

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Immunhistochemische Färbemuster und Spezifität der verwendeten Antikörper

Die immunhistochemische Färbung der vorliegenden Ösophagusbiopsate hat unter Anwendung der oben beschriebenen Methode (siehe 2.4) spezifische und reproduzierbare Ergebnisse hervorgebracht. Sowohl bei den Gefrier- als auch bei den Paraffingeweben wurden die Inkubationsbedingungen und die Antikörperkonzentrationen für jeden einzelnen Antikörper durch Austestung verschiedener Verdünnungsreihen und „Antigen Retrieval“- bzw. Entwicklungsmethoden festgelegt.

Die Inkubationen mit den VEGF-A-, VEGF-C- und VEGF-D-Antikörpern zeigen charakteristische Anfärbungsmuster im Ösophagus-Normalgewebe sowie in den Stadien der Barrett-Karzinogenese: VEGF-A markiert im Normalgewebe vor allem die Zellen des Stratum basale des mehrschichtigen, unverhornten Plattenepithels (siehe Abb. 7 A). In den Stadien der Metaplasie-Dysplasie-Karzinom-Sequenz sind vor allem Zylinderepithelzellen, aber auch Stromazellen für VEGF-A positiv (siehe Abb. 7 D, 7 G und 7 J). Ab dem Stadium der Barrett-Dysplasie zeigen auch einige Gefäße eine Immunfärbung für VEGF-A. VEGF-C-Immunfärbungen finden sich im Normalgewebe ebenfalls auf Zellen des Stratum basale (siehe Abb. 7 B). In den Stadien der Barrett-Karzinogenese sind vor allem die Zylinderepithelzellen der Drüsenschläuche gefärbt, aber auch Becherzellen und Stromazellen (siehe Abb. 7 E, 7 H und 7 K). VEGF-C-positive Gefäße werden in den Stadien der Barrett-Metaplasie-Dysplasie-Karzinom-Sequenz ebenfalls detektiert. VEGF-D zeigt im Normalgewebe im Gegensatz zu VEGF-A und -C eine spezifische Immunanfärbung der Zellen des Stratum intermedium und superficiale des mehrschichtigen Plattenepithels (siehe Abb. 7 C). In den Stadien der Karzinogenese sind selektiv Zylinderepithelzellen gefärbt (siehe Abb. 7 F, 7 I und 7 L). Wie bei VEGF-A und VEGF-C sind ab dem Stadium der Dysplasie auch einige Gefäße für VEGF-D positiv. Bei allen drei Gefäßwachstumsfaktoren zeigt sich in der Mehrzahl der Dysplasie- und Adenokarzinomfälle ein fokales Anfärbungsmuster („Hot Spots“) und nur in wenigen Fällen eine homogene Färbung des Gewebeschnittes.

Auch die Inkubationen mit den VEGF-Rezeptor-Antikörpern zeigen charakteristische Anfärbungsmuster: VEGFR-1 markiert im Ösophagus-Normalgewebe vor allem kleinere Gefäße sowie vereinzelt Epithelzellen des Stratum basale des mehrschichtigen Platte-

nepithels (siehe Abb. 8 B). In den Stadien der Barrett-Metaplasie-Dysplasie-Karzinom-Sequenz sind neben Gefäßen auch Stromazellen und Zylinderepithelzellen gefärbt (siehe Abb. 8 G, 8 L und 8 Q). VEGFR-2 ist im Normalgewebe, genau wie VEGFR-1, auf kleineren Gefäßen und auf Epithelzellen des Stratum basale zu finden (siehe Abb. 8 C). Vor allem in der Barrett-Dysplasie ist VEGFR-2 sehr prominent auf Gefäßen sowie auf Stromazellen und Zylinderepithelzellen vorhanden (siehe Abb. 8 M). VEGFR-3-positive Gefäße markieren im Normalgewebe dünnwandige Gefäße ohne Erythrozyten (siehe Abb. 8 D). In den Stadien der Barrett-Karzinogenese sind auch Zylinderepithel- und Stromazellen für VEGFR-3 positiv (siehe Abb. 8 N). Ein Teil der VEGFR-3-positiven Gefäße ist zugleich auch für den Lymphendothelmarker LYVE-1 immunopositiv, zeigt aber keine Färbung für den Blutgefäßmarker CD31 (Rautenpfeile in Abb. 8 I und 8 J). Ein anderer Teil der VEGFR-3-positiven Gefäße zeigt hingegen eine Immunanfärbung für CD31, was dafür spricht, dass VEGFR-3 beim Barrett-Adenokarzinom auch in Blutgefäßendothelzellen exprimiert wird (Rautenpfeile in Abb. 8 P und 8 S). Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass alle drei VEGF-Rezeptoren im Normalgewebe und in den Stadien der Barrett-Karzinogenese nicht nur Gefäße markieren, wie man es erwarten könnte, sondern dass sie auch in Zylinderepithelzellen und in Becherzellen exprimiert werden, wobei diese Synthese in Abhängigkeit von Antigen und Stadium verschieden stark ist (siehe 3.2.3).

Positive Immunanfärbungen für CD31 und LYVE-1 sind im Ösophagus-Normalgewebe und in allen Stadien der Barrett-Karzinogenese sehr selektiv auf Gefäßen vorhanden (siehe Abb. 8 A, 8 F, 8 K, 8 P und 8 E, 8 J, 8 O, 8 T), und nur vereinzelt auf Stromazellen bzw. Epithelzellen (siehe Abb. 8 K). Der CD31-Antikörper markiert, wie auch aus der Literatur bekannt (Albelda et al., 1990; Muller et al., 1989), vor allem die Zellmembran und weniger das Zytoplasma der Endothelzellen (siehe Abb. 8 P). CD31-positive Gefäße haben meist ein großes Lumen und eine dickere Gefäßwand (siehe Abb. 8 A und 8 P), wohingegen LYVE-1-positive Gefäße eine dünnere Gefäßwand haben und keine Erythrozyten enthalten (siehe Abb. 8 T). In allen Stadien gibt es Gefäße, die keine positive Immunreaktion für CD31 oder LYVE-1 aufweisen. Möglicherweise exprimieren diese Gefäße im Rahmen einer pathologischen Angiogenese bzw. Lymphangiogenese andere Oberflächenmarker als die in dieser Arbeit untersuchten oder aber ist ein Nachweis mit der verwendeten immunhistochemischen Methode nicht möglich.

