

Aus der Klinik für Urologie
des Helios Klinikums Bad Saarow

DISSERTATION

Survivin und ERCC-1 als prognostische Marker
beim Harnblasenkarzinom unter
verschiedenen Therapieregimen

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Adisch Kiani

aus Heidelberg

Datum der Promotion: 04.06.2021

Inhaltsverzeichnis

1. Tabellenverzeichnis	IV
2. Abbildungsverzeichnis	V
3. Abkürzungsverzeichnis	VII
4. Abstracts	VIII
4.1 Deutsche Version	VIII
4.2 Englische Version	IX
5. Einleitung	1
5.1 Anatomie der Harnblase	1
5.1.1 Makroskopisch	1
5.1.2 Mikroskopisch	2
5.2 Das Harnblasenkarzinom	2
5.2.1 Epidemiologie	2
5.2.2 Ätiologie	2
5.2.3 Symptome	4
5.2.4 Klassifikation und Stadien	5
5.2.4.1 Histologie und Lokalisation	5
5.2.4.2 TNM-Klassifikation	5
5.2.4.3 Grading	5
5.2.5 Diagnostik	8
5.2.6 Therapie	9
5.2.6.1 Stellenwert der radikalen Zystektomie	9
5.2.6.2 Stellenwert der Chemotherapie beim Harnblasenkarzinom	10
5.3 Cisplatin-Resistenz	11
5.4 Survivin	11
5.5 ERCC-1	12
5.6 Zielsetzung und Fragestellungen	14
6. Methodik	15
6.1 Patienten und Material	15

6.1.1	Patientenkollektiv	15
6.1.2	Patientencharakteristika	15
6.1.2.1	Gruppe I: Keine Chemotherapie	16
6.1.2.2	Gruppe II: Neoadjuvante Chemotherapie	17
6.1.2.3	Gruppe III: Adjuvante Chemotherapie	18
6.1.3	Art der untersuchten Proben	19
6.2	Immunhistochemische Untersuchung	22
6.2.1	Indirektes Nachweisverfahren	22
6.2.2	Entparaffinierung, Antigendemaskierung und Hemmung der endogenen Enzymaktivität	22
6.2.3	Spezifische Färbung	23
6.2.4	Gegenfärbung und Einbettung	24
6.3	Interpretation der immunhistologischen Analyse	24
6.4	Statistik	26
7.	Ergebnisse	27
7.1	Expressionshöhen der Marker	27
7.1.1	Gruppe I: Keine Chemotherapie	27
7.1.2	Gruppe II: Neoadjuvante Chemotherapie	27
7.1.3	Gruppe III: Adjuvante Chemotherapie	28
7.2	Korrelationen zwischen der Marker und den klinisch pathologischen und histopathologischen Charakteristika	30
7.2.1	Gruppe I: Keine Chemotherapie	30
7.2.2	Gruppe II: Neoadjuvante Chemotherapie	31
7.2.3	Gruppe III: Adjuvante Chemotherapie	32
7.3	Tumorspezifisches Überleben in Abhängigkeit der Marker	37
7.3.1	Gruppe I: Keine Chemotherapie	37
7.3.2	Gruppe II: Neoadjuvante Chemotherapie	38
7.3.3	Gruppe III: Adjuvante Chemotherapie	39
7.4	Tumorspezifisches Überleben bei hoher Markerexpression und unterschiedlichen Therapieregimen	46
7.5	Tumorspezifisches Überleben bei niedriger Markerexpression und unterschiedlichen Therapieregimen	49

8. Diskussion	52
8.1 Prognostische Aussagekraft der Marker auf die klinisch pathologischen und histopathologischen Charakteristika	52
8.2 Prognostische Aussagekraft der Marker auf das tumorspezifische Überleben	58
8.3 Limitationen im Vergleich der verschiedenen Studien zu den Markern beim Harnblasenkarzinom	62
8.4 Therapieentscheidung in Abhängigkeit der Marker	63
9. Schlussfolgerungen	65
10. Literaturverzeichnis	66
11. Eidesstaatliche Versicherung	73
12. Lebenslauf	74
13. Danksagung	77

1. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Dauer des Rauchens und Menge der gerauchten Zigaretten bei Männern und Harnblasenkarzinom	3
Tabelle 2:	Dauer des Rauchens bei Frauen und Harnblasenkarzinom	3
Tabelle 3:	TNM-Klassifikation S3 Leitlinien	7
Tabelle 4:	Patientencharakteristika	20
Tabelle 5:	Expressionshöhen von Survivin	29
Tabelle 6:	Expressionshöhen und Intensitätshöhen von ERCC-1	29
Tabelle 7:	Gruppe I – Korrelationen zwischen der Marker und den klinisch pathologischen und histopathologischen Charakteristika	34
Tabelle 8:	Gruppe II – Korrelationen zwischen der Marker und den klinisch pathologischen und histopathologischen Charakteristika	35
Tabelle 9:	Gruppe III – Korrelationen zwischen der Marker und den klinisch pathologischen und histopathologischen Charakteristika	36

2. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	T-Stadien des Harnblasenkarzinoms mit schematischer Darstellung der Invasionstiefe in die Harnblasenwand	6
Abbildung 2:	Immunhistochemische Färbung von Survivin im Zytoplasma: niedrige Expression (A) und hohe Expression (B)	25
Abbildung 3:	Immunhistochemische Färbung von Survivin im Zellkern: niedrige Expression (A) und hohe Expression (B)	25
Abbildung 4:	Immunhistochemische Färbung von ERCC-1 im Zellkern: niedrige Intensität (A) und hohe Intensität (B)	25
Abbildung 5:	Exemplarische Kontrollfärbung	25
Abbildung 6:	Kaplan-Meier-Kurve – Gruppe I: Tumorspezifisches Überleben in Abhängigkeit der Survivin Expression im Zytoplasma (A) und im Zellkern (B)	40
Abbildung 7:	Kaplan-Meier-Kurve – Gruppe I: Tumorspezifisches Überleben in Abhängigkeit der ERCC-1 Expression im Zellkern (A) und der ERCC-1 Intensität (B)	41
Abbildung 8:	Kaplan-Meier-Kurve – Gruppe II: Tumorspezifisches Überleben in Abhängigkeit der Survivin Expression im Zytoplasma (A) und im Zellkern (B)	42
Abbildung 9:	Kaplan-Meier-Kurve – Gruppe II: Tumorspezifisches Überleben in Abhängigkeit der ERCC-1 Expression im Zellkern (A) und der ERCC-1 Intensität (B)	43
Abbildung 10:	Kaplan-Meier-Kurve – Gruppe III: Tumorspezifisches Überleben in Abhängigkeit der Survivin Expression im Zytoplasma (A) und im Zellkern (B)	44
Abbildung 11:	Kaplan-Meier-Kurve – Gruppe III: Tumorspezifisches Überleben in Abhängigkeit der ERCC-1 Expression im Zellkern (A) und der ERCC-1 Intensität (B)	45
Abbildung 12:	Vergleich tumorspezifisches Überleben von Patientenkollektiven mit hoher Expression von Survivin im Zytoplasma (A) und im Zellkern (B) bei verschiedenen Therapieregimen	47
Abbildung 13:	Vergleich tumorspezifisches Überleben von Patientenkollektiven mit hoher Expression von ERCC-1 im Zellkern (A) und ERCC-1 Intensität (B) bei verschiedenen Therapieregimen	48

- Abbildung 14: Vergleich tumorspezifisches Überleben von Patientenkollektiven mit niedriger Expression von Survivin im Zytoplasma (A) und im Zellkern (B) bei verschiedenen Therapieregimen 50
- Abbildung 15: Vergleich tumorspezifisches Überleben von Patientenkollektiven mit niedriger Expression von ERCC-1 im Zellkern (A) und ERCC-1 Intensität (B) bei verschiedenen Therapieregimen 51

3. Abkürzungsverzeichnis

APAAP	Alkalische Phosphatase-Anti-Alkalische Phosphatase
BIR	Baculoviral IAP repeat
bzw.	beziehungsweise
CR	Chemotherapieregime
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ERCC-1	Excision-repair-cross-complementation-group 1
GC	Gemcitabin, Cisplatin
HE	Hämatoxylin-Eosin
IAP	Inhibitor of apoptosis
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
MVAC	Methotrexat, Vinblastin, Adriblastin, Cisplatin
MVEC	Methotrexat, Vinblastin, Epirubicin, Cisplatin
NER	Nukleotid Excision Repair
PAP	Peroxidase-Anti-Peroxidase
PCG	Paclitaxel, Cisplatin, Gemcitabin
pH	potentia hydrogenii
RZ	radikale Zystektomie
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
T-Stadium	Tumor-Stadium
TBS	Tris-gepufferter Kochsalzlösung
TMA	Tissue-Microarray
TNM	Tumor-Nodes-Metastases
TUR-B	Transurethrale Resektion der Blase
UICC	Union Internationale contre le Cancer
WHO	World Health Organisation

4. Abstracts

4.1 Deutsche Version

In den letzten Jahren stieg die Zahl der Harnblasenkarzinomfälle. Im Jahr 2013 erkrankten deutschlandweit etwa 29.500 Menschen an einem Harnblasenkarzinom und etwa 5.900 Erkrankte verstarben daran.

Nach aktuellem Kenntnisstand werden für das Harnblasenkarzinom keine prognostische Marker verwendet. Gezielt Marker beim Harnblasenkarzinom, wie zum Beispiel für die individuelle Prognose oder der individuellen Therapieplanung, einsetzen zu können, würde einen sehr großen Fortschritt in der Harnblasenkarzinomforschung bewirken.

Die Arbeit befasst sich genau mit dieser Thematik und hat das Ziel der Eruiierung des prognostischen Werts der Marker Survivin und ERCC-1 beim Harnblasenkarzinom, sowie die Analyse des möglichen Einflusses der genannten Marker auf die Therapieentscheidung.

Die vorliegende internationale und multizentrische Studie integrierte insgesamt 288 Patienten, die aufgrund ihres Harnblasenkarzinoms radikal zystektomiert wurden. Dabei besteht das gesamte Patientenkollektiv aus drei verschiedenen Gruppen, die unterschiedlich therapiert wurden. Patienten aus Gruppe I erhielten neben der radikalen Zystektomie keine Chemotherapie. Diejenigen aus Gruppe II erhielten daneben eine neoadjuvante Chemotherapie und diejenigen aus Gruppe III erhielten eine adjuvante Chemotherapie.

Zur Detektion der Marker im Harnblasenkarzinomgewebe erfolgte die immunhistologische Färbung der Tissue-Microarrays und die anschließende Auswertung der Expressions- und Intensitätshöhen.

Die Ergebnisse zeigten einen signifikanten Zusammenhang zwischen einer hohen Expression von Survivin im Zytoplasma ($p = 0,048$), sowie einen tendenziell signifikanten Zusammenhang für eine hohe Expression von Survivin im Zellkern ($p = 0,058$), und dem Auftreten von Lymphknotenmetastasen.

Ebenfalls zeigten Patienten mit einer hohen Survivinexpression im Zytoplasma ein tendenziell signifikant schlechteres tumorspezifisches Überleben ($p = 0,070$).

Für den Marker ERCC-1 zeigte sich ebenfalls ein tendenziell signifikanter Zusammenhang zwischen Expressionshöhe ($p = 0,055$) bzw. Intensität ($p = 0,051$) und dem Auftreten von Lymphknotenmetastasen – allerdings nicht wie erwartet prognostisch ungünstig für Patienten mit einer hohen Expression bzw. Intensität,

sondern eher prognoseverbessernd.

Übereinstimmend hierzu zeigten Patienten mit einer hohen ERCC-1 Expression im Zellkern ein tendenziell signifikant längeres tumorspezifisches Überleben als Patienten mit niedriger Expression ($p = 0,095$).

Patienten mit einer hohen Survivinexpression im Zytoplasma schienen signifikant von einer neoadjuvanten Chemotherapie zu profitieren ($p = 0,023$).

Ebenfalls zeigten Patienten mit einer niedrigen Expression von Survivin im Zellkern ebenfalls nach neoadjuvanter Chemotherapie ein längeres tumorspezifisches Überleben zu zeigen ($p = 0,001$).

Die neoadjuvante Chemotherapie schien sich auch signifikant bei Patienten mit einer niedrigen ERCC-1 Expression ($p = 0,010$) und Intensität ($p = 0,023$) zu bewähren.

Survivin und ERCC-1 haben Potential sich in der Behandlung des Harnblasenkarzinoms zu etablieren, allerdings sind weitere Studien notwendig, da auch einige Ergebnisse kontrovers zu den Ergebnissen der bestehenden Literatur stehen.

4.2 Englische Version

In recent years, the number of bladder cancer cases has increased.

According to current knowledge, no prognostic markers are used for bladder carcinoma. The targeted use of markers for bladder carcinoma, for example for individual prognosis or individual therapy planning, would bring about a huge progress in bladder cancer research.

The aim of our work is to determine the prognostic value of the markers Survivin and ERCC-1 in bladder cancer and to analyze the possible influence of these markers on therapy decisions.

The present international and multicenter study integrated a total of 288 patients who had undergone radical cystectomy for bladder cancer. The entire patient population consists of three different groups that were treated differently. Patients from group I received no chemotherapy in addition to radical cystectomy, those from group II received neoadjuvant chemotherapy and those from group III were treated with adjuvant chemotherapy.

To detect the markers in the tissue, immunohistological staining of the tissue-microarrays and subsequent evaluation of the expression and intensity levels was performed.

Our results showed a significant association between a high expression of survivin in the cytoplasm ($p = 0.048$), as well as a tendentially significant association for a high expression of survivin in the nucleus ($p = 0.058$), and the occurrence of lymph node metastases.

Patients with a high survival expression in the cytoplasm also tended to show significantly worse tumor-specific survival ($p = 0.070$).

The marker ERCC-1 also showed a tendency to show a significant correlation between expression level ($p = 0.055$) or intensity ($p = 0.051$) and the occurrence of lymph node metastases. However, not as expected prognostically unfavorable for patients with a high expression or intensity, but rather prognostically improving.

Correspondingly, patients with high ERCC-1 expression in the cell nucleus tended to have significantly longer tumor-specific survival than patients with low expression ($p = 0.095$).

Patients with a high survival expression in the cytoplasm seemed to benefit significantly from neoadjuvant chemotherapy ($p = 0.023$).

Also patients with a low expression of survivin in the cell nucleus also showed a longer tumor-specific survival after neoadjuvant chemotherapy ($p = 0.001$).

Neoadjuvant chemotherapy also appeared to be significantly effective in patients with low ERCC-1 expression ($p = 0.010$) and intensity ($p = 0.023$).

Survivin and ERCC-1 have potential to become established in the treatment of bladder cancer, but further studies are needed as some results are controversial to those in the existing literature.

5. Einleitung

5.1 Anatomie der Harnblase

5.1.1 Makroskopisch

Die Harnblase (Vesica urinaria) ist ein muskuläres Hohlorgan, welches die Funktion des Harntransports und der Harnspeicherung hat. Sie liegt extraperitoneal zentral im kleinen Becken und weist eine kugelförmige Form auf. Dabei ist die Form stark vom Füllungsgrad der Blase abhängig. Eine gesunde Harnblase kann insgesamt das Volumen von 1500 ml Urin tragen, der Harndrang vom Menschen entsteht allerdings schon bei 250–500 ml (1).

Der Aufbau der Harnblase ist in vier Abschnitte unterteilt:

1. Apex vesicae (Harnblasenspitze)
2. Corpus vesicae (Harnblasenkörper)
3. Fundus vesicae (Blasengrund) mit Trigonum vesicae
4. Cervix vesicae (Blasenhals) (1).

Die Harnblasespitze (Apex vesicae) stellt den kranialen und ventralen Bereich der Harnblase dar und wird vom Peritoneum überzogen. Dieser Bereich geht über in den Harnblasenkörper, der den Hauptanteil der Harnblase darstellt. Seitlich am Blasengrund, dem Fundus vesicae, münden die beiden Ureteren. Die Mündungsstellen der Ureteren werden Ureterostien genannt. Der Blasengrund bildet den kaudalen Bereich der Harnblase. Dort findet man das sogenannte Trigonum vesicae, welches ein Dreieck darstellt, das von den beiden Ureterostien und der Urethra (Harnröhre) gebildet wird. Das Besondere am Trigonum vesicae ist die Verwachsung zwischen Muskulatur und Blasenschleimhaut, welche zur Folge hat, dass keine Schleimhautfalten an dieser Stelle vorhanden sind. Der Blasenhal (Cervix vesicae) ist ein enger, kaudaler Übergang in die Harnröhre, auch Urethra genannt (1).

Im ungefüllten Zustand weist die Harnblasenwand eine Dicke von 5-7 mm auf, im gefüllten Zustand ist sie 1,5-2 mm dick. Entleert weist die Harnblase Schleimhautfalten auf, welche mit zunehmendem Füllungsgrad verstreichen. Am Trigonum vesicae sind auch im vollständig entleerten Zustand keine Falten aufzufinden (1).

5.1.2 Mikroskopisch

Die Harnblasenwand ist in drei Schichten aufgeteilt: Tunica mucosa, Tunica muscularis und Tunica adventitia (1).

Die innerste Schicht ist die Tunica mucosa, sie trägt an ihrer Oberfläche Urothel. Das Urothel stellt ein sogenanntes Übergangsepithel dar. Das Urothel kann sich je nach Füllungszustand respektive Dehnungszustand umorientieren. Bei einem leeren Füllungszustand sind die Urothelzellen hochprismatisch. Nimmt der Füllungszustand allerdings zu, werden die Urothelzellen zunehmend platter. Des Weiteren gehört zur Tunica mucosa die Lamina propria, welche eine lockere Bindegewebsschicht darstellt und die Faltenbildung ermöglicht (1).

Die nächste Schicht stellt die Tunica muscularis dar. Hierbei handelt es sich um glatte Muskulatur, die für die Blasenentleerung zuständig ist (M. detrusor vesicae). Der M. sphincter vesicae internus ist der Blasenschließmuskel, der auch eine glatte Muskulatur aufweist. Die äußerste Schicht wird von der Tunica adventitia gebildet und stellt das umgebende Bindegewebe dar (1).

5.2 Das Harnblasenkarzinom

5.2.1 Epidemiologie

Das Harnblasenkarzinom ist eine maligne Erkrankung, an der in Deutschland im Jahr 2013 etwa 22.300 Männer und 7.200 Frauen neu erkrankten. Dabei zeigten Männer bei Diagnosestellung ein mittleres Erkrankungsalter von 71,9 Jahren, Frauen hingegen erkrankten im Mittel mit 73,4 Jahren (2).

Am Harnblasenkarzinom sind in Deutschland im Jahr 2013 etwa 1.900 Frauen und knapp 4.000 Männer verstorben. Das mittlere Sterbealter betrug bei Frauen 80,3 Jahre und bei Männern etwas jünger mit 77,8 Jahren (2).

5.2.2 Ätiologie

Die Ätiologie des Harnblasenkarzinoms weist verschiedene Ursachen auf. Hauptrisikofaktoren der Harnblasenkarzinogenese sind Rauchen, aromatische Amine, Harnwegsinfekte aber auch Medikamente.

Etliche Studien zeigen übereinstimmend ein erhöhtes Risiko für Zigarettenraucher, an einem Harnblasenkarzinom zu erkranken. Ein wesentlicher Faktor für die Bestimmung des erhöhten Risikos ist die Dauer des Nikotinkonsums und die Anzahl der gerauchten Zigaretten pro Tag. Beispielhaft werden hier die Zahlen aus der Studie von Brennan et

al. aufgezeigt, welche den Einfluss der Dauer und der Menge des Nikotinkonsums auf das Harnblasenkarzinom aufzeigen (Tabellen 1 und 2) (3), (4). Die karzinogene Wirkung des Nikotins liegt in dem enthaltendem 2-Naphtylamin (5).

Tabelle 1: Dauer des Rauchens und Menge der gerauchten Zigaretten bei Männern und Harnblasenkarzinom

Dauer (Jahre)	1-9 Zigaretten/Tag RR (95 % KI)	10-19 Zigaretten/Tag RR (95 % KI)	20-29 Zigaretten/Tag RR (95 % KI)	≥ 30 Zigaretten/Tag RR (95 % KI)
1 - 9	1,3 (0,8 - 1,9)	1,4 (0,7 - 2,5)	0,9 (0,3 - 3,2)	0,4 (0,1 - 3,5)
10 - 19	2,0 (1,4 - 2,8)	2,1 (1,5 - 2,9)	1,5 (0,8 - 3,0)	2,2 (1,2 - 3,9)
20 - 29	2,0 (1,4 - 2,7)	2,8 (2,1 - 3,6)	3,6 (2,5 - 5,3)	4,2 (2,8 - 6,4)
30 - 39	2,2 (1,7 - 2,9)	4,3 (3,5 - 5,2)	5,8 (4,3 - 7,8)	4,3 (3,1 - 6,0)
≥ 40	3,2 (2,6 - 4,1)	5,1 (4,3 - 6,1)	5,7 (4,4 - 7,4)	5,2 (3,9 - 6,9)

Quelle: S3 Leitlinien Harnblasenkarzinom, nach Brennan et al. 2000 (3)

Tabelle 2: Dauer des Rauchens bei Frauen und Harnblasenkarzinom

Dauer (Jahre)	RR (95 % KI)*
1 - 9	1,0
10 - 19	1,2 (0,6 - 2,3)
20 - 29	1,3 (0,7 - 2,5)
30 - 39	1,9 (1,1 - 3,5)
≥ 40	2,0 (1,1 - 3,5)

* Adjustiert nach Alter, Zentrum und Anzahl der Zigaretten/Tag

Quelle: S3 Leitlinien Harnblasenkarzinom, nach Brennan et al. 2001 (4)

Ein weiterer Risikofaktor für die Entwicklung eines Harnblasenkarzinoms sind die aromatischen Amine. Vor allem sind Arbeiter in der Leder-, Farb-, und Textilindustrie einer erhöhten Exposition gegenüber aromatischen Aminen ausgesetzt und weisen damit ein erhöhtes Profilrisiko auf, an einem Harnblasenkarzinom zu erkranken. In diesen Branchen wird das Harnblasenkarzinom als Berufskrankheit anerkannt. Es wird geschätzt, dass 25 % der Harnblasenkarzinome auf die berufliche Exposition gegenüber den aromatischen Aminen zurückgehe (6).

Eine gesicherte karzinogene Wirkung auf die Harnblasenkarzinogenese zeigen folgende aromatische Amine: 2-Naphtylamin, Benzidin, 4-Aminobiphenyl, Dichlorbenzidin, Orthodianisidin, Phenacetin, Chlornaphazin, Cyclophosphamid, 44-Methylen-2-chloranilin, Auramin, Magenta und Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (7).

Kantor et al. konnten in ihrer Studie zeigen, dass Menschen mit Harnwegsinfekten in der Vergangenheit ein erhöhtes Risiko zeigten, an einem Plattenepithelkarzinom der Harnblase zu erkranken. Dieses Risiko war vor allem bei denjenigen erhöht, die in der Vergangenheit an drei oder mehr Harnwegsinfekten erkrankt waren. Sie zeigten außerdem, dass das Risiko an einem Plattenepithelkarzinom der Harnblase zu erkranken bei solchen Personen höher liege, die an Harnblasensteinen litten. Ein erhöhtes Risiko bei Personen mit Nierensteinen in der Vergangenheit konnte sich allerdings nicht zeigen (8).

Die Bilharziose stellt eine Besonderheit in der Harnwegsinfektion dar. Ist bei Patienten, die an einer Bilharziose leiden, die Harnblase mitbetroffen, steigt für sie das Risiko, an einem Plattenepithelkarzinom der Harnblase zu erkranken, erheblich. In der Studie Salem et al. konnte allerdings über die letzten Jahre ein Rückgang in dem Auftreten eines Plattenepithelkarzinoms der Harnblase nach Bilharziose und hingegen eine Zunahme in dem Auftreten eines Urothelkarzinoms der Harnblase nach Bilharziose gezeigt werden (9).

Des Weiteren wurde ein erhöhtes Auftreten von Harnblasenkarzinomen bei Patienten mit einer Dauerkatheterisierung gezeigt (10).

In der Studie Baker et al. zeigten insgesamt 5 % der Patienten, die mit dem Arzneistoff Cyclophosphamid behandelt wurden, im Verlauf ein Harnblasenkarzinom (11). Auch in der Studie von Fairchild et al. zeichnete sich – im Vergleich zu der Patientengruppe ohne Cyclophosphamidbehandlung – eine neunfach erhöhte Harnblasenkarzinominzidenz bei der Patientengruppe mit einer Cyclophosphamidbehandlung ab (12).

5.2.3 Symptome

Das häufigste Erstsymptom des Harnblasenkarzinoms stellt die schmerzlose Makrohämaturie dar. Daneben können auch andere irritative Symptome auftreten, wie beispielsweise das Leiden unter einer Polakisurie, welche einen gehäuften Harndrang mit geringer Miktion bezeichnet. Es kann auch eine erschwerte beziehungsweise (bzw.) schmerzhafte Harnblasenentleerung vorliegen, welche als Dysurie bezeichnet wird. Rezidivierende Harnwegsinfekte, insbesondere beim über 40-Jährigen, sollten

ebenfalls an die Differentialdiagnose eines Harnblasenkarzinoms denken lassen.

Im späteren Stadium kann das Harnblasenkarzinom zu einer Harnstauungsniere und damit resultierenden Flankenschmerzen führen (13).

5.2.4 Klassifikation und Stadien

5.2.4.1 Histologie und Lokalisation

Bei den Harnblasenkarzinomen handelt es sich in 95 % der Fälle um Urothelkarzinome, also einem Karzinom, welches vom Übergangsepithel ausgeht. Demgegenüber sind Plattenepithelkarzinome mit nur 2,8 % vertreten und Adenokarzinome machen einen Anteil von 1,9 % beim Harnblasenkarzinom aus (14).

Das Urothelkarzinom findet man am häufigsten - in 46 % der Fälle - an den Seitenwänden der Harnblase. Es taucht zu 18 % an der Blasen hinterwand auf, zu 13 % am Trigonum vesicae, zu 9 % am Blasendach, zu 8 % an der Blasen vorderwand und zu 6 % am Blasen hals. Allerdings kommt das Urothelkarzinom nicht nur in der Harnblase vor, sondern auch im Nierenbecken und im Ureter (15).

5.2.4.2 TNM-Klassifikation

Das Staging des Harnblasenkarzinoms erfolgt über das TNM Klassifikationssystem, welches eine Klassifikation der Union Internationale contre le Cancer (UICC) ist und die Einteilung maligner Tumore erlaubt. Das Staging ist von großer Bedeutung für die weitere Therapieplanung und spielt eine bedeutende Rolle in der Prognose für die Überlebenschancen der Erkrankten. Die Klassifikation gibt Auskunft über die Tumorausbreitung im Gesamtorganismus. Hierbei steht T (Tumor) für die Infiltrationstiefe des Primärtumors in die Harnblasenwand (*Abbildung 1*).

Der Lymphknotenstatus N (Nodes) beschreibt, ob regionäre Lymphknoten mitbetroffen sind und ggf. deren Ausmaß. Die M-Klassifizierung (M = Metastasen) dient der Beschreibung eventueller Fernmetastasen. Die *Tabelle 1* zeigt die aktuelle TNM-Klassifikation des Harnblasenkarzinoms nach S3-Leitlinien (16).

5.2.4.3 Grading

Zur Tumorbeschreibung gehört neben dem Staging auch das Grading. Das Grading beschreibt den Malignitätsgrad eines Tumors, welcher durch die Morphologie und die Differenzierung des Tumors charakterisiert wird. Mit steigender Entdifferenzierung steigt das Grading des Harnblasenkarzinoms.

Die Klassifikation des Gratings erfolgte gemäß der 1973 von der World Health Organisation (WHO) in drei Differenzierungsgrade: G1-G3. Diese Klassifikation ist heutzutage veraltet. Seit 2004 gilt die neue WHO Klassifikation; diese erfolgt durch die Einteilung der Harnblasenkarzinome in „low grade“ und „high grade“ (17). Für die Unterscheidung zwischen low und high grade wird auf die Zellschichtung, die Zellform, Anzahl der Mitosen, Nukleonengröße und zytologische Veränderungen geachtet (18). Das low grade Harnblasenkarzinom weist nur geringe Veränderungen in der Zellschichtung und der Zellform auf, wohingegen das high grade Harnblasenkarzinom deutliche Zellschichtungsstörungen, vergrößerte Nukleolen, vermehrte Mitosen und deutliche zytologische Veränderungen zeigt (18).

