

Molekulares Lymphknotenstaging beim Prostata- und Harnblasenkarzinom

Ein histopathologisch positiver Lymphknotenstatus stellt einen wesentlichen Prognosefaktor für Tumorrezidiv und Mortalität nach radikaler Prostatektomie (RP) bei Patienten mit Prostatakarzinom bzw. nach radikaler Zystektomie bei Patienten mit Harnblasenkarzinom dar. Dennoch zeigt ein nicht geringer Teil der Patienten, deren Lymphknoten histopathologisch als tumorfrei beurteilt wurden, ein Tumorrezidiv innerhalb weniger Jahre. Der molekulare Nachweis von Lymphknotenmetastasen ist ein vielversprechender Ansatz für eine sensitivere Diagnostik und eine bessere Risikostratifizierung jener Patienten, die einen histopathologisch negativen Lymphknotenstatus aufweisen.

Molekulare Lymphknotenmetastasendetektion beim Harnblasen- und Prostatakarzinom

Etwa 40% aller Harnblasenkarzinompatienten sterben innerhalb von 5 Jahren nach radikaler Zystektomie [1, 2]. Dabei gilt ein positiver Lymphknotenstatus als stärkster Prognosefaktor für Tumorrezidiv und Überleben (pN1). Zum Zeitpunkt der Zystektomie haben etwa 25% der Patienten mit Harnblasenkarzinom positive Lymphknoten [1, 2] und bis zu 80% der Patienten mit Lymphknotenmetastasen erleiden ein Tumorrezidiv und versterben in der Folge [2, 3, 4]. Aus diesem Grund wird pN1-Patienten postoperativ häufig eine adjuvante Chemotherapie empfohlen.

Neben dem Lymphknotenstatus gilt die Infiltrationstiefe (T-Stadium) als weiterer Prognosefaktor. Die 5-Jahres-Rezidivrate liegt bei pN0-Patienten mit pT2a-Stadium bei 83% und sinkt auf 62% bei Vorliegen eines pT2b-/pT3a-Stadiums bzw. auf 53% bei einem pT3b-Stadium ab [1].

Als Ursache für ein Rezidiv bei pN0-Patienten wird eine zum Operationszeitpunkt bereits vorhandene, aber mit den in der Routine verwendeten Methoden weder klinisch noch histopathologisch nachweisbare hämatogene oder lymphogene Metastasierung vermutet.

Ähnlich wie beim Harnblasenkarzinom ist der Lymphknotenstatus auch wesentlicher Prognosefaktor bei Prostatakarzinompatienten nach RP. Lymphknotenmetastasen lassen sich histopathologisch in der Niedrigrisikogruppe bei ca. 5–6%, in der mittleren Risikogruppe bei 20–25% und in der Hochrisikogruppe bei 30–40% der Prostatakarzinompatienten durch eine erweiterte Lymphadenektomie im Rahmen der RP nachweisen [5]. Dabei sinkt das tumorspezifische Überleben 5 bzw. 10 Jahre nach RP von 99 bzw. 97% bei pN0-Patienten auf 94 bzw. 83% bei pN1-Patienten ab [6].

In der Gruppe der pN0-Patienten zeigt sich eine deutliche Verschlechterung der Prognose mit zunehmendem Tumorstadium. In einer Serie von Epstein lag das rezidivfreie 10-Jahres-Überleben von pN0-Patienten mit organbegrenztem Wachstum (pT2-Stadium) bei 85% und sank bei kapselüberschreitendem Wachstum (pT3a-Stadium) auf 59% ab [7].

Der molekulare Nachweis von Lymphknotenmetastasen mittels quantitativer

Reverse Transkriptase-Polymerase-Kettenreaktion (qRT-PCR) ermöglicht eine sensitivere Diagnostik zur Detektion von Lymphknotenmetastasen und eine bessere Risikostratifizierung für die Prognoseeinschätzung jener Patienten, die einen histopathologisch negativen Lymphknotenstatus aufweisen.

Der folgende Artikel vermittelt einen Einblick in die Methodik und gibt einen Überblick zur publizierten Literatur für das Harnblasen- und Prostatakarzinom.