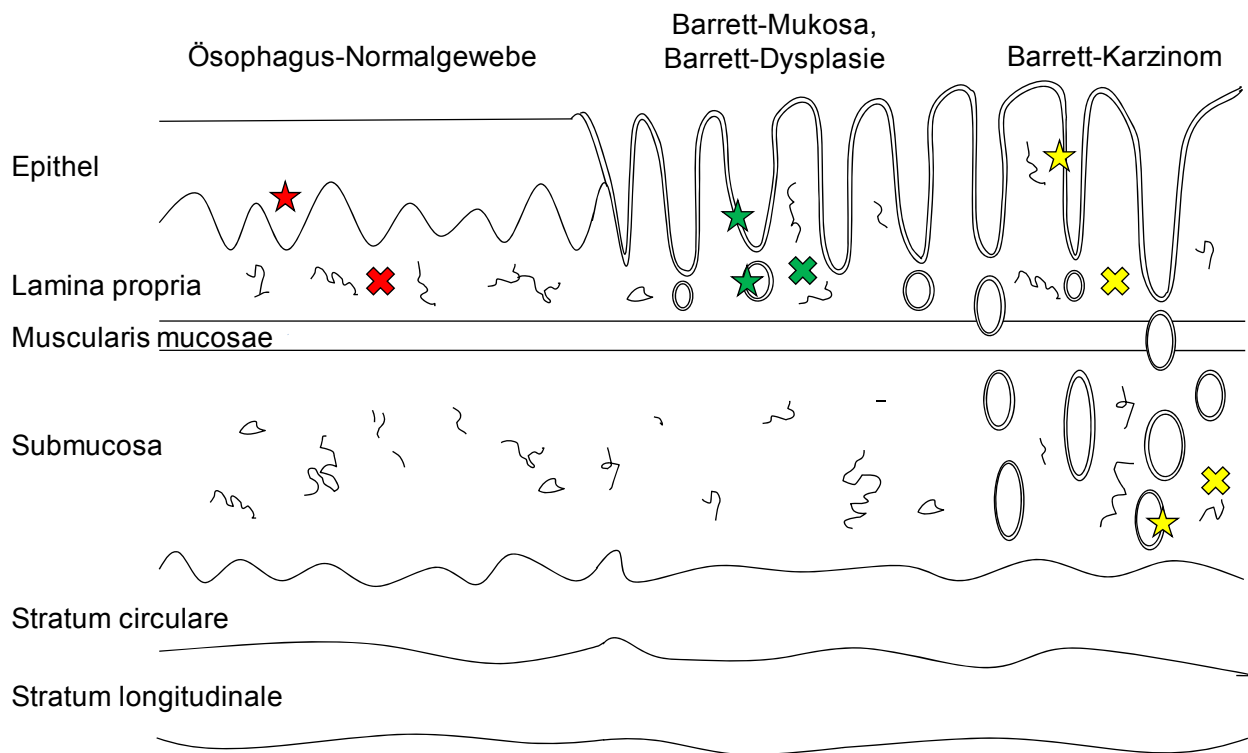


Abb. 6: Schematische Darstellung des Wandaufbaues des Ösophagus mit gesunder Schleimhaut (links), Barrett-Mukosa bzw. Barrett-Dysplasie (Mitte) und Barrett-Karzinom (rechts). Im Normalgewebe zeigt sich der typische Wandaufbau des Magen-Darm-Traktes, bestehend aus Tunica mucosa, Tela submucosa und Tunica muscularis. Die Schleimhaut besteht aus mehrschichtigem, unverhornten Plattenepithel, einer bindegewebigen Lamina propria und einer deutlichen Muscularis mucosae. Die Barrett-Mukosa ist gekennzeichnet durch glanduläres Zylinderepithel vom spezialisierten, intestinalen Typ (Becherzellen). Meist besteht ein abrupter Übergang zwischen Plattenepithel und Barrett-Mukosa. In der Barrett-Dysplasie zeigen die Barrett-Epithelzellen vergrößerte, hyperchromatische, pleomorphe Kerne. Je nach Grad der Dysplasie ist die Zellpolarität erhalten (low grade) oder nicht (high grade). Ein wichtiges Kriterium ist, dass keine Invasion der Lamina propria vorliegt. Das Barrett-Karzinom ist charakterisiert durch extrem verzweigte, stark in der Größe variierende Drüsen mit Infiltration der Muscularis mucosae und/oder Invasion in Blut- oder Lymphgefäße. Die Sterne markieren schematisch die Lokalisationen der fotografierten Hot Spots mit immunopositiven Epithelzellen (Abb. 7) im Ösophagus-Normalgewebe (rot) und in den Stadien der Barrett-Karzinogenese (Barrett-Mukosa/Barrett-Dysplasie: grün; Barrett-Karzinom: gelb). Die Kreuze markieren die Lokalisationen der Hot Spots mit immunopositiven Gefäßen (Abb. 8).

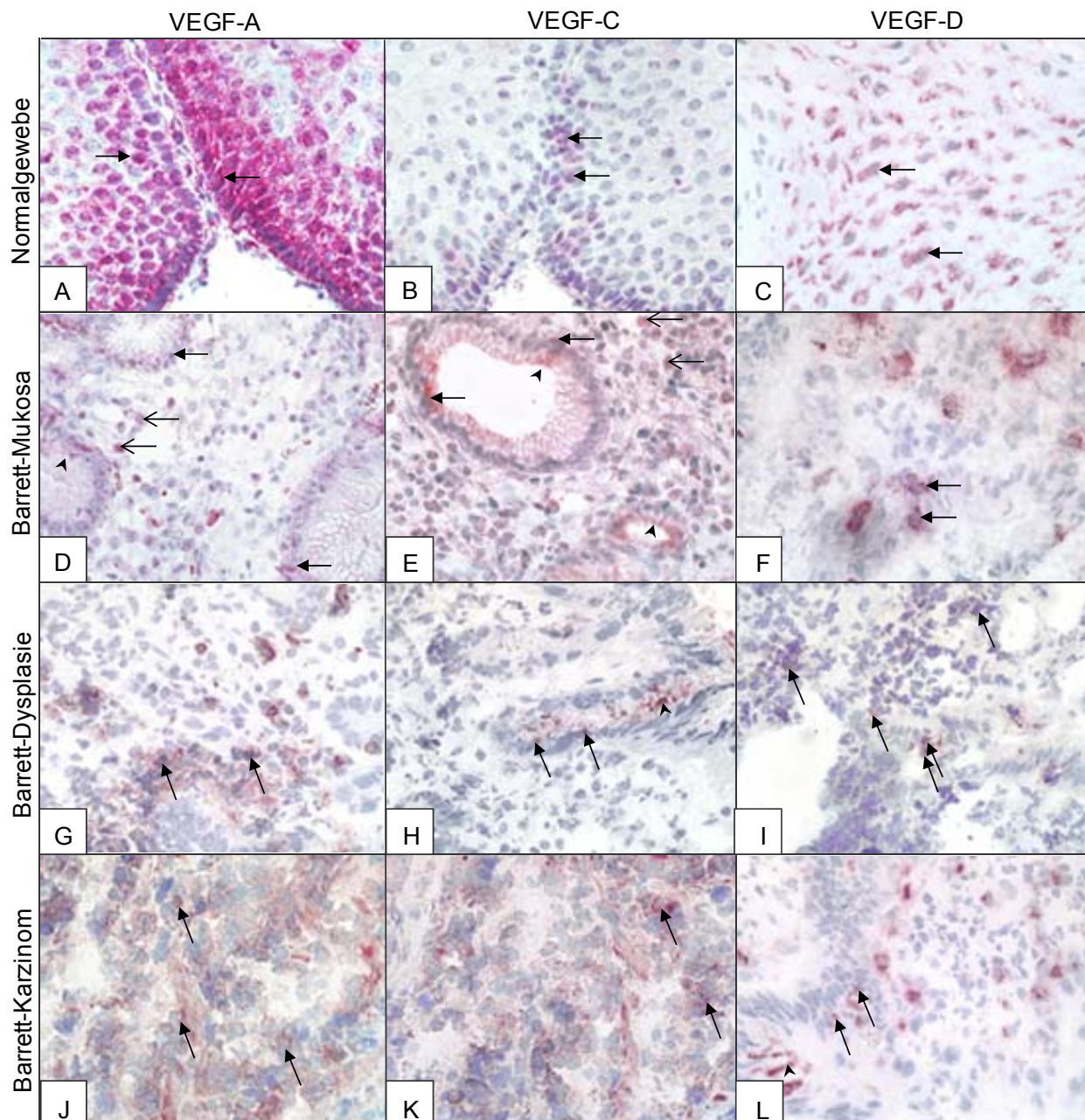


Abb. 7: Immunhistochemische Färbungen für VEGF-A, VEGF-C und VEGF-D im Normalgewebe (A – C) und in den Stadien der Barrett-Metaplasie-Dysplasie-Karzinom-Sequenz (D – L). Alle drei Gefäßwachstumsfaktoren zeigen deutliche und spezifische Immunanfärbungen der Epithelzellen (geschlossene Pfeile). VEGF-A und -C markieren im Normalgewebe vor allem die Zellen des Stratum basale des Plattenepithels (A, B), VEGF-D die Zellen des Stratum intermedium und superficiale (C). In der Barrett-Mukosa sind auch Stromazellen (offene Pfeile) und Becherzellen (Pfeilspitzen) immunopositiv für VEGF-A und VEGF-C (D, E). In der Dysplasie sind ebenfalls in einigen Fällen Becherzellen für VEGF-C gefärbt (Pfeilspitze in H). Vergrößerung: 400fach.



