

Aus dem Institut für Pathologie und Funktionsbereich Cytopathologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Leiter: Univ.-Prof. Dr. med. Stefan Biesterfeld

Kinetiken des Prostata Spezifischen Antigens als Indikationsstellung zur
Prostatastanzbiopsie

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Michael Engelhardt

2014

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf

Referent: Univ.-Prof. Dr. Böcking

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Albers

Zusammenfassung

Diese Arbeit beschäftigt sich mit der zeitlichen Entwicklung des Prostata Spezifischen Antigens (PSA) – den so genannten PSA-Kinetiken – und untersucht deren Wertigkeit in der Prostatakrebsfrüherkennung bei der Indikationsstellung zur Prostatastanzbiopsie.

Es ist bekannt, dass eine Strategie zur Prostatakrebsfrüherkennung, die sich bei der Indikation zur Prostatastanzbiopsie hauptsächlich auf den absoluten PSA-Wert stützt, zu viele falsch positive Ergebnisse liefert. Daher besteht die Hoffnung, mithilfe von PSA-Kinetiken, diese Indikation spezifischer zu stellen. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, mit welcher Treffsicherheit erstens die PSA-Verdopplungszeit und zweitens neu entwickelte Algorithmen die Indikation zur Prostatastanzbiopsie stellen. Diese neu entwickelten Algorithmen analysieren den PSA-Verlauf über die Zeit, um Muster einer karzinomgeschuldeten PSA-Produktion zu erkennen. Die Hypothesen der Arbeit besagen, dass PSA-Kinetiken – im Vergleich zum absoluten PSA-Wert – die Indikation zur Prostatastanzbiopsie spezifischer und ohne Verlust an Sensitivität stellen und dass es sich bei denjenigen Prostatakarzinomen, welche von PSA-Kinetiken übersehen werden, um klinisch insignifikante bzw. diploide Prostatakarzinome nach entsprechender Definition handelt.

Insgesamt wurden von 103 Patienten einer urologischen Gemeinschaftspraxis PSA-Verläufe über die Zeit analysiert. Alle Patienten unterzogen sich im weiteren Verlauf einer Prostatastanzbiopsie und bei 54 Patienten wurde im Zuge dessen ein Prostatakarzinom nachgewiesen. Daraufhin wurde untersucht, wie treffsicher PSA-Kinetiken die Indikation zur Prostatastanzbiopsie stellen. Weiterhin wurde eine Subgruppenanalyse durchgeführt, bei der – anhand prognostisch relevanter Parameter – Patienten mit klinisch signifikanten von Patienten mit klinisch insignifikanten Prostatakarzinomen bzw. ohne Karzinomnachweis unterschieden wurden. Sofern dies möglich war, wurde zudem von allen mit Karzinom durchsetzten Prostatastanzbiopsien eine Bild-DNA-Zytometrie durchgeführt und eine weitere Subgruppenanalyse von Patienten mit diploiden bzw. non-diploiden Prostatakarzinomen angeschlossen.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass PSA-Kinetiken in der Lage sind spezifischer als der absolute PSA-Wert die Indikation zur Prostatastanzbiopsie zu stellen, wobei die PSA-Verdopplungszeit im Vergleich zu den neu entwickelten Algorithmen tendenziell bessere Ergebnisse erzielt. Dennoch wurden nicht selten klinisch signifikante Prostatakarzinome übersehen, und die ermittelten Werte für Sensitivität und Spezifität genügen nicht den Ansprüchen, die eine routinemäßig Verwendung in der Prostatakrebsfrüherkennung rechtfertigen. Als Ursachen wurden, unter anderem, methodische Schwächen unserer Studie wie zum Beispiel ein zu kurzer Beobachtungszeitraum der PSA-Entwicklung oder eine begleitende antibiotische Therapie diskutiert. Zudem erschweren biologische Schwankungen der PSA-Messungen deren Interpretation im zeitlichen Verlauf.

Zusätzlich konnte im Rahmen der Ergebnisauswertung eine Reproduzierbarkeit der Bild-DNA-Zytometrie von 93% ermittelt werden, welche die Reproduzierbarkeit des Gleason Scores deutlich übertrifft.

Abschließend betrachtet bestätigt unsere Studie Ergebnisse von anderen Autoren, die eine routinemäßige Verwendung der PSA-Kinetiken als Indikationsstellung zur Prostatastanzbiopsie ablehnen. Aktuelle Studien mit größerer Fallzahl wie zum Beispiel die PRIAS Studie könnten jedoch durch strengere Einschlusskriterien PSA-Kinetiken unter verbesserten Voraussetzungen analysieren und möglicherweise zu einem anderen Schluss kommen.

Abkürzungsverzeichnis

AMACR	Alpha-methylacyl-CoA Racemase
AUC	Area Under the Curve
BPH	Benigne Prostatahyperplasie
CT	Computer-Tomographie
DNA	Deoxyribonucleic Acid (Desoxyribonukleinsäure = DNS)
DRU	Digitale Rektale Untersuchung
GSTP1	Glutathion S-Transferase P 1
IOD	Integrierte Optische Dichte
MRT	Magnet-Resonanz-Tomographie
NPW	Negativer Prädiktiver Wert
NSAID	Nichtsteroidale Antirheumatika
PET-CT	Positronen-Emissions-Tomographie-CT
PPW	Positiver Prädiktiver Wert
PRIAS	Prostate Cancer Research International: Active Surveillance
PSA	Prostata Spezifisches Antigen
PSADT	PSA-doubling time (PSA-Verdopplungszeit)
PSAV	PSA-velocity (PSA-Anstiegsgeschwindigkeit)
PSB	Prostatastanzbiopsie
ROC	Receiver Operating Characteristics
RPE	Radikale Prostatektomie
TRUS	Transrektaler Ultraschall
TURP	Transurethrale Resektion der Prostata

1 EINLEITUNG	1
1.1 Prostatakarzinom	1
1.2 Prostata Spezifisches Antigen.....	2
1.3 PSA-Kinetiken.....	5
1.4 Prostatastanzbiopsie	7
1.5 Bild-DNA-Zytometrie	9
1.6 Ziele und Hypothesen der Studie	10
2 PATIENTEN UND METHODEN.....	11
2.1 Studiendesign.....	11
2.2 Prostata Spezifisches Antigen.....	14
2.2.1 Labormethode und Präanalytik.....	14
2.2.2 Anzahl und Zeitpunkte der PSA-Messungen	15
2.2.3 Einfluss der medikamentösen Therapie auf den PSA-Wert.....	16
2.3 PSA-Kinetiken.....	17
2.4 Prostatastanzbiopsie	19
2.5 Bild-DNA-Zytometrie	20
2.5.1 Vorbereitung der Bild-DNA-Zytometrie	20
2.5.2 Bild-DNA-Zytometrie und Gradierung der Fälle	22
2.5.3 Reproduzierbarkeit der Bild-DNA-Zytometrie	24
2.6 Indikationsstellung zur Prostatastanzbiopsie.....	25
2.7 Statistik	26
2.8 Ethikvotum und Datenschutz.....	26
3 ERGEBNISSE.....	28
3.1 Patientenkohorte	28
3.2 Prostata Spezifisches Antigen.....	28
3.3 PSA-Kinetiken.....	30

3.4 Prostatastanzbiopsie	31
3.5 Bild-DNA-Zytometrie	36
3.6 Indikationsstellung zur Prostatastanzbiopsie.....	40
3.6.1 Screening auf Prostatakarzinome.....	41
3.6.2 Screening auf klinisch signifikante Prostatakarzinome	44
3.6.3 Screening auf non-diploide Prostatakarzinome	50
3.6.4 Screening auf klinisch signifikante Prostatakarzinome nach Studiendefinition	53
4 DISKUSSION.....	57
4.1 Studiendesign.....	57
4.2 Prostata Spezifisches Antigen.....	58
4.2.1 Variabilität der PSA-Messungen	58
4.2.2 Anzahl und Zeitpunkte der PSA-Messungen	58
4.2.3 Einfluss der medikamentösen Therapie auf den PSA-Wert.....	59
4.3 PSA-Kinetiken.....	60
4.4 Prostatastanzbiopsie	62
4.4.1 Qualität der Prostatastanzbiopsie und T-Stadienerhebung	62
4.4.2 Gleason Score.....	63
4.4.3 Nebenwirkungen und Komplikationen der Prostatastanzbiopsie	69
4.5 Bild-DNA-Zytometrie	70
4.5.1 Prognostische Relevanz der Bild-DNA-Zytometrie	70
4.5.2 Reproduzierbarkeit und Heterogenität der Bild-DNA-Zytometrie	71
4.5.3 Die Bild-DNA-Zytometrie in Leitlinien und Stellungnahmen von Fachgesellschaften	72
4.6 Indikationsstellung zur Prostatastanzbiopsie.....	72
4.6.1 Totaler PSA-Wert als Indikationsstellung zur Prostatastanzbiopsie	72
4.6.2 PSA-Verdopplungszeit als Indikationsstellung zur Prostatastanzbiopsie	73
4.6.3 Neu entwickelte Algorithmen als Indikationsstellung zur Prostatastanzbiopsie	74
5 SCHLUSSFOLGERUNGEN	76
6 LITERATUR- UND QUELLENVERZEICHNIS	78
7 ANHANG	91

1 Einleitung

1.1 Prostatakarzinom

Krebserkrankungen sind weltweit die dritthäufigste Todesursache. Nur Herz-Kreislauf Erkrankungen und Infektionserkrankungen fordern mehr Menschenleben (WHO, 2008). Das Prostatakarzinom steht dabei weltweit an sechster Stelle und in den Industrienationen an dritter Stelle der Krebstodesursachen für Männer (WHO, 2008). Auch in Deutschland nimmt das Prostatakarzinom Platz drei der Krebstodesursachen bei Männern ein. So lebten im Jahr 2006 in Deutschland 238.500 Männer mit der Diagnose Prostatakrebs (5-Jahres-Prävalenz). Insgesamt ist das Prostatakarzinom somit die häufigste Krebserkrankung bei Männern in Deutschland (RKI and GEKID, 2010). In den letzten 30 Jahren stieg die Rate der Neuerkrankungen alterstandardisiert stetig an, während die Sterberate nahezu konstant blieb (Abb.1). Neben der verbesserten Therapie des Prostatakarzinoms ist dafür eine intensivierte Früherkennung verantwortlich (Welch and Albertsen, 2009, Schröder et al., 2009).