Abbildung 1: T-Stadien des Harnblasenkarzinoms mit schematischer Darstellung der Invasionstiefe in die Harnblasenwand (19)

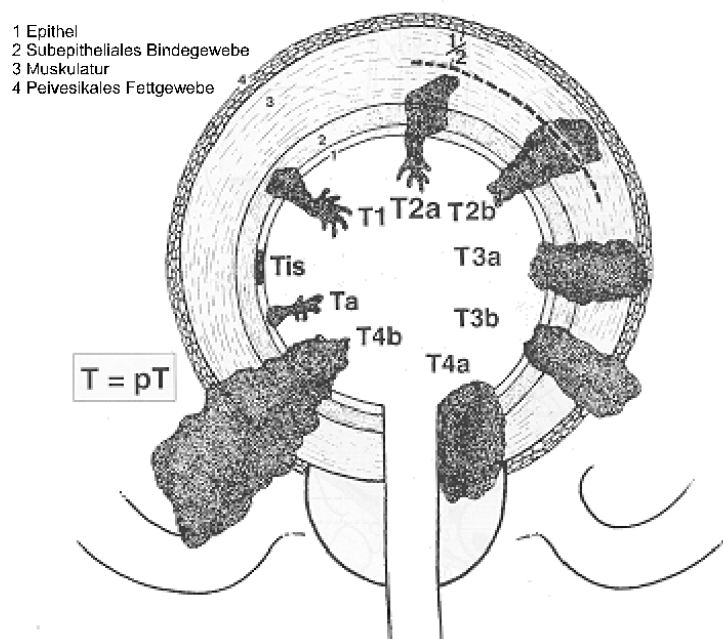


Tabelle 3: TNM-Klassifikation S3 Leitlinien (16)

Klassifikation	Tumor
T	Primärtumor
TX	Primärtumor kann nicht bewertet werden
T0	Kein Nachweis von Primärtumor
Ta	Nicht-muskelinvasives papilläres Karzinom
Tis	Carcinoma in situ: „flache Neoplasie“
T1	Tumor dringt in subepitheliales Bindegewebe ein
T2	Tumor dringt in Muskularis propria ein
T2a	Tumor dringt in oberflächliche Muskularis propria ein (innere Hälfte)
T2b	Tumor dringt tief in Muskularis propria ein (äussere Hälfte)
T3	Tumor dringt in perivesikales Gewebe ein:
T3a	Mikroskopisch
T3b	Makroskopisch (Extravesikale Masse)
T4	Tumor dringt in eines der folgenden ein: Prostatastoma, Samenbläschen, Uterus, Vagina, Beckenwand
T4a	Tumor dringt ein in Prostatastoma, Samenbläschen, Uterus oder Vagina
T4b	Tumor dringt ein in Beckenwand oder Abdominalwand
N	Regionale Lymphknoten
NX	Regionale Lymphknoten können nicht bewertet werden
N0	Keine regionalen Lymphknotenmetastasen
N1	Metastase in einem Lymphknoten des wirklichen Beckenbereiches (ein hypogastrischer, obturatorischer oder prä-

	sakraler Lymphknoten oder ein Lymphknoten aus dem Bereich der Arteria iliaca externa)
N2	Metastase in mehreren Lymphknoten des wirklichen Beckenbereiches (ein hypogastrischer, obturatorischer oder prä-sakraler Lymphknoten oder ein Lymphknoten aus dem Bereich der Arteria iliaca externa)
N3	Metastasen der Lymphknoten an der Arteria iliaca communis
M	Fernmetastasen
M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen

(Abkürzungen: TNM Tumor-Nodes-Metastases)

5.2.5 Diagnostik

Bei dem klinischen Verdacht eines Harnblasenkarzinoms, wie beispielsweise bei einer Mikrohämaturie, einer schmerzlosen Makrohämaturie, einer positiven Urinzytologie oder unspezifische Reizsymptome, ist eine gründliche Diagnostik unentbehrlich (16). Zu einer gründlichen Harnblasenkarzinomdiagnostik gehört die Urindiagnostik. In der Urindiagnostik soll ein Urinsediment zur Beurteilung der Morphologie der Erythrozyten erfolgen. Außerdem soll eine Urinzytologie durchgeführt werden. Eine negative Urinzytologie kann mit einer sehr hohen Wahrscheinlichkeit kein high grade Urothelkarzinom ausschließen. Urinmarker zum Harnblasenkarzinom sind nach derzeitigem Stand nicht empfohlen und sollen nicht verwendet werden (16).

Eine Sonographie der Nieren und der Harnblase ist bei dem Verdacht auf ein Harnblasenkarzinom obligatorisch. Die Sonographie kann Aufschluss über die Lokalisation, die Ausbreitung und das Vorhandensein einer möglichen Harnstauung geben. In manchen Fällen können Tumore in der Harnblase sonographisch dargestellt werden (16).

Unverzichtbar in der Diagnostik eines möglichen Harnblasenkarzinoms ist die Weißlicht-Zystoskopie. Diese wird mit Hilfe eines flexiblen oder rigiden Zystoskops durchgeführt. Das flexible Zystoskop ermöglicht einen besseren Komfort für den Patienten und zeigt die gleiche Effektivität wie das rigide Zystoskop. Die Zystoskopie

kann mit einer Fluroszenzfärbung kombiniert werden, welche eine bessere Detektion ermöglicht. Bei einem zystoskopischen Verdacht auf ein Harnblasenkarzinom muss eine histologische Sicherung erfolgen, die durch eine transurethrale Resektion der Blase (TUR-B) ermöglicht wird. Durch die Biopsie kann die Verdachtsdiagnose gesichert und das T-Stadium bestimmt werden. Handelt es sich um ein nicht-muskelinvasives Harnblasenkarzinom, stellt die transurethrale Resektion gleichzeitig einen Teil der Therapie dar (16).

5.2.6 Therapie

Die Therapie des Harnblasenkarzinoms richtet sich nach dem Tumorstadium, welche durch die TUR-B festgestellt werden kann. Durch das Resektat kann eine Aussage bezüglich der Infiltrationstiefe, der Histologie und des Gradings gegeben werden.

Für die Therapieentscheidung ist es notwendig, zu unterscheiden, ob bereits eine Infiltration der Muskulatur vorliegt. Spezifisch zu dieser Studie wird gezielt im Folgenden der Fokus auf die radikale Zystektomie als auch auf die neoadjuvante – und die adjuvante Chemotherapie als Therapieoptionen gelegt.

5.2.6.1 Stellenwert der radikalen Zystektomie

Das muskelinvasive Harnblasenkarzinom ($\geq pT2$) stellt die Indikation zur vollständigen Entfernung der Harnblase (radikale Zystektomie) dar. Zur radikalen Zystektomie des Mannes gehört ebenfalls die Entnahme der Prostata und der Samenblasen, weshalb sie ebenfalls als radikale Zystoprostatovesikulektomie bezeichnet wird. Bei der Frau werden neben der Harnblase auch der Uterus, die Adnexe und Anteile der vorderen Vaginalwand entfernt. Des Weiteren gehört zu der radikalen Zystektomie die bilaterale pelvine Lymphadenektomie (Fossa obturatoria, entlang der A. und V. iliaca externa, entlang der A. iliaca interna). Die Lymphadenektomie kann das progressions-freie, das tumorspezifische und auch das Gesamtüberleben des Patienten verbessern und stellt dadurch einen unverzichtbaren Teil der radikalen Zystektomie dar. Für eine suffiziente Lymphadenektomie sollen mindestens 10-16 Lymphknoten entnommen werden (16).

Die Operationsletalität der radikalen Zystektomie liegt bei 1,5 % (20). Dennoch ist die radikale Zystektomie eine große Umstellung und Lebensveränderung für die betroffenen Patienten. Durch die Schonung der Nervenfasern kann der Erhalt der Sexualität und der Sphinkterfunktion verbessert werden (16).

In der Studie Hautmann et al. zeigten die Patienten nach radikaler Zystektomie ohne neoadjuvante Chemotherapie und ohne Lymphknotenbefall eine krankheitsspezifische 10-Jahres-Überlebensrate von 90,5 % bei pT0, pTa, pT1; 66,8 % bei pT2; 59,7 % bei pT3 und 36,6 % bei pT4 (21).

Die Sterberate für Patienten, die keinerlei Therapie erhalten, liegt zwei Jahre nach Diagnosestellung bei ca. 85 % (22).

5.2.6.2 Stellenwert der Chemotherapie beim Harnblasenkarzinom

Patienten mit einem muskelinvasivem Harnblasenkarzinom können von einer neoadjuvanten Therapie profitieren. Dabei ist die Entscheidung, dafür oder dagegen, unabhängig vom Lymphknotenstatus und soll als eine cisplatinhaltige Polychemotherapie verabreicht werden (16).

In der Studie von Malmström et al. zeigte sich ein verlängertes Langzeitüberleben bei zusätzlicher neoadjuvanter Chemotherapie. Allerdings nur für Patienten mit einem pT3 oder pT4 Stadium. Patienten im pT1 oder pT2 Stadium zeigten keinen Benefit von der neoadjuvanten Chemotherapie (23).

Auch Grossmann et al. kamen in ihrer Studie zu dem Ergebnis, dass Patienten mit einem lokal fortgeschrittenem Harnblasenkarzinom von einer neoadjuvanten Chemotherapie vor der radikalen Zystektomie profitieren würden. Sie belegten nicht nur, dass die Patienten ein verlängertes Langzeitüberleben, sondern auch die Tendenz zur Eliminierung des Tumors zeigten (24).

Die multizentrische Studie von Kitamura et al. kam, übereinstimmend mit Grossmann et al., zu den gleichen Schlussfolgerungen (25).

Die adjuvante Chemotherapie wird Patienten nach radikaler Zystektomie verabreicht, wenn sich pathologisch ein organüberschreitendes Wachstum (\geq pT3) zeigt oder ein Lymphknotenbefall vorliegt (16). Die adjuvante Chemotherapie hat das Zerstören von Mikrometastasen als Ziel, um das Risiko eines Rezidivs zu minimieren.

Freiha et al. konnten in ihrer Studie ein verlängertes progressions-freies Intervall bei Patienten mit adjuvanter Chemotherapie, gegenüber Patienten mit alleiniger radikaler Zystektomie, zeigen (26).

Auch in der Studie Skinner et al. zeigte sich bei Patienten mit adjuvanter Chemotherapie, im Vergleich zu Patienten mit alleiniger radikaler Zystektomie, ein signifikant verlängertes medianes Überleben (27). Diese Ergebnisse konnten ebenfalls in der Studie Stockel et al. bestätigt werden (28).

Lange Zeit galt das MVAC/MVEC Schema (MVAC: Methotrexat, Vinblastin, Adriblastin, Cisplatin; MVEC: Methotrexat, Vinblastin, Epirubicin, Cisplatin) als sogenannter Goldstandard. Allerdings weisen diese Schemata eine hohe Toxizität auf – Granulozytopenie, Stomatitis, granulozytopenisches Fieber und eine erhöhte Mortalität können die Folge sein (29), (30). Daher werden diese Schemata heutzutage immer mehr durch das GC Schema (Gemcitabine, Cisplatin) ausgetauscht.

Von der Maase et al. untersuchten in ihrer Studie das Langzeitüberleben und das progressions-freie Intervall von Patienten, die nach dem GC Schema behandelt wurden und von Patienten, die nach dem üblichen MVAC Schema behandelt wurden. Sie zeigten, dass das GC Schema weder im Langzeitüberleben noch im progressions-freiem Intervall dem MVAC Schema unterlegen war (31).

Dem stimmten auch Lehmann et al. in ihrer Studie zu und zeigten zudem, dass weniger Patienten eine Leukopenie als Nebenwirkung bei der GC Therapie entwickelten als Patienten unter einer MVAC Therapie (32).

5.3 Cisplatin-Resistenz

Rosenberg zeigte 1969 an *Escherichia coli* erstmals, dass Cisplatin in der Lage ist, durch sein Platinatom die Zellteilung zu hemmen (33). Cisplatin gehört zur Gruppe der Zytostatika und findet seine Indikation bei malignen Tumoren, wie etwa beim Harnblasenkarzinom. Es ist mithilfe seines Platinions in der Lage, sogenannte Crosslinks zu Purinbasen der DNA zu bilden (34).

Durch den induzierten Fehler in der DNA wird die Apoptose der Zelle eingeleitet (34). Es stellt sich jedoch als generelles Problem dar, dass einige Patienten resistent gegen Cisplatin sind und daher nicht auf eine Cisplatin-basierte Chemotherapie ansprechen.

5.4 Survivin

Survivin (BIRC5) ist ein Mitglied der Inhibitor of apoptosis (IAP)-Familie (35). Es stellt das kleinste und strukturell ein einzigartiges Mitglied dar (35). Das Survivin Gen liegt in der chromosomalen Region 17q25 und enthält vier Exons (36). Aus diesen entsteht das Protein Survivin, welches aus 142 Aminosäuren besteht (36). Alle Mitglieder der IAP Familie besitzen strukturell mindestens eine Baculoviral IAP repeat (BIR) Domäne. Die Einzigartigkeit des Survivin Proteins besteht darin, dass es im Gegensatz zu den anderen IAP Mitgliedern nur eine BIR Domäne aufweist (37), (38). Tamm et al. zeigten in ihrer Arbeit, dass durch die Entfernung von BIR2 von XIAP, welches ein Mitglied der

IAP Familie ist, die Fähigkeit der Hemmung der Caspasen aufgehoben wird. Daraus resultiere der Schluss, dass die Domäne BIR eine entscheidende Rolle in der Funktion der Antiapoptose spiele (39). Die Sequenz der BIR Domäne des Proteins Survivin zeigt große Ähnlichkeit zu der BIR Domäne des Familienmitglieds XIAP (39).

Survivin wird als ein multifaktorielles Protein angesehen, dem verschiedene Bedeutungen zukommen. Es zeigt Funktionen in der Zellregulation, in der Inhibierung der Apoptose und in der Förderung der Angiogenese (36), (40). Durch die Interaktion von Survivin mit den Caspasen 3,7 und 9 ist das Protein in der Lage, die Apoptose, welche durch die Überexpression von den Caspasen 3, 7 und 9 eingeleitet wird, zu hemmen (39). Dies impliziert, dass Survivin auch als Caspase Hemmer angesehen werden kann. Die Zellteilung wird vom Protein Survivin in der G2/M Phase kontrolliert (41).

Survivin kommt sowohl im Zellkern als auch im Zytoplasma vor, dabei wird es vom Zellkern ins Zytoplasma exportiert (42), wobei die Survivin Expressionshöhe mit der Mitoseaktivität korreliert (43).

Erstmalig wurde das Protein Survivin 1997 von Ambrosini et al. in fetalen Zellreihen sowie in verschiedener maligner Zellreihen beschrieben (35). In normalen adulten differenzierten Zellen findet sich keine Expression des besagten Proteins (35), (44). Mittlerweile wurde die Expression von Survivin in mehreren Karzniomen beschrieben: Neuroblastom (45), Brustkarzinom (46), Ösophaguskarzinom (47) und im Kolorektalem Karzinom (48). Die Expression von Survivin im Harnblasenkarzinom wurde erstmalig von Swana et al. identifiziert, indem er eine immunhistologische Anaylse durchführte (49).

In einigen Studien wurde die potentielle Rolle von Survivin als prognostischer Marker beim Harnblasenkarzinom untersucht. Etliche Studien sehen ein hohes Potential, Survivin in Zukunt als einen Marker in der Diagnostik, der Nachsorge und der Prognose des Harnblasenkarzinoms, einsetzen zu können.

5.5 ERCC-1

Das Excision-repari-cross-complementation-group-1 (ERCC-1) Enzym ist Teil des Nukleotid Excision Repair (NER) Systems und trägt eine entscheidende Rolle in der Entfernung des durch das Platinion fehlerhaft induzierten DNA Adducts (50). Durch die Entfernung des fehlerhaften Nukleotids kann die Zelle der Apoptose entgehen und somit entfällt die Wirkung der Cisplatin Chemotherapie.

Die Studie von Hoffmann et al. zeigt eine Assoziation zwischen einer hohen Expression des Enzyms ERCC-1 und einer Cisplatin-Resistenz auf (51).

Auch Tumore wie Zervix-, Ovarial-, Magen-, Kolon- oder nicht kleinzellige Lungenkarzinome mit hoher ERCC-1 mRNA Expression scheinen mit einer hohen Cisplatin-Resistenz assoziiert zu sein (52), (53), (54), (55), (56).

In einigen Studien wurde auch der prognostische Wert des Enzyms ERCC-1 auf das Harnblasenkarzinom getestet. Eine hohe Expression des Markers scheint nicht nur mit einer Cisplatin-Resistenz verbunden zu sein, sondern auch mit einer schlechteren Prognose. Allerdings erscheint die Studienlage zu ERCC-1 als prognostischer Marker beim Harnblasenkarzinom noch spärlich zu sein. Daher sollte auch in dieser Arbeit der mögliche prognostische Wert analysiert werden.

5.6 Zielsetzung und Fragestellungen

In der vorliegenden Arbeit werden die Marker Survivin und ERCC-1 als mögliche prognostische Faktoren beim Harnblasenkarzinom analysiert.

Viele Studien sehen ein hohes Potential in Survivin als möglichen prognostischen Marker beim Harnblasenkarzinom. Die vorliegende internationale Arbeit hat ebenfalls das Ziel den prognostischen Wert des Markers beim Harnblasenkarzinom zu überprüfen. Die Studie könnte durch die große Patientenpopulation und durch die internationale Rekrutierung eine fundierte Aussagekraft dazu geben .

Einige Studien befassten sich in der Vergangenheit mit der Korrelation zwischen ERCC-1 Expression und einer Cisplatinresistenz.

Ziel dieser Arbeit ist die Analyse des prognostischen Werts von ERCC-1 beim Harnblasenkarzinom.

Der Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit wird auf folgende Fragestellungen gelegt:

- I. Besteht eine Korrelation zwischen den Expressionshöhen bzw. der Intensität der Marker und den klinisch pathologischen und histopathologischen Charakteristika wie dem Grading, dem Vorliegen von Lymphknotenmetastasen und dem Auftreten eines Rezidivs?
- II. Zeigen Patienten mit einer hohen Expression bzw. hohen Intensität der Marker, im Vergleich zu Patienten mit niedriger Expression und niedriger Intensität, ein schlechteres tumorspezifisches Überleben? Könnten die Marker in Zukunft eine Aussage über die Prognose beim Harnblasenkarzinom geben?
- III. Profitieren Patienten, die eine hohe Expression bzw. hohe Intensität der Marker aufzeigen, von einer Chemotherapie? Können die Marker in Zukunft in der Entscheidungsfindung der Therapieempfehlung eine Rolle spielen?

6. Methodik

Die vorliegende Studie erfolgte im Rahmen einer internationalen Kooperation zwischen der urologischen Klinik der Helios Klinik Bad Saarow, der medizinischen Universität Turku und der medizinischen Universität Helsinki.

6.1 Patienten und Material

6.1.1 Patientenkollektiv

Das Patientenkollektiv setzt sich aus drei Patientengruppen zusammen. Dabei stellt das Patientenkollektiv aus Turku die Gruppe I dar, die Patienten aus Helsinki bilden die Gruppe II und Gruppe III stammt aus Bad Saarow. Initial lagen die klinischen Daten zu insgesamt 425 Patienten vor. Aus den 425 Patienten mussten 137 Patienten aus der Studie exkludiert werden, sodass rund 288 Patienten in die Studie einschließen konnten.

Dabei wurden 29 Patienten aus der Gruppe I ausgeschlossen. Bei zwölf der Patienten lag, in den vorliegenden TMAs kein Tumorgewebe vor, zu 15 Patienten lagen keine TMAs vor und bei zwei Patienten waren die immunhistologischen Färbungen nicht auswertbar.

Aus der Gruppe II wurden 20 Patienten aufgrund nicht vorliegender TMAs exkludiert. Aus der Gruppe III wurden 88 Patienten exkludiert. In 87 Fällen lagen keine TMAs vor und in einem Fall zeigte sich im TMA kein Tumorgewebe.

6.1.2 Patientencharakteristika

In die Analyse der Expressionshöhen der Biomarker Survivin und ERCC-1 wurden insgesamt 288 Patienten, welche alle an einem Harnblasenkarzinom erkrankt waren, einbezogen.

Die Studie, bestehend aus 288 Patienten, darunter 232 (80,6 %) Männer und 56 (19,4 %) Frauen, setzt sich aus einem Kollektiv von drei Patientengruppen zusammen, welche jeweils in drei verschiedenen Kliniken als auch mit drei verschiedenen Therapieregimen behandelt wurden. Gemein haben alle Patienten die radikale Zystektomie.

Gruppe I stammt aus der Universitätsklinik Turku und umfasst 170 (59,0 %) Patienten, die keine Chemotherapie erhalten haben, sondern bei welchen nur die radikale Zystektomie unternommen worden ist.

In der Universitätsklinik Helsinki wurde Gruppe II, bestehend aus 73 (25,3 %) Fällen, behandelt. Diese erhielten vor der radikalen Zystektomie eine neoadjuvante

Chemotherapie.

Gruppe III mit 45 (15,6 %) Patienten stammt aus dem Helios Klinikum in Bad Saarow und wurden nach der radikalen Zystektomie mit einer adjuvanten Chemotherapie therapiert.

Im Folgenden werden die Patientencharakteristika der drei Patientengruppen vorgestellt und erörtert. Zur Verständlichkeit sei zu Beginn zu erwähnen, dass nicht für alle Patienten alle Daten im Primärdatensatz vorlagen, sodass in diesen Fällen nur die Anzahl bzw. der Prozentsatz der Patienten beschrieben wird zu dem auch die Daten vorlagen. Die *Tabelle 4* zeigt gebündelt eine Übersicht aller Patientencharakteristika der drei Gruppen.

6.1.2.1 Gruppe I: Keine Chemotherapie

Im ersten Patientenkollektiv, welches an der Universitätsklinik in Turku behandelt wurde, sind insgesamt 170 Fälle enthalten. Unter diesen 170 Patienten sind 140 (82,4 %) männlich und 30 (17,6 %) weiblich. Die Patienten unterzogen sich alle einer radikalen Zystektomie und keiner dieser Patienten wurde zusätzlich mit einer adjuvanten oder neoadjuvanten Chemotherapie behandelt.

Aus dem Patientenkollektiv gaben 76/164 (46,3 %) kein Raucherverhalten an und 88/164 (53,7 %) gaben an Raucher zu sein.

In der Patientengruppe aus Turku lagen die klinisch pathologischen und histopathologischen Patientencharakteristika zur radikalen Zystektomie als auch die TMAs aus der radikalen Zystektomie vor.

Histologisch betrachtet zeigte sich in 164 (96,5 %) der Fälle ein Urothelkarzinom und nur bei sechs (3,6 %) der Patienten ein Adeno – oder Plattenepithelkarzinom.

Das T-Stadium lag bei insgesamt 76 (44,7 %) Patienten unter pT2a, ein T-Stadium \geq pT2a zeigte sich bei 94 (55,3 %) Patienten und somit bestand eine Muskelinvasivität.

Das Grading zeigte bei der Mehrzahl, 141 (82,9 %), ein high grade Karzinom, wohingegen 29 (17,1 %) der Patienten ein low grade Karzinom zeigten. Zum Zeitpunkt der radikalen Zystektomie waren die Lymphknoten von 13/64 (20,3 %) Patienten befallen, die Mehrheit mit 51/64 (79,7 %) zeigte allerdings keinen Lymphknotenbefall. Von einem Rezidivbefall waren insgesamt 67 (39,4 %) der Patienten betroffen, den restlichen 102 (60,0 %) Patienten blieb ein Rezidiv erspart.

Zum Zeitpunkt des letzten Follow-ups wurde der Status von 44 (25,9 %) als noch lebend angegeben, einer (0,6 %) der Patienten lebte mit einem Rezidiv, 66 (3,8 %)

sind an ihrem Blasenkarzinom verstorben und 42 (24,7 %) sind ebenfalls verstorben, allerdings war in diesen Fällen nicht der Harnblasentumor ursächlich. In 17 (10,0 %) der Fälle lag kein Follow-up mehr vor. Das Mediane Follow-up dieser Gruppe betrug 39 Monate.

6.1.2.2 Gruppe II: Neoadjuvante Chemotherapie

Die zweite Gruppe stammt aus der Universitätsklinik Helsinki und wurde neben der radikalen Zystektomie mit einer neoadjuvanten Chemotherapie behandelt.

Das Patientenkollektiv besteht aus 73 Patienten, darunter sind 12 (16,4 %) weiblich und 61 (83,6 %) männlich. Als Nicht-Raucher bezeichneten sich 10/66 (15,2 %) der Patienten, die restlichen 56/66 (84,8 %) gaben an, Raucher zu sein.

Alle Patienten aus der Gruppe erhielten eine neoadjuvante Chemotherapie, das Regime bestand in den meisten Fällen 68 (93,2 %) aus Gemcitabin und Cisplatin. Die restlichen fünf (6,8 %) Patienten erhielten ein abweichendes neoadjuvantes Zytostatikaregime, welches jedoch aus den Daten nicht ersichtlich wird. In wenigen Fällen, 6 (8,2 %), musste zusätzlich zur neoadjuvanten Chemotherapie nach der radikalen Zystektomie eine adjuvante Chemotherapie verabreicht werden. Auch dieses Regime erfolgte in der Kombination aus Cisplatin und Gemcitabin.

Zu diesem Patientenkollektiv liegen die klinisch pathologischen und histopathologischen Patientencharakteristika und die TMAs sowohl aus der TUR-B als auch aus der radikalen Zystektomie vor.

In der histologischen Auswertung zeigte sich im TUR-B Material bei 68 (93,2 %) Patienten ein Urothelkarzinom. Die restlichen fünf (6,9 %) Patienten litten unter einem Plattenepithelkarzinom oder an einem Kleinzellkarzinom.

Des Weiteren zeigte sich im TUR-B Material bei zwei (2,7 %) Patienten ein T-Stadium < pT2a also ein nicht-muskelinvasives Karzinom, wohingegen die restlichen 71 (97,3 %) Patienten ein T-Stadium \geq pT2a zeigten und somit an einem muskelinvasiven Karzinom litten.

Das Grading wurde anhand des TUR-B Materials bei 51/69 (73,9 %) Patienten als high grade Karzinom bezeichnet und bei 18/69 (26,1 %) Patienten offenbarte sich ein low grade Karzinom.

Die Histologie des Gewebes aus der radikalen Zystektomie zeigte bei 36/41 (87,8 %) ein Urothelkarzinom, die restlichen 5/41 (12,1 %) Patienten wiesen ein Plattenepithel-Adeno- oder ein Kleinzellkarzinom auf.

Das T-Stadium wurde hier bei 16 (21,9 %) der Patienten als <pT2a angegeben und somit als nicht-muskelinvasiv bezeichnet, bei 28 (38,4 %) Patienten präsentierte sich ein T-Stadium \geq pT2a und somit ein muskelinvasives Karzinom. Bei 29 (39,7 %) Patienten war kein Tumor mehr im Gewebe der radikalen Zystektomie nachweisbar.

Das Grading wurde hier bei 35/37 (94,6 %) Patienten als high grade Karzinom und bei 2/37 (5,4 %) Patienten als low grade Karzinom angegeben.

Zum Zeitpunkt der radikalen Zystektomie konnte bei 8/70 (11,4 %) ein Lymphknotenbefall nachgewiesen werden. Die Mehrheit, 62/70 (88,6 %), zeigte allerdings keine Mitleidenschaft der Lymphknoten.

An einem Rezidiv erkrankten insgesamt 16 (21,9 %) Patienten, bei den restlichen 57 (78,1 %) wurde kein Rezidiv diagnostiziert.

Zum Zeitpunkt des letzten Follow-ups wurde der Status von 54 (74,0 %) als noch lebend angegeben, zwei (2,7 %) der Patienten lebten mit einem Rezidiv, 14 (19,2 %) sind an ihrem Blasenkarzinom verstorben und drei (4,1 %) sind ebenfalls verstorben, allerdings war in diesen Fällen nicht der Harnblasentumor ursächlich. Das Mediane Follow-up dieser Gruppe betrug 41 Monate.

6.1.2.3 Gruppe III: Adjuvante Chemotherapie

In dem Patientenkollektiv aus Bad Saarow befinden sich insgesamt 45 Fälle, bestehend aus 14 (31,1 %) Frauen und 31 (68,9 %) Männern. Insgesamt gaben 34 (75,6 %) Patienten ein regelmäßiges Rauchverhalten an, wohingegen 11 (24,4 %) sich als Nicht-Raucher bezeichneten.