Detektion von Lymphknotenmetastasen

Histopathologische Routinediagnostik vs. molekulare Diagnostik

In der histopathologischen Routinediagnostik von Lymphknoten beim Harnblasen- und Prostatakarzinom erfolgt die Begutachtung von 1–2 mit Hämatoxylin-Eosin- (HE-)gefärbten Schnitten pro Lymphknoten [8].

Dabei besteht das Risiko, einen Lymphknoten, v. a. bei Vorliegen von kleinen metastatischen Absiedlungen, fälschlicherweise als pN0 einzustufen. Gründe hierfür sind (**Abb. 1**):

1. Die Tumorzellen befinden sich außerhalb der angefertigten Schnitte und werden somit nicht erfasst. Dies wird auch als Stichprobenfehler bezeichnet.
2. Es befinden sich nur einzelne Tumorzellen auf dem Anschnitt, die leicht übersehen werden können.

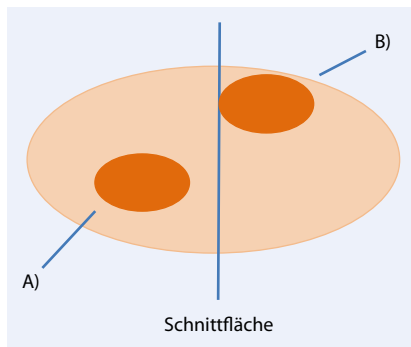


Abb. 1 ▲ Histopathologische Routinediagnostik eines Lymphknotens: Das Risiko, einen Lymphknoten als falsch-negativ zu befunden, beruht auf folgenden Problemstellungen: A Die Metastase liegt außerhalb der Schnittfläche (Stichprobenfehler). B Die Metastase grenzt nur mit vereinzelten Tumorzellen an die Schnittfläche ran und kann leicht übersehen werden

Grundsätzlich ließe sich die Detektionsrate durch die Anfertigung von Stufenschnitten mit Durchmusterung eines Lymphknotens anhand mehrerer Schnitte in sehr geringem Abstand bzw. durch eine zusätzliche Immunhistochemie zur besseren Visualisierung von einzelnen Tumorzellen erhöhen [9, 10]. Da dies aber aus zeitlichen und ökonomischen Gründen kaum in die klinische Routinediagnostik integrierbar ist, sind andere effizientere Verfahren zur Analyse der Lymphknoten notwendig.

Aktuelle Studien befassen sich daher mit der qRT-PCR als molekularer Methodik zur Detektion von Lymphknotenmetastasen. Dabei wird die zu untersuchende Lymphknotenprobe homogenisiert und nach RNA-Extraktion auf eine erhöhte Expression tumorspezifischer Gene hin untersucht (**Abb. 2**). Entscheidender Vorteil gegenüber der klassischen histopathologischen Untersuchung des Lymphknotens ist, dass durch die Untersuchung des gesamten Lymphknotengewebes das Problem des Stichprobenfehlers gelöst wird und selbst einzelne Tumorzellen nachgewiesen werden können. Im direkten Vergleich der Methoden zeigt sich daher auch die höchste Sensitivität bei der Detektion von Lymphknotenmetastasen auf Seiten der molekularen Diagnostik mittels qRT-PCR gefolgt von der Immunhistochemie und der Routinediagnostik mit HE-Färbung [10–18].

Als wesentlicher Nachteil der molekularen Lymphknotendiagnostik mittels qRT-PCR muss erwähnt werden, dass dabei morphologische Informationen wie Größe der Metastase oder Kapselinfiltration durch die vorangehende Gewebeaufarbeitung verloren gehen. Auch eine quantitative Messung der Höhe einer Genexpression im Rahmen der qRT-PCR kann höchstens einen indirekten Hinweis auf die Metastasengröße liefern. Des Weiteren kann bei einer mangelnden Expression einzelner Gene, z. B. aufgrund Entdifferenzierung des Tumors, sowohl die qRT-PCR – aber auch die Immunhistochemie – falsch-negativ sein. Daher wird häufig eine Multimarker qRT-PCR zur simultanen Detektion unterschiedlicher Marker angewandt.