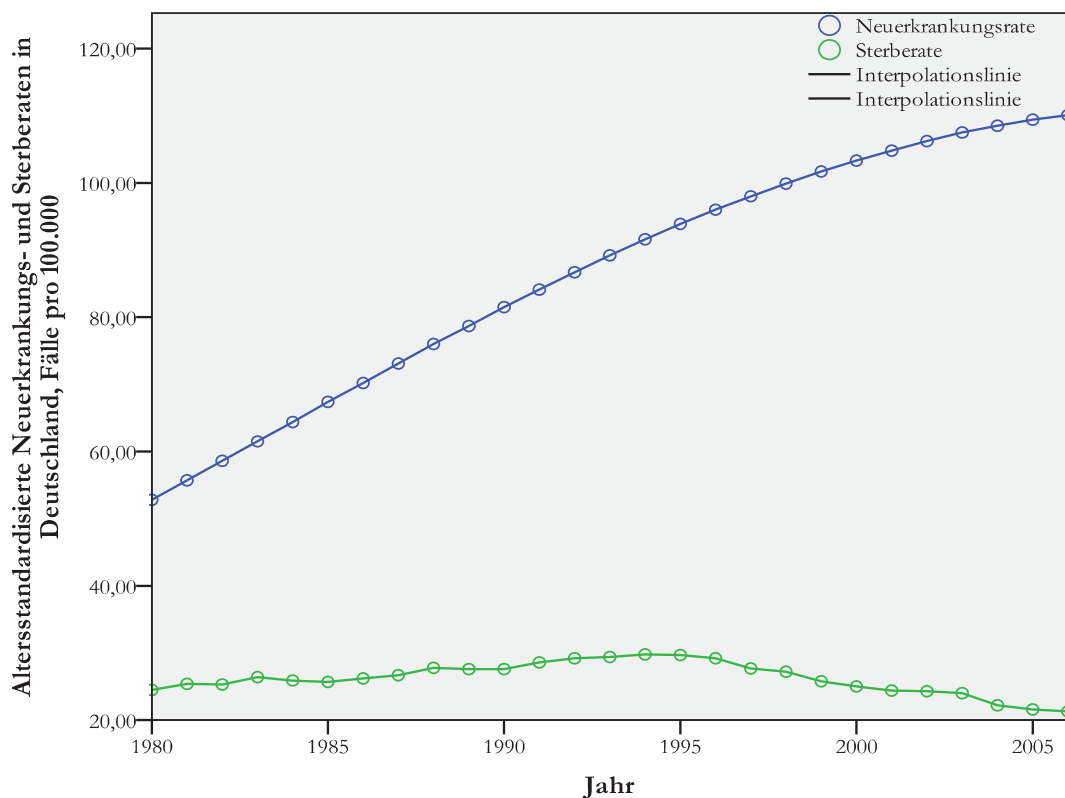


Abb. 1: Altersstandardisierte Neuerkrankungs- und Sterberate des Prostatakarzinoms in Deutschland

In den letzten Jahren ist folgendes Problem zunehmend in den Fokus gerückt: Eine steigende Anzahl an Männern lassen zur Früherkennung des Prostatakarzinom ihren PSA-Wert bestimmen, ohne die Gewissheit zu haben, davon zu profitieren (Andriole et al., 2009, Schröder et al., 2009, Nordstrom et al., 2013). Um bei einem Mann rechtzeitig ein lebensbedrohliches Prostatakarzinom zu entdecken und zu behandeln, ist es notwendig eine vielfach höhere Anzahl von Männern einer Diagnostik und Therapie zu unterziehen und dies möglicherweise zu Unrecht (van Leeuwen et al., 2010). Diese Tatsache führte zu den Begriffen der übermäßigen Diagnostik und Therapie (overdiagnosis and overtreatment) (Klotz, 2012b). Autopsiestudien haben gezeigt, dass sich bei vielen Männern *post mortem* ein Prostatakarzinom findet, welches zu Lebzeiten keine Beschwerden bereitete (Sakr et al., 1993, Yin et al., 2008). Etwa ein Drittel der 60-70-Jährigen und die Hälfte der 70-80-Jährigen weisen ein Prostatakarzinom in der Autopsie auf, welches zu Lebzeiten weder symptomatisch war noch diagnostiziert wurde (Yin et al., 2008). Zudem gibt es Männer, die bis zu 20 Jahren mit der Diagnose Prostatakrebs leben ohne daran zu versterben (Albertsen et al., 2005a, Sandblom et al., 2011). Daher sollte bei diesen Gruppen von Männern overdiagnosis und overtreatment verhindert werden (Bangma et al., 2007, Stamey, 2004). Denn sowohl die Diagnostik (Miller et al., 2005, Medd et al., 2005) als auch die Therapie des Prostatakarzinoms (Löppenberg et al., 2010, Orsola and Morote, 2009, Siegel et al., 2001, Stanford et al., 2000, Brooks et al., 2010) kann mit Komplikationen, Nebenwirkungen und Einschränkungen der Lebensqualität verbunden sein. Für dieses Patientenkollektiv eignen sich vielmehr nebenwirkungsarme Therapiestrategien, wie „active surveillance“ oder „watchful waiting“ (Wirth et al., 2009, Heidenreich et al., 2008, Wirth et al., 2011).

Ziel unserer Studie war es nur diejenigen Männer zu ermitteln, die möglicherweise von einer mit Nebenwirkungen behafteten Diagnostik und Therapie des Prostatakarzinoms profitieren. Mittels Analyse von PSA-Werten über die Zeit (sogenannte PSA-Kinetiken) sollte die Indikation zur Prostatastanzbiopsie gestellt werden. Die Prostatastanzbiopsie stellt den ersten Schritt in Richtung intensiverer Diagnostik und Therapie dar und sollte daher hauptsächlich denjenigen Männern zu Gute kommen, die möglicherweise frühzeitig an ihrem Prostatakarzinom sterben (Baker and Graham, 2008).

1.2 Prostata Spezifisches Antigen

Das Prostata Spezifische Antigen (PSA) ist eine Kallikrein-ähnlich Serinprotease, auch humanes Kallikrein 3 (hK3) genannt. PSA wird sowohl von benignen als auch von maligne

entarteten Epithelzellen der Prostata gebildet. Zum Großteil wird PSA am apikalen Pol der Epithelzellen in die Drüsenlumina der Prostata apokrin sezerniert (Christiansen et al., 2003). Dort spaltet PSA die Sekretproteine der Samenblase, verflüssigt dadurch das Ejakulat und erhöht die Motilität der Spermien (Coombs et al., 1998, Robert et al., 1997). Ein kleinerer Anteil des PSA gelangt ins Blut, wobei die genauen Mechanismen, wie es dorthin gelangt, noch nicht endgültig geklärt sind (Christiansen et al., 2003). Im Blut zirkuliert PSA sowohl in gebundener als auch in freier Form (Christensson et al., 1990). Zu 70-90% ist PSA an α -1 Antichymotrypsin gebunden, während ein kleinerer Teil mit dem α -2 Makroglobulin und α -1 Antitrypsin einen Komplex eingeht (Stenman et al., 1991). Zu 5-40% findet sich PSA in freier, ungebundener Form im Blut (Stenman et al., 1999).

Dem Prostata Spezifischen Antigen wird eine bedeutende Rolle in der Früherkennung des Prostatakarzinoms zugeschrieben (Schröder et al., 2009). Mittlerweile werden immer mehr Prostatakarzinome immer früher durch den PSA-Test diagnostiziert (Welch and Albertsen, 2009). Welche Vor- bzw. Nachteile eine Prostatakrebsfrüherkennung anhand des PSA-Wertes mit sich bringt, wurde in zwei groß angelegten prospektiven Studien untersucht. Sowohl eine europäische Studie (ERSPC) (Schröder and Bangma, 1997, Schröder et al., 1999) als auch eine amerikanische Studie (PLCO) (Prorok et al., 2000) sollten den Nutzen des PSA-Screenings bewerten. Die Ergebnisse der Studien bleiben hinsichtlich harter Endpunkte kontrovers (Canfield, 2009b, Canfield, 2009a): In der PLCO-Studie ließ sich die Wahrscheinlichkeit an einem Prostatakarzinom zu versterben durch ein PSA-Screening nicht senken (Andriole et al., 2009). Hingegen wurde in der ERSPC-Studie ermittelt, dass sich die Mortalität des Prostatakarzinoms unter Zuhilfenahme des PSA-Screenings um bis zu 31% vermindern lässt (Roobol et al., 2009). Allerdings ist dieser Effekt mit einem hohen Risiko an overdiagnosis und overtreatment verbunden (Roobol et al., 2009). Weiterhin konnten sowohl ältere als auch aktuelle systematische Übersichtsarbeiten, darunter unter anderem Veröffentlichungen der Cochrane Collaboration, keine Evidenz ermitteln, die ein Screening mit PSA rechtfertigt (Ilic et al., 2007, Djulbegovic et al., 2010, Ilic et al., 2011, Ilic et al., 2013). Trotz alledem hat der PSA-Wert seit längerem Einzug in deutsche und internationale Leitlinien erhalten (de Reijke et al., 2007, Thompson and Brantley, 2007, Wirth et al., 2009, Wirth et al., 2011). In einigen Leitlinien wird zwar explizit gefordert, jeden Patienten über die Vor- und Nachteile des PSA-Screenings aufzuklären (Wirth et al., 2009, Baker and Graham, 2008, Brooks et al., 2010, Wirth et al., 2011) und neuerdings wird in den U.S.A. von einigen Fachgesellschaften für manche Altersgruppen ein Routine Screening

mittels PSA gar nicht mehr empfohlen (Carter et al., 2013), doch in der Praxis wird der PSA-Wert vielfach standardmäßig verwendet (Nordstrom et al., 2013). So kennen zum Beispiel die Hälfte der über 50-Jährigen Amerikaner ihren PSA-Wert (Ross et al., 2008).

Warum kann der PSA-Wert nicht uneingeschränkt zur Früherkennung des Prostatakarzinoms empfohlen werden? Die Begründung liefern Sensitivität und Spezifität des PSA-Tests, die je nach PSA-Schwellenwert variieren (Tabelle 1) (Thompson et al., 2005). Sie erreichen nie für einen Früherkennungstest akzeptable Werte (Schröder et al., 2008), weshalb die PSA-Bestimmung unter anderem auch nicht im Leistungskatalog der gesetzlichen Krankenkassen aufgeführt wird.

PSA-Schwellenwert in ng/ml	Sensitivität in Prozent	Spezifität in Prozent
1,1	83,4	38,9
2,1	52,6	72,5
3,1	32,2	86,7
4,1	20,5	93,8

Tabelle 1: **Sensitivität und Spezifität einzelner PSA-Schwellenwerte** aus (Thompson et al., 2005)

Mehrere Begründungen können herangezogen werden um zu erklären, weshalb die gebräuchlichen PSA-Schwellenwerte weder ausreichend sensitiv noch spezifisch sind. Eine Erklärung liefert die Tatsache, dass zwei häufige gutartige Prostataerkrankungen den PSA-Wert im Serum in die Höhe treiben können. Sowohl die benigne Prostatahyperplasie (BPH) (Stenman et al., 1999, Schmid et al., 1993a, Stamey et al., 1987) als auch die chronische und akute Prostatitis (Battikhi et al., 2006) sind in der Lage den PSA-Wert über den Schwellenwert von 3ng/ml bzw. 4ng/ml (Schröder et al., 2008) hinaus zu erhöhen. Bei den über 50-Jährigen sind schätzungsweise zwei Drittel aller erhöhten PSA-Werte über 4 ng/ml auf eine BPH zurückzuführen (Stenman et al., 1999). Die gebräuchlichen PSA-Schwellenwerte liefern daher eine hohe Anzahl an falsch positiven Ergebnissen (Schröder et al., 2008). Für jedes falsch positive Ergebnis unterzieht sich ein Mann zu Unrecht einer Prostatastanzbiopsie und lebt kurzzeitig mit der Angst an einer Tumorerkrankung leiden zu können (Medd et al., 2005). Einige Autoren forderten daher bereits vor knapp zehn Jahren eine Abkehr vom PSA-Wert als Tumormarker zur Diagnose des Prostatakarzinoms (Stamey, 2004).

Einen weiteren Grund für die eingeschränkte Sensitivität und Spezifität des PSA-Wertes liefert dessen Variabilität (Eastham et al., 2003). Der PSA-Wert im Serum eines Mannes

unterliegt Schwankungen unterschiedlicher Natur (Price et al., 2001). Zunächst gibt es eine Reihe von externen Faktoren, die den PSA-Wert beeinflussen können (z.B. Hormontherapie, Prostatastanzbiopsie, etc.). Diese sind ausführlich in Kapitel 2.2.1 beschrieben. Weiterhin werden physiologische Schwankungen des PSA-Wertes beschrieben (Prestigiacomo and Stamey, 1996, Nixon et al., 1997). Diese physiologischen Schwankungen treten unabhängig von dem zur PSA-Bestimmung verwendeten Assay auf und sind in ihrer Ursache nicht vollständig erforscht (Price et al., 2001). Eine systematische Übersichtsarbeit konnte durchschnittliche physiologische Schwankungen des PSA-Wertes von 20 Prozent ermitteln für einen PSA Bereich von 0,1-20 ng/ml (Sölétormos et al., 2005). Ein Teil der physiologischen Variabilität könnte zirkadianen Schwankungen zugeschrieben werden (Mermall et al., 1995), wobei sich die Datenlage hierzu kontrovers darstellt (Sölétormos et al., 2005).