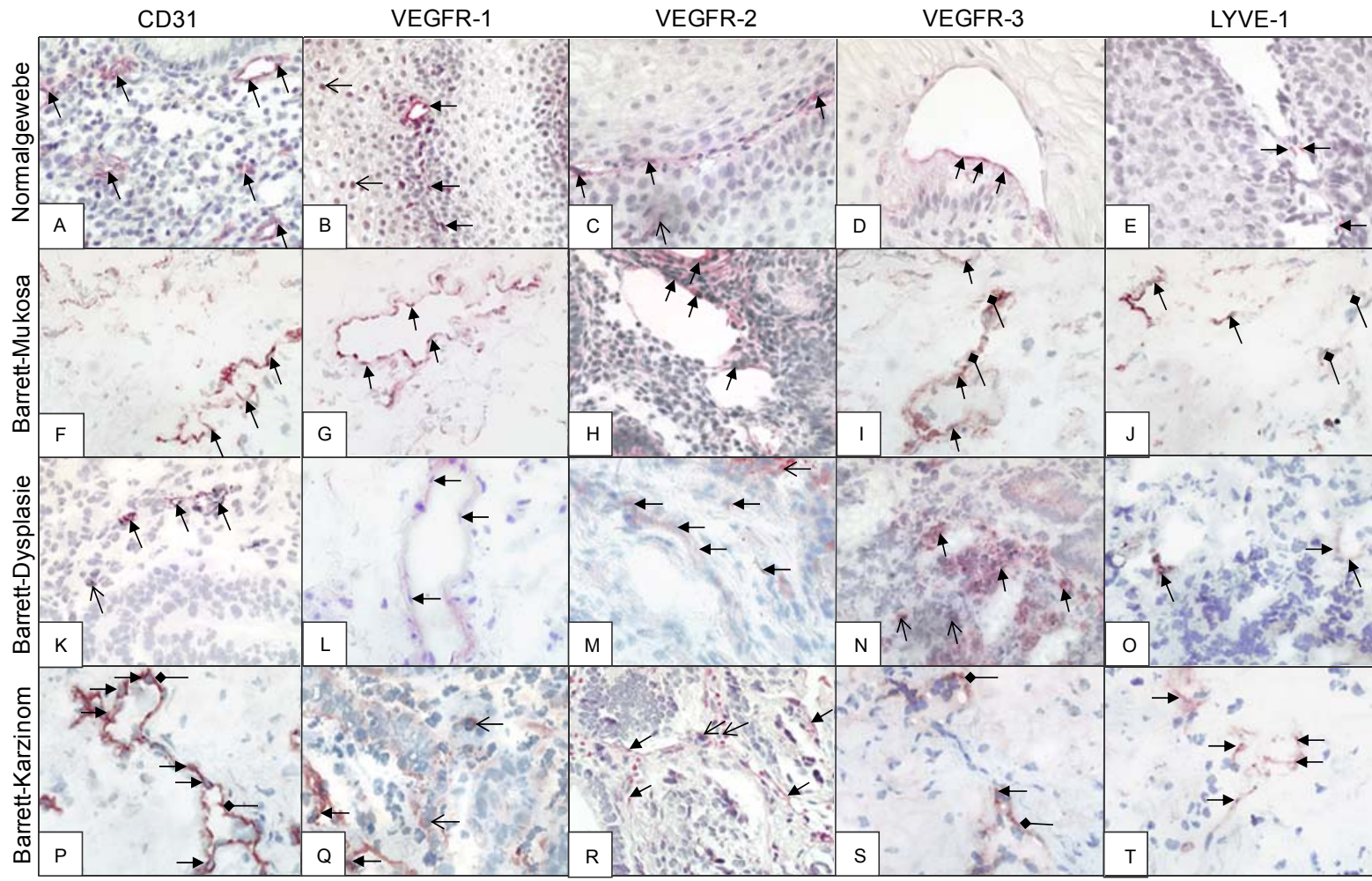


Abb. 8: Immunhistochemische Färbungen für CD31, VEGFR-1, -2, -3 und LYVE-1 im Normalgewebe (A – E) und in den Stadien der Barrett-Metaplasie-Dysplasie-Karzinom-Sequenz (F – T). Alle drei VEGF-Rezeptoren zeigen deutliche und spezifische Immunanfärbungen von Gefäßen. Die geschlossenen Pfeile kennzeichnen exemplarisch Endothelzellen mit starker, spezifischer Immunreaktion. Vereinzelt markieren die VEGF-Rezeptoren in den Stadien der Barrett-Karzinogenese auch Stroma- bzw. Zylinderepithelzellen (offene Pfeile in B, Q, R). Die endothelspezifischen Antikörper CD31 und LYVE-1 färben sowohl Kapillaren (K, O) als auch kleinere und größere Gefäße der Submukosa (F, P, J, T). Beide Antikörper markieren selektiv Gefäße und nur vereinzelt Stromazellen bzw. Zylinderepithelzellen (offene Pfeile in K). Vergrößerung: 400fach.

## **3.2 Vorkommen und Häufigkeit der untersuchten Gefäßwachstumsfaktoren und Rezeptoren**

### **3.2.1 Expression von VEGF-A, -C und -D in Epithelzellen**

#### **Immunopositive Fälle**

VEGF-A ist der Gefäßwachstumsfaktor, der im Vergleich zu VEGF-C und VEGF-D bei den meisten Ösophagus-Normalgeweben in Epithelzellen exprimiert wird: 34,2% der Fälle sind für VEGF-A positiv (siehe Abb. 9). Aus der Literatur ist bekannt, dass VEGF-A unter physiologischen Bedingungen an der Aufrechterhaltung von Blutgefäßen beteiligt ist (Gerber et al., 1998; Rousseau et al., 1997; Kanno et al., 2000) und diese Funktion ist auch für die Ösophagumukosa anzunehmen. In den Stadien der Barrett-Metaplasie-Dysplasie-Karzinom-Sequenz liegt der prozentuale Anteil der Fälle mit VEGF-A-positiven Epithelzellen zwischen 47,6% (Barrett-Karzinom) und 52,1% (Barrett-Mukosa). Es zeigen sich keine statistisch signifikanten Unterschiede sowohl zwischen Normalgewebe und Barrett-Mukosa als auch zwischen den einzelnen Stadien der Barrett-Karzinogenese (siehe Abb. 9).

VEGF-C, ein Faktor, der im Normalgewebe zusammen mit VEGF-D für Wachstum, Migration und vor allem Aufrechterhaltung von Lymphgefäßen verantwortlich ist (Veikkola et al., 2003; Mäkinen et al., 2001), wird in 18,4% der Ösophagus-Normalgewebe in Epithelzellen exprimiert, also in deutlich weniger Fällen als VEGF-A (siehe Abb. 9). In der Barrett-Dysplasie ist ein signifikanter Anstieg der Fallzahl auf 47,8% zu verzeichnen (p-Wert des Vergleiches zwischen Normalgewebe und Dysplasie: 0,212; siehe Abb. 9). Auch im Barrett-Karzinom sind signifikant mehr Fälle (54%) für VEGF-C positiv als im

Ösophagus-Normalgewebe bzw. in der Barrett-Mukosa (p-Wert des Vergleiches zwischen Normalgewebe und Barrett-Karzinom: 0,0004; p-Wert des Vergleiches zwischen Barrett-Mukosa und Barrett-Karzinom: 0,0024; siehe Abb. 9).

VEGF-D ist im Ösophagus-Normalgewebe in 15,8% der Fälle in Epithelzellen zu finden. Im Verlauf der Barrett-Metaplasie-Dysplasie-Karzinom-Sequenz steigt die Zahl der immunopositiven Fälle zwar kontinuierlich an, aber erst im Barrett-Karzinom zeigt sich ein signifikanter Anstieg auf 42,9% (p-Wert des Vergleiches zwischen Normalgewebe und Barrett-Karzinom: 0,0080; siehe Abb. 9).

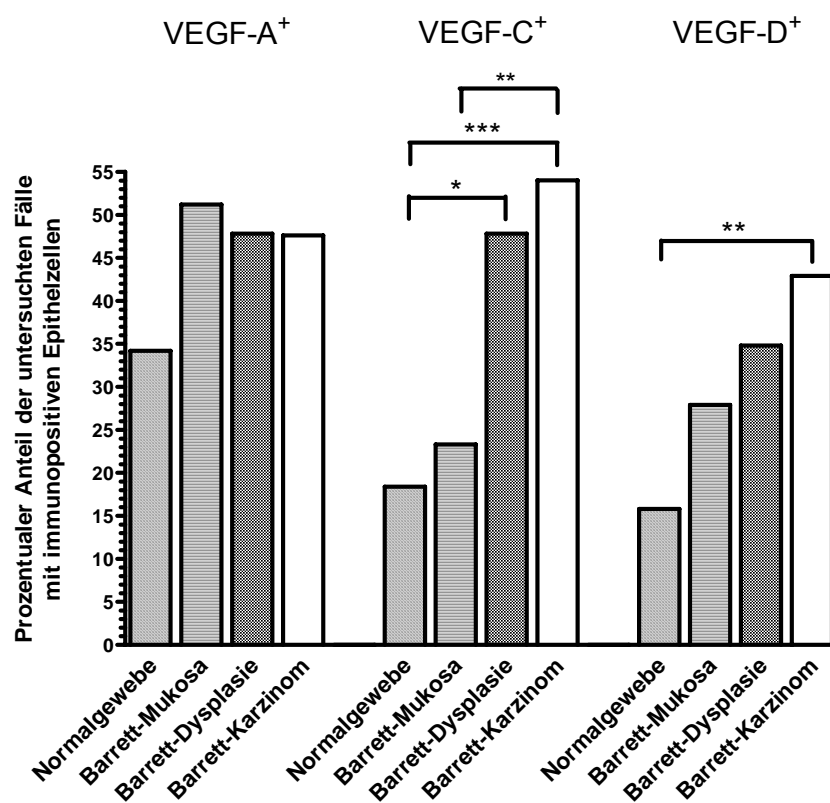


Abb. 9: Prozentualer Anteil der Fälle mit VEGF-A-, VEGF-C- und VEGF-D-positiven Epithelzellen. Die Fallzahl mit VEGF-A-positiven Epithelzellen nimmt in den Stadien der Barrett-Metaplasie-Dysplasie-Karzinom-Sequenz nicht signifikant zu. VEGF-A ist aber der Gefäßwachstumsfaktor, der im ösophagealen Plattenepithel und in der Barrett-Mukosa in etwa doppelt so vielen Fällen in Epithelzellen exprimiert wird wie VEGF-C und -D. Für VEGF-C und -D zeigen im Stadium der Barrett-Dysplasie (VEGF-C) bzw. im Barrett-Karzinom (VEGF-C und VEGF-D) signifikant mehr Fälle eine positive Immunfärbung von Epithelzellen gegenüber dem Ösophagus-Normalgewebe. Die Klammern zeigen statistisch signifikante Korrelationen an (\* = p-Wert < 0,05; \*\* = p-Wert < 0,01; \*\*\* = p-Wert < 0,001).

## Immunopositive Epithelzellen

Im vorherigen Abschnitt konnte gezeigt werden, dass insbesondere in den späteren Stadien der Barrett-Karzinogenese der prozentuale Anteil der Fälle, die als VEGF-C- und VEGF-D-positiv identifiziert werden, signifikant zunimmt (Abb. 9). Um darüber hinaus Aussagen treffen zu können, ob auch signifikant mehr Epithelzellen immunopositiv für einen Gefäßwachstumsfaktor sind, wurden die mittleren prozentualen Anteile der VEGF-A-, VEGF-C- und VEGF-D-positiven Epithelzellen an der Gesamtzahl der Epithelzellen je Gewebeschnitt bestimmt und miteinander verglichen (siehe 2.5).

Im Gegensatz zu VEGF-C und -D wird VEGF-A, wie im vorangehenden Abschnitt beschrieben, im Ösophagus-Normalgewebe und in den Stadien der Barrett-Karzinogenese bei einem ungefähr gleich großen prozentualen Anteil an Fällen in Epithelzellen exprimiert (siehe Abb. 9). Die Betrachtung des prozentualen Anteils der VEGF-A-positiven Epithelzellen zeigt jedoch einen signifikanten Anstieg in der Barrett-Dysplasie: von 20,0% in der Barrett-Mukosa auf 33,8% in der Dysplasie (p-Wert: 0,0369), und weiter auf 38,4% im Barrett-Karzinom (p-Wert des Vergleiches zwischen Barrett-Mukosa und Barrett-Karzinom: 0,0021; siehe Abb. 10). Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass trotzdem der prozentuale Anteil der Fälle mit VEGF-A-positiven Epithelzellen in den Stadien der Barrett-Metaplasie-Dysplasie-Karzinom-Sequenz nicht signifikant zunimmt, dennoch eine Steigerung der VEGF-A-Syntheserate (belegt durch den höheren prozentualen Anteil an immunopositiven Epithelzellen) ab dem Stadium der Barrett-Dysplasie zu erkennen ist.