Die konventionelle Histopathologie stellt den Goldstandard zur Untersuchung der Lymphknoten auf Metastasierung dar

Nach wie vor stellt die konventionelle Histopathologie den Goldstandard zur Untersuchung der Lymphknoten auf Metastasierung dar und die Datenlage für das molekulare Lymphknotenstaging bei urologischen Tumorentitäten ist begrenzt. Für andere Tumoren wie z. B. das Mammakarzinom liegen bereits bessere Daten vor. Bereits im Jahr 2010 wurde eine große prospektive, multizentrische Studie mit über 500 eingeschlossenen Mammakarzinompatientinnen und 7 Jahren Follow-up zum molekularen Lymphknotenstaging in Sentinel-Lymphknoten veröffentlicht. Hierbei ließ sich ein 3,4fach erhöhtes Rezidivrisiko bei pN0-Patienten mit molekular positiven Lymphknoten nachweisen ($p=0,001$) [11]. In den folgend beschriebenen, translationalen Studien zur molekularen Lymphknotenmetastasendetektion soll auf die vorhandene Datenlage für das Harnblasen- und Prostatakarzinom näher eingegangen werden.

Molekulare Lymphknotenmetastasendetektion

Harnblasenkarzinom

Für das Harnblasenkarzinom wurden unterschiedliche Marker zur Detektion von Lymphknotenmetastasen publiziert. Aufgrund der Heterogenität des Harnblasenkarzinoms scheint jedoch eine Markerkombination einzelnen Markern überlegen.

Marín-Aguilera et al. [19] untersuchten in ihrer Studie an 181 Lymphknoten von 102 Harnblasenkarzinompatienten, die mittels radikaler Zystektomie und pelviner Lymphadenektomie behandelt wurden, geeignete Marker zur molekularen Detektion von Lymphknotenmetastasen. Das Markersset umfasste drei urothelspezifische Marker, die anhand von Screeninguntersuchungen ausgewählt wurden, und zwei weitere bereits publizierte Marker (AGR2, FXYD3, KRT19, KRT20, UPK2). Hiervon zeigte sich die beste Diskrimination zur Unterscheidung von 21 Lymphknoten mit nachgewiesener Metastasierung eines Urothelkarzinoms und 29 Kontrolllymphknoten von Patienten ohne Tumorerkrankung mit 100% Sensitivität und Spezifität für eine Kombination der Marker FXYD3 und KRT20. Bei Anwendung dieser Markerkombination wurden 24 von 160 Lymphknoten (15%) bzw. 17 von 83 (21%) Patienten mit Harnblasenkarzinom, die histopathologisch als pN0 eingestuft wurden, als molekular positiv für Lymphknotenmetastasen bewertet. Nach 35 Monaten Nachsorge zeigte sich zwar ein signifikant schlechteres tumorspezifisches Überleben für pN1-Patienten im Vergleich zu pN0-Patienten ($p=0,03$), für pN0-Patienten mit positiver oder negativer molekularer Lymphknotenuntersuchung ließ sich jedoch kein Unterschied in Bezug auf die Prognose aufzeigen. Die Autoren begründeten dies mit einem möglichen therapeutischen Effekt der Lymphadenektomie durch Entfernung von Lymphknotenmetastasen bei geringer Metastasenlast.

In einer Studie von Gazquez et al. [16] derselben Arbeitsgruppe wurden mit der Markerkombination FXYD3 und CK20 weitere 504 Lymphknoten von 90 Harnblasenkarzinompatienten untersucht.

Während Lymphknoten von 16 (18%) Patienten als pN1 befundet wurden, ließen sich auf molekularer Ebene bei 19 (26%) pN0-Patienten Lymphknotenmetastasen nachweisen. Hierdurch ließen sich 3 Prognosegruppen für das rezidivfreie (p=0,01) und tumorspezifische Überleben (p=0,01) unterscheiden (pN0/molekularN0 vs. pN0/molekularN1 vs. pN1/molekularN1). Im Einzelgruppenvergleich von pN0-Patienten mit negativer vs. positiver molekularer Lymphknotenuntersuchung zeigte sich zwar ein Trend, jedoch kein signifikanter Unterschied für ein schlechteres rezidivfreies Überleben (p=0,133) bzw. tumorspezifisches Überleben (p=0,275).

