auf 4cm. Auch dieser Grenzwert steht weiterhin in der Diskussion. So zeigte sich in einer großen Studie von Ficarra et al. mit 813 Patienten mit lokalisierten Nierenzellkarzinom das eine sinnvolle Größenunterteilung mit einer Einteilung von größer oder kleiner 5,5, cm einhergeht.

In einer weiteren großen Studie von Scoll et al. wurden retrospektiv die Daten aus der SEER (Surveillance, Epidemiology und End Results) Datenbank analysiert. Ziel war es eine Aussage über die relative Überlebensrate von Patienten mit chirurgisch versorgten lokalisierten Nierenzellkarzinom in Korrelation von Größe des Tumors und des Alters des Patienten zu beurteilen.

Hier konnte gezeigt werden, dass das relative Überleben bei Tumoren kleiner 4cm höher und bei Tumoren größer 7cm erniedrigt ist. Diese Aussage war unabhängig vom Patientenalter (Scoll, Wong et al. 2009). Möglicherweise scheint in einigen neueren Studien sich die Tumorgröße gegenüber dem T-Stadium als der bessere prognostische Parameter darzustellen (Murphy, Gilbert et al. 2005).

In unserer Studie zeigte sich keine signifikante Korrelation zwischen der Tumorgröße und dem Überleben der Patienten. Es erfolgte initial eine Dichotomisierung nach dem Median, welcher in unserer Studie bei 8cm lag. Im Log-Rank-test ( $p=0,568$ ) wurde das Signifikanzniveau deutlich verfehlt. Vergleicht man unsere Ergebnisse mit denen der Literatur, so ist zu berücksichtigen, dass es sich hier überwiegend um Studien mit Bezug auf Organ begrenzende Tumore, somit Klasse T1 und T2, handelte. Für eine bessere Aussage über die prognostische Aussagekraft der Tumorgröße beim Nierenzellkarzinom des Stadiums T3 wird es weitere Studienergebnisse brauchen.

### 5.2 Tumormarker

#### 5.2.1 Survivin

Survivin konnte in mehreren Tumoren des Menschen nachgewiesen werden. So zeigte sich auch beim Nierenzellkarzinom eine vermehrte Expression von Survivin. Durch seine Funktion scheint es eine Erhöhung der Zelllebensfähigkeit zu bewirken. Eine weitere Funktion besteht im vermehrten Entstehen von Resistenzen gegenüber den Effekten von Chemotherapeutika (Mahotka, Wenzel et al. 1999). Auch die Lokalisation in der Zelle scheint eine Rolle zu spielen. So konnte Survivin in proliferierenden Zellen im Zellkern, dem gegenüber im normalen Gewebe im Zytoplasma nachgewiesen werden (Okada, Murai et al. 2001) (Grabowski, Kuhnel et al. 2003).

Die Expression von Survivin korreliert in den meisten Tumoren oft mit einer schlechteren Prognose, so dass Survivin als Biomarker zur Diagnose, Progressionverlauf und Therapieerfolg in verschiedenen Tumorarten benutzt werden kann (Byun, Yeo et al. 2007), (Vegran, Boidot et al. 2005), (Shariat, Ashfaq et al. 2007), (Marioni, Ottaviano et al. 2006),

In der zitierten Studie von Byun et al. 2007 zeigte sich eine Korrelation zwischen der Survivin Expression und dem Tumorstadium, dem Tumorgrad sowie mit einem kürzeren rezidivfreien Überleben. Auch bei Parker zeigte sich eine signifikante Einschränkung der 5 Jahres Überlebensrate bei Patienten mit hoher Survivin –Expression, im Vergleich zu Patienten mit niedriger Survivin-Expression (Parker, Kosari et al. 2006).

In unserer Arbeit konnte keine Signifikanz bei der Korrelation von Survivin- Expression und dem Überleben nach Kaplan Meier-Kurve dargestellt werden. Das Signifikanzniveau wurde im Log-rank-Test ( $p=0,947$ ) deutlich verfehlt. Das Abweichen unserer Ergebnisse von denen der allgemeinen Literatur, könnte durch die teilweise sehr unterschiedlichen Zusammensetzungen der Kohorten im histologischen Subtyp und der T-Stadien liegen. Da unsere Studie sich überwiegend auf das klarzellige Nierenzellkarzinom und ausschliesslich auf das T3 –Stadium konzentriert, kommt es dadurch zu einer deutlichen Differenz in der Kohortenzusammensetzung gegenüber den anderen Studien. Zusätzlich weichen die Herstellung der histologischen Präparate in den einzelnen Laboren teilweise voneinander ab.

Beim Vergleich der Survivin-Expression mit den klinisch/pathologischen Parametern zeigte sich lediglich bezüglich dem Grading eine signifikante Korrelation ( $p= 0,020$ ). Dieses Ergebnis bestätigt die allgemeine Datenlage, dass eine erhöhte Survivin Expression mit einem höheren Grading-Stadium einhergeht. (Byun, Yeo et al. 2007), (Parker, Kosari et al. 2006). Bei allen anderen Parametern wurde keine signifikante Korrelation zur Expressionsstärke von Survivin beobachtet.

Die Intervention im Rahmen einer Beeinflussung der Survivin- Aktivität bietet prospektiv einen möglichen weiteren Therapieansatz beim Nierenzellkarzinom.

So zeigte sich in ersten Studien z.B. die Möglichkeit der Down-Regulation von Survivin in Kolonkarzinomzellen durch Implantation von inkompetenten Adenoviren (Yamamoto, Manome et al.

## Diskussion

2003). Auch die Antagonisierung von Survivin durch si RNAs (small interfering RNA) konnte eine Tumervolumen-Reduktion bewirken (Williams, Gaynor et al. 2003).

### 5.2.2 P53

P 53 als „guardian of the genom“ (Wächter des Genoms'), spielt eine entscheidende Rolle bei der Regulation des Zellzyklus.

In einer zusammenfassenden Arbeit von Noon 2010 wurden alle Studien einbezogen, die bis zum 01.04.2009 bei Pubmed veröffentlicht wurden (Noon, Vlatkovic et al.). Als Suchwörter wurden, „renal cancer, renal cell carcinoma, p53“, angegeben. Es zeigte sich hier, dass eine erhöhte P53 – Expression mit einer Verringerung des Gesamt- Überlebens einherging.

Die einzelnen Studien unterscheiden sich deutlich in der Anzahl der untersuchten histologischen Schnitte, T-Stadien sowie im Cut-Off –Wert für ein positives Ergebnis. Die Anzahl der histologischen Schnitte reichte von 31 bei Hofmockel 1996 (Hofmockel, Wittmann et al. 1996) bis zu 318 bei Kim 2004 (Kim, Seligson et al. 2004) . Zu beachten ist, dass sich die meisten Studien mit einer zusammengesetzten Kohorte verschiedener T-Stadien, T 1 bis T 3 befassten. Die Studie von Moch (Moch, Sauter et al. 1997) aus dem Jahre 1997 bezog sich nur auf Tumore der Klasse T3, jedoch handelte es sich hier um ein kleineres Patientenkollektiv (50 Histologische Schnitte) als das in unserer Studie.

In den einzelnen Studien zeigte sich ein deutliches Abweichen der Cut-Off-Werte, von größer 1 % wie zum Beispiel bei Zigeuner (Zigeuner, Ratschek et al. 2004) und (Uzunlar, Sahin et al. 2005) bis zu Werten von größer 50 % bei Bot (Bot, Godschalk et al. 1994). In unserer Studie lag der Cut-off-Wert bei 10 %. Die Bestimmung der Cut-off-Werte erfolgte durch Dichotomisierung nach dem Median. In den meisten Studien (17/31) zeigte sich eine Korrelation zwischen der P53 Expression und der Verminderung des Überlebens. Drei der Studien befassten sich wie in unserer Arbeit mit dem Gesamtüberleben (Moch, Sauter et al. 1997), (Shiina, Igawa et al. 1997), (Uchida, Minei et al. 2002). Hier zeigte sich jeweils eine Korrelation von P53 Expressionsrate und dem Gesamtüberleben der Patienten. Eine erhöhte P53 Expression führte zu einer Verminderung des Gesamtüberlebens.

In unserer Studie konnte lediglich eine Korrelation zwischen dem Grading und der P53 Expression nachgewiesen werden. Hier erreichten wir im Exakten Test nach Fischer eine Signifikanz ( $p=0,01$ ). Eine Korrelation zwischen der P53- Expression und einer Reduktion des Überlebens konnten wir in unserer Studie nicht beobachten.

Gründe für das Abweichen könnten hier die in den Studien unterschiedlich beobachteten histologischen Subtypen sein. Eine weitere Möglichkeit für das Abweichen der Ergebnisse der einzelnen Studien lässt sich möglicherweise aus dem Abweichen der einzelnen Cut-off-Werte sowie der deutlich schwankenden Anzahl der histologischen Schnitte erklären. Auch die Zusammensetzung der Kohorten mit Tumoren verschiedener T-Stadien könnte ein Abweichen unserer Ergebnisse erklären. Gerade das Setzen der Cut-off-Werte durch Dichotomisierung nach dem Median und die Zusammensetzung unserer Kohorte aus lediglich Tumoren der Klasse T3 macht eine Stärke unserer

## Diskussion

Studie aus. So ist auf eine Konzentrierung auf das Stadium T3 eine bessere Aussage bezüglich dieser Subgruppe möglich.

Die einzelnen Subtypen von P53 und deren Expression werden in Zukunft auch im Hinblick auf mögliche Therapieansätze weiter in den Fokus von neuen Studien rücken, wie zum Beispiel bei van den Berg 2010 (van den Berg, Segun et al.).

### 5.2.3 PAX-2

PAX-2 ist an der Entstehung der adulten Niere beteiligt. In der Gesunden reifen Niere ist PAX-2 nicht mehr nachweisbar (Dressler, Deutsch et al. 1990). Es scheint somit eine Rolle bei der Onkogenese einzunehmen.

In der Vergangenheit gab es viele Studien, die zeigten, dass PAX-2 einen unabhängigen Marker beim lokalisierten Nierenzellkarzinom darstellt. Es zeigten sich Erkennungsraten von bis zu 85 % für das Nierenzellkarzinom, wobei ein deutlicher Unterschied zwischen den einzelnen histologischen Subtypen erkennbar war. (92 % klarzelliges, 87% papilläres, 83% chromophobe) (Daniel, Lechevallier et al. 2001), (Ozcan, Zhai et al. 2009), (Mazal, Stichenwirth et al. 2005), (Memeo, Jhang et al. 2007). Beim metastasierten Nierenzellkarzinom ist weniger über die Expression von PAX-2 bekannt. In einer Studie von Gokden 2008 wurden 33 histologische Schnitte von metastasierten Nierenzellkarzinomen und 35 histologische Schnitte anderer Gewebsidentitäten immunhistochemisch angefärbt. 20 Präparate (61%) der Nierenzellkarzinome zeigten eine positive Expression von PAX-2. Bei den anderen Gewebsidentitäten zeigte sich lediglich ein Präparat positiv auf PAX-2. Diese Studie unterstrich die hohe Spezifität (97%) und Sensitivität (61%) von PAX-2 für das Nierenzellkarzinom. (Gokden, Kemp et al. 2008)

Mehrere Studien befassten sich mit der Korrelation von PAX-2 und klinischen/pathologischen Parametern.

In einer umfassenden Arbeit untersuchte Daniel et al 2001 56 Tumorschnitte von Nierenzellkarzinomen verschiedenster histologischer Subtypen. Es wurde versucht einen Zusammenhang zwischen Expression von PAX-2 in Bezug auf das Grading, TNM-Stadium, Ki-67 Proliferations Index, Expression von transforming growth factor beta 1 (TGF-beta 1) herzustellen. Eine Expression von PAX-2 konnte bei allen histologischen Subtypen aufgezeigt werden. Es zeigte sich die größte Expressionsrate von PAX-2 bei dem histologischen Subtypen des papillären Nierenzellkarzinomen. Hier zeigten alle 12 papillären Tumore eine positive PAX-2 – Expression. Eine Korrelation von TNM-Stadium, Grading und TGF-beta 1 und einer PAX-2 Expression konnte nicht nachgewiesen werden. PAX-2 Expression und Ki-67 Proliferation Index zeigten nur beim klarzelligen Nierenzellkarzinom einen Zusammenhang. Bei den klarzelligen Nierenzellkarzinomen zeigte sich eine Erhöhung der PAX-2 Expression bei metastasierten Nierenzellkarzinom gegenüber dem lokalisierten Tumor (Daniel, Lechevallier et al. 2001).

## Diskussion

In unserer Studie zeigte sich keine Korrelation zwischen der PAX-2 Expression und dem Überleben nach Kaplan-Meier oder gegenüber einen der klinisch/ pathologischen Parameter.

Auch bei diesem Marker ist zu berücksichtigen, dass die genannten Studien sich zum Teil auf unterschiedlichste histologische Tumor-Subtypen und T-Stadien bezogen. Außerdem handelte es sich teilweise um sehr kleine Kohorten, auf welche die Studien aufbauten.

### 5.2.4 MDR-1/P-Glykoprotein

P-Glykoprotein ist das Genprodukt des MDR1-Gens und gehört zur großen Gruppe der ATP- binding – cassette Transportproteine, daher auch ABC - Protein genannt.

Es konnte gezeigt werden, dass eine Korrelation zwischen dem Vorhandensein von MDR-1 und einer Sensibilität gegenüber Chemotherapeutika besteht (Leith, Kopecky et al. 1999). Das Glykoprotein sorgt für eine Reduktion von intrazellulären Chemotherapeutika und damit kommt es zu einer Reduktion der Arzneimittelwirkung.

Viele Arbeiten haben sich in der Vergangenheit mit MDR-1 als prognostischen Marker beschäftigt. In den Ergebnissen zeigte sich eine Diskrepanz.

Eine hohe Expression von MDR-1 beim Nierenzellkarzinom, zeigte sich bei den meisten der durchgeführten Studien (Naito, Sakamoto et al. 1993), (Bak, Efferth et al. 1990), (Mignogna, Staibano et al. 2006), (Duensing, Dallmann et al. 1994), (Oudard, Levalois et al. 2002), (Rochlitz, Lobeck et al. 1992).

So zeigte sich bei einigen Studien, dass eine vermehrte Expression von MDR-1 beim Nierenzellkarzinom, mit einer Reduktion des Gesamt- Überlebens einhergeht (Mignogna, Staibano et al. 2006). Auch beim rezidivfreien Überleben scheint eine niedrige MDR-1 Expression sich positiv auszuwirken (Duensing, Dallmann et al. 1994). Andererseits konnten Hofmockel et al. in einer Studie zeigen, dass eine niedrige Expression von MDR-1 mit einer Verringerung des Überlebens bei Patienten mit Nierenzellkarzinom korreliert (Hofmockel, Bassukas et al. 1997).