In allen Fällen aus der Gruppe wurde nach der radikalen Zystektomie eine Chemotherapie angesetzt. Die Chemotherapie erfolgte in 16 (35,6 %) der Fälle in der Kombination aus Paclitaxel, Cisplatin und Gemcitabin. In 29 (64,4 %) der Fälle wurde zusätzlich zu dem eben genannten Regime noch eine Monotherapie mit Gemcitabin angesetzt. Keiner der Patienten erhielt eine neoadjuvante Chemotherapie.

Zu diesem Patientenkollektiv liegen die TMAs sowohl aus der TUR-B als auch aus der radikalen Zystektomie vor. Die histopathologischen Patientencharakteristika liegen nur zu den Proben aus der radikalen Zystektomie vor.

In der Histologie zeigte sich bei allen 45 (100,0 %) Patienten ein Urothelkarzinom. Dieses wurde bei allen 45 (100,0 %) als high grade Karzinom klassifiziert. Die Daten zum T-Stadium lagen in 44 von 45 Fällen vor. In allen 45 (100,0 %) Fällen lag ein T-Stadium \geq pT2a vor.

Zum Zeitpunkt der radikalen Zystektomie konnte bei 17 (37,8 %) Patienten kein Befall der Lymphknoten nachgewiesen werden, jedoch zeigten sich in 28 (62,2 %) der Fälle Metastasen in den Lymphknoten.

Unter einem Rezidiv litten insgesamt 23 (51,1 %) Patienten und 22 (48,9 %) zeigten kein Rezidivverhalten.

Zum Zeitpunkt des letzten Follow-ups konnten 13 (28,9 %) Patienten als noch lebend eruiert werden, einer (2,2 %) der Patienten lebte mit einem Rezidiv, 27 (60,0 %) der Patienten sind an ihrem Harnblasenkarzinom verstorben und vier (8,9 %) Patienten verstarben, jedoch nicht aufgrund ihres Harnblasenkarzinoms. Das Mediane Follow-up dieser Gruppe betrug 33 Monate.

6.1.3 Art der untersuchten Proben

Bei den untersuchten Proben handelt es sich um in Formalin fixierte und in Paraffin eingebettete histologische Gewebelöcke aus den Archiven der oben genannten Institute. Von jedem Block wurde eine Hämatoxylin-Eosin Färbung (HE- Färbung) nach standardisierter Methodik erstellt. Nach Beurteilung (von Herrn Dr. E. Kilic) der Schnitte, wurden die geeigneten Paraffinblöcke zur Herstellung der Tissue-Microarrays (TMAs) ausgewählt.

Zu 6.1.2: Tabelle 4: Patientencharakteristika

Patientencharakteristika	Gruppe I: Patienten n (%)	Gruppe II: Patienten n (%)	Gruppe III: Patienten n (%)
Geschlecht			
weiblich	30 (17,6)	12 (16,4)	14 (31,1)
männlich	140 (82,4)	61 (83,6)	31 (68,9)
Rauchverhalten			
negativ	76/164 (46,3)	10/66 (15,2)	11 (24,4)
positiv	88/164 (53,7)	56/66 (84,8)	34 (75,6)
Status			
lebend	44 (25,9)	54 (74,0)	13 (28,9)
lebend mit Rezidiv	1 (0,6)	2 (2,7)	1 (2,2)
verstorben durch Blasenkarzinom	66 (38,8)	14 (19,2)	27 (60,0)
verstorben durch andere Ursache	42 (24,7)	3 (4,1)	4 (8,9)
unbekannt	17 (10,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Neoadjuvantes CR			
GC	0 (0,0)	68 (93,2)	0 (0,0)
anderes	0 (0,0)	5 (6,8)	0 (0,0)
Adjuvante Chemotherapie			
nein	170 (100,0)	67 (91,8)	0 (0,0)
ja	0 (0,0)	6 (8,2)	45 (100,0)
Adjuvantes CR			
PCG	0 (0,0)	0/6 (0,0)	16 (35,6)
PCG plus Gemcitabine Mono	0 (0,0)	0/6 (0,0)	29 (64,4)
GC	0 (0,0)	5/6 (83,3)	0 (0,0)
unbekannt	0 (0,0)	1/6 (16,7)	0 (0,0)
Rezidiv			
negativ	103 (60,6)	57 (78,1)	22 (48,9)
positiv	67 (39,4)	16 (21,9)	23 (51,1)
Rezidiv Typ			
kein Rezidiv	102 (60,0)	0/5 (0,0)	-
lokales Rezidiv	16 (9,4)	5/5 (100,0)	-
Fernmetastase	42 (24,7)	0/5 (0,0)	-
lokales Rezidiv + Fernmetastase	10 (5,9)	0/5 (0,0)	-
Histologie TUR-B			
Urothelkarzinom	-	68 (93,2)	-
Plattenepithelkarzinom	-	1 (1,4)	-
Adenokarzinom	-	0 (0,0)	-
Kleinzellkarzinom	-	4 (5,5)	-

Patientencharakteristika	Gruppe I: Patienten n (%)	Gruppe II: Patienten n (%)	Gruppe III: Patienten n (%)
pT-Stadium TUR-B			
pTcis, pTa, pT1	-	2 (2,7)	-
pT2	-	51 (69,9)	-
pT3	-	18 (24,7)	-
pT4	-	2 (2,7)	-
Grading (WHO 2004) TUR-B			
low grade	-	18/69 (26,1)	-
high grade	-	51/69 (73,9)	-
Histologie RZ			
Urothelkarzinom	164 (96,5)	36/41 (87,8)	45 (100,0)
Plattenepithelkarzinom	3 (1,8)	1/41 (2,4)	0 (0,0)
Adenokarzinom	3 (1,8)	1/41 (2,4)	0 (0,0)
Kleinzellkarzinom	0 (0,0)	3/41 (7,3)	0 (0,0)
pT-Stadium RZ			
pTa	23 (13,5)	3 (4,1)	0/44 (0,0)
pT1	42 (24,7)	8 (11,0)	0/44 (0,0)
pcis	11 (6,5)	5 (6,8)	0/44 (0,0)
pT2a	20 (11,8)	5 (6,8)	4/44 (9,1)
pT2b	18 (10,6)	8 (11,0)	5/44 (11,4)
pT3a	33 (19,4)	6 (8,2)	22/44 (50,0)
pT3b	14 (8,2)	4 (5,5)	6/44 (13,6)
pT4a	5 (2,9)	4 (5,5)	5/44 (11,4)
pT4b	4 (2,4)	1 (1,4)	2/44 (4,5)
kein Tumor	0 (0,0)	29 (39,7)	0/44 (0,0)
Grading (WHO 2004) RZ			
low grade	29 (17,1)	2/37 (5,4)	0 (0,0)
high grade	141 (82,9)	35/37 (94,6)	45 (100,0)
Lymphknotenbefall RZ			
negativ	51/64 (79,7)	62/70 (88,6)	17 (37,8)
positiv	13/64 (20,3)	8/70 (11,4)	28 (62,2)

(Abkürzungen: CR Chemotherapieregime; TUR-B Transurethrale Resektion der Blase; RZ radikale Zystektomie)

6.2 Immunhistochemische Untersuchung

Immunhistologische Färbungen dienen der Detektion von Antigenen durch gegen diese gerichteten Antikörper. Dabei können die besagten Antikörper entweder direkt mit einem Farbstoff versehen sein oder mit Enzymen verbunden sein, die dann indirekt eine Farbreaktion auslösen. Daraus wird ersichtlich, dass es sowohl eine direkte als auch eine indirekte Methode zur Antigendetektion gibt. Der Vorteil der direkten gegenüber der indirekten Methode ist die sehr schnelle Durchführbarkeit, jedoch ist das erzielte Farbsignal schwächer als bei der indirekten Methode und vor allem zeigt die indirekte Methode die deutlich höhere Sensitivität im Vergleich zur direkten (57). Angesichts dieser Aspekte wurde in dieser Studie das indirekte Nachweisverfahren ausgewählt.

6.2.1 Indirektes Nachweisverfahren

Bei der indirekten Methode bindet ein spezifischer, nicht konjugierter Primärantikörper an das Antigen der zu untersuchenden Gewebeprobe. An den besagten Primärantikörper bindet im nächsten Schritt der, mit einem Markerenzym oder Fluorochrom konjugierte, Sekundärantikörper. Der Sekundärantikörper ist spezifisch gegen die Tierspezies des Primärantikörpers gerichtet. Als letztes wird ein Komplex hinzugegeben, welcher das gewünschte Markerenzym trägt. Durch die Enzym-Substrat-Reaktion entsteht ein farbiges Endprodukt (57).

Zu den indirekten Nachweistechiken gehören die **Peroxidase-Anti-Peroxidase-Methode** (PAP-Methode) und die **Alkalische Phosphatase-Anti-Alkalische Phosphatase-Methode** (APAAP-Methode) (57).

In dieser Arbeit wurde die indirekte immunhistologische Färbung nach der APAAP-Methode durchgeführt.

6.2.2 Entparaffinierung, Antigendemaskierung und Hemmung der endogenen Enzymaktivität

Zunächst wurden die Paraffinschnitte für vier Stunden bei 60 °C im Brutschrank getrocknet. Dieser Vorgang dient der Schmelzung des Paraffins und der Beseitigung des noch am Gewebe befindlichen Wassers. Danach wurden die Schnitte zweimal für je zehn Minuten in Xylol getränkt, um eine Entparaffinierung zu erzielen. Anschließend erfolgte die Rehydrierung der Schnitte über eine absteigende Alkoholreihe (Ethanol 100 %, Ethanol 96 %, Ethanol 80 %, Ethanol 70 %), in die die Schnitte jeweils für zwei

Minuten getränkt wurden. Abschließend wurden die Schnitte in destilliertem Wasser gewaschen. Bevor eine immunhistochemische Färbung durchgeführt werden kann, muss eine Demaskierung der Antigene durchgeführt werden. Die Maskierung der Antigene beruht auf den Kreuzverbindungen reaktiver Gruppen, meist Aldehydvernetzungen, die während der Fixierung in Formalin entstehen. Die Demaskierung der Antigene erfolgt über die Brechung der Aldehydverbindungen, wodurch die Antigene für die Antikörper zugänglich werden. Diese Brechung der Aldehydvernetzungen kann entweder enzyminduziert oder hitzeinduziert erfolgen. In dieser Studie wurde die hitzeinduzierte Antigendemaskierung durchgeführt. Dabei werden die Schnitte in einem Schnellkochtopf in einem Liter Citratpuffer mit einem pH-Wert von 6,0 für sieben Minuten gekocht. Anschließend wurden die Schnitte in Tris-gepufferter Kochsalzlösung (TBS) gelagert. Um ein Herunterlaufen der später aufgetragenen Flüssigkeiten zu verhindern, wurden die Gewebeproben auf den Schnitten mit einem flüssigkeitsblockenden Stift der Firma Dako umrandet.

6.2.3 Spezifische Färbung

Die Antikörper gegen Survivin (bereitgestellt von der Ruhr-Universität Bochum) und ERCC-1 (vom Hersteller Abcam) wurden mit einer Antikörper-Verdünnungslösung (ANTIBODY DILUENT, Invitrogen Corporation, USA) in einer Verdünnungsstufe von 1:50 verdünnt. Zunächst wurden die Schnitte mit dem Protein Blocking System von Dako für zehn Minuten bei Raumtemperatur geblockt. Anschließend erfolgte die Inkubation mit dem primären Antikörper bei Raumtemperatur. Nach einer Stunde wurden die Schnitte mit destilliertem Wasser, TBS Tween 0,025 % und TBS gespült. Im nächsten Schritt erfolgte die Zugabe des konjugierten sekundären Antikörpers (Anti-rabbit Alkaline Phosphatase, 1:500), welcher an den primären Antikörper bindet und ihn somit detektiert. Die Kontrollschnitte zur Anfertigung der Kontrollfärbungen wurden lediglich mit der Antikörper-Verdünnungslösung – ohne Hinzugabe eines Antikörpers – versehen. Nach 30 Minuten Inkubationszeit wurden die Schnitte erneut mit destilliertem Wasser, TBS Tween 0,025 % und TBS gewaschen. Die Reaktion wurde mit Sigma Fast Red visualisiert, dabei betrug die Reaktionszeit für Survivin zehn Minuten und für ERCC-1 30 Minuten. Die Reaktion wurde mit Leitungswasser gestoppt und anschließend wurden die Schnitte in destilliertem Wasser gelagert.

6.2.4 Gegenfärbung und Einbettung

Um eine histologische Auswertung zu ermöglichen, wurden die Schnitte gegengefärbt. Hierzu wurden die Schnitte für eine Minute in Hämalaun getaucht und abschließend mit Leitungswasser gewaschen. Schließlich wurden die Schnitte mit Deckgläsern von Menzel-Gläser eingedeckt. Als Eindeckmittel wurde Microscopy Aquatex (Merck, Deutschland) verwendet.

6.3 Interpretation der immunhistologischen Analyse

Die immunhistologischen Ergebnisse wurden lichtmikroskopisch ohne Kenntnis der Patientendaten und unabhängig von zwei Untersuchern (Dr. E. Kilic und Adisch Kiani) ausgewertet. Die individuellen Ergebnisse der beiden Untersucher waren in 93 % der Fälle identisch und zeigten somit sehr ähnliche Ergebnisse. Die Auswertung eines Patienten erfolgte an allen vorliegenden Stenzen. Unterschieden sich die Stenzen in ihren Ergebnissen, wurde die höchste Einstufung auserwählt. In Fällen, in denen nur eine Stanze evaluierbar war, wurde diese als repräsentativ angenommen.

Für die Interpretation des Tumormarkers Survivin im Zytoplasma wurde die Farbintensität anhand einer Skala von 0 bis 3 eingeteilt. Dabei wurden Stenzen, die keine Färbung aufzeigten, auf der Skala bei 0 eingestuft. Proportional zur Intensität der Färbung wurden die Stenzen auf der Skala höher eingestuft. Die Stufen 0 und 1 wurden als niedrige Expression bezeichnet, die Stufen 2 und 3 hingegen als hohe Expression. Die *Abbildung 2* zeigt exemplarisch Survivin mit hoher Expression (Stufe 3) im Zytoplasma und Survivin mit niedriger Expression (Stufe 1) im Zytoplasma.

Für die Interpretation von Survivin und ERCC-1 im Zellkern wurde der prozentuale Anteil der Zellkerne, die eine Färbung aufwiesen, herangezogen. Dabei erfolgte eine Einstufung in 0 %, 25 %, 50 %, 75 % oder 100 %. Anhand dieser Ergebnisse erfolgte wiederum die Einteilung in niedrige Expression (0 % und 25 %) oder hohe Expression (50 %, 75 % und 100 %). *Abbildung 3* verdeutlicht exemplarisch anhand einer Survivin Färbung die Einteilung der prozentual gefärbten Zellkerne. In *Abbildung 3A* sind 25 % der Zellkerne gefärbt, somit liegt eine niedrige Expression vor. In *Abbildung 3B* sind hingegen 50 % der Kerne gefärbt, somit liegt eine hohe Expression vor.

Des Weiteren wurde eine Einteilung der Farbintensität der Zellkerne für die Detektion von ERCC-1 vorgenommen. Die Farbintensität wurde anhand einer Skala von 0 bis 2 eingestuft. In die Gruppe der „hohe Intensität“ wurden Stenzen gezählt, die eine Farbintensität von 2 aufwiesen, 0 und 1 wurden als „niedrige Intensität“ eingestuft.

Abbildung 4 zeigt beispielhaft den Unterschied zwischen einer hohen und einer niedrigen Farbintensität.

Alle Kontrollfärbungen fielen erwartungsgemäß negativ aus, exemplarisch wurde eine Kontrollfärbung abgebildet (Abbildung 5).

Die Ergebnisse wurden in Excel zusammengetragen.

Abbildung 2: Immunhistochemische Färbung von Survivin im Zytoplasma: niedrige Expression (A) und hohe Expression (B)

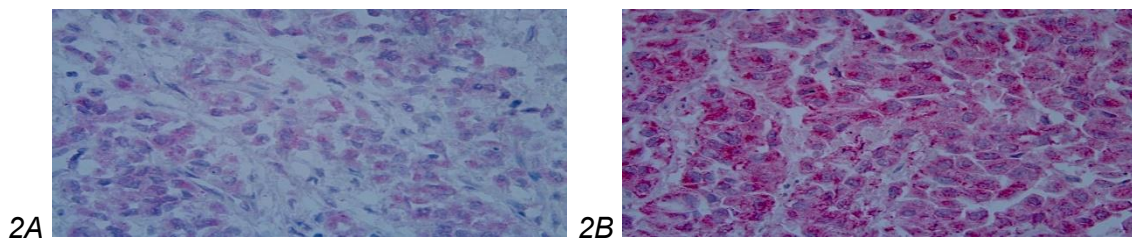


Abbildung 3: Immunhistochemische Färbung von Survivin im Zellkern: niedrige Expression (A) und hohe Expression (B)

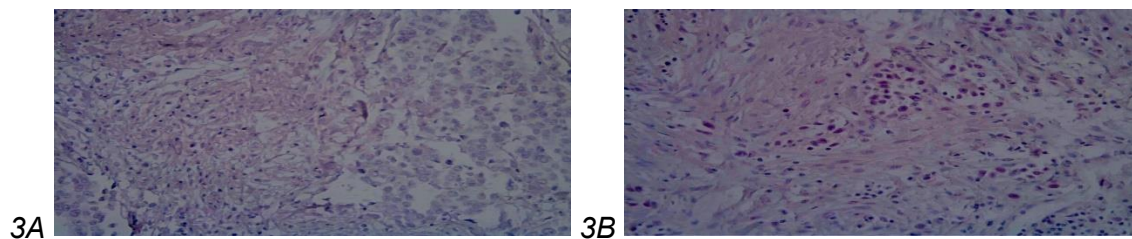


Abbildung 4: Immunhistochemische Färbung von ERCC-1 im Zellkern: niedrige Intensität (A) und hohe Intensität (B)

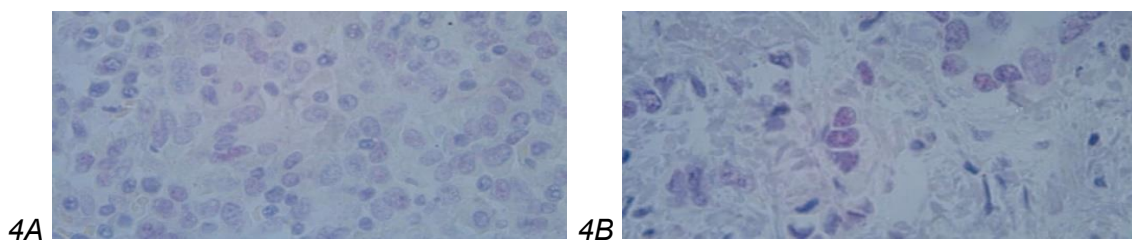
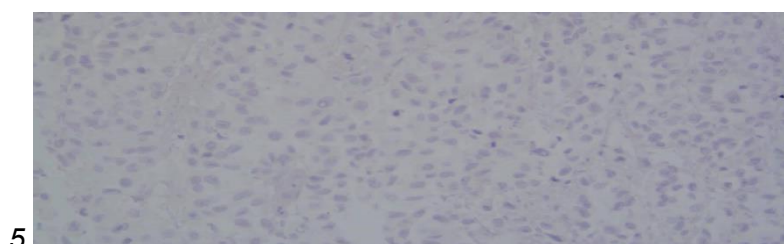


Abbildung 5: Exemplarische Kontrollfärbung



6.4 Statistik

Für die statistische Auswertung dieser Studie wurde das Programm SPSS 10.0 (Statistical Package for the Social Sciences 10.0) verwendet. Vor der statistischen Analyse wurden alle Daten auf Vollständigkeit und systemische Fehler überprüft.

Die Untersuchung des Zusammenhangs zwischen der Expression von den Tumormarkern Survivin und ERCC-1 und dem Überleben der Patienten wurde anhand der Kaplan-Meier Analyse durchgeführt. Die Darstellung erfolgte anhand dem „Log-Rank-Test“.

Für den Zusammenhang des jeweiligen Tumormarkers mit den klinisch pathologischen und histopathologischen Parametern wurden der Chi-Quadrat-Test und Kreuztabellen verwendet.

Als signifikant wurden Ergebnisse mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0.050$ und als tendenziell signifikant von $0,050 < p \leq 0,100$ gewertet.

7. Ergebnisse

7.1 Expressionshöhen der Marker

Zur Verständlichkeit sei zu Beginn zu erwähnen, dass nicht für alle Patienten alle Expressionshöhen bzw. Intensitätshöhen ermittelt werden konnten, sodass in diesen Fällen nur die Anzahl bzw. der Prozentsatz der Patienten beschrieben wird zu dem auch die Ergebnisse vorlagen.

7.1.1 Gruppe I: Keine Chemotherapie

TMA's aus dem Patientenkollektiv Gruppe I lagen aus den Gewebeproben der radikalen Zystektomie vor.

In der immunhistologischen Untersuchung der Expression des Markers Survivin im Zytoplasma erwies sich bei 130/167 (77,8 %) der Patienten eine niedrige Expression und bei 37/167 (22,2 %) wurde eine hohe Expression des Markers festgestellt. Die Untersuchung des Expressionsausmaßes des Biomarkers Survivin im Zellkern zeigte bei 160/167 (95,8 %) Patienten eine niedrige Expression und bei 7/167 (4,2 %) Patienten eine hohe Expression.

Die immunhistologische Untersuchung des Markers ERCC-1 im Zellkern zeigte bei 128/168 (76,2 %) Patienten eine niedrige Expression und bei 40/168 (23,8 %) Patienten eine hohe Expression. Die Intensität von ERCC-1 im Zellkern wurde bei 154/168 (91,7 %) Patienten als niedrig bemessen und nur bei 14/168 (8,3 %) als hoch.

7.1.2 Gruppe II: Neoadjuvante Chemotherapie

In der immunhistologischen Untersuchung der TMA's des TUR-B Materials zeigte sich bei 29 (39,7 %) Patienten eine niedrige Expression von Survivin im Zytoplasma und bei 44 (60,3 %) Patienten eine hohe Expression. Die Untersuchung der Expression von Survivin im Zellkern zeigte in 21 (28,8 %) der Fälle eine niedrige Expression und in 52 (71,2 %) der Fälle wurde eine hohe Expression beobachtet.

Die Untersuchung der Expressionshöhe von ERCC-1 im Zellkern wies bei 3/72 (4,2 %) der Patienten eine niedrige Expression auf, wohingegen bei 69/72 (95,8 %) Patienten eine hohe Expression beobachtet werden konnte. Die ERCC-1 Intensität bewies sich bei 17/72 (23,6 %) Patienten als niedrig und bei 55/72 (76,4 %) als hoch.

Im Nachfolgenden werden die Expressionshöhen der beiden Biomarker aus den TMA's, welche aus dem Gewebe der radikalen Zystektomie stammen, erörtert. Im Zytoplasma zeigte sich bei 50/68 (73,5 %) der Patienten eine niedrige Expression von Survivin und

bei 18/68 (26,5 %) wurde eine hohe Expression beobachtet. Im Zellkern zeigte sich bei 66/68 (97,1 %) der Fälle eine niedrige Expression des Biomarkers Survivin und bei nur 2/68 (2,9 %) eine hohe.

Die Expression von ERCC-1 im Zellkern erwies sich bei 57/67 (85,1 %) Patienten als niedrig und bei 10/67 (14,9 %) Patienten als hoch. Die Intensität der ERCC-1 Färbung wurde bei 61/67 (91,0 %) Patienten als niedrig beschrieben und bei 6/67 (9,0 %) Patienten wurde eine hohe Intensität beobachtet.

7.1.3 Gruppe III: Adjuvante Chemotherapie

Im Nachfolgenden werden die Beobachtungen aus den TMAs der TUR-B vorgestellt. Die Expression von Survivin im Zytoplasma erwies sich bei 15/23 (65,2 %) Patienten als niedrig und in 8/23 (34,8 %) der Fälle als hoch. Die Expression von Survivin im Zellkern zeigte sich bei 19/23 (82,6 %) Patienten als niedrig und bei 4/23 (17,4 %) Patienten als hoch.

Der Biomarker ERCC-1 im Zellkern zeigte bei 22/23 (95,7 %) Patienten eine niedrige Expression und bei 1/23 (4,3 %) eine hohe Expression. Die Intensität von ERCC-1 wurde bei allen (100,0 %) Patienten als niedrig beschrieben.

Als nächstes erfolgt die Vorstellung der Expressionshöhen der Biomarker aus den TMAs der radikalen Zystektomie. Die Expression von Survivin im Zytoplasma erwies sich bei 11/31 (35,5 %) Patienten als niedrig und bei 20/31 (64,5 %) als hoch. Im Zellkern erwies sich die Expressionshöhe von Survivin in 24/31 (77,4 %) Fällen als niedrig und in 7/31 (22,6 %) als hoch.

ERCC-1 im Zellkern zeigte in 21/32 (65,6 %) der Fälle eine niedrige Expression und in 11/32 (34,4 %) der Fälle eine hohe. Die Intensität von ERCC-1 wurde in 27/32 (84,4 %) der Fälle als niedrig und in 5/32 (15,6 %) als hoch beschrieben.

Zu 7.1: Tabelle 5: Expressionshöhen von Survivin

TMAs	Gruppe I: Patienten n (%)		Gruppe II: Patienten n (%)		Gruppe III: Patienten n (%)	
	niedrig	hoch	niedrig	hoch	niedrig	hoch
TUR-B Zytoplasma	-	-	29 (39.7)	44 (60.3)	15/23 (65.2)	8/23 (34.8)
TUR-B Zellkern	-	-	21 (28.8)	52 (71.2)	19/23 (82.6)	4/23 (17.4)
RZ Zytoplasma	130/167 (77.8)	37/167 (22.2)	50/68 (73.5)	18/68 (26.5)	11/31 (35.5)	20/31 (64.5)
RZ Zellkern	160/167 (95.8)	7/167 (4.2)	66/68 (97.1)	2/68 (2.9)	24/31 (77.4)	7/31 (22.6)

Zu 7.1: Tabelle 6: Expressionshöhen und Intensitätshöhen von ERCC-1

TMAs	Gruppe I: Patienten n (%)		Gruppe II: Patienten n (%)		Gruppe III: Patienten n (%)	
	niedrig	hoch	niedrig	hoch	niedrig	hoch
TUR-B Zellkern	-	-	3/72 (4.2)	69/72 (95.8)	22/23 (95.7)	1/23 (4.3)
TUR-B Intensität	-	-	17/72 (23.6)	55/72 (76.4)	23/23 (100.0)	0/23 (0.0)
RZ Zellkern	128/168 (76.2)	40/168 (23.8)	57/67 (85.1)	10/67 (14.9)	21/32 (65.6)	11/32 (34.4)
RZ Intensität	154/168 (91.7)	14/168 (8.3)	61/67 (91.0)	6/67 (9.0)	27/32 (84.4)	5/32 (15.6)

(Abkürzungen: TMA Tissue-Microarray; ERCC-1 Excision-repair-cross-complementation-group 1; TUR-B Transurethrale Resektion der Blase; RZ radikale Zystektomie)

7.2 Korrelationen zwischen der Marker und den klinisch pathologischen und histopathologischen Charakteristika

Mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests konnten Kreuztabellen zur Eruiierung der ersten Fragestellung, ob Korrelationen zwischen der Marker und den klinisch pathologischen als auch histopathologischen Charakteristika bestehen, erstellt werden.

7.2.1 Gruppe I: Keine Chemotherapie

In Gruppe I ließ sich eine signifikante Korrelation zwischen der Expressionshöhe von Survivin im Zytoplasma und dem Auftreten von Lymphknotenmetastasen nachweisen ($p = 0,048$). Von den Patienten aus Gruppe I, die keine Lymphknotenmetastasen aufzeigten, exprimierten 41 (80,4 %) Patienten eine niedrige Menge Survivin im Zytoplasma. Nur zehn (19,6 %) der Patienten ohne Lymphknotenmetastasen zeigten eine hohe Expression des Markers im Zytoplasma. Im Vergleich zu Patienten ohne Lymphknotenmetastasen manifestierte sich bei Patienten mit Lymphknotenmetastasen ein höherer Prozentsatz an Fällen mit hoher Expression von Survivin im Zytoplasma. Hier wurden nur sieben (53,8 %) der Patienten in die Kategorie niedrige Expression und sechs (46,2 %) der Patienten in die Kategorie hohe Expression eingeteilt.

