

Hans Helmut Dahm

Zur Morphologie und Morphometrie
des experimentellen und des menschlichen
Übergangsepithelkarzinoms
der Harnblase



Cuvillier Verlag Göttingen
Internationaler wissenschaftlicher Fachverlag

Impressum

Titel des Werkes: Zur Morphologie und Morphometrie des experimentellen und des menschlichen Übergangsepithelkarzinoms der Harnblase

Autor: Hans Helmut Dahm

Cuvillier Verlag GmbH

Nonnenstieg 8

37075 Göttingen

Telefon: 0049-551-547240

Webseite: www.cuvillier.de

E-Mail: info@cuvillier.de

Bibliografische Informationen der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.dnb.de> abrufbar.

1. Auflage, Göttingen. 2026

Zugl.: Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen, 1984

Diese Publikation wurde durch Mittel aus dem Publikationsfonds Niedersachsen-OPEN unterstützt, der von zukunft.niedersachsen finanziert wird.

© Cuvillier Verlag GmbH, Göttingen

Dieses Werk ist lizenziert unter einer Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz (CC BY 4.0). <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Sie können das Material frei weiterverbreiten und bearbeiten, auch für kommerzielle Zwecke, sofern Sie die Quelle ordnungsgemäß angeben. Sie müssen außerdem einen Link zur Lizenz angeben und auf Änderungen hinweisen. Alle Rechte an Inhalten, die nicht unter diese Lizenz fallen, bleiben vorbehalten.

eISBN 978-3-68952-537-9

ORCID 0000-0002-6410-1412

ISNI 0000000530311106

Aus der Abteilung Pathologie der Medizinischen Fakultät der
Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen
(Vorstand: Prof. Dr. med. Ch. Mittermayer)

Zur Morphologie und Morphometrie des experimentellen und des menschlichen Übergangsepithelkarzinoms der Harnblase

Habilitationsschrift
zur Erlangung der Venia legendi
für das Fach Pathologie
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule
zu Aachen

vorgelegt von
HANS HELMUT DAHM
Aachen 1984

Zusammenfassung

Die Arbeit entstand in der Abteilung Pathologie der RWTH Aachen (Vorstand Prof. Dr. Ch. Mittermayer).

In der Arbeit wurden tierexperimentelle und menschliche Übergangsepithelkarzinome der Harnblase morphologisch und morphometrisch untersucht.

Mit Hilfe morphometrischer Daten wurde überprüft, welche Beziehungen zwischen dem experimentellen Modell und dem spontan auftretenden Karzinom des Menschen bestehen.

Die prognostische Relevanz der Gradierung des menschlichen Harnblasenkarzinoms entsprechend der WHO-Klassifikation wurde an einer retrospektiven Analyse von rund 2000 primären Harnblasenkarzinomen demonstriert, die bis zu 7 Jahren in ihrem Verlauf dokumentiert sind.

Aus DNS-zytophotometrischen und karyometrischen Meßergebnissen an 150 Tumoren wurden mit Hilfe der schrittweisen Diskriminanzanalyse für beide Methoden die deskriptiven Maße ermittelt, die zur optimalen Trennung der Normalbefunde und der 3 Differenzierungsgrade des Harnblasenkarzinoms führen. Die Maße erlauben in der dargestellten Form eine Tumorklassifikation frei von subjektiv bedingten inter- und intraindividuellen Unterschieden. Mit den gleichen morphometrischen Meßmethoden erfolgte auch eine Gradierung des Carcinoma in situ der Harnblase in 3 Kategorien.

Im experimentellen Teil wurde die Formenvielfalt des bei der Ratte induzierten Harnblasenkarzinoms und seiner Vorläuferläsionen DNS-zytophotometrisch und karyometrisch aufgegliedert und objektiviert.

Die im zeitlichen Verlauf der Tumorinduktion auftretenden Dysplasien leichten bis schweren Grades wurden vergleichend lichtmikroskopisch sowie raster- und elektronenmikroskopisch untersucht, die erhobenen Befunde mit den Meßdaten korreliert.

Durch die objektive morphometrische Beschreibung wird dem Experiment und auch der morphologischen Analyse des menschlichen Harnblasenkarzinoms eine allgemeingültige Aussage zuteil.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1 Einleitung	1
2 Material und Methoden	4
2.1 Experimentelle Harnblasentumoren	4
2.1.1 Versuchstiere	4
2.1.2 Versuchsplan	4
2.1.3 Perfusionsfixierung	5
2.1.4 Zytologie	6
2.2 Menschliche Tumoren	6
2.2.1 Lichtmikroskopie	6
2.2.2 Elektronenmikroskopie	7
2.3 Morphologische Methoden	7
2.3.1 Transmissionselektronenmikroskopie	7
2.3.2 Rasterelektronenmikroskopie	8
2.3.3 Lichtmikroskopie	9
2.3.3.1 Histologie	9
2.3.3.2 Zytologie	9
2.3.3.3 FEULGEN-Färbung	9
2.3.4 Zytophotometrie	10
2.3.5 Karyometrie	12
3 Ergebnisse	13
3.1 Morphologie experimenteller Harnblasen- tumoren	13
3.2 Zytophotometrie experimenteller Harn- blasentumoren	22
3.3 Karyometrie experimenteller Harnblasen- tumoren	32
3.4 Morphologie und biologisches Verhalten des menschlichen Harnblasenkarzinoms	39

	Seite
3.5	Zytophotometrie des menschlichen Harn- blasenkarzinoms 46
3.6	Karyometrie des menschlichen Harn- blasenkarzinoms 57
4	Diskussion 63
4.1	Morphologie des Übergangsepithels der Rattenharnblase 63
4.2	Formale Pathogenese experimenteller Harnblasentumoren der Ratte 67
4.2.1	Transmissionselektronenmikroskopie experimenteller Harnblasentumoren 74
4.2.2	Rasterelektronenmikroskopie experimenteller Harnblasentumoren 76
4.3	Kausale Pathogenese experimenteller Harnblasentumoren 79
4.3.1	N-Butyl-N-(4-Hydroxybutyl)nitrosamin (BBN) 82
4.3.2	Weitere Karzinogene des Harntraktes der Ratte 85
4.4	Epidemiologie des menschlichen Harnblasenkarzinoms 87
4.5	Klassifikation der Harnblasentumoren 90
4.5.1	Differenzierungsgrad und Prognose 98
4.5.2	Stadium und Prognose 100
4.5.3	Das Carcinoma in situ der Harnblase 103
4.5.4	Rezidiv, Progression, Predictors 114
4.5.5	Elektronenmikroskopie des Harn- blasenkarzinoms 119
4.6	Morphometrie des Harnblasenkarzinoms 123
4.6.1	DNS-Zytophotometrie in der Tumor- diagnose 123

	Seite
4.6.1.1 DNS-Zytophotometrie am Paraffin- schnitt	130
4.6.2 DNS-Zytophotometrie des Harn- blasenkarzinoms	131
4.6.3 Zytogenetik des Harnblasenkarzinoms	136
4.6.4 Karyometrie des Harnblasenkarzinoms	138
4.7 Erörterung der eigenen Ergebnisse	140
4.7.1 Experimentelles Harnblasenkarzinom	140
4.7.2 Menschliches Harnblasenkarzinom	151
5 Zusammenfassung	159
6 Literaturverzeichnis	162

1 Einleitung

"Die tragenden Säulen der Diagnostik des Morphologen sind Erfahrung und Kunst". Die Bewertung gestaltlicher Kriterien ist jedoch häufig subjektiven Einflüssen unterworfen, wodurch die Einführung objektiver Kriterien notwendig wird (SANDRITTER, 1973).

Die Unzulänglichkeit der subjektiven Beurteilung, hier allgemein formuliert, wird insbesondere hinsichtlich der Gradierung der Harnblasentumoren von mehreren Arbeitsgruppen als hinreichende Begründung für die Einführung morphometrischer Methoden in die Diagnostik herangezogen.

So betonte KOSS (1979), daß bei der Beurteilung zytologischer Präparate von Patienten mit Harnblasentumoren erhebliche individuelle und selbst intraindividuelle Unterschiede hinsichtlich der Bewertung verschiedener Atypiegrade zu beobachten seien.

TRIBUKAIT et al. (1979) unterteilten Grad 2 Tumoren zytophotometrisch und histologisch in zwei Gruppen mit stärkerer und leichter Atypie. Die Wiederholung der histologischen Untersuchung führte danach in lediglich 80 % der Fälle zu einer Übereinstimmung mit der ersten Diagnose.

Ungünstiger sieht das Ergebnis anderer Experimente aus (OOMS, 1981; OOMS et al, 1983a). Bei der Mehrfachuntersuchung einer Serie von 75 Harnblasentumoren gradierten die einzelnen Pathologen die Schnittpräparate in etwa

der Hälfte der Fälle abweichend von ihrer ersten Diagnose. Diese Inkonsistenz drohe jede Gradierung und subjektive Diagnostik zu entwerten, wie die Autoren vermerkten.

Die Erfahrung, deren Bedeutung SANDRITTER (1973) hervorhebt, muß angesichts einer zunehmenden Zahl von Klassifikationen neoplastischer und nicht neoplastischer Krankheiten in regelmäßiger Übung erworben und bewahrt werden.

Die Morphometrie ersetzt diese Erfahrung nicht. Sie bietet jedoch eine Abstützung der nach morphologischen Kriterien erstellten Beurteilung und hilft, den Wert oder Unwert dieser Kriterien zu ermitteln.

In diesem Sinne wird in der vorgelegten Arbeit versucht, morphologische Erscheinungen und morphometrische Parameter miteinander zu verknüpfen.

Ziel der Arbeit ist es, die formale Pathogenese des Blasenkarzinoms im experimentellen Ansatz darzustellen. Insbesondere die Frühveränderungen des experimentellen Blasenkarzinoms sollen konventionell licht- und elektronenmikroskopisch sowie DNS-zytophotometrisch und karyometrisch erfaßt und beschrieben werden.

Die Formenvielfalt des menschlichen Harnblasenkarzinoms gilt es, mit den gleichen Methoden darzustellen.

Auf der Grundlage vergleichbarer Meßwerte wird sodann der Versuch unternommen, Parallelen zwischen experimen-

tellem Modell und menschlicher Krankheit aufzuzeigen, und so Erfahrungen der Humanpathologie auf das Experiment zu übertragen sowie andererseits aus dem Tiermodell das biologische Potential der morphologischen Veränderungen des Übergangsepithels der menschlichen Harnblase verstehen zu lernen.

2 Material und Methoden

2.1 Experimentelle Harnblasentumoren

2.1.1 Versuchstiere

28 männliche und 44 weibliche Wistar-Ratten (Landeszuchtanstalt Hannover) werden im Tierversuch eingesetzt. Die Tiere wiegen bei Versuchsbeginn 180 - 200 g. Sie werden zu je 4 in Makrolon-Käfigen (Ehret) gehalten. Standardfutter (Herilan, Eggersmann) wird ad libitum verfüttert. Die Haltung erfolgt in klimatisierten Räumen mit einem Hell-Dunkel-Rhythmus von 12 zu 12 Stunden.

2.1.2 Versuchsplan

Zur Tumorinduktion erhalten die Tiere N-Butyl-N-(4-Hydroxybutyl)nitrosamin (BBN) - Synthese: Prof. Dr. R. PREUSSMANN, Deutsches Krebsforschungszentrum, Heidelberg - als 0,05 Vol.-%ige Lösung im Trinkwasser gleichfalls ad libitum aus 700 ml Trinkflaschen (Ehret). Die durchschnittliche Trinkmenge pro Tier betrug über die gesamte Versuchsdauer 21,0 ml pro Tag.

In Serie 1 erhalten die männlichen Tiere BBN bis zur maximal 12. Woche. Beginnend mit der 2. Woche werden jeweils 4 Tiere in zweiwöchigen Abständen getötet. Die Serie schließt 4 Kontrolltiere ein.

In Serie 2 erhalten die weiblichen Tiere BBN bis zur 30. Woche. 36 Tiere erhalten BBN bis zur 18. Woche. Nach der 2. Woche und sodann in Abständen von 2 Wochen werden jeweils 4 Tiere getötet. Die 10. Gruppe von 4 Tieren erhält BBN über 30 Wochen. Auch in der Serie 2 werden 4

Kontrolltiere untersucht.

Nach einer Verfütterung von BBN über die Zeiträume zwischen 2 und 12 Wochen (Serie 1) bzw. 2 bis 18 Wochen und nach 30 Wochen (Serie 2) folgt jeweils ein kanzerogen-freies Intervall von 2 Wochen vor der Tötung.

2.1.3 Perfusionsfixierung

Die Harnblasen der männlichen Tiere (Serie 1) werden ausschließlich für die elektronenmikroskopische Untersuchung vorbereitet.

In tiefer Narkose durch Nembutal (Abbot) in Überdosierung intraperitoneal erfolgt die Perfusionsfixierung nach Eröffnung des Thorax über den Aortenbogen.

Verspülung: Injektion von 1000 IE Heparin
 (Liquemin, Roche oder Thrombophob,
 Nordmark) in 0,1 M Cacodylatpuffer
 pH 7,2 bis zur weitgehenden Ent-
 blutung.

Fixierung: 2,5 % Glutaraldehyd (Merck) im
 gleichen Cacodylatpuffer.

Perfusionsdruck: 120 mmHg.

Perfusionsdauer: 5 - 7 min.

Gleichzeitig mit der Perfusionsfixierung erfolgt eine Instillation von 0,5 ml der Fixierlösung in die Harnblase über die Urethra.

Die Harnblasen werden nach Entnahme in Sagittalebene zer-
teilt und über 3 bis 4 Stunden nachfixiert.

Die Harnblasen je 3 der weiblichen Tiere (Serie 2) wer-

den kombiniert licht- und elektronenmikroskopisch untersucht.

Zur optimalen Fixierung für die DNS- Zytophotometrie wird mit dem von MCDOWELL (1978) empfohlenen, gepufferten Formalin-Glutaraldehyd-Gemisch perfundiert.

Vorspülung: 0,1 N-Phosphatpuffer pH 7,2 und 1000 IE Heparin.

Perfusionsfixierung: 1 % Glutaraldehyd (Merck).
4 % Paraformaldehyd (Merck) in
0,1 M Natriumphosphatpuffer (monobasisch), pH 7,2.

Die fixierten Harnblasen werden nach Entnahme halbiert und in der Fixierlösung 3 - 4 Stunden nachfixiert.

2.1.4 Zytologie

Je ein weibliches Tier der zweiten Versuchsserie (2 - 30 Wochen BBN) wird zur Entblutung in Narkose mit 0,1 M Phosphatpuffer und 1000 IE Heparin perfundiert. Die Harnblase wird nach Entnahme zerteilt. Von jeder Hälfte wird das Epithel mittels einer Skalpellklinge abgelöst und auf entfettete Objektträger aufgebracht. Mit Hilfe eines zweiten Objektträgers werden Ausstriche nach Art der Blutausstriche hergestellt und feucht in einem Methanol-Formalin-Eisessig-Gemisch (BÖHM, 1968) fixiert.

2.2 Menschliche Tumoren

2.2.1 Lichtmikroskopie

Bei den morphometrisch untersuchten Präparaten handelt es sich um Gewebeproben, die zur histopathologischen

Untersuchung zur Abteilung Pathologie der RWTH Aachen und zum Institut für Pathologie (Prof. Dr. R. LINDENFELSER) in Bardenberg eingesandt worden sind. Die Gewebeproben werden üblicherweise in 4 %iger Formalinlösung fixiert und konventionell in Einbettungsautomaten in Paraffin eingelegt.

Von den ausgewählten Präparaten werden für die DNS-Zytophotometrie neue, 10 - 12 um dicke Schnittpräparate angefertigt sowie 4 - 6 um dicke Parallelschnitte für die Reklassifizierung.

2.2.2 Elektronenmikroskopie

Für die elektronenmikroskopische Untersuchung von 18 Präparaten werden Gewebeproben von 1 - 2 mm Kantenlänge in dem beschriebenen Glutaraldehyd-Paraformaldehyd-Gemisch immersionsfixiert.

2.3 Morphologische Methoden

2.3.1 Transmissionselektronenmikroskopie

In der Serie 1 der männlichen Tiere werden aus den beiden Harnblasen jeder Gruppe (2 - 12 Wochen BBN) 5 - 10 Gewebsblöcke von 2 - 3 mm Kantenlänge für die Elektronenmikroskopie entnommen. Aus der Serie 2 der weiblichen Tiere (2 - 30 Wochen BBN) werden von einer weiteren Harnblase gleichfalls 5 - 10 Gewebsblöcke untersucht.

Die Gewebeproben werden über Nacht in Puffer gespült. Es folgt eine Nachfixierung in gepufferter 2%iger Osmiumtetroxid-Lösung. Sodann Entwässerung in der aufsteigenden Äthanolreihe und Einbettung in Araldit (Merck).

Für die Gewebeproben der männlichen Tiere (Serie 1) erfolgt eine Stückkontrastierung (Uranylacetat und Phosphorwolframsäure in 70 % Alkohol).

Die Gewebeproben der menschlichen Tumoren werden in gleicher Weise für die Elektronenmikroskopie bearbeitet.

Ultramikrotom: OmU3 (Reichert).

Transmissionselektronenmikroskop: EM 10 A (Zeiss).

Färbung der Semidünnschnitte mit Methylenblau-AzurII (RICHARDSON et al., 1960).

Kontrastierung der Dünnschnitte mit Bleizitrat und Uranylacetat.

2.3.2 Rasterelektronenmikroskopie

Im tierexperimentellen Teil wird je eine durch Sagittalschnitt gewonnene Hälfte der Harnblasen mit Nadeln auf Korkplättchen fixiert und über die aufsteigende Azetonreihe dehydriert. Kritische-Punkt-Trocknung über flüssige Kohlensäure (Critical-Point-Apparatus, Balzers). Aufbringen der getrockneten Präparate auf Aluminiumhalter mittels Klebeband und Leitsilber (Balzers). Sputter-Coating mit Gold-Palladium (Hummer II, Technics).

Rasterelektronenmikroskop: AMR 1000 A (Leitz).

2.3.3 Lichtmikroskopie

2.3.3.1 Histologie

Je eine Hälfte der Harnblasen aus der zweiten Serie des Tierexperiments (2 - 30 Wochen BBN) werden in 2 - 3 mm breite Streifen zerteilt und im Einbettungsautomaten in Paraplast eingelegt. 4 - 6 μ m dicke Schnitte (Schlittenmikrotom Hn 40, Jung) für die lichtmikroskopische Betrachtung und 10 - 12 μ m dicke Schnitte für die FEULGEN-Färbung werden hergestellt.

Einzelne der menschlichen sowie auch der experimentell erzeugten Tumoren werden in Technovit 7200 (Kulzer) eingebettet. Semidünnschnitte (Autocut 1140, Reichert) werden ebenso wie die Paraffinschnitte konventionell mit Hämatoxylin und Eosin gefärbt (HE).

2.3.3.2 Zytologie

Die Hälfte der Ausstriche des Tierexperiments wird nach PAPANICOLAOU und MAY-GRÜNWALD-GIEMSA gefärbt.

2.3.3.3 FEULGEN-Färbung

Die zytologischen Präparate werden vor der Hydrolyse in Aqua dest. gespült, die Paraffinschnitte über Xylol und Alkohol bis Wasser gebracht.

Hydrolyse der Schnitt- und Ausstrichpräparate in 4 N HCl bei 28 Grad über 45 Minuten (BÖHM, 1968).

Die optimale Hydrolysezeit wurde an Schnittserien eines Präparats ermittelt.

Färbung mit SCHIFFschem Reagenz nach GRAUMANN (1953).
Nach Entwässerung über Alkohol werden die Präparate aus dem Intermedium Xylol in Öl (Cargille), Brechungsindex $n_D = 1,54$ (20 Grad C), eingedeckt.

2.3.4 Zytophotometrie

Die DNS-zytophotometrische Untersuchung erfolgt mit dem Scanning-Mikrodensitometer M 85a (Vickers Instruments).

Arbeitsweise des Mikrodensitometers:

Das histologische Präparat wird bei 500-facher Vergrößerung (Objektiv x 40) wie in einem konventionellen Lichtmikroskop betrachtet. Über einen Prismenmonochromator kann das Licht einer 50-W-Halogenlampe in eine beliebige Wellenlänge zwischen 400 nm und 700 nm zerlegt werden. Der erzeugte feine monochromatische Lichtstrahl, dessen Größe frei gewählt werden kann, wird durch das Objektiv des Mikroskops in die Ebene des Schnittpräparates projiziert. Dabei wird das Präparat rasterförmig überstrichen. Größe des Rasters und Dauer des Vorgangs sind gleichfalls frei wählbar.

Die Extinktion wird durch einen Photomultiplier gemessen, zu dem das nicht im Präparat absorbierte Licht über Kondensor, Apertur- und Feldblende des Mikroskops gelangt. Die Messung erfolgt lediglich in dem Areal des Präparats, das durch eine zusätzlich in das Blickfeld eingeblendete Maske ausgewählt ist. Die Einzelpunktmessungen des Rasters werden integriert und in Maschineneinheiten (arbitrary units) angegeben.

Die angewandte Subtraktionsmethode, bei der Hintergrund sowie Zellkern getrennt gemessen und die Meßwerte voneinander subtrahiert werden, ist relativ aufwendig. Die Ergebnisse dieses Verfahrens sind durch Streulicht oder Rauscheffekte jedoch nur wenig beeinträchtigt.

Die DNS-Messung erfolgt bei 40-facher Objektivvergrößerung. Bei der gewählten Spot Size 2 mißt der Durchmesser des Meßpunktes 1 μm . Die von FOSSA (1975) als optimal ermittelte Wellenlänge von 570 nm wird übernommen. Insgesamt wird eine mittlere Auflösung angestrebt: Bandbreite 90, Zeitdauer der Messung 4 Sekunden, Kantlänge des Meßfeldes 50 μm .

In allen Präparaten werden die Meßwerte von 100 Epithelzellkernen und der entsprechenden Zytoplasmen aufgenommen. Als Referenzwerte gelten die Mittelwerte von 15 bis 20 Lymphozyten jedes Präparates.

Die Zahlenwerte der Messungen werden über einen Drucker registriert. Die Meßwerte werden sodann manuell in einen Rechner eingegeben (HP 9825 A, Hewlett-Packard). Ein Statistikprogramm sortiert die Werte zu Klassen mit einer Klassenbreite von 0,5c. Das statistische Programm errechnet Mittelwert und Standardabweichung sowie die von BÖCKING (1980) empfohlenen Werte 5cER und 2cDI. Die Datensätze werden auf Bandkassette gespeichert. Ein an den Rechner angeschlossener Plotter 9872 A (Hewlett-Packard) liefert die graphische Darstellung der DNS-Histogramme.

2.3.5 Karyometrie

Die für die karyometrische Untersuchung ausgewählten histologischen und zytologischen Präparate werden mit 100-facher Objektivvergrößerung photographiert. Von der Originalvergrößerung ($\times 320$) erfolgt eine Nachvergrößerung auf das Format 18 x 24 cm (Endvergrößerung: $\times 2100$).

Jeweils 100 Kerne der zytologischen Präparate des Tier-experiments und 50 Kerne der histologischen Schnittpräparate menschlicher Gewebeproben werden untersucht.

Die Messung erfolgt mit dem System MOP-AM02 (Kontron). Dazu werden die Abbildungen auf einem graphischen Auswertetablett fixiert. Mit einem Cursor werden die Ränder der zu messenden Kerne umfahren. Die Zentraleinheit des Systems errechnet aus den gewonnenen Daten Umfang, Fläche, größten und kleinsten Durchmesser, das Verhältnis der Halbachsen (DR) und den Formfaktor (FF) jedes Kerns. Der Formfaktor ist ein Maß für die Undulation, die Halbachsenrelation für die elliptische Verformung des Kerns.

Die mit dem MOP-System gemessenen Basisparameter werden zur Datenweiterverarbeitung an den Rechner HP 9825 A (Hewlett-Packard) weitergegeben. Die Daten werden durch ein entsprechendes Programm statistisch aufbereitet. Das Programm teilt die Daten nach Eingabe der Klassengrenzen in gleiche Klassen auf. Die Häufigkeit der Klassenwerte wird angegeben. Ferner berechnet das Programm den arithmetischen Mittelwert, Varianz und Standardabweichung der Daten.

3 Ergebnisse

3.1 Morphologie experimenteller Harnblasentumoren

Kontrollen: (Abb. 1 - 8 des Bildbandes)

Die Schleimhaut der Harnblase ist bei der Ratte makroskopisch weitgehend glatt. Am fixierten Präparat ist sie histologisch (Abb. 1) und rasterelektronenmikroskopisch (Abb. 4) teilweise zu schlanken, gut vaskularisierten Falten aufgeworfen. Zum Teil scheinen sich die Falten über weiträumigen Gefäßen zu bilden.

Das Übergangsepithel besteht aus drei Schichten: Superfizial-, Intermediär- und Basalzellen. Die Superfizialzellen besitzen die größten Zytoplasmen, die sich weniger intensiv anfärben als die der übrigen Zellen. Ihre Oberflächenmembran ist charakteristisch sägeblattartig gekerbt. Die Kerne der Oberflächenzellen sind bisweilen vergrößert und hyperchromatisch. Kleine Nukleolen liegen der inneren Kernmembran auf. Das Kernchromatin ist in allen Zellschichten feinnetzig verteilt (Abb. 2).

Elektronenmikroskopisch sind die Oberflächenzellen durch zahlreiche fusiforme und rundliche Vesikel, Telolysosomen (Residualkörper), Filamentbündel sowie einen gut entwickelten Golgiapparat gekennzeichnet (Abb. 3). Die Oberflächenmembran der Deckzellen weist einen asymmetrischen Aufbau auf. Die gleiche Membran umschließt auch die spindelförmigen und rundlichen Vesikel dieser Zellen (Abb. 5). Benachbarte Oberflächenzellen sind durch einen apikal in der lateralen Plasmamembran gelegenen junctionalen Komplex verbunden. In diesem Zellkontakt sind

Zonula occludens, Zonula adhaerens und Macula adhaerens (Desomosom) zu trennen (Abb. 5). Hemidesmosomen verbinden die basale Membran der Basalzellen mit der Basallamina, die das Epithel von der Lamina propria trennt.

Die lichtmikroskopisch erkennbaren Einkerbungen in den Oberflächen der Deckzellen sind durch eine Abfolge von bogenförmigen Einsenkungen der apikalen Plasmamembran bedingt, die in unterschiedlichen Winkeln zueinander stehen. Zwischen diesen starren Teilen ist die Oberflächenmembran zu feinen Leisten aufgefaltet. Rasterelektronenmikroskopisch bedecken diese Mikroleisten die hexagonalen Oberflächenzellen in typischer Form. Ihr Mikrorelief bewirkt einen samtartigen Aspekt der Schleimhautoberfläche (Abb. 3, 7, 8).

2 Wochen BBN: (Abb. 9 - 13)

Die Gabe von BBN über zwei Wochen hat eine Hyperplasie des Epithels zur Folge mit einer Vermehrung der Intermediärzellschichten (Abb. 9). Durch eine Proliferation des Bindegewebes der Lamina propria erscheinen die Schleimhautfalten verplumpt und abgeflacht. Die Oberflächenmembran der Deckzellen ist bereits bei lichtmikroskopischer Betrachtung intensiver und bürstenartig gezackt. Die Zytoplasmen aller Zellschichten sind verschmälert. Dabei heben sich die Deckzellen nicht mehr gegen die Zellen der übrigen Schichten ab. Insgesamt fällt eine gewisse Zellunruhe auf (Abb. 9). In dem feinnetzigen Chromatin der Kerne treten einzelne kleine Chromatingranula und leicht vergrößerte Nukleolen zu Tage (Abb. 10).

Elektronenmikroskopisch sieht man jetzt auch in den

Intermediärzellen vermehrt fusiforme Vesikel (Abb. 11). Die Mikroleisten der Oberflächenzellen sind rasterelektronenmikroskopisch blattartig verplumpt. Das ursprüngliche Mikroleistenmuster ist nur in Resten erhalten (Abb. 12, 13).

4 Wochen BBN: (Abb. 14 - 20)

Nach 4 Wochen BBN sind die Schleimhautfalten der Harnblase weiter verplumpt und abgeflacht. Das Epithel ist zu flachen Papillen proliferiert oder auch zu plumpen Epithelzapfen in die Lamina propria eingesunken. Das Epithel ist bis zu 7 Zellschichten verbreitert. Herdförmig erscheint die normale Dreischichtung erhalten. In kleineren Arealen und bei den einzelnen Tieren unterschiedlich ausgeprägt ist eine Kernpolymorphie festzustellen. Die Kerne der Basal- und Intermediärzellen sind entrundet und mit ihrer Längsachse senkrecht zur Basalmembran ausgerichtet (Abb. 14). Das Kernchromatin ist netzförmig vergrößert (Abb. 15). In den Intermediärzellschichten nehmen die spindelförmigen Vesikel, Telolysosomen und Mitochondrien an Zahl zu (Abb. 16). Der Interzellularspalt ist herdförmig verbreitert. Zusätzlich fallen vermehrte Desmosomen auf (Abb. 17). Die Oberflächen der stark verkleinerten, nunmehr polygonalen Deckzellen sind grob gelappt. Außer blattförmigen Auffaltungen treten kleine kugelförmige Protrusionen auf, die einzelne Zellen gänzlich bedecken (Abb. 20).

6 Wochen BBN: (Abb. 21 - 27)

Die Hyperplasie des Epithels nimmt nach 6 Wochen BBN in der gesamten Harnblase zu. Durch Einschnürungen des hyperplastischen Epithels entstehen kleine Epithelkissen

mit bis zu 7 Zellschichten (Abb. 21, 26). Auffällig ist die Proliferation von Kapillaren, die das Epithel durchsetzen und zum Teil über dem Niveau der Basalzellen liegen. Die Kerne der Deckzellen sind vereinzelt stark vergrößert und liegen in apikaler Position. Dabei rücken die Deckzellen scheinbar auseinander. Am zytologischen Ausstrich und elektronenmikroskopisch wird eine Vergrößerung des Chromatinmusters deutlich (Abb. 22, 23). Die Ausstattung einzelner Zellen mit Organellen erscheint regellos. Neben Zellen mit zahlreichen Organellen liegen solche mit sehr einfachem Zytoplasma (Abb. 23). In der Oberflächenmembran sind nur wenige Plaqueregionen erhalten. Überwiegend ist die luminale Plasmamembran der Superficialzellen grob gefaltet (Abb. 24, 27).

8 Wochen BBN: (Abb. 28 - 34)

Nach 8 Wochen fallen stark vergrößerte Kerne in dem proliferierten Epithel auf. Das Chromatin der Kerne ist vakuolär und grobnetzig angeordnet (Abb. 29). Die Kern-Plasma-Relation ist in dem gesamten Epithel vergrößert (Abb. 28). Die mesenchymale Reaktion mit Kapillarwucherungen bis in das mittlere Drittel des Epithels hat gleichfalls zugenommen. Elektronenmikroskopisch sind alle Zellschichten gleichförmig mit Organellen ausgestattet (Abb. 30). Die Interdigitationen der lateralen Plasmamembranen sind vertieft und vermehrt (Abb. 31). Einzelne Oberflächenzellen lösen sich teilweise aus dem Zellverband (Abb. 30). Der Golgiapparat der Zellen ist weiterhin gut entwickelt. Die Oberflächenmembran der Deckzellen erscheint teilweise abgeglättet. Rasterelektronenmikroskopisch ist an den Oberflächen ein spärliches Mikroleistenmuster zu erkennen. Die Zellgrenzen sind

tief eingesunken und verdeckt (Abb. 33, 34).

10 Wochen BBN: (Abb. 35 - 40)

Nach 10 Wochen wachsen zahlreiche plumpe Epithelzapfen in die Lamina propria ein. In papillären Abschnitten sind einzelne Zellkerne stark vergrößert. Vermehrte Mitosefiguren weisen auf die erhöhte proliferative Aktivität des Epithels hin. Die Kerne sind mit verdichtetem Chromatin und vielfach auch mit mehreren kleinen Nukleolen ausgestattet. Es kommt zu einem Polaritätsverlust der Kerne (Abb. 35). Elektronenmikroskopisch kann die Oberflächenmembran einzelner Zellen gegenüber der Norm noch unverändert sein (Abb. 38). Plaqueregionen sind nur noch selten abzugrenzen. Die in den Zentren der Zellen glatte Oberflächenmembran wird zur Peripherie hin von spärlichen, sehr kurzen Mikrovilli durchsetzt. Dieses Phänomen ist von Zelle zu Zelle unterschiedlich stark ausgeprägt (Abb. 40).

12 Wochen BBN: (Abb. 41 - 46)

Nach 12 Wochen der BBN-Exposition haben sich bei den Tieren in unterschiedlichem Ausmaß solide, papilläre oder auch polypöse Zellwucherungen mit erheblicher Kernpolymorphie gebildet, begleitet von herdförmiger Plattenepithelmetaplasie und weiterer Zunahme der mesenchymalen Reaktion. Kapillaren durchsetzen das dysplastische Epithel nunmehr bis in das obere, luminale Drittel (Abb. 41). Die Zellkerne sind durchweg chromatinreich und vielfach mit prominenten Nukleolen versehen (Abb. 42). Elektronenmikroskopisch sind die Kerne entrundet. Ihre Membran ist stark eingebuchtet, wodurch einzelne Kerne gelappt erscheinen (Abb. 43, 44). An den Oberflä-

chen der Deckzellen sind unregelmäßige Mikroleisten oder auch Mikrovilli vorzufinden. Die stummelförmigen Mikrovilli stehen mäßig dicht und sind vorwiegend in der Zellperipherie angeordnet. Die Mukosaoberfläche erscheint insgesamt sehr ungleichförmig (Abb. 45, 46).

14 Wochen BBN: (Abb. 47 - 51)

Nach 14 Wochen BBN haben die Epithelveränderungen quantitativ und qualitativ weiter zugenommen. Sie entsprechen jetzt einer mittelgradigen bis schwergradigen Dysplasie bzw. einem Carcinoma in situ Grad 2 bis Grad 3. Durch Epithelkissen in dichter Anordnung ist die Schleimhaut bei lichtmikroskopischer Übersichtsvergrößerung sägeblattartig gemustert. Das Epithel ist bis auf 9 Zellschichten verbreitert und durch eine erhebliche Kernpolymorphie ausgezeichnet. Papilläre Epithelproliferationen ragen in das Blasenlumen (Abb. 47). An anderen Stellen wachsen gut begrenzte Epithelzapfen in die Tiefe der Lamina propria. In diesen soliden Zellarealen ist eine recht große Zahl von Mitosefiguren zu beobachten. Im Epithel eingestreut einzelne bizarr geformte Riesenkern. Die herdförmige Plattenepithelmetaplasie des Übergangsepithels drückt sich elektronenmikroskopisch im Auftreten perinukleärer Tonofilamentbündel aus. Ferner sind auch vermehrt vakuolär degenerierte Zellen zu beobachten (Abb. 49). Rasterelektronenmikroskopisch ist eine Zunahme der Mikrovilli festzustellen. Einzelne Zellen sind nunmehr von einem dichten Rasen kleiner kugelförmiger Mikrovilli bedeckt (Abb. 50, 51).

16 Wochen BBN: (Abb. 52 - 56)

Nach Gabe von BBN über 16 Wochen und nachfolgendem zwei-

wöchigem kanzerogenfreiem Intervall fällt in der Übersicht eine zum Teil durchgehende Papillomatose der Harnblasen auf mit Herden von glandulärer Metaplasie und Plattenepithelmetaplasie. Das Epithel ist abschnittsweise auf bis zu 10 Zellagen verbreitert. Die Kern-Plasma-Relation der Zellen ist unterschiedlich vergrößert (Abb. 52). Ferner fallen recht zahlreiche Riesenkerne auf, die im zytologischen Ausstrich als stark tumorverdächtig beurteilt werden müssen (Abb. 53). Die Zahl der Mitosefiguren hat sich weiter erhöht. Aus soliden Zellzapfen werden kleinere Epithelknospen abgeschnürt. Ein invasives Verhalten ist jedoch noch nicht nachzuweisen. Insgesamt entsprechen die proliferativen Epithelveränderungen einer mittelgradigen bis schweren Dysplasie (Carcinoma in situ Grad 2 bis Grad 3). Elektronenmikroskopisch stellen sich wenige kurze Mikrovilli dar (Abb. 54). Rasterelektronenmikroskopisch sind grob gelappte, blattförmige und strangartige Mikroleisten in diesem Stadium noch erhalten. Die Polymorphie der Oberflächen insgesamt ist jedoch als Ausdruck einer Neoplasie zu werten (Abb. 55, 56).

18 Wochen BBN: (Abb. 57 - 63)

Nach 18 Wochen BBN sind bei allen Versuchstieren polypöse und papilläre Tumoren festzustellen (Abb. 62, 63). Darüber hinaus bestehen ausgedehnte papillomatöse Epithelwucherungen. Das Oberflächenepithel der Papillome faltet sich teilweise auf und dringt in das bindegewebige Stroma ein. An der Basis polypöser Auftreibungen der Lamina propria wächst das Epithel vielfach in soliden Zellverbänden mit erheblicher Kernanaplasie. Das bindegewebige Stroma einzelner Polypen wird von wenigen

Schichten eines Epithels bedeckt, dessen Kerne nur wenig chromatinreich sind. Dieses Bild entspricht einem gut differenzierten, nicht invasiven Übergangsepithelkarzinom Grad 1. Die solideren Zellverbände dagegen müssen als Carcinoma in situ Grad 3 mit fraglicher Invasion aufgefaßt werden, da die Grenzen zum Stroma hin oft nur unscharf sind. Unregelmäßig geformte eckige Epithelabsprossungen weisen indes auf die drohende Invasion hin (Abb. 57). Im zytologischen Ausstrich besitzen einzelne Kerne bis zu 4 kleine Nukleolen (Abb. 58).

Elektronenmikroskopisch ist die luminale Membran der Oberflächenzellen weitgehend abgeglättet. Rundliche und spindelförmige Vesikel sowie auch Telolysosomen in größerer Zahl sind in allen Zellschichten ohne Unterschied verteilt (Abb. 59, 60, 61).

Rasterelektronenmikroskopisch sind Zellen mit feinen Mikroleisten, plumpen Falten der Oberflächenmembran sowie auch dichtem Mikrovillusrasen anzutreffen.

30 Wochen BBN: (Abb. 64 - 70)

Im Spätstadium des Versuchs nach Verfütterung von BBN über 30 Wochen weisen die Harnblasen bereits makroskopisch erhebliche pathologische Veränderungen auf. Sie sind bis auf 3 cm Länge vergrößert und stark erweitert. Die Lumina sind mit mehreren großen Tumoren angefüllt.

Außer exophytischen, nicht invasiven Tumoren finden sich auch solide Karzinome mit erheblicher Kernpolymorphie und Hyperchromasie (Abb. 64). Einzelne Karzinome infiltrieren die gesamte Muskelwand der Harnblase und reichen bis zur Serosa. Die Karzinome sowie auch die planen Epi-

thelwucherungen treten in allen Differenzierungsgraden auf, entsprechend Grad 1 bis Grad 3 des menschlichen Karzinoms. Im zytologischen Tupfpräparat stellen sich die Tumorzellen mit grobscholligem Chromatin, prominenten Nukleolen und erheblicher Polymorphie der Kerne dar. Atypische Mitosefiguren sind ein weiteres Malignitätskriterium (Abb. 65). Elektronenmikroskopisch sind die Zytoplasmen der Tumorzellen offenbar sternförmig verzweigt, so daß zahlreiche schlanke Zytoplasmafortsätze angeschitten werden. Die Basallamina erscheint unversehrt. Dieser Befund schließt ein invasives Verhalten jedoch nicht aus (Abb. 66). Die luminalen Membranen der Oberflächenzellen sind vielfach glatt. In ausgedehnten Tumoranteilen werden die Oberflächenzellen jedoch von dicht stehenden Mikrovilli bedeckt (Abb. 67), die rasterelektronenmikroskopisch nunmehr eine erhebliche Pleomorphie erkennen lassen (Abb. 69, 70).

3.2 Zytophotometrie experimenteller Harnblasentumoren

Die zytophotometrische Untersuchung an Ausstrichen des Harnblasenepithels unbehandelter Kontrolltiere ergibt überwiegend diploide DNS-Werte. Eine kleinere Zahl von Kernen weist nahe tetraploide Werte auf (Tab. 1).

Nach zwei Wochen BBN tritt ein zusätzlicher Gipfel von triploiden Werten auf als Ausdruck einer erheblichen Proliferation des Epithels. Dieser Gipfel bei 3c ist am zytologischen Ausstrich (Tab. 3) sowie in ausgewählten Arealen der histologischen Präparate gleichermaßen festzustellen (Tab. 2).

Nach vier Wochen BBN mit nachfolgendem zweiwöchigem Intervall ist diese Proliferation zumeist abgeklungen. Am zytologischen Ausstrich überwiegen, wie in der Kontrolle, diploide Zellen (Tab. 5). Außerdem liegt ein kleiner Gipfel von tetraploiden Zellen vor. Eines der Tiere bietet bereits nach dieser kurzen Expositionszeit DNS-zytophotometrisch einen Tumorbefund mit einer breit unimodalen Verteilung zwischen 2c und 8c, die nach den Ergebnissen an menschlichen Tumoren einem Carcinoma in situ Grad 3 entspricht (Tab. 4).

Auch nach sechs Wochen ist in ausgewählten Arealen erneut eine breite Verteilung der Meßwerte zwischen 2c und 4c als Ausdruck einer gesteigerten Proliferation festzustellen. Im zytologischen Ausstrichpräparat überwiegen die diploiden Kerne. Ein kleiner Gipfel von etwa 8 % der Zellen bei 3c belegt jedoch auch hier die gesteigerte

Proliferation (Tab. 6).

Unterschiedliche Werte liefern Zytologie und Histologie nach acht Wochen BBN. An den Schnittpräparaten treten Gipfel bei 4c auf, die einer mittelgradigen Dysplasie oder einem Carcinoma in situ Grad 2 entsprechen (Tab. 7). Im zytologischen Ausstrich sind dagegen lediglich diploide Werte erfaßt, die einer Hyperplasie oder leichten Dysplasie entsprechen können (Tab. 8). Die Diskrepanz kann auf individuell unterschiedliche Reaktionen zurückzuführen sein.

Nach 10 Wochen BBN sind die Meßergebnisse an den Schnitten sehr heterogen. Außer breit unimodaler Verteilung findet sich auch eine Häufung von tetra- und hexaploiden DNS-Werten, entsprechend einem Carcinoma in situ Grad 2 bzw. Grad 3 (Tab. 9).

Die Meßergebnisse an den Schnittpräparaten der 12. bis 18. Woche bieten ein weitgehend einheitliches Bild mit Gipfeln überwiegend von tetraploiden Werten. Darüber hinaus treten auch hexaploide Werte gehäuft auf (Tab. 10 - 15).

Die Messungen an den Ausstrichpräparaten des gleichen Zeitraums erbringen eine deutlich ausgeprägte Polymorphie. An dem Ausstrich nach 12 Wochen BBN konnten Kerne mit hoch pathologischen Werten von 7c, 9,5c und 11c gemessen werden (Tab. 11). Der höchste überhaupt gemessene Wert von 13,5c stammt von einem 16-Wochen-Präparat (Abb. 14). Hier finden sich ferner tetraploide und octoploide Gipfel sowie zahlreiche Zwischenformen im inter-

tetra-hexaploiden Bereich.

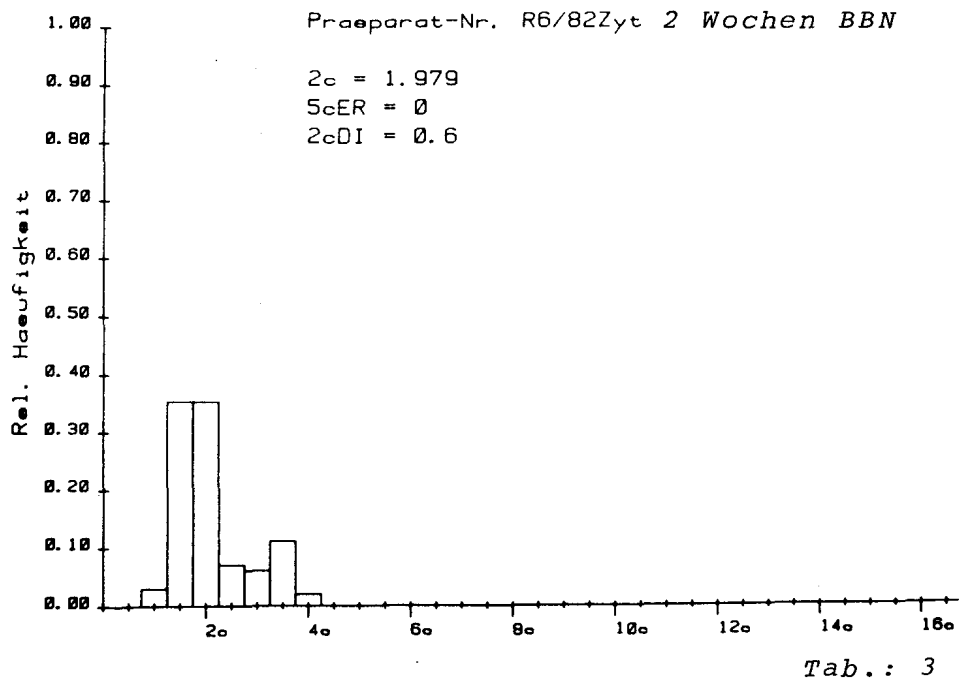
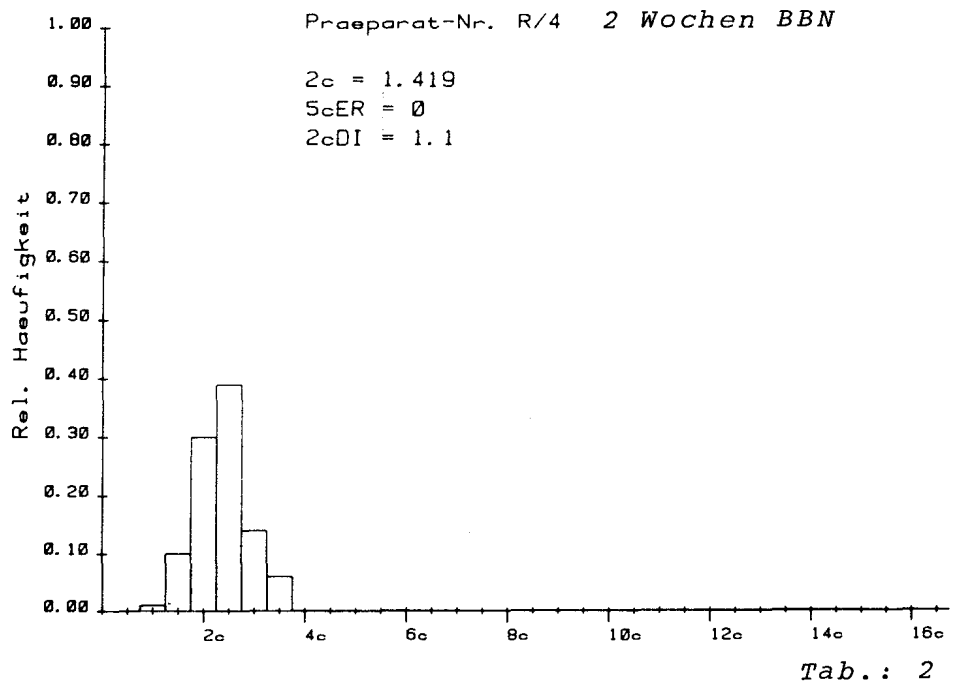
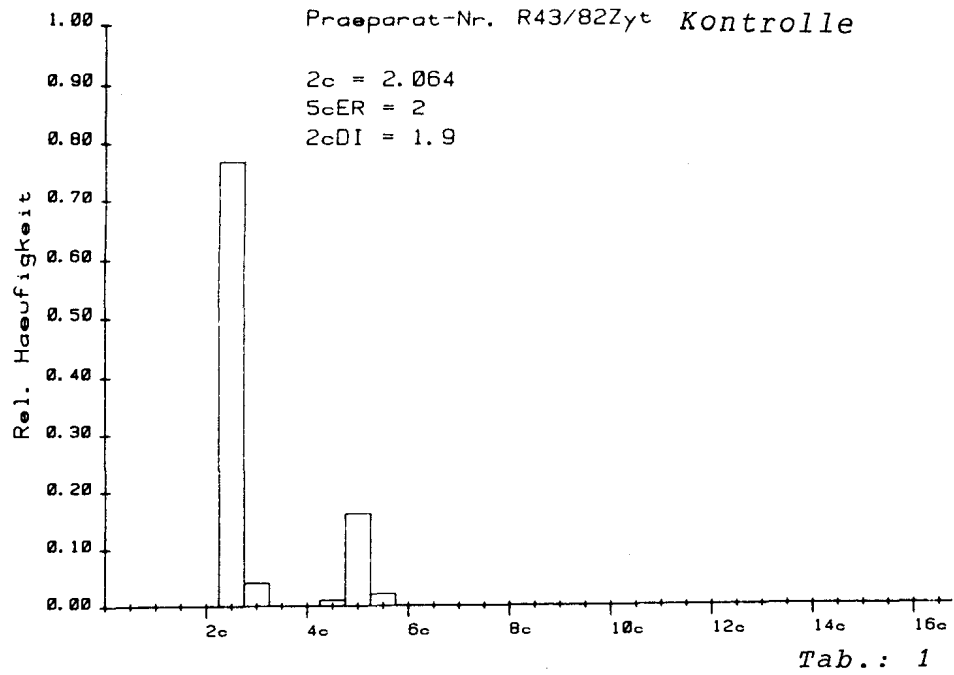
Nach 18 Wochen tritt am zytologischen Präparat ebenso wie an korrespondierenden Schnittpräparaten ein triploider Gipfel mit einem kleinen hexaploiden Verdopplungsgipfel auf (Tab. 15).

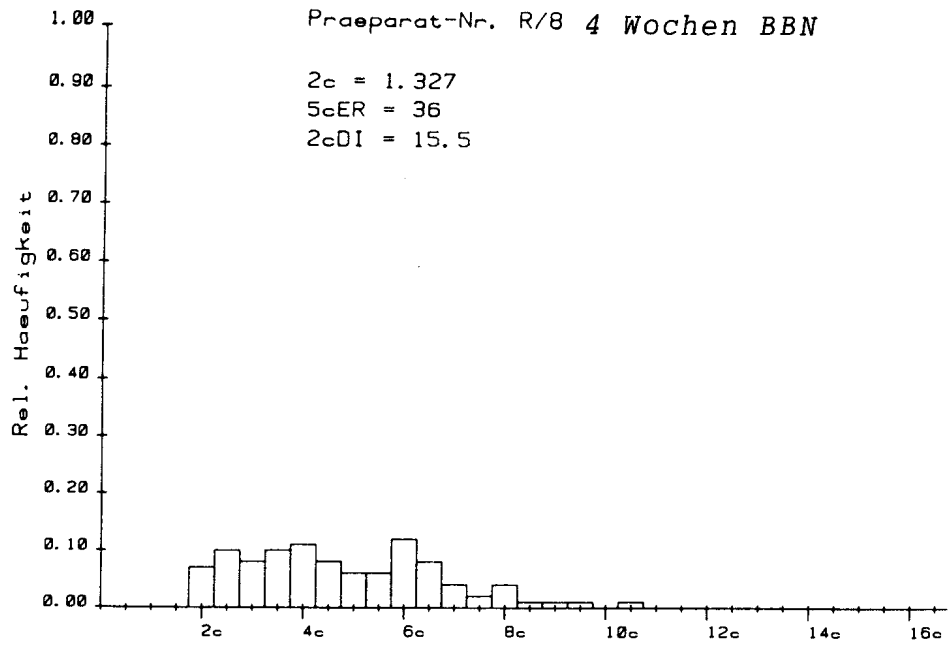
Die an Dysplasieherden, papillären nicht invasiven und soliden invasiven Tumoren der 30-Wochen-Tiere gemessenen DNS-Werte bieten ein breites Spektrum, das vom Carcinoma in situ Grad 1 (Tab. 16) bis zum wenig differenzierten invasiven Übergangsepithelkarzinom Grad 3 reicht. Die papillären Karzinome und die angrenzenden Epithelveränderungen weisen zumeist eine Streuung der Werte in der triploiden und tetraploiden Region auf (Tab. 17). Sie sind als mittelgradig differenziert zu beurteilen. Breit unimodale Verteilungen kennzeichnen die wenig differenzierten Karzinome (Tab. 18).

	Histologie	Zytologie
2 Wochen	1,05 - 1,43	0,86 - 1,04
4 Wochen	1,04 - 2,39	1,11 - 1,44
6 Wochen	1,81 - 1,98	1,15
8 Wochen	1,99 - 2,09	1,23
10 Wochen	3,14 - 3,52	
12 Wochen	1,63 - 2,06	1,63
14 Wochen	1,42 - 2,44	
16 Wochen	1,99 - 2,16	2,11
18 Wochen	1,86 - 2,44	1,90 - 1,95
30 Wochen	0,95 - 2,79	

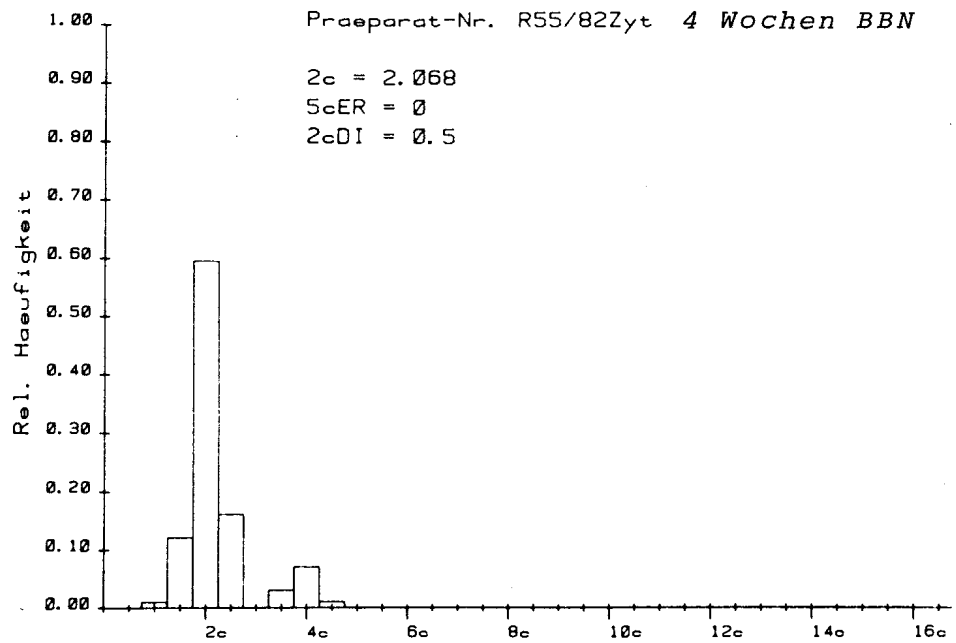
Tab. 19: DNS-Mittelwerte

Die Mittelwerte der DNS-zytophotometrischen Untersuchung an BBN exponierten Ratten verdeutlichen die Deskription der Histogramme (Tab. 19). Sie erlauben ferner einen zahlenmäßigen Vergleich der Messungen an histologischen und zytologischen Präparaten. Nach 2 und 4 Wochen liegen die Mittelwerte im diploiden oder triploiden Bereich (0,86 - 1,44). Der Mittelwert des Ausreißers (Tab. 4) ist dagegen hypertetraploid. In der 6. bis 8. Woche stehen tetraploide Werte der Histologie diploiden Werten der Zytologie gegenüber, während die Werte der 12. bis 18. Woche jeweils weitgehend übereinstimmen. Die Mittelwerte in der Spätphase des Versuchs sind diploid bis hexaploid je nach dem für die Messung ausgewählten Areal. Entsprechende zytologische Werte sind methodisch bedingt nicht zu ermitteln.

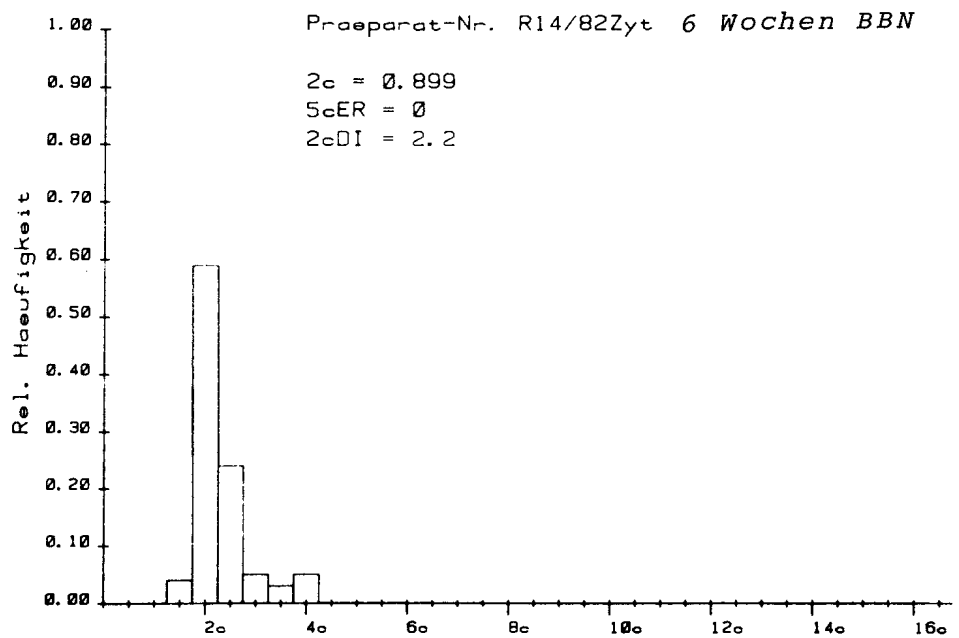




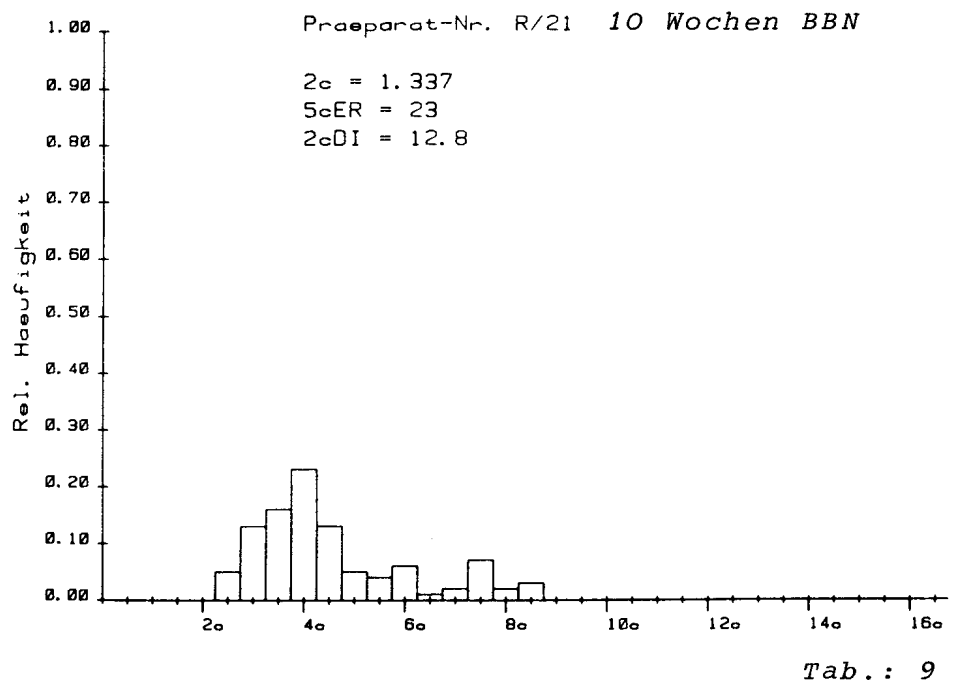
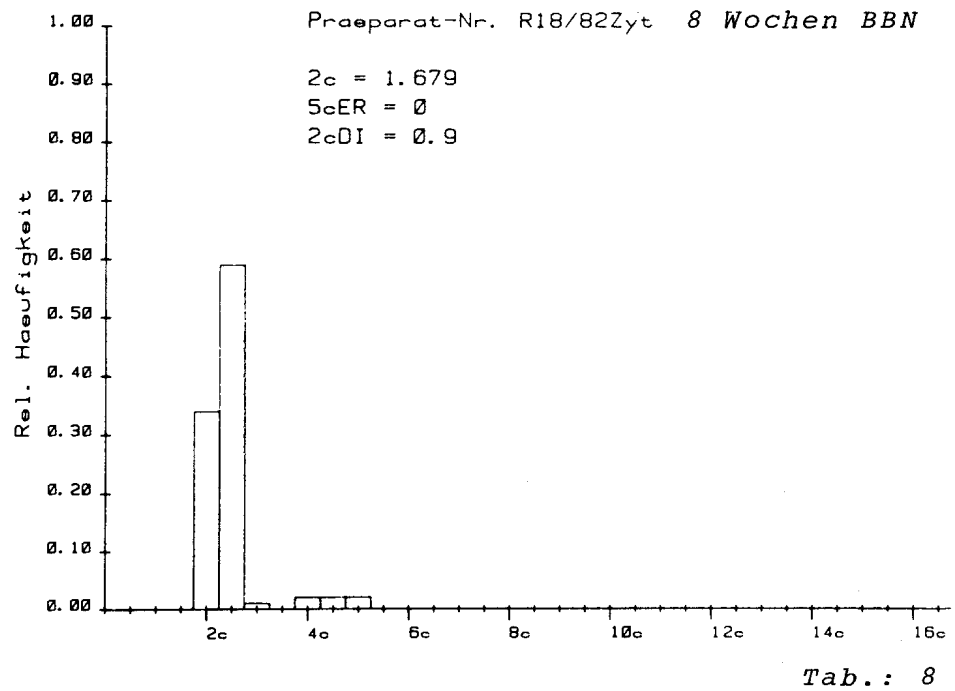
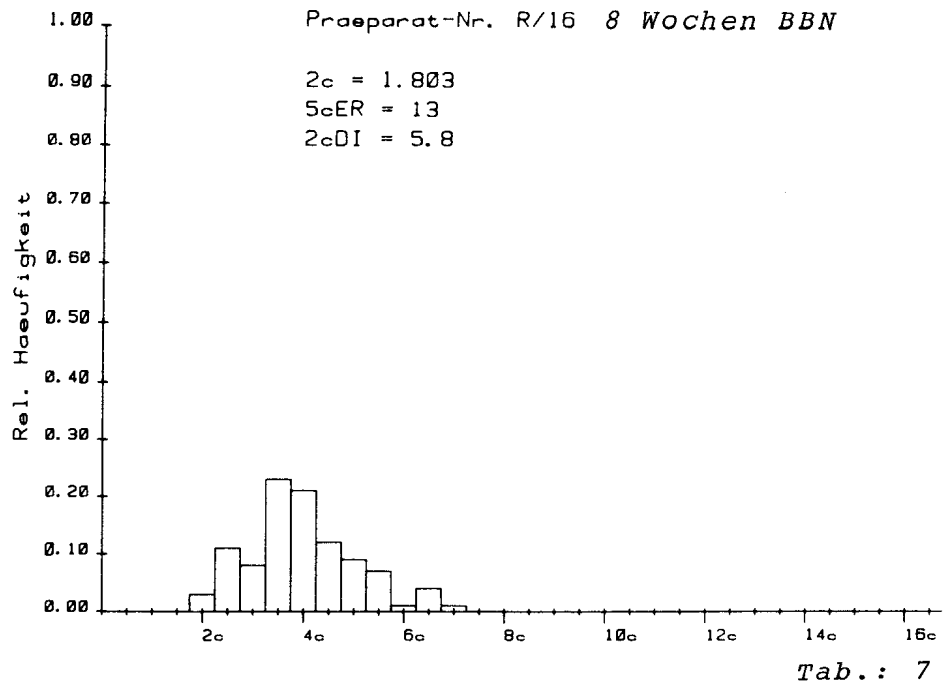
Tab.: 4

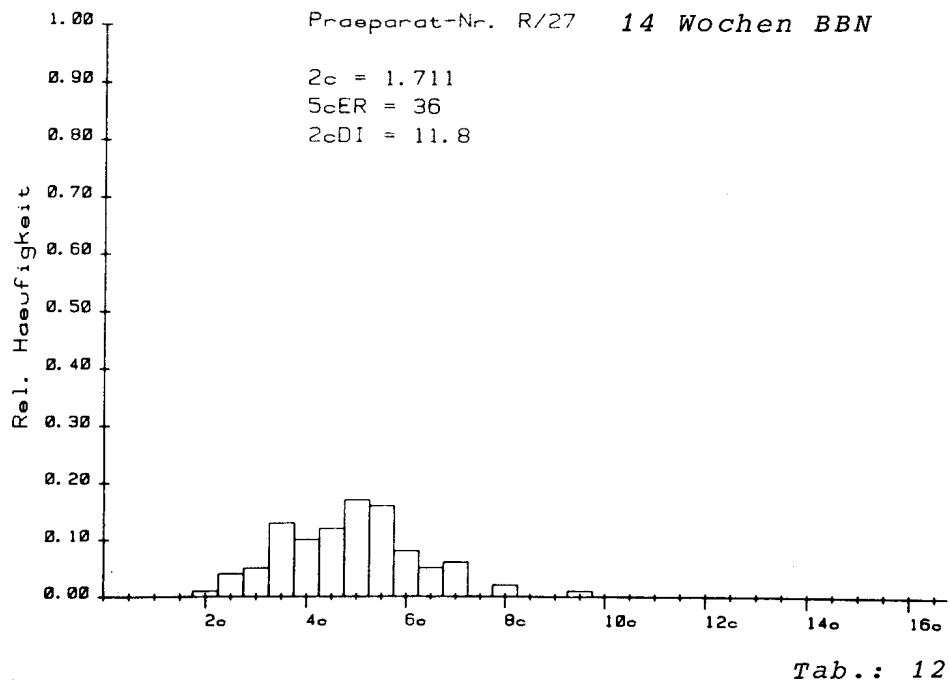
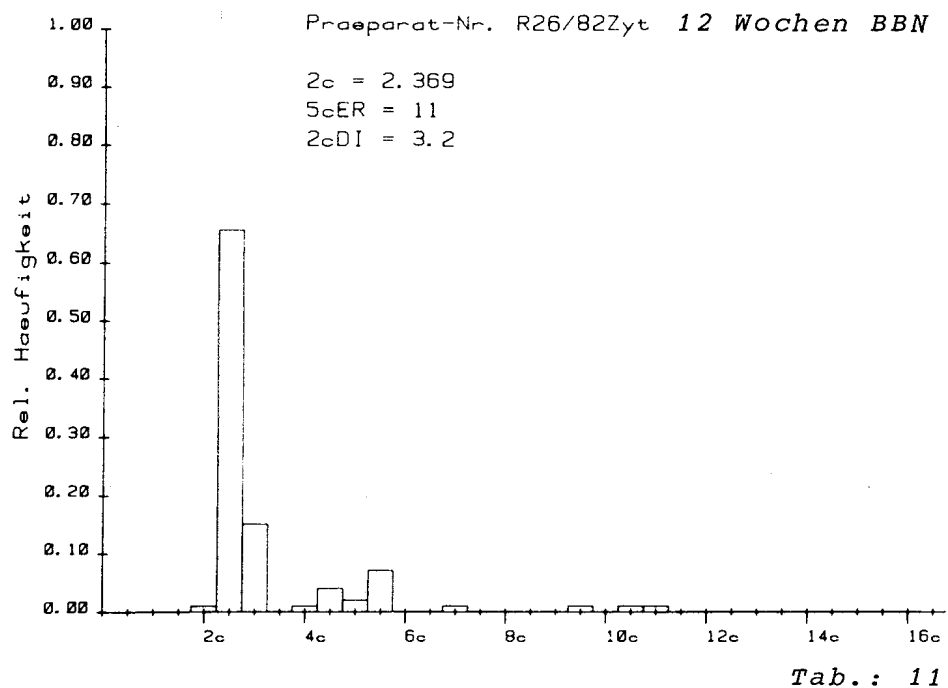
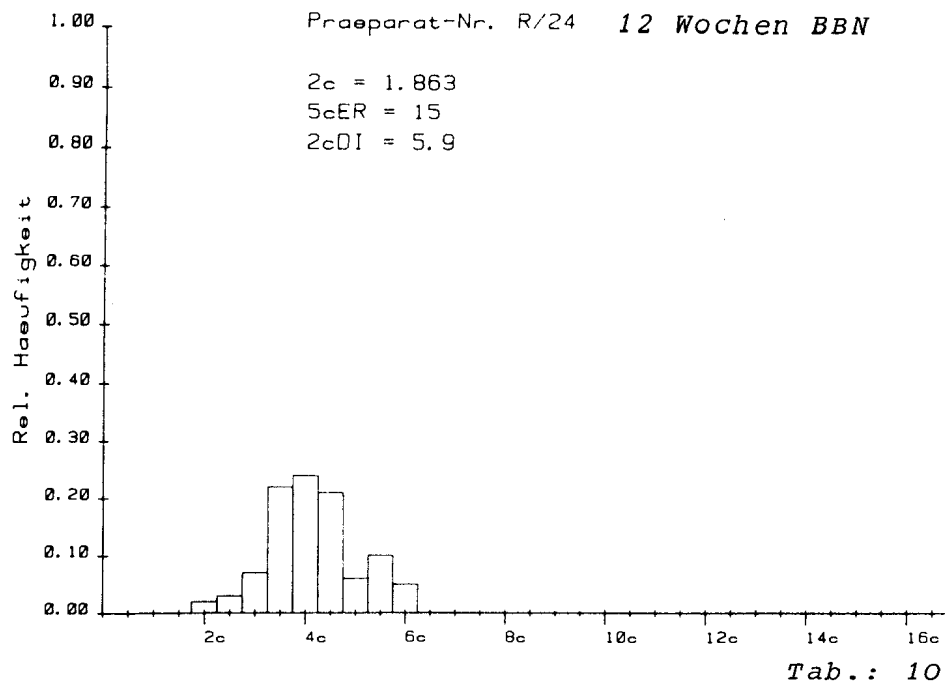


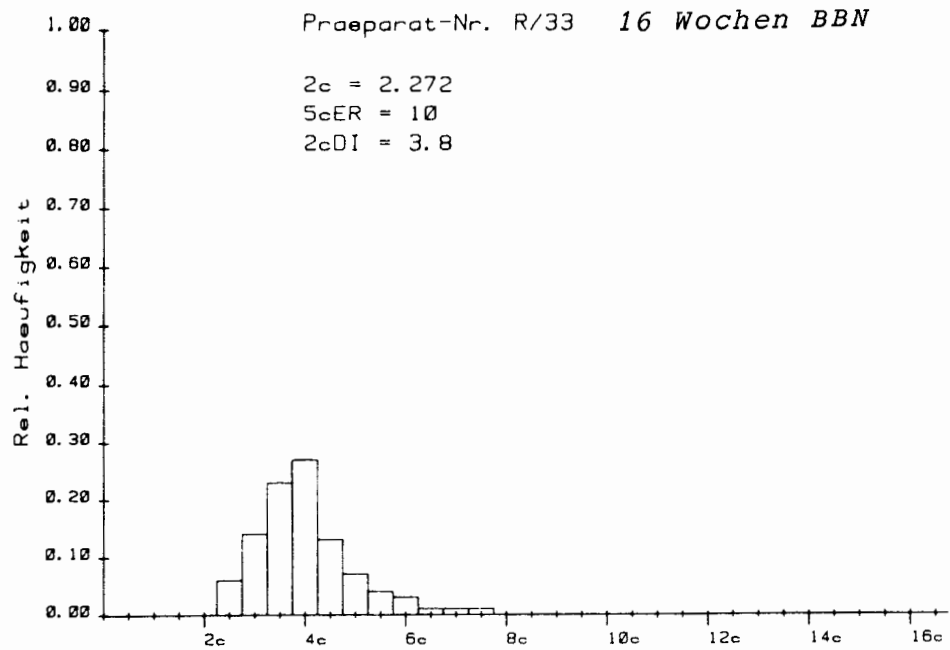
Tab.: 5



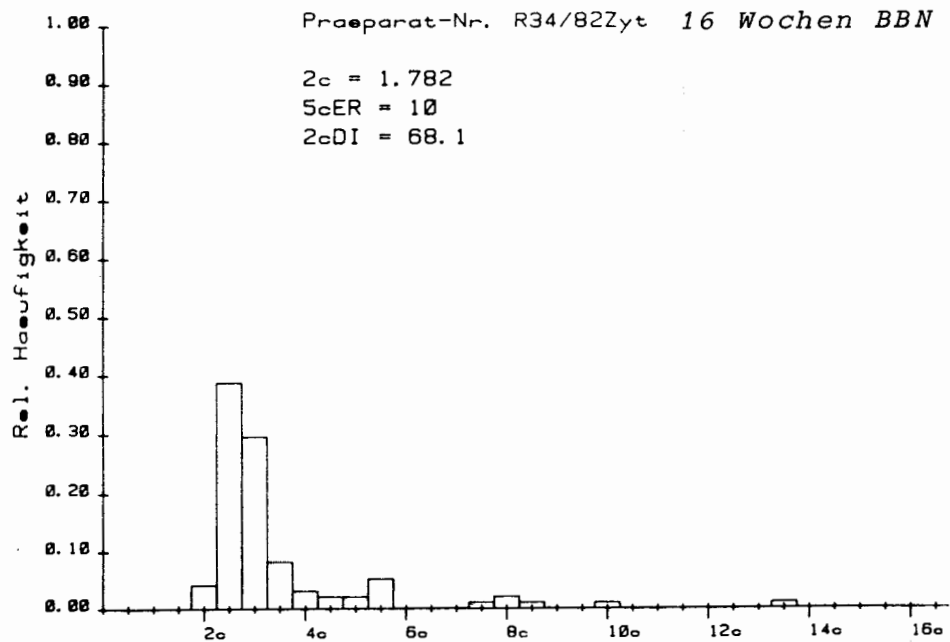
Tab.: 6



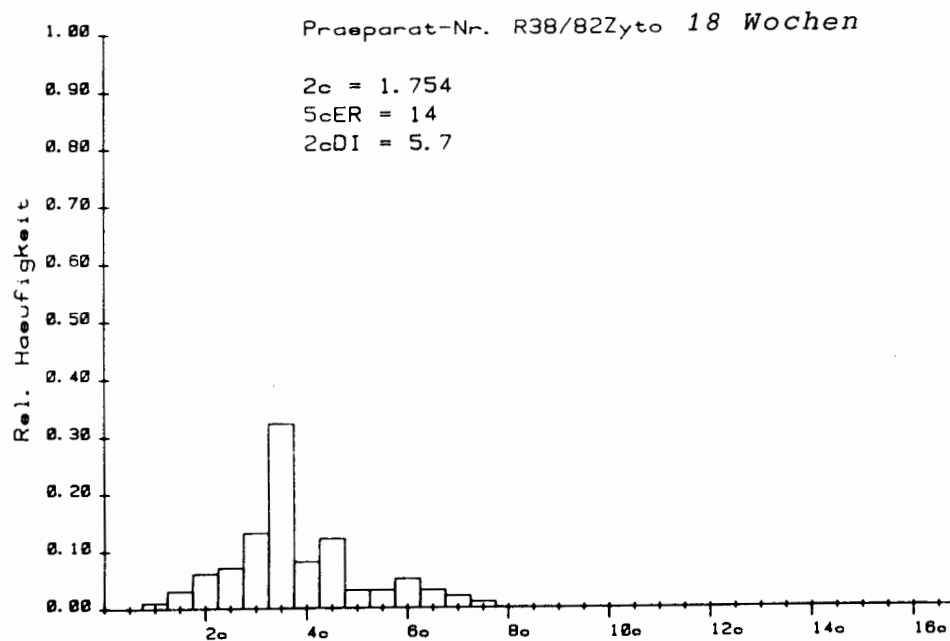




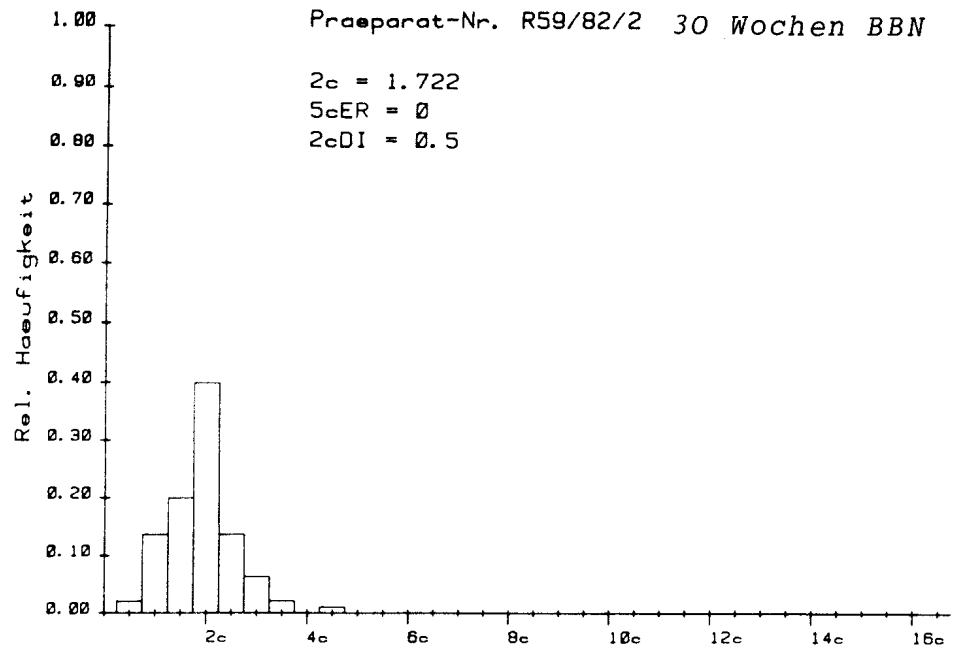
Tab.: 13



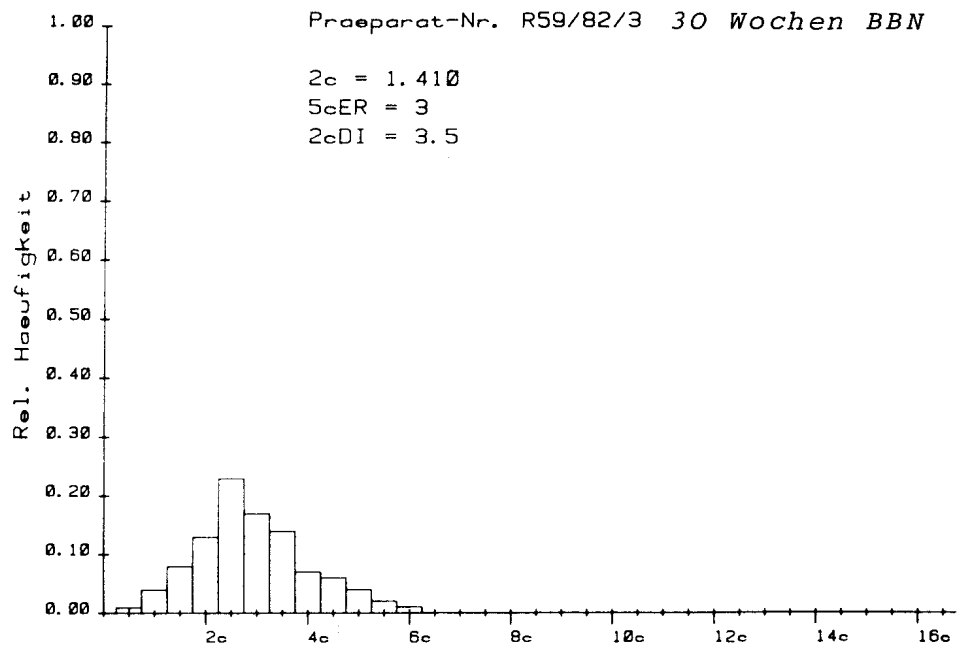
Tab.: 14



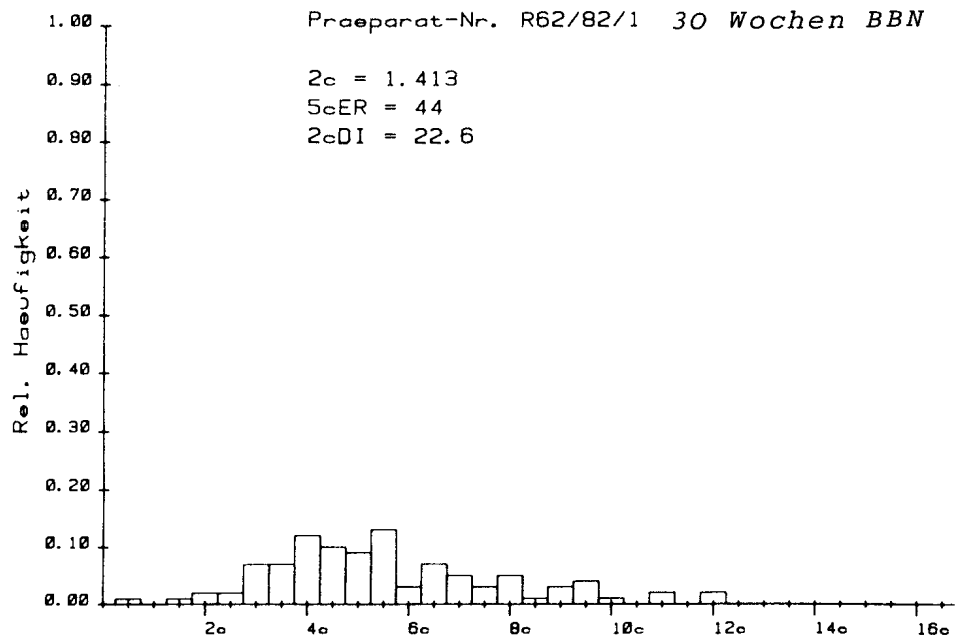
Tab.: 15



Tab.: 16



Tab.: 17



Tab.: 18

3.3 Karyometrie experimenteller Harnblasentumoren

Der Kernflächenmittelwert (FLMIT) des Übergangsepithels beträgt bei der normalen Ratte $74 \mu\text{m}^2$. Am Ausstrichpräparat messen 70 % der Kerne 50 bis $70 \mu\text{m}^2$, 16 % zwischen 110 und $130 \mu\text{m}^2$. Die Kerne mit den größeren Flächen dürften den Superfizialzellen, die übrigen den Basal- und Intermediärzellen zuzuordnen sein (Tab. 20).