Bezüglich der klinisch/pathologischen Parameter besteht eine Diskrepanz in den aktuellen Studien. Eine signifikante Korrelation von der MDR-1 Expressionsrate und klinisch/pathologischer Parameter stellte sich bei Hodorova 2008 dar. Hier zeigte sich eine Korrelation zwischen dem Nukleären Grading und der Expression von MDR-1. So ging die Anzahl der MDR-1 positiven Zellen, bei steigenden Tumorgading zurück. Zwischen der MDR-1-Expression und weiteren klinisch relevanten Faktoren gab es hier keine weiteren Korrelationen (Hodorova, Rybarova et al. 2008).

Auf der anderen Seite konnte Mignogna et al keine Korrelation zwischen Tumorgading und MDR-1 Expression darstellen (Mignogna, Staibano et al. 2006).

In unserer Studie zeigte sich ebenfalls eine signifikante Korrelation zwischen der MDR-1/Membran Expression und der Überlebenszeit nach Kaplan-Meier ( $p=0,010$ ). Eine erhöhte Expression von MDR-1 führte zu einer Verminderung des Gesamt-Überlebens.

Bei der weiteren Beurteilung von MDR-1 im Bezug auf Alter, Geschlecht, Staging, Grading, Tumorgöße und histologische Subtyp, konnte keine Signifikanz beim Exakten-Test nach Fischer

## Diskussion

hergestellt werden. Auch bei den verschiedenen Auswertungen der Färbung (Membranfärbung, Zytoplasmafärbung und Färbeintensität) ergab sich kein Hinweis auf eine signifikante Korrelation von MDR-1 Expression und den klinisch /pathologischen Parametern.

Wie bei den anderen Markern bleibt auch bei MDR-1 anzumerken, dass eine Vergleichbarkeit der Studien nur eingeschränkt möglich ist. Aufgrund des Abweichens von Cut-Off-Werten, Unterschiede im labortechnischen Verfahren bei der Herstellung der Präparate, und einer Subjektivität in der Beurteilung bei der Auswertung der Gewebsschnitte, erschweren eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse einzelner Studien untereinander.

Immer mehr in den Fokus rückt auch das Zusammenspiel einzelner immunhistochemischer Parameter miteinander. Verschiedene Studien zeigen, dass MDR-1 und P53 eine entscheidende Rolle bei der Ausbildung von Resistenzen gegenüber Chemotherapeutika beim Nierenzellkarzinom verursachen (Sakaeda, Nakamura et al. 2002), (Bush and Li 2002). Eine Mutation des P53 Gens sorgt für eine erhöhte Aktivität von MDR-1 und somit zu einer erhöhten Resistenz der Zellen gegenüber einer Chemotherapie (Sakaeda, Nakamura et al. 2002), (Bush and Li 2002), (Kavallaris, Leary et al. 1996), (Hawkins, Demers et al. 1996), (Sampath, Sun et al. 2001), (Watanabe and Sullenger 2000). In diesem Mechanismus liegt ein möglicher Ansatz für eine Gen-Therapie des Nierenzellkarzinoms. So könnte durch ein Behandeln der P53 –Mutation eine verbesserte Sensibilität des Nierenzellkarzinoms gegenüber Chemotherapien entstehen (Sakaeda, Nakamura et al. 2002), (Watanabe and Sullenger 2000).

### 5.2.5 Bcl-2

Bcl-2 ist ein intrazelluläres Membranprotein mit der Fähigkeit, den programmierten Zelltod über verschiedene Mechanismen zu blockieren. Es besteht eine erhöhte Bcl-2 Expression des Nierenzellkarzinoms gegenüber der Expression von Bcl-2 beim Normalgewebe. Eine erhöhte Expression von Bcl-2 konnte schon in mehreren anderen Tumorarten nachgewiesen werden (Lipponen, Pietilainen et al. 1995), (Watson, Merritt et al. 1996)

In den meisten Studien, welche sich mit der Expression von Bcl-2 an histologischen inhomogenen Nierenzellkarzinomen beschäftigten, zeigte sich ein Anteil an positiven Tumoren zwischen 34 % und 100 % (Inoue, Yano et al. 1996), (Sejima and Miyagawa 1999), (Tomita, Bilim et al. 1996) (Zhang and Takenaka 2000).

Die prognostische Aussagekraft von Bcl-2 wird in der aktuellen Literatur sehr unterschiedlich diskutiert. In einigen Studien zeigte sich, dass zwischen einer erhöhten Bcl-2 Expression und dem Überleben von Patienten mit Nierenzellkarzinom keine signifikante Korrelation besteht (Olumi, Weidner et al. 2001), (Kim, Seligson et al. 2005). Andererseits gibt es Studien, die zeigen konnten, dass eine erhöhte Bcl-2 Expression mit einem verlängertem Überleben einherging (Phuoc, Ehara et al. 2007).

Auch bezüglich der Bcl-2 Expression und klinisch/pathologischer Faktoren zeigte sich eine deutliche Diskrepanz in den Untersuchungsergebnissen. Verschiedenste Autoren konnten zwischen der Bcl- 2

## Diskussion

Expression und klinisch- pathologischen Faktoren keinen Zusammenhang nachweisen (Hofmockel, Wittmann et al. 1996), (Uchida, Minei et al. 2002).

Demgegenüber konnte in einigen Studien eine signifikante positive Korrelation zwischen Bcl-2 und dem Grading und eine reziproke Korrelation zwischen Bcl-2-Expression und der primären Tumorgroße dargestellt werden (Oudard, Levalois et al. 2002), (Vasavada, Novick et al. 1998).

In unserer Studie zeigte sich eine Korrelation zwischen dem Gesamtüberleben der Patienten und einer erhöhten Bcl- 2 Expression. So ging eine vermehrte Bcl-2 Expressionsrate mit einer Reduktion des Gesamtüberlebens einher. Nach dem Log-rank-Test erreichten wir hier eine Signifikanz von  $p=0,000$  Auch das Auftreten von Metastasen ging mit einer erhöhten Expressionsrate von Bcl-2 einher ( $p=0,035$ )

Es bleibt auch hier anzumerken, dass zwischen den einzelnen Studien erhebliche Unterschiede im Aufbau bestanden. Es kamen unterschiedliche Anti- Bcl-2 – Antikörper, sowie teilweise homogene histologische Gruppen und inhomogene histologische Gruppen zum Einsatz.

Es fällt auf, dass in den meisten Studien, die einen Zusammenhang von Bcl-2 Expression und klinisch pathologischen Faktoren aufzeigten, diese sich als eine reziproke Korrelation darstellten. Im Hinblick auf die Funktion von Bcl-2 als Inhibitor der Apoptose erscheinen diese Ergebnisse paradox.

Möglicherweise sind Ansätze für eine Erklärung in einer Arbeit von Pietenpol et al.. Hier zeigte sich in einer in vitro- Studie an verschiedenen Tumorzelllinien auch ein wachstumsinhibierenden Teileffekt von Bcl-2 (Pietenpol, Papadopoulos et al. 1994). Prospektiv könnte auch Bcl-2 eine bedeutende Rolle bei der Therapie des Nierenzellkarzinoms darstellen. So konnte die Effizienz einer zytostatischen Therapie durch die Applikation von Bcl-2- Antisense-Oligonukleotiden gesteigert werden (Kausch, Jiang et al. 2005).

### Limitationen und Stärken dieser Arbeit

Es hat in den letzten Jahren viele Studien im Hinblick auf eine prognostischen Aussage von immunhistochemischen Parametern beim Nierenzellkarzinom gegeben. Bis heute konnte sich keiner der untersuchten Marker im klinischen Alltag etablieren.

Beim Vergleich vom Aufbau einzelner Studien fällt auf, dass sich die meisten Studien auf gemischte Kohorten bezüglich dem T-Stadium und dem histologischen Subtypen beziehen. Durch eine Fokussierung unserer Studie auf das Stadium T3a und T3b und einer deutlich überwiegenden Anzahl des klarzelligen histologischen Subtyp scheint unsere Studie bezüglich dieser Subgruppen eine deutliche stärkere Aussagekraft aufzuweisen, als Studien mit gemischten Kohorten. Gerade im Bezug auf das Wissen, dass unterschiedliche histologische Subtypen und T-Stadien zu deutlich divergierenden Ergebnissen führen können, erscheint eine solche Einschränkung in der Kohorten-Auswahl sehr sinnvoll.

In der aktuellen Literatur gibt es keine einheitlichen Vorgehensweisen im Hinblick auf die Auswertung von Studien mit immunhistochemischer Markerexpression.

## Diskussion

In unserer Studie erfolgte die Beurteilung der histologischen Schnitte durch drei unabhängige Untersucher, darunter ein erfahrender Facharzt für Pathologie, in einer Konsensusentscheidung. Diese Auswertungsprozedur soll eine mögliche verfälschende Subjektivität minimieren und zu einer erhöhten Reproduzierbarkeit und Objektivität unserer Studie führen.

Eine weitere Einschränkung bei Studien im Bereich der Immunhistochemie zeigte sich in dem Einsatz verschiedener Antikörper, welche für die Färbung genutzt werden. So weichen die einzelnen FärbeprozEDUREN und die eingesetzten Antikörper in den einzelnen Studien voneinander ab. Im Ergebnis führen die Unterschiede in der Methodik mit dem Einsetzen verschiedener Antikörper zu einer Verminderung der Reproduzierbarkeit der Studien untereinander.

Bei der Auswertung von Markern vs. klinisch/pathologischen Parameter bedienten wir uns dichotomer Einteilungen im Sinne von „Expression vs. Nicht-Expression“, wobei hier vielfach unterschiedliche Auffassungen bestehen, ab welchem Anteil exprimierender Zellen die untersuchten Tumoren als positiv für einen immunhistochemischen Marker anzusehen sind.

Das in der vorliegenden Arbeit eingesetzte Dichotomisierungsverfahren geht quasi von der Existenz eines „üblichen“, meistvertretenen Expressionslevels aus, das sich im Medianwert des hier verwandten Auszählverfahrens für den jeweils betrachteten Marker im Gesamtuntersuchungsgut ausdrückt. Werte, die über dem markerspezifischen Medianwert liegen, werden als „ungewöhnlich stark“ betrachtet und den übrigen Fällen gegenübergestellt. Anzumerken bleibt, dass in Studien mit abweichenden Kohorten-Größen möglicherweise ein anderer Median bei der Dichotomisierung bestimmt wird.

### **6. Zusammenfassung:**

Das Nierenzellkarzinom macht 2-4 % aller malignen Tumore des Erwachsenen aus.

In Europa zeigt sich eine Inzidenz von ca. 30.000 Neuerkrankungen pro Jahr. Die chirurgische Therapie ist noch heute die primäre Therapie der Wahl. Für die Prognose des Nierenzellkarzinoms konnte sich bis zum jetzigen Zeitpunkt in der klinischen Routine bisher kein Tumormarker etablieren. In dieser Studie wurden verschiedene immunhistochemische Parameter bezüglich ihrer prognostischen Aussagekraft beim Nierenzellkarzinom beurteilt. Weiterhin wurde eine Korrelation zwischen immunhistochemischen Parameter und etablierten prognostische Faktoren (TNM-Stadium, Grading) und allgemeinen klinisch-pathologischen Faktoren (Geschlecht, histologischer Subtyp, Tumorgroße) bewertet.

Es wurden 92 Patienten, die von 1998 bis 2002 an der Universität zu Lübeck aufgrund eines Nierenzellkarzinoms der Klasse T3 a und b nephrektomiert wurden, in die Studie mit einbezogen. Für alle Patienten wurde ein histopathologische Staging und, wenn möglich, ein Todeszeitpunkt ermittelt.

Die immunhistochemischen Färbungen wurden nach standardisierten Protokollen durchgeführt. Die Bewertung der einzelnen Schnitte erfolgte in einer Konsensentscheidung zwischen einem erfahrenen unabhängigen Pathologen und zwei unabhängigen Doktoranden.

Die Auswertung erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS. Die univariate Analyse für die histopathologischen Daten erfolgte mit dem Exakten Test nach Fisher. Für die einzelnen Tumormarker wurden Überlebenskurven nach Kaplan-Meier erstellt.

Die statistische Analyse zeigte im Log-rank-Test eine signifikante Korrelation mit dem Überleben bei zwei der etablierten Faktoren, dem Grading ( $p=0,016$ ) und dem Metastasenstatus ( $p=0,02$ ). Bei den immunhistochemischen Markern konnte im Log-rank-Test eine signifikante Korrelation mit dem Überleben zwischen Bcl-2 Expression ( $p=0,000$ ) und der MDR/Membranfärbung ( $p=0,01$ ) nachgewiesen werden.

Im Exakt Test nach Fischer ergab sich zwischen dem pathologischen Faktor Grading und den immunhistochemischen Markern Survivin ( $p=0,02$ ) und P53 ( $p=0,001$ ) eine signifikante Korrelation.

Eine größere Validierungsstudie mit vergleichbaren Auszählverfahren, Färbungsprotokollen und ähnlichen Cut off Werten ist erforderlich, um den Nutzen der untersuchten Marker zu bestätigen und klar zu definieren.

