

**Prognosefaktoren zur Erkennung einer Metastasierung
bei nichtseminomatösen Hodentumoren im klinischen Stadium I
— eine Metaanalyse**

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
des Fachbereichs Medizin.
der Justus-Leibig-Universität Giessen

Ferdinand Georges Akoa Mbida
Ebolboun / Kamerun

Giessen 2006

Bundeswehrzentral Krankenhaus Koblenz
Akademisches Lehrkrankenhaus der Universität Mainz
Abteilung Urologie
Ltd. Arzt: Priv.-Doz. Dr. med. Hans U. Schmelz

1. Gutachter: PD.Dr.med. Schmelz

2. Gutachter: Prof. Dr. M. Altmannsberger

Tag der Disputation: 18.06.2007

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	3
Abkürzungsverzeichnis	6
1 Einleitung	7
1.1 Epidemiologie	7
1.2 Histologie	7
1.3 Diagnostik und Stadieneinteilung	8
1.4 Adjuvante Alternativen nach Orchiektomie und radiologischen Staginguntersuchungen	11
1.4.1 Weiteres Vorgehen im klinischen Stadium I beim nichtseminomatösen Hodenkarzinom: das Problem der okkulten Metastasierung	12
1.5 Vorbekannte Prognosefaktoren	13
1.6 Fragestellung	13
2 Material und Methoden	15
2.1 Datenbanken und Suchstrategie	15
2.2 In die Studie einbezogene Studienarten	16
2.3 Definition der okkulten Metastasierung bzw. Rezidivrate	17
2.4 Beschreibung der Prognosefaktoren	18
2.4.1 Histologische Faktoren	18
2.4.2 Klinische Faktoren	19
2.4.3 Prognosefaktoren der molekularen Zellbiologie	19
2.4.3.1 Proliferationsfaktoren	19
2.4.3.2 Apoptose	20
2.4.3.3 Molekulargenetische Marker	20
2.5 Statistische Auswertungen	21
2.5.1 χ^2 -Test (Chi-Quadrat-Test)	21
2.5.2 Wahrscheinlichkeitsverhältnis (Odds Ratio)	22
2.5.3 Positiv prädiktiver Wert (ppW)	22
2.5.4 Negativ prädiktiver Wert (npW)	22
3 Ergebnisse	24
3.1 Histologische Faktoren	24
3.1.1 Vaskuläre Invasion	24

3.1.1.1	Surveillance – prospektiv	25
3.1.1.2	Surveillance -retrospektive Studien	26
3.1.1.3	RPLND -prospektive Studien	27
3.1.1.4	RPLND - retrospektive Studien	28
3.1.2	Embryonalkarzinom (EC) als unabhängiger Prognosefaktor bei NSKZT. Surveillance-prospektive Studien	29
3.1.3	Embryonalkarzinom (EC) als unabhängiger Prognosefaktoren bei NSKZT. RPLND-retrospektive Studien	30
3.1.4	Kombination vaskuläre Invasion und Embryonalkarzinom (EC) als Prognosefaktor. RPLND – retrospektive Studien	31
3.1.5	Wichtige histologische Faktoren	31
3.2	Molekularbiologische Marker	34
3.2.1	Ki-67(MIB-1) als unabhängiger Prognosefaktor bei NSKZT-prospektive Studien	34
3.2.2	Ki-67 (MIB-1) als unabhängiger Prognosefaktor bei NSKZT-retrospektive Studien	35
3.2.3	Zellzyklusanalyse und DNA Ploidie bei NSKZT im klinischen Stadium I prospektiven Studien	35
3.2.4	Zellzyklusanalyse und DNA Ploidie bei NSKZT im klinischen Stadium I retrospektive Studien	36
3.2.5	Bedeutung der p53-Expression bei NSKZT im klinischen Stadium I	37
3.2.6	Bedeutung apoptotischer Prozesse bei NSKZT im klinischen Stadium I	38
3.2.7	Bedeutung der Angiogenese bei NSKZT im klinischen Stadium I	39
3.2.8	Bedeutung der Adhäsionsmoleküle bei NSKZT im klinischen Stadium I	39
3.3	Klinische Faktoren	40
3.3.1	Tumormarker als unabhängiger Prognosefaktor bei NSKZT-prospektive Studien	40
4	Diskussion	42
4.1	Histologische Faktoren	43
4.1.1	Vaskuläre (venöse und/oder lymphatische) Invasion	43
4.1.2	Embryonalkarzinome (Vorhandensein und prozentualer Anteil Embryonalkarzinom) als signifikante unabhängige Prognosefaktoren	46
4.1.3	Vaskuläre Invasion (venöse und/oder lymphatische Invasion) als Prognosefaktor in Kombination mit anderen Faktoren	48
4.1.3.1	Studien mit vaskulärer (venöser und/oder lymphatischer) Invasion in Kombination mit Vorhandensein von Embryonalkarzinom ohne Angabe eines Cut-off-Wertes	48
4.1.3.2	Studien mit vaskulärer Invasion und prozentualer Angabe des Embryonalkarzinoms	49

4.1.3.3	Studien mit vaskulärer Invasion, fehlenden Teratomanteilen und anderen weiteren Faktoren	50
4.1.3.4	Einzelstudie mit Vielfachkombination	51
4.2	Klinische Faktoren	52
4.2.1	Tumormarker	52
4.3	Molekulare Faktoren	53
4.3.1	Ki-67-Antigen/MIB-1	54
4.3.2	Weitere Zellproliferations-Marker	54
4.3.3	Tumorsuppressorgene	56
4.3.4	Adhäsionsmoleküle	57
4.3.5	Bedeutung apoptotischer Prozesse bei NSKZT im klinischen Stadium I	58
4.3.6	Bedeutung der Angiogenese bei NSKZT im klinischen Stadium I	59
5	Zusammenfassung	60
6	Literaturverzeichnis	62
7	Danksagung	71

Abkürzungsverzeichnis

AFP	alpha-Fetoprotein
CT	Computertomographie
DNA	Desoxyribonucleic acid
EC	Embryonalkarzinom
%EC	Prozentualer Anteil Embryonalkarzinom
LDH	Laktatdehydrogenase
LI	Lymphatische Invasion
npW	Negativ prädiktiver Wert
N-Stadium	Lymphknotenstadium
NSKZT	Nichtseminomatöser Keimzelltumor
OR	Odds Ratio
PCNA	Proliferative cell nuclear antigen
PEB	Cisplatin/Etoposid/Bleomycin
PLAP	Plazentare alkalische Phosphatase
ppW	Positiv prädiktiver Wert
RPLND	Retroperitoneale Lymphadenektomie
β -HCG	humanes Choriongonadotropin
T-Stadium	Tumorstadium
VI	Vaskuläre Invasion

1 Einleitung

Hodentumore sind die häufigste bösartige Tumorerkrankung des jungen Mannes im Alter zwischen 20 und 40 Jahren. Gleichzeitig gehören sie zu den am besten heilbaren malignen Erkrankungen. Damit kommt deren adäquater und rechtzeitiger Therapie eine besondere Bedeutung zu. Neben dem vordringlichen Ziel der Heilung dieser sehr jungen Patienten, sind Nebenwirkungen der kurativen primären Therapie und insbesondere der adjuvanten Therapie zu berücksichtigen.

1.1 Epidemiologie

In Deutschland liegt die Inzidenz der Hodentumoren bei ca. 8/100.000 Männern pro Jahr bei leicht steigender Tendenz (Albers 2002). Die Inzidenz des Hodentumors variiert in den einzelnen geographischen Regionen stark. Am häufigsten ist die Erkrankung in Nord- und Mitteleuropa sowie Nordamerika, seltener in Asien, Afrika und Südamerika. Bei Schwarzen ist sie eine Rarität.

Die Häufung familiärer Hodentumoren sowie die Bevorzugung der weißen Rasse deuten auf eine genetische Ursache hin; vermutlich spielen auch gruppenspezifische Umwelteinflüsse eine Rolle (Weißbach 1996). Die am besten untersuchten Risikofaktoren sind Kryptorchismus (10 – 40x häufiger als im Normalkollektiv) und testikuläre Feminisierung (ca. 40x häufiger, häufig bilateral). Weiterhin werden Orchitis, Hodenatrophie nach Mumpsorchitis, Trauma und Bestrahlung als Risikofaktoren angesehen (Kanto 2004)

Die Altersgipfel liegen je nach Histologie bei 26 Jahren für das Nichtseminom und 36 Jahren für das Seminom (Albers 2002).

1.2 Histologie

Aufgrund der zwei wesentlichen Zellarten des Hodens (Keimzellen und Stroma) und der Unterteilung der Keimzellen in frühe und späte Keimzellen können nach histologischen Gesichtspunkten Keimzell- und Stromatumoren unterschieden werden (Wittekind et al. 1998):

Keimzelltumoren: hierbei kann weiter zwischen **Seminomen** und **Nichtseminomen** unterschieden werden.

Seminome leiten sich von den Spermatozyten ab und stellen sich mikroskopisch als uniforme Zellen mit hellem Zytoplasma dar. Reine Seminome machen 40% aller Keimzelltumoren aus. Eine β -HCG Erhöhung kommt bei reinen Seminomen vor. Eine Erhöhung von AFP schließt ein reines Seminom aus und macht eine erneute histologische Aufarbeitung des Tumors erforderlich (Mikuz 2002).

Hingegen leiten sich die in dieser Arbeit zu untersuchenden **nichtseminomatösen Tumore** von den früheren pluripotenten Keimzellen ab und zeigen ein breiter gefächertes

histologisches Bild: embryonale Karzinome, Dottersacktumoren, Chorionkarzinome und Teratome. Häufig sind hier auch Kombinationstumoren. 50% aller Keimzelltumoren sind Nichtseminome (Mikuz 2002).

Als Ursprungszelle der **Stromatumoren** werden die Zellen des gonadalen Stromas angesehen. Diese wurden von der WHO Klassifikation in Analogie zu den Ovarialtumoren in die Klassifikation mit aufgenommen. Hierzu werden Leydig-Zell-, Sertolli-Zell-, Granulosa-zelltumoren, Gonadoblastome, Androblastome und Kombinationen gerechnet. Diese werden im weiteren Verlauf dieser Arbeit nicht weiter betrachtet werden (Wittekind 1998).

1.3 Diagnostik und Stadieneinteilung

Eine umschriebene Verhärtung oder eine derbe Schwellung des Hodens sollte immer verdächtig im Sinne eines Tumors sein. Aber auch in einem atrophierten Hoden kann sich ein Tumor verbergen.

Die Diagnostik des gonadalen Primärtumors umfasst die **Palpation** des Hodens, wobei der Tumor meist als harte, höckerige Substanz tastbar ist. Bei der körperlichen Untersuchung ist auch auf die regionalen und supraklavikulären Lymphknoten und eine eventuell vorhandene Gynäkomastie zu achten (El-Senoussi et al.1987).

Die **Sonographie** der Hoden (mindestens 7,5 MHz-Schallkopf) (Nichols 1998) schließt sich immer als erste, nicht invasive Methode an. Hierbei erfolgt die Beurteilung des Hodens. Eine Beurteilung von retroperitonealen Lymphknoten mittels Sonographie wird als wenig hilfreich eingestuft (Krug 1999), da die Sensitivität mit 31% zu gering erscheint (Bussar-Maatz 1993).

Bereits bei klinischem Verdacht ist die inguinale **operative Freilegung** des Hodens mit histologischer Sicherung durch intraoperative Schnellschnittdiagnostik indiziert. Wenn hierbei ein Hodentumor nachgewiesen werden kann, so erfolgt die Semikastratio. Laut den Konsensus-Empfehlungen der European Germ Cell Cancer Group (EGCCCG) sollte hierbei auch eine Biopsie des kontralateralen Hodens erfolgen, wenn das Hodenvolumen < 12 ml und der Patient jünger als 30 Jahre ist. Die Inzidenz eines kontralateralen Befalls liegt in dieser Gruppe bei ca. 34% (von der Maase 1986, Dieckmann 1996).

Obligates **bildgebendes Verfahren** zum Tumorstaging ist die Computertomographie (CT), welche die mit Sonographie erhaltenen diagnostischen Informationen bezüglich der morphologischen Tumorausbreitung notwendigerweise komplettieren müssen (Souchon 1998).

Die Computertomographie von Thorax und Abdomen/Becken mit oralem und intravenös zu verabreichendem Röntgenkontrastmittel ist das Standardverfahren zur Festlegung der klinischen Stadienausbreitung. Eine MRT des Abdomens/Beckens hingegen bringt keinen zusätzlichen diagnostischen Gewinn und ist daher nur bei Kontraindikation gegen

TNM und S	Beschreibung		
pTx	Primärtumor kann nicht beurteilt werden		
pT0	Kein Anhalt für Primärtumor bzw. histologische Narbe		
pTis	Intratubulärer Tumor (Carcinoma in situ)		
pT1	Tumor begrenzt auf Hoden und Nebenhoden ohne Gefäß- und Lymphgefäßinfiltration, Tumor darf die Tunica albuginea, nicht jedoch die Tunica vaginalis infiltrieren		
pT2	Tumor begrenzt auf Hoden und Nebenhoden mit Gefäß- und Lymphgefäßinfiltration oder durch die Tunica albuginea in die Tunica vaginalis		
pT3	Tumor infiltriert Samenstrang mit oder ohne Gefäß-/Lymphgefäßinfiltration		
pT4	Tumor infiltriert Skrotum mit oder ohne Gefäß-/Lymphgefäßinfiltration		
N0	Kein Anhalt für regionäre Lymphknotenmetastasen		
N1	≤ 5 Lymphknoten, < 2 cm Durchmesser		
N2	Multiple Lymphknoten oder Lymphknoten von 2-5 cm Durchmesser		
N3	Retroperitoneale Lymphknoten > 5 cm (bulky disease)		
M0	Kein Anhalt für Fernmetastasen		
M1a	Fernmetastasen in nicht-regionären Lymphknoten oder pulmonal		
M1b	Andere Fernmetastasen		
Sx	Werte der Serumentumormarker nicht verfügbar oder entsprechende Untersuchungen nicht vorgenommen		
S0	Serumentumormarker innerhalb der normalen Grenzen		
S1-3	Wenigstens einer der Serummarker erhöht		
	LDH	HCG (mIU/ml)	AFP (ng/ml)
S1	< 1,5 xN und	<5.000 und	< 1.000
S2	1,5 – 10 xN oder	5.000 – 50.000 oder	1.000 – 10.000
S3	> 10 xN oder	> 50.000 oder	> 10.000
	N= obere Grenze des Normwertes für LDH)		

Tabelle 1: Stadieneinteilung nach TNM-Klassifikation und S-Klassifikation (UICC 2002). Das T-Stadium wird nach radikaler Orchiektomie bestimmt (pT...) das Lymphknotenstadium kann aufgrund klinischer Untersuchungen (cN...) oder nach histologischer Aufarbeitung nach retroperitonealer Lymphadenektomie angegeben werden (pN...). Die S-Klassifikation beruht auf dem niedrigsten postoperativen Wert der Serummarker AFP, HCG und LDH nach Orchiektomie.

Die intravenöse Applikation von Röntgenkontrastmitteln (CT-Untersuchung) einzusetzen. Skelettszintigraphie und Schädel-CT sind nur bei fortgeschrittener Erkrankung oder klinischer Symptomatik erforderlich (Bokemeyer et al. 1997, Fossa et al. 1999, Schmoll 1999). Trotz primär negativem bildgebenden Staging, werden im weiteren Verlauf eine erhebliche Anzahl an Patienten (ca. 30% (Sharir et al. 1999)) ein Rezidiv erleiden oder bei histo-

logischer Aufarbeitung einer retroperitonealen Lymphadenektomie eine Mikrometastasierung aufweisen (okkulte Metastasierung).

Bei den klinisch-chemischen Laboruntersuchungen darf neben den operationsrelevanten Parametern die Bestimmung der **Tumormarker** β -HCG (humanes Choriongonadotropin), AFP (Alphafetoprotein), LDH (Laktatdehydrogenase) und beim Seminom fakultativ PLAP (plazentare alkalische Phosphatase) nicht fehlen (Albers 1997, Bassetto et al. 1995, Cassella et al. 1999, de Takats et al. 1996, Dueland et al. 1998, Hartman et al. 1997, van de Gaer et al. 1998).

Neben der histologischen Diagnose und Klassifikation des Hodentumors nach inguinaler Semikastration mit hoher Ligatur des Samenstrangs ist die oben dargestellte radiologische Diagnostik wichtig für das weitere Vorgehen. Aufgrund der Ausbreitungsdiagnostik kann dieses Lymphknotenstadium (N-Stadium) als klinisches Stadium (cN1-3, siehe Tabelle 1) angegeben werden. Dieses TNM-Stadium kann dann in eine Stadieneinteilung nach Lugano übersetzt werden (siehe Tabelle 2), welches unmittelbarer als Grundlage für das weitere therapeutische Vorgehen dienen kann.

Stadium	Beschreibung
I	(keine Metastasen nachweisbar) Tumormarker nach Orchiektomie normal oder kinetikkongruenter Abfall. Röntgen-Thorax, CT von Thorax und Abdomen und Sonografie ohne Hinweis auf Metastasen. Tumor auf den Hoden beschränkt.
IIa	Retroperitoneale Metastasen < 2 cm
IIb	Mindestens eine retroperitoneale Metastase 2-5 cm
IIc	Retroperitoneale Metastasen > 5 cm
IIIa	Supraklavikuläre oder mediastinale Lymphknotenmetastasen Lymphknotenbefall oberhalb des Zwerchfells oder hämatogene Metastasierung in Lunge, Gehirn, Leber, Knochen etc.
IIIb	Lungenparenchymmetastasen Minimal: < 5 Metastasen in jeder Lunge < 2 cm Advanced: > 5 Metastasen in jeder Lunge oder ein Herd > 2 cm
IIIC	Hämatogene Metastasen außerhalb der Lunge

Tabelle 2: Stadieneinteilung (S-Klassifikation) nach Lugano (Albers 2002)

Epidemiologische Untersuchungen der letzten Jahre zeigten, dass bei Diagnosestellung eine Verschiebung hin in Richtung zu frühen Stadien (klinisches Stadium I oder II nach Lugano) auftritt. Nach CT-Thorax und CT-Abdomen/Becken sowie Sonografie werden zur Zeit etwa 90% der Patienten in einem Frühstadium und nur 10% der Patienten in einem fortgeschrittenen Stadium diagnostiziert (Albers 2002). Damit kommt den Frühstadien und

insbesondere dem klinischen Stadium I (keine Metastasen nachweisbar) die größte Bedeutung für das weitere therapeutische Vorgehen zu. Gleichzeitig ist hier der Nutzen weiterer als adjuvant anzusehender Maßnahmen besonders kritisch bezüglich der Nebenwirkungen zu bewerten.

1.4 Adjuvante Alternativen nach Orchiektomie und radiologischen Staginguntersuchungen

Bei **Seminomen** kommt als weitere adjuvante Therapie im Stadium I eine ipsilaterale, para-aortale Nachbestrahlung oder eine engmaschige Nachbeobachtung in Frage. In höheren Stadien (also CS IIA/B oder höher) wird eine Strahlentherapie bzw. eine Chemotherapie angewandt. Eine weitere operative Maßnahme ist beim Seminom aufgrund der guten Strahlensensibilität nicht angezeigt (Gerl et al. 2003).

Vollständig anders verhält es sich mit dem **nichtseminomatösen Hodenkarzinom**, welches hier weiter untersucht werden soll. Dieses gilt als nur wenig strahlensensibel. Eine Radiotherapie wird nicht als adäquate Therapiealternative angesehen (Rorth et al. 1991), so dass sowohl im Frühstadium (Stadium I) als auch in den höheren Stadien als weitere Behandlungsmodalitäten chirurgische Intervention und Chemotherapie zur Verfügung stehen.

Unproblematisch sind die fortgeschrittenen Stadien IIC und III, sowie das markerpositive Stadium CS IIA und alle CS IIB. Kompliziert hingegen stellt sich das markernegative klinische Stadium CS IIA dar. In immerhin 12-13% der Fälle ist dieses falsch klassifiziert, da die radiologischen Untersuchungen ein Stadium IIA ergaben, sich histologisch allerdings ein Stadium PS I ergibt. Hier stehen verschiedene Alternativen zur Auswahl: Versuch einer primären RPLND oder alternativ Follow-up. Erst im Rezidiv wird hierbei eine Chemotherapie angewandt.

Ein Schema zum Vorgehen findet sich in Abbildung 1 (s.u.).

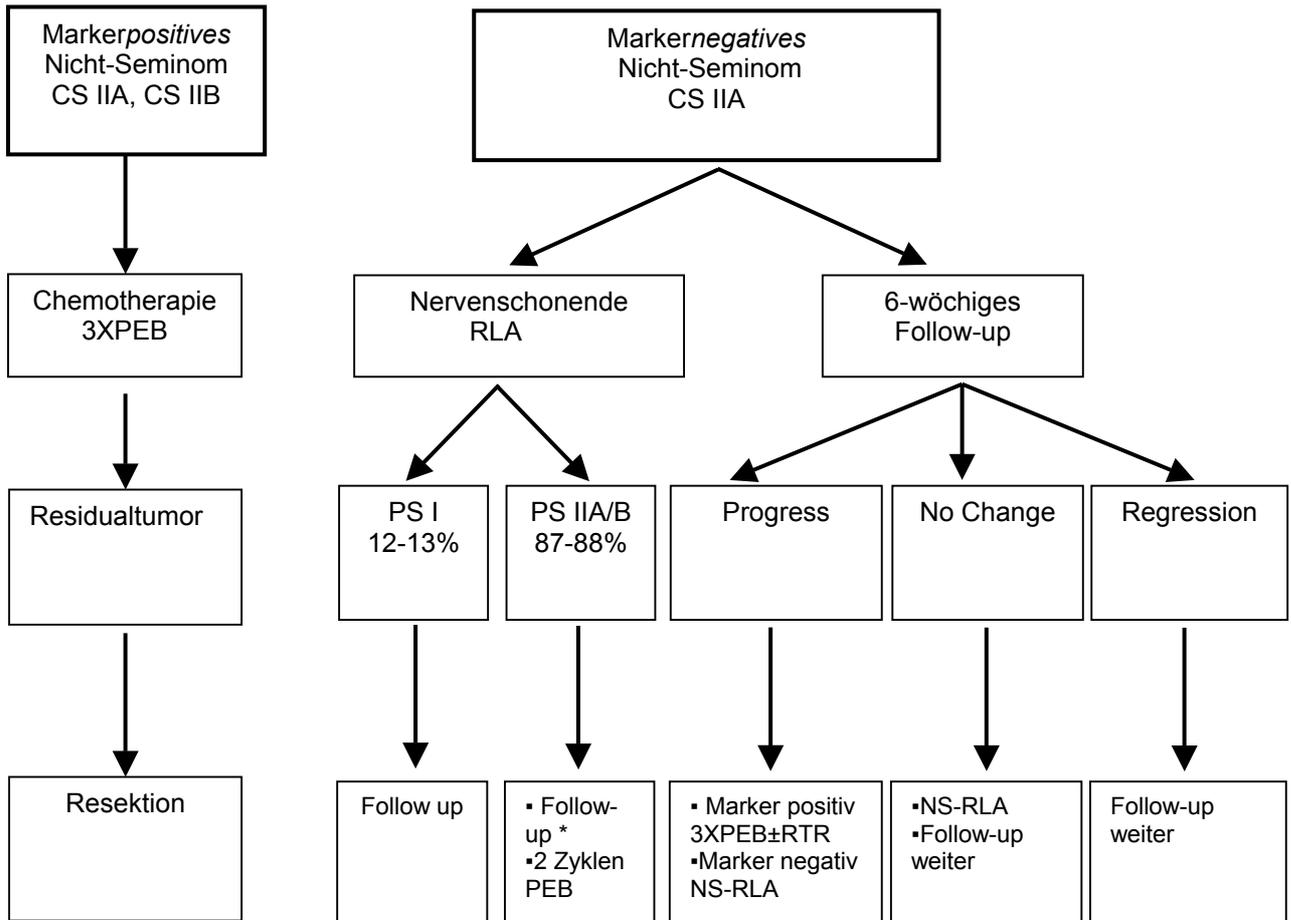


Abbildung 1: Therapieschema des NSKZT im klinischen Stadium IIA und IIB (Schmoll 2004)

* Rezidivquote bei IIA 30%, bei IIB 50%, bei Rezidiv werden 3 Zyklen Chemotherapie verabreicht, ohne Rezidiv werden adjuvant 2 Zyklen Chemotherapie appliziert.