Nach Gabe von BBN über zwei Wochen ändert sich der Mittelwert der Kernfläche nicht. Der zweite Gipfel, der die Superfizialzellen repräsentiert, ist jetzt jedoch weitgehend verschwunden (Tab. 21).

Nach vier Wochen treten einzelne große Kerne von 170 und $250 \mu\text{m}^2$ auf, sowie der größte im Versuch gemessene Wert von $465 \mu\text{m}^2$. Der Mittelwert der Kernflächen ist mit $70 \mu\text{m}^2$ gegenüber der Norm jedoch unverändert (Tab. 26).

Lediglich nach 6 Wochen BBN fällt eine vorübergehende Zunahme der mittleren Kernfläche mit $80 \mu\text{m}^2$ auf.

Im weiteren Verlauf des Versuchs bis zur 18. Woche liegen die Mittelwerte der Kernfläche zwischen $64,8 \mu\text{m}^2$ und $76,0 \mu\text{m}^2$. Riesenkerne bis $330 \mu\text{m}^2$ sind nur noch vereinzelt anzutreffen (Tab. 23).

Tupfpräparate eines soliden Tumors nach 30 Wochen BBN ergeben eine deutliche Verkleinerung der Tumorzellkerne gegenüber der Norm mit einem Mittelwert von $60 \mu\text{m}^2$ (Tab. 25). Die Standardabweichung von 22,5 ist

zusätzlich kleiner als am normalen Epithel (27,4).

Betrachtet man die Unterschiede jeweils der größten gemessenen Durchmesser der Zellen in den einzelnen Stadien, so beträgt die Differenz zwischen den größten und kleinsten Kernen bei der Kontrolle 8,9 μm , nach zwei Wochen jedoch bereits 19,7 μm und nach vier Wochen 23,0 μm (Tab. 26).

In dem folgenden Zeitraum bis zur 12. Woche entspricht die Differenz etwa der Norm, vergrößert sich sodann aber wieder in der 12. Woche auf 19,4 μm , in der 14. Woche auf 18,6 μm und in der 16. Woche auf 15,7 μm . Die Tumorzellkerne der 30. Woche weisen eine geringe Größenvari- auf. Die Werte liegen im Bereich der Norm.

Die jeweils größten Kernflächen eines Stadiums entsprechen bis zur 18. Versuchswoche etwa dem Doppelten der größten Superfizialzellkerne der Kontrollen. Eine Verkleinerung des Formfaktors von 0,892 der Kontrolle auf 0,809 im Sinne der stärkeren Auffaltung der Kernmembran ist im 8-wochen-Stadium das einzige Unterscheidungsmerkmal zwischen Kontrolle und kanzerogenexponiertem Übergangsepithel.

Ähnlich wie die Durchmesser verhalten sich auch die Kernflächen. Etwa parallel zur Erhöhung der absolut größten Kerne verkleinern sich die absolut kleinsten Kernflächenmaße des Epithels. In den Wochen vier bis acht verkleinern sich die kleinsten Flächen auf Werte zwischen 17,6 μm und 26,6 μm gegenüber 37,4 μm der Kontrolle. In der 10. bis 14. Woche liegen die Flächen der klein-

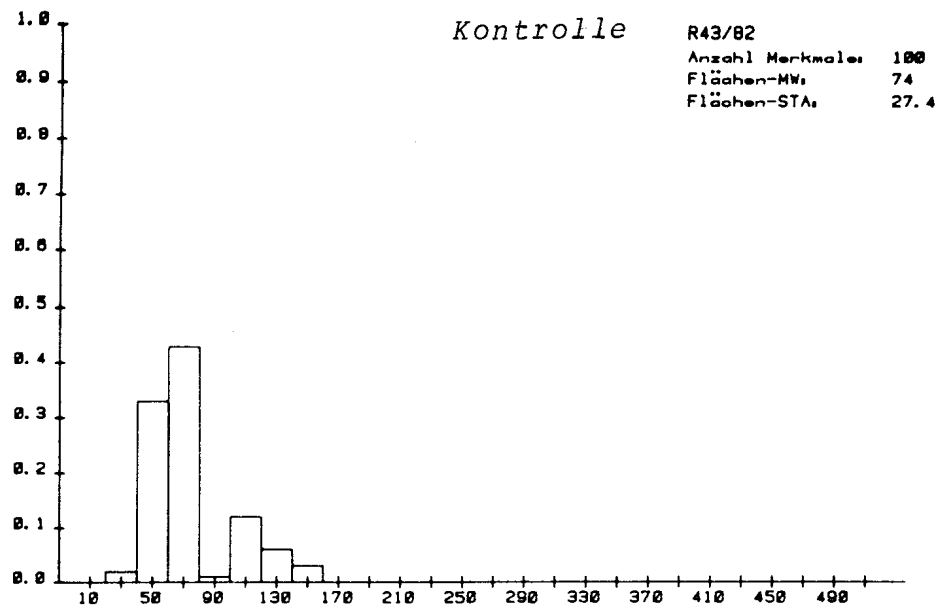
sten gemessenen Kerne ($14,6 \mu\text{m}^2$; $14,9 \mu\text{m}^2$; $15,2 \mu\text{m}^2$) unter der Hälfte des kleinsten Normwertes. Im folgenden Zeitraum steigen die Werte der kleinsten Kernflächen leicht an. In der 18. Woche wird der Normwert annähernd erreicht. Die Tumorzellen der 30. Woche unterschreiten diesen Wert erneut um etwa ein Drittel.

Das nahezu scherenförmige Auseinanderweichen der Werte von größten und kleinsten Flächen betrifft jeweils eine relativ kleine Anzahl von Kernen. In den Kernflächenhistogrammen nimmt in der zweiten Woche die Zahl der Zellen mit einer Kernfläche von $90 \mu\text{m}^2$ zu (Tab. 21). Dadurch verbreitert sich der Gipfel von 50 bis $70 \mu\text{m}^2$ der Kontrolle auf 50 bis $90 \mu\text{m}^2$ in den Wochen 2 bis 18. In diesen Gipfeln sind jeweils 80 bis 90 % aller Kerne aufzufinden. In der 30. Woche kommt es wiederum zu einer Linksverschiebung auf der Abszissenachse des Histogramms mit einem Gipfel bei 30 bis $70 \mu\text{m}^2$, in dem 85 % der Kerne liegen (Tab. 25).

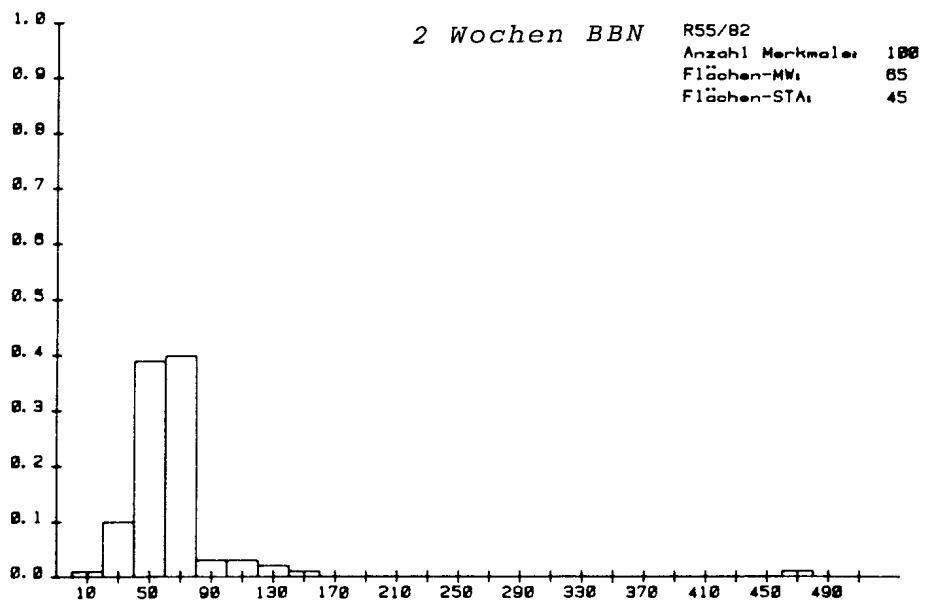
Diese erhebliche Polymorphie der Kerne in den einzelnen Stadien kann also durch den Mittelwert der Kernflächen nicht zum Ausdruck kommen.

Die scheinbar geringen Differenzen zwischen den Kernmaßen der einzelnen Stadien und der Kontrolle verdecken zudem die Tatsache, daß das normale Übergangsepithel zu drei unterschiedlich differenzierten Zellschichten ausreift, wobei die Kerne und Zytoplasmen der Superfizialzellen durch Verschmelzung größer sind als die der übrigen Schichten. Durch die gleichförmige Verteilung innerhalb der Schichten fallen die Kerndifferenzen nicht ins

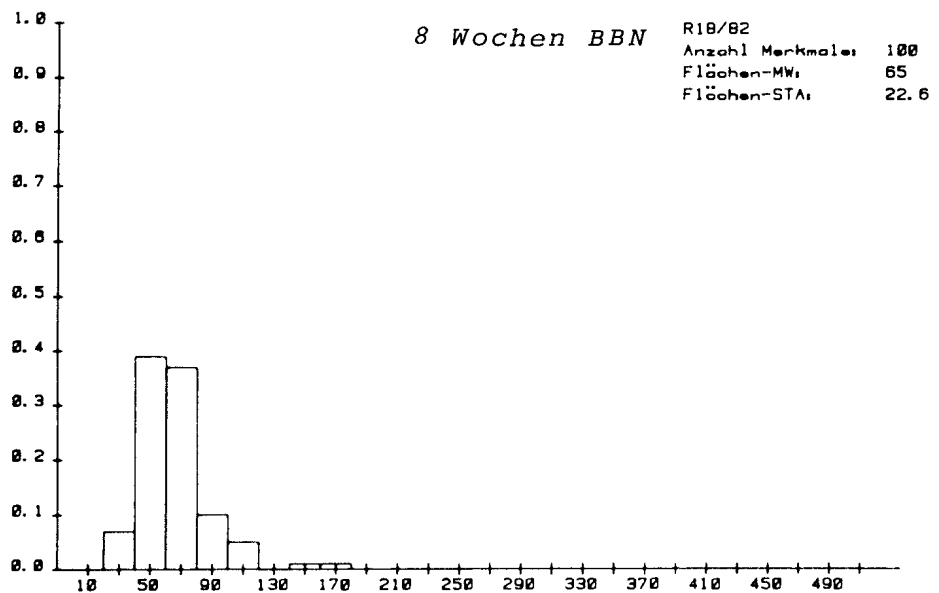
Gewicht. Fehlt hingegen die Ausreifung des Epithels mit Trennung der Epithelschichten, wie dies nach Stimulation durch das Kanzerogen BBN der Fall ist, so sind die für das normale Übergangsepithel typischen Größenvarianzen der Kerne am weniger differenzierten Epithel Ausdruck einer pathologisch gesteigerten Kernpolymorphie, wobei festzustellen ist, daß bereits nach zwei Wochen die Reifungsstörung des Übergangsepithels zum Verlust der typischen Superfizialzellen zu führen scheint.



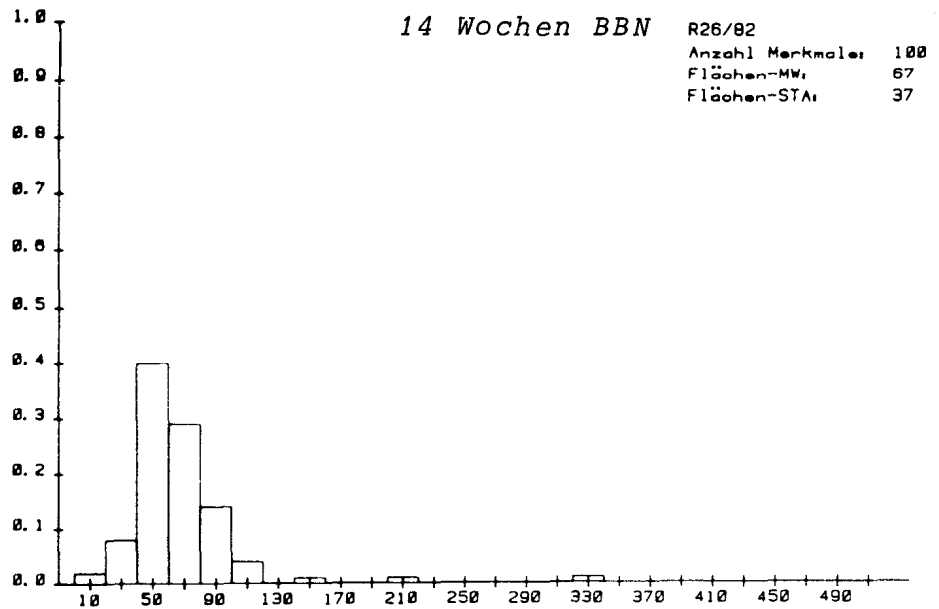
Tab.: 20



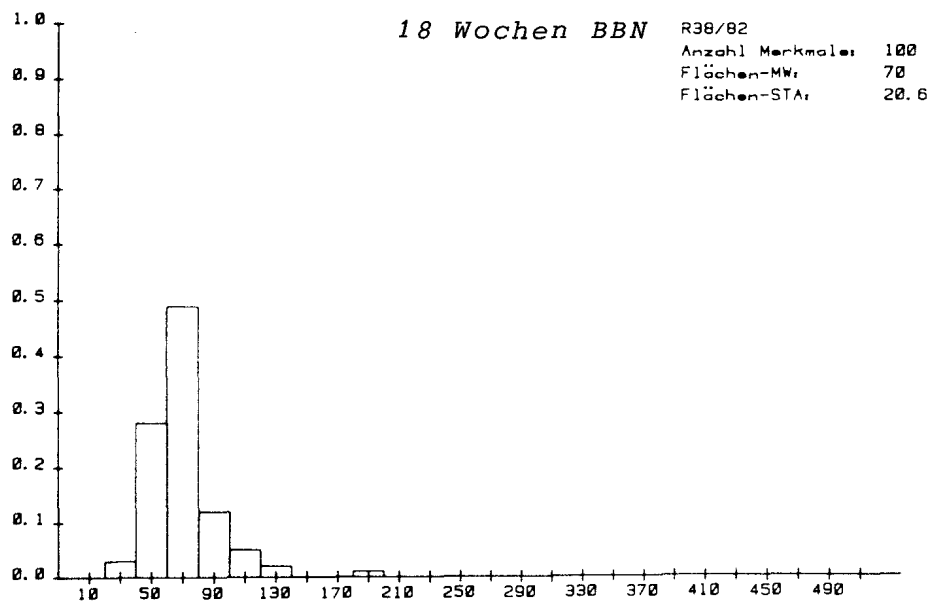
Tab.: 21



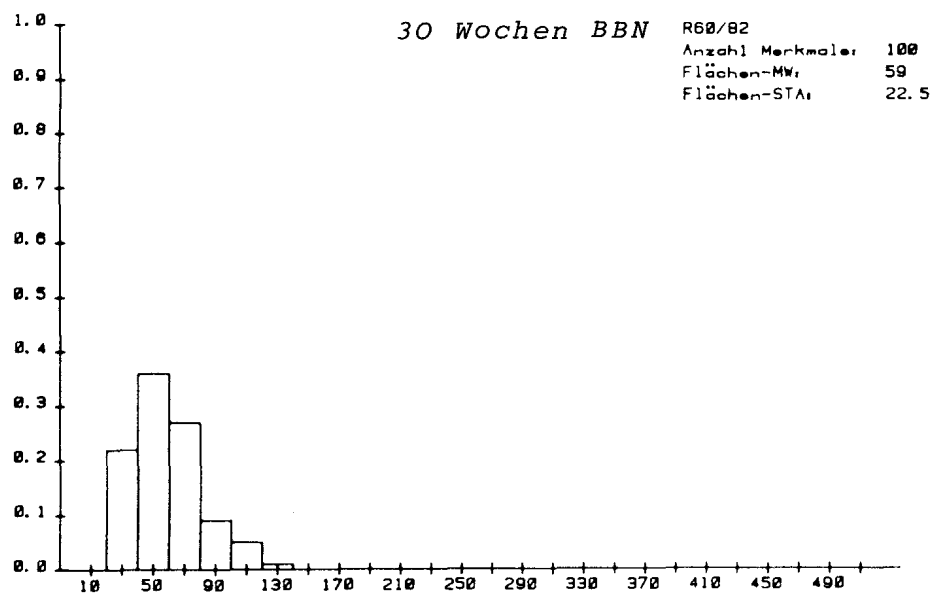
Tab.: 22



Tab.: 23



Tab.: 24



Tab.: 25

	normal	2 Wo	4 Wo	6 Wo	8 Wo	10 Wo
FLMIN	37,4	40,0	29,7	25,6	26,6	14,6
FLMAX	152,0	144,3	465,0	194,7	167,0	213,6
FLMIT	73,6	74,5	67,6	80,4	64,8	73,7
FLSTDEV	27,4	48,6	36,9	28,5	22,6	28,1
UMIT	31,9	31,3	31,8	34,5	31,6	32,7
USTDEV	6,0	7,0	7,6	5,4	6,6	6,3
DMIN	7,7	7,5	5,4	6,6	7,6	5,7
DMAX	16,6	27,2	28,4	17,6	17,1	18,6
FFMIT	0,892	0,911	0,852	0,845	0,809	0,884
FFSTDEV	0,092	0,073	0,133	0,134	0,114	0,112

	12 Wo	14 Wo	16 Wo	18 Wo	30 Wo
FLMIN	13,9	15,2	20,9	33,0	24,0
FLMAX	334,3	318,9	237,7	181,9	122,0
FLMIT	66,9	76,0	74,4	70,1	58,8
FLSTDEV	37,0	36,0	24,5	20,6	22,5
UMIT	30,4	32,8	31,9	31,0	28,5
USTDEV	7,1	6,7	4,9	4,4	5,4
DMIN	4,4	5,2	6,2	7,0	6,1
FFMIT	0,876	0,860	0,906	0,906	0,880
FFSTDEV	0,099	0,107	0,070	0,070	0,080

Tab. 26: Meßergebnisse der Karyometrie
(Deskription siehe Tab. 40)

3.4 Morphologie und biologisches Verhalten des menschlichen Harnblasenkarzinoms

Im Harnwegstumorregister Aachen (Prof.Dr. W. LUTZEYER, Priv.-Doz. Dr. H. RÜBBEN) wurden in dem Zeitraum von 1979 bis 1984 mehr als 2500 Patienten mit Tumoren der ableitenden Harnwege dokumentiert. Zu mehr als 90 % sind diese Tumoren in der Harnblase lokalisiert. Bei den Blasentumoren wiederum handelt es sich zu 93 % um Übergangsepithelkarzinome, 5 % Plattenepithelkarzinome und zu je 1 % Adenokarzinome und undifferenzierte Karzinome.

Die histologischen Schnittpräparate von rund 2000 primären Übergangsepithelkarzinomen sowie die Präparate der in diesem Zeitraum der Nachsorge aufgetretenen Rezidivtumoren wurden nach den Richtlinien der WHO (MOSTOFI et al. 1973) und den Empfehlungen der UICC (HARMER, 1978) reklassifiziert. Zusätzlich zu den Angaben der WHO-Klassifikation wurden auch die Erläuterungen von PUGH (1973) und KOSS (1975) bei der Beurteilung berücksichtigt.

Papillome (G0) zeigen eine epitheliale Bedeckung des fibrovaskulären Stils mit bis zu 7 Zellschichten. Die Zellen gleichen denen des normalen Übergangsepithels oder der Hyperplasie (Abb. 75, 76). Papilläre Tumoren mit 4 bis 5 Zellschichten und vergrößerten Kernen treten nicht zu selten auf. Ihr biologisches Verhalten ist noch unklar. Sie werden zunächst zu der Gruppe G0 gezählt.

Bei den papillären Karzinomen Grad 1 sind die Zellschichten gegenüber dem Papillom vermehrt. Einzelne Ker-

ne sind leicht hyperchromatisch. Mitosefiguren treten nur selten auf. Das Carcinoma in situ Grad 1 (leichte Dysplasie) wächst nicht papillär und nicht invasiv. Das Epithel gleicht dem des papillären Karzinoms. Invasive Karzinome Grad 1 werden nach Chromatingehalt und Form der Kerne beurteilt. Vom Wachstumstyp her sind sie wenig differenziert (Abb. 77, 78, 84, 85).

Grad-2-Tumoren weisen vergrößerte und chromatinreichere Kerne auf. Die Zahl der Mitosefiguren ist erhöht. Eine kleine Zahl von Kernen kann chromatinreicher und größer als die übrigen sein. (Abb. 84 - 87).

Grad-3-Karzinome werden nach Größe und Chromatinreichtum der Kerne sowie nach der Zahl der Mitosen von Grad-2-Tumoren unterschieden. Der Charakter des Übergangsepithels kann erhalten sein. Jedoch ist die Mehrzahl der Kerne erheblich vergrößert und hyperchromatisch (Abb. 91 - 94).

Die Karzinome werden nach ihrem wenigst differenzierten Anteil gradiert.

Die Stadieneinteilung am Resektat erfolgt nach der histologisch faßbaren Infiltrationstiefe. Ist kein Propriabingewebe in einer Biopsieprobe enthalten, so erfolgt eine Zuordnung in die Gruppe Ta bzw. Tis (nicht invasiv). Entsprechend ist das Vorgehen bei den übrigen Stadien.

TNM-Klassifikation (HARMER, 1978)

Tis: präinvasives Karzinom (Carcinoma in situ)

Ta: papilläres nicht invasives Karzinom

T1: Tumor auf die Lamina propria beschränkt

T2: Tumor infiltrierte die oberflächliche Muskulatur
(nicht mehr als die Hälfte des muskulären Mantels)

T3a: Invasion der tiefen Muskulatur

T3b: Invasion des perivesikalen Gewebes

T4a: Tumordinfiltration von Prostata, Uterus oder Vagina

T4b: Tumordinfiltration anderer extravesikaler Strukturen

Tabelle 42 gibt eine Übersicht über die Verteilung der primären Harnblasenkarzinome:

	G1 (%)	G2 (%)	G3 (%)
Ta - T1	745 (45,0)	642 (38,8)	268 (16,2)
T2 - T3a	2 (0,5)	99 (26,6)	271 (72,8)
T3b - T4	1 (1,1)	14 (14,7)	80 (84,2)

Dem entspricht, daß 99,6 % aller G1-Tumoren zur oberflächlich wachsenden Gruppe Ta - T1 gehören und daß wenig differenzierte Karzinome zu 56,7 % bereits die Muskelwand der Harnblase oder das perivesikale Fettgewebe infiltrieren.

Insgesamt werden 78 % der Primärtumoren in den frühen Stadien Ta - T1 diagnostiziert, die übrigen 22 % in den Stadien T2 - T4, wobei etwa 4 % bereits die Harnblasenwand überschritten haben.

Das Verhältnis von Männern zu Frauen beträgt 3:1. Ge-

schlecht und Alter sind ohne Einfluß auf Differenzierungsgrad oder Stadium des Primärtumors. Das Durchschnittsalter der Patienten beträgt 67,7 Jahre.

Die Prognose des Blasenkarzinompatienten drückt sich in der Überlebenszeit sowie in Häufigkeit und Art der Karzinomrezidive aus.

Die Überlebenszeit hängt im wesentlichen von dem Tumorstadium ab. In Abhängigkeit von der Infiltrations-tiefe wird die Fünfjahresüberlebenszeit von Patienten mit Tumoren der Stadien Ta zu 85 %, T1 zu 65 %, T2 zu 35 %, T3a zu 27,5 % und T3b zu 17 % erreicht. Alle Patienten mit Tumoren des Stadium 4 sterben in diesem Zeitraum.

Mit klinischen Methoden und am transurethral gewonnenen Tumorgewebe sind die Stadien T2 und T3a (innere und äußere Hälfte der Muskelwand der Harnblase) nicht zu trennen. Sie werden deshalb ebenso wie die oberflächlich wachsenden Tumoren Ta und T1 zu einer Gruppe zusammengefaßt.

Ebenso wie vom Stadium läßt sich eine Abhängigkeit der Überlebenszeit auch vom Differenzierungsgrad des Karzinoms feststellen. So beträgt die Fünfjahresüberlebensrate von Patienten mit gut differenzierten Karzinomen (G1) 83 %, mit mittelgradig differenzierten (G2) 75 % und wenig differenzierten (G3) 45 %. Die Prognose der G1- und G2-Karzinome liegt somit etwa in der gleichen Größenordnung, während sich die der G3-Karzinome wesentlich schlechter darstellt.

In diesen Überlebenszeiten ist die Abhängigkeit von Tumorstadium und Differenzierungsgrad nicht getrennt. Der Einfluß des Differenzierungsgrades auf die Prognose wird jedoch bei Betrachtung gleicher Stadien verdeutlicht. In der Gruppe der nicht invasiven papillären Karzinome (Ta) wird die Fünfjahresüberlebenszeit bei gut differenzierten Formen zu 90 % erreicht, bei wenig differenzierten dagegen nur zu 70 %.

Eine Abhängigkeit besteht auch zwischen Rezidivhäufigkeit und Grad oder Stadium des Primärtumors. Die Patienten mit Tumoren der Stadien Ta und T1 sind nach einem Jahr zu rund 70 % rezidivfrei, während bei Patienten mit fortgeschritteneren Stadien in diesem Zeitraum bereits zu 60 % ein Rezidiv auftritt.

50 % der Patienten mit gut differenzierten Karzinomen sind nach drei Jahren noch ohne Rezidiv. Dagegen entwickeln 50 % der Patienten mit wenig differenzierten Karzinomen (G3) bereits nach einem Jahr das erste Rezidiv.

Tumorprogression liegt vor, wenn Rezidive weniger differenziert und weiter fortgeschritten sind als der Primärtumor. Karzinome der Gruppe Ta bis T1 rezidivieren zu 12 % in Stadien T2 - T3a und zu 4 % ist die Muskulatur bereits überschritten. In der Gruppe T2 - T3a wird mit dem Rezidiv die Muskelwand der Harnblase zu 60 % überschritten. Nur 20 % der Rezidive liegen in der Kategorie Ta - T1.

Auch hinsichtlich des Differenzierungsgrades ist eine

Tumorprogression bei einem hohen Prozentsatz der Patienten festzustellen. Nach Resektion eines gut differenzierten Primärtumors (G1) treten die Rezidive bei 41,6 % der Patienten mit dem gleichen Differenzierungsgrad auf, bei 31,8 % als mittelgradig differenzierte und bei 8,7 % als wenig differenzierte Karzinome auf. 17,9 % der Patienten sind innerhalb dieses Zeitraums bereits verstorben. Nach einem mittelgradig differenzierten Primärtumor sind die Rezidive dagegen bereits bei 18,1 % der Patienten wenig differenziert. Die Tumorprogression ist also auch von dem Grad des Primärtumors abhängig.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen konnten wegen zu-
meist mangelhafter Fixierung lediglich an 18 Präparaten
durchgeführt werden. Die Zellen der gut differenzierten
Karzinome (G1) weisen nahezu amorphe Zytoplasmen auf
(Abb. 79). Mitochondrien und Telolysosomen finden sich
in geringer Zahl. Die vielfach beobachteten Vakuolen
dürften durch den niedrigen osmotischen Druck der Zysto-
skopierflüssigkeit bedingte Artefakte darstellen. Das
Mikrorelief der Oberflächenzellen wird durch solche Arte-
fakte offenbar nur wenig beeinträchtigt. Es läßt bei den
einzelnen Tumoren keine systematische Beschreibung zu.
Die Oberflächenzellen sind polygonal (Abb. 80), vielfach
mit dichtem Mikrovillusbesatz. Die Mikrovilli sind zu-
meist klein und kugelförmig (Abb. 81). Sie können jedoch
auch fädig sein. Ferner werden glatte Oberflächen beob-
achtet (Abb. 82). Das ursprüngliche Mikroleistenmuster
ist an den Oberflächen einzelner Zellen annähernd erhal-
ten (Abb. 83). Auch in der luminalen Membran der Ober-
flächenzellen von mittelgradig differenzierten Karzino-

men (G2) sind herdförmig noch Plaqueregionen und Mikroleisten erhalten (Abb. 88). Eine charakterisierende Ausstattung mit Organellen ist dagegen nicht zu erkennen. Auch unterscheidet sich der Mikrovillusbesatz nicht signifikant von dem der gut differenzierten Tumoren (Abb. 90). Die Superfizialzellen sind häufig von der Intermediärzellschicht abgelöst. Die frei liegenden Zellfortsätze lassen die Intensität der Interdigitationen in dieser Zellschicht erkennen (Abb. 89). Die wenig differenzierten Karzinome (G3) sind in ihrer Polymorphie weder transmissionselektronenmikroskopisch noch rasterelektronenmikroskopisch vereinheitlichend zu charakterisieren (Abb. 95 - 98). Der geringe Differenzierungsgrad drückt sich in Form und Chromatingehalt der Kerne aus (Abb. 97). Mikrovilli sind offenbar kein typisches Merkmal dieses Differenzierungsgrads. Die Oberflächen können glatt oder auch in unregelmäßige Falten gelegt sein (Abb. 96). Das Ablösen von Tumorzellen von der Basalmembran ist für wenig differenzierte Karzinome typisch und läßt sich im Falle des Carcinoma in situ rasterelektronenmikroskopisch überzeugend demonstrieren (Abb. 98).

3.5 Zytophotometrie des menschlichen Harnblasenkarzinoms

Aus 10 Variablen (Tab. 28) wurden in der schrittweisen Diskriminanzanalyse 3 deskriptive Maße ermittelt, die zur optimalen Trennung der Normalbefunde und der 3 Differenzierungsformen des Harnblasenkarzinoms führen.

Bei diesen Maßen handelt es sich um Mittelwert, 5c Exceeding-Rate und den maximalen DNS-Wert eines Präparats (Tab. 29).

Bei der überwiegenden Zahl der untersuchten Variablen handelt es sich um übliche Lage- und Dispersionsmaße der Statistik zur Charakterisierung der Verteilung der DNS-Werte, die in Histogrammen so geordnet sind, daß der Klassenwert ein ganzzahliges Vielfaches von 0,5c darstellt (Tab. 30 - 38).

Die errechneten Mittelwerte der Gruppen N bis G3 betragen 2,2c, 2,4c, 3,9c und 6,6c. Dies entspricht einem diploiden DNS-Wert der Normalbefunde, einem hyperdiploiden der Gruppe G1, einem tetraploiden der Gruppe G2 und einem hexaploiden Mittelwert der Gruppe G3.

Der Median der Gruppen liegt jeweils annähernd im Bereich des Mittelwerts. Die bessere Trennung erfolgt jedoch durch den Mittelwert (Tab. 28). Der Modus der Gruppen N, G1 und G2 deckt sich weitgehend mit den vor benannten Variablen. Da in der Gruppe G3 jedoch zumeist kein Modus existiert, ist dieses Maß mit dem oben genannten Verfahren nicht zur Trennung der Gruppen ge-

eignet. Das Fehlen des Modalwerts ist andererseits für die Gruppe G3 charakteristisch (Tab. 37).

Die Länge bzw. der Interquartilsabstand der Verteilung steigt von Grad 1 bis Grad 3. Die Gruppen G2 und G3 unterscheiden sich in dieser Hinsicht deutlich. Zur Trennung der Gruppen N und G1 ist dieses Maß jedoch offensichtlich nicht geeignet (Tab. 34, 36, 37).

Die 5cER erfaßt die Anzahl DNS-Werte jenseits von 5c in Prozent. Dieser Prozentsatz liegt für die Gruppen N und G1 praktisch bei Null. Unter den G2-Tumoren, deren Mittelwert bereits 3,9c beträgt, steigt der Prozentsatz im Mittel auf 10,5 % und rangiert dabei zwischen 2 % und 25 %. In der Gruppe G3 schließlich steigt dieser Prozentsatz auf durchschnittlich 63 %.

Der maximale DNS- wert eines Präparats (MAX) stellt das dritte deskriptive Maß zur optimalen Trennung der Gruppen N bis G3 dar. Das mittlere Maximum der Gruppe N liegt etwa im triploiden Bereich (3,4c), das der Gruppe G1 im tetraploiden (4,5c) und das der Gruppe G2 im oktoploiden Bereich. Das mittlere Maximum jeder dieser Gruppen liegt somit etwa im Bereich des Doppelten des Mittelwerts (Tab. 30).

Mit diesen 3 deskriptiven Maßzahlen ist die Gruppe G2 also durch einen Mittelwert von 3,9c charakterisiert sowie dadurch, daß 10,5 % der DNS-Werte zwischen 5c und 7,6c liegen (Tab. 36).

Anhand dieser drei Maßzahlen gelingt die korrekte Zu-

ordnung in die subjektiv vorgegebenen Gruppen N bis G3 in 73,5 % der Fälle (Tab.39). Dieses Ergebnis muß jedoch unter dem Aspekt betrachtet werden, daß eine Trennung der diploiden G1-Karzinome von den Normalbefunden nach der Literatur nicht möglich ist. Ferner wurden Hyperplasie (Abb. 74 des Bildbandes), Cystitis cystica (Abb. 73), von BRUNNsche Nester (Abb. 72) und Papillome (Abb. 75, 76) zu den Normalbefunden gerechnet. Diese Epithelveränderungen sind zwischen normalem Epithel und Carcinoma in situ G1 einzuordnen. Als Folge der Überschneidung kann die Gruppe N in nur 48,3 % korrekt zugeordnet werden. Entsprechend werden auch gut differenzierte Karzinome Grad 1 zu 32,4 % als Normalbefunde eingestuft.

Die gesamte Stichprobe besteht aus zwei Anteilen, die jeweils Gewebeproben der Pathologischen Institute Aachen und Bardenberg darstellen. In dem Bardenberger Material sind Hyperplasie (Tab. 31), Cystitis cystica, von BRUNNsche Nester (Tab. 32) und Papillome (Tab. 33) mit 9 von 11 Fällen überrepräsentiert. In dem Aachener Material stehen 17 Präparate mit normalem Epithel nur 2 mit einer Hyperplasie gegenüber. Hier gelingt die Zuordnung der Gruppe N in 78,9 %. Das Ergebnis für die Gruppe G1 verschlechtert sich nur geringfügig auf 65 %. Rund ein Drittel der Kerne gut differenzierter Karzinome weist somit eine unterdurchschnittliche DNS-Menge auf.

Ferner ist der Schluß erlaubt, daß die DNS-Zytophotometrie entgegen der Theorie letztlich eine Trennung der Normalbefunde von gut differenzierten Karzinomen ermöglicht. Bisher ist eine solche Unterscheidung in der Praxis jedoch ohne Bedeutung. Sie könnte für eine automati-

sierte Untersuchung zytologischer Präparate allerdings von Wert sein.

Die bessere Trennung der beiden Gruppen im diploiden Bereich führt für den ersten Teil der Stichprobe (Aachen) zu einer Verbesserung der Trennung aller Gruppen auf 83,1 %.

Die nachträgliche Zuordnung der subjektiv nach histologischen Kriterien als mittelgradig differenziert (G2) beurteilten Karzinome gelingt in 91,1 % der Fälle. Von 34 G2-Karzinomen wurden 3 unterbewertet. In der gleichen Größenordnung liegt auf der Basis des vorgestellten Verfahrens der Fehler für die Gruppe der wenig differenzierten Karzinome (G3) mit 90,9 %. Hier wurden 2 von 22 Tumoren der Gruppe G2 zugeordnet (Tab. 39).

Zeichenerklärung

Deskriptive Maße der DNS-zytrophotometrischen Untersuchung:

Mittelwert	-	arithmetisches Mittel
Median	-	50 % Quantil
Quant 1	-	25 % Quantil
Quant 3	-	75 % Quantil
Länge	-	75 % - 25 % (Interquartilsabstand)
Modus	-	häufigster Wert
5cER	-	Werte jenseits von 5c in Prozent, außer 8c, 16c, 32c (BÖCKING, 1980)
2cDI	-	2,5c Deviationsindex (BÖCKING, 1980)
PROD	-	Produkt von 2cDI und 5cER
LPROD	-	Logarithmus des Produkts (für PROD = 0 ist LPROD = 0 per definitionem)
MIN	-	kleinster Meßwert des Präparates
MAX	-	größter Meßwert des Präparates

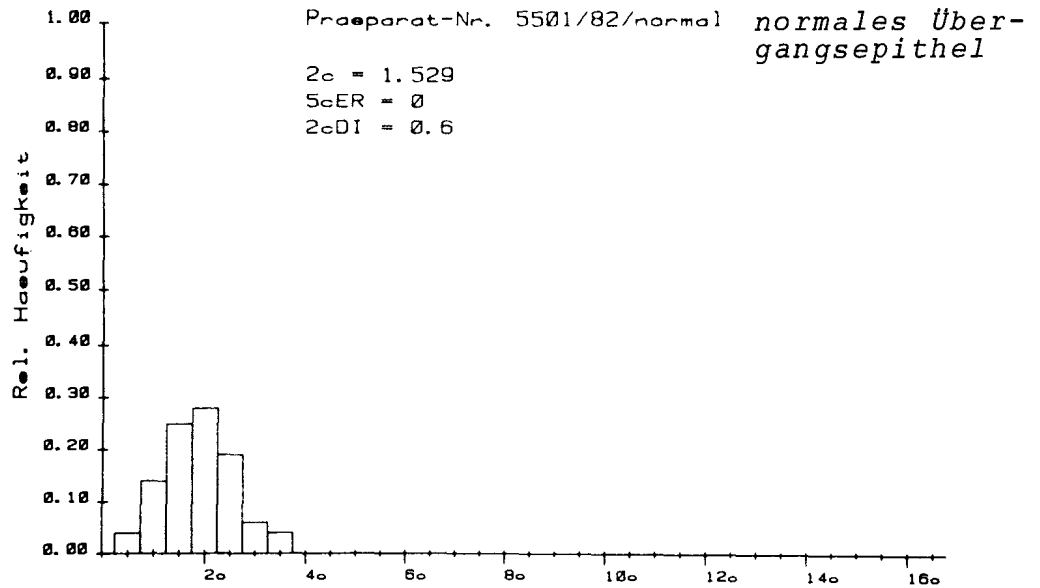
Tab.: 27

	normal (n = 31)	G1 (n = 34)	G2 (n = 34)	G3 (n = 22)
Mittelwert	4,54	4,82	7,82	13,31
Median	4,55	4,79	7,54	13,02
Quart 1	3,75	4,10	6,28	10,46
Quart 2	5,29	5,49	8,97	15,63
Länge	1,53	1,38	2,69	5,18
5cER	0,10	0,47	10,50	62,96
2cDI	1,09	1,49	6,87	36,87
PROD	0,24	1,40	84,46	2680,41
LPROD	0,04	0,10	1,73	2,26
MIN	2,79	2,88	5,49	8,96
MAX	6,74	9,03	15,27	24,57

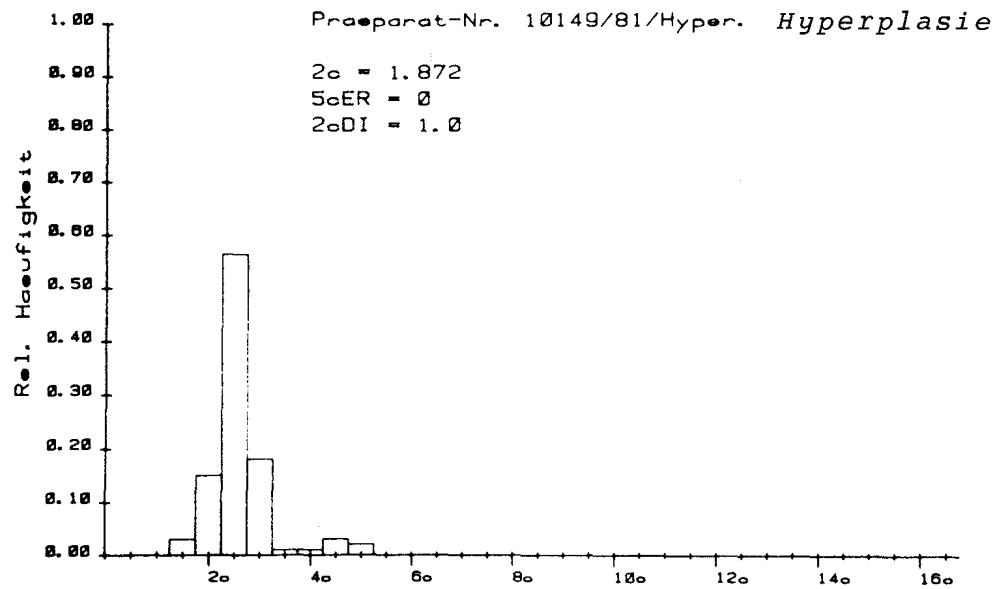
Tab.28: Meßergebnisse der DNS-Zytrophotometrie
in Klassenwerten (0,5c)

	normal	G1	G2	G3
Mittelwert	4,54	4,82	7,82	13,31
MITSTDEV	0,84	0,96	1,00	1,87
MITMIN	2,28	2,54	6,15	10,10
MITMAX	6,43	6,91	9,52	17,23
5cER	0,10	0,47	10,50	62,96
ERSTDEV	0,30	0,83	6,17	19,93
ERMIN	0,0	0,0	2,0	22,0
ERMAX	1,0	4,0	25,0	95,0
MAX	6,74	9,03	15,27	24,57
MAXSTDEV	2,07	2,44	4,30	5,19
MAXMIN	3,0	5,0	8,0	16,0
MAXMAX	11,0	13,0	27,0	32,0

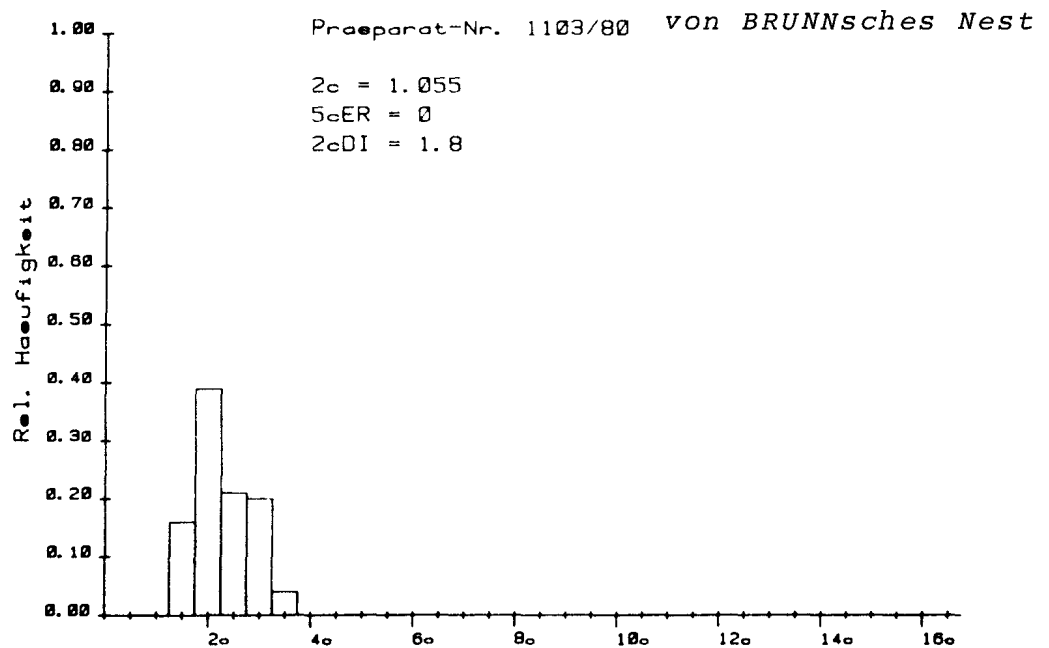
Tab. 29: Werte der optimal trennenden deskriptiven Maße
der DNS-Zytrophometrie (Standardabweichung,
Minimum und Maximum) in Klassenwerten (0,5c)



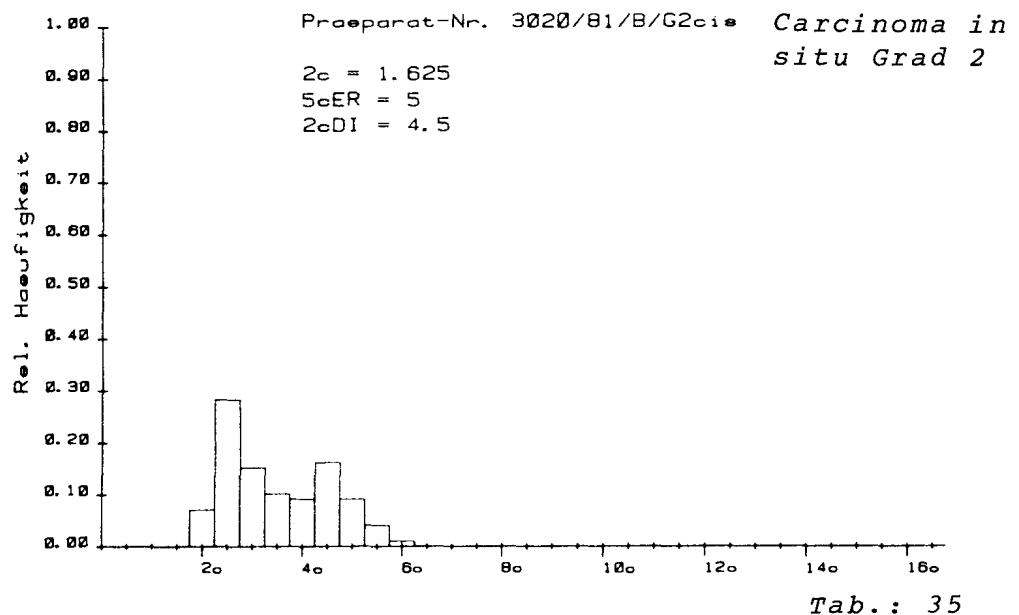
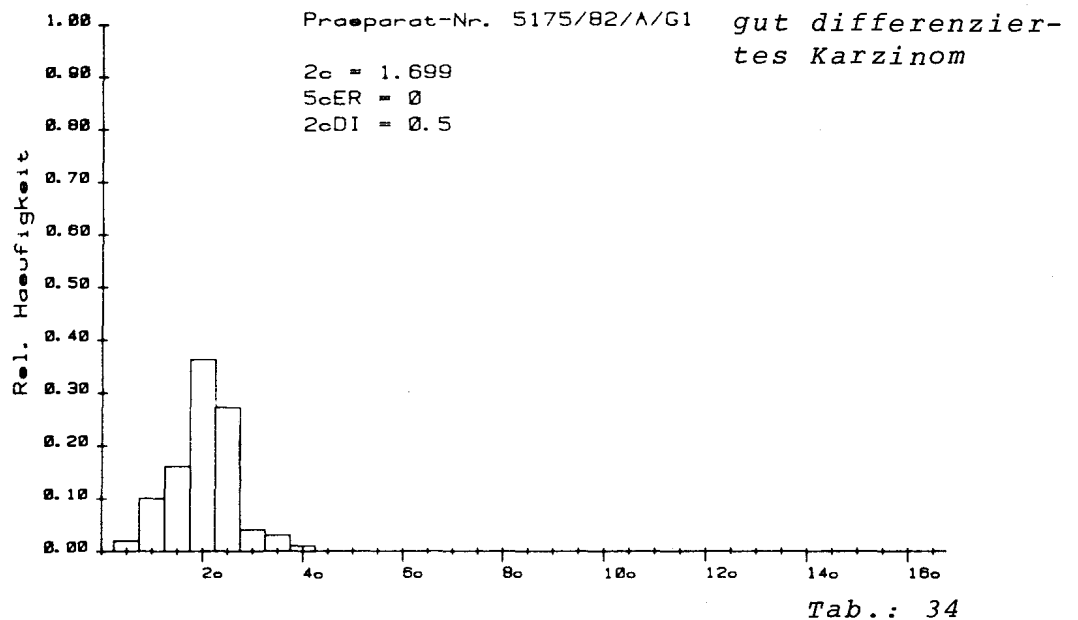
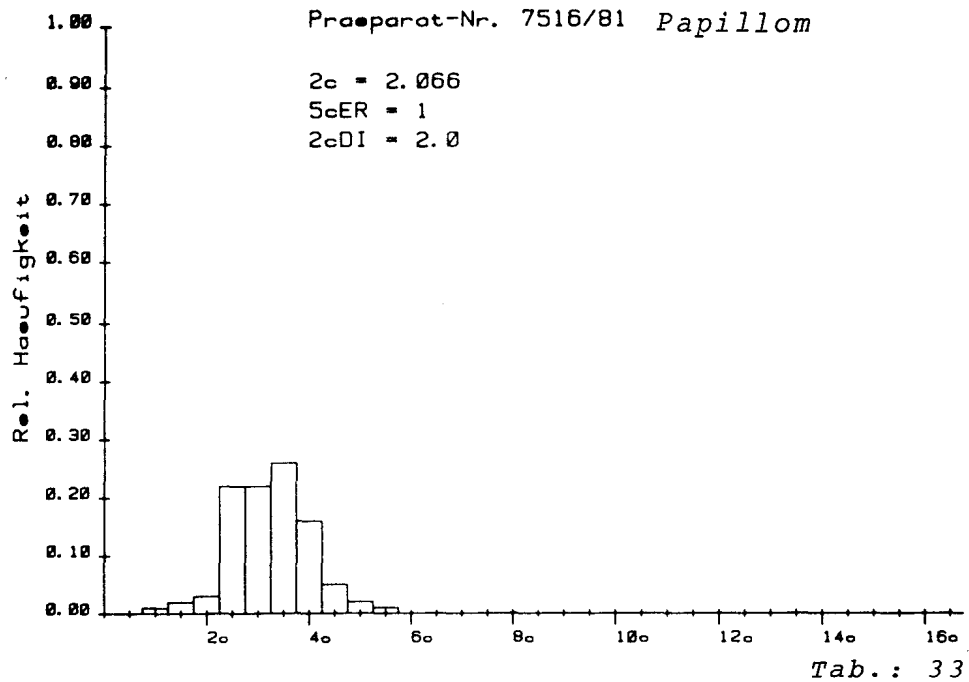
Tab.: 30



Tab.: 31

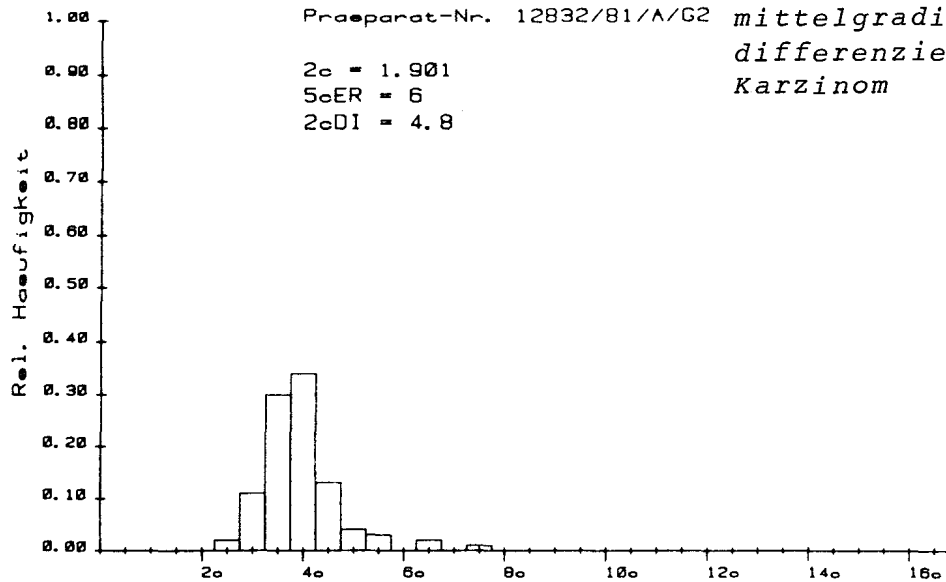


Tab.: 32



Präparat-Nr. 12832/81/A/G2 mittelgradig
differenziertes
Karzinom

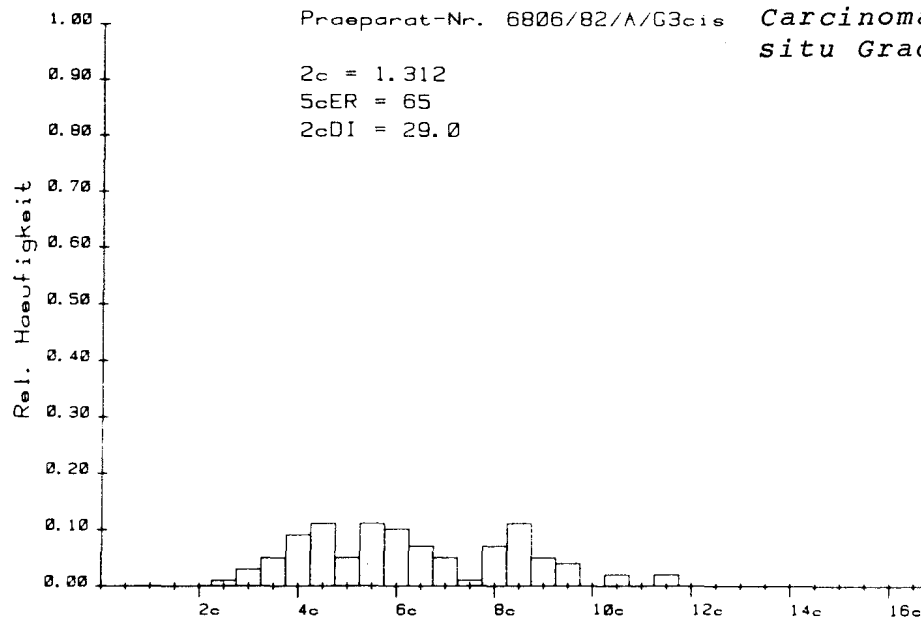
2c = 1.901
5cER = 6
2cDI = 4.8



Tab.: 36

Präparat-Nr. 6806/82/A/G3cis Carcinoma in
situ Grad 3

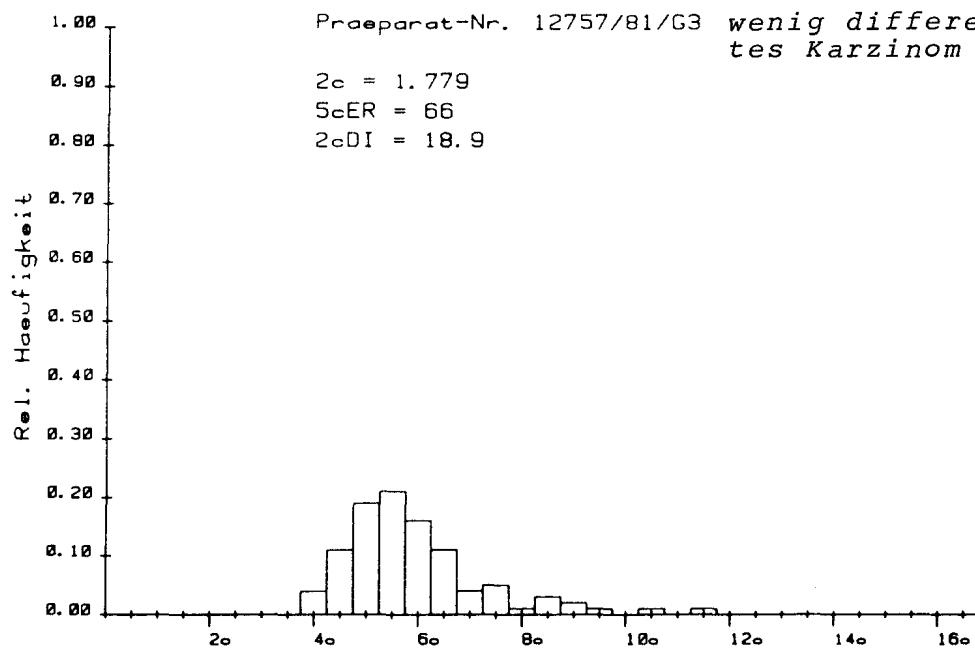
2c = 1.312
5cER = 65
2cDI = 29.0



Tab.: 37

Präparat-Nr. 12757/81/G3 wenig differenzier-
tes Karzinom

2c = 1.779
5cER = 66
2cDI = 18.9



Tab.: 38

		N	G1	G2	G3	
31	N	15	16			48,3 %
34	G1	10	23	1		67,6 %
34	G2		3	31		91,1 %
22	G3			2	18	90,9 %
121		25	42	34	20	73,5 %

Tab.39: Zuordnung der Präparate nach den ermittelten deskriptiven Maßen der DNS-Zytophotometrie

3.6 Karyometrie des menschlichen Harnblasenkarzinoms

Die Meßwerte der karyometrischen Untersuchung wurden zur Ermittlung optimal trennender Variablen gleichfalls der schrittweisen Diskriminanzanalyse unterworfen (Tab. 40, 41).

Die Betrachtung der einzelnen deskriptiven Maße läßt eine stetige Vergrößerung der Flächenmittelwerte (FLMIT) mit der Abnahme des Differenzierungsgrades erkennen. Der FLMIT beträgt: Gruppe N $25,7 \mu\text{m}^2$; Gruppe G1 $34,5 \mu\text{m}^2$; Gruppe G2 $46,2 \mu\text{m}^2$ und Gruppe G3 $60,3 \mu\text{m}^2$.

Ebenso vergrößern sich die maximal gemessenen Kernflächen in den einzelnen Gruppen.

Den durchweg größten Beitrag zur Trennung der Gruppen liefert offenbar die Standardabweichung der Kernflächen (FLSTDEV), die ein Maß für die Polymorphie der Kerne darstellt. Sie ist lichtmikroskopisch gut wahrnehmbar. Diesem subjektiven Eindruck kommt also durch die FLSTDEV eine hohe Bedeutung zu.

Zweites deskriptives Maß zur optimalen Trennung der Gruppen ist die Standardabweichung des Quotienten der kleinsten und größten Halbachse der Kerne (DRSTDEV).

Diese Variable drückte die Polymorphie im Sinne des Nebeneinander von annähernd kugelförmigen und elliptisch geformten Kernen aus. Auch dieses Phänomen ist bei der lichtmikroskopischen Betrachtung leicht wahrzunehmen.

An dritter Stelle rangiert der mittlere Kernumfang (UMIT) bezüglich der optimalen Trennung der Gruppen. Die optische Umsetzung dieses Maßes ist praktisch nicht möglich. In Kombination mit anderen Variablen dient er der Trennung der Gruppe N von allen übrigen Gruppen, soweit diese gemeinsam betrachtet werden.

Keine Rolle als diskriminierendes Merkmal spielt der Formfaktor (FF), der das Verhältnis von Kernfläche und -umfang angibt. Nimmt etwa der Umfang des Kerns durch Auffaltung der Membran gegenüber der Fläche zu, verkleinert sich dieser Faktor. Der niedrigste ermittelte Wert (FFMIN) liegt, wie zu erwarten, in der Gruppe der wenig differenzierten Karzinome (G3). Zur Trennung der Gruppen G2 und G3 liefert dieses Maß keine Verbesserung des Ergebnisses.

Grundlegende Aufgabe der morphologischen Praxis ist die Trennung der Karzinome in Differenzierungsgrade.

Die Zuordnung der ermittelten Kernmaße zu den Gruppen der Tumoren G1, G2 und G3 gelingt in 82,2 % der Fälle mit Hilfe der Standardabweichung der Kernfläche (FLSTDEV) in Kombination mit der Standardabweichung der Halbachsenrelation (DRSTDEV).

Die gleichen deskriptiven Maße trennen die Gruppen G1 und G2 in 84,6 %. Die Trennung ist bei dieser Fragestellung besser, da Überschneidungen in den Gruppen G2 und G3 bezüglich dieser Parameter unberücksichtigt bleiben.

Zur optimalen Trennung der Gruppen G2 und G3 reicht die FLSTDEV allein. Die Zuordnung gelingt zu 85,1 %. Dies bedeutet, daß im Einzelfall ein mittelgradig differenziertes Karzinom (G2) gegen ein gut differenziertes (G1) oder aber ein wenig differenziertes (G3) karyometrisch mit einer Wahrscheinlichkeit von rund 85 % abgegrenzt werden konnte.

Faßt man normales Übergangsepithel, von BRUNNsche Nester und Hyperplasie zu einer einzigen Gruppe (N) zusammen, was durch die jeweils kleinen Fallzahlen erforderlich wird, so ist eine Trennung von N und G1 zu 82,1 % möglich.

Die dazu eingesetzten Maße sind Mittelwert der Fläche (FLMIT), Standardabweichung der Fläche (FLSTDEV) und Standardabweichung des Durchmessers (DSTDEV).

Zwischen Kernen des normalen Epithels und des gut differenzierten Karzinoms besteht also in rund 18 % kein karyometrisch faßbarer Unterschied.

Normalbefunde (N) und gut differenziertes Karzinom (G1) zusammengefaßt sind gegen mittelgradig und wenig differenzierte Karzinome zu 91,3 % zu trennen. Als Maße dienen hierzu mittlerer Kernumfang (UMIT), größter Durchmesser des kleinsten Kernes (DMIN) und Standardabweichung der Halbachsenquotienten (DRSTDEV). Diese deskriptiven Maße unterscheiden die beiden Gruppen offensichtlich durch die Kernform.

Die optimale Trennung der Gruppe N gegen die Gesamtheit

der Karzinome G1, G2, und G3 erfolgt in 81,6 % durch die Variablen FLMAX, UMIT und DRSTDEV. Die Güte der Trennung wird hierbei wiederum durch die Überschneidung der karyometrischen Daten von Zellen der Gruppe N mit denen der Gruppen G1 und G2 beeinträchtigt.

Solche Überlappungen der Kerndaten bedingen, daß ein beliebiges Schnittpräparat lediglich mit einer Wahrscheinlichkeit von 68,0 % einer der 4 Gruppen korrekt zugeordnet werden kann, wenn der Trennung die Maße FLSTDEV, UMIT und DRSTDEV zu Grunde liegen.

Zeichenerklärung

Deskriptive Maße der karyometrischen Untersuchung:

FLMIN	-	kleinste Fläche (μm^2)
FLMAX	-	größte Fläche
FLMIT	-	Mittelwert der Fläche
FLSTDEV	-	Standardabweichung der Fläche
UMIN	-	kleinster Umfang (μm)
UMAX	-	größter Umfang
UMIT	-	Mittelwert des Umfangs
USTDEV	-	Standardabweichung des Umfangs
DMIN	-	Durchmesser des kleinsten Kerns (μm)
DMAX	-	Durchmesser des größten Kerns
DMIT	-	Mittelwert des Durchmessers
DSTDEV	-	Standardabweichung des Durchmessers
DRMIN	-	kleinster Wert der Halbachsenrelation
DRMAX	-	größter Wert der Halbachsenrelation
DRMIT	-	Mittelwert der Halbachsenrelation
DRSTDEV	-	Standardabweichung der Halbachsenrelation
FFMIN	-	kleinster Wert des Formfaktors
FFMAX	-	größter Wert des Formfaktors
FFMIT	-	Mittelwert des Formfaktors
FFSTDEV	-	Standardabweichung des Formfaktors

$$\text{DR} = \text{DMIN}/\text{DMAX} \quad x = 4 F / \pi D^2$$

$$\text{FF} = \text{Formfaktor} \quad X = 4 \pi F / U^2$$

Tab.: 40

	normal (n = 24)	G1 (n = 32)	G2 (n = 20)	G3 (n = 27)
FLMIN	11,9	16,4	15,75	15,85
FLMAX	44,45	56,8	85,1	157,25
FLMIT	25,7	34,5	46,2	60,3
FLSTDEV	7,2	8,5	14,9	28,4
UMIN	13,6	16,2	16,0	16,8
UMAX	28,7	31,6	38,6	56,4
UMIT	20,1	23,4	27,1	31,1
USTDEV	3,05	3,2	4,7	8,1
DMIN	5,0	5,9	5,6	5,5
DMAX	11,1	12,6	15,2	20,0
DMIT	7,8	9,1	10,4	11,4
DSTDEV	1,3	1,5	2,1	3,0
DRMIN	0,28	0,28	0,26	0,26
DRMAX	0,85	0,87	0,89	0,91
DRMIT	0,55	0,54	0,56	0,59
DRSTDEV	0,129	0,126	0,141	0,152
FFMIN	0,464	0,487	0,468	0,402
FFMAX	0,945	0,938	0,931	0,938
FFMIT	0,788	0,782	0,772	0,756
FFSTDEV	0,105	0,099	0,106	0,125

Tab. 41: Meßergebnisse der karyometrischen Untersuchung

4. Diskussion

4.1 Morphologie des Übergangsepithels der Rattenharnblase

Die Harnblase der Ratte wird von einem dreischichtigen Urothel ausgekleidet (WALKER, 1960). Aus kleinen diploiden Basalzellen entwickeln sich tetraploide intermediäre Zellen (HICKS und CHOWANIEC, 1978). Diese Intermediärzellen, die nach KOSS (1977) auch in mehreren Lagen auftreten können, teilen sich oder verschmelzen zu polyploiden Deckzellen (KUNZE, 1979). Die Zytoplasmen der Oberflächenzellen sind durch zahlreiche Filamente und Ribosomen, wenige Mitochondrien, wenig rauhes oder glattes endoplasmatisches Retikulum, viele große Telolysosomen und einen gut entwickelten Golgiapparat ausgezeichnet (HICKS und CHOWANIEC, 1978).

Erste elektronenmikroskopische Untersuchungen am Urothel legte WALKER (1960) vor. Als Besonderheit fielen ihm die komprimierten Vesikel der Oberflächenzellen auf.

Diese Vesikel werden nach WALKER (1960) wahrscheinlich im Zytoplasma gebildet, wo sie zunächst dicht bei dem Golgiapparat liegen und von dort zur Zellmembran wandern. Die Ähnlichkeit zwischen Zell- und Vesikelmembran weist auf funktionelle Beziehungen hin.

HICKS (1965) charakterisierte die Oberflächenzellen als schuppenförmig. Die Basalzellen sind über Hemidesmosomen an der Basalmembran befestigt, die das Epithel von der Lamina propria trennen. Die lateralen Plasmamembranen sind tief interdigitiert. In allen Zellen findet sich

ein dichtes Netzwerk aus Tonofibrillen. Die Oberflächenzellen sind untereinander verbunden durch einen junctionalen Komplex mit Zonula occludens, Zonula adhaerens und Macula adhaerens (Desmosom).

HICKS (1965) stellte ferner, ebenso wie WALKER (1960), fest, daß die luminale Plasmamembran und die Membran zahlreicher Vesikel ungewöhnlich dick seien.

Die Oberflächenmembran aller übrigen Epithelzellen besteht bei elektronenmikroskopischer Betrachtung aus zwei dichten und einer mittleren, weniger dichten Schicht. Die trilaminare Membran der Oberflächenzellen der Harnblase weist mit einer dickeren luminalen Schicht und einer dünneren inneren Schicht dagegen einen asymmetrischen Aufbau auf. Eckige Verformungen weisen auf eine gewisse Starre dieser Membran hin. HICKS (1965) diskutiert dabei den Ursprung der asymmetrischen Membran im Golgiapparat.

KOSS (1969) beschrieb zahlreiche eigenartig geformte unregelmäßige Fortsätze und bogenförmige Einsenkungen der asymmetrischen Plasmamembran. Die Einsenkungen bilden miteinander Winkel von 45 Grad oder weniger. Auch in den Intermediärzellen wird nach KOSS (1969) ein Teil der Vesikel von der dicken asymmetrischen Membran umschlossen.

HICKS und KETTERER (1970) isolierten aus Homogenaten des Blasenepithels hexagonal angeordnete hexamere Partikel, die an Dünnschnitten auch in der dicken äußeren Schicht der Plasmamembran gefunden wurden. Das hexagonale Gitter

zeichnet die Oberflächenmembran in ihrer Gesamtheit aus. In den übrigen Zellen ist es lediglich auf die Zellkontakte beschränkt.

Im Gefrierätzverfahren konnten STAEHELIN et al. (1972) zeigen, daß die Einheitsmembran der Urothelzellen Verdickungen des äußeren luminalen Blattes lediglich in isolierten Plaques aufweist. An der Innenfläche des luminalen Blattes werden diese Plaques aus hexagonal angeordneten Untereinheiten gebildet. Zwischen den Plaques, die 73 % der Membran einnehmen, liegen glatte Regionen. Die Plaques dienen der Verankerung intrazytoplasmatischer Filamente und tragen so zusätzlich zur Stabilisierung der Plasmamembran bei. Die partikelfreien Interplaqueregionen dienen als Scharniere und erlauben eine Auffaltung der Zellmembran.