Für VEGF-C und VEGF-D sind die Verhältnisse genau umgekehrt: die prozentualen Anteile der immunopositiven Epithelzellen sind in den Stadien der Barrett-Karzinogenese nicht signifikant erhöht und liegen zwischen 17,6% und 22,1% (VEGF-C) bzw. zwischen 17,9% und 32% (VEGF-D; siehe Abb. 10). Wie oben beschrieben, zeigt sich jedoch ein signifikanter Anstieg der VEGF-C-positiven Fälle in der Barrett-Dysplasie und im Barrett-Karzinom bzw. der VEGF-D-positiven Fälle im Barrett-Karzinom (jeweils im Vergleich zum Ösophagus-Normalgewebe; siehe Abb. 9), was Hinweise auf eine Bedeutung dieser beiden Gefäßwachstumsfaktoren in den späten Stadien der Barrett-Karzinogenese liefert.



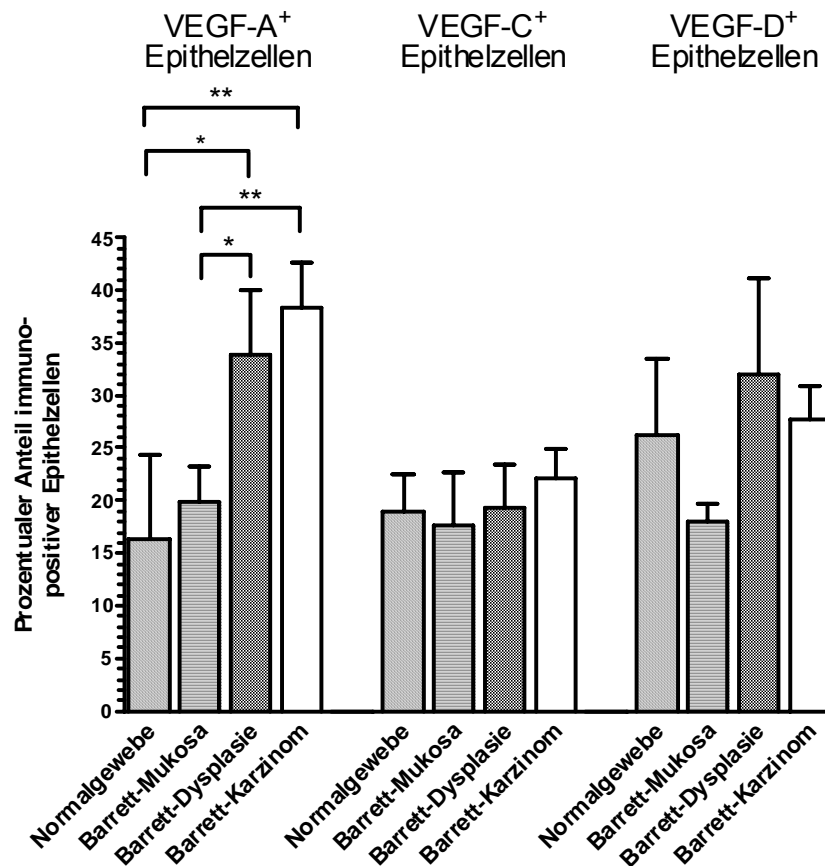


Abb. 10: Prozentualer Anteil der VEGF-A-, VEGF-C- und VEGF-D-positiven Epithelzellen. Der prozentuale Anteil der VEGF-A-synthetisierenden Epithelzellen steigt ab dem Stadium der Barrett-Dysplasie signifikant an, wohingegen der prozentuale Anteil der VEGF-C- und VEGF-D-exprimierenden Epithelzellen in den Stadien der Barrett-Metaplasie-Dysplasie-Karzinom-Sequenz keine statistisch signifikanten Unterschiede aufweist. Die Klammern zeigen statistisch signifikante p-Werte an (\* = p-Wert < 0,05; \*\* = p-Wert < 0,01). Die Standardabweichungen sind als T über den Balken dargestellt.

### 3.2.2 Expression der VEGF-Rezeptoren in Gefäßendothelien

#### Immunopositive Fälle

Die drei VEGF-Rezeptoren werden in den Ösophagus-Normalgeweben bei einem ungefähr gleich großen prozentualen Anteil an Fällen (rund 10%) mittels immunohistochemischer Färbung in Gefäßendothelien detektiert (siehe Abb. 11). Unter physiologischen Bedingungen ist VEGFR-1 an der Migration von (Blutgefäß-) Endothelzellen beteiligt (Rousseau et al., 1997; Kanno et al., 2000), wohingegen VEGFR-2 Mitogenese und Angiogenese in ruhenden Endothelzellen induziert (Gille et al., 2001). VEGFR-3 reguliert in gesunden Geweben hauptsächlich Wachstum, Migration und Aufrechterhaltung von Lymphgefäßen (Veikkola et al., 2003; Mäkinen et al., 2001).

Die Fallzahl mit VEGFR-1-positiven Gefäßen steigt im Verlauf der Barrett-Metaplasie-Dysplasie-Karzinom-Sequenz kontinuierlich an, ist aber erst im Barrett-Karzinom (33,3%) signifikant gegenüber dem Ösophagus-Normalgewebe (10,5%) erhöht (p-Wert: 0,0161; siehe Abb. 11).

Für VEGFR-2 zeigen sich in den Stadien der Barrett-Karzinogenese keine statistisch signifikanten Unterschiede bezüglich des prozentualen Anteils der immunopositiven Fälle (siehe Abb. 11).

Für VEGFR-3 steigt die Fallzahl mit immunopositiven Gefäßen in der Barrett-Mukosa signifikant an: von 7,9% im Normalgewebe auf 27,9% (p-Wert: 0,0242; siehe Abb. 11). VEGFR-3 ist damit auch der Rezeptor für Gefäßwachstumsfaktoren, der bei den meisten Barrett-Mukosa-Biopsaten in Gefäßendothelien exprimiert wird. Signifikante Unterschiede bezüglich der Fallzahl mit VEGFR-3-positiven Gefäßen zeigen sich auch zwischen Normalgewebe und Barrett-Dysplasie (p-Wert: 0,0324) sowie zwischen Normalgewebe und Barrett-Karzinom (p-Wert: 0,0019; siehe Abb. 11).

LYVE-1 markiert im Ösophagus-Normalgewebe in 28,9% der Fälle Gefäßendothelien. Im Laufe der Barrett-Metaplasie-Dysplasie-Karzinom-Sequenz erfolgt keine signifikante Zunahme der Fallzahlen (siehe Abb. 11).

CD31 ist der Marker, der bei den meisten Ösophagus-Normalgeweben in Gefäßendothelien exprimiert wird: 39,5% der Fälle zeigen eine positive Immunreaktion (siehe Abb. 11). Dass nicht mehr Fälle mit CD31-positiven Gefäße detektiert werden, liegt zum Teil daran, dass einige der vorliegenden Normalgewebeproben nur eine schmale Lamina propria aufweisen. Submukosa und Muscularis wurden vermutlich im Rahmen der Probenaufbereitung („Antigen Retrieval“ im Schnellkochtopf) abgetrennt, wodurch die Möglichkeit der Detektion von Blutgefäßen aufgrund des Fehlens der bindegewebigen Tela submukosa eingeschränkt ist. Im Barrett-Karzinom kann im Vergleich zum Ösophagus-Normalgewebe ein signifikanter Anstieg der immunopositiven Fälle (auf 63%) konstatiert werden (p-Wert: 0,0239; siehe Abb. 11).

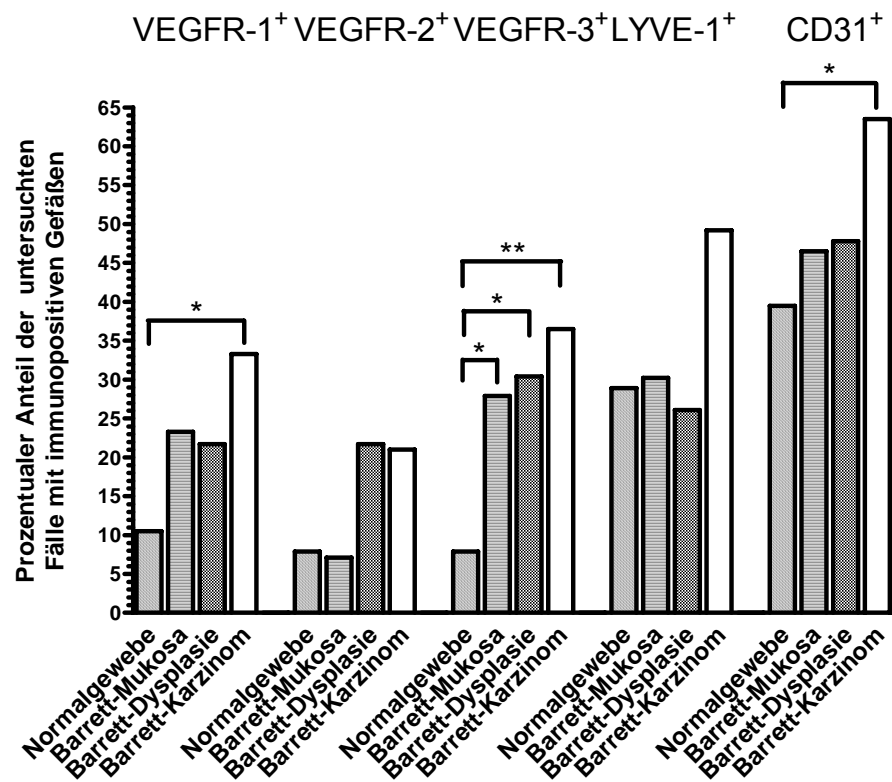


Abb. 11: Prozentualer Anteil der Fälle mit VEGFR-1-, VEGFR-2- und VEGFR-3- bzw. mit LYVE-1-/CD31-positiven Gefäßen. Die Fallzahl mit VEGFR-3-positiven Gefäßen steigt ab dem Stadium der Barrett-Mukosa signifikant an. Im Barrett-Karzinom treten signifikant mehr Fälle mit VEGFR-1- bzw. CD31-positiven Gefäßen im Vergleich zum Ösophagus-Normalgewebe auf. Für VEGFR-2 bzw. LYVE-1 zeigen sich keine statistisch signifikanten Unterschiede bezüglich des prozentualen Anteils der immunopositiven Fälle. Die Klammern zeigen statistisch signifikante Korrelationen an (\* = p-Wert < 0,05; \*\* = p-Wert < 0,01).