Während der Einfluss einer positiven molekularen Lymphknotenuntersuchung bei pN0-Harnblasenkarzinompatienten auf die Prognose noch unklar erscheint, wendeten Autenrieth et al. [20] die Methodik zur Beschreibung der Topographie von Lymphknotenmetastasen im Rahmen einer prospektiv, randomisierten Studie zum Vergleich einer eingeschränkten vs. ausgedehnten Lymphadenektomie an (LEA-Studie, AUO AB 25/02). Von 315 untersuchten Lymphknoten, waren 18 (6%) Lymphknoten histopathologisch positiv und 75 (24%) histopathologisch negative Lymphknoten molekular positiv für eine Expression des Markers KRT20. Hierbei wurden über ein Drittel der KRT20-positiven Lymphknoten außerhalb des eingeschränkten Lymphadenektomiefeldes nachgewiesen. Während die Ergebnisse der LEA-Studie noch ausstehen, wäre das ein Argument für eine ausgedehnte Lymphadenektomie zur Verbesserung des Lymphknotenstagings und Entfernung potentieller Lymphknotenmetastasen.

Zusammengefasst ist die Datenlage zur molekularen Lymphknotenuntersuchung beim Harnblasenkarzinom auf Studien mit geringen Fallzahlen begrenzt und ein klarer Zusammenhang mit der Prognose ist nicht gesichert. In aktuellen Studien steht noch die Suche nach geeigneten Markern zur Metastasendetektion im Vordergrund. Hervorzuheben ist auch, dass in den genannten Studien zur Korrelation mit dem Überleben im Mittel 1–6 Lymphknoten pro Patient molekular untersucht wurden, was als nicht re-

M.M. Heck · M. Retz · R. Nawroth

Molekulares Lymphknotenstaging beim Prostata- und Harnblasenkarzinom

Zusammenfassung

Ein histopathologisch positiver Lymphknotenstatus stellt einen wesentlichen Prognosefaktor für Tumorrezidiv und Mortalität nach radikaler Prostatektomie bei Patienten mit Prostatakarzinom bzw. nach radikaler Zystektomie bei Patienten mit Harnblasenkarzinom dar. Dennoch zeigt ein nicht geringer Teil der Patienten, deren Lymphknoten histopathologisch als tumorfrei beurteilt wurden, ein Tumorrezidiv innerhalb weniger Jahre. Als Ursache für ein Rezidiv bei Patienten mit negativem Lymphknotenstatus wird eine zum Operationszeitpunkt bereits vorhandene, aber mit den in der Routine verwendeten Methoden weder klinisch noch histopathologisch

nachweisbare hämatogene oder lymphogene Metastasierung vermutet. Der molekulare Nachweis von Lymphknotenmetastasen ist ein vielversprechender Ansatz für eine sensitivere Diagnostik und eine bessere Risikostratifizierung jener Patienten, die einen histopathologisch negativen Lymphknotenstatus aufweisen.

Schlüsselwörter

Tumorrezidiv · Prostatektomie, radikale · Lymphknotenmetastase · Polymerasekettenreaktion · Detektion, molekulare

Molecular lymph node staging in prostate and bladder cancer

Abstract

A positive lymph node status is a major prognostic factor for tumor recurrence and mortality following radical prostatectomy in prostate cancer patients or radical cystectomy in bladder cancer patients. However, despite having histopathologic negative lymph nodes, a substantial proportion of patient suffers from tumor recurrence within a few years after the operation. Tumor recurrence in node-negative patients may result from hematogenous or lymphatic metastatic spread which remains undetected by standard clin-

ical or histopathologic examinations. Molecular lymph node analysis is a potential method for detection of lymph node metastases with higher sensitivity and for prognostic risk stratification of patients with histopathologic negative lymph nodes.

Keywords

Recurrence · Prostatectomy, radical · Lymph node metastasis · Polymerase chain reaction · Neoplasm, micrometastasis

präsentativ zu werten ist. Zur weiteren Untersuchung der molekularen Lymphknotendiagnostik beim Harnblasenkarzinom sind aus diesem Grund prospektive Studien mit großer Fallzahl und adäquater Lymphadenektomie zur molekularen Untersuchung einer repräsentativen Anzahl von Lymphknoten notwendig.