Derzeit stützt sich die Therapie im klinischen Stadium I (CS I) nur auf die vaskuläre Invasion (VI) als Prognosefaktor. Hierdurch kann eine Risikostratifikation vorgenommen werden. So haben Patienten im CS I und Nachweis von VI in 48% okkulte Metastasen, bei Patienten in CS I ohne VI finden sich nur in 15% okkulte Metastasen. Daher wird in 50 – 85% der Fälle eine Übertherapie durchgeführt.

Zusammenfassend gilt es gerade im klinischen Stadium I dem Patient eine nebenwirkungsreiche adjuvante Therapie zu ersparen. Es besteht allerdings Uneinigkeit über das beste weitere Vorgehen. Die Strategien und die Überlegungen sind daher im nächsten Abschnitt dargelegt.

1.4.1 Weiteres Vorgehen im klinischen Stadium I beim nichtseminomatösen Hodenkarzinom: das Problem der okkulten Metastasierung

Aus verschiedenen Voruntersuchungen ist bekannt, dass ca. 30% aller Patienten im klinischen Stadium I (pT1-4, cN0, M0) zum Zeitpunkt der Operation schon metastasiert sind.

So findet man bei einer **retroperitonealen Lymphadenektomie** im klinischen Stadium I bei 17% (Pizzocaro et al. 1992) bis 30% (Fernandez et al. 1994, Donohue et al. 1993) dieser Patienten retroperitoneale Mikrometastasen, die radiologisch nicht sichtbar waren. Werden Patienten im CS I nur engmaschig nachgesorgt (nur Surveillance, keine RPLND oder Chemotherapie) so werden diese in ca. 30% ein **Rezidiv** erleiden (Vergouwe et al. 2003). Die mediane Zeit bis zum Nachweis des Rezidivs liegt bei 5-6 Monaten.

Bei Surveillance Patienten wurde daher ein innerhalb von 2 Jahren in bildgebenden Verfahren nachgewiesenes Rezidiv als Hinweis auf eine okkulte Metastasierung bei Erstdiagnose des NSKZT gewertet.

Eine weitere adjuvante Therapiemaßnahme (retroperitoneale Lymphadenektomie oder Chemotherapie) nach der Primärtherapie nützt also nur ca. 20-30% der Patienten, bedeutet aber für 70% der Patienten eine Übertherapie. Das bedeutet für die Patienten, die sich einer RPLND unterziehen daher in 70% eine unnötige operative Belastung mit der Gefahr des Ejakulationsverlusts und den anderen operativen Risiken (Infektionen, Blutungen, Revisions-OP, Anästhesierisiko). Bei der Chemotherapie können als Nebenwirkungen Nierenfunktionsstörung durch die platinhaltige Chemotherapie, eine Schädigung der Lunge durch Bleomycin sowie Abgeschlagenheit, Infektionsgefahr (Leukopenie), Blutungsgefahr (Thrombopenie), Übelkeit, Erbrechen, Haarausfall auftreten.

1.5 Vorbekannte Prognosefaktoren

Einziger bisher prospektiv validierter Prognosefaktor bei NSKZT für eine okkulte Metastasierung ist die vaskuläre Invasion (VI), d.h. der intraluminale Nachweis von Tumorzellen in Blut- oder Lymphgefäßen. Die Unterscheidung zwischen Lymph- und Blutgefäßen ist dabei prognostisch nicht relevant. 48% der Patienten mit vaskulärer Invasion (High-risk-Gruppe) entwickeln Rezidive, die bei 61% retroperitoneal und bei 25% pulmonal auftreten (Read et al. 1992). Bei Patienten ohne nachgewiesene vaskuläre Invasion (Low-risk-Gruppe) tritt in 14 bis 22% ein Rezidiv auf (Klepp et al. 1997, Ondrus et al. 1998, Heidenreich et al. 1997). Daher wurde die vaskuläre Invasion ins TNM-System mit aufgenommen – bei vorhandener vaskulärer Invasion ist der Tumor als mindestens pT2 einzustufen (Albers 2002).

1.6 Fragestellung

Unter Fokussierung auf das nichtseminomatöse Hodenkarzinom im klinischen Stadium I (pT1-4, cN0, M0) waren durch diese Arbeit folgende Frage- bzw. Problemstellungen anhand einer Literaturübersicht und Auswertung in einer Metaanalyse zu beleuchten:

- **Als Kernthema dieser Untersuchung** stand die Frage: Gibt es neben der vaskulären Invasion weitere Prognosefaktoren für eine okkulte Metastasierung im klinischen Stadium I (pT1-4 cN0 M0)?

- Wie hoch ist der zu erwartende zusätzliche prädiktive Aussagewert für die okkulte Metastasierung dieser weiteren Faktoren?
- Könnte die Kombination mehrerer Faktoren für die Vorhersagewahrscheinlichkeit sinnvoll sein?
- Gibt es Ansätze für neue Studien (offene Fragen, neue molekularbiologische Ansätze)?

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit werden anhand einer Literaturübersicht die bisherigen Studien zu klinischen, histologischen, molekularen und proliferativen Prognosefaktoren zusammengefasst und der klinische Stellenwert der entsprechenden Marker diskutiert.

2 Material und Methoden

Verschiedene Arbeitsgruppen haben die oben genannten Fragen untersucht. Insbesondere wurde nach Prognosefaktoren gesucht, mit denen eine Metastasierung im klinischen Stadium I bei nichtseminomatösen Hodentumoren möglichst sicher vorhergesagt werden kann. Im Rahmen einer Metaanalyse wurden alle bisher erschienenen Arbeiten von 1980 bis 2004 über Prognosefaktoren zur Erkennung der Metastasierung bei nichtseminomatösen Hodentumoren im klinischen Stadium I untersucht.

Die Prognosefaktoren sollten nach Gruppen gegliedert werden, dabei war die jeweils untersuchte Anzahl an Patienten, deren Alter, die Methode des Stagings und die statistische Auswertung der Ergebnisse zu berücksichtigen und zu beurteilen.

2.1 Datenbanken und Suchstrategie

Folgende Portale wurden für die Internet-Recherche herangezogen:

“Medline knowledge finder”

“DIMDI-Recherche”

Die primäre Suche erfolgte unter folgenden Begriffen:

- ▶ testis cancer and nonseminomatous and prognosis
- ▶ prognostic factors and nonseminomatous germ cell tumors
- ▶ proliferation factors and nonseminomatous germ cell tumors
- ▶ embryonal carcinoma and nonseminomatous germ cell tumors
- ▶ vascular invasion and nonseminomatous germ cell tumors
- ▶ Teratoma and nonseminomatous germ cell tumors

Diese Artikel wurden anhand des Stichwortkatalogs (MeSH „medical subject headings“) sowie des dargestellten Inhalts auf weitere Suchbegriffe in Hinblick auf mögliche Prognosefaktoren ausgewertet. Aufgrund der dabei gefundenen Begriffe wurden weitere Internet-Recherchen mit folgenden Suchwortkombinationen durchgeführt:

- ▶ HCG and nonseminomatous germ cell tumors
- ▶ AFP and nonseminomatous germ cell tumors
- ▶ p53 and nonseminomatous germ cell tumors
- ▶ ki-67 / MIB-1 and non-seminomatous germ cell tumors
- ▶ DNA and nonseminomatous germ cell tumors
- ▶ Apoptosis and nonseminomatous germ cell tumors
- ▶ DNA ploidy and nonseminomatous germ cell tumors
- ▶ adhesion molecules and nonseminomatous germ cell tumors

Studien, die nur Patienten im Stadium II oder höher oder nur beiläufig Patienten mit nichtseminomatösen Hodentumoren behandelten, wurden ausgeschlossen. Wenn zwei Studien Patienten vom gleichen Zentrum aus überlappenden Beobachtungsperioden berich-

teten, wurde nur die Studie mit der größeren Population oder mit der längeren Nachbeobachtung berücksichtigt.

2.2 In die Studie einbezogene Studienarten

Verschiedene Arbeitsgruppen haben vorwiegend in retrospektiven Analysen versucht, am Primärtumor prognostische Faktoren zu ermitteln, die Hinweise auf eine okkulte Metastasierung geben könnten. Nur wenige Arbeitsgruppen haben klinische und/oder histopathologische Prognosefaktoren prospektiv evaluiert und an konsekutiven Patientenpopulationen geprüft. Vor- bzw. Nachteile dieser Studienarten sind:

- In retrospektiven Studien benutzt man vorhandenen Aufzeichnungen und noch vorhandenen pathologische Präparate, welche aus der Zeit vor dem Beginn der Studie stammt. Vorteile der retrospektiven Studien sind, daß sie schnell und relativ billig durchzuführen sind und auch bei sehr seltenen Krankheiten angewandt werden können, nachteilig ist das Fehlen einer Zufallsauswahl (Verfälschung durch Todesfälle und Therapieabbrüche), die unvollständige Merkmalserhebung aus Krankenblättern und die Verfälschung alter Erinnerungen (Weiss,Ch. 2002).

- In prospektiven Studien verfolgt man die Beobachtungseinheiten mit regelmäßigen Untersuchungen über längere Zeit vom Beginn der Studie an. Gegenüber den retrospektiven Untersuchungen fällt die Verfälschung durch Todesfälle etc. weg. Die Untersuchung ist aber langwierig, teuer und die Versuchspersonen können durch die Teilnahme an der Untersuchung beeinflusst werden. (Weiss,Ch.2002). Prospektive Studien haben – insbesondere, wenn sie randomisiert erfolgen – eine höhere Aussagekraft, da die Möglichkeiten eines Selektionsbias, die durch die Auswahl der Patienten und der Kontrollgruppe bei retrospektiven Studien erfolgen kann, entfällt.

In dieser Arbeit wurden sowohl prospektiv, multizentrisch, randomisierte Studien als auch prospektiv, unizentrische Studien aufgenommen.

Die Wertigkeit von Studien kann gemäß den Kriterien der Evidence-basierten-Medizin (EBM) eingestuft werden. Hierzu wird in großen Übersichtsarbeiten (z.B. Schmoll 2004) die vorliegenden Studien zu einem Fragenkomplex nach den in Tabelle 2 aufgezeigten Kriterien kategorisiert. Die höchste Stufe (IA) der Aussagekraft kann hierbei nur durch mehrere prospektive, randomisierte Studien die in einer Metaanalyse gegenübergestellt werden erreicht werden. Retrospektive Studien hingegen können maximal die EBM-Stufe III erreichen (siehe Tabelle 2).

Stufe	Evidenztyp
IA	Evidenz aufgrund von Meta-Analysen randomisierter klinischer Studien in systematischen Übersichtsarbeiten
IB	Evidenz aufgrund mindestens einer randomisierten kontrollierten Studie
IIA	Evidenz aufgrund mindestens einer gut angelegten kontrollierten Studie ohne Randomisierung
IIB	Evidenz aufgrund mindestens einer gut angelegten, quasi-experimentellen Studien
III	Evidenz aufgrund gut angelegter, nicht experimenteller deskriptiver Studien (z.B. Fallkontrollstudien, retrospektiv)
IV	Evidenz aufgrund von Berichten/Meinungen von Expertenkreisen, Konsensuskonferenzen und/oder klinischer Erfahrung anerkannter Autoritäten ohne transparenten Beleg

Tabelle 2: Hierarchie der wissenschaftlichen Evidenz nach den Evidence-Based-Medicine Kriterien (abnehmend von Stufe IA bis IV) nach Definition der US Agency for Health Care Policy and Research in der Anwendung der Cochrane Collaboration. (Schmoll 2004)

2.3 Definition der okkulten Metastasierung bzw. Rezidivrate

Die Arbeitsgruppen berichteten über unterschiedliche Definitionen von okkulter Metastasierung im klinischen Stadium I.

Wenn Patienten sich der RPLND unterzogen, konnte eine okkulte Metastasierung histologisch gesichert werden (pathologisches Stadium II (PSII)). Merkmale oder Faktoren von Patienten mit PS II wurden mit Merkmalen oder Faktoren von Patienten mit negativen Lymphknoten (PS I) verglichen. In dieser Arbeit wird der **Begriff der okkulten Metastasierung** im engeren Sinne verwendet, d.h. eine Metastasierung zum Zeitpunkt der Erstdiagnose konnte durch bildgebende Verfahren nicht nachgewiesen werden, allerdings fanden sich bei der histologischen Aufarbeitung einer RPLND oder intraoperativ während einer RPLND metastatisch befallene Lymphknoten.

In den Überwachungsstudien, wurde ein radiologischer und ggf. histologischer Nachweis von Metastasen im Laufe der Surveillance als Rezidiv definiert. Merkmale von Patienten mit Rezidiv wurden mit denen von Patienten ohne Rezidiv verglichen.

Somit entspricht in dieser Arbeit die Rezidivrate bei Patienten in einer Surveillance-Strategie der Rate an histologisch nachgewiesener okkulter Metastasierung bei Patienten nach RPLND.

2.4 Beschreibung der Prognosefaktoren

Zur besseren Einordnung werden die im Ergebnisteil ausgewerteten histologischen, klinischen, molekularen und proliferativen prognostischen Faktoren im folgenden Abschnitt dargestellt. Hierzu wurden nur Studien mit mehr als 10 Patienten eingeschlossen. Weiterhin wurden nur Studien berücksichtigt, die wenigstens ein Follow-up von sechs Monaten hatten. Wurden Studienpatienten offensichtlich erneut veröffentlicht (Folgepublikation mit längerem Follow-up), so wurden nur die späteren Veröffentlichungen berücksichtigt. Die Studien wurden anhand des Studientyps (prospektiv, retrospektiv) und bezüglich des Procederes (Surveillance, RPLND) gruppiert und tabellarisch dargestellt.

2.4.1 Histologische Faktoren

Zu den histologischen Faktoren zählen u.a. histologische Subtypen bzw. deren Anteile am Gesamttumor von Embryonalkarzinom, Teratom, Dottersacktumor sowie die vaskuläre Invasion (VI).

Obwohl mittlerweile in mehreren Studien bewiesen, wird der klinische Stellenwert von vaskulärer Invasion und das Vorhandensein von Embryonalkarzinomanteilen bzw. der Anteil von Embryonalkarzinombestandteilen im Primärtumor immer wieder kontrovers diskutiert, da der korrekte Nachweis von Embryonalem Karzinom und vaskulärer Invasion eng mit der Erfahrung und Sorgfalt des den Primärtumor beurteilenden Pathologen korreliert ist (Sesterhenn et al. 1992). Die größte Diskrepanz zwischen Referenzpathologen und lokalem Pathologen betraf dabei den Nachweis einer Gefäßinvasion sowie den Nachweis von Dottersacktumoranteilen (Heidenreich 1999). Wichtig für die pathologische Aufarbeitung des Primärtumors ist die Aufarbeitung des gesamten Tumors in 3 mm Schnitten, die Angabe des Tumolvolumens und dessen Lokalisation im Hoden, die Angabe der einzelnen Tumorkomponenten in Prozent des Gesamttumors, Aussagen über die TIN sowie Aussagen über die Invasion des Primärtumors in Lymph- oder Blutgefäße. Insbesondere ist u.a. gefordert, dass Aussagen zur vaskulären Invasion des Primärtumors getroffen werden (bei vorhandener vaskulärer Invasion ist der Tumor als pT2 einzustufen) (Albers 2002). Eine Gefäßinvasion ist nur dann gegeben, wenn zweifelsfrei intraluminär Tumorzellthromben oder endotheladhärente Tumorzellen nach Invasion darstellbar sind. Im Zweifel sollte das Endothel mit Faktor VIII oder CD 31 immunhistochemisch markiert werden.

Die Anwesenheit von einem reifen oder unreifen Teratom im Primärtumor oder die Korrelation mit positiven Lymphknoten wurden in einer kleinen Gruppe von Studien untersucht.

2.4.2 Klinische Faktoren

Tumormarker

Die klinisch bedeutenden Tumormarker in der Diagnostik und Therapiekontrolle der Hodentumoren sind das alpha-Fetoprotein (AFP), die β -Kette des humanen Choriongonadotropins (β -HCG), die relativ unspezifische Laktatdehydrogenase (LDH) und fakultativ die plazentare alkalische Phosphatase (PLAP) (Moul u. Heidenreich 1996).

Für alle Marker ist bei Verwendung monoklonaler Antikörper der immunoradiometrische Assay (IRMA) das übliche Nachweisverfahren (Mann 1990).

Andere klinische Faktoren

Zu den weiteren klinischen Faktoren, die untersucht wurden, gehören Patientenalter, Verzögerungen in der Diagnostik, Maldescensus testis, Tumorlokalisation und -größe, pT-Kategorie, anamnestisch erhobene skrotale Traumen, Lokalisation des Tumors rechter oder linker Hoden, Kryptorchismus in der Anamnese und Samenqualität (Moul u. Heidenreich 1996). Da nur wenige Studien zu diesen Faktoren vorhanden waren, konnten diese Faktoren in einer Übersichtstabelle nicht erfasst werden.

2.4.3 Prognosefaktoren der molekularen Zellbiologie

Durch die jüngsten Entwicklungen in der molekularen Zellbiologie konnte eine Reihe von prognostisch potentiell bedeutsamen proliferations- und zellzyklusregulierenden Markern, Proteasen, und Zelladhäsionsmoleküle identifiziert werden. Verschiedene Arbeitsgruppen haben versucht, die Proliferationsaktivität testikulärer Keimzelltumoren mit unterschiedlichen Methoden wie DNA-Durchflußzytometrie sowie der Expressionsbestimmung der proliferations-assoziierten Antigene PCNA, MIB-1 und p53 zu erfassen und Rückschlüsse auf den Einsatz dieser Faktoren als Prognosefaktoren zu ziehen.

2.4.3.1 Proliferationsfaktoren

Für die nichtseminomatösen Keimzelltumoren wurden folgende Faktoren untersucht:

- *DNA-Durchflußzytometrie*: Die impulszytometrische DNA-Bestimmung ermöglicht Aussagen über Ploidie, DNA-Index (relativer DNA-Gehalt von Zellen im Vergleich zu nicht proliferierenden G₀-Zellen), Heterogenität (Maß für Unterschiede im DNA-Gehalt innerhalb einer Zellpopulation) und Proliferationskinetik (gemessen über Proliferationsmarker wie Ki-67/MIB-1 s.u.) maligner Geschwülste.
- *PCNA (proliferative cell nuclear antigen)*: Ist ein Zellkern Antigen, das in einem komplizierten Prozeß der DNA Replikation, der Basen-Exzision und Basenrepara-

tur eingebunden ist. Seine Expression ist zellzyklusabhängig mit einem Maximum in der S-Phase (Fernandez et al. 1994).

- *Ki-67 (MIB-1)*: ein nukleärer Proliferationsmarker, der während des gesamten Zellzyklus vom Beginn der späten G1-Phase bis zur M-Phase mit Ausnahme der G0-Phase exprimiert wird (Heidenreich et al. 1998).

2.4.3.2 Apoptose

Als Apoptose wird ein kontrollierter Zelltod verstanden, der wesentlich für die Morphogenese des menschlichen Körpers, dem kontrollierten Absterben von Zellen im Gewebe – seien nun diese zu alt geworden oder seien sie irreparabel geschädigt worden – bezeichnet. Hierbei kommt es über eine spezifische Abfolge von Proteinen (Caspasen) letztlich zu einer Selbstzerstörung der Zelle, welches zu einem Abbau der subzellulären Strukturen (z.B. Mitochondrien, Zellkern, Zellorganellen) führt und so die entzündungsfreie Beseitigung von Zellen ermöglicht (Albers et al. 2003).

2.4.3.3 Molekulargenetische Marker

In der Medline Recherche wurden unter den Stichwörtern p53-, adhesion molecules-, oncogenes and nonseminomatous germ cell tumors folgende molekulargenetischen Marker gefunden, die beim Hodentumor untersucht wurden

- *Onkogene (zum Beispiel: c-Kit, hst-1 und ras)*: Veränderungen in der Struktur oder Expression der verschiedenen Gene scheinen eine Rolle bei der Initiierung oder / und Progression von malignen Tumoren zu spielen (Moul u. Heidenreich 1996).
- *Bcl-2-Onkogen*: Innerhalb der Bcl-2 Familie werden Homologe mit proapoptotischer (z.B. Bax) von Homologen mit apoptoseinhibierender Wirkung (z.B. Bcl-2) unterschieden (Heidenreich et al. 1998). Zur Definition von Apoptose siehe oben.
- *p53-Tumorsuppressorgen*: repräsentiert eines der zentralen Kontrolleinheiten der Zellzyklusregulation am G1/S-Phasenübergang kann Zellzyklusarrest oder Apoptose einleiten und wird auch als Wächter des menschlichen Genoms bezeichnet (Heidenreich et al. 1998).
- *Adhäsionsmoleküle (zum Beispiel die Familie der "Cadherine")*: Eine Gruppe genetisch verwandter transmembranöser Glykoproteine, denen eine wichtige Funktion in der Ausbildung kalziumabhängiger interzellulärer Adhäsionsmechanismen zukommt (Heidenreich et al. 1998).

2.5 Statistische Auswertungen

Um die Angaben im Ergebnisteil besser zu verstehen werden nachfolgend die wesentlichen statistischen Auswertungen beschrieben.

2.5.1 χ^2 -Test (Chi-Quadrat-Test)

Die meisten Ergebnisse lassen sich in einer so genannten Vierfeldertafel darstellen. Diese würde für die Darstellung eines Risikofaktors (z.B. vaskuläre Invasion) versus pathologisches Stadium (definiert nach RPLND) folgendermaßen aussehen:

	PS I	PS II	gesamt
Mit VI	a	b	a+b
Ohne VI	c	d	c+d
gesamt	a+c	b+d	n = a+b+c+d

Hierbei wird zuerst die Nullhypothese aufgestellt: Die Verteilung von a, b, c und d ist normalverteilt (d.h. in obigem Beispiel: vaskuläre Invasion hätte keinen Einfluss auf das pathologische Stadium).

Vor Beginn des Test müssen Signifikanzniveau (p-Wert, zumeist 5%) und der Freiheitsgrad (bei Vierfelder: 1) festgelegt werden. Anhand dieser Werte kann dann aus einer Tabelle der Grenzwert für die unten zu ermittelnde Prüfzahl abgelesen werden. Im Falle der Vierfeldertafel kann die mit folgender Formel berechnet werden:

$$\text{Prüfgröße} = \frac{n(ad - bc)^2}{(a + b)(a + c)(c + d)(b + d)}$$

Anhand von Signifikanzniveau und Freiheitsgrad kann dann der Grenzwert für die Prüfgröße aus einer Tabelle ermittelt werden. Ist die Prüfgröße kleiner als der Grenzwert gilt die Nullhypothese. Ist die Prüfgröße größer als der Grenzwert, so wird die Nullhypothese verworfen (d.h. in unserem Beispiel gäbe es eine Abhängigkeit von vaskulärer Invasion und pathologischem Stadium).