Eine signifikante Korrelation zwischen Survivin im Zytoplasma und dem Rezidivverhalten ($p = 0,114$), dem Grading ($p = 0,834$), dem Geschlecht ($p = 0,864$) oder dem Rauchverhalten ($p = 0,190$) konnte nicht eruiert werden.

Desweiteren zeichnete sich eine tendenziell signifikante Korrelation zwischen Survivin im Zellkern und dem Auftreten von Lymphknotenmetastasen auf ($p = 0,058$). Von den Patienten, die keine Lymphknotenmetastasen aufzeigten, exprimierten 48 (94,1 %) Patienten eine niedrige Menge Survivin im Zellkern. Nur drei (5,9 %) der Patienten ohne Lymphknotenmetastasen wiesen eine hohe Expression des Markers im Zellkern auf. Im Vergleich zu Patienten ohne Lymphknotenmetastasen zeigten Patienten mit Lymphknotenmetastasen einen höheren Prozentsatz an Fällen mit hoher Expression von Survivin im Zellkern. Hier wurden nur 10 (76,9 %) der Patienten in die Kategorie niedrige Expression und drei (23,1 %) der Patienten in die Kategorie hohe Expression. Eine signifikante Korrelation zwischen Survivin im Zellkern und dem Rezidivverhalten ($p = 0,880$), dem Grading ($p = 0,215$), dem Geschlecht ($p = 0,796$) oder dem Rauchverhalten ($p = 0,866$) konnte nicht dokumentiert werden.

Eine signifikante Korrelation zwischen ERCC-1 im Zellkern und dem Vorliegen von Lymphknotenmetastasen ($p = 0,621$), dem Rezidivverhalten ($p = 0,621$), dem Grading

($p = 0,164$), dem Geschlecht ($p = 0,589$) oder dem Rauchverhalten ($p = 0,278$) konnte nicht dokumentiert werden.

Ebenfalls konnte keine signifikante Korrelation zwischen der ERCC-1 Intensität und dem Vorliegen von Lymphknotenmetastasen ($p = 0,254$), dem Rezidivverhalten ($p = 0,739$), dem Grading ($p = 0,758$), dem Geschlecht ($p = 0,716$) aufgezeichnet werden. Es zeigte sich eine tendenziell signifikante Korrelation zum Rauchverhalten ($p = 0,084$).

Die *Tabelle 7* verdeutlicht die Korrelationen der Marker mit den klinisch pathologischen und histopathologischen Patientencharakteristika der Gruppe I.

7.2.2 Gruppe II: Neoadjuvante Chemotherapie

In Gruppe II manifestierte sich eine tendenziell signifikante Korrelation zwischen Survivin im Zytoplasma und dem Vorliegen von Lymphknotenmetastasen ($p = 0,072$). Von den Patienten aus Gruppe II, die keine Lymphknotenmetastasen aufzeigten, exprimierten 40 (70,2 %) Patienten eine niedrige Menge Survivin im Zytoplasma. 17 (29,8 %) der Patienten ohne Lymphknotenmetastasen verdeutlichten eine hohe Expression des Markers im Zytoplasma. Im Vergleich hierzu zeigten Patienten mit Lymphknotenmetastasen in acht (100,0 %) Fällen eine niedrige Expression und keiner (0,0 %) der Patienten eine hohe Expression.

Es verdeutlichte sich keine signifikante Korrelation zwischen Survivin im Zytoplasma und dem Rezidivverhalten ($p = 0,879$), dem Grading ($p = 0,382$) oder dem Rauchverhalten ($p = 0,664$).

Es zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen der Expressionshöhe von Survivin im Zytoplasma und dem Geschlecht ($p = 0,042$).

Ebenfalls konnte keine signifikante Korrelation zwischen Survivin im Zellkern und dem Vorliegen von Lymphknotenmetastasen ($p = 0,590$), dem Rezidivverhalten ($p = 0,426$), dem Grading ($p = 0,800$), dem Geschlecht ($p = 0,506$) oder dem Rauchverhalten ($p = 0,524$) aufgezeichnet werden.

Auch der Marker ERCC-1 im Zellkern zeigte keine signifikante Korrelation zum Lymphknotenbefall ($p = 0,795$), zum Rezidivverhalten ($p = 0,264$), zum Grading ($p = 0,538$), zum Geschlecht ($p = 0,479$) oder zum Rauchverhalten ($p = 0,208$).

Auch zwischen der ERCC-1 Intensität und dem Lymphknotenbefall ($p = 0,331$), dem Rezidivverhalten ($p = 0,150$), dem Grading ($p = 0,645$), dem Geschlecht ($p = 0,934$)

oder dem Rauchverhalten ($p = 0,427$) charakterisierte sich keine signifikante Korrelation.

Die *Tabelle 8* verdeutlicht die Korrelationen der Marker mit den klinisch pathologischen und histopathologischen Patientencharakteristika der Gruppe II.

7.2.3 Gruppe III: Adjuvante Chemotherapie

In Gruppe III konnte keine signifikante Korrelation zwischen Survivin im Zytoplasma und dem Vorliegen von Lymphknotenmetastasen ($p = 0,842$), dem Rezidivverhalten ($p = 0,641$), dem Geschlecht ($p = 0,214$) oder dem Rauchverhalten ($p = 0,660$) gezeigt werden.

Auch Survivin im Zellkern zeigte keine signifikante Korrelation zum Lymphknotenbefall ($p = 0,531$), zum Rezidivverhalten ($p = 0,354$), zum Geschlecht ($p = 0,495$) oder zum Rauchverhalten ($p = 0,248$).

Der Marker ERCC-1 im Zellkern zeigte eine tendenziell signifikante Korrelation zu dem Auftreten von Lymphknotenmetastasen ($p = 0,055$). Von den Patienten, die keine Lymphknotenmetastasen hatten, verdeutlichten sechs (46,2 %) Patienten eine niedrige Expression des Markers ERCC-1. Sieben (53,8 %) der Patienten ohne Lymphknotenmetastasen wiesen eine hohe Expression auf. Im Vergleich zu Patienten ohne Lymphknotenmetastasen, zeigten Patienten mit Lymphknotenmetastasen einen höheren Prozentsatz an Fällen mit niedriger ERCC-1 Expression im Zellkern. Hier wurden vier (21,1 %) Patient in die Kategorie hohe Expression und 15 (78,9 %) der Patienten in die Kategorie niedrige Expression eingeteilt.

Eine signifikante Korrelation zum Rezidivverhalten ($p = 0,373$), zum Geschlecht ($p = 0,210$) oder zum Rauchverhalten ($p = 0,652$) konnte nicht dokumentiert werden.

Die ERCC-1 Intensität wies eine tendenziell signifikante Korrelation zu dem Vorliegen von Lymphknotenmetastasen auf ($p = 0,051$). Von den Patienten, die nicht unter Lymphknotenmetastasen litten, zeigten neun (69,2 %) Patienten eine niedrige Intensität des Markers ERCC-1. Vier (30,8 %) der Patienten ohne Lymphknotenmetastasen zeichneten eine hohe Intensität auf. Im Vergleich zu Patienten ohne Lymphknotenmetastasen, zeichneten Patienten mit Lymphknotenmetastasen einen höheren Prozentsatz an Fällen mit niedriger ERCC-1 Intensität auf. Hier wurde nur ein (5,3 %) Patient in die Kategorie hohe Intensität und dafür 18 (94,7 %) der Patienten in die Kategorie niedrige Intensität eingeteilt.

Die ERCC-1 Intensität wies keine signifikante Korrelation zum Rezidivverhalten ($p = 0,425$), zum Geschlecht ($p = 0,646$) oder zum Rauchverhalten auf ($p = 0,646$).

Die *Tabelle 9* verdeutlicht die Korrelationen der Marker mit den klinisch pathologischen und histopathologischen Patientencharakteristika der Gruppe III.

Zu 7.2.1: Tabelle 7: Gruppe I – Korrelationen zwischen der Marker und den klinisch pathologischen und histopathologischen Charakteristika

Patientencharakteristika	Survivin Zytoplasma		Survivin Zellkern		ERCC-1 Zellkern		ERCC-1 Intensität	
	niedrig	hoch	niedrig	hoch	niedrig	hoch	niedrig	hoch
Geschlecht								
weiblich	23 (76,7)	7 (23,3)	29 (96,7)	1 (3,3)	24 (80,0)	6 (20,0)	28 (93,3)	2 (6,7)
männlich	107 (78,1)	30 (21,9)	131 (95,6)	6 (4,4)	104 (75,4)	34 (24,6)	126 (91,3)	12 (8,7)
	$p = 0,864$		$p = 0,796$		$p = 0,589$		$p = 0,716$	
Rauchverhalten								
negativ	54 (73,0)	20 (27,0)	71 (95,9)	3 (4,1)	60 (80,0)	15 (20,0)	72 (96,0)	3 (4,0)
positiv	71 (81,6)	16 (18,4)	83 (95,4)	4 (4,6)	64 (72,7)	24 (27,3)	78 (88,6)	10 (11,4)
	$p = 0,190$		$p = 0,866$		$p = 0,278$		$p = 0,084$	
Grading (WHO 2004)								
low grade	23 (79,3)	6 (20,7)	29 (100,0)	0 (0,0)	25 (86,2)	4 (13,8)	27 (93,1)	2 (6,9)
high grade	107 (77,5)	31 (22,5)	131 (94,9)	7 (5,1)	103 (74,1)	36 (25,9)	127 (91,4)	12 (8,6)
	$p = 0,834$		$p = 0,215$		$p = 0,164$		$p = 0,758$	
Lymphknotenmetastasen								
negativ	41 (80,4)	10 (19,6)	48 (94,1)	3 (5,9)	40 (78,4)	11 (21,6)	48 (94,1)	3 (5,9)
positiv	7 (53,8)	6 (46,2)	10 (76,9)	3 (23,1)	11 (84,6)	2 (15,4)	11 (84,6)	2 (15,4)
	$p = 0,048$		$p = 0,058$		$p = 0,621$		$p = 0,254$	
Rezidivverhalten								
negativ	82 (82,0)	18 (18,0)	96 (96,0)	4 (4,0)	40 (78,4)	11 (21,6)	92 (91,1)	9 (8,9)
positiv	48 (71,6)	19 (28,4)	64 (95,5)	3 (4,5)	11 (84,6)	2 (15,4)	62 (92,5)	5 (7,5)
	$p = 0,114$		$p = 0,880$		$p = 0,621$		$p = 0,739$	

(Abkürzungen: ERCC-1 Excision-repair-cross-complementation-group 1; WHO World Health Organisation)

Zu 7.2.2: Tabelle 8: Gruppe II – Korrelationen zwischen der Marker und den klinisch pathologischen und histopathologischen Charakteristika

Patientencharakteristika	Survivin Zytoplasma		Survivin Zellkern		ERCC-1 Zellkern		ERCC-1 Intensität	
	niedrig	hoch	niedrig	hoch	niedrig	hoch	niedrig	hoch
Geschlecht								
weiblich	6 (50,0)	6 (50,0)	12 (100,0)	0 (0,0)	11 (91,7)	1 (8,3)	11 (91,7)	1 (8,3)
männlich	44 (78,6)	12 (21,4)	54 (96,4)	2 (3,6)	46 (83,6)	9 (16,4)	50 (90,9)	5 (9,1)
	$p = 0,042$		$p = 0,506$		$p = 0,479$		$p = 0,934$	
Rauchverhalten								
negativ	7 (70,0)	3 (30,0)	10 (100,0)	0 (0,0)	10 (100,0)	0 (0,0)	10 (100,0)	0 (0,0)
positiv	39 (76,5)	12 (23,5)	49 (96,1)	2 (3,9)	43 (86,0)	7 (14,0)	47 (94,0)	3 (6,0)
	$p = 0,664$		$p = 0,524$		$p = 0,208$		$p = 0,427$	
Grading (WHO 2004)								
low grade	2 (100,0)	0 (0,0)	2 (100,0)	0 (0,0)	2 (100,0)	0 (0,0)	2 (100,0)	0 (0,0)
high grade	23 (71,9)	9 (28,1)	31 (96,9)	1 (3,1)	26 (83,9)	5 (16,1)	28 (90,3)	3 (9,7)
	$p = 0,382$		$p = 0,800$		$p = 0,538$		$p = 0,645$	
Lymphknotenmetastasen								
negativ	40 (70,2)	17 (29,8)	55 (96,5)	2 (3,5)	47 (83,9)	9 (16,1)	50 (89,3)	6 (10,7)
positiv	8 (100,0)	0 (0,0)	8 (100,0)	0 (0,0)	7 (87,5)	1 (12,5)	8 (100,0)	0 (0,0)
	$p = 0,072$		$p = 0,590$		$p = 0,795$		$p = 0,331$	
Rezidivverhalten								
negativ	38 (73,1)	14 (26,9)	50 (96,2)	2 (3,8)	42 (82,4)	9 (17,6)	45 (88,2)	6 (11,8)
positiv	12 (75,0)	4 (25,0)	16 (100,0)	0 (0,0)	15 (93,8)	1 (6,3)	16 (100,0)	0 (0,0)
	$p = 0,879$		$p = 0,426$		$p = 0,264$		$p = 0,150$	

Zu 7.2.3: Tabelle 9: Gruppe III – Korrelationen zwischen der Marker und den klinisch pathologischen und histopathologischen Charakteristika

Patientencharakteristika	Survivin Zytoplasma		Survivin Zellkern		ERCC-1 Zellkern		ERCC-1 Intensität	
	niedrig	hoch	niedrig	hoch	niedrig	hoch	niedrig	hoch
Geschlecht								
weiblich	2 (20,0)	8 (80,0)	7 (70,0)	3 (30,0)	5 (50,0)	5 (50,0)	8 (80,0)	2 (20,0)
männlich	9 (42,9)	12 (57,1)	17 (81,0)	4 (19,0)	16 (72,7)	6 (27,3)	19 (86,4)	3 (13,6)
	<i>p</i> = 0,214		<i>p</i> = 0,495		<i>p</i> = 0,210		<i>p</i> = 0,646	
Rauchverhalten								
negativ	3 (30,0)	7 (70,0)	9 (90,0)	1 (10,0)	6 (60,0)	4 (40,0)	8 (80,0)	2 (20,0)
positiv	8 (38,1)	13 (61,9)	15 (71,4)	6 (28,6)	15 (68,2)	7 (31,8)	19 (86,4)	3 (13,6)
	<i>p</i> = 0,660		<i>p</i> = 0,248		<i>p</i> = 0,652		<i>p</i> = 0,646	
Lymphknotenmetastasen								
negativ	4 (33,3)	8 (66,7)	10 (83,3)	2 (16,7)	6 (46,2)	7 (53,8)	9 (69,2)	4 (30,8)
positiv	7 (36,8)	12 (63,2)	14 (73,7)	5 (26,3)	15 (78,9)	4 (21,1)	18 (94,7)	1 (5,3)
	<i>p</i> = 0,842		<i>p</i> = 0,531		<i>p</i> = 0,055		<i>p</i> = 0,051	
Rezidivverhalten								
negativ	4 (30,8)	9 (69,2)	9 (69,2)	4 (30,8)	8 (57,1)	6 (42,9)	11 (78,6)	3 (21,4)
positiv	7 (38,9)	11 (61,1)	15 (83,3)	3 (16,7)	13 (72,2)	5 (27,8)	16 (88,9)	2 (11,1)
	<i>p</i> = 0,641		<i>p</i> = 0,354		<i>p</i> = 0,373		<i>p</i> = 0,425	

7.3 Tumorspezifisches Überleben in Abhängigkeit der Marker

Die zweite Fragestellung beschäftigte sich mit dem Vergleich des tumorspezifischen Überlebens in Abhängigkeit der Expressionshöhen und Intensität der Marker.

Zur Analyse des tumorspezifischen Überlebens der Patienten wurden die gemessenen Expressionshöhen der Marker aus den immunhistologischen Färbung der TMAs der radikalen Zystektomie herangezogen. Es erfolgte die Erstellung von Kaplan-Meier-Kurven.

7.3.1 Gruppe I: Keine Chemotherapie

In der ersten Gruppe, stammend aus Turku, wurden diejenigen Patienten betrachtet, die sich nur einer radikalen Zystektomie unterzogen haben und weder eine neoadjuvante noch eine adjuvante Chemotherapie erhalten haben. Zur Eruiierung des tumorspezifisches Überlebens wurden die Expressionshöhen der immunhistologischen Färbungen der TMAs der radikalen Zystektomie herangezogen. Es konnte in der Kaplan-Meier-Kurve ein tendenziell signifikantes längeres tumorspezifisches Überleben bei denjenigen Patienten dokumentiert werden, die eine niedrige Expressionsrate von Survivin im Zytoplasma aufwiesen. Patienten mit hoher Expression zeichneten ein kürzeres tumorspezifisches Überleben auf ($p = 0,070$). In die Untersuchung miteinbezogen wurden insgesamt 167 Patienten, davon zeigten 130 Patienten eine niedrige Expression von Survivin im Zytoplasma und 37 Patienten hingegen eine hohe Expression (*Abbildung 6A*).

Es konnte kein eindeutiges Ergebnis in der Untersuchung des tumorspezifischen Überlebens, mit dem abhängigen Parameter des Markers Survivin im Zellkern, erzielt werden. Auch hier wurden 167 Patienten eingeschlossen, darunter zeigte die Mehrheit der Patienten (160 Fälle) eine niedrige Expression auf und nur sieben der Patienten zeigten eine hohe Expression. Durch die sehr ungleiche Gruppeneinteilung konnte hier keine auswertbare Kurve herangezogen werden (*Abbildung 6B*).

Die Analyse der Kaplan-Meier-Kurve, die das tumorspezifische Überleben der Patientengruppe mit niedriger Expression von ERCC-1 im Zellkern und der Patientengruppe mit hoher Expression des Markers im Zellkern illustrierte, verdeutlichte ein tendenziell signifikant längeres tumorspezifisches Überleben bei denjenigen Patienten, die eine hohe Expression von ERCC-1 aufwiesen ($p = 0,095$). In die Analyse flossen insgesamt 168 Patienten mit ein, darunter 128 Fälle mit einer niedrigen Expressionsrate und 40 Fälle mit hoher Expressionsrate (*Abbildung 7A*).

Die Eruiierung des unterschiedlichen tumorspezifischen Überlebens, abhängig von der Intensität des Markers ERCC-1, brachte keine aussagekräftigen Ergebnisse. Auch in diese Untersuchung wurden 168 Patienten miteingeschlossen, von denen 154 Patienten eine niedrige Intensität zeigten und die restlichen 14 Patienten eine hohe Intensität (*Abbildung 7B*).

7.3.2 Gruppe II: Neoadjuvante Chemotherapie

In der zweiten Gruppe, die in Helsinki behandelt wurde, wurden diejenigen Patienten untersucht, die vor der radikalen Zystektomie eine neoadjuvante Chemotherapie erhalten haben. Zur Eruiierung des tumorspezifisches Überlebens wurden die Expressionshöhen der immunhistologischen Färbungen der TMAs der radikalen Zystektomie herangezogen.

In der Kaplan-Meier-Kurve verdeutlichte sich der Anschein des längeren tumorspezifischen Überlebens bei Patienten mit einer hohen Expression von Survivin im Zytoplasma gegenüber Patienten mit einer niedrigen Expression dieses Markers. Allerdings erwies sich hierfür keine Signifikanz ($p = 0,530$). In diese Analyse wurden insgesamt 68 Patienten berücksichtigt, darunter befanden sich 50 Patienten in der Gruppe der Niedrigexprimierer und 18 Patienten in der Gruppe der Hochexprimierer (*Abbildung 8A*).

Für die Analyse des tumorspezifischen Überlebens abhängig von der Expressionshöhe des Markers Survivin im Zellkern wurden insgesamt 68 Patienten miteinbezogen, darunter zeigten 66 Patienten eine niedrige Expression im Zellkern und nur zwei Patienten eine hohe Expression. Durch die ungleiche Fallaufteilung konnte hier kein aussagekräftiges Ergebnis erzielt werden ($p = 0,487$) (*Abbildung 8B*). Zur Eruiierung des tumorspezifischen Überlebens bei Patienten mit niedriger und hoher Expression des Markers ERCC-1 wurden 67 Patientenfälle einbezogen. In der Analyse der Expressionshöhe des Markers ERCC-1 im Zellkern wurde ein längeres tumorspezifisches Überleben bei Patienten mit hoher Expression, im Vergleich zu Patienten mit niedriger Expression, angedeutet, allerdings zeigte sich keine Signifikanz ($p = 0,356$). Unter den 67 Patientenfälle, die zu dieser Analyse herangezogen wurden, befanden sich 57 Patienten in der Gruppe der niedrig Expremierer und zehn Patienten in der Gruppe der Hochexprimierer (*Abbildung 9A*).

In der Analyse der Intensität des ERCC-1 Markers im Zellkern zeigte sich der Anschein des längeren tumorspezifischen Überlebens bei Patienten mit hoher Intensität.

Allerdings ohne eine Signifikanz ($p = 0,196$). Aus den 67 hier untersuchten Fällen, zählten 61 Fälle in die Gruppe der niedrigen Intensität und sechs in die Gruppe der hohen Intensität (*Abbildung 9B*).

7.3.3 Gruppe III: Adjuvante Chemotherapie

Die dritte Patientengruppe stammt aus Bad Saarow, hier wurden die Patienten nach der radikalen Zystektomie mit einer adjuvanten Chemotherapie behandelt. Zur Eruiierung des tumorspezifisches Überlebens wurden die Expressionshöhen der immunhistologischen Färbung der TMAs der radikalen Zystektomie herangezogen.

Für die Analyse des tumorspezifischen Überlebens der Patienten mit niedriger und hoher Expression von Survivin im Zytoplasma standen insgesamt 31 Patienten zur Verfügung. Von diesen 31 Patienten wiesen elf Patienten eine niedrige Expression von Survivin im Zytoplasma auf und 20 Patienten zeigten eine hohe Expression. In der Analyse konnte kein signifikanter Unterschied im tumorspezifischen Überleben in Abhängigkeit der Expressionshöhe des Markers dokumentiert werden ($p = 0,628$) (*Abbildung 10A*).

In die Analyse des tumorspezifischen Überlebens der Patienten mit niedriger und hoher Expression von Survivin im Zellkern wurden ebenfalls 31 Patienten integriert, von diesen hatten 24 Patienten eine niedrige Expression und sieben zeigten eine hohe Expression des Markers. Es offenbarte sich der Anschein des längeren tumorspezifischen Überlebens bei den Patienten mit einer hohen Expression von Survivin im Zellkern. Jedoch erwies sich hierfür keine Signifikanz ($p = 0,171$) (*Abbildung 10B*).

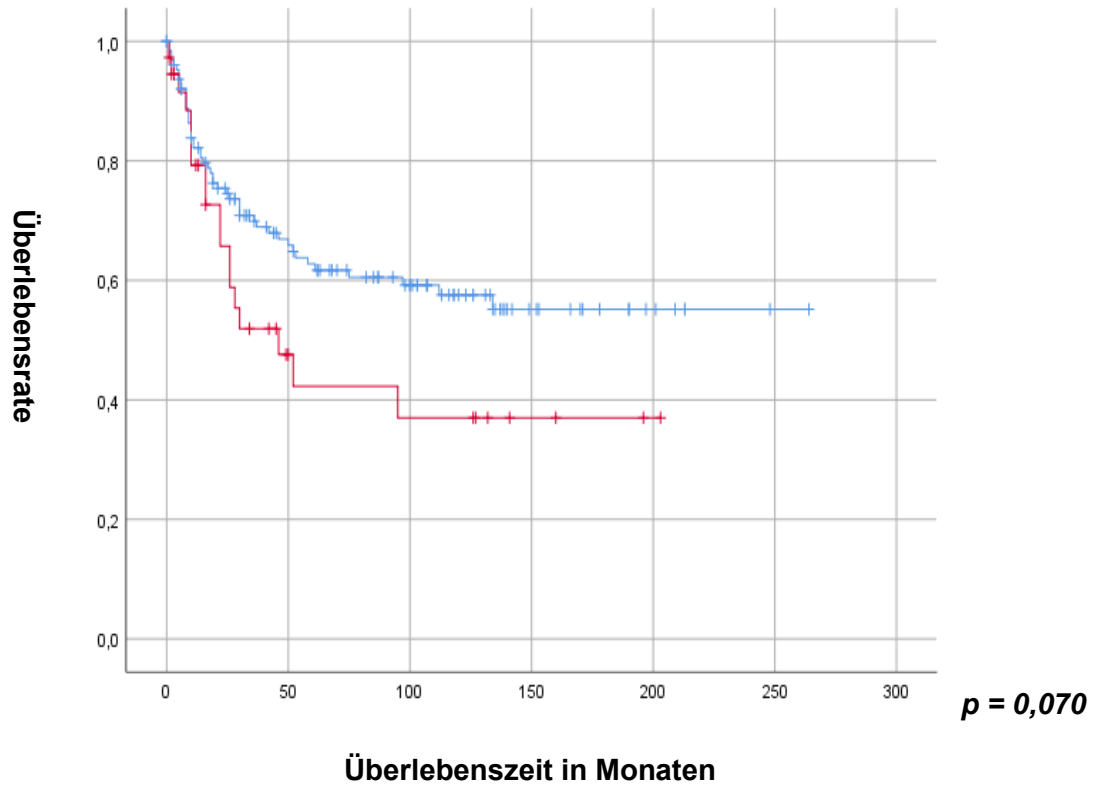
In die Analyse des Überlebens in Abhängigkeit von der Expressionshöhe des Markers ERCC-1 im Zellkern wurden insgesamt 32 Patienten integriert. Aus diesem Patientenkollektiv zeigten 21 Patienten eine niedrige Expressionshöhe und elf Patienten zeigten eine hohe Expressionshöhe. Es demonstrierte sich kein signifikanter Unterschied im tumorspezifischen Überleben ($p = 0,348$) (*Abbildung 11A*).

Es wurde ebenfalls kein signifikanter Unterschied im Überleben in Abhängigkeit der Intensitätshöhe von ERCC-1 eruiert ($p = 0,819$). Für diese Analyse wurden ebenfalls 32 Patienten herangezogen, davon zeigten 27 Patienten eine niedrige Intensität von ERCC-1 und fünf Patienten wiesen eine hohe Intensität auf (*Abbildung 11B*).

