

Die prognostische Bedeutung zytometrischer Methoden bei Tumoren der ableitenden Harnwege und der Prostata

Prognostic Relevance of Cytometric Methods for Tumors of Urinary Tract and Prostate

A. BÖCKING¹

Summary

Cytometry means quantification of various cellular parameter using different instruments like computer based image analysers, flow cytometers or laserscan microscopes. Using the more time consuming computer based image analysis, different parameters of possible prognostic validity for tumors of the urothelium or prostate may be quantified, like cellular structures, DNA-ploidy, chromosomal aberrations (interphase cytogenetics) AgNORs and a variety of functional antigens like proliferation markers, hormone receptors or oncogene products. The advantage of this method is that measurements can be performed on selected, morphologically classified cells. Using flow cytometers a representative number of tumor cells can be measured in a short time. With laserscan microscopes oncogene amplification and chromosomal aberrations may be measured using fluorescence DNA *in situ*-hybridization. Of all cytometric parameters obtainable at present, only DNA ploidy is of clinical relevance in transitional cell carcinomas as it can predict the probability of tumor recurrence, -progression and of survival time with high accuracy. Similarly, at this time, only DNA measurements are of clinical relevance in prostatic cancer, as they can predict tumor progression, death from cancer, survival probability and sensitivity to hormonal treatment. No other grading parameter is of comparable prognostic significance in prostate cancer.

Unter Zytometrie soll die Quantifizierung zellulärer Parameter mit Hilfe verschiedener Meßinstrumente verstanden werden. Es handelt sich um eine von verschiedenen Disziplinen angewendete Methode, welche bisher überwiegend bei der zellulären Grundlagenforschung zur Anwendung kam. Erst in jüngster Zeit wird die Zytometrie auch als adjuvante Methode in der Diagnostik und Prognostik maligner Tumoren eingesetzt. Dies hat seine Ursache in der rasanten Entwicklung neuer Instrumente und molekularbiologischer Verfahren.

Drei verschiedene Typen von Instrumenten stehen heute für die Vermessung zellulärer Parameter zur Verfügung: statische Zytometer (heute meist TV-Bildzytometer), Durchflußzytometer und neuerdings Laserscan-Mikroskope. Die mit diesen Apparaten zu diagnostischen Zwecken zu messenden Parameter sind in Tabelle 1 aufgeführt. Mit statischer und Flußzytometrie sind viele Parameter gleichermaßen zu quantifizieren, wie DNA-Verteilung, Proliferationsmarker, Hormonrezeptoren, Onkogenprodukte, Chromosomenaberrationen und eine Vielzahl anderer struktureller und funktioneller Antigene. Die statische Zytometrie erlaubt aber zusätzlich die Vermessung klassischer morphologischer Parameter (Morphometrie). Während die Flußzytometrie den Vorteil der hohen Zahl in kurzer Zeit analysierbarer Zellen aufweist, läßt die statische Zytometrie eine morphologische Selektion und Klassifikation der gemessenen Zellen zu. In der Flußzytometrie bleiben seltene Ereignisse oft unerkannt, und eine morphologische Identifikation der gemessenen Zellen fehlt. Der statischen Zytometrie haftet dagegen meist noch der Nachteil eines höheren Zeitaufwandes an. Neu zur Quantifizierung zellulärer Parameter ist die Laserscan-Mikroskopie. Wegen der großen eingestrahelten Lichtmenge ermöglicht dieses Verfahren auch die Quantifizierung minimaler Fluoreszenzsignale, z. B. zur Vermessung von Onkogenamplifikationen nach DNA *in situ*-Hybridisierung.

Während wenige Parameter *a priori* nach einer Messung verlangen, wie die DNA, ist es neu in der diagnostischen Pathologie, daß Parameter, die bisher qualitativ, bestenfalls semi-

¹ Institut für Pathologie, Klinikum der Rheinisch-Westfälischen Hochschule Aachen.

Tab. 1: Methoden und Parameter der diagnostischen Zytometrie.

Instrumentelle Methode	Zu messende Parameter
Statische Zytometrie	<ol style="list-style-type: none"> 1. Zellstrukturen (incl. Chromatin) 2. DNA-Verteilung 3. Proliferations-Marker (z. B. Ki 67) 4. Hormon-Rezeptoren (z. B. Östrogene) 5. Onkogen-Produkte 6. Chromosomen-Aberrationen (DNA-<i>in-situ</i>) 7. AgNORs 8. Diverse strukturelle u. funktionelle Antigene
Fluß-Zytometrie	<ol style="list-style-type: none"> 1. Zellgröße (scatter) 2. DNA-Verteilung 3. Proliferations-Marker (z. B. Ki 67) 4. Hormon-Rezeptoren (z. B. Östrogene) 5. Onkogen-Produkte 6. Chromosomen-Aberrationen (DNA-<i>in-situ</i>) 7. Diverse strukturelle u. funktionelle Antigene
Laserscan-Zytometrie	<ol style="list-style-type: none"> 1. Onkogen-Amplifikation (DNA-<i>in-situ</i>) 2. Chromosomen-Aberrationen (DNA-<i>in-situ</i>) 3. Diverse strukturelle u. funktionelle Antigene