Prostatakarzinom

Im Gegensatz zum Harnblasenkarzinom liegen für das Prostatakarzinom bereits Studien mit großen Fallzahlen vor, die einen klaren Zusammenhang zwischen molekularem Lymphknotenmetastasenachweis in histopathologisch negativen Lymphknoten und einem erhöhten Rezidivrisiko nach lokaler Primärtherapie (RP bzw. Radiatio) nachweisen konnten.

Im Gegensatz zum Harnblasenkarzinom liegen für das Prostatakarzinom bereits Studien mit großen Fallzahlen vor

Miyake et al. [18] untersuchten 2215 Lymphknoten von 120 Prostatakarzinompatienten, welche mittels RP und pelviner Lymphadenektomie behandelt wurden, auf die RNA-Expression des prostataspezifischen Antigens (PSA) bzw. des prostataspezifischen Membranantigens (PSMA) mittels qRT-PCR. Ein Lymphknoten wurde als molekular positiv gewertet, sofern mindestens einer der beiden Marker exprimiert wurde. Während histopathologisch in 29 Lymphknoten von 11 Patienten Metastasen nachgewiesen wurden,

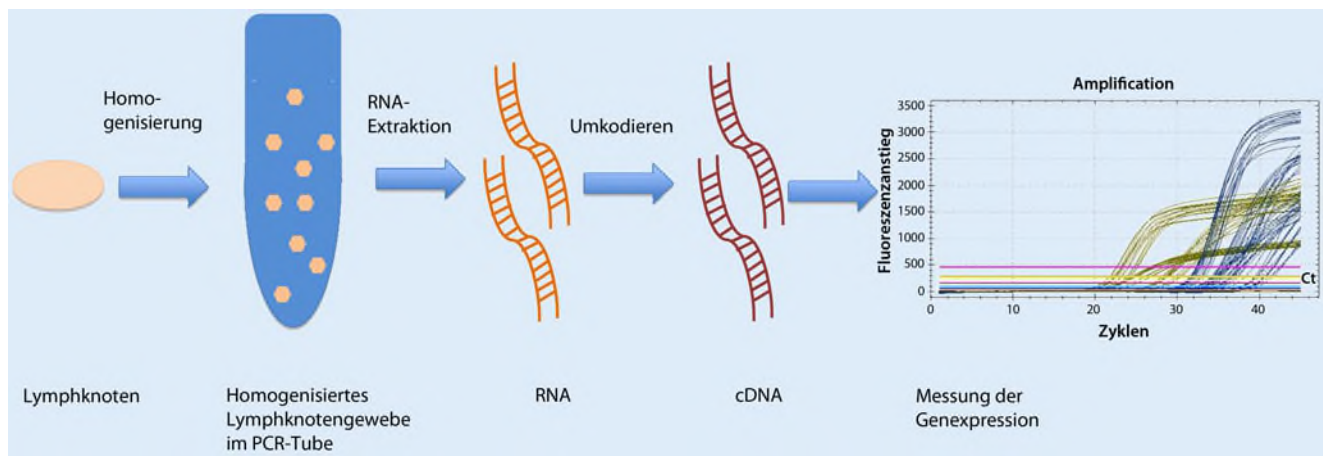


Abb. 2 ▲ Molekulare Lymphknotenmetastasedetektion mittels qRT-PCR: Nach Homogenisierung des Lymphknotengewebes erfolgt die RNA-Extraktion, Umkodieren in eine komplementäre DNA (cDNA) und schließlich die Expressionsmessung gewebespezifischer Gene

konnten auf molekularer Ebene zusätzlich in 143 Lymphknoten von 32 pN0-Patienten Lymphknotenmetastasen nachgewiesen werden. Diese Lymphknoten wurden zur Bestätigung nachträglich mittels Immunhistochemie untersucht, wobei in 61 Lymphknoten von 17 Patienten der Nachweis von Prostatakarzinomzellen bestätigt wurde.