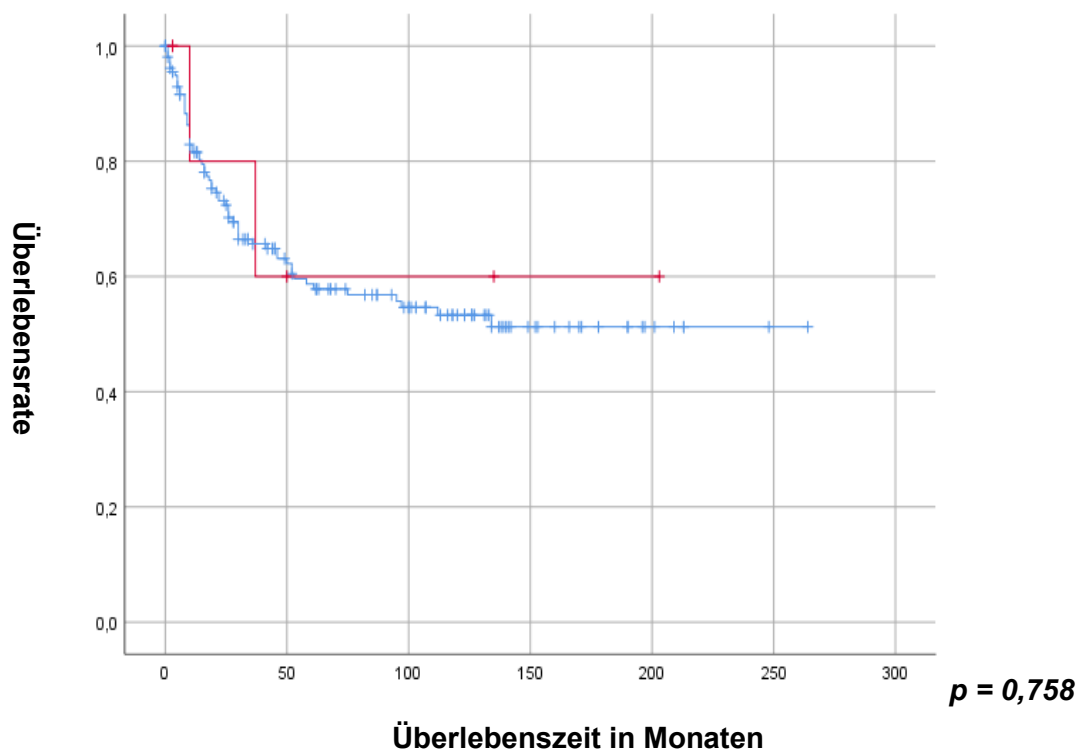
Zu 7.3.1: Abbildung 6: Kaplan-Meier-Kurve – Gruppe I: Tumorspezifisches Überleben in Abhängigkeit der Survivin Expression im Zytoplasma (A) und im Zellkern (B)

BLAUE KURVE: NIEDRIG - ROTE KURVE: HOCH

6A



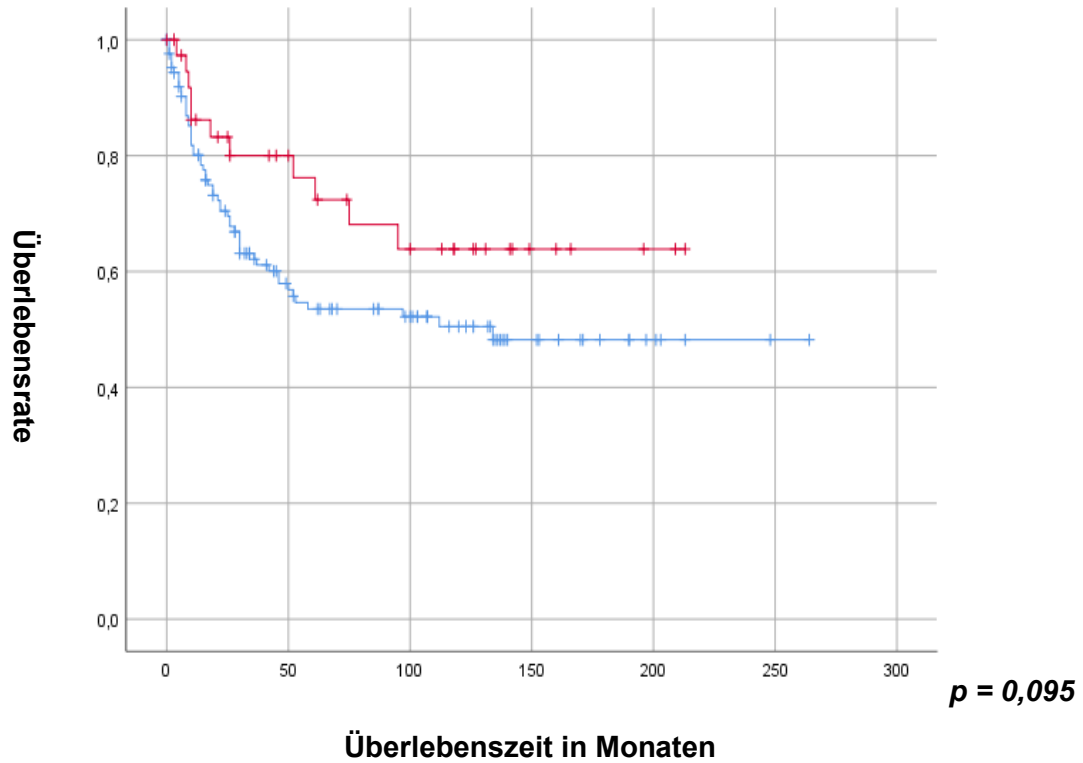
6B



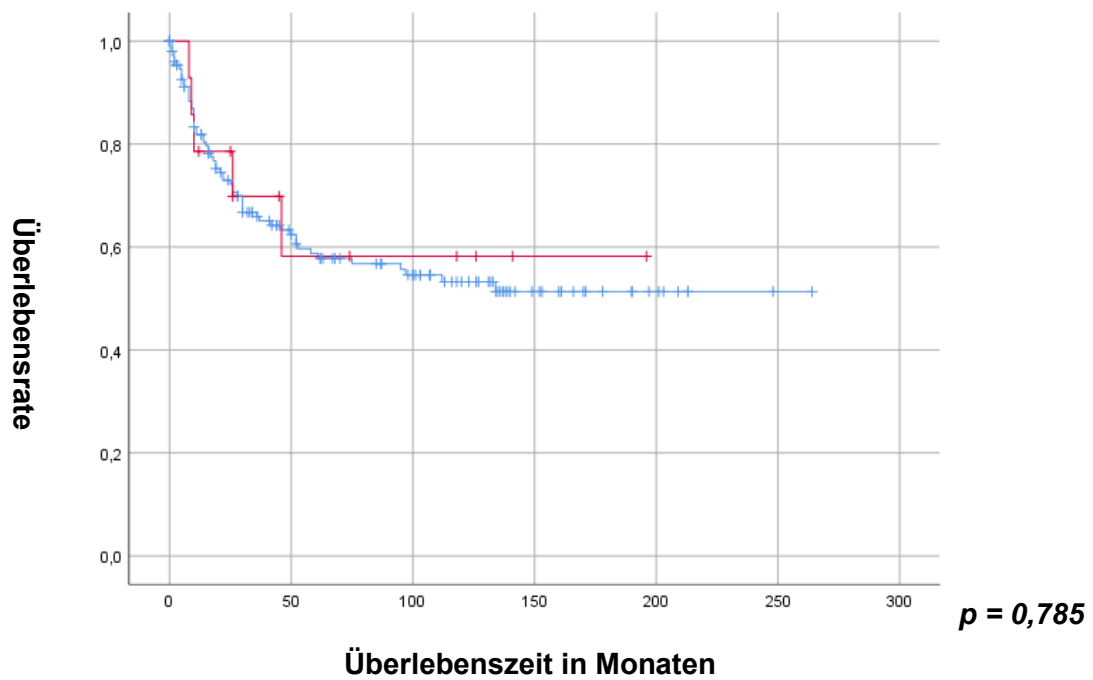
Zu 7.3.1: Abbildung 7: Kaplan-Meier-Kurve – Gruppe I: Tumorspezifisches Überleben in Abhängigkeit der ERCC-1 Expression im Zellkern (A) und der ERCC-1 Intensität (B)

BLAUE KURVE: NIEDRIG - ROTE KURVE: HOCH

7A



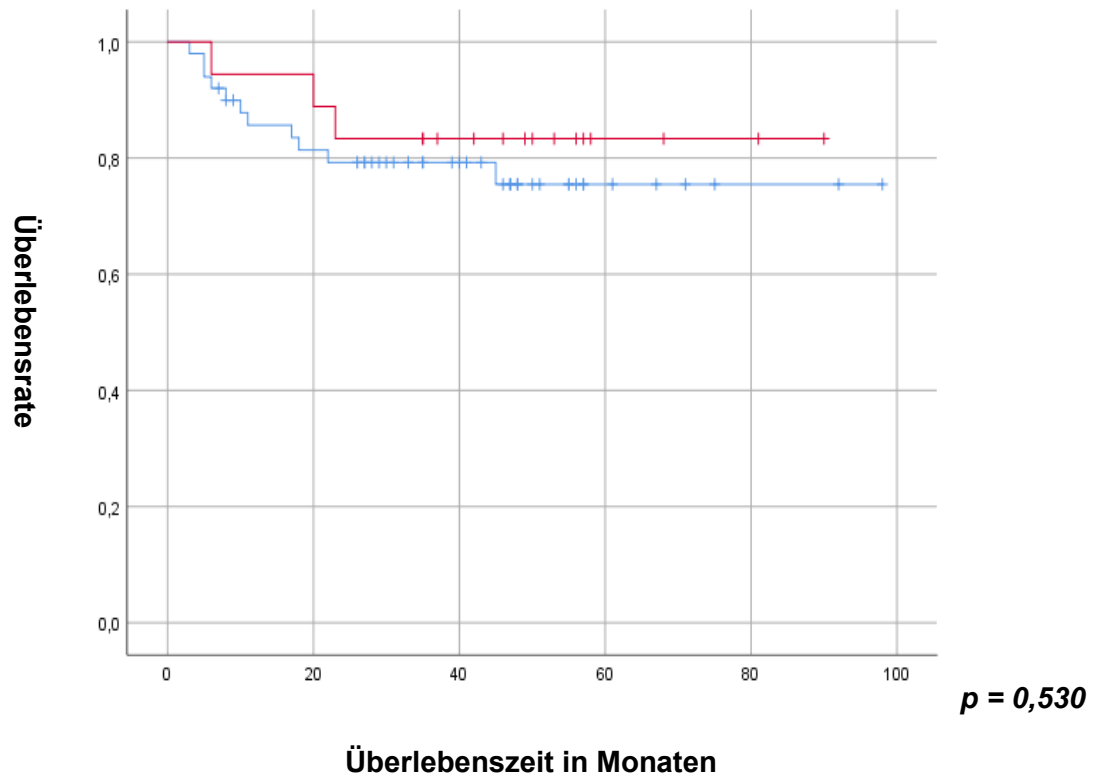
7B



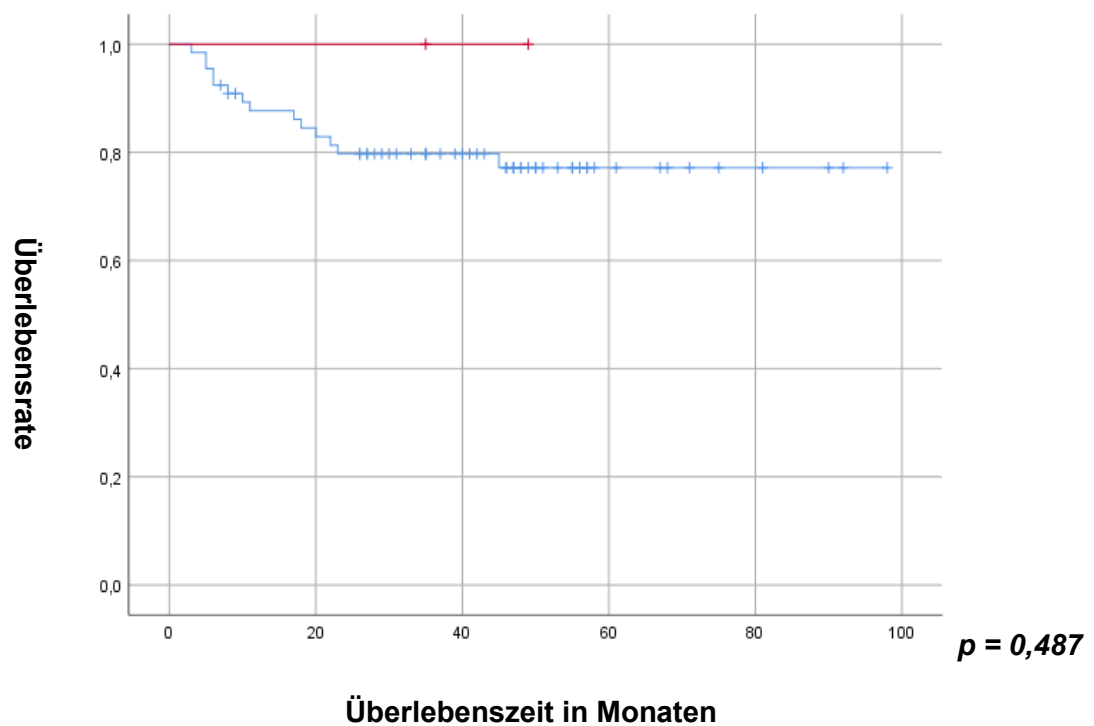
Zu 7.3.2: Abbildung 8: Kaplan-Meier-Kurve – Gruppe II: Tumorspezifisches Überleben in Abhängigkeit der Survivin Expression im Zytoplasma (A) und im Zellkern (B)

BLAUE KURVE: NIEDRIG - ROTE KURVE: HOCH

8A



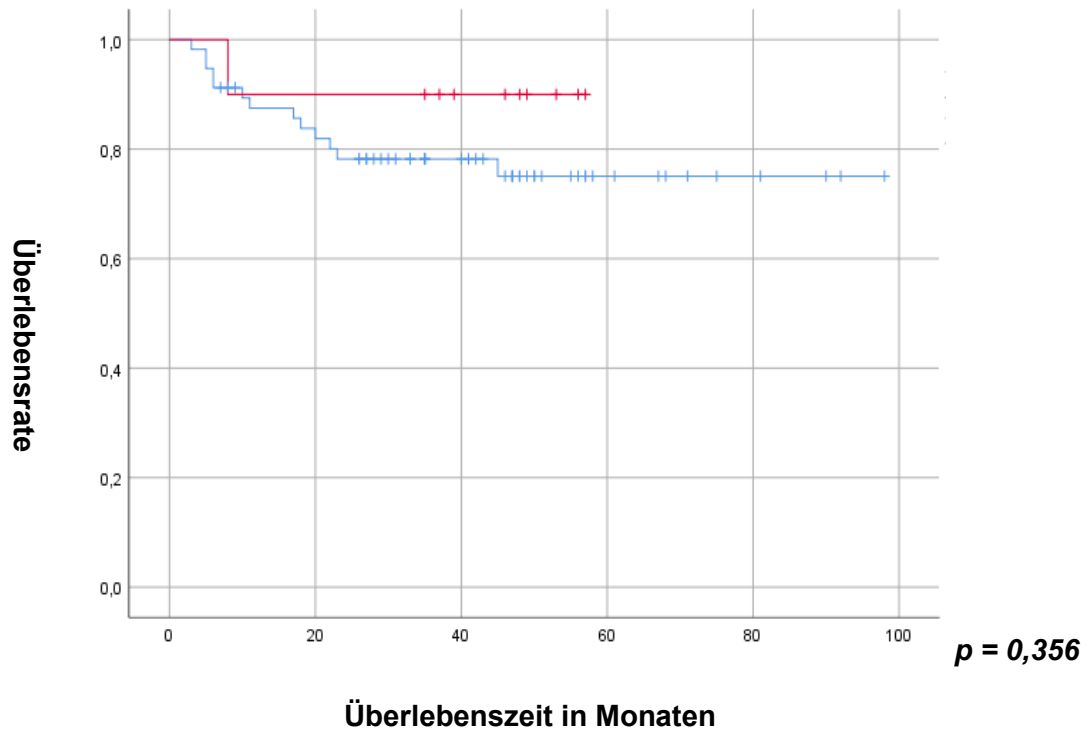
8B



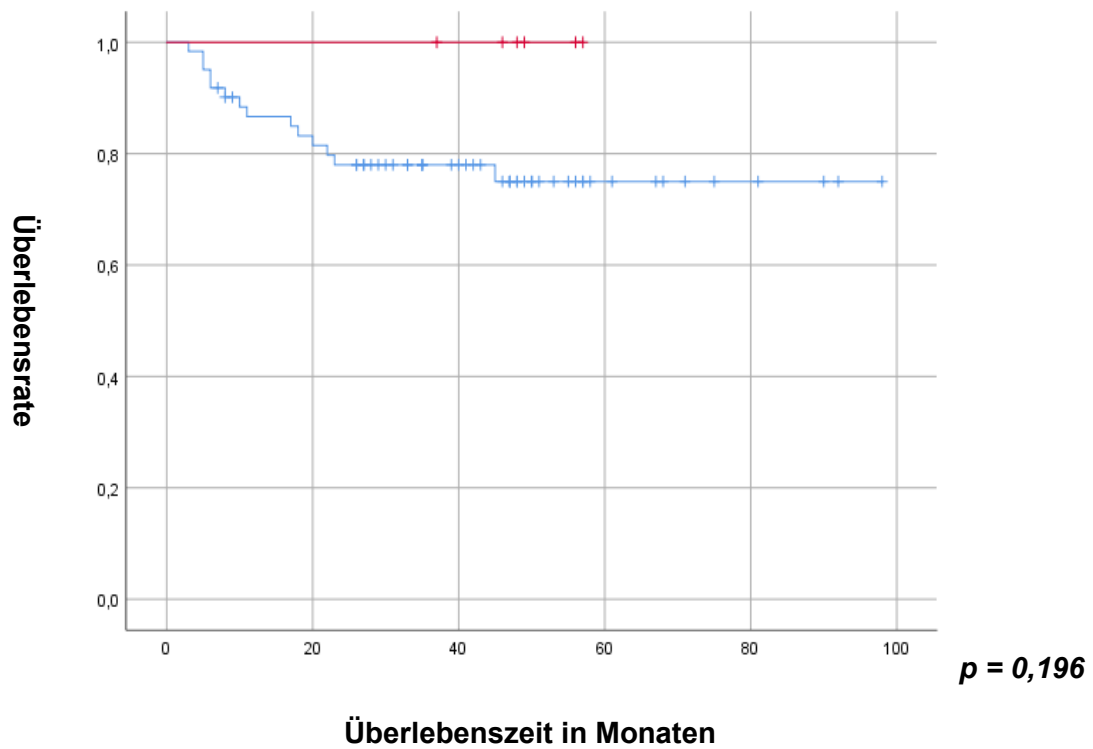
Zu 7.3.2: Abbildung 9: Kaplan-Meier-Kurve – Gruppe II: Tumorspezifisches Überleben in Abhängigkeit der ERCC-1 Expression im Zellkern (A) und der ERCC-1 Intensität (B)

BLAUE KURVE: NIEDRIG - ROTE KURVE: HOCH

9A



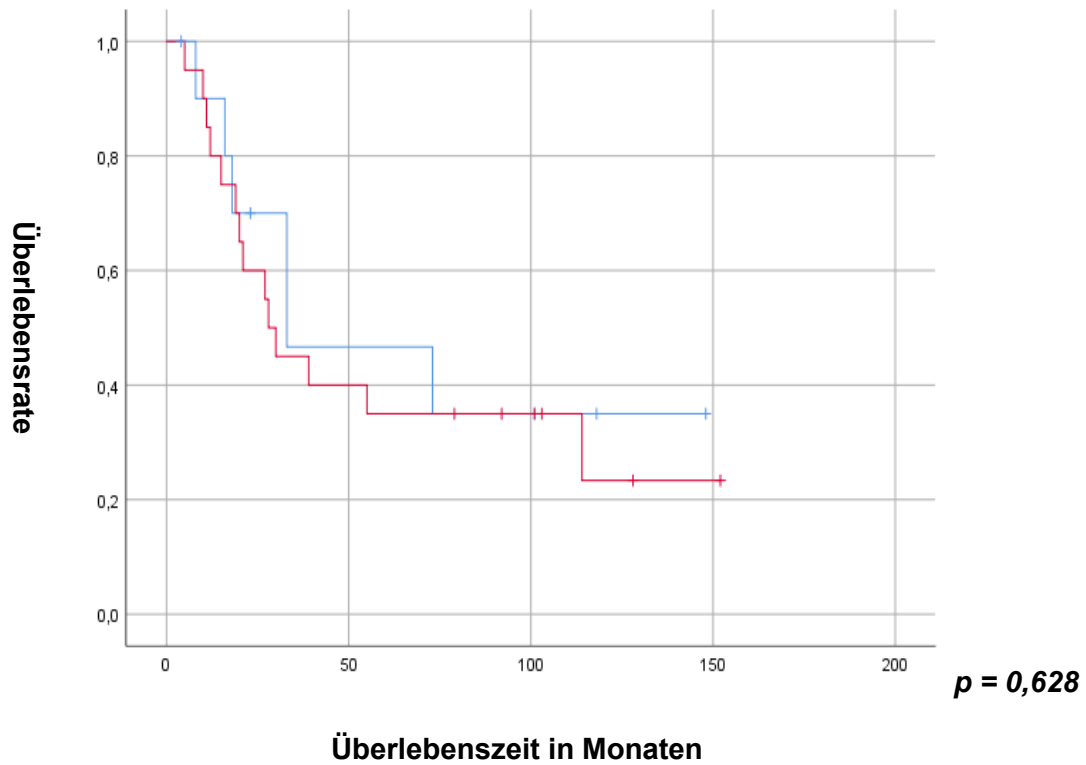
9B



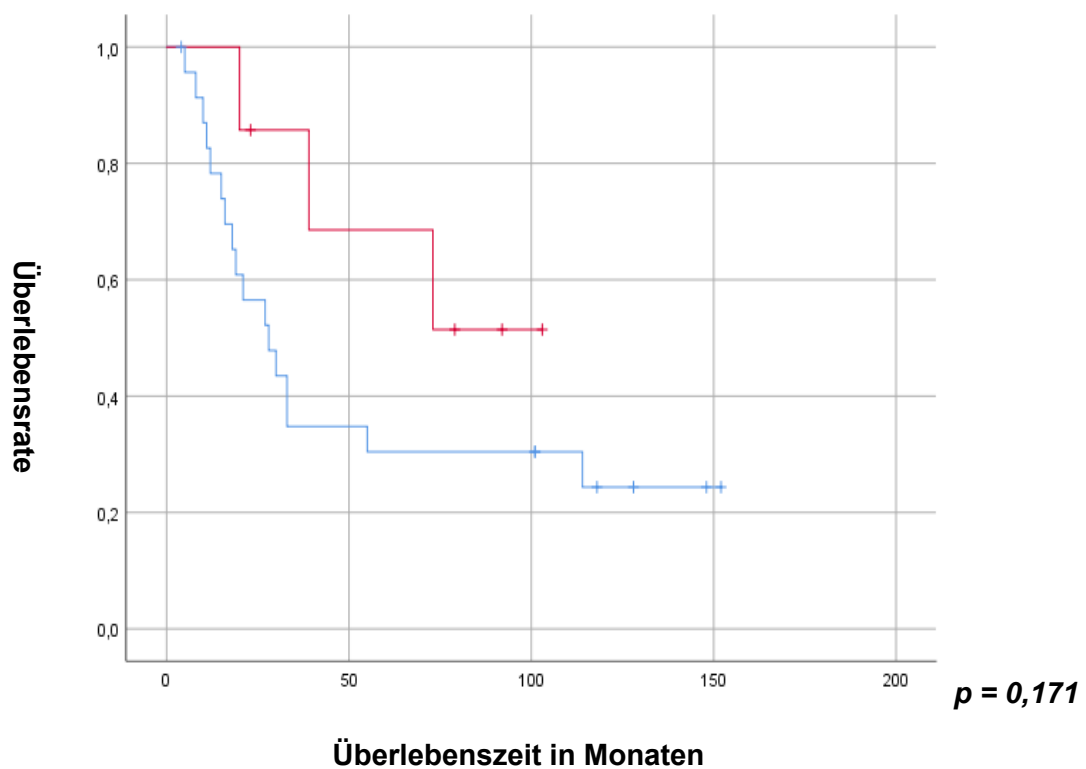
Zu 7.3.3: Abbildung 10: Kaplan-Meier-Kurve – Gruppe III: Tumorspezifisches Überleben in Abhängigkeit der Survivin Expression im Zytoplasma (A) und im Zellkern (B)

BLAUE KURVE: NIEDRIG - ROTE KURVE: HOCH

10A



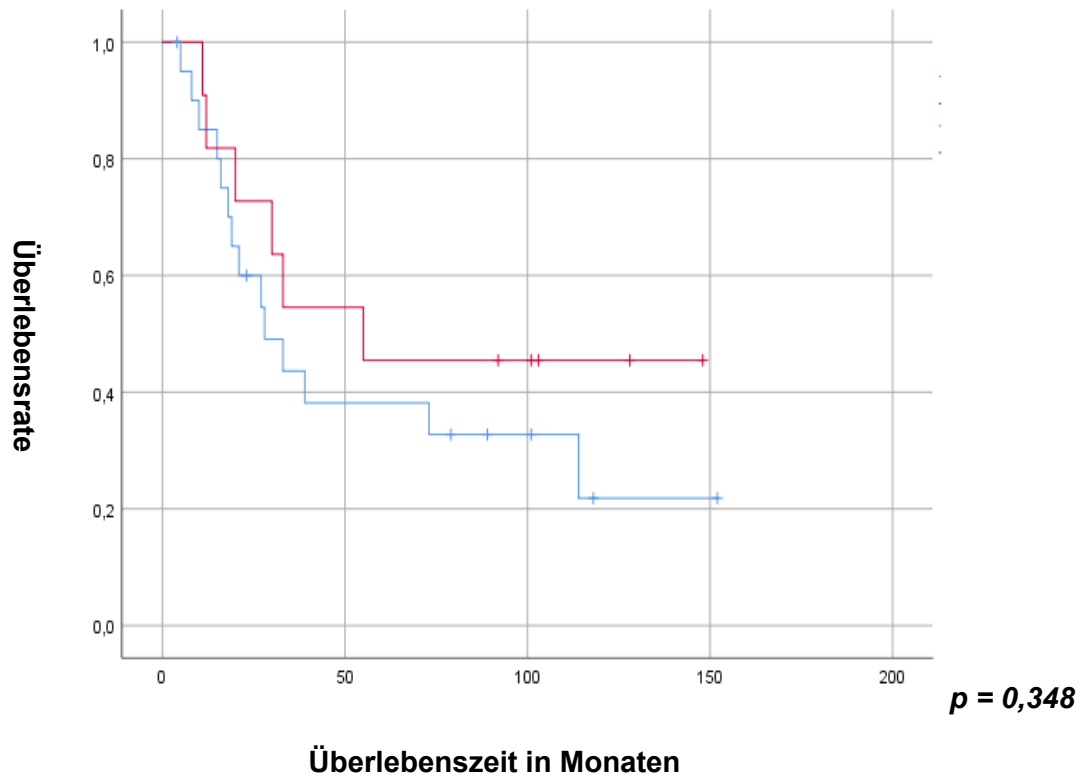
10B



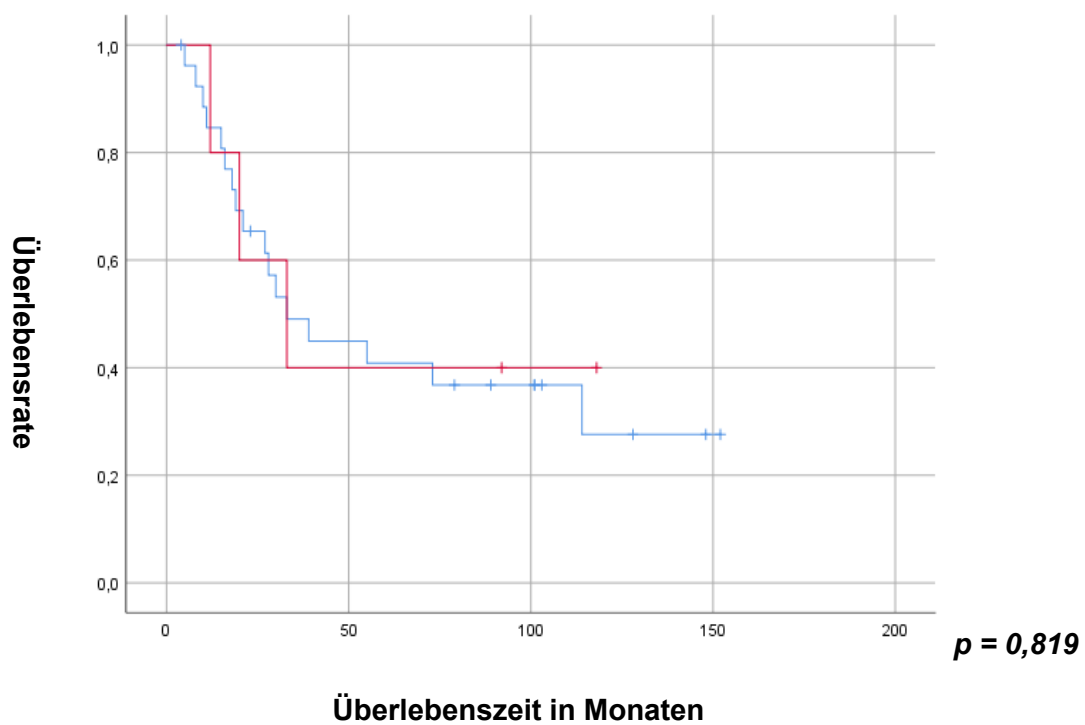
Zu 7.3.3: Abbildung 11: Kaplan-Meier-Kurve – Gruppe III: Tumorspezifisches Überleben in Abhängigkeit der ERCC-1 Expression im Zellkern (A) und der ERCC-1 Intensität (B)

BLAUE KURVE: NIEDRIG - ROTE KURVE: HOCH

11A



11B



7.4 Tumorspezifisches Überleben bei hoher Markerexpression und unterschiedlichen Therapieregimen

In diesem und im nächsten Kapitel erfolgt die Eruiierung der dritten Fragestellung, nämlich ob die Marker bei der Therapieentscheidung des Harnblasenkarzinoms mitwirken könnten. Hierzu wurden aus allen drei Gruppen jeweils diejenigen Patienten betrachtet, die eine hohe Expression der Marker aufwiesen. Anschließend erfolgte die Erstellung der Kaplan-Meier-Kurven zur Eruiierung des tumorspezifischen Überlebens. Eine hohe Expression von Survivin im Zytoplasma zeigten in der ersten Gruppe aus Turku insgesamt 37 Patienten, in der zweiten Gruppe aus Helsinki wurden 18 Patienten gezählt und in der letzten Gruppe, stammend aus Bad Saarow, waren 20 Patienten vertreten. In der Kaplan-Meier-Kurve zeigte sich ein signifikant längeres tumorspezifisches Überleben in der Patientengruppe aus Helsinki ($p = 0,023$), welche eine neoadjuvante Chemotherapie erhalten haben. Das tumorspezifische Überleben der Patientengruppen aus Bad Saarow und Turku unterschied sich nicht wesentlich, das tumorspezifische Überleben war bei beiden Gruppen deutlich schlechter im Vergleich zu den Patienten aus Helsinki (*Abbildung 12A*).