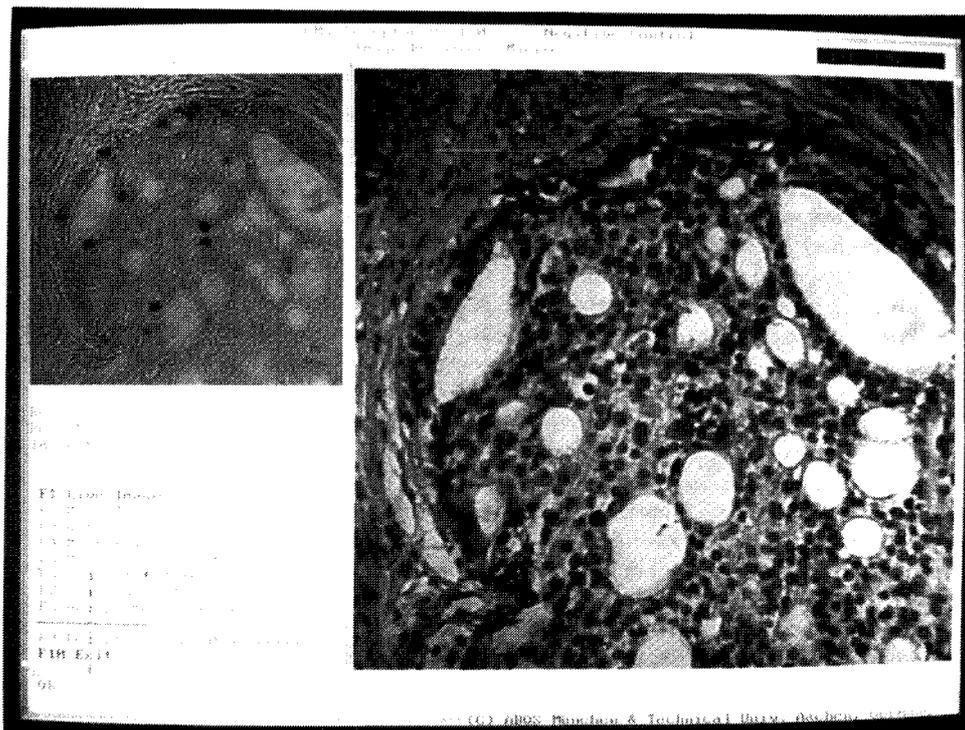


Abb. 1: Interaktiver Monitor des Bildanalyse-systems CYTOMETER CMI (Hund, Wetzlar) während der Bestimmung der Proliferationsfraktion in einem Methylgrün gegengefärbten Paraffinschnitt eines Prostatakarzinoms nach Ki67-Markierung. Links oben: im Grünlicht sind nur 11 markierte Zellkerne sichtbar. Rechts: im Rotlicht sind alle Zellkerne einer kribriformen Prostatakarzinomdrüse und des umgebenden Stromas sichtbar.

quantitativ, bestimmt wurden, nun auch quantifiziert werden können. Dies gilt insbesondere für die immunhistochemischen Proliferationsmarker (Abb. 1, 2), die Hormonrezept-

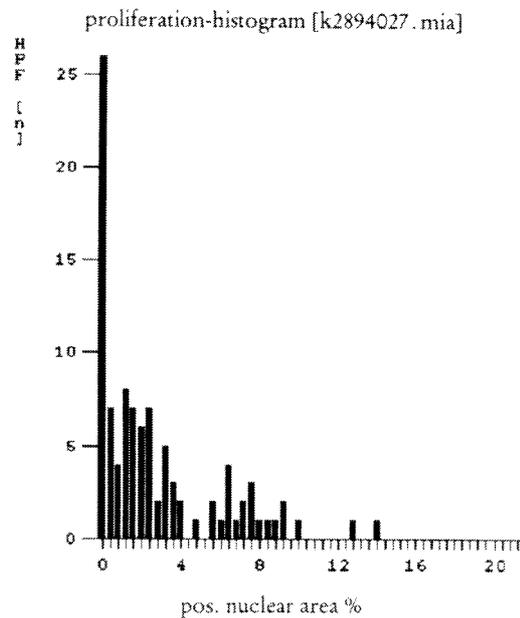


Abb. 2: Proliferations-Histogramm eines Prostatakarzinoms zeigt die Häufigkeitsverteilung der Proliferationsraten in den untersuchten Schnitten. Als maximale Proliferationsfraktion wurde 14,1% ermittelt. Statistics: number = 99; minimum = 0; maximum = 14,1; median = 1,7; modal value = 1,7; mean value = 2,7253; stand. dev. = 3,16; variance = 9,98; coef. of var. = 116; skewness = 1,41; kurtosis = 1,5.