Nach ALROY und WEINSTEIN (1980) sind diese Plaques der asymmetrischen Membran auch in den lateralen und basalen Oberflächen der Superfizialzellen sowie auch in den apikalen Oberflächen der Intermediärzellen des Harnblasenepithels nachzuweisen.

Der Aufbau der asymmetrischen Membran geschieht in mehreren Schritten (SEVERS und HICKS, 1979). Aus Membranen des Golgiapparats werden glatte Abschnitte abgeschnürt und zu diskoidalen Vesikeln geformt. In die Membran werden Untereinheiten der Plaques eingefügt, die sich so dann zu hexagonalen Gittern anordnen. Die so gebildeten Vesikel wandern zur Zellmembran und werden in diese eingebracht.

Die asymmetrische Zellmembran wird als eine der Permeabilitätsbarrieren für Wasser und gelöste Stoffe aufgefaßt. Als weiterer Faktor gelten die Zonulae occludentes oder Tight junctions (MERK et al., 1977). Diese werden normalerweise aus einem Netzwerk von drei bis fünf intramembranösen Strängen aufgebaut. Modifikationen der Zonulae occludentes führen zu einer erheblichen Änderung der transepithelialen Permeabilität. Wie KOSS (1977) indessen bemerkte, werden Patienten mit einer entsprechenden Membranstörung des Urothels durch Karzinom oder Präkanzerose jedoch nicht urämisch, so daß weitere Barrieren zu fordern seien.

Durch ihre Einzigartigkeit unter den Membranen der Säugerzellen gilt die Differenzierung der Oberflächenmembran der Deckzellen als Marker für die normale Differenzierung des gesamten Urothels (HICKS und WAKEFIELD, 1976).

Rasterelektronenmikroskopisch ist die polygonale Oberfläche der Deckzellen von einem Netzwerk feiner Leisten überzogen (ARAI et al., 1974), die FRIEDEL et al. (1977) als Mikroleisten bezeichneten. Bei diesen Mikroleisten handelt es es sich um Auffaltungen der Membran in der Interplaqueregion (STAEHELIN et al., 1972).

4.2 Formale Pathogenese experimenteller Harnblasentumoren der Ratte

In ersten Versuchen zur experimentellen Klärung der Histogenese von epithelialen Harnblasentumoren beschrieben ITO et al. (1969) das Auftreten von Hyperplasien nach 8 Wochen BBN, von Papillomen nach 16 Wochen und von Karzinomen nach 20 Wochen bei 84,7 % der Ratten. Der zeitlichen Abfolge entsprechend werden Papillome als Vorläufer der Karzinome aufgefaßt. Die gleiche Ansicht hatten bereits 1964 DRUCKREY et al. vertreten. Auch AKAGI et al. (1973) zeigten nach 20-wöchiger BBN-Exposition ein Nebeneinander von Hyperplasien des Urothels, Papillomen und Karzinomen. Die durch das Kanzerogen herbeigeführte Hyperplasie charakterisierten ARAI et al. (1974) lediglich als Vermehrung der Zellschichten des Urothels.

COHEN et al. (1976) beurteilten die Epithelveränderungen der Harnblase nach einer Verfütterung von FANFT über 20 Wochen und nachfolgender Kontrolldiät über 30 Wochen als mittelschwere bis schwere Hyperplasien mit zum Teil knotigen und papillären Proliferationen. ITO (1976) wies auf eine unregelmäßige Anordnung der Epithelzellen in der fokalen Hyperplasie hin. HICKS und CHOWANIEC (1978) beschrieben als erste Reaktion auf zytotoxische Blasenkarzinogene einen vorübergehenden Epithelverlust, gefolgt von einer Hyperplasie, die von der Präneoplasie abgetrennt wird. Allerdings sind gutartige Hyperplasie und neoplastische Hyperplasie zunächst lichtmikroskopisch nicht zu unterscheiden. In der Präneoplasie geht jedoch die normale Ausreifung von der Basis zur luminalen Ober-

fläche hin verloren. Die Superfizialzellen sind kleiner als normal. Dazu kommen unterschiedliche Kerngröße und vermehrte Nukleolen. Die Epithelzellen variieren in Größe, Form und Anfärbbarkeit ihrer Zytoplasmen. Insgesamt spricht der zelluläre Aspekt stärker für die irreversible Neoplasie als für die blande Hyperplasie. Das präneoplastische Urothel ist häufig verdickt. Die Zellen gleichen dabei jedoch denen des normalen Urothels. Seltener treten Areale mit Hyperplasie und vollkommenem Verlust der Differenzierung auf. Hier wird eine mögliche Analogie zum Carcinoma in situ gesehen. Auch nach HICKS und CHOWANIEC (1978) werden nicht invasive papilläre Tumoren als Vorläufer der invasiven Karzinome beurteilt. Die invasiven Tumoren sind zumeist anaplastisch. Die Tumorzellen sind kleiner und einförmiger als die des normalen Urothels.

KUNZE (1979) legte in einer umfangreichen Analyse weitere morphologische Befunde zur Karzinogenese an der Harnblase vor. BBN in einer Menge von 20 mg/kg/Tag wird zwischen 7 und 43 Wochen verfüttert. Die Ratten werden nach kanzerogenfreien Intervallen von 21 bis 46 Wochen untersucht. In der Frühphase des Versuchs, nach 13 Wochen BBN und nachfolgendem Intervall von 15 Wochen, tritt zunächst eine einfache Hyperplasie des Urothels mit 4 bis 10 Zellagen auf. In den multiplen hyperplastischen Herden sind die Epithelzellen nicht von gesunden Zellen zu unterscheiden. Aus den Hyperplasien entwickeln sich papilläre Hyperplasien mit zartem Stromastiel. Das Urothel an deren Oberfläche bleibt unauffällig. Aus den papillären Hyperplasien entwickeln sich später Papillome. Auch diese sehen gutartig aus; sie entsprechen dem papillären

Karzinom Grad 1 des Menschen und weisen zytologisch und histologisch keine Malignitätskriterien auf. Erst später treten fokale Atypien in den Hyperplasien und Papillomen auf. Die Zytoplasmen sind hier basophil, Kerne und Nukleolen vergrößert. Die Atypieherde werden von scheinbar gesundem Urothel begrenzt. Fast ausschließlich in papillären Hyperplasien werden Carcinomata in situ mit höherem Grad der Atypie und zahlreichen Mitosen beobachtet.

Diese Epithelveränderungen in Papillomen und papillären Hyperplasien werden als sekundäres Carcinoma in situ bezeichnet. Carcinome schließlich entstehen in maligne umgewandelten Papillomen. Invasive Karzinome auf dem Boden intraepithelialer Neoplasien sind dagegen selten. In einer vorausgegangenen Mitteilung hatten KUNZE und Mitarbeiter (1976) die Entwicklung von Karzinomen aus intraurothelialen Karzinomen noch praktisch ausgeschlossen.

Da invasive Karzinome nahezu ausschließlich aus den multipel und multizentrisch auftretenden Papillomen hervorgehen (KUNZE, 1979), diese jedoch zytologisch gutartig erscheinen, tritt ein Mißverhältnis zwischen der sehr hohen malignen Potenz der Papillome und ihrer Morphologie zu Tage. Daraus schließt KUNZE (1979), daß auch bei menschlichen Tumoren die maligne Potenz im Einzelfall nicht zu klären sei. Eine genaue Differenzierung der Tumoren sei somit nicht möglich.

FRIEDEL et al. (1977) suchten die morphologischen Erscheinungen strenger zu fassen und modellhaft zueinander in Beziehung zu setzen.

Das Fortbestehen einer durch 8-wöchige Gabe von FANFT erzeugten Epithelhyperplasie über 52 Wochen kanzerogenfreier Haltung der Versuchstiere zeigte, daß eine irreversible Hyperplasie vorlag. Daraus wurde gefolgert, es handle sich um eine präneoplastische Blasenläsion, die zwar als irreversibel, aber nicht notwendigerweise als progressiv definiert wurde. Da nach Gabe von FANFT über 4 bis 10 Wochen lichtmikroskopisch lediglich der Grad der Hyperplasie zunimmt, ohne daß die Zellen sich jeweils voneinander unterscheiden, folgt, die präneoplastische Läsion sei eine Epithelproliferation mit nicht neoplastischem histologischem Bild, die zeitlich und räumlich dem Carcinoma in situ oder dem Karzinom verwandt sei. Beim Carcinoma in situ handle es sich dagegen um Epithelproliferate, die denen des Karzinoms gleichen, aber nicht invasiv wachsen. Das Carcinoma in situ ist zeitlich und auch räumlich mit dem Karzinom verwandt und entwickelt sich ohne Behandlung in einem hohen Prozentsatz zum invasiven Karzinom weiter.

Der Begriff der Dysplasie wird im Tierexperiment also weitgehend vermieden. Lediglich ADOLPHS et al. (1978) beschrieben mit FANFT experimentell erzeugte Dysplasien neben Hyperplasien. Die überwiegende Zahl der Mitteilungen beschränkt sich auf die Beschreibung einer initialen Hyperplasie, der später die Neoplasie im Sinne des Papilloms oder invasiven Karzinoms folgt (AKAGI et al., 1973; ARAI et al., 1974; COHEN et al., 1976; ITO et al., 1975; ITO, 1976; ITO et al., 1969; ITO et al., 1973; JACOBS et al., 1977).

Erst MURPHY und IRVING (1981) führten eingehende zytolo-

gische Untersuchungen früher Epithelveränderungen der Rattenharnblase nach Tumorinduktion mit BBN durch. Während der ersten 5 Wochen des Versuchs sind die Zellagen des Epithels vermehrt, die Polarität der Zellen geht verloren; Auffaltungen der Kernmembran und wenige Mitosen treten auf; das Kernchromatin ist staubförmig verteilt. In den folgenden 5 Wochen kommt es zur herdförmigen Vermehrung der Zellschichten; papilläre Hyperplasien treten auf; die Kerne der Zellen werden größer; sie sind häufiger und stärker gefärbt und liegen verdichtet (nuclear crowding) und haben vereinzelte Makronukleolen; Mitosen sind recht häufig. Ein bei einem Versuchstier beobachteter Tumor wird als gut differenziertes, nicht invasives papilläres Übergangsepithelkarzinom bezeichnet. Im Verlauf der folgenden 12 Wochen des Versuchs werden die Kerne des Epithels kleiner, während sich ihre Zahl erhöht; das Chromatin der Kerne, die konstant gekerbt sind, ist jetzt unregelmäßig verteilt und häufig grob granulär; in zahlreichen kleinen Herden kommt es zur Mikroinvasion. Die zytologischen Veränderungen nehmen mit Fortdauer der Exposition langsam zu bis hin zur Atypie.

Somit können MURPHY und IRVING (1981) durch sorgfältige zytologische Analyse eine Analogie zu Dysplasie und in situ Karzinom des Plattenepithels der Cervix uteri herstellen. Wichtig für die Vorhersage des biologischen Potentials sei die Atypie einzelner Zellen im Epithel. Auch vor der Entwicklung eines Carcinoma in situ in ganzer Epitheldicke komme es zum invasiven Karzinomwachstum.

Die letztere Beobachtung deckt sich mit der von KOSS (1977), wonach Papillome selten Ursprung einer Invasion

seien und sich nahezu alle invasiven Karzinome aus "flachem" Epithel entwickelten.

In Analogie zur Gradierung des menschlichen Harnblasenkarzinoms und zu seinen Erscheinungsformen wird auch eine gradweise Einteilung der experimentell erzeugten Harnblasentumoren versucht. Die innerhalb von 180 Tagen aufgetretenen Karzinome beurteilten AKAGI et al. (1973) als überwiegend gut differenziert. Nur wenige der Tumoren wiesen anaplastische Anteile auf. Die Gradierung von 613 induzierten Blasenkarzinomen (FUKUSHIMA et al., 1976) ergibt 95,1 % Transitionalzellkarzinome, 3,3 % Plattenepithelkarzinome, 2,5 % undifferenzierte Karzinome und 0,3 % Karzinosarkome. Unter den Transitionalzellkarzinomen finden sich 23,3 % gut (G1), 55,2 % mittelgradig (G2) und 21,5 % wenig differenziert (G3). Die Plattenepithelkarzinome sind zu 60 % wenig differenziert. 36 % der Transitionalzellkarzinome wachsen invasiv. Unter den Plattenepithelkarzinomen ist der Prozentsatz der invasiven Tumoren höher. Die undifferenzierten Karzinome verhalten sich ausnahmslos invasiv. In invasiven Tumoren ist der infiltrierende Tumoranteil stärker anaplastisch als der exophytische.

Auch HICKS und CHOWANIEC (1978) betonten, daß experimentelle Tumoren denen des Menschen glichen und eine analoge Klassifizierung möglich sei. In dem von ihnen gewählten experimentellen Modell entstehen zunächst überwiegend Transitionalzellkarzinome. Plattenepithelmetaplasie, adenomatöse Metaplasie und Anaplasie folgen im weiteren Verlauf, wobei Plattenepithelmetaplasien früher und zumeist in großen Tumoren beobachtet werden. Die

adenomatöse Metaplasie ist seltener. Invasive Tumoren sind zumeist anaplastisch. Die Karzinome infiltrieren die Blasenwand in ganzer Tiefe und durchbrechen schließlich die Serosa. Metastasen sind bei Versuchstieren selten.

KUNZE (1979) fand im Gegensatz zu den vorgenannten Arbeitsgruppen im invasiven Tumorteil weniger dysplastische Zellen und weniger Mitosen als im nicht invasiven Tumor. Dagegen ist die von ihm angegebene Verteilung der Karzinomtypen etwa gleich der in der übrigen Literatur angegebenen. So sind nach KUNZE (1979) 88,8 % der experimentellen Tumoren Transitionalzellkarzinome. Als Folge von Metaplasie in vorgebildeten Transitionalzellkarzinomen treten auch Plattenepithel- und Adenokarzinome auf (KUNZE und SCHAUER, 1977).

4.2.1 Transmissionselektronenmikroskopie experimenteller Harnblasentumoren

Die elektronenmikroskopischen Befunde an BBN-induzierten Harnblasenkarzinomen sind zunächst uncharakteristisch. Neben Tonofibrillen und vermehrten freien Ribosomen fallen Mikrovilli insbesondere an den Oberflächen von Tumorzellen mit elektronendichterem Zytoplasma auf (ITO et al., 1969; ITO, 1973; ITO et al., 1975; ITO, 1976). Unter den Organellen der Tumorzellen fehlen die sonst typischen fusiformen Vesikel (ARAI et al., 1974; ITO et al., 1975), die ebenso wie die asymmetrische Membran in der Hyperplasie noch erhalten sind (ARAI et al., 1974).

KOSS (1977) hält dagegen alle Organellen für von den neoplastischen Veränderungen betroffen. Nach Induktion der Tumorentstehung durch Cyclophosphamid erweitern sich die Interzellularräume, in die nun Mikrovilli ragen. Die Zahl der Desmosomen erhöht sich. Die Tight junctions (Zonulae occludentes) werden dagegen aufgebrochen und bilden sich nicht mehr. Später wird die Zellmembran symmetrisch. Die Oberflächenzellen schwinden. Die Basallamina ist auf mehrere Lagen verdickt. Auffällig ist eine mesenchymale Reaktion mit Wucherungen kapillärer Gefäße, die zum Teil über dem Niveau der Basalmembran innerhalb des Epithels liegen, worauf auch HICKS und CHOWANIEC (1978) hinwiesen. Die Endothelzellkerne sind bizarr geformt und springen in die Gefäßlumina vor. Die fehlerhafte Bildung von asymmetrischer Membran, dem grundlegenden und charakteristischen Merkmal des Urothels, die selbst im Karzinom noch teilweise erhalten

sei, führte KOSS (1977) auf eine Störung des Golgiapparates zurück. Das Fehlen der asymmetrischen Membran zeige an, daß die proliferativen Zellen zu keiner Ausreifung mehr fähig seien.

wie HICKS und CHOWANIEC (1978) betonten, lassen sich neoplastische Hyperplasie und gutartige Hyperplasie elektronenmikroskopisch nicht voneinander unterscheiden. Insgesamt gelten die elektronenmikroskopischen Befunde nach ihrer Auffassung als für die Neoplasie nicht diagnostisch. Selbst eine Zerstörung der Basallamina sei nicht beweisend für ein Karzinom, die vielmehr selbst bei invasivem Wachstum oft intakt bleibe. Diagnostisch von Bedeutung sei allenfalls die unregelmäßige urothelial-mesenchymale Lagebeziehung.

Die von KOSS (1977) beschriebene Veränderung der Zellkontakte werden von PAULI et al. (1977; 1979) im Gefrierätzverfahren genauer gefaßt. Die Zonulae occludentes werden demnach verschmälert oder verbreitert ausgebildet. Mit Fortschreiten des Tumorstwachstums verlieren sie ihre Kontinuität und bilden nunmehr Fasciae oder Maculae occludentes aus. In FANFT-induzierten Tumoren werden die Desmosomen größer und nehmen an Zahl zu. Die basalen Hemidesmosomen fehlen herdförmig. Regelmäßige Erwähnung findet die Bildung einer Glykokalix (HICKS und WAKEFIELD, 1976; KOSS, 1977; REZNIK-SCHÜLLER, 1981).

Eine systematische, gegebenenfalls morphometrische Analyse der elektronenmikroskopischen Befunde in der Folge der Erscheinungen und bezüglich der Relevanz bei experimentellen Dysplasien und Karzinomen steht noch aus.

4.2.2 Rasterelektronenmikroskopie experimenteller Harnblasentumoren

An der Oberfläche experimentell erzeugter Harnblasentumoren beschrieben ITO (1973; 1976) sowie ITO und Mitarbeiter (1969; 1975) das Auftreten von Mikrovilli. Diese Veränderungen der Oberflächenmembran schienen zur Unterscheidung von benigner, reversibler Hyperplasie und prä-neoplastischer Hyperplasie dienen zu können. So hielten HICKS und WAKEFIELD (1976) das Auftreten von Mikrovilli an den luminalen Oberflächen der Epithelzellen für den morphologischen Marker einer malignen Transformation des Urothels, während bei der zytotoxischen Schädigung die Oberflächenmembran lediglich zeitweise undifferenziert erscheine und derjenigen der übrigen Zellen gleiche, worauf dann wieder eine normale asymmetrische Membran aufgebaut werde. HODGES et al. (1977) unterschieden prä-neoplastische Hyperplasie und fortgeschrittene Präneoplasie an der Form der Mikrovilli. Für die erstere waren eher geschwollene Mikrovilli, für Präneoplasie und Neoplasie hingegen komplexe, pleomorphe Mikrovilli typisch.

Nach FRIEDEL et al. (1977) und JACOBS et al. (1977) korrelierte das Erscheinen pleomorpher Mikrovilli an den luminalen Oberflächen der Harnblasen mit einer irreversiblen neoplastischen Reaktion. Erhielten Ratten FANFT in einer Konzentration von 0,2 % im Trockenfutter, so verschwanden die bei Kontrolltieren beobachteten Mikroleisten. Nach 8 bis 12 Wochen zeigten sich zahlreiche pleomorphe Mikrovilli, während die Mikrovilli nach 4 bis 6 Wochen noch regelmäßig waren. Wurde FANFT über 8 Wo-

chen verfüttert, blieben pleomorphe Mikrovilli nach 52 Wochen folgender Kontrolldiät ausnahmslos bestehen. Sie bedeckten jetzt auch die Oberfläche des nicht hyperplastischen Urothels (FRIEDEL et al., 1977).

Die Hoffnung, einen geeigneten Marker für die Präkanzerose gefunden zu haben, stellte sich jedoch als trügerisch heraus, da pleomorphe Mikrovilli auch in irreversiblen Hyperplasien auftreten, wie FUKUSHIMA et al. (1981) zeigen konnten. Pleomorphe Mikrovilli erscheinen bei jeder starken, länger andauernden Proliferation des Übergangsepithels, so nach Setzen von Ulzera der Harnblase, Inzisionen, lokaler Erfrierung und Formalininstillation. Nach Formalininstillation wirkt die Hyperplasie bis zum 14. Tag. Rasterelektronenmikroskopisch sind dabei gleichzeitig pleomorphe und kurze gleichförmige Mikrovilli zu beobachten. Nach 3 Wochen ist eine Abheilung festzustellen.

Die Rasterelektronenmikroskopie des Oberflächenepithels ist bezüglich der pleomorphen Mikrovilli somit nicht geeignet, einen qualitativen Übergang von benigner Hyperplasie zur Präneoplasie zu markieren. Gleichwohl gehört die Morphologie der Zelloberfläche in der experimentellen Kanzerogenese zu den Aspekten, die besondere Aufmerksamkeit verdienen. So sind in der Hyperplasie die normalerweise polygonalen Oberflächenzellen halbkugelförmig oder uneben, bei Karzinomen polymorph, halbkugelförmig oder oval geformt; die Zellgrenzen sind bei Neoplasmen eingesunken (ARAI et al., 1974; ITO, 1976; JACOBS et al., 1976).

HICKS und CHOWANIEC (1978) beobachteten an den Oberflächen hyperplastischen Epithels kleine bläschenförmige Ausstülpungen und stummelförmige Mikrovilli.

Nach 6-wöchiger Gabe von Methylnitrosoharnstoff (MNU) bilden sich längere, fingerförmige Mikrovilli, die zunächst in der Zellperipherie auftreten und sodann die gesamte Oberfläche bedecken. In der Frühphase der Versuche sind Mikroleisten noch vorhanden, und nur einzelne Zellen zeigen bereits uniforme Mikrovilli (JACOBS et al., 1976). Die Oberflächenzellen des Karzinoms erscheinen abgerundet oder pflastersteinartig. Die Mikrovilli sind länger, polymorpher und stehen dichter als bei der Hyperplasie (HICKS und CHOWANIEC, 1978). Auch in der Zellkultur kennzeichnen pleomorphe Mikrovilli die Oberfläche von Blasentumorzellen (PAULI et al., 1979).

4.3. Kausale Pathogenese experimenteller Harnblasentumoren

BBN, FANFT und einige andere Kanzerogene führen nach entsprechend langer Gabe mit einer nahezu 100-prozentigen Inzidenz zu Blasenkarzinomen. Sie werden als komplette Kanzerogene bezeichnet. Sind, wie dies auch beim Menschen überwiegend anzunehmen ist, mehrere Kanzerogene gleichzeitig oder nacheinander wirksam, so nimmt man einen additiven oder auch synergistischen Effekt dieser Stoffe an, die als Initiatoren und Promotoren gelten, und von denen jeder lediglich Vorstadien des Blasenkrebses, aber kein invasives Karzinom hervorrufen kann. Erst nach der Einwirkung eines Initiators führt der Promotor zum Karzinom.

Die Initiation ist ein irreversibler Prozeß, der eine somatische Mutation induziert. Der Ablauf eines Zellzyklus reicht für eine irreversible Initiation aus. Die Promotion ist dagegen reversibel und beansprucht einen längeren Zeitraum (COHEN, 1979; HICKS, 1981).

Der minimale Effekt eines Initiators ist, isolierte Zellen oder kleine Zellkolonien zu schaffen, die phänotypisch mit ihren Nachbarn identisch sind, was die Ausstattung mit funktionellen Proteinen und Membranen anlangt. Die Veränderung der Zelle drückt sich erst in der Anwesenheit des Promotors aus. Die Initiation benötigt zur Etablierung der Effektivität zusätzliche Zellteilungen, die durch den zytotoxischen Effekt der meisten Kanzerogene bewirkt werden (HICKS, 1981).

Die Veränderung der Zelle drückt sich in der Anwesenheit des Promotors aus. Der Promotor beeinflusst die immunologische Überwachung und stimuliert die initiierte Zelle oder Zellkolonien zu wachsen und sich zu teilen. In der gesunden Zellpopulation wird eine gewisse Anarchie hervorgerufen, die eine Ausdehnung der Tumorzellen erlaubt. Dies bedeutet, daß es zur Proliferation kommen muß mit der Folge einer Kontaktstörung der Zellen. Der Promotor muß also eine über die Initiation hinausgehende Veränderung des Genoms oder Mutation verursachen (SCRIBNER und SÜSS, 1978).

Diesem Konzept von Initiation und Promotion, das von SCRIBNER und SÜSS (1978) umfassend dargelegt ist, entspricht die Beobachtung, daß präneoplastische Blasenläsionen im Experiment irreversibel, aber nicht notwendigerweise progressiv sind (FRIEDEL et al., 1977). Ferner heilen durch komplette Kanzerogene in subkanzerogenen Dosen induzierte Hyperplasien scheinbar vollständig ab (BRYAN, 1977; FRIEDEL et al., 1977; HICKS, 1981).

Durch die Initiation wird das Genom der Zellen auf Dauer geändert, obwohl die exponierte Zelle phänotypisch zunächst nicht von gesunden Zellen zu unterscheiden ist (HICKS, 1981). Das neoplastische Potential tritt also ohne Promotion nicht zum Vorschein.

Daraus erwächst der Gedanke, definitiv neoplastisches Wachstum dadurch zu verhindern, daß die Promotion unterdrückt wird (HICKS, 1981).

Fernerhin ergibt sich der Ansatz, die präneoplastische Phase so zu verlängern, daß ein invasives Karzinom vom Individuum nicht mehr erlebt wird. Auch eine Redifferenzierung neoplastisch transformierter Zellen kann aus dem Konzept von Initiation und Promotion heraus Ziel einer Therapie sein (HICKS, 1979).

Als entscheidend ist aus diesem Konzept zu folgern, daß das Urothel sich nach einer Initiation in einem präneoplastischen Zustand befindet, selbst wenn morphologisch noch keinerlei Alterationen faßbar sind (HICKS und CHOWANIEC, 1978).

4.3.1 N-Butyl-N-(4-Hydroxybutyl)nitrosamin (BBN)

Im Rahmen systematischer Untersuchungen über die Beziehungen der chemischen Konstitution und der karzinogenen Wirkung von Nitrosaminen sowie der Organotropie krebs-erzeugender Substanzen synthetisierten und beschrieben DRUCKREY et al. (1964) als erste Butyl-butanol(4)nitrosamin, später bezeichnet als N-Butyl-N-(4-Hydroxybutyl)-nitrosamin (BBN), und verabreichten es langfristig in Trinkwasser an Ratten. Die Versuchstiere erhielten BBN in einer Konzentration von 0,02 % und in einer zweiten Gruppe von 0,04 %. Nach einer Behandlungsdauer von 190 Tagen starben die Tiere in rascher Folge. Alle Ratten in beiden Versuchsgruppen hatten Tumoren, und zwar ausschließlich in der Harnblase. Histologisch handelte es sich um Plattenepithel-, Übergangsepithel- und Adenokarzinome. DRUCKREY et al. (1964) hoben hervor, BBN habe unter nahezu 80 verschiedenen untersuchten Nitrosaminverbindungen bei verschiedenen Applikationsformen als einzige Substanz nach oraler Gabe selektiv mit hoher Sicherheit Blasenkrebs erzeugt. Die Organotropie wird durch eine lokale enzymatische Aktivierung des Kanzerogens erklärt. Die Krebsentstehung geschieht nicht auf hämatogenem Weg, sondern durch die im Urin als Ester ausgeschiedene Substanz. In der Harnblase wird der Ester gespalten. Spontan entstehendes Diazobutan wirkt als alkylierende Substanz direkt karzinogen (DRUCKREY et al., 1964).

Nach MOHR und HAAS (1975) ist Butyl-(3-Carboxypropyl)-nitrosamin der in der Harnblase als Karzinogen wirksame Metabolit des BBN.

Indessen bestätigen Tests mit mehreren neu synthetisierten Kanzerogenen die Selektivität ausschließlich des BBN für die Induktion von Harnblasentumoren (ITO, 1973).

ITO und Mitarbeiter (1969) führten den morphologischen Aspekt der Arbeiten von DRUCKREY et al. (1964) weiter. Dabei wurde eine Abhängigkeit zwischen Schweregrad sowie Ausdehnung der Epithelveränderungen und der Behandlungsdauer mit BBN festgestellt. Nach 8-wöchiger Behandlung sank die Inzidenz der Karzinome gegenüber 20 Wochen Versuchsdauer von 84,7 % auf 20 % ab.

In der Folge wurde der Einfluß von Geschlecht, Alter, Dosis und Dauer der Exposition auf die Tumorentstehung näher bestimmt. Während einer Expositionszeit zwischen 2 und 12 Wochen wurden den Tieren Konzentrationen von 0,1 %, 0,05 %, 0,01 %, 0,005 % und 0,001 % BBN angeboten. Die kanzerogenfreie Kontrolldiät währte danach bis zur 40. Woche. Als minimale kanzerogene Dosis von BBN im Trinkwasser ließ sich eine Konzentration von 0,05 %, als maximale nicht kanzerogene Dosis 0,001 % ermitteln. Bei dieser Konzentration von 0,001 % wurden auch nach 40 Wochen BBN keine Hyperplasien festgestellt, wohingegen die Dosis von 0,05 % bereits nach 4 Wochen ausnahmslos zur Hyperplasie führte (ITO et al., 1973). Ältere Ratten entwickeln häufiger Karzinome als junge Tiere (ITO et al., 1975). Ferner werden Plattenepithelmetaplasien bei älteren Tieren häufiger beobachtet (ITO et al., 1973).

Die Signifikanz der Beziehungen zwischen Konzentration und Dauer der Exposition wird auch dadurch bestätigt, daß eine Konzentration von 0,1 % bei 33,3 % der Ratten

bereits nach 4 Wochen zur Karzinomentstehung führt, während nur 18,2 % der Tiere ein Karzinom bekommen, wenn die Konzentration 0,05 % nicht übersteigt. BBN in der Konzentration von 0,05 % im Trinkwasser führt zu einer Karzinominzidenz von 64 % nach 6 Wochen, 90 % nach 8 Wochen und 100 % nach 12 Wochen, wenn ein kanzerogen-freies Intervall bis zur 40. Woche folgt. Die Häufigkeit der Karzinome hängt ferner von der Rasse ab, nach ITO et al. (1975) nicht jedoch vom Geschlecht. BERTRAM und CRAIG (1972) weisen dagegen einen hormonabhängigen Geschlechtsunterschied nach, wobei männliche Tiere früher Karzinome entwickeln sollen.

Untersuchungen an Ratten, Mäusen, Hamstern und Meerschweinchen ergeben zusätzlich eine Speziesabhängigkeit (ITO, 1976).

BBN in einer Konzentration von 0,05 % im Trinkwasser ist nach diesen Erfahrungen die Dosis der Wahl für eine Vielzahl von Untersuchern auf dem Feld der Kanzerogenese für die Harnblase (AKAGI et al., 1973; ARAI et al., 1974; BERTRAM UND CRAIG, 1972; KUNZE, 1979; KUNZE und SCHAUER, 1977; KUNZE et al., 1976; MURPHY und IRVING, 1981).

4.3.2 Weitere Karzinogene des Harntraktes der Ratte

HICKS und CHOWANIEC (1978) führen in einer Übersicht eine Vielzahl von Kanzerogenen auf, die zur Induktion von Harnblasentumoren eingesetzt werden können. 2-Naphthylamin, das beim Menschen als Karzinogen bekannt ist, führt auch beim Hamster und der Wistar-Ratte zum Blasenkarzinom. 2-Acetylaminofluoren (2-AAF) wird ebenfalls erfolgreich im Tierversuch eingesetzt. Unter den Nitrosoverbindungen ist die Mehrzahl für Mensch und Tier kanzerogen. Insbesondere für die Ratte sind außer Butyl-(4-Hydroxybutyl)nitrosamin (BBN) auch Nitrosodibutylamin, Nitrosomethyldodecylamin, Methylnitrosoharnstoff (MNU), N-Methyl-N-(4-Hydroxybutyl)nitrosamin und N-Butyl-N-(3-Carboxypropyl)nitrosamin potente Kanzerogene zur Induktion von Harnblasenkarzinomen.

Als weitere zur Erzeugung von Harnblasenkarzinomen bei Ratten eingesetzte Kanzerogene erwähnen MOHR und HAAS (1975) zusätzlich Tryptophan und seine Metaboliten sowie Adlerfarn (*Pteris aquilina*).

HICKS und Mitarbeiter (1978) setzten in ihrem Laboratorium Methylnitrosoharnstoff ein, den sie direkt in die Harnblase instillieren. Die Instillation erfolgt zweimal wöchentlich in einer Dosis von je 1,5 mg. Nach einer Gesamtdosis von 6,0 mg kommt es zu einer Tumorinzidenz von 100 %.

N-(4-(5-Nitro-2-Furyl)-2-Thiazolyl)formamid (FANFT) ist ein weiteres zur Erzeugung von Blasenkarzinomen im Tier-

versuch geeignetes Kanzerogen (DE KERNION et al., 1974; JACOBS et al., 1976; COHEN et al., 1976; FRIEDEL et al., 1977; ADOLPHS et al., 1978). Es wird dem Trockenfutter in einer Konzentration von 0,2 % zugesetzt. Invasive Blasenkarzinome treten nach etwa 8 Monaten auf (ADOLPHS et al., 1978).

Bei den genannten Stoffen handelt es sich um komplette Kanzerogene für die Harnblase, die bei entsprechender Dosis und Expositionsdauer in 100 % der Versuchstiere Blasenkarzinome hervorrufen (HICKS und CHOWANIEC, 1978).

Nach einer Initiation durch ein komplettes Kanzerogen kann die Promotion durch eine Vielzahl von weiteren Substanzen erfolgen. Als solche Promotoren gelten unter anderem Saccharin, Cyclamat und Cyclophosphamid (HICKS, 1981).

4.4 Epidemiologie des menschlichen Harnblasenkarzinoms

Seit den Beobachtungen von REHN (1885) sind zahlreiche Blasenkarzinogene entdeckt worden. REHN führte die von ihm vorgestellten Fälle von Blasenkarzinomen bei Fuchsinarbeitern auf das Einatmen von Anilindämpfen zurück. Er dachte ferner daran, daß die Mehrzahl dieser Blasengeschwülste durch den chemischen Reiz der von den Nieren im Urin ausgeschiedenen krebserregenden Stoffe hervorgerufen worden wären.

Ein Drittel der Männer mit Blasenkarzinomen in England hat auch heute eine berufliche Exposition; darunter sind Arbeiter in Farbenfabriken, Lederindustrie und Treibstoffindustrie, Gummiarbeiter, Textilfärber, Drucker, Teerarbeiter, Bergleute, Friseure und Schneider (MORRISON, 1979; PRICE et al., 1960).

Spezifische Kanzerogene der Blase sind beim Menschen nicht bekannt. Angeschuldigt werden beta-Naphthylamin, Xenylamin, Benzol, Benzidin und 4-Nitrodiphenyl, letzteres ein Nebenprodukt in mehreren Industriezweigen (DE KERNION und SKINNER, 1978; BETKERUR et al., 1980; FARBER, 1981). Starke Raucher sollen häufiger an Blasenkarzinomen erkranken als Nichtraucher. Kaffeegenuß erhöht das Risiko geringfügig, in einzelnen Populationen jedoch deutlicher (DE KERNION und SKINNER, 1978).

WEINBERG et al. (1983) kommen hier auf Grund epidemiologischer Studien zu dem Ergebnis, nicht das Rauchen, sondern der Kaffeegenuß stelle einen bedeutenden Risiko-

faktor dar. Nach ihren Untersuchungen unterscheidet sich die Häufigkeit des Blasenkarzinoms deutlich von der Verteilung des Bronchialkarzinoms, die wiederum Parallelen zur Epidemiologie des Rauchens aufweist. Blasenkarzinome treten demnach gehäuft in einer Population von Nichtrauchern auf, bei der der lediglich Kaffeekonsum als Risikofaktor in Frage kommt. Analgetika und künstliche Süßstoffe schließen WEINBERG et al. (1983) als mögliche Kanzerogene für die Harnblase des Menschen aus.

Von den Risikofällen entwickeln nur wenige ein Karzinom (REHN, 1885; KOSS, 1979; BRYAN, 1979; MORRISON, 1979).

Zur Prophylaxe ist deshalb vor allem die Kenntnis der Risikofaktoren von Bedeutung. Ihr Ziel kann die Verhinderung der Initiation der ersten Zelle sein. Da das präklinische Stadium 80 % der Tumorlebenszeit vor Diagnose und Therapie einnimmt, müßte eine prophylaktische Intervention spätestens unmittelbar nach der Initiation einsetzen (BRYAN, 1979). Diese frühe Intervention hätte die selektive Inhibition einer Promotion oder die Herbeiführung einer Regression im Stadium der Initiation als mögliche Angriffspunkte (FARBER, 1981).

Genaue epidemiologische Daten könnten die hohen Kosten von Vorsorgeuntersuchungen gefährdeter Personen einschließlich diagnostischer Zytologie begründen und rechtfertigen (MORRISON, 1979).

Einen möglichen erfolgreichen Weg der Prophylaxe demonstrieren HABS und SCHMÄHL (1983) im experimentellen Ansatz. Die Gefahr, durch Cyclophosphamid ein iatrogenes

Blasenkarzinom zu induzieren, kann durch Natrium-2-Mercaptoethansulfonat (Mesna) und Dinatrium 2,2'-Dithio-bis-ethansulfonat (Dimesna) dosisabhängig signifikant reduziert werden.

4.5 Klassifikation der Harnblasentumoren

Das Blasenkarzinom wird nicht durch ein einheitliches, sondern durch vielfältige Krankheitsbilder mit einem weiten Kreis histologischer Varianten und Differenzierungsgrade repräsentiert. Aufgabe des Pathologen ist es, die histologischen Befunde der Krankheit zu dokumentieren, um der Therapie eine solide Basis zu liefern. Wichtigstes Problem ist daher die Definition des jeweiligen malignen Potentials an Hand der Histologie. Ein derartiges Gradierungssystem unterschiedlicher prospektiver Malignität sollte korreliert sein mit einem spezifisch definierten morphologischen Aspekt, der eine derartige Vorhersage begründen kann (FARROW, 1979).

Die Gradierung sollte objektiv und in ihren Kriterien eindeutig sein. Die Diagnose muß intra- und interindividuell reproduzierbar sein. Durch erhebliche Unterschiede der Bewertung zwischen verschiedenen Pathologen und Einführung individueller Kriterien hatte die Gradierung die ihr zukommende Bedeutung für die Klinik zeitweise vollkommen eingebüßt, wie MARSHALL (1952) bedauernd äußerte.

BRODERS (1922) entwickelte die erste Gradierung der Harnblasentumoren, die sich als prognostisch relevant erwies.

Er unterteilte die Tumoren in vier Malignitätsgrade je nach ihrem Gehalt an differenzierten Zellen, die denen des normalen Epithels entsprachen, und ihrem Gehalt an

undifferenzierten Zellen. Bestanden drei Viertel des Tumors aus differenziertem Epithel und zu einem Viertel aus undifferenzierten Zellen, so gehörte der Tumor zum Grad 1. Grad 2 Tumoren setzten sich zu etwa gleichen Teilen aus differenziertem und undifferenziertem Epithel zusammen, Grad 3 Tumoren aus drei Viertel undifferenzierten und einem Viertel differenzierten Epithelzellen. Fehlte jede Tendenz zur Differenzierung, wurde der Tumor als Grad 4 bezeichnet.

Auch papilläre, nicht invasive Tumoren wurden entsprechend ihrer Zellzusammensetzung als niedrig oder hoch maligne Karzinome eingestuft.

BRODERS (1922) griff hierbei das Konzept der epithelialen Malignität von ZUCKERKANDL (1910) auf, das auch STENIUS (1922), also gleichzeitig mit BRODERS, als Prinzip der eignen Einteilung der Harnblasengeschwülste übernahm.

Die klinischen Erscheinungen hatten in ZUCKERKANDL (1910) Zweifel an der benignen Natur der Zottenpolypen wachgerufen, wie er die papillären, nicht infiltrativen Tumoren der Harnblase bezeichnete.

Nicht zu selten waren nämlich invasive Karzinome nach der Entfernung von Zottenpolypen in der Harnblase aufgetreten. Ferner beobachtete ZUCKERKANDL (1910) auch Implantationsmetastasen in der Bauchwand nach der Exstirpation gutartiger Papillome.

ZUCKERKANDL (1910) schloß: "Es müssen dem Epithel der

Zottengeschwülste, auch der benign erscheinenden, Eigenschaften zukommen, die sonst nur Krebszellen eigen sind". Mit seinen biologischen Eigenschaften hatte das Epithel auch seine Form geändert. Es war polymorph geworden. Für die Beurteilung der Benignität der Zottenpolypen konnte die erhaltene Relation zwischen Epithel und Stroma nicht länger als Kriterium angesehen werden. Die gewissermaßen latente Karzinomnatur war in diesen Fällen durch die Epithelveränderung allein gegeben.

Obwohl HÜCKEL (1934) diesem zytologischen Aspekt, die Zellreifeung als Gradmesser der Malignität zu betrachten, eine gewisse Berechtigung zukommen ließ, klassifizierte er der damals vorherrschenden Lehrmeinung entsprechend das heutige papilläre, nicht invasive Karzinom in allen seinen Differenzierungsgraden als "papilläres Fibroepitheliom mit Unregelmäßigkeiten in den Zellen des Übergangsepithels".

Auch DUKES und MASINA (1949) machten die Unterscheidung zwischen Papillom und Karzinom in der von ihnen vorgestellten Einteilung der Harnblasentumoren im gleichen Sinne von dem Nachweis der Invasion abhängig.

MOSTOFI (1956a) kombinierte in einer umfangreichen retrospektiven Studie in Anlehnung an ASH (1940) die BRODERSsche Klassifikation mit der absoluten Tumorgröße. Grad 2 Tumoren waren weniger gut differenziert als Grad 1 Tumoren, größer als 2,5 cm im Durchmesser, invasiv, multipel oder rezidivierend. Grad 3 Tumoren waren völlig undifferenziert. Abhängig vom Tumorgrad betrug nach seinen Resultaten die Zehnjahresüberlebensrate 67 % für Grad 1

und 12 % für Patienten mit Grad 2 und Grad 3 Tumoren. Diese Überlebenszeiten wurden durch verschiedene Therapieformen nur wenig beeinflusst (MOSTOFI, 1956b).

Die prognostische Bedeutung der Gradierung des Blasenkarzinoms war somit hinreichend gesichert. An bioptisch gewonnenem Tumorgewebe führten diese Klassifikationen insbesondere durch die Bindung der Karzinomdiagnose an das invasive Wachstum dazu, daß papilläre Tumoren in einem zu hohen Prozentsatz als benigne beurteilt werden mußten (BERGKVIST et al., 1965).

Auf der Basis einer detaillierten Analyse der Zellmorphologie klassifizierten BERGKVIST et al. (1965) 300 Tumoren mit Verläufen bis zu 8 Jahren retrospektiv. Die Zahl der in diesem Zeitraum aufgetretenen Rezidive, Überlebenszeiten und Todesursachen wurden mit dem histologischen Tumorgrad korreliert.

Die Gewebeproben wurden in 5 Gruppen unterteilt (Grad 0 bis 4). Grad 0: die Tumorpapillen werden von Übergangsepithel in normaler Dicke bedeckt, das auch im Zellbild des Tumors nicht von der Norm abweicht; Grad 1: das Epithel ist leicht und unregelmäßig verdickt ohne nennenswerte Änderung des Zellbildes; Grad 2: das verdickte Epithel zeigt eine leichte Variation bezüglich der Größe der Zellen und ihrer Kerne; Grad 3: Zellen und Epithelstränge liegen ungeordnet bei erheblichen Zellveränderungen. Der Urothelcharakter bleibt aber erhalten; Grad 4 Tumoren weisen schwere Zellveränderungen auf, die in totaler Anaplasie und komplettem Verlust des Urothelcharakters resultieren.

Tumoren mit Grad 0 und Grad 1 wurden als gutartig, Grad 2 bis Grad 4 Tumoren als maligne eingestuft. Tumoren den Graden 1 oder 2 zuzuordnen, empfanden bereits BERGKVIST et al. (1965) als schwierig.

Die Tumorklassifikation der WHO (MOSTOFI et al., 1973) führte schließlich zu einer Einteilung in 3 Grade. Sie beruht auf der Untersuchung von 500 Fällen durch Referenzzentren und 9 von der WHO vorgeschlagenen Pathologen und gibt die von ihnen mehrheitlich erarbeiteten Diagnosen und deskriptiven Termini wieder. Das Kriterium der Malignität wird ausschließlich von dem Nachweis der Anaplasie abhängig gemacht.

Die pathologischen Zellveränderungen, die zu diesem Nachweis dienen, schließen ein: erhöhter Zellreichtum, Zusammenrücken der Kerne (nuclear crowding), Störung der Zellpolarität, mangelhafte Ausreifung von der Basis zur Oberfläche hin, Polymorphie, unterschiedliche Zellgröße, Varianz in Form und Chromatinmuster der Kerne, atypische Position und Form der Mitosefiguren sowie Riesenzellen. Eine gewisse Willkür und Vorläufigkeit dieser Kriterien wird bewußt in Kauf genommen, um das Ziel einer einheitlichen Beurteilung zu erreichen.

Die Synthese von Klinik und Morphologie, von ZUCKERKANDL bereits 1910 vollzogen, ist mit diesem Entwurf der WHO nach langem Tauziehen nunmehr als allgemein verbindlich in die Klassifikation eingeführt.

Die auf der Basis dieser Zellveränderungen durch die

WHO vorgeschlagene Gradierung ist jedoch sehr einfach. Grad 1 wird auf Tumoren angewandt, für die die Malignitätskriterien eben erfüllt sind, Grad 3 auf Tumoren mit dem schwersten Grad der Zellanaplasie. Grad 2 liegt dazwischen.

Diese Klassifikation wird zwar durch einen Bildteil mit typischen Karzinomformen erweitert, bleibt jedoch der Subjektivität des einzelnen Untersuchers unterworfen.

PUGH (1973) bot aus der Mitarbeit an der WHO-Klassifikation eine zusätzlich Erläuterung. Angelehnt an BERGKVIST et al. (1965) beschreibt er das gutartige Papillom als einen papillären Tumor, dessen zentraler Stiel aus lockerem Bindegewebe von Transitionalzell-epithel in 4 bis 5 Zellschichten bedeckt ist und dessen Zellen nicht oder nur wenig von der normalen Zelle abweichen. Die oberste Zellschicht liegt parallel zur Basalmembran. Das papilläre Karzinom Grad 1 erfüllt nicht mehr die Kriterien des Papilloms. Am auffälligsten ist die Vermehrung der Zellschichten. Die Zellpolarität ist nur wenig gestört, die Hyperchromasie gering; Mitosen treten nur gelegentlich auf. Karzinome Grad 2 sind eindeutig als Transitionalzelltumoren zu erkennen. Die Vermehrung der Zellagen ist verbunden mit einem stärkeren Verlust der Polarität und der Zunahme von Hyperchromasie und Mitosen, wobei die luminale Epithelschicht unregelmäßig angeordnet ist. Grad 3 Tumoren sind schließlich nicht mehr als Transitionalzelltumoren zu erkennen. Alle Charakteristika der vorgenannten Grade sind stärker ausgeprägt. Das Carcinoma in situ ist definiert als eindeutige Anaplasie des Oberflächenepithels ohne Bildung pa-

pillärer Strukturen und ohne Invasion. Das Problem der Frühveränderungen der Harnblase war für PUGH damit durch die WHO-Klassifikation jedoch noch nicht gelöst.

KOSS (1975) fußt mit der von ihm gewählten Einteilung in gewisser Weise noch auf BRODERS (1922), dessen Konzept er jedoch als zu eng gefaßt sah. Eine gewisse Schwierigkeit bestand allein darin, normales Urothel zu definieren. Aus praktischen Gründen mußte jedes Urothel mit mehr als 7 Zellschichten als krankhaft verändert gelten. Diese Zahl wird bei den Papillomen nicht, hingegen in zunehmendem Maße bei den papillären Karzinomen überschritten. Die Oberflächenzellen des Papilloms sind klein, fehlen aber nie. Sie sind bei den Karzinomen Grad 1 gewöhnlich anzutreffen, bei Grad 2 unterschiedlich häufig, sie fehlen bei Grad 3 gewöhnlich ganz. Die Kernvergrößerung nimmt stetig zu: Grad 1 leicht bis mäßig, Grad 2 mäßig bis deutlich, Grad 3 deutlich mit erheblicher Größenvarianz. Die Kerne der Papillome sind nicht hyperchromatisch. Eine leichte Hyperchromasie weisen einzelne Kerne in Grad 1 auf. Eine leichte bis mäßige Hyperchromasie zeichnet 25 bis 50 % der Kerne in Grad 2 aus. Sie ist bei mehr als 50 % der Kerne in Grad 3 stark ausgeprägt.

Das kontinuierliche Spektrum der Übergänge dieser Veränderungen erfordert im Einzelfall die Schaffung von Zwischenstufen. So kann die Diagnose etwa Grad 2 bis Grad 3 lauten. Die Beurteilung kann ferner auch durch strukturelle Varianten der einzelnen Klassen erschwert sein.

Trotz der groben zahlenmäßigen Darstellung der Hyperchromasie von Tumorzellkernen in derartigen Prozentsätzen wird klar, daß auch KOSS in der Formulierung seiner Klassifikation die Subjektivität des einzelnen Untersuchers nur in geringem Maße einschränken konnte.

4.5.1 Differenzierungsgrad und Prognose

Alle Klassifikationen der Harnblasenkarzinome beruhen auf retrospektiven Untersuchungen und sind somit prognostisch relevant (BRODERS, 1922; MOSTOFI, 1956a; BERGKVIST et al., 1965; MOSTOFI et al., 1973). Vielfach werden Tumorgrad und Überlebenszeit korreliert, wobei nach zahlreichen Studien eine gute Übereinstimmung besteht (FARROW, 1979).

Differenzierungsgrad und Stadium der Tumorausdehnung lassen sich jedoch als prognostische Faktoren nicht trennen. In einer gewissen Abhängigkeit von dem Zeitpunkt der Diagnose geht niedriger Grad zumeist mit frühem Entwicklungsstadium, höherer Grad mit fortgeschrittenem Tumorstadium einher (JEWETT, 1973).

Unabhängig voneinander betrachtet haben niedriger Tumorgrad und frühes Stadium jeweils die bessere Prognose (MARSHALL et al., 1956). Bei gleicher Invasionstiefe entscheidet der Malignitätsgrad die Prognose (JEWETT et al., 1964; SKINNER, 1980).

Das Invasionspotential kann somit in etwa mit dem Differenzierungsgrad korreliert werden. Dies verdeutlichen auch die Untersuchungen von FRIEDEL et al. (1976) an 457 primären Transitionalzellkarzinomen der Harnblase. Invasives Wachstum bestand bei 5 % der Grad 1 Tumoren, 52 % der Grad 2, und 82 % der Grad 3 Karzinome.

ALTHAUSEN et al. (1976) fanden unter den von ihnen be-

gutachteten Tumoren 11 % invasive G1 Karzinome.

Die Fünfjahresüberlebenszeit in Abhängigkeit vom Tumorgrad gaben COLLAN et al. (1979) für G1 Karzinome mit 64 %, für G2 mit 42 % und für G3 Karzinome mit 34 % an.

GIBBONS et al. (1969) legten die Beziehung zwischen Tumorgrad sowie Rezidivhäufigkeit und Überlebenszeit dar. Von 30 Patienten mit einem nicht invasiven Karzinom Grad 1 entwickeln 20 ein Rezidiv, davon 3 später ein weiteres Rezidiv, 3 sterben innerhalb von 5 Jahren am Tumor. Unter den Patienten mit Grad 2 Karzinomen beträgt die Rezidivrate 57 %, 13 % sterben am Karzinom gegenüber 31 % bei den Grad 3 Tumoren.

wie aus diesen Zahlen hervorgeht, ist also die Rezidivhäufigkeit nicht eindeutig abhängig von dem Differenzierungsgrad des Ersttumors (LOENING et al., 1980; ENGLAND et al., 1981; LUTZEYER et al., 1982). Von 332 Patienten mit einem Blasenkarzinom Stadium T1 (Infiltration der Lamina propria) entwickelten 70 % innerhalb von 5 Jahren Rezidive. Dabei handelte es sich zu 72 % um Grad 1 Tumoren (ENGLAND et al., 1981).

Für das Plattenepithelkarzinom der Harnblase, das rund 3 % aller epithelialen Tumoren ausmacht, ist der histologische Differenzierungsgrad dagegen für die Prognose nicht wesentlich (BESSETTE et al., 1974; FRIEDEL et al., 1976). In nahezu allen Fällen liegt bei der Erstdiagnose bereits ein invasives Wachstum vor. Innerhalb eines Jahres führt das Plattenepithelkarzinom zum Tode von 69 % der Patienten bei einer Zehnjahresüberlebensrate von nur 5 %.

4.5.2 Stadium und Prognose

JEWETT und STRONG (1944) ermittelten an 127 Obduktionsfällen mit Blasenkarzinomen die mögliche Heilungsrate in Abhängigkeit von der Invasionstiefe. Sie trennten 3 Gruppen: Infiltration bis zur Submukosa (A), bis in die Muskularis (B) und komplette Infiltration der Muskelwand (C). Fernmetastasen, Gefäßeinbrüche oder perivesikale Fixierung fehlten in Gruppe A zu 100 %, Gruppe B zu 86,6 % und bei Gruppe C in 26 %. Die Tendenz der Beziehungen wurde somit deutlich erkennbar.

Später unterschied JEWETT (1952) 4 Stufen der Infiltration, wobei die Beteiligung der oberflächlichen und tiefen Muskulatur getrennt bewertet und die perivesikale Infiltration gesondert aufgeführt wurde. Die Patienten, deren Harnblase wegen oberflächlich infiltrierender Karzinome (Submukosa und oberflächliche Muskulatur) exstirpiert oder teilreseziert wurde, lebten zu 54 % fünf oder mehr Jahre ohne Rezidiv gegenüber nur 3 % einer Gruppe mit tiefer Invasion (tiefe Muskulatur und perivesikales Fettgewebe).

Die Prognose wird ferner durch Einbruch in Lymph- und Blutgefäße verschlechtert (JEWETT et al., 1964), wobei die Wahrscheinlichkeit der Ausbreitung von Tumorzellen über Blut- und Lymphgefäße mit der Tiefe der Invasion steigt (FRIEDEL et al., 1980). Die Ausdehnung des lokalen Tumors steht somit auch in direkter Beziehung zur Häufigkeit von Lymphknotenmetastasen im kleinen Becken (PROUT et al., 1979).

Die Stadieneinteilung wurde schließlich auf 5 prognostisch relevante Kategorien erweitert (MARSHALL, 1952; JEWETT, 1973): nicht invasiv (0), Invasion der Lamina propria (A), oberflächliche Muskulatur (B1), tiefe Muskulatur (B2), perivesikales Fettgewebe (C), angrenzende Organe oder Metastasen (D).

Die Übersetzung dieser Befunde in das TNM- System (HARMER, 1978) ist einfach. Nicht invasive Tumoren werden in papilläre (Ta) und Carcinoma in situ (Tis) unterteilt. T1: Infiltration der Lamina propria; T2: der oberflächlichen Muskulatur (bis zur Hälfte der Muskelwand); T3a: der tiefen Muskulatur; T3b: des perivesikalen Fettgewebes; T4a: Beteiligung von Prostata, Uterus oder Vagina; T4b: Tumorfixierung mit Becken oder Bauchwand.

Invasive Tumoren haben ein letales malignes Potential, dessen Maß die Überlebenszeit ist. Zwischen Stadium und Überlebenszeit besteht eine eindeutige Korrelation (FARROW, 1979).

Signifikant für die Prognose ist, ob die Muskulatur der Harnblase infiltriert wird oder nicht (STENIUS, 1922; SKINNER, 1977). Insofern übt SKINNER (1977) Kritik an dem amerikanischen und dem TNM-System, die beide, gestützt auf die Klassifikation von JEWETT (1952) und MARSHALL (1952), die Infiltration oberflächlicher und tiefer Muskulatur trennen, obwohl eine solche Unterteilung klinisch nicht möglich ist. Sie ist ferner anatomisch nicht begründet.

SOTO et al. (1977) faßten die Stadien A und B1 zusammen. Die von ihnen nach Zystektomie nachuntersuchten Patienten dieser Gruppe waren nach 5 Jahren tumorfrei. Im gleichen Zeitraum verstarben 85 % der Patienten mit den Stadien B2 und C.

Zwischen dem Stadium eines Karzinoms und der gleichzeitigen Anwesenheit eines Carcinoma in situ besteht keine Korrelation (Skinner et al., 1974). So läßt sich nach LOENING et al. (1980) auch ein Rezidiv weder durch den Grad noch das Stadium des entfernten Tumors vorhersagen.

Eine gute Prognose haben lediglich Patienten mit Blasen-tumoren, die nicht invasiv wachsen oder auf die Lamina propria beschränkt sind (Ta und T1). Sie können durch transurethrale Resektion, Bestrahlung und segmentale Zystektomie allein Fünfjahresüberlebenszeiten in bis zu 81 % erreichen (SOLOWAY, 1980). Durch lokale Therapie geheilt werden können nur Patienten dieser Stadien mit gut und mittelgradig (Ta - T1, G1 - G2) differenzier-ten Karzinomen (LUTZEYER et al., 1981).

4.5.3 Das Carcinoma in situ der Harnblase

Der Begriff des intraurothelialen Karzinoms (Carcinoma in situ) geht auf MELICOW (1952) zurück. Als Ursachen der für das Blasenkarzinom typischen häufigen Rezidive gibt er drei mögliche Parameter an: 1. unvollständige Resektion von Tumoren, 2. Tumorimplantate während oder nach der Operation, 3. Auftreten neuer Tumoren durch das Fortbestehen der jeweiligen kanzerogenen Noxe.

Morphologisches Substrat für die letzte Annahme birgt die in der Umgebung der Tumoren liegende makroskopisch normale Schleimhaut in Form mehr oder weniger zahlreicher mikroskopischer Herde, die durch ihre zelluläre Aktivität wahrscheinlich Früh- oder Vorstadien von Tumoren repräsentieren: Hyperplasie, Hyperplasie mit verschiedenen Graden der Atypie sowie intraurotheliales Karzinom.

Das intraurotheliale Karzinom stellten MELICOW und HOLLOWELL (1952) gleichrangig neben die Begriffe Carcinoma in situ, Morbus PAGET, Erythroplasie de QUEYRAT, Dyskeratose, Hyperkeratose und Morbus BOWEN, die zum Teil Prädilektionen für eine bestimmte Lokalisation haben und denen das mikroskopische Bild der Malignität gemeinsam ist. Alle sind potentiell invasiv. Sie werden nicht selten am Rand invasiver Karzinome gefunden und scheinen häufig die initiale Krankheit überhaupt zu sein.

MELICOW (1952) erörterte 30 Fälle von intraurothelialen

Karzinomen in Harnblase, Ureter, Urethra und Nierenbecken. Zystoskopisch stellte sich das Carcinoma in situ der Harnblase als körnige Schleimhautveränderung, rötlich und erhaben, zum Teil auch mit ulzerösem Defekt dar. Der Durchmesser dieser Herde betrug wenige Zentimeter.

Das Carcinoma in situ schritt meist unterschiedlich rasch zum invasiven Karzinom fort, so daß eine aktive Therapie mit Fulguration und Exzision zur Verhütung eines invasiven Karzinomrezidivs gefordert wurde (MELICOW, 1955).

Einen weiteren Hinweis dafür, daß viele der sogenannten Karzinomrezidive in Wirklichkeit neu auftretende Tumoren sind, sah MELICOW (1955) auch in der Tatsache, daß etwa die Hälfte der Rezidive als multiple Tumoren auftraten und daß Rezidive oft an einem anderen Ort als die Primärtumoren festgestellt wurden.

DUKES und MASINA (1949) sowie MASINA (1952) berichteten etwa zeitgleich mit MELICOW (1952) über diese frühmaligen Herde der Schleimhaut, die zystoskopisch als rötliche Flecken in der Umgebung papillärer Tumoren lagen. Der histologische Grad der Mukosaveränderungen stimmte mit dem des Haupttumors im allgemeinen überein, woraus der Schluß gezogen wurde, eine differenzierte Tumorthherapie sei vom Grad dieser Schleimhautveränderungen abhängig zu machen (MASINA, 1952).

Eine Übereinstimmung von Tumorgrad und begleitender Dysplasie stellten auch WOLF und HOJGAARD (1983) fest.

EISENBERG et al. (1960) sahen dagegen keine Abhängigkeit

zwischen Grad oder Stadium des Haupttumors und an der Oberfläche proliferierenden Schleimhautveränderungen, die in Verbindung mit einem invasiven Blasenkarzinom auftraten. Unterschieden wurden von ihnen atypische Hyperplasie, papilläre Hyperplasie und intraepitheliales Epitheliom. Die atypische Hyperplasie geht mit einer leichtgradigen Veränderung der Zellen und der Wuchsform des Oberflächenepithels einher. Einzelne Zellen sind vergrößert, die Kerne färben sich verstärkt an, Mitosen sind selten. Die Epithelschicht kann dabei verbreitert, verschmälert oder normal dick sein. Die papilläre Hyperplasie unterscheidet sich von der ersten Form lediglich durch die Tendenz zur Papillenbildung. Die dritte Form weist hingegen schwere Zellatypien mit Störungen der Wuchsform auf. Die Zellkerne sind hier unverhältnismäßig groß, unregelmäßig geformt und stark basophil. Die Zahl der Mitosefiguren ist deutlich erhöht. EISENBERG et al. (1960) hoben hervor, die Grenzen zwischen den einzelnen Formen seien unscharf und würden von Untersucher zu Untersucher unterschiedlich bewertet. Tumorerne Epithel-atypien wurden in 22 % der Fälle von papillären Tumoren und in 30 % der infiltrativen Tumoren beobachtet.

Außer diesen lokalen Beziehungen wurden auch zeitliche Zusammenhänge erörtert: 1. die in situ wachsenden Epithelveränderungen gehen dem Tumor voraus und stellen Präkanzerosen dar; 2. sie erscheinen gleichzeitig mit dem Tumor; 3. das vollendete Neoplasma geht ihnen voraus.

EISENBERG et al. (1960) hielten ein gleichzeitiges Auftreten von Tumor und atypischer Hyperplasie oder intra-

epitheliale Epithelium für wahrscheinlich. Bemerkenswert war, daß Präneoplasien bei allen Fällen mit ungünstigem Verlauf beobachtet werden konnten.

MELAMED et al. (1960) untersuchten eine Gruppe von 285 Männern, die durch einen Arbeitsunfall p-Aminodiphenyl ausgesetzt gewesen waren. 31 von ihnen schieden abnorme Zellen im Urin aus. 6 davon entwickelten ein intraurotheliales Karzinom, von denen 3 zu einem invasiven Karzinom fortschritten und zum Tode führten. Zwei der Patienten mit einem Carcinoma in situ konnten durch Fulguration und Strahlentherapie geheilt werden. Die Autoren schlossen aus diesem Verlauf, daß dem klinischen Blasenkarzinom immer eine unterschiedlich lange Latenzzeit im Stadium eines Carcinoma in situ vorausgehe, die in einem der mitgeteilten Fälle 34 Monate betrug.

MELAMED et al. (1964) betonten den Wert der Zytologie für die Aufdeckung des in situ Carcinoms. So konnte bei 11 ihrer 14 Patienten, die schließlich zystektomiert wurden, die zuvor zytologisch gestellte Diagnose histologisch bestätigt werden. Unter 11 nicht zystektomierten Patienten blieben einzelne bis zu 5 Jahren nach der Diagnose ohne invasives Karzinom. Nach erfolgreicher Therapie des invasiven Karzinoms rezidierte das in situ Karzinom. Eine spontane Regression des Carcinoma in situ trat in keinem Fall auf.

KOSS et al. (1965) bemerkten bei der Untersuchung der gleichen Patientengruppe, daß die Schleimhaut der nach dem Hergang des Arbeitsunfalls am stärksten exponierten

Männer normal war, und nahmen an, daß dem Carcinoma in situ leichtgradige Epithelveränderungen vorausgingen. Die Latenzzeit zwischen Exposition mit p-Aminodiphenyl und dem Auftreten eines invasiven Carcinoms betrug in dieser Patientengruppe von 285 Männern mindestens 10 Jahre, wobei die Intensität der Exposition in keinem direkten Zusammenhang mit der Häufigkeit des Auftretens von Karzinomen zu stehen schien (KOSS, 1979).

Zur Klärung der zeitlichen und lokalen Beziehungen zwischen Karzinom und begleitendem Carcinoma in situ wurden Resektate von Ureteren, Urethren sowie exstirpierten Harnblasen von zahlreichen Arbeitsgruppen an Grobschnitten oder an Serienschnitten untersucht (SIMON et al., 1962; AUSTEN und FRIEDEL, 1965; SCHADE, 1972; SCHADE und SWINNEY, 1973; COOPER et al., 1973; KOSS et al., 1974; SKINNER et al., 1974; SOTO et al., 1977; STARKLINT et al., 1976). Klinisch näherte man sich dem Problem durch gezielt entnommene multiple Schleimhautbiopsieproben (COOPER et al., 1977; LOENING et al., 1978).

Bei den proliferativen Schleimhautveränderungen in 34 von 38 Zystektomiepräparaten handelte es sich zumeist um eine atypische Hyperplasie, die entweder in einem Radius von 4 bis 5 cm um den Tumor oder auch in 10 Fällen ohne Kontinuität weiter entfernt vom Tumor lagen (SIMON et al., 1962). Zwischen dem Tumorgrad und dem Auftreten dieser Veränderungen konnte kein Zusammenhang hergestellt werden (SIMON et al., 1962).

Die von AUSTEN und FRIEDEL (1965) untersuchten 12 Harnblasen zeigten dagegen ein weites Spektrum von Epithel-

veränderungen , die von hyperplastischen Proliferationen bis zu eindeutig neoplastischem Epithel reichten. In 4 Fällen trat ein Carcinoma in situ tumorfern auf, in 2 weiteren im distalen Ureter.

SCHADE (1972) überblickte im Verlauf von 7 Jahren 2438 Blasentumoren. Nahezu ausnahmslos fand er in Resektaten von Harnblasen, Nierenbecken, Ureteren und Urethren Schleimhautveränderungen, die von einfacher Epithelverdickung bis zum Carcinoma in situ reichten. Er prägte den Begriff der "field change". Diese Feldveränderungen der gesamten Harnblase machte er verantwortlich für die im Laufe der Zeit multifokale Entwicklung von Blasen-tumoren. Da bei jeder Tumorsektion prämalignes Epithel zurückbleibe, würde damit eine postoperative Kontrolle der Patienten zwingend erforderlich (SCHADE und SWINNEY, 1973).

COOPER et al. (1973) äußerten dagegen die Ansicht, es sei nicht zu klären, ob die von ihnen gleichfalls beobachteten Atypien Vorläufer oder Begleiterscheinungen der Carcinome seien.

Die überwiegende Mehrzahl der Morphologen und Kliniker schließt sich jedoch heute dem ursprünglich von MELICOW (1952) geäußerten Konzept und der Auffassung von SCHADE (1972) an.

ALTHAUSEN et al. (1976) faßten diffuse Atypie und Carcinoma in situ solitär oder in Kombination mit invasivem Karzinom in Anlehnung an ASH (1940) als Ausdruck einer neoplastischen Diathese auf, wobei klinisch kein Unter-

schied zwischen atypischer Hyperplasie und Carcinoma in situ bestände.

FARROW et al. (1976) leiteten von ihren Befunden ab, es sei axiomatisch, daß jedes Karzinom einer epithelialen Oberfläche das Stadium eines Carcinoma in situ durchlaufen müsse. Die Invasion folge einer weiten flächenhaften Ausdehnung. Die meisten Blasenkarzinome seien fokaler oder multifokaler Ausdruck einer ausgedehnten krankhaften Veränderung der gesamten Blasenmukosa, deren Fortschreiten über die Zeit Ursache von Karzinomen oder Rezidiven sei.

PROUT (1980) schließlich bezeichnete das Blasenkarzinom insgesamt als polychronotope Diathese, wobei der Polychronotopismus unterschiedlich ausgeprägt sein könne. So könnten der Tumor selbst sowie auch das Feld, in dem er entstehe, Daten zur Prognose und Therapie liefern.

Wenn einerseits Mapping und Großschnitte eine ausgedehnte Feldveränderung der normal erscheinenden Schleimhaut der Harnblase aufdecken und andererseits PROUT et al. (1983) etwa die Häufigkeit des Carcinoma in situ in wegen invasiven Karzinoms exstirpierten Harnblasen mit lediglich 20 % angeben, so sind unterschiedliche morphologische Konzepte für diese Diskrepanz verantwortlich.

MELICOW (1952) unterscheidet unter den proliferativen Schleimhautveränderungen Hyperplasie, Hyperplasie mit verschiedenen Graden der Atypie und intraurotheliales Karzinom. MASINA (1952) spricht von unterschiedlich differenzierten prämaligen Herden. EISENBERG et al.

(1960) messen der atypischen Hyperplasie lediglich leichtgradige Zellveränderungen gegenüber der Norm bei, weisen aber auf die Subjektivität der Beurteilung einzelner Atypieformen hin. Die Beziehungen der Atypieformen zueinander und zum invasiven Karzinom blieben unklar.

FRIEDEL (1976) suchte dem Problem durch eine Definition der Begriffe näherzukommen. Nicht invasives Karzinom, Oberflächenkarzinom oder Präkanzerose werden durch den Begriff des Carcinoma in situ ersetzt. Es handelt sich dabei um ein Epithel mit den histologischen Merkmalen eines Karzinoms, das nicht invasiv wächst. Es steht zeitlich und räumlich mit dem Karzinom in Beziehung und schreitet in einem hohen Prozentsatz zum invasiven Karzinom fort. Vorläufer des Carcinoma in situ wiederum sind Epithelproliferationen mit charakteristischen nicht neoplastischen Merkmalen, die in einem hohen Prozentsatz zum Carcinoma in situ oder zum invasiven Karzinom fortschreiten.

Diese Definition des Carcinoma in situ entspricht der von der WHO empfohlenen Klassifikation (MOSTOFI et al., 1973). Die Vorläufer des Carcinoma in situ bleiben in dieser Klassifikation allerdings unberücksichtigt. PUGH (1973) empfahl, das Spektrum der Veränderungen von den Stadien der Hyperplasie über die Hyperplasie mit Atypie und die sogenannte 'borderline lesion' entsprechend der Klassifikation nach BERGKVIST et al. (1965) einzuteilen. Seine Empfehlung wurde jedoch lediglich von WOLF und HOJGAARD (1983) übernommen.

PUGH (1973; 1981) wie auch KOSS (1979) sind nach dem

morphologischen Erscheinungsbild der Vorläuferläsionen der Überzeugung, daß sie zum Carcinoma in situ oder auch zum invasiven Karzinom fortschreiten können. Dem papillären Tumor geht nach KOSS (1979) die Hyperplasie voraus. Das Carcinoma in situ ist dagegen als Vorläufer des nicht papillären invasiven Karzinoms anzusehen (MELICOW, 1955).

Schließlich wurde in Analogie zu den Veränderungen der Cervix uteri der Begriff der Dysplasie auch auf die Prä-neoplasie der Harnblase übertragen (NBCCGA, 1977). Die Hyperplasie wird hier als quantitativer, die Dysplasie dagegen als qualitativer Ausdruck der Epithelveränderung aufgefaßt. Die Dysplasie in den Stufen leicht-, mittel- und schwergradig ist dem Spektrum intraepithelialer zellulärer und nukleärer Veränderungen der Cervix uteri gleich (MURPHY et al., 1979).

wiederum abweichend von diesem Konzept unterteilte FARROW (1979) die in situ Karzinome in Grad 2 und Grad 3 in Anlehnung an die Klassifikation der WHO für papilläre Karzinome des Urothels. Eine entsprechende Frühform des papillären Karzinoms Grad 1 ist morphologisch nicht faßbar, da sein Epithel bei flachem Wachstum als lediglich hyperplastisch, nicht jedoch als dysplastisch beschrieben werden müßte (PUGH, 1981).

Schließlich wurden die Begriffe der leichten, mittleren und schweren Dysplasie mangels internationaler Vereinbarungen von der Aachener Arbeitsgruppe auch synonym mit dem Carcinoma in situ Grad 1 bis Grad 3 verwandt, um unmittelbar vergleichbare Ergebnisse zu erzielen. Das Car-

cinoma in situ Grad 1 entspricht dabei einer Epithelveränderung der Harnblasenmukosa, die dem papillären Karzinom Grad 1 der WHO entspricht, sofern es in mehr als 7 Zellschichten wächst (RÜBBEN et al., 1979).

Das papilläre Blasenkarzinom ist abhängig von dem Anaplasiegrad der Epithelzellen als Karzinom definiert (MOSTOFI et al., 1973). Einer langen Tradition folgend, wie etwa von HÜCKEL (1934) dargelegt, empfahlen FRIEDEL et al. (1976) papilläre, nicht invasive Tumoren nicht als Karzinome, sondern als papilläre in situ Karzinome zu bezeichnen, das papilläre Karzinom Grad 1 gar als papilläre Hyperplasie. Diese Verwässerung des Begriffs in situ Karzinom wurde von FRIEDEL et al. (1980) jedoch zu Gunsten der WHO-Klassifikation wieder verlassen.

Wenn Klinik und Verlauf des isolierten Carcinoma in situ der Harnblase dargestellt werden, so ist traditionell das planophytische Karzinom (MELICOW, 1982) mit schwerem Anaplasiegrad gemeint (MELICOW, 1952; MELAMED et al., 1960; MELAMED et al., 1964; KOSS et al., 1965; UTZ et al., 1970; ELLIOTT et al., 1973; FARROW et al., 1976; 1977; RIDDLE et al., 1976; SKINNER et al., 1974; TANNENBAUM und ROMAS, 1978; KOSS, 1979; WALLACE et al., 1979; UTZ et al., 1980; COLLINS, 1981; PROUT et al., 1983). Mehrere Hundert solcher Fälle von isoliertem Carcinoma in situ sind in diesen retrospektiven und prospektiven Studien erfaßt.

Der Beobachtungszeitraum beträgt bis zu 21 Jahre (TANNENBAUM und ROMAS, 1978). In bis zu 80 % der Fälle geht das Cis mit Dysurie, Harndrang, Pollakisurie, Mikro-

und Makrohämaturie, Schmerzen in Urethra, Perineum und suprapubischer Region sowie Obstruktion einher (UTZ, 1970; TANNENBAUM und ROMAS, 1978). Therapieresistente Symptome mit persistierenden Schmerzen allein erzwingen in einem Teil der Fälle die Zystektomie (SKINNER et al., 1974).

Vier bis sechs Jahre nach der histologisch gesicherten Erstdiagnose sind 50 % der Carcinomata in situ zu invasiven Karzinomen fortgeschritten, 10 % mit Infiltration der tiefen Muskulatur der Harnblasenwand (Stadium T3a und T3b). Nach 10 Jahren liegen ausnahmslos invasive Karzinome vor, 20 % der Patienten sind verstorben. Nach 15 bis 21 Jahren sind 40 % der Patienten verstorben, die Überlebenden haben invasive Karzinome in den fortgeschrittenen Stadien T3b und T4 (TANNENBAUM und ROMAS, 1978).

In einem Teil der Fälle von Carcinoma in situ liegt bereits zum Zeitpunkt der Erstdiagnose ein frühinvasives Wachstum vor, das nur durch umfangreiche und sorgfältige Biopsien erfaßt werden kann. Vielfach lösen sich die Tumorzellen von den Oberflächen ab und werden auf den histologischen Schnitten nicht mehr gesehen (ELLIOTT et al., 1973; TANNENBAUM und ROMAS, 1978).