Zumeist werden in den Studien die p-Werte angegeben, d.h. das Signifikanzniveau, das gerade den Grenzwert für die Prüfgröße erfüllt, wobei p-Werte kleiner als 0,05 oder 5% als signifikant angesehen werden.

2.5.2 Wahrscheinlichkeitsverhältnis (Odds Ratio)

Die Wahrscheinlichkeit für ein bestimmtes Ergebnis (z.B. pathologisches Stadium) errechnet sich als Bruch aus der Anzahl von Patienten mit einer bestimmten Bedingung (z.B. mit vaskulärer Invasion), die sich im Ergebnis unterscheiden, also:

$$\text{Odds(mitVI)} = \frac{\text{Anzahl Patienten in PS II}}{\text{Anzahl Patienten in PS I}} = \frac{b}{a}$$

$$\text{Odds(ohneVI)} = \frac{\text{Anzahl Patienten in PS II}}{\text{Anzahl Patienten in PS I}} = \frac{d}{c}$$

Daraus ergibt sich eine Wahrscheinlichkeitsverhältnis (Odds Ratio, OR) von

$$\text{OddsRatio} = \frac{\text{Odds(mitVI)}}{\text{Odds(ohneVI)}} = \frac{\frac{b}{a}}{\frac{d}{c}}$$

a,b,c,d beziehen sich auf die Vierfeldertafel von Seite 21.

2.5.3 Positiv prädiktiver Wert (ppW)

Der positiv prädiktive Wert des positiven Testresultats gibt die Wahrscheinlichkeit an, mit der ein positives Testresultat tatsächlich mit einer Erkrankung einhergeht.

Diese berechnet sich aus:

$$\text{ppW} = \frac{\text{Zahl der Patienten in PS II mit Nachweis des Risikofaktors}}{\text{Gesamtzahl aller Patienten mit Nachweis des Risikofaktors}} = \frac{b}{a + b}$$

a,b beziehen sich auf die Vierfeldertafel von Seite 21.

2.5.4 Negativ prädiktiver Wert (npW)

Der negativ prädiktive Wert des negativen Testresultats gibt die Wahrscheinlichkeit an, mit der ein negatives Testresultat tatsächlich nicht mit einer Erkrankung einhergeht.

Diese berechnet sich aus:

$$\text{npW} = \frac{\text{Zahl der Patienten in PS I ohne Nachweis des Risikofaktors}}{\text{Gesamtzahl aller Patienten ohne Nachweis des Risikofaktors}} = \frac{c}{c + d}$$

a,b beziehen sich auf die Vierfeldertafel von Seite 21.

3 Ergebnisse

In den gefundenen Studien in dem Zeitraum von 1980 bis 2004 wurden unabhängig von der Art der Prognosefaktoren und der Studien ca. 4800 nichtseminomatöse Patienten im klinischen Stadium I und 259 Seminom-Patienten untersucht. Insgesamt wurden 26 unterschiedliche Prognosefaktoren gefunden, aufgeteilt in histologische, molekularbiologische und klinische Prognosefaktoren. Im Ganzen wurden 28 prospektive und 26 retrospektive Studien gefunden, die sich mit Prognosefaktoren bei Hodentumoren beschäftigen.

Die Ergebnisse wurden in 13 Tabellen, die in 3 Gruppen (histologische Faktoren, molekularbiologische Marker, klinische Faktoren) zusammengefasst wurden, dargestellt.

Endpunkte der Prädiktion einer okkulten Metastasierung waren entweder der histologische Nachweis von Tumorgewebe im Lymphknotenpräparat nach RPLND oder das Auftreten von Metastasen in bildgebenden Verfahren innerhalb von 2 Jahren nach der Primäroperation bei Surveillance Patienten.

3.1 Histologische Faktoren

3.1.1 Vaskuläre Invasion

Die große Übereinstimmung der prognostischen Aussagekraft des Risikofaktors „vaskuläre Invasion“ in allen retrospektiven, prospektiven und klinisch prospektiven Studien unterstreicht die Bedeutung dieses Risikofaktors für die klinische Praxis. Daher hat dieser Parameter auch als einziger Eingang in die 1997 redivierte TNM-Klassifikation gefunden. In den darauf folgenden Ergebnissen verschiedener Arbeitsgruppen, gegliedert nach der Therapie-Auswahl in retrospektive und prospektive Studien, wurde die Bedeutung von vaskulärer Invasion im Staging und in der Auswahl der Behandlung bei frühen nichtseminomatösen Keimzelltumoren gezeigt.

3.1.1.1 Surveillance – prospektiv

Autor (Jahr)	Patienten- Anzahl (n)	Alter der Patienten [J]	Faktor	Rezidiv-Häufigkeit (n)		P	Fu [M]
				mit VI	ohne VI		
Spermon et al 2002	90	16.9-60 (30.1)	VI	17/33 (51%)	5/46 (11%)	P < 0,0001	89
Ondrus et al. 1999	60*	K.A	VI	-	11/60 (18%)	-	40,6
Sturgeon et al. 1992	105	17-76 (28)	LI	20/33 (60,6%)	17/70 (24%)	P = 0,0002	60
Hoskin et al 1986	126	-	VI	36/126 (28%)	-	-	42
Albers et al. 1999	44	K.A	VI	7/12 (60%)	8/32 (25%)	-	12
Gels et al. 1995	154	15-66 (29)	VI	42/154 (27,3%)	-	-	84
Freedma nn et al. 1987	259	-	VI	70/259 (27%)	-	-	30
Dunphy et al. 1988	93	16-54 (28)	LI	16/26 (62%)	12/67 (18%)	P < 0,01	12
Summe	931			208/643 (32%)	53/275 (19%)	OR: 5,71 (3,50 – 9,33)	

Tabelle 3: VI = vaskuläre Invasion (venöse und lymphatische Invasion); LI = lymphatische Invasion; [J] = Jahre (Median); P = P-Wert; Fu = Follow-up; M = monate; K.A = keine Angabe

Die Surveillance-Strategie verzichtet primär auf jegliche postoperative adjuvante onkologische Weiterbehandlung nach durchgeführter Orchiektomie und sieht erst bei einem Rezidiv eine erneute onkologische Therapie in kurativer Intention vor. Eine Progression der Erkrankung wurde bei 32% (208/643) der Patienten mit vaskulärer Invasion und nur bei 19% (53/275) der Patienten ohne vaskuläre Invasion innerhalb von 2 Jahren festgestellt.

3.1.1.2 Surveillance -retrospektive Studien

Autor (Jahr)	Patienten- Anzahl (n)	Alter der Patienten [J]	Faktor	Rezidiv-Häufigkeit (n)		P	Fu [M]
				mit VI	ohne VI		
Albers et al. 1995	61	K.A	VI	11/14 (78%)	13/47 (28%)	P = 0,0024	24
Alexandre et al. 2001	88	16-58 (30.5)	Vel	14/23 (61%)	10/34 (29%)	-	49
Chraibi et al. 1988	58	17-54 (30)	VI	12/44 (44%)	3/19 (16%)	P = 0,04	40
Hoeltl et al. 1987	53	18-98 (24)	Vel	13/13 (100%)	3/13 (23%)	P < 0,0005	-
Summe	260			50/94 (53%)	29/103 (28%)	OR: 2,90 (1.61 - 5.23)	

Tabelle 4: VI = vaskuläre Invasion (venöse und lymphatische Invasion); Vel = venöse Invasion; [J] = Jahre (Median); P = P-Wert; Fu = Follow-up; M = Monate

Im Gegensatz zu der vorhergehenden Tabelle werden hier alle retrospektiven Studien betrachtet, die eine Surveillance durchgeführt hatten und VI retrospektiv (anhand von asservierten Material) untersucht haben. Insgesamt enthalten diese Studien weniger Patienten, was sich auch in einem breiteren Konfidenzintervall der Odds Ratio ausdrückt. Von 260 retrospektiv untersuchten Patienten erlitten 53% derer mit VI innerhalb von 2 Jahren ein Rezidiv, verglichen mit 28% der Patienten ohne VI. Dies entspricht einer Odds-ratio von 2,90. Auch in retrospektiven Surveillance Studien sind somit Patienten mit VI deutlich häufiger von einem Rezidiv betroffen als Patienten ohne VI.

3.1.1.3 RPLND -prospektive Studien

Autor (Jahr)	Patienten- Anzahl (n)	Alter der Patienten [J]	Faktor	OM		P	Fu [M]
				mit VI	ohne VI		
Spermon et al. 2002	101	14.9-61.3 (30,3)	VI	17/34 (50%)	12/47 (26%)	P < 0,05	81
Fujime et al. 1984	18	K.A	VI	8/9 (89%)	3/9 (33%)	-	39,4
Sesterhen n et al. 1992	459	15-63 (28,2)	VI	12/62 (19,4%)	10/168 (6,0%)	-	70
Summe	578			37/105 (35%)	25/224 (11%)	OR 4,33 (2.43 - 7.71)	

Tabelle 5: VI = vaskuläre Invasion (venöse und lymphatische Invasion); OM = okkulte Metastasierung; P = P-Wert; Fu = Follow-up; [J] = Jahre (Median); M = Monate

In diesen Studien zeigt sich eine etwas geringere Häufigkeit der okkulten Metastasierung im Vergleich zu den Rezidivzahlen der beiden vorhergehenden Tabellen. Insgesamt sind die Auswertungen dieser Studien sehr zeitnah zum Primäreignis (kurzes Follow-up). Von den 105 prospektiv untersuchten Patienten die sich einer RPLND unterzogen, wurden bei 35% (73/105) mit VI, verglichen mit 11% ohne VI, eine okkulte Metastasierung festgestellt. Dies entspricht einer Odds-ratio von 4,33. Die vaskuläre Invasion war ein signifikantes Anzeichen für okkulte Metastasierung. Diese Übersicht wird dominiert von der Studie von Sesterhen et al. mit insgesamt 459 Patienten.

3.1.1.4 RPLND - retrospektive Studien

Autor (Jahr)	Patienten-Anzahl (n)	Alter der Patienten [J]	Faktor	OM		P	Fu [M]
				mit VI	ohne VI		
Moriyama et al. 1985	45	18-53 (27)	VI	25/29 (86%)	3/16 (18%)	-	9
Fung et al. 1988	60	15-56 (25)	VI	14/30 (47%)	6/30 (20%)	P = 0,05	18
Hermans et al. 2000	292	14-59 (29)	VI	11/56 (19,6%)	5/74 (6,8%)	P = 0,03	46
Summe	397			50/115 (43%)	14/120 (12%)	OR 5,82 (2,99 – 11,36)	

Tabelle 6: VI = vaskuläre Invasion (venöse und lymphatische Invasion); OM = okkulte Metastasierung; P = P-Wert; Fu = Follow-up; [J] = Jahre (Median); M = Monate

Diese retrospektiven Studien bestätigen die Bedeutung der vaskulären Invasion als wichtiger Prognosefaktor für die Anwesenheit einer okkulter Metastasierung. Von den 115 Patienten hatten 43% (50/115) der Patienten mit vaskulärer Invasion und nur 12% (14/120) der Patienten ohne vaskuläre Invasion eine okkulte Metastasierung. Erneut sind die Zahlen für okkulte Metastasierung etwas geringer als die Rezidivraten.

Übersicht aller Tabellen zur vaskulären Invasion

Die Anwesenheit einer vaskulären Invasion (Gefäßinvasion und / oder lymphatische Invasion) im Primärtumor geht mit einem signifikant erhöhten Risiko für eine okkulte Metastasierung / ein Rezidiv einher.

Kombiniert man die prospektiven und retrospektiven Studien so ergibt sich folgende Zusammenfassung:

	Risikofaktor	Pat. mit Rezidiv bzw. okkulten Metastasierung	Pat. gesamt		Odds Ratio
Surveillance	mit VI	110	198	56%	4,62
	ohne VI	82	385	21%	
RPLND	mit VI	87	220	40%	5,12
	ohne VI	39	344	11%	

Tabelle 7: Zusammenfassung von prospektiven und retrospektiven Studien

3.1.2 Embryonalkarzinom (EC) als unabhängiger Prognosefaktor bei NSKZT. Surveillance-prospektive Studien

Wie bei der vaskulären Invasion wurde die Bedeutung Embryonalkarzinom-Anteil als prognostischer Faktor bei NSKZT in niedrigem Stadium entdeckt, als Follow-up Studien auf Prognosefaktoren hin untersucht wurden.

Autor (Jahr)	Patienten -Anzahl (n)	Alter der Patienten [J]	Faktor	Rezidiv-Häufigkeit (n)		P	Fu [M]
				mit EC	ohne EC		
Spermon et al.2002	90	16.9-60 (30,1)	Prozentual-Anteil EC	17/52 (33%) >50% EC	6/38 (16%) <50% EC	P < 0,05	89
Albers et al. 1999	44	K.A	Prozentual-Anteil EC	9/25 (36%) >50% EC	5/19 (30%) <50% EC	-	12
Dunphy et al. 1988	93	16-54 (28)	EC	28/81 (35%)	K.A	-	12
Summe	227			54/158 (34%)	11/57 (19%)	OR 2,17 (1,04 – 4,53)	

Tabelle 8: EC = Embryonalkarzinom; [J] = Jahre (Median); P = P-Wert; Fu = Follow-up; M = Monate; K.A = keine Angabe

Mit der Anwendung des Cutoff-Wertes von 50% Embryonalkarzinom hatten 34% (54/158) der Patienten mit >50% Embryonalkarzinomanteil und nur 19% (11/57) mit <50% Embryonalkarzinomanteil ein Rezidiv (Spermon et al. und Albers et al.). Ein prozentualer Anteil des Embryonalkarzinoms von <50% des Gesamttumors ist als prognostisch günstig einzustufen.

In der Studie von Dunphy et al. wurde nur das Vorhandensein von Embryonalkarzinom im Tumor ohne den prozentualen Anteil zu berücksichtigen untersucht. Hier hatten 35% (28/81) der Patienten ein Rezidiv, wie hoch die Rezidivrate bei Fehlen von Embryonalkarzinom war, wurde nicht angegeben.

3.1.3 Embryonalkarzinom (EC) als unabhängiger Prognosefaktoren bei NSKZT. RPLND-retrospektive Studien

Autor (Jahr)	Patienten- Anzahl (n)	Alter der Patienten [J]	Faktor	Rezidiv-Häufigkeit (n)		P	Fu [M]
				mit EC	ohne EC		
Hermans et al. 2000	292	14-59 (29)	EC	18/85 (21%)	4/92 (4,3%)	P < 0,001	46
Sweeney et al. 2000	292	K.A	EC	18/85 (21%)	5/141 (4%)	K.A	46
Summe	584			36/170 (21%)	9/233 (4%)	OR 6,69 (3,12 – 14,31)	

Tabelle 9: EC = Embryonalkarzinom; [J] = Jahre (Median); P = P-Wert; Fu = Follow-up; M = Monate

Das Vorhandensein von Embryonalkarzinom in nichtseminomatösen Mischtumoren geht mit einem höheren Risiko für okkulte Metastasierung her. Dies konnte anhand der o.g. retrospektiven Studien bestätigt werden. 21% (36/170) der Patienten mit Vorherrschen vom Embryonalkarzinom hatten im Vergleich zu 4% (9/233) der Patienten ohne das Vorhandensein von Embryonalkarzinom in Mischtumoren ein höheres Risiko für eine okkulte Metastasierung.

3.1.4 Kombination vaskuläre Invasion und Embryonalkarzinom (EC) als Prognosefaktor. RPLND – retrospektive Studien

Autor (Jahr)	Patienten- Anzahl (n)	Alter der Patienten [J]	Faktor	OM (n)		P	Fu [M]
				mit VI und EC	ohne VI und EC		
Hermans et al. 2000	292	14-59 (29)	VI EC	9/31 (29%)	K.A.	K.A.	46
Chraibi et al. 1994	58	K.A.	VI Prozentua- ler Anteil EC	19/58 (33%)	K.A.	K.A.	K.A.
Sweeney et al. 2000	292	K.A.	VI EC	36/58 (62.1%)	9/55 (16%)	K.A.	46
Summe	642			64/147 (44%)	9/55 (16%)	OR 3,94 (1,80 – 8,64)	

Tabelle 10: VI = vaskuläre Invasion (venöse und lymphatische Invasion); EC = Embryonalkarzinom; [J] = Jahre (Median); OM = Okkulte Metastasierung; P = P-Wert; Fu = Follow-up; M = Monate

Die oben erwähnten rückblickenden Berichte bestätigen die Ergebnisse aus prospektiven Studien. So ist die vaskulärer / lymphatische Invasion in Kombination mit >50% Embryonalkarzinomanteil (Chraibi et al.) oder in Kombination mit dem Vorhandensein von Embryonalkarzinom (Hermans et al., Sweeney et al.) vorhersagend für ein erhöhtes Metastasierungsrisiko. Von 642 retrospektiv untersuchten Patienten hatten 44% eine okkulte Metastasierung, verglichen mit 16% der Patienten ohne vaskuläre Invasion und das Vorhandensein von Embryonalkarzinom. Dies entspricht einer Odds-ratio von 3,94.

3.1.5 Wichtige histologische Faktoren

Für die Entwicklung von Risikofaktoren bei Hodentumoren, die eine Definition von Niedrig- und Hochrisikopatienten zulassen und die Etablierung risikoadaptierter Therapiemodelle ermöglichen, wurden bei Patienten mit einem nichtseminomatösen Keimzelltumor im klinischen Stadium I eine Reihe von Variablen im Hinblick auf ihren Wert als Prognosefaktor untersucht.

Autor (Jahr)	n	Vel	LI	EC	M	Y	S	C	Kombinationen	Pw
Studien mit vaskulärer (venöser oder/und lymphatischer) Invasion in Kombination mit Embryonalkarzinom (absolut)										
Sogani et al 1998	105	+	+	+	-	-	-	-	VI + EC	90%
Sweeney et al. 2000	292	+	+	+	/	/	/	/	VI + EC	
Javadpour et al. 1986	60	+	+	+	/	/	/	/	VI + EC	
Dunphy et al. 1988	93	-	+	+	-	-	-	-	LI + EC	
Studien mit vaskulärer Invasion und Embryonalkarzinom (Cutoff in Prozent)										
Fernandez et al. 1994	89	+	+	+	-	-	/	/	VI + %EC	
Lewis et al. 1994	152	+	+	+	/	/	+	/	VI + %EC	83%
McLeod et al. 1996	89	+	+	+	/	/	/	/	VI + %EC	
Heidenreich et al. 1998	149	+	+	+	-	-	-	-	VI + %EC	88%
Spermon et al. 2002	90	+	+	+	-	-	-	/	VI + %EC	
Moul et al. 1994	92	+	+	+	-	-	-	/	VI + % EC	85.9 %
Studien mit vaskulärer Invasion und fehlendem Teratom und weitere Faktoren										
Alexandre et al. 2001	88	+	-	+	-	/	/	/	VI + M	
Freedman et al. 1987	259	+	+	-	+	+	/	/	VI + M + -Y	
Fung et al. 1988	60	+	+	-	+	/	-	/	VI + M + pT≥2	
Klepp et al. 1990	279	+	+	-	+	-	-	/	VI + -M + prä-AFP	
Einzelstudie mit Vielfachkombination										
Gels et al. 1995	154	+	+	+	+	-	-	-	VI + EC + -M + präopβhCG	

Autor (Jahr)	n	Vel	LI	EC	M	Y	S	C	Kombinationen	Pw
Leibovitch et al. 1998	91	-	-	+	-	-	-	-	EC + % MIB-1 + CT	90%
Albers et al. 1995 a	90	/	/	+	/	/	/	/	EC + %MIB-1	87%
Lewis et al. 1994	152	+	+	+	/	/	+	/	VI + %EC + p53	79%

Tabelle 11: n = Anzahl untersuchter Patienten in der Studie; Vel = venöse Invasion; LI = lymphatische Invasion; VI = vaskuläre (venöse und lymphatische) Invasion; EC = Embryonalkarzinom; M = Teratom; Y = Dottersack; C = Chorionkarzinom; S = Seminom; -M = Teratom fehlend; -Y = Dottersacktumor fehlend; + = signifikant; - = nicht signifikant; / = nicht untersucht; Pw = prädiktiver Wert; CT = Computertomogramm

Grundsätzlich gibt es zwei Möglichkeiten, okkulte Metastasen im klinischen Stadium I besser vorherzusagen. Zum einen gelingt dies durch eine genauere Analyse der computertomographischen Befunde in Kenntnis der Metastasierungswege des Hodentumors. Zum anderen kann die Vorhersage durch eine genauere Analyse des Primärtumors verbessert werden. Hierbei wurden die o.g. histopathologischen Faktoren von verschiedenen Arbeitsgruppen kombiniert.

Aus den vorhandenen bzw. fehlenden einzelnen Merkmalen wird ein Score errechnet, aus dem sich die Wahrscheinlichkeit des Progresses ableiten lässt, der sog. Freedman-Score (venöse und lymphatische Invasion, undifferenzierte Tumoranteile (Teratom), fehlende Dottersackstrukturen). Patienten, deren Primärtumor 4 oder 3 Merkmale aufwies, waren nach 2 Jahren nur in 75% bzw. 42% der Fälle rezidivfrei. Patienten mit maximal 2 Risikofaktoren wiesen nach 2 Jahren eine Rezidivrate von maximal 25% auf.

Solche Prognosemodelle wurden von verschiedenen Arbeitsgruppen entwickelt. Als wichtigste Risikofaktoren kristallisieren sich die Lymph- und Blutgefäßinvasion und das Embryonalkarzinom heraus. Die Studien von Javadpour et al., Sweeney et al. und Sogani et al. untersuchten die Kombination vaskuläre Invasion (venöse und lymphatische Invasion) mit Embryonalkarzinom. Die Ergebnisse zeigten, dass vaskuläre Invasion und Embryonalkarzinom vorhersagend für ein erhöhtes Risiko von Metastasierung sind. In der Studie von Sweeney et al. zum Beispiel, hatten 62,1% (36/58) der Patienten mit vaskulärer Invasion und Embryonalkarzinom eine Metastasierung. Die Untersuchungen von Pont et al. und Dunphy et al. untersuchten hier die Kombination von venöser bzw. lymphatischer Invasion alleine in Kombination mit dem Vorhandensein von Embryonalkarzinom.

Fernandez et al., Moul et al. und Spermon et al. kombinierten die vaskuläre Invasion mit dem Prozentsatz an Embryonalkarzinom. In der Studie von Moul et al. zum Beispiel waren beide Faktoren vaskuläre Invasion und Prozentsatz Embryonalkarzinom in einem bestimmten Zeitraum imstande, 85,9% okkulte Metastasierung vorherzusagen.

Weitere Gruppen haben Kombinationen von vaskulärer Invasion mit Teratomkarzinomanteilen mit/ohne andere Faktoren veröffentlicht. Hierbei ist der dritte Faktor (fehlender Dottersacktumor, $pT \geq 2$ etc.) für jede Kombination jeweils nur in einer Studie mitunter sucht.

Die Studie von Gels et al. schließlich schlägt eine Vierfachkombination als Risikoparameter vor.

3.2 Molekularbiologische Marker

3.2.1 Ki-67(MIB-1) als unabhängiger Prognosefaktor bei NSKZT- prospektive Studien

Ki-67 ist ein Protein, welches vom Zellkern während des gesamten Zellzyklus vom Beginn der späten G1-Phase bis zur M-Phase mit Ausnahme der G0-Phase exprimiert wird. Es wird als Proliferationsmarker verwendet. Verschiedene Arbeitsgruppen haben sich in prospektiver sowie retrospektiver Sicht mit der prognostischen Wertigkeit der Ki-67-Expression bei NSKZT des Hodens befaßt.