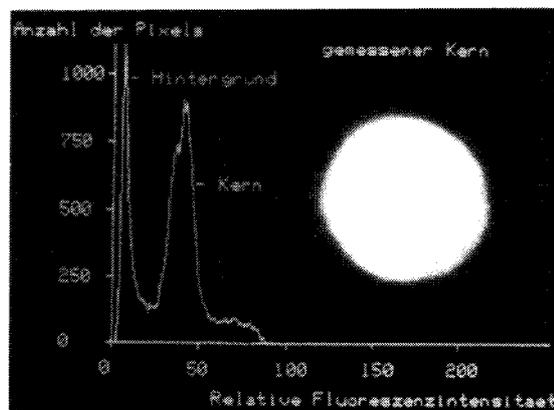


Abb. 3: *In situ*-Hybridisierung von MCF-7 Tumorzellen mit sulfonierter N-ras-DNA-Probe. Nicht-konfokales Fluoreszenzbild eines Zellkerns nach elektronischer Kontrastverstärkung mit dazugehörigem 8-bit Pixelhistogramm vor Verstärkung (aus: HEINRICH, 1992).

tor- und die Onkogenproduktarstellungen. Neu ist auch, daß Ergebnisse der DNA *in situ*-Hybridisierung z. B. zur Interphase-Zytogenetik oder zur Onkogenamplifikation quantifiziert werden können (Abb. 3, 4).

Genau genommen verlangen aber zelluläre Parameter, wie Proliferation, Hormonrezeptoren, Onkogenprodukte Chromosomenaberrationen, Onkogenamplifikationen oder Ag-NORs nach einer Quantifizierung. Dabei liefert die Kombination molekularpathologischer Methoden mit der Zytometrie einen neuen Typ quantitativer molekularpathologischer In-

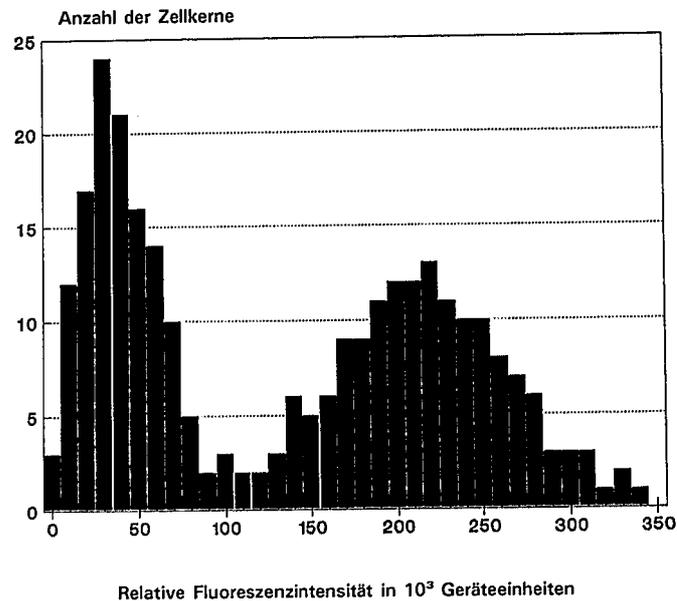


Abb. 4: Typische Fluoreszenzintensitäts-Histogramme einer Mischung aus nicht neoplastischen Eichzellen (Zelllinie der laktierenden Brust: HBL 100) und malignen Meßzellen (Mammakarzinom-Zelllinie: BT-474) nach *in situ*-Hybridisierung mit digoxigenierter neu DNA-Probe. Messung der integrierten Fluoreszenzintensitäten der Zellkerne mit dem Laserscan Mikroskop CLSM der Firma Leica, Bensheim. Das Verhältnis der mittleren Fluoreszenzintensitäten zwischen gesunden Referenz- und malignen Meßzellen beträgt 5,3. Nach Literaturangaben beträgt die Amplifikationsrate in der untersuchten Tumorzellkultur $4-8 \times$ (aus: HEINRICH, 1992).

formation, welche unsere Diagnostik revolutionieren kann. Da das Material, an welchem nachgewiesen und gemessen wird, Zellen und Gewebe darstellt und die erste Stufe dieser modernen Diagnostik immer noch die klassische zytologische oder histologische Beurteilung ist, besteht die Chance, Zytometrie und Histometrie als Domäne des Faches Pathologie zu etablieren. Derzeit bemühen sich neben der Pathologie weitere Disziplinen wie Gynäkologie, Urologie, Onkologie, Hämatologie und Labormedizin um die diagnostische Zytometrie.