**7. Literaturverzeichnis:**

- Allan, J. D., D. A. Tolley, et al. (2001). "Laparoscopic radical nephrectomy." Eur Urol **40**(1): 17-23.
- Ambrosini, G., C. Adida, et al. (1997). "A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma." Nat Med **3**(8): 917-21.
- Anding R., T. K. H., Walz P.H. (1999). "Beidseitiges Urothelkarzinom in Kombination mit beidseitigem Nierenzellkarzinom." Aktuell Uro **1999** **30**: 426 – 429.
- Antonsson, B. (2001). "Bax and other pro-apoptotic Bcl-2 family "killer-proteins" and their victim the mitochondrion." Cell Tissue Res **306**(3): 347-61.
- Atzpodien, J., H. Kirchner, et al. (2001). "IL-2 in combination with IFN- alpha and 5-FU versus tamoxifen in metastatic renal cell carcinoma: long-term results of a controlled randomized clinical trial." Br J Cancer **85**(8): 1130-6.
- Aulitzky, W. E. and M. Kaufmann (2004). "[Immunotherapy for advanced renal cell carcinoma]." Urologe A **43**(1): 85-92; quiz 93.
- Bak, M., Jr., T. Efferth, et al. (1990). "Detection of drug resistance and P-glycoprotein in human renal cell carcinomas." Eur Urol **17**(1): 72-5.
- Becker, F., S. Siemer, et al. (2006). "Elective nephron sparing surgery should become standard treatment for small unilateral renal cell carcinoma: Long-term survival data of 216 patients." Eur Urol **49**(2): 308-13.
- Blom, J. H., H. van Poppel, et al. (1999). "Radical nephrectomy with and without lymph node dissection: preliminary results of the EORTC randomized phase III protocol 30881. EORTC Genitourinary Group." Eur Urol **36**(6): 570-5.
- Bot, F. J., J. C. Godschalk, et al. (1994). "Prognostic factors in renal-cell carcinoma: immunohistochemical detection of p53 protein versus clinico-pathological parameters." Int J Cancer **57**(5): 634-7.
- Bretheau, D., A. Koutani, et al. (1998). "A French national epidemiologic survey on renal cell carcinoma. Oncology Committee of the Association Francaise d'Urologie." Cancer **82**(3): 538-44.
- Brown, D. C. and K. C. Gatter (2002). "Ki67 protein: the immaculate deception?" Histopathology **40**(1): 2-11.
- Bulgheroni, P., D. Costa, et al. (2000). "Tobacco smoking and renal-cell carcinoma. An overview." Contrib Nephrol **130**: 134-5.
- Burger, H. R. (1991). "Morphological and cytogenetic aspects of renal-cell carcinoma." Urol Int **47**(4): 186-93.
- Bush, J. A. and G. Li (2002). "Cancer chemoresistance: the relationship between p53 and multidrug transporters." Int J Cancer **98**(3): 323-30.

## Literaturverzeichnis

- Byun, S. S., W. G. Yeo, et al. (2007). "Expression of survivin in renal cell carcinomas: association with pathologic features and clinical outcome." Urology **69**(1): 34-7.
- Carini, M., A. Minervini, et al. (2006). "Simple enucleation for the treatment of renal cell carcinoma between 4 and 7 cm in greatest dimension: progression and long-term survival." J Urol **175**(6): 2022-6; discussion 2026.
- Cheville, J. C., C. M. Lohse, et al. (2003). "Comparisons of outcome and prognostic features among histologic subtypes of renal cell carcinoma." Am J Surg Pathol **27**(5): 612-24.
- Coppin, C., F. Porzolt, et al. (2005). "Immunotherapy for advanced renal cell cancer." Cochrane Database Syst Rev(1): CD001425.
- Cory, S. and J. M. Adams (2002). "The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch." Nat Rev Cancer **2**(9): 647-56.
- Daniel, L., E. Lechevallier, et al. (2001). "Pax-2 expression in adult renal tumors." Hum Pathol **32**(3): 282-7.
- Delahunt, B. (1998). "Histopathologic prognostic indicators for renal cell carcinoma." Semin Diagn Pathol **15**(1): 68-76.
- Delahunt, B., P. B. Bethwaite, et al. (2007). "Outcome prediction for renal cell carcinoma: evaluation of prognostic factors for tumours divided according to histological subtype." Pathology **39**(5): 459-65.
- Delahunt, B., J. N. Eble, et al. (2001). "Morphologic typing of papillary renal cell carcinoma: comparison of growth kinetics and patient survival in 66 cases." Hum Pathol **32**(6): 590-5.
- Delahunt, B., J. M. Kittelson, et al. (2002). "Prognostic importance of tumor size for localized conventional (clear cell) renal cell carcinoma: assessment of TNM T1 and T2 tumor categories and comparison with other prognostic parameters." Cancer **94**(3): 658-64.
- Drachenberg, D. E., O. J. Mena, et al. (2004). "Parenchymal sparing surgery for central renal tumors in patients with hereditary renal cancers." J Urol **172**(1): 49-53.
- Dressler, G. R., U. Deutsch, et al. (1990). "Pax2, a new murine paired-box-containing gene and its expression in the developing excretory system." Development **109**(4): 787-95.
- Dressler, G. R., J. E. Wilkinson, et al. (1993). "Deregulation of Pax-2 expression in transgenic mice generates severe kidney abnormalities." Nature **362**(6415): 65-7.
- Drucker, B. J. (2005). "Renal cell carcinoma: current status and future prospects." Cancer Treat Rev **31**(7): 536-45.
- Duensing, S., I. Dallmann, et al. (1994). "Immunocytochemical detection of P-glycoprotein: initial expression correlates with survival in renal cell carcinoma patients." Oncology **51**(4): 309-13.

- Eichelberg, C., K. Junker, et al. (2009). "Diagnostic and prognostic molecular markers for renal cell carcinoma: a critical appraisal of the current state of research and clinical applicability." Eur Urol **55**(4): 851-63.
- Erdogan, F., A. Demirel, et al. (2004). "Prognostic significance of morphologic parameters in renal cell carcinoma." Int J Clin Pract **58**(4): 333-6.
- Escudier, B. (2007). "Anti-VEGF therapy for renal cell carcinoma." Clin Adv Hematol Oncol **5**(7): 530-1.
- Fergany, A. F., K. S. Hafez, et al. (2000). "Long-term results of nephron sparing surgery for localized renal cell carcinoma: 10-year followup." J Urol **163**(2): 442-5.
- Ficarra, V., F. Guille, et al. (2005). "Proposal for revision of the TNM classification system for renal cell carcinoma." Cancer **104**(10): 2116-23.
- Ficarra, V., G. Novara, et al. (2004). "Neoplasm staging and organ-confined renal cell carcinoma: a systematic review." Eur Urol **46**(5): 559-64.
- Ficarra, V., T. Prayer-Galetti, et al. (2004). "Tumor-size breakpoint for prognostic stratification of localized renal cell carcinoma." Urology **63**(2): 235-9; discussion 239-40.
- Ficarra, V., T. Prayer-Galetti, et al. (2003). "Incidental detection beyond pathological factors as prognostic predictor of renal cell carcinoma." Eur Urol **43**(6): 663-9.
- Ficarra, V., R. Righetti, et al. (2002). "Prognostic factors in patients with renal cell carcinoma: retrospective analysis of 675 cases." Eur Urol **41**(2): 190-8.
- Flaherty, K. T., C. S. Fuchs, et al. (2005). "A prospective study of body mass index, hypertension, and smoking and the risk of renal cell carcinoma (United States)." Cancer Causes Control **16**(9): 1099-106.
- Frank, I., M. L. Blute, et al. (2002). "An outcome prediction model for patients with clear cell renal cell carcinoma treated with radical nephrectomy based on tumor stage, size, grade and necrosis: the SSIGN score." J Urol **168**(6): 2395-400.
- Gacci, M., M. Rizzo, et al. (2001). "Imperative indications for conservative surgery for renal cell carcinoma: 20 years' experience." Urol Int **67**(3): 203-8.
- Gettman, M. T., C. W. Boelter, et al. (2003). "Charlson co-morbidity index as a predictor of outcome after surgery for renal cell carcinoma with renal vein, vena cava or right atrium extension." J Urol **169**(4): 1282-6.
- Gianani, R., E. Jarboe, et al. (2001). "Expression of survivin in normal, hyperplastic, and neoplastic colonic mucosa." Hum Pathol **32**(1): 119-25.
- Gnarra, J. R. and G. R. Dressler (1995). "Expression of Pax-2 in human renal cell carcinoma and growth inhibition by antisense oligonucleotides." Cancer Res **55**(18): 4092-8.

- Go, A. S., G. M. Chertow, et al. (2004). "Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization." N Engl J Med **351**(13): 1296-305.
- Gokden, N., S. A. Kemp, et al. (2008). "The utility of Pax-2 as an immunohistochemical marker for renal cell carcinoma in cytopathology." Diagn Cytopathol **36**(7): 473-7.
- Gottlieb, T. M. and M. Oren (1998). "p53 and apoptosis." Semin Cancer Biol **8**(5): 359-68.
- Grabowski, P., T. Kuhnel, et al. (2003). "Prognostic value of nuclear survivin expression in oesophageal squamous cell carcinoma." Br J Cancer **88**(1): 115-9.
- Grawitz (1883). "Die sogenannten Lipome der Niere." Virchows Arch. Pathol. Anat. **93**: 39-62.
- Gudbjartsson, T., S. Hardarson, et al. (2005). "Histological subtyping and nuclear grading of renal cell carcinoma and their implications for survival: a retrospective nation-wide study of 629 patients." Eur Urol **48**(4): 593-600.
- Guinan, P. D., N. J. Vogelzang, et al. (1995). "Renal cell carcinoma: tumor size, stage and survival. Members of the Cancer Incidence and End Results Committee." J Urol **153**(3 Pt 2): 901-3.
- Gunja, S., M. May, et al. (2004). "[Renal cell carcinoma. Comparative analysis of the prognostic significance of the WHO-classification and the Storkel's prognostic score]." Urologe A **43**(4): 450-6.
- Hallscheidt, P., E. Stolte, et al. (1998). "[The staging of renal-cell carcinomas in MRT and CT--a prospective histologically controlled study]." Rofo **168**(2): 165-70.
- Hawkins, D. S., G. W. Demers, et al. (1996). "Inactivation of p53 enhances sensitivity to multiple chemotherapeutic agents." Cancer Res **56**(4): 892-8.
- Hegele, A., Z. Varga, et al. (2002). "TGF-beta1 in patients with renal cell carcinoma." Urol Res **30**(2): 126-9.
- Heinzer, H., E. Huland, et al. (2003). "[Immunotherapy of renal cell carcinoma. With special emphasis on therapy of the elderly patient]." Urologe A **42**(11): 1450-2.
- Hii, S. I., D. L. Nicol, et al. (1998). "Captopril inhibits tumour growth in a xenograft model of human renal cell carcinoma." Br J Cancer **77**(6): 880-3.
- Hockenbery, D., G. Nunez, et al. (1990). "Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death." Nature **348**(6299): 334-6.
- Hodorova, I., S. Rybarova, et al. (2008). "Multidrug resistance proteins in renal cell carcinoma." Folia Biol (Praha) **54**(6): 187-92.
- Hofmockel, G., I. D. Bassukas, et al. (1997). "Is the expression of multidrug resistance gene product a prognostic indicator for the clinical outcome of patients with renal cancer?" Br J Urol **80**(1): 11-7.

- Hofmockel, G., A. Wittmann, et al. (1996). "Expression of p53 and bcl-2 in primary locally confined renal cell carcinomas: no evidence for prognostic significance." Anticancer Res **16**(6B): 3807-11.
- Inoue, M., H. Yano, et al. (1996). "Expression of Fas and anti-Fas-mediated apoptosis in human renal cell carcinoma." Int J Oncol **9**(1): 49-56.
- Inoue, T., T. Hashimura, et al. (2000). "Multivariate analysis of prognostic determinants after surgery for renal cell carcinoma at Himeji National Hospital." Hinyokika Kyo **46**(4): 229-34.
- Jabs, W. J., M. Busse, et al. (2005). "Expression of C-reactive protein by renal cell carcinomas and unaffected surrounding renal tissue." Kidney Int **68**(5): 2103-10.
- Jocham, D., A. Richter, et al. (2004). "Adjuvant autologous renal tumour cell vaccine and risk of tumour progression in patients with renal-cell carcinoma after radical nephrectomy: phase III, randomised controlled trial." Lancet **363**(9409): 594-9.
- Juliano, R. L. and V. Ling (1976). "A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants." Biochim Biophys Acta **455**(1): 152-62.
- Kalinka, A., A. Gerlach, et al. (2006). "[Characterization and staging of renal tumors: significance of MRI diagnostics]." Rofo **178**(3): 298-305.
- Kattan, M. W., V. Reuter, et al. (2001). "A postoperative prognostic nomogram for renal cell carcinoma." J Urol **166**(1): 63-7.
- Kausch, I., H. Jiang, et al. (2005). "Inhibition of bcl-2 enhances the efficacy of chemotherapy in renal cell carcinoma." Eur Urol **47**(5): 703-9.
- Kavallaris, M., J. A. Leary, et al. (1996). "MDR1 and multidrug resistance-associated protein (MRP) gene expression in epithelial ovarian tumors." Cancer Lett **102**(1-2): 7-16.
- Kern, S. E., K. W. Kinzler, et al. (1991). "Identification of p53 as a sequence-specific DNA-binding protein." Science **252**(5013): 1708-11.
- Kim, H. L., D. Seligson, et al. (2005). "Using tumor markers to predict the survival of patients with metastatic renal cell carcinoma." J Urol **173**(5): 1496-501.
- Kim, H. L., D. Seligson, et al. (2004). "Using protein expressions to predict survival in clear cell renal carcinoma." Clin Cancer Res **10**(16): 5464-71.
- Kim, H. L., A. Zisman, et al. (2004). "Prognostic significance of venous thrombus in renal cell carcinoma. Are renal vein and inferior vena cava involvement different?" J Urol **171**(2 Pt 1): 588-91.
- Klatte, T., A. J. Pantuck, et al. (2007). "Prognostic factors for renal cell carcinoma with tumor thrombus extension." J Urol **178**(4 Pt 1): 1189-95; discussion 1195.
- Klaver, S., S. Joniau, et al. (2008). "Analysis of renal cell carcinoma with subdiaphragmatic macroscopic venous invasion (T3b)." BJU Int **101**(4): 444-9.

- Konno, R., H. Yamakawa, et al. (2000). "Expression of survivin and Bcl-2 in the normal human endometrium." Mol Hum Reprod **6**(6): 529-34.
- Korsmeyer, S. J. (1992). "Bcl-2 initiates a new category of oncogenes: regulators of cell death." Blood **80**(4): 879-86.
- Krebsgesellschaft, D. (2011). from [http://www.krebsgesellschaft.de/pat\\_ka\\_nierenkrebs\\_definition,108254.html](http://www.krebsgesellschaft.de/pat_ka_nierenkrebs_definition,108254.html)
- Lam, J. S., O. Shvarts, et al. (2004). "Changing concepts in the surgical management of renal cell carcinoma." Eur Urol **45**(6): 692-705.
- Lane, D. P. (1992). "Cancer. p53, guardian of the genome." Nature **358**(6381): 15-6.
- Lane, D. P. and L. V. Crawford (1979). "T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells." Nature **278**(5701): 261-3.
- Lee, J., D. Hodgson, et al. (2005). "A phase II trial of palliative radiotherapy for metastatic renal cell carcinoma." Cancer **104**(9): 1894-900.
- Leith, C. P., K. J. Kopecky, et al. (1999). "Frequency and clinical significance of the expression of the multidrug resistance proteins MDR1/P-glycoprotein, MRP1, and LRP in acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group Study." Blood **94**(3): 1086-99.
- Li, F., E. J. Ackermann, et al. (1999). "Pleiotropic cell-division defects and apoptosis induced by interference with survivin function." Nat Cell Biol **1**(8): 461-6.
- Lindblad, P., A. Mellempgaard, et al. (1995). "International renal-cell cancer study. V. Reproductive factors, gynecologic operations and exogenous hormones." Int J Cancer **61**(2): 192-8.
- Lipponen, P., T. Pietilainen, et al. (1995). "Apoptosis suppressing protein bcl-2 is expressed in well-differentiated breast carcinomas with favourable prognosis." J Pathol **177**(1): 49-55.
- Ljungberg, B., F. I. Alamdari, et al. (1998). "Radical nephrectomy is still preferable in the treatment of localized renal cell carcinoma. A long-term follow-up study." Eur Urol **33**(1): 79-85.
- Lohrum, M. A. and K. H. Vousden (2000). "Regulation and function of the p53-related proteins: same family, different rules." Trends Cell Biol **10**(5): 197-202.
- Lundstam, S., O. Jonsson, et al. (2003). "Nephron-sparing surgery for renal cell carcinoma--long-term results." Scand J Urol Nephrol **37**(4): 299-304.
- Mahotka, C., M. Wenzel, et al. (1999). "Survivin-deltaEx3 and survivin-2B: two novel splice variants of the apoptosis inhibitor survivin with different antiapoptotic properties." Cancer Res **59**(24): 6097-102.