Autor (Jahr)	Patienten-Anzahl (n)	MIB-1 pos (cut-off-Wert von 80% positive Tumorzellen)		PPW	NPW	Pf	Fu [M]
		Patho Stadium I	Patho Stadium II				
Albers et al. 1995 a	90	39/65 (60%)	19/25 (76%)	42%	87%	Ja	23
Albers et al. 2003	200	25/49 (52%)	34/44 (77%)	47,3%	78%	Ja	34,5
Albers et al. 1999	44	5/22 (23%)	9/21 (43%)	K.A	K.A	Ja	12
Albers et al. 1995	105	15/66 (23%)	39/45 (87%)	47%	87%	Ja	15,9
Summe	439	84/202 (42%)	101/135 (75%)	54,6%	86,4%	OR 5,91 (3,49 to 10,00)	

Tabelle 12: PPW = positiver prädiktiver Wert; NPW = negativer prädiktiver Wert; Fu = Follow-up; Pf = Prognosefaktor (nach Einschätzung der Autoren); K.A = keine Angabe; M = Monate

Die Analyse der biologischen Zellproliferationsrate durch den MIB-1-Antikörper zeigte signifikante Unterschiede zwischen Patienten im pathologischen Stadium I und Stadium II. Mit der Anwendung des Cut-off-Wertes zwischen $<80\%$ und $>80\%$ konnten 42% der Patienten im pathologischen Stadium I und 75% der Patienten im pathologischen Stadium II richtig klassifiziert werden. Ein Herabsetzen des "cut-off" auf 42% definierte eine Sub-

gruppe von Patienten im pathologischen Stadium I ohne Risiko einer okkulten Metastasierung. Obwohl mit diesem Parameter ein Patient mit einer Sicherheit von etwa 90% einer low-risk-Gruppe für das Vorhandensein von Metastasen im klinischen Stadium I zugeordnet werden kann, ist die Identifikation einer high-risk-Gruppe mit diesem Parameter nicht möglich.

3.2.2 Ki-67 (MIB-1) als unabhängiger Prognosefaktor bei NSKZT-retrospektive Studien

Autor (Jahr)	Patienten-Anzahl (n)	MIB-1 pos (cut-off-Wert von 80% positive Tumorzellen)		PPW	NPW	Pf
		Patho. Stadium I	Patho. Stadium II			
Albers et al. 1995 b	62	31/45 (69%)	14/17 (82%)	50%	91%	Ja
Albers et al. 1997	78	20/50 (40%)	24/28 (86%)	55%	88%	Ja
Heidenreich et al. 1997	89	(32,8%)	(41,1%)	K.A	K.A	Nein
McLeod et al. 1996	89	14/52 (27.5%)	16/37 (44%)	K.A	K.A	Nein

Tabelle 13: PPW = positiver prädiktiver Wert; NPW = negativer prädiktiver Wert; Pf = Prognosefaktor (nach Einschätzung der Autoren); K.A = keine Angabe.

Die prognostische Wertigkeit der Ki-67-Expression wird, wie die oben erwähnten retrospektiven Berichte zeigen, kontrovers diskutiert. Auch wenn Albers et al. die Ki-67-Expression mit einem „Cut-off“-Wert < 80% als signifikantem Prognosefaktor zur Vorhersage des pathologischen Stadiums I nachweisen konnte, konnten Heidenreich et al. sowie McLeod et al. keine signifikante Korrelation der Ki-67-Expression zum pathologischen Stadium I und II herstellen.

3.2.3 Zellzyklusanalyse und DNA Ploidie bei NSKZT im klinischen Stadium I prospektiven Studien

Maligne Tumore können sich von ihrem gesunden Ausgangsgewebe durch eine erhöhte Proliferationskinetik oder durch einen von der Norm abweichenden DNA-Gehalt ihrer Zellen unterscheiden. Die Durchfluß-Zytometrie erlaubt einen direkten Nachweis dieser Veränderungen. Als ergänzende Untersuchung zur histologischen Beurteilung können DNA-Messungen Hinweise für die Prognose bei NSKZT im klinischen Stadium I geben.

Autor (Jahr)	Patienten-Anzahl (n)	S + G2M-Phase DNA-ploidy		PPW	NPW	Pf	Fu [M]
		Patho Stadium I	Patho Stadium II				
Spermon et al. 2002	50	14/35 (40%) Aneuploid 3/35 (9%) Diploid 2/35 (6%) Polyploid	8/15 (53%) Aneuploid 0% Diploid 0% Polyploid	K.A	K.A	Ja	75
Albers et al. 1995	105	23/76 (30%) S+G2M	20/28 (71%) S+G2M	47%	87%	Ja	15,9

Tabelle 14: PPW = positiver prädiktiver Wert; NPW = negativer prädiktiver Wert; Pf = Prognosefaktor; Fu = Follow-up; M = Monate.

In der Studie von Spermon et al. waren DNA-diploide und polyploide Tumoren nur bei Patienten im pathologischen Stadium I anwesend. Im Gegensatz dazu waren alle Proben von pathologischen Stadium II-Patienten DNA-aneuploide DNA-diploide und polyploide identifizierte Patienten im low risk-Bereich.

Signifikante Unterschiede zwischen den pathologischen Gruppen fanden sich in der Analyse der aneuploiden S+G2M-Phase. Waren mehr als 41% der Zellen in der Durchflußzytometrie in der S+G2M-Phase, so wurde der Tumor als S+G2M positiv gewertet. Hierbei waren dann 30% der Tumore im pathologischen Stadium I S+G2M positiv, während dies im pathologischen Stadium II 71% waren.

S+G2M-Phase war der beste Parameter zur Erkennung der High-risk-gruppe mit okkulten Metastasierung (Albers et al. 1995).

3.2.4 Zellzyklusanalyse und DNA Ploidie bei NSKZT im klinischen Stadium I retrospektive Studien

Autor (Jahr)	Patienten-Anzahl (n)	S + G2M-Phase DNA-ploidy		PPW	NPW	Pf	Fu [M]
		Patho. Stadium I	Patho. Stadium II				
Albers et al. 1995	61	35/47 (74%)	13/14 (93%)	52%	97%	Ja	K.A

Autor (Jahr)	Patienten-Anzahl (n)	S + G2M-Phase DNA-ploidy		PPW	NPW	Pf	Fu [M]
		Patho. Stadium I	Patho. Stadium II				
de Riese et al. 1994	102	36/47 (77%)	50/55 (91%)	K.A	K.A	Ja	K.A
Summe	163	71/94 (76%)	63/69 (91%)	47,0%	79,3%		
				OR 3,40 (1,30 to 8,89)			

Tabelle 15: PPW = positiver prädiktiver Wert; NPW = negativer prädiktiver Wert; Pf = Prognosefaktor; Fu = Follow-up; M= Monate.

In der Studie von de Riese et al. wurde die Kombination 100% Embryonalkarzinom mit dem Prozentsatz aneuploid über 29% in allen Blöcken als prädiktiver Parameter ausgewertet. So wurden 91% (50/55) der Patienten mit okkulten retroperitonealen Erkrankungen (pathologisches Stadium II) richtig eingeteilt. 77% (36/47) der Patienten mit pathologischer Stadium I-Erkrankung wurden als low risk richtig eingeteilt.

DNA-aneuploid war der beste prädiktive Parameter für Tumorrezidiv im Primärtumor in der Studie von Albers et al..

3.2.5 Bedeutung der p53-Expression bei NSKZT im klinischen Stadium I

Alterationen des p53-Tumorsuppressorgens werden als eine der häufigsten heute bekannten malignom-assoziierten genetischen Veränderungen an etwa der Hälfte aller humanen Tumore beobachtet. Das intakte p53-Gen besitzt substantiellen Anteil an der physiologischen Zellzykluskontrolle und garantiert die Stabilität des humanen Genoms (Heidenreich et al. 1998), indem es nach DNA-Schädigung den programmierten Zelltod (Apoptose) einleitet oder den Zellzyklus in der G1-Phase anhält, um eine Reparatur des entstandenen Schadens zu ermöglichen bzw. die Replikation mutativ verändert DNA-Abschnitte zu vermeiden (Fields et al. 1990, Guillou et al. 1996, Abend et al. 1998). Vor allem nach DNA-Schädigung konnte in einer Reihe unterschiedlicher Systeme eine p53-abhängige Induktion von Apoptose bzw. Zellzyklusarretierung (abhängig von Zelltyp, Differenzierungsgrad, Schwere des Schadens) gefunden werden. Wie das Signal von DNA-Schädigung zur Stabilisierung des p53 führt, ist unklar (Abend et al. 1998).

Das p53-Tumorsuppressorgen ist inzwischen einer der am häufigsten untersuchten genetischen Marker für maligne Erkrankungen des Menschen. Der Ausfall der Kontrollfunktion des p53 durch Inaktivierung (Deletion, Mutation) kann in aberrantem Zellwachstum mit konsekutiver Entwicklung eines Malignoms resultieren. Der erfolgreiche immunhistochemische Nachweis des p53-Proteins wird dabei vom Vorliegen einer Mutation stark beeinflusst: Während die Wildform des p53-Protein nur in geringen Mengen nukleär vorkommt und innerhalb weniger Minuten degradiert wird, resultiert aus p53-Mutationen eine

Stabilisierung des Proteins mit verlängerter Halbwertszeit, so dass die Proteinexpression immunhistochemisch nachweisbar wird. Alle bisher publizierten Arbeiten konnten eine Überexpression des p53 Wildtyp beim testikulären Keimzelltumor des Hodens nachweisen und verschiedene Studien haben ergeben, dass Tumoren mit p53 Mutationen aggressiver sind als solche ohne p53 Mutationen (Guillou et al. 1996, Burger et al. 1998, Basu et al. 1998).

Verschiedene Arbeitsgruppen (De Riese et al. 1993, Ulbrigt et al. 1993, Lewis et al. 1994) haben sich mit der Frage der prognostischen Bedeutung der p53-Expression bei NSKZT im klinischen Stadium I befaßt und beschreiben kontroverse Ergebnisse. DeRiese et al. 1993 untersuchten 84 NSKZT im klinischen Stadium I und konnte keinen signifikanten Unterschied zwischen beiden pathologischen Stadien (Stadium I und Stadium II) darstellen. Lewis et al. 1994 konnten nachweisen, daß die p53-Expression der embryonalen Karzinomanteile im pathologischen Stadium II signifikant höher ist als im pathologischen Stadium I, allerdings konnte eine prognostische Relevanz dennoch nicht abgeleitet werden. In ihrer Untersuchung an 22 testikulären Keimzelltumoren konnten Peng et al. 1995 mittels „constant denaturant gel electrophoresis“ (CDGE) und DNA-„single-strand conformation polymorphism“ (SSCP) Analytik keine Alteration am p53-Genlokus nachweisen. Zusammenfassend steht eine abschließende Beurteilung der Wertigkeit von p53-Aberrationen noch aus.

3.2.6 Bedeutung apoptotischer Prozesse bei NSKZT im klinischen Stadium I

Die Apoptose ist ein genetisch verschlüsselter Zelltod-Vorgang, welcher in die verschiedenen Phasen Initiation, Effektor und Degradierung unterteilt werden kann (Thompson, 1995). Abhängig von Zelltyp, Differenzierungsgrad und Stimulus reagieren Zellen in unterschiedlicher Weise mit Apoptose. Daraus wurden Rückschlüsse auf den vermutlich zugrundeliegenden Apoptosemechanismus gezogen (Abend und Beuning 1998). Es wurde gezeigt, dass das Produkt des p53 Tumor-Suppressor-Gens, das p53-Protein, eine zentrale Rolle bei der Sensibilität von Tumorzellen gegenüber der Apoptose durch Chemotherapie und Bestrahlung spielt (Burger et al. 1998). Vor allem nach DNA-Schädigung konnte in einer Reihe unterschiedlicher Systeme eine p53-abhängige Induktion von Apoptose bzw. Zellzyklusarretierung (abhängig von Zelltyp, Differenzierungsgrad, Schwere des Schadens) gefunden werden (Goetz et al. 1995). Ein weiterer wichtiger Regulator der Apoptose stellt das Produkt des Bcl-2-Gens dar, welches zuerst mit t (14;18)-Translokationen in folliculären B-Zell-Lymphomen in Verbindung gebracht wurde (Burger et al. 1998). Innerhalb der Bcl-2 Familie werden homologe mit Apoptosewirkung (z.B. Bax, Bad und Bak) von Homologen mit apoptoseinhibierender Wirkung (z.B. Bcl-2, Mcl-1, Al und Bag) unterschieden (Burger et al. 1998).

Bei Bcl-2 überschuß sind die Zellen vor einer Apoptose geschützt, während die Apoptoseeinleitende Aktivität des Bax bei Überschuß des Genproduktes und bei Vorliegen von Bax-Homodimeren wirksam ist (Basu und Haldar 1998). Bei einer Reihe von Neoplasien

wurde eine Bcl-2 Expression mit einer ungünstigen Prognose assoziiert, da p53 abhängige Regulations Vorgänge inhibiert werden.

Chresta et al. konnten demonstrieren, dass das gute Ansprechen der Hodentumoren auf Chemotherapie auf die günstige Kombination der fehlenden Bcl-2-Expression mit einer Überexpression von Bax und Wildtyp p53 zurückzuführen ist. Die Kombination „hohe Bcl-2-Expression und niedrige p53-Expression“ könnte die molekulargenetische Erklärung für die Chemo- oder Strahlenresistenz maturaer Teratome sein. Andererseits korreliert die fehlende Bcl-2-Expression in Kombination mit einer p53-Wildtyp Proteinexpression gut mit der hohen Ansprechrate für Chemotherapie und Bestrahlung (Heidenreich et al.1998).

3.2.7 Bedeutung der Angiogenese bei NSKZT im klinischen Stadium I

Die Tumorangiogenese beschreibt im Gegensatz zur physiologischen Angiogenese eine unkontrollierte Neubildung von Blutgefäßen im Tumorgewebe, die mit Progression und Metastasierung assoziiert ist.

„Vascular endothelial derived growth factor“ (VEGF), „acidic“ und „basic fibroblast growth factor“ (a/bFGF), „platelet derived growth factor“ (PDGF) stellen dabei wesentliche, die Angiogenese und Neovaskularisation eines Tumors fördernde Faktoren dar. Beim Hodentumor liegen nur wenige Studien zur Expression von Angiogenesefaktoren vor.

Viglietto et al. 1995 konnten eine spezifische VEGF-mRNA- und Proteinexpression nur bei den NSKZT, aber nicht bei seminomatösen Hodentumoren nachweisen. Sie demonstrieren desweiteren eine hochsignifikante Korrelation zwischen der VEGF-Expression und der intratumoralen Gefäßdichte. Jones et al. 2000 konnten zeigen, dass die Teratomgewebeproben eine bedeutend höhere VEGF-Expression im Vergleich zu Seminomen und normalen Gewebeproben zeigen. VEGF-C mRNA und VEGFR-3 Protein wurde bei einem Drittel bis zur Hälfte der Fälle mit Expression hauptsächlich im Bereich der endothelialen Gefäßen gefunden. In der Studie von Olivarez et al.1994 wurde dagegen die Neovaskularisation nicht als unabhängiger Risikofaktor für eine Mikrometastasierung bei NSKZT identifiziert. Für die Rolle der Angiogenese in der Tumorbologie im Stadium I der NSKZT sind weitere Studien angezeigt.

3.2.8 Bedeutung der Adhäsionsmoleküle bei NSKZT im klinischen Stadium I

Adhäsionsmoleküle spielen in ihrer Funktion als Vermittler der zellulären Interaktion nicht nur eine wesentliche Rolle bei physiologischen Prozessen somatischer Zellen wie Ontogenese, Wundheilung, Entzündung, sondern auch in der Tumorexpression (Heicappel 1996). Während die Tumorzellen in einem organbegrenzten Primärtumor in aller Regel einen festen Zellverband ausbilden, geht der Verlust von Adhäsionsmolekülen mit einer zellulären Dedifferenzierung und der zunehmenden Fähigkeit der Metastasierung einher. Der Verlust der E-Cadherinfunktion wird als ein möglicher Mechanismus der Ausbildung eines invasiven Phänotyps von Krebszellen diskutiert, und eine verminderte oder nicht nachweisbare E-Cadherinexpression beim Mamma- und Prostatakarzinom geht mit der Ausbildung einer aggressiveren Tumorvariante einher, die sich in einer höheren Metasta-

sierungsfrequenz und einer reduzierten Überlebensrate manifestiert (Jiang 1996). Morton et al. 1993 zeigten, dass der Verlust der E-Cadherinfunktion zumindestens für eine Subpopulation NSKZT einen wesentlichen Faktor in der Entwicklung des invasiven Phänotyps darstellen könnte.

Heidenreich et al. untersuchten die E-Cadherinexpression in malignen Keimzelltumoren des Hodens sowie dem korrespondierenden Normalgewebe. In knapp 25% der NSKZT konnte ein kompletter Verlust der Proteinexpression vornehmlich in den embryonalen Karzinomanteilen des Primärtumors nachgewiesen werden. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass ebenfalls 90% der die vaskulären Strukturen invadierenden Tumorzellen E-Cadherin negativ waren, so dass eine deutlich positive Korrelation zwischen fehlender Proteinexpression, Vorliegen einer Gefäßinvasion und Nachweis einer Mikrometastasierung hergestellt werden konnte. Diese Befunde legen die Vermutung nahe, dass der Verlust der E-Cadherinfunktion zumindestens für eine Subpopulation NSKZT einen wesentlichen Faktor in der Entwicklung des invasiven Phänotyps darstellen könnte.

3.3 Klinische Faktoren

3.3.1 Tumormarker als unabhängiger Prognosefaktor bei NSKZT-prospektive Studien

Die Serienmessungen von Fetoprotein und β -humanem Choriongonadotropin sind in Diagnose, Staging, Überwachung der Therapie und Feststellung von Rückfällen bei Patienten mit nichtseminomatösem Keimzelltumor im klinischen Stadium I zwingend erforderlich.

Autor (Jahr)	Patienten-Anzahl (n)	Tumormarker		PPW	NPW	Pf	Fu (M)
		Normal (Stadium I)	Erhöht (Stadium II)				
Rabbani et al. 2001	50	7/45 (15,6%)	4/5 (80%)	K.A	K.A	Ja	31,4
Horňák et al. 1988	24	1/23 (4,3%)	15/23 (65,2%)	K.A	K.A	Ja	14,7
Summe	74	8/68 (12%)	19/28 (68%)	67,9%	88,2%		
				OR 15,83 (5,36 – 46,77)			

Tabelle 16: PPW = positiver prädiktiver Wert; NPW = negativer prädiktiver Wert; Pf = Prognosefaktor; Fu = Follow-up; M = Monate; K.A = keine Angabe.

Die vorrangige Bedeutung der Tumormarker liegt in der Verlaufsüberwachung der therapeutischen Maßnahmen sowie in der Früherkennung eines Tumorrezidivs. Im Rahmen der Primärdiagnostik werden alle Marker serologisch bestimmt, vornehmlich um einen Ausgangswert vor Therapiebeginn zu dokumentieren, weniger mit differentialdiagnostischer Zielsetzung.

In der Studie von Rabbani et al. zum Beispiel war die anhaltende Tumormarker-Erhöhung nach Orchiektomie und retroperitonealer Lymphadenektomie ein wichtiges Anzeichen für okkulte Erkrankung. 80% (4/5) der Patienten mit erhöhten Tumormarkern (AFP allein bei 3 Patienten, AFP und β -hCG bei einem) zeigten ein Rezidiv, verglichen mit 15,6% (7/45) Patienten mit normalen Tumormarkern.

Der Verlauf dieser Tumormarker ist ein wesentliches Element in der Beurteilung des Therapieergebnisses. Bereits nach Ablatio testis geben nicht kinetikkerecht sinkende Tumormarker Hinweise auf eine Metastasierung. Der Markerverlauf unter Chemotherapie korreliert gut mit dem Ansprechen des Tumors.

Für eine Korrelation von Höhe der Tumormarker vor einer Operation mit der Rate an okkulten Metastasierung bzw. der Rezidivrate im Stadium I gibt es keine Studien.

4 Diskussion

Patienten mit testikulären Keimzelltumoren im klinischen Stadium I besitzen eine Langzeitüberlebensrate von etwa 98%. Mit hohen Heilungsraten von 95% bis annähernd 100% in den niedrigen Stadien und von immerhin 50% in den Tumorstadien mit schlechter Prognose, ist der Hodentumor prinzipiell sehr gut therapiebar und gilt als das Paradebeispiel einer heilbaren bösartigen soliden Tumorerkrankung.

Problematisch sind vor allem nicht-seminomatöse Keimzelltumore (NSKT) im klinischen Stadium I, da hier bildgebend keine Metastasen nachweisbar sind. Trotzdem kommt es in diesem Stadium bei 15-48% zu einer okkulten Metastasierung, aus der sich im weiteren Verlauf klinisch manifeste Metastasen entwickeln. Dies führte bis vor kurzem dazu, dass praktisch alle NSKZT Patienten in CSI adjuvant therapiert wurden. Hierbei kamen als Therapieformen die retroperitoneale Lymphadenektomie (RLA) oder eine Chemotherapie in Frage. Beide Therapieformen zeigen signifikante Morbiditäten. So findet sich bei der RLA die Gefahr des Ejakulationsverlusts sowie anderer operativer Risiken (Infektionen, Blutungen, Revisions-OP, Anästhesierisiko) (Souchon et al. 2002).

Bei der Chemotherapie können als Nebenwirkungen Nierenfunktionsstörung durch die platinhaltige Chemotherapie, eine Schädigung der Lunge durch Bleomycin sowie Abgeschlagenheit, Infektionsgefahr (Leukopenie), Blutungsgefahr (Thrombopenie), Übelkeit, Erbrechen und Haarausfall auftreten (Souchon et al. 2002).

Eine Rate okkulter Metastasierung von 15-48% bedeutet, dass 52-85% dieser Patienten übertherapiert werden. Daher wurden Risikofaktoren für eine okkulte Metastasierung als Einzelfaktoren oder auch in Kombination gesucht, um eine risikoadaptierte Therapie durchführen zu können und so eine Übertherapie zu vermeiden.

Die vorliegende Arbeit untersuchte im Sinne einer Metaanalyse alle Studien, die über Risikofaktoren für ein Rezidiv bzw. für eine okkulte Metastasierung bei nicht-seminomatösen Keimzelltumoren berichteten. Hierdurch sollten Hinweise gewonnen werden, ob es über die bekannten Risikofaktoren hinaus andere oder Kombinationen von Risikofaktoren gibt, welche eine noch genauere Risikostratifizierung ermöglichen.

Zuerst werden die im Einzelnen gefundenen Risikofaktoren und ihr Nutzen dargestellt. Danach folgt die Diskussion der Modelle für eine Kombination von Risikofaktoren sowie ein mögliches Flusschema für die Entscheidung zur weiteren Therapie.

4.1 Histologische Faktoren

4.1.1 Vaskuläre (venöse und/oder lymphatische) Invasion

Die Analyse aller prospektiven und retrospektiven Studien bestätigte, dass die venöse und/oder lymphatische Infiltration von Tumorzellen im Primärtumor der Prognosefaktor mit dem höchsten Vorhersagewert für eine okkulte Metastasierung bei NSKZT ist.