Als Beispiel für die Kombination molekularpathologischer Methoden mit der Zytometrie möchte ich die Bestimmung der Verteilung von Proliferationsfraktionen in Prostatakarzinomen erwähnen. Die Analyse von Proliferationsverteilungen in Tumoren wird m. E. in Zukunft zur Malignitätsgradierung an Bedeutung gewinnen.

Mit dem Paraffin-gängigen monoklonalen Antikörper MIB 1 steht ein sensitiver, spezifischer und zuverlässiger Proliferationsmarker zur Verfügung. In Routineschnitten lassen sich alle Zellkerne mit Methylgrün anfärben und alle Zellkerne in G2/M-Phase mit DAB braun darstellen. Das Fernsehbildanalyse-system kann in einem ersten Schritt im Rotlicht (komplementär zu grün) alle Zellkerne detektieren und in einem zweiten Schritt im Grünlicht alle immunhistochemisch braun gefärbten Kerne identifizieren. Interaktiv können die Karzinomareale selektiert und die Stromabezirke von der Messung ausgeschlossen werden (Abb. 1). Nach der Vermessung von etwa 40 Gesichtsfeldern wird ein Histogramm über die Verteilung der Proliferation in der betreffenden Gewebsprobe ausgegeben (Abb. 2). Damit steht nicht nur die mittlere, sondern auch die wahrscheinlich prognostisch relevantere maximale Proliferationsfraktion zur Verfügung.

Da die Zytometrie eine vergleichsweise neue Disziplin darstellt und ihre Anwendung auf molekularpathologische Parameter noch in den Anfängen steckt, liegen retrospektive oder

7. Proliferationsmarker

8. DNA-Ploidie

Bis auf die DNA-Verteilung haben bisher alle anderen Parameter keine klinische Bedeutung erlangen können. Dies kann sich aber mit der Entwicklung neuer molekularbiologischer Parameter und leistungsfähigerer Apparate- und Software schnell ändern.

NIELSEN et al. (1992) belegten einen signifikanten Zusammenhang zwischen Überlebenszeit von Prostatakarzinom-Patienten und Größe der Tumorzellkerne. Mehrere Autoren haben auch die prinzipielle Eignung der Histometrie für die Prognostik des Prostatakarzinoms belegt (STEPHENSON et al., 1991; BIBBO et al., 1990), doch reichen die vorliegenden Daten derzeit nicht aus, um einen routinemäßigen Einsatz der computerbasierten Bildanalyse (CBA) für die morphologische Diagnostik in Erwägung zu ziehen.

CONTRACTOR et al. (1991) fanden keine hinreichende prognostische Relevanz von Zahl oder Fläche der AgNORs beim Prostatakarzinom. Zur Differenzierung der benignen Hyperplasie von intraepithelialer Neoplasie der Prostata (PIN) dagegen eignet sich die bildanalytische Quantifizierung der AgNORs (SESTERHENN et al., 1991).

SANDBERG (1992) hat eine Hypothese zur stufenweisen malignen Transformation der Epithelzelle der Prostata unter progressiver Aquisition partieller Chromosomenverluste (8, 16, 7, 2) vorgestellt. Die mit der Prognose (Progression, Metastasierung) korrelierten chromosomalen Aberrationen sind aber für das Prostatakarzinom bisher noch nicht bekannt. Wenn dies der Fall ist, wird man mittels Interphase-Zytogenetik zytometrisch gezielt diese prognostisch relevanten Aberrationen detektieren können.

Wachstumsfaktor-Rezeptoren, Hormonrezeptoren, Onkogenprodukt Expressionen (wie p 53) und Proliferationsmarker sind zwar immunhistochemisch nachweisbar und damit auch mittels CBIA quantifizierbar, doch sind diese Methodenkombinationen zu neu, um bereits auf ihre prognostische Relevanz hin getestet worden zu sein (FOSTER and ABEL, 1992).