- Margulis, V., S. F. Matin, et al. (2009). "Randomized trial of adjuvant thalidomide versus observation in patients with completely resected high-risk renal cell carcinoma." Urology **73**(2): 337-41.
- Marioni, G., G. Ottaviano, et al. (2006). "High nuclear expression of the apoptosis inhibitor protein survivin is associated with disease recurrence and poor prognosis in laryngeal basaloid squamous cell carcinoma." Acta Otolaryngol **126**(2): 197-203.
- Masuda, H., Y. Kurita, et al. (1998). "Significant prognostic factors for 5-year survival after curative resection of renal cell carcinoma." Int J Urol **5**(5): 418-22.
- Mazal, P. R., M. Stichenwirth, et al. (2005). "Expression of aquaporins and PAX-2 compared to CD10 and cytokeratin 7 in renal neoplasms: a tissue microarray study." Mod Pathol **18**(4): 535-40.
- McLaughlin, J. K., P. Lindblad, et al. (1995). "International renal-cell cancer study. I. Tobacco use." Int J Cancer **60**(2): 194-8.
- Mejean, A., S. Oudard, et al. (2003). "Prognostic factors of renal cell carcinoma." J Urol **169**(3): 821-7.
- Memeo, L., J. Jhang, et al. (2007). "Immunohistochemical analysis for cytokeratin 7, KIT, and PAX2: value in the differential diagnosis of chromophobe cell carcinoma." Am J Clin Pathol **127**(2): 225-9.
- Menezes, R. J., G. Tomlinson, et al. (2003). "Physical activity and risk of renal cell carcinoma." Int J Cancer **107**(4): 642-6.
- Merseburger, A. S., S. Waalkes, et al. (2009). "[Current state of systemic therapy of metastatic renal cell carcinoma]." Urologe A **48**(9): 983-4, 986, 988-9.
- Mignogna, C., S. Staibano, et al. (2006). "Prognostic significance of multidrug-resistance protein (MDR-1) in renal clear cell carcinomas: a five year follow-up analysis." BMC Cancer **6**: 293.
- Minervini, R., A. Minervini, et al. (2000). "Evaluation of the 1997 tumour, nodes and metastases classification of renal cell carcinoma: experience in 172 patients." BJU Int **86**(3): 199-202.
- Moch, H., T. Gasser, et al. (2000). "Prognostic utility of the recently recommended histologic classification and revised TNM staging system of renal cell carcinoma: a Swiss experience with 588 tumors." Cancer **89**(3): 604-14.
- Moch, H., G. Sauter, et al. (1997). "p53 protein expression but not mdm-2 protein expression is associated with rapid tumor cell proliferation and prognosis in renal cell carcinoma." Urol Res **25 Suppl 1**: S25-30.
- Moinzadeh, A. and J. A. Libertino (2004). "Prognostic significance of tumor thrombus level in patients with renal cell carcinoma and venous tumor thrombus extension. Is all T3b the same?" J Urol **171**(2 Pt 1): 598-601.

- Moore, L. E., R. T. Wilson, et al. (2005). "Lifestyle factors, exposures, genetic susceptibility, and renal cell cancer risk: a review." Cancer Invest **23**(3): 240-55.
- Motzer, R. J., J. Bacik, et al. (2002). "Treatment outcome and survival associated with metastatic renal cell carcinoma of non-clear-cell histology." J Clin Oncol **20**(9): 2376-81.
- Motzer, R. J., N. H. Bander, et al. (1996). "Renal-cell carcinoma." N Engl J Med **335**(12): 865-75.
- Motzer, R. J., G. Hudes, et al. (2009). "Phase I trial of sunitinib malate plus interferon-alpha for patients with metastatic renal cell carcinoma." Clin Genitourin Cancer **7**(1): 28-33.
- Motzer, R. J., M. Mazumdar, et al. (1999). "Survival and prognostic stratification of 670 patients with advanced renal cell carcinoma." J Clin Oncol **17**(8): 2530-40.
- Murphy, A. M., S. M. Gilbert, et al. (2005). "Re-evaluation of the Tumour-Node-Metastasis staging of locally advanced renal cortical tumours: absolute size (T2) is more significant than renal capsular invasion (T3a)." BJU Int **95**(1): 27-30.
- Naito, S., N. Sakamoto, et al. (1993). "Expression of P-glycoprotein and multidrug resistance in renal cell carcinoma." Eur Urol **24**(1): 156-60.
- Noon, A. P., N. Vlatkovic, et al. "p53 and MDM2 in renal cell carcinoma: biomarkers for disease progression and future therapeutic targets?" Cancer **116**(4): 780-90.
- Novick, A. C. (2002). "Nephron-sparing surgery for renal cell carcinoma." Annu Rev Med **53**: 393-407.
- Novick, A. C., S. Streem, et al. (2002). "Conservative surgery for renal cell carcinoma: a single-center experience with 100 patients. 1989." J Urol **167**(2 Pt 2): 878-82; discussion 883.
- Oberling, C., M. Riviere, et al. (1959). "[Ultrastructure of clear cell epitheliomas of the kidney (hypernephroma or Grawitz tumor) and its implication for the histogenesis of these tumors]." Bull Assoc Fr Etud Cancer **46**: 356-81.
- Okada, E., Y. Murai, et al. (2001). "Survivin expression in tumor cell nuclei is predictive of a favorable prognosis in gastric cancer patients." Cancer Lett **163**(1): 109-16.
- Olumi, A. F., N. Weidner, et al. (2001). "p53 immunoreactivity correlates with Ki-67 and bcl-2 expression in renal cell carcinoma." Urol Oncol **6**(2): 63-67.
- Oudard, S., C. Levalois, et al. (2002). "Expression of genes involved in chemoresistance, proliferation and apoptosis in clinical samples of renal cell carcinoma and correlation with clinical outcome." Anticancer Res **22**(1A): 121-8.
- Ozcan, A., J. Zhai, et al. (2009). "PAX-2 in the diagnosis of primary renal tumors: immunohistochemical comparison with renal cell carcinoma marker antigen and kidney-specific cadherin." Am J Clin Pathol **131**(3): 393-404.

- Pahernik, S., R. Gillitzer, et al. (2004). "Surgical atlas. Cone/wedge resection of renal cell carcinoma." BJU Int **93**(4): 639-54.
- Parker, A. S., F. Kosari, et al. (2006). "High expression levels of survivin protein independently predict a poor outcome for patients who undergo surgery for clear cell renal cell carcinoma." Cancer **107**(1): 37-45.
- Patard, J. J., F. J. Dorey, et al. (2004). "Symptoms as well as tumor size provide prognostic information on patients with localized renal tumors." J Urol **172**(6 Pt 1): 2167-71.
- Patard, J. J., E. Leray, et al. (2005). "Prognostic value of histologic subtypes in renal cell carcinoma: a multicenter experience." J Clin Oncol **23**(12): 2763-71.
- Phuoc, N. B., H. Ehara, et al. (2007). "Immunohistochemical analysis with multiple antibodies in search of prognostic markers for clear cell renal cell carcinoma." Urology **69**(5): 843-8.
- Pietenpol, J. A., N. Papadopoulos, et al. (1994). "Paradoxical inhibition of solid tumor cell growth by bcl2." Cancer Res **54**(14): 3714-7.
- Pinto, A. E., P. Monteiro, et al. (2005). "Prognostic biomarkers in renal cell carcinoma: relevance of DNA ploidy in predicting disease-related survival." Int J Biol Markers **20**(4): 249-56.
- Pischon, T., P. H. Lahmann, et al. (2006). "Body size and risk of renal cell carcinoma in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)." Int J Cancer **118**(3): 728-38.
- Pomer, S., M. Klopp, et al. (1997). "[Brain metastases in renal cell carcinoma. Results of treatment and prognosis]." Urologe A **36**(2): 117-25.
- Pyrhonen, S., E. Salminen, et al. (1999). "Prospective randomized trial of interferon alfa-2a plus vinblastine versus vinblastine alone in patients with advanced renal cell cancer." J Clin Oncol **17**(9): 2859-67.
- Rassweiler, J., P. Fornara, et al. (1998). "Laparoscopic nephrectomy: the experience of the laparoscopy working group of the German Urologic Association." J Urol **160**(1): 18-21.
- Rini, B. I. and N. J. Vogelzang (2000). "Prognostic factors in renal carcinoma." Semin Oncol **27**(2): 213-20.
- Rochlitz, C. F., H. Lobeck, et al. (1992). "Multiple drug resistance gene expression in human renal cell cancer is associated with the histologic subtype." Cancer **69**(12): 2993-8.
- Rohde, D. (2005). "[New targets and drugs for treatment of advanced renal cell carcinoma]." Aktuelle Urol **36**(2): 125-30.
- Sakaeda, T., T. Nakamura, et al. (2002). "MDR1 genotype-related pharmacokinetics and pharmacodynamics." Biol Pharm Bull **25**(11): 1391-400.

- Sampath, J., D. Sun, et al. (2001). "Mutant p53 cooperates with ETS and selectively up-regulates human MDR1 not MRP1." J Biol Chem **276**(42): 39359-67.
- Schlichter, A., H. Wunderlich, et al. (2000). "Where are the limits of elective nephron-sparing surgery in renal cell carcinoma?" Eur Urol **37**(5): 517-20.
- Scoll, B. J., Y. N. Wong, et al. (2009). "Age, tumor size and relative survival of patients with localized renal cell carcinoma: a surveillance, epidemiology and end results analysis." J Urol **181**(2): 506-11.
- Sejima, T. and I. Miyagawa (1999). "Expression of bcl-2, p53 oncoprotein, and proliferating cell nuclear antigen in renal cell carcinoma." Eur Urol **35**(3): 242-8.
- Setiawan, V. W., D. O. Stram, et al. (2007). "Risk factors for renal cell cancer: the multiethnic cohort." Am J Epidemiol **166**(8): 932-40.
- Shapiro, J. A., M. A. Williams, et al. (1999). "Hypertension, antihypertensive medication use, and risk of renal cell carcinoma." Am J Epidemiol **149**(6): 521-30.
- Shariat, S. F., R. Ashfaq, et al. (2007). "Survivin expression is associated with bladder cancer presence, stage, progression, and mortality." Cancer **109**(6): 1106-13.
- Shiina, H., M. Igawa, et al. (1997). "Clinical significance of immunohistochemically detectable p53 protein in renal cell carcinoma." Eur Urol **31**(1): 73-80.
- Shvarts, O., D. Seligson, et al. (2005). "p53 is an independent predictor of tumor recurrence and progression after nephrectomy in patients with localized renal cell carcinoma." J Urol **173**(3): 725-8.
- Siebels, M., R. Oberneder, et al. (2002). "[Ambulatory radiosurgery in cerebral metastatic renal cell carcinoma. 5-year outcome in 58 patients]." Urologe A **41**(5): 482-8.
- Siemer, S. and M. Uder (2002). "[Diagnostic imaging before kidney tumor operations]." Urologe A **41**(3): 289-95; quiz 296-7.
- Srigley, J. R., R. V. Hutter, et al. (1997). "Current prognostic factors--renal cell carcinoma: Workgroup No. 4. Union Internationale Contre le Cancer (UICC) and the American Joint Committee on Cancer (AJCC)." Cancer **80**(5): 994-6.
- Staehler, G. and D. Brkovic (2000). "The role of radical surgery for renal cell carcinoma with extension into the vena cava." J Urol **163**(6): 1671-5.
- Staehler, M., N. Haseke, et al. "Complete remission achieved with angiogenic therapy in metastatic renal cell carcinoma including surgical intervention." Urol Oncol **28**(2): 139-44.
- Stapleton, P., A. Weith, et al. (1993). "Chromosomal localization of seven PAX genes and cloning of a novel family member, PAX-9." Nat Genet **3**(4): 292-8.

- Staudenherz, A., B. Steiner, et al. (1999). "Is there a diagnostic role for bone scanning of patients with a high pretest probability for metastatic renal cell carcinoma?" Cancer **85**(1): 153-5.
- Stein, M., A. Kuten, et al. (1992). "The value of postoperative irradiation in renal cell cancer." Radiother Oncol **24**(1): 41-4.
- Steinbach, F., M. Stockle, et al. (1992). "[Diagnosis and therapy of benign and malignant kidney tumors]." Urologe A **31**(1): W1-10.
- Steiner, T., R. Knels, et al. (2004). "Prognostic significance of tumour size in patients after tumour nephrectomy for localised renal cell carcinoma." Eur Urol **46**(3): 327-30.
- Storkel, S., W. Thoenes, et al. (2004). "[Prognostic parameters in renal cell carcinoma--a new approach. 1989]." Aktuelle Urol **35**(1): 18-21.
- Stuart, E. T., R. Haffner, et al. (1995). "Loss of p53 function through PAX-mediated transcriptional repression." EMBO J **14**(22): 5638-45.
- Sugawara, I. (1990). "Expression and functions of P-glycoprotein (mdr1 gene product) in normal and malignant tissues." Acta Pathol Jpn **40**(8): 545-53.
- Suzuki, A., M. Hayashida, et al. (2000). "Survivin initiates cell cycle entry by the competitive interaction with Cdk4/p16(INK4a) and Cdk2/cyclin E complex activation." Oncogene **19**(29): 3225-34.
- Tomita, Y., V. Bilim, et al. (1996). "Frequent expression of Bcl-2 in renal-cell carcinomas carrying wild-type p53." Int J Cancer **66**(3): 322-5.
- Trock, B. J., F. Leonessa, et al. (1997). "Multidrug resistance in breast cancer: a meta-analysis of MDR1/gp170 expression and its possible functional significance." J Natl Cancer Inst **89**(13): 917-31.
- Tsui, K. H., O. Shvarts, et al. (2000). "Prognostic indicators for renal cell carcinoma: a multivariate analysis of 643 patients using the revised 1997 TNM staging criteria." J Urol **163**(4): 1090-5; quiz 1295.
- Uchida, T., S. Minei, et al. (2002). "Clinical significance of p53, MDM2 and bcl-2 expression in transitional cell carcinoma of the bladder." Oncol Rep **9**(2): 253-9.
- Usubutun, A., A. Ayhan, et al. (1998). "Prognostic factors in renal cell carcinoma." J Exp Clin Cancer Res **17**(1): 77-81.
- Uzunlar, A. K., H. Sahin, et al. (2005). "Expression of p53 oncoprotein and bcl-2 in renal cell carcinoma." Saudi Med J **26**(1): 37-41.
- Vamvakas, S., T. Bruning, et al. (2000). "Renal cell cancer correlated with occupational exposure to trichloroethene." J Cancer Res Clin Oncol **126**(3): 178-80.
- van den Berg, L., A. D. Segun, et al. "Regulation of p53 isoform expression in renal cell carcinoma." Front Biosci (Elite Ed) **2**: 1042-53.