Patienten mit Carcinoma in situ sind zu 76 % im 6. bis 7. Lebensjahrzehnt. Überwiegend sind Männer in einem Verhältnis von 5 : 1 gegenüber Frauen betroffen (UTZ et al., 1970).

4.5.4 Rezidiv, Progression, Predictors

Oberflächlich wachsende Transitionalzellkarzinome mit niedrigem Malignitätsgrad haben eine gute Prognose, jedoch Rezidivraten von 50 bis 70 % (ALTHAUSEN et al., 1976; COOPER et al., 1977). Die meisten Patienten sterben an den Folgen der Rezidive, nicht am Primärtumor (CUMMINGS, 1980). Rezidive, insbesondere der mittelgradig und wenig differenzierten Tumoren, bedeuten eine Verschlechterung der Prognose (ENGLAND et al., 1981).

Auch Frequenz und Multiplizität der Rezidive sind Hinweise auf drohendes Unheil (ALTHAUSEN et al., 1976).

Die besondere Stellung des Tumorrezidivs von Karzinomen der frühen Invasionsstadien und niedrigen Malignitätsgrade beruht darauf, daß diese Harnblasenkarzinome wie neoplastische Frühveränderungen wegen der hohen Morbidität und Mortalität des Eingriffs nicht radikal operiert werden (TANNENBAUM et al., 1981).

Formal sind drei Formen von Rezidiven zu unterscheiden:

1. am Ort des Primärtumors in Folge unvollständiger Entfernung, besser als Persistenz zu bezeichnen;
2. neuer Tumor am Ort des Primärtumors oder anderswo, wahrscheinlich in einem Feld atypischer Epithelproliferation;
3. Implantation von Tumorzellen, die spontan oder instrumentell vom Primärtumor oder vom Rezidiv abgelöst worden sind (MELICOW, 1952; FRIEDEL et al., 1980).

Auch ohne die Möglichkeit der Persistenz in Erwägung zu

ziehen, wird das Risiko eines Rezidivs vielfach ausschließlich auf Grad und Stadium des Primärtumors gegründet (CUMMINGS, 1980).

Damit wird aber versucht, den Verlauf eines Blasenkarzinoms als den Verlauf eines zuvor komplett entfernten Tumors anzugeben (FRIEDEL, 1976). Dies kann nur mit Einschränkung gelten, wenn an Hand der zellulären Charakteristik eines entfernten Tumors auf die allgemeine Proliferationsneigung des verbliebenen Blasenepithels geschlossen wird (FRIEDEL, 1976).

Außer der Wahrscheinlichkeit eines Rezidivs soll aus dem Primärtumor ferner die Frage einer Tumorprogression abzulesen sein, das heißt, eines Rezidivs mit höherem Malignitätsgrad und fortgeschrittenerem Stadium.

Rezidive weisen zwar häufig den gleichen Malignitätsgrad wie der Primärtumor auf, eine Progression zu höherem Malignitätsgrad wird dennoch mit der Zeit unverkennbar. Selten ist der Malignitätsgrad eines Rezidivs niedriger als der des Primärtumors (HÜCKEL, 1934; MELICOW, 1955).

In einer von GREENE et al. (1973) untersuchten Reihe von 50 Rezidivtumoren bei 73 Patienten weisen 22 einen höheren Malignitätsgrad auf als zuvor, 10 davon mit gleichzeitig invasivem Wachstum. Insgesamt ist bei 30 % der Karzinome mit niedrigem Malignitätsgrad (G1 und G2) sowie niedrigem Stadium (Ta und T1) nach Entfernung des Erstattumors mit muskelinvasiven Rezidiven zu rechnen (ALTHAUSEN et al., 1976).

Insbesondere bei Patienten mit protrahiertem Verlauf werden deshalb weitere objektive Hilfen gefordert, um den Zeitpunkt einer radikalen chirurgischen Therapie mit Zystektomie anzuzeigen.

Außer Raster- und Transmissionselektronenmikroskopie werden insbesondere die Blutgruppenisoantigene als Marker für ein invasives Verhalten herangezogen (FARROW, 1979). Mit dem Verlust der Isoantigene soll das invasive Potential zunehmen (LIMAS et al., 1979). Isoantigenverlust an morphologisch normalem Epithel wird als Hinweis auf eine Präneoplasie aufgefaßt (CUMMINGS, 1980). Andererseits zeigen jedoch große Teile invasiver Tumoren noch Isoantigene, und nicht alle isoantigennegativen Tumoren sind Hinweis auf ein invasives Rezidiv. Die Methode ist also zur Vorhersage nicht in jedem Fall spezifisch geeignet (CUMMINGS, 1980).

In neuerer Zeit wird das THOMSEN-FRIEDENREICH-Antigen (TAg), eine Vorstufe des MN-Blutgruppensystems, als tumorassoziiertes Antigen auch des Harnblasenkarzinoms aufgefaßt. So halten LEHMAN et al. (1984) die Freisetzung des TAg, das normalerweise durch eine terminale Neuraminsäure blockiert ist, für einen Ausdruck der neoplastischen Transformation des Urothels. Der Marker kommt in den Karzinomen jedoch zumeist nur fleckförmig zur Darstellung. Zwischen dem Nachweis des TAg und dem klinischen Verlauf ist kein Zusammenhang herzustellen (LEHMAN et al. 1984).

Auch die Aussagekraft des Nachweises von karzinoembryonalem Antigen (CEA) als Marker für die Prognose ist zwei-

felhaft (BETKERUR et al., 1980). Ebenso wie bei 40 bis 80 % der Patienten mit Harnblasenkarzinom ist CEA auch im Urin der Patienten mit unspezifischer Zystitis erhöht. Ferner ist dieses Antigen in von BRUNNschen Nestern und Cystitis cystica ebenso stark positiv wie in den meisten Tumoren (SHEVCHUK et al., 1981).

Daß Tumorimplantate Ursache von Rezidiven in der Harnblase sein können, führten bereits ZUCKERKANDL (1910) und STENIUS (1922) aus. In diesen Rahmen gehören auch Implantationsmetastasen in der Bauchwand (HÜCKELL, 1934). BOYD und BURNAND (1974) hielten die intraoperative Implantation sogar für die einzige Ursache eines Rezidivs und lehnten die Theorie der Multizentrität ab.

Hinweis auf eine mögliche intraoperative Implantation auch bei transurethraler Resektion ist nach HENNEY et al. (1982) der Befund, daß Pirmärtumoren am Blasendach mit 2,5 % selten, in den Rezidiven jedoch häufig sind (29 %). Ferner sind 75 % der Primärtumoren auf ein Areal in der Umgebung der Ureterostien beschränkt, wohingegen dort nur 20 % der Rezidive auftreten (PAGE et al., 1978). Rezidive entwickeln sich in den von PAGE et al. (1978) beobachteten Fällen überwiegend in der posterior-superioren Wand der Harnblase. Bei der Elektroresektion können heiße Gase zur Epithelschädigung und Tumorzellimplantation beitragen. Die iatrogene Implantation als mögliche Rezidivursache läßt eine postoperative intravesikale Chemotherapie erforderlich werden (SOLOWAY, 1980).

wenn sich nach den Befunden von LOENING et al. (1980)

ein Rezidiv weder durch Grad noch durch Stadium, Zahl oder Größe des Primärtumors voraussagen läßt, so sind multiple Biopsien mit Kartographie der Harnblase und zytologische Kontrollen letztlich die einzige Möglichkeit der qualifizierten Überwachung eines Patienten mit Harnblasenkarzinom (LOENING et al., 1978). Diese Maßnahmen begründen sich auf das heute allgemein anerkannte Konzept der Multizentrizität des Übergangsepithelkarzinoms.

Wie auch die Untersuchungen von WOLF und HOJGAARD (1983) untermauern, ist das Vorliegen oder Fehlen einer urothelialen Dysplasie im Zusammenhang mit einem manifesten Karzinom nach heutiger Kenntnis von herausragender prognostischer Bedeutung.

4.5.5 Elektronenmikroskopie des Harnblasenkarzinoms

Hinsichtlich der Malignitätsdiagnostik oder der Grading menschlicher Harnblasentumoren leisten elektronenmikroskopische Methoden insgesamt weniger als die konventionelle Lichtmikroskopie. Für ein Karzinom spezifische Zellveränderungen sind transmissionselektronenmikroskopisch nicht zu fassen. Übergangsepithelkarzinome mit noch niedrigem Malignitätsgrad haben im Elektronenmikroskop Merkmale normaler urothelialer Zellen. Das Zytoplasma ist allerdings meist einfacher strukturiert. Ferner kommt es zum Verlust der spezifischen asymmetrischen Zellmembran (BATTIFORA et al., 1965; FULKER et al., 1971; TANNENBAUM, 1979). Die Nukleolen sind gegenüber den Kontrollen verdichtet, die Interzellularräume erweitert. Die Nukleolen weniger differenzierter Übergangsepithelzellen sind stark vergrößert und komplex. Die Kernmembranen sind stark invaginiert. Ferner fallen vermehrt Mitochondrien und große Zytolysosomen auf. Das glatte endoplasmatische Retikulum bildet Wirbel aus (BATTIFORA et al., 1965).

Tumoren aller Differenzierungsgrade zeigen Diskontinuitäten ihrer Basalmembran (SMITH, 1981).

Tight junctions (Zonula adhaerens), Hauptbestandteil des junctionalen Komplexes, normalerweise im apikalen Teil der lateralen Zellmembran in juxtaluminaler Position sind bei invasiven Karzinomen in atypischer Position multipel an der Tumor-Stroma-Grenze anzutreffen (ALROY, 1979).

In nicht invasiven Tumoren sind die Desmosomen gegenüber der Norm vermehrt, in invasiven Tumoren dagegen vermindert. In Herden mit glandulärer Metaplasie oder Plattenepithelmetaplasie ist die Zahl der Desmosomen wiederum erhöht. Eine Reduktion der Desmosomen kann für die Verminderung der Zelladhäsion insbesondere wenig differenzierter Karzinome verantwortlich sein (ALROY et al., 1981).

In dem von TANNENBAUM (1979) untersuchten Tumormaterial sind die Desmosomen in den basalen Zellschichten eines Carcinoma in situ dagegen deutlich gegenüber der Norm vermehrt. Die Vermehrung junktionaler Komplexe im invasiven Tumoranteil wertet TANNENBAUM (1979) als Ausdruck einer gestörten Zellpolarität. Mit einer gewissen Regelmäßigkeit fehlen Telolysosomen bei allen neoplastischen Prozessen. Die Mitochondrien sind insbesondere bei Grad 2 bis Grad 3 Tumoren angeschwollen, ihre Cristae unregelmäßig geformt. Zahlreiche Filamente liegen bisweilen in Form von Tonofibrillen vor (TANNENBAUM, 1979).

Auch die Rasterelektronenmikroskopie, die zunächst zur Trennung von Hyperplasie und Präneoplasie oder auch zur Gradierung von Blasenkarzinomen herangezogen wurde, kann dieser Aufgabe nur bedingt dienen. Die für die Deckzellen des normalen Übergangsepithels charakteristischen Mikroleisten gehen bei allen Tumoren verloren. An ihre Stelle treten Mikrovilli. Kurze Mikrovilli und stummelförmige oder kugelige Zellfortsätze werden aber auch bei Hyperplasien sowie Entzündungen angetroffen (HODGES, 1978; TANNENBAUM et al., 1978).

GILCHRIST et al. (1980) fordern daher für alle raster-elektronenmikroskopischen Befunde am scheinbar gesunden Urothel aus der Umgebung von Tumoren eine Umbettung in Paraffin und nachfolgende Absicherung an lichtmikroskopischen Schnitten.

Gleichsinnig verfahren auch JACOBS et al. (1981) bei ihrem Versuch, papilläre Karzinome auf Grund der Struktur der Mikrovilli zu klassifizieren. Die Oberflächenzellen werden in vier Gruppen unterteilt. Typ 1: runde uniforme Zellen mit strängigen und blattförmigen Mikroleisten sowie bis zu 20 pleomorphen Mikrovilli; Typ 2: 20 bis 50 pleomorphe Mikrovilli peripher an der luminalen Zelloberfläche; Typ 3: runde bis ovale Zellen mit mehr als 50 Mikrovilli. Ein polymorpher Typ 4 wird in vier weitere Gruppen unterteilt. Karzinome Grad 1 sind durch Deckzellen vom Typ 1 und 2 gekennzeichnet. Die Polymorphie ist bei Grad 2 Tumoren stärker ausgeprägt durch die Zelltypen 2 und 3. Grad 3 Tumoren werden überwiegend von Zellen des Typs 4 bedeckt. Die Flächen der Deckzellen werden mit zunehmendem Malignitätsgrad kontinuierlich kleiner.

PRICE et al. (1980) unterscheiden rasterelektronenmikroskopisch sechs Hauptzelltypen, von denen keine für die Malignität diagnostisch ist. Insbesondere das Auftreten pleomorpher Villi ist danach nicht pathognomonisch. Stark undifferenzierte Tumoren schließlich verlieren ihre Mikrovilli ganz. Ihre Zelloberflächen werden glatt (TANNENBAUM et al., 1978; TANNENBAUM, 1979).

Der Vergleich verschiedener Tumorgrade bezogen auf die Oberflächenstrukturen der Deckzellen wird jedoch entscheidend beeinträchtigt durch den Umstand, daß diese Oberflächenzellen bei den Karzinomen Grad 2 und Grad 3 praktisch nicht mehr anzutreffen sind. Die Oberflächen werden dort vielmehr von Intermediärzellen gebildet (TANNENBAUM, 1979).

Insgesamt hält TANNENBAUM (1979) die Ergebnisse aller elektronenmikroskopischen Methoden durch Mängel der Entnahmetechnik für entscheidend gefährdet. Die schwerste Schädigung trifft die Oberflächenzellen durch die Instillation von destilliertem Wasser oder anderen Lösungen in die Harnblase bei der Zystoskopie, die einer Entnahme der Gewebeprobe vorausgeht. Der niedrige osmotische Druck dieser Flüssigkeiten führt zur Deformierung aller Oberflächenstrukturen und Zellorganellen.

4.6 Morphometrie des Harnblasenkarzinoms

4.6.1 DNS-Zytophotometrie in der Tumordiagnose

Die DNS-Menge normaler somatischer Zellen des Menschen ist konstant und beträgt 6×10^{-12} g. Dies entspricht dem Satz von 2×23 Chromosomen dieser Zellen in der Interphase. Der DNS-Gehalt in der G1 Phase wird folglich als euploider oder diploider DNS-wert bezeichnet (BÖHM und SANDRITTER, 1975; 1976).

Vor der Mitose verdoppelt der Kern seinen DNS-Gehalt (2c) in der S-Phase, die 6 bis 8 Stunden dauert. In der anschließenden G2-Phase liegt demnach ein doppelter, tetraploider DNS-Gehalt (4c) vor. Bei proliferierendem Epithel sind die Zellen in Mitose und somit auch in der DNS-Phase deutlich vermehrt. Dies bedeutet, daß häufig DNS-werte zwischen 2c und 4c anzutreffen sind. Im Herzmuskel sowie in aktiven Drüsen sind polyploide Zellen mit bis zu 8 Chromosomensätzen schon normalerweise anzutreffen (KIEFER und SANDRITTER, 1976).

Für die regelhafte Beziehung zwischen der Verdopplung des Chromosomensatzes und dem tetraploiden DNS-Gehalt der Kerne in der Metaphase wird analog zur Chromosomenstammlinie der Begriff der DNS-Stammlinie eingeführt (SEIDEL und SANDRITTER, 1963).

Dieser Begriff der DNS-Stammlinie wird nun auf Tumorzellpopulationen übertragen und ist demnach definiert als der höchste Gipfel eines Histogramms in einer DNS-Verteilung. Die diploiden Referenzwerte werden von

Leukozyten gewonnen. Die FEULGEN-DNS-Werte stellen jeweils ein Mehrfaches von 1c dar, der Hälfte des Mittelwertes für Lymphozyten (BÖHM und SANDRITTER, 1975; 1976). Bei malignen Tumoren besteht jedoch keine eindeutige Relation zwischen DNS-Gehalt und Chromosomenzahl. Häufig ist die DNS-Menge im Verhältnis zur Chromosomenzahl erhöht (KIEFER und SANDRITTER 1976).

Der Begriff der DNS-Stammlinie sollte somit nur dann verwendet werden, wenn ein distinktes bimodales oder auch trimodales DNS-Histogramm auftritt. Diesem Konzept liegt die Annahme zu Grunde, die Proliferationskinetik der Tumoren entspräche normalem proliferierendem Gewebe. Atypische Mitosen führen jedoch zur Heterogenität von Tumoren. Somit ist der DNS-Gehalt wenig differenzierter Tumoren stark erhöht und weit gestreut. In den unimodal breit gestreuten Histogrammen sind keine Stammlinien mehr anzugeben. Bei der Bewertung von Histogrammen muß ferner eine Mosaikzusammensetzung aus Tumoranteilen mit unterschiedlichen Stammlinien in Betracht gezogen werden (BÖHM und SANDRITTER, 1975).

LEUCHTENBERGER et al. (1954) faßten den Zusammenhang zwischen Chromosomenzahl, DNS-Gehalt und Malignität erstmals in verbindlicher Form. Zwischen Chromosomenzahl und DNS-Gehalt der Kerne besteht eine direkte Beziehung, weshalb der differente DNS-Gehalt einzelner Gewebe Ausdruck differenter Chromosomensätze ist. Der charakteristische DNS-Gehalt, der zum Beispiel mit 1 DNS, 2 DNS, 4 DNS und so fort bezeichnet werden kann, erhöht sich vor der Mitose. Der DNS-Gehalt von Tumorzellen liegt 30 % über dem Basiswert normaler Zellen, in andern Fäl-

len liegt die niedrigste DNS-Menge bei dem doppelten Wert der Norm.

Den erhöhten DNS-Gehalt von Tumorzellen führten LEUCHTENBERGER et al. (1954) auf die mitotische Aktivität des Tumorgewebes zurück, die auch eine Streuung der DNS-Daten bedinge. Obwohl ein erhöhter DNS-Gehalt nicht prinzipiell als Malignitätskriterium aufgefaßt wurde, wies diese Arbeitsgruppe erstmals auf den Wert der DNS-Messung als diagnostische Hilfe bei fraglichen Tumoren hin.

ATKIN (1962) bekräftigte den Gesichtspunkt, daß der DNS-Zunahme der Kerne eine Zunahme der Chromosomenzahl entspricht. So zeigten Tumorzellen in der Interphase gewöhnlich eine bimodale Verteilung der DNS, dabei enthielt der zweite Modus doppelt so viel DNS wie der erste Modus. Bei fast allen untersuchten Karzinomen wurden gemischt di- und tetraploide Werte gefunden. Selten lagen zusätzlich noch oktoploide Werte vor. Weitere Messungen ergaben jedoch daneben eine erhebliche Variabilität des DNS-Gehalts von Zellen innerhalb einzelner Tumoren (ATKIN, 1964).

Am Plattenepithelkarzinom der Cervix uteri wurde erstmals auch die prognostische Bedeutung der DNS-Zytophotometrie erörtert. Karzinome mit großen, tetraploiden Kernen sollten demnach eine bessere Prognose als Tumoren mit kleinen diploiden Kernen haben (ATKIN, 1964). Diese Beobachtungen waren jedoch nach den Meßergebnissen an größeren Fallzahlen nicht haltbar. Es zeigte sich vielmehr, daß die Prognose wesentlich besser ist, wenn die

modalen DNS-Werte in der diploiden Region liegen, als wenn ihre Werte in der tetraploiden Region oder noch höher angesiedelt sind (ATKIN, 1976).

Die signifikanten Beziehungen zwischen Ploidie und Prognose werden allerdings durch den jeweiligen histologischen Typ des Tumors modifiziert (ATKIN, 1976).

Für die Beurteilung von DNS-Histogrammen gibt es keine einheitliche Terminologie. Die meisten Termini stammen aus der Zytogenetik. Probleme der DNS-Zytophotometrie ergeben sich zum Teil aus der Zellkinetik. Jede Zelle kann in G1-, S-, und G2-Phase fixiert sein. Diese Phasen sind morphologisch nicht zu unterscheiden. Ein asynchron wachsender Zellklon muß dementsprechend zwei Gipfel- und Zwischenwerte enthalten. Bei polymorphen Tumorzellpopulationen überlagern sich diese drei Phasen aller Tumorzelllinien. Mehr als zwei Gipfel weisen auf eine Polyploidie hin, wenn die Mittelwerte nicht Verdopplungsschritte früherer Gipfel sind. Von Aussagewert ist auch die Fläche der Gipfel (PFITZER et al., 1976), das heißt der Anzahl der Zellen mit annähernd gleichem DNS-Gehalt.

SANDRITTER und RITTER (1966) fanden an Ausstrichen von Tumorzellen DNS-Werte, die von hypodiploid bis oktaploid reichten. Weder die Position der Stammlinien noch die Verteilung der DNS-Werte erlaubten ihnen aber eine Korrelation zur histologischen Diagnose oder gar zur Prognose.

ENEROTH und ZETTERBERG (1974; 1976) ermittelten am Beispiel von Speicheldrüsentumoren eine gute Korrelation zwischen DNS-Gehalt und invasivem Verhalten. DNS-Werte

jenseits 2,5c sprechen nach diesen Ergebnissen für einen invasiven Tumor.

Zur weiteren Charakterisierung der DNS-Histogramme führten FOSSA und KAALHUS (1977) den Diploid-Deviationsquotienten (DDQ) als zahlenmäßigen Ausdruck der DNS-Abweichung einer Tumorzellpopulation von dem mittleren DNS-Gehalt normaler Zellen ein. Dieser Quotient wird aus mittlerer Kernextinktion von Tumorzellen und dem diploiden DNS-wert normaler Zellen gebildet.

BÖHM und SANDRITTER (1975) charakterisierten die Histogramme von Tumoren durch die Lage der Modi bezogen auf den normalen 2c-Wert in der Form des Stammlinienquotienten (SQ).

HOFSTÄDTER et al. (1980) setzten den Diploid-Deviationsquotienten (DDQ) zusammen mit dem Tumorstammlinienquotienten (SQ) im Differenzhistogramm ein, um ein DNS-zytophotometrisches Gradieren von Harnblasenkarzinomen in Analogie zur BERGKVIST-Klassifikation zu erreichen.

Bei G1 und G2 Tumoren ist der Stammlinienquotient gleich 1,0. Ein erhöhter DDQ, der ein Maß für die Proliferationstendenz darstellen soll, führt bei einem SQ von 1,0 zu einem Gipfel bei 4c. G3 Tumoren weisen noch eine bimodale Verteilung auf, die bei G4 Tumoren dann breit unimodal wird. Mit wenigen Ausnahmen liegt die Tumorstammlinie außerhalb der Grenzen des 2c-werts. Die Differenz der Mittelwerte von DDQ und SQ der Grad 2 und Grad 3 Tumoren ist hochsignifikant. Zwischen den Gruppen Grad 1 und Grad 2 respektive Grad 3 und Grad 4 besteht

dagegen kein signifikanter Unterschied.

BÖCKING (1980) führte zur Quantifizierung der in DNS-Histogrammen enthaltenen Information die Ausdrücke 2c-Deviationsindex und 4,5c-Exceeding-Rate ein. BÖCKING et al. (in Druck) erhöhten die Werte später (2,5c DI und 5c ER). Die 5c-Exceeding-Rate erfaßt den Prozentsatz sicher aneuploider Kerne größer als 5c. Kerne mit einem DNS-Gehalt zwischen 2,5c und 4c, im Bereich der S-Phase normaler Zellen, werden nicht erfaßt. Alle Zellpopulationen mit einer 5c ER größer als 0 sind Karzinomen zuzuordnen. Karzinome mit DNS-Werten unter 5c werden somit nicht berücksichtigt.

Diese Tumoren werden jedoch durch den 2,5c Deviationsindex erfaßt, der die Summe aller Abweichungsquadrate zwischen DNS-Werten von Tumorzellen und dem Mittelwert von Eichzellen bezogen auf die Zahl der gemessenen Tumorzellen darstellt. Nach BÖCKING (1980) erfaßt der 2,5c Deviationsindex das Ausmaß der Abweichung der einzelnen Ploidien von diploiden Werten in quadratischer Wichtung.

Da der 2,5c-Wert in Anlehnung an ENEROTH und ZETTERBERG (1976) als Grenze zwischen gutartig und bösartig definiert wird, ist die Trefferquote entsprechend hoch, schließt jedoch auch falsch positive Werte ein. Erst die Kombination beider voneinander unabhängiger Parameter sichert die Malignitätsdiagnose ab (BÖCKING, 1980).

An ihre Grenzen stößt die DNS-Zytophotometrie somit in den Fällen von Karzinomen mit diploider DNS-Stammlinie, die, wie SPRENGER et al., (1978) am Beispiel des Endome-

triumkarzinoms zeigten, zytophotometrisch nicht von normalem Korpusendometrium zu unterscheiden sind.

4.6.1.1 DNS-Zytophotometrie am Paraffinschnitt

Zu den für die DNS-Messung geeigneten Präparationsmethoden zählten BÖHM und SANDRITTER (1975) auch den Paraffinschnitt neben zytologischem Tupf- oder Ausstrichpräparat, die allerdings von den meisten Arbeitsgruppen bevorzugt werden (ATKIN, 1962; 1964; 1976; FOSSA, 1975; 1977; HOFSTÄDTER et al., 1980; HOSHI et al., 1980; LEDERER et al., 1972).

DNS-Messungen an Paraffinschnitten wurden von GRUNDMANN et al. (1961) an Plattenepitheldysplasien der Portio mit guter Aussagekraft der Ergebnisse durchgeführt. SACHS et al. (1972) betonten, an nicht zu dünnen Schnitten könnten lediglich besonders hohe DNS-Werte übergroßer Kerne unterrepräsentiert sein, was an der Aussage der Sammelhistogramme aber nichts ändere. An allen gemessenen schweren Plattenepitheldysplasien wurde ein atypischer DNS-Gehalt festgestellt. TAVARES et al. (1966; 1973) untersuchten Prostatakarzinome gleichfalls an Hand von Paraffinschnitten und erfaßten di-, tetra- und hexaploide Tumoren mit guter Korrelation zur Mortalitätsrate.

Nach KREICBERGS et al. (1980) stimmen die an Paraffinschnitten gemessenen DNS-Werte für das Chondrosarkom mit dem klinischen Verlauf besser überein als das Resultat der subjektiven histologischen Gradierung.

BJELKENKRANTZ et al. (1982) sowie HERDER et al. (1982) führten erstmals DNS-Messungen von Blasenkarzinomen an Paraffinschnitten durch.

4.6.2 DNS-Zytophotometrie des Harnblasenkarzinoms

COOPER et al. (1969) schlugen neben der Bestimmung der Proliferationsaktivität und Chromosomenanalyse die mikrospektrophotometrische DNS-Mengenbestimmung zur Erfassung der Prognose von Harnblasenkarzinomen vor. Nach ihren Messungen besitzt normales Übergangsepithel Werte von 2c, 4c und 8c. Gut differenzierte Blasenkarzinome hatten Werte von 2c und 4c, mittelgradig differenzierte von 3c und 6c. Anaplastische Tumoren waren aneuploid und ließen keine Gipfel erkennen. Die Proliferationsaktivität schwankte unter den Tumoren erheblich, woraus trotz histologischer Ähnlichkeit auf ein unterschiedliches Wachstumsverhalten zu schließen war.

LEVI et al. (1969) verneinten eine Korrelation zwischen Markierungsindex und histologischem Tumorgrad. Schon normales Urothel der Harnblase und der Ureteren weise unterschiedliche Meßwerte auf. Das Ureterepithel sei diploid, das der Harnblase jedoch polyploid. Harnblasentumoren ließen eine Progression von zunächst diploiden zu hypotetraploiden schließlich völlig aneuploiden Werten erkennen.

LEDERER et al. (1972) fanden diploide Werte bei Grad 1 und Grad 2 Tumoren der Klassifikation nach BERGKVIST. Eine Trennung beider Gruppen war zytophotometrisch nicht möglich. Die Meßwerte deuteten auf fließende Übergänge zwischen beiden Formen hin. Grad 2 Tumoren besaßen jedoch vielfach einen zweiten Gipfel bei 4c. Da verschiedene Areale eines Tumors unterschiedlich charakterisiert

sein konnten, ergab sich bei der Verwendung von Tupfpräparaten das Problem der repräsentativen Randomisierung der Meßergebnisse. Manche G2 Tumoren ließen nämlich nur herdförmig gesteigerte Zellunruhe und Kernpolymorphie erkennen, die auch die ungünstigere Prognose dieser Karzinome erklärte.

FOSSA (1975) kam zu Resultaten, die denen von COOPER et al. (1969) entsprachen. Die Stammlinie gut differenzierter Karzinome war diploid, in einem der untersuchten Fälle auch tetraploid. Mittelgradig differenzierte Karzinome zeigten uneinheitlich di-, tri-, tetra- und hexaploide DNS-Stammlinien, während für vier von fünf wenig differenzierten Karzinomen eine diploide Stammlinie angegeben wurde. Zellen in di-, tetra- und oktoploidem Bereich ohne zusätzliche intermediäre Klassen wurden als gutartig eingestuft, tri- und hexaploide als maligne.

Ähnliche Werte fand FOSSA (1977) auch im Urothel, das aus der Nachbarschaft von Blasenkarzinomen gewonnen wurde. Dabei wurden gesetzmäßige Beziehungen zwischen der Ploidie des Tumors und des umgebenden Urothels erarbeitet. Die Umgebung diploider Tumoren war diploid, die nicht diploider Tumoren entsprechend auch nicht diploid.

In weiteren Untersuchungen kamen FOSSA et al. (1977) zu dem Ergebnis, daß nicht diploide DNS-Stammlinien wenig differenzierte Karzinome in fortgeschrittenen Stadien kennzeichneten, diploide Stammlinien die gut differenzierten Transitionalzellkarzinome.

Schwer einzuordnen sind zunächst die Ergebnisse von

TRIBUKAIT und ESPOSTI (1978). Mittels der Durchflußzytometrie wurden zwar 79 % aneuploide Zellen bei Grad 3 Tumoren gefunden, aber auch 7 % aneuploide Zellen beim Papillom (Grad 0). Invasive und nicht invasive Grad 2 Tumoren unterschieden sich durch einen Gehalt von 68 % bzw. 9 % aneuploider Zellen. Durchflußzytometrische Untersuchungen an weiteren 41 Blasentumoren bestätigten, daß Grad 3 Tumoren aneuploid sind (TRIBUKAIT et al., 1979). Die Tumoren Grad 1 und Grad 2 konnten entweder euploid oder polyploid sein. Grad 2 Tumoren ließen sich in zwei Gruppen mit leichter und schwerer Atypie unterteilen. Die beiden Gruppen unterschieden sich signifikant in bezug auf den Proliferationsgrad, der wiederum gut mit dem Differenzierungsgrad übereinstimmte.

TRIBUKAIT und GUSTAFSON (1980) bezogen die Ploidie der Tumoren auf den Invasionsgrad und fanden eine diploide DNS-Verteilung bei 60 % der T1 Tumoren, die die Lamina propria infiltrierten. G2 Karzinome wurden in zwei Gruppen aufgeteilt mit 60 % diploiden und 40 % aneuploiden Zellen. Unter den aneuploiden G2 Tumoren wiesen die tetraploiden bezüglich ihres invasiven Verhaltens die geringsten malignen Eigenschaften auf. Auch bezogen auf den Proliferationsgrad unterschieden sich die tetraploiden Tumoren von den übrigen aneuploiden G2 Karzinomen.

Die Proliferation betrug bei tetraploiden Tumoren 10 %, bei tri- und pentaploiden 20 % (TRIBUKAIT et al., 1982). Auch bei den übrigen Karzinomen steigt der Proliferationsgrad bekanntlich mit abnehmendem Differenzierungsgrad (HAINAU und DOMBERNOWSKI, 1974).

HERDER et al. (1982) bestätigten den Befund der histologischen und klinischen Heterogenität von G2 Tumoren. Die am histologischen Schnitt erfolgte Untergruppierung der G2 Karzinome konnte durch die DNS-Messung bestätigt werden. Insgesamt ließ sich die Unterteilung der Tumoren entsprechend der Klassifikation der WHO durch die DNS-Zytophotometrie belegen (BJELKENKRANTZ et al., 1982).

HOSHI et al. (1980) gaben der Bestimmung des DNS-Gehalts hinsichtlich der Prognose den Vorzug vor histologischer Gradierung und Stadieneinteilung. Sie wiesen auch auf die sich daraus ergebende Bedeutung der DNS-Messung für eine automatisierte Zytodiagnostik hin. Mit zunehmendem Malignitätsgrad flachten die DNS-Histogramme ab, die Polyploidie der Zellen nahm zu. Der Zunahme der Kernanaplasie entspricht durchflußzytometrisch das Auftreten von Zellpopulationen mit erhöhtem DNS-Gehalt, wobei mehr als 90 % der Zellen in gut differenzierten Tumoren und der normalen Harnblasenmukosa Zellen mit diploidem DNS-Gehalt besitzen (JAKOBSEN et al., 1979).

Auf der Basis dieser DNS-zytophotometrischen Untersuchungen an Tumoren und histologisch verifizierten Tumorstadien sind DNS-Mengenbestimmungen an zytologischem Untersuchungsmaterial genauer einzuordnen. So lassen tumoröse Frühveränderungen der Harnblase sich zytophotometrisch mit großer Treffsicherheit feststellen, sobald eine tetraploide oder aneuploide Stammzelllinie festgestellt wird (COLLSTE et al., 1980; KLEIN et al., 1982).

Papillome und G1 Karzinome werden mit dieser Methode jedoch nicht diagnostiziert (COLLSTE et al., 1980).

wie HOFSTÄDTER et al. (1980) betonten, kann die Reproduzierbarkeit der histologischen Gradierung von Harnblasenkarzinomen durch die DNS-Zytophotometrie eindeutig demonstriert werden. Unterschiedliche Ergebnisse der verschiedenen Studiengruppen würden durch die unterschiedliche Handhabung der Kriterien einer subjektiven histologischen Gradierung hervorgerufen. Die Methode erfordere eine repräsentative Gewebeprobe, ohne die Grenzfälle nicht ausreichend beurteilt werden könnten.

Zwar läßt sich eine gute allgemeine Korrelation der DNS-FEULGEN-Zytophotometrie mit dem klinischen Verlauf nachweisen, die Voraussage eines Rezidivs oder einer Tumorprogression ist jedoch auch mit dieser Methode nicht möglich (HOFSTÄDTER et al., 1980).

4.6.3 Zytogenetik des Harnblasenkarzinoms

Nach LAMB (1967) liegen die Chromosomenzahlen gut differenzierter G1 Transitionalzellkarzinome in der Region diploider Werte, vereinzelt genau bei 46. Die Zahlen mittelgradig differenzierter Tumoren liegen bei tetraploiden Werten. Einer der von LAMB (1967) untersuchten Tumoren hatte eine bimodale Verteilung mit diploiden und tetraploiden Werten. Unter den wenig differenzierten Tumoren fand er gleichfalls tetraploide bis hypotetraploide sowie auch nahezu diploide Chromosomensätze. Insgesamt waren die Chromosomenzahlen jedoch völlig unregelmäßig verteilt. Zwischen den Chromosomenwerten und dem histologischen Bild bestand jeweils eine enge Korrelation. Als gesetzmäßig hob LAMB (1967) hervor, mit zunehmendem Verlust der Differenzierung trete zuerst eine Zunahme, dann eine Abnahme der Chromosomenzahlen ein. Die Zunahme der Chromosomenzahl werde von Strukturabnormitäten der Chromosomen begleitet.

SANDBERG (1977) untersuchte 62 papilläre nicht invasive und 75 invasive Harnblasenkarzinome. Die modale Chromosomenzahl, das heißt der Wert, der mit der größten Häufigkeit vorkommt, bewegte sich bei papillären Karzinomen in der diploiden Region. Bei 32 Tumoren traten abnorme Chromosomen auf, sogenannte Markerchromosomen. Von 12 Rezidivtumoren hatten 11 Markerchromosomen, die somit bei papillären Tumoren auf eine Rezidivneigung hinzuweisen schienen. Invasive Tumoren besaßen überwiegend Markerchromosomen. Ihre Karyotypenbilder waren uneinheitlich und kompliziert. Normale Urothelzellen ver-

fügten ausnahmslos über einen diploiden Wert.

FALOR (1971) fand dagegen unter allen untersuchten nicht invasiven papillären Karzinomen die gleichen strukturell abnormen Chromosomen wie unter den invasiven Karzinomen. Die Modalzahlen reichten von hypodiploid bis hypertetraploid.

FALOR (1971) warnte in diesem Zusammenhang vor einem "sampling error" auf Grund der Uneinheitlichkeit des Verhaltens einzelner Karzinome, die zwar oberflächlich gut differenziert seien, basal hingegen invasiv wachsen könnten.

Hinsichtlich der Gradierung von Harnblasentumoren mittels der Chromosomenanalyse stellten GRANBERG-ÖHMAN et al. (1980) fest, G1 und G2 Tumoren seien zumeist diploid und wiesen nur in seltenen Fällen Markerchromosomen auf. Bei G3 Tumoren überwiege die Polyploidie, und Markerchromosomen seien ausnahmslos vorzufinden.

4.6.4 Karyometrie des Harnblasenkarzinoms

Erste karyometrische Untersuchungen am Harnblasenkarzinom dürften auf STENIUS (1922) zurückgehen. Auf der Grundlage dieser Kernmessungen bezeichnete STENIUS den papillären Tumor ohne Zeichen infiltrativen Wachstums als "malignes Papillom". In dem "malignen Epithel" fand er besonders große Kerne von $16\text{ }\mu\text{m} \times 8\text{ }\mu\text{m}$ und selbst von $24\text{ }\mu\text{m} \times 17\text{ }\mu\text{m}$ gegenüber maximalen Maßen des normalen Epithels von $12\text{ }\mu\text{m} \times 6\text{ }\mu\text{m}$.

Im Gegensatz zur DNS-Mengenbestimmung schien die Messung der Kerngrößen an Blasentumoren zunächst keinen Beitrag zur Tumorgradierung leisten zu können. So stellten LEVI et al. (1969) fest, die Kerngröße sei bei den einzelnen Tumoren unterschiedlich und könne nicht zur Angabe der Ploidie herangezogen werden.

KOSS et al. (1975) wiederum konnten am Harnblasenkarzinom keine signifikante Differenz zwischen den Kernflächen gutartiger und maligner Zellen feststellen. Die Mittelwerte betrugen $71,3\text{ }\mu\text{m}^2$ und $70,3\text{ }\mu\text{m}^2$ respektive. In Kombination mit der mathematischen Beschreibung der Kernform ließ die Kernfläche jedoch eine Unterscheidung von malignen und benignen und auch die Trennung der Tumorzellen in zwei distinkte Gruppen zu (KOSS et al., 1978).

FOSSA und KAALHUS (1977) fanden eine Vergrößerung der mittleren Kernfläche bei Karzinomen mit diploiden oder auch nicht diploiden DNS-Werten gegenüber dem normalen Urothel, welches wiederum bemerkenswerte interzelluläre

Variationen besitzen kann. Zur Angabe des histologischen Grads eignet sich nach FOSSA und KAALHUS (1977) der DNS-Wert allerdings besser als die Kerngröße.

OOMS (1981) sowie OOMS et al. (1981; 1983a; 1983b) gelang es, die Karyometrie zur Objektivierung der Gradierung von Harnblasentumoren mit guter Treffsicherheit heranzuziehen. Nach der Klassifikation der WHO bestimmte Tumoren Grad 1 und Grad 2 sind morphometrisch zu unterscheiden, wenn die fünf größten Kerne der stromanahen Tumorareale zueinander in Beziehung gesetzt werden. Von Grad 3 Tumoren mit den größeren Kernflächen sind Grad 2 Tumoren in allen Arealen eindeutig zu unterscheiden. Die Mittelwerte der einzelnen Gruppe sind angegeben für Grad 1: $47 - 41 \mu\text{m}^2$, G2: $55 - 46 \mu\text{m}^2$, G3: $75 - 68 \mu\text{m}^2$. Die Kernflächenmessung erwies sich auch als prognostisch relevanter Parameter. So waren unter den G1 und G2 Tumoren die Zellen und Kerne verstorbener Patienten signifikant größer als bei den Überlebenden.

HERDER et al. (1982) setzten ähnlich wie KOSS (1979) die Kernflächen und deren Variabilität neben der Kerndichte zur Gradierung von Harnblasentumoren ein. An 21 als Grad 2 klassifizierten Tumoren konnte durch diese kombinierte Methode eine Unterteilung in eine höher und eine niedriger maligne Gruppe erfolgen. Die gleiche Arbeitsgruppe (BJELKENKRANTZ et al., 1982) betonte jedoch, daß auch eine Unterscheidung der drei WHO-Grade mit Hilfe der Kernflächenbestimmung allein möglich sei und daß keine Überlappung der drei Tumorgrade bestehe. Lediglich zwischen normalem Urothel und Grad 1 Tumorzellen wurde eine solche Überlappung festgestellt.

4.7 Erörterung der eigenen Ergebnisse

4.7.1 Experimentelles Harnblasenkarzinom

Das experimentelle Modell strebt Analogien zu Morphologie und Verlauf menschlicher Krankheiten an. Dabei können dem Experiment vielerlei Gesichtspunkte zu Grunde liegen.

Wie in der Literaturübersicht dargelegt, versuchen zahlreiche Arbeitsgruppen die formale Pathogenese des Harnblasenkarzinoms zu erfassen (ITO et al., 1969; COHEN et al., 1976; FRIEDEL et al., 1977; KOSS, 1977; HICKS und CHOWANIEC, 1978; KUNZE, 1979). Das Hauptaugenmerk aller Arbeitsgruppen gilt den Frühformen des invasiven Karzinoms.

Ein anderer Gesichtspunkt der experimentellen Karzinogenese kann der Therapie des Karzinoms gelten, wobei am Tiermodell die Wirkung der verschiedensten Therapie-schemata geprüft werden soll (SOLOWAY und MURPHY, 1979).

Ohne die Basis allgemein gültiger Parameter, die die experimentell erzeugte Blasenläsion verbindlich beschreiben, sind widersprüchliche Ergebnisse und Deutungen unvermeidbar.

Im vorgestellten experimentellen Modell werden bei der Ratte präneoplastische Epithelveränderungen und Karzinome durch die Verfütterung von N-Butyl-N-(4-Hydroxybutyl)-nitrosamin (BBN) induziert.

Lichtmikroskopisch ist nach Gabe von BBN über zwei Wochen und nachfolgendem kanzerogenfreiem Intervall bereits eine Hyperplasie des Übergangsepithels festzustellen. Außer der quantitativen Veränderung des Epithels liegen jedoch bereits qualitative Alterationen vor, die im Sinne einer Dysplasie gedeutet werden können. Im weiteren Verlauf des Versuchs nehmen die dysplastischen Veränderungen an Schweregrad zu. Abgesehen von individuellen und lokalen Unterschieden handelt es sich um einen von Expositionsdauer und -intensität abhängigen kontinuierlichen Prozeß, der von der Hyperplasie über die leichte, mittelgradige und schwere Dysplasie bis hin zum wenig differenzierten invasiven Karzinom der Harnblase reicht.

Die dem Karzinom vorausgehenden Epithelveränderungen können folglich als Präneoplasien oder Carcinoma in situ bezeichnet werden. Auch eine gradmäßige Einteilung des Carcinoma in situ zur Charakterisierung des Schweregrads der Epithelveränderungen folgt zwanglos aus dem biologischen Verhalten.

Elektronenmikroskopische Befunde untermauern die Lichtmikroskopie, auch wenn sie isoliert betrachtet kein einheitliches Bild ergeben. Die Veränderungen der Epithelzellen betreffen insbesondere die Oberflächenmembran der Superfizialzellen, ferner Menge und Anordnung des Heterochromatins der Kerne sowie deren Form. Die zunehmende Desorganisation des epithelialen Zellverbandes kommt in der von der Norm abweichenden Anzahl und Verteilung der Organellen zum Ausdruck.

Das Mikrorelief der Oberflächenzellen, Ausdruck der re-relrechten Ausreifung des Epithels (HICKS und CHOWANIEC, 1978), ändert sich grundlegend. Schon bald kommt es zum weitgehenden Schwund des typischen Mikroleistenmusters. Die Mikroleisten sind bereits nach zwei Wochen verplumpt. Vorübergehend treten kleine kugelförmige Protrusionen der Oberflächenmembran einzelner Zellen auf. Die bogenförmigen Plaqueregionen in der luminalen Plasmamembran schwinden. Nach 6 Wochen BBN sind sie nur noch spärlich erhalten. Die Zelloberflächen sind teilweise abgeglättet. Etwa nach 10 Wochen BBN, zu einem Zeitpunkt, zu dem lichtmikroskopisch bereits plumpe Epithelzapfen ausgebildet sind, treten Mikrovilli in der Peripherie der Zelloberflächen auf. Dieser Befund deckt sich mit den Beobachtungen von HICKS und CHOWANIEC (1978).

Mikrovilli gelten als morphologische Marker der malignen Transformation des Urothels (HICKS und WAKEFIELD, 1976). Erst nach 14 Wochen BBN bedecken kleine kugelförmige Mikrovilli einzelne Zellen in einem dichten Rasen. Das Nebeneinander von Zellen mit erhaltenen Mikroleisten, glatten Oberflächen und solchen mit dichtem Mikrovillusbesatz bleibt bis in die Spätphase des Versuchs erhalten. Pleomorphe Mikrovilli kennzeichnen allerdings die papillären Karzinome der 30. Versuchswache.

Die normalerweise für die Superfizialzellen typischen fusiformen Vesikel werden im Laufe der Kanzerogenese zunehmend auch in den übrigen Zellschichten beobachtet. Auch die Zahl der Telolysosomen oder sekundären Lysosomen sowie der Mitochondrien nimmt in den Intermediärzell-

schichten zu. Dem erhöhten Umsatz des Epithels sowie einer geänderten mechanischen Belastung entspricht die Zunahme der Organellen ebenso wie die Intensivierung der Interdigitationen der lateralen Plasmamembranen des Epithels. Im gleichen Sinne ist auch eine Vermehrung der Desmosomen zu deuten. Für die Präkanzerose oder das Karzinom eigentümliche Veränderungen sind transmissionselektronenmikroskopisch nicht zu erfassen. Dies deckt sich mit den Beobachtungen von HICKS und CHOWANIEC (1978). Ein Verlust der fusiformen Vesikel ist gegenüber den Befunden von ARAI et al. (1974) und ITO et al. (1975) dagegen nicht festzustellen.

Eine Stützung der lichtmikroskopischen Befunde liefert die Zytophotometrie in weit größerem Maße als die Elektronenmikroskopie.

Die Meßwerte der DNS-Zytophotometrie ergeben für das normale Übergangsepithel der Harnblase diploide Gipfel, die Basal- und Intermediärzellen zuzuordnen sind. Tetraploide Gipfel entsprechen den Kernen von Superfizialzellen. Bei der gewählten Methode werden lediglich einzelne Kerne gemessen. Das Auftreten mehrerer Kerne in einer Zelle bleibt unberücksichtigt. Auch entsprechen die ermittelten Häufigkeitsgipfel nicht den Verhältnissen im Übergangsepithel, da die Auswahl der Kerne willkürlich erfolgte, wobei allerdings versucht wurde, repräsentative Zahlen zu erhalten.

WALKER (1958) fand bei der DNS-zytophotometrischen Untersuchung normaler Mäuse Oberflächenzellen mit polyploiden Kernen. Er hielt es für wahrscheinlich, daß diese Poly-

ploidie der Zellen dadurch bedingt sei, daß einzelne Oberflächenzellen mit zwei oder mehreren tetraploiden Kernen ausgestattet seien. Die von WALKER (1958) ermittelten DNS-Mengenverhältnisse von Superfizial- zu Intermediär- zu Basalzellen betrugen 5,6 : 3 : 1,4. Nimmt man diploide Werte für die Basalzellen an, so wären tetra- und octoploide Werte den Intermediär- respektive Superfizialzellen zuzuordnen.

Die zytotoxische Wirkung des Kanzerogens BBN führt innerhalb der ersten vier Wochen des Versuchs (zwei Wochen BBN, zwei Wochen kanzerogenfreies Intervall) zu einer deutlichen Steigerung der proliferativen Aktivität des Epithels, abzulesen an dem Zwischengipfel zwischen 2c und 4c. Diese Proliferation ist nach vier Wochen BBN abgeklungen. Eines der Versuchstiere entwickelte in diesem Zeitraum aber bereits schwer dysplastische Epithelveränderungen.

Nach sechs Wochen BBN tritt wieder eine Zunahme nahe tetraploider Zellen auf. Dies muß als Ausdruck einer erneuten Zunahme der Proliferationsaktivität aufgefaßt werden. Ab der achten Woche sind die Zellwucherungen durch tetraploide Werte gekennzeichnet, die nach den am menschlichen Tumor gewonnen Ergebnissen einem Carcinoma in situ Grad 2 oder einer mittelgradigen Dysplasie des Epithels entsprechen.

Tri- und hexaploide Werte, die nach der 10. Woche zusätzlich gehäuft festzustellen sind, müssen als Ausdruck der Neoplasie in flachen Epithelproliferationen aufgefaßt

werden. Den Meßwerten zufolge bilden sich unter der Wirkung des Kanzerogens zunehmend schwer dysplastische Epithelveränderungen oder umschriebene Carcinomata in situ aus.

Die Tumoren der Spätphase (30 Wochen BBN) spiegeln in der DNS-Menge der Zellkerne die gesamte Palette der Gradierung von menschlichen Harnblasentumoren wieder. Jetzt reichen die Epithelveränderungen vom Carcinoma in situ Grad 1 (leichte Dysplasie) bis zum wenig differenzierten solide wachsenden invasiven Übergangsepithelkarzinom Grad 3.

An den zytologischen Ausstrichpräparaten drückt sich diese Vielfalt des histologischen Bildes in einer ausgeprägten Heterogenität der DNS-werte aus. Wahrscheinlich methodisch bedingt treten bei der Messung isolierter Zellen am Ausstrich die höchsten Werte auf, die bis zu 13,5c betragen. Die beiden Methoden unterscheiden sich naturgemäß in der Höhe der Gipfel, das heißt bezüglich der Anzahl der Zellen, nicht jedoch hinsichtlich ihrer Position auf der Abszissenachse des DNS-Histogramms, die den Malignitätsgrad repräsentiert. Beide Methoden führen somit generell zur gleichen Aussage.

Unter der kanzerogenen Stimulation von BBN folgen einer initialen Hyperplasie dysplastische Epithelveränderungen in zunehmendem Ausmaß und Schweregrad, die vom Carcinoma in situ Grad 1 bis zum Carcinoma in situ Grad 3 reichen. Diese Veränderungen sind in ihrem zeitlichen Verlauf offenbar individuell unterschiedlich ausgeprägt. Auch eine lokale Heterogenität der Reaktion des Übergangsepithels

ist festzustellen.

Trotz des relativ kleinen Umfangs der Stichprobe läßt sich aus den Meßwerten eine gesetzmäßige Zunahme des Schweregrades der dysplastischen Epithelveränderungen von der reaktiven Hyperplasie bis hin zum invasiven Karzinom in Abhängigkeit von Expositionszeit und -intensität ablesen.

Aus der Literatur sind keine vergleichbaren Untersuchungen an experimentell erzeugten Blasenkarzinomen oder ihrer Vorläuferläsionen bekannt.

MEEK (1963) untersuchte Frühveränderungen an der Haut von Mäusen nach Pinzelung mit süßem Orangenöl. Nach 12 Tagen war die Epidermis auf 5 Zellschichten verdickt bei erheblicher Größenvarianz und Hyperchromasie der Kerne. Die Zahl der Zellen mit höheren als diploiden DNS-Werten nahm um rund 80 % zu. MEEK deutete diesen Befund als einen Ausdruck der Hyperplasie und der erhöhten Proliferation.

SANDRITTER et al. (1965) erzeugten bei Goldhamstern experimentell Veränderungen des Bronchialepithels bis hin zum Karzinom. In Plattenepithelmetaplasien fanden sich Zellen mit tetraploiden Werten, in Papillomen und Herden mit Epithelotypen dagegen lediglich diploide Werte. Selbst Plattenepithelkarzinome waren zytophotometrisch nicht von normalem Epithel zu unterscheiden. Das Kriterium einer abnormen DNS-Verteilung war somit auf die experimentell erzeugten Veränderungen des Bronchialepithels nicht anzuwenden. SANDRITTER et al. (1965) schlos-

sen, daß experimentelle Tumoren bei Tieren in Übereinstimmung mit der damals bekannten Literatur ausschließlich diploide DNS-Werte aufwiesen.

ROHRBACH et al. (1972) fanden bei experimentell erzeugten Hauttumoren sowie deren Vor- und Frühstadien regelmäßig atypisch-aneuploide Verteilungsmaxima der DNS-Werte im Sinne von Tumorstammlinien. Basaliome zeigten Gipfelbildungen vom diploiden bis zum inter-tetra-octoploiden Bereich. Die Zunahme des mittleren relativen DNS-Gehaltes gegenüber der Norm schwankte zwischen 35% und 114 %.

Diese DNS-zytophotometrischen Ergebnisse von ROHRBACH und Mitarbeitern (1972) an experimentellen Hauttumoren entsprechen bezüglich der Größenordnung der mitgeteilten DNS-Werte der Tumoren den eigenen Befunden.

Die karyometrischen Ergebnisse lassen keine der DNS-Zytophotometrie entsprechende stadienförmige Beschreibung der Pathogenese des Blasenkarzinoms zu. Eine kontinuierliche Zunahme der Kernpolymorphie mit dem zeitlichen Ablauf des Versuchs ist jedoch festzustellen. Dabei kommt es insbesondere zu einem scherenförmigen Auseinanderweichen der Werte von größten und kleinsten Kernflächenmaßen gegen einen nahezu konstanten Mittelwert. Diese Zunahme der Kernpolymorphie begleitet die Heterochromasie der Kerne.

Die karyometrischen Meßgrößen beschreiben somit den Verlauf der Präneoplasie bis hin zum manifesten Karzinom mit annähernd der gleichen Treffsicherheit wie die Zyto-

photometrie.

Beide Methoden untermauern gleichermaßen die lichtmikroskopischen Befunde, von denen der zytologische Teil ohne weiteres auf die Histologie zu übertragen ist.

Die unterschiedlichen Entwicklungsstufen des Carcinoma in situ und des manifesten Karzinoms lassen sich also lichtmikroskopisch und morphometrisch verbindlich charakterisieren.

Auf der Grundlage der eigenen Ergebnisse müssen die in der Literatur mitgeteilten Beobachtungen anderer Autoren zum Teil neu bewertet werden.

Die rasterelektronenmikroskopisch feststellbaren Veränderungen des durch ein Kanzerogen stimulierten Übergangsepithels, wie von HICKS und WAKEFIELD (1976), HODGES et al. (1977), FRIEDEL et al. (1977) und JACOBS et al. (1977) mitgeteilt, sind nur im Zusammenhang mit einer quantitativen Wertung sinnvoll. Nach den eigenen Befunden sind pleomorphe Mikrovilli lediglich an Oberflächen von Karzinomen, also in der Spätphase des Versuchs festzustellen. Wenige Mikrovilli an der Oberfläche einzelner Zellen treten erst nach 10 Wochen BBN auf. Zu diesem Zeitpunkt sind DNS-zytometrisch bereits mittel- bis schwergradige Dysplasien nachzuweisen. Insofern ist HODGES et al. (1977) zuzustimmen, die pleomorphe Mikrovilli als für Präneoplasie und Neoplasie typisch halten.

Wenn FRIEDEL et al. (1977) pleomorphe Mikrovilli im Langzeitversuch über 60 Wochen auch an nicht hyperplastischen

schem Epithel beschreiben, ist dies wahrscheinlich auf eine Unterschätzung des histologischen Befundes zurückzuführen, da Epithelzellen mit tetraploiden DNS-Werten, die einem Carcinoma in situ Grad 2 entsprechen, im Tierversuch normalem Epithel sehr ähnlich sein können.

So wird auch die Beurteilung von COHEN et al. (1976) dem histologischen Befund wahrscheinlich nicht gerecht, wenn die Epithelveränderungen nach 20-wöchiger Verfütterung von FANFT und nachfolgender 30-wöchiger Kontrolldiät lediglich als mittelschwere bis schwere Hyperplasie bezeichnet werden.

KUNZE (1979) kommt auf Grund subjektiver Einschätzung des morphologischen Befundes zu einer Auffassung der formalen Pathogene des Blasenkarzinoms, die von den eigenen Beobachtungen abweicht.

Bei gleichen Versuchsbedingungen beurteilt KUNZE (1979) die Epithelveränderungen nach 13-wöchiger Verfütterung von BBN und 15-wöchigem kanzerogenfreiem Intervall als einfache Hyperplasie mit 4 bis 10 Zellagen, in denen die Epithelzellen nicht von gesunden Zellen zu unterscheiden seien. Auch die später auftretenden Papillome sähen noch gutartig aus. Das Carcinoma in situ trete in diesen Papillomen erst sekundär auf. KUNZE (1979) bemerkt folgerichtig ein Mißverhältnis zwischen der Morphologie und der hohen malignen Potenz der Papillome, aus denen sich schließlich invasive Karzinome entwickelten.

MURPHY and IRVING (1981) stellen dagegen nach entsprechender BBN-Exposition eine Zunahme zytologischer Verän-

derungen bis hin zur Atypie fest und können so eine Analogie zum Carcinoma in situ der Cervix uteri und zum Portiokarzinom herstellen, unausgesprochen somit auch zu den Vorläuferläsionen des menschlichen Harnblasenkarzinoms.

AKAGI et al. (1973) sowie FUKUSHIMA et al. (1976) gradierten die experimentell erzeugten Karzinome entsprechend den Kriterien der WHO-Klassifikation für menschliche Harnblasenkarzinome.

Die von diesen Autoren beschriebene Formenvielfalt des experimentellen Karzinoms ist auch auf die Darstellung der Präneoplasien auszudehnen. Anders als beim Menschen ist angesichts der kontinuierlichen Verabfolgung des Kanzerogens in hohen Dosen davon auszugehen, daß nach entsprechender Expositionsdauer kein normales Urothel in der Harnblase mehr vorzufinden ist. Zumindest ist das Übergangsepithel nach HICKS (1981) durch Initiation auf Dauer verändert, wenn auch die Promotion lokal unterschiedlich ausgeprägt sein mag. Auch sind reaktive Hyperplasien in der Spätphase des Versuchs nicht mehr zu erwarten. Vielmehr muß man davon ausgehen, daß Dysplasien leichten bis schweren Grades nebeneinander vorliegen können. Das planophytische Karzinom unterschiedlicher Differenzierung ist somit auch im Tierversuch Vorläufer zytologisch weitgehend identischer exophytischer oder endophytischer Karzinomformen.

4.7.2 Menschliches Harnblasenkarzinom

Das Übergangsepithel der Harnblase ist Ursprung einer Vielzahl histologisch verschiedener Karzinome. Diese histologischen Varianten und Differenzierungsgrade sind mit unterschiedlichem klinischen Verhalten verknüpft, das wiederum Modifikationen der Therapie bedingt.

Als Grundlage einer adäquaten Therapie müssen die Kriterien einer Klassifikation strikt beachtet werden.

Die modernen Klassifikationen (BERGKVIST et al., 1965; MOSTOFI et al., 1973; PUGH, 1973; KOSS, 1975) bieten eindeutige Definitionen in Wort und auch in Abbildung. Sie behandeln das Problem der Gradierung des Harnblasenkarzinoms weitgehend einheitlich. Eine Subjektivität der Beurteilung ist gleichwohl unvermeidlich und muß in gewissem Umfange toleriert werden.

Morphometrische Methoden können inter- und intraindividuelle Unterschiede der Bewertung eines histologischen Präparats ausschließen, sofern sie eine Klassifikation adäquat reproduzieren.

Auf der Basis der Tumorklassifikation der WHO (MOSTOFI et al., 1973) und den Empfehlungen der UECC (HARMER, 1978) wurden rund 2000 primäre Harnblasenkarzinome und die in dem Beobachtungszeitraum von 1979 bis 1984 aufgetretenen Rezidivtumoren reklassifiziert.

Es zeigt sich, daß die subjektive Beurteilung nach die-

sen Kriterien durchaus prognostisch signifikant ist.

Primäre gut differenzierte Karzinome (G1) wachsen zu 99,6 % oberflächlich und überschreiten die Lamina propria nicht. Wenig differenzierte Karzinome (G3) sind bei der Erstdiagnose bereits zu 56,7 % weit fortgeschritten (T2 bis T4).

Auch bei gleichem Tumorstadium ist der vom Differenzierungsgrad geprägte Unterschied der Prognose nachzuweisen. So wird die Fünfjahresüberlebenszeit in der Gruppe der nicht invasiven Karzinome (Ta) von Patienten mit gut differenzierten Karzinomen zu 90 %, mit wenig differenzierten Karzinomen dagegen nur zu 70 % erreicht. Über alle Stadien beträgt die Fünfjahresüberlebensrate von Patienten mit gut differenzierten Karzinomen (G1) 83 %, mittelgradig differenzierten (G2) 75 % und wenig differenzierten (G3) 45 %.

Die mittelgradig differenzierten Karzinome stehen hinsichtlich ihrer Prognose nicht exakt zwischen den beiden übrigen Differenzierungsgraden, sie sind eher den gut differenzierten Formen angenähert.

50 % der Patienten mit gut differenzierten Karzinomen bleiben über 3 Jahre rezidivfrei. Dagegen entwickelt die Hälfte der Patienten mit wenig differenzierten Karzinomen bereits innerhalb eines Jahres ein Rezidiv.

In gleichem Maße ist auch ein Einfluß des Differenzierungsgrades auf die Tumorprogression abzulesen. Das Rezidiv nach Entfernung eines gut differenzierten Primär-

tumors ist zu 8,7 % wenig differenziert (G3), während die Rezidive nach mittelgradig differenzierten Tumoren bereits zu 18,1 % wenig differenziert sind.

Die vom Differenzierungsgrad abhängige Frequenz des invasiven Wachstums wird von FRIEDEL et al. (1976) in der gleichen Größenordnung angegeben. Dagegen erscheint der von ALTHAUSEN et al. (1976) ermittelte Prozentsatz von 11 % invasiven G1-Tumoren als erheblich zu hoch. Die Fünfjahresüberlebenszeiten sind im eigenen Untersuchungsgut gegenüber COLLAN et al. (1979) insgesamt günstiger. Insbesondere besteht aber ein erheblicher Unterschied hinsichtlich der mittelgradig differenzierten Karzinome, deren Fünfjahresüberlebenszeit nach diesen Autoren lediglich 42 % beträgt. Eine bessere Übereinstimmung der Aachener Daten besteht dagegen mit den Angaben von GIBBONS et al. (1969).

121 histologische Präparate von normalem Übergangsepithel, Hyperplasien, von BRUNNschen Nestern sowie Karzinomen aller drei Differenzierungsgrade wurden DNS-zytometrisch untersucht.

Aus 10 Variablen wurden in der schrittweisen Diskriminanzanalyse 3 deskriptive Maße ermittelt, die zur optimalen Trennung der Normalbefunde (Gruppe N) und der 3 Karzinomformen (G1, G2, G3) führen. Die Mittelwerte der Gruppen N und G1 liegen im diploiden, der Gruppe G2 im tetraploiden und der Gruppe 3 im hexaploiden Bereich. Die 5c Exceeding-Rate (BÜCKING, 1980) beträgt in den Gruppen N und G1 praktisch 0 %, in den Gruppen G2 und G3 10,5 % bzw. 63 %. Drittes zur Trennung der Gruppen ge-

eignetes Maß ist der maximale DNS-Wert jedes Präparats. Dieses Maximum beträgt in den Gruppen G1 und G2 jeweils etwa das Doppelte des Mittelwertes. Das Maximum der Gruppe 3 ist naturgemäß nicht verbindlich zu definieren.

Die ermittelten Mittelwerte decken sich weitgehend mit den Modi der Meßwerte. Die Lage der Modi wurde traditionell als einziges Beurteilungskriterium eines DNS-Histogramms aufgefaßt. Der Modus spiegelt die DNS-Stammlinie nach SEIDEL und SANDRITTER (1963) wieder. Die Beschränkung der Interpretation von DNS-Histogrammen auf dieses deskriptive Maß führt nach den eigenen Ergebnissen zu keiner Trennung der einzelnen Tumorgruppen.

Allgemeine Übereinstimmung besteht in der Literatur hinsichtlich des DNS-Gehaltes von Kernen des normalen Epithels und der gut differenzierten Karzinome G1 (COOPER et al., 1969; LEDERER et al., 1972; FOSSA, 1975; COLLSTE et al., 1980). Es handelt sich jeweils um diploide Werte (2c). Die Meßergebnisse an mittelgradig differenzierten Karzinomen variieren bei den einzelnen Untersuchern dagegen erheblich. Sie spiegeln die jeweilige subjektive Beurteilung der Tumoren am histologischen Präparat wieder und machen die Grenzen der DNS-Zytophotometrie als diagnostische Methode deutlich. So gibt FOSSA (1975) für mittelgradig differenzierte Karzinome di- bis hexaploide DNS-Stammlinien an, wobei diese Werte weitgehend auch die wenig differenzierten Karzinome charakterisieren. TRIBUKAIT und ESPOSTI (1978) unterschieden invasive und nicht invasive Karzinome Grad 2 durch den Gehalt an aneuploiden Zellen. Dem entspricht ein Anteil leichter und schwerer Atypien (TRIBUKAIT et al., 1979). Die

tetraploiden G2-Karzinome weisen nach TRIBUKAIT und GUSTAFSON (1980) in dieser Kategorie die geringsten malignen Eigenschaften auf.

Die eigenen Ergebnisse stimmen mit den zytogenetischen Untersuchungen von LAMB (1967) überein, der tetraploide Werte bei der Untersuchung mittelgradig differenzierter Karzinome fand. Abweichend stellten GRANBERG-ÖHMAN et al. (1980) diploide Werte auch als Charakteristikum mittelgradig differenzierter Karzinome fest.

Diesen voneinander abweichenden Ergebnissen kann eine uneinheitliche Beurteilung des histologischen Schnittpräparates zu Grunde liegen. Eine wesentliche Fehlerquelle insbesondere der Durchflußzytophotometrie kann jedoch auch ein "sampling error" der untersuchten Gewebeprobe sein, vor dem FALOR (1973) bereits warnte. Auch LEDERER et al. (1972) wiesen darauf hin, daß verschiedene Areale eines Tumors unterschiedlich charakterisiert sein könnten, woraus das Problem der repräsentativen Randomisierung der Meßergebnisse erwachse. Karzinome, die aus unterschiedlich differenzierten Anteilen zusammengesetzt sind, sind in der Tat recht häufig, was JEWETT und BLACKMAN (1946) an dem Sinn einer Gradierung überhaupt zweifeln ließ. Entsprechend dem Mosaikmuster dieser Karzinome können die Meßergebnisse nicht in jedem Fall mit dem beurteilten Schnittpräparat übereinstimmen. Das gleiche Phänomen dürfte auch das Auftreten mehrerer Tumorstammlinien in einem Karzinom erklären.

Es ist indes festzuhalten, daß die an Hand der subjektiven Gradierung von histologischen Präparaten ermittelten

charakteristischen statistischen DNS-Werte die drei Differenzierungsgrade des Übergangsepithelkarzinoms der WHO-Klassifikation objektiv voneinander trennen können. Diese charakteristischen Werte können als Maßstab weiterer DNS-zytophotometrischer Untersuchungen herangezogen werden. Anders als in Worte gefaßte Klassifikationen bleiben diese deskriptiven Maße von subjektiven inter- oder intraindividuellen Einflüssen unberührt.

Dem gleichen Ziel dient auch die karyometrische Untersuchung der menschlichen Blasenkarzinome.

STENIUS (1922) untermauerte seine histologischen Befunde an papillären Blasentumoren als erster mit Hilfe der Kernmessung. Der von ihm angegebene Wert von $10\text{ }\mu\text{m} \times 5\text{ }\mu\text{m}$, den er gewöhnlich an normalem Übergangsepithel fand, stimmt mit den eigenen Ergebnissen weitgehend überein ($11,1\text{ }\mu\text{m} \times 5\text{ }\mu\text{m}$). Das von Stenius (1922) beschriebene Papilloma benignum weist die Kernmaße des gut differenzierten Karzinoms G1 auf.

Die absoluten Maße von zytologischen Präparaten und histologischen Schnitten sind wegen der unterschiedlichen Schrumpfungsfaktoren nicht zu vergleichen. So liegen die von KOSS et al. (1975) angegebenen Kernmaße weit über den eigenen Daten.

Die von OOMS (1981) und OOMS et al. (1981; 1983a; 1983b) mitgeteilten Kernflächenmittelwerte bewegen sich in der Größenordnung der eigenen Meßwerte. Wie diese Autoren bereits feststellten, eignen sich die Kernflächenmittelwerte allein nicht zur Trennung der drei Differenzie-

rungsgrade des Blasenkarzinoms. Die Autoren empfehlen, die fünf größten Kerne aus dem stromanahen Tumorareal zueinander in Beziehung zu setzen, um eine optimale Trennung herbeizuführen.

Dieses subjektive Element der Karyometrie kann durch das Einbeziehen weiterer deskriptiver Maße jedoch ausgeschlossen werden.

Die Karyometrie kann also ebenso wie die DNS-Zytophotometrie zu einer Unterscheidung der drei Differenzierungsgrade des Blasenkarzinoms analog zur WHO-Klassifikation eingesetzt werden. Welcher der beiden Methoden der Vorzug zur Lösung dieser Aufgabe gebührt, ist auf Grund der Heterogenität des Untersuchungsgutes in der vorgelegten Arbeit nicht anzugeben. Die Klärung dieser Frage bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten.

Mit HOFSTÄDTER et al. (1980) ist zu bemerken, daß die Aussagen der DNS-zytophotometrischen und karyometrischen Meßergebnisse hinsichtlich der Prognose nicht über die subjektive Diagnose hinausgehen können. Durch die Korrelation repräsentativer Meßwerte mit klinischen Daten wird dieser Schritt möglicherweise zu vollziehen sein.

Über die Beschreibung des resezierten Harnblasenkarzinoms hinaus sollen alle diagnostischen Methoden zusätzlich eine Aussage über Zeitpunkt und Art eines etwaigen Tumorrezidivs in der Harnblase ermöglichen.

wie bereits dargelegt, sind Korrelationen zwischen Grad und Stadium des Primärtumors sowie Prognose, Rezidiv-

häufigkeit und Progression der Krebserkrankung festzustellen. Diese Korrelation kann jedoch nur insoweit bestehen, als die Morphologie des exstirpierten Tumors ein Maß für die biologische Potenz der in der Harnblase verbliebenen Schleimhaut darstellt, aus der sich schließlich das Rezidiv entwickelt. Faßt man das Blasenkarzinom mit PROUT (1980) als polychronotope Diathese auf, so kann lediglich die Untersuchung der Blasenschleimhaut an multiplen Biopsien mit der gleichen Sorgfalt, die man dem Primärtumor angedeihen läßt, eine zuverlässige prognostische Aussage ermöglichen.

Da die präneoplastischen Veränderungen der Harnblase bisher in keiner Klassifikation verbindlich erfaßt sind, können morphometrische Analysen diese Präneoplasien am besten charakterisieren.

Die eigenen zytophotometrischen Meßergebnisse an den verschiedenen Formen des Carcinoma in situ erlauben eine Aufteilung in drei Grade, die denen des papillären und invasiven Karzinoms entsprechen.

Eine nach diesen Kriterien erstellte Kartographie der Harnblase (KOSS, 1975) kann, wie auch LOENING et al. (1980) ausführen, die einzige zur Zeit begründbare Möglichkeit der Überwachung eines Blasenkarzinompatienten sein.

5 Zusammenfassung

In der vorgelegten Arbeit wurden tierexperimentelle und menschliche Übergangsepithelkarzinome der Harnblase morphologisch und morphometrisch untersucht.

Mit Hilfe morphometrischer Daten war zu überprüfen, welche Beziehungen zwischen dem experimentellen Modell und dem spontan auftretenden Karzinom des Menschen bestehen.

Die subjektive Gradierung des menschlichen Harnblasenkarzinoms entsprechend der WHO-Klassifikation erweist sich nach den eigenen Ergebnissen als prognostisch relevant. Diese Relevanz kann in einer retrospektiven Analyse an rund 2000 primären Harnblasenkarzinomen demonstriert werden.

Der Differenzierungsgrad des Primärtumors ist korreliert mit Infiltrationstiefe, Rezidivhäufigkeit, Progression der Krebserkrankung und Überlebenszeit.

Gut differenzierte Karzinome gehen mit einer guten, wenig differenzierte Karzinome mit einer schlechten Prognose einher.

Aus den DNS-zytrophotometrischen und karyometrischen Meßergebnissen wurden mit Hilfe der schrittweisen Diskriminanzanalyse für beide Methoden die deskriptiven Maße ermittelt, die zur optimalen Trennung der Normalbefunde und der drei Differenzierungsgrade des Harnblasenkarzinoms führen. Diese charakteristischen statistischen Maße

erfassen die in der Literatur mitgeteilten Werte. Sie erlauben in der dargestellten Form jedoch erstmals die Klassifikation der WHO frei von subjektiv bedingten inter- und intraindividuellen Unterschieden nachzuvollziehen.

Die morphometrischen Methoden erlauben ferner eine dem papillären Karzinom entsprechende Gradierung auch des Carcinoma in situ in drei Kategorien. Die Bedeutung der zuverlässigen Beschreibung der Vorläuferläsionen des invasiven Karzinoms liegt darin, daß das Carcinoma in situ das morphologische Substrat der Feldveränderung der Harnblase und der Rezidivneigung des Blasenkarzinoms darstellt.

Morphometrische Analysen in Form einer Kartographie der Harnblase allein können prospektiv die biologische Potenz der Präneoplasien offenbaren.

DNS-zytophotometrische und karyometrische Daten der Vorstufen des experimentellen Harnblasenkarzinoms stützen den lichtmikroskopischen Befund. Gleich der menschlichen liegt auch die experimentell erzeugte Präneoplasie in unterschiedlichen Differenzierungsgraden vor, die nebeneinander bestehen können. Das Carcinoma in situ Grad 3 scheint sich auf dem Boden eines Carcinoma in situ Grad 2 oder Grad 1 zu entwickeln. Die gleiche Formenvielfalt findet sich auch in dem manifesten papillären oder invasiven Karzinom wieder.

Der Einsatz morphometrischer Methoden am Beispiel des experimentellen Harnblasenkarzinoms hilft Irrtümer bei der

Deutung vermeiden und erleichtert den Zugang zum Verständnis der formalen Pathogenese und zur Morphologie des Karzinoms.

Durch die objektive morphometrische Beschreibung gewinnt das Experiment an allgemeingültiger Aussage. Auf dieser Grundlage können auch weitere morphologische Analysen am menschlichen Harnblasenkarzinom auf ihren Aussagewert überprüft werden.

Die morphometrisch objektivierte Beurteilung des Übergangsepithelkarzinoms der Harnblase ist ferner eine adäquate Basis differenzierter retrospektiver und prospektiver Therapiestudie.

Literaturverzeichnis

ADOLPHS, H.-D., J. THIELE, H. KIEL, and L. STEFFENS
Induction of Transitional Cell Carcinoma of the Urinary Bladder in Rats by Feeding N-(4(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl)Formamide - Histological and Ultrastructural Findings.
Urol. Res. 6, 19 - 27 (1978).