Im Mai 1993 fand in Stockholm ein WHO-Consensus Treffen über: «Prognostic markers in early prostate cancer» statt. Zwischen Urologen und Pathologen wurde hier ein hohes Maß an Konsens bezüglich der überragenden prognostischen Relevanz der Zellkern DNA-Verteilung erzielt. Das Manuskript der interdisziplinären «Arbeitsgruppe DNA» wird in einem im Herbst 1993 erscheinenden Supplementband der Zeitschrift «International Journal of Cancer» publiziert werden. Übereinstimmung wurde unter anderem über die folgenden Feststellungen erzielt:

a) die DNA-Zytometrie kann sowohl als Durchfluß- oder als statische (Bild-) Zytometrie durchgeführt werden. Bei der Bildzytometrie ist auf moderne Präzisionsinstrumente zu achten.

b) Zu prognostischen Zwecken werden Tumoren mit peridiploider, peritetraploider oder aneuploider DNA-Stammlinie unterschieden (TRIBUKAIT et al., 1983; FORSSLUND and ZETTERBERG, 1990).

c) Unabhängig von der Therapie (totale Prostatektomie oder Hormone), dem Staging und dem histologischen bzw. zytologischen Grading korreliert die DNA-Ploidie signifikant mit der Überlebenszeit behandelter Karzinompatienten (MONTGOMERY et al., 1990; NATIV et al., 1989; McINTIRE et al., 1988; WINKLER et al., 1988; TRIBUKAIT, 1988; STEPHENSON et al., 1987; LUNDBERG et al., 1987; FORSSLUND et al., 1992; LIEBER, 1992).

d) Die Wahrscheinlichkeit der Tumorprogression (von Stadium A zu B, B zu C, C zu D oder D1 zu D2) ist bei peridiploiden Prostatakarzinomen hoch signifikant geringer als bei DNA-aneuploiden Tumoren (MONTGOMERY et al., 1990; PETERS et al., 1990; AL ABADI and NAGEL, 1990; NATIV et al., 1989; WINKLER et al., 1988; PETERSGEE et al., 1992; McINTIRE et al., 1989; LEE et al., 1988; DE VERE WHITE et al., 1990).

e) Patienten, deren Prostatakarzinome ein diploides oder tetraploides Verteilungsmuster aufweisen, sind Kandidaten für eine lediglich überwachende «wait and see» Strategie (Non-treatment option: KOSS and CZERNIAK, 1992).

f) die DNA-Ploidie kann mit hoher Wahrscheinlichkeit das Ansprechen auf hormonelle Therapie vorhersagen (TAVARES et al., 1966, 1973; LEISTENSCHNEIDER und NAGEL, 1983).

g) die DNA-Ploidie soll bei allen zukünftigen klinischen Studien zur Evaluation neuer Therapiestrategien und/oder prognostischer Parameter als valider prognostischer Index mitbestimmt werden (LIEBER, 1992).

h) Die Heterogenität der DNA-Verteilung im Prostatakarzinom scheint geringer zu sein, als die Morphologie erwarten läßt. Da die Wahrscheinlichkeit einer «Untergradierung» aufgrund der DNA-Messung an einer Gewebsprobe etwa 10 % beträgt (BÖCKING, unpublizierte Daten, 1993), erhöht die Beurteilung von mehr als einer Probe die Repräsentativität der DNA-Ploidie Bestimmung.

In Anbetracht der solchermaßen dokumentierten hohen prognostischen Relevanz empfehlen namhafte Urologen und Pathologen mittlerweile die routinemäßige Bestimmung der DNA-Ploidie bei allen Prostatakarzinomen und die Einbeziehung dieses Parameters in die Entscheidungsfindung der jeweils geeigneten Therapie- und Nachsorgestrategie (LIEBER, 1992; NATIV and LIEBER, 1991; KOSS und CZERNIAK, 1992).