- van der Valk, P., C. K. van Kalken, et al. (1990). "Distribution of multi-drug resistance-associated P-glycoprotein in normal and neoplastic human tissues. Analysis with 3 monoclonal antibodies recognizing different epitopes of the P-glycoprotein molecule." Ann Oncol **1**(1): 56-64.
- Van Poppel, H., S. Joniau, et al. (2009). "Vaccine therapy in patients with renal cell carcinoma." Eur Urol **55**(6): 1333-42.
- Vasavada, S. P., A. C. Novick, et al. (1998). "P53, bcl-2, and Bax expression in renal cell carcinoma." Urology **51**(6): 1057-61.
- Vegran, F., R. Boidot, et al. (2005). "Distinct expression of Survivin splice variants in breast carcinomas." Int J Oncol **27**(4): 1151-7.
- Velculescu, V. E., S. L. Madden, et al. (1999). "Analysis of human transcriptomes." Nat Genet **23**(4): 387-8.
- Vogelstein, B. and K. W. Kinzler (1992). "p53 function and dysfunction." Cell **70**(4): 523-6.
- Wagner, B., J. J. Patard, et al. (2009). "Prognostic value of renal vein and inferior vena cava involvement in renal cell carcinoma." Eur Urol **55**(2): 452-9.
- Watanabe, T. and B. A. Sullenger (2000). "Induction of wild-type p53 activity in human cancer cells by ribozymes that repair mutant p53 transcripts." Proc Natl Acad Sci U S A **97**(15): 8490-4.
- Watson, A. J., A. J. Merritt, et al. (1996). "Evidence of reciprocity of bcl-2 and p53 expression in human colorectal adenomas and carcinomas." Br J Cancer **73**(8): 889-95.
- Williams, N. S., R. B. Gaynor, et al. (2003). "Identification and validation of genes involved in the pathogenesis of colorectal cancer using cDNA microarrays and RNA interference." Clin Cancer Res **9**(3): 931-46.
- Wittekind, C. "[2010 TNM system: on the 7th edition of TNM classification of malignant tumors]." Pathologie **31**(5): 331-2.
- Wunderlich, H., T. Steiner, et al. (1998). "Increased transforming growth factor beta1 plasma level in patients with renal cell carcinoma: a tumor-specific marker?" Urol Int **60**(4): 205-7.
- Yamamoto, T., Y. Manome, et al. (2003). "[Development of a novel gene therapy using survivin antisense expressing adenoviral vectors]." Gan To Kagaku Ryoho **30**(11): 1805-8.
- Zhang, X. and I. Takenaka (2000). "Cell proliferation and apoptosis with BCL-2 expression in renal cell carcinoma." Urology **56**(3): 510-5.

## Literaturverzeichnis

Zigeuner, R., M. Ratschek, et al. (2004). "Value of p53 as a prognostic marker in histologic subtypes of renal cell carcinoma: a systematic analysis of primary and metastatic tumor tissue." Urology **63**(4): 651-5.

Zucchi, A., L. Mearini, et al. (2003). "Renal cell carcinoma: histological findings on surgical margins after nephron sparing surgery." J Urol **169**(3): 905-8.

## **8. Abbildungs- und Tabellenverzeichnis**

### **8.1 Abbildungen:**

- Abbildung 1: Aus dem Institut für Pathologie der Universität Lübeck ein Gewebsschnitt eines Nierenzellkarzinoms in HE-Färbung
- Abbildung 2: Positive P53 Expression
- Abbildung 3: Positive MDR-1 Expression
- Abbildung 4: Positive Bcl-2 Expression
- Abbildung 5: Positive Survivin Expression
- Abbildung 6: Positive PAX-2 Expression
- Abbildung 7: Auftreten von Fernmetastasen
- Abbildung 8: Verteilung der einzelnen Nodalstadien
- Abbildung 9: Verteilung der einzelnen Grading- Stadien
- Abbildung 10: Allgemeine Größenverteilung der Tumore in Zentimeter und ihre Häufigkeit
- Abbildung 11: Alter bei OP
- Abbildung 12: Verteilung der histologischen Subtypen
- Abbildung 13: Kaplan- Meier- Kurve in Abhängigkeit vom T-Stadium
- Abbildung 14: Kaplan- Meier- Kurve in Abhängigkeit vom Metastasestadium
- Abbildung 15: Kaplan- Meier- Kurve in Abhängigkeit vom Nodalstadium
- Abbildung 16: Kaplan- Meier- Kurve in Abhängigkeit vom Grading
- Abbildung 17: Kaplan- Meier- Kurve in Abhängigkeit von der Tumorgroße
- Abbildung 18: Kaplan- Meier- Kurve in Abhängigkeit vom histologischen Subtyp
- Abbildung 19: Kaplan- Meier- Kurve in Abhängigkeit vom Alter bei OP
- Abbildung 20: Kaplan- Meier- Kurve in Abhängigkeit von der Bcl-2 Expression
- Abbildung 21: Kaplan- Meier- Kurve in Abhängigkeit von der MDR-1/ Membranfärbung
- Abbildung 22: Kaplan- Meier- Kurve in Abhängigkeit von der MDR-1/ Färbekintensität
- Abbildung 23: Kaplan- Meier- Kurve in Abhängigkeit von der MDR-1/ Zytoplasmafärbung
- Abbildung 24: Kaplan- Meier- Kurve in Abhängigkeit von der Survivin Expression
- Abbildung 25: Kaplan- Meier- Kurve in Abhängigkeit von der P53 Expression
- Abbildung 26: Kaplan- Meier- Kurve in Abhängigkeit von der P53/ Zytoplasmafärbung
- Abbildung 27: Kaplan- Meier- Kurve in Abhängigkeit von der PAX-2 Expression

### **8.2 Tabellen:**

- Tabelle 01: Kurzfassung der UICC – Klassifikation des Nierenzellkarzinom aus dem Jahre 2010
- Tabelle 02: Stadieneinteilung nach Robson aus dem Jahre 1969
- Tabelle 03: Wachstumsmuster und UICC- Klassifikation nach Störkel 1997
- Tabelle 04: Häufigkeitsverteilung einzelner Symptome
- Tabelle 05: Zusammenfassung der allgemeinen diagnostischen Maßnahmen
- Tabelle 06: Potenzieller Therapiealgorithmus beim metastasierten Nierenzellkarzinom

## Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

Tabelle 07: Auf Patienten bezogene prognostische Faktoren nach Srigley

Tabelle 08: Auf Tumor bezogene prognostische Faktoren nach Srigley

Tabelle 09: T-Stadium und 5 Jahresüberlebensrate nach Tumornephrektomie

Tabelle 10: Klinisches Stadium des Nierenzellkarzinom und 5 Jahresüberlebensrate nach Tumornephrektomie

Tabelle 11: Übersicht zur Lokalisation der Markerexpression

Tabelle 12: Tumorgroße

Tabelle 13: p53 dichotomisiert nach Median vs. Grading

Tabelle 14: Survivin dichotomisiert nach Median vs. Grading

Tabelle 15: bcl-2 dichotomisiert nach Median vs. M0/Mx; M1

Tabelle 16: MDR-1 Färbekintensität vs. M/MX; M1

Tabelle 17: Überblick der signifikanten Trend und P-Werte

Tabelle 18: Darstellung der einzelnen P-Werte

## 9. Anhang

UNIVERSITÄTSKLINIKUM Schleswig-Holstein  
Campus Lübeck Ratzeburger Allee 160 23538 Lübeck

## UNIVERSITÄTSKLINIKUM Schleswig-Holstein

Campus Lübeck  
Abteilung

**Ansprechpartner:** Priv. Doz. Dr. med. C. Doehn  
**Tel:** 0451 / 500-6113  
**Telefax:** 0451 / 500-4666  
**e-mail:** doehn@medinf.mu-luebeck.de

**Internet:** www.uk-s-h.de

**Datum:** 06.11.2008

Sehr geehrte(r) Frau/ Herr...

bei Ihnen wurde eine operative Entfernung der Niere bei einem Nierengeschwulst vorgenommen. Wir interessieren uns für die Langzeitergebnisse bei diesen Operationen allgemein, die Abhängigkeit der Prognose von bestimmten molekularen Markern und Ihrem persönlichen Behandlungserfolg. Zu diesem Zweck verschicken wir an alle Patienten, welche aufgrund eines Nierentumors im sogenannten Stadium T3 zwischen 1993 und 2002 operiert worden sind, dieses Anschreiben sowie eine Einwilligungserklärung zu folgenden Untersuchungen:

Die Gewebeproben, die von Ihrer Operation stammen und in der Pathologie archiviert sind, sollen von der Klinik für Urologie und dem Institut für Pathologie des UK S-H Lübeck nachuntersucht werden. Hier sollen verschiedene „Marker“ durch Immunfärbung (Immunhistochemie) bestimmt werden, um neue Erkenntnisse und möglicherweise verbesserte Diagnosemöglichkeiten bei zukünftigen Patienten mit Nierentumoren zu gewinnen. Diese Untersuchungen unterliegen hinsichtlich der Archivierung bzw. späteren Vernichtung den üblichen pathologischen Richtlinien (Archivierung in dem Institut für Pathologie über 10 Jahre, nachfolgend Verbrennung durch autorisierte Firma). Die Untersuchungen sind zweckgebunden an die Bestimmung immunhistochemischer Marker. Eine Erweiterung der Untersuchungen findet nicht statt.

Hiermit bitten wir Sie um Ihr Einverständnis zur wissenschaftlichen Verwendung Ihrer Gewebeproben und Ihrer personenbezogenen Daten. Das verwendete Material ist zur weiteren Diagnostik Ihrer Erkrankung nicht erforderlich. Für Sie entstehen somit weder in der Erkennung noch in der Behandlung irgendwelche Nachteile.

Wir möchten Sie freundlich bitten, die unterschriebene Einwilligung in dem beiliegenden Briefumschlag portofrei zurückzusenden. Hierfür bedanken wir uns im Vorwege für Ihre Mithilfe.

Mit freundlichen Grüßen.

PD Dr. med. I. Kausch  
(Oberarzt der Klinik)

D.Foss  
(Doktorand)

P.Korn  
(Doktorand)

Universitätsklinikum  
Schleswig-Holstein  
Anstalt des  
öffentlichen Rechts

Vorstandsmitglieder:  
Prof. Dr. Bernd Kremer, Prof. Dr. Dieter  
Jocham, Dipl.-Kfm. Günter Zwilling,  
Dipl.-Kff. (FH) Barbara Schulte

Bankverbindungen:  
Sparkasse Kiel, Kto.-Nr. 100206, BLZ 21050170  
Dresdner Bank Lübeck, Kto.-Nr. 300041200,  
BLZ 23080040





UNIVERSITÄTSKLINIKUM Schleswig-Holstein  
Campus Lübeck Ratzeburger Allee 160 23538 Lübeck

## UNIVERSITÄTSKLINIKUM Schleswig-Holstein



**Campus Lübeck**  
**Klinik und Poliklinik für Urologie**  
**Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. D. Jocham**

**Tel:** 0451 / 500-2271 Fax 500-3338 (Klinikdirektion)  
0451 / 500-6113 Fax 500-4666 (Sekt. Oberärzte)  
0451 / 500-2102 Fax 500-6066 (Poliklinik)  
0451 / 500-2042 Fax 500-6223 (Station 17)  
0451 / 500-2484 Fax 500-6066 (Lithotripsie)  
**Internet:** [www.urologie.uni-luebeck.de](http://www.urologie.uni-luebeck.de)

**Datum:** /

Sehr geehrte Frau .....

nachdem wir sie in der Vergangenheit angeschrieben haben um eine Einverständniserklärung von ihnen zu bekommen, geht es nun um die Aufstellung einer retrospektiven Studie wofür wir gerne noch einige Daten zu ihrem Krankheitsverlauf haben würden.

bei Ihnen wurde eine operative Entfernung der Niere bei einem Nierengeschwulst vorgenommen. Wir interessieren uns für die Langzeitergebnisse bei diesen Operationen allgemein, die Abhängigkeit der Prognose von bestimmten molekularen Markern und Ihrem persönlichen Behandlungserfolg. Zu diesem Zweck verschicken wir an alle Patienten, welche aufgrund eines Nierentumors im sogenannten Stadium T3 zwischen 1993 und 2002 operiert worden sind, einen Fragebogen zu diesen Untersuchungen.

Wir möchten Sie freundlich bitten, den Fragebogen in dem beiliegenden Briefumschlag portofrei zurückzusenden. Hierfür bedanken wir uns im Vorwege.

Mit freundlichen Grüßen.