Der Vergleich der drei Patientengruppen mit jeweils hoher Expression von Survivin im Zellkern zeigte allerdings kein signifikantes Ergebnis, auch wenn anhand der Kaplan-Meier-Kurve der Anschein zum besseren Überleben der Patienten aus Helsinki geweckt wird ($p = 0,745$). Für diese Analyse konnten nur insgesamt 16 Patienten herangezogen werden, davon stammen 7 aus der Gruppe I, zwei stammen aus der Gruppe II und die restlichen sieben aus der Gruppe III. Das kleine Patientenkollektiv könnte hier eine Ursache der ausbleibenden Signifikanz darstellen (*Abbildung 12B*).

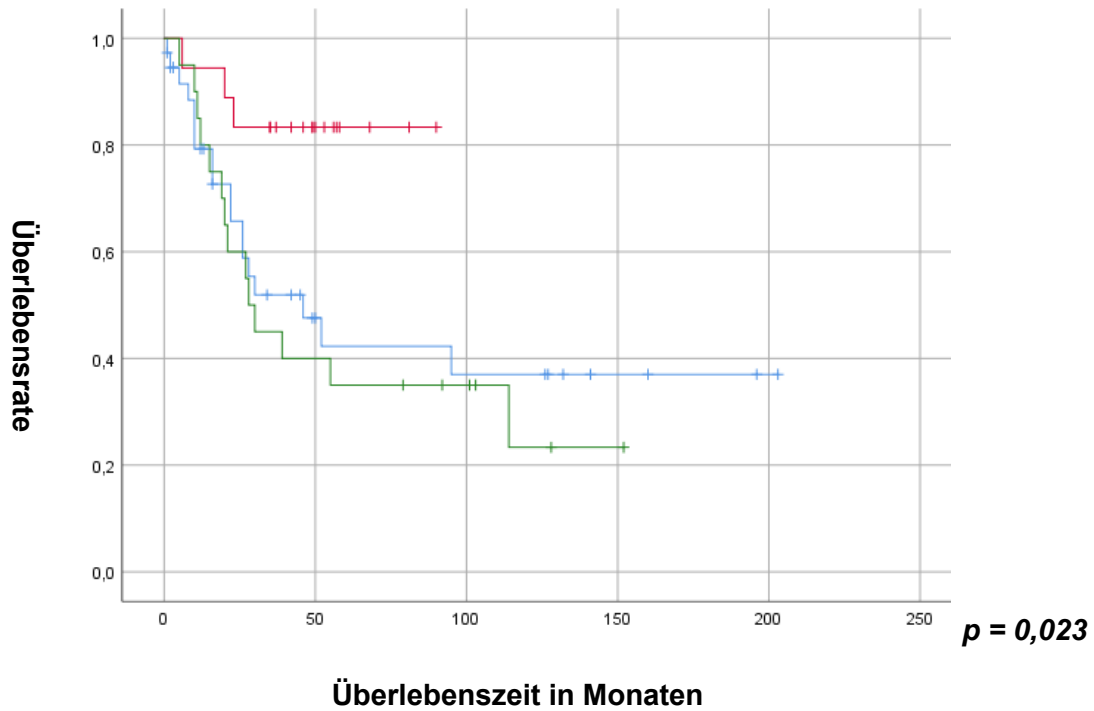
Beim Vergleich der drei Patientengruppen, mit jeweils hoher Expression von ERCC-1 im Zellkern wurden insgesamt 61 Patienten integriert. Von diesen 61 Patienten stammen 40 Patienten aus Turku, zehn aus Helsinki und elf aus Bad Saarow. Das längste tumorspezifische Überleben zeigten die Patienten aus Helsinki und das kürzeste die Patienten aus Bad Saarow. Allerdings zeigte sich keine Signifikanz ($p = 0,262$) (*Abbildung 13A*).

In die Analyse der Patienten mit jeweils starker Intensität von ERCC-1 wurden 25 Patienten einbezogen. Hier demonstrierte sich ebenfalls das längste tumorspezifische Überleben in der Patientengruppe aus Helsinki, allerdings ohne Signifikanz ($p = 0,133$). Von den 25 Patienten stammen 14 aus Turku, sechs aus Helsinki und fünf aus Bad Saarow (*Abbildung 13B*).

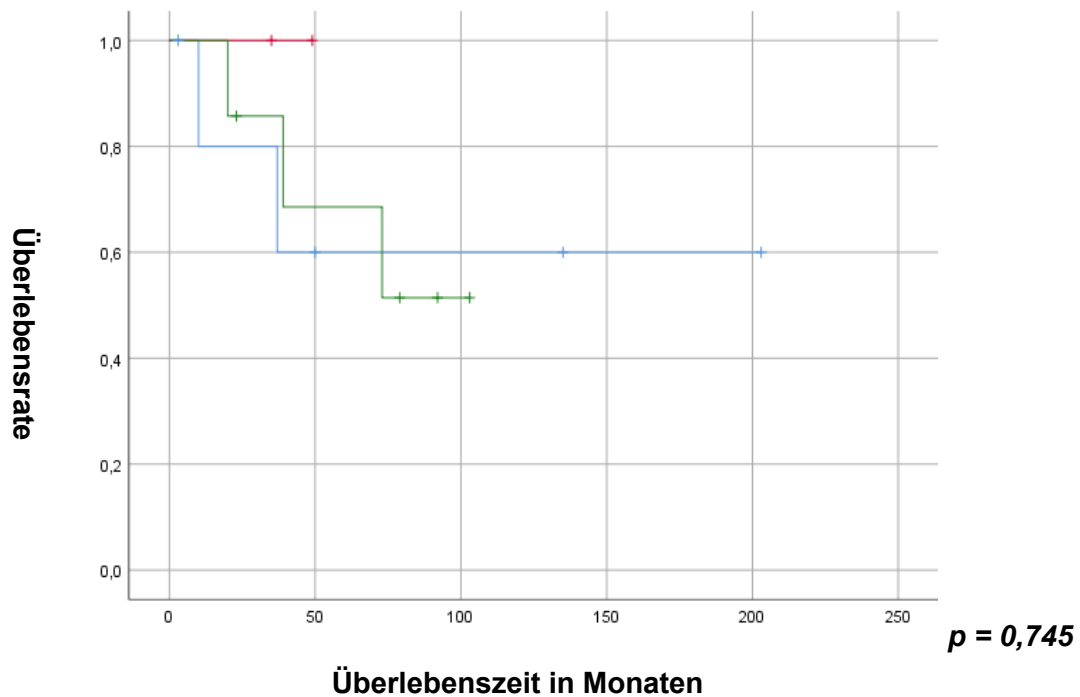
Zu 7.4: Abbildung 12: Vergleich tumorspezifisches Überleben von Patientenkollektiven mit hoher Expression von Survivin im Zytoplasma (A) und im Zellkern (B) bei verschiedenen Therapieregimen

Blaue Kurve: Gruppe I – Rote Kurve: Gruppe II – Grüne Kurve: Gruppe III

12A



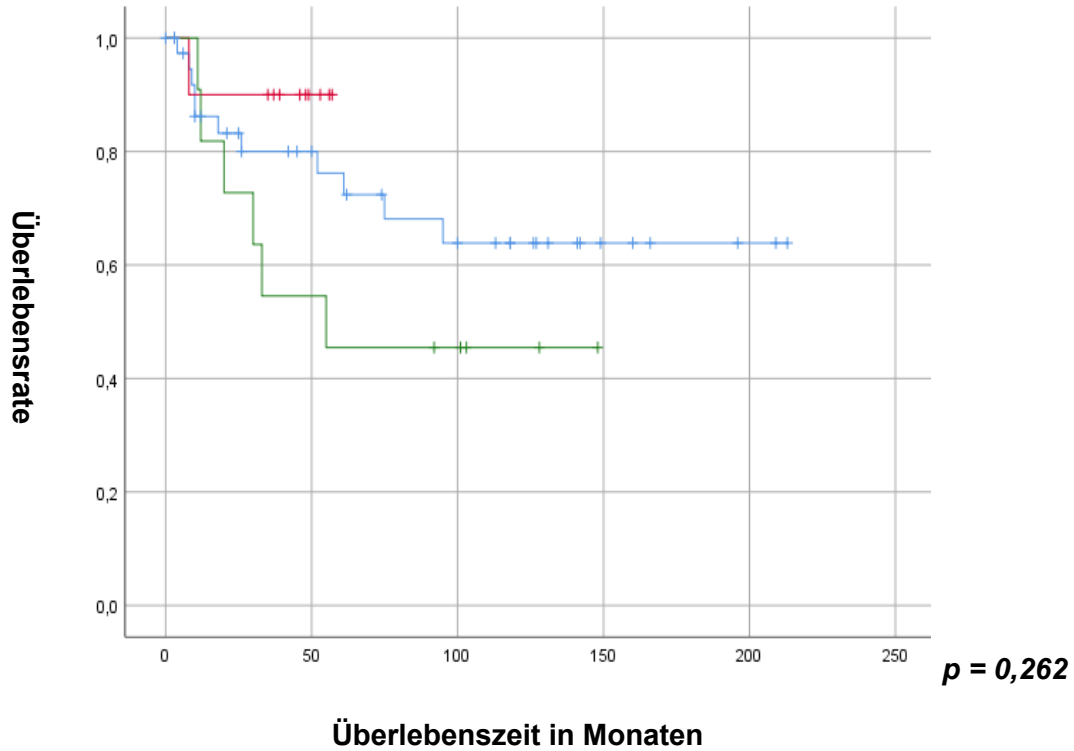
12B



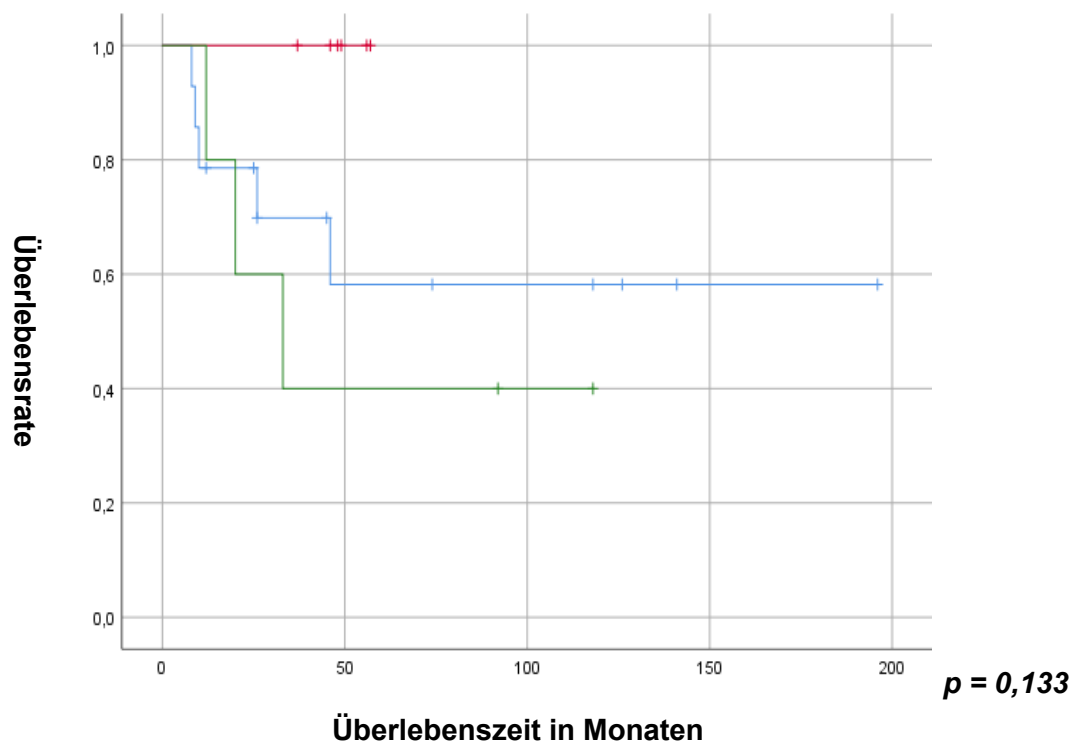
Zu 7.4: Abbildung 13: Vergleich tumorspezifisches Überleben von Patientenkollektiven mit hoher Expression von ERCC-1 im Zellkern (A) und ERCC-1 Intensität (B) bei verschiedenen Therapieregimen

Blaue Kurve: Gruppe I – Rote Kurve: Gruppe II – Grüne Kurve: Gruppe III

13A



13B



7.5 Tumorspezifisches Überleben bei niedriger Markerexpression und unterschiedlichen Therapieregimen

In dieser Analyse wurden aus allen drei Gruppen jeweils diejenigen Patienten betrachtet, welche alle eine hohe Expression von Survivin bzw. ERCC-1 aufwiesen. Dabei wurden die Patientengruppen auf ihr tumorspezifisches Überleben in der Kaplan-Meier-Kurve eruiert.

Es wurden insgesamt 191 Patienten mit einer niedrigen Expression von Survivin im Zytoplasma identifiziert, aus diesen 191 Patienten stammen 130 Patienten aus Turku, 50 aus Helsinki und 11 aus Bad Saarow. Es erwies sich der Anschein des längeren Überleben in der Patientengruppe aus Helsinki, welche eine neoadjuvante Chemotherapie erhielten und das kürzeste Überleben zeigte die Patientengruppe aus Bad Saarow. Eine Signifikanz bleib aus ($p = 0,210$) (Abbildung 14A).

Für die Untersuchung des tumorspezifischen Überlebens von Patienten mit einer niedrigen Expression von Survivin im Zellkern wurden insgesamt 250 Patienten eingeschlossen. Von diesen 250 Patienten stammen 160 Patienten aus Turku, 66 aus Helsinki und 24 aus Bad Saarow. In dieser Analyse verdeutlichte sich ein signifikant längeres tumorspezifisches Überleben bei Patienten, die eine Chemotherapie vor der radikalen Zystektomie erhalten haben und das kürzeste tumorspezifische Überleben zeigten die Patienten, die nach der radikalen Zystektomie mit einer Chemotherapie behandelt wurden ($p = 0,001$) (Abbildung 14B).

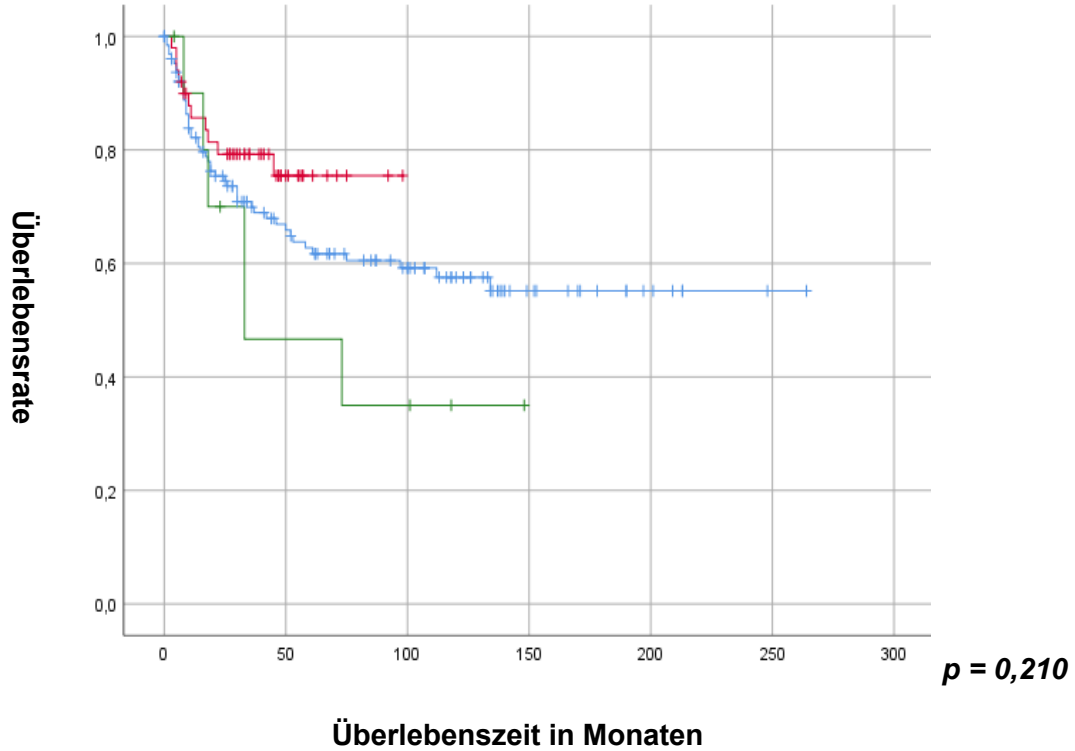
In der Analyse des tumorspezifischen Überlebensverhalten der Patienten mit niedriger Expression von ERCC-1 im Zellkern mit verschiedenen Therapieregimen wurden insgesamt 206 Patienten integriert. Von diesen stammen 128 aus Turku, 57 aus Helsinki und 21 aus Bad Saarow. In der Analyse offenbarte sich ein signifikant längeres tumorspezifisches Überleben bei den Patienten, die eine neoadjuvante Chemotherapie erhalten haben. Das kürzeste Überleben zeigte die Patientengruppe aus Bad Saarow, welche mit einer adjuvanten Chemotherapie behandelt wurde ($p = 0,010$) (Abbildung 15A).

Patienten mit einer niedrigen Intensität von ERCC-1 im Zellkern zeigten ebenfalls in der Gruppe aus Helsinki ein signifikant längeres tumorspezifisches Überleben, im Vergleich zu den Patientengruppen aus Turku und Bad Saarow ($p = 0,023$). In diese Analyse wurden insgesamt 242 Patienten integriert, davon stammen 154 aus Turku, 61 aus Helsinki und 27 aus Bad Saarow (Abbildung 15B).

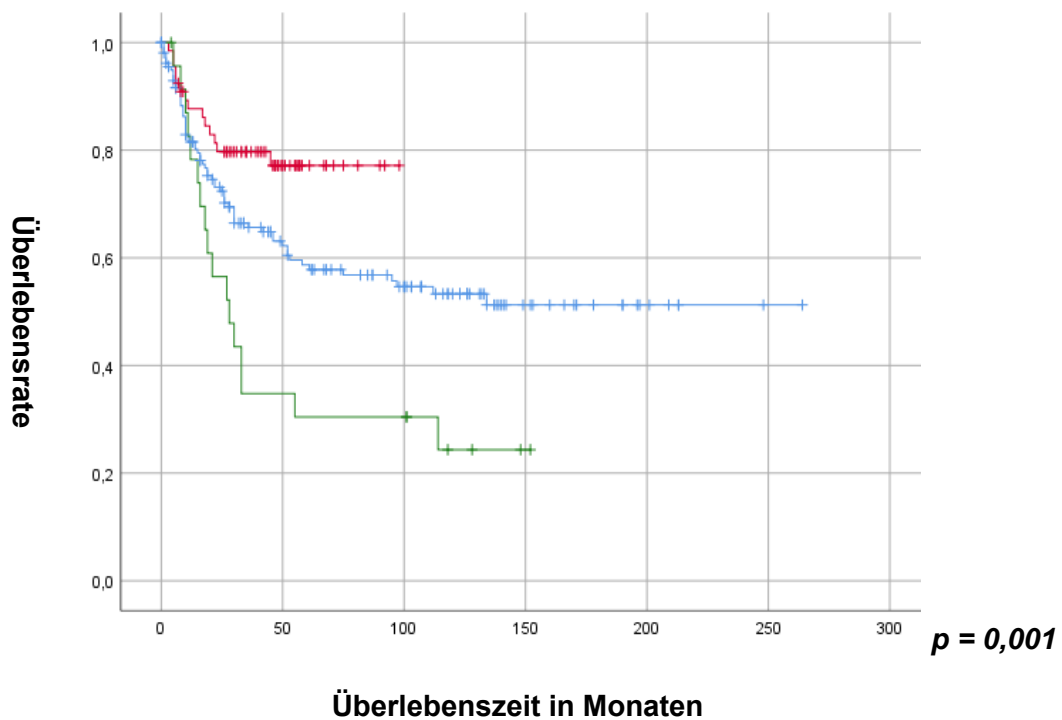
Zu 7.5: Abbildung 14: Vergleich tumorspezifisches Überleben von Patientenkollektiven mit niedriger Expression von Survivin im Zytoplasma (A) und im Zellkern (B) bei verschiedenen Therapieregimen

BLAUE KURVE: Gruppe I - ROTE KURVE: Gruppe II - GRÜNE KURVE: Gruppe III

14A



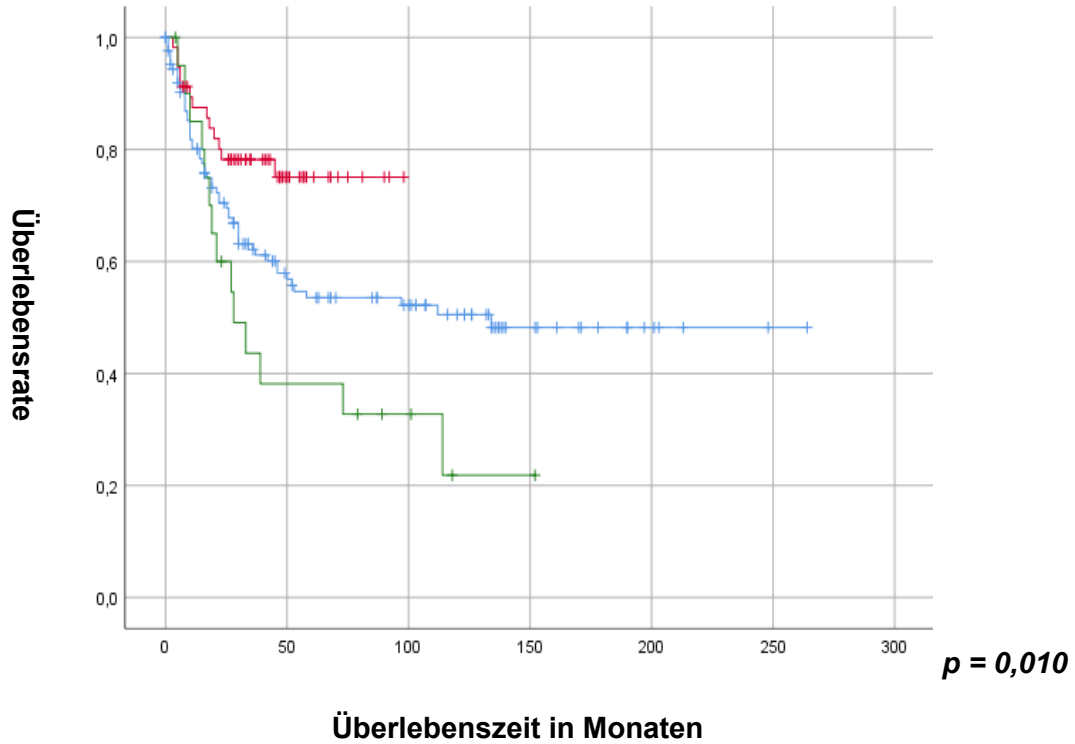
14B



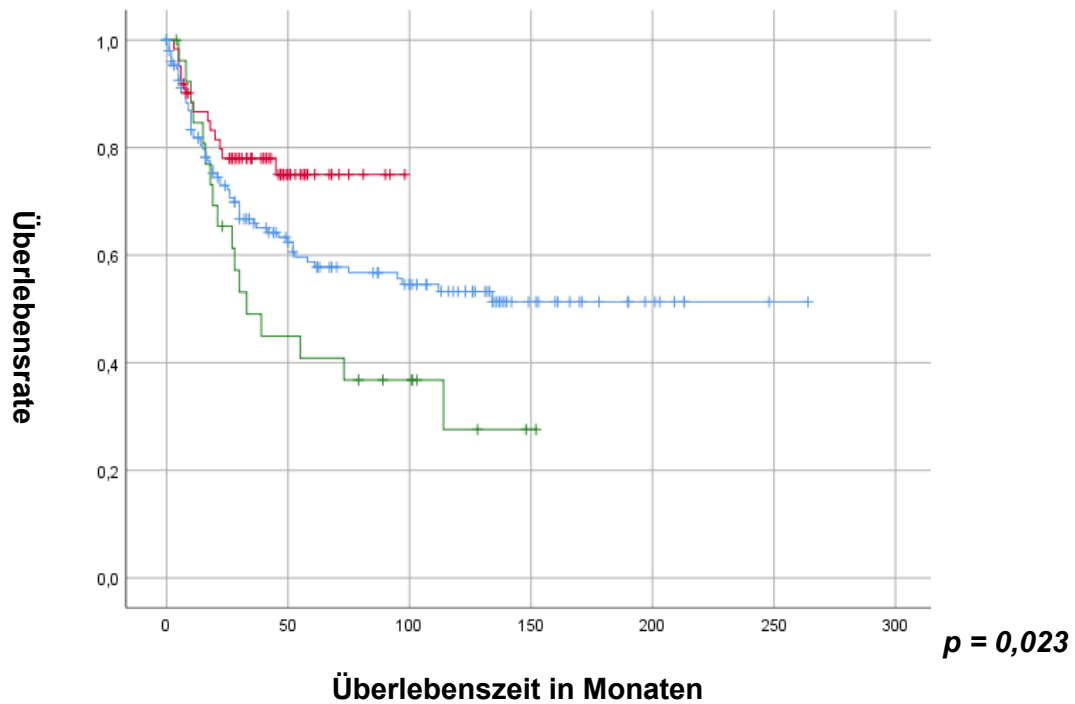
Zu 7.5: Abbildung 15: Vergleich tumorspezifisches Überleben von Patientenkollektiven mit niedriger Expression von ERCC-1 im Zellkern (A) und ERCC-1 Intensität (B) bei verschiedenen Therapieregimen

BLAUE KURVE: Gruppe I - ROTE KURVE: Gruppe II - GRÜNE KURVE: Gruppe III

15A



15B



8. Diskussion

In der vorliegenden multizentrischen Arbeit wurden die Expressionshöhen der Biomarker Survivin und ERCC-1 beim Harnblasenkarzinom immunhistologisch analysiert. Es konnten insgesamt 288 Patienten aus drei verschiedenen Zentren in die Studie integriert werden. Alle Patienten wurden auf der Grundlage eines Harnblasenkarzinoms radikal zystektomiert. In Gruppe II wurden die Patienten zusätzlich mit einer neoadjuvanten Chemotherapie behandelt. Die Patienten in Gruppe III erhielten zusätzlich eine adjuvante Chemotherapie. Patienten aus der Gruppe I erhielten keine Chemotherapie.

8.1 Prognostische Aussagekraft der Marker auf die klinisch pathologischen und histopathologischen Charakteristika

Zu Beginn wurde die Hypothese gestellt, dass die Expressionshöhe von Survivin, sowohl im Zytoplasma als auch im Zellkern, mit den klinisch pathologischen und histopathologischen Parametern assoziieren würde. Es wurde vermutet, dass Patienten mit einer hohen Expression, im Vergleich zu Patienten mit einer niedrigen Expression, ein schlechteres Grading aufweisen würden. Außerdem wurde von einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von Lymphknotenmetastasen und dem Auftreten eines Rezidivs bei Patienten mit hoher Survivinexpression ausgegangen.