1.3 PSA-Kinetiken

Wenn der PSA-Wert allein nicht zum Screening genügt, müssen geeignetere Methoden gefunden werden, wonach die Wissenschaft seit längerem verzweifelt sucht (Stamey, 2004). Eine Möglichkeit die Sensitivität und Spezifität des PSA-Testes für die Indikation zur Stanzbiopsie der Prostata zu erhöhen, stellen Analysen von konsekutiven PSA-Messungen über die Zeit dar, sogenannte PSA-Kinetiken. Vor über 20 Jahren wurde erstmalig eine Reihe von PSA-Werten über einen längeren Zeitraum erhoben und ausgewertet (Carter et al., 1992). Seitdem werden in vielen Studien Vorhersagen, die auf PSA-Kinetiken basieren, anhand verschiedener Endpunkte überprüft. Als PSA-Kinetiken werden dabei die PSA-Anstiegsgeschwindigkeit (PSA-velocity, PSAV) und die PSA-Verdopplungszeit (PSA-doubling time, PSADT) am häufigsten verwendet (Loeb et al., 2008). Oftmals wird als Studienendpunkt die Diagnose des Prostatakarzinoms an der Stanzbiopsie gewählt (Spurgeon et al., 2007, Nowroozi et al., 2009, Ng et al., 2009, Thompson et al., 2006). Eine systematische Übersichtsarbeit analysierte einen Großteil dieser Studien und konnte abschließend keine Empfehlung für die Verwendung von PSA-Kinetiken in der Diagnostik des Prostatakarzinoms geben (Vickers et al., 2009). Eine Studie, deren Ergebnis nicht in die Übersichtsarbeit einfließt, zeigt jedoch das Potential der PSA-Kinetiken besonders aggressive Prostatakarzinome gezielt zu entdecken (Loeb et al., 2008). Zudem werden PSA-Kinetiken für die „active surveillance“ Therapiestrategie (Ramírez et al., 2008, Klotz, 2005b, Roemeling et al., 2007, van den Bergh et al., 2008, Bangma et al., 2012) und für die Nachsorge nach primär kurativer Therapie des Prostatakarzinoms (Arlen et al., 2008) immer öfter empfohlen.

Insgesamt erscheint die Studienlage zu PSA-Kinetiken momentan nicht eindeutig: Während die oben genannten Studien eine Verwendung der PSA-Kinetiken bei bestimmten Fragestellungen befürworten, stellt eine aktuelle Studie deren Verwendung im Rahmen des „active surveillance“ in Frage (Ross et al., 2010). Diese kontroverse Datenlage spiegelt sich in den aktuellen Leitlinien wider, die sich mit Empfehlungen zur Verwendung der PSA-Kinetiken im Rahmen der Prostatakrebsfrüherkennung zurückhalten (Wirth et al., 2011). Die unterschiedlichen Ergebnisse zur Wertigkeit der PSA-Kinetiken sind unter anderem einer fehlender Standardisierung (Arlen et al., 2008) und methodischen Schwächen der Studien geschuldet (Vickers et al., 2009, Begg and Greenes, 1983). So wurden in der Vergangenheit PSA-Kinetiken mit unterschiedlichen Methoden berechnet (Svatek et al., 2006). Weiterhin bestand kein Konsens darüber, wie viele PSA-Messungen und in welchen Intervallen diese erfolgen sollten (van den Bergh et al., 2008). Durch die Einführung einer Leitlinie zur PSA-doubling time (PSADT) sollen kommende Studien standardisiert und vergleichbar werden (Arlen et al., 2008). Wir analysierten in unserer Studie die Wertigkeit der bekannten PSADT und neu entwickelter Algorithmen basierend auf PSA-Kinetiken. Den Empfehlungen und Vorgaben der oben genannten Leitlinie wurde entsprochen.

Um PSA-Kinetiken zu verstehen und richtig einzusetzen sind Kenntnisse über den Weg des PSA ins Blut von entscheidender Bedeutung. Obwohl sich Studien in vielerlei Hinsicht mit dem PSA befasst haben, gibt es bislang keine profunden Erkenntnisse darüber, wie PSA von den Prostataepithelzellen ins Blut gelangt (Christiansen et al., 2003). Vor allem herrscht Unklarheit darüber, wie sich die Mechanismen zwischen normalen bzw. hyperplastischen und maligne entarteten Prostataepithelzellen unterscheiden. Momentan basieren die Erkenntnisse hauptsächlich auf theoretischen Modellen und *in vitro* Beobachtungen. So wird der PSA-Gehalt im Blut eines Mannes hauptsächlich von zwei Faktoren beeinflusst: Zum einem ist er davon abhängig wie viel PSA die Prostataepithelzellen synthetisieren und sezernieren, zum anderen davon, zu welchem Anteil PSA ins Blut gelangt. Im Falle einer normalen bzw. hyperplastischen Prostata kann angenommen werden, dass beide Faktoren über die Zeit im Vergleich zum Prostatakarzinom relativ konstant bleiben. Über die Jahre kann eine leichte Erhöhung der PSA-Sekretion beobachtet werden, die zurückzuführen ist auf eine physiologisch steigende Zellzahl durch Zellteilungen der Epithelzellen im Rahmen einer BPH. PSA gelangt jedoch nicht auf Grund ungerichteter Sekretion vermehrt ins Blut (Stenman et al., 1999), denn im normalen und hyperplastischen Prostatagewebe bleibt die Polarität der Epithelzellen unversehrt (Böcking and Henne, 1982): Der Großteil des PSA

wird am apikalen Pol in die Drüsenlumina sezerniert und ein kleinerer Anteil am basolateralen Pol (Christiansen et al., 2003). Von dort gelangt PSA ins Blut und wird nachweisbar. Im Vergleich dazu scheinen beim Prostatakarzinom die PSA-Werte über die Zeit schneller zu steigen (Schmid et al., 1993b, Carter et al., 1992). Zu diesem Phänomen werden unterschiedliche Ursachen diskutiert, wobei die genauen Mechanismen noch nicht erforscht sind (Christiansen et al., 2003). Zunächst wird versucht, den dynamischeren PSA-Anstieg durch eine erhöhte PSA-Synthese und PSA-Sekretion des malignen Prostatagewebes zu erklären. Diese Tatsache wurde sowohl klinisch (Schmid et al., 1993b) als auch *in vitro* beobachtet (Song et al., 2003, Ballangrud et al., 1999). Die PSA-Sekretion ist dabei abhängig vom Differenzierungsgrad des Prostatakarzinoms (Song et al., 2003). *In vitro* wurde mit fortschreitender Entdifferenzierung zunächst eine steil ansteigende PSA-Sekretion beobachtet. Im Verlauf schwächt sich jedoch deren Dynamik ab und kommt schlussendlich nahezu zum Erliegen (Ballangrud et al., 1999). Diese Entdeckungen decken sich mit anderen *in vitro* Beobachtungen (Abrahamsson et al., 1988, Aihara et al., 1994, Song et al., 2003). Weiterhin werden Metabolite der Prostata auf Grund von Defekten in der Polarität der Epithelzellen im Blut vermehrt nachweisbar (Stenman, 1997, Böcking and Henne, 1982). Diese Polaritätsdefekte können ihren Ursprung in gestörten tight junctions und Ionenkanälen haben, welche bei maligne entarteten Geweben beobachtet werden können (Mullin, 2004). Schlussendlich wird vermutet, dass Mikrometastasen einen Anteil zum erhöhten PSA-Gehalt im Blut beisteuern können (Christiansen et al., 2003, Alix-Panabières et al., 2005). Ziel unserer Studie war es, Algorithmen zu finden, die PSA-Verläufe über die Zeit analysieren und zwischen physiologischen und malignen Verlaufsmustern unterscheiden können. Auf Grundlage der Ergebnisse dieser Algorithmen sollte die Indikation zur Prostatastanzbiopsie gestellt werden.

1.4 Prostatastanzbiopsie

Zur Sicherung der Verdachtsdiagnose Prostatakarzinom wird gemeinhin in deutschen und internationalen Leitlinien die Prostatastanzbiopsie (PSB) empfohlen. Laut Leitlinien kann sowohl ein erhöhter PSA-Wert als auch ein auffälliger Befund in der digitalen rektalen Untersuchung (DRU) oder Transrektalen Ultraschall Sonographie (TRUS) eine PSB rechtfertigen (Wirth et al., 2009, Heidenreich et al., 2008, Baker and Graham, 2008, de Reijke et al., 2007, Thompson and Brantley, 2007, Brooks et al., 2010, Wirth et al., 2011). Den bildgebenden Verfahren wird in den meisten Leitlinien zurzeit noch kein zusätzlich diagnostischer Nutzen in der Früherkennung attestiert (Wirth et al., 2009, de Reijke et al., 2007,

Wirth et al., 2011). Für Patienten und Urologen besteht das Problem, dass die Empfehlungen, wann eine PSB indiziert ist, weder einheitlich sind noch an feste Kriterien gebunden sind. Die Entscheidung obliegt vielmehr dem behandelnden Urologen, der das individuelle Risikoprofil des Patienten berücksichtigen und den Patienten in den Entscheidungsprozess einbinden soll (Wirth et al., 2009, Baker and Graham, 2008, Brooks et al., 2010, Wirth et al., 2011, Carter et al., 2013). Die Aussagekraft der Prostatastanzbiopsie ist dabei unter anderem abhängig davon, wie viele Stenzen pro Biopsie entnommen werden (Eichler et al., 2006, Djavan and Margreiter, 2007, Delongchamps et al., 2009). Die entnommenen Gewebeproben werden nach histopathologischen Kriterien untersucht, wobei der Gleason Score und das Tumervolumen eine entscheidende Rolle spielen (Bostwick et al., 2000).

Der Gleason Score wurde im Jahr 1966 erstmalig beschrieben (Gleason, 1966). Heute gilt er in modifizierter Form als einer der wichtigsten prognostischen Marker beim Prostatakarzinom (Epstein, 2010). Das College of American Pathologists (CAP) stuft den Gleason Score als prognostischen Faktor der höchsten Kategorie ein (Bostwick et al., 2000). Die Gradierung erfolgt anhand definierter Muster der histologischen Architektur des Prostatakarzinoms. Früher wurden für die zwei vorherrschenden Muster Punkte von eins bis fünf vergeben und addiert. Im Jahr 2005 wurden modifizierte Gleason Score Kriterien für die Prostatastanzbiopsie vereinbart (Epstein et al., 2005). Seitdem werden die Punktzahlen des häufigsten und bösartigsten Musters addiert (the most and the worst). Für Prostatastanzbiopsien wird empfohlen einen Gleason Score von kleiner als fünf praktisch nicht mehr zu vergeben (Epstein, 2010, Epstein et al., 2005). In die Kritik geraten ist der Gleason Score unter anderem, weil er nicht auf rein objektiven Kriterien beruht und somit eingeschränkt reproduzierbar ist. Vor allem an Prostatastanzbiopsien lässt sich der Gleason Score – wie in mehreren Studien wiederholt gezeigt – nur mittelmäßig reproduzieren (Allsbrook et al., 2001a, Burchardt et al., 2008, De la Taille et al., 2003, Glaessgen et al., 2004, Griffiths et al., 2006, Montironi et al., 2005b, Allsbrook et al., 2001b). Nach Einführung der modifizierten GS-Kriterien im Jahr 2005 sollte sich die Reproduzierbarkeit verbessern (Hjerppe and Egevad, 2007), doch eine aktuelle Studie zeigt, dass selbst unter ausgewiesenen Urologen weiterhin Uneinigkeit herrscht, wenn es darum geht, die klinisch relevante Gleason Score Muster 6 und 7 (3+4 oder 4+3) zu unterscheiden (Egevad et al., 2011). Die Therapiefindung des Prostatakarzinoms wird somit immer noch von einem eingeschränkt objektiven und nur mäßig reproduzierbaren Parameter beeinflusst.