Literatur

- AL-ABADI, H. and R. NAGEL: Nuclear DNA analysis: the relevance of ploidy, DNA heterogeneity and phases of the cell cycle in 329 patients with prostatic carcinoma. *Urol. Int.* 45, 350–355 (1990). – BIBBO, M., D. H. KIM, C. DI LORETO, H. E. DYTCH, H. GALERA-DAVIDSON, D. THOMPSON, D. L. RICHARDS, H. G. BARTELS, and P. H. BARTELS: Tissue architectural features for the grading of prostatic carcinoma. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 12, 229–236 (1990). – BLOMJOUS, E., N. W. SCHIPPER, J. P. A. BAAK, W. VOSS, H. J. DE VOOGT, and C. J. L. M. MEIJER: The value of morphometry and DNA flow cytometry in addition to classic prognosticators in superficial urinary bladder carcinoma. *Am. J. Clin. Pathol.* 91, 243–248 (1989). – BLUTE, M. L., K. TSUSHIMA, G. M. FARROW, T. M. THERNEAU, and M. M. LIEBER: Transitional cell carcinoma of the renal pelvis: nuclear deoxyribonucleic acid ploidy studied by flow cytometry. *J. Urol.* 140, 944–949 (1988). – CONTRACTOR, H., J. RÜSCHOFF, and T. HANISCH: Silver-stained structures in prostatic carcinoma: evaluation of diagnostic and prognostic relevance by automated image analysis. *Urol. Int.* 45, 9–14 (1991). – DE VERE WHITE, R. W., A. D. DEITSCH, and H. TESLUK: Prognosis in disseminated prostate cancer as related to tumor ploidy and differentiation. *World Urol.* 8, 47–50 (1990). – DE VERE WHITE, R. W., A. D. DEITCH, B. WEST, and J. M. FITZPATRICK: The predictive value of flow cytometric information in the clinical management of stage O (Ta) bladder cancer. *J. Urol.* 139, 279–282 (1988). – FORSSLUND, G., P. L. ESPOSTI, B. NILSSON, and A. ZETTERBERG: The prognostic significance of nuclear DNA content in prostatic carcinoma. *Cancer* 69, 1432–1439 (1992). – FORSSLUND, G. and A. ZETTERBERG: Ploidy level determinations in high-grade and low-grade malignant variants of prostatic carcinoma. *Cancer Res.* 50, 4281–4285 (1990). – FOSSA, S. D.: Feulgen DNA-values in transitional cell carcinoma of the human urinary bladder. *Beitr. Pathol.* 155, 44–55 (1975). – FOSTER, C. S. and P. D. ABEL: Clinical and molecular techniques for diagnosis and monitoring for prostatic cancer. *Human Path.* 23, 395–401 (1992). – GUSTAFSON, H., B. TRIBUKAIT, and P. L. ESPOSTI: DNA profile and tumor progression in patients with superficial bladder tumors. *Urol. Res.* 10, 13–18 (1982). – HEINRICHS, M.: Quantitative Analyse der Anzahl von Onkogen-Kopien und deren Transkripte in normalen und transformierten Epithelzellen der Brustdrüse mit Hilfe von Fluoreszenz-*In-situ*-Hybridisierungstechniken und LASER-Scan-Mikroskopie. *Med. Diss.*, Aachen, 1992. – KOSS, L. and B. CZERNIAK: Image analysis and flow cytometry of tumors of prostate and bladder; with a comment on molecular biology of urothelial tumors. In: WEINSTEIN, R. S., GARDNER, W. A. Jr. (eds.): *Pathology and Pathobiology of the Urinary Bladder and Prostate*, Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 112–128 (1992). – LEDERER, B., G. MIKUZ, W. GÜTTER, and G. NEDDEN, zur: Cytophotometric investigations of the DNA content of benign and malignant transitional cell tumors of the bladder. Correlation of cytophotometric results with histological grading. *Beitr. Pathol.* 147, 379–389 (1972). – LEE, S. E., S. M. CURRIN, D. F. PAULSON, and P. J. WALTER: Flow cytometric determination of ploidy in prostatic adenocarcinoma: A comparison with seminal vesicle involvement and histopathological grading as a predictor of clinical recurrence. *J. Urol.* 140, 769–774 (1988). – LEISTENSCHNEIDER, W. und R. NAGEL: Einzelzellzytophotometrische Zellkern-DNA-Analysen beim behandelten, entdifferenzierten Prostatakarzinom und ihre klinische Bedeutung. *Urologe (A)* 22, 157–161 (1983). – LIEBER, M.: DNA content/ploidy as prognostic factors in prostate cancer. *The Prostate Suppl.* 4, 119–124 (1992). – LUNDBERG, S., J. CARSTENSEN, and I. LUNDQUIST: DNA flow cytometry and histopathological grading of paraffin embedded prostate biopsy specimens in a survival study. *Cancer Res.* 47, 1973–1977 (1987). – MAYER, G., H. E. HESSLER, M. BLECH and W. SCHRÖTER: DNA-Profil, Rezidivrate und Progression beim oberflächlichen G2-Karzinom der Harnblase. *Urologe (A)* 28, 173–176 (1988). – MARTIN, H., P. HUFNAGEL, M. BEIL, K. WENZELIDES, J. GOTTSCHALK, and W. RAHN: Nucleolar organizer region-associated in cancer cells. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 14, 312–319 (1992). – McIN-