AKAGI, G., A. AKAGI, M. KIMURA, and H. OTSUKA
Comparison of Bladder Tumors Induced in Rats and Mice with N-Butyl-N-(4-Hydroxybutyl)Nitrosamine.
Gann 64, 331 - 336 (1973).

ALROY, J.
Tight Junctions Adjacent to Tumor Stromal Interface in Human Invasive Transitional Cell Carcinomas.
Virchows Arch. (Cell Pathol.) 30, 289 - 296 (1979).

ALROY, J., B.U. PAULI, and R.S. WEINSTEIN
Correlation between Numbers of Desmosomes and the Aggressiveness of Transitional Cell Carcinoma in Human Urinary Bladder.
Cancer 47, 104 - 112 (1981).

ALROY, J. and R.S. WEINSTEIN
Intraepithelial Asymmetric-Unit-Membrane Plaques in Mammalian Urinary Bladder.
Anat. Rec. 197, 75 - 83 (1980).

ALTHAUSEN, A.F., G.R. PROUT, Jr., and J.J. DALY
Non-Invasive Papillary Carcinoma of the Bladder Associated with Carcinoma in situ.
J. Urol. 116, 575 - 580 (1976).

ARAI, M., T. KANI, S. SUGIHARA, K. MATSUMURA, Y. MIYATA, Y. SHINOHARA, and N. ITO
Scanning and Transmission Electron Microscopy of Changes in the Urinary Bladder in Rats Treated with N-Butyl-N-(4-Hydroxybutyl)Nitrosamine.
Gann 65, 529 - 540 (1974).

ASH, J.E.
Epithelial Tumors of the Bladder.
J. Urol. 44, 135 - 145 (1940).

ATKIN, N.B.
The Relationship between the Deoxyribonucleic Acid Content and the Ploidy of Human Tumors.
Cytogenet. Cell Genet. 1, 113 - 122 (1962).

ATKIN, N.B.

Nuclear Size in Carcinoma of the Cervix: Its Relation to DNA Content and to Prognosis.
Cancer 17, 1391 - 1399 (1964).

ATKIN, N.B.

Prognostic Significance of Ploidy Level in Human Tumors.
II Extra-uterine Cancers and Summary of Data on 1171 Tumors.
Cytobios. 15, 233 - 237 (1976).

AUSTEN, G. and G.H. FRIEDEL

Observations on Local Growth Patterns of Bladder Cancer.
J. Urol. 93, 224 - 229 (1965).

BATTIFORA, H.A., R. EISENSTEIN, H.H. SKY-PECK, and J.H. MCDONALD
Electron Microscopy and Tritiated Thymidine in Gradation of Malignancy of Human Bladder Carcinomas.
J. Urol. 93, 217 - 223 (1965).

BERGKVIST, A., A. LJUNGQVIST and G. MOBERGER

Classification of Bladder Tumors Based on the Cellular Pattern. -
Preliminary Report of a Clinical-pathological Study of 300 Cases
with a Minimum Follow-up of Eight Years.
Acta Chir. Scand. 130, 371 - 378 (1965).

BERTRAM, J.S. and A.W. CRAIG

Specific Induction of Bladder Cancer in Mice by Butyl-(4-hydroxybutyl)Nitrosamine and the Effects of Hormonal Modifications on the Sex Difference in Response.
Eur. J. Cancer Clin. Oncol. 8, 587 - 594 (1972).

BESSETTE, P.L., M.R. ABELL and K.R. HERWIG

A Clinicopathologic Study of Squamous Cell Carcinoma of the Bladder.
J. Urol. 112, 66 - 67 (1974).

BETKERUR, V., V. HLAING, G. BAUMGARTNER, R. RAO, H. RHEE, P. GUINAN
Screening Tests for Detection of Bladder Cancer.
Urology 16, 16 - 19 (1980).

BJELKENKRANTZ, K., A. HERDER, O. GRÖNTÖFT, and O. STAL

Cytophotometric Characterization of the WHO Grades of Transitional Cell Neoplasms.
Path. Res. Pract. 174, 68 - 77 (1982).

BÖCKING, A.

Grading des Prostatakarzinoms.
Habilitationsschrift. Universität Freiburg (1980).

BÖCKING, A., C.-P. ADLER, H.H. COMMON, and M. HILGARTH
Algorithm for a DNA-Cytophotometric Diagnosis and Grading of Malignancy.
In Druck.

BÖHM, N.
Einfluß der Fixierung und der Säurekonzentration auf die Feulgen-Hydrolyse bei 28 Grad C.
Histochemistry 14, 201 - 211 (1968).

BÖHM, N., W. SANDRITTER
DNA in Human Tumors: A Cytophotometric Study.
Curr. Top. Pathol. 60, 151 - 219 (1975).

BÖHM, N., W. SANDRITTER
Der Zellkern-DNS-Gehalt menschlicher Tumoren.
Med. Welt 27, 1073 - 1076 (1976).

BOYD, P.J.R., K.G. BURNAND
Site of Bladder-Tumor Recurrence.
Lancet, 1, 1290 - 1292 (1974).

BRODERS, A.C.
Epithelioma of the Genito-urinary Organs.
Ann. Surg. 75, 574 - 604 (1922).

BRYAN, G.T.
The Pathogenesis of Experimental Bladder Cancer.
Cancer Res. 37, 2813 - 2816 (1977).

BRYAN, G.T.
Urinary Bladder Cancer: Potentials of and Problems Associated with Early Intervention Strategies.
Semin. Oncol. 6, 161 - 165 (1979).

COHEN, S.M.
Urinary Bladder Carcinogenesis: Initiation-Promotion.
Semin. Oncol. 6, 157 - 160 (1979).

COHEN, S.M., J.B. JACOBS, M. ARAI, S. JOHANSSON, and G.H. FRIEDEL
Early Lesions in Experimental Bladder Cancer: Experimental Design and Light Microscopic Findings.
Cancer Res. 36, 2508 - 2511 (1976).

COLLAN, Y., J. MÄKINEN AND A. HEIKKINEN
Histological Grading of Transitional Cell Tumors of the Bladder
Value of Histological Grading (WHO) in Prognosis.
Eur. Urol. 5, 311 - 318 (1979).

- COLLINS, W.E.
Clinical Aspects of Carcinoma in situ.
pp. 143 - 148, in: CONNOLLY, J.G. (ed.) Carcinoma of the Bladder.
New York (1981).
- COLLSTE, L.G., M. DEVONEC, Z. DARZYNKIEWICZ, F. TRAGANOS,
T.K. SHARPLESS, W.F. WHITMORE, and M.R. MELAMED
Bladder Cancer Diagnosis by Flow Cytometry - Correlation Between
Cell Samples from Biopsy and Bladder Irrigation Fluid.
Cancer 45, 2389 - 2394 (1980).
- COOPER, E.H., P.E. LEVI, C.K. ANDERSON, R.E. WILLIAMS
The Evolution of Tumour Cell Populations in Human Bladder Cancer.
Br. J. Urol., 41, 714 - 717 (1969).
- COOPER, P.H., J. WAISMAN, W.H. JOHNSTON, and D.G. SKINNER
Severe Atypia of Transitional Epithelium and Carcinoma of the Uri-
nary Bladder.
Cancer 31, 1055 - 1060 (1973).
- COOPER, T.P., R.F. WHEELIS, R.J. CORREA, R.P. GIBBONS, J.T. MASON,
and K.B. CUMMINGS
Random Mucosal Biopsies in the Evaluation of Patients with Carcino-
ma of the Bladder.
J. Urol. 117, 46 - 48 (1977).
- CUMMINGS, K.B.
Carcinoma of the Bladder: Predictors.
Cancer 45, 1849 - 1855 (1980).
- DE KERNION, J.B. and D.G. SKINNER
Epidemiology, Diagnosis and Staging of Bladder Cancer.
pp. 213 - 231, in: SKINNER, D.G., J.B. DE KERNION (eds.) Genitouri-
nary Cancer.
Philadelphia, London, Toronto (1978).
- DE KERNION, J.B., M.S. SOLOWAY, L. PERSKY
Chemotherapy of Experimental Transitional - Cell Carcinoma.
Urology 4, 63 - 68 (1974).
- DRUCKREY, H., R. PREUSSMANN, S. IVANKOVIC, C.H. SCHMIDT, H.D. MENNEL
und K.W. STAHL
Selektive Erzeugung von Blasenkrebs an Ratten durch Dibutyl- und
N-Butyl-N-butanol(4)-nitrosamin.
J. Cancer Res. Clin. Oncol. 66, 280 - 290 (1964).

DUKES, C.E. and F. MASINA
Classification of Epithelial Tumors of the Bladder.
Br. J. Urol. 21, 273 - 290 (1949).

EISENBERG, R.B., R.B. ROTH, and M.H. SCHWEINSBERG
Bladder Tumors and Associated Proliferative Mucosal Lesions.
J. Urol. 84, 544 - 550 (1960).

ELLIOTT, G.B., P.J. MOLONEY, and G.H. ANDERSON
"Denuding Cystitis" and in situ Urothelial Carcinoma.
Arch. Pathol. Lab. Med. 96, 91 - 94 (1973).

ENEROTH, C.-M. and A. ZETTERBERG
Microspectrophotometric DNA Analysis of Malignant Salivary Gland
Tumours.
Acta Otolaryngol. 77, 289 - 294 (1974).

ENEROTH, C.-M. and A. ZETTERBERG
A Cytochemical Method of Grading the Malignancy of Salivary Gland
Tumours Preoperatively.
Acta Otolaryngol. 81, 489 - 495 (1976).

ENGLAND, H.R., A.M.I. PARIS, and J.P. Blandy
The Correlation of T1 Bladder Tumour History with Prognosis and
Follow-up Requirements.
Br. J. Urol. 53, 593 - 597 (1981).

FALOR, W.H.
Chromosomes in Noninvasive Papillary Carcinoma of the Bladder.
J. Am. Med. Assoc. 216, 791 - 794 (1971).

FARBER, E.
Chemical Carcinogenesis and the Urinary Bladder.
pp. 67 - 74, in: CONNOLLY, J.G. (ed.). Carcinoma of the Bladder.
New York (1981).

FARROW, G.M.
Pathologist's Role in Bladder Cancer.
Semin. Oncol. 6, 198 - 206 (1979).

FARROW, G.M., D.C. UTZ, and C.C. RIFE
Morphological and Clinical Observations of Patients with Early Blad-
der Cancer Treated with Total Cystectomy.
Cancer Res. 36, 2495 - 2501 (1976).

FARROW, G.M., D.C. UTZ, C.C. RIFE, and L.F. GREENE
Clinical Observations on Sixty-nine Cases of in situ Carcinoma of
the Urinary Bladder.
Cancer Res. 37, 2794 - 2798 (1977).

- FOSSA, S.D.
Feulgen-DNA-Values in Transitional Cell Carcinoma of the Human Urinary Bladder.
Pathol. Res. Pract. 155, 44 - 55 (1975).
- FOSSA, S.D.
DNA-Variations in Neighbouring Epithelium in Patients with Bladder Carcinoma.
Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand. (A) 85, 603 - 610 (1977).
- FOSSA, S.D. and O. KAALHUS
Computer Assisted Image Analysis of Feulgen-Stained Cell Nuclei from Transitional Cell Carcinoma of the Human Urinary Bladder.
Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand. (A) 85, 590 - 602 (1977).
- FOSSA, S.D., O. KAALHUS, and O. SCOTT-KNUDSEN
The Clinical and Histopathological Significance of Feulgen DNA-Values in Transitional Cell Carcinoma of the Human Urinary Bladder.
Eur. J. Cancer Clin. Oncol. 13, 1155 - 1162 (1977).
- FRIEDEL, G.H.
Carcinoma, Carcinoma in situ, and "Early Lesions" of the Uterine Cervix and the Urinary Bladder: Introduction and Definitions.
Cancer Res. 36, 2482 - 2484 (1976).
- FRIEDEL, G.H., J.R. BELL, S.W. BURNEY, E.A. SOTO, and A.J. TILTMAN
Histopathology and Classification of Urinary Bladder Carcinoma.
Urol. Clin. North Am. 3, 53 - 69 (1976).
- FRIEDEL, G.H., J.B. JACOBS, G.K. NAGY, and S.M. COHEN
The Pathogenesis of Bladder Cancer.
Am. J. Pathol. 89, 431 - 440 (1977).
- FRIEDEL, G.H., G.C. PARIA, G.K. NAGY, and E.A. SOTO
The Pathology of Human Bladder Cancer.
Cancer 45, 1823 - 1831 (1980).
- FUKUSHIMA, S., S.M. COHEN, M. ARAI, J.B. JAKOBS, and G.H. FRIEDEL
Scanning Electron Microscopic Examination of Reversible Hyperplasia of the Rat Urinary Bladder.
Am. J. Pathol., 102, 373 - 380 (1981).
- FUKUSHIMA, S., M. HIROSE, H. TSUDA, T. SHIRAI, K. HIRAO, M. ARAI, and N. ITO
Histological Classification of Urinary Bladder Cancers in Rats Induced by N-Butyl-N-(4-Hydroxybutyl)Nitrosamine.
Gann 67, 81 - 90 (1976).

FULKER, M.J., E.H. COOPER, and T. TANAKA
Proliferation and Ultrastructure of Papillary Transitional Cell
Carcinoma of the Human Bladder.
Cancer 27, 71 - 82 (1971).

GIBBONS, R.P., J.I. MANDLER, and W.H. HARTMANN
The Significance of Epithelial Atypia Seen in Non-Invasive Transitional Cell Papillary Tumors of the Bladder.
J. Urol. 102, 195 - 199 (1969).

GILCHRIST K.W., R.C. BENSON, and A.R. KUTCHERA
Pleomorphic Microvilli And Low-Grade Human Urothelial Cancer - Need to Correlate Diagnostic Modalities.
Urology 15, 69 - 73 (1980).

GRANBERG-ÖHMAN, I., B. TRIBUKAIT, H. WIJKSTRÖM, T. BERLIN and L.G. COLLSTE
Papillary Carcinoma of the Urinary Bladder - A Study of Chromosomal and Cytofluorometric DNA Analysis.
Urol. Res. 8, 87 - 93 (1980).

GRAUMANN, W.
Zur Standardisierung des Schiff'schen Reagens.
Z. wiss. Mikrosk. 61, 225 - 226 (1953).

GREENE, L.F., K.L. HANASH, and G.M. FARROW
Benign Papilloma or Papillary Carcinoma of the Bladder?
J. Urol. 110, 205 - 207 (1973).

GRUNDMANN, E., H.G. HILLEMANN and K. RHA
Cytophotometrische Untersuchungen am menschlichen Portioepithel während der Krebsentwicklung. - I. Das Verhalten von Kernvolumen und Desoxyribonucleinsäure.
J. Cancer Res. Clin. Oncol. 64, 390 - 402 (1961).

HABS, M.R. and D. SCHMÄHL
Prevention of Urinary Bladder Tumors in Cyclophosphamide-Treated Rats by Additional Medication with Uroprotectors Sodium 2-Mercaptoethane Sulfonate (Mesna) and Disodium 2,2'-Dithio-bis-ethane Sulfonate (Dimesna).
Cancer 51, 606 - 609 (1983).

HAINAU, B. and P. DOMBERNOWSKI
Histology and Cell Proliferation in Human Bladder Tumors - An Autoradiographic Study.
Cancer 33, 115 - 126 (1974).

HARMER, M.H.(ed.)
TNM Classification of Malignant Tumours.
Geneva (1978).

HENEY, N.M., B.N. NOCKS, J.J. DALY, G.R. PROUT, J.B. NEWALL,
P.P. GRIFFIN, T.L. PERRONE, and W.A. SZYFELBEIN
Ta and T1 Bladder Cancer: Location, Recurrence and Progression.
Br. J. Urol. 54, 152 - 157 (1982).

HERDER, A., K. BJELKENKRANTZ, and O. GRÖNÖFT
Histopathological Subgrouping of WHO II Urothelial Neoplasms by
Cytophotometric Measurements of Nuclear Atypia.
Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand.(A) 90, 405 - 408 (1982).

HICKS, R.M.
The Fine Structure of the Transitional Epithelium of the Rat Ureter.
J. Cell. Biol. 26, 25 - 49 (1965).

HICKS, R.M.
Experimental Carciogenesis: Achievements and Objectives in Relation
to Human Bladder Cancer.
Urol. Res. 7, 69 - 70 (1979).

HICKS, R.M.
Carciogenesis in the Bladder: A Multistage Process.
pp. 75 - 89, in: CONNOLLY, J.G. (ed.) Carcinoma of the Bladder.
New York (1981).

HICKS, R.M. and J. CHOWANIEC
Experimental Induction, History, and Ultrastructure of Hyperplasia
and Neoplasia of the Urinary Bladder Epithelium.
Int. Rev. Exp. Pathol. 18, 199 - 280 (1978).

HICKS, R.M. and B. KETTERER
Isolation of the Plasma Membrane of the Luminal Surface of the Rat
Bladder Epithelium, and the Occurence of a Hexagonal Lattice of Sub-
units both in Negatively Stained whole Mounts and in Sectioned Mem-
branes.
J. Cell Biol. 45, 542 - 553 (1970).

HICKS, R.M. and J.St.J. WAKEFIELD
Membrane Changes during Urothelial Hyperplasia and Neoplasia.
Cancer Res. 36, 2502 - 2507 (1976).

HODGES, G.M.
Normal and Neoplastic Urothelium of Human Blader IN VIVO and IN
VITRO - an Assessment of SEM Studies.
Scan. Electron. Microsc. 2, 983 - 990 (1978).

HODGES, G.M., R.M. HICKS and G.D. SPACEY
Epithelial-Stromal Interactions in Normal and Chemical Carcinogen-
treated Adult Bladder.
Cancer Res. 37, 3720 - 3730 (1977).

HOFSTÄDTER, F., G. JAKSE, B. LEDERER, and G. MIKUZ
Cytophotometric Investigations of DNA-content in Transitional Cell
Tumors of the Bladder - Comparison of Results with Clinical Follow
up.
Path. Res. Pract. 167, 254 - 264 (1980).

HOSHI, S., S. ORIKASA, Y. IMAI, and Y. AGATSUMA
Feulgen-Deoxyribonucleic Acid Values in the Cytology of Bladder
Cancer.
J. Urol. 124, 601 - 604 (1980).

HÜCKEL, K.
Die Gewächse der ableitenden Harnwege (Nierenbecken, Harnleiter und
Blase). pp. 565 - 700, in: LUBARSCH, O. und F. HENKE (Hrsg.) Niere
und ableitende Harnwege. Band 6, Teil 2. Handbuch der Speziellen
Pathologischen Anatomie und Histologie.
Berlin (1934).

ITO, N.
Experimental Studies on Tumors of the Urinary System of Rats Induced
by Chemical Carcinogenesis.
Acta Pathol. Jap. 23, 87 - 109 (1973).

ITO, N.
Early Changes Caused by N-Butyl-N-(4-Hydroxybutyl)Nitrosamine in the
Bladder Epithelium of Different Animal Species.
Cancer Res. 36, 2528 - 2531 (1976).

ITO, N., M. ARAI, S. SUGIHARA, K. HIRAO, S. MAKIURA, K. MATAYOSHI,
and A. DENDA
Experimental Urinary Bladder Tumors induced by N-Butyl-N-(4-Hydroxy-
butyl)Nitrosamine.
Gann 17, 367 - 381 (1975).

ITO, N., Y. HIASA, A. TAMAI, E. OKAJIMA, and H. KITAMURA
Histogenesis of Urinary Bladder Tumors Induced by N-Butyl-N-(4-Hydro-
xybutyl)Nitrosamine in Rats.
Gann 60, 401 - 410 (1969).

ITO, N., K. MATAYOSHI, M. ARAI, Y. YOSHIOKA, Y. KAMAMOTO, S. MAKIURA,
and S. SUGIHARA

Effects of Various Factors on Induction of Urinary Bladder Tumors
in Animals by N-Butyl-N-(4-Hydroxybutyl)Nitrosamine.
Gann 64, 151 - 159 (1973).

JACOBS, J.B., M. ARAI, S.M. COHEN, and G.H. FRIEDEL
Early Lesions in Experimental Bladder Cancer: Scanning Electron
Microscopy of Cell Surface Markers.
Cancer Res. 36, 2512 - 2517 (1976).

JACOBS, J.B., M. ARAI, S.M. COHEN, and G.H. FRIEDEL
A Long-Term Study of Reversible and Progressive Urinary Bladder Can-
cer Lesions in Rats Fed N-(4-(5-Nitro-2-furyl)-2-thiazolyl)Formamide.
Cancer Res. 37, 2817 - 2821 (1977).

JACOBS, J.B., S.M. COHEN, G.M. FARROW, and G.H. FRIEDEL
Scanning Electron Microscopic Features of Human Urinary Bladder
Cancer.
Cancer 48, 1399 - 1409 (1981).

JAKOBSEN, A., P. BICHEL, and A. SELL
Flow Cytometric Investigations of Human Bladder Carcinoma Compared
to Histological Classification.
Urol. Res. 7, 109 - 112 (1979).

JEWETT, H.J.
Carcinoma of the Bladder: Influence of Depth of Infiltration on the
5-Year Results Following Complete Extirpation of the Primary Growth.
J. Urol. 67, 672 - 676 (1952).

JEWETT, H.J.
Cancer of the Bladder - Diagnosis and Staging.
Cancer 32, 1072 - 1075 (1973).

JEWETT, H.J. and S.S. BLACKMAN
Infiltrating Carcinoma of the Bladder: Histologic Pattern and De-
gree of Cellular Differentiation in 97 Autopsy Cases.
J. Urol. 56, 200 - 210 (1946).

JEWETT, H.J., L.R. KING, and W.M. SHELLEY
A Study of 365 Cases of Infiltrating Bladder Cancer: Relation of
Certain Pathological Characteristics to Prognosis after Extirpation.
J. Urol. 92, 668 - 678 (1964).

JEWETT, H.J. and G.H. STRONG
Infiltrating Carcinoma of the Bladder: Relation of Depth of Penetration of the Bladder Wall to Incidence of Local Extension and Metastases.
J. Urol. 55, 366 - 372 (1944).

KIEFER, G. and W. SANDRITTER
DNA and the Cell Cycle.
Path. Res. Pract. 158, 332 - 362 (1976).

KLEIN, F.A., W.F. WHITMORE, H.W. HERR, and M.R. MELAMED
Flow Cytometry Followup of Patients with Low Stage Bladder Tumors.
J. Urol. 128, 88 - 92 (1982).

KOSS, L.G.
The Asymmetric Unit Membrane of the Epithelium of the Urinary Bladder of the Rat - An Electron Microscopic Study of a Mechanism of Epithelial Maturation and Function.
Lab. Invest. 21, 154 - 168 (1969).

KOSS, L.G.
Tumors of the Urinary Bladder. in: Atlas of Tumor Pathology (Second Series).
Washington (1975).

KOSS, L.G.
Some Ultrastructural Aspects of Experimental and Human Carcinoma of the Bladder.
Cancer Res. 37, 2824 - 2835 (1977).

KOSS, L.G.
Tumors of the Urinary Tract and Prostate.
pp. 749 - 817, in: Diagnostic Cytology and its Histopathologic Basis.
Philadelphia, Toronto (1979).

KOSS, L.G., P.H. BARTELS, M. BIBBO, Z.F. SELWYN, J. TAYLOR, and G.L. WIED
Computer Discrimination between Benign and Malignant Urothelial Cells.
Acta Cytol. 19, 378 - 391 (1975).

KOSS, L.G., P.H. BARTELS, J.J. SYCHRA, and G.L. WIED
Computer Discriminant Analysis of Atypical Urothelial Cells.
Acta Cytol. 22, 382 - 386 (1978).

KOSS, L.G., M.R. MELAMED, A. RICCI, W.F. MELICK, and R.E. KELLY
Carcinogenesis in the Human Urinary Bladder.
N. Engl. J. Med. 272, 767 - 770 (1965).

KOSS, L.G., E.M. TIAMSON, M.A. ROBBINS
Mapping Cancerous and Precancerous Bladder Changes - A Study of the
Urothelium in Ten Surgically Removed Bladders.
J. Am. Med. Assoc. 227, 281 - 286 (1974).

KREICBERGS, A., A. ZETTERBERG, G. SÖDERBERG
The Prognostic Significance of Nuclear DNA Content in Chondrosarcoma.
Anal. Quant. Cytol. 2, 272 - 279 (1980).

KUNZE, E.
Development of Urinary Bladder Cancer in the Rat.
Curr. Top. Pathol. 67, 145 - 232 (1979).

KUNZE E. and A. SCHAUER
Morphology, Classification and Histogenesis of N-Butyl-N-(4-Hydroxy-
butyl)Nitrosamine-induced Carcinomas in the Urinary Bladder of Rats.
J. Cancer Res. Clin. Oncol. 88, 273 - 289 (1977).

KUNZE, E., A. SCHAUER, and S. SCHATT
Stages of Transformation in the Development of N-Butyl-N-(4-Hydroxy-
butyl)Nitrosamine-induced Transitional Cell Carcinomas in the Urinary
Bladder of Rats.
J. Cancer Res. Clin. Oncol. 87, 139 - 160 (1976).

LAMB, D.
Correlation of Chromosome Counts with Histological Appearances and
Prognosis in Transitional-cell Carcinoma of Bladder.
Brit. Med. J. 1, 273 - 277 (1967).

LEHMAN, T.P., H.S. COOPER, and S.G. MULHOLLAND
Peanut Lectin Binding Sites in Transitional Cell Carcinoma of the
Urinary Bladder.
Cancer 53, 272 - 277 (1984).

LEDERER, B., G. MIKUZ, W. GÜTTER und G. ZUR NEDDEN
Zytophotometrische Untersuchungen von Tumoren des Übergangsepithels
der Harnblase. - Vergleich zytophotometrischer Untersuchungsergeb-
nisse mit dem histologischen Grading.
Path. Res. Pract. 147, 379 - 389 (1972).

LEUCHTENBERGER, C., R. LEUCHTENBERGER, and A.M. DAVIS
A Microspectrophotometric Study of the Desoxyribose Nucleic Acid
(DNA) Content in Cells of Normal and Malignant Human Tissue.
Am. J. Pathol. 30, 65 - 85 (1954).

LEVI, P.E., E.H. COOPER, C.K. ANDERSON, and R.E. WILLIAMS
Analysis of DNA Content, Nuclear Size and Cell Proliferation of
Transitional Cell Carcinoma in Man.
Cancer 23, 1074 - 1085 (1969).

LIMAS, C., P. LANGE, E.E. FRALEY, and R.L. VESSELLA
A, B, H Antigens in Transitional Cell Tumors of the Urinary Bladder -
Correlation with the Clinical Course.
Cancer 44, 2099 - 2107 (1979)

LOENING, S., A. NARAYANA, C. HAWTREY, W.W. BONNEY, B. FALLON,
G.D. PENICK, D.A. CULP
Urinary Cytology and Bladder Biopsy in Patients with Bladder Cancer.
Urology 11, 591 - 595 (1978).

LOENING, S., A. NARAYANA, L. YODER, D. SLYMEN, S. WEINSTEIN,
G.D. PENICK and D. CULP
Factors Influencing the Recurrence Rate of Bladder Cancer.
J. Urol. 123, 29 - 31 (1980).

LUTZEYER, W., H. RÜBBEN, and H. DAHM
Prognostic Parameters in Superficial Bladder Cancer: An Analysis of
315 Cases.
J. Urol. 127, 250 - 252 (1981).

MARSHALL, V.F.
The Relation of the Preoperative Estimate to the Pathologic Demon-
stration of the Extent of Vesical Neoplasms.
J. Urol. 68, 714 - 723 (1952).

MARSHALL V.F., J. HOLDEN, and K.T. MA
Survival of Patients with Bladder Carcinoma Treated by Simple Seg-
mental Resection - One Hundred Twenty-three Consecutive Cases Five
Years later.
Cancer 9, 568 - 571 (1956).

MASINA, F.
Mucosal Changes in Relation to Bladder Tumors.
Br. J. Urol. 24, 334 - 351 (1952).

MCDOWELL, E.M.
Fixation and Processing.
pp. 113 - 139, in: TRUMP, B.F. and R.T. JONES (eds.) Diagnostic
Electron Microscopy (Vol.1) .
New York, Chichester, Brisbane, Toronto (1978).

MEEK, E.S.

Changes in Cellular Desoxyribonucleic Acid in Mouse Skin Following Application of a Tumor-Promoting Agent.
Exp. Cell. Res. 29, 389 - 393 (1963).

MELAMED, M.R., L.G. KOSS, A. RICCI, and W.F. WHITMORE
Cytohistological Observations on Developing Carcinoma of the Urinary Bladder in Man.
Cancer 13, 67 - 74 (1960).

MELAMED, M.R., N.G. VOUTSA, and H. GRABSTALD
Natural History and Clinical Behavior of in Situ Carcinoma of the Human Urinary Bladder.
Cancer 17, 1533 - 1545 (1964).

MELICOW, M.M.

The Bladder Biopsy: an Evaluation of the Cystoscopic Procedure.
J. Urol. 56, 339 - 348 (1946).

MELICOW, M.M.

Histological Study of Vesical Urothelium Intervening Between Gross Neoplasms in Total Cystectomy.
J. Urol. 68, 261 - 279 (1952).

MELICOW, M.M.

Tumors of the Urinary Bladder: A Clinicopathological Analysis of Over 2500 Specimens and Biopsies.
J. Urol. 74, 498 - 521 (1955).

MELICOW, M.M.

Reflections on Bladder Neoplasia - Exophytic Papillary Urothelial Tumors Versus Planophytic Carcinoma in situ.
Urology 20, 440 - 445 (1982).

MELICOW, M.M. and J.W. HOLLOWELL

Intra-Urothelial Cancer: Carcinoma in situ, BOWEN's Disease of the Urinary System: Discussion of Thirty Cases.
J. Urol. 68, 763 - 772 (1952).

MERK, F.B., B.U. PAULI, J.B. JACOBS, J. ALROY, G.R. FRIEDEL, and R.S. WEINSTEIN

Malignant Transformation of Urinary Bladder in Humans and in N-(4-(5-Nitro-2-furyl)-2-thiazolyl)formamide-exposed Fisher Rats: Ultrastructure of the Major Components of the Permeability Barrier.
Cancer Res. 37, 2843 - 2853 (1977).

MOHR, U. und H. HAAS

Die chemischen Carcinogene im Harntrakt der Laboratoriumstiere.
pp. 839 - 939, in: Handbuch der allgemeinen Pathologie. Band 6,
Teil 7.

Berlin, Heidelberg, New York (1975).

MORRISON, A.S.

Public Health Value of Using Epidemiologic Information to Identify
High-Risk Groups for Bladder Cancer Screening.

Semin. Oncol. 6 184 - 188 (1979).

MOSTOFI, F.K.

A Study of 2678 Patients with Initial Carcinoma of the Bladder:
I. Survival Rates.

J. Urol. 75, 480 - 491 (1956).

MOSTOFI, F.K., M.S. LEVITIN, and J.H. GERENDE

A Study of 2678 Patients with Initial Carcinoma of the Bladder:
II. Survival Rates in Relation to Therapy.

J. Urol. 75, 492 - 500 (1956).

MOSTOFI, F.K., L.H. SOBIN, and H. TORLONI

Histological Typing of Urinary Bladder Tumors. International Histo-
logical Classification of Tumours.

Geneva (1973).

MURPHY, W.M. and C.C. IRVING

The Cellular Feature of Developing Carcinoma in Murine Urinary
Bladder.

Cancer 47, 514 - 522 (1981).

MURPHY, W.M., G.K. NAGY, M.K. RAO, M.S. SOLOWAY, G.C. PARIJA,
C.E. COX, and G.H. FRIEDEL

"Normal" Urothelium in Patients with Bladder Cancer - A Preliminary
Report from the National Bladder Cancer Collaborative Group A.

Cancer 44, 1050 - 1058 (1979).

NATIONAL BLADDER CANCER COLLABORATIVE GROUP A
Cytology and Histopathology of Bladder Cancer Cases in a Prospective
Longitudinal Study.
Cancer Res. 37, 2911 - 2915 (1977).

OOMS, E.C.M.
Bladder Carcinoma - A morphometrical study.
Academisch Proefschrift, Amsterdam (1981).

OOMS, E.C.M., W.A.D. ANDERSON, C.L. ALONS, M.E. BOON, and
R.W. VELDHUIZEN
Analysis of the Performance of Pathologists in the Grading of Bladder
Tumors.
Hum. Pathol. 14, 140-143 (1983).

OOMS, E.C.M., E. ESSED, R.W. VELDHUIZEN, C.L. ALONS, P. KURVER, and
M.E. BOON
The Prognostic Significance of Morphometry in T1 Bladder Tumours.
Histopathology 5, 311 - 318 (1981).

OOMS, E.C.M., P.H.J. KURVER, R.W. VELDHUIZEN, C.L. ALONS, and
M.E. BOON
Morphometric Grading of Bladder Tumors in Comparison with Histologic
Grading by Pathologists.
Hum. Pathol. 14, 144-150 (1983).

PAGE, B.H., V.B. LEVISON, and M.P. CURWEN
The Site of Recurrence of Non-Infiltrating Bladder tumours.
Br. J. Urol. 50, 237 - 242 (1978).

PAULI, B.U., K.E. KUETNER, and R.S. WEINSTEIN
Intercellular Junctions in FANFT-induced Carcinomas of Rat Urinary
Bladder in Tissue Culture: in situ Thin-section, Freeze-fracture,
and Scanning Electron Microscopy Studies.
J. Microsc. 115, 271 - 282 (1979).

PAULI, B.U., R.S. WEINSTEIN, J. ALROY, and M. ARAI
Ultrastructure of Cell Junctions in FANFT-Induced Urothelial Tumors
in Urinary Bladder of Fischer Rats.
Lab. Invest. 37, 609 - 621 (1977).

PFITZER, P., K. VYSKA und G. STECHER
Zur Analyse von DNA-Histogrammen durch Computer.
Path. Res. Pract. 159, 157 - 185 (1976).

PRICE, D.A., A.R. MORLEY and R.R. HALL
Scanning Electron Microscopy in the Study of Normal, Inflamed and
Neoplastic Human Urothelium.
Br. J. Urol. 52, 370 - 376 (1980).

PRICE, J.M., J.B. WEAR, R.R. BROWN, E.J. SATTER, and C. OLSON
Studies on Etiology of Carcinoma of Urinary Bladder.
J. Urol. 83, 376 - 382 (1960).

PROUT, G.R.
Classification and Staging of Bladder Carcinoma.
Cancer 45, 1832 - 1841 (1980).

PROUT, G.R., P.P. GRIFFIN, J.J. DALY, and N.M. HENEY
Carcinoma in situ of the Urinary Bladder with and without Associated
Vesical Neoplasms.
Cancer 52, 524 - 532 (1983).

PROUT, G.R., P.P. GRIFFIN, and W.U. SHIPLEY
Bladder Carcinoma as a Systemic Disease.
Cancer 43, 2532 - 2539 (1979).

PUGH, R.C.B.
The Pathology of Cancer of the Bladder - An Editorial Overview.
Cancer 32, 1267 - 1274 (1973).

PUGH, R.C.B.
Carcinoma in situ of the Urinary Bladder.
pp. 101 - 106, in: CONNOLLY, J.G. (ed.) Carcinoma of the Bladder.
New York (1981).

REHN, L.
Blasengeschwülste bei Fuchsin-Arbeitern.
Arch. klin. Chir. 50, 588 - 600 (1895).

REZNIK-SCHÜLLER, H.M.
Ultrastructure of Tumors Induced in the Rat Urinary Bladder by
Nitrosomethyldodecylamine.
Virchows Arch. (Path. Anat.) 392, 63 - 71 (1981).

RIDDLE, P.R., G.D. CHISHOLM, P.A. TROTT, and R.C.B. PUGH
Flat Carcinoma in situ of Bladder.
Br. J. Urol. 47, 829 - 833 (1976).

RICHARDSON, K.J., L. JARETT, E.H. FINKE
Embedding in Epoxy Resins for Ultrathin Sectioning in Electron
Microscopy.
Stain Technol. 35, 313 - 323 (1960).

ROHRBACH, R., M. LAU, C. THOMAS und W. SANDRITTER
Zytophotometrische Messungen des DNS- und Histonprotein- Gehaltes
experimentell erzeugter Hauttumoren bei der Ratte und der haar-
losen Maus. II. Teil.
Path. Res. Pract. 146, 111 - 121 (1972).

RÜBBEN, H., H.H. DAHM, W. VAN UELFT und W. LUTZEYER
TNM-Klassifikation maligner Blasentumoren UICC 1979. Arbeitsgrundla-
ge "Register und Verbundstudie für Harnwegstumoren der RWTH Aachen".
Urologe (Ausg. A) 18, 238 - 246 (1979).

SACHS, H., H.-E. STEGNER und J. BAHNSEN
Cytophotometrische Untersuchungen an Epitheldysplasien des Collum
uteri.
Arch. Gynecol. 212, 97 - 129 (1972).

SANDBERG, A.A.
Chromosome Markers and Progression in Bladder Cancer.
Cancer Res. 37, 2950 - 2956 (1977).

SANDRITTER, W.
Die Zytophotometrie in der Zytologie.
Verh. Dtsch. Ges. Pathol. 57, 42 - 52 (1973).

SANDRITTER, W., M. CARL, W. RITTER
Cytophotometric Measurements of the DNA Content of Human Malignant
Tumours by Means of the Feulgen Reaction.
Acta Cytol. 10, 26 - 30 (1966).

SANDRITTER, W., G. KIEFER, R. KIEFER, R. SALM, G.W. MOORE, and
H. GRIMM
DNA in Heterochromatin. - Cytophotometric Pattern Recognition Image
Analysis Among Cell Nuclei in Duct Epithelium and in Carcinoma of
the Breast.
Path. Res. Pract. 151, 87 - 96 (1974).

SANDRITTER, W., A. SEIDEL, D. KLEINHANS, I. PADDAGS und W. DONTENWILL
Cytophotometrische Messungen des DNS-Gehaltes an menschlichen und
tierexperimentellen Bronchialepithelmetaplasien.
J. Cancer Res. Clin. Oncol. 67, 69 - 79 (1965).

SCHADE, R.O.K.
Some Observations on the Pathology and Natural History of Urothelial
Neoplasms.
Path. Res. Pract. 145, 325 - 335 (1972).

SCHADE, R.O.K. and J. SWINNEY
The Association of Urothelial Atypism with Neoplasia: Its Importance
in Treatment and Prognosis.
J. Urol. 109, 619 - 622 (1973).

SCRIBNER, J.D. and R. SUSS
Tumor Initiation and Promotion.
Int. Rev. Exp. Pathol. 18, 138 - 198 (1978).

SEIDEL, A. und W. SANDRITER
Cytophotometrische Messungen des DNS-Gehaltes eines Lungenadenoms
und einer malignen Lungenadenomatose.
J. Cancer Res. Clin. Oncol. 65, 555 - 559 (1963).

SEVERS, N.J. and R.M. HICKS
Analysis of Membrane Structure in the Transitional Epithelium of
Rat Urinary Bladder - 2. The Discoidal Vesicles and Golgi Apparatus:
Their Role in Luminal Membrane Biogenesis.
J. Ultrastruct. Res. 69, 279 - 296 (1979).

SHEVCHUK, M.M., C.M. FENOGLIO and R.M. RICHART
Carcinoembryonic Antigen Localization in Benign and Malignant Tran-
sitional Epithelium.
Cancer 47, 899 - 905 (1981).

SIMON, W., J.J. CORDONNIER, and W.T. SNODGRASS
The Pathogenesis of Bladder Carcinoma.
J. Urol. 88, 797 - 802 (1962).

SKINNER, D.G.
Current State of Classification and Staging of Bladder Cancer.
Cancer Res. 37, 2838 - 2842 (1977).

SKINNER, D.G.
Current Perspectives in the Management of High-Grade Invasive Blad-
der Cancer.
Cancer 45, 1866 - 1874 (1980).

SKINNER, D.G., J.P. RICHIE, P.H. COOPER, J. WAISMAN, and
J.J. KAUFMAN
The Clinical Significance of Carcinoma in situ of the Bladder and
its Association with Overt Carcinoma.
J. Urol. 112, 68 - 71 (1974).

SMITH, A.F.
An Ultrastructural and Morphometric Study of Bladder Tumours (I).
Virchows Arch. (Pathol. Anat.) 390, 11 - 21 (1981).

SOLOWAY, M.S.

Intravesical and Systemic Chemotherapy of Murine Bladder Cancer.
Cancer Res. 37, 3918 - 2929 (1977).

SOLOWAY, M.S.

The Management of Superficial Bladder Cancer.
Cancer 45, 1856 - 1865 (1980).

SOLOWAY, M.S. and W.M. MURPHY

Experimental Chemotherapy of Bladder Cancer - Systemic and Intravesical.
Semin. Oncol. 6, 166 - 183 (1979).

SOTO, E.A., G.H. FIEDELL and A.J. TILTMAN

Bladder Cancer as Seen in Giant Histologic Sections.
Cancer 39, 447 - 455 (1977).

SPRENGER, E., M. HILGARTH, and M. VOGT-SCHADEN

The Diagnosis of Endometrial Carcinoma by Means of Jet wash and DNA
Flow-Through Cytophotometry.
Path. Res. Pract. 162, 263 - 268 (1978).

STARKLINT, H., N.K. JENSEN, and E. THYBO

The Extent of Carcinoma in situ in Urinary Bladders with Primary
Carcinomas.
Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand. (A) 84, 130 - 136 (1976).

STAEHELIN, L.A., F.J. CHLAPOWSKI, and M.A. BONNEVILLE

Luminal Plasma Membrane of the Urinary Bladder. - I. Three-
dimensional Reconstruction from Freeze-Etch Images.
J. Cell Biol. 53, 73 - 91 (1972).

STENIUS, F.

Studien über Pathologie und Klinik der Papillome und Karzinome
der Harnblase.
Arbeiten aus dem Pathol. Inst. der Universität Helsingfors
N.F. 3, 27 - 190 (1922).

TANNENBAUM, M.

Ultrastructural Pathology of the Human Urinary Bladder.
pp.221 - 267, in: TRUMP, B.F. and R.T. JONES (eds.) Diagnostic
Electron Microscopy (Vol.2).
New York, Chichester, Brisbane, Toronto (1979).

TANNENBAUM, M. and N.A. ROMAS
The Pathobiology of Early Urothelial Cancer.
pp. 232 - 255, in: SKINNER, D.G., DE KERNION, J.B. (eds.) Genitourinary Cancer.
Philadelphia, London, Toronto (1978).

TANNENBAUM, M., S. TANNENBAUM and H.W. CARTER
SEM, BEI and TEM Ultrastructural Characteristic of Normal, Preneoplastic and Neoplastic Human Transitional Epithelia.
Scan. Electron. Microsc. 11, 949 - 958 (1978).

TANNENBAUM, M., S. TANNENBAUM, and N.A. ROMAS
Conformational Membrane Changes in Early Bladder Cancer.
pp. 115 - 126, in: CONNOLLY, J.G. (ed.) Carcinoma of the Bladder.
New York (1981).

TAVARES, A.S., J. COSTA and J. COSTA MAIA
Correlation Between Ploidy and Prognosis in Prostatic Carcinoma.
J. Urol. 109, 676 - 679 (1973).

TAVARES, A.S., J. COSTA, A. DE CARVALHO, and M. REIS
Tumour Ploidy and Prognosis in Carcinomas of the Bladder and Prostate.
Br. J. Cancer 20, 438 - 441 (1966).

TRIBUKAIT, B. and P.L. ESPOSTI
Quantitative Flow-microfluorometric Analysis of the DNA in Cells from Neoplasms of the Urinary Bladder: Correlation of Aneuploidy with Histological Grading and the Cytological Findings.
Urol. Res. 6, 201 - 205 (1978).

TRIBUKAIT, B. und H. GUSTAFSON
Impulscytophotometrische DNS-Untersuchungen bei Blasenkarzinomen.
Onkologie 6, 278 - 288 (1980).

TRIBUKAIT, B., H. GUSTAFSON, and P. ESPOSTI
Ploidy and Proliferation in Human Bladder Tumours as Measured by Flow-Cytofluorometric DNA-Analysis and its Relations to Histopathology and Cytology.
Cancer 43, 1742 - 1751 (1979).

TRIBUKAIT, B., H. GUSTAFSON, and P. ESPOSTI
The Significance of Ploidy and Proliferation in the Clinical and Biological Evaluation of Bladder Tumors : a Study of 100 Cases.
Br. J. Urol. 54, 130 - 135 (1982).

UTZ, D.C., G.M. FARROW, C.C. RIFE, J.W. SEGURA, and H. ZINCKE
Carcinoma in situ of the Bladder.
Cancer 45, 1842 - 1848 (1980).

UTZ, D.C., K.A. HANASH, and G.M. FARROW
The Plight of the Patient with Carcinoma in situ of the Bladder.
J. Urol. 103, 160 - 164 (1970).

WALKER, B.E.
Polyploidy and Differentiation in the Transitional Epithelium
of the Mouse Urinary Bladder.
Chromosoma 9, 105 - 118 (1958).

WALKER, B.E.
Electron Microscopic Observations on Transitional Epithelium of
the Mouse Urinary Bladder.
J. Ultrastruct. Res. 3, 345 - 361 (1960).

WALLACE, D.M.A., J.R. HINDMARSH, J.N. WEBB, A. BUSUTTIL,
T.B. HARGREAVE, J.E. NEWSAM, and D.G. CHISHOLM.
The Role of Multiple Mucosal Biopsies in the Management of Patients
with Bladder Cancer.
Br. J. Urol. 51, 535 - 540 (1979).

WEINBERG, D.M., R.K. ROSS, T.M. MACK, A. PAGANINI-HILL, and
B.E. HENDERSON
Bladder Cancer Etiology - A Different Perspective.
Cancer 51, 675 - 680 (1983).

WOLF, H. and K. HOJGAARD
Prognostic Factors in Local Surgical Treatment of Invasive Bladder
Cancer with Special Reference to the Presence of Urothelial
Dysplasia.
Cancer 51, 1710 - 1715 (1983).

ZUCKERKANDL, O.
Blasengeschwülste.
Wien. Med. wochenschr. 60, 441 - 448; 513 - 517 (1910).

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Christian Mittermayer bin ich für die großzügige Förderung meiner wissenschaftlichen Arbeit zu Dank verpflichtet.

In der langjährigen wissenschaftlichen Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Dr. Wolfgang Lutzeyer und Herrn Privatdozent Dr. Herbert Rübber wurde mir ideelle und materielle Hilfe zuteil.

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Jutta Würschmidt. Sie ermöglichte mir durch ihre kenntnisreiche und sorgfältige Mitarbeit am Elektronenmikroskop und im Fotolabor die Zusammenstellung des Bildbandes.

Herr Prof. Dr. Dr. Henning M. Beier erlaubte mir freundlicherweise an den Elektronenmikroskopen der Abteilung Anatomie zu arbeiten.

Frau Sabine Gülpert und Frau Carmen Schwartz danke ich für die Assistenz bei den Tierversuchen und der elektronenmikroskopischen Präparation, Frau Gülpert insbesondere für selbständige und zuverlässige Mitarbeit im Labor.

Frau Erika Corbin und Frau Gertrud Ostendorp verdanke ich die schönen Schnitte des umfangreichen Paraffinmaterials.

Herrn Dipl.-Ing. Jochen Heinrich und Herrn Dr.-Ing. Horst Richter sei für die Hilfe bei der Arbeit an Meßgerät und Rechner sowie bei der Aufbereitung der Meß-

gebnisse gedankt, Frau Dipl.-Math. Gudrun Henn für die statistische Beratung.

Frau Anni Kohl danke ich besonders herzlich für ihren unermüdlichen Einsatz bei der Fertigstellung des Manuskripts.

Abbildung 1:

Normales Übergangsepithel - Ratte.
Semidünnschnitt. Methylenblau-Azur II.
Vergrößerung: x 480.

Die Mucosa der Harnblase zu schlanken Falten aufgeworfen und gut vaskularisiert. Das Übergangsepithel aufgebaut aus Basal-, Intermediär- und Superfizialzellschicht. Die luminale Membran der Deckzellen sägeblattartig gezackt.

Abbildung 2:

Normales Übergangsepithel - Ratte.
Zytologischer Ausstrich. Papanicolaou.
Vergrößerung: x 770.

Zellen aller drei Schichten mit feinnetzartigem Chromatinmuster und kleinen Nukleolen der Kerne. Die kleinsten Kerne sind Basalzellen, die größten Superfizialzellen zuzuordnen.

Abbildung 3:

Normales Übergangsepithel - Ratte.
TEM.

Vergrößerung: x 5350.

Dreischichtigen Übergangsepithel. Typische sägeblattartige Zackung der Oberflächenmembran. Rundliche und spindelförmige Vesikel, Filamentbündel, zahlreiche Telolysosomen sowie ein gut entwickelter Golgiapparat kennzeichnen die Oberflächenzellen (S), weniger strukturiertes helles Zytoplasma die Intermediärzellen (I), dunkles Zytoplasma und wenige Mitochondrien die Basalzellen (B). Tiefe Interdigitationen der basalen Plasmamembran der Superfizialzelle mit der apikalen Membran der Intermediärzellen. Zarte Membran und staubförmig verteilt es Chromatin der Kerne aller Zellschichten (K: Kapillare).

Abbildung 4:

Normales Übergangsepithel - Ratte.
REM.

Vergrößerung: x 250.

Zu schlanken Falten aufgeworfen der Harnblasenmukosa. Die Oberfläche samtartig durch das Netzwerk von Mikroleisten an den Oberflächen der hexagonalen Superfizialzellen.

Abbildung 5:

Normales Übergangsepithel - Ratte.
TEM.

Vergrößerung: x 48.000.

Junktionaler Komplex zwischen 2 Oberflächenzellen, bestehend aus Zonula occludens (O), Zonula adhaerens (A) und Macula adhaerens oder Desmosom (D). In dem asymmetrischen luminalen Plasmalemm der Superfizialzellen eine Abfolge von bogenförmigen Einsenkungen, den Plaqueregionen entsprechend (Pfeil). Die Interplaqueregionen zu schlanken Mikroleisten aufgefaltet. Die zahlreichen spindelförmigen Vesikel sind von asymmetrischer Membran umschlossen. Dichte Filamentbündel (F) strahlen in das apikale und laterale Plasmalemm ein.

Abbildung 6:

Normales Übergangsepithel - Ratte.
TEM.

Vergrößerung: x 18.000.

Anschnitt einer Oberflächenzelle mit zentralem Golgifeld (G), primären Lysosomen (L), mehreren dunkel angefärbten Telolysosomen (T), einzelnen multivesikulären Körperchen und rundlichen Vesikeln (V). (Pfeil: Mikroleiste).

Abbildung 7:

Normales Übergangsepithel - Ratte.

REM.

Vergrößerung: x 1200.

Hexagonale Superfizialzellen mit deutlich erkennbareren Zellgrenzen.

Abbildung 8:

Normales Übergangsepithel - Ratte.

REM.

Vergrößerung: x 6000.

Zwischen plattenförmigen starren Plaqueregionen (P) ist die bewegliche Membran zu Mikroleisten (M) aufgefaltet.

Abbildung 9:

Übergangsepithel - Ratte - 2 Wochen BBN.

Semidünnschnitt. Methylenblau-Azur II.

Vergrößerung: x 500.

Das quer verlaufende Lumen (L) der Harnblase wird von hyperplastischen Epithels gesäumt mit 2 bis 3 Intermediärzellschichten. Die Oberflächenzellen sind verkleinert. Vermehrte Fibrozyten in der Lamina propria (P).

Abbildung 10:

Übergangsepithel - Ratte - 2 Wochen BBN.

Zytologischer Ausstrich. Papanicolaou.

Vergrößerung: x 800.

In dem feinnetzigen Chromatin treten einzelne kleinere granular und leicht vergrößerte Nukleolen auf.

Abbildung 11:

Übergangsepithel - Ratte - 2 Wochen BBN.

TEM.

Vergrößerung: x 3650.

Die Epitheloberfläche unregelmäßig gewulstete. In dem Zytoplasma der vermehrten Intermediärzellen zahlreiche spindelförmige und rundliche Vesikel nahe dem apikalen Plasmalemm (Pfeil). Die Membranen der Kerne leicht gefaltet die Basalzellen ragen mit schlanken Ausläufern fingerförmig in die Lamina propria, von ihr durch die Basallamina getrennt (langer Pfeil).

Abbildung 12:

Übergangsepithel - Ratte - 2 Wochen BBN.

REM.

Vergrößerung: x 1200.

Die Superfizialzellen durchweg verkleinert und von plumpen blattartigen Mikroleisten bedeckt. Die Zellen ragen zum Teil halbkugelförmig in das Lumen.

Abbildung 13:

Übergangsepithel - Ratte - 2 Wochen BBN.

REM.

Vergrößerung: x 2400.

Polygonale Deckzellen. Die Zellgrenzen deutlich zu erkennen (2). Reste des ursprünglichen Mikroleistenmusters einzelner Zellen erhalten.

Abbildung 14:

Übergangsepithel - Ratte - 4 Wochen BBN.

Paraffin, HE.

Vergrößerung: x 500.

Bis auf 5 Schichten proliferiertes Übergangsepithel. Die Kerne der Basal- und

Intermediärzellen mit ihrer Längsachse senkrecht zur Basalmembran ausgerichtet. In der Lamina propria einzelne Lymphozyten (L) und Histiozyten.

Abbildung 15:

Übergangsepithel - Ratte - 4 Wochen BBN.

Zytologischer Ausstrich. Papanicolaou.

Vergrößerung: x 1330.

Unterschiedlich große Zellen mit leichtpolymorph von Kernen. Das Chromatinmuster netzförmig vergrößert.

Abbildung 16:

Übergangsepithel - Ratte - 4 Wochen BBN.

TEM.

Vergrößerung: x 3200.

Zunahme von Vesikeln, Telolysosomen und Mitochondrien der intermediären Zellschichten. Die verkleinerten Oberflächenzellen ragen pilzförmig in das Lumen.

Abbildung 17:

Übergangsepithel - Ratte - 4 Wochen BBN.

TEM.

Vergrößerung: x 9700.

Die Plaqueregionen in der Oberflächenmembran der Superfizialzellen erhalten. Neben einer herdförmigen Erweiterung des Interzellularspaltes fallen vermehrte Desmosomen auf (Pfeil). In beiden angeschnittenen Intermediärzellen unregelmäßig geformte Telolysosomen (T).

Abbildung 18:

Übergangsepithel - Ratte - 4 Wochen BBN.

REM.

Vergrößerung: x 125.

Die Mucosa Falten (M) der Harnblase verplumpt. Das deckende Epithel durch unregelmäßige Einschränkungen (Pfeil) untergliedert.

Abbildung 19:

Übergangsepithel - Ratte - 4 Wochen BBN.

REM.

Vergrößerung: x 1150.

Polygonale Superfizialzellen mit unterschiedlich ausgebildetem Leistenmuster der Oberflächenmembran. Eine grobe Lappung überwiegt. Außer wenigen Zellen mit feinen Mikroleisten (Pfeil) auch einzelne mit weitgehend glatter Oberfläche.

Abbildung 20:

Übergangsepithel - Ratte - 4 Wochen BBN.

REM.

Vergrößerung: x 6000.

Blattförmige Auffaltungen und wenige kugelförmige Produktionen der Oberflächenmembran. Eine Zelle (M) wird gänzlich von derartigen Ausstülpungen bedeckt.

Abbildung 21:

Übergangsepithel - Ratte - 6 Wochen BBN.

Paraffin. HE.

Vergrößerung: x 500.

Weitere Verkleinerung der Oberflächenzellen. Einzelne Kerne bereits deutlich vergrößert und hyperchromatisch. Die Polarität des Epithels ist gestört. Mehrere Kapillaren (Pfeil) liegen über dem Niveau der Epithelbasis.

Abbildung 22:

Übergangsepithel - Ratte - 6 Wochen BBN.

Zytologischer Ausstrich. Pappenheim-Giemsa.

Vergrößerung: x 1200.

Zellgruppe mit gegenüber der Norm vergrößerten Kernen und vermehrtem Chromatingehalt.

Abbildung 23:

Übergangsepithel - Ratte - 6 Wochen BBN.

TEM.

Vergrößerung: x 3150.

Die Membranen einzelne Kerne stärker aufgefaltet (Pfeil). Das Zytoplasma der Zellen unterschiedlich dicht. Neben Zellen mit zahlreichen Organellen solche mit sehr einfachem Zytoplasma. Vielfach Schollige Chromatinverdichtungen an den Kernmembranen. Einzelne Zellen mit schweren degenerativen Veränderungen (D).

Abbildung 24:

Übergangsepithel - Ratte - 6 Wochen BBN.

TEM.

Vergrößerung: x 8000.

Die Oberflächenmembran unregelmäßig aufgefaltet. Nur wenige Plaqueregionen abgrenzbar (Pfeil). Schmale Mikroleisten und plumpe Fortsätze werden entwickelt. Der Organellenbesatz gegenüber der Norm unverändert (L: Lysosomen; langer Pfeil: Desmosom).

Abbildung 25:

Übergangsepithel - Ratte - 6 Wochen BBN.

TEM.

Vergrößerung: x 3800.

Wenig proliferierte, Lichtmikroskopisch scheinbar normaler Abschnitt des Epithels mit grober Lappung der Oberflächenzellen. Plaqueregionen vielfach erhalten. Das Zytoplasma der Intermediär- und Basalzellen schmal und dicht. Plumpe Nukleolen der Kerne. Füßchenförmige Fortsätze der Basalzellen (Pfeil; K: Kapillare).

Abbildung 26:

Übergangsepithel - Ratte - 6 Wochen BBN.

REM.

Vergrößerung: x 260.

Weitere Vergrößerung der Mukosafalten (F). Über ihren breiten Komplexität plumpe Epithelkissen, breite Einschnürungen (Pfeil) gegeneinander abgesetzt.

Abbildung 27:

Übergangsepithel - Ratte - 6 Wochen BBN.

REM.

Vergrößerung: x 2400.

Erhebliche Größenunterschiede der Superfizialzellen. Die Oberflächenmembran zu überwiegend groben Falten aufgeworfen. Deutlich zu Tage tretende Zellgrenzen (Pfeil), über die die Faltungen der Membranen vielfach hinweglaufen.

Abbildung 28:

Übergangsepithel - Ratte - 8 Wochen BBN.

Paraffin. HE.

Vergrößerung: x 530.

Auf 5 Zellschichten proliferiertes Epithel. Oberflächlich in Bildmitte eine vakuoläre Zelldegeneration (V). Im mittleren und rechten Bildteil wachsen Kapillaren bis in das mittlere Drittel des Epithels (Pfeil). Auffällig

einzelne stark vergrößerte Zellkerne.

Abbildung 29:

Übergangsepithel - Ratte - 8 Wochen BBN.

Zytologischer Ausstrich. Papanicolaou.

Vergrößerung: x 1240.

Vakuolär und grobnetzig angeordnetes Chromatin und deutliche Größenunterschiede der Kerne dieser Zellgruppe.

Abbildung 30:

Übergangsepithel - Ratte - 8 Wochen BBN.

TEM.

Vergrößerung: x 2900.

In allen Schichten kleine Zellen mit schmalem, gleichförmig strukturierten Zytoplasma. Mitochondrien, Vakuolen und Telolysosomen nahezu gleichmäßig verteilt. Insbesondere die Oberflächenzellen unregelmäßig angeordnet. Vereinzelt scheint sie sich aus dem Verband zu lösen. Die junctionalen Zellkomplexe jedoch erhalten (kurzer Pfeil). Vermehrte und vertiefte Interdigitationen der lateralen Plasmamembranen (langer Pfeil).

Abbildung 31:

Übergangsepithel - Ratte - 8 Wochen BBN.

TEM.

Vergrößerung: x 7800.

Die Oberflächenmembran teils abgeglättet, teils zu schlanken Mikrovilli (M) aufgefaltet. In den stark strukturierten Oberflächenzellen zahlreiche fusiformen Vesikel und Mitochondrien, spärliches endoplasmatisches Retikulum. In der zentral gelegenen Superfizialzelle subnukleäre ein gut entwickelten Golgiapparat und mehrere Lysosomen. Intensive Interdigitationen der lateralen Plasmamembranen (Pfeil: junctionaler Komplex).

Abbildung 32:

Übergangsepithel - Ratte - 8 Wochen BBN.

REM.

Vergrößerung: x 1150.

Die Zelloberflächen in dem ausgewählten Ausschnitt weitgehend abgeglättet. Mikroleisten spärlich erhalten (Pfeil).

Abbildung 33:

Übergangsepithel - Ratte - 8 Wochen BBN.

REM.

Vergrößerung: x 1280.

Hexagonale und halbkugelförmige Superfizialzellen. Die Zellgrenzen tief eingesunken. Die Oberfläche der Mucosa zum Teil grob gehöckert.

Abbildung 34:

Übergangsepithel - Ratte - 8 Wochen BBN.

REM.

Vergrößerung: x 2500.

Die Oberflächen der einzelnen Zellen sind unterschiedlich geformt mit grobgelappten Leisten sowie auch zarten Mikroleisten (Pfeil).

Abbildung 35:

Übergangsepithel - Ratte - 10 Wochen BBN.

Paraffin.

Vergrößerung: x 500.

Epithelproliferationen mit leichtem Polaritätsverlust und deutlicher Kernpolymorphie.

Abbildung 36:

Übergangsepithel - Ratte - 10 Wochen BBN.

Zytologischer Ausstrich. Papanicolaou.

Vergrößerung: x 500.

Geringe Verdichtung des Chromatins und zumeist mehrere kleine Nukleolen der Kerne, die eine deutliche Größenvarianz aufweisen.

Abbildung 37:

Übergangsepithel - Ratte - 10 Wochen BBN.

TEM.

Vergrößerung: x 2650.

Weitgehend glatter Oberfläche des Epithels. Gleichförmig verteilte Organellenbesatz in allen Zellschichten. Rechtzahlreiche Mitochondrien auch in der Basalzellschicht. Ausgeprägte Interdigitationen (Pfeil) der Zellmembranen alle Epithel Schichten (K: Kapillare; P: Lamina propria).

Abbildung 38:

Übergangsepithel - Ratte - 10 Wochen BBN.

TEM.

Vergrößerung: x 4900.

Die Oberflächenmembran der angeschnittenen Deckzellen gegenüber der Norm kaum verändert. Die Kernmembranen der Intermediärzellen jedoch stärker aufgefaltet (Pfeil), das Kernchromatin unregelmäßig verteilt. Die Interdigitationen der Zellmembranen kommen deutlicher zum Vorschein (I).

Abbildung 39:

Übergangsepithel - Ratte - 10 Wochen BBN.

REM.

Vergrößerung: x 1200.

Sehr unterschiedliches Mikrorelief der einzelnen Epithelzellen. Die Schleimhautoberfläche durch die Vereinssenkungen stark zerklüftet.

Abbildung 40:

Übergangsepithel - Ratte - 10 Wochen BBN.

REM.

Vergrößerung: x 6000.

Die Zelle im linken unteren Bildteil weist im Zentrum erhaltenen Mikroleisten auf (M). Die Peripherie weitgehend abgeglättet und nur von wenigen Mikrovilli bedeckt. Dieses Phänomen in den übrigen Zellen in unterschiedlichem Ausmaß ausgeprägt. (Pfeil: Mikrovilli).

Abbildung 41:

Übergangsepithel - Ratte - 12 Wochen BBN.

Paraffin. HE.

Vergrößerung: x 470.

Das sehr polymorphe Epithel wächst in Form plumper Zapfen in die Lamina propria vor. Weitgehender Verlust der Polarität der Kerne, 2 Mitosefiguren (Pfeile). Kapillaren (K) durchdringen das Epithel bis in das lumennahe Drittel. Die Lamina propria stärker vaskularisiert.

Abbildung 42:

Übergangsepithel - Ratte - 12 Wochen BBN.

Zytologischer Ausstrich. Papanicolaou.

Vergrößerung: x 1200.

Bei unterschiedliche Größe sind die Zellkerne chromatinreich, vielfach mit prominenten Nukleolen. Die Kernmembranen betont. Die Kerne überwiegend entrundet und ovalär geformt.

Abbildung 43:

Übergangsepithel - Ratte - 12 Wochen BBN.

TEM.

Vergrößerung: x 4550.

Schichtungsstörung des Epithels in geringer proliferiertem Feld. Die Kerne weitgehend entrundet mit starker Auffaltung der Kernmembranen. Am Epithelbasis zahlreiche Hemidesmosomen erkennbar (Pfeil; K: Kapillare).

Abbildung 44:

Übergangsepithel - Ratte - 12 Wochen BBN.

TEM.

Vergrößerung: x 4900.

Unregelmäßig geformte Mikrovilli (M) und Mikroleisten an der luminalen Oberfläche der Superfizialzelle. Dichtes Zytoplasma aller Zellen mit zahlreichen Mitochondrien und primären Lysosomen sowie einzelnen Telolysosomen. Ausgeprägte Faltung des Zellkerns auf der linken Bildhälfte.

Abbildung 45:

Übergangsepithel - Ratte - 12 Wochen BBN.

REM.

Vergrößerung: x 1200.

Aus der sehr unruhigen Mukosaoberfläche treten einzelne umschriebene Epithelwucherungen vor.

Abbildung 46:

Übergangsepithel - Ratte - 12 Wochen BBN.

REM.

Vergrößerung: x 6000.

In der Ausschnittsvergrößerung stummelförmige Mikrovilli mäßig dicht, überwiegend in der Peripherie der Zelloberflächen sowie weiterhin erhaltenen Mikroleisten.

Abbildung 47:

Übergangsepithel - Ratte - 14 Wochen BBN.

Paraffin. HE.

Vergrößerung: x 500.

Die Epithelveränderungen entsprechen einer mittelgradigen Dysplasie. Die Deckzellen nunmehr deutlich verkleinert. Epitheliale Proliferationen heben sich über das Niveau der übrigen Mucosa.

Abbildung 48:

Übergangsepithel - Ratte - 14 Wochen BBN.

Zytologischer Ausstrich. Papanicolaou.

Vergrößerung: x 500.

Zusammenhängende Zellverbände. Die unterschiedlich großen Kernen mit zumeist mehreren kleinen Nukleolen.

Abbildung 49:

Übergangsepithel - Ratte - 14 Wochen BBN.

TEM.

Vergrößerung: x 4800.

Einzelne Oberflächenzellen lediglich basal mit der Intermediärzellschicht verbunden. In dem zumeist dichten Zytoplasma weisen perinukleärer Tonofilamentbündel (T) auf eine Plattenepithelmetaplasie hin.

Abbildung 50:

Übergangsepithel - Ratte - 14 Wochen BBN.

REM.

Vergrößerung: x 2400.

Bandförmige Leisten Muster und kurze Mikrovilli in unterschiedlicher Zahl bilden das Oberflächenreliefs der Zellen.

Abbildung 51:

Übergangsepithel - Ratte - 14 Wochen BBN.

REM.

Vergrößerung: x 2400 in der Ausschnittsvergrößerung wird die zentral gelegenen ovaläre Zelle von einem dichten Rasen aus kleinen halbkugelförmigen Mikrovilli bedeckt. Weniger dichter Besatz der beiden unteren Zellen, Mikroleistenmuster der Zelle am linken Bildrand.

Abbildung 52:

Übergangsepithel - Ratte - 16 Wochen BBN.

Paraffin. HE.

Vergrößerung: x 500.

Auf 9 Zellschichten verbreitert Epithel wird von Kapillaren (K) durchsetzt. Die deutliche Kernpolymorphie entspricht einer mittel- bis schwergradigen Dysplasie (Carcinoma in situ Grad 2 bis Grad 3).

Abbildung 53:

Übergangsepithel - Ratte - 16 Wochen BBN.

Zytologischer Ausstrich. Papanicolaou.

Vergrößerung: x 770.

Der Gelaaptes, große, chromatinreiche Kern in der rechten Bildmitte ist zytologisch als stark Tumor verdächtig zu beurteilen. Das Chromatin der übrigen Kerne granulär und unregelmäßig verteilt. Erhebliche Größenvarianz der Epithelzellen.

Abbildung 54:

Übergangsepithel - Ratte - 16 Wochen BBN.

TEM.

Vergrößerung: x 2800.

Die angeschnittenen Oberflächenzellen werden von kurzen Mikrovilli bedeckt. Der Interzellularspalt im oberen und unteren Bildteil (Pfeile) herdförmig erweitert. Vorwiegend basal gelegenen Zellen sind durch dichte Tonofilamentbündel (T) ausgezeichnet.

Abbildung 55:

Übergangsepithel - Ratte - 16 Wochen BBN.

REM.

Vergrößerung: x 2400.

Blattförmige und strangartige Mikroleisten auch im späten Stadium erhalten. Die Zellpolymorphie ist jedoch als Ausdruck der Neoplasie zu deuten.

Abbildung 56:

Übergangsepithel - Ratte - 16 Wochen BBN.

REM.

Vergrößerung: x 4500.

Nebeneinander von Zellen mit glatter Oberfläche, plumpen Mikroleisten spärlichem sowie dichtem Mikrovillusbesatz.

Abbildung 57:

Übergangsepithel - Ratte gedanklich 18 Wochen BBN.

Semidünnschnitt. Methylenblau-Azur II.

Vergrößerung: x 200.

Das stark proliferierten Epithel bildet plumpe Epithelzapfen aus, die tief in

die Lamina propria einwachsen. Die Basalmembran erscheint unversehrt. Unregelmäßige, eckige Epithel Aussprossungen in der unteren Bildmitte (Pfeil) weisen auf die drohende Invasion hin. Solide Epithelproliferationen erheben sich Polypös (B) in das Volumen der Harnblase. Neben der Kernpolymorphie ist die oberflächliche Nekrose (N) des Epithels als Malignitätskriterium zu werten. Die Veränderung entspricht einem Carcinoma in situ Grad 3.

Abbildung 58:

Übergangsepithel - Ratte - 18 Wochen BBN.

Zytologischer Ausstrich. Papanicolaou.

Vergrößerung: x 1230.

Die vergrößerten Zellkernen besitzen ein dichtes feinkörniges Chromatinmuster und bis zu 4 kleine Nukleolen.

Abbildung 59:

Übergangsepithel - Ratte - 18 Wochen BBN.

TEM.

Vergrößerung: x 2800.

Ausschnitt aus polypöse Epithelproliferationen. Die Zelloberflächen zumeist glatt. Nur eine Zelle mit wenigen kleinen Mikrovilli (Pfeil). Unterschiedliche Organellenbesatz des Wechsels dichten Zytoplasmas.

Abbildung 60:

Übergangsepithel - Ratte - 18 Wochen BBN.

TEM.

Vergrößerung: x 3500.

An der Oberfläche einzelner Mikrovilli unregelmäßig aufgezwigten. Vermehrte Mitochondrien und zur Zellmembran hin orientierte Vesikel der Superfizialzellen. Einzelne Intermediärzellen mit sehr zahlreichen Telolysosomen, die zum Teil myelinähnliche Figuren einschließen (M).

Abbildung 61:

Übergangsepithel - Ratte - 18 Wochen BBN.

TEM.

Vergrößerung: x 3900.

In dem ausgewählten Areal sehr zahlreiche rundliche und spindelförmige Vesikel diffus in Superfizial- und Intermediärzellen verteilt; vermehrte Lysosomen und Mitochondrien in den dunklen Zellen.

Abbildung 62:

Übergangsepithel - Ratte - 18 Wochen BBN.

REM.

Vergrößerung: x 270.

Papilläres Übergangsepithel der Harnblase in der Aufsicht.

Abbildung 63:

Übergangsepithel - Ratte - 18 Wochen BBN.

REM.

Vergrößerung: x 320.

Anschnitt eines papillären Tumors. Schlanke, gut vaskularisierten Septen tragen wenige epitheliale Zellschichten.

Abbildung 64:

Übergangsepithel - Ratte - 30 Wochen BBN.

Semidünnschnitt. HE.

Vergrößerung: x 200.

Invasives, solide wachsendes Übergangsepithelkarzinom. Aus den Zapfen

atypische Zellen sprossen kleinere Tumor Zellverbände ab und infiltrieren die Lamina propria (Pfeil). Plattenepithelmetaplasie in den basalen Epithelzellen Nestern (P).

Abbildung 65:

Übergangsepithel - Ratte - 30 Wochen BBN.

Zytologisches Tupfpräparat. Papanicolaou.

Vergrößerung: x 800.

Chromatinreiche Kerne mit grobscholligem Chromatin und prominente Nukleolen. Deutliche Kernpolymorphie. In der Bildmitte links eine atypische Mitosefigur (M).

Abbildung 66:

Übergangsepithel - Ratte - 30 Wochen BBN.

TEM.

Vergrößerung: x 4600.

Weitgehend abgeglättet Oberfläche. Überwiegend dichtes Zytoplasma mit zum Teil zahlreichen freien Ribosomen. Mehrere Anschnitte von Zytoplasma fortsetzen (F) der offenbar stark verzweigten Zellen. Im unteren Bildrand jeweils Anschnitte von Kapillaren (K). Gut erhaltene Basallamina (Pfeil).

Abbildung 67:

Übergangsepithel - Ratte - 30 Wochen BBN.

TEM.

Vergrößerung: x 8000.

An den Zelloberflächen kleine, kugelförmige Mikrovilli (Pfeil). Schlanke Zellfortsätze ragen in die erweiterten Interzellularräume (langer Pfeil).

Abbildung 68:

Übergangsepithel - Ratte - 30 Wochen BBN.

REM.

Vergrößerung: x 1450.

Pflastersteinartig angeordnete Zellen mit leicht erhabener, ebener Oberfläche, bedeckt von dichtstehenden Mikrovilli. Die Zellgrenzen imponieren als schmale Stränge.

Abbildung 69:

Übergangsepithel - Ratte - 30 Wochen BBN.

REM.

Vergrößerung: x 2400.

Polymorphe Zellen, zumeist von Mikrovilli bedeckt. Die Zellgrenzen teils als prominenten Linien zu erkennen (Pfeil), teilweise jedoch eingesunken.

Abbildung 70:

Übergangsepithel - Ratte - 30 Wochen BBN.

REM.

Vergrößerung: x 6000.

Die Ausschnittsvergrößerung verdeutlicht die Pleomorphie der Mikrovilli, die das Bild beherrschen.

Abbildung 71:

Normales Übergangsepithel des Menschen.

Semidünnschnitt. HE.

Vergrößerung: x 500.

Vielschichtiges Übergangsepithel der Harnblase. Die Kerne unterschiedlich groß, jedoch gleichförmig mit kleinen Nukleolen. An der Oberfläche breiten sich die großen Superfizialzellen schirmartig aus.

Abbildung 72:

Von Brunnsche Nester.

Paraffin. HE.

Vergrößerung: x 500.

Rundliche Epithelnester wachsen in die Lamina propria ein, aufgebaut aus gleichförmigen Übergangsepithelzellen. Typisch sind kleine exzentrisch gelegene zystischen Hohlräume mit eiweißreichem Inhalt. An der Oberfläche normales Übergangsepithel in 3 Zellschichten.

Abbildung 73:

Cystitis glandularis.

Semidünnschnitt. HE.

Vergrößerung: x 200.

Zystischen Hohlräume, durch Einstülpung des Oberflächenepithels gebildet, werden von zylindrisch umgewandelten Übergangsepithelzellen ausgekleidet. Im Lumen ein granulozytäres Exsudat. In der Lamina propria (P) Lymphozyten und Plasmazellen.

Abbildung 74:

Hyperplasie des Übergangsepithels.

Paraffin. HE.

Vergrößerung: x 525.