So fanden zum Beispiel Burchardt et al. in einer aktuellen Studie zur Reproduzierbarkeit des Gleason Scores eine exakte Übereinstimmung der Gradierungen in nur 46% der Fälle. Verglichen wurden dabei jeweils die Gradierungen von 29 deutschen Pathologen mit einer Referenzgradierung des renommierten Pathologen J.I. Epstein (Burchardt et al., 2008).

1.5 Bild-DNA-Zytometrie

Um diejenigen Patienten zu identifizieren, die unter einem für sie zu Lebzeiten bedrohlichen Prostatakarzinom leiden und einer intensiven Therapie bedürfen, wurde in unserer Studie zusätzlich die Bild-DNA-Zytometrie herangezogen. Die Bild-DNA-Zytometrie hat ihre Stellung als ergänzende diagnostische Methode beim Prostatakarzinom unter Beweis gestellt (Lorenzato et al., 2004, Isharwal et al., 2009) und kann weiterführende Aussagen zur Prognose des Prostatakarzinoms geben (Tribukait, 1993b, Pretorius et al., 2009). Sie ist hinsichtlich ihrer prognostischen Relevanz für das Prostatakarzinom momentan der College of American Pathologists Kategorie II zugehörig (Bostwick et al., 2000) und wird von einigen Autoren als Surrogatparameter für den Gleason Score in ausgewählten Situationen vorgeschlagen (Isharwal et al., 2009). In einer WHO Konsensus Empfehlung wird für das Prostatakarzinom die Kenntnis des DNA-Ploidie Grades durch die DNA-Zytometrie als Voraussetzung angesehen, um eine angemessene Therapieentscheidung zu treffen (Schröder et al., 1994).

Seit Jahren wird der DNA-Gehalt von Zellkernen mittels Bild-DNA-Zytometrie bestimmt, um zusätzliche diagnostisch und prognostisch relevante Aussagen zu erhalten (Haroske et al., 2001). Jedoch lässt sich der DNA-Gehalt eines Zellkernes nicht direkt durch Bild-DNA-Zytometrie bestimmen. Zunächst müssen die Zellkerne vom Zytoplasma separiert werden (enzymatische Zellvereinzelung). Anschließend kann die in den Zellkernen enthaltene DNA spezifisch nach den Angaben von Robert Feulgen angefärbt werden. Mikroskopisch wird nun von jedem Zellkern die integrierte optische Dichte (IOD) gemessen. Die IOD des Zellkerns verhält sich proportional zu dessen DNA-Gehalt. Zur Eichung dient eine nicht-pathologische Population von Referenzzellkernen im G0/G1 Stadium des Zellzyklus, deren Chromosomensatz als bekannt gilt (z.B. Fibroblasten). Ihr Mittelwert der IOD wird als 2c (2 content = zweifacher DNA-Gehalt = diploid) festgelegt. Alle IOD-Werte der Analysezellkerne werden als Vielfaches von 2c angegeben und tragen ebenso die Einheit c (content = DNA-Gehalt). Die Analysezellkerne können sich in verschiedenen Mustern um den durch Analysezellen definierten 2c-Wert gruppieren und entsprechend

charakteristische DNA-Histogramme darstellen. Je nach Verteilung der Analysezellkerne spricht man von unterschiedlicher DNA-Ploidie. Es wird generell zwischen peridiploiden, peritetraploiden, x-ploiden oder multiploiden Mustern unterschieden (Tribukait et al., 1980, Haroske et al., 2001).

1.6 Ziele und Hypothesen der Studie

Ziel unserer Studie war es, die unten aufgeführten Hypothesen zu überprüfen.

1. Hypothese:

PSA-Kinetiken erlauben ohne Verlust an Sensitivität eine spezifischere Verdachtsdiagnose des Prostatakarzinoms im Vergleich zur alleinigen Verwendung von absoluten PSA-Werten. Damit sind PSA-Kinetiken in der Lage die Spezifität des PSA-Tests zu erhöhen.

2. Hypothese:

Falls PSA-Kinetiken Prostatakarzinome nicht erkennen (falsch negatives Testergebnis), so handelt es sich in diesen Fällen um insignifikante Prostatakarzinome. Die Definition des klinisch insignifikanten Prostatakarzinoms orientiert sich sowohl an der DNA-Ploidie als auch an publizierten laborchemischen, histopathologischen und klinischen Parametern.

2 Patienten und Methoden

2.1 Studiendesign

Als Studientyp wurde eine explorative retrospektive Kohortenstudie mit gutem Referenzstandard festgelegt. Dies entspricht nach den Kriterien des Oxford Center of Evidence based Medicine (CEBM) einer Studie des Evidenzlevels 2 B (Phillips et al., 2008).

Für die Kohorte kamen alle männlichen Patienten einer urologischen Gemeinschaftspraxis in Wuppertal (Die Gesundheitsunion Urologie, Hofaue 93 in 42103 Wuppertal. Leitung: Dr. med. Jochen Gleisner) in Frage, sofern sie die in den folgenden Kapiteln näher erläuterten Einschlusskriterien erfüllten. Für eine mögliche Rekrutierung galt der Zeitraum vom 20. April 2001 bis zum 20. Juni 2009. Die Teilnehmer der Studie wurden durch zwei Filtervorgänge ausgewählt. Im ersten Schritt wurden mögliche Teilnehmer der Studie computergestützt selektiert. Im zweiten Schritt wurde jede digitale Patientenakte hinsichtlich der festgelegten Einschlusskriterien manuell gesichtet und alle für die Studie geeigneten Patienten rekrutiert. Der erste Schritt, um potentielle Teilnehmer für die Studie zu sichten, erfolgte mit dem elektronischen Patientenverwaltungssystem Albis (Albis on Windows). Folgende Rekrutierungskriterien wurden in die Suchmaske des Patientenverwaltungssystems eingegeben:

- drei konsekutive PSA-Bestimmungen, die ausschließlich im praxiseigenen Labor durchgeführt wurden
- eine zeitlich nachfolgende Prostatastanzbiopsie
- zwischen konsekutiven PSA-Messungen liegen weniger als sechs Monate

Insgesamt wurden nach Anwendung dieses ersten Filters 309 Patienten ausgewählt.

Anschließend wurde jede im ersten Schritt der Rekrutierung ausgewählte digitale Patientenakte eingesehen und festgestellt, ob sich der jeweilige Patient für die Kohorte eignet. Folgende Kriterien führten zum Ausschluss aus der Kohorte und werden in den folgenden Kapiteln näher erläutert:

- weniger als drei PSA-Messungen vor der Prostatastanzbiopsie (Kapitel 2.3.2)
- der Abstand zwischen zwei PSA-Messungen ist kleiner als ein Monat (Kapitel 2.3.2)
- der Abstand zwischen der letzten PSA-Messung und der Prostatastanzbiopsie beträgt mehr als vier Monate (Kapitel 2.3.2)
- bestimmte medikamentöse Therapie (Kapitel 2.3.3)
- fehlende Einverständniserklärung (Kapitel 2.8)

Zusätzlich konnten diejenigen Patienten, die sich bereits einer radikalen Prostatektomie (RPE) unterzogen hatten, nicht in die Studie mitaufgenommen werden ($n=3$), denn es war nicht Ziel der Studie Rezidive, sondern Erstmanifestationen eines Prostatakarzinoms zu entdecken. Hingegen wurden Patienten, bei denen eine transurethrale Resektion der Prostata (TURP) erfolgt war – ohne Nachweis eines Prostatakarzinoms im Resektat – als Studienteilnehmer berücksichtigt ($n=4$). Nach Anwendung des zweiten Filters konnten 103 Patienten endgültig in die Kohorte aufgenommen werden. Im folgenden Kapitel ist die Rekrutierung der Studienteilnehmer in einem Flussdiagramm dargestellt, welches angelehnt an Empfehlungen der CONSORT Gruppe erstellt wurde (Moher et al., 2001).

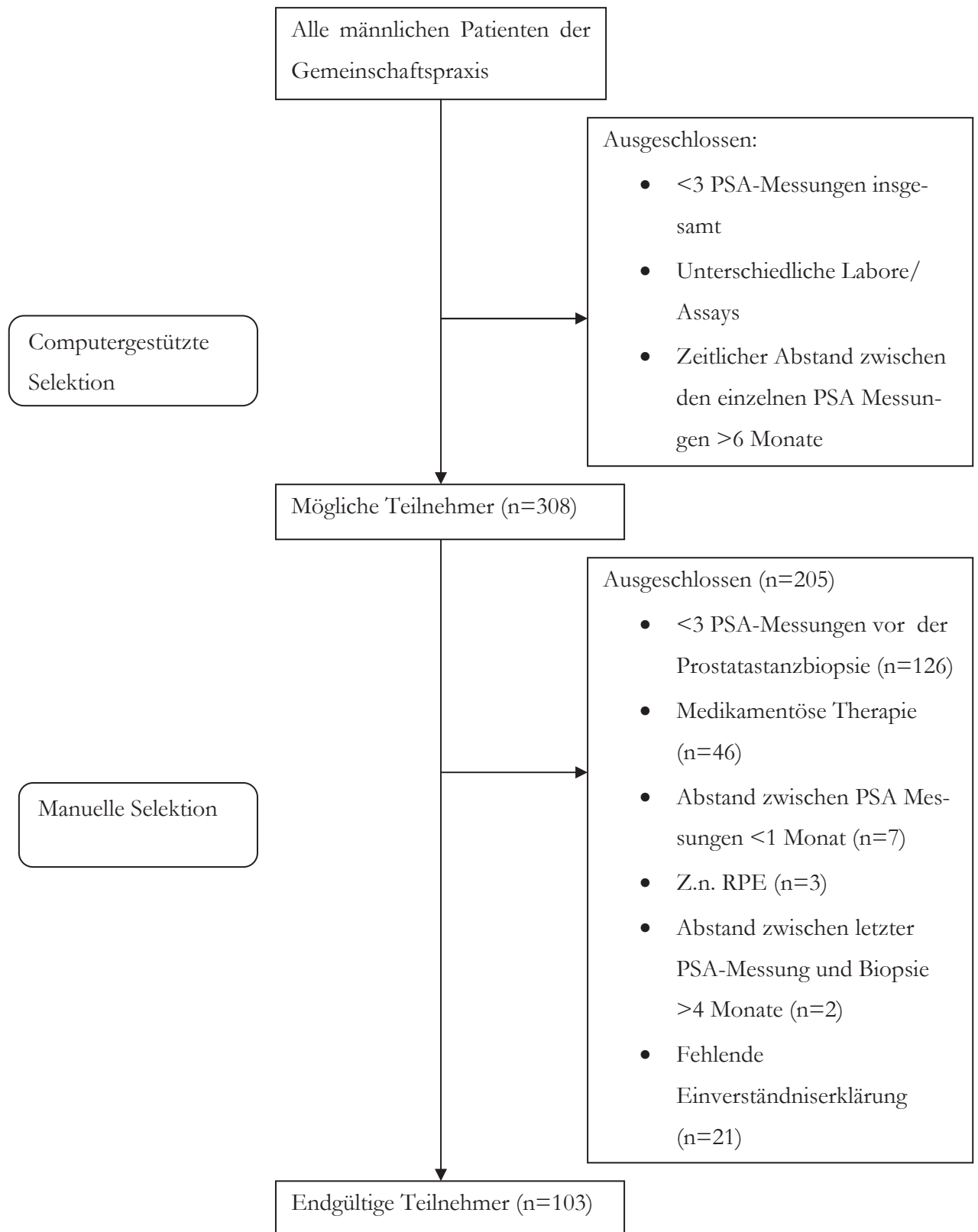


Abb.2: Flussdiagramm zur Patientenrekrutierung nach Empfehlungen der CONSORT Gruppe

2.2 Prostata Spezifisches Antigen

2.2.1 Labormethode und Präanalytik

Für die Studie sollten ausschließlich Messungen des Gesamtbetrags aus freiem und gebundenem PSA-Gehalt im Serum berücksichtigt werden. Der Übersicht halber ist daher im Folgenden mit PSA-Messung immer eine Bestimmung des totalen PSA-Gehalts im Serum gemeint. Für die Bestimmung des totalen PSA-Gehaltes im Serum wurde entsprechend aktuellen Empfehlungen (Wirth et al., 2009, Carroll et al., 2009, Wirth et al., 2011) ausschließlich eine Labormethode verwendet. Es handelte sich dabei um das praxiseigene Immulite 2000 Immunoassay-System (Firma Siemens, Deutschland) (Tabelle 2).