PD Dr. med. I. Kausch  
(Oberarzt der Klinik)

D.Foss  
(Doktorand)

P. Korn  
(Doktorand)

Universitätsklinikum  
Schleswig-Holstein  
Anstalt des  
öffentlichen Rechts

Vorstandsmitglieder:  
Prof. Dr. Jens Scholz (Vorsitzender)  
Peter Pansegrau  
Christa Meyer

Bankverbindungen:  
Förde Sparkasse  
Kto.-Nr. 100 206, BLZ 210 501 70  
Commerzbank AG (vormals Dresdner Bank)  
Kto.-Nr. 300 041 200, BLZ 230 800 40





UNIVERSITÄTSKLINIKUM Schleswig-Holstein  
Campus Lübeck Ratzeburger Allee 160 23538 Lübeck

## UNIVERSITÄTSKLINIKUM Schleswig-Holstein



**Campus Lübeck**  
**Klinik und Poliklinik für Urologie**  
**Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. D. Jocham**

**Tel:** 0451 / 500-2271 Fax 500-3338 (Klinikdirektion)  
0451 / 500-6113 Fax 500-4666 (Sekt. Oberärzte)  
0451 / 500-2102 Fax 500-6066 (Poliklinik)  
0451 / 500-2042 Fax 500-6223 (Station 17)  
0451 / 500-2484 Fax 500-6066 (Lithotripsie)  
**Internet:** [www.urologie.uni-luebeck.de](http://www.urologie.uni-luebeck.de)

**Datum:** /

Sehr geehrte Frau ...,

im Rahmen einer Doktorarbeit wollen wir Patienten mit Nierenzellkarzinom die alten histologischen Schnitte der Niere verwenden. Wir wollen dabei herausfinden ob es Parameter gibt, welche die Prognose beeinflussen. Dafür müssen bestimmte Färbungsverfahren an den histologischen Schnitten durchgeführt werden.

Hierfür brauchen wir die Einwilligung der Patienten. Die Patienten sollen nun angeschrieben werden. Um zu vermeiden, dass schon verstorbene Patienten angeschrieben werden, bitten wir sie um ihre Mithilfe.

Wir würden von ihnen gerne wissen, welche Patienten noch leben und wenn es möglich ist, eine Überprüfung unserer Adressen bekommen. Anbei liegt unsere Patientenliste.

Vielen Dank für ihre Mithilfe im Voraus.

Mit freundlichen Grüßen

Prof. Dr. Jocham

Doktorand Daniel Foss





UNIVERSITÄTSKLINIKUM Schleswig-Holstein  
Campus Lübeck Ratzeburger Allee 160 23538 Lübeck

## UNIVERSITÄTSKLINIKUM Schleswig-Holstein



**Campus Lübeck**  
**Klinik und Poliklinik für Urologie**  
**Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. D. Jocham**

**Tel:** 0451 / 500-2271 Fax 500-3338 (Klinikdirektion)  
0451 / 500-6113 Fax 500-4666 (Skr. Oberärzte)  
0451 / 500-2102 Fax 500-6066 (Poliklinik)  
0451 / 500-2042 Fax 500-6223 (Station 17)  
0451 / 500-2484 Fax 500-6066 (Lithotripsie)  
**Internet:** [www.urologie.uni-luebeck.de](http://www.urologie.uni-luebeck.de)

**Datum:** /

Sehr geehrte Damen und Herren,

Im Rahmen einer Doktorarbeit wollen wir bei Patienten, welche an der Universitätsklinik zu Lübeck an einem Nierentumor operiert wurden, heraus finden wie die Langzeitprognose dieser Patienten ist. Um eine Aussage darüber machen zu können, müssen wir wissen, ob die Patienten verstorben sind und wenn ja wann. Daher bitten wir sie um ihre Mithilfe und übersenden ihnen Anhang die Daten der Patienten.

Vielen Dank für ihre Mithilfe im Voraus.

Mit freundlichen Grüßen

PD.Dr.med.I.Kausch

Doktorand Daniel Foss

Universitätsklinikum  
Schleswig-Holstein  
Anstalt des  
öffentlichen Rechts

Vorstandsmitglieder:  
Prof. Dr. Jens Scholz (Vorsitzender)  
Peter Pansegrau  
Christa Meyer

Bankverbindungen:  
Förde Sparkasse  
Kto.-Nr. 100 206, BLZ 210 501 70  
Commerzbank AG (vormals Dresdner Bank)  
Kto.-Nr. 300 041 200, BLZ 230 800 40



|                  |
|------------------|
| <b>Erklärung</b> |
|------------------|

Ich bin damit einverstanden, dass die Gewebeprobe unter der Verantwortung der Klinik & Poliklinik für Urologie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein für Studien mit den wissenschaftlich in Betracht kommenden Fragestellungen in verschlüsselter Form (Persönliche Daten wie Namen und Anschrift werden durch eine Codenummer ersetzt, die nur über eine Referenzliste zugeordnet werden kann) verwendet wird.

Ich bin damit einverstanden, dass ich keine Rückinformationen über die getätigte Forschung erhalte.

Widerruf der Zustimmung zur Probenverwendung:

Ich weiß, dass ich meine Zustimmung zur Verwendung meiner Gewebeprobe jederzeit und ohne Angaben von Gründen gegenüber der oben genannten Institution widerrufen kann und dass dies keinen Einfluss auf meine etwaige weitere ärztliche Behandlung hat.

Ich stimme zu, dass Krankheitsdaten aus meinen Krankenunterlagen unter der Verantwortung der oben genannten Institution für diese Studie in pseudonymisierter Form gespeichert und verarbeitet werden.

Widerruf der Zustimmung zur Datenverwendung:

Ich weiß, dass meine Zustimmung zur Verwendung meiner Daten jederzeit und ohne Angaben von Gründen gegenüber der einleitend genannten Institution widerrufen kann und dass dies keinen Einfluss auf meine etwaige ärztliche Behandlung hat. Im Falle eines Widerrufs bin ich einverstanden, dass meine Daten zu Kontrollzwecken gespeichert bleiben. Ich habe jedoch das Recht, deren Löschung zu verlangen, sofern gesetzliche Bestimmungen der Löschung nicht entgegenstehen.

-----  
Ort, Datum

-----  
Name in Druckschrift

-----  
Unterschrift

## 7.6 Auflistung Kreuztabellen nach dem Lok-rank-Test

MDR Färbeintensität \* Unterteilung des T3 Stadiums

|                     |        | Unterteilung des T3 Stadiums |    |        |
|---------------------|--------|------------------------------|----|--------|
|                     |        | A                            | B  | Gesamt |
| MDR Färbeintensität | 0      | 9                            | 8  | 17     |
|                     | 1      | 13                           | 23 | 36     |
|                     | 2      | 15                           | 15 | 30     |
|                     | Gesamt | 37                           | 46 | 83     |

P=0,396

MDR Färbeintensität \* N0/Nx vs N>0

|                     |        | N0/Nx vs N>0 |     |        |
|---------------------|--------|--------------|-----|--------|
|                     |        | N0/Nx        | >N0 | Gesamt |
| MDR Färbeintensität | 0      | 15           | 2   | 17     |
|                     | 1      | 32           | 4   | 36     |
|                     | 2      | 22           | 8   | 30     |
|                     | Gesamt | 69           | 14  | 83     |

P= 0,222

MDR Färbeintensität \* Grading

|                     |        | Grading |    |    |        |
|---------------------|--------|---------|----|----|--------|
|                     |        | 1       | 2  | 3  | Gesamt |
| MDR Färbeintensität | 0      | 2       | 9  | 6  | 17     |
|                     | 1      | 6       | 22 | 8  | 36     |
|                     | 2      | 1       | 23 | 6  | 30     |
|                     | Gesamt | 9       | 54 | 20 | 83     |

P=0,284

MDR Färbeintensität \* Histo dichotomisiert

|                     |        | Histo dichotomisiert |        |        |
|---------------------|--------|----------------------|--------|--------|
|                     |        | klarzellig           | Andere | Gesamt |
| MDR Färbeintensität | 0      | 15                   | 2      | 17     |
|                     | 1      | 35                   | 1      | 36     |
|                     | 2      | 25                   | 5      | 30     |
|                     | Gesamt | 75                   | 8      | 83     |

P=0,136

## Anhang

MDR Färbeintensität \* Größe dichotomisiert nach Median (8cm)

|                     |        | Größe dichotomisiert nach Median (8cm) |    |        |
|---------------------|--------|----------------------------------------|----|--------|
|                     |        | 1                                      | 2  | Gesamt |
| MDR Färbeintensität | 0      | 9                                      | 8  | 17     |
|                     | 1      | 20                                     | 16 | 36     |
|                     | 2      | 22                                     | 8  | 30     |
|                     | Gesamt | 51                                     | 32 | 83     |

P= 0,240

MDR Färbeintensität \* Größe nach TNM Einteilung

|                     |        | Größe nach TNM Einteilung |        |       |        |
|---------------------|--------|---------------------------|--------|-------|--------|
|                     |        | <4 cm                     | 4-7 cm | >7 cm | Gesamt |
| MDR Färbeintensität | 0      | 2                         | 5      | 10    | 17     |
|                     | 1      | 2                         | 15     | 19    | 36     |
|                     | 2      | 5                         | 10     | 15    | 30     |
|                     | Gesamt | 9                         | 30     | 44    | 83     |

P=0,629

MDR Färbeintensität \* Geschlecht

|                     |        | Geschlecht |    |        |
|---------------------|--------|------------|----|--------|
|                     |        | m          | W  | Gesamt |
| MDR Färbeintensität | 0      | 11         | 6  | 17     |
|                     | 1      | 23         | 13 | 36     |
|                     | 2      | 23         | 7  | 30     |
|                     | Gesamt | 57         | 26 | 83     |

P= 0,531.

MDR Färbeintensität \* op alter dichotomisiert nach median

|                     |        | op alter dichotomisiert nach median |               |        |
|---------------------|--------|-------------------------------------|---------------|--------|
|                     |        | bis 65 Jahre                        | Über 65 Jahre | Gesamt |
| MDR Färbeintensität | 0      | 9                                   | 8             | 17     |
|                     | 1      | 20                                  | 16            | 36     |
|                     | 2      | 14                                  | 16            | 30     |
|                     | Gesamt | 43                                  | 40            | 83     |

P=0,780

### MDR/Membran-Färbung

MDR/Membran dichotomisiert nach Median (20) \* Unterteilung des T3 Stadiums

|                                 |           | Unterteilung des T3 Stadiums |    |        |
|---------------------------------|-----------|------------------------------|----|--------|
|                                 |           | A                            | B  | Gesamt |
| MDRMembran                      | 0bis 20 % | 20                           | 23 | 43     |
| dichotomisiert nach Median (20) | über 20 % | 17                           | 23 | 40     |
|                                 | Gesamt    | 37                           | 46 | 83     |

P=0,826

MDR/Membran dichotomisiert nach Median (20) \* N0/Nx vs N>0

|                                 |           | N0/Nx vs N>0 |     |        |
|---------------------------------|-----------|--------------|-----|--------|
|                                 |           | N0/Nx        | >N0 | Gesamt |
| MDRMembran                      | 0bis 20 % | 37           | 6   | 43     |
| dichotomisiert nach Median (20) | über 20 % | 32           | 8   | 40     |
|                                 | Gesamt    | 69           | 14  | 83     |

P= 0,562.

MDR/Membran dichotomisiert nach Median (20) \* M0/Mx vs M1

|                                 |           | M0/Mx vs M1 |    |        |
|---------------------------------|-----------|-------------|----|--------|
|                                 |           | M0/Mx       | M1 | Gesamt |
| MDRMembran                      | 0bis 20 % | 37          | 6  | 43     |
| dichotomisiert nach Median (20) | über 20 % | 35          | 5  | 40     |
|                                 | Gesamt    | 72          | 11 | 83     |

P= 1,000

MDR/Membran dichotomisiert nach Median (20) \* Grading

|                                 |           | Grading |    |    |        |
|---------------------------------|-----------|---------|----|----|--------|
|                                 |           | 1       | 2  | 3  | Gesamt |
| MDRMembran                      | 0bis 20 % | 6       | 26 | 11 | 43     |
| dichotomisiert nach Median (20) | über 20 % | 3       | 28 | 9  | 40     |
|                                 | Gesamt    | 9       | 54 | 20 | 83     |

P=0,600

MDR/Membran dichotomisiert nach Median (20) \* Histo dichotomisiert

## Anhang

|                                 |           | Histo dichotomisiert |        |        |
|---------------------------------|-----------|----------------------|--------|--------|
|                                 |           | Klarzellig           | Andere | Gesamt |
| MDRMembran                      | 0bis 20 % | 40                   | 3      | 43     |
| dichotomisiert nach Median (20) | über 20 % | 35                   | 5      | 40     |
|                                 | Gesamt    | 75                   | 8      | 83     |

P=0,437

MDR/Membran dichotomisiert nach Median (20) \* Größe dichotomisiert nach Median (8cm)

|                                 |           | Größe dichotomisiert nach Median (8cm) |    |        |
|---------------------------------|-----------|----------------------------------------|----|--------|
|                                 |           | 1                                      | 2  | Gesamt |
| MDRMembran                      | 0bis 20 % | 26                                     | 17 | 43     |
| dichotomisiert nach Median (20) | über 20 % | 25                                     | 15 | 40     |
|                                 | Gesamt    | 51                                     | 32 | 83     |

P=1,000

MDR/Membran dichotomisiert nach Median (20) \* Größe nach TNM Einteilung

|                                 |           | Größe nach TNM Einteilung |        |       |        |
|---------------------------------|-----------|---------------------------|--------|-------|--------|
|                                 |           | <4 cm                     | 4-7 cm | >7 cm | Gesamt |
| MDRMembran                      | 0bis 20 % | 5                         | 15     | 23    | 43     |
| dichotomisiert nach Median (20) | über 20 % | 4                         | 15     | 21    | 40     |
|                                 | Gesamt    | 9                         | 30     | 44    | 83     |

P=1,000

MDR/Membran dichotomisiert nach Median (20) \* Geschlecht

|                                 |           | Geschlecht |    |        |
|---------------------------------|-----------|------------|----|--------|
|                                 |           | M          | W  | Gesamt |
| MDRMembran                      | 0bis 20 % | 28         | 15 | 43     |
| dichotomisiert nach Median (20) | über 20 % | 29         | 11 | 40     |
|                                 | Gesamt    | 57         | 26 | 83     |

P=0,489

MDR/Membran dichotomisiert nach Median (20) \* op alter dichotomisiert nach median

|            |           | op alter dichotomisiert nach median |               |        |
|------------|-----------|-------------------------------------|---------------|--------|
|            |           | bis 65 Jahre                        | Über 65 Jahre | Gesamt |
| MDRMembran | 0bis 20 % | 23                                  | 20            | 43     |

## Anhang

|                                    |           |    |    |    |
|------------------------------------|-----------|----|----|----|
| dichotomisiert nach Median<br>(20) | über 20 % | 20 | 20 | 40 |
|                                    | Gesamt    | 43 | 40 | 83 |