In den Ergebnissen konnte in Gruppe I eine signifikante Korrelation zwischen dem Auftreten von Lymphknotenmetastasen und der Expressionshöhe von Survivin im Zytoplasma aufgewiesen werden ($p = 0,048$). Von den Patienten, die keine Lymphknotenmetastasen aufzeigten, exprimierten 41 (80,4 %) Patienten eine niedrige Menge Survivin im Zytoplasma. Nur 10 (19,6 %) der Patienten ohne Lymphknotenmetastasen zeigten eine hohe Expression des Markers im Zytoplasma. Im Vergleich zu Patienten ohne Lymphknotenmetastasen zeigten Patienten mit Lymphknotenmetastasen einen höheren Prozentsatz an Fällen mit hoher Expression von Survivin im Zytoplasma. Hier wurden nur 7 (53,8 %) der Patienten in die Kategorie niedrige Expression und 6 (46,2 %) der Patienten in die Kategorie hohe Expression eingeteilt. Eine signifikante Assoziation zwischen dem Lymphknotenbefall und der Survivinexpression konnte in den anderen beiden Gruppen nicht bestätigt werden. Die Survivinexpression zeigte in keiner Gruppe eine Assoziation zum Grading oder zum Rezidivaufreten.

Die vorausgegangene Hypothese wurde ebenfalls von einigen anderen Studien

analysiert. Nachfolgend werden einige Studien aus der Literatur, die sich mit dieser Thematik beschäftigten, vorgestellt.

Die Studie Chen et al. führte eine immunhistologische Analyse von Patienten mit einem Urothelkarzinom der Harnblase durch. Insgesamt wurde das Gewebe von 56 Patienten untersucht. Alle Patienten wurden im Chiayi Christian Hospital in Chiayi City, Taiwan im Zeitraum von August 2006 bis Mai 2007 behandelt. Sie analysierten ebenfalls das Tumorgewebe der Patienten immunhistologisch zur Detektion der Survivinexpression. Anders als in dieser Arbeit differenzierten sie nicht zwischen Survivin im Zytoplasma und Survivin im Zellkern. In der Studie zeigten Patienten mit einem muskelinvasiven Harnblasenkarzinom eine signifikant höhere Expression von Survivin als Patienten mit einem nicht-muskelinvasiven Harnblasenkarzinom ($p = 0,042$). Eine hohe Expression von Survivin wurde in 66,6 % der muskelinvasiven Urothelkarzinomfälle beschrieben, hingegen zeigten nur 34,2 % der nicht-muskelinvasiven Karzinome eine hohe Expression. Ebenfalls ging die Höhe der Expression des Markers signifikant mit dem Differenzierungsgrad einher ($p = 0,014$). Je höher die Expressionshöhe, desto höher war der Entdifferenzierungsgrad der Tumore. Patienten, die eine gute Differenzierung aufwiesen (G1), zeigten in nur 30,8 % der Fälle eine hohe Expression des Markers Survivin. Hingegen zeigten schlecht differenzierte Tumore (G3) in 85,7 % der Fälle eine hohe Expression. Die Studie untersuchte nicht den möglichen Zusammenhang zwischen einem Lymphknotenbefall und der Expressionshöhe des Markers Survivin (58).

Die Studie Wang et al. rekrutierte insgesamt 138 Patienten, die im Zeitraum von Januar 2008 bis Januar 2012 im Beijing Chao Yang Hospital (Peking, China) in Behandlung waren. Die Patienten litten an einem nicht-muskelinvasiven Harnblasenkarzinom und unterliefen alle einer TUR-Blase. Es erfolgte ein Follow-up über insgesamt 48 Monate. Zusätzlich wurde als Kontrollarm das Gewebe von 10 Probanden untersucht, die nicht an einem Harnblasenkarzinom erkrankt waren.

Mittels immunhistologischer Färbung zeigte sich der Nachweis von Survivin im Harnblasenkarzinomgewebe, jedoch nicht im Gewebe der gesunden Probanden.

Patienten, mit geringer Expression des Markers Survivin, zeigten ein signifikant längeres Rezidiv-freies-Intervall als diejenigen Patienten mit hoher Expression ($p = 0,002$).

Außerdem war das Auftreten eines Rezidivs signifikant mit der Expressionshöhe assoziiert ($p < 0.050$). Allerdings zeigte sich keine Assoziation zwischen

Expressionshöhe und dem Differenzierungsgrad der Karzinome. Die Assoziation zum Alter oder Geschlecht konnte ebenfalls nicht bewiesen werden (59).

In die Studie Xi et al. wurden insgesamt 72 Patienten mit einem nicht-muskelinvasiven Harnblasenkarzinom inkludiert. Alle Patienten unterliefen im Zeitraum von 2000 bis 2006 einer TUR-Blase in den Kliniken Cangzhou Clinical College of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine und Hebei Medicine University. Anschließend an die TUR-Blase erfolgte die intravesicale Instillation der adjuvanten Chemotherapie. Zusätzlich wurden elf gesunde Probanden im Kontrollarm analysiert. Durch die immunhistologische Färbung konnte nachgewiesen werden, dass die Probanden mit gesundem Blasengewebe kein Survivin exprimierten.

Des Weiteren zeigte sich eine signifikante Assoziation zwischen der Expressionshöhe des Markers Survivin und dem Rezidiv-freiem-Intervall ($p = 0,000$). Hierbei zeigte sich eine hohe Expression verbunden mit einem geringeren Rezidiv-freiem-Intervall. Auch das Auftreten eines Rezidivs zeigte sich signifikant häufiger bei Patienten mit einer hohen Expression des Markers ($p < 0,010$). Außerdem zeigten Patienten mit einem schlecht differenzierten Harnblasenkarzinom (G3), im Vergleich zu Patienten mit einem gut bzw. mäßig differenzierten Harnblasenkarzinom (G2 bzw. G3), signifikant häufiger eine hohe Expression von Survivin ($p = 0,010$). Allerdings konnte weder eine Assoziation zum Alter, noch zum Geschlecht, noch zum Staging gestellt werden (60).

In die Studie Skagias et al. wurden insgesamt 80 Patienten mit einem Urothelkarzinom der Harnblase im Zeitraum von 1998 bis 2005 inkludiert. Auch in dieser Studie erfolgte die immunhistologische Analyse des Markers Survivin. Wie in dieser Studie, wurde die Expression von Survivin im Zytoplasma und Survivin im Zellkern differenziert betrachtet. Sie zeigten, mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit übereinstimmend, keine signifikante Assoziation zwischen Survivin im Zytoplasma und dem Grading oder dem T-Stadium. Hingegen konnte eine erhöhte Expression von Survivin im Zellkern signifikant mit einem erhöhten Entdifferenzierungsgrad des Tumors ($p = 0,001$) und einem erhöhten Staging ($p = 0,039$) assoziiert werden. In einer Kaplan-Meier Analyse konnte verdeutlicht werden, dass eine erhöhte Expression von Survivin im Zellkern signifikant mit einem geringeren Rezidiv-freiem-Intervall einherginge ($p = 0,029$) (61).

Die Studie Shariat et al. führte ebenfalls eine immunhistologische Analyse bei insgesamt 222 Patienten durch. Inkludiert wurden Patienten mit einem Urothelkarzinom der Harnblase, die radikal zystektomiert wurden. Zusätzlich wurden neun Patienten, die aus nicht onkologischer Ursache zystektomiert wurden, als

Kontrollgruppe miteinbezogen. Keiner der neun Patienten exprimierte eine erhöhte Menge Survivin. Auch in dieser Studie wurde die Korrelation des Markers zu klinisch pathologischen und histopathologischen Charakteristika untersucht. Shariat et al. zeigten eine signifikante Korrelation zwischen erhöhter Survivinexpression und einem fortgeschrittenem T-Stadium ($p = 0,032$). Übereinstimmend mit dieser Arbeit zeigten auch Shariat et al. eine signifikante Assoziation zwischen erhöhter Survivinexpression und dem Auftreten von Lymphknotenmetastasen ($p = 0,028$). In einer Kaplan-Meier-Kurve konnte die Studie ein signifikant längeres Rezidiv-freies-Intervall bei Patienten mit geringer Survivinexpression zeigen ($p < 0,001$) (62).

Auch die Studie Senol et al. untersuchte den potentiell prognostischen Marker Survivin beim Urothelkarzinom der Harnblase. Insgesamt wurden 147 Patienten inkludiert. Alle Patienten erhielten entweder eine TUR-Blase oder eine radikale Zystektomie. Durch immunhistologischer Analysen erfolgte die Detektion und Auswertung von Survivin im Zellkern. Die Studie Senol et al. konnte die Anfangshypothese dieser Arbeit bestätigen. Sie zeigten eine signifikante Assoziation zwischen der Expressionshöhe des Markers Survivin im Zellkern und dem T-Stadium ($p = 0,003$) und dem Rezidivaufreten ($p = 0,003$). Ein erhöhtes T-Stadium tauchte signifikant häufiger bei Patienten mit einer hohen Markerexpression auf. Ebenfalls wurde das Auftreten eines Tumorrezidivs häufiger bei denjenigen Patienten beobachtet, die Survivin in größeren Mengen exprimierten. Die Assoziation zwischen dem Marker und dem Lymphknotenbefall wurde nicht untersucht (63).

In der vorliegenden Studie konnte die Anfangshypothese, dass Patienten mit einer hohen Expression des Markers Survivin, im Vergleich zu Patienten mit einer niedrigen Expression, schlechtere klinisch pathologische und histopathologische Charakteristika aufweisen würden, nur bedingt bestätigt werden. Die Ergebnisse zeigten lediglich eine signifikante Assoziation zwischen einer hohen Expression von Survivin im Zytoplasma und dem Auftreten von Lymphknotenmetastasen.

Allerdings bestätigten einige Studien die genannte Anfangshypothese. Dadurch ergibt sich die Schlussfolgerung, dass ein hohes Potential in Survivin als prognostischer Marker beim Harnblasenkarzinom steckt. Allerdings sind weitere Studien notwendig und wünschenswert.

Auch für den zweiten Marker, ERCC-1, wurde die Hypothese gestellt, dass die Expressionshöhe von ERCC-1 und die Intensität der Färbung mit den klinisch pathologischen und histopathologischen Parametern assoziieren würden. Auch hier

lag die Vermutung darin, dass Patienten mit einer hohen Expression bzw. hohen Intensität, im Vergleich zu Patienten mit niedriger Expression bzw. niedriger Intensität, ein schlechteres Grading aufweisen würden. Des Weiteren gingen wir, bei Patienten mit hoher Expression bzw. hoher Intensität, von einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von Lymphknotenmetastasen und dem Auftreten eines Rezidivs aus. Zur Eruiierung der Hypothese wurden die Expressionshöhe von ERCC-1 im Zellkern und der Grad der Intensität der Färbung untersucht. An dieser Stelle sei zu erwähnen, ausgehend von meiner Literaturrecherche und Wissensstand, keine Studie zuvor die ERCC-1 Intensität als eigenen Marker analysierte. Die vorliegenden Studien detektierten den Grad der Intensität und den Prozentsatz der ERCC-1 positiven Zellkerne und bildeten hieraus den Produktwert. Das Produkt wurde als zu analysierender Marker herangezogen.

Für den Marker ERCC-1 konnte die Hypothese, dass Patienten mit hoher Expression und hoher Intensität schlechtere klinisch pathologische und histopathologische Charakteristika aufweisen würden, nicht bestätigt werden. Es zeigte sich keinerlei signifikante Korrelation zwischen Markerexpression und dem Grading oder dem Rezidivverhalten. Allerdings verdeutlichte sich in Gruppe III eine tendenzielle Korrelation zwischen dem Auftreten von Lymphknotenmetastasen und der Expressionshöhe von ERCC-1 im Zellkern ($p = 0,055$). Von den Patienten, die keine Lymphknotenmetastasen aufzeigten, exprimierten sechs (46,2 %) Patienten eine niedrige Menge ERCC-1 im Zellkern. Sieben (53,8 %) der Patienten ohne Lymphknotenmetastasen zeigten eine hohe Expression des Markers im Zellkern. Im Vergleich zu Patienten ohne Lymphknotenmetastasen, zeigten Patienten mit Lymphknotenmetastasen einen höheren Prozentsatz an Fällen mit niedriger Expression von ERCC-1 im Zellkern. Hier wurden nur vier (21,1 %) der Patienten in die Kategorie hohe Expression und 15 (78,9 %) der Patienten in die Kategorie niedrige Expression eingeteilt. Folglich demonstrierte sich hier, entgegen der Hypothese, dass Patienten mit niedriger Expression des Markers ERCC-1 ein schlechteres Outcome zeigen. Einstimmig hierzu, erwies sich ebenfalls in Gruppe III eine tendenzielle Korrelation zwischen dem Auftreten von Lymphknotenmetastasen und der ERCC-1 Intensität ($p = 0,051$). Von den Patienten, die keine Lymphknotenmetastasen entwickelten, zeigten neun (69,2 %) Patienten eine niedrige ERCC-1 Intensität und vier (30,8 %) der Patienten eine hohe Intensität. Verglichen hierzu, zeigten Patienten mit Lymphknotenmetastasen einen höheren Prozentsatz an Fällen mit niedriger

ERCC-1 Intensität. Hier wurde nur einer (5,3 %) der Patienten in die Kategorie hohe Intensität und dafür 18 (94,7 %) der Patienten in die Kategorie niedrige Intensität eingeteilt. Somit verdeutlichte sich auch für die ERCC-1 Intensität ein Ergebnis entgegengesetzt der Anfangshypothese. Eine niedrige ERCC-1 Intensität scheint, den Ergebnissen zu Folge, mit einem schlechteren Outcome assoziiert zu sein.

Im Nachfolgenden wird die aktuelle Studienlage zu ERCC-1 beim Harnblasenkarzinom vorgestellt.

In der Studie von Klätte et al. wurde eine immunhistologische Untersuchung durchgeführt. Hier wurden insgesamt 432 Patienten mit einem Urothelkarzinom der Harnblase herangezogen. Alle Patienten wurden an einer Klinik im Zeitraum von 1988 bis 2003 behandelt. Keiner der Patienten erhielt eine neoadjuvante Chemotherapie. Es erfolgte die immunhistologische Analyse der Expression des Markers ERCC-1. Dabei zeigten 124 Patienten keine ERCC-1 Expression und 308 eine positive Expression. Übereinstimmend mit der dieser Studie, konnte keine signifikante Korrelation zwischen der Expression von ERCC-1 und dem T-Stadium, dem Grading oder dem Vorliegen von befallenen Lymphknoten gezeigt werden. Allerdings belegte sich, dass Patienten ohne ERCC-1 Expression ein signifikant höheres Risiko für ein Rezidiv aufwiesen ($p = 0,021$) (64). Dieses Ergebnis offenbart, übereinstimmend mit dem Ergebnis dieser Studie, ein schlechteres outcome für Patienten mit niedriger ERCC-1 Expression.

In der Studie von Kawashima et al. wurde ebenfalls eine immunhistologische Untersuchung zum Nachweis der ERCC-1 Expression durchgeführt. Insgesamt wurden die Tumorgewebeproben von 58 Patienten untersucht. In die Studie einbezogen wurden Patienten mit einem Harnblasenkarzinom ohne Fernmetastasen. Alle Patienten erhielten eine neoadjuvante Chemotherapie. Die Patienten wurden im Zeitraum von 1997 bis 2010 im Osaka Rosai Krankenhaus behandelt.

In der Studie dokumentierte sich keine signifikante Korrelation zwischen der ERCC-1 Expression und den klinisch pathologischen Charakteristika wie dem T-Stadium, dem Lymphknotenbefall oder dem Grading (65).

Leider untersuchten, in den mir bekannten Studien, nur zwei die Korrelation zwischen ERCC-1 und den klinisch pathologischen und histopathologischen Charakteristika. Kawashima et al. zeigten keinerlei signifikante Assoziation (65). Allerdings zeigten Klätte et al. eine signifikant häufigeres Rezidivaufreten bei Patienten mit niedriger ERCC-1 Expression (64). Basierend auf der Anfangshypothese war initial ein

gegensätzliches Ergebnis zu erwarten. Doch auch in der vorliegenden Arbeit verdeutlichte sich eine Tendenz zum häufigeren Auftreten von Lymphknotenmetastasen bei Patienten mit niedriger ERCC-1 Expression. Dies würde das Ergebnis von Klatter et al., dass Patienten mit niedriger Expression, im Vergleich zu Patienten mit hoher Expression, eher eine schlechtere Prognose aufweisen, untermauern.

Der mögliche Zusammenhang zwischen der Marker und den klinisch pathologischen und histopathologischen sei an dieser Stelle vorsichtig zu genießen. Wünschenswert wären mehr Studien, vorallem da die Studienlage kontrovers scheint, ob eine hohe Expression oder eine niedrige Expression des Markers eine bessere Prognose für die Patienten zeigen.

8.2 Prognostische Aussagekraft der Marker auf das tumorspezifische Überleben

Die zweite Hypothese bestand darin, dass Patienten mit einer hohen Expression von Survivin im Vergleich zu Patienten mit niedriger Expression, ein schlechteres tumorspezifisches Überleben zeigen würden. Zur Eruiierung dieser Hypothese wurden die Expressionshöhen von Survivin im Zytoplasma und im Zellkern gesondert untersucht.

Die Ergebnisse konnten die Hypothese leider nicht bestätigen. Es erschien lediglich in Gruppe I eine Tendenz zum längeren tumorspezifischen Überleben zugunsten der Patienten mit niedriger Survivinexpression im Zytoplasma zu geben ($p = 0,070$). Ansonsten verdeutlichte sich kein signifikanter Vorteil im tumorspezifischen Überleben in Abhängigkeit der Expressionshöhe von Survivin im Zytoplasma, noch in Abhängigkeit der Expressionshöhe von Survivin im Zellkern.

Die schon oben beschriebene Studie Skagias et al. (siehe Abschnitt 8.1) untersuchte ebenfalls die Korrelation zwischen Survivin und dem Gesamtüberleben. Übereinstimmend mit den Ergebnissen dieser Studie, zeigte sich auch in der Studie Skagias et al. keine signifikante Korrelation zwischen dem Gesamtüberleben und der Expressionshöhe von Survivin im Zytoplasma noch im Zellkern. Die Studie untersuchte im Gegensatz zu der vorliegenden Studie nicht das tumorspezifische Überleben, sondern das Gesamtüberleben (61).

Kontrovers hierzu zeigte sich in der bereits erwähnten Studie Chen et al. (siehe Abschnitt 8.1) eine signifikante Assoziation zwischen der Expressionshöhe des Markers Survivin und dem Gesamtüberleben. Auch in der eben beschriebenen Arbeit

Chen et al. wurde nicht, wie in der vorliegenden Arbeit, das tumorspezifische Überleben, sondern das Gesamtüberleben analysiert. Die Patienten, die in einer erhöhten Menge Survivin exprimierten, zeigten, verglichen mit Niedrigexprimierer, ein schlechteres Gesamtüberleben ($p = 0,046$) (58).

Die bereits erwähnte Studie Shariat et al. (siehe Abschnitt 8.1) stimmte ebenfalls mit der Studie Chen et al. überein. Auch hier erwies sich ein signifikant schlechteres tumorspezifisches Überleben bei Patienten mit einer hohen Survivinexpression ($p \leq 0,001$). Shariat et al. analysierten ebenfalls das tumorspezifische Überleben und nicht das einfache Gesamtüberleben (62).

Auch unter dem Gesichtspunkt des tumorspezifischen Überlebens scheint Survivin einen hohes Potential zu haben. Wünschenswert wären allerdings mehr Studien, die nicht nur das Gesamtüberleben, sondern auch das tumorspezifische Überleben analysieren.

Auch für den zweiten Marker, ERCC-1, wurde die Hypothese aufgestellt, dass Patienten mit einer hohen Expression von ERCC-1 bzw. einer hohen ERCC-1 Intensität im Vergleich zu Patienten mit niedriger Expression bzw. niedriger ERCC-1 Intensität, ein schlechteres tumorspezifisches Überleben zeigen würden.

Die Ergebnisse konnten für Patienten, mit einer niedrigen Expressionshöhe von ERCC-1 oder niedrigen Intensität, keinen Vorteil im tumorspezifischen Überleben zeigen. Somit konnte die Anfangshypothese leider nicht bestätigt werden. Lediglich in Gruppe I verdeutlichte sich eine Tendenz des besseren tumorspezifischen Überlebens, gegensätzlich zu der Anfangshypothese, zugunsten der Patienten mit einer hohen Expressionsrate von ERCC-1 im Zellkern ($p = 0,095$).

Die Studie von Kim et al. umfasst eine immunhistologische Untersuchung der Tumorgewebeproben von 89 Patienten, welche in der Zeit von Mai 2001 bis August 2007 im Samsung Medical Center behandelt wurden. In die Studie eingeschlossen wurden Patienten, die an einem metastasiertem Urothelkarzinom erkrankt waren. Dabei wurde nicht nur das Urothelkarzinom der Harnblase, sondern auch das Urothelkarzinom des Nierenbeckens und des Harnleiters eingeschlossen. Die Patienten erhielten eine Cisplatin-basierte Chemotherapie. Für die immunhistologische Untersuchung wurde den Patienten vor Beginn der Chemotherapie eine Tumorgewebeprobe entnommen. Ziel dieser Studie war es, herauszufinden, ob der Marker ERCC-1 eine prognostische Aussage darüber treffen kann, ob Patienten auf eine Cisplatin-basierte Chemotherapie ansprechen oder nicht.

In der Studie zeigte sich zwischen den beiden Gruppen kein signifikanter Unterschied im Ansprechen auf die Chemotherapie. Insgesamt zeigten 49 der 89 Patienten eine Expression des Tumormarkers ERCC-1. 61 der Patienten sprachen auf die Chemotherapie an, 27 dieser Patienten zeigten keine ERCC-1 Expression und bei 34 Patienten war die ERCC-1 Expression positiv. Es dokumentierte sich kein signifikanter Unterschied im medianem Gesamtüberleben für Patienten mit niedriger versus hoher Expression von ERCC-1 (66).

In der Studie von Bellmunt et al. wurde von 57 Patienten die Expression der messenger RNA des Markers ERCC-1 aus der Tumor-DNA (Desoxyribonukleinsäure) gemessen. Eingeschlossen wurden Patienten mit einem fortgeschrittenem Urothelkarzinom der Harnblase. Die Patienten wurden im Zeitraum von März 1997 bis Juni 2004 behandelt. Auch hier erhielten die Patienten eine Cisplatin-basierte Chemotherapie. Durch eine RNA-Sequenzierung wurden die Patienten in die Gruppen „niedrige Expression“ und „hohe Expression“ von ERCC-1 eingeteilt. Entgegen der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, zeigte sich in der Studie Bellmunt et al. das Gesamtüberleben bei Patienten mit niedriger Expression signifikant länger als bei Patienten mit hoher Expression ($p = 0,030$). Insgesamt reagierten 74,1% der Patienten auf die Chemotherapie, es konnte jedoch kein Zusammenhang mit der Expression von ERCC-1 festgestellt werden (67). Die Studie von Hoffmann et al. führte ebenfalls eine Genexpressionsanalyse zur Untersuchung der Expression von ERCC-1 durch. Insgesamt wurden 108 Patienten mit einem lokal fortgeschrittenen Harnblasenkarzinom in die Studie integriert. Die Patienten erhielten eine adjuvante Cisplatin-basierte Chemotherapie.

Übereinstimmend mit der vorliegenden Studie konnte auch die Studie Hoffmann et al. keinen signifikanten Unterschied im Gesamtüberleben belegen.

Die Zeit des medianen Gesamtüberlebens betrug für die Patientengruppe der Niedrigexprimierer 72,4 Monate und für die der Hochexprimierer 33,1 Monate (51).

In der bereits vorgestellten Studie Klatte et al. (siehe Abschnitt 8.1) zeigte sich ein Zusammenhang zum tumorspezifischen Überleben. Patienten mit ERCC-1 Expression zeigten, im Vergleich zu Patienten ohne ERCC-1 Expression, ein verlängertes tumorspezifisches Überleben ($p = 0,007$) (64).

Die Studie Ozcan et al. führte ebenfalls eine immunhistologische Analyse von ERCC-1 beim Harnblasenkarzinom durch. Inkludiert wurden insgesamt 38 Patienten mit einem museklinvasivem Harnblasenkarzinom. Die gesamte Patientenpopulation erhielt eine Cisplatin-basierte neoadjuvante Chemotherapie. Die Patienten wurden im

Zeitraum von Juni 2005 bis Oktober 2010 behandelt.

Die Studie zeigte, entgegengesetzt zur Studie Klatte et al., ein längeres Gesamtüberleben bei Patienten mit niedriger ERCC-1 Expression ($p = 0,058$). Patienten mit niedriger Expression hatten ein medianes Gesamtüberleben von 26,7 Monaten, Patienten mit hoher Expression hingegen nur von 9,3 Monaten (68).

Des Weiteren zeigten Kawashima et al., dessen Studiendesign oben beschrieben wurde (siehe Abschnitt 8.1), übereinstimmend mit Ozcan et al., eine Tendenz zum längeren Gesamtüberleben bei Patienten ohne ERCC-1 Expression ($p = 0,070$) (65).

Wie zu Beginn beschrieben, konnte die Anfangshypothese, dass das tumorspezifische Überleben bei Patienten mit einer niedrigen ERCC-1 Expression verbunden sei, nicht bestätigen, allerdings bestätigten einige oben vorgestellte Studien die eben genannte Anfangshypothese.

Eine niedrige bzw. keine Expression des Markers ERCC-1 scheint in einigen Arbeiten (68), (65) mit einem verlängerten Gesamtüberleben verbunden zu sein. Auch in der Studie Bellmunt et al. bestätigte sich dieses Ergebnis anhand einer RNA-Sequenzierung (67). Die RNA-Sequenzierung ermöglicht, verglichen mit der immunhistologischen Analyse, ein objektives Detektieren der Expressionshöhen. Allerdings sei an dieser Stelle zu bemerken, dass die Studien Ozcan et al., Kawashima et al. und Bellmunt et al. (68), (65), (67) das Gesamtüberleben untersuchten, diese Studie hingegen untersuchte das tumorspezifische Überleben. Entgegengesetzt der am Anfang gesetzten Hypothese und der eben genannten Studien, zeigten Klatte et al. ein verlängertes tumorspezifisches Überleben bei Patienten mit einer hohen ERCC-1 Expression (64). Die Arbeit basierte auf einer immunhistologischen Analyse und integrierte die größte Patientenpopulation verglichen mit den vorgestellten Studien, inklusive der vorliegenden Arbeit.

Zusätzlich, zeigte Klatte et al. ein signifikant erhöhtes Rezidivrisiko bei Patienten mit einer niedrigen Expression (64). Schlussfolgernd kann man sagen, dass die Patienten mit niedriger Expression, der Studie Klatte et al., eine schlechtere Prognose hatten als Patienten mit einer hohen Expression. Dies widerspricht grundsätzlich der Anfangshypothese und den Ergebnissen der anderen Studien. Diese Erkenntnis macht allerdings deutlich, dass noch einige Studien zu ERCC-1 als Prognosemarker beim Harnblasenkarzinom notwendig und wünschenswert sind.

Die Studien Kim et al. und Hoffmann et al. zeigten, übereinstimmend mit dieser Arbeit, keine signifikante Korrelation zwischen dem Gesamtüberleben und der ERCC-1

Expression (66), (51). An dieser Stelle sei wieder zu erwähnen, dass die eben genannten Studien das Gesamtüberleben, nicht das tumorspezifische Überleben, untersuchten.

Aus den aufgeführten Ergebnissen und der bisherigen Literatur kann geschlossen werden, dass noch weitere Studien, zur Etablierung von Survivin und ERCC-1 als prognostische Marker beim Harnblasenkarzinom, nötig und wünschenswert sind. Es zeigt sich ein gewisses Potential für Survivin und ERCC-1 als Marker beim Harnblasenkarzinom, allerdings zeigen sich auch kontroverse Ergebnisse.

Viele der Studien untersuchten die Korrelation zwischen Markerexpression und dem Gesamtüberleben, allerdings nicht die Korrelation zum tumorspezifischen Überleben. Zur Untersuchung der Marker auf ihre prognostische Aussagekraft wäre allerdings eine Eruiierung des tumorspezifischen Überlebens notwendig.