Der molekulare Nachweis von Lymphknotenmetastasen erwies sich in der Studie als unabhängiger Prognosefaktor für eine erhöhte PSA-Rezidivwahrscheinlichkeit nach RP ($p < 0,05$). Bei pN1-Patienten ($p < 0,0001$) und pN0-Patienten mit molekularem Lymphknotenmetastasenachweis ($p < 0,0001$) bestand ein deutlich erhöhtes Risiko für ein PSA-Rezidiv im Vergleich zu pN0-Patienten mit negativer molekularer Lymphknotendiagnostik. Die Gruppen der pN1-Patienten und pN0-Patienten mit molekularem Lymphknotenmetastasenachweis unterschieden sich hingegen jedoch nicht voneinander in Bezug auf die PSA-Rezidivwahrscheinlichkeit ($p = 0,26$).

In einer weiteren Studie untersuchten Ferrari et al. [21] Lymphknoten von 341 pN0-befundeten Prostatakarzinompatienten, die mit RP oder Radiatio in Kombination mit pelviner Lymphadenektomie behandelt wurden, auf die RNA-Expression von PSA mittels qRT-PCR. Der molekulare Nachweis einer erhöhten PSA-Expression in pN0-Lymphknoten erwies sich ebenfalls als unabhängiger Prognosefaktor für ein PSA-Rezidiv ($p < 0,05$) mit

einem relativen Risiko von 1,98 im Vergleich zu Patienten mit niedriger bzw. fehlender PSA-Expression in Lymphknoten. Die stärksten Unterschiede im PSA-rezidivfreien Überleben zwischen Patienten mit und ohne molekular positiven pN0-Lymphknoten wurde bei Vorliegen eines PSA-Werts > 20 ng/ml ($p = 0,01$), eines Gleason-Scores ≥ 8 ($p < 0,001$), einem klinischen T3b-Stadium ($p = 0,001$) bzw. bei Vorliegen eines Hochrisikoprostatakarzinoms ($p = 0,05$) beobachtet.

Die qRT-PCR-Methodik ermöglicht die exakte Beschreibung der Topographie von Lymphknotenmetastasen

Unsere Arbeitsgruppe wendete die qRT-PCR-Methodik beim Prostatakarzinom an, um die exakte Topographie von Lymphknotenmetastasen bei Patienten zu beschreiben, die in kurativer Intention mittels RP und erweiterter Lymphadenektomie behandelt wurden. In die Studie wurden 52 Patienten mit intermediärem oder Hochrisikoprostatakarzinom eingeschlossen. Diese wurde unterteilt in 8 anatomische Felder einschließlich der Lymphknotenfelder im Bereich der Fossa obturatoria, der Aa. iliaca interna, externa und communis. Wesentliche Ausschlusskriterien waren ein Zweitumor oder eine vorangehende Hormontherapie. Insgesamt konnten 1186 Lymphknoten mittels Histopathologie und qRT-PCR auf

eine RNA-Expression von PSA hin untersucht werden. Histopathologisch wurden 35 (3%) Lymphknotenmetastasen bei 12 (23%) Patienten festgestellt. Die molekulare Lymphknotenuntersuchung ergab zusätzlich 95 (8%) Lymphknotenmetastasen in histopathologisch negativen Lymphknoten. Bezogen auf Patienten konnte mittels der molekularen Lymphknotenuntersuchung zusätzlich bei 15 (29%) Prostatakarzinompatienten eine Metastasierung in Lymphknoten festgestellt werden. Diese Patienten wurden mittels Histopathologie als lymphknotennegativ eingestuft.

Durch die topographische Zuordnung konnten wir zeigen, dass ca. zwei Drittel aller Lymphknotenmetastasen im Bereich der Fossa obturatoria und der A. iliaca externa lokalisiert sind, während ca. ein Drittel der Lymphknotenmetastasen im Bereich von Aa. Iliaca interna und communis liegen. Bei Betrachtung aller lymphknotenpositiven Patienten ($n = 27$) zeigte sich, dass bei 22% ($n = 6$) der Patienten Lymphknotenmetastasen ausschließlich entlang der Aa. Iliaca interna und communis lokalisiert waren. Diese Lymphknotenmetastasen werden auch als „skip lesions“ bezeichnet, da sie eine Lymphknotenstation überspringen und bei diesen Patienten ausschließlich außerhalb des Standardfeldes der Lymphadenektomie (Fossa obturatoria und A. iliaca externa) auftreten. Bei 7% ($n = 2$) der lymphknotenpositiven Patienten traten Lymphknotenmetastasen ausschließlich entlang der A. iliaca

interna auf und bei 11% (n=3) ausschließlich entlang der A. iliaca communis. Wären diese Lymphknotenstationen nicht Teil der Lymphadenektomie gewesen, dann wären diese Patienten als falsch-negativ eingestuft worden und die Lymphknotenmetastasen weder erkannt noch entfernt worden.