P= 0,827

### MDR/Zytoplasmafärbung

MDR Zytoplasmafärbung \* Unterteilung des T3 Stadiums

|                       |        | Unterteilung des T3 Stadiums |    |        |
|-----------------------|--------|------------------------------|----|--------|
|                       |        | A                            | B  | Gesamt |
| MDR Zytoplasmafärbung | 0      | 11                           | 11 | 22     |
|                       | 1      | 10                           | 17 | 27     |
|                       | 2      | 16                           | 18 | 34     |
|                       | Gesamt | 37                           | 46 | 83     |

P=0,644

MDR Zytoplasmafärbung \* N0/Nx vs N>0

|                       |        | N0/Nx vs N>0 |     |        |
|-----------------------|--------|--------------|-----|--------|
|                       |        | N0/Nx        | >N0 | Gesamt |
| MDR Zytoplasmafärbung | 0      | 20           | 2   | 22     |
|                       | 1      | 21           | 6   | 27     |
|                       | 2      | 28           | 6   | 34     |
|                       | Gesamt | 69           | 14  | 83     |

P=0,462

MDR Zytoplasmafärbung \* M0/Mx vs M1

|                       |        | M0/Mx vs M1 |    |        |
|-----------------------|--------|-------------|----|--------|
|                       |        | M0/Mx       | M1 | Gesamt |
| MDR Zytoplasmafärbung | 0      | 19          | 3  | 22     |
|                       | 1      | 24          | 3  | 27     |
|                       | 2      | 29          | 5  | 34     |
|                       | Gesamt | 72          | 11 | 83     |

P=1,000

MDR Zytoplasmafärbung \* Grading

|  |  | Grading |   |   |        |
|--|--|---------|---|---|--------|
|  |  | 1       | 2 | 3 | Gesamt |

## Anhang

|                       |        |   |    |    |    |
|-----------------------|--------|---|----|----|----|
| MDR Zytoplasmafärbung | 0      | 3 | 12 | 7  | 22 |
|                       | 1      | 2 | 21 | 4  | 27 |
|                       | 2      | 4 | 21 | 9  | 34 |
|                       | Gesamt | 9 | 54 | 20 | 83 |

P=0,515

MDR Zytoplasmafärbung \* Histo dichotomisiert

|                       |        | Histo dichotomisiert |        |        |
|-----------------------|--------|----------------------|--------|--------|
|                       |        | Klarzellig           | andere | Gesamt |
| MDR Zytoplasmafärbung | 0      | 20                   | 2      | 22     |
|                       | 1      | 25                   | 2      | 27     |
|                       | 2      | 30                   | 4      | 34     |
|                       | Gesamt | 75                   | 8      | 83     |

P=0,897

MDR Zytoplasmafärbung \* Größe dichotomisiert nach Median (8cm)

|                       |        | Größe dichotomisiert nach Median (8cm) |    |        |
|-----------------------|--------|----------------------------------------|----|--------|
|                       |        | 1                                      | 2  | Gesamt |
| MDR Zytoplasmafärbung | 0      | 14                                     | 8  | 22     |
|                       | 1      | 18                                     | 9  | 27     |
|                       | 2      | 19                                     | 15 | 34     |
|                       | Gesamt | 51                                     | 32 | 83     |

P=0,687

MDR Zytoplasmafärbung \* Größe nach TNM Einteilung

|                       |        | Größe nach TNM Einteilung |        |       |        |
|-----------------------|--------|---------------------------|--------|-------|--------|
|                       |        | <4 cm                     | 4-7 cm | >7 cm | Gesamt |
| MDR Zytoplasmafärbung | 0      | 3                         | 9      | 10    | 22     |
|                       | 1      | 1                         | 12     | 14    | 27     |
|                       | 2      | 5                         | 9      | 20    | 34     |
|                       | Gesamt | 9                         | 30     | 44    | 83     |

P= 0,411

MDR Zytoplasmafärbung \* Geschlecht

|  |  | Geschlecht |   |        |
|--|--|------------|---|--------|
|  |  | M          | w | Gesamt |

## Anhang

|                       |        |    |    |    |
|-----------------------|--------|----|----|----|
| MDR Zytoplasmafärbung | 0      | 13 | 9  | 22 |
|                       | 1      | 21 | 6  | 27 |
|                       | 2      | 23 | 11 | 34 |
|                       | Gesamt | 57 | 26 | 83 |

P=0,359

MDR Zytoplasmafärbung \* op alter dichotomisiert nach median

|                       |        | op alter dichotomisiert nach median |               |        |
|-----------------------|--------|-------------------------------------|---------------|--------|
|                       |        | bis 65 Jahre                        | über 65 Jahre | Gesamt |
| MDR Zytoplasmafärbung | 0      | 12                                  | 10            | 22     |
|                       | 1      | 14                                  | 13            | 27     |
|                       | 2      | 17                                  | 17            | 34     |
|                       | Gesamt | 43                                  | 40            | 83     |

P=0,961

### Bcl-2

bcl2 dichotomisiert nach Median (0) \* Unterteilung des T3 Stadiums

|                                     |                  | Unterteilung des T3 Stadiums |    |        |
|-------------------------------------|------------------|------------------------------|----|--------|
|                                     |                  | a                            | B  | Gesamt |
| bcl2 dichotomisiert nach Median (0) | negative Färbung | 31                           | 36 | 67     |
|                                     | postive Färbung  | 9                            | 13 | 22     |
|                                     | Gesamt           | 40                           | 49 | 89     |

P=0,806

bcl2 dichotomisiert nach Median (0) \* N0/Nx vs N>0

|                                     |                  | N0/Nx vs N>0 |     |        |
|-------------------------------------|------------------|--------------|-----|--------|
|                                     |                  | N0/Nx        | >N0 | Gesamt |
| bcl2 dichotomisiert nach Median (0) | negative Färbung | 54           | 13  | 67     |
|                                     | postive Färbung  | 20           | 2   | 22     |
|                                     | Gesamt           | 74           | 15  | 89     |

P=0,341

bcl2 dichotomisiert nach Median (0) \* Grading

|                          |                  | Grading |    |    |        |
|--------------------------|------------------|---------|----|----|--------|
|                          |                  | 1       | 2  | 3  | Gesamt |
| bcl2 dichotomisiert nach | negative Färbung | 7       | 43 | 17 | 67     |

## Anhang

|            |                 |    |    |    |    |
|------------|-----------------|----|----|----|----|
| Median (0) | postive Färbung | 3  | 15 | 4  | 22 |
|            | Gesamt          | 10 | 58 | 21 | 89 |

P=0,756

bcl2 dichotomisiert nach Median (0) \* Histo dichotomisiert

|                                     |                  | Histo dichotomisiert |        |        |
|-------------------------------------|------------------|----------------------|--------|--------|
|                                     |                  | klarzellig           | Andere | Gesamt |
| bcl2 dichotomisiert nach Median (0) | negative Färbung | 62                   | 5      | 67     |
|                                     | postive Färbung  | 18                   | 4      | 22     |
|                                     | Gesamt           | 80                   | 9      | 89     |

P= 0,216

bcl2 dichotomisiert nach Median (0) \* Größe dichotomisiert nach Median (8cm)

|                                     |                  | Größe dichotomisiert nach Median (8cm) |    |        |
|-------------------------------------|------------------|----------------------------------------|----|--------|
|                                     |                  | 1                                      | 2  | Gesamt |
| bcl2 dichotomisiert nach Median (0) | negative Färbung | 39                                     | 28 | 67     |
|                                     | postive Färbung  | 15                                     | 7  | 22     |
|                                     | Gesamt           | 54                                     | 35 | 89     |

P=0,460

bcl2 dichotomisiert nach Median (0) \* Größe nach TNM Einteilung

|                                     |                  | Größe nach TNM Einteilung |        |       |        |
|-------------------------------------|------------------|---------------------------|--------|-------|--------|
|                                     |                  | <4 cm                     | 4-7 cm | >7 cm | Gesamt |
| bcl2 dichotomisiert nach Median (0) | negative Färbung | 6                         | 23     | 38    | 67     |
|                                     | postive Färbung  | 3                         | 9      | 10    | 22     |
|                                     | Gesamt           | 9                         | 32     | 48    | 89     |

P=0,593

bcl2 dichotomisiert nach Median (0) \* Geschlecht

|                                     |                  | Geschlecht |    |        |
|-------------------------------------|------------------|------------|----|--------|
|                                     |                  | M          | W  | Gesamt |
| bcl2 dichotomisiert nach Median (0) | negative Färbung | 48         | 19 | 67     |
|                                     | postive Färbung  | 14         | 8  | 22     |
|                                     | Gesamt           | 62         | 27 | 89     |

P=0,594

## Anhang

bcl2 dichotomisiert nach Median (0) \* op alter dichotomisiert nach median

|                                     |                  | op alter dichotomisiert nach median |               |        |
|-------------------------------------|------------------|-------------------------------------|---------------|--------|
|                                     |                  | bis 65 Jahre                        | Über 65 Jahre | Gesamt |
| bcl2 dichotomisiert nach Median (0) | negative Färbung | 31                                  | 36            | 67     |
|                                     | postive Färbung  | 13                                  | 9             | 22     |
|                                     | Gesamt           | 44                                  | 45            | 89     |

P= 0,334

### P53

p53 Zytoplasmafärbung \* Unterteilung des T3 Stadiums

|                       |        | Unterteilung des T3 Stadiums |    |        |
|-----------------------|--------|------------------------------|----|--------|
|                       |        | A                            | B  | Gesamt |
| P53 Zytoplasmafärbung | 0      | 39                           | 49 | 88     |
|                       | 2      | 1                            | 0  | 1      |
|                       | Gesamt | 40                           | 49 | 89     |

P=0,449

p53 Zytoplasmafärbung \* N0/Nx vs N>0

|                       |        | N0/Nx vs N>0 |     |        |
|-----------------------|--------|--------------|-----|--------|
|                       |        | N0/Nx        | >N0 | Gesamt |
| P53 Zytoplasmafärbung | 0      | 73           | 15  | 88     |
|                       | 2      | 1            | 0   | 1      |
|                       | Gesamt | 74           | 15  | 89     |

P=1,00

p53 Zytoplasmafärbung \* M0/Mx vs M1

|                       |        | M0/Mx vs M1 |    |        |
|-----------------------|--------|-------------|----|--------|
|                       |        | M0/Mx       | M1 | Gesamt |
| P53 Zytoplasmafärbung | 0      | 77          | 11 | 88     |
|                       | 2      | 1           | 0  | 1      |
|                       | Gesamt | 78          | 11 | 89     |

P=1,00

p53 Zytoplasmafärbung \* Grading

|                       |   | Grading |    |    |        |
|-----------------------|---|---------|----|----|--------|
|                       |   | 1       | 2  | 3  | Gesamt |
| P53 Zytoplasmafärbung | 0 | 10      | 57 | 21 | 88     |

## Anhang

|  |        |    |    |    |    |
|--|--------|----|----|----|----|
|  | 2      | 0  | 1  | 0  | 1  |
|  | Gesamt | 10 | 58 | 21 | 89 |

P=1,00

p53 Zytoplasmafärbung \* Histo dichotomisiert

|                       |        | Histo dichotomisiert |        |        |
|-----------------------|--------|----------------------|--------|--------|
|                       |        | Klarzellig           | Andere | Gesamt |
| P53 Zytoplasmafärbung | 0      | 80                   | 8      | 88     |
|                       | 2      | 0                    | 1      | 1      |
|                       | Gesamt | 80                   | 9      | 89     |

P= 0,101

p53 Zytoplasmafärbung \* Größe dichotomisiert nach Median (8cm)

|                       |        | Größe dichotomisiert nach Median (8cm) |    |        |
|-----------------------|--------|----------------------------------------|----|--------|
|                       |        | 1                                      | 2  | Gesamt |
| P53 Zytoplasmafärbung | 0      | 53                                     | 35 | 88     |
|                       | 2      | 1                                      | 0  | 1      |
|                       | Gesamt | 54                                     | 35 | 89     |

P=1,000

p53 Zytoplasmafärbung \* Größe nach TNM Einteilung

|                       |        | Größe nach TNM Einteilung |        |       |        |
|-----------------------|--------|---------------------------|--------|-------|--------|
|                       |        | <4 cm                     | 4-7 cm | >7 cm | Gesamt |
| P53 Zytoplasmafärbung | 0      | 9                         | 32     | 47    | 88     |
|                       | 2      | 0                         | 0      | 1     | 1      |
|                       | Gesamt | 9                         | 32     | 48    | 89     |

P=1,000

p53 Zytoplasmafärbung \* Geschlecht

|                       |        | Geschlecht |    |        |
|-----------------------|--------|------------|----|--------|
|                       |        | M          | W  | Gesamt |
| P53 Zytoplasmafärbung | 0      | 61         | 27 | 88     |
|                       | 2      | 1          | 0  | 1      |
|                       | Gesamt | 62         | 27 | 89     |

P=1,000

p53 Zytoplasmafärbung \* op alter dichotomisiert nach median

|  |                                     |
|--|-------------------------------------|
|  | op alter dichotomisiert nach median |
|--|-------------------------------------|

## Anhang

|                       |        | bis 65 Jahre | über 65 Jahre | Gesamt |
|-----------------------|--------|--------------|---------------|--------|
| P53 Zytoplasmafärbung | 0      | 44           | 44            | 88     |
|                       | 2      | 0            | 1             | 1      |
|                       | Gesamt | 44           | 45            | 89     |

P=1,000

p53 dichotomisiert nach Median (10) \* Unterteilung des T3 Stadiums

|                         |         | Unterteilung des T3 Stadiums |    |        |
|-------------------------|---------|------------------------------|----|--------|
|                         |         | A                            | B  | Gesamt |
| P53 dichotomisiert nach | 0-10%   | 21                           | 26 | 47     |
| Median (10)             | 10-100% | 19                           | 23 | 42     |
|                         | Gesamt  | 40                           | 49 | 89     |

P=1,000

p53 dichotomisiert nach Median (10) \* N0/Nx vs N>0

|                         |         | N0/Nx vs N>0 |     |        |
|-------------------------|---------|--------------|-----|--------|
|                         |         | N0/Nx        | >N0 | Gesamt |
| P53 dichotomisiert nach | 0-10%   | 41           | 6   | 47     |
| Median (10)             | 10-100% | 33           | 9   | 42     |
|                         | Gesamt  | 74           | 15  | 89     |

P= 0,396

p53 dichotomisiert nach Median (10) \* M0/Mx vs M1

|                         |         | M0/Mx vs M1 |    |        |
|-------------------------|---------|-------------|----|--------|
|                         |         | M0/Mx       | M1 | Gesamt |
| P53 dichotomisiert nach | 0-10%   | 41          | 6  | 47     |
| Median (10)             | 10-100% | 37          | 5  | 42     |
|                         | Gesamt  | 78          | 11 | 89     |