Der Nutzen der vaskulären Invasion als prognostischer Marker im klinischen Stadium I des nichtseminomatösen Keimzelltumors wurde erstmals im Rahmen einer retrospektiven Surveillance-Studie durch Peckham et al. beobachtet. Diese Autoren bemerkten, daß 6 von 8 Patienten, die eine vaskuläre Invasion oder lymphatische Invasion hatten, einen Rückfall erlitten, während lediglich 5 von 19 Patienten ohne dieses Merkmal den entsprechenden Verlauf zeigten (Peckham et al. 1983)

Die Studien zu diesem Risikofaktor wurden getrennt für prospektiv/ retrospektiv und retroperitoneale Lymphadenektomie (RPLND)/ Surveillance dargestellt. Bei der RPLND diente hierbei der Grad der okkulten Metastasierung als abhängige Variable, während bei der Überwachungsstrategie ohne weitere Therapie die Rezidivrate die abhängige Variable darstellte. Betrachtet man die Tabellen für retrospektive sowie prospektive Studien, so waren sowohl für retrospektive Studien als auch für prospektive Studien sowie für Studien mit RPLND oder Surveillance die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen („mit VI“ versus „ohne VI“) immer deutlich und statistisch signifikant (Tabelle 3 bis Tabelle 6).

Im Rahmen der Metaanalyse der prospektiven Surveillance Studien (Hoskin et al. 1986, Freedmann et al. 1987, Dunphy et al. 1988, Sturgeon et al. 1992, Gels et al. 1995, Ondrus et al. 1999, Albers et al. 1999, Spermon et al. 2002) konnte gezeigt werden, dass ein Relapse der Erkrankung bei 32% (208/643) der Patienten mit vaskulärer Invasion und nur bei 19% (53/275) der Patienten ohne vaskuläre Invasion innerhalb von 2 Jahren festgestellt wurde.

In retrospektiven Surveillance Studien (Hoeltl et al. 1987, Chraibi et al. 1988, Albers et al. 1995, Alexandre et al. 2001), waren Patienten mit vaskulärer Invasion (53%) signifikant deutlich häufiger von einem Rezidiv betroffen als Patienten ohne vaskuläre Invasion (28%). Diese Unterschiede können auch als Odds Ratio ausgedrückt werden. Hierdurch wird ausgedrückt um wieviel wahrscheinlicher das Auftreten eines Rezidivs bzw. einer okkulten Metastasierung ist, wenn ein Nachweis von vaskulärer Invasion vorliegt. Hierbei ergeben sich als Zusammenfassung in Tabelle 7, dass die Odds ratio für beide Endpunkte (Rezidiv in Surveillancestudien, bzw. okkulte Metastasierung in RPLND Studien) ähnlich hoch ist: für Surveillancestudien 4,62 und für RPLND Studien 5,12.

Der Anteil an Patienten, bei denen im Rahmen der RPLND eine okkulte Metastasierung gefunden wurde, ist deutlich niedriger, als der Anteil der Patienten in Surveillanceprogrammen bei denen es im Laufe der Zeit zu einem Rezidiv kam. In prospektiven RPLND Studien (Fujime et al. 1984, Sesterhen et al. 1992, Spermon et al. 2002) zeigte

sich eine etwas geringere Häufigkeit der okkulten Metastasierung im Vergleich zu den Rezidivzahlen der prospektiven und retrospektiven Surveillance Studien. Von den 578 prospektiv untersuchten Patienten die sich einer RPLND unterzogen (Fujime et al. 1984, Sesterhenn et al. 1992, Spermon et al. 2002), wurden bei 35% (73/105) mit vaskulärer Invasion, verglichen mit 11% ohne vaskuläre Invasion, eine okkulte Metastasierung festgestellt. Auch in retrospektiven RPLND Studien (Moriyama et al. 1985, Fung et al. 1988, Hermans et al. 2000) blieben die Zahlen für okkulte Metastasierung etwas geringer als die Rezidivraten in Surveillance Studien. So hatten 43% (50/115) der Patienten mit vaskulärer Invasion und nur 12% (14/120) der Patienten ohne vaskuläre Invasion in RPLND Studien eine okkulte Metastasierung in Vergleich zu 53% (50/94) der Patienten mit vaskulärer Invasion und 28% (29/103) der Patienten ohne vaskuläre Invasion in retrospektiven Surveillance Studien. Dieser Unterschied in den berichteten Metastasierungsraten kann durch die Metastasierung außerhalb des Operationsgebiets des Retroperitonealraums erklärt werden. Hierdurch werden bei einer RPLND nicht alle Metastasierungen erfasst, so entgehen die rein pulmonal okkult metastasierten Patienten der Detektion durch die RPLND (Read et al. 1992).

Als Risikofaktoren für die okkulte Metastasierung im Stadium I der NSKZT hat sich somit die histopathologisch nachgewiesene vaskuläre Invasion des Tumors im Primärpräparat beweisen lassen. Daher wurden eine high-risk-Gruppe mit vaskulärer Invasion und eine low-risk-Gruppe ohne vaskuläre Invasion definiert. Eine risikoadaptierte Therapie ist heute Standard in der Therapie der NSKZT im CSI.

Die risikoadaptierte Therapie stellt heute die „Surveillance“ für die low-risk-Gruppe dar, während die high-risk-Gruppe mit 2 Zyklen PEB adjuvant therapiert wird. Die RPLND soll nur noch bei Patienten vorgenommen werden, bei denen diese Optionen kontraindiziert sind oder nicht sinnvoll erscheinen (Schmoll 2004, Albers 2005). Hier können medizinische Gründe vorliegen oder auch soziale Komponenten eine Rolle spielen, wie z.B. die Erwartung einer schlechten Compliance bei Arzt oder Patient (Pottek 2004).

Trotz der eindeutigen Datenlage zur Bedeutung der vaskulären Invasion sind Detailfragen noch strittig. So ergeben sich zwei ungeklärte Punkte bei der „vaskulären Infiltration“:

1. Hohe untersucherabhängige Variabilität bei der Identifikation einer vaskulären Infiltration.
2. Kommt der venösen oder der lymphatischen Infiltration eine höhere prognostischen Relevanz zu.

Das Hauptproblem der frühen Studien, das sich auch für einige der erst kürzlich durchgeführten Studien stellt, ist das Fehlen einer klaren Definition der vaskulären Invasion. Wichtig ist es, zwischen Artefakten und tatsächlicher Gefäßbeteiligung zu unterscheiden. Finden sich nur wenige Tumorzellen innerhalb des Gefäßlumens oder hat der Zellverband keinen Kontakt zur Gefäßinnenwand, so handelt es sich um ein Artefakt (Hoeltl et al. 1987). Für die Invasion sprechen 2 Befunde: Adhäsion eines Tumorzellverbandes am

Endothel und die „Verstopfung“ eines mit Endothel ausgekleideten Lumens durch Tumorzellen und einige Erythrozyten (Blutgefäß) bzw. Lymphozyten (Lymphgefäß) (Hedinger 1981).

Beispielhaft zeigten Sesterhenn et al. in ihrer Studie die grundlegende Problematik: Pathologen von Hodentumorzentren und von peripheren Krankenhäusern kamen bei der Identifikation histologischer Entitäten und vaskulärer Invasion zu signifikant unterschiedlichen Ergebnissen (Sesterhenn et al. 1992).

Wie können die vorliegenden Studien, dann doch zu einem so eindeutigen Ergebnis bezüglich der Bedeutung dieses Risikofaktors kommen?

In allen Studien war entweder eine gesonderte Schulung der Pathologen vorausgegangen bzw. es wurde wie in der Hodentumordiagnostik erfahrener Referenzpathologe eingesetzt. Es ist auch davon auszugehen, dass die reihenhafte Beurteilung durch die beteiligten Pathologen dazu führte, dass die vaskuläre Invasion in diesen Studien zuverlässiger beurteilt wurde, als dies der Fall ist, wenn der Pathologe nur gelegentlich mit einer solchen Fragestellung konfrontiert wird. Wir können daher nur schlussfolgern, dass die Bewertung dieses wichtigen Parameters in einer Referenzpathologie erfolgen sollte bzw. von einem in der Hodentumordiagnostik erfahrenen Pathologen beurteilt werden sollte.

Ein zweiter Punkt ist die Unterscheidung zwischen lymphatischer und Blutgefäßinvasion und deren Bedeutung. Insbesondere besteht Unklarheit, ob venöser und lymphatische Invasion jeweils allein oder in Kombination verwendet werden sollen und auch, ob die lymphatische Invasion überhaupt diagnostiziert werden soll (Pont et al. 1990).

Auch wenn die Mehrzahl von Studien (Spermon et al. 2002; Ondrus et al. 1999; Sturgeon et al. 1992; Albers et al. 1999; Chraibi et al. 1988; Sesterhenn et al. 1992; Fujime et al. 1984; Moriyama et al. 1985; Kratzik et al. 1996; Hermans et al. 2000; Porcaro et al. 2001) die venöse und lymphatische Invasion als „Gefäßinvasion“ zusammenfaßten, versuchten 2 Gruppen venöse und lymphatische Invasion zu differenzieren: In retrospektiven Studien von Alexandre et al. 2001 und Hoeltl et al. 1987 war nur die venöse Invasion mit einem signifikant höheren Progreßrisiko verbunden. Dagegen war die lymphatische Invasion in den prospektiven Studien von Hoskin et al. 1986 und Dunphy et al. 1988 wichtiger als die venöse Invasion. In der Studie von Dunphy et al. hatten 62% (16/26) der Patienten mit lymphatischer Invasion Metastasen und nur 18% (12/67) der Patienten ohne lymphatische Invasion Metastasen. In der multiplen Regressions-Analyse in der Studie von Hoskin et al. 1986 wurde gezeigt, dass nur Histologie und lymphatische Invasion signifikante unabhängige prognostische Faktoren waren (Hoskin et al. 1986).

Der Lymphgefäßeinbruch, der im Besonderen von Hoskin et al. und Dunphy et al. als statistisch signifikanter Risikofaktor dargestellt wurde (Hoskin 1986, Dunphy 1988), ist nach Ansicht zahlreicher Pathologen ein kritisch zu bewertender Faktor. Im präkapillären Bereich ist das Lymphgefäß als solches am pathohistologischen Präparat außerordentlich schwierig zu erkennen. Ist die Unterscheidung oder Trennung zwischen Blut- und Lymph-

gefäße nicht möglich wird von „Gefäßinvasion“ gesprochen (Sesterhenn et al. 1992). Eine Gefäßinvasion ist nur dann gegeben, wenn zweifelsfrei intraluminär Tumorzellthromben oder endotheladhärente Tumorzellen nach Invasion darstellbar sind. Im Zweifel sollte das Endothel mit Faktor-VIII oder CD31 immunhistochemisch markiert werden (Albers 1997). Damit ist die praktische Anwendbarkeit der getrennten Auswertung von lymphatischer und venöser Invasion weiterhin unklar und die Datenlage bezüglich der prognostischen Wertigkeit nicht eindeutig belegt, so dass derzeit eine Zusammenfassung als „vaskuläre Invasion“ praktikabel und gerechtfertigt erscheint.

Trotz der noch immer bestehenden Kontroversen in der Diagnostik eines Gefäßeinbruchs durch Tumorzellen, stellt die vaskuläre Invasion also mittlerweile einen etablierten und akzeptierten Risikofaktor für eine okkulte Metastasierung dar. In der klinischen Praxis kommt dieser Parameter als Grundlage für eine risikoadaptierte Therapie, vor allem in den niedrigen Tumorstadien des NSKZT zum Einsatz.

Damit hat dieser Parameter auch als einziger Eingang in die 1997 revidierte TNM-Klassifikation gefunden.

4.1.2 Embryonalkarzinome (Vorhandensein und prozentualer Anteil Embryonalkarzinom) als signifikante unabhängige Prognosefaktoren

Welche Rolle spielen andere Prognoseparameter einzeln oder in Kombination mit der vaskulären Invasion bei der Vorhersage einer okkulten Metastasierung?

Die Metaanalyse konnte die Bedeutung eines Embryonalkarzinom-Anteiles im Primärtumor als prognostisch ungünstigen Faktor bei nichtseminomatösen Keimzelltumoren im klinischen Stadium I zeigen. Einige Studien untersuchen hierbei ausschließlich das Vorhandensein versus das Nicht-Vorhandensein ohne quantitative Untersuchungen anzustellen (Dunphy et al. 1988, Hermans et al. 2000, Sweeney et al. 2000), während in anderen Studien der Anteil des Embryonalkarzinoms am Gesamttumor untersucht und ein Cut-off definiert wird, der meist bei 50% angesiedelt ist (Albers et al. 1999, Spermon et al. 2002). Dunphy et al. konnten bereits 1988 in einer zwar kleinen, aber prospektiven Surveillance Studie durch Multivarianzanalyse die Bedeutung der Embryonalkarzinome für ein Wiederauftreten der Erkrankung bei Nachuntersuchungen bestätigen (Dunphy et al. 1988). Hier hatten 35% (28/81) der Patienten mit Nachweis eines Embryonalkarzinom-Anteiles im Primärtumor ein Rezidiv. Wie hoch die Rezidivrate bei Fehlen von Embryonalkarzinom war, wurde leider nicht angegeben. In den retrospektiven Studien mit RPLND Intervention von Hermans et al. 2000 und Sweeney et al. 2000 konnte gezeigt werden, dass das Vorhandensein eines Embryonalkarzinom in nichtseminomatösen Mischtumoren im klinischen Stadium I mit einem höheren Risiko für okkulte Metastasierung einhergeht. 21% (36/170) der Patienten mit Embryonalkarzinom hatten im Vergleich zu 4% (9/233) der Patienten ohne Embryonalkarzinomanteile in Mischtumoren ein höheres Risiko für eine okkulte Metastasierung. (Hermans et al. 2000, Sweeney et al. 2000)

Wishnow et al. 1989 waren die ersten, die eine quantitative Analyse mit Prozentangaben des Embryonalkarzinomgewebes (%EMB) durchführten. In ihrer Studie mit 82 untersuchten Patienten waren mehr als 80% Embryonalkarzinomgewebe, vaskuläre Invasion und Alpha-Fetoprotein-Spiegel von >80 ng/dl vor der Orchiektomie wichtige prognostische Faktoren für ein Rezidiv (Wishnow et al. 1989). Wenn keiner dieser Faktoren vorhanden war (n=30) trat kein Rezidiv auf. Wenn einer oder mehrere davon vorhanden waren (n=52), lag die Rezidivrate bei 46%. Obwohl dieses ein interessanter Studienansatz war, fehlten ihr jedoch multivariante statistische Analysen, die die Beziehungen der einzelnen prognostischen Faktoren zueinander untersuchten.

In den drei retrospektiven Studien von de Riese et al. 1994, Albers et al. 1995, Heidenreich et al. 1998 zeigte sich, dass der prozentuale Anteil Embryonalkarzinoms am Gesamtumorvolumen die prognostische Aussage signifikant verbessern kann. Die Cut-off-Werte dieses Parameters lagen zwischen 45 und 50%. Lag der prozentuale Anteil Embryonalkarzinoms wie in der Studie von Heidenreich et al. 1998 unter 45% (n=77/149), so wurden 88% dieser Patienten korrekt dem pathologischen Stadium I zugeordnet.

In den neueren prospektiven Surveillance Studien (Albers et al. 1999, Spermon et al. 2002) konnte gezeigt werden, dass ein prozentualer Anteil des Embryonalkarzinoms von <50% des Gesamt Tumors als prognostisch günstig einzustufen ist. So hatten 34% (54/158) der Patienten mit dem prozentualen Anteil Embryonalkarzinom >50% und nur 19% (11/57) der Patienten mit einem prozentualen Anteil <50% ein Rezidiv (Tabelle 8).

Die vorliegende Metaanalyse retrospektiver und prospektiver Arbeiten konnte zeigen, dass neben der vaskulären Invasion der prozentuale Anteil Embryonalkarzinom von >50% ein weiterer, prognostisch ungünstiger Risikofaktor ist. Die Odds ratio (d.h. das Wahrscheinlichkeitsverhältnis von Wahrscheinlichkeit eines Rezidivs / einer okkulten Metastasierung bei Vorliegen eines Embryonalkarzinoms versus die Wahrscheinlichkeit eines Rezidivs / einer okkulten Metastasierung ohne Vorliegen eines Embryonalkarzinoms) waren in unserer Metaanalyse bei prospektiven Studien bei 2,17 (siehe Tabelle 8), während die Odds ratio bei retrospektiven Arbeiten mit 6,69 deutlich höher lag (siehe Tabelle 9). Über die Gründe für diesen Unterschied kann man spekulieren. Er könnte unter Umständen damit erklärt werden, dass die prospektiven Studien den Tumor vollständiger aufarbeiteten, als dies bei retrospektiven Studien der Fall war. Unter Umständen waren auch den untersuchenden Pathologen bei retrospektiven Studien das weitere Schicksal der Patienten bekannt, so dass sie bei Patienten mit Rezidiv bzw. bekannter okkulter Metastasierung (bei den RPLND Patienten) das Untersuchungsmaterial genauer auf das Vorliegen eines EC untersuchten. Dieser Risikofaktor hat noch keine Aufnahme in die Empfehlung des neuesten Konsensuspapiers gefunden (Schmoll 2004). Ihm scheint jedoch eine große Bedeutung in der Vorhersage einer okkulten Metastasierung zuzukommen, wobei allerdings die Gewichtung im Vergleich zur vaskulären Invasion zu definieren bleibt.

4.1.3 Vaskuläre Invasion (venöse und/oder lymphatische Invasion) als Prognosefaktor in Kombination mit anderen Faktoren

Das Ziel der Evaluierung von Prognosefaktoren für die nichtseminomatösen Hodentumoren besteht im wesentlichen in der frühzeitigen Identifizierung von Patienten mit oder ohne retroperitoneale Metastasierung zur Bestimmung der sinnvollsten Therapiemodalität unter Abwägung von therapeutischer Sicherheit und möglichen Nebenwirkungen.

Prognosemodelle mit Kombination mehrerer Faktoren wurden von verschiedenen Arbeitsgruppen entwickelt, um okkulte Metastasen im klinischen Stadium I bei NSKZT mit einer höheren Wahrscheinlichkeit vorherzusagen als dies durch Einzelfaktoren möglich ist. Alle Kombinationen müssen sich dabei mit dem derzeitigen Goldstandard, der vaskulären Infiltration messen, die bei Fehlen, sog. low-risk-Tumor, nur in 14-22% einer okkulten Metastasierung einhergeht, bei Vorliegen aber in 48%. Eine große, prospektive Studie, die mehrere dieser Prognosemodelle vergleicht, fehlt hierbei. Die in den Einzelstudien angegebenen Vorhersagewerte sind nicht vergleichbar, da sich aus den angegebenen Daten keine einheitlich positiven oder negativen Werte errechnen lassen.

Daher wurde anhand der vorhandenen Datenlage versucht, Kombinationen zu identifizieren die in weiterführenden prospektiven Studien geprüft werden sollten.

4.1.3.1 Studien mit vaskulärer (venöser und/oder lymphatischer) Invasion in Kombination mit Vorhandensein von Embryonalkarzinom ohne Angabe eines Cut-off-Wertes

Die Studien von Javadpour et al. 1986, Hoskin et al. 1986, Dunphy et al. 1988, Sogani et al. 1998 und Sweeney et al. 2000 untersuchten die Kombination vaskuläre Invasion (venöse und/oder lymphatische Invasion) mit Embryonalkarzinom. Auf den prozentualen Anteil des Embryonalzellkarzinoms am Gesamttumor wird hier keine Rücksicht genommen. Die Ergebnisse zeigten, dass vaskuläre Invasion und das gleichzeitige Vorhandensein von Embryonalkarzinom prädiktiv für ein erhöhtes Risiko einer okkulten Metastasierung sind.

In ihren retrospektiven Studien identifizierten Hoskin et al. sowie Dunphy et al. mittels Multivarianzanalyse Gefäßinvasion und Embryonalkarzinom als signifikante Risikofaktoren für einen Relapse. Bei Nachweis beider Komponenten im Primärtumor betrug das Rezidivrisiko jeweils 80% bzw. 64%.

In der prospektiven Surveillance Studie von Sogani et al. 1998 konnte gezeigt werden, dass die Anwesenheit von vaskulärer Invasion innerhalb des Primärtumors und das gleichzeitige Vorhandensein von Embryonalkarzinom wichtige Risikofaktoren für einen Rezidiv sind. Während mit dem Einzelparameter ein Rezidiv in 46% (EC) bzw. 60% (VI) vorhergesagt werden konnte, konnte mit der Kombination in 71% ein Rezidiv vorhergesagt werden. Das Fehlen beider Risikofaktoren ging nur mit einer 12%igen Rezidivwahrscheinlichkeit einher, wohingegen das Fehlen eines Risikofaktors immer noch mit 19% (EC) bzw. 17%ige (VI) Rezidivwahrscheinlichkeit bedingte. Diese Daten zeigten, dass bei Patienten ohne Nachweis von vaskulärer Invasion und ohne Nachweis eines Embryonal-

karzinom bei fast 90%iger Sicherheit eine Surveillance Strategie rechtfertigen würde. Für diese Patienten war die Rezidivrate während der Surveillance mit Langzeit-Nachverfolgung (Median 11,3 Jahre) nur 12%, d.h. für fast 90% könnte eine Übertherapie (adjuvante Chemotherapie oder RPLND) vermieden werden. Die Kombination scheint besonders für die Vorhersage einer low-risk-Gruppe attraktiv zu sein. Das Fehlen beider Risikofaktoren (vaskuläre invasion und Embryonalkarzinom) geht mit 90% iger Vorhersagekraft mit dem Fehlen einer okkulte Metastasierung einher gegenüber 40-70% bei Embryonalkarzinom und 78-85% bei vaskulärer Invasion.

Auch in der retrospektiven RPLND Studie von Sweeney et al. 2000, führte die Kombination von EC und VI zu einer deutlichen Verbesserung der Vorhersage von okkulten Metastasierung. Das Vorhandensein beider Risikofaktoren war in 62% mit einer okkulten Metastasierung assoziiert.

Auch wenn die nützliche prognostische Wirkung von vaskulärer Invasion noch einmal bestätigt wurde, stellt sich die Kombination aus vaskulärer Invasion und gleichzeitigem Vorhandensein von Embryonalkarzinom als wichtige Risikofaktorenkombination dar, um low- und high –risk Patienten mit NSKZT im Stadium I voneinander zu trennen. Allerdings, ist die Anzahl der Patienten die in prospektiven Studien untersucht wurde, immer noch sehr gering, so dass dringend große, prospektive Studien den Wert dieser Risikofaktorenkombination untersuchen sollten. Es bleibt die Frage offen, ob die Verbesserung der Prädiktion wirklich signifikant größer ist, als wenn nur die vaskuläre Invasion in Betracht gezogen wird.

4.1.3.2 Studien mit vaskulärer Invasion und prozentualer Angabe des Embryonalkarzinoms

In einer retrospektiven Studie zeigten Moul et al. 1994, dass der prozentuale Anteil an Embryonalkarzinom und das Vorhandensein einer vaskulären Invasion in Kombination in der Multivarianzanalyse im Vergleich zu anderen Faktoren (Teratom, Dottersackkarzinom und Seminom) die einzigen unabhängigen signifikanten Risikofaktoren waren. Beide Faktoren waren imstande eine okkulte Metastasierung (high-risk-Gruppe) in 85,9% der Fälle korrekt vorherzusagen. In dieser Studie von Moul et al. waren die Berechnung vom Prozentsatz von Embryonalkarzinom (%EC zwischen <50% und >50%) und die Beurteilung mit An-/Abwesenheit von vaskulärer Invasion die zwei ausschlaggebenden Faktoren. Die logistische Regression (Modell) benutzt diese zwei Variablen und stellt damit Ergebnisse klinisch und nützliche Wahrscheinlichkeiten für okkulte Metastasierung dar. Aufgrund der relativ geringen Patientenzahl und der Komplexität des Rechenmodells konnte sich dieses aber noch nicht im klinischen Alltag durchsetzen.