Im Rahmen der Studie konnten wir zeigen, dass der alleinige molekulare Nachweis von Lymphknotenmetastasen mit ähnlichen Risikofaktoren korreliert (Prostatabiopsiedichte $p=0,028$; pathologisches Tumorstadium $p=0,003$) wie der histopathologische Nachweis von Lymphknotenmetastasen (Prostatabiopsiedichte $p<0,001$; pathologisches Tumorstadium $p<0,001$).

Die Ergebnisse der Studie sind ein Argument für eine ausgedehnte Lymphadenektomie

Während Ergebnisse der klinischen, prospektiven SEAL-Studie, die den Einfluss einer eingeschränkten vs. ausgedehnten Lymphadenektomie auf das PSA-rezidivfreie Überleben beim Prostatakarzinom untersucht, ausstehen, sind die Ergebnisse unserer Studie ein Argument für eine ausgedehnte Lymphadenektomie einschließlich der Regionen Fossa obturatoria, Aa. iliaca externa, interna und communis. Dies ermöglicht einerseits die bestmögliche Detektion und Entfernung potentieller Lymphknotenmetastasen.

Fazit für die Praxis

- Die konventionelle Histopathologie stellt nach wie vor den Goldstandard zur Untersuchung von Lymphknoten auf Metastasierung beim Harnblasen- und Prostatakarzinom dar.
- Bisherige Studien zeigen, dass der molekulare Nachweis von Lymphknotenmetastasen einen Ansatz für eine sensitivere Diagnostik und eine bessere Risikostratifizierung für Tumorezidiv und Mortalität jener Patienten darstellt, die einen histopathologisch negativen Lymphknotenstatus aufweisen.
- Während für das Prostatakarzinom und andere Tumorentitäten, wie z. B. das Mammakarzinom, bereits deut-

lich die Vorteile der molekularen Lymphknotendiagnostik zur Einschätzung des Rezidivrisikos aufgezeigt werden konnten, steht für das Harnblasenkarzinom noch die Suche nach geeigneten Markern zur Metastasendetektion im Vordergrund und prospektive Studien mit adäquater Fallzahl und repräsentativer Anzahl an molekular untersuchten Lymphknoten stehen aus.

Korrespondenzadresse



Dr. M.M. Heck

Klinik und Poliklinik für Urologie, Klinikum rechts der Isar, Technische Universität München, Ismaninger Straße 22, 81675 München
m.heck@lrz.tum.de

Einhaltung ethischer Richtlinien

Interessenkonflikt. Matthias M. Heck, Margitta Retz und Roman Nawroth geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Alle im vorliegenden Manuskript beschriebenen Untersuchungen am Menschen wurden mit Zustimmung der zuständigen Ethik-Kommission, im Einklang mit nationalem Recht sowie gemäß der Deklaration von Helsinki von 1975 (in der aktuellen, überarbeiteten Fassung) durchgeführt. Von allen beteiligten Patienten liegt eine Einverständniserklärung vor.