8.3 Limitationen im Vergleich der verschiedenen Studien zu den Markern beim Harnblasenkarzinom

Aus den aufgeführten Ergebnissen der ersten und zweiten Hypothese sowie der bisherigen Literatur kann geschlossen werden, dass noch weitere Studien zur Etablierung von Survivin als prognostischen Marker beim Harnblasenkarzinom unumgänglich und absolut erforderlich sind. Es zeigt sich ein hohes Potential für Survivin als Marker beim Harnblasenkarzinom, allerdings zeigen sich auch kontroverse Ergebnisse.

Ein möglicher Grund der unterschiedlichen Studienergebnisse könnte zum einem die unterschiedliche Gruppierung der Patienten in die Kategorien „niedrige Expression“ und „hohe Expression“ sein. Beispielsweise stufen viele der Studien Patienten, bei denen mehr als 10 % der Zellkerne Survivin exprimierten, als Hochexprimierer ein. In der vorliegenden Studie wurden Patienten erst ab einer Zellkernbeteiligung von 50 % als Hochexprimierer eingestuft. Eine einheitliche Einstufung in die jeweiligen Kategorien wäre für die Zukunft zielführender, doch auch hier stellt sich die Problematik der Grenzfestsetzung.

Des Weiteren untersuchten viele der Studien die Korrelation zwischen Markerexpression und dem Gesamtüberleben, allerdings nicht die Korrelation zum tumorspezifischen Überleben. Zum einheitlichen Vergleich von verschiedenen Studienergebnissen, wäre der Vergleich des tumorspezifischen Überlebens aussagekräftiger.

Ein sehr großes Problem stellt die fehlende Objektivität bei einer immunhistologischen Untersuchung dar. Die TMAs werden immunhistologisch gefärbt und anschließend mikroskopisch ausgewertet. In allen Studien und auch in dieser Arbeit wurden zwar die TMAs von zwei unabhängigen Betrachtern analysiert, allerdings ist bei einer solchen Auswertung nie eine vollständige Objektivität gegeben. Die subjektive Auswertung stellt folglich eine sehr große mögliche Fehlerquelle dar, die auch die unterschiedlichen Ergebnisse der Studien erklären könnte.

Ziel sollte es sein, eine objektive Analyse, wie beispielsweise anhand einer Sequenzierung des Markers, durchzuführen.

Auch im zweiten Marker, ERCC-1, scheint ein gewisses Potential zu stecken. Auch für diesen Marker ergibt sich das zuletzt genannte Problem der fehlenden Objektivität, verursacht durch die immunhistologischen Analysen.

Ein weiterer Punkt ist die überschaubare Studienlage zu ERCC-1 als prognostischer Marker beim Harnblasenkarzinom, vorallem mit Schwerpunkt auf die Korrelation zu klinisch pathologischen und histopathologischen Charakteristika.

Die verschiedene Grenzeinteilung der Expressionshöhen sei, wie auch bei Survivin, hier zu kritisieren. Wie bereits weiter oben angemerkt, untersuchte die vorliegende Arbeit nicht, wie die anderen Studien, das Produkt aus prozentualer Zellkernbeteiligung und Intensität der Färbung, sondern bewertete beide Punkte einzeln.

8.4 Therapieentscheidung in Abhängigkeit der Marker

Zusätzlich zu den anderen Studien wurde in dieser Arbeit das tumorspezifische Überleben von Niedrigexprimierer bzw. Hochexprimierer, allerdings mit unterschiedlichen Therapieregimen, untereinander verglichen. Dies war durch die multizentrische Rekrutierung und hohe Patientenpopulation möglich. Eine derartige Analyse wurde in der Vergangenheit, basierend auf meiner Literaturrecherche und meinem Wissensstand, nicht durchgeführt. Es konnte gezeigt werden, dass Patienten die Survivin im Zytoplasma hoch exprimierten, signifikant von einer neoadjuvanten Chemotherapie profitieren. Verglichen wurden hierzu jeweils die Patienten, aus den drei verschiedenen Gruppen, die Survivin im Zytoplasma hoch exprimierten. Patienten, mit einer hohen Expression der Gruppe II (neoadjuvante Chemotherapie) zeigten ein signifikant längeres tumorspezifisches Überleben als Patienten, mit einer hohen Expression der Gruppen I und III (keine Chemotherapie und adjuvante Chemotherapie) ($p = 0,023$).

Weitere Analysen hierzu wären für Zukunft wünschenswert. Könnte man den Marker zur Therapieentscheidung hinzuziehen, könnte man vielen Patienten, die womöglich von keiner Chemotherapie profitieren würden, eine unnötige mit Nebenwirkung behaftete Chemotherapie ersparen. Die Patienten, die von einer Chemotherapie profitieren könnten, könnte man gezielt selektieren und behandeln.

Der nächster Punkt beschäftigte sich mit der Fragestellung, ob der Marker ERCC-1 zur Entscheidungsfindung, von welchem Therapieregime die Patienten am meisten profitieren würden, beitragen könnte. Dazu wurde das tumorspezifische Überleben von Niedrigexprimierer bzw. Hochexprimierer, allerdings mit unterschiedlichen Therapieregimen, gegenübergestellt. Die Ergebnisse zeigten, dass Patienten mit einer niedrigen ERCC-1 Expression im Zellkern signifikant von einer neoadjuvanten Chemotherapie profitierten. Sie zeigten im Vergleich zu Patienten, ohne neoadjuvanter Chemotherapie, ein verlängertes tumorspezifisches Überleben ($p = 0,010$). Auch Patienten mit einer niedrigen Intensität von ERCC-1 scheinen signifikant von einer neoadjuvanten Chemotherapie zu profitieren. Die Patientengruppe mit neoadjuvanter Chemotherapie zeigte ebenfalls ein verlängertes tumorspezifisches Überleben ($p = 0,023$).

Bei Patienten mit einer hohen ERCC-1 Expression im Zellkern schien es keinen signifikanten Unterschied im tumorspezifischen Überleben, in Abhängigkeit zu einer neoadjuvanten Chemotherapie, zu geben. Allerdings zeigten Patienten mit einer hohen Intensität von ERCC-1 ein signifikant längeres tumorspezifisches Überleben, wenn sie eine neoadjuvante Chemotherapie erhielten ($p = 0,001$).

Diese Art der Analyse wurde, nach meinem Wissensstand, bisher nicht in anderen Studien durchgeführt. Allerdings scheint der Marker ERCC-1 tatsächlich in der Entscheidungsfindung, ob Patienten von einer neoadjuvanten Chemotherapie profitieren könnten, hilfreich sein zu können. Die Studien bisher konzentrierten sich auf die Testung einer möglichen Cisplatin-Resistenz. So konnten beispielsweise Hoffmann et al. einen Zusammenhang zwischen einer hohen ERCC-1 Expression und einer Cisplatin-Resistenz zeigen (51). Gegensätzlich dazu erwies sich in den Studien Bellmunt et al. und Kim et al. kein signifikanter Zusammenhang zwischen der ERCC-1 Expression und dem Ansprechen auf eine Cisplatin-basierte Chemotherapie bei Patienten mit einem Harnblasenkarzinom (67), (66).

Um gezielt Patienten selektieren zu können, die von einer Chemotherapie profitieren könnten, sind weitere Untersuchungen notwendig.

9. Schlussfolgerungen

Die Arbeit hat gezeigt, dass die Marker für die Frage nach einer Chemotherapie potentiell entscheidungserhebliche Faktoren darstellen könnten. Marker, die in der Entscheidungsfindung einer notwendigen Chemotherapie helfen könnten, in der Klinik etablieren zu können, würde einen sehr großen Gewinn und Fortschritt in der medizinischen Versorgung des Harnblasenkarzinoms darstellen.

Die prognostische Aussagekraft zum tumorspezifischen Überleben und zu klinisch pathologischen und histopathologischen Charakteristika anhand von Survivin und ERCC-1 scheint umstritten zu sein. Es erscheint allerdings, dass eine tendenzielle Aussagekraft bestünde, daher wären mehr Arbeiten zu der Analyse anhand RNA-Sequenzierungen notwendig.

10. Literaturverzeichnis

1. Schiebler T, Schmidt, W, Zilles, K. Zytologie, Histologie, Entwicklungsgeschichte, makroskopische und mikroskopische Anatomie des Menschen: Springer Berlin/Heidelberg/New York; 1999.
2. Barnes B, Kraywinkel K, Nowossadeck E, Schönfeld I, Starker A, Wienecke A, Wolf U. Bericht zum Krebsgeschehen in Deutschland 2016. Robert Koch-Institut; 2016.
3. Brennan P, Bogillot O, Cordier S, Greiser E, Schill W, Vineis P, Lopez-Abente G, Tzonou A, Chang-Claude J, Bolm-Audorff U, Jöckel KH, Donato F, Serra C, Wahrendorf J, Hours M, T'Mannetje A, Kogevinas M, Boffetta P. Cigarette smoking and bladder cancer in men: a pooled analysis of 11 case-control studies. *Int J Cancer*. 2000;86(2):289-94.
4. Brennan P, Bogillot O, Greiser E, Chang-Claude J, Wahrendorf J, Cordier S, Jöckel KH, Lopez-Abente G, Tzonou A, Vineis P, Donato F, Hours M, Serra C, Bolm-Audorff U, Schill W, Kogevinas M, Boffetta P. The contribution of cigarette smoking to bladder cancer in women (pooled European data). *Cancer Causes Control*. 2001;12(5):411-7.
5. Hoffman D, Masuda Y, Wynder EL. Alpha-naphthylamine and beta-naphthylamine in cigarette smoke. *Nature*. 1969;221(5177):255-6.
6. Lehmann J RM, Stöckle M (Hrsg.). Blasenkarzinom. Springer Medizin Verlag Heidelberg. 2005.
7. Vineis P, Pirastu R. Aromatic amines and cancer. *Cancer Causes Control*. 1997;8(3):346-55.
8. Kantor AF, Hartge P, Hoover RN, Narayana AS, Sullivan JW, Fraumeni JF, Jr. Urinary tract infection and risk of bladder cancer. *Am J Epidemiol*. 1984;119(4):510-5.
9. Salem HK, Mahfouz S. Changing patterns (age, incidence, and pathologic types) of schistosoma-associated bladder cancer in Egypt in the past decade. *Urology*. 2012;79(2):379-83.
10. Welk B, McIntyre A, Teasell R, Potter P, Loh E. Bladder cancer in individuals with spinal cord injuries. *Spinal Cord*. 2013;51(7):516-21.
11. Baker GL, Kahl LE, Zee BC, Stolzer BL, Agarwal AK, Medsger TA, Jr. Malignancy following treatment of rheumatoid arthritis with cyclophosphamide. Long-term case-control follow-up study. *Am J Med*. 1987;83(1):1-9.

12. Fairchild WV, Spence CR, Solomon HD, Gangai MP. The incidence of bladder cancer after cyclophosphamide therapy. *J Urol.* 1979;122(2):163-4.
13. Jocham DM, K. *Praxis der Urologie*: Georg Thieme Verlag Stuttgart/ New York 1994.
14. Hautmann R HH. *Urologie*. Springer. 2006.
15. Helpap B. *Atlas der Pathologie urologischer Tumoren*: Springer Verlag Berlin/Heidelberg/New York; 1993.
16. Fachgesellschaften AdWM. *S3-Leitlinie Früherkennung, Diagnose, Therapie und Nachsorge des Harnblasenkarzinoms*. 2016.
17. Eble JE SG, Epstein U, Sesterhenn IA (eds). *Tumours of the urinary system and male genital organs. WHO classification of tumours*. Lyon: IARC Press; 2004.
18. Stoehr R, Hartmann A. *Histopathologie und Molekulargenetik des Harnblasenkarzinoms*. *Der Onkologe.* 2007;13:1058-66.
19. Hermanek P HR, Sobin LH, Wagner G, Wittekind C. *TNM Atlas*. Berlin, Heidelberg, New-York: Springer Verlag; 1997.
20. Clark PE, Stein JP, Groshen SG, Cai J, Miranda G, Lieskovsky G, Skinner DG. Radical cystectomy in the elderly: comparison of clinical outcomes between younger and older patients. *Cancer.* 2005;104(1):36-43.
21. Hautmann RE, de Petriconi RC, Pfeiffer C, Volkmer BG. Radical cystectomy for urothelial carcinoma of the bladder without neoadjuvant or adjuvant therapy: long-term results in 1100 patients. *Eur Urol.* 2012;61(5):1039-47.
22. Prout GR, Marshall VF. The prognosis with untreated bladder tumors. *Cancer.* 1956;9(3):551-8.
23. Malmstrom PU, Rintala E, Wahlqvist R, Hellstrom P, Hellsten S, Hannisdal E. Five-year followup of a prospective trial of radical cystectomy and neoadjuvant chemotherapy: Nordic Cystectomy Trial I. The Nordic Cooperative Bladder Cancer Study Group. *J Urol.* 1996;155(6):1903-6.
24. Grossman HB, Natale RB, Tangen CM, Speights VO, Vogelzang NJ, Trump DL, deVere White RW, Sarosdy MF, Wood DP Jr, Raghavan D, Crawford ED . Neoadjuvant chemotherapy plus cystectomy compared with cystectomy alone for locally advanced bladder cancer. *N Engl J Med.* 2003;349(9):859-66.
25. Kitamura H, Tsukamoto T, Shibata T, Masumori N, Fujimoto H, Hirao Y, Fujimoto K, Kitamura Y, Tomita Y, Tobisu K, Niwakawa M, Naito S, Eto M, Kakehi Y. Randomised phase III study of neoadjuvant chemotherapy with methotrexate,

- doxorubicin, vinblastine and cisplatin followed by radical cystectomy compared with radical cystectomy alone for muscle-invasive bladder cancer: Japan Clinical Oncology Group Study JCOG0209. *Ann Oncol.* 2014;25(6):1192-8.
26. Freiha F, Reese J, Torti FM. A randomized trial of radical cystectomy versus radical cystectomy plus cisplatin, vinblastine and methotrexate chemotherapy for muscle invasive bladder cancer. *J Urol.* 1996;155(2):495-9; discussion 9-500.
 27. Skinner DG, Daniels JR, Russell CA, Lieskovsky G, Boyd SD, Nichols P, Kern W, Sakamoto J, Krailo M, Groshen S. The role of adjuvant chemotherapy following cystectomy for invasive bladder cancer: a prospective comparative trial. *J Urol.* 1991;145(3):459-64; discussion 64-7.
 28. Stockle M, Meyenburg W, Wellek S, Voges G, Gertenbach U, Thuroff JW, Huber C, Hohenfellner R. Advanced bladder cancer (stages pT3b, pT4a, pN1 and pN2): improved survival after radical cystectomy and 3 adjuvant cycles of chemotherapy. Results of a controlled prospective study. *J Urol.* 1992;148(2 Pt 1):302-6; discussion 6-7.
 29. Loehrer PJ, Sr., Einhorn LH, Elson PJ, Crawford ED, Kuebler P, Tannock I, Raghavan D, Stuart-Harris R, Sarosdy MF, Lowe BA. A randomized comparison of cisplatin alone or in combination with methotrexate, vinblastine, and doxorubicin in patients with metastatic urothelial carcinoma: a cooperative group study. *J Clin Oncol.* 1992;10(7):1066-73.
 30. Sternberg CN, Yagoda A, Scher HI, Watson RC, Geller N, Herr HW, Morse MJ, Sogani PC, Vaughan ED, Bander N. Methotrexate, vinblastine, doxorubicin, and cisplatin for advanced transitional cell carcinoma of the urothelium. Efficacy and patterns of response and relapse. *Cancer.* 1989;64(12):2448-58.
 31. von der Maase H, Sengelov L, Roberts JT, Ricci S, Dogliotti L, Oliver T, Moore MJ, Zimmermann A, Arning M. Long-term survival results of a randomized trial comparing gemcitabine plus cisplatin, with methotrexate, vinblastine, doxorubicin, plus cisplatin in patients with bladder cancer. *J Clin Oncol.* 2005;23(21):4602-8.
 32. Lehmann J, Retz M, Wiemers C, Beck J, Thuroff J, Weining C, Albers P, Frohneberg D, Becker T, Funke PJ, Walz P, Langbein S, Reiher F, Schiller M, Miller K, Roth S, Kälble T, Sternberg D, Wellek S, Stöckle M. Adjuvant cisplatin plus methotrexate versus methotrexate, vinblastine, epirubicin, and cisplatin in locally advanced bladder cancer: results of a randomized, multicenter, phase III trial (AUO-AB 05/95). *J Clin Oncol.* 2005;23(22):4963-74.

33. Rosenberg B, VanCamp L, Trosko JE, Mansour VH. Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents. *Nature*. 1969;222(5191):385-6.
34. Dasari S, Tchounwou PB. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *Eur J Pharmacol*. 2014;740:364-78.
35. Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene, survivin, expressed in cancer and lymphoma. *Nat Med*. 1997;3(8):917-21.
36. Caldas H, Jiang Y, Holloway MP, Fangusaro J, Mahotka C, Conway EM, Altura RA. Survivin splice variants regulate the balance between proliferation and cell death. *Oncogene*. 2005;24(12):1994-2007.
37. Verdecia MA, Huang H, Dutil E, Kaiser DA, Hunter T, Noel JP. Structure of the human anti-apoptotic protein survivin reveals a dimeric arrangement. *Nat Struct Biol*. 2000;7(7):602-8.
38. Chantalat L, Skoufias DA, Kleman JP, Jung B, Dideberg O, Margolis RL. Crystal structure of human survivin reveals a bow tie-shaped dimer with two unusual alpha-helical extensions. *Mol Cell*. 2000;6(1):183-9.
39. Tamm I, Wang Y, Sausville E, Scudiero DA, Vigna N, Oltersdorf T, Reed JC. IAP-family protein survivin inhibits caspase activity and apoptosis induced by Fas (CD95), Bax, caspases, and anticancer drugs. *Cancer Res*. 1998;58(23):5315-20.
40. Altieri DC. Molecular circuits of apoptosis regulation and cell division control: the survivin paradigm. *J Cell Biochem*. 2004;92(4):656-63.
41. Altieri DC. The molecular basis and potential role of survivin in cancer diagnosis and therapy. *Trends Mol Med*. 2001;7(12):542-7.
42. Rodriguez JA, Span SW, Ferreira CG, Kruyt FA, Giaccone G. CRM1-mediated nuclear export determines the cytoplasmic localization of the antiapoptotic protein Survivin. *Exp Cell Res*. 2002;275(1):44-53.
43. Kallio MJ, Nieminen M, Eriksson JE. Human inhibitor of apoptosis protein (IAP) survivin participates in regulation of chromosome segregation and mitotic exit. *Faseb j*. 2001;15(14):2721-3.
44. Sah NK, Khan Z, Khan GJ, Bisen PS. Structural, functional and therapeutic biology of survivin. *Cancer Lett*. 2006;244(2):164-71.
45. Azuhata T, Scott D, Takamizawa S, Wen J, Davidoff A, Fukuzawa M, Sandler A. The inhibitor of apoptosis protein survivin is associated with high-risk behavior of neuroblastoma. *J Pediatr Surg*. 2001;36(12):1785-91.

46. Ryan BM, Konecny GE, Kahlert S, Wang HJ, Untch M, Meng G, Pegram MD, Podratz KC, Crown J, Slamon DJ, Duffy MJ. Survivin expression in breast cancer predicts clinical outcome and is associated with HER2, VEGF, urokinase plasminogen activator and PAI-1. *Ann Oncol.* 2006;17(4):597-604.
47. Wang TT, Qian XP, Liu BR. Survivin: potential role in diagnosis, prognosis and targeted therapy of gastric cancer. *World J Gastroenterol.* 2007;13(20):2784-90.
48. Rodel F, Hoffmann J, Grabenbauer GG, Papadopoulos T, Weiss C, Gunther K, Schick C, Sauer R, Rodel C. High survivin expression is associated with reduced apoptosis in rectal cancer and may predict disease-free survival after preoperative radiochemotherapy and surgical resection. *Strahlenther Onkol.* 2002;178(8):426-35.
49. Swana HS, Grossman D, Anthony JN, Weiss RM, Altieri DC. Tumor Content of the Antiapoptosis Molecule Survivin and Recurrence of Bladder Cancer. *New England Journal of Medicine.* 1999;341(6):452-3.
50. Sancar A. Mechanisms of DNA excision repair. *Science.* 1994;266(5193):1954-6.
51. Hoffmann AC, Wild P, Leicht C, Bertz S, Danenberg KD, Danenberg PV, Stöhr R, Stöckle M, Lehmann J, Schuler M, Hartmann A. MDR1 and ERCC1 expression predict outcome of patients with locally advanced bladder cancer receiving adjuvant chemotherapy. *Neoplasia.* 2010;12(8):628-36.
52. Britten RA, Liu D, Tessier A, Hutchison MJ, Murray D. ERCC1 expression as a molecular marker of cisplatin resistance in human cervical tumor cells. *Int J Cancer.* 2000;89(5):453-7.
53. Dabholkar M, Vionnet J, Bostick-Bruton F, Yu JJ, Reed E. Messenger RNA levels of XPAC and ERCC1 in ovarian cancer tissue correlate with response to platinum-based chemotherapy. *J Clin Invest.* 1994;94(2):703-8.
54. Metzger R, Leichman CG, Danenberg KD, Danenberg PV, Lenz HJ, Hayashi K, Groshen S, Salonga D, Cohen H, Laine L, Crookes P, Silberman H, Baranda J, Konda B, Leichman L. ERCC1 mRNA levels complement thymidylate synthase mRNA levels in predicting response and survival for gastric cancer patients receiving combination cisplatin and fluorouracil chemotherapy. *J Clin Oncol.* 1998;16(1):309-16.
55. Shirota Y, Stoehlmacher J, Brabender J, Xiong YP, Uetake H, Danenberg KD, Groshen S, Tsao-Wei DD, Danenberg PV, Lenz HJ. ERCC1 and thymidylate synthase mRNA levels predict survival for colorectal cancer patients receiving

- combination oxaliplatin and fluorouracil chemotherapy. *J Clin Oncol.* 2001;19(23):4298-304.
56. Lord RV, Brabender J, Gandara D, Alberola V, Camps C, Domine M, Cardenal F, Sánchez JM, Gumerlock PH, Tarón M, Sánchez JJ, Danenberg KD, Danenberg PV, Rosell R. Low ERCC1 expression correlates with prolonged survival after cisplatin plus gemcitabine chemotherapy in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2002;8(7):2286-91.
 57. Noll SS-K, Susanne. *Praxis der Immunhistochemie*2000.
 58. Chen HA, Su CM, Hsieh HY, Tung CL, Hsu CD, Wang YH, Shen CH. Clinical significance of survivin expression in patients with urothelial carcinoma. *Dis Markers.* 2014;2014:574985.
 59. Wang J, Zhang X, Wei P, Zhang J, Niu Y, Kang N, Zhang Y, Zhang W, Xing N. Livin, Survivin and Caspase 3 as early recurrence markers in non-muscle-invasive bladder cancer. *World J Urol.* 2014;32(6):1477-84.
 60. Xi RC, Sheng YR, Chen WH, Sheng L, Gang JJ, Tong Z, Shan Z, Ying GH, Dong LC. Expression of survivin and livin predicts early recurrence in non-muscle invasive bladder cancer. *J Surg Oncol.* 2013;107(5):550-4.
 61. Skagias L, Politi E, Karameris A, Sambaziotis D, Archondakis A, Ntinis A, Moreas I, Vasou O, Koutselini H, Patsouris E. Survivin expression as a strong indicator of recurrence in urothelial bladder cancer. Predictive value of nuclear versus cytoplasmic staining. *Anticancer Res.* 2009;29(10):4163-7.
 62. Shariat SF, Ashfaq R, Karakiewicz PI, Saeedi O, Sagalowsky AI, Lotan Y. Survivin expression is associated with bladder cancer presence, stage, progression, and mortality. *Cancer.* 2007;109(6):1106-13.
 63. Senol S, Yildirim A, Ceyran B, Uruc F, Zemheri E, Ozkanli S, Akalin I, Ulus I, Caskurlu T, Aydin A. Prognostic significance of survivin, beta-catenin and p53 expression in urothelial carcinoma. *Bosn J Basic Med Sci.* 2015;15(4):7-14.
 64. Klatte T, Seitz C, Rink M, Roupert M, Xylinas E, Karakiewicz P, Susani M, Shariat SF. ERCC1 as a Prognostic and Predictive Biomarker for Urothelial Carcinoma of the Bladder following Radical Cystectomy. *J Urol.* 2015;194(5):1456-62.
 65. Kawashima A, Takayama H, Kawamura N, Doi N, Sato M, Hatano K, Nagahara A, Uemura M, Nakai Y, Nishimura K, Miyoshi S, Kawano K, Nishimura K, Nonomura N, Tsujimura A. Co-expression of ERCC1 and Snail is a prognostic but

not predictive factor of cisplatin-based neoadjuvant chemotherapy for bladder cancer. *Oncol Lett.* 2012;4(1):15-21.

66. Kim KH, Do IG, Kim HS, Chang MH, Kim HS, Jun HJ, Uhm J, Yi SY, Lim DH, Ji SH, Park MJ, Lee J, Park SH, Kwon GY, Lim HY. Excision repair cross-complementation group 1 (ERCC1) expression in advanced urothelial carcinoma patients receiving cisplatin-based chemotherapy. *Apmis.* 2010;118(12):941-8.
67. Bellmunt J, Paz-Ares L, Cuello M, Cecere FL, Albiol S, Guillem V, Gallardo E, Carles J, Mendez P, de la Cruz JJ, Taron M, Rosell R, Baselga J. Gene expression of ERCC1 as a novel prognostic marker in advanced bladder cancer patients receiving cisplatin-based chemotherapy. *Ann Oncol.* 2007;18(3):522-8.
68. Ozcan MF, Dizdar O, Dincer N, Balci S, Guler G, Gok B, Pektas G, Seker MM, Aksoy S, Arslan C, Yalcin S, Balbay MD. Low ERCC1 expression is associated with prolonged survival in patients with bladder cancer receiving platinum-based neoadjuvant chemotherapy. *Urol Oncol.* 2013;31(8):1709-15.

11. Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Adisch Kiani, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Survivin und ERCC-1 als prognostische Marker beim Harnblasenkarzinom unter verschiedenen Therapieregimen“ / „Survivin and ERCC-1 as prognostic markers in bladder cancer under different treatment regimes“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Ich versichere ferner, dass ich die in Zusammenarbeit mit anderen Personen generierten Daten, Datenauswertungen und Schlussfolgerungen korrekt gekennzeichnet und meinen eigenen Beitrag sowie die Beiträge anderer Personen korrekt kenntlich gemacht habe (siehe Anteilserklärung). Texte oder Textteile, die gemeinsam mit anderen erstellt oder verwendet wurden, habe ich korrekt kenntlich gemacht.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Erstbetreuer, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

13. Danksagung

Ich danke meinem Doktorvater Herrn Priv.-doz. Dr. med. habil. Thorsten Ecke ganz herzlich für die Überlassung des Promotionsthemas und besonders für seine freundliche und stets engagierte Unterstützung bei Erstellung dieser Dissertation. Vielen Dank für all die hilfreichen Gespräche und die nicht nachlassende Motivation.

Mein Dank gilt ebenfalls Herrn Prof. Dr. med. Klaus Jung, dem ehemaligem Leiter des urologischen Forschungslabor der Charité, für die Möglichkeit alle notwendigen experimentellen Arbeiten am urologischen Forschungslabor durchführen zu dürfen.

Für die Bereitstellung des Antikörpers Survivin bedanke ich mich recht herzlich bei Herrn Dr. rer. nat. Jan Gleichenhagen und Herrn Dr. rer. nat. Georg Johnen aus der Ruhr-Universität Bochum.

Frau Priv.-Doz. Dr. rer. nat. Anja Rabien, der Leiterin des urologischen Forschungslabor der Charité, möchte ich ganz herzlich für die Beratung in der statistischen Auswertung danken.

Für die praktische Durchführung im Labor möchte ich mich bei Frau Siegrun Blauhut bedanken, die mir bei der Erstellung der immunhistologischen Färbungen eine sehr große Hilfe war. Es war ein großes Vergnügen mit ihr gemeinsam im Labor zu arbeiten.

Herrn Dr. med. Ergin Kilic, dem Leiter des Instituts für Pathologie am Klinikum Leverkusen, danke ich für die Unterstützung bei der immunhistologischen Bewertung der Tumorpräparate.

Mein persönlicher Dank geht an meine Eltern und meinen Bruder für die stetige Unterstützung, Ermutigungen, das Vertrauen in mich und die Ermöglichung meines Studiums. Durch ihren stetigen Rückhalt haben sie enorm zum Gelingen meines Studiums und meiner Dissertation beigetragen.