In der retrospektiven Studie von Heidenreich et al. 1998, ließ die Anwendung verschiedener Cut-off-Werte für %EC in Kombination mit dem Nachweis einer vaskulären Invasion die Entwicklung individueller Risikoprofile zu, mit Hilfe derer das pathologische Stadium korrekt vorhergesagt werden konnte. Lag der %EC im Primärtumor über 80% und fand sich zudem eine vaskuläre Invasion, wurde das pathologische Stadium II (high-risk-Gruppe) in 87% der Fälle korrekt vorhergesagt. Betrag der %EC im Primärtumor weniger

als 45% und konnte der Nachweis einer vaskulären Invasion nicht geführt werden, konnten 92% der Patienten korrekt in das pathologische Stadium I (low-risk-Gruppe) klassifiziert werden (Heidenreich et al. 1998).

Aufgrund der relativ geringen Patientenzahl in Einzelstudien (retrospektiv und prospektiv) und der Komplexität der verschiedenen Modelle mit unterschiedlichen Cut-off-Werten hat sich das Modell vaskuläre Invasion und prozentualer Anteil Embryonalkarzinom trotz guter Vorhersagekraft – insbesondere für die Vorhersage einer low-risk Gruppe – und somit eine risikoadaptierte Therapie noch nicht im klinischen Alltag durchgesetzt. Hier fehlen ebenfalls große multizentrische Studien, die insbesondere die low-risk Gruppe unbehandelt lassen könnten (reine Surveillance Strategie). So zeigt die Zusammenfassung der vorliegenden retrospektiven Studien, dass in der low-risk Gruppe (keine VI und Fehlen von EC) 84% richtig vorhergesagt werden können (Tabelle 10). Die vorliegenden prospektiven Studien sind zu klein, als dass derzeit daraus eine Aussage getroffen werden könnte.

4.1.3.3 Studien mit vaskulärer Invasion, fehlenden Teratomanteilen und anderen weiteren Faktoren

Der sog. „Freedman-Score“ (Blut- und Lymphgefäßinvasion, Vorhandensein undifferenzierter Tumoranteile, fehlende Dottersackstrukturen) wurde als erster Kombinationsscore prospektiv bei über 360 Patienten evaluiert (Read et al. 1992). Bei relativ guter Vorhersage einer Low-risk-Gruppe (Rezidivrisiko etwa 20%) konnte eine Metastasierung durch diesen Score nur bei etwa 50% der Patienten vorhergesagt werden. Die Kombination oder das Vorhandensein von diesen verschiedenen Faktoren im Primärtumor zeigte im Vergleich mit vaskulärer Invasion allein keine verbesserte Vorhersagekraft.

Weitere Studien beschäftigen sich mit anderen Kombinationen die kaum in einer prospektiven Studie validiert wurden. So konnten Fung et al. 1988 in einer retrospektiven Studie zeigen, dass drei histopathologische Merkmale statistisch mit Lymphknotenmetastasen (N+) korrelierten: die vaskuläre (venöse und/oder lymphatische) Invasion, der Teratom-Anteil und das pathologische T-Stadium. Das T-Stadium war ein Maß für das Eindringen des Tumors in benachbarte Gewebe ohne die Berücksichtigung der vaskulären Invasion. Unter den Patienten ohne einen der drei Risikofaktoren wiesen 8% (1/12) eine Lymphknotenmetastasierung auf, unter jenen mit allen drei Faktoren hatten 23% (7/30) Lymphknotenmetastasen. Die Autoren zeigten, dass die Anzahl von Risikofaktoren zur Einteilung der Patienten in low-risk, intermediate und high-risk Gruppen genutzt werden könnte. Bei einem Cut-off-Wert von < 50% fand sich ein pathologisches Stadium II bei 44% der Patienten, betrug der Teratomanteil mehr als 50%, fanden sich bei nur 11% der Patienten positive Lymphknoten im Rahmen der retroperitonealen Lymphadenektomie. D.h. je größer der Teratomanteil, desto geringer war das Risiko für eine retroperitoneale Metastasierung. Die Anwesenheit von Teratomanteilen deutet auf einen günstigen Verlauf bei NSKZT im CSI hin, ist allerdings in der Vorhersagekraft nicht besser als die vaskuläre Invasion.

In einer prospektiven Studie, fanden Klepp et al. 1990 dagegen, dass bei Nachweis von nur Teratom im Primärtumor ein pathologisches Stadium I in 71%, bei Fehlen teratomatöser Differenzierungen in nur 45% der Fälle betrug. Die vaskuläre Invasion und Abwesenheit von Teratom-Elementen waren wichtige Risikofaktoren für eine okkulte Metastasierung (Klepp et al. 1990). Auch in dieser Studie konnte durch eine Kombination der Risikofaktoren keine Verbesserung der Vorhersagekraft gegenüber der vaskulären Invasion als alleiniger Risikofaktor erzielt werden.

Moul et al. 1994 stellten fest, dass der prozentuale Anteil des Teratoms ein signifikanter Prädiktor für eine okkulte Metastasierung bei der RPLND oder für ein Rezidiv in der Univarianz-Analyse war. Jedoch blieben nur die vaskuläre Invasion und der prozentuale Anteil Embryonalkarzinom auch in der Multivarianz-Analyse signifikant. Die Autoren zeigten, dass die Quantifizierungen zellulärer Elemente des NSKZT zusammenhängen. Je höher zum Beispiel der Anteil embryonaler Elemente ist, desto geringer muss die Teratom Anteile sein. Da der prozentuale Anteil Embryonalkarzinom wichtig ist, eliminiert die Multivarianz-Analyse komplementäre Faktoren, wie das Teratom (Moul et al. 1994).

Mit der Verwendung von zwei unabhängigen Prognosefaktoren - vaskuläre Invasion und reifes Teratom - wurde, in einer retrospektiven Studie von Alexandre et al. 2001 Patienten in drei Gruppen eingeteilt: Patienten mit reifem Teratom, aber keine VI wurden in die low-risk-Gruppe eingestuft, keiner von diesen Patienten hatte ein Rezidiv. Patienten mit vaskulärer Invasion und ohne reifes Teratom, wurden in die high-risk-Gruppe eingeteilt; 60% von diesen hatten ein Rezidiv. Patienten mit - vaskulärer Invasion und reifem Teratom -, und Patienten ohne vaskuläre Invasion und reifes Teratom, hatten in 29% ein Rezidiv. In dieser Studie war die Anwesenheit von einem reifen Teratom im Hodentumor der zweitwichtigste Parameter nach der vaskulären Invasion und beide Parameter konnten eine Untergruppe von Patienten mit einem sehr niedrigen Risiko für ein Rezidiv identifizieren, die ungefähr 1/3 der Patienten mit NSKZT im Stadium I ausmachten (Alexandre et al. 2001). Allerdings handelte es sich bei dieser Studie um eine begrenzte Anzahl an Patienten (n=84). Hier wäre eine große Studie, die auch die Kombination mit dem embryonalen Karzinom untersucht wünschenswert.

4.1.3.4 Einzelstudie mit Vielfachkombination

Andere Autoren haben versucht mit neuen Kombinationen, anhand verschiedener Merkmale des Primärtumors, Metastasen vorherzusagen. Als wichtigste Risikofaktoren für diese Prognosemodelle kristallisieren sich die vaskuläre (venöse und/oder lymphatische) Invasion, das Embryonalkarzinom und der immunhistochemische Proliferationsmarker MIB-1 heraus.

In ihrer prospektiven Studie, untersuchten Gels et al. 1995 die Häufigkeit und die Zeit bis zum Auftreten eines Rezidiv und die Anwesenheit von ungünstigen Prognosefaktoren. Alle Rezidivfälle wurden innerhalb von 2 Jahren entdeckt, 90% im ersten Jahr nach Orchiektomie. Ein Rezidiv war mit der Anwesenheit von vaskulärer Invasion, Embryonalkarzinom, erhöhtem präoperativen hCG-Wert und Abwesenheit vom reifen Teratomen verbunden. Nur die vaskuläre Invasion war ein unabhängiger Risikofaktor. Die vaskuläre

Invasion war wesentlich häufiger in der Rezidiv-Gruppe als in der nicht Rezidiv-Gruppe vorhanden (45,2% versus 15,2%).

In einer anderen prospektiven Studie, zeigten Albers et al. 1995 dagegen, dass ein geringeres absolutes Volumen an Embryonalzellkarzinom im Primärtumor und ein niedriger Proliferationswert (MIB-1) Patienten identifizieren können, die nahezu kein Risiko für eine okkulte Metastasierung trugen. Bei einem MIB-1 Anteil von $< 80\%$ und einem Embryonalkarzinom-Volumen < 2 ml hatten 93% der Patienten keine okkulte Metastasierung.

In einer weiteren prospektiven Studie von Albers et al. 2003, wurden 165 Patienten mit einem NSKZT im klinischen Stadium I einer primären RPLND unterzogen. Nach Uni- und Multivarianzanalyse stellte die Kombination aus fehlende vaskulären Invasion in Kombination mit einem MIB-1-Score $\leq 70\%$ mit einem positiven Vorhersagewert von 86% den besten Prognosefaktor für das Vorliegen eines pathologischen Stadiums I dar. Mit dieser Kombination (vaskuläre Invasion und MIB-1 $\leq 70\%$) scheint es möglich bei Patienten mit einem NSKZT im klinischen Stadium I eine low-risk-Gruppe mit $> 80\%$ iger Wahrscheinlichkeit zu identifizieren. Dagegen stellte sich bezüglich der Vorhersage okkult systemischer Metastasen und damit des pathologischen Stadium II die Kombination von vaskulärer Invasion, MIB-1-Score $\geq 70\%$ und prozentualer Anteil Embryonalkarzinoms $> 50\%$ mit einem positiven Vorhersagewert von 64% den besten prädiktiven Risikofaktor dar (Albers et al. 2003).

In Zusammenschau der vorliegenden Daten konnte die prognostische Aussagekraft durch Kombinationen aus vaskulärer Invasion mit anderen Risikofaktoren in einigen Studien verbessert werden. Zur Verbesserung der risikoadaptierten Therapie scheinen die Kombinationen aus vaskulärer Invasion mit Embryonalkarzinom und MIB-1 vielversprechend zu sein. Weitere prospektive Untersuchungen sollten diese Parameter untersuchen, um das Risiko einer Übertherapie noch weiter zu senken.

4.2 Klinische Faktoren

4.2.1 Tumormarker

Kann man aus der präoperativen Höhe der Tumormarker Rückschlüsse auf die Metastasierung ziehen?

Serienmessungen von AFP und β -HCG sind in Diagnose, im Staging, Überwachung der Therapie und Feststellung von Rezidiven nützlich. Sehr häufig zeigt sich ein Rezidiv, noch bevor es durch Bildgebung erfasst werden kann, durch Erhöhung der Tumormarker AFP, β -HCG und LDH. Das Markerprofil kann sich ändern, weil einerseits die Markerhöhe von der Tumormasse abhängig ist und andererseits auch das histologische Muster zwischen Primärtumor und Rezidiv Änderungen erfahren kann (Pottek und Dieckmann 2005).

Bei der Mehrzahl der nichtseminomatösen Hodentumoren stehen AFP und β -HCG im Serum als leicht messbare Parameter vor Therapie und zur Beurteilung des Therapiean-

sprechens zur Verfügung. Es war daher naheliegend, dass von verschiedenen Arbeitsgruppen die präoperative β -HCG und AFP Konzentration oder auch deren postoperativer Abfall auf prognostische Signifikanz hin untersucht wurde.

In der prospektiven Studie von Gels et al. 1995 wurden vor der Orchiektomie erhöhte Werte von einem oder beiden Serum-Tumormarkern bei 93 Patienten (60.4%) gefunden. 9 dieser Patienten entwickelten Rezidive, während 6 Patienten (14.3%), die normale Serum-Tumormarker-Werte vor der Orchiektomie hatten, kein Rezidiv entwickelten .

In ihrer retrospektiven Studie, untersuchten Saxman et al. 1996 Patienten mit NSKZT im klinischen Stadium I die anhaltende erhöhte Serum- humanes Choriongonadotropin und / oder AFP-Level nach Orchiektomie hatten. 83% der Patienten mit AFP und / oder β -HCG Erhöhung hatten im Verlauf einen Progreß, während nur 25% mit einer alleinigen β -HCG-Erhöhung einen Progreß hatten. Für die Autoren sind AFP und β -HCG von Nutzen sowohl für die Überwachung von Patienten unter Chemotherapie als auch für die Entdeckung von frühen Rückfällen nach der Chirurgie oder Chemotherapie (Saxman et al.1996).

Die Bedeutung der Höhe des präoperativen AFP-Spiegels wurde in einer Reihe von Studien (Hoskin et al. 1986, Fung et al. 1988, Klepp et al. 1990, Saxman et al. 1996, Rabbani et al. 2001) nach Ablation testis und RPLND untersucht. Fung et al. 1988 fanden keinen Zusammenhang zwischen AFP vor Orchiektomie und dem Risiko okkulten Metastasen in RPLND. Im Vergleich zu den anderen Studien fanden Klepp et al. 1990 AFP als einen prognostisch signifikant günstigen Prädiktor in der Univarianz- sowie in der Multivarianz-Analyse. In der Studie waren okkulte Lymphknotenmetastasen bei 37/92 (40,2%) mit normalem AFP-Spiegel, aber nur bei 20/108 (18,5%) Patienten mit erhöhten AFP-Konzentrationen nachweisbar. Auch in der Multivarianzanalyse waren präoperativ erhöhte AFP-Konzentrationen signifikant mit einem geringeren Risiko retroperitonealer Metastasen assoziiert (Klepp et al .1990).

Die Assoziation von AFP-Serumkonzentrationen im klinischen Stadium CS I mit einem prognostisch günstigen Verlauf werden mit dem Ursprung des AFP erklärt. Das AFP stammt in den meisten Fällen aus Dottersacktumorseiten, die eine günstigere Prognose haben (Klepp et al. 1990). Werden allerdings sehr hohe AFP-Konzentrationen gemessen, dann befinden sich diese Patienten meist nicht mehr im klinischen Stadium CSI, so dass hier die ansteigende Höhe mit einer schlechteren Prognose (da höhere Tumormasse) einhergeht.

4.3 Molekulare Faktoren

Marker aus der molekularbiologische Grundlagenforschung bei Hodentumoren sind nur in kleinen, meist retrospektiven Studien untersucht. Eine Bestätigung durch große, prospektive Studien fehlt.

4.3.1 Ki-67-Antigen/MIB-1

MIB-1 – auch Ki-67 genannt - ist ein nukleärer Proliferationsmarker, der während des Zellzyklus vom Beginn der späten G1-Phase bis zur M-Phase mit Ausnahme der G0-Phase exprimiert wird.

Die Analyse der biologischen Zellproliferationsrate durch MIB-1-Antikörper zeigte signifikante Unterschiede zwischen Patienten im pathologischen Stadium I und Stadium II. Mit der Anwendung eines Cut-off von 80% von positiven gefärbten Tumorzellen, wurden in einer prospektiven Studie von Albers et al. 1995, 19 von 25 Patienten (79%) mit pathologischem Stadium II als high-risk richtig klassifiziert. Die Klassifizierung von Patienten bei low-risk (MIB-1 ≤ 80%), war jedoch in nur 60% von Patienten mit pathologischem Stadium I richtig. Weitere Analysen zeigten, dass mit einem Cutoff-Wert von 42% (d.h. Patienten, bei denen im Resektat weniger als 42% der Zellen sich mit MIB-1 anfärbten) kein Patient eine okkulte Metastasen aufwies (Albers et al. 1995).

In den retrospektiven Arbeiten von McLeod et al. 1996 und Heidenreich et al. 1997 hingegen konnten für die Ki-67-Expression keine signifikante Korrelation zum pathologischen Stadium I bzw. II hergestellt werden, vielmehr waren nur der Nachweis einer vaskulären Invasion sowie der prozentuale Anteil an Embryonalkarzinom signifikant mit dem pathologischen Stadium assoziiert.

Die Unterschiede dieser Arbeitsgruppen lassen MIB-1 noch nicht als einen für den klinischen Alltag nutzbaren Prognosefaktor erkennen. Methodische Unterschiede zwischen den oben genannten Studien können hierfür ursächlich sein. Unsere zusammengefassten Daten in Tabelle 12 zeigen eine hohe Odds Ratio von 5,91, d.h. die Wahrscheinlichkeit ein Rezidiv zu erleiden bzw. eine okkulte Metastasierung zu haben ist bei erhöhtem Ki-67 (also größer als 42% der Zellen Ki-67 positiv) um den Faktor 5,91 höher als wenn weniger als 42% der Zellen sich mit Ki-67 Antikörpern anfärben. Dies sollte zu neueren Studien Anlass geben. Genauere „Cut-off-Werte“ bzw. evtl. Kombination mit anderen Faktoren müssen an einer größeren Fallzahl in prospektiven Studien mit einheitlicher Probenaufbereitung und unter Anwendung eines definierten Färbeprotokolls überprüft werden.

Auch wenn die prognostische Wertigkeit des MIB-1 Parameters wie die oben erwähnten prospektiven und retrospektiven Studien zeigen, kontrovers diskutiert wird, scheint diesem Parameter in Kombination mit etablierten Risikofaktoren ein besonderer Stellenwert zuzukommen (s.o.).

4.3.2 Weitere Zellproliferations-Marker

Maligne Tumore können sich von ihrem gesunden Ausgangsgewebe durch eine erhöhte Proliferationskinetik oder durch einen von der Norm abweichenden DNA-Gehalt ihrer Zellen unterscheiden. Die Durchfluß-Zytophotometrie erlaubt einen direkten Nachweis dieser Veränderungen (Moul et Heidenreich 1996). Als ergänzende Untersuchung zur histologischen Beurteilung können DNA-Messungen Hinweise für die Prognose bei NSKZT im klinischen Stadium I geben.

Zelluläre Proliferation als ein klinisch brauchbarer Marker bei Hodenkarzinom ist kein neues Konzept. Zahlreiche Flow-Zytometrie und Bild-Analyse-Studien zur Bestimmung des DNA-Gehaltes und der Proliferation im klinischen Stadium I bei NSKZT wurden in den letzten Jahren veröffentlicht. Die Vergleichbarkeit der einzelnen Untersuchungen wird, abgesehen von meist kleinen Patientenzahlen, durch eine verwirrende Terminologie erschwert.

De Riese et al. 1994 untersuchten 102 Patienten mit NSKZT im klinischen Stadium I mittels Flow-Zytometrie und Einzelzellzytometrie (De Riese et al. 1994). Außer bei den Patienten mit reinem Embryonalkarzinom war ein erhöhter Prozentwert aneuploider Tumorzellen in der S-Phase in der Flow-Zytometrie signifikant prädiktiv für das pathologische Stadium. Die Multivarianz-Analyse bestärkte die Bedeutung dieses Flow-Zytometrie-Parameters. 91% (50/55) der Patienten mit okkulten retroperitonealen Erkrankung (pathologisches Stadium II) wurden als high-risk-Gruppe und 77% (36/47) der Patienten mit pathologischem Stadium I Erkrankung wurden als low-risk-Gruppe richtig eingeteilt (De Riese et al. 1994). Damit könnte sich die Flow-Zytometrie als interessantes Instrument zur Identifizierung einer high-risk-Gruppe erweisen.

Albers et al. 1995 b, bestätigten den prognostischen Wert von Proliferationsindex und relativem S-Phasenanteil innerhalb der aneuploiden Tumorzellfraktion. Die Multivarianz-Analyse zeigte dem Anteil aneuploider Zellen in der G2M+S-Phase im Primärtumor als besten prädiktiven Parameter des Tumorzidivs, die vaskuläre Invasion stellte sich als zweitbesten in der Multivarianz-Analyse dar. Die DNA-Analyse wurde als unabhängiger Risikofaktor, mit einer Sensitivität von 93%, dargestellt (Albers et al. 1995 b).

In einer anderen Studie konnten Albers et al. 1995 zeigen, dass die durchflusszytometrische Proliferationsphasenbestimmung (S+G2M-Phase) bzgl. der Sensitivität in der Erkennung einer High-risk-Gruppe auch die etablierten histopathologischen Risikoparameter übertrifft. In dieser prospektiv vergleichenden Untersuchung verschiedener Proliferationsmarker, zeigte die Proliferationsphase der aneuploiden Tumorzellen nach multivariater Analyse die deutlichsten Unterschiede zwischen Patienten im pathologischen Stadium I und II. Bei einem gewählten Cut-off der S+G2M-Phase von 41% wurden mit der S+G2M-Phasenanalyse 70% der Patienten im pathologischen Stadium I als low-risk-Gruppe und 71% der Patienten im Pathologischen Stadium II als high-risk-Gruppe korrekt klassifiziert. Die durchflusszytometrische Proliferationsphasenbestimmung (S+G2M-Phase) in dieser Studie, war der beste Parameter zur Erkennung der High-risk-Gruppe einer okkulten Metastasierung (Albers et al. 1995b).

Unsere Auswertung zeigte, für die retrospektive Studien eine Odds Ratio von 3,40 (siehe Tabelle 15), d.h. die Wahrscheinlichkeit ein Rezidiv zu erleiden bzw. eine okkulte Metastasierung zu haben ist bei Aneuploidie 3,40 mal höher als bei Fehlen der Aneuploidie. Somit konnte auch in der Zusammenfassung der Studien ein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Eine Einbindung dieses Markers in Vorhersagemodelle besonders für Patienten mit high-risk erscheint sinnvoll.

4.3.3 Tumorsuppressorgene

Das p53-Tumorsuppressorgen ist eine der zentralen Kontrolleinheiten der Zellzyklusregulation am G1/S-Phasenübergang. Es wird als einer der wesentlichen Wächter über die Intaktheit des menschlichen Genoms angesehen (Heidenreich et al. 1998). Seine Inaktivierung durch Deletion oder Mutation kann in aberrantem Zellwachstum mit konsekutiver Entwicklung eines Malignoms resultieren (Heidenreich et al. 1998). Der erfolgreiche immunhistochemische Nachweis des p53-Proteins wird dabei bei anderen Tumorentitäten vom Vorliegen einer Mutation stark beeinflusst. Während die Wildform des p53-Proteins nur in geringen Mengen nukleär vorkommt und innerhalb weniger Minuten degradiert wird, resultiert aus p53-Mutationen eine Stabilisierung des Proteins mit verlängerter Halbwertszeit, sodass die Proteinexpression immunhistochemisch nachweisbar wird (Heidenreich et al. 1998). Beim Hodentumor wurde allerdings keine Mutation nachgewiesen (Burger 1997, Hamilton 2005).

Eine p53-Protein-Überexpression ist in einer Vielzahl humaner Malignome bekannt und mit einer schlechten Prognose vergesellschaftet (Heidenreich et al. (Akt. Urol.) 1998). In der Studie von de Riese et al. 1993 wurde gezeigt, dass das p53-Gen während der Entwicklung von vielen human Malignomen (Kolon-, Brust-, Lungentumor) Mutationen erfährt (de Riese et al. 1993). Die Autoren führten eine Studie durch, um herauszufinden, ob die p53-Expression in Primärtumoren bei NSKZT im klinischen Stadium I ein Marker für eine versteckte Ausbreitung der Erkrankung sein kann. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass p53 ungeeignet sei, eine versteckte Ausbreitung der Erkrankung zu erkennen (de Riese et al. 1993). Lewis et al. 1994 und Heidenreich et al. 1999 untersuchten ebenfalls die Expression des p53-Proteins mittels Immunhistochemie, um herauszufinden, ob es ein klinisch verwertbarer Marker bei NSKZT im klinischen Stadium I ist. In der Multivarianz-Analyse blieben jedoch nur die vaskuläre Invasion und der prozentuale Anteil Embryonalkarzinom signifikante Risikofaktoren, nicht jedoch die p53-Expression (Heidenreich et al. 1999). Ulbright et al. 1993 berichteten dagegen über eine positive p53-Expression bei 25 von 50 untersuchten Nichtseminomen. Zudem zeigten die Tumoren mit p53-Expression DNA zytometrisch einen höheren S-Phasenanteil sowie eine höhere Expression des proliferationsmarkers PCNA, sodass die Vermutung geäußert wurde, dass p53 positive Tumoren eine höhere Proliferationsrate aufweisen und damit häufiger metastasieren.