Messbereich	0,04-150 ng/ml
Analytische Sensitivität	0,04 ng/ml
Präzision: Intra-Assay Variabilität	2,2-3,6% Variationskoeffizient
Präzision: gesamt	3,7-5,3% Variationskoeffizient
Linearität bei Probenverdünnung (1:16-16:16)	91-113% beobachteter/erwarteter Wert
Wiederfindung (vier verschiedene PSA-Lösung 107-817 ng/ml werden bekannten Proben 1:19 zugesetzt und wiederum gemessen)	91-108% beobachteter/erwarteter Wert

Tabelle 2: Charakteristika des verwendeten Siemens Immulite 2000 Immunoassay-System

Im Vergleich zu vier weiteren gebräuchlichen Assays erzielte das Immulite 2000 Immunoassay-System nahezu identische Ergebnisse hinsichtlich Sensitivität und Spezifität bei der Prostatakarzinomfrüherkennung (Stephan et al., 2007).

Eine Vielzahl von präanalytischen Einflussfaktoren auf den gemessenen PSA-Gehalt im Serum sind bekannt (Tabelle 3) und müssen beachtet werden (Bunting, 1995).

Nr.	Faktor	Bedeutung/Größe	Normalisierung (nach Tagen)
1	TURP	6-50fach erhöht	
2	Prostatastanzbiopsie	2-50fach erhöht	42
3	Zystoskopie	kontrovers diskutiert	3
4	Prostatamassage	gering	7
5	TRUS	bei Minderheiten	7
6	DRU	klinisch nicht signifikant	3-7
7	5- α -Reduktase-Hemmer	0,5fach erniedrigt	
8	Ejakulation	kontrovers diskutiert	1-2
9	Fahrradfahren	0-3fach erhöht	

Tabelle 3: **Präanalytische Einflussfaktoren auf den PSA-Wert** Quelle: (Price et al., 2001)

1.-6.) Präanalytische Einflüsse durch die Faktoren eins bis sechs konnten in unserer Studie ausgeschlossen werden: Die Richtlinien der Gemeinschaftspraxis sahen vor, dass nach einer Prostatastanzbiopsie, Zystoskopie, digitalen rektalen Untersuchung (DRU), Prostatamassage und einer transrektalen Ultraschall Untersuchung (TRUS) die Wartezeiten bis zur Normalisierung des PSA-Wertes (Price et al., 2001) eingehalten wurden. Zudem erfolgte die Blutentnahme zur PSA-Bestimmung immer vor den in Tabelle 3 aufgelisteten Untersuchungen und Interventionen.

7.-9.) Weiterhin wurden alle Patienten, die sich einer Therapie mit 5 α -Reduktase-Inhibitoren unterzogen, von der Studie ausgeschlossen (Kapitel 2.2.3). Zudem wurden Patienten darauf hingewiesen, am Vortag und am Tag der Blutabnahme nicht das Fahrrad zu benutzen sowie von einer Ejakulation abzusehen.

2.2.2 Anzahl und Zeitpunkte der PSA-Messungen

Mindestens drei PSA-Messungen sind notwendig, um eine verlässliche Analyse der PSA-Werte über die Zeit (PSA-Kinetiken) zu gewährleisten (Arlén et al., 2008). Auf Grund dessen wurde eine Mindestanzahl von drei PSA-Bestimmungen für alle Patienten in der Kohorte festgelegt. Ob die Indikationsstellung zur Prostatastanzbiopsie durch Algorithmen auf Basis von PSA-Kinetiken richtig erfolgt war, sollte unter anderem anhand des Ergebnisses der Prostatastanzbiopsie beurteilt werden. Daher mussten alle PSA-Bestimmungen

zeitlich vor der Prostatastanzbiopsie erfolgt sein. Wenn sich ein Patient bereits nach der ersten oder zweiten PSA-Bestimmung einer Prostatastanzbiopsie unterzog, so konnte er als Studienteilnehmer nicht berücksichtigt werden. Dieses Kriterium schloss im Vergleich zu den anderen Ausschlusskriterien die meisten Patienten (n=126) von der Studie aus.

Weiterhin durften zwischen der letzten PSA-Bestimmung und der Prostatastanzbiopsie maximal vier Monate vergangen sein. Dadurch konnte sichergestellt werden, dass höchstens vier Monate zurückliegende PSA-Kinetiken mit dem Ergebnis der Prostatastanzbiopsie korreliert wurden. Zudem variieren PSA-Kinetiken, je nachdem wie groß das Beobachtungsintervall der PSA-Bestimmungen gewählt wird (Ross et al., 2004). Daher muss, wie in unserer Studie geschehen, ein Mindestabstand von einem Monat zwischen einzelnen PSA-Messungen eingehalten werden (Arlen et al., 2008). Gemeinsam mit der festgelegten Mindestanzahl von drei PSA-Messungen konnten so PSA-Kinetiken über eine Zeitspanne von mindestens zwei Monaten analysiert und beurteilt werden. Insgesamt wurden neun Patienten, deren PSA-Bestimmungen nicht zu geeigneten Zeitpunkten erfolgt waren, von der Studie ausgeschlossen.

2.2.3 Einfluss der medikamentösen Therapie auf den PSA-Wert

Die Medikation der Patienten und deren Auswirkungen auf den PSA Wert konnte nur zum Teil berücksichtigt werden (Tabelle 4).

Nr.	Medikamentenklasse	Auswirkungen auf den PSA-Wert	Ausschlusskriterium der Studie
1	α -1-Rezeptor-Antagonisten	+/-	-
2	5- α -Reduktase-Hemmer	+	+
3	Antibiotika	+	-
4	NSAR	+	-
5	Statine	+	-
6	Thiazid-Diuretika	+	-

Tabelle 4: Einfluss der medikamentösen Therapie auf den PSA-Wert

Bei einem Großteil der Patienten wurden Miktionsstörungen mit α -1-Rezeptor-Antagonisten (Terazosin oder Doxazosin) behandelt. Da durch Terazosin in einer placebo-kontrollierten Studie kein Einfluss auf den PSA-Gehalt im Serum nachgewiesen werden konnte (Roehrborn et al., 1997), galt die medikamentöse Therapie mit α -1-Rezeptor-

Antagonisten nicht als Ausschlusskriterium. Neuere Studien zeigen jedoch einen Einfluss von Tamsulosin, einem neuen selektiveren α -1-Rezeptor-Antagonisten, auf den PSA-Wert (Tubaro et al., 2010). Diese Tatsache wurde in unserer Studie nicht berücksichtigt und Patienten, die mit Tamsulosin therapiert wurden, konnten in die Studie aufgenommen werden. Hingegen galt die medikamentöse Therapie mit 5- α -Reduktase-Inhibitoren (z.B. Finasterid) als Ausschlusskriterium. 5- α -Reduktase-Inhibitoren werden unter anderem zur Therapie der Benigen Prostate Hyperplasie (BPH) eingesetzt, führen zu Veränderungen des PSA Gehaltes im Serum (Price et al., 2001) und verfälschen dadurch PSA-Kinetiken (Helfand et al., 2010). Insgesamt 46 potentielle Teilnehmer konnten auf Grund ihrer täglichen Einnahme von 5- α -Reduktase-Inhibitoren nicht in die Studie integriert werden.

In der urologischen Gemeinschaftspraxis wurden Patienten bei klinischem Verdacht auf eine Prostatitis mit einem Antibiotikum behandelt. Hauptsächlich wurden Doxycyclin, Chinolone und Nitrofurantoin verschrieben. In Studien wurde der Einfluss von Chinolonen und Azithromycin auf den PSA-Wert untersucht und nachgewiesen, dass eine Antibiotikatherapie den PSA-Wert sinken lassen kann (Schaeffer et al., 2005, Stopiglia et al., 2010, Bulbul et al., 2002, Kobayashi et al., 2008). In Bezug auf alle weiteren in der urologischen Gemeinschaftspraxis verwendeten Antibiotika konnte trotz systematischer Literaturrecherche (Müllner, 2005) keine Studie gefunden werden, die einen Einfluss dieser Antibiotika auf den PSA-Wert untersucht hat.

Eine etwaige Dauermedikation mit gängigen Medikamenten wie zum Beispiel NSAR, Thiazid-Diuretika oder Statine, die nach neueren Erkenntnissen den PSA-Wert beeinflussen (Chang et al., 2010, Mener, 2010), konnte bei der Datenaufnahme nicht berücksichtigt werden. Diese Medikamente können – sofern sie einen Bestandteil der Dauermedikation darstellen – die PSA-Werte der Studienteilnehmer verfälschen.

2.3 PSA-Kinetiken

Ziel der Studie war es, durch Algorithmen auf Basis von PSA-Verläufen über die Zeit (PSA-Kinetiken) die Indikation zur Prostatastanzbiopsie spezifischer zu stellen als durch den PSA-Test alleine. Verschiedene Algorithmen zur Analyse von PSA-Kinetiken wurden getestet und hinsichtlich ihrer Sensitivität und Spezifität für die Indikation zur Prostatastanzbiopsie verglichen. In geeigneten Fällen konnten Receiver-Operating-Characteristic (ROC)-Kurven erstellt werden. Untersucht wurde einerseits die PSA-Verdopplungszeit (PSA-doubling time, PSADT) und andererseits neu entwickelte Algorithmen, die sich an den biologischen Grundlagen der PSA-Kinetiken orientierten.

Die PSA-Verdopplungszeit ist ein anerkanntes Kriterium zur Überwachung nach primär kurativer Therapie des Prostatakarzinoms (D'Amico et al., 2003), zur Therapieplanung bei Rezidiven (Heidenreich et al., 2008, Wirth et al., 2009, Wirth et al., 2011) und zur „active surveillance“ Therapiestrategie (Klotz, 2005a, Bangma et al., 2012). In der Vergangenheit wurden unterschiedliche Formeln verwendet, um die PSADT zu berechnen (Svatek et al., 2006). In unserer Studie wurde die in den Leitlinien zur PSADT empfohlene Formel verwendet (Arlen et al., 2008):

$$PSADT = \ln(2) / \text{Regressionskoeffizient } b$$

Der Regressionskoeffizient b wurde durch lineare Regressionsanalyse der natürlichen Logarithmen der PSA-Werte über die Zeit ermittelt. Falls Berechnungen mit der genannten Formel eine negative PSADT (PSA-Halbwertszeit) ergaben, so wurde diese in eine PSADT von 99 Jahren umkodiert. Dieses Vorgehen erlaubte eine einfachere statistische Auswertung – ohne Einfluss auf die Ergebnisse nichtparametrischer Tests – und wurde bereits in anderen Studien praktiziert (Ross et al., 2004). Die PSADT stellt bei allen im Folgenden erläuterten Algorithmen eine entscheidende Größe dar.