P=1,000

p53 dichotomisiert nach Median (10) \* Histo dichotomisiert

|                         |         | Histo dichotomisiert |        |        |
|-------------------------|---------|----------------------|--------|--------|
|                         |         | klarzellig           | Andere | Gesamt |
| P53 dichotomisiert nach | 0-10%   | 43                   | 4      | 47     |
| Median (10)             | 10-100% | 37                   | 5      | 42     |
|                         | Gesamt  | 80                   | 9      | 89     |

P= 0,730

## Anhang

p53 dichotomisiert nach Median (10) \* Größe dichotomisiert nach Median (8cm)

|                                     |         | Größe dichotomisiert nach Median (8cm) |    |        |
|-------------------------------------|---------|----------------------------------------|----|--------|
|                                     |         | 1                                      | 2  | Gesamt |
| P53 dichotomisiert nach Median (10) | 0-10%   | 29                                     | 18 | 47     |
|                                     | 10-100% | 25                                     | 17 | 42     |
|                                     | Gesamt  | 54                                     | 35 | 89     |

P=1,000

p53 dichotomisiert nach Median (10) \* Größe nach TNM Einteilung

|                                     |         | Größe nach TNM Einteilung |        |       |        |
|-------------------------------------|---------|---------------------------|--------|-------|--------|
|                                     |         | <4 cm                     | 4-7 cm | >7 cm | Gesamt |
| P53 dichotomisiert nach Median (10) | 0-10%   | 2                         | 18     | 27    | 47     |
|                                     | 10-100% | 7                         | 14     | 21    | 42     |
|                                     | Gesamt  | 9                         | 32     | 48    | 89     |

P=0,171

p53 dichotomisiert nach Median (10) \* Geschlecht

|                                     |         | Geschlecht |    |        |
|-------------------------------------|---------|------------|----|--------|
|                                     |         | M          | W  | Gesamt |
| P53 dichotomisiert nach Median (10) | 0-10%   | 33         | 14 | 47     |
|                                     | 10-100% | 29         | 13 | 42     |
|                                     | Gesamt  | 62         | 27 | 89     |

P=1,000

p53 dichotomisiert nach Median (10) \* op alter dichotomisiert nach median

|                                     |         | op alter dichotomisiert nach median |               |        |
|-------------------------------------|---------|-------------------------------------|---------------|--------|
|                                     |         | bis 65 Jahre                        | über 65 Jahre | Gesamt |
| P53 dichotomisiert nach Median (10) | 0-10%   | 22                                  | 25            | 47     |
|                                     | 10-100% | 22                                  | 20            | 42     |
|                                     | Gesamt  | 44                                  | 45            | 89     |

P=0,637

### PAX-2

Pax 2 dichotomisiert nach Median (10) \* Unterteilung des T3 Stadiums

|  | Unterteilung des T3 Stadiums |
|--|------------------------------|
|--|------------------------------|

## Anhang

|                           |             | A  | B  | Gesamt |
|---------------------------|-------------|----|----|--------|
| Pax 2 dichotomisiert nach | 0 bis 10%   | 22 | 29 | 51     |
| Median (10)               | 11 bis 100% | 19 | 20 | 39     |
|                           | Gesamt      | 41 | 49 | 90     |

P=0,671

Pax 2 dichotomisiert nach Median (10) \* N0/Nx vs N>0

|                           |             | N0/Nx vs N>0 |     |        |
|---------------------------|-------------|--------------|-----|--------|
|                           |             | N0/Nx        | >N0 | Gesamt |
| Pax 2 dichotomisiert nach | 0 bis 10%   | 42           | 9   | 51     |
| Median (10)               | 11 bis 100% | 33           | 6   | 39     |
|                           | Gesamt      | 75           | 15  | 90     |

P=1,000

Pax 2 dichotomisiert nach Median (10) \* M0/Mx vs M1

|                           |             | M0/Mx vs M1 |    |        |
|---------------------------|-------------|-------------|----|--------|
|                           |             | M0/Mx       | M1 | Gesamt |
| Pax 2 dichotomisiert nach | 0 bis 10%   | 42          | 9  | 51     |
| Median (10)               | 11 bis 100% | 37          | 2  | 39     |
|                           | Gesamt      | 79          | 11 | 90     |

P=0,105.

Pax 2 dichotomisiert nach Median (10) \* Grading

|                           |             | Grading |    |    |        |
|---------------------------|-------------|---------|----|----|--------|
|                           |             | 1       | 2  | 3  | Gesamt |
| Pax 2 dichotomisiert nach | 0 bis 10%   | 7       | 34 | 10 | 51     |
| Median (10)               | 11 bis 100% | 3       | 25 | 11 | 39     |
|                           | Gesamt      | 10      | 59 | 21 | 90     |

P=0,474

Pax 2 dichotomisiert nach Median (10) \* Histo dichotomisiert

|                           |             | Histo dichotomisiert |        |        |
|---------------------------|-------------|----------------------|--------|--------|
|                           |             | Klarzellig           | Andere | Gesamt |
| Pax 2 dichotomisiert nach | 0 bis 10%   | 45                   | 6      | 51     |
| Median (10)               | 11 bis 100% | 36                   | 3      | 39     |
|                           | Gesamt      | 81                   | 9      | 90     |

P=0,726

## Anhang

Pax 2 dichotomisiert nach Median (10) \* Größe dichotomisiert nach Median (8cm)

|                                       |             | Größe dichotomisiert nach Median (8cm) |    |        |
|---------------------------------------|-------------|----------------------------------------|----|--------|
|                                       |             | 1                                      | 2  | Gesamt |
| Pax 2 dichotomisiert nach Median (10) | 0 bis 10%   | 29                                     | 22 | 51     |
|                                       | 11 bis 100% | 26                                     | 13 | 39     |
|                                       | Gesamt      | 55                                     | 35 | 90     |

P=0,388

Pax 2 dichotomisiert nach Median (10) \* Größe nach TNM Einteilung

|                                       |             | Größe nach TNM Einteilung |        |       |        |
|---------------------------------------|-------------|---------------------------|--------|-------|--------|
|                                       |             | <4 cm                     | 4-7 cm | >7 cm | Gesamt |
| Pax 2 dichotomisiert nach Median (10) | 0 bis 10%   | 5                         | 16     | 30    | 51     |
|                                       | 11 bis 100% | 4                         | 17     | 18    | 39     |
|                                       | Gesamt      | 9                         | 33     | 48    | 90     |

P=0,495

Pax 2 dichotomisiert nach Median (10) \* Geschlecht

|                                       |             | Geschlecht |    |        |
|---------------------------------------|-------------|------------|----|--------|
|                                       |             | M          | W  | Gesamt |
| Pax 2 dichotomisiert nach Median (10) | 0 bis 10%   | 36         | 15 | 51     |
|                                       | 11 bis 100% | 27         | 12 | 39     |
|                                       | Gesamt      | 63         | 27 | 90     |

P=1,000

Pax 2 dichotomisiert nach Median (10) \* op alter dichotomisiert nach median

|                                       |             | op alter dichotomisiert nach median |               |        |
|---------------------------------------|-------------|-------------------------------------|---------------|--------|
|                                       |             | bis 65 Jahre                        | über 65 Jahre | Gesamt |
| Pax 2 dichotomisiert nach Median (10) | 0 bis 10%   | 23                                  | 28            | 51     |
|                                       | 11 bis 100% | 22                                  | 17            | 39     |
|                                       | Gesamt      | 45                                  | 45            | 90     |

P=0,395

## Survivin

Survivin dichotomisiert nach Median (0) \* Unterteilung des T3 Stadiums

|  |  | Unterteilung des T3 Stadiums |   |        |
|--|--|------------------------------|---|--------|
|  |  | a                            | b | Gesamt |

## Anhang

|                              |        |    |    |    |
|------------------------------|--------|----|----|----|
| Survivin dichotomisiert nach | 0%     | 28 | 25 | 53 |
| Median (0)                   | >0%    | 13 | 24 | 37 |
|                              | Gesamt | 41 | 49 | 90 |

P=0,132

Survivin dichotomisiert nach Median (0) \* N0/Nx vs N>0

|                              |        | N0/Nx vs N>0 |     |        |
|------------------------------|--------|--------------|-----|--------|
|                              |        | N0/Nx        | >N0 | Gesamt |
| Survivin dichotomisiert nach | 0%     | 47           | 6   | 53     |
| Median (0)                   | >0%    | 28           | 9   | 37     |
|                              | Gesamt | 75           | 15  | 90     |

P=0,150

Survivin dichotomisiert nach Median (0) \* M0/Mx vs M1

|                              |        | M0/Mx vs M1 |    |        |
|------------------------------|--------|-------------|----|--------|
|                              |        | M0/Mx       | M1 | Gesamt |
| Survivin dichotomisiert nach | 0%     | 45          | 8  | 53     |
| Median (0)                   | >0%    | 34          | 3  | 37     |
|                              | Gesamt | 79          | 11 | 90     |

P= 0,515

Survivin dichotomisiert nach Median (0) \* Histo dichotomisiert

|                              |        | Histo dichotomisiert |        |        |
|------------------------------|--------|----------------------|--------|--------|
|                              |        | Klarzellig           | andere | Gesamt |
| Survivin dichotomisiert nach | 0%     | 49                   | 4      | 53     |
| Median (0)                   | >0%    | 32                   | 5      | 37     |
|                              | Gesamt | 81                   | 9      | 90     |

P=0,479

Survivin dichotomisiert nach Median (0) \* Größe dichotomisiert nach Median (8cm)

|                              |        | Größe dichotomisiert nach Median (8cm) |    |        |
|------------------------------|--------|----------------------------------------|----|--------|
|                              |        | 1                                      | 2  | Gesamt |
| Survivin dichotomisiert nach | 0%     | 31                                     | 22 | 53     |
| Median (0)                   | >0%    | 24                                     | 13 | 37     |
|                              | Gesamt | 55                                     | 35 | 90     |

P= 0,661

## Anhang

Survivin dichotomisiert nach Median (0) \* Größe nach TNM Einteilung

|                                         |        | Größe nach TNM Einteilung |        |       |        |
|-----------------------------------------|--------|---------------------------|--------|-------|--------|
|                                         |        | <4 cm                     | 4-7 cm | >7 cm | Gesamt |
| Survivin dichotomisiert nach Median (0) | 0%     | 7                         | 18     | 28    | 53     |
|                                         | >0%    | 2                         | 15     | 20    | 37     |
|                                         | Gesamt | 9                         | 33     | 48    | 90     |

P=0,494

Survivin dichotomisiert nach Median (0) \* Geschlecht

|                                         |        | Geschlecht |    |        |
|-----------------------------------------|--------|------------|----|--------|
|                                         |        | M          | W  | Gesamt |
| Survivin dichotomisiert nach Median (0) | 0%     | 39         | 14 | 53     |
|                                         | >0%    | 24         | 13 | 37     |
|                                         | Gesamt | 63         | 27 | 90     |

P=0,484

Survivin dichotomisiert nach Median (0) \* op alter dichotomisiert nach median

|                                         |        | op alter dichotomisiert nach median |               |        |
|-----------------------------------------|--------|-------------------------------------|---------------|--------|
|                                         |        | bis 65 Jahre                        | über 65 Jahre | Gesamt |
| Survivin dichotomisiert nach Median (0) | 0%     | 27                                  | 26            | 53     |
|                                         | >0%    | 18                                  | 19            | 37     |
|                                         | Gesamt | 45                                  | 45            | 90     |

P=1,000

## Danksagung

### **10. Danksagung:**

Am Ende dieser Arbeit möchte ich mich bei den Personen bedanken, die zu einem erfolgreichen Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Ganz besonders möchte ich mich bei meinem Doktorvater Herrn Prof Dr. med Ingo Kausch von Schmelling für die Bereitstellung des Themas bedanken. Vom ersten Tag an erfuhr ich zu jederzeit vollste Unterstützung bei Rückfragen und Problemen. Durch ihn war mir ein dezidierter Einblick in die aktuelle Forschung möglich.

Bedanken möchte ich mich auch bei Herrn Prof. Dr. Dieter Jocham, Direktor der Klinik für Urologie des UK-SH, für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und die Möglichkeit zur Durchführung der Arbeit an der Klinik für Urologie an der Universität zu Lübeck.

Ein großer Dank geht in Richtung Frau Warnick, die als Oberarztsekretärin jederzeit ansprechbar war und sämtliche logistische Probleme bewältigte.

Herrn Prof. Christoph Thorns, Mitarbeiter des Institutes für Pathologie an der Universität zu Lübeck, möchte ich für die allzeit konstruktive Kritik, Geduld und Mithilfe an dieser Arbeit danken.

Ein großes Dankeschön geht an die MTAs der Pathologie und Frau Thode für das Präsentieren und Durchführen der Färbungen.

Bedanken möchte ich mich bei Phillipe Korn. Durch die unglaubliche humorvolle, freundschaftliche und wissenschaftliche Zusammenarbeit wurde dieses Projekt zu einem unvergesslichen Erlebnis.

Meiner Tante Ingrid Pauls möchte ich für die Hilfe beim Gesamtaufbau und der Orthographie danken.

Zuletzt möchte ich mich bei meinen Eltern Gudrun Foss und Dr.med.dent. Björn Foss, sowie meinen beiden Schwestern Nadine Lühns und Kristin Foss bedanken, ohne einen solchen familiären Rückhalt wäre das ganze Studium und diese Dissertation nie möglich gewesen.

## Lebenslauf

### **11. Lebenslauf:**

Name: Daniel Foss  
Geburtsdatum: 20.12.1978  
Geburtsort: Cuxhaven  
Familienstand: ledig

### **Schulbildung:**

1985 – 1991 Grundschole und Orientierungsstufe in Cuxhaven  
1991 – 1998 Lichtenberg Gymnasium Cuxhaven, Abschluss: Abitur

### **Hochschulausbildung:**

Herbst 2001 Beginn des Studium der Medizin an der Ernst- Moritz- Arndt-  
Universität in Greifswald  
September 2004 Physikum  
Herbst 04 - Herbst 05 Studium des 5. und 6. Fachsemesters an der EMAU  
Herbst 05 – Frühjahr 07 Studium an der Universität zu Lübeck  
August 07 – Juli 08 Praktisches Jahr  
1. Tertial: Chirurgie, Inselspital Bern, Schweiz  
2. Tertial: Anästhesiologie, Universität Lübeck  
3. Tertial: Innere Medizin, Haukeland Universitetssykehus,  
Norwegen  
November 08 2. Abschnitt der ärztlichen Prüfung