Zusammenfassend wurde bisher für das NKSZT keine Studien vorgelegt, die die p53 Expression mit einer okkulten Metastasierung korrelieren konnte.

Auch wenn aufgrund der vorliegenden Studien eine prognostische Relevanz für die p53-Proteinexpression in NSKZT im klinischen Stadium I nicht abgeleitet werden kann und vor allem eher unwahrscheinlich erscheint, stellt sich die Frage, welcher Stellenwert dieser Faktor für das Ansprechen einer Chemotherapie-Behandlung von Patienten mit NSKZT im klinischen Stadium I hat.

In vivo konnten Heidenreich et al. 1998 zeigen, dass eine p53 Überexpression verantwortlich für die gute Chemosensibilität der Keimzelltumoren sein könnte. An Keimzelltumoren wurde eine p53 Überexpression, keine Bcl-2 und keine p53 Mutationen gefunden (Hei-

denreich et al. 1998). Bei der Untersuchung von 6 Zelllinien mit unterschiedlich veränderten p53 Funktionen unter Chemotherapie und Radiatio konnten Burger et al. 1999 zeigen, dass die Hypersensitivität gegenüber Cisplatin nicht abhängig vom p53 Status ist (Burger et al. 1999). Bei Zelllinien mit mutiertem p53 bzw. fehlendem p53 konnte durch Cisplatin die Apoptose induziert werden, während in einer Zelllinie mit nicht mutiertem p53 durch Cisplatin keine Apoptose induziert werden konnte (Burger et al. 1999). Dagegen zeigten Lutzker et al. 2001, dass hohe Konzentration an wild Type p53 zu einer besseren Wirksamkeit von Cisplatin an Teratocarcinomzelllinien führen (Lutzker et al. 2001). Während p53 kein wichtiger Parameter beim NKSZT für eine maligne Entartung darstellt, scheint die Chemotherapiesensitivität wesentlich von p53 downstream gelegenen Proteinen abzuhängen (Kerley-Halmiton et al. 2005).

4.3.4 Adhäsionsmoleküle

Die Familie der "Cadherine" ist eine Gruppe genetisch verwandter transmembranöser Glykoproteine, denen eine wichtige Funktion in der Ausbildung kalziumabhängiger interzellulärer Adhäsionsmechanismen zukommt. Der Cadherin-Catenin-Komplex ist notwendig für die Adhäsion und Trennung von Zellen. Dieser Komplex besteht aus E-Cadherin und α -, β - und γ -Cateninen und ist in der Zellmembran lokalisiert. Ein Verlust dieser Adhäsions-Moleküle führt zu einem Anstieg der Invasions-Fähigkeit der Tumorzellen. Die Cadherin-Expression ist in fortgeschrittenen Prostata-, Brust-, Kolon-, Magen- und Hodenkarzinomen verloren gegangen (Spermon 2002).

Der Verlust der E-Cadherinfunktion wird als ein möglicher Mechanismus der Ausbildung eines invasiven Phänotyps von Krebszellen diskutiert, und eine verminderte oder nicht nachweisbare E-Cadherinexpression beim Mamma- und Prostatakarzinom geht mit der Ausbildung einer aggressiveren Tumorvariante einher, die sich in einer höheren Metastasierungsfrequenz und einer reduzierten Überlebensrate manifestiert (Jiang 1996). Morton et al. 1993 zeigten, dass der Verlust der E-Cadherinfunktion zumindestens für eine Subpopulation NKSZT einen wesentlichen Faktor in der Entwicklung des invasiven Phänotyps darstellen könnte.

Expressionsstudien zu Adhäsionsmolekülen liegen beim Hodentumor bisher nur für das E-Cadherin vor. Heidenreich et al. 1999 untersuchte die E-Cadherinexpression in malignen Keimzelltumoren des Hodens sowie des korrespondierenden Normalgewebes (Heidenreich et al. 1999). 19/35 (54,2%) NKSZT mit hochgradigem Verlust der E-Cadherin Expression wurden im Rahmen der RPLND als pathologisches Stadium II und 16/35 (45,8%) Tumoren als pathologisches Stadium I klassifiziert. In knapp 25% der nichtseminomatösen Keimzelltumoren konnte ein kompletter Verlust der Proteinexpression vornehmlich in den Embryonalkarzinomanteilen des Primärtumors nachgewiesen werden. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass ebenfalls 90% der die vaskulären Strukturen invadierenden Tumorzellen E-Cadherin negativ waren, so dass eine deutlich positive Korrelation zwischen fehlender Proteinexpression, Vorliegen einer Gefäßinvasion und Nachweis einer Mikrometastasierung hergestellt werden konnte. Diese Befunde legten die

Vermutung nahe, dass der Verlust der E-Cadherinfunktion zumindestens für eine Subpopulation NSKZT einen wesentlichen Faktor in der Entwicklung des invasiven Phänotyps darstellen könnte (Heidenreich et al. 1999).

Spermon et al., 2002 untersuchten als erste die Expression von α -Catenin im klinischen Stadium I nichtseminomatöser Keimzelltumoren. Eine Trennung zwischen metastatischen und nicht metastatischen Tumoren war durch die α -Catenin Färbung-Ergebnissen nicht möglich. Die Autoren konnten nicht nachweisen, dass die Herunterregulierung (down-regulation) von α -Cateninexpression im Metastasierungsprozess der retroperitonealen Lymphknoten in klinisch Stadium I-nichtseminomatöse Keimzelltumoren eine Rolle spielt (Spermon et al. 2002).

Insgesamt gesehen scheinen die beiden untersuchten Adhäsionsmoleküle somit keinen Stellenwert als prognostischer Marker einer okkulten Metastasierung zu haben.

4.3.5 Bedeutung apoptotischer Prozesse bei NSKZT im klinischen Stadium I

Die Apoptose ist ein genetisch determinierter Vorgang, bei welchem eine Zelle auf einen bestimmten Stimulus mit der Aktivierung eines genetischen Programms reagiert, das zum Zelltod führt (Thompson, 1995). Abhängig von Zelltyp, Differenzierungsgrad und Stimulus reagieren Zellen in unterschiedlicher Weise mit Apoptose. Daraus wurden Rückschlüsse auf den vermutlich zugrundeliegenden Apoptosemechanismus gezogen (Abend und Beuning 1998). Es wurde gezeigt, dass das Produkt des p53 Tumor-Suppressorgens, das p53-Protein, eine zentrale Rolle bei der Sensibilität von Tumorzellen gegenüber der Apoptose durch Chemotherapie und Bestrahlung spielt (Burger et al. 1998). Vor allem nach DNA-Schädigung konnte in einer Reihe unterschiedlicher Systeme eine p53-abhängige Induktion von Apoptose bzw. Zellzyklusarretierung gefunden werden (Goetz et al. 1995). Ein weiterer wichtiger Regulator der Apoptose stellt das Produkt des Bcl-2-Gens dar, welches zuerst mit t (14;18)-Translokationen in folliculären B-Zell-Lymphomen in Verbindung gebracht wurde (Burger et al. 1998). Innerhalb der Bcl-2 Familie werden homologe mit Apoptosewirkung (z.B. Bax, Bad und Bak) von Homologen mit apoptoseinhibierender Wirkung (z.B. Bcl-2, Mcl-1, A1 und Bag) unterschieden (Burger et al. 1998).

Bei Bcl-2 Überschuss sind die Zellen vor einer Apoptose geschützt, während die Apoptose-einleitende Aktivität des Bax bei Überschuss des Genproduktes und bei Vorliegen von Bax-Homodimeren wirksam ist (Basu und Haldar 1998). Bei einer Reihe von Neoplasien wurde eine Bcl-2 Expression mit einer ungünstigen Prognose assoziiert, da p53 abhängige Regulations Vorgänge inhibiert werden.

Chresta et al. 1996 konnten demonstrieren, dass das gute Ansprechen der Hodentumoren auf Chemotherapie auf die günstige Kombination der fehlenden Bcl-2-Expression mit einer Überexpression von Bax und Wildtyp p53 zurückzuführen ist. Die Kombination „hohe Bcl-2-Expression und niedrige p53-Expression“ könnte die molekulargenetische Erklärung für die Chemo- oder Strahlenresistenz maturaer Teratome sein (Chresta et al. 1996). Andererseits korreliert die fehlende Bcl-2-Expression in Kombination mit einer p53-

Wildtyp Proteinexpression gut mit der hohen Ansprechrate für Chemotherapie und Bestrahlung (Heidenreich et al.1998).

Zusammenhänge zwischen der Bcl-2-/ Bax- Proteinexpression im Primärtumor und dem Vorhandensein einer okkulten Metastasierung im CSI wurden bisher nicht an ausreichend großen Patientenzahlen überprüft.

4.3.6 Bedeutung der Angiogenese bei NSKZT im klinischen Stadium I

Die Tumorangio-genese beschreibt im Gegensatz zur physiologischen Angiogenese eine unkontrollierte Neubildung von Blutgefäßen im Tumorgewebe, die mit Progression und Metastasierung assoziiert ist.

„Vascular endothelial derived growth factor“ (VEGF), „acidic“ und „basic fibroblast growth factor“ (a/bFGF), „platelet derived growth factor“ (PDGF) stellen dabei wesentliche, die Angiogenese und Neovaskularisation eines Tumors fördernde Faktoren dar. Beim Hodentumor liegen nur wenige Studien zur Expression von Angiogenesefaktoren vor.

Viglietto et al. 1995 konnten eine spezifische VEGF-mRNA- und Proteinexpression nur bei den NSKZT, aber nicht bei seminomatösen Hodentumoren nachweisen. Sie demonstrieren desweiteren eine hochsignifikante Korrelation zwischen der VEGF-Expression und der intratumoralen Gefäßdichte (Viglietto et al. 1995). Jones et al. 2000 konnten zeigen, dass die Teratomgewebeproben eine bedeutend höhere VEGF-Expression im Vergleich zu Seminomen und normalen Gewebeproben zeigen. VEGF-C mRNA und VEGFR-3 Protein wurde bei einem Drittel bis zur Hälfte der Fälle mit Expression hauptsächlich im Bereich der endothelialen Gefäßen gefunden (Jones et al. 2000). In der Studie von Olivarez et al.1994 wurde dagegen die Neovaskularisation nicht als unabhängiger Risikofaktor für eine Mikrometastasierung bei NSKZT identifiziert (Olivarez et al. 1994). Für die Rolle der Angiogenese in der Tumorbilogie im Stadium I der NSKZT liegen somit nur Einzelstudien mit sehr geringer Fallzahl vor und sind weitere Studien angezeigt.

5 Zusammenfassung

Die differenzierte und stadienorientierte Therapie von nichtseminomatösen und seminomatösen Hodentumoren erfordert die genaue Kenntnis von Prognosefaktoren, welche eine Abschätzung der individuellen Therapieaussichten eines Patienten erlauben. Um Fehleinschätzungen zu minimieren, können jedoch für das Konzept einer risikoadaptierten Therapie nur Prognosefaktoren berücksichtigt werden, die an großen Patientenkollektiven retrospektiv gewonnen und idealerweise prospektiv validiert wurden. Nur wenige Prognosefaktoren erfüllen diese Voraussetzung.

Trotz Schwierigkeiten bei der histopathologischen Beurteilung der **vaskulären Invasion**, wurde in allen untersuchten Studien gezeigt, dass die vaskuläre Invasion der am besten validierte prognostische Faktor im klinischen Stadium I des nichtseminomatösen Keimzelltumor ist, der einen Vorhersage-Wert sowohl für das Wiederauftreten der Erkrankung bei Nachuntersuchungen als auch für das Auftreten versteckter Metastasen im Rahmen einer retroperitonealen Lymphadenektomie (RPLND) besitzt. Unsere Zusammenfassung und die Berechnung der Odds ratio konnte diesen Befund belegen.

Als weiterer unabhängiger Prognosefaktor wurde auch das **Embryonalkarzinom** dargestellt. In vielen Einzelstudien war der prozentuale Anteil an Embryonalkarzinom ein signifikanter Risikofaktor. Dementsprechend zeigte unsere Auswertung in der vorliegenden Arbeit eine gute Unterscheidung zwischen Hochrisiko- und Niedrigrisikogruppe.

Interessanterweise konnten **Kombinationen verschiedener Risikofaktoren** die Odds ratio nicht weiter verbessern. Allerdings sind die Studien zu diesem Bereich nicht so zahlreich wie zu den Einzelfaktoren. Weitere Analysen an Patientenkollektiven zur Verbesserung solcher Indizes sind dringend geboten.

Auch wenn die immunhistologische Darstellung der **Zellproliferation mittels Ki-67 (MIB-1) sowie die DNA-Zytophotometrie, Proliferationsmarkern, Proteasen und Expression von Adhäsionsmolekülen** eine kleine Gruppe von Patienten ohne okkulte Metastasen bestimmen zu können scheint, so sind diese Studien zumeist klein und ihre Aussagekraft daher gering. Erst wenn diese Konzepte Eingang in große, prospektive Studien gefunden haben, kann eine weitere Einschätzung ihres Nutzens erfolgen. Am wahrscheinlichsten können sie in Ergänzung zu anderen Prognosefaktoren einer Verbesserung der Prognoseabschätzung bewirken.

Als Ausblick auf eine vielversprechende Methode sei die Expressionsanalyse mittels Gene-Array genannt. Mit dieser können gleichzeitig mehrere zehntausend Gene untersucht werden und deren Expression beurteilt werden. Die interessantesten können als Expressionsmuster mit Metastasierung korreliert werden.

Schon heute sollten Patienten im klinischen Stadium I nicht als eine homogene Gruppe behandelt werden. Vielmehr sollte die Behandlung nach dem vorhersagbaren Risiko von retroperitonealen Lymphknotenmetastasen individualisiert werden. Nur hierdurch kann der

Therapieerfolg maximiert und die subjektiven und objektiven Nebenwirkungen der Behandlung minimiert werden.

Summary

The differential and stage-oriented therapy of non-seminomateous and seminomateous testis tumors requires the exact knowledge of prognosis factors, which allow an estimation of the individual therapy results for every patient (risk adapted therapy). To minimize errors, only prognosis factors that have been collected in large patient cohorts and that have been validated in prospective studies can be considered for the concept of a risk-adapted therapy. Only few prognosis factors fulfill these criteria.

Despite of difficulties of the histological assessment of vascular invasion, it could be shown in all studies that vascular invasion is the most important prognostic factor in clinical stage I non-seminomateous testis tumors which has a predicted value for the relapse of the disease in follow-up procedures as well as for the detection of hidden metastasis as detected by retroperitoneal lymphadenectomy. Our summary and the calculation of the odds ratio were able to verify this statement.

As a further independent prognostive factor, embryonal carcinoma, was also analyzed. In many individual studies, the percentage of the embryonal carcinoma was a significant risk factor. Our analysis also showed a good discrimination between the high risk and low risk group.

Interestingly, the combination of different risk factors could not improve the odds ratio. However, the studies in this field are not numerous as single factor studies. Further analyses on patient cohorts in order to improve such prognostive compound indices are absolutely required.

Even though the immune-histological determination of cell proliferation by Ki-67 (MIB-1) as well as DNA cytometry proliferation markers, proteases, and expression of adhesion molecules seem to be able to determine a small group of patients without occult metastases, these studies are mostly small and the prognostic value is rather limited. Only if these concepts will be included into large prospective studies, a further evaluation of the benefit can be made.

As a promising new method, the expression analysis by a gene-array technique can be named. With this technique, simultaneously several ten thousand genes can be screened and the expression determined. The most interesting genes can then be correlated as expression pattern with metastasis.

Today, patients in clinical stage I should not be treated as a homogeneous group, but the treatment should be individualized according to the predicted risk of retroperitoneal lymph node metastasis. This allows one to maximize the therapeutic effectiveness and to minimize the subjective and objective side effects of the treatment.

6 Literaturverzeichnis

1. Abend M, van Beuningen D: Bedeutung apoptotischer Prozesse für die Strahlentherapie: Strahlentherapie und Onkologie Urban & Vogel 1998
2. Albers P, Attilio Orazi, Thomas M. Ulbright, Greg A. Miller, Joud H. Haidar, John P. Donohue, and Richard S. Foster: Prognostic significance of immunohistochemical proliferation markers (Ki-67/ MIB-1 and proliferation-associated nuclear antigen), p53 protein accumulation, and neovascularization in clinical stage A nonseminomatous testicular germ cell tumors. *Modern Pathology*. 1995; 8:492-497 (a)
3. Albers P, T. M. Ulbright, J. Albers, G. A. Miller, R. S. Foster und J. P. Donohue: Neue Parameter zur Vorhersage des pathologischen Stadiums bei nicht-seminomatösen Hodentumoren im klinischen Stadium I*. *Urologe [A]*. 1995; 34:316-323
4. Albers P, W. T. DeRiese, T. M. Ulbright, J. P. Donohue, R. S. Foster: Prognostic factors in patients with pathological stage I non-seminomatous testicular germ cell tumors and tumor recurrence during follow-up. *Urol Res*. 1995; 23:211-213 (b)
5. Albers P, Siener R, Kleisch S, Weissbach L, Krege S, Sparwasser C, Schulze H, Heidenreich A, de Riese W, Loy V, Bierhoff E, Wittekind C, Hartmann M: Risk factors for relapse in clinical stage I nonseminomatous testicular germ cell tumors; results of the German Testicular Cancer Study Group. *J Clin Oncol* 2003; 21:1505-1512
6. Albers P.: Diagnostik und Therapie von Hodentumoren. *Urologe A*. 2002; 41:374-387
7. Albers Peter, M.D., *Greg A. Miller, M.D., † Attilio Orazi, M.D., *Thomas M. Ulbright, M.D., ‡ Jutta Albers, M.D., *John P. Donohue, M.D., * and Richard S. Foster, M.D.*: Immunohistochemical assessment of tumor proliferation and volume of embryonal carcinoma identify patients with clinical stage A nonseminomatous testicular germ cell tumor at low risk for occult metastasis. *Cancer*. 1995;75:844-50
8. Albers Peter, M.D., Erhard Bierhoff, M.D., Daniela Neu, Cand. Med., Rolf Fimmers, M.D., Nicolas Wernet, M.D., Stefan C. Müller, M.D.: MIB-1 immunohistochemistry in clinical stage I nonseminomatous testicular germ cell tumors predicts patients at low risk for metastasis. *Cancer*. 1997; 79:1710-6
9. Albers Peter, Thomas M. Ulbright, Jutta Albers, Greg A. Miller, Attilio Orazi, William N. Crabtree, Jack Baniel, Terry Reister, Richard A. Sidner, Richard S. Foster* and John P. Donohue: Tumor proliferative activity is predictive of pathological stage in clinical stage A nonseminomatous testicular germ cell tumors. *Journal of Urology*. 1996; 155:579-586
10. Alexandre J, K. Fizazi, C. Mahé, S. Culine, J. –P. Droz, C. Théodore, M. –J. Terrier-Lacombe: Stage I non-seminomatous germ-cell tumours of the testis: identification of a subgroup of patients with a very low risk of relapse. *European Journal of Cancer*. 2001; 37:576-582

11. Ayala AG, Ro JY. Testicular tumors: clinically relevant histological findings. *Semin Urol Oncol.* 1998 May;16(2):72-81
12. Basu A. and Haldar S.: The relationship between Bcl2, Bax and p53: consequences for cell cycle progression and cell death. *Molecular Human Reproduction* 1998, Vol 4 no.12:1099-1109
13. Benoit P. Hermans, Christopher J. Sweeney, Richard S. Foster, Lawrence E. Einhorn and John P. Donohue: Risk of systemic metastases in clinical stage I nonseminoma germ cell testis tumor managed by retroperitoneal lymph node dissection. *Journal of Urology.* 2000; 163:1721-1724
14. Böhlen D., Markus Borner, Erik S. Weise, Urs E. Studer, Berne, Switzerland, (Presented by Dr. Böhlen): Excellent longterm results with adjuvant chemotherapy in 59 patients with high risk clinical stage I non-seminomatous germ cell tumors. *Journal of Urology.* 1997; 157:47
15. Bokemeyer C., M.A.Kuczyk, J.Serth, J.T.Hartmann, H-J.Schmoll, U.Jonas, L.Kanz . *J Cancer Res Clin Oncol.* 1996; 122:575-584
16. Bradley E. Davis, Harry W. Herr, William R. Fair and George J. Bosl : The management of patients with nonseminomatous germ cell tumors of the testis with serologic disease only after orchiectomy. *Journal of Urology.* 1994; 152:111-114
17. Burger H., Nooter K, Boersma AW., van Wingerden KE, Looijenga LH, Jochemsen AG and Stoter G.(1999). *Int. J. Cancer* 81, 620-628
18. Burger H., Nooter K, Boersma AWM, Kortland CJ and Stoter G: Expression of p53, Bcl-2 and Bax in cisplatin-induced apoptosis in testicular germ cell tumor cell lines. *British Journal of Cancer* 1998, 77 (10):1562-1567.
19. Burkhard Helpap: Atlas der Pathologie urologischer Tumoren. 1993 Springer-Verlag 161-178
20. Carlsson-Farrelly Elisabeth, Lennart Boquist and Börje Ljungberg: Accuracy of clinical staging in non-seminomatous testicular cancer- a single centre experience of retroperitoneal lymph node dissection. *Scand J Urol Nephrol.* 1995; 29:501-506
21. Cherie H. Dunphy, MD,* Alberto G. Ayala, MD,* David A. Swanson, MD,† Jae Y. Ro, MD,* and Christopher Logothetis, MD‡: Clinical stage I nonseminomatous and mixed germ cell tumors of the testis. Clinicopathologic study of 93 patients on a surveillance protocol after orchiectomy alone. *Cancer.* 1988; 62:1202-1206
22. Chraibi Y, S Culine, MJ Terrier-Lacombe, A Kramar, J Kattan, JP Droz: Facteurs pronostiques d'atteinte extratesticulaire dans le cancer du testicule stade I: à propos de 58 cas. *Bull Cancer.* 1994; 81:311-317
23. Chresta CM, Masters JRW, Hickman JA : hypersensitivity of human testicular tumors to etoposide induced apoptosis is associated with functional p53 and a high bax:bcl-2 ratio. *Cancer Res.* 1996; 56: 1834-1841
24. DeRiese WTW, Orazi A, Foster RS, et al: The clinical relevance of p53 expression in early stage non-seminomatous germ cell tumor (abstract). *J Urol* 1993;149(4):311A.