Algorithmus A = PSADT:

Alle PSA-Bestimmungen, die vor der Prostatastanzbiopsie erhoben wurden, flossen in die Berechnung der PSADT ein. Dieser Algorithmus wurde bereits in anderen Studien zur Berechnung der PSADT verwendet (Ng et al., 2009, Spurgeon et al., 2007, Khatami et al., 2007, Ross et al., 2004).

Neben der PSADT sollte untersucht werden mit welcher Treffsicherheit neu entwickelte Algorithmen die Indikation zur Prostatastanzbiopsie stellen. Im Folgenden sind diese Algorithmen aufgeführt. Diese neu entwickelten Algorithmen sollen – im Gegensatz zur PSADT – Beobachtungen zur Veränderung der PSA-Sekretion beim maligne entarteten Prostatagewebe stärker berücksichtigen (Kapitel 1.3).

Algorithmus B1:

Beginnend bei drei PSA-Werten wurde für jeden weiteren PSA-Wert die jeweils neue PSADT errechnet. Es ergaben sich einzelne PSA-Verdopplungszeiten für drei, vier, fünf usw. PSA-Werte. Jedes Mal, wenn eine PSADT einen Schwellenwert unterschritt, galt dies

als Biopsieindikation. Dieser Algorithmus berücksichtigte die Tatsache, dass sich nach jeder weiteren PSA-Bestimmung von Neuem die Frage stellt, ob nun eine Prostatastanzbiopsie indiziert ist oder nicht.

Algorithmus B2:

Der Algorithmus B2 orientiert an sich einer aktuellen Studie, die beim unbehandelten Prostatakarzinom zunächst einen flachen exponentiellen Anstieg der PSA-Werte, gefolgt von einem steileren exponentiellen Anstieg der PSA-Werte, feststellte (Vollmer, 2010). Auch andere Autoren beobachteten eine solche Entwicklung der PSA-Werte und verfassten einen ähnlichen Algorithmus (Glättli et al., 2010). Auf Grund dieser Beobachtungen stellte der Algorithmus B2 immer dann die Indikation zur Prostatastanzbiopsie, wenn sich konsequente PSA-Verdopplungszeiten systematisch verkürzten. Dabei musste die jeweils aktuelle PSADT kleiner sein als die vorherige PSADT (berechnet aus einem PSA-Wert weniger) und die vorherige PSADT kleiner sein als die vorvorherige PSADT (berechnet aus zwei PSA-Werten weniger) (Formel X).

$$PSADT (x \text{ PSA-Werte}) < PSADT (x-1 \text{ PSA-Werte}) < PSADT (x-2 \text{ PSA-Werte})$$

Für die Anwendung dieses Algorithmus waren mindestens fünf PSA-Bestimmungen notwendig. Daher konnte bei nur drei und vier PSA-Messungen der beschriebene Algorithmus noch nicht angewandt werden. Es galten daher nach drei und vier PSA-Messungen PSADT-Schwellenwerte als Indikationsstellung.

Algorithmus B3:

Der Algorithmus B3 wurde definiert als eine Kombination aus Algorithmus B1 und B2, um deren Sensitivität zu erhöhen. Wenn durch den Algorithmus B1 oder den Algorithmus B2 die Indikation zur Prostatastanzbiopsie gegeben wurde, so galt dies auch für Algorithmus B3 als Indikationsstellung.

2.4 Prostatastanzbiopsie

Wie geeignet sich die im vorherigen Kapitel beschriebenen Algorithmen zur Indikationsstellung erweisen, konnte unter anderem anhand der Ergebnisse der Prostatastanzbiopsie überprüft werden. Als Einschlusskriterium für die Studie wurde eine Mindestanzahl von sechs Stenzen pro Biopsie festgelegt. Gemäß den aktuellen Empfehlungen erfolgte jede

Prostatastanzbiopsie unter Ultraschallkontrolle, Antibiotikashutz und Lokalanästhesie (Wirth et al., 2009, Djavan and Margreiter, 2007, Wirth et al., 2011). Alle Prostatastanzbiopsien wurden in der Pathologie des Helios Klinikums in Wuppertal unter Leitung von Prof. Stephan Störkel untersucht. Falls ein Prostatakarzinom nachgewiesen werden konnte, dienten die folgenden Kriterien, die nach ihrer prognostischen Relevanz für das Prostatakarzinom von dem College of American Pathologists (CAP) mit einer Kategorie von I-III bewertet wurden (Bostwick et al., 2000), zur weiteren Malignitätseinstufung:

- TNM-Stadien (CAP-Kategorie I)
- Gleason Score (CAP-Kategorie I)
- Anzahl der mit Prostatakarzinom befallenen Stenzen (CAP-Kategorie II)
- Maximale Karzinomdurchsetzung einer Stanze in Prozent (CAP-Kategorie II)
- Größe des Karzinomherdes (CAP-Kategorie II)

Die TNM-Stadien konnten, soweit vorhanden, in den digitalen Patientenakten der urologischen Gemeinschaftspraxis eingesehen werden, wobei das Staging uneinheitlich erfolgt war. Bei 29 Patienten (53,7%) lagen zum Staging unter anderem Ergebnisse der Prostatektomie vor (C-Faktor 4), während bei 26 Patienten (46,3%) das Staging mittels unterschiedlicher Bildgebung (TRUS, Skelettszintigraphie, Röntgen, CT, MRT, PET-CT und Urogramm) sowie der DRU erfolgte (C-Faktor 1-2).

Alle weiteren Kriterien wurden aus den histopathologischen Befunden der Pathologie des Helios Klinikums in Wuppertal übernommen. Kriterium fünf wurde erhoben, indem Prof. Alfred Böcking bzw. Prof. Stefan Biesterfeld mikroskopisch die jeweiligen Karzinomherde vermaßen.

2.5 Bild-DNA-Zytometrie

2.5.1 Vorbereitung der Bild-DNA-Zytometrie

Alle Prostatastanzbiopsien wurden nach deren Entnahme durch den Urologen mit gepuffertem 4%igem Formalin fixiert, was eine wichtige Voraussetzung für eine qualitativ hochwertige Bild-DNA-Zytometrie darstellt (Baak and Janssen, 2004). Das Gewebe wurde in Paraffin eingebettet und anschließend wurden Schnitte zur histopathologischen Befundung angefertigt. Das auf dem Paraffinblock verbleibende Restgewebe eignet sich dabei zur Zellvereinzelung und anschließenden Bild-DNA-Zytometrie (Delgado et al., 1984, Hedley

et al., 1985), wobei das Prostatakarzinom heterogenes Tumorgewebe aufweisen kann, das sich auch in seiner DNA-Ploidie unterscheidet (Wang et al., 2000, Häggarth et al., 2005). Auf Grund dessen wurde, um die Malignität des Prostatakarzinoms nicht zu unterschätzen, von jeder Stanze, die histologisch nachgewiesenes Karzinomgewebe enthielt, eine Bild-DNA-Zytometrie angefertigt. Prof. Alfred Böcking bzw. Prof. Stefan Biesterfeld untersuchten daraufhin mikroskopisch die Objektträger mit Schnitten der Prostatastanzbiopsien. Sie markierten auf dem Objektträger den Bereich der Prostatastanz, der für die Zellvereinzelung und damit für die Analyse mittels Bild-DNA-Zytometrie in Frage kam. Bei neun Präparaten konnten Prof. Böcking bzw. Prof. Biesterfeld keinen Krebsherd mehr finden. In diesen Fällen wurde keine Bild-DNA-Zytometrie der betroffenen Prostatastanzbiopsie durchgeführt.

Alle anderen Präparate eigneten sich zur Analyse mittels Bild-DNA-Zytometrie und so wurde von diesen Präparaten eine Zellvereinzelung durchgeführt. Alle Vorgänge der Zellvereinzelung erfolgten gemäß den aktuellen Leitlinien zur Bild-DNA-Zytometrie (Haroske et al., 1998). Die Markierungen von Prof. Böcking und Prof. Biesterfeld auf den Objektträgern wiesen den Bereich der Prostatastanz aus, der in die Zellvereinzelung einfließen sollte. Die Objektträger mit den Markierungen wurden deckungsgleich auf die Paraffinblöcke gelegt, wodurch der Bereich mit Karzinomgewebe auf den Prostatastanzen identifiziert werden konnte, von dem eine Bild-DNA-Zytometrie angefertigt werden sollte. Diese „region of interest“ wurde mit einem Skalpell auf dem Paraffinblock eingeritzt und vom restlichen Gewebe entfernt. Aus der „region of interest“ wurden dann jeweils zwei bis drei 50-100µm dicke Schnitte angefertigt und in einen Nylongazebeutel gegeben. Es schloss sich die Entparaffinierung der Schnitte mit Xylol für zweimal 30 Minuten an. Weiterhin wurden die Schnitte mit Ethanol (100%, 96% und 70% für jeweils 30 Minuten) dehydriert und zweimal für 30 Minuten mit Aqua dest. gespült.

Als letzter Schritt der Zellvereinzelung wurden die Schnitte mit einer Pepsinlösung (1N HCl mit Aqua dest. verdünnt auf 0,07M HCl, 25mg Pepsin Porcine hinzugegeben und auf 37 °C erwärmt) versetzt. Die Nylongazebeutel mit den Schnitten wurden hierzu in ein Röhrchen mit je 5ml Pepsinlösung gegeben. Für 30 Minuten wurde das Röhrchen im Wasserbad bei 37 °C geschüttelt. Durch Zugabe von 5ml kaltem PBS-Puffer stoppte die Reaktion nach 30 Minuten. Die Röhrchen wurden anschließend für zehn Minuten bei 400g zentrifugiert. Der Überstand von etwa 0,5-1 ml Zellmaterial wurde dabei automatisch auf einen Objektträger verteilt. Diese Objektträger – so genannte Zytozentrifugenpräparate –

wurden luftgetrocknet und anschließend mit dem Färbeautomat Varistain 24-4-F (Firma Shandon), angelehnt an die Empfehlungen der Europäischen Gesellschaft für Analytische Zelluläre Pathologie (ESACP) (Haroske et al., 1998), nach Feulgen gefärbt (Chatelain et al., 1989).

2.5.2 Bild-DNA-Zytometrie und Gradierung der Fälle

Die Bild-DNA-Zytometrie erfolgte mit einem konventionellen Lichtmikroskop und einem dazugehörigen Motocyte DNA-TV-Bild Analyse System (Auffermann et al., 1984). Für alle Bild-DNA-Zytometrien wurde das BA 410 Trinocular Mikroskop verwendet, ausgestattet mit einer Moticom Pro 285A Kamera sowie einer C-mount 0,87x Kamerahalterung (Firma Motic, Xiamen, China). Alle Messungen wurden mit einem CCIS EC Plan 40x Objektiv durchgeführt (Firma Motic, Xiamen, China).

Um eine hohe Reproduzierbarkeit von Bild-DNA-Zytometrien zu gewährleisten, ist es wichtig, über eine stabile Lichtquelle zu verfügen (Baak and Janssen, 2004). Um diese zu garantieren, wurde 20 Minuten vor den anstehenden Messungen die Lichtquelle des Mikroskops eingeschaltet. Erst nach Ablauf der 20 Minuten wurde die Köhler Illumination vorgenommen und die Lichtintensität manuell auf 230 lux adjustiert. Köhler Illumination, Lichtintensität und Softwareeinstellungen blieben während der gesamten Messung unverändert, wurden jedoch vor jeder weiteren Messung von Neuem adjustiert.