### Immunopositive Gefäße

Wie im vorangegangenen Abschnitt gezeigt, steigt insbesondere die Fallzahl mit VEGFR-3-positiven Gefäßen frühzeitig, im Stadium der Barrett-Mukosa, signifikant an (siehe Abb. 11). Um Aussagen treffen zu können, ob auch die Anzahl der immunopositiven Gefäße zunimmt, wurden die antikörpermarkierten Gefäße in einer Hot Spot-Messung bestimmt (siehe 2.5).

VEGFR-1-positive Gefäße nehmen im Laufe der Barrett-Karzinogenese kontinuierlich zu, allerdings sind diese Anstiege nicht statistisch signifikant (siehe Abb. 12).

Für VEGFR-2 zeigt sich ein Anstieg der Zahl der immunopositiven Gefäße in der Barrett-Dysplasie: von 2,3 markierten Gefäßen in der Barrett-Mukosa auf 5,8 (siehe Abb.

12). Dieser Anstieg ist ebenfalls statistisch nicht signifikant, er deutet aber möglicherweise einen Trend an, der sich durch Untersuchung größerer Fallzahlen mit Barrett-Dysplasie möglicherweise als signifikant belegen ließe.

VEGFR-3-positive Gefäße sind im Ösophagus-Normalgewebe kaum vorhanden (im Durchschnitt ein markiertes Gefäß). In der Barrett-Dysplasie steigt der Mittelwert der VEGFR-3-positiven Gefäße hochsignifikant an: von 2,2 immunopositiven Gefäßen in der Barrett-Mukosa auf 8,1 in der Barrett-Dysplasie (p-Wert: 0,0002; siehe Abb. 12). Zusammenfassend lässt sich für VEGFR-3 sagen, dass die Fallzahl mit VEGFR-3-positiven Gefäßen relativ früh, in der Barrett-Mukosa, signifikant ansteigt (siehe Abb. 11). In der Barrett-Dysplasie ist dann auch die Zahl der VEGFR-3-positiven Gefäße signifikant erhöht.

LYVE-1-positive Gefäße nehmen erst im Barrett-Karzinom (7,5 immunopositive Gefäße) signifikant gegenüber dem Ösophagus-Normalgewebe (2,4 immunopositive Gefäße) zu (p-Wert: 0,0026; siehe Abb. 12).

CD31-positive Gefäße sind ab dem Stadium der Barrett-Dysplasie signifikant vermehrt vorhanden (4 immunomarkierte Gefäße im Ösophagus-Normalgewebe, 6,5 in der Barrett-Dysplasie und 13,1 im Barrett-Karzinom; p-Wert des Vergleiches zwischen Normalgewebe und Barrett-Dysplasie: 0,0286; p-Wert des Vergleiches zwischen Normalgewebe und Barrett-Karzinom: 0,0044; siehe Abb. 12). Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass sowohl die Fallzahl als auch die Zahl der CD31-positiven Gefäße (Microvessel Density) erst in den späteren Stadien der Barrett-Karzinogenese signifikant zunehmen.

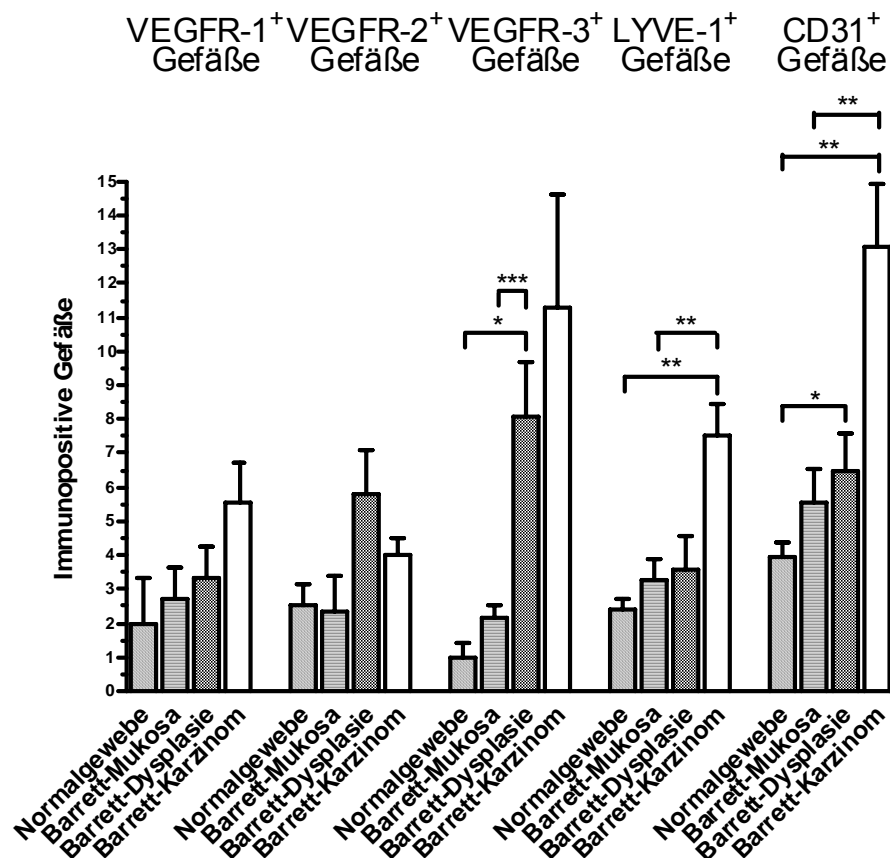


Abb. 12: VEGFR-1-, VEGFR-2- und VEGFR-3-positive Gefäße sowie LYVE-1- und CD31-positive Gefäße. Die Zahl der VEGFR-3-immunopositiven Gefäße steigt in der Barrett-Dysplasie signifikant an. VEGFR-1- und VEGFR-2-positive Gefäße nehmen im Laufe der Barrett-Karzinogenese nicht signifikant zu. Die Microvessel Density (Zahl der CD31-positiven Gefäße) ist in der Barrett-Dysplasie und im Barrett-Karzinom, die Lymphatic Vessel Density (Zahl der LYVE-1-positiven Gefäße) im Barrett-Karzinom signifikant erhöht. Die Klammern zeigen statistisch signifikante Korrelationen an (\* = p-Wert < 0,05; \*\* = p-Wert < 0,01; \*\*\* = p-Wert < 0,001). Die Standardabweichungen sind als T über den Balken dargestellt.

### 3.2.3 Expression der VEGF-Rezeptoren in Epithelzellen

#### Immunopositive Fälle

Aus der Literatur ist bekannt, dass VEGFR-1 und VEGFR-2 im Rahmen einer auto- und parakrinen Regulation der Gefäßneubildung in Tumorepithelzellen verschiedener Gewebe (z. B. Magen, Kolon, Mamma, Gehirn und Pankreas) exprimiert werden (Meister et al., 1999; von Marschall et al., 2000; Tian et al., 2001; Price et al., 2001; Zhukova et al., 2003; Fan et al., 2005). Auch in den in dieser Arbeit untersuchten Ösophagus-



Normalgeweben und in den Stadien der Barrett-Metaplasie-Dysplasie-Karzinom-Sequenz lässt sich beobachten, dass alle drei VEGF-Rezeptoren nicht nur in Gefäßendothelien sondern auch in Epithelzellen exprimiert werden und dass die epitheliale Synthese und Expression im Laufe der Barrett-Karzinogenese signifikant zunimmt.

VEGFR-1 ist von den drei untersuchten VEGF-Rezeptoren derjenige, der bei den meisten Ösophagus-Normalgeweben in Epithelzellen exprimiert wird: 26,3% der Fälle sind immunopositiv (siehe Abb. 13). Ein signifikanter Anstieg (Verdoppelung) der Fallzahl mit VEGFR-1-positiven Epithelzellen auf 54% zeigt sich im Barrett-Karzinom (p-Wert: 0,0076). In allen Stadien zeigen mehr Fälle eine epitheliale VEGFR-1-Immunmarkierung als eine Immunmarkierung von Gefäßen (vergleiche Abb. 11 und Abb. 13).

VEGFR-2 wird im Ösophagus-Normalgewebe nur in wenigen Fällen (5,3%) in Epithelzellen exprimiert (siehe Abb. 13). Die Fallzahl mit VEGFR-2-positiven Epithelzellen ist, wie bei VEGFR-1, erst im Barrett-Karzinom signifikant erhöht (33,9% immunopositive Biopsate; Versechsfachung im Vergleich zum Normalgewebe; p-Wert: 0,0011). In der Barrett-Mukosa und im Barrett-Karzinom zeigen mehr Fälle eine epitheliale VEGFR-2-Immunmarkierung als eine Immunmarkierung von Gefäßen (vergleiche Abb. 11 und Abb. 13).