25. Dieter J, Kurt M.: Praxis der Urologie. 1994. Thieme-Verlag 168-192
26. Dixon FJ, Moore RA: Tumors of the male sex organs, in Atlas of Tumor Pathology, Fascicle 31, vol 32. Washington DC, Armed Forces Institute of Pathology, 1952.
27. Dolores Olivarez, Thomas Ulbright, Werner DeRiese, Richard Foster, Terry Reister, Lawrence Einhorn, and George Sledge: Neovascularization in clinical stage A testicular germ cell tumor: prediction of metastatic disease. *Cancer Research*. 1994; 54:2800-2802
28. Donald J. Lewis, Isabell A. Sesterhenn, William F. McCarthy and Judd W. Moul* : Immunohistochemical expression of p53 tumor suppressor gene protein in adult germ cell testis tumors: Clinical correlation in stage I disease. *Journal of Urology*. 1994; 152:418-423
29. El-Senoussi, M. A., N. K. Bissada, S. El-Akkad, A. Y. Bedikian, R. Morcos, C. Bull: Epidemiology and clinical characteristics of testicular tumors in Saudi Arabia: King Faisal Specialist Hospital and Research Centre experience. *J. Surg. Oncol.* 35 (1987) 39-41
30. Farhang Rabbani, Joel Sheinfeld, Hesam Farivar-Mohseni, Antonio Leon, Michael J. Rentzepis, Victor E. reuter, Harry W. Herr, John A. McCaffrey, Robert J. Motzer, Dean F. Bajorin, and George J. Bosl: Low-volume nodal metastases detected at retroperitoneal lymphadenectomy ffor testicular cancer: Pattern and prognostic factors for relapse. *Journal of Clinical Oncology*. 2001; 19:2020-2025
31. Feinstein AR, Sosin DM, Wells CK: The Will Rogers phenomenon: Stage migration and new diagnostic techniques as a source of misleading statistics for survival in cancer. *N Engl J Med*. 1985; 312:1604-1608
32. Fernandez Eduardo B., Isabell A. Sesterhenn, William F. McCarthy, F. K. Mostofi and Judd W. Moul*:. Proliferating cell nuclear antigen expression to predict occult disease in clinical stage I nonseminomatous testicular germ cell tumors. *Journal of Urology*. 1994; 152:1133-1138
33. Fernandez Eduardo B., Isabell A. Sesterhenn, William F. McCarthy, F.K. Mostofi and Judd W. Moul*: Proliferating cell nuclear antigen expression to predict occult disease in clinical stage I nonseminomatous testicular germ cell tumors. *Journal of Urology*. 1994; 152:1133-1138
34. Fields S, Jang SK: Presence of a potent activating sequence in the p53 protein. *Science* 1990, 249:1046-1049.
35. Freedman L. S., W.G. Jones, M. J. Peckham, E. S. Newlands, M.C. Parkinson, R.T. D. Oliver, G. Read, C.J. Williams: Histopathology in the prediction of relapse patients with stage I testicular teratoma treated by orchidectomy alone. *The Lancet*. 1987; August 8, 294-298
36. Friedmann NB, Moore RA: Tumors of the testis: Report of 922 cases. *Mil Surg* 99:573-595. 1946
37. Fujime M*, Hsun Chang, † Chi-Wie Lin‡ and George R. Prout, JR.: Correlation of vascular invasion and metastasis in germ cell tumors of testis — a preliminary report. *Journal of Urology* . 1984;131:1237-1241

38. Fung C.Y., Leslie A. Kalish, Gilbert L. Brodsky, Jerome P. Richie, and Marc B. Garnick : Stage I nonseminomatous germ cell testicular tumor: prediction of metastatic potential by primary histopathology. *Journal of Clinical Oncology*. 1988; 6:1467-1473
39. Gels M. E, H.J. Hoekstra, D.Th. Sleijfer, J. Marrink, H.W.A de Bruijn, W.M. Molenaar, N.J.M. Freling, J.H.J. Droste, and H. Schraffordt Koops: Detection of recurrence in patients with clinical stage I nonseminomatous testicular germ cell tumors and consequences for further follow-up: a single-center 10-year experience. *Journal of Clinical Oncology*. 1995; 13 (No 5):1188-1194
40. Guillou L, Estreicher A, Chaubert P, Hurlimann J, Kurt A-M, Mettze G, Iggo R, Gray A. C, Jichlinski P, Leisinger H-J, and Benhattar J: Germ cell Tumors of the testis Overexpress Wild-Type p53. *Am J Pathol* 1996, 149:1221-1228
41. Hedinger C. 2.Tutorial:Spezielle Pathologie der Schilddrüsenerkrankungen. Hannover, Deutschland, 1981
42. Heicappell R.: Adhäsionsmoleküle bei urologischen Tumoren. *Urologe [A]*. 1996; 35:363-369
43. Heidenreich A., Albers P: Primärtherapie des Hodentumors und Prognosefaktoren nichtseminomatöser Keimzelltumoren im klinischen Stadium I. *Onkologie* 2003, 9:969-972
44. Heidenreich A, I. A. Sesterhenn, F. K. Mostofi, J. W. Moul, U. H. Engelmann: Histopathologische und biologische Prognosefaktoren nichtseminomatöser Keimzelltumoren im klinischen Stadium I. *Urologe [A]*. 1999; 38:168-178
45. Heidenreich A, S. Neubauer, F.K. Mostofi, I.A. Sesterhenn, J.W. Moul, U.H. Engelmann: Das reife Teratom des Hodens im klinischen Stadium I- retroperitoneale Lymphadenektomie oder Surveillance?*. *Urologe [A]*. 1997; 36:440-444
46. Heidenreich A., M.Kuczyk, P.Albers: Molekulare Pathogenese und Prognosefaktoren des Hodentumors. *Urologe [A]*. 1998; 37:593-608
47. Heidenreich Axel,* Noah S. Schenkman, Isabell A. Sesterhenn, F. Kash Mostofi, William F. McCarthy, Birgit Heidenreich and Judd W. Moul: Immunohistochemical expression of Ki-67 to predict lymph node involvement in clinical stage I nonseminomatous germ cell tumors. *Journal of Urology*. 1997; 158:620-625
48. Heidenreich A, Schenkman NS, Sesterhenn IA, Mostofi FK, Srivastava S, Moul JW: Immunohistochemical and mutational analysis of the tumor suppressor gene and the bcl-2 oncogene in testicular germ cell tumors. *APMIS* 1998 : 106:90-100
49. Hoeltl W, D. Kosak, J. Pont, R. Hawel, E. Machacek, M. Schemper, N. Honetz and M. Marberger: Testicular cancer: prognostic implications of vascular invasion. *Journal of Urology*. 1987; 137:683-685
50. Hoeltl W, J. Pont, D. Kosak, N. Honetz and M. Marberger: Treatment decision for stage I non-seminomatous germ cell tumors based on the risk factor "vascular invasion" . *British Journal of Urology*. 1992; 69:83-87
51. Horňák und D. Ondruš: Die Behandlung von Patienten mit nicht seminomatösen Hodentumoren im klinischen Stadium I mit alleiniger Orchiectomie. *Z.*

- Urol. Nephrol. 1988; 81:541-545
52. Hoskin P, S. Dilly, D. Easton, A. Horwich, W. Hendry, and M.J. Peckham: Prognostic factors in stage I non-seminomatous germ-cell testicular tumors managed by orchiectomy and surveillance: Implications for adjuvant chemotherapy. *Journal of Clinical Oncology*. 1986; 4:1031-1036
 53. Jaeger P. und D. Hauri: Die retroperitoneale Lymphadenektomie beim nicht-seminomatösen Hodentumor in den Stadien I, IIa und IIb. *Urologe [A]*. 1988; 27:251-255
 54. Javadpour N. and John D. Young, JR.: Prognostic factors in nonseminomatous testicular cancer. *Journal of Urology*. 1986; 135:497-499
 55. Jiang WG: E-cadherin and its associated protein catenins, cancer invasion and metastasis. *Br J Surg* 1996, 83:437
 56. Jones A., Fujiyama C., Turner K., Fuggle S., Cranston D., Turley H., Valtola R., Bicknell R. and Harris A. L.: Angiogenesis and lymphangiogenesis in stage 1 germ cell tumors of the testis. *BJU International* (2000), 86, 80-86.
 57. Kanto S., Hiramatsu M, Suzuki K, Ishidoya S, Saito H, Yamada S, Satoh M, Saito S, Fukuzaki A, Arai Y: Risk factors in past histories and familial episodes related to development of testicular germ cell tumor. *Int J Urol*. 2004 Aug;11(8):640-6.
 58. Kennedy BJ, Torkelson JL, Fraley EE.: Adjuvant chemotherapy for stage II nonseminomatous germ cell cancer of the testis. *Cancer*. 1994 Mar 1;73(5):1485-9.
 59. Kerley-Hamilton J.S., Pike A.M. Na Li, DiRenzo J, Spinella M.J: A p53-dominant transcriptional response to cisplatin in testicular germ cell tumor-derived human embryonal carcinoma. *Oncogene* (2005) 24, 6090-6100
 60. Kleinhans G., U. Hacker-Klom, W. Göhde, F. Körner und J. Schumann: Zellkinetische Untersuchungen menschlicher maligner Hodentumoren. *Urologe A*. 1986; 25:294-297
 61. Klepp O, Arne M. Olsson, Hans Henrikson, Nina Aass, Olav Dahl, Anna E. Stenwig, Bo-Eric Persson, Eva Cavallin-Stahl, Sophie D. Fosså, and Lennart Wahlqvist: Prognostic factors in clinical stage I nonseminomatous germ cell tumors of the testis: multivariate analysis of a prospective multicenter study. *Journal of Clinical Oncology*. 1990; 8:509-518
 62. Klepp O, O. Dahl, P. Flodgren, U. Stierner, A.M. Olsson, J. Oldbring, S. Nilsson, L. Dæhlin, M. Tørnblom, R. Småland, H. Starkhammar, L. Abramsson, E. Wist, N. Raabe, T. Edekling and E. Cavallin-Stähl: Risk-adapted treatment of clinical stage I non-seminoma testis cancer. *Eur J Cancer*. 1997; 33:1038-1044
 63. Kratzik Ch, Wolfgang Höttl, W. Albert, J. Pont, Ch. Zielinski, E. Breindl, K Pummer, G. Hubmer, Michael Marberger (Presentation by Dr. Kratzik): Risk adapted management for NSGCT stage I- long term results of a multicenter study. *Proceedings of the American Urological Association Volume 155 •1996 May Supplement 547A*
 64. Krug B, Heidenreich A, Dietlein M, Lackner K. [The lymph node staging of malignant testicular germ-cell tumors] *Rofo*. 1999 Aug;171(2):87-94

65. Leibovitch I, Richard S, Foster, Kenyon K, Kopecky, Peter Albers, Thomas M, Ulbright, and John P. Donohue: Identification of clinical stage A onseminomatous testis cancer patients at extremely low risk for metastatic disease: A combined approach using quantitative immunohistochemical, histopathologic, and radiologic assessment. *Journal of Clinical Oncology*, Vol 16, No 1 (January), 1998: pp 261-268
66. Levi HS: prognostic features of primary and metastatic testis germ-cell tumors. *Urol Clinics North Am* . 1993;20(1):39-53
67. Lewis DJ, Sesterhenn IA, McCathy W, et al: Immunohistochemical expression of p53 tumor suppressor gene protein in adult germ cell testis tumors. *J Urol* 1994;152::418-423
68. Lutzker SG, Mathew R and Taller DR. (2001). *Oncogene*, 20, 2982-2986
69. Madej G., Pawel J. Wiechno, Beata Paluchowska, Warsaw, Poland (Presented by Prof. Madej): Risk-related adjuvant chemotherapy in stage I germ cell tumor of the testis- failure analysis. *Journal of Urology*. 1996; 157:304
70. Mark S. Austenfeld, David L. Bilhartz, Ofer Nativ, George M. Farrow, Michael M. Lieber, M.D: flow cytometric DNA ploidy pattern for predicting metastasis of clinical stage I nonseminomatous germ cell testicular tumors. *Urology* . 1993; Volume 41, Number 4; 379-383
71. Mayer F., Stoop H., Scheffer G.L., Scheper R., Wolter Ooterhuis J., Looijenga L. H. J., Carsten Bokemeyer: molecular detremnants of treatment response in human germ cell tumors: *Clinical Cancer Research* February 2003, Volume 9, 767-773.
72. Mcleod D.G., Axel Heidenreich, Judd W. Moul, Isabell Sesterhenn, Bill McCarthy, Bethesda, MD and Washington, DC (Presentation by Dr. Heidenreich): Do cell proliferation markers better predict pathological stage in clinical stage I nonseminomas than quantitative histology?. *Proceedings of the American Urological Association* Volume 155• May 1996 Supplement 547 A
73. Mikuz G. WHO classification of testicular tumors *Verh Dtsch Ges Pathol.*2002;86:67-75
74. Moriyama N, MD,* James J. Daly, MD,† Michael A. Keating, MD,* Chi-Wie Lin, PhD,*‡ and George R. Prout JR, MD,*‡: Vascular invasion as a prognosticator of metastatic disease in nonseminomatous germ cell tumors of the testis. Importance in "surveillance only" protocols. *Cancer*. 1985; 56: 2492-2498
75. Morton RA, Ewing CM, Nagafuchi A, Tsukita S, Isaacs WB : Reduction of e-cadherin levels and deletion of a-catenin gene in human prostate cancer cells. *Cancer Res*. 1993, 53:3585-3589
76. Moul J, William F. McCarthy, Eduardo B. Fernandez, and Isabell A. Sesterhenn: Percentage of embryonal carcinoma and of vascular invasion predicts pathological stage in clinical stage I nonseminomatous testicular cancer. *Cancer Research*. 1994; 54:362-364
77. Moul J.W., Axel Heidenreich: Prognostic factors in low-stage nonseminomatous testicular cancer. *Oncology*. 1996; 10:1359-1377
78. Moul JW, Lance RS, Theune SM, et al. : From genes that controls cancer, a new medicine rising. *Contemp Urol*. 1992; 4(1):74-87

- new medicine rising. *Contemp Urol.* 1992; 4(4):74-87
79. Olivarez D, Ulbright T, deRiese WTW, Foster RS, Reister T, Einhorn L, Sledge G: Neovascularization in clinical stage A testicular germ cell tumors: prediction of metastatic disease. *Cancer Res* 1994, 54:2800
 80. Ondrus D, Matoska J, Belan V, et al.: Prognostic factors in clinical stage I nonseminomatous germ cell testicular tumors: rationale for different risk-adapted treatment. *Eur Urol.* 1998;33:562-6
 81. Ondruš D.: Prognostic factors of disease progression in the treatment of patients in clinical stage I nonseminomatous germ cell testicular tumors. *Bratisl lek listy.* 1999; 100 (1):61-65
 82. Peckham MJ, Barret A, Heroic A, et al.: Orchiectomy alone for stage I testicular nonseminoma. *Br J Urology.* 1983; 55:754-759
 83. Peng HQ, Bailey D, Bronson D, Goss PE, Hogg D: Loss of heterozygosity of Tumor suppressor genes in testis cancer. *Cancer Res* 1995, 55:2871-2875
 84. Peter ME, Krammer PH.: The CD95(APO-1/Fas) DISC and beyond. *Cell Death Differ.* 2003 Jan;10(1):26-35.
 85. Pont J, Alberecht W, Postner G, et al.: Adjuvant chemotherapy for high-risk clinical stage I nonseminomatous testicular germ cell cancer: long-term results of a prospective trial. *J Clin Oncol.* 1996; 14:441-8.
 86. Pont J, Wolfgang Hörtl, Dieter Kosak, Ernst Machacek, Heinz Kienzer, Hans Julcher, and Norbert Honetz: Risk- adapted treatment choice in stage I nonseminomatous testicular germ cell cancer by regarding vascular invasion in the primary tumor: a prospective trial. *Journal of Clinical Oncology.* 1990; 8:16-20
 87. Pramod C. Sogani, Michael Perrotti, Harry W. Herr, William R. Fair, Howard T. Thaler and George Bosl : Clinical stage I testis cancer: long-term outcome of patients on surveillance. *Journal of Urology.* 1998; 159:855-858
 88. Rorth M, Jacobsen GK, van der Maase H, et al.: Surveillance alone versus radiotherapy after orchiectomy for clinical stage I nonseminomatous testicular cancer. *J Clin Oncol.* 1991;9:1543-8
 89. Scherenberg M. und G. E. Schubert: Morphologische Kriterien zur Beurteilung β - HCG- positiver Seminome*. *Urologe [A].* 1993; 32:38-42
 90. Schmoll H-J: Maligne Keimzelltumoren des Mannes. In: Schmoll H-J, Höffken K, Possinger K, Hrsg. *Kompendium Internistische Onkologie Teil 2, 3. Aufl.* Berlin Heidelberg New York: Springer, 1999:1659-732
 91. Scott B. Saxman, Craig R. Nichols, Richard S. Foster, Jonathan E. Messemer, John P. Donohue and Lawrence H. Einhorn: The management of patients with clinical stage I nonseminomatous testicular tumors and persistently elevated serologic markers. *Journal of Urology.* 1996; 155:587-589
 92. Senn H.J, P. Drings, A. Glaus, W.F. Jungi, H.B. Pralle, R. Sauer, P.M. Schlag: *Checkliste Onkologie, 4. Völlig neubearbeitete Auflage, Thieme Verlag* 1998
 93. Sesterhenn I. A., Raymond B. Weiss, F. Kash Mostofi, Donald M. Stablein, Randall G. Rowland, Geoffrey Falkson, Saul E. Rivkind, and Nicholas J. Vogelzang: Prognosis and other clinical correlates of pathologic review in stage I

- and II testicular carcinoma: a report from the testicular cancer intergroup study. *Journal of Clinical Oncology*. 1992; 10:69-78
94. Sharir S, Foster RS, Jewett MAS, et al.: Optimizing follow up for early stage non-seminomatous testicular cancer. *J Urol* 1996;155:Suppl:327a.abstract 67
 95. Sharir S, Jewett MAS, Sturgeon JFG, Moore M, Warde PR, Catton CN, Gospodarowicz MK (1999) Progression detection of stage I nonseminomatous testis cancer on surveillance: Implications for the follow-up protocol. *J Urol* 161: 472-476
 96. Sophie D.Fosså, MD. PhD,* Jahn Marthin Nesland, MD, PhD, Håkon Wæhre, MD, Øystein Amellem, MSc,§ and Erik O.Pettersen. PhD§: DNA ploidy in the primary tumor from patients with nonseminomatous testicular germ cell tumors clinical stage. *Cancer*. 1991; 67:1874-1877
 97. Souchon R., Schmoll H.-J, Krege S.: Leitlinie zur Diagnostik und Therapie von Hodentumoren auf Grundlage evidenzbasierter Medizin (EBM). 2002
 98. Spermon J.R, T. A. Roeleveld, H. G. van der Poel, C. A. Hulsbergen-van de Kaa, W. W. Ten Bokkel Huinink, M. van de Vijver, J. A. Witjes, and S. Horrenblas: Comparison of surveillance and retroperitoneal lymph node dissection in stage I nonseminomatous germ cell tumors. *Urology*. 2002; 59:923-929
 99. Spermon J.R., P. C. De Wilde*, A.G.J.M. Hanselaar*, H.E. Schaafsma †, T.E.G. Ruijter*, J.A. Witjes and R.J.A. Van Moorselaar‡: α -Catenin expression pattern and DNA image-analysis cytometry have no additional value over primary histology in clinical stage I nonseminomatous testicular cancer. *BJU International*. 2002;89:278-284
 100. Strohmeyer T, Peter S, Hartmann M, et al. : Expression of the *hst-1* and *c-kit* protooncogenes in human testicular germ cell tumors. *Cancer Res*. 1991; 51:1811-1816
 101. Sturgeon J. F.G., Michael A.S.Jewett, Ruth E.Alison, Mary K. Gospodarowicz, Ralph Blend, Steven Herman, Hugh Richmond, Gillian Thomas, William Duncan, and Alastair Munro: Surveillance after orchidectomy for patients with clinical stage I nonseminomatous testis tumors. *Journal of Clinical Oncology*. 1992;10:564-568
 102. Sweeney Christopher J, Benoit P. Hermans, Douglas K. Heilman, Richard S. Foster, John P. Donohue, and Lawrence H. Einhorn: Results and outcome of retroperitoneal lymph node dissection for clinical Stage I embryonal carcinoma-predominant testis cancer. *Journal of Clinical Oncology*. 2000;18:358-362
 103. Thompson, C.B: Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 1995, 267:1456-1462
 104. Ulbright. T, A. Orazi, W. de Riese, J. Messemer, and J. Eble: the relationship of p53, PCNA, and S-Phase in non-seminomatous germ cell tumors of the testis. *Lab Invest*. 1993; 68:71
 105. Viglietto G, Romano A, Maglione D, Rambaldi M, Paoletti I, Lago CT, Califano D, Monaco C, Mineo A, Santelli G, Manzo G, Botti G, Chiapetti G, Persico MG: Neovascularization in human germ cell tumors correlates with a marked increase in the expression of the vascular endothelial growth factor but not the

- placenta-derived growth facto. *Oncogene* 1996, 13:577-587
106. Weiss Ch.: *Basiswissen Medizinische Statistik*. Berlin, Springer, 2. Auflage 2002. 306 Seiten
 107. Weissbach L, Bussar-Maatz R, Flechtner H, Pichlmeier U, Hartmann M, Keller L.: RPLND or primary chemotherapy in clinical stage IIA/B nonseminomatous germ cell tumors? Results of a prospective multicenter trial including quality of life assessment. *Eur Urol*. 2000 May;37(5):582-94.
 108. Werner T. de Riese, M.D., Peter Albers, M.D.,* Edwin B. Walker, Ph.D.,§ Thomas M. Ulbright, M.D.,† William N. Crabtree, M.S., † Terry Reister, M.S., ‡ Richard S. Foster, M.D.,* and John P. Donohue, M.D.*: Predictive parameters of biologic behavior of early stage nonseminomatous testicular germ cell tumors. *Cancer*. 1994; 74:1335-41
 109. Werner T.W. DeRiese, Attilio Orazi, Richard S. Foster, John P. Donohue, and Jon E. Messermer, Indianapolis, IN (Presentation to be made by Dr. DeRiese): The clinical relevance of p53 expression in early stage nonseminomatous germ cell tumor. *Journal of Urology*. 1993; 149:311A
 110. Williams SD, Stablein DM, Einhorn LH, Muggia FM, Weiss RB, Donohue JP, Paulson DF, Brunner KW, Jacobs EM, Spaulding JT, et al.: Immediate adjuvant chemotherapy versus observation with treatment at relapse in pathological stage II testicular cancer. *N Engl J Med*. 1987 Dec 3;317(23):1433-8.

7 Danksagung

Viele Personen waren an den Erfolg dieser Arbeit beteiligt. Diejenigen, die hier nicht namentlich genannt werden, mögen mir verzeihen.

Mein herzlicher Dank gehört Herrn PD.Dr. Hans U. Schmelz, dass er mich an das Thema dieser Dissertation herangeführt hat und für die nette Betreuung.

Ein ganz lieber Dank geht an die Familie Prof. Dr. Katharina Landfester und Dr. Volker Mailänder, ohne deren wissenschaftlicher, kritischer, kulinarischer und nicht zuletzt freundschaftliche Unterstützung ich mir vermutlich noch heute die nicht vorhandene Haare raufen würde.

Lieber Dank auch an Herrn Dr. Berno Müller, der mir vor allem über die Krisen zu Beginn meiner Dissertation hinweggeholfen hat.

Bei manchen komplizierten für mich nicht eindeutig zu übersetzenden Textstellen waren mir Dr. Mongwa Mbu (New-York) und Gisela Röder (Ulm) eine große Hilfe.

Ein liebes Wort möchte ich meiner Pflege-Familie Andrae widmen. Vor allem OA Dr. Jens Andrae danke ich für seinen brüderlichen Einsatz und seine unkonventionelle Art mich zu motivieren.

Mit Leib und Seele danke ich meiner Frau Claudia für die ununterbrochene moralische Unterstützung.

Ein Dankeschön an meinen süßen Kinder Ariella und Alicia, die irgendwann kapiert hatten, dass Papa viel zu tun hat.

Dieu merci.

„Ich erkläre: Ich habe die vorgelegte Dissertation selbständig, ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit den Hilfen angefertigt, die ich in der Dissertation angegeben habe. Alle Textstellen, die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten oder nicht veröffentlichten Schriften entnommen sind, und alle Angaben, die auf mündlichen Auskünften beruhen, sind als solche kenntlich gemacht. Bei den von mir durchgeführten und in der Dissertation erwähnten Untersuchungen habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis, wie sie in der „Satzung der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ niedergelegt sind, eingehalten.“

Ferdinand Georges Akoa Mbida