TIRE, T. L., W. M. MURPHY, and J. S. COON: The prognostic value of DNA ploidy combined with histologic substaging for incidental carcinoma of the prostate gland. *Am. J. Clin. Pathol.* 89, 370–373 (1988). – MCINTIRE, T. L., W. M. MURPHY, and J. S. COON: The prognostic value of DNA ploidy combined with histological substaging for incidental carcinoma of the prostate gland. *Am. J. Clin. Pathol.* 89, 370–373 (1989). – MONTGOMERY, B. T., O. NATIV, M. L. BLUTE, G. M. FARROW, R. P. MYERS, H. ZINCKE, T. M. THERNEAU, and M. M. LIEBER: Stage B prostate adenocarcinoma. Flow cytometry nuclear DNA ploidy analysis. *Arch. Surg.* 125, 327–331 (1990). – MONTIRONI, R., M. SCARPELLI, E. PISAMI, G. ANSUIMI, F. MARTINELLI, and G. MARIUZZI: Non-invasive papillary transitional cell tumors: karyometric and DNA content analysis. *Analyt. Quant. Cytol. Histol.* 7, 337–342 (1985). – NATIV, O. and M. M. LIEBER: Prostatic carcinoma: prognostic importance of static and flow cytometric nuclear DNA ploidy measurements. *American Urological Ass. Inc.* 23, 177–183 (1991). – NATIV, O., H. Z. WINKLER, Y. RAZ, T. M. THERNEAU, G. M. FARROW, R. P. MYERS, H. ZINCKE, and M. M. LIEBER: Stage C prostatic adenocarcinoma: flow cytometric nuclear DNA ploidy analysis. *Mayo Clin. Proc.* 64, 911–913 (1989). – NIELSEN, K., G. H. BERILD, E. BRUUN, P. JORGENSEN, and N. WEIS: The prognostic value of histological grading and mean nuclear volume in human prostatic cancer. *The Prostate* 21, 53–61 (1992). – OIJANS, P. J. and H. J. TANKE: Flow cytometric analysis of DNA content in bladder cancer: prognostic value of the DNA-index with respect to early tumor recurrence in G2 tumors. *World J. Urol.* 4, 205–210 (1986). – PETERS, J. M., B. J. MILES, J. J. KUBUS, and J. D. CRISSMANN: Prognostic significance of the nuclear DNA content in localized prostatic adenocarcinoma. *Anal. Quant. Cytol.* 12, 359–365 (1990). – PETERS-GEE, J. M., B. J. MILES, J. C. CERNY, A. R. GABE, G. JACOBSEN, and J. D. CRISSMANN: Prognostic Significance of DNA quantitation in stage D1 prostate carcinoma with the use of image analysis. *Cancer* 70, 1159–1165 (1992). – SANDBERG, A.: Chromosomal abnormalities and related events in prostate cancer. *Hum. Pathol.* 23, 368–380 (1992). – SESTERHENN, I. A., R. L. BECKER, and F. A. AVALLONE: Image analysis of nucleoli and nucleolar organizer regions in prostatic hyperplasia, intraepithelial neoplasia and prostatic carcinoma. *J. Urogen. Pathol.* 1, 61–74 (1991). – SOWTER, C., G. SLAVIN, G. SOWTER, D. ROSEN, and W. HENDRY: Morphometry of bladder carcinoma; morphometry and grading complement each other. *Analyt. Cell Pathol.* 3, 1–9 (1991). – STEPHENSON, R. A., B. C. JAMES, H. GAY, W. R. FAIR, W. F. WHITMORE, and M. R. MELAMED: Flow cytometry of prostate cancer. Relationship of DNA content to survival. *Cancer Res.* 47, 2504–2509 (1987). – STEPHENSON, R. A., D. J. ZAHNISER, K. L. WONG, and M. L. HUTCHINSON: An image analysis method for assessment of prognostic risk in prostate cancer; a pilot study. *Anal. Cell Pathol.* 3, 243–248 (1991). – TAVARES, A. S., J. COSTA, A. DE CARVALHO, and A. REIS: Tumor ploidy and prognosis in carcinoma of the bladder and the prostate. *Br. J. Cancer.* 20, 438–441 (1966). – TAVARES, A. S., J. COSTA, and M. COSTA: Correlation between ploidy and prognosis in prostatic carcinoma. *J. Urol.* 109, 676–679 (1973). – TRAPMAN, J.: The molecular biology of urological tumors. *The Prostate Suppl.* 4, 159–169 (1992). – TRIBUKAIT, B.: Rapid flow cytometry of prostatic fine needle aspiration biopsies. In: KARR, J. P., COFFEY, D. S., GARDNER, W. Jr. (eds.): *Prognostic cytometry and cytophotometry of prostate cancer.* Elsevier Publ. Co., p. 236 (1988). – TRIBUKAIT, B., L. RÖNSTRÖM, and P. L. EPOSTI: Quantitative and qualitative aspects of flow DNA measurements related to the cytologic grade in prostate carcinoma. *Anal. Quant. Cytol. Histol.* 5, 107–111 (1983). – WINKLER, H. Z., L. M. RAINWATER, R. P. MYERS, G. M. FARROW, T. M. THERNEAU, H. ZINCKE, and M. LIEBER: Stage D1 prostatic adenocarcinoma: significance of nuclear DNA ploidy patterns by flow cytometry. *Mayo Clin. Proc.* 63, 103–112 (1988).

gar prospektive Studien, welche die Relevanz für Tumoren der ableitenden Harnwege und der Prostata hinreichend dokumentieren, außer für die DNA-Verteilung, kaum vor.