Auch VEGFR-3 wird im Normalgewebe nur in wenigen Fällen in Epithelzellen exprimiert. In der Barrett-Mukosa steigt die Fallzahl mit VEGFR-3-synthetisierenden Zellen hochsignifikant an: von 2,6% im Ösophagus-Normalgewebe auf 34,9% (p-Wert: 0,0002), und weiter auf 39,1% in der Barrett-Dysplasie (p-Wert des Vergleiches zwischen Normalgewebe und Barrett-Dysplasie: 0,0004) bzw. 47,6% im Barrett-Karzinom (p-Wert des Vergleiches zwischen Normalgewebe und Barrett-Karzinom:  $< 0,0001$ ; siehe Abb. 13). VEGFR-3 ist damit der VEGF-Rezeptor, der bei den meisten Barrett-Mukosa-Biopsaten in Epithelzellen exprimiert wird. In allen Stadien der Barrett-Metaplasie-Dysplasie-Karzinom-Sequenz wird VEGFR-3 in mehr Fällen in Epithelzellen exprimiert als in Gefäßendothelien (vergleiche Abb. 11 und Abb. 13).

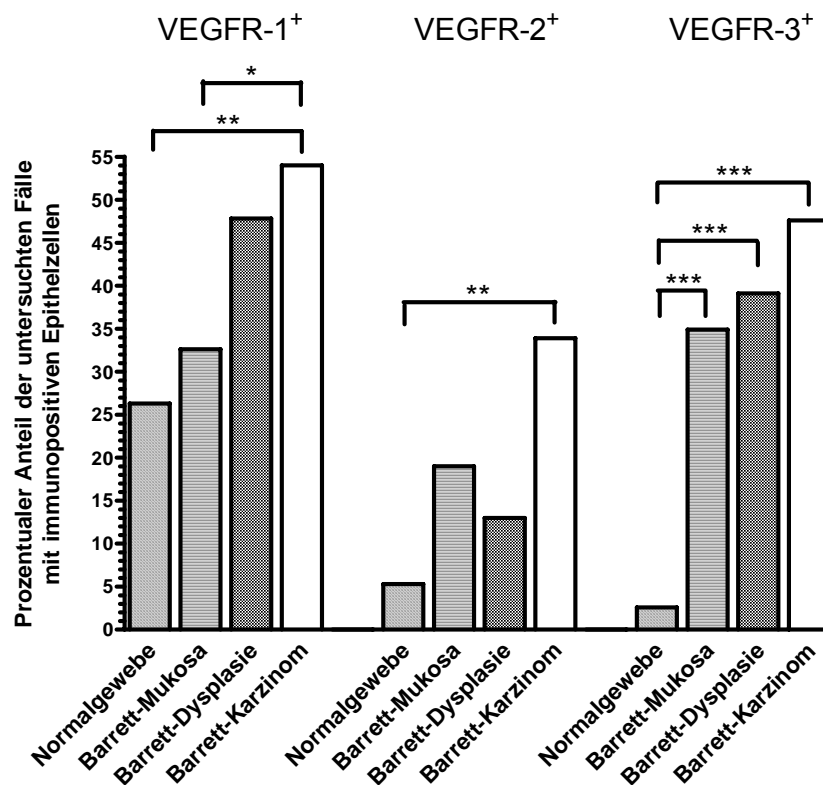


Abb. 13: Prozentualer Anteil der Fälle mit VEGFR1-, VEGFR2- und VEGFR3-positiven Epithelzellen. Im Ösophagus-Normalgewebe wird VEGFR-1 in den meisten Fällen (26,3%) in Epithelzellen exprimiert, in der Barrett-Mukosa VEGFR-3 (34,9% positive Fälle). VEGFR-1 und VEGFR-2 werden im Barrett-Karzinom in signifikant mehr Fällen als im Ösophagus-Normalgewebe in Epithelzellen synthetisiert, wohingegen die Fallzahl mit VEGFR-3-positiven Epithelzellen ab dem Stadium der Barrett-Mukosa hochsignifikant ansteigt und im Barrett-Karzinom ca. 20 Mal so hoch ist wie im Ösophagus-Normalgewebe. Die Klammern zeigen statistisch signifikante Korrelationen an (\* = p-Wert < 0,05; \*\* = p-Wert < 0,01; \*\*\* = p-Wert < 0,001).

### Immunopositive Epithelzellen

Im vorherigen Abschnitt konnte gezeigt werden, dass im Laufe der Barrett-Karzinogenese die Zahl der Fälle, die als VEGF-Rezeptor-positiv identifiziert werden, zunimmt (Abb. 13). Um darüber hinaus Aussagen treffen zu können, ob auch mehr Epithelzellen für VEGFR-1, VEGFR-2 oder VEGFR-3 immunopositiv sind, wurden die mittleren, prozentualen Anteile der positiven Epithelzellen an der Gesamtzahl der Epithelzellen je Gewebeschnitt bestimmt und miteinander verglichen (siehe 2.5).

Die prozentualen Anteile der VEGFR-1- und VEGFR-2-positiven Epithelzellen sind in den Stadien der Barrett-Metaplasie-Dysplasie-Karzinom-Sequenz nicht signifikant er-

hört und liegen für VEGFR-1 zwischen 18,1% (Barrett-Dysplasie) und 25,5% (Barrett-Mukosa) bzw. für VEGFR-2 zwischen 12,5% (Normalgewebe) und 28,1% (Barrett-Mukosa; siehe Abb. 14). Zusammenfassend lässt sich für VEGFR-1 und VEGFR-2 festhalten, dass die Fallzahlen mit immunopositiven Epithelzellen jeweils im Barrett-Karzinom signifikant ansteigen (siehe Abb. 13), während die Syntheseraten von beiden VEGF-Rezeptoren in den Stadien der Barrett-Karzinogenese nicht signifikant erhöht sind.

Für VEGFR-3 ist der prozentuale Anteil der immunopositiven Epithelzellen in der Barrett-Dysplasie signifikant erhöht (38,7% positive Epithelzellen; p-Wert des Vergleiches zwischen Barrett-Mukosa und Barrett-Dysplasie: 0,0035; p-Wert des Vergleiches zwischen Barrett-Dysplasie und Barrett-Karzinom: 0,0156; siehe Abb. 14). In den anderen Stadien der Karzinogenese ist der prozentuale Anteil der VEGFR-3-positiven Epithelzellen nicht so hoch (10% bis 22,5%). Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Fallzahl mit VEGFR-3-positiven Epithelzellen (siehe Abb. 13) genau wie die Fallzahl mit VEGFR-3-positiven Gefäßen (siehe Abb. 11) in der Barrett-Mukosa signifikant ansteigt. In der Barrett-Dysplasie nehmen dann auch die prozentualen Anteile der VEGFR-3-positiven Epithelzellen und die Zahl der immunopositiven Gefäße signifikant zu (siehe Abb. 12 und Abb. 14).

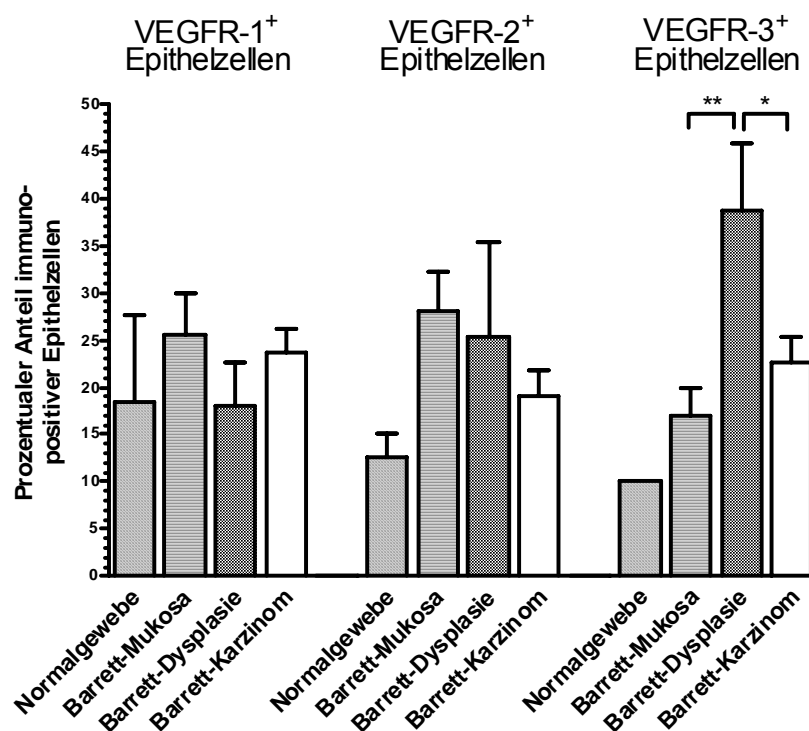


Abb. 14: Prozentualer Anteil der VEGFR-1-, VEGFR-2 und VEGFR-3-positiven Epithelzellen. Der prozentuale Anteil der VEGFR-3-synthetisierenden Epithelzellen steigt in der Barrett-Dysplasie signifikant an. Die Zahl der VEGFR-1- bzw. VEGFR-2-exprimierenden Epithelzellen nimmt in den Stadien der Barrett-Metaplasie-Dysplasie-Karzinom-Sequenz nicht signifikant zu. Die Klammern zeigen statistisch signifikante p-Werte an (\* = p-Wert < 0,05). Die Standardabweichungen sind als T über den Balken dargestellt.