Proliferation des Epithels auf bis zu 7 Zellschichten. Die Kerne nicht vergrößert und normochrom.

Abbildung 75:

Papillom der Harnblase.

Paraffin. HE.

Vergrößerung: x 525.

Anschnitt eine Papille. Das Epithel zur 5 bis 7 Zellschichten angeordnet, entspricht normalem oder hyperplastischem Übergangsepithel.

Abbildung 76:

Invertiertes Papillom der Harnblase.

Paraffin. HE.

Vergrößerung: x 180.

Anschnitt eines gestielten polypösen Tumors. Die Oberfläche von normalem Übergangsepithel bedeckt, dass sich zu unterschiedlich großen Zysten in das myxoide Polypenstroma (S) senkt.

Abbildung 77:

Gut differenziertes papilläres Übergangsepithelkarzinom der Harnblase (G1).

Semidünnschnitt. HE.

Vergrößerung: x 420.

Das Epithel ist zu mehr als 7 Zellschichten proliferiert. Wenig chromatinreiche Kerne mit einzelnen kleinen Nukleolen und glatter Membran.

Abbildung 78:

Invasives, gut differenziertes Übergangsepithelkarzinom (G1).

Paraffin. HE.

Vergrößerung: x 500.

Kleine isolierte Tumorzellennester infiltrieren die Lamina propria der Harnblase. Locker angeordnete, leicht vergrößerte, wenig chromatinreiche Zellkerne.

Abbildung 79:

Gut differenziertes papilläres Übergangsepithelkarzinom (G1).

TEM.

Vergrößerung: x 3400.

Das Zytoplasma der Tumorzellen nahezu amorph mit wenigen Mitochondrien und Telolysosomen. Zahlreiche Vakuolen vorwiegend an den Kernpolen stellen wahrscheinlich ein durch die Zystoskopie-Flüssigkeit bedingtes Artefakt dar.

Abbildung 80:

Gut differenziertes papilläres Übergangsepithelkarzinom (G1).

REM.

Vergrößerung: x 1450.

Polygonale Superfizialzellen mit Mikrovillusbesatz an der Oberfläche einer Papille. Die Zellgrenzen als schmale feinknotige Stränge erkennbar (Pfeil).

Abbildung 81:

Gut differenziertes papilläres Übergangsepithelkarzinom (G1).

REM.

Vergrößerung: x 6500.

Ungleichförmiger Mikrovillusbesatz der 3 erfassten Zellen. Die Mikrovilli überwiegend klein und kugelförmig.

Abbildung 82:

Gut differenziertes papilläres Übergangsepithelkarzinom (G1).

REM.

Vergrößerung: x 2400.

Polymorphes Zellbild. Die Oberflächen vereinzelt glatt. Übrigen Zellen von mäßig dicht stehenden kugelförmigen und fädigen Mikrovilli bedeckt.

Abbildung 83:

Gut differenziertes papilläres Übergangsepithelkarzinom (G1).

REM.

Vergrößerung: x 2400.

Polygonale Superfizialzellen mit gyriformem Mikrorelief aus leicht verplumpten und strangartigen Leisten. Die Zellgrenzen eingesunken.

Abbildung 84:

Carcinoma in situ Grad 1 und Grad 2 des Übergangsepithels.

Paraffin. HE.

Vergrößerung: x 480.

In der Bildmitte eine Schleimhautfalte, bedeckt von 3 bis 4 Schichten mäßig atypischer Epithelzellen. Die Kerne ovalär, deutlich vergrößert und chromatinreich (T2). Das umgebende Übergangsepithel mit kleineren und weniger stark angefärbten Zellen entspricht einem Carcinoma in situ Grad 1 (leichte Dysplasie).

Abbildung 85:

Gut und mittelgradig differenziertes invasives Übergangsepithelkarzinom (Grad 1 und Grad 2).

Paraffin. HE.

Vergrößerung: x 500.

In der linken Bildhälfte der gut differenzierte Tumoranteile mit kleinen ovalären Kernen (G1). Im rechten Bildteil der mittelgradig differenzierte Tumorteil (G2) mit größeren, chromatinreichen Kernen, der zu Bildmitte das Propriabindegewebe zapfenförmig infiltriert.

Abbildung 86:

Carcinoma in situ Grad 2 mit früher Invasion.

Semidünnschnitt. HE.

Vergrößerung: x 200.

Die Oberfläche wird von einem bis zu 10 Zellschichten breiten, dysplastischen

Epithel gebildet. Die Basalmembran zumeist gut begrenzt. In dem rechten unteren Abschnitt durchbrechen 2 Zellen die Basalmembran (Pfeil). Im angrenzenden Propriabindegewebe eine verstärkte Entzündungsreaktion.

Abbildung 87:

Mittelgradig differenziertes papilläres Übergangsepithelkarzinom (G2).
Semidünnschnitt. HE.

Vergrößerung: x 510.

Der Charakter des Übergangsepithels erhalten. Die Zellen mit ihren Längsachsen nur zum Teil senkrecht zu dem zentral verlaufenden fibrovaskulären Septum (P) ausgerichtet. Kernvergrößerung, Polymorphie, Polaritätsverlust und vermehrte Mitosefiguren sind Zeichen des höheren Malignitätsgrades.

Abbildung 88:

Mittelgradig differenziertes Übergangsepithelkarzinom (G2).

TEM.

Vergrößerung: x 2800.

In der luminalen Membran der Superfizialzellen sind Plaqueregionen und Mikroleisten erhalten (Pfeil). Zur Oberfläche hin orientiert zahlreiche Mitochondrien. Telolysosomen in Kernnähe. Der Organellenbesatz variiert in den verschiedenen Zelllagen nur wenig. Die Kerne vielfach tief eingebuchtet (B).

Abbildung 89:

Mittelgradig differenziertes Übergangsepithelkarzinom (G2).

REM.

Vergrößerung: x 2600.

Durch den Verlust der Superfizialzellschicht werden Intermediärzellen freigelegt, an deren Oberflächen villusartige Fortsätze sichtbar sind (Pfeil).

Abbildung 90:

Mittelgradig differenziertes Übergangsepithelkarzinom (G2).

REM.

Vergrößerung: x 2400.

Halbkugelförmige und polygonale Zellen mit zumeist wenig dicht stehenden Mikrovilli.

Abbildung 91:

Carcinoma in situ (G3) des Übergangsepithels.

Paraffin. HE.

Vergrößerung: x 200.

Solide Verbände atypischer Zellen mit großen chromatinreichen Kernen verdrängen die normalen Übergangsepithelzellen in von Brunnschen Nestern. Die Basalmembran unversehrt.

Abbildung 92:

Invasives, wenig differenziertes Übergangsepithelkarzinom (G3).

Paraffin. HE.

Vergrößerung: x 500.

Von einem Carcinoma in situ ausgehend infiltriert das sehr polymorphe Karzinom mit zahlreichen Riesenkernen die Lamina propria der Harnblase. Im Bindegewebe eine deutliche Entzündungsreaktion.

Abbildung 93:

Wenig differenziertes Übergangsepithelkarzinom (G3) mit glandulärer Metaplasie.

Semidünnschnitt. Methylenblau-Azur II.

Vergrößerung: x 520.

Atypische Zellverbände sind zu Drüsenstrukturen gelagert. Die lumennahe

Zellschicht vielfach zylindrisch geformt (L: Lumen).

Abbildung 94:

Randzone eines wenig differenzierten Übergangsepithelkarzinoms (G3).

Paraffin. HE.

Vergrößerung: x 500.

Atypische Zellen mit großen hypochromatischen Kernen breiten sich innerhalb des normalen Übergangsepithels aus, dessen Superficial-(S) und Basalzellschicht weitgehend erhalten sind. In der Lamina propria ein für das Carcinoma in situ Grad 3 typisches Ödem, verstärkte Neovaskularisation und Entzündungsreaktion (B: Basalmembran; K: Kapillare).

Abbildung 95:

Wenig differenziertes Übergangsepithelkarzinom (G3) mit glandulärer Metaplasie.

TEM.

Vergrößerung: x 7800.

Grobscholliges Chromatin und große Nukleolen kennzeichnet die Kerne des Karzinoms. In das Lumen (L) ragen fingerförmig Mikrovilli (Pfeil).

Abbildung 96:

Wenig differenziertes Übergangsepithelkarzinom (G3).

REM.

Vergrößerung: x 1150.

Die Zelloberflächen von nur wenigen Mikrovilli bedeckt, sind grobgelappt und in Falten gelegt.

Abbildung 97:

Carcinoma in situ (G3).

TEM.

Vergrößerung: x 3000.

Polymorphe Zellen in lediglich 3 Schichten. Die Oberflächenzellen von wenigen Mikrovilli bedeckt (Pfeil). Grobscholliges Chromatin, ein bis 2 prominenten Nukleolen und Einbuchtungen der Kerne

Abbildung 98:

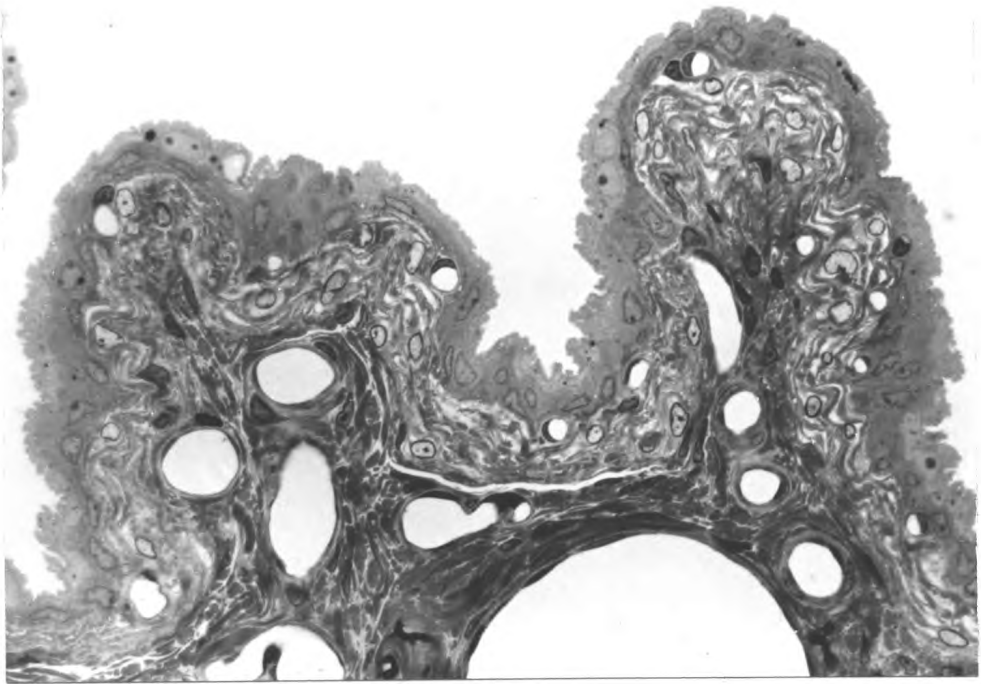
Carcinoma in situ (G3).

REM.

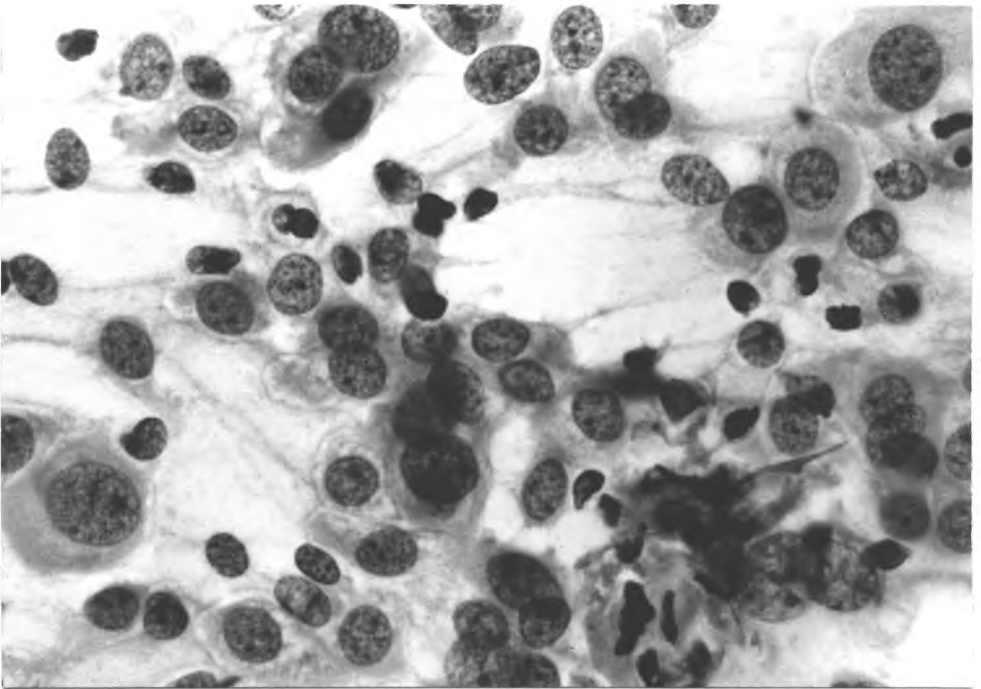
Vergrößerung: x 120.

Die Zellen des Carcinoma in situ sind weitgehend abgelöst. In den dunklen Abschnitten die freigelegte Lamina propria (L).

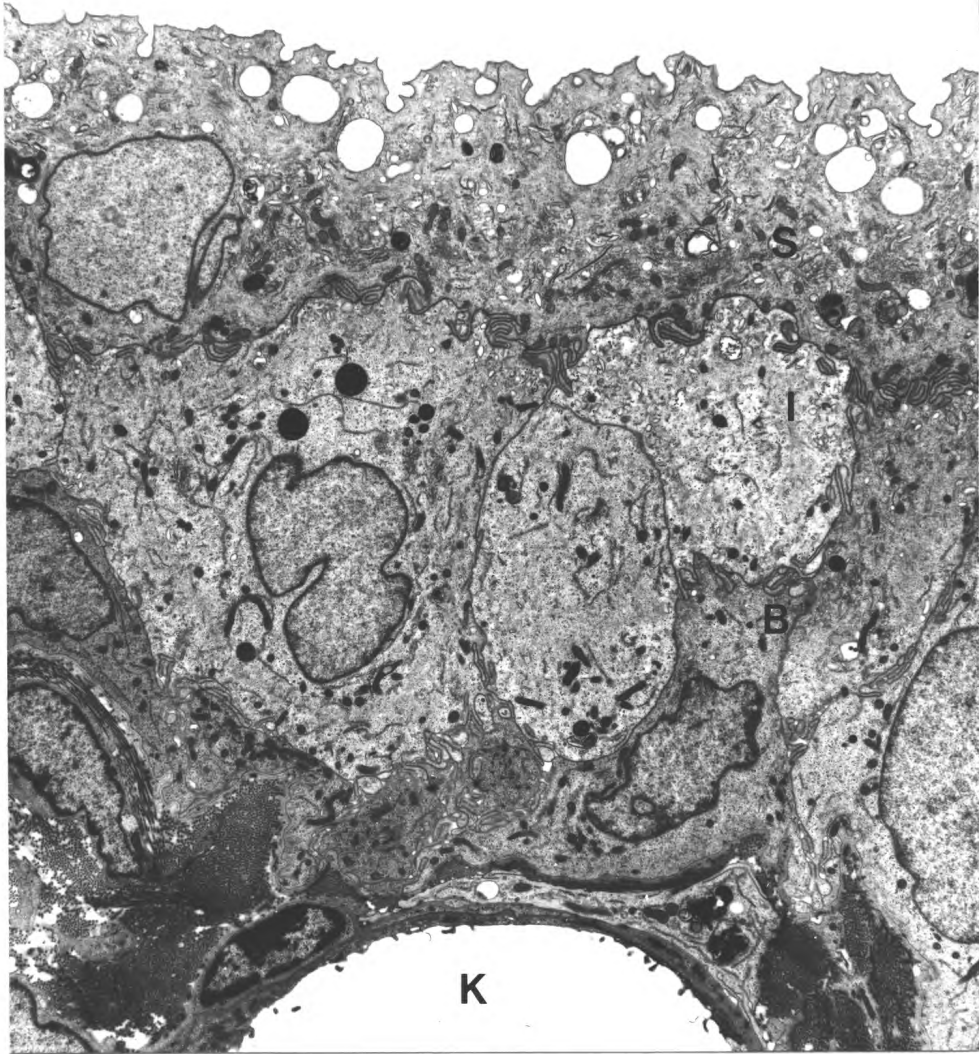
1



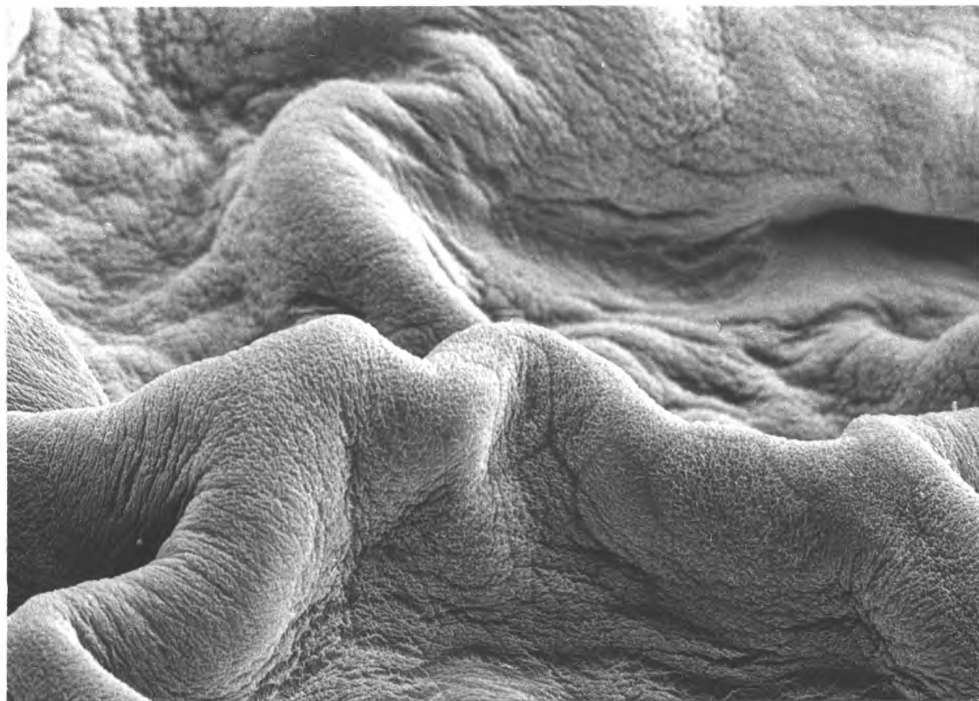
2



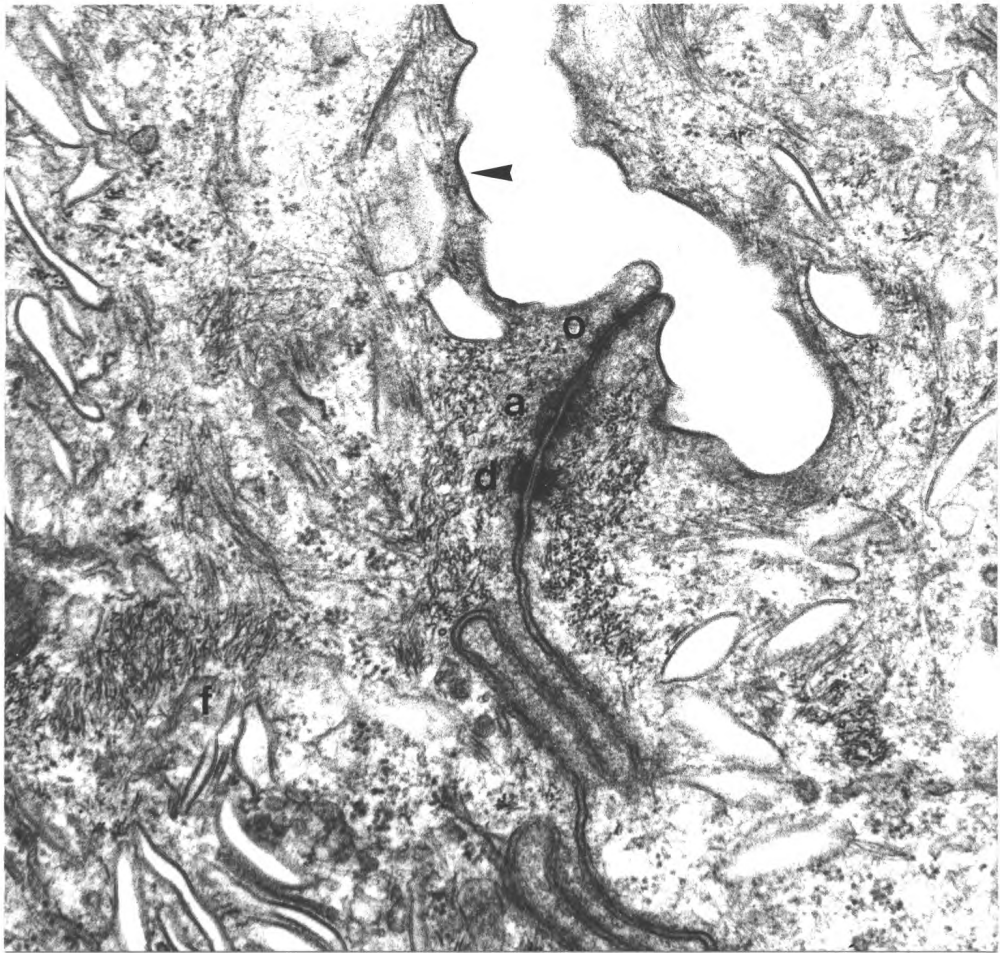
3



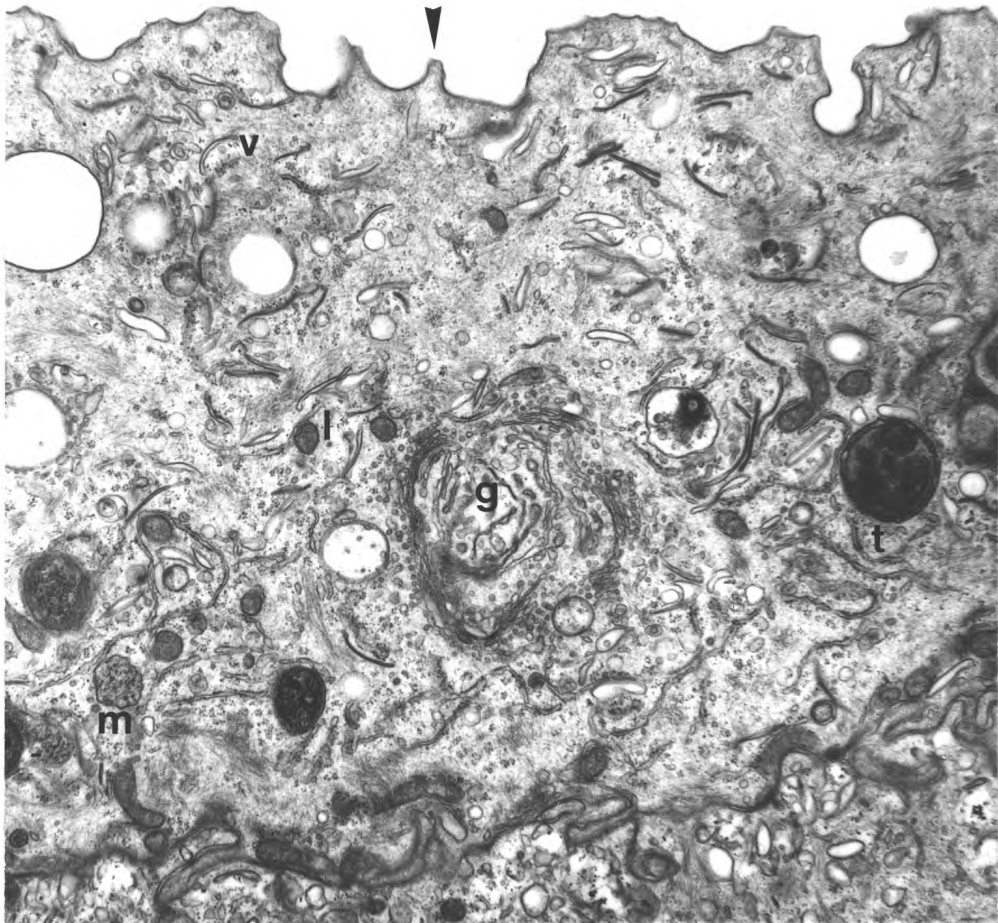
4

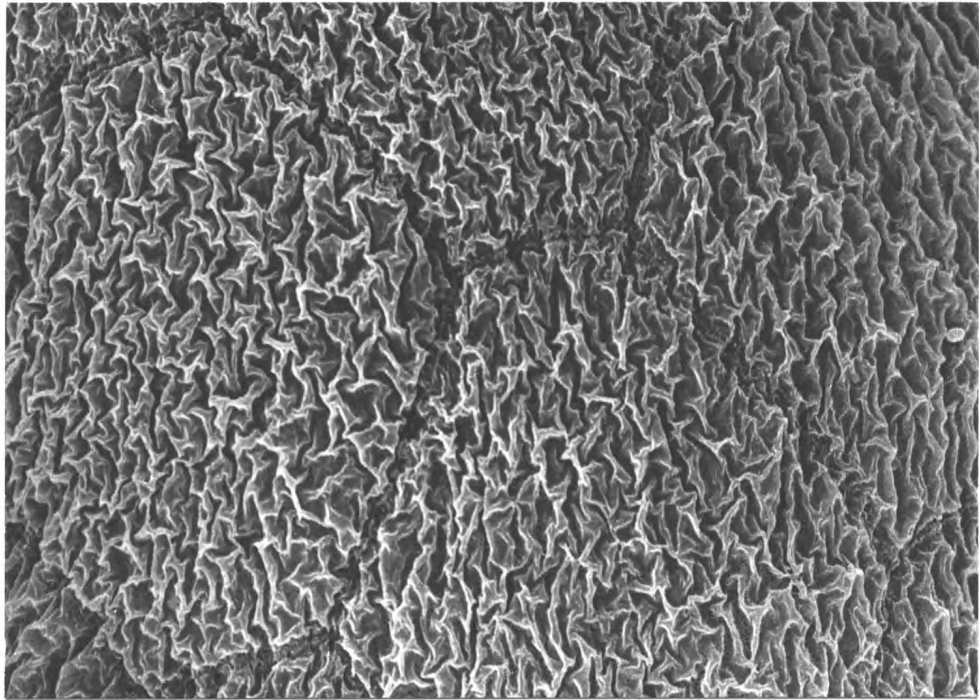


5

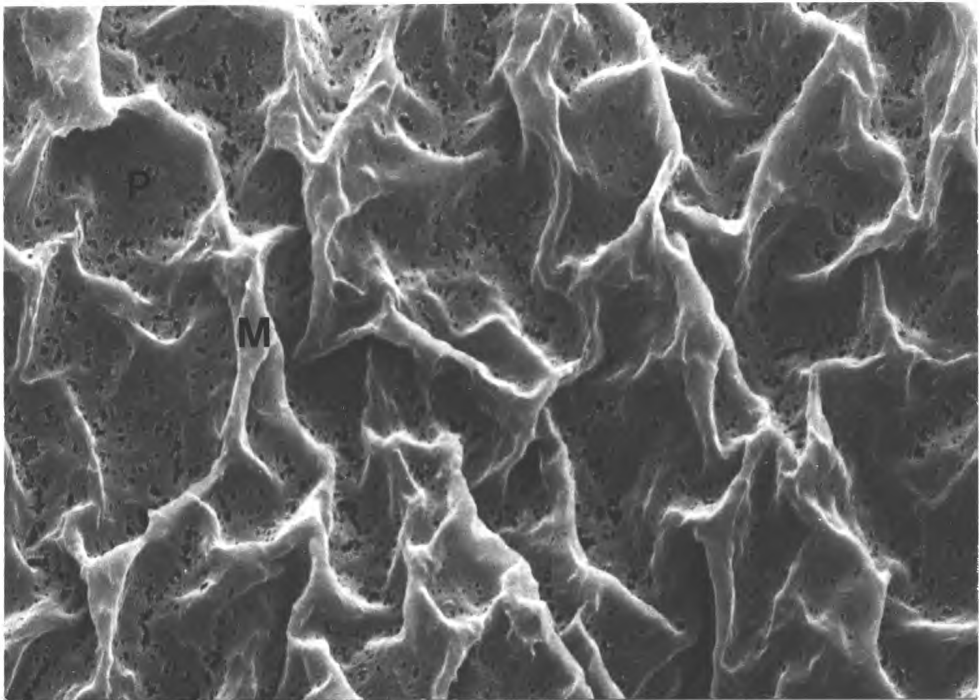


6



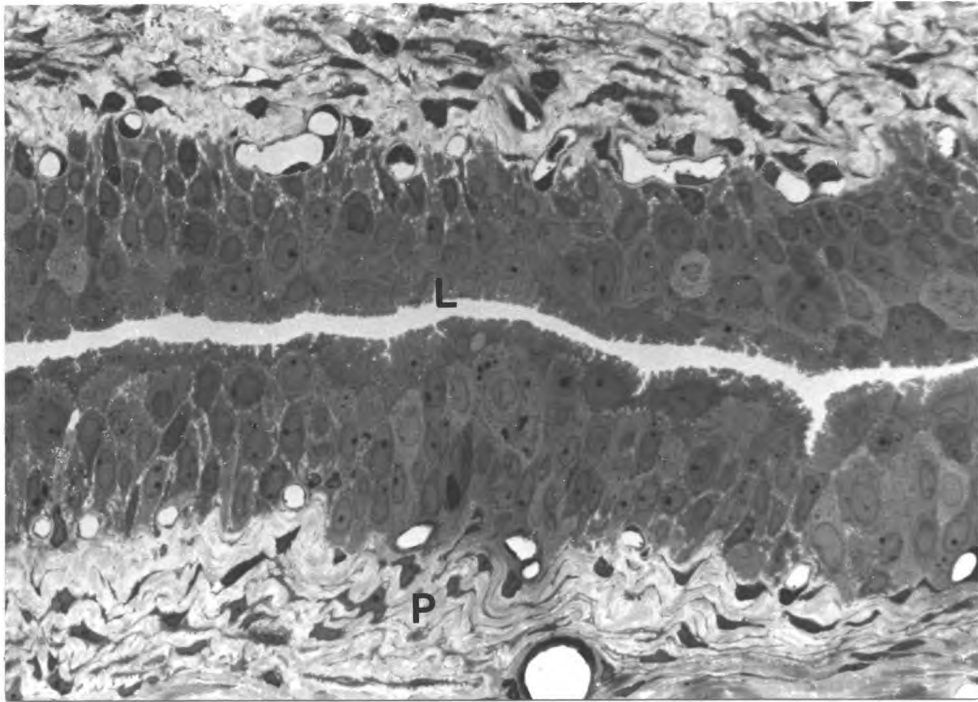


7

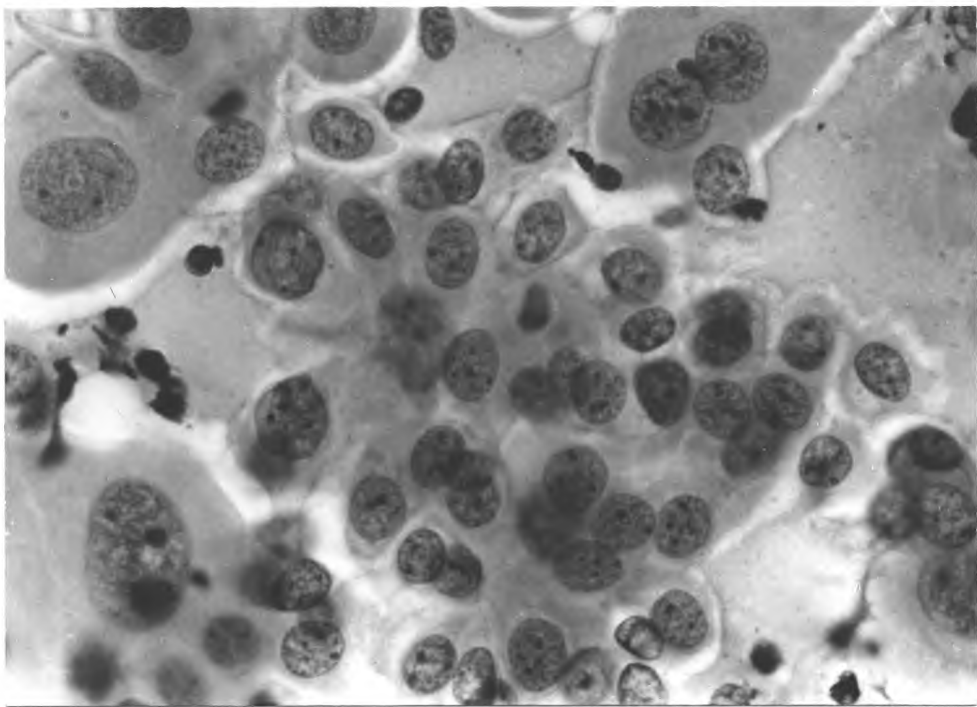


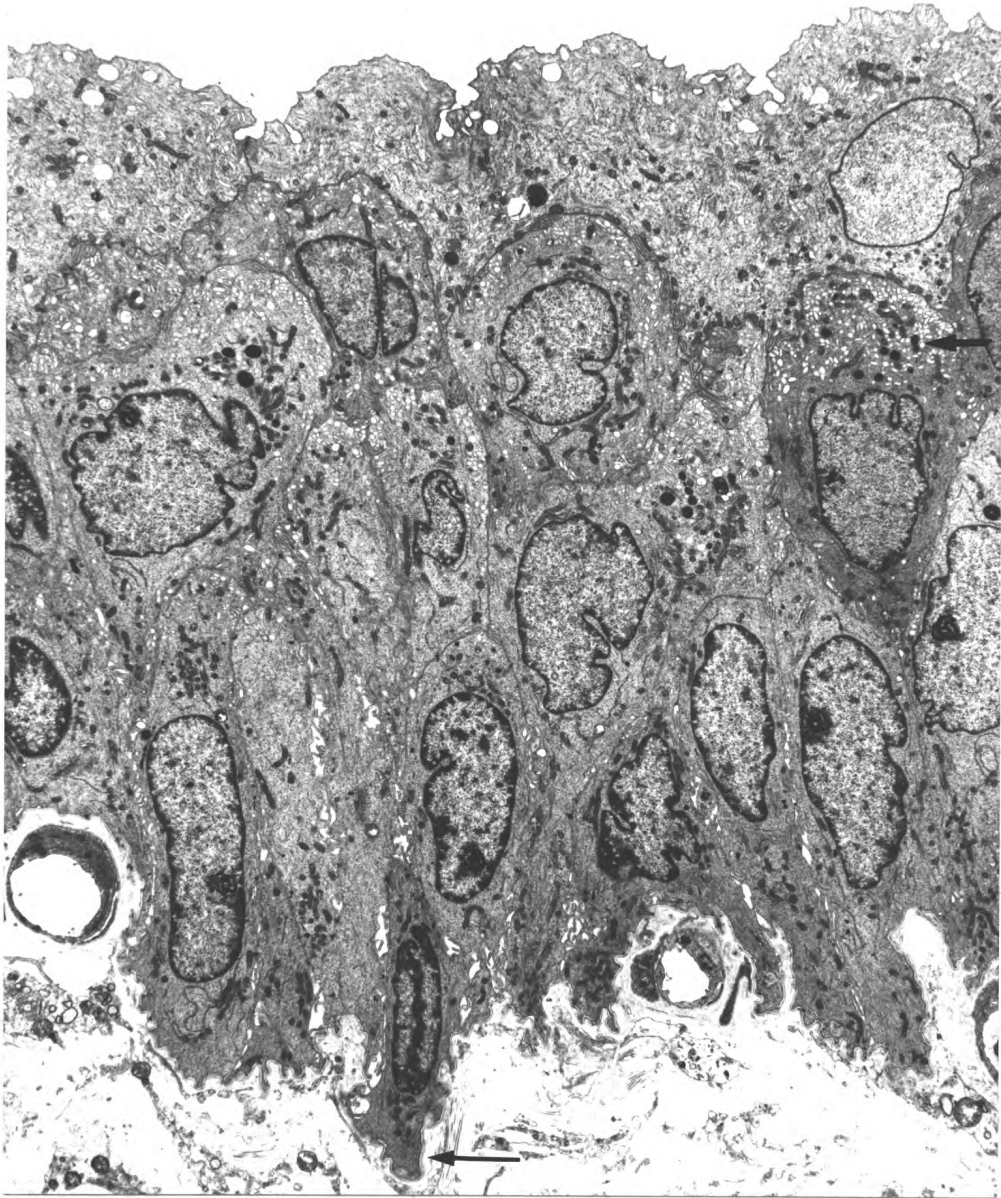
8

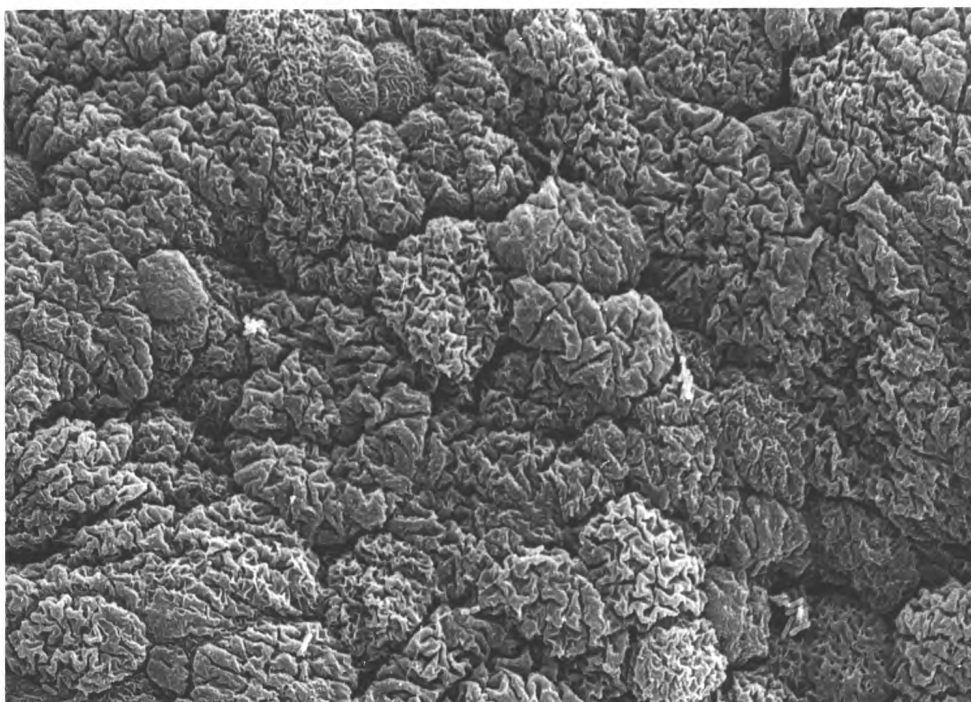
9



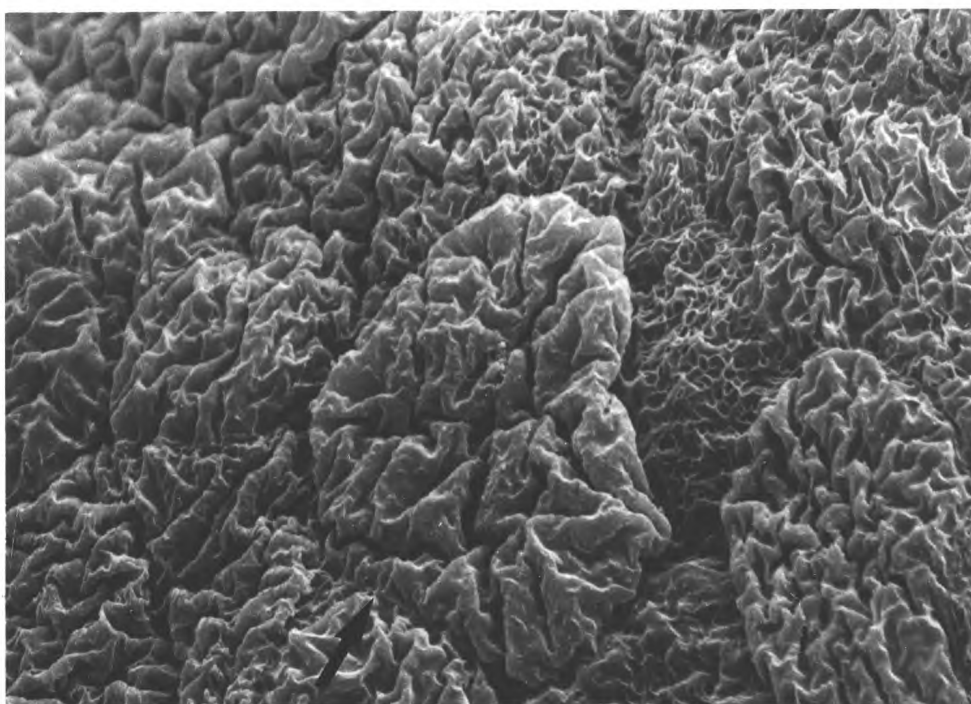
10





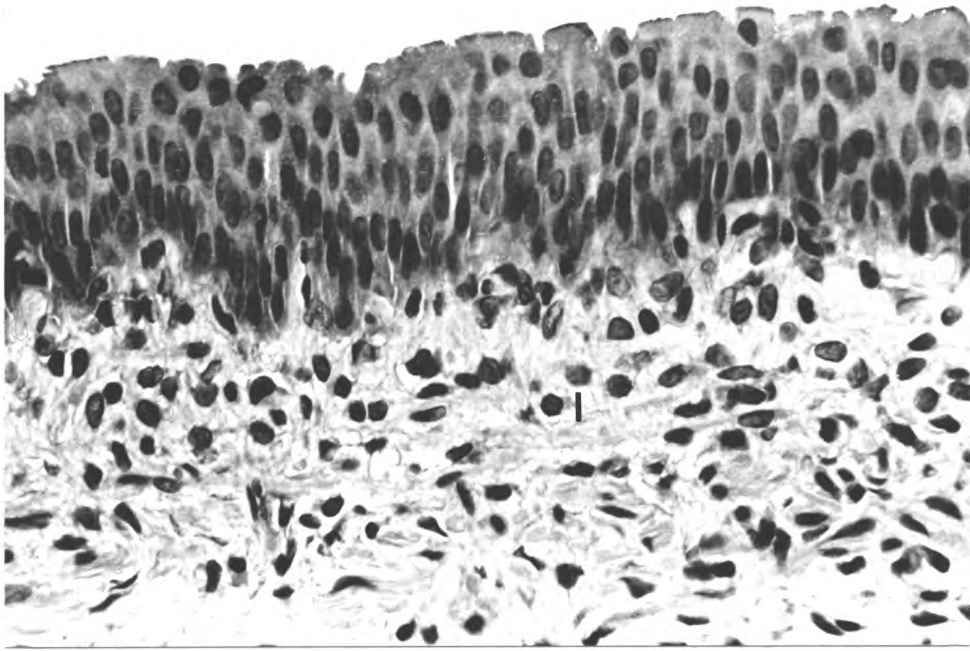


12

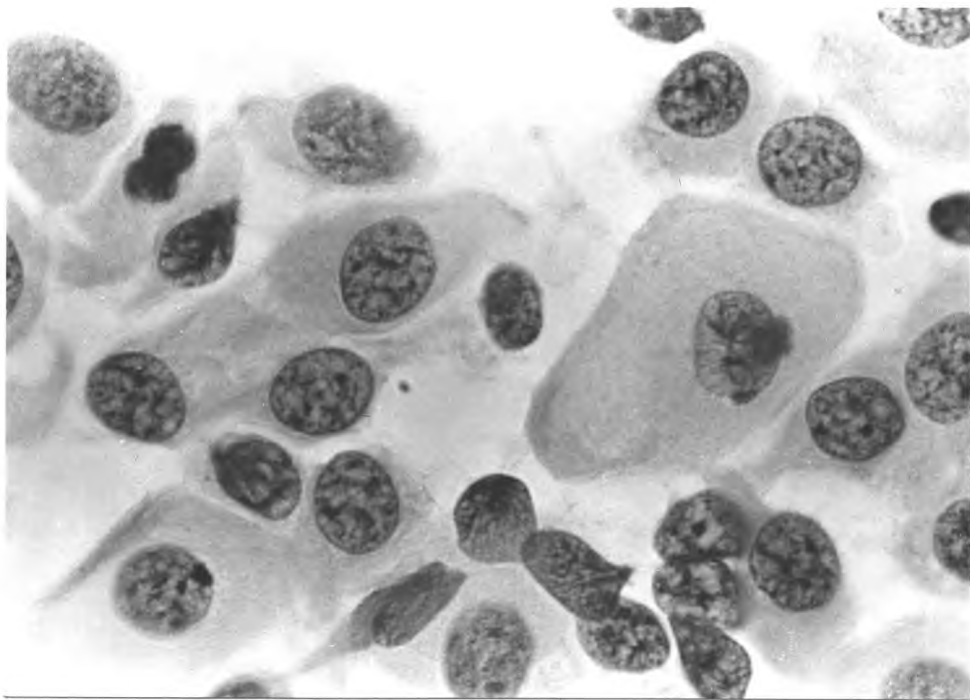


13

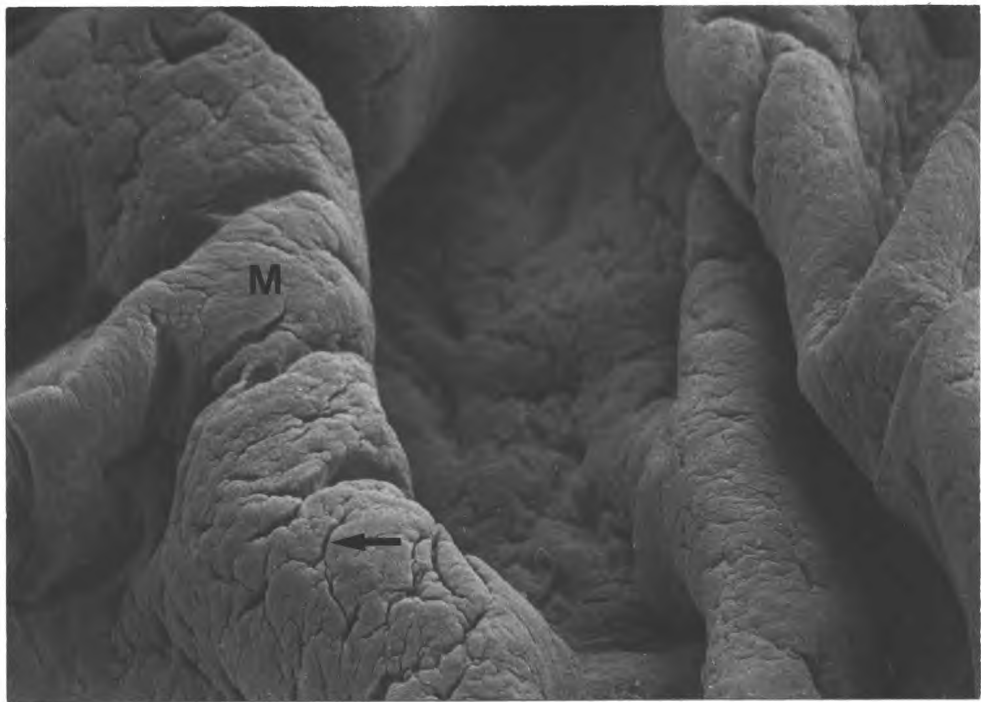
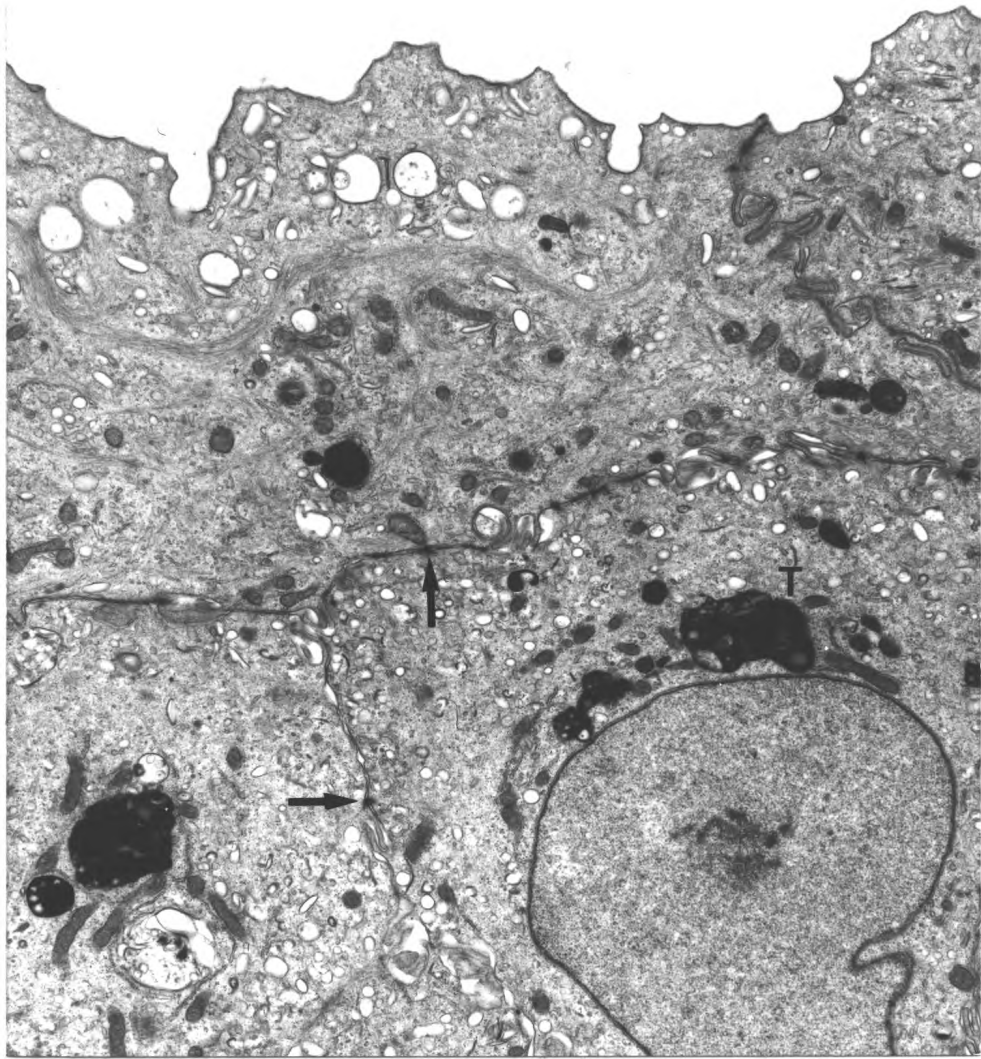
14

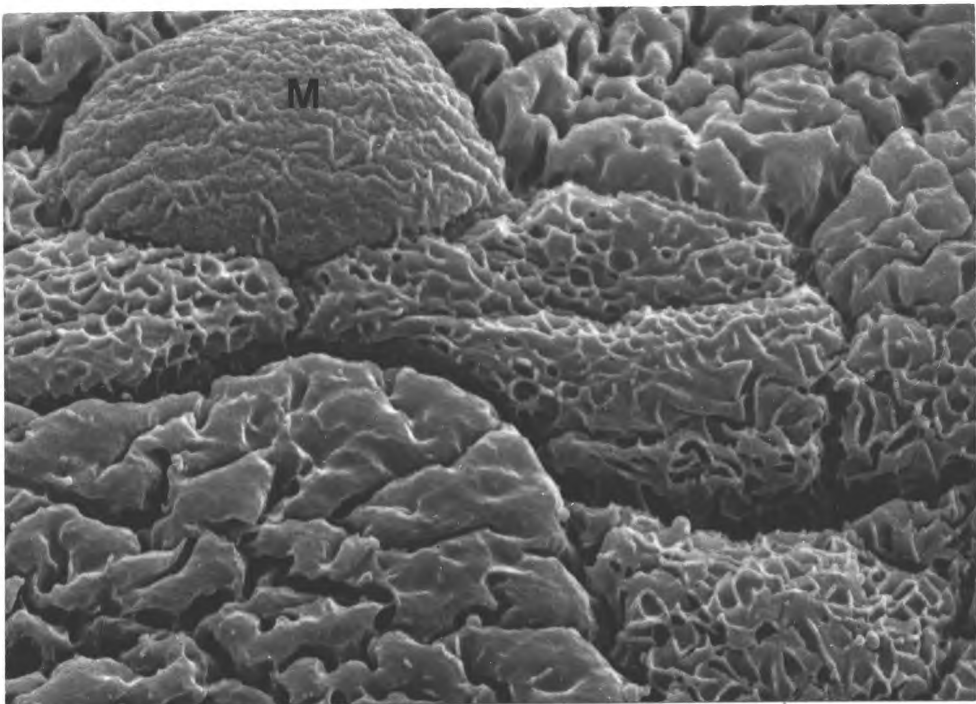
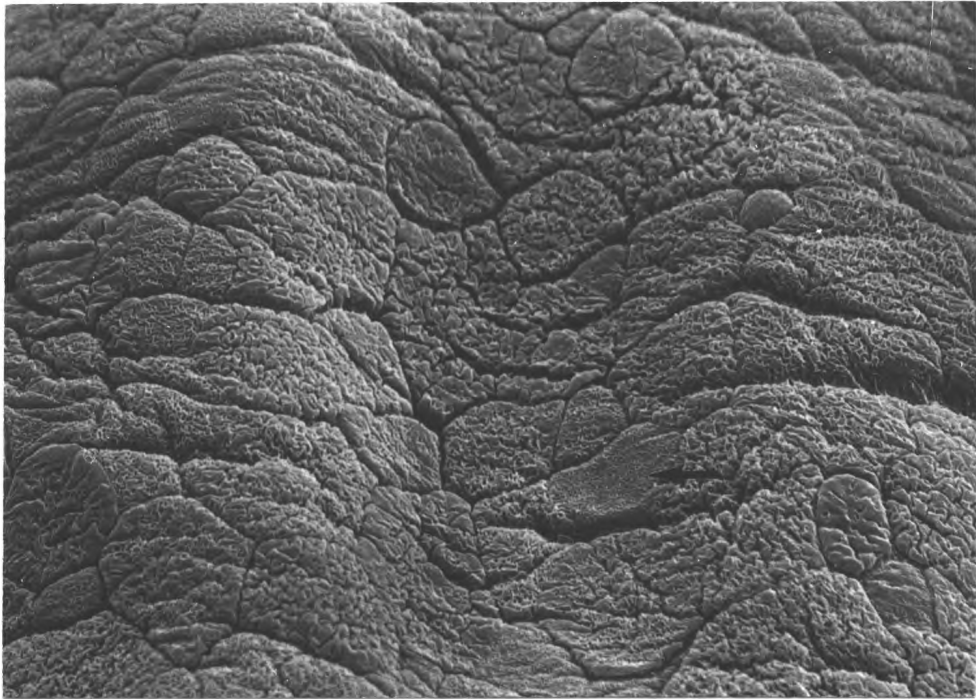


15

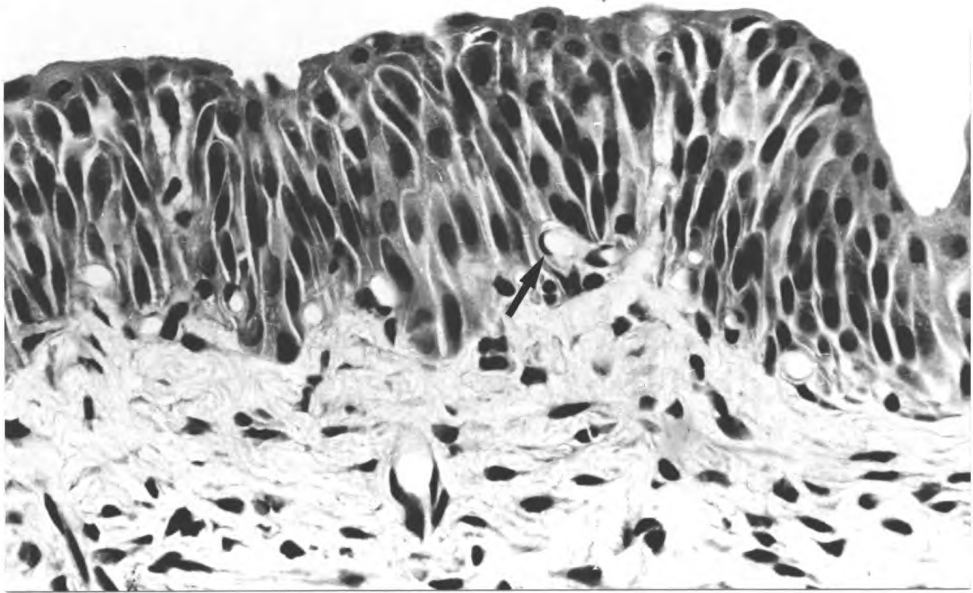




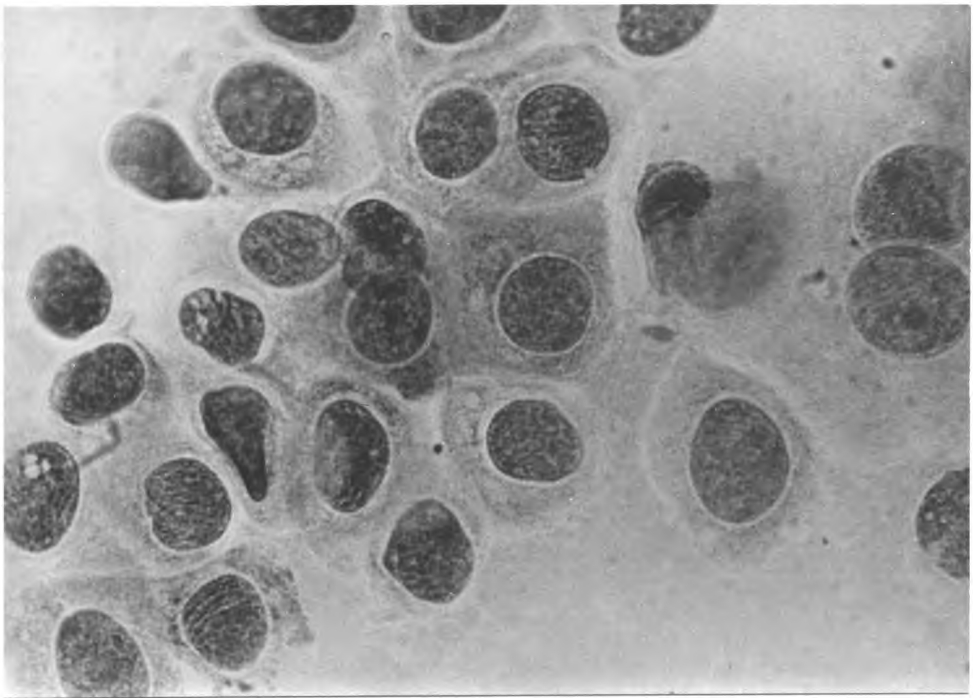


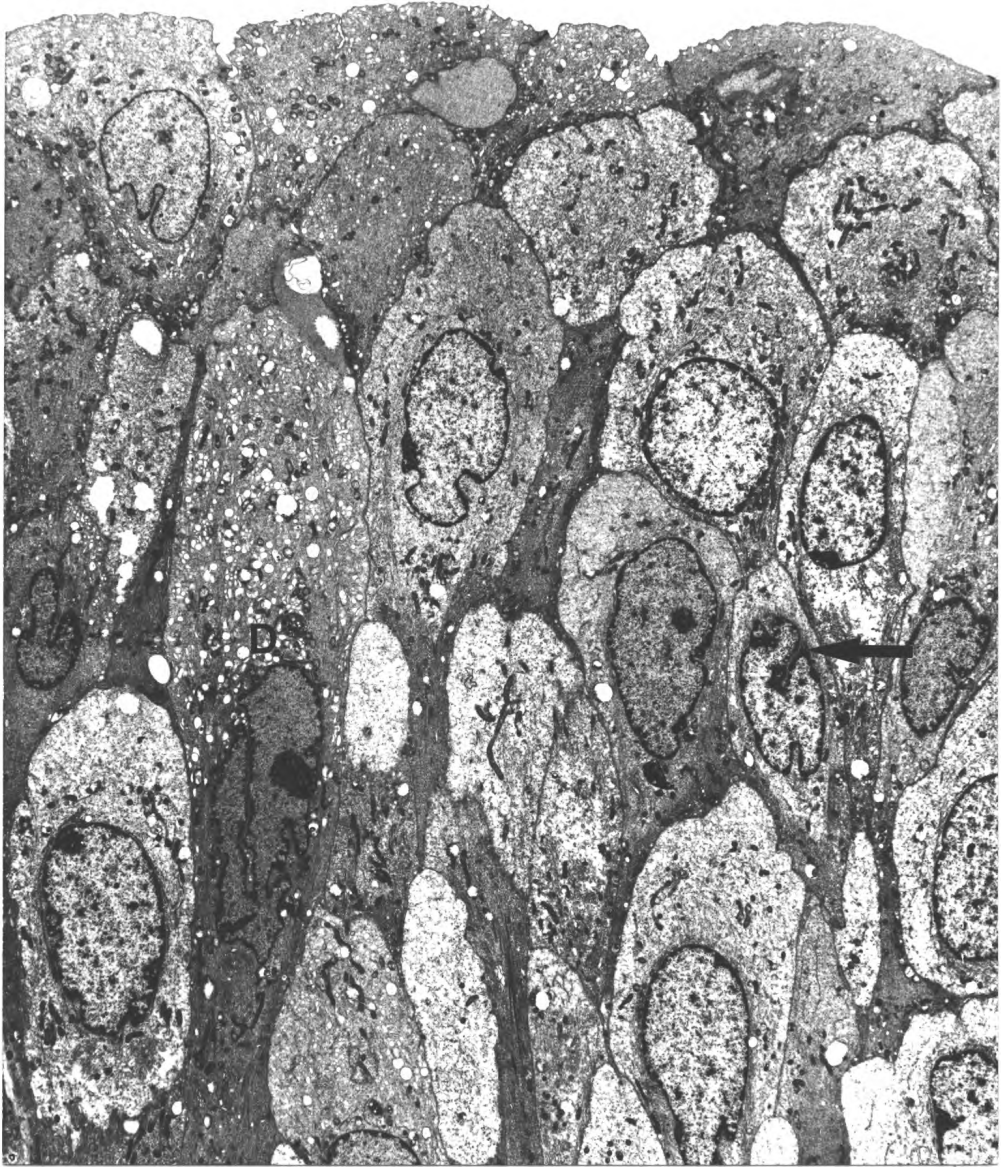


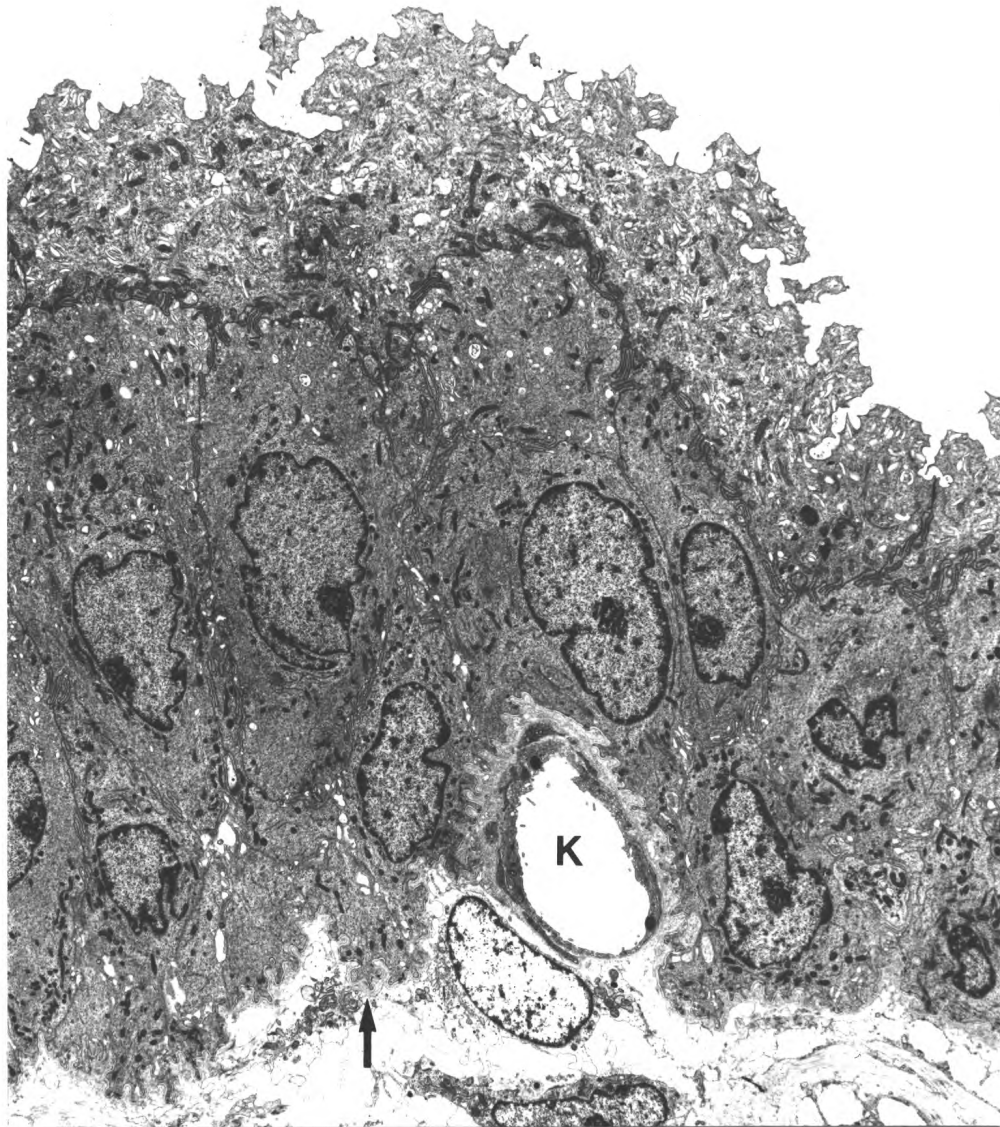
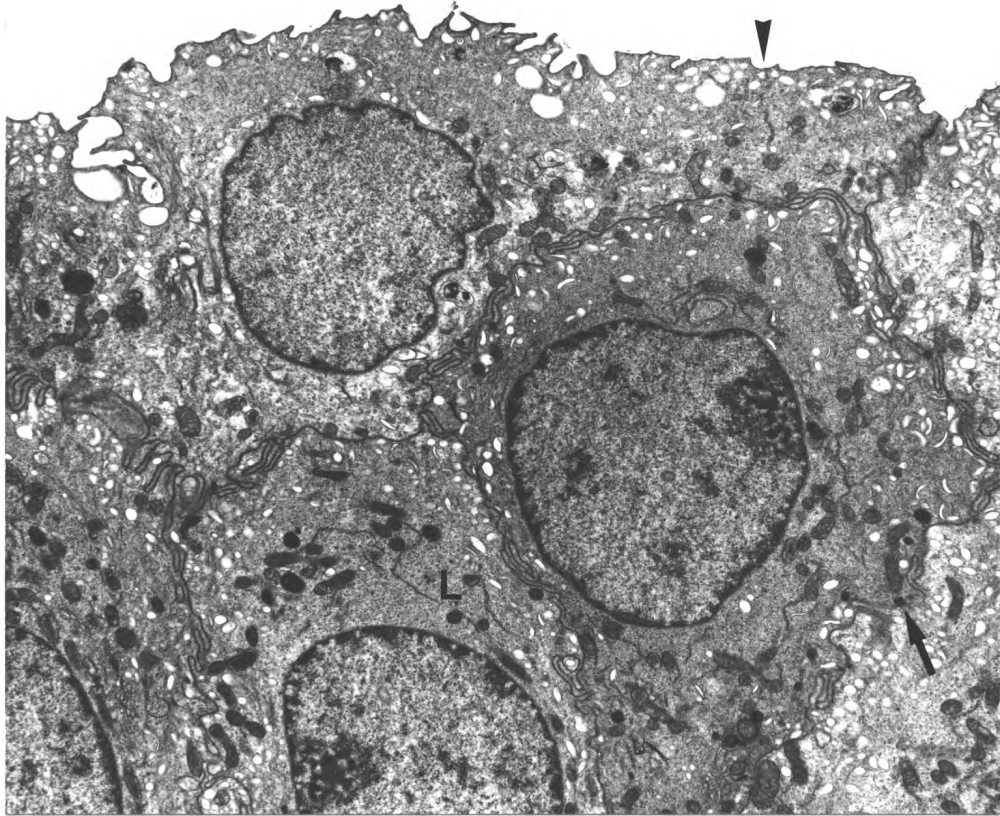
21

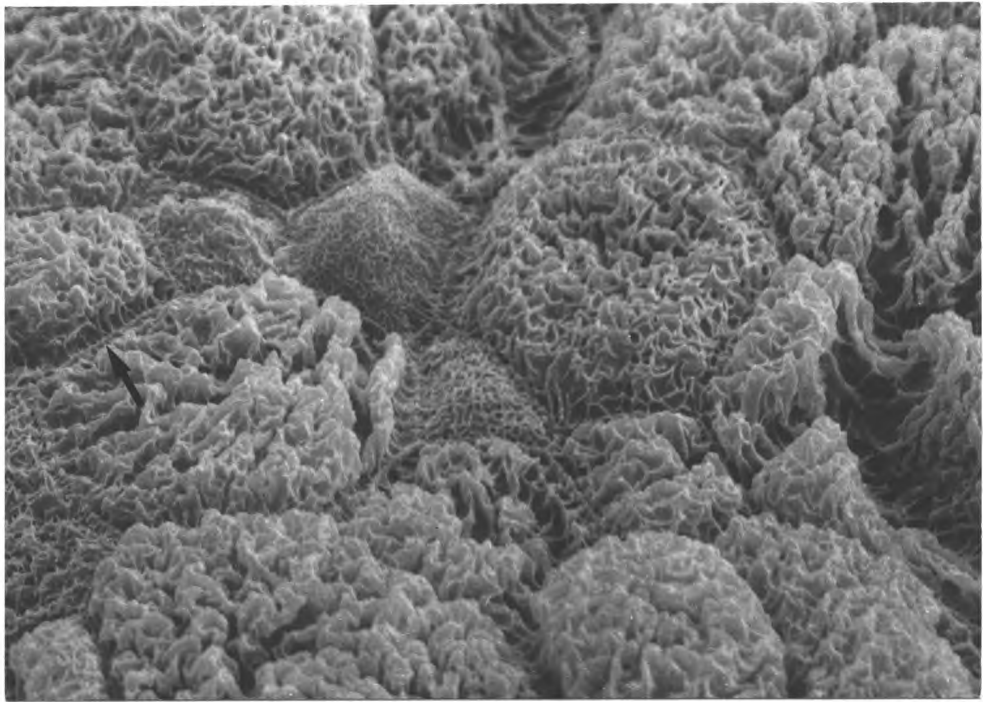
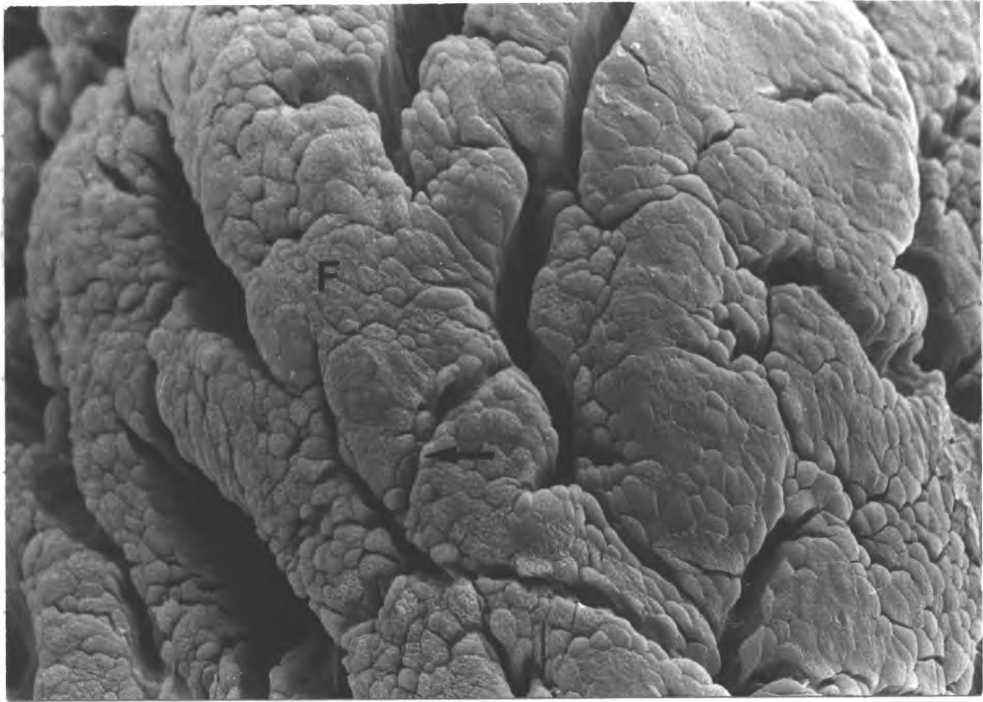


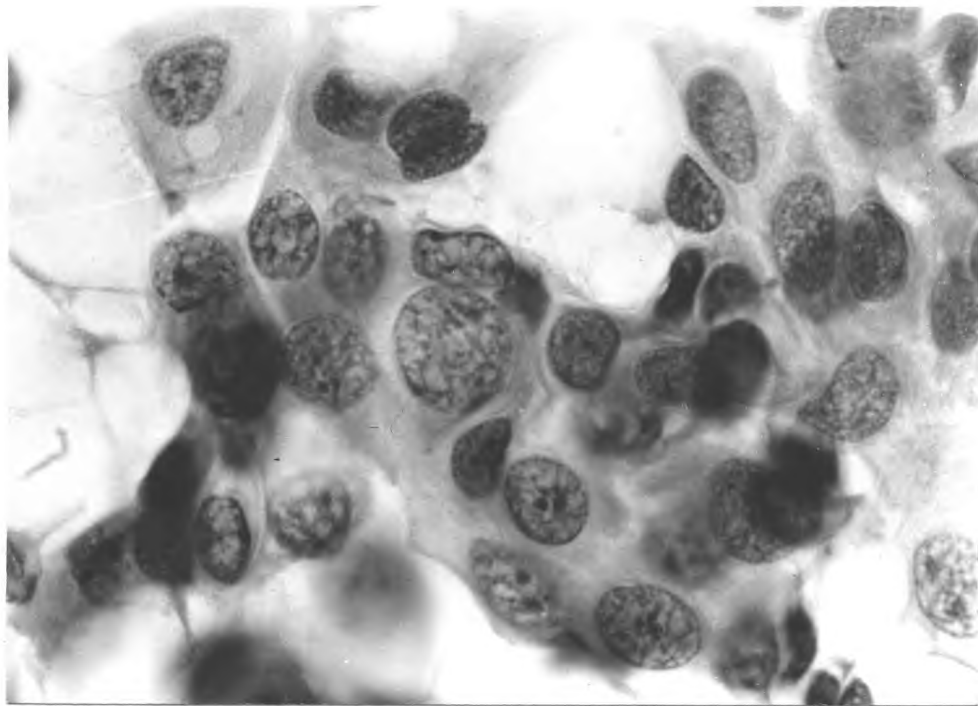
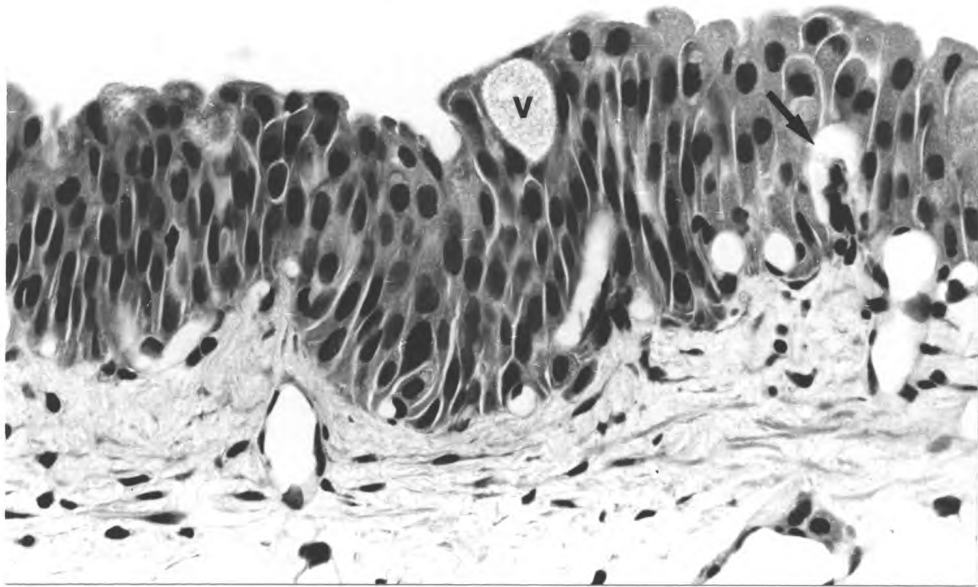
22