Als Analysezellkerne kamen alle Zellkerne der atypischen Prostataepithelzellen in Frage. Pro Prostatastanzbiopsie wurden ein bis zwei Objektträger nach identischem Schema durchmustert (Abb. 2). So konnte die Wahrscheinlichkeit verringert werden, einen einzelnen Zellkern mit abnormaler DNA-Ploidie und entscheidender diagnostischer Bedeutungen zu übersehen (siehe Definitionen DNA-Ploidie Grade, Kapitel 2.5.3). Bei geeigneten Verhältnissen (keine Artefakte im Bildfeld, Zellkerne freiliegend und mit genügend Abstand zueinander) konnte mit Hilfe der Softwarefunktion „select all“ automatisch eine Gruppe von Epithelzellkernen gleichzeitig in die Galerie eingefügt werden. Nahe beieinander liegende Zellkerne wurden nicht manuell, sondern nur automatisch mit der Softwarefunktion „divide nucleus“ getrennt und anschließend in die Galerie aufgenommen.

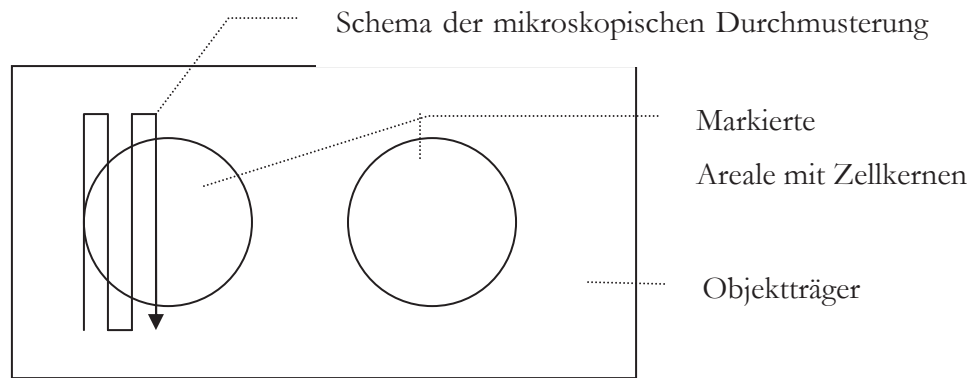


Abb.2: Schema der mikroskopischen Durchmusterung eines Objektträgers

Bei klinischen Präparaten sollen interne Referenzzellen (z.B. Lymphozyten) externen Referenzzellen (z.B. diploide Hepatozyten aus einer Rattenleber) vorgezogen werden (Haroske et al., 1998), denn interne Referenzzellen bieten den Vorteil, dass sie sowohl die Zellvereinzelung als auch den Färbeprozess gemeinsam mit den Analysezellen durchlaufen. In unserer Studie galten diploide Fibroblasten als Referenzzellkerne. Die Unterscheidung zwischen Zellkernen von Prostataepithelzellen und Fibroblasten erfolgte manuell anhand vorgegebener Kriterien (Tabelle 5).

	Prostataepithelzellkerne	Fibroblastenzellkerne
Form	polymorph, rundlich-oval	monomorph, zigarrenförmig,
Längsdurchmesser/ Querdurchmesser	1-2	>2
Chromatin	grobschollig	feinkörnig
Nucleolus	möglich	nicht vorhanden

Tabelle 5: Unterscheidungskriterien von Prostataepithelzellkernen und Fibroblastenzellkernen

Bei Referenzzellkernen darf der Variationskoeffizient ihrer integrierten optischen Dichte (IOD) nicht mehr als fünf Prozent betragen (Haroske et al., 1998). Weiterhin darf die IOD mit der Fläche der Zellkerne in einem einzelnen Peak nicht über ein definiertes Maß ($r < 0,4$) korrelieren, weil sonst optische Störungen wie Streulicht- oder Strahlenbeugungseffekte angenommen werden müssen (Haroske et al., 2001). Mit Hilfe der Software und durch geeignete Auswahl der Referenzzellkerne konnte beiden Auflagen bei jeder Messung entsprochen werden.

Zum Abschluss der Bild-DNA-Zytometrie wurde ein dreiseitiges Protokoll der Messung erstellt, welches alle wichtigen Daten und Grafiken für die DNA-Gradierung beinhaltet (siehe Anhang). Die Protokolle aller Fälle wurden Prof. Alfred Böcking und Dr. Natalia Pomjanski zur DNA-Gradierung vorgelegt. Unabhängig voneinander gradierten sie die Fälle anhand vorformulierter Definitionen einzelner DNA-Ploidie Grade (Tabelle 6).

DNA-Ploidie Grad	Definition
A (diploid)	Eine Stammlinie bei 2c
A-B	Eine Stammlinie bei 2c und eine Proliferationsrate >5%
B (tetraploid)	Mindestens ein Zellkern >4,4c
B-C	Eine Stammlinie bei 4c, deren Variationskoeffizient bei >10% liegt
C (multiploid)	Eine Stammlinie außerhalb von 1,8-2,2c und 3,6-4,4c
D (x-ploid)	Mehrere Stammlinien außerhalb von 1,8-2,2c und 3,6-4,4c

Tabelle 6: **Definitionen der einzelnen DNA-Ploidie Grade** c = content = DNA-Gehalt der Zellen

Stammlinie: Eine Stammlinie liegt vor, wenn sich bei einem bestimmten c-Wert ein Gipfel (peak) in der kontinuierlichen Darstellung der Messwerte darstellt. Zusätzlich muss mindestens ein Messwert in der Umgebung von $\pm 10\%$ des doppelten c-Wertes des peaks liegen (S-Phase Zellkern). So erfordert z.B. ein peak bei 2c mindestens einen Messwert innerhalb von 3,6 - 4,4c.

Proliferationsrate: Zur Proliferationsrate gehören alle Zellkerne, die größere c-Werte aufweisen als der Messwert am oberen Endpunkt der 2c-Stammlinie. Dieser Endpunkt der 2c-Stammlinie befindet sich genau drei Standardabweichungen der Stammlinie oberhalb des peaks.

2.5.3 Reproduzierbarkeit der Bild-DNA-Zytometrie

Inwieweit sich die jeweiligen Gradierungen der Bild-DNA-Zytometrien von unterschiedlichen Untersuchern reproduzieren ließen, konnte durch die doppelte Beurteilung der Fälle (Prof. Böcking und Dr. Pomjanski) ermittelt werden. In einem Probedurchlauf wurden ein erstes Mal alle Fälle gradiert und die Reproduzierbarkeit ermittelt. Nachdem in einer gemeinsamen Sitzung die Definitionen überarbeitet und geschärft wurden, erfolgte die Gradierung aller Fälle ein zweites Mal. Die Ergebnisse zur Reproduzierbarkeit der Bild-DNA-Zytometrie beim Prostatakarzinom konnten mit Ergebnissen ähnlicher Studien (Nagel and

al Abadi, 1991, Wang et al., 2000, al-Abadi and Nagel, 1992, Häggarth et al., 2005, Nguyen et al., 2004) verglichen werden.

2.6 Indikationsstellung zur Prostatastanzbiopsie

Die Patientenkohorte wurde mehrfach in zwei Gruppen aufgeteilt, wobei jedes Mal getestet wurde, wie treffsicher die verschiedenen auf PSA-Kinetiken basierenden Algorithmen zwischen den zwei Gruppen unterscheiden können. Zuerst wurde eine Gruppe von Patienten mit Prostatakarzinom von einer Gruppe ohne Prostatakarzinom unterschieden (Kapitel 3.6.1). Anschließend wurde die Kohorte mehrfach in eine Gruppe mit klinisch signifikantem Prostatakarzinom und eine Gruppe mit klinisch insignifikantem bzw. ohne Prostatakarzinom unterteilt (Kapitel 3.6.2). Dadurch konnte untersucht werden, ob diejenigen Prostatakarzinome, welche im ersten Durchlauf von den Algorithmen übersehen wurden, sich *per definitionem* klinisch als wahrscheinlich insignifikant darstellten. Zurzeit existieren mehrere uneinheitliche Definitionen des klinisch insignifikanten Prostatakarzinoms (Harnden et al., 2008). In unserer Studie wurden erstens die gebräuchlichste Definition (Epstein et al., 1994), zweitens die strengste Definition (Helpap and Egevad, 2009) und drittens die Einschlusskriterien für die „active surveillance“ Therapiestrategie aus den deutschen Leitlinien verwendet (Wirth et al., 2011). Die jeweiligen Definitionen orientieren sich an histopathologischen, laborchemischen und klinischen Parametern (Tabelle 7).

	(Epstein et al., 1994)	(Helpap and Egevad, 2009)	(Wirth et al., 2011)
Gleason Score	≤ 6	$\leq 7a$	≤ 6
Anzahl befallener Tumorstanzen	< 3	1	≤ 2
Max. Tumordurchsetzung der Stanze (%)	≤ 50		≤ 50
Max. Tumorgröße (mm)		1	
Totales PSA (ng/ml)		< 10	< 10
PSA-Dichte (ng/ml ²)	$< 0,15$		
T-Stadium			T1c und T2a

Tabelle 7: Definitionen des klinisch insignifikanten Prostatakarzinoms je nach Autor

Des Weiteren wurde untersucht, inwieweit die verschiedenen Algorithmen in der Lage waren, nondiploide Prostatakarzinome vorherzusagen und somit die Indikation zur PSB zu stellen (Kapitel 3.6.3).

Schlussendlich sollte die Indikationsstellung zur PSB anhand einer eigens entwickelten Definition, der sogenannten „Studiendefinition“ des klinisch insignifikanten Prostatakarzinoms, in ihrer Güte überprüft werden (Kapitel 3.6.4). Diese Studiendefinition des klinisch insignifikanten Prostatakarzinoms beinhaltete sowohl histopathologische Kriterien als auch Kriterien der Bild-DNA-Zytometrie. Die im Folgenden angeführten Kriterien umfassen die Studiendefinition des klinisch insignifikanten Prostatakarzinoms:

- Gleason Score ≤ 7
- Anzahl befallene Tumorstanzen ≤ 2
- Maximale Tumorgroße ≤ 3 mm
- DNA-diploid

2.7 Statistik

Herr Dr. Reinhart Willers (ehemals Universitätsrechenzentrum der Heinrich-Heine Universität Düsseldorf) beriet in biostatistischen Fragen. Alle statistischen Berechnungen erfolgten mit IBM SPSS Statistics 21 und statistische Signifikanz wurde wie üblich bei $p < 0,05$ angenommen. Im Falle normalverteilter Werte wurden der Mittelwert und die Standardabweichung angegeben sowie der t-Test angewendet. Bei Berechnungen mit dem PSA, dass auf Grund vielfältiger Einflüsse und Interaktionen nicht einer Normalverteilung folgt, wurde der Median und der Interquantilabstand angegeben sowie der Mann Whitney U Test verwendet (Müllner, 2005). Wurden Algorithmen in Hinblick auf das Vorliegen eines Prostatakarzinoms getestet, so handelte es sich meist um Vergleiche zweier nominaler Parameter, die ein Testen mittels des Chi-Quadrat Verfahrens nach Pearson erlaubten. Diejenigen Testverfahren, die sich auf die PSADT bezogen, erfolgten mit den dazugehörigen Regressionskoeffizienten (Kapitel 2.3.1), da die Regressionskoeffizienten im Vergleich zur PSADT günstigere mathematische Eigenschaften aufweisen.