### 3.3 Statistische Korrelationsberechnungen

In den Ösophagus-Normalgeweben und in allen Stadien der Barrett-Metaplasie-Dysplasie-Karzinom-Sequenz wurden zum einen die Korrelationen des Vorkommens von VEGFR-1, -2, -3, LYVE-1 und CD31 in Gefäßendothelien mit dem Vorkommen von VEGF-A, -C und -D in Epithelzellen bestimmt. Zum anderen wurden Korrelationen der verschiedenen Gefäßmarker untereinander ermittelt. Die Berechnung der p-Werte erfolgte mit Hilfe des exakten Tests nach Fischer (siehe 2.5).

Unter physiologischen Bedingungen wird die Lymphangiogenese und Aufrechterhaltung der Lymphgefäße durch die Interaktion von VEGF-C und VEGF-D mit VEGFR-3 gewährleistet (Joukov et al., 1996; Achen et al., 1998). VEGF-C und -D werden hauptsächlich in Epithelzellen synthetisiert, wohingegen VEGFR-3 in lymphatischen Endothelzellen exprimiert wird. Man wird also erwarten, im Ösophagus-Normalgewebe, wo sich kaum eine Gefäßneubildung vollzieht, sondern wo die Aufrechterhaltung der vorhandenen Lymphgefäße im Vordergrund steht, Korrelationen von LYVE-1- bzw. VEGFR-3-Positivität in Gefäßendothelien mit VEGF-C-/VEGF-D-Positivität in Epithelzellen zu finden. Unter pathologischen Bedingungen hingegen kann VEGF-D über die Stimulation von VEGFR-2 eine Angiogenese induzieren (Stacker et al., 2001) und VEGFR-3 kann in Hämangioendothelzellen exprimiert werden (Valtola et al., 1999), so dass man im Verlauf der Barrett-Metaplasie-Dysplasie-Karzinom-Sequenz das Auftreten von signifikanten Korrelationen von VEGFR-2-Positivität in Gefäßendothelien mit VEGF-D-Positivität in Epithelzellen sowie von VEGFR-3- und VEGFR-1-/VEGFR-2-/CD31-Positivität in Gefäßendothelien erwarten könnte. Daneben wären auch Korrelationen von VEGFR-3-Positivität in Gefäßendothelien mit VEGF-A-Positivität in Epithelzellen denkbar. Blutgefäße sind nämlich in gesunden Geweben meist CD31-positiv und die Endothelzellen dieser Gefäße exprimieren häufig VEGFR-1 und/oder VEGFR-2. Die Stimulation von VEGFR-1 durch seinen Hauptliganden VEGF-A (de Vries et al., 1992) führt physiologischerweise zu einer Endothelzellmigration. VEGFR-2 kann hingegen

durch VEGF-A (Quinn et al., 1993) und VEGF-C (Joukov et al., 1996) stimuliert werden. VEGF-A wirkt nach Rezeptorstimulation mitogen, angiogen, permeabilitätssteigernd und migrationsfördernd (Gille et al., 2001). Neuere Studien zeigen, dass VEGF-A über VEGFR-2 aber auch die Lymphangiogenese stimulieren kann (Nagy et al., 2002). Entsprechende Korrelationen könnte man in späteren Stadien der Karzinogenese erwarten. VEGF-C hat ähnliche Effekte auf VEGFR-2 wie VEGF-A, hat aber eine höhere Affinität zu VEGFR-3 (Joukov et al., 1997; siehe oben). Zusammenfassend erwartet man in Bezug auf die Angiogenese im Ösophagus-Normalgewebe signifikante Korrelationen von CD31-, VEGFR-1- und VEGFR-2-Positivität in Gefäßendothelien sowie Korrelationen der Gefäßpositivität einer der drei Marker mit VEGF-A- bzw. VEGF-C-Positivität in Epithelzellen. Im Verlauf der Metaplasie-Dysplasie-Karzinom-Sequenz könnten zusätzlich signifikante Korrelationen von VEGFR-2-Positivität in Gefäßendothelien mit VEGF-A-Positivität in Epithelzellen, VEGFR-2-Positivität in Gefäßendothelien mit VEGF-D-Positivität in Epithelzellen, VEGFR-3- mit VEGFR-1-/VEGFR-2-/CD31-Positivität in Gefäßendothelien sowie VEGFR-3-Positivität in Gefäßendothelien mit VEGF-A-Positivität in Epithelzellen auftreten (siehe oben).

Im Ösophagus-Normalgewebe treten statistisch signifikante Korrelationen von **1.)** LYVE-1-Positivität in Gefäßendothelien mit VEGF-C-Positivität in Epithelzellen (p-Wert: 0,014) sowie von **2.)** CD31- mit VEGFR-1-Positivität in Gefäßendothelien (p-Wert: 0,018) auf (siehe Tab. 7 A). Das spricht dafür, dass im Normalgewebe sowohl Lymphgefäße (LYVE-1-positiv) als auch Blutgefäße (CD31- und VEGFR-1-positiv) vorkommen. VEGF-C ist vermutlich an der Aufrechterhaltung der Lymphgefäße beteiligt (Korrelation von LYVE-1 und VEGF-C; Veikkola et al., 2003; Mäkinen et al., 2001).

In der Barrett-Mukosa korreliert VEGFR-1-Positivität in Gefäßendothelien signifikant mit VEGFR-3-Positivität in Gefäßendothelien (p-Wert: 0,017; siehe Tab. 7 B). Da im Unterschied zum Ösophagus-Normalgewebe keine Korrelationen mit CD31- oder LYVE-1-Positivität in Gefäßendothelien auftreten, lassen sich formal keine Aussagen darüber treffen, ob es sich bei den VEGFR-1-/VEGFR-3-positiven Gefäßen um Blut- oder Lymphgefäße handelt. Zum Teil treten Kofärbungen mit LYVE-1 auf (siehe Abb. 8 I und J). Darüber hinaus zeigt sich eine negative Korrelation von VEGFR-3-Positivität in Gefäßendothelien mit VEGF-C-Positivität in Epithelzellen, das heißt, dass alle Barrett-Mukosa-Fälle mit VEGFR-3-positiven Gefäßen keine positive Immunfärbung der Epi-



thelzellen für VEGF-C aufweisen.

Im Stadium der Barrett-Dysplasie ist Folgendes zu beobachten: **1.)** VEGFR-3-Positivität in Gefäßendothelien korreliert signifikant mit VEGF-A- bzw. VEGF-D-Positivität in Epithelzellen (p-Wert: 0,001 bzw. 0,026), **2.)** CD31-Positivität in Gefäßendothelien korreliert mit VEGF-A-Positivität in Epithelzellen (p-Wert: 0,003) und mit VEGFR-3-Positivität in Gefäßendothelien (p-Wert: 0,027) und **3.)** VEGFR-1-Positivität in Gefäßendothelien korreliert signifikant mit VEGFR-2 in Gefäßendothelien (p-Wert: 0,003; siehe Tab. 7 C). Die Korrelation von CD31 in Gefäßendothelien mit VEGF-A in Epithelzellen könnte ein Hinweis auf eine erhöhte Vaskularisation in der Barrett-Dysplasie sein, zumal auch die Zahl der CD31-positiven Gefäße und der prozentuale Anteil der VEGF-A-positiven Epithelzellen in diesem Stadium signifikant zunehmen (siehe Abb. 10 und Abb. 12). Die Korrelation von VEGFR-3 mit CD31 zeigt an, dass VEGFR-3 in diesem Stadium in Blutgefäßendothelien exprimiert wird.

Im Barrett-Karzinom korrelieren signifikant **1.)** VEGFR-1- mit VEGFR-3-Positivität in Gefäßendothelien (p-Wert: 0,005) und **2.)** LYVE-1- mit VEGFR-3-Positivität in Gefäßendothelien (p-Wert: 0,019; siehe Tab. 7 D). Die Korrelation von VEGFR-3 mit LYVE-1 in Gefäßendothelien zeigt an, dass VEGFR-3 im Tumor vor allem in lymphatischen Endothelzellen exprimiert wird, wohingegen in der Barrett-Dysplasie VEGFR-3-positive Blutgefäße auftreten.

Tab. 7: Übersicht über **1.)** die Korrelationen von VEGFR-1-, VEGFR-2- und VEGFR-3-Positivität bzw. LYVE-1-/CD31-Positivität in Gefäßendothelien mit VEGF-A-, VEGF-C- und VEGF-D-Positivität in Epithelzellen (linker Teil der Tabelle) sowie **2.)** über die Korrelationen der verschiedenen Gefäßmarker untereinander (rechter Teil der Tabelle) im Ösophagus-Normalgewebe (A) und in den Stadien der Barrett-Karzinogenese (B - D). Statistisch signifikante Korrelationen (p-Wert <0,05) sind fett und unterstrichen hervorgehoben.