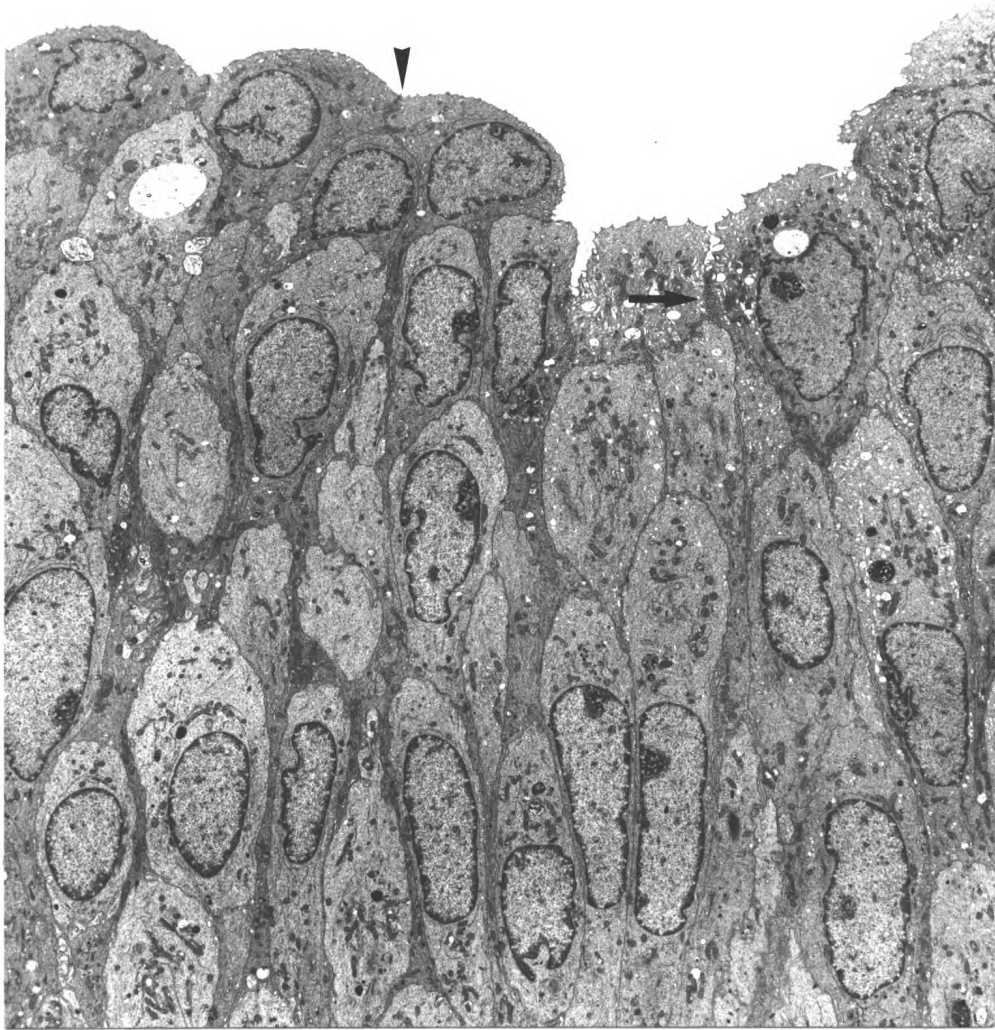




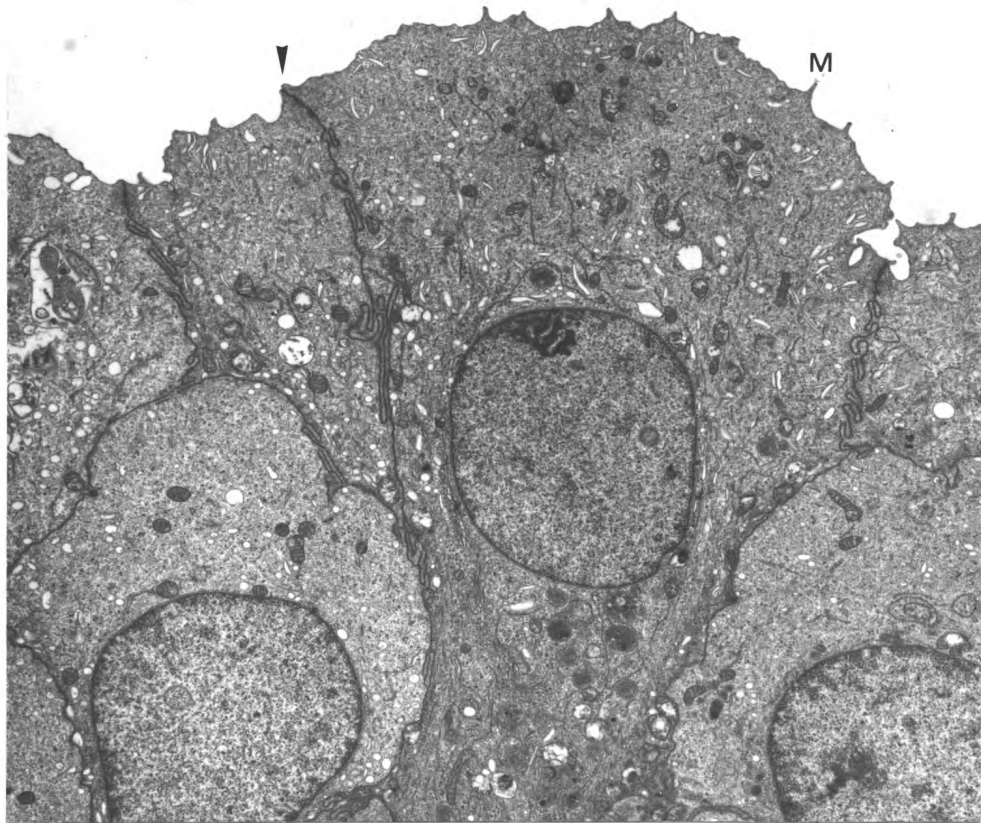




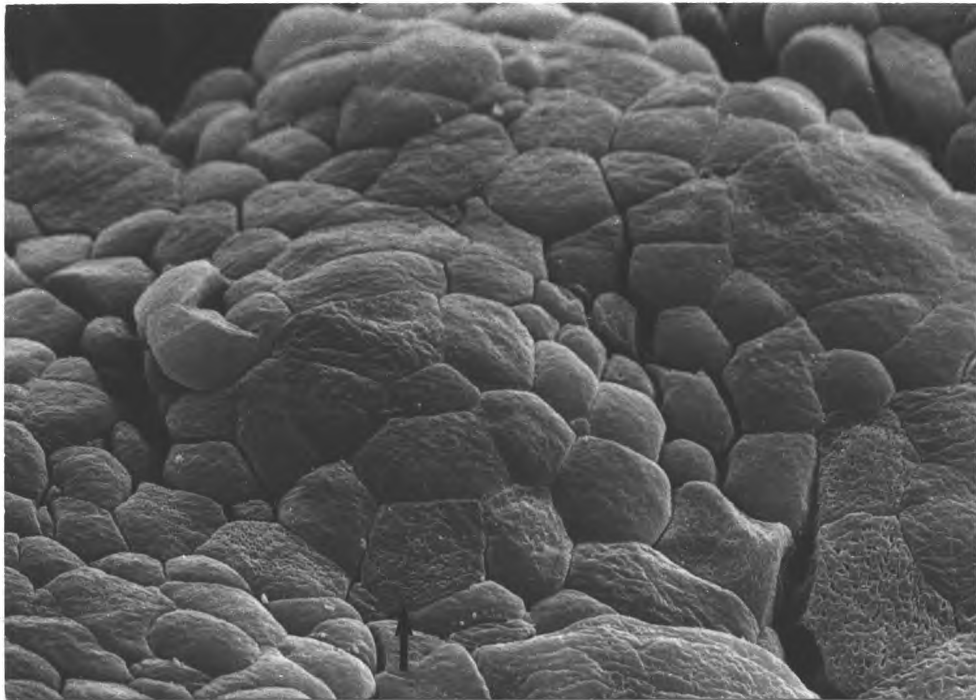


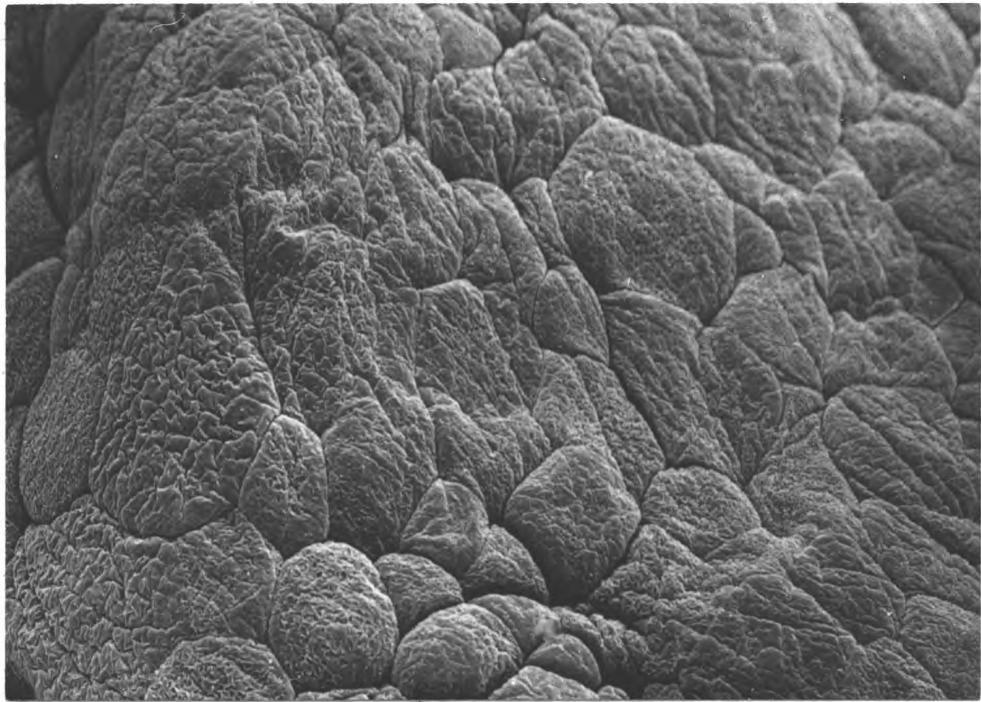


31



32



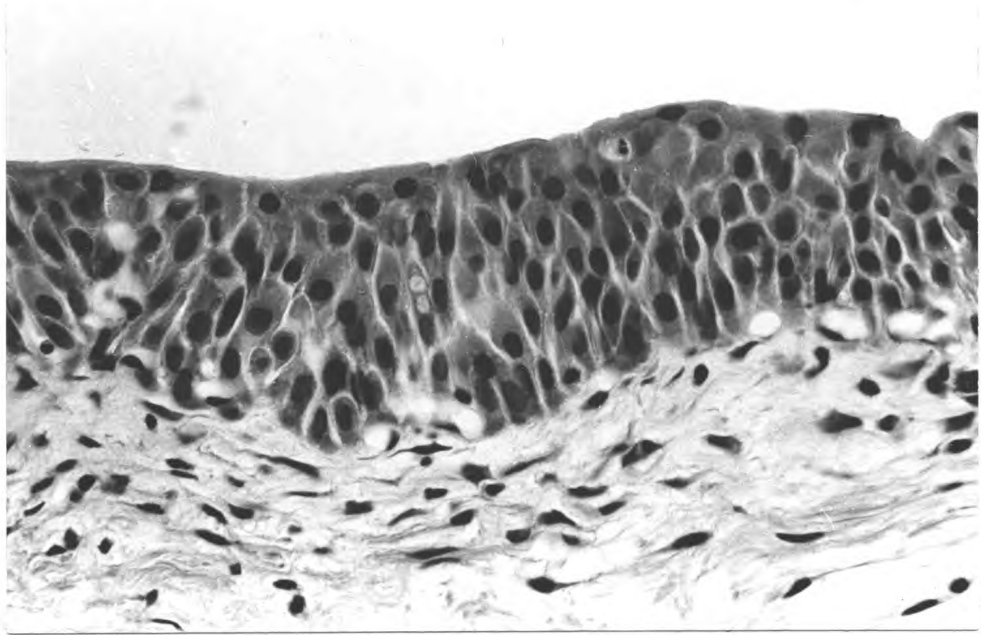


33

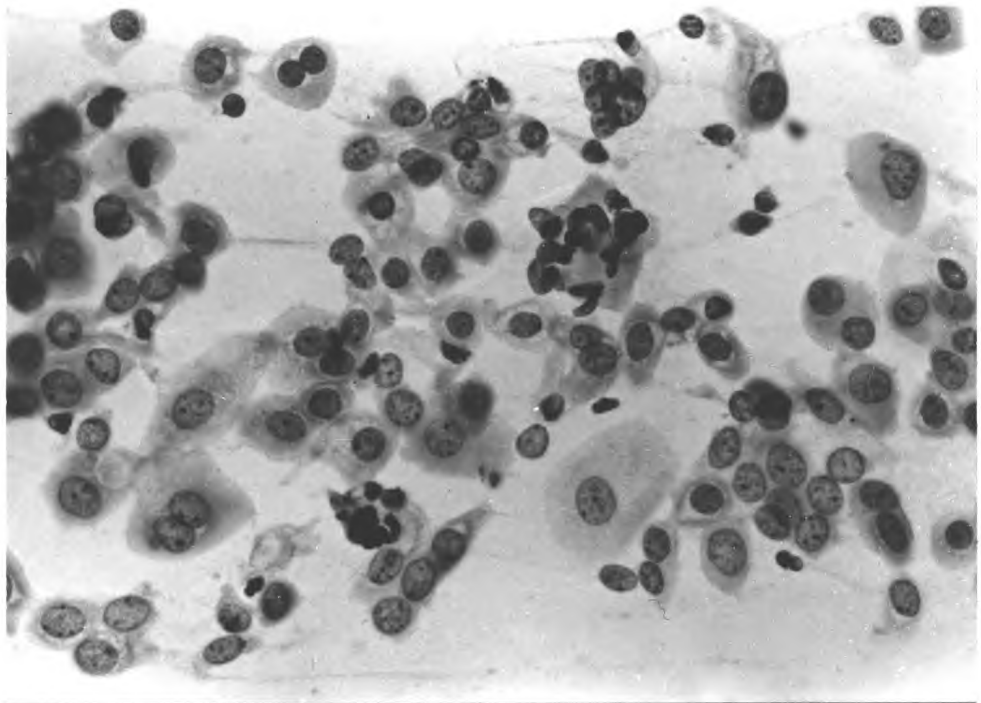


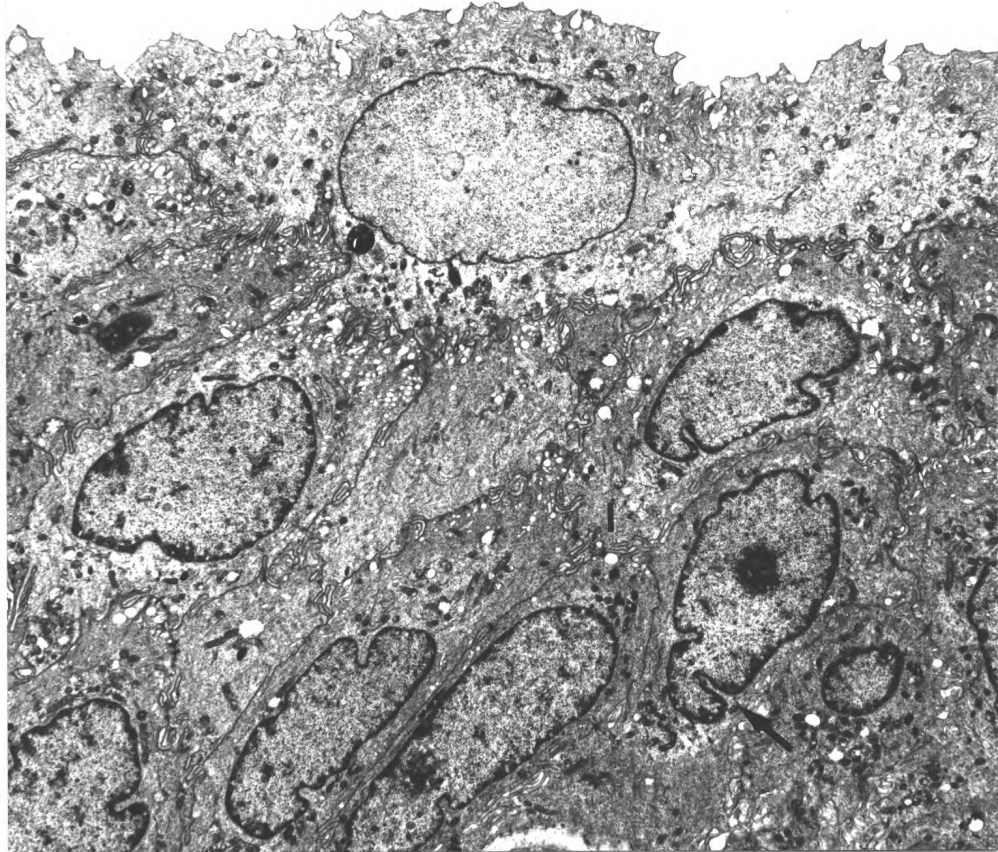
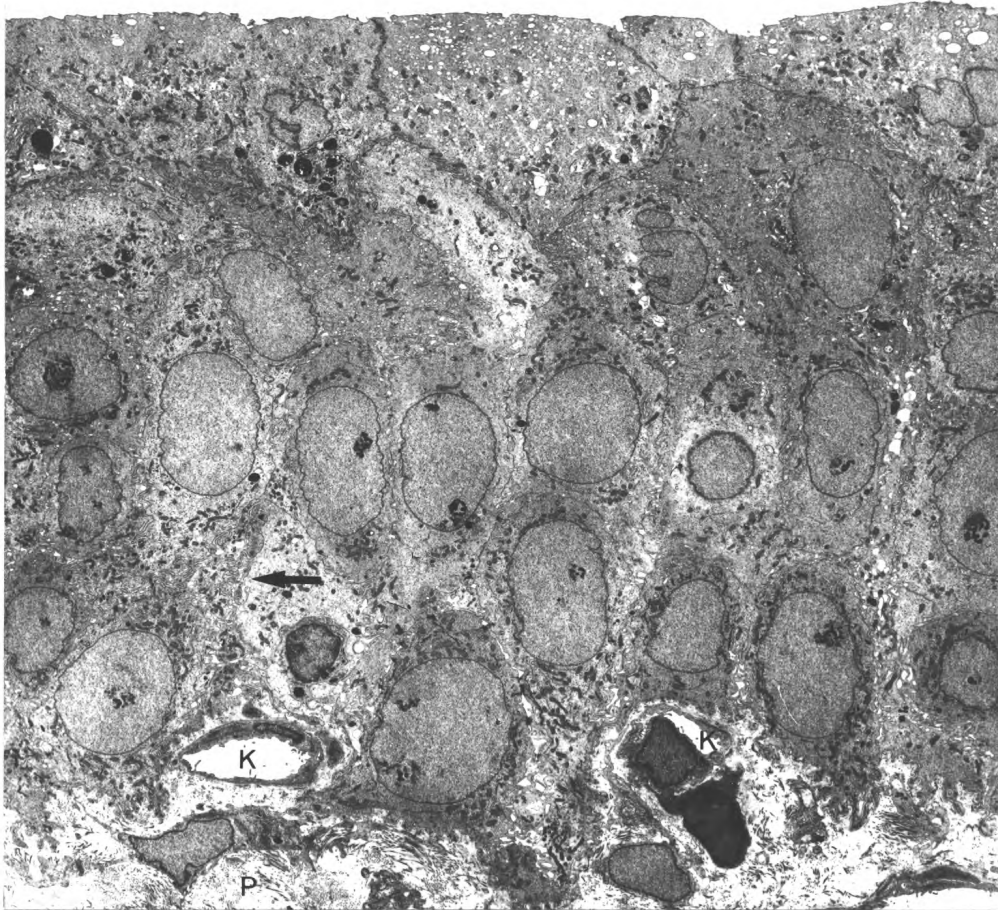
34

35

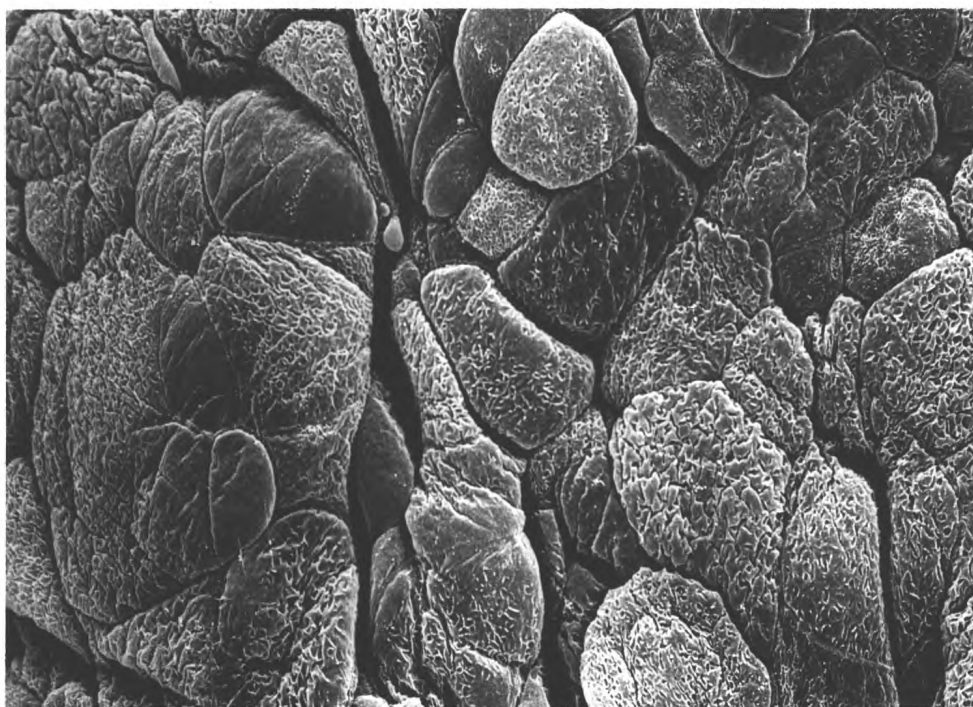


36

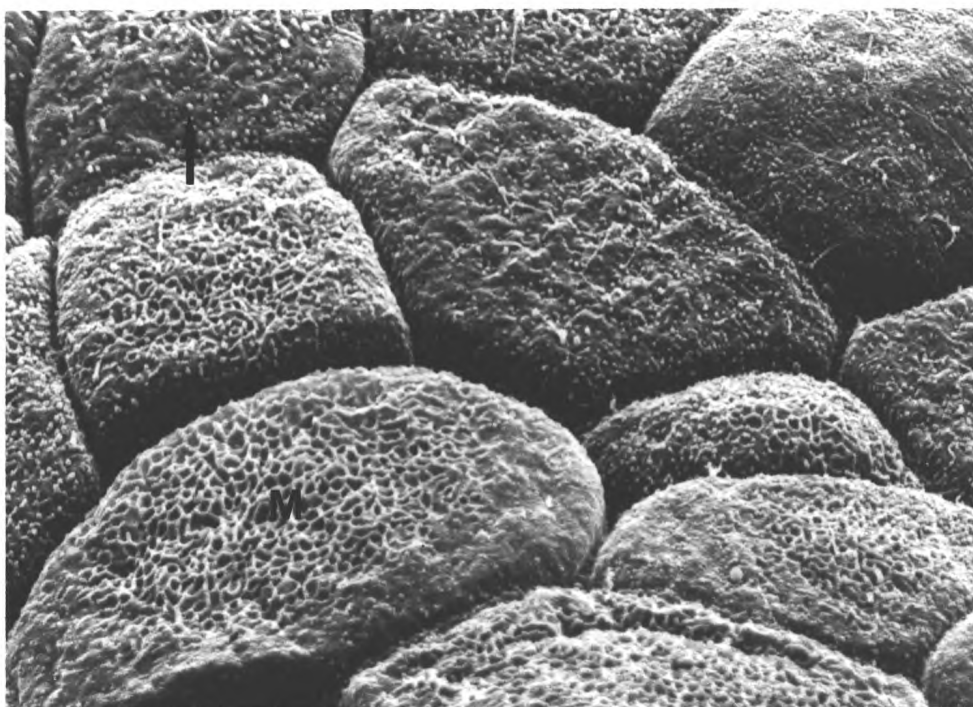




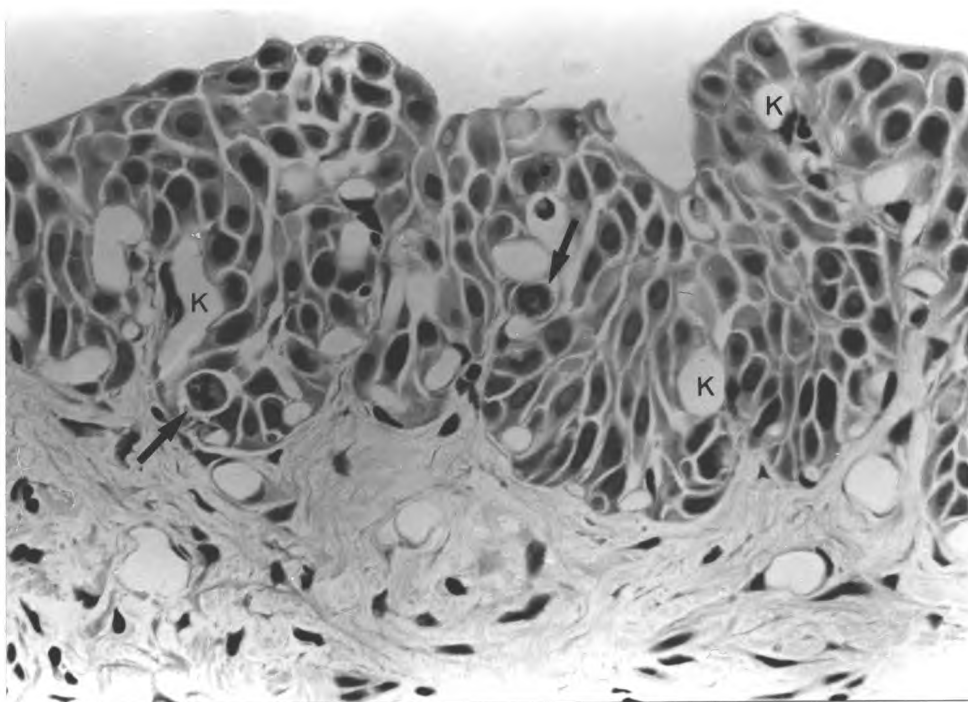
39



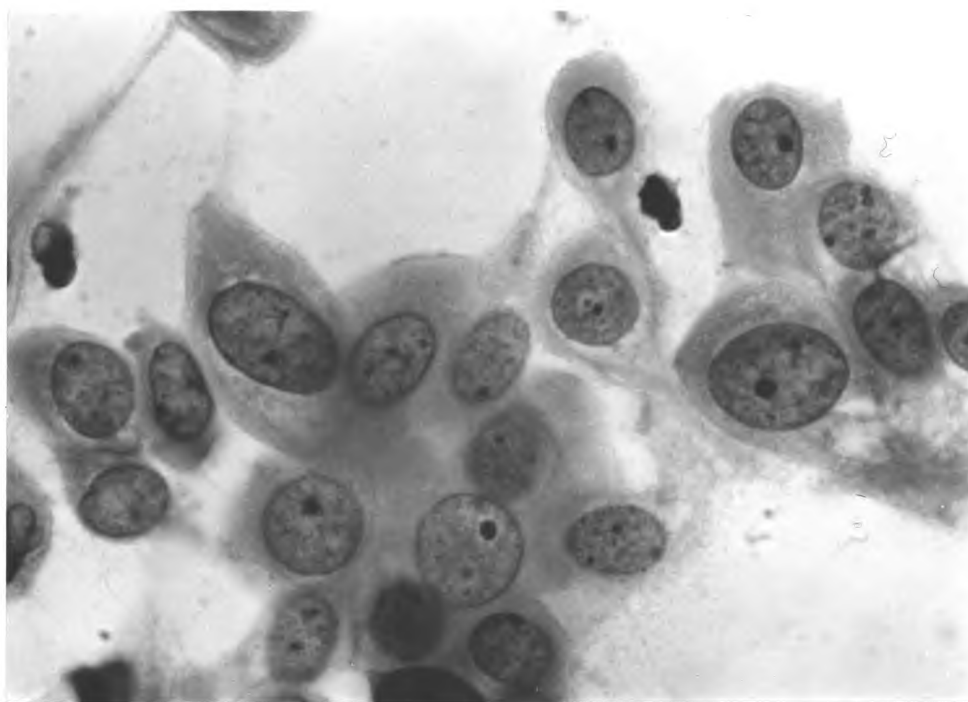
40

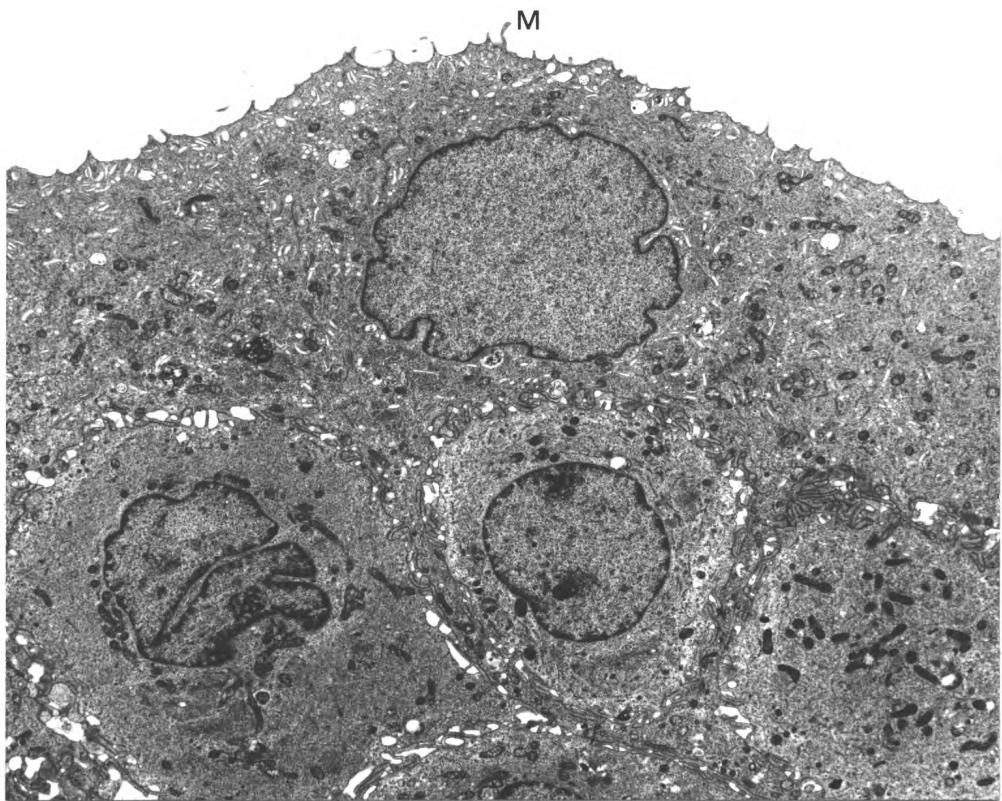
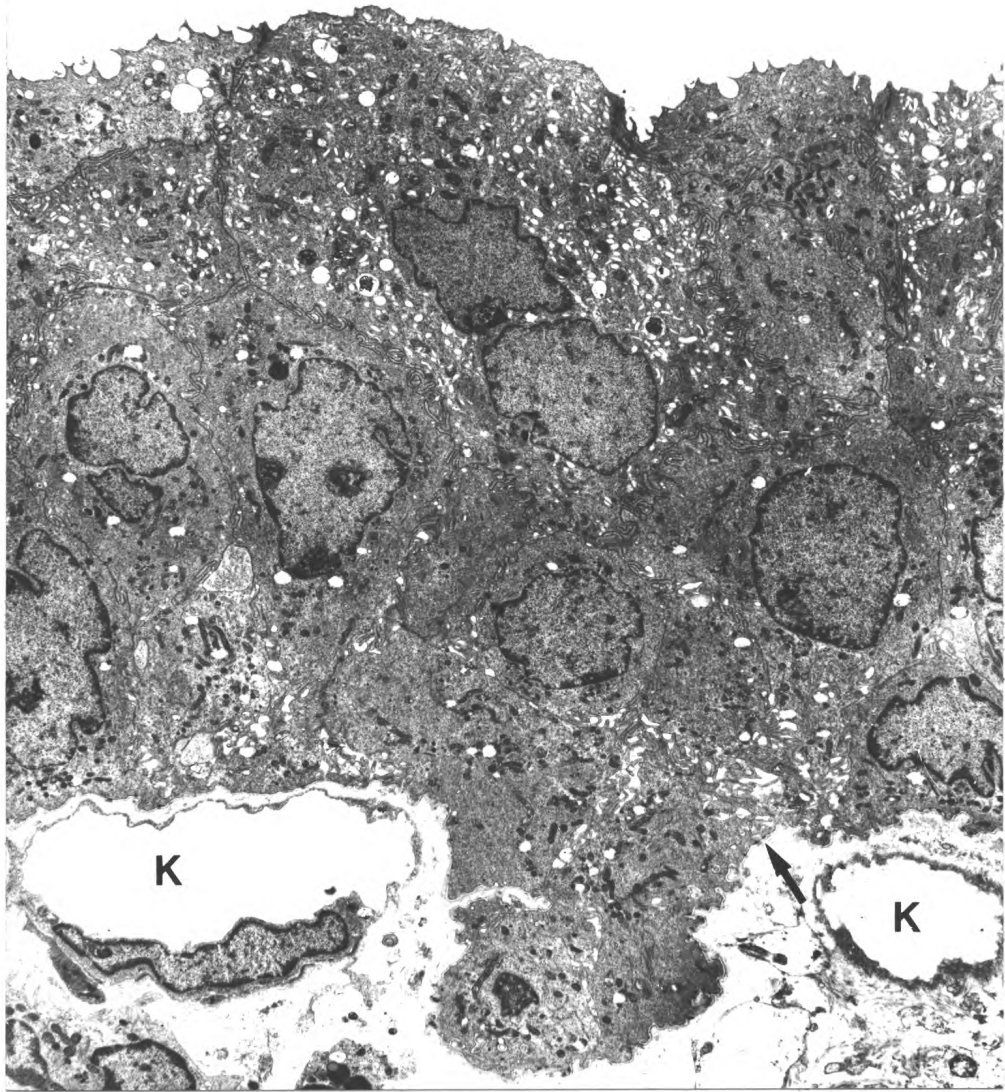


41



42

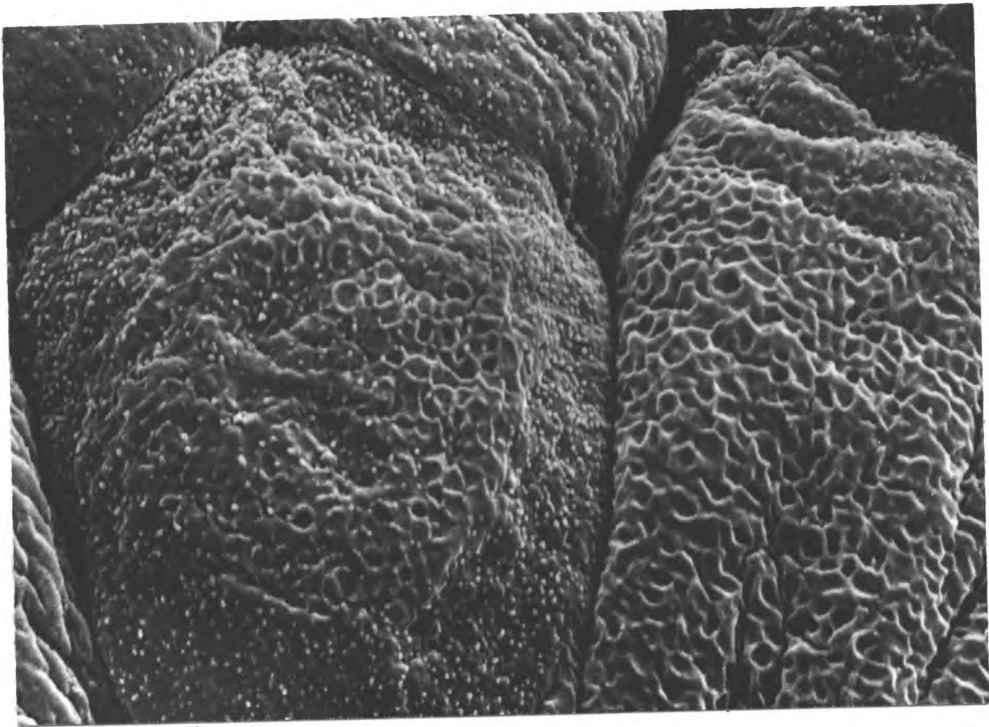




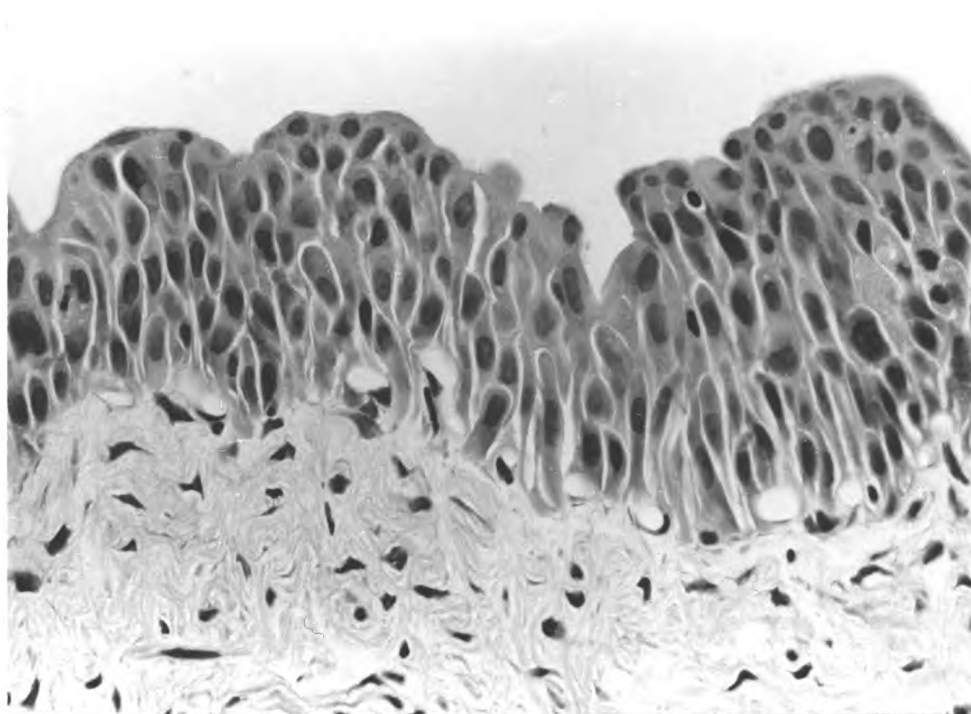
45



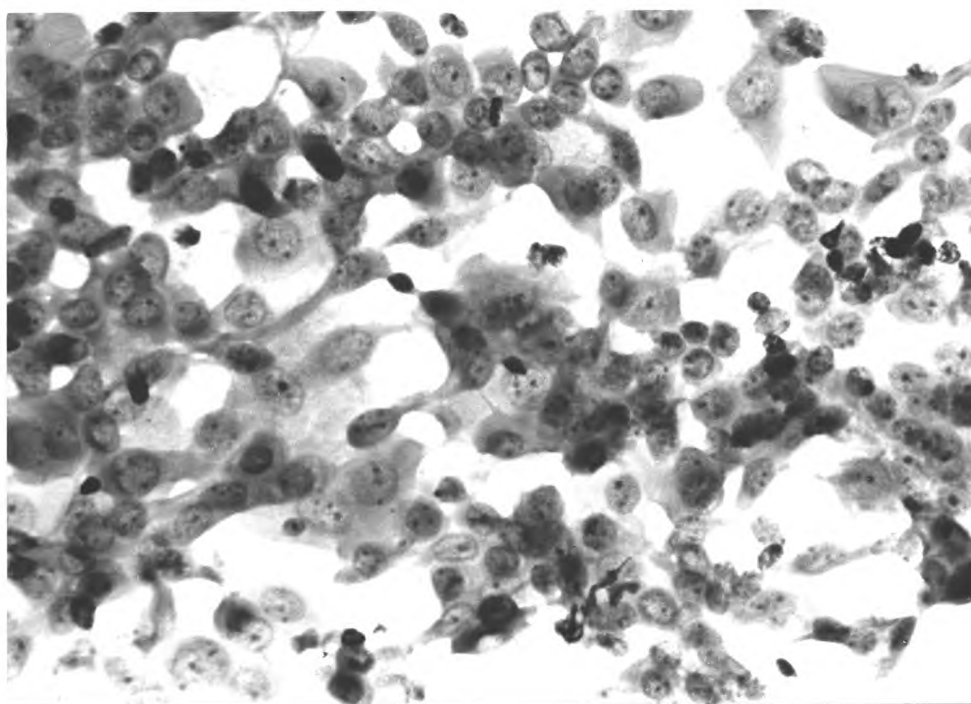
46

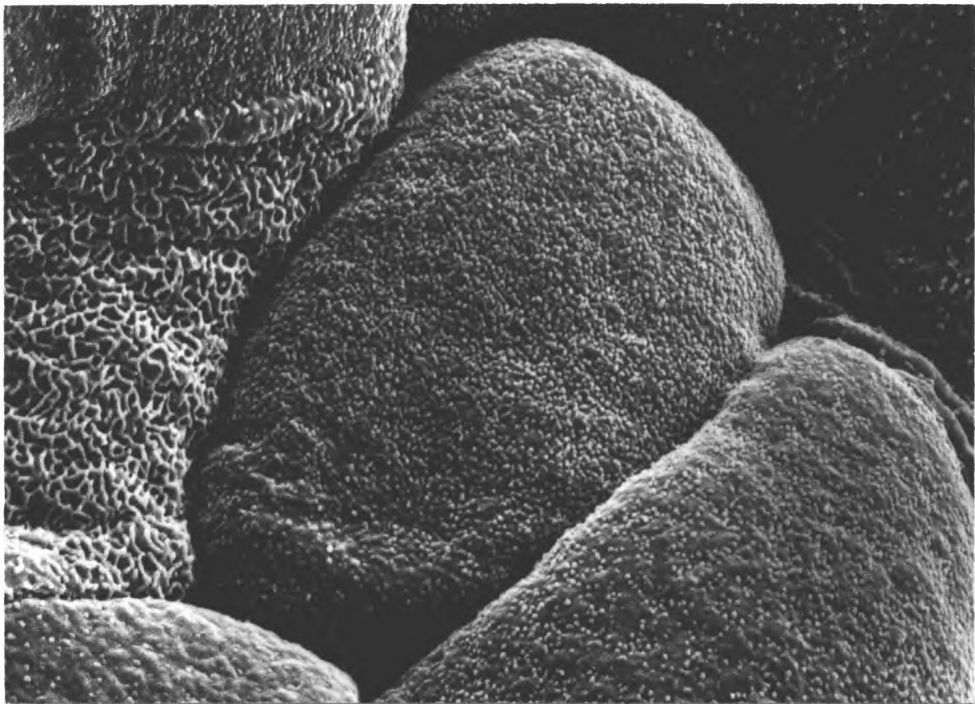
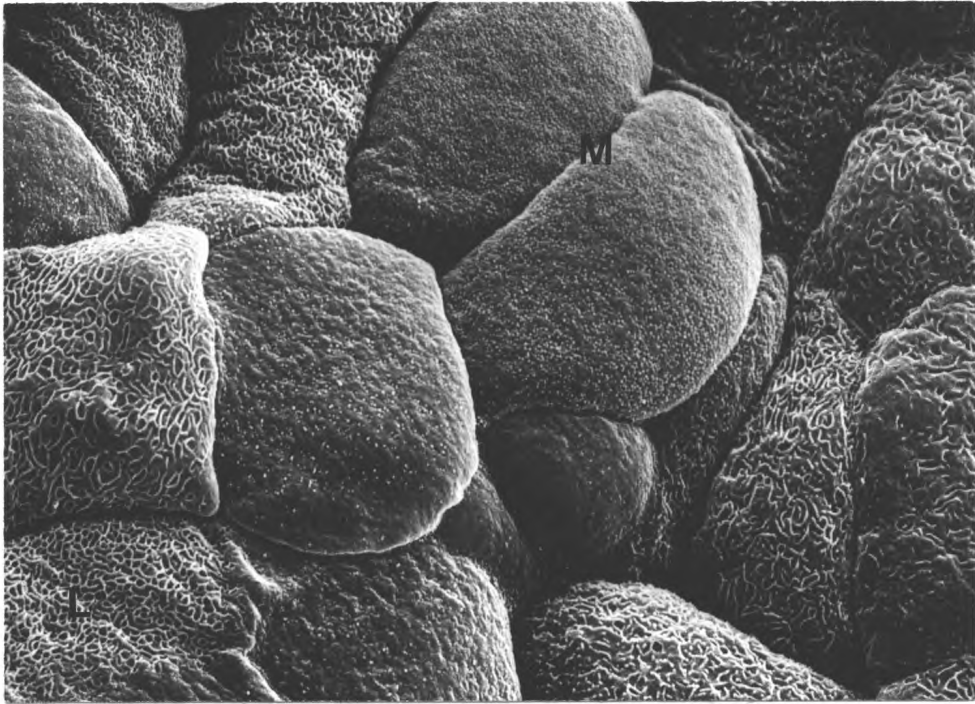


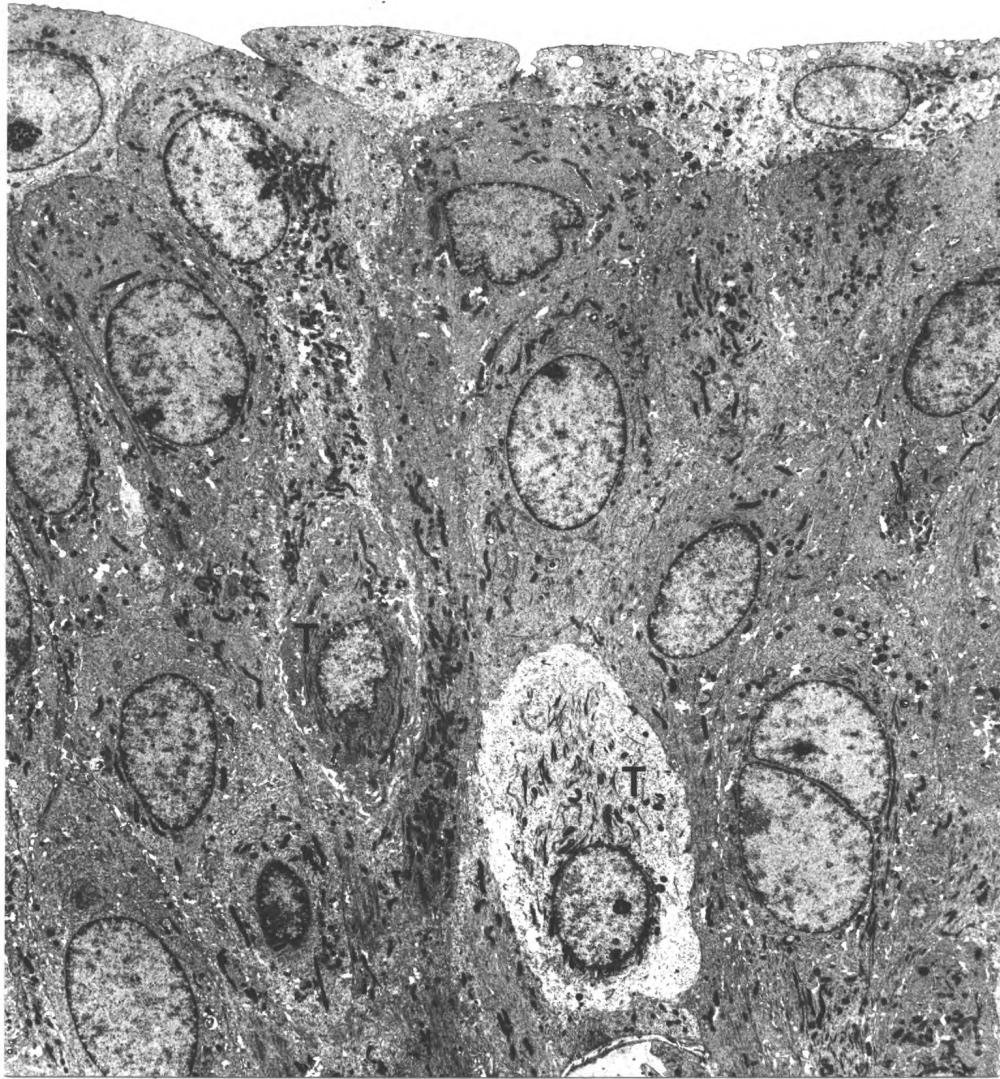
47

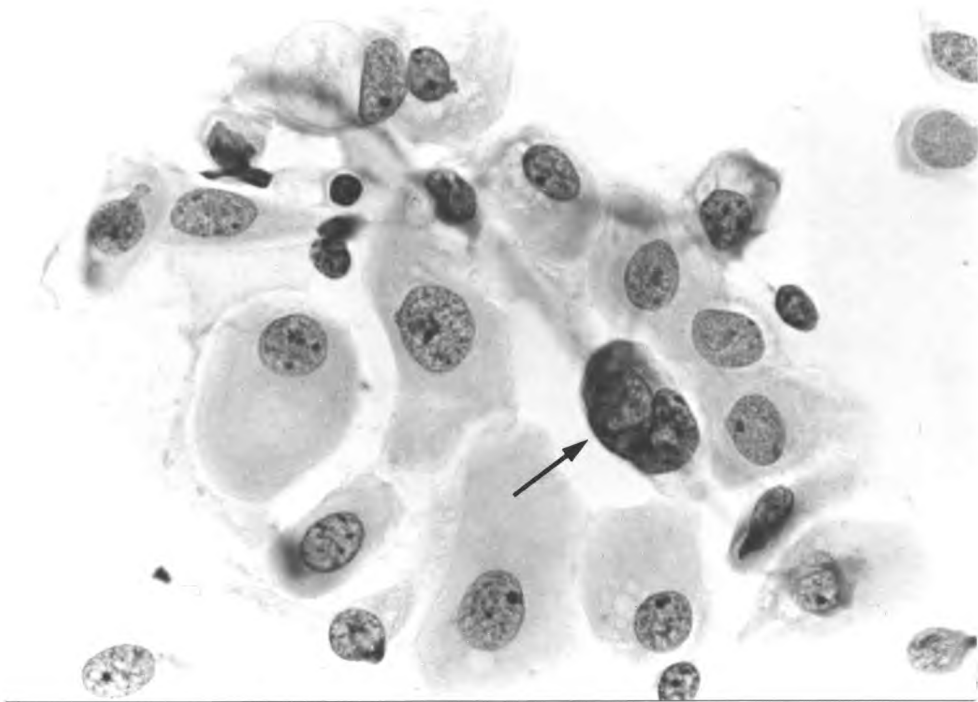
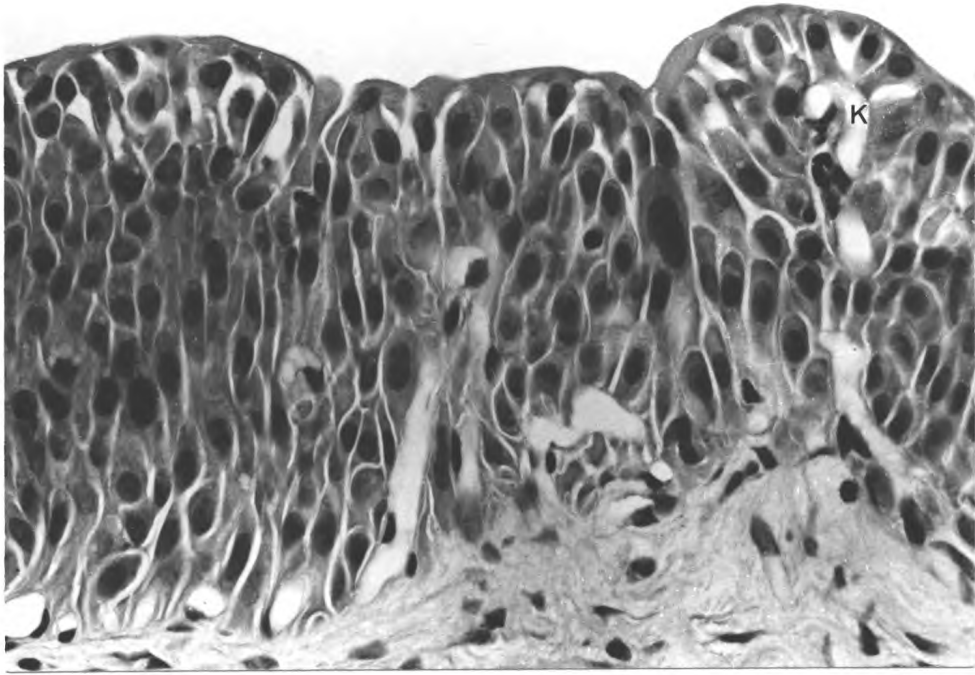


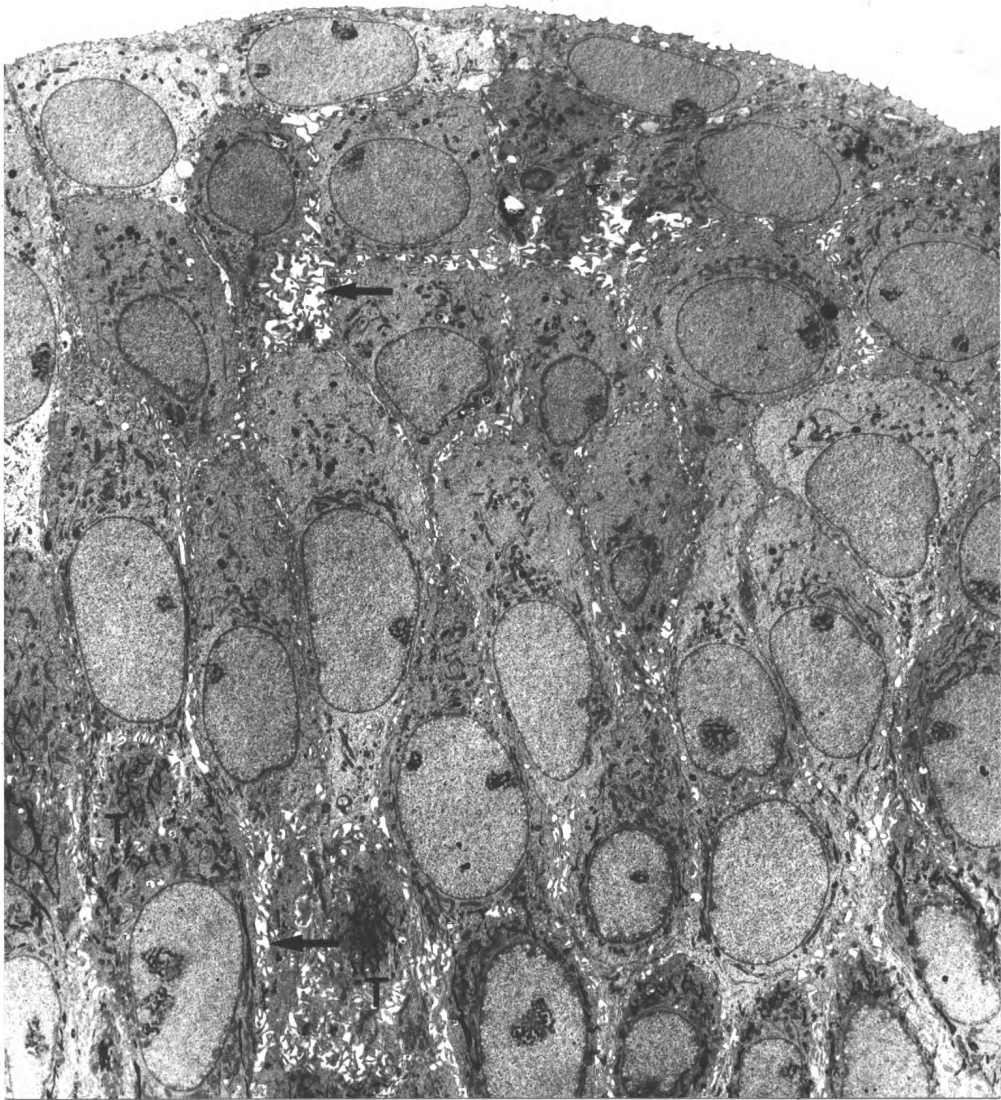
48

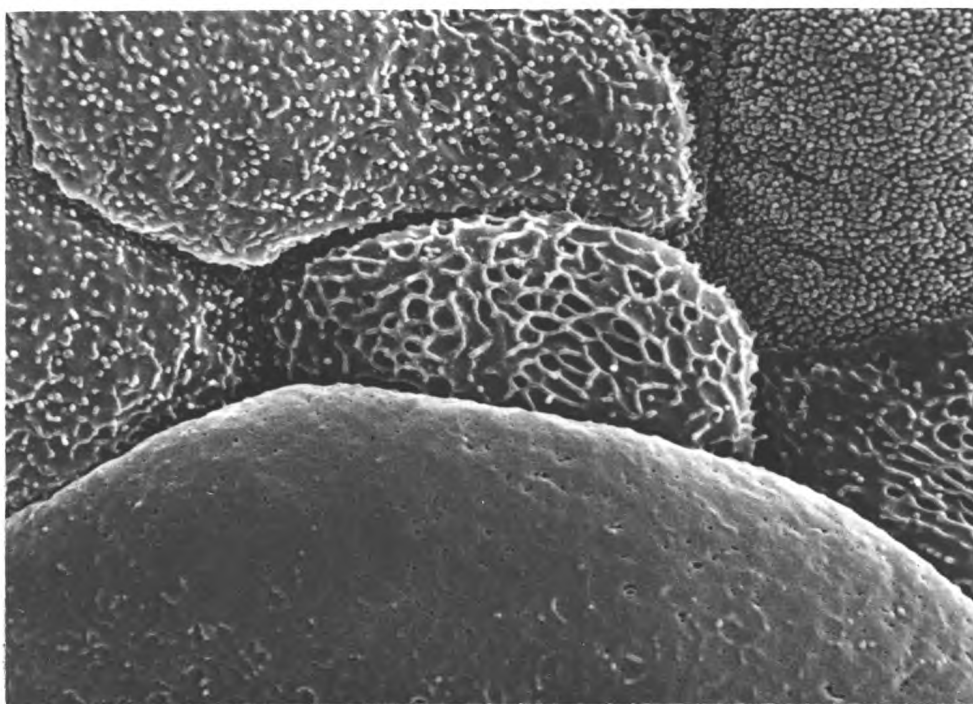
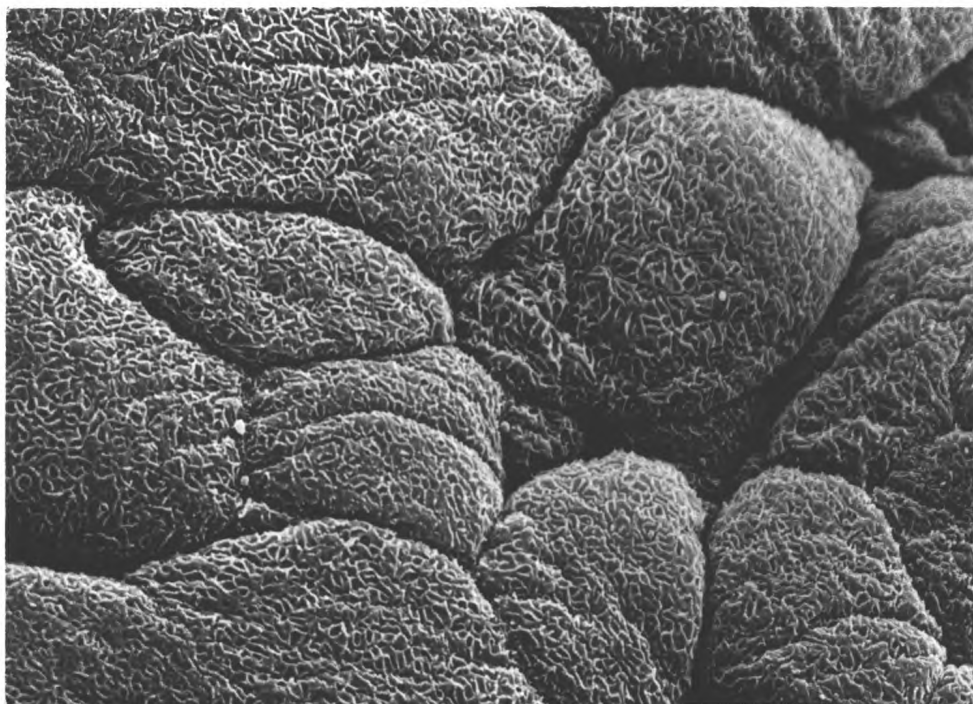


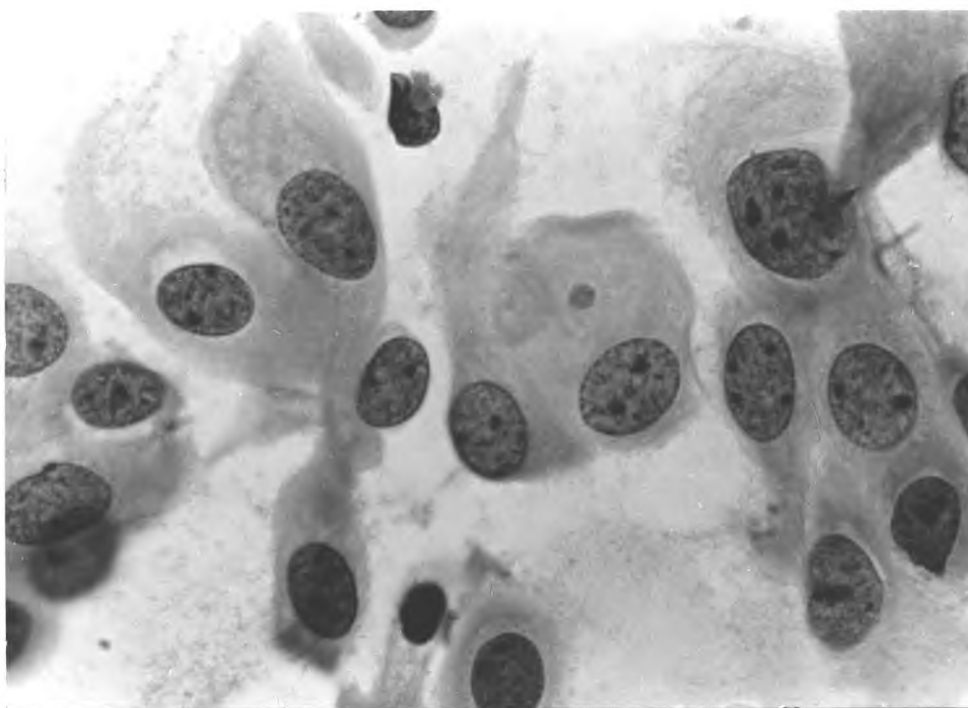
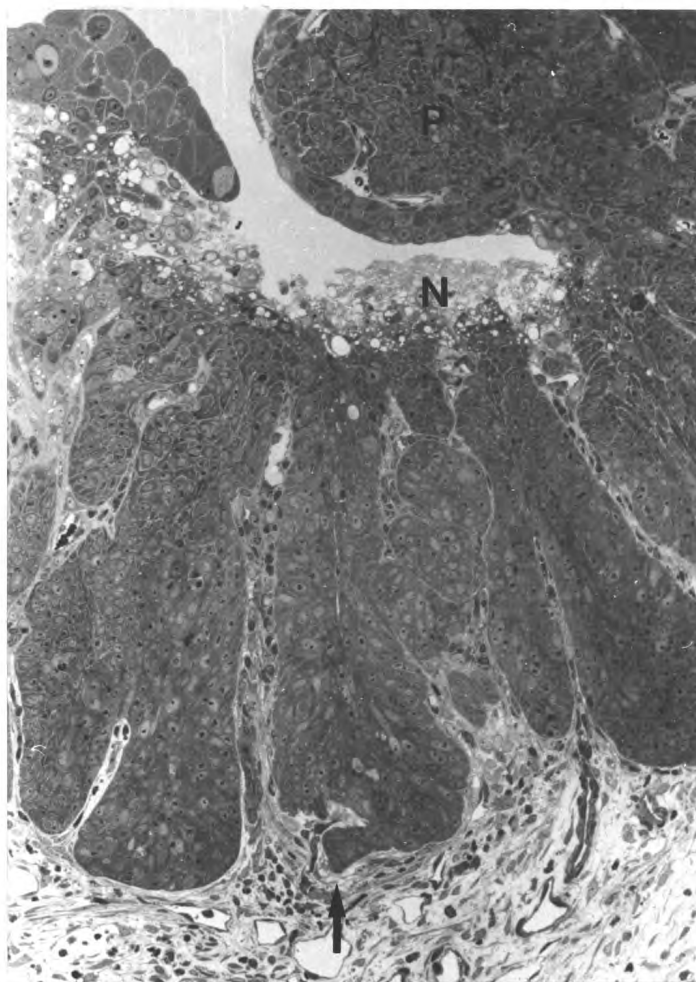


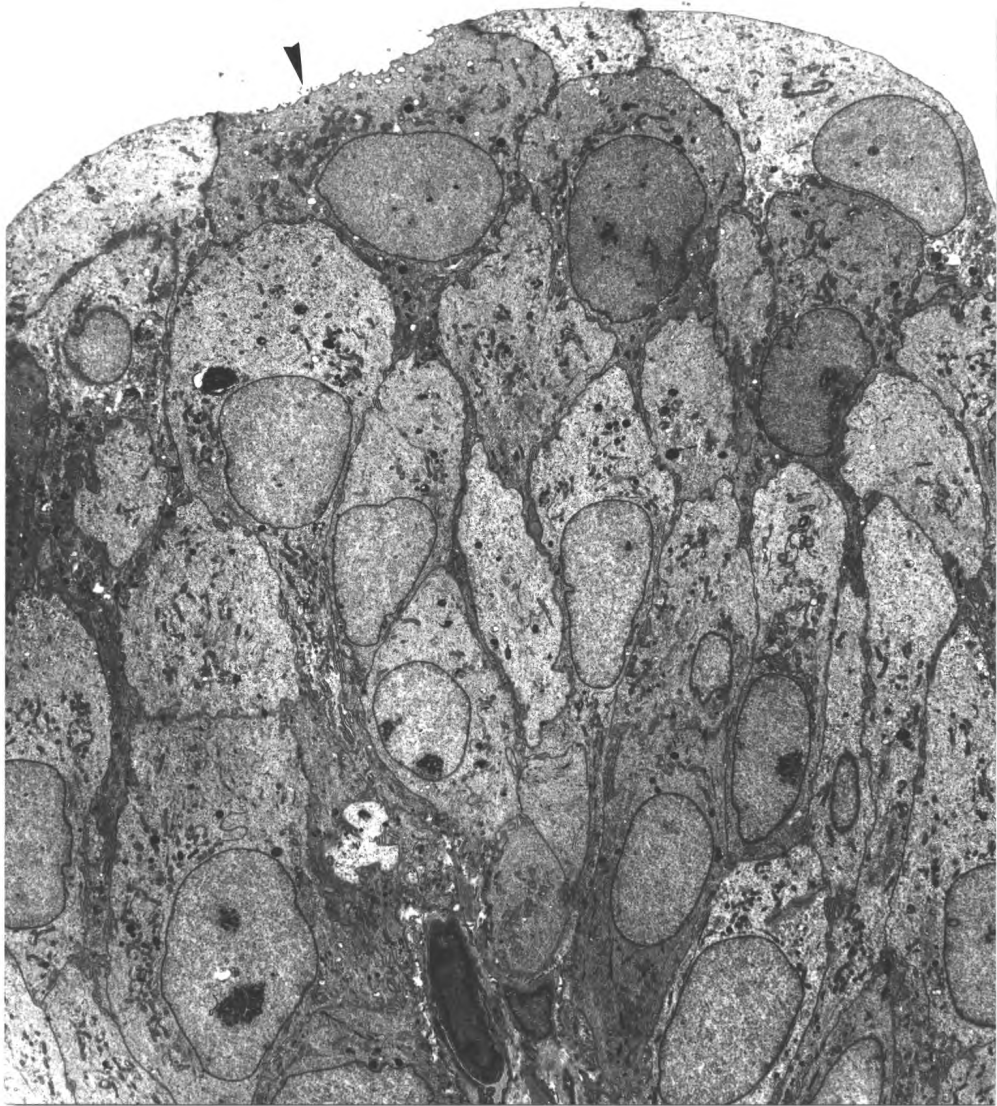


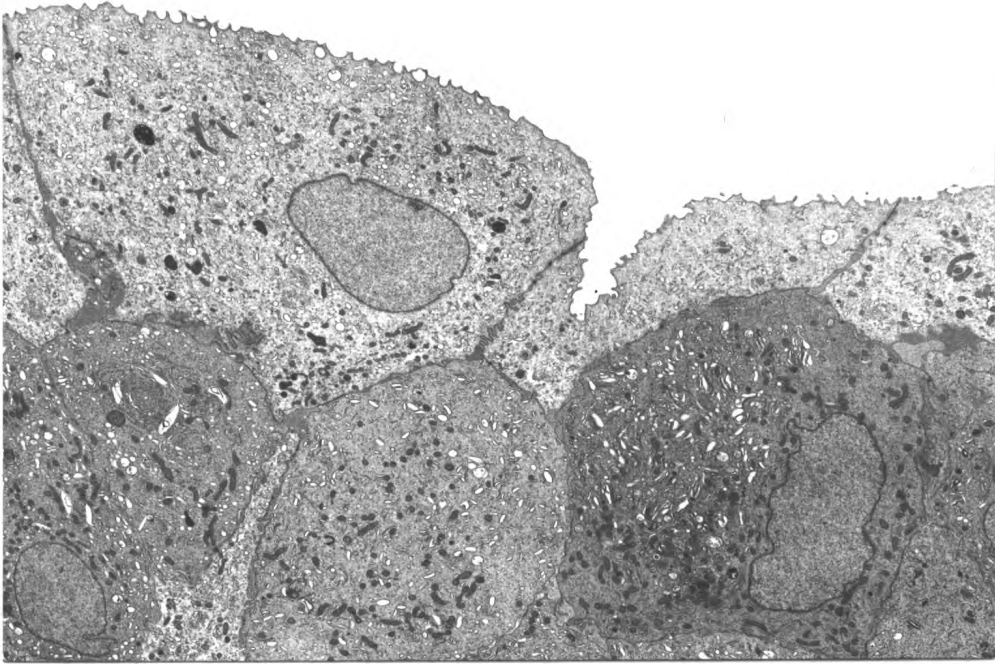
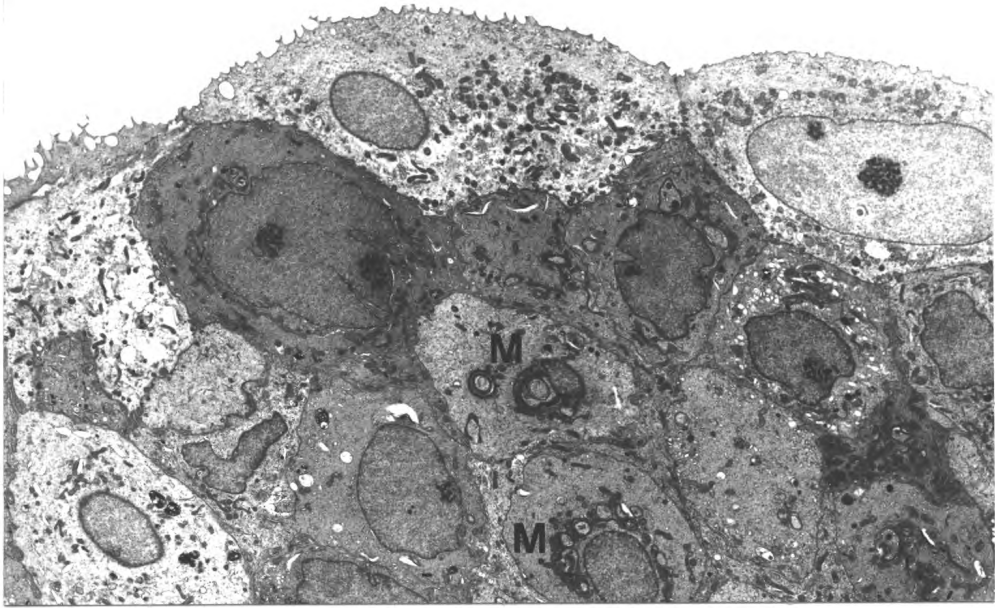