Folgende zytometrisch erfaßbare Parameter kommen derzeit für die Prognostik beim Urothelkarzinom prinzipiell in Frage.

1. Zell- und Gewebemorphologie (Bildanalyse)
2. Nukleolus-organisierende Regionen (AgNORs)
3. Chromosomen-Aberrationen (Interphase-Zytogenetik)
4. Onkogenprodukt-Expressionen (z. B. p 53)
5. Wachstumsfaktor-Rezeptoren
6. Proliferations-Marker (z. B. Ki 67)
7. DNA-Ploidie

Für morphometrische Parameter konnte eine Bedeutung als relevante, unabhängige prognostische Variablen beim Blasenkarzinom bisher nicht gesichert werden (MONTIRONI et al., 1985; SOWTER et al., 1991).

Auch über die prognostische Bedeutung der AgNORs beim Harnblasenkarzinom liegen bezüglich einer Routineanwendung nur unzureichende Daten vor (MARTIN et al., 1992).

Über eine mögliche prognostische Relevanz des Verlustes von Chromosom 11- und 17-Markern mittels Fluoreszenz *in situ*-Hybridisierung berichten (TRAPMAN (1992) sowie Koss und CZERNIAK (1992).

Die unter 4. bis 6. genannten Parameter sind noch unzureichend hinsichtlich ihrer prognostischen Bedeutung beim Urothelkarzinom untersucht.

Die Eignung des DNA-Verteilungsmusters als Grading-Parameter für das Harnblasenkarzinom belegten LEDERER et al. (1972) und FOSSA (1975) als erste. Die wesentliche diagnostische Bedeutung der DNA-Zytometrie liegt heute in der Vorhersage von Rezidiven nach Resektion oberflächlicher Urothelkarzinome der Stadien Ta und T1. GUSTAFSON et al. (1982) zeigten in einer Studie an 229 Patienten mit Grad 1–2 Urothelkarzinomen der Harnblase in den Stadien Ta und T1, daß nach Resektion keine Tumorphysion unter den 175 Patienten mit wiederholt diploiden DNA-Mustern auftreten. Progression fand sich dagegen nur bei den DNA-aneuploiden Tumoren. Ähnliche Ergebnisse erhielten BLOMJOUS et al. (1989) bei 80 Patienten mit Ta oder T1 Harnblasenkarzinomen. 98 % ihrer Patienten mit DNA-diploiden Tumoren zeigten nach Resektion keine Rezidive in einem 10jährigen Beobachtungszeitraum. In einer Studie von DE VERE WHITE et al. (1988) wiesen alle Patienten mit Ta Harnblasenkarzinomen Grad 1 und 2 mit aneuploiden DNA-Histogrammen Rezidive nach Operation auf. OIJANS und TANKE (1986) zeigten, daß DNA-diploide G2 Harnblasenkarzinome, irrespektive des Stadiums, hochsignifikant seltener innerhalb eines Jahres rezidivieren (9 %) als DNA-aneuploide Tumoren (77 %). Auch das rezidivfreie Intervall bei resezierten G2 Harnblasenkarzinomen ist für DNA-diploide Tumoren signifikant länger als für DNA-aneuploide Tumoren (MAIER et al., 1988). Bei Patienten mit Urothelkarzinomen des Nierenbeckens geringen Malignitätsgrades und niedrigen Stadiums kann mittels DNA-Zytometrie eine Untergruppe mit signifikant besserer Prognose identifiziert werden (BLUTE et al., 1988).

All diese prognostisch hoch relevanten Ergebnisse sind mit anderen Parametern, wie auch der morphologischen Gradierung, nicht zu erhalten. Damit ist die DNA-Zytometrie, zusammen mit dem Tumorstaging, bei Urothelkarzinomen in der Lage, prognostisch sehr günstige Fälle zu identifizieren, bei denen auf eine über die primäre Resektion hinausgehende Therapie zunächst verzichtet werden kann.

Für die Prognostik des Prostatakarzinoms kommen derzeit folgende zytometrisch erfaßbare Parameter in Frage:

1. Zell- und Gewebemorphologie (Bildanalyse)
2. Nukleolus organisierende Regionen (AgNORs)
3. Chromosomenaberrationen (Interphase-Zytogenetik)
4. Onkogenprodukt Expression (z. B. p 53)
5. Wachstumsfaktorrezeptoren
6. Hormonrezeptoren