A)

		Normalgewebe												
		Fälle	VEGF-A	p-Wert	VEGF-C	p-Wert	VEGF-D	p-Wert	VEGFR-1	p-Wert	VEGFR-2	p-Wert	VEGFR-3	p-Wert
<b>VEGFR-1</b>														
negativ	34	14 (41,2%)		7 (20,6%)		6 (17,6%)	1,48	-	-	2 (5,9%)		2 (5,9%)		
positiv	4	2 (50,0%)	1,376	0	1,000	0	7			1 (25,0%)	0,291	1 (25,0%)	0,291	
<b>VEGFR-2</b>														
negativ	35	14 (40,0%)		7 (20,0%)		5 (14,3%)	0,41	3 (8,6%)		-	-	2 (5,7%)		
positiv	3	2 (66,7%)	0,562	0	1,533	1 (33,3%)	2	1 (33,3%)	0,291			1 (33,3%)	0,224	
<b>VEGFR-3</b>														
negativ	35	15 (42,9%)		6 (17,1%)		6 (17,1%)	1,58	3 (8,6%)		2 (5,7%)		-	-	
positiv	3	1 (33,3%)	1,438	1 (33,3%)	0,467	0	8	1 (33,3%)	0,291	1 (33,3%)	0,224			
<b>LYVE-1</b>														
negativ	27	12 (44,4%)		2 (7,4%)		4 (14,8%)	1,35	2 (7,4%)		2 (7,4%)		1 (3,7%)		
positiv	11	4 (36,4%)	0,729	5 (45,5%)	<b>0,014</b>	2 (18,2%)	0	2 (18,2%)	0,564	1 (9,1%)	1,458	2 (18,2%)	0,196	
<b>CD31</b>														
negativ	23	10 (43,5%)		4 (17,4%)		3 (13,0%)	0,66	0		1 (4,3%)		1 (4,3%)		
positiv	15	6 (40,0%)	1,257	3 (20,0%)	1,319	3 (20,0%)	3	4 (26,7%)	<b>0,018</b>	2 (13,3%)	0,550	2 (13,3%)	0,550	

B)

Barrett-Mukosa													
	Fälle	VEGF-A	p-Wert	VEGF-C	p-Wert	VEGF-D	p-Wert	VEGFR-1	p-Wert	VEGFR-2	p-Wert	VEGFR-3	p-Wert
<b>VEGFR-1</b>													
negativ	33	14 (42,4%)	0,069	9 (27,3%)	0,407	8 (24,2%)	0,427	-	-	2 (6,1%)	0,558	6 (18,2%)	<u>0,017</u>
positiv	10	8 (80,0%)		1 (10,0%)		4 (40,0%)		1 (10,0%)	6 (60,0%)				
<b>VEGFR-2</b>													
negativ	39	20 (51,3%)	1,402	9 (23,1%)	1,000	12 (30,7%)	0,545	9 (23,1%)	1,000	-	-	11 (28,2%)	1,455
positiv	3	2 (66,7%)		1 (33,3%)		0		1 (33,3%)		1 (33,3%)			
<b>VEGFR-3</b>													
negativ	31	14 (45,2%)	0,310	10 (32,3%)	<u>0,040</u>	8 (25,8%)	0,711	4 (12,9%)	<u>0,017</u>	2 (6,5%)	1,452	-	-
positiv	12	8 (66,7%)		0		4 (33,3%)		6 (50,0%)		1 (8,3%)			
<b>LYVE-1</b>													
negativ	30	15 (50,0%)	1,253	7 (23,3%)	1,304	7 (23,3%)	0,460	6 (20,0%)	0,458	3 (10,0%)	0,542	7 (23,3%)	0,460
positiv	13	7 (53,8%)		3 (23,1%)		5 (38,5%)		4 (30,7%)		0		5 (38,5%)	
<b>CD31</b>													
negativ	23	9 (39,1%)	0,129	3 (13,0%)	0,148	4 (17,4%)	0,172	5 (21,7%)	1,272	2 (8,7%)	1,410	5 (21,7%)	0,497
positiv	20	13 (65,0%)		7 (35,0%)		8 (40,0%)		5 (25,0%)		1 (5,0%)		7 (35,0%)	

C)

Barrett-Dysplasie													
	Fälle	VEGF-A	p-Wert	VEGF-C	p-Wert	VEGF-D	p-Wert	VEGFR-1	p-Wert	VEGFR-2	p-Wert	VEGFR-3	p-Wert
<b>VEGFR-1</b>													
negativ	18	8 (44,4%)	0,640	9 (50,0%)	1,360	5 (27,8%)	0,297	-	-	1 (5,6%)	<b>0,003</b>	4 (22,2%)	0,142
positiv	5	3 (60,0%)		2 (40,0%)		3 (60,0%)		4 (80,0%)	3 (60,0%)				
<b>VEGFR-2</b>													
negativ	18	8 (44,4%)	0,640	10 (55,6%)	0,317	6 (33,3%)	1,379	1 (5,6%)	<b>0,003</b>	-	-	4 (22,2%)	0,142
positiv	5	3 (60,0%)		1 (20,0%)		2 (40,0%)		4 (80,0%)		3 (60,0%)			
<b>VEGFR-3</b>													
negativ	16	4 (25,0%)	<b>0,001</b>	7 (43,8%)	0,667	3 (18,8%)	<b>0,026</b>	2 (12,5%)	0,052	2 (12,5%)	0,052	-	-
positiv	7	7 (100,0%)		4 (57,1%)		5 (71,4%)		3 (42,9%)		3 (42,9%)			
<b>LYVE-1</b>													
negativ	17	7 (41,2%)	0,371	6 (35,3%)	0,069	5 (29,4%)	0,621	2 (11,8%)	0,089	3 (17,6%)	0,576	4 (23,5%)	0,318
positiv	6	4 (66,7%)		5 (83,3%)		3 (50,0%)		3 (50,0%)		2 (33,3%)		3 (50,0%)	
<b>CD31</b>													
negativ	12	2 (16,7%)	<b>0,003</b>	4 (33,3%)	0,220	3 (25,0%)	0,400	2 (16,7%)	0,640	3 (25,0%)	1,360	1 (8,3%)	<b>0,027</b>
positiv	11	9 (81,8%)		7 (63,6%)		5 (45,5%)		3 (27,3%)		2 (18,2%)		6 (54,5%)	

D)

Barrett-Karzinom													
	Fälle	VEGF-A	p-Wert	VEGF-C	p-Wert	VEGF-D	p-Wert	VEGFR-1	p-Wert	VEGFR-2	p-Wert	VEGFR-3	p-Wert
<b>VEGFR-1</b>													
negativ	42	19 (45,2%)	0,606	21 (50,0%)	0,429	17 (40,5%)	0,602	-	-	9 (21,4%)	1,255	10 (23,8%)	<u>0,005</u>
positiv	21	11 (52,4%)		13 (61,9%)		10 (47,6%)		4 (19,1%)	13 (61,9%)				
<b>VEGFR-2</b>													
negativ	49	26 (53,1%)	0,215	27 (55,1%)	1,244	22 (44,9%)	0,760	17 (34,7%)	1,252	-	-	20 (40,8%)	0,338
positiv	13	4 (30,8%)		7 (53,8%)		5 (38,5%)		4 (30,8%)		3 (23,1%)			
<b>VEGFR-3</b>													
negativ	40	20 (50,0%)	0,794	22 (55,0%)	1,202	18 (45,0%)	0,793	8 (20,0%)	<u>0,005</u>	10 (25,0%)	0,342	-	-
positiv	23	10 (43,5%)		12 (52,2%)		9 (39,1%)		13 (56,5%)		3 (13,0%)			
<b>LYVE-1</b>													
negativ	32	19 (59,4%)	0,079	14 (43,8%)	0,131	13 (40,6%)	0,801	7 (21,9%)	0,064	5 (15,6%)	0,365	7 (21,9%)	<u>0,019</u>
positiv	31	11 (35,5%)		20 (64,5%)		14 (45,2%)		14 (45,2%)		8 (25,8%)		16 (51,6%)	
<b>CD31</b>													
negativ	23	11 (47,8%)	1,206	13 (56,5%)	0,798	7 (30,4%)	0,187	7 (30,4%)	0,786	6 (26,1%)	0,522	7 (30,4%)	0,588
positiv	40	19 (47,5%)		21 (52,5%)		20 (50,0%)		14 (35,0%)		7 (17,5%)		16 (40,0%)	



### 3.4 Zusammenfassung der Ergebnisse

Tab. 8: Zusammenstellung der wichtigsten Ergebnisse der vorliegenden Arbeit in Bezug auf epitheliale und endotheliale Expression der Gefäßwachstumsfaktoren VEGF-A, -C, -D sowie ihrer Rezeptoren im Ösophagus-Normalgewebe und in den Stadien der Barrett-Karzinogenese.

Stadium	Epitheliale Expression signifikant erhöht für	Endotheliale Expression signifikant erhöht für	Signifikante Korrelation von
Ösophagus- Normalgewebe [1]			VEGF-C und LYVE-1  CD31 und VEGFR-1
Barrett- Mukosa [2]	<b>VEGFR-3</b> (Fallzahl), verglichen mit [1]	<b>VEGFR-3</b> (Fallzahl), ver- glichen mit [1]	
Barrett- Dysplasie [3]	<b>VEGFR-3</b> (Zahl der Epithelzellen), vergli- chen mit [1] + [2]  <b>VEGF-A</b> (Zahl der Epithelzellen), vergli- chen mit [1] + [2]  <b>VEGF-C</b> (Fallzahl), verglichen mit [1]	<b>VEGFR-3</b> (Zahl der Gefä- ße), verglichen mit [1] + [2]  <b>CD31</b> (Zahl der Gefäße), verglichen mit [1]	VEGFR-3 und CD31  CD31 und VEGF-A  VEGFR-3 und VEGF-A
Barrett- Karzinom [4]	<b>VEGF-D</b> (Fallzahl), verglichen mit [1]  <b>VEGFR-1</b> (Fallzahl), verglichen mit [1] + [2]  <b>VEGFR-2</b> (Fallzahl), verglichen mit [1]	<b>LYVE-1</b> (Zahl der Gefä- ße), verglichen mit [1] + [2]	LYVE-1 und VEGFR-3