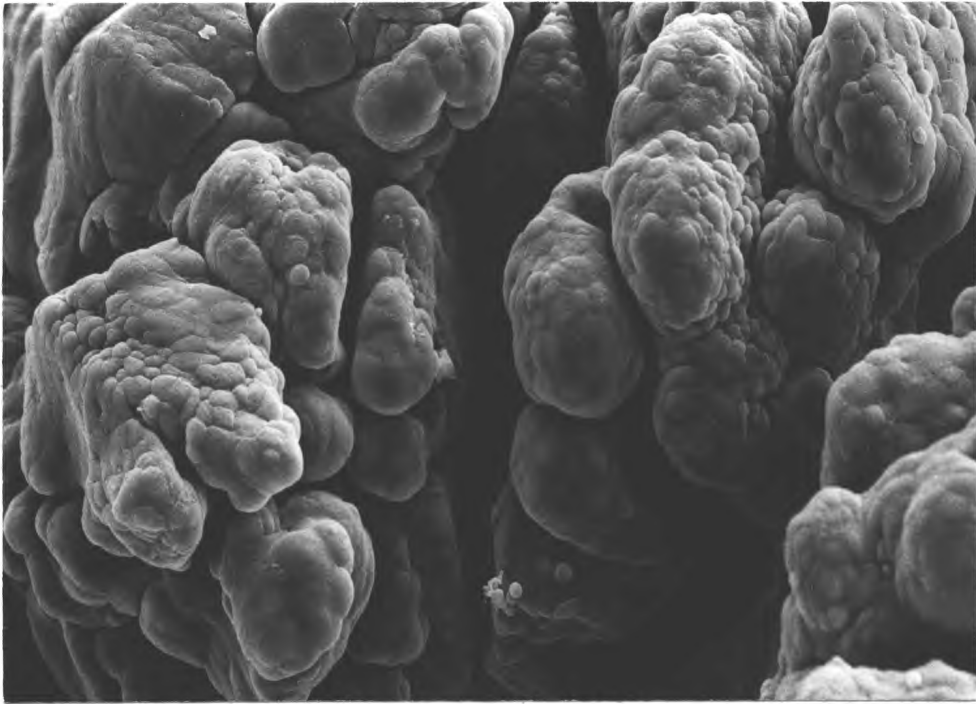




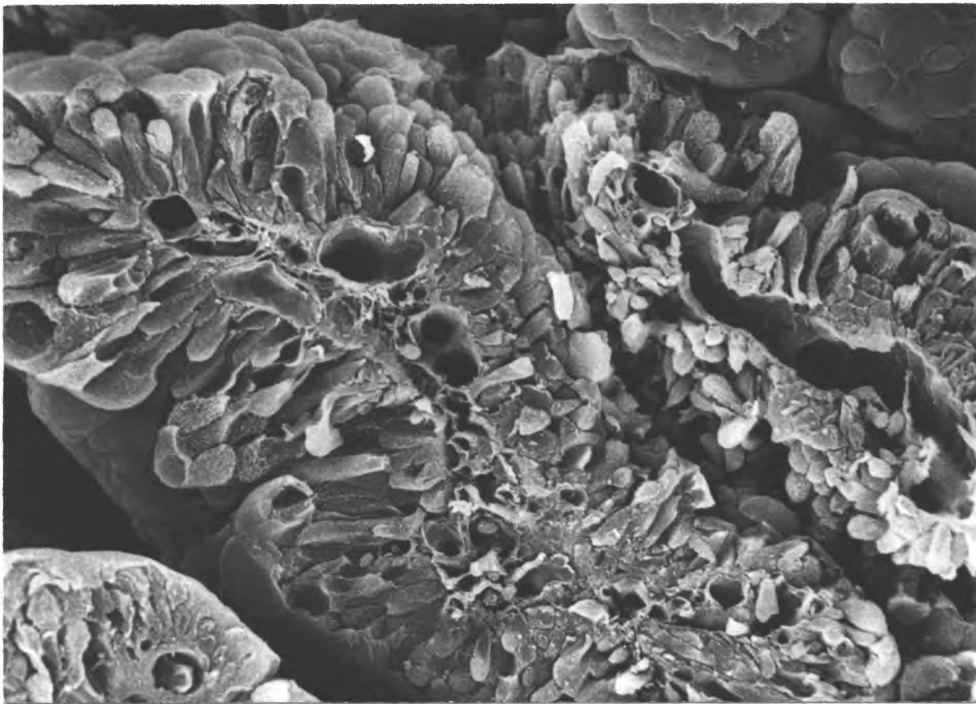




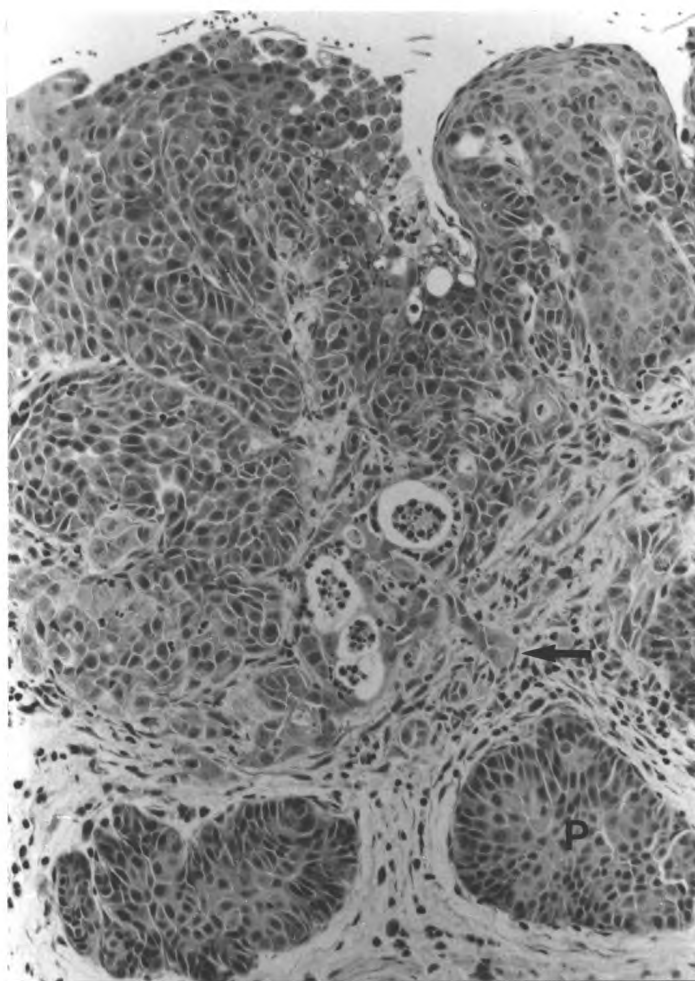
62



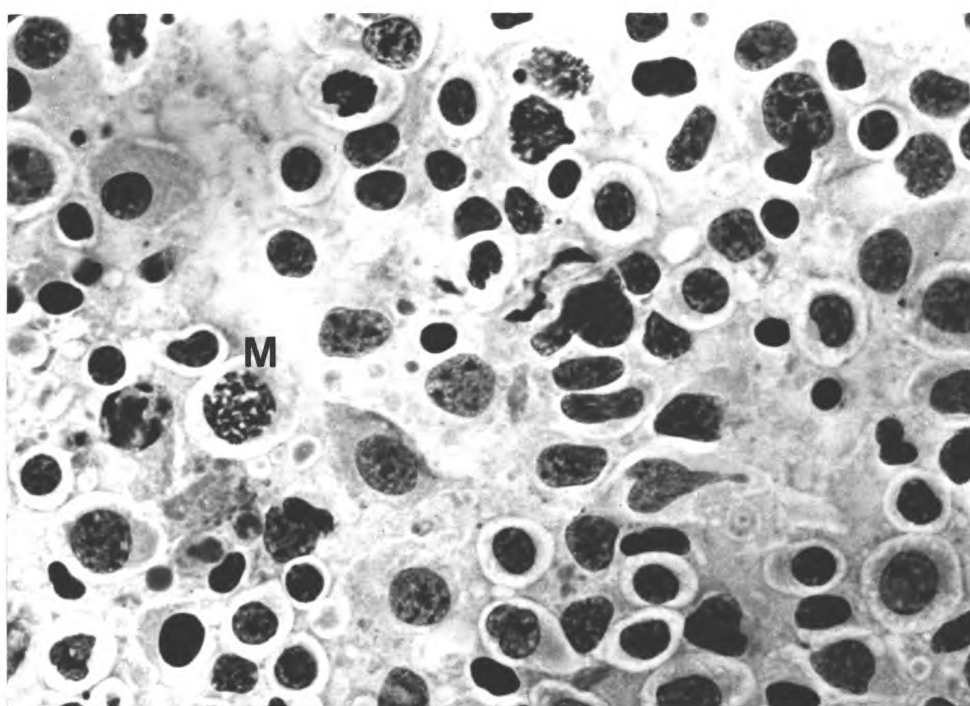
63

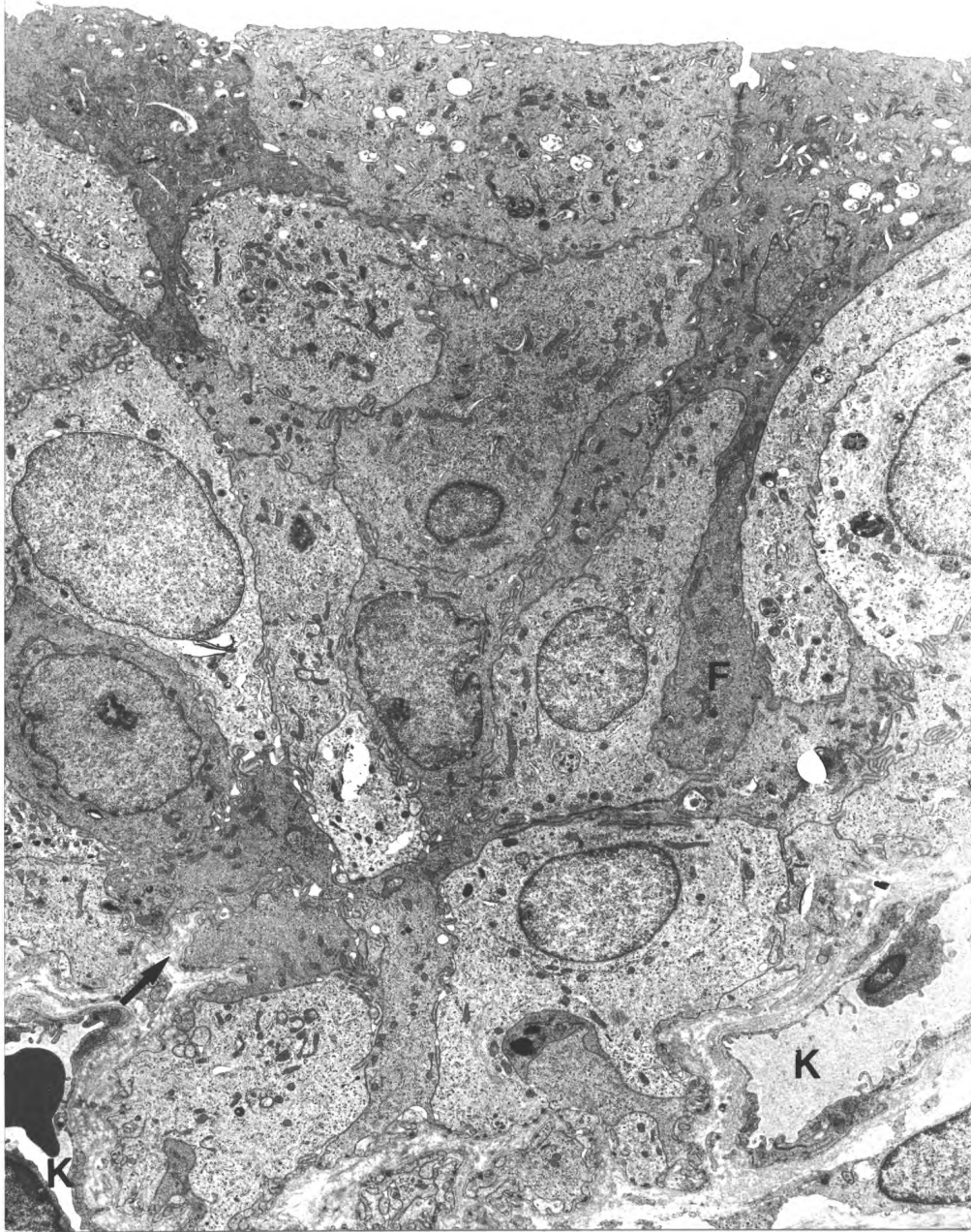


64

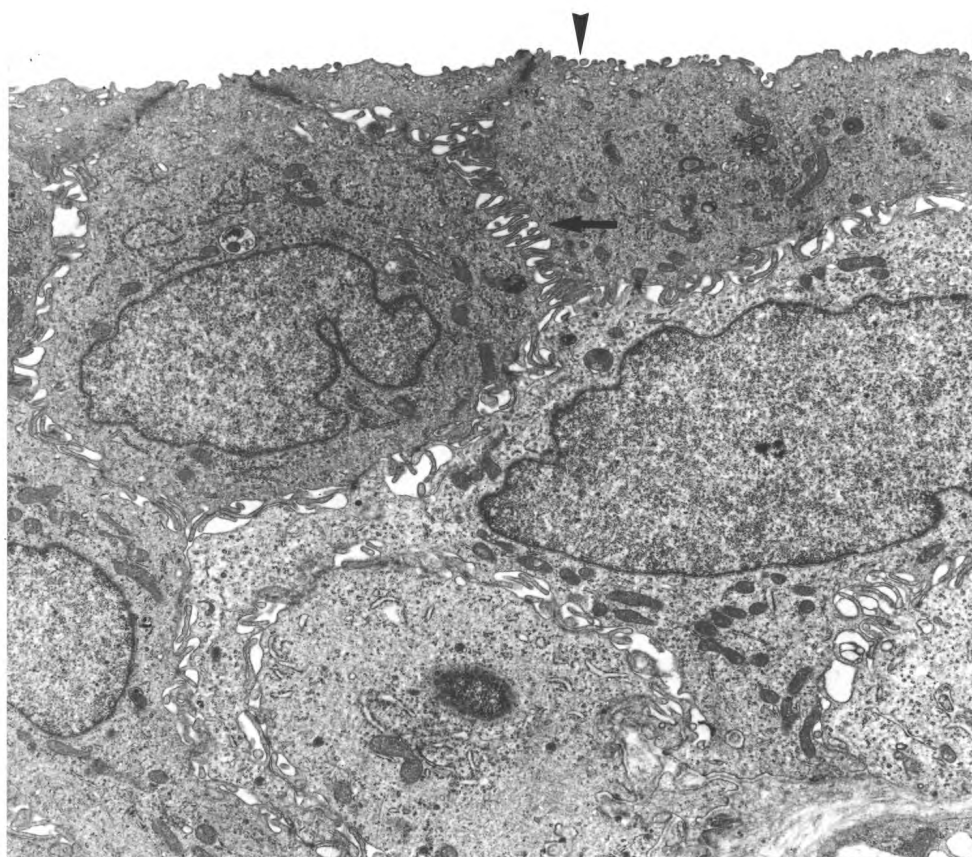


65

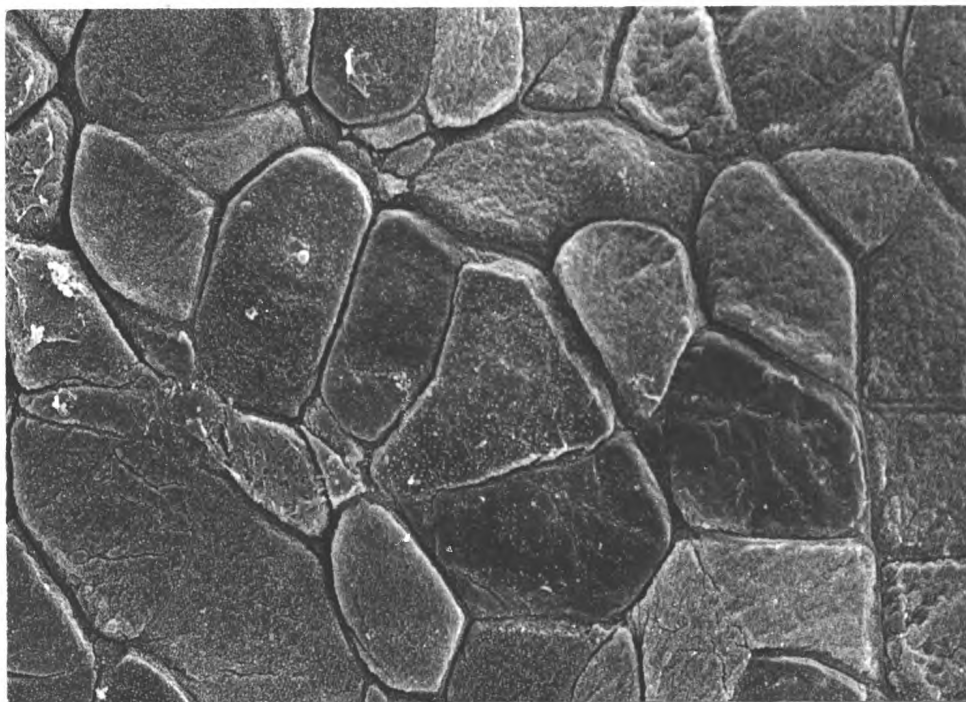


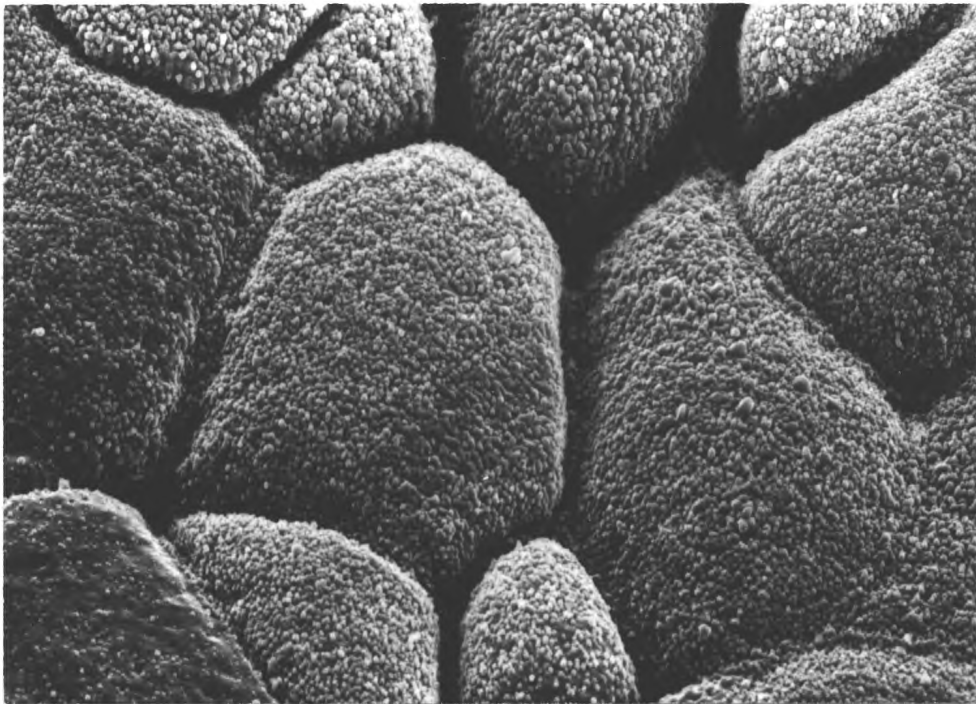
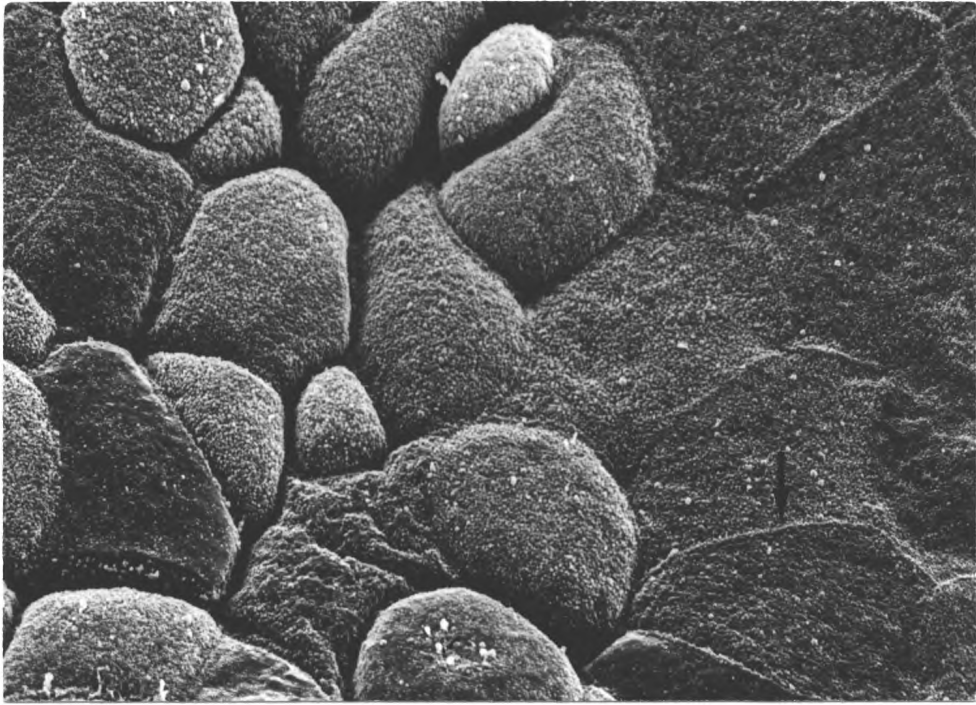


67

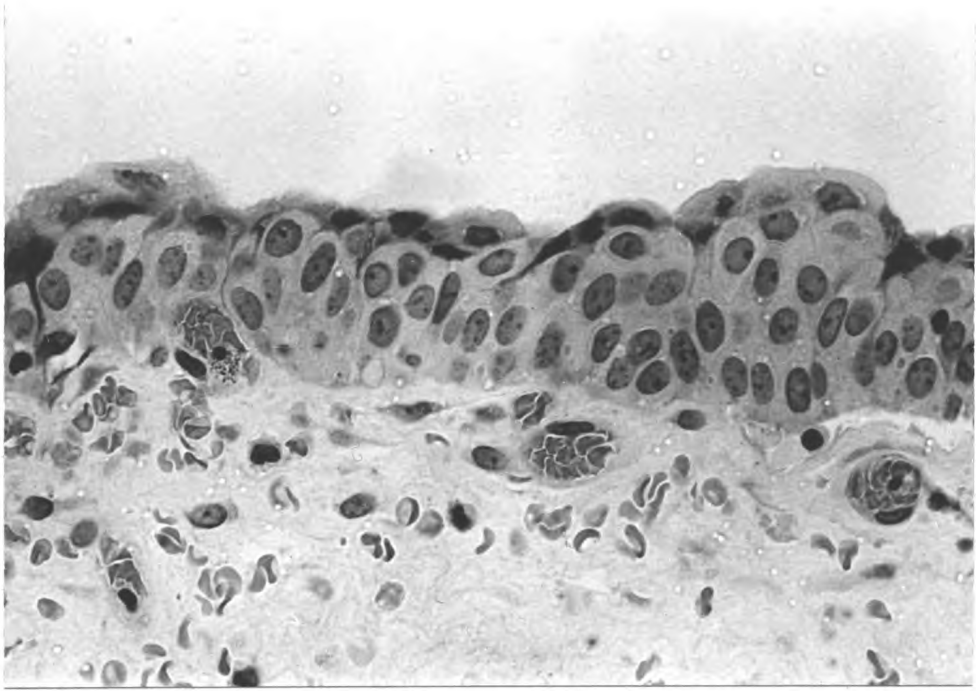


68

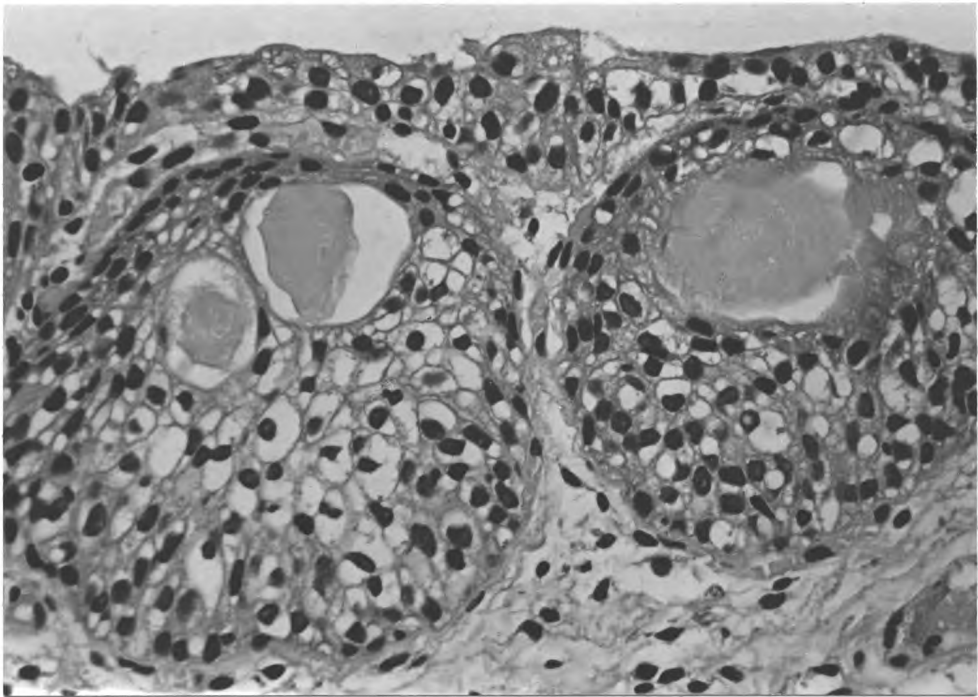




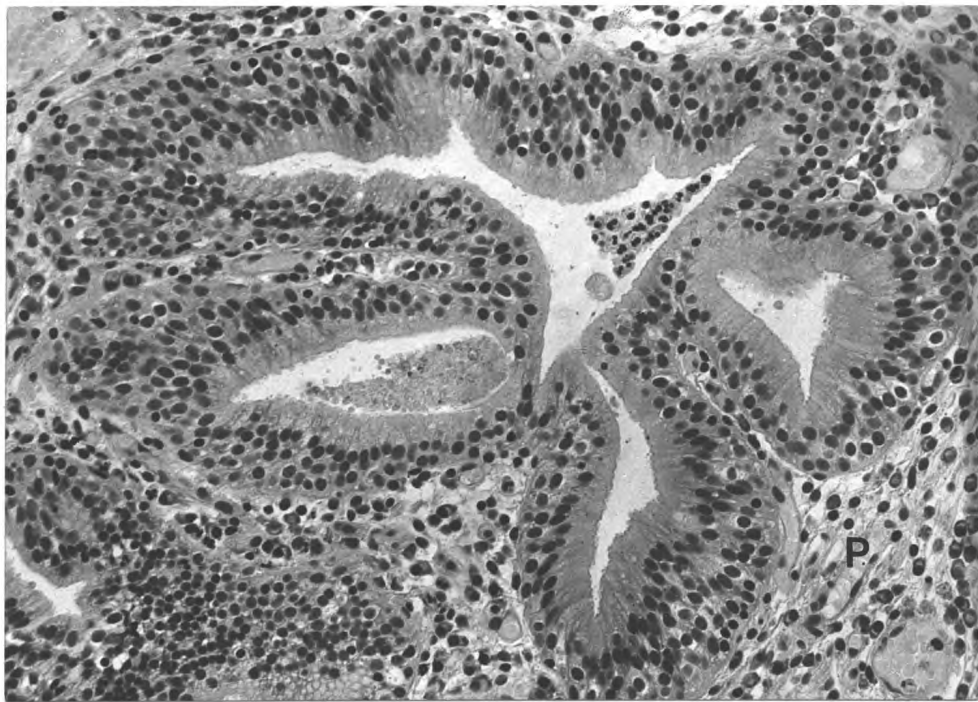
71



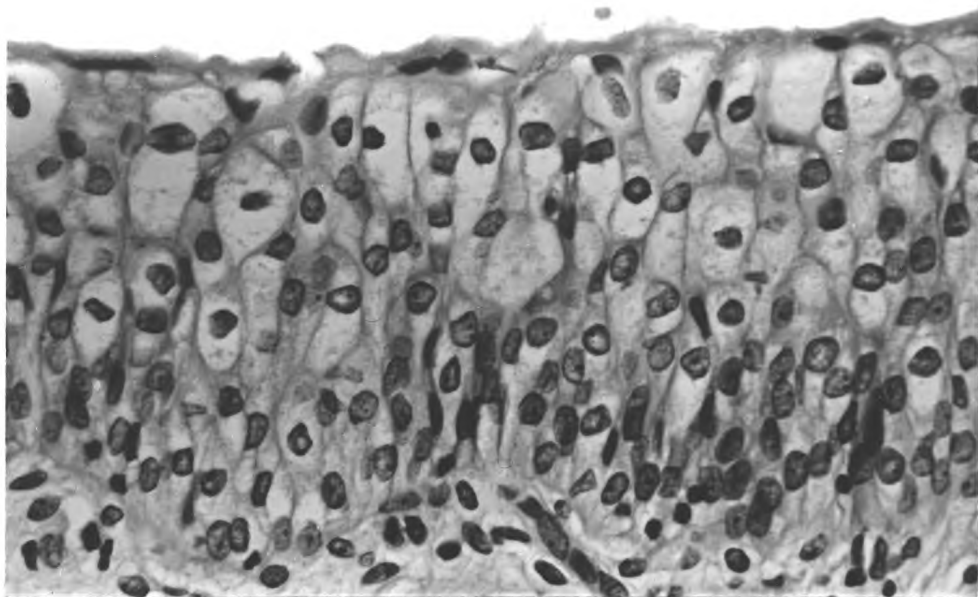
72



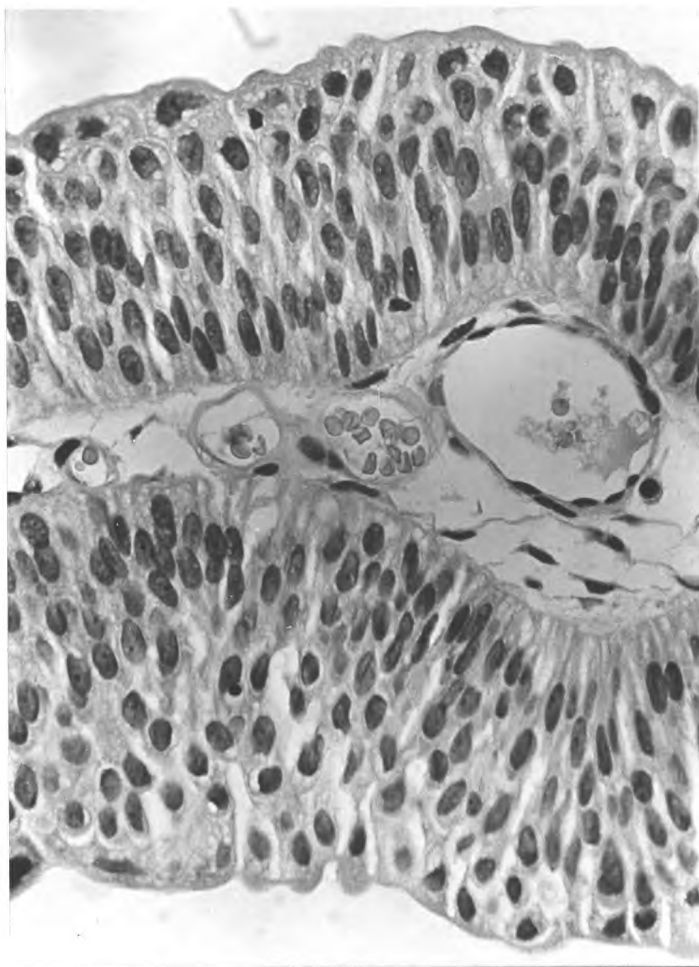
73



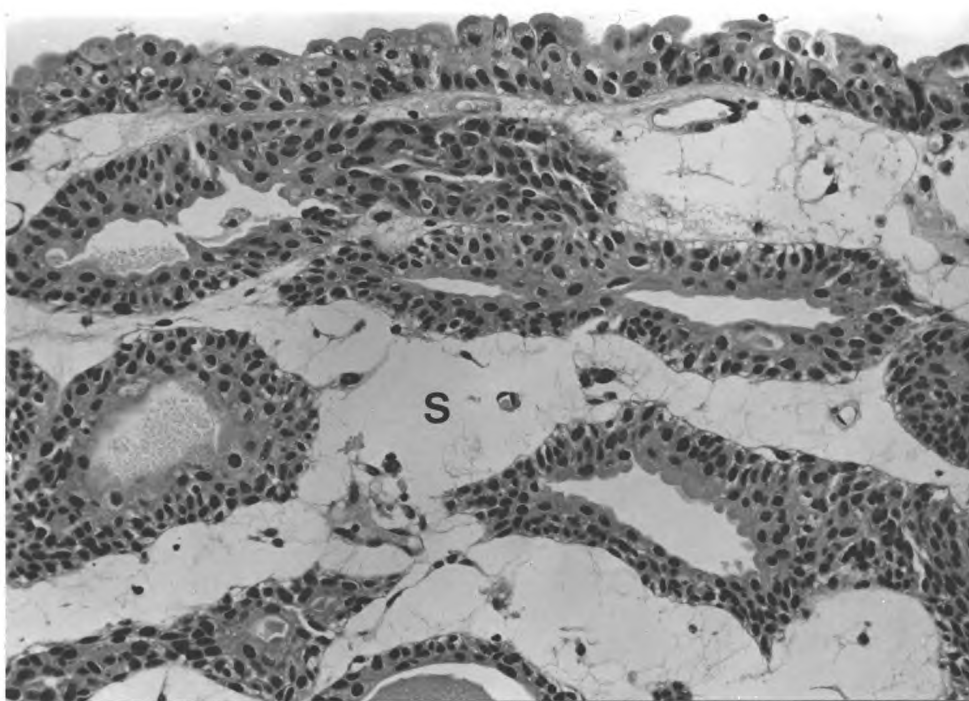
74

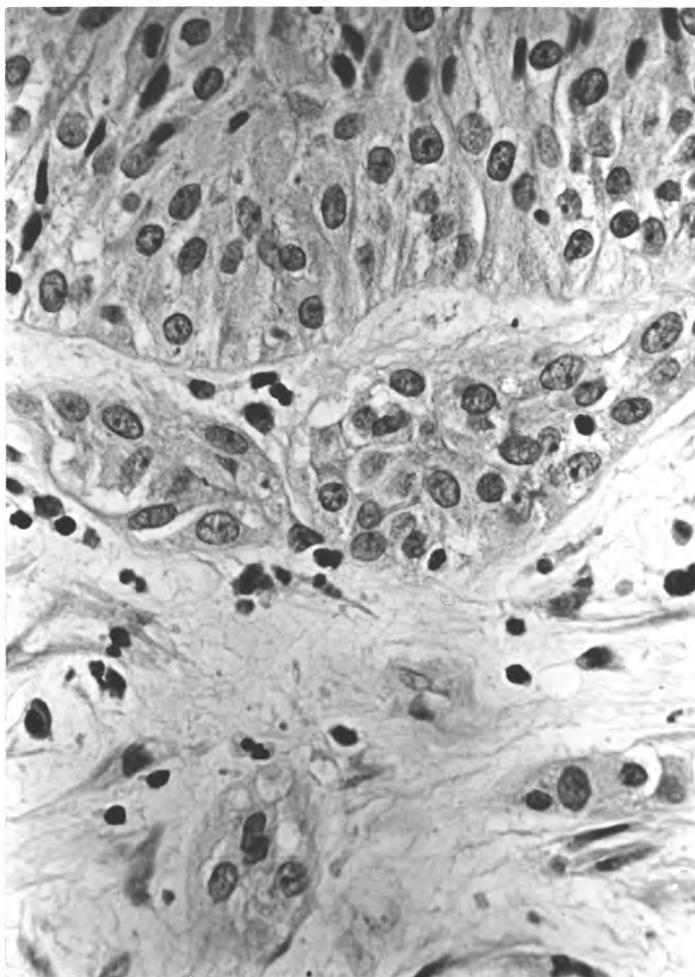
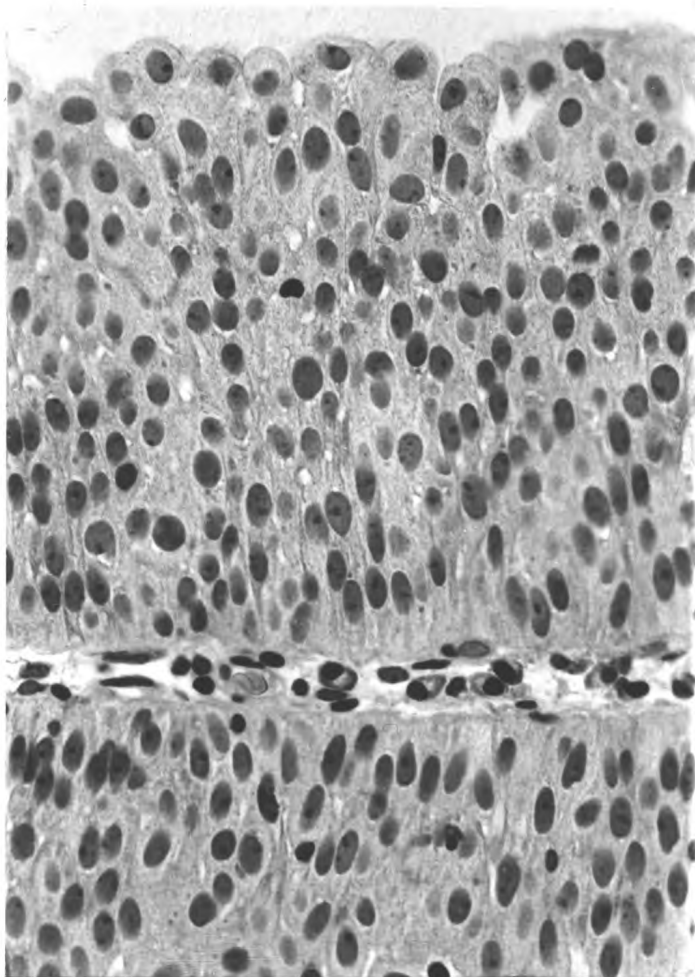


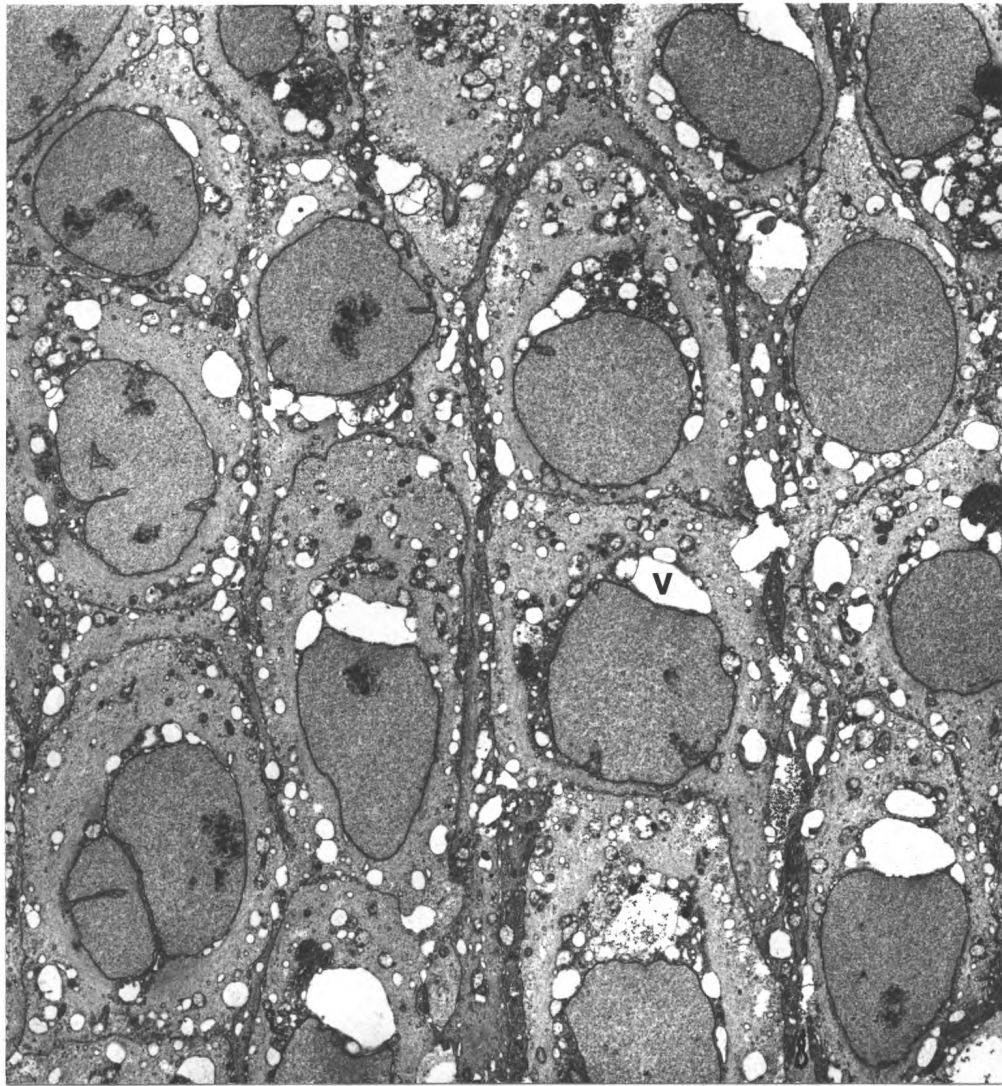
75



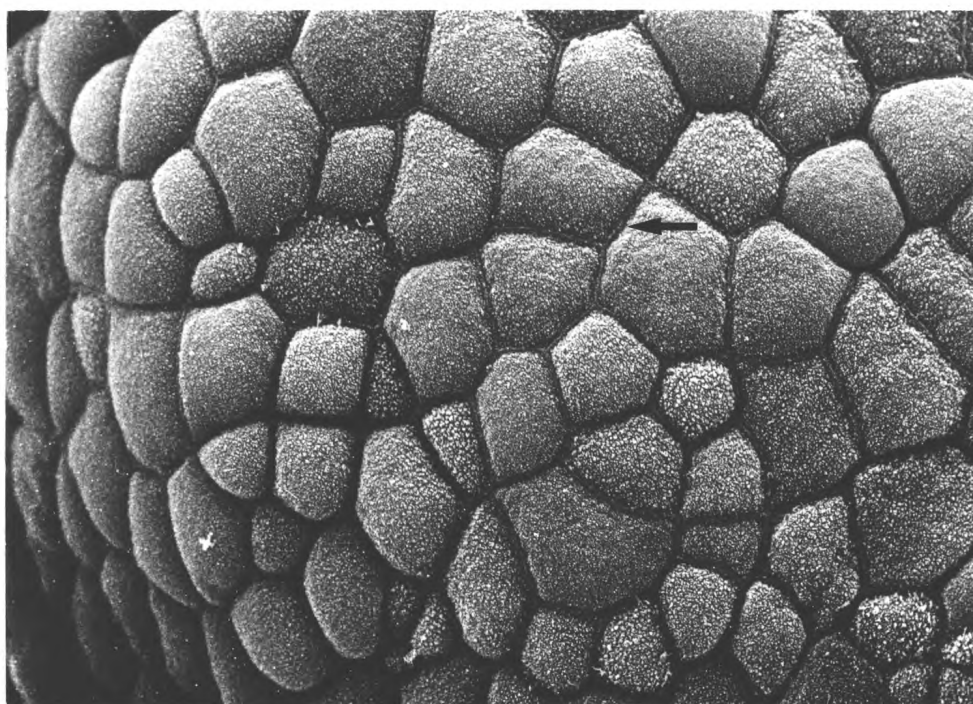
76



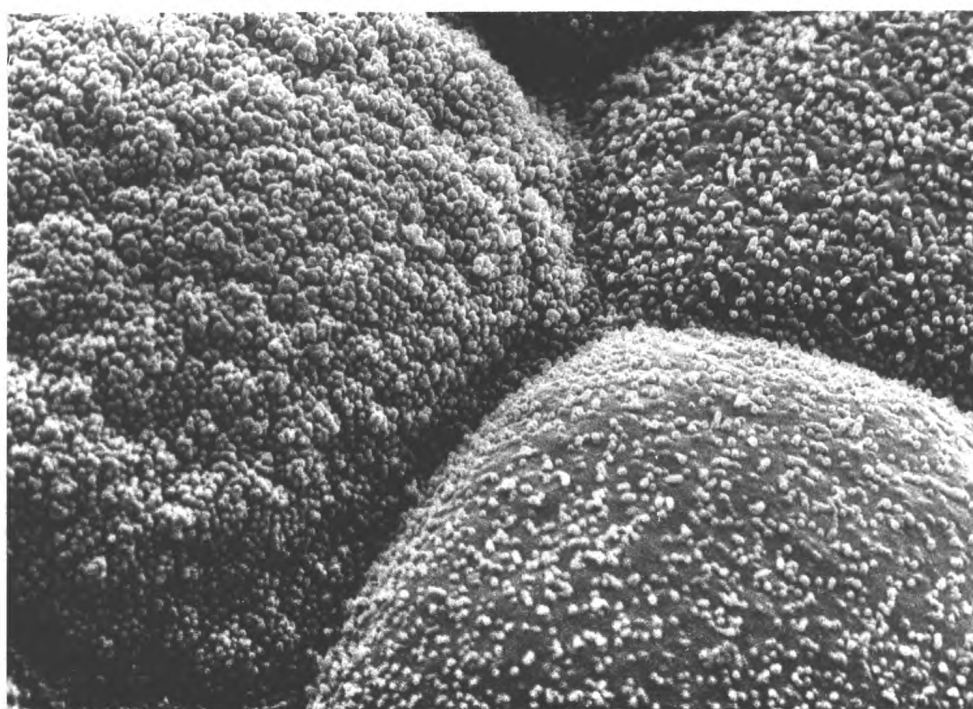


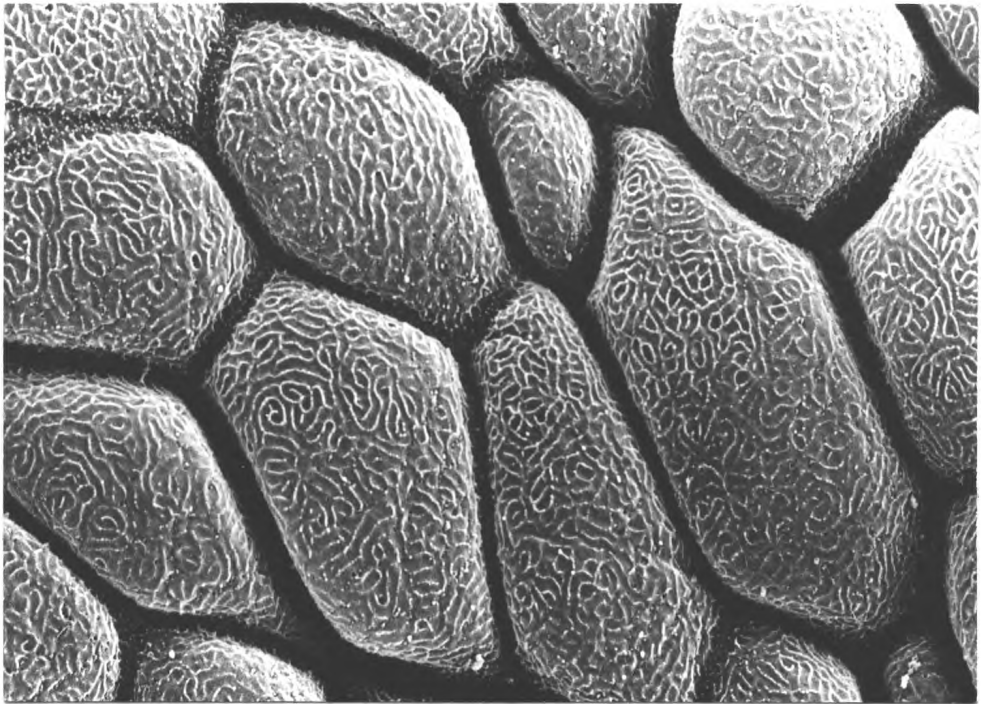
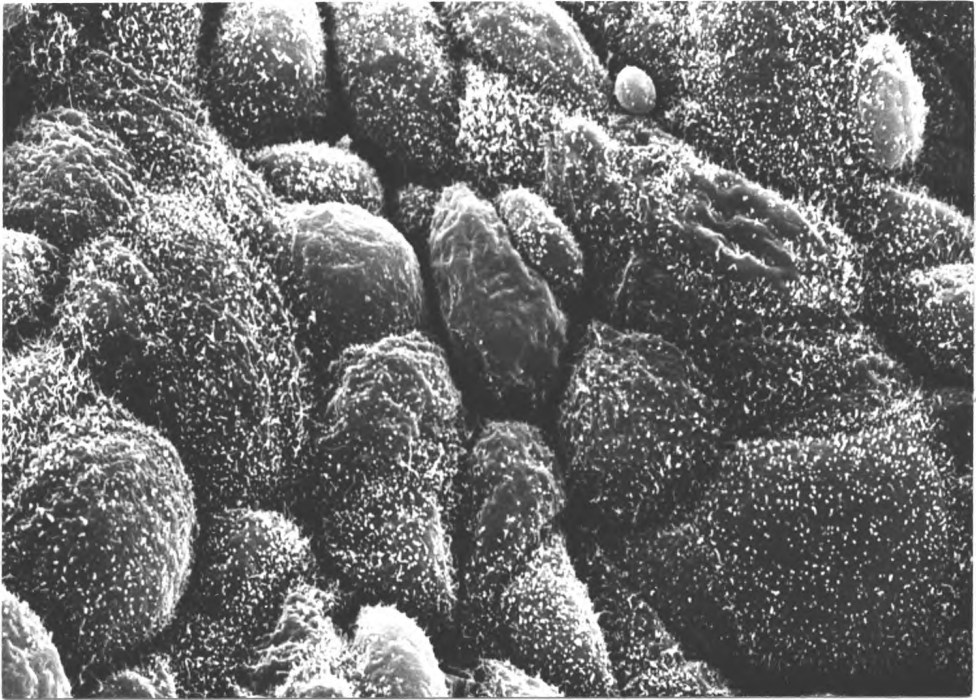


80



81

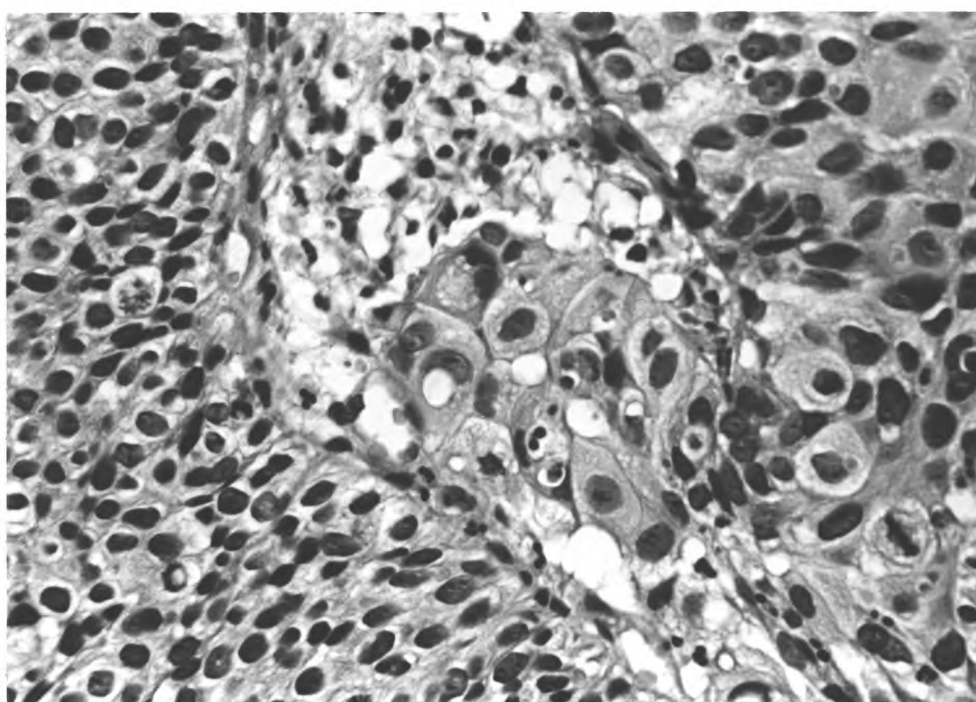




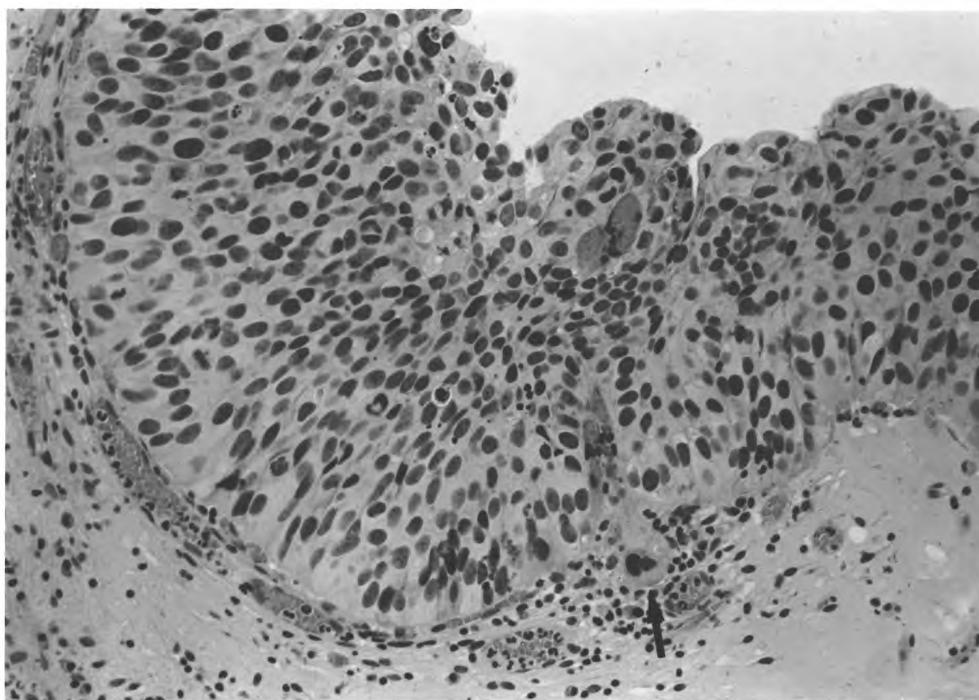
84



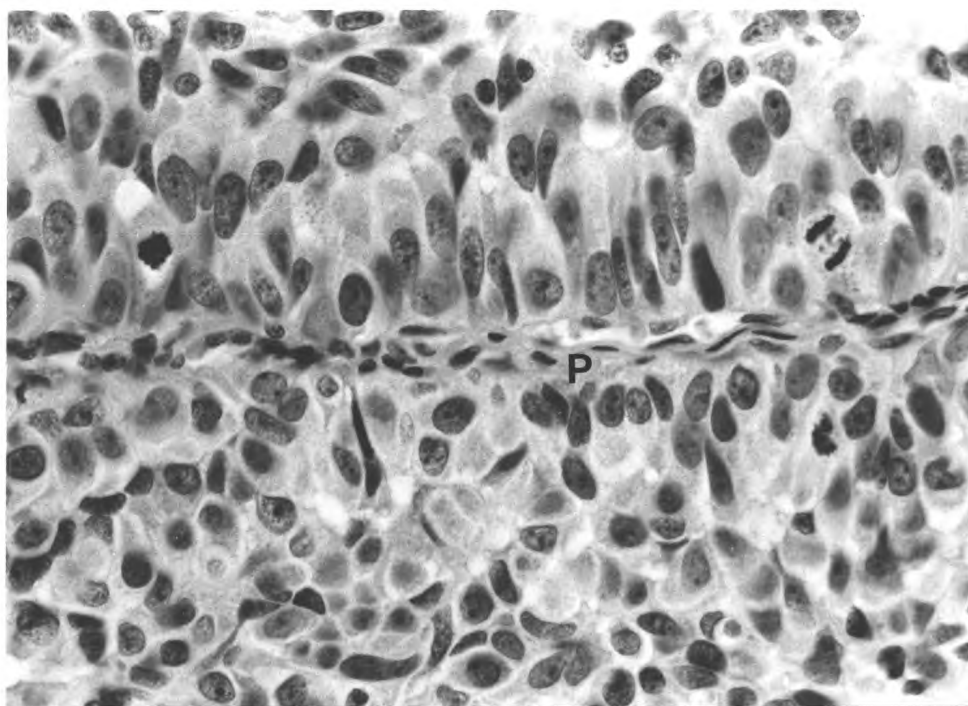
85

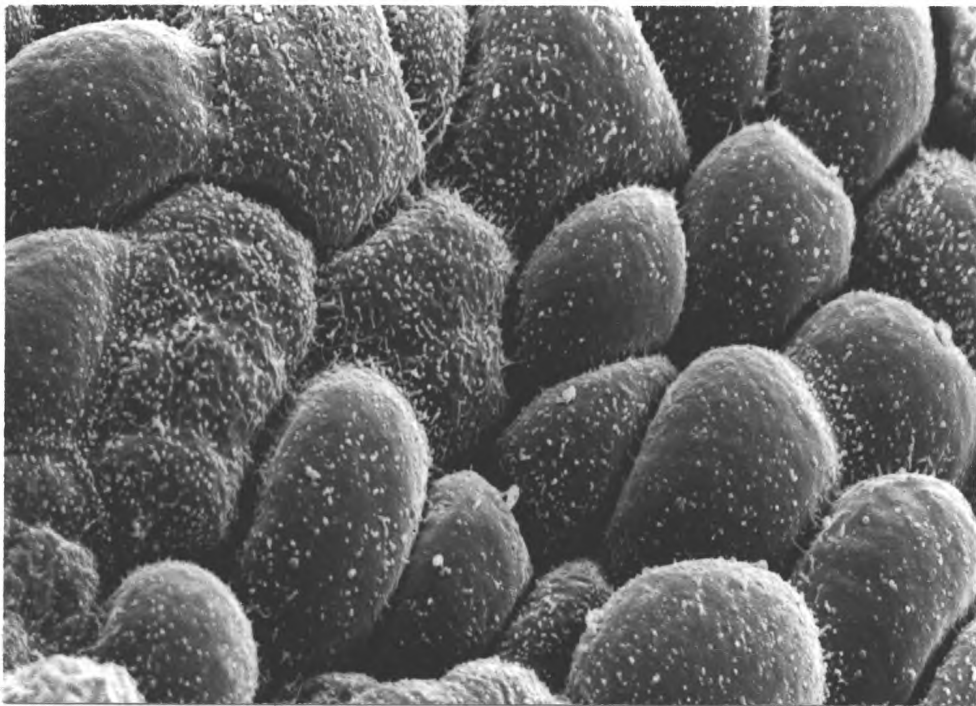
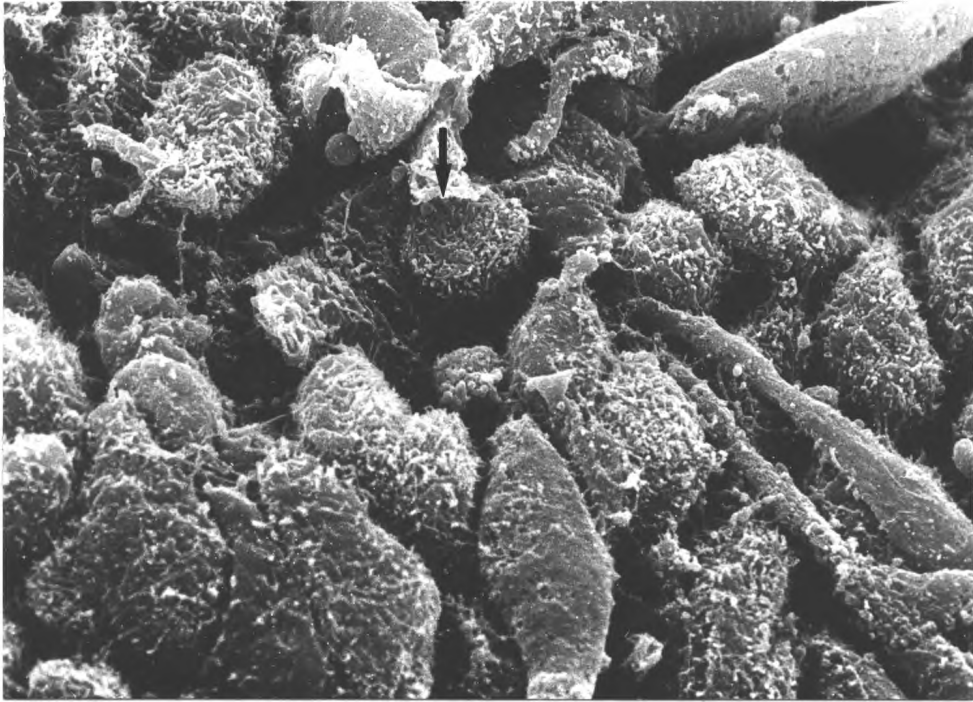


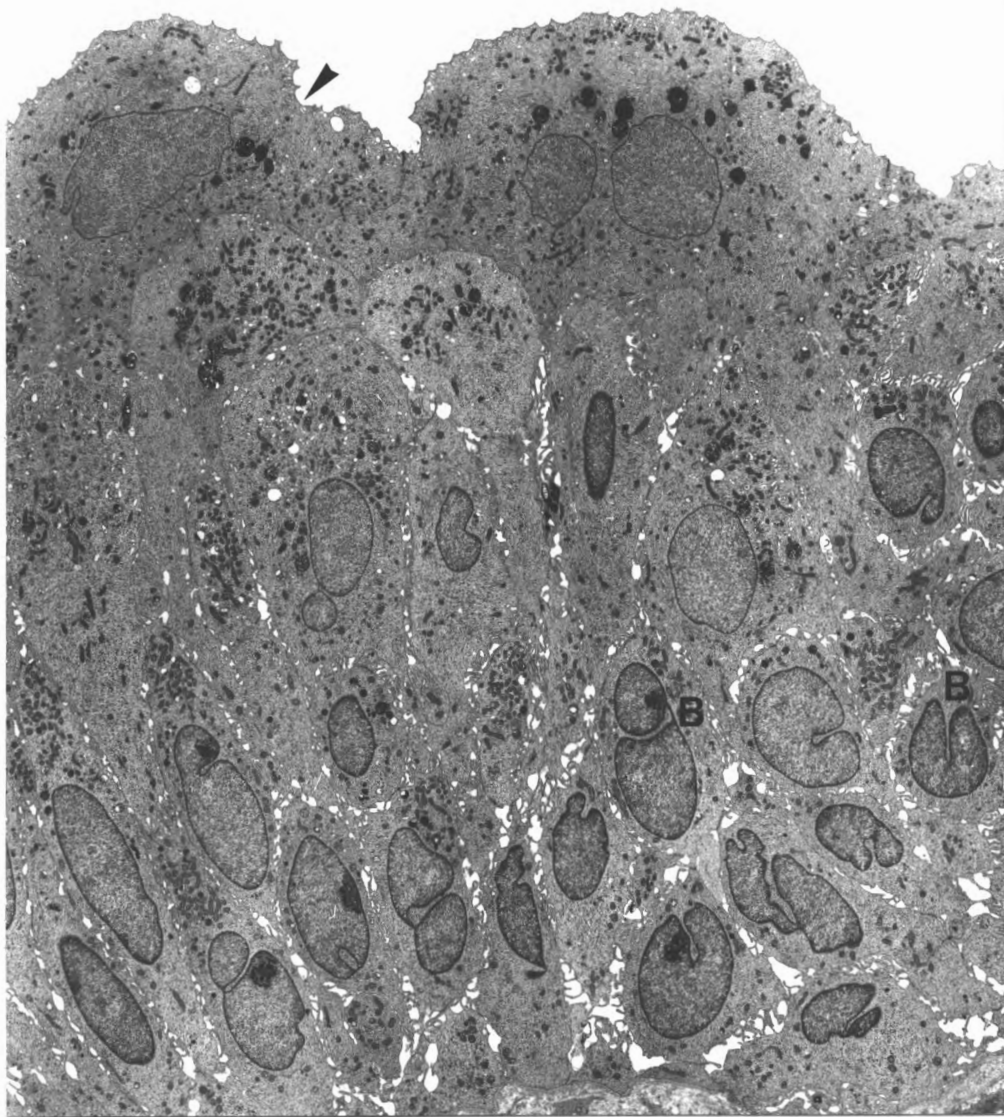
86



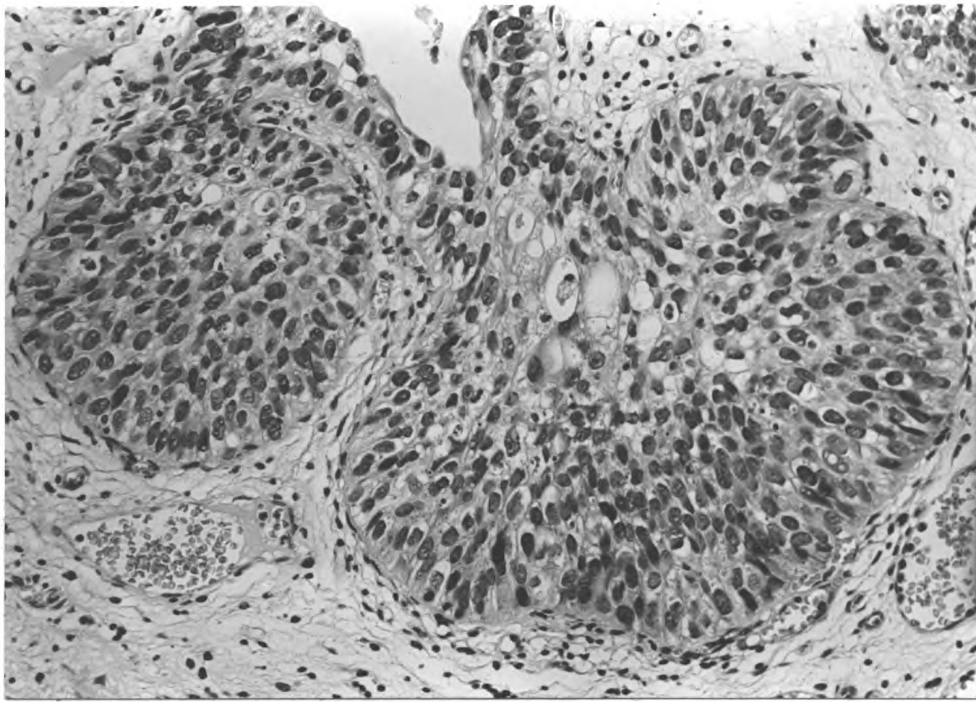
87



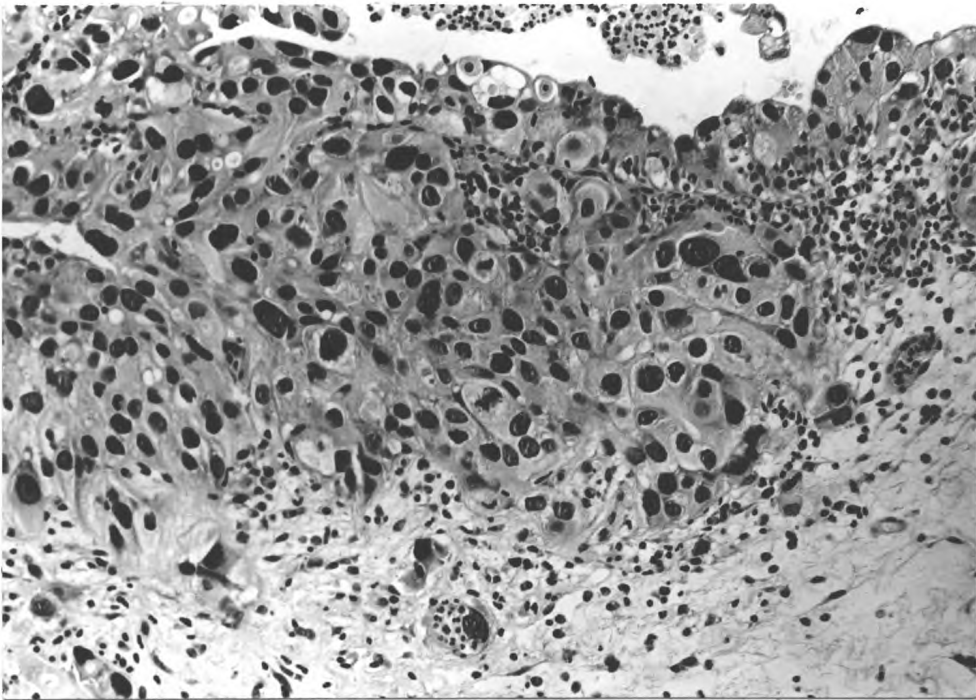




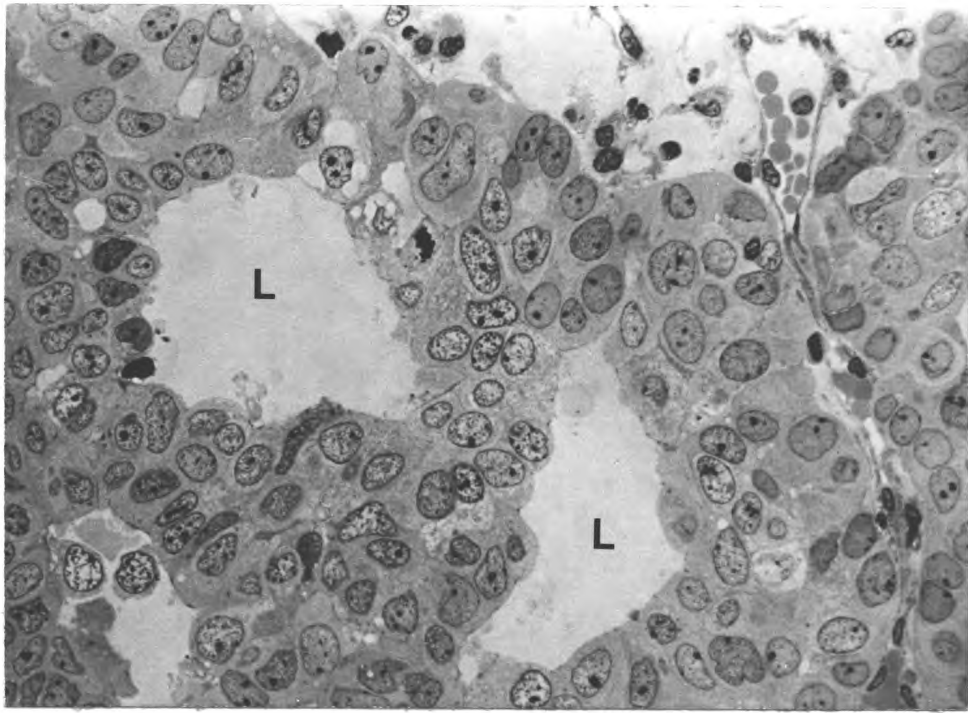
91



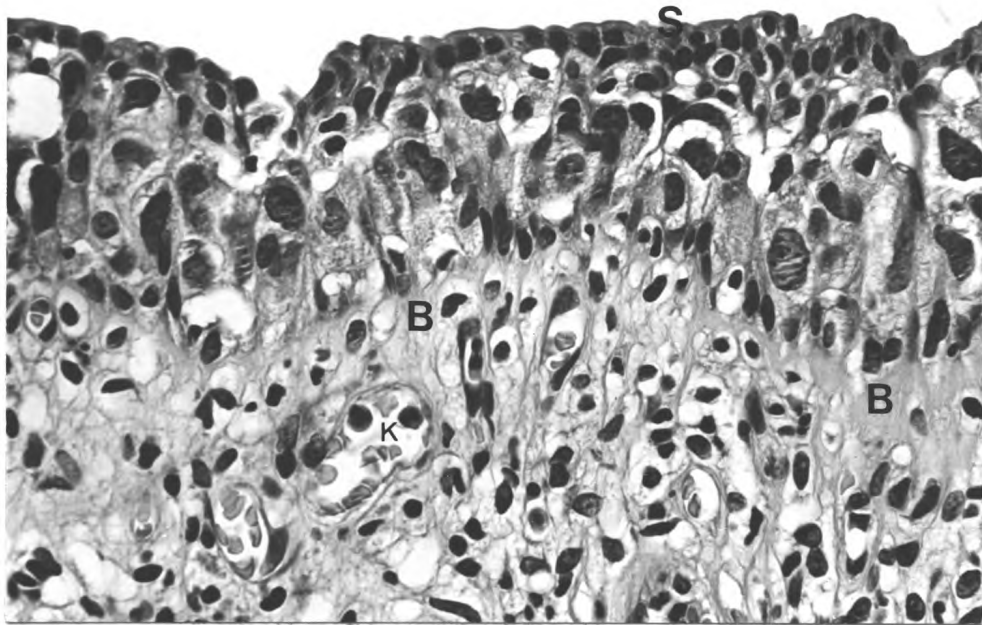
92



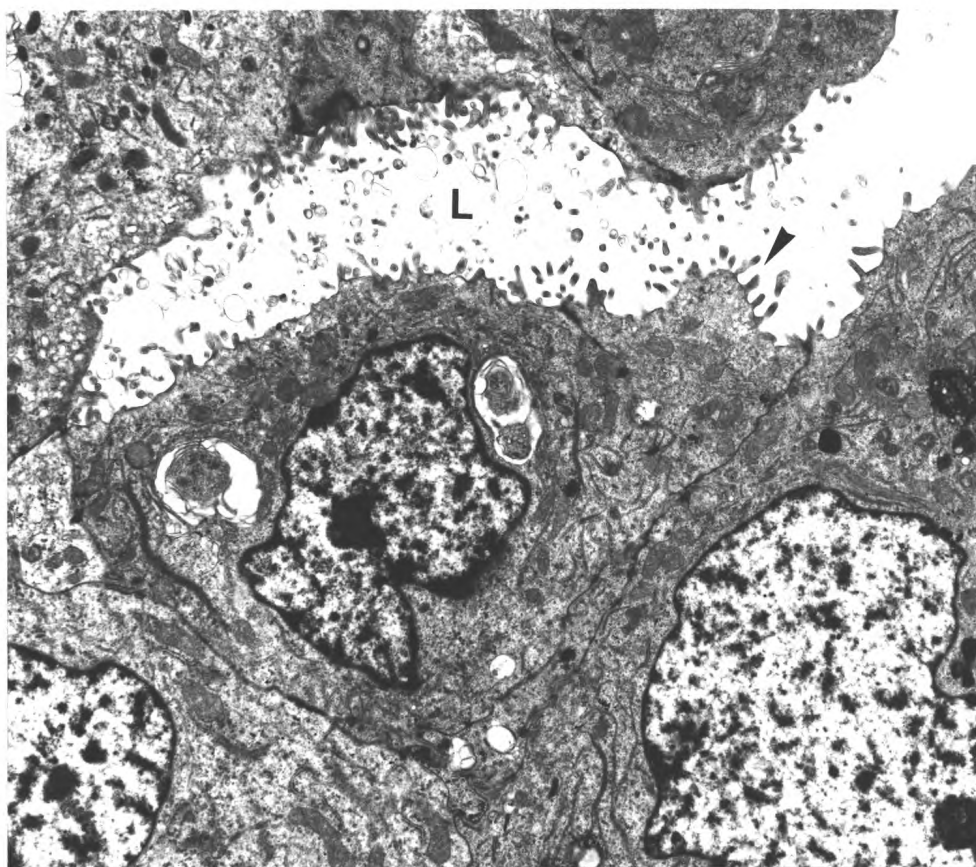
93



94



95



96