2.8 Ethikvotum und Datenschutz

Entsprechend dem gängigen Antragsverfahren für ein Ethikvotum wurden der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf die notwendigen Unterlagen zur Beurteilung der Studie vorgelegt. Diese Unterlagen beinhalteten ein Studienprotokoll und eine Studienbeschreibung sowie die jeweiligen Muster der Patien-

ten-Einverständniserklärung und des Patienten-Informationsschreiben (siehe Anhang). Nach Prüfung aller Unterlagen erteilte die Ethikkommission ein positives Votum (Studiennummer 3987): Von Seiten der Ethikkommission bestehen keine ethischen oder rechtlichen Bedenken gegen die Durchführung der geplanten Studie.

Grundlage für das positive Ethikvotum waren schriftliche Einverständniserklärungen aller Studienteilnehmer zur Verwendung der erhobenen Daten und Gewebeproben. Alle in diese Studie einbezogenen Patienten sind diesbezüglich entweder telefonisch oder auf dem Postweg kontaktiert worden. Im Zuge dessen wurde mündlich oder mittels eines Patienten-Informationsschreibens über die Studie im Allgemeinen – und insbesondere über die für den jeweiligen Patienten relevanten Aspekte der Studie – informiert. Unter anderem wurden die Ziele der Studie, das Risiko-Nutzen Verhältnis für den einzelnen Teilnehmer und der Datenschutz thematisiert. Alle Patienten, die sich zur Teilnahme an der Studie bereit erklärten, unterschrieben eine Einverständniserklärung zum Datenschutz, welche sich an der Muster-Einverständniserklärung der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf orientiert (siehe Anhang). Alle Patienten der Kohorte, bei denen ein Prostatakarzinom nachgewiesen wurde, erklärten sich zusätzlich damit einverstanden, nachträglich Untersuchungen mittels Bild-DNA-Zytometrie an verbliebenem Prostatagewebe durchführen zu lassen. Das entsprechende Formular zur Einverständniserklärung basiert wiederum auf einem Muster der Ethikkommission (siehe Anhang). Wenn ein Patient zum Zeitpunkt der Datenerhebung bereits verstorben war, so wurden die jeweiligen Angehörigen kontaktiert und um stellvertretende Zustimmung zur Studienteilnahme gebeten. Falls eine Kontaktaufnahme nicht möglich war oder der jeweilige Patient bzw. dessen Angehöriger die Teilnahme an der Studie verweigerte, so wurden diese potentiellen Studienteilnehmer nicht berücksichtigt (n=21). Insgesamt stimmten 103 von 124 Patienten bzw. deren Angehörige einer Teilnahme an der Studie zu.

Zur Sicherstellung des Datenschutzes wurden alle Patientendaten mit dem praxisinternen Patientencode pseudonymisiert. Dieser Patientencode kann nur im Intranet der urologischen Gemeinschaftspraxis in Wuppertal auf Patientennamen und Geburtsdaten zurückgeführt werden. Wann immer Patientendaten ausgewertet wurden, waren die Daten einzig mit dem praxisinternen Patientencode und nicht mit Vor- und Nachname des Patienten beschriftet.

3 Ergebnisse

3.1 Patientenkohorte

Insgesamt wurden 103 männliche Patienten in die Kohorte aufgenommen. Das Durchschnittsalter der Patienten zum Zeitpunkt der ersten Prostatastanzbiopsie betrug 68,0 Jahre (Standardabweichung = 7,62 Minimum = 47,4 Maximum = 85,3). Das Alter der Patienten folgt annähernd einer Normalverteilung (Abb.3).

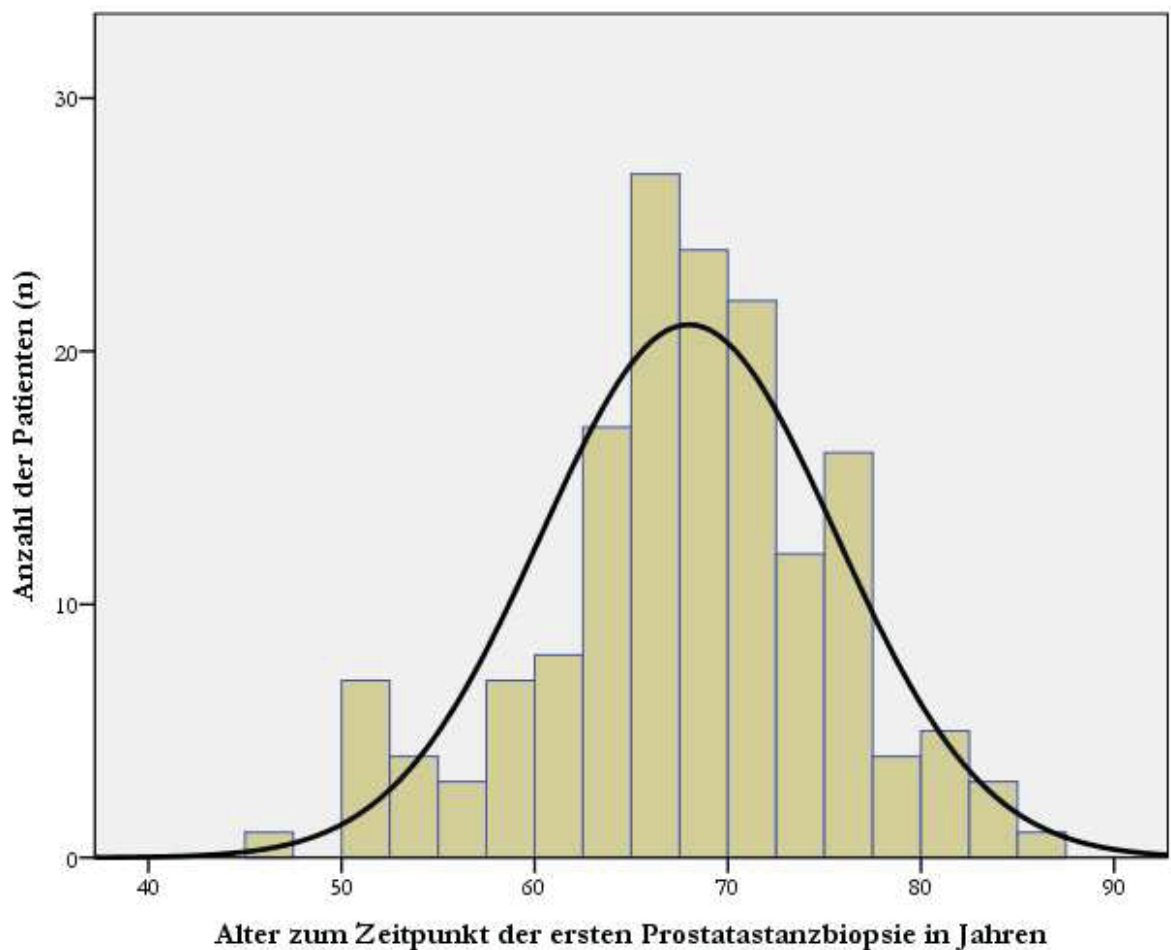


Abb.3: Altersverteilung zum Zeitpunkt der ersten Prostatastanzbiopsie

3.2 Prostata Spezifisches Antigen

Der totale PSA-Wert im Serum lag bei der gesamten Kohorte im Median bei 4,76 ng/ml (Interquartilabstand = 3,45 - 6,54 Minimum = 0,81 Maximum = 86,60). Etwa die Hälfte aller PSA-Werte befand sich dabei im Bereich um 4 ng/ml (Abb. 4).

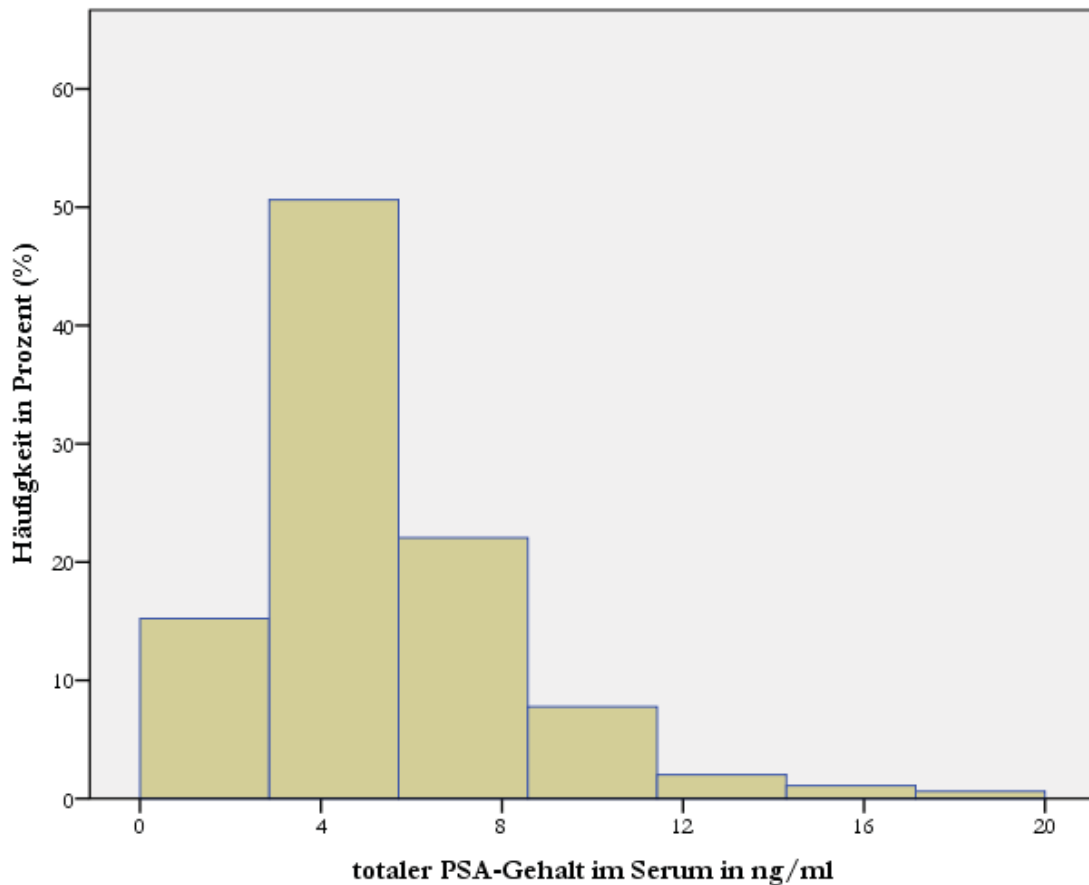


Abb.4: Häufigkeitsverteilung der gemessenen PSA-Werte

In der Gruppe der Patienten mit histologisch nachgewiesenem Prostatakarzinom wurde im Median ein PSA-Wert von 4,57 ng/ml gemessen (Interquartilabstand = 3,30 - 6,48 Minimum = 0,81 Maximum = 86,60). In der Gruppe der Patienten ohne Prostatakarzinom betrug der PSA-Wert im Median 4,87 ng/ml (Interquartilabstand = 3,72 - 6,67 Minimum = 1,13 Maximum = 19,90). Der Unterschied der PSA-Werte zwischen den genannten Gruppen zeigte statistische Signifikanz ($p = 0,032$).

Insgesamt wurden 644 PSA-Messungen von 103 Patienten dokumentiert. Pro Patient wurden durchschnittlich 6,3 PSA-Bestimmungen (Standardabweichung = 2,95 Minimum = 3 Maximum = 18) vor der letzten dokumentierten Prostatastanzbiopsie vorgenommen. Der Großteil der Patienten verfügte über drei bis sieben PSA-Messungen vor der letzten Prostatastanzbiopsie (Abb.5).