Literatur

1. Hautmann RE, Gschwend JE, Petriconi RC de et al (2006) Cystectomy for transitional cell carcinoma of the bladder: results of a surgery only series in the neobladder era. *J Urol* 176(2):486–492
2. Stein JP, Skinner DG (2006) Radical cystectomy for invasive bladder cancer: long-term results of a standard procedure. *World J Urol* 24(3):296–304
3. Hautmann RE, Petriconi RC de, Pfeiffer C, Volkmer BG (2012) Radical cystectomy for urothelial carcinoma of the bladder without neoadjuvant or adjuvant therapy: long-term results in 1100 patients. *Eur Urol* 61(5):1039–1047
4. Shariat SF, Karakiewicz PI, Palapattu GS et al (2006) Outcomes of radical cystectomy for transitional cell carcinoma of the bladder: a contemporary series from the Bladder Cancer Research Consortium. *J Urol* 176(6 Pt 1):2414–2422
5. Heidenreich A, Ohlmann CH, Polyakov S (2007) Anatomical extent of pelvic lymphadenectomy in patients undergoing radical prostatectomy. *Eur Urol* 52(1):29–37
6. Cheng L, Zincke H, Blute ML et al (2001) Risk of prostate carcinoma death in patients with lymph node metastasis. *Cancer* 91(1):66–73

7. Epstein JI, Partin AW, Sauvageot J, Walsh PC (1996) Prediction of progression following radical prostatectomy. A multivariate analysis of 721 men with long-term follow-up. *Am J Surg Pathol* 20(3):286–292
8. Weitz J, Kienle P, Magener A et al (1999) Detection of disseminated colorectal cancer cells in lymph nodes, blood and bone marrow. *Clin Cancer Res* 5(7):1830–1836
9. International Breast Cancer Study Group (1990) Prognostic importance of occult axillary lymph node micrometastases from breast cancers. International (Ludwig) Breast Cancer Study Group. *Lancet* 335(8705):1565–1568
10. Shariat SF, Roudier MP, Wilcox GE et al (2003) Comparison of immunohistochemistry with reverse transcription-PCR for the detection of micrometastatic prostate cancer in lymph nodes. *Cancer Res* 63(15):4662–4670
11. Verbanac KM, Min CJ, Mannie AE et al (2010) Long-term follow-up study of a prospective multicenter sentinel node trial: molecular detection of breast cancer sentinel node metastases. *Ann Surg Oncol* 17(Suppl 3):368–377
12. Bilchik AJ, Hoon DSB, Saha S et al (2007) Prognostic impact of micrometastases in colon cancer: interim results of a prospective multicenter trial. *Ann Surg* 246(4):568–577
13. Ikeda S, Funakoshi N, Usui S et al (2008) Prognostic significance of gastric cancer metastasis in second-tier lymph nodes detected on reverse transcriptase-polymerase chain reaction and immunohistochemistry. *Pathol Int* 58(1):45–50
14. Denninghoff VC, Falco J, Kahn AG et al (2008) Sentinel node in melanoma patients: triple negativity with routine techniques and PCR as positive prognostic factor for survival. *Mod Pathol* 21(4):438–444
15. Shariat SF, Kattan MW, Erdamar S et al (2003) Detection of clinically significant, occult prostate cancer metastases in lymph nodes using a splice variant-specific rt-PCR assay for human glandular kallikrein. *J Clin Oncol* 21(7):1223–1231
16. Gazquez C, Ribal MJ, Marín-Aguilera M et al (2012) Biomarkers vs conventional histological analysis to detect lymph node micrometastases in bladder cancer: a real improvement? *BJU Int* 110(9):1310–1316
17. Ribal MJ, Mengual L, Marín M et al (2006) Molecular staging of bladder cancer with RT-PCR assay for CK20 in peripheral blood, bone marrow and lymph nodes: comparison with standard histological staging. *Anticancer Res* 26(1):411–419
18. Miyake H, Hara I, Kurahashi T et al (2007) Quantitative detection of micrometastases in pelvic lymph nodes in patients with clinically localized prostate cancer by real-time reverse transcriptase-PCR. *Clin Cancer Res* 13(4):1192–1197
19. Marín-Aguilera M, Mengual L, Buset M et al (2008) Molecular lymph node staging in bladder urothelial carcinoma: impact on survival. *Eur Urol* 54(6):1363–1372
20. Autenrieth M, Nawroth R, Semmlack S et al (2008) Muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder. Detection and topography of micrometastases in lymph nodes. *Urologe A* 47(9):1157–1161
21. Ferrari AC, Stone NN, Kurek R et al (2006) Molecular load of pathologically occult metastases in pelvic lymph nodes is an independent prognostic marker of biochemical failure after localized prostate cancer treatment. *J Clin Oncol* 24(19):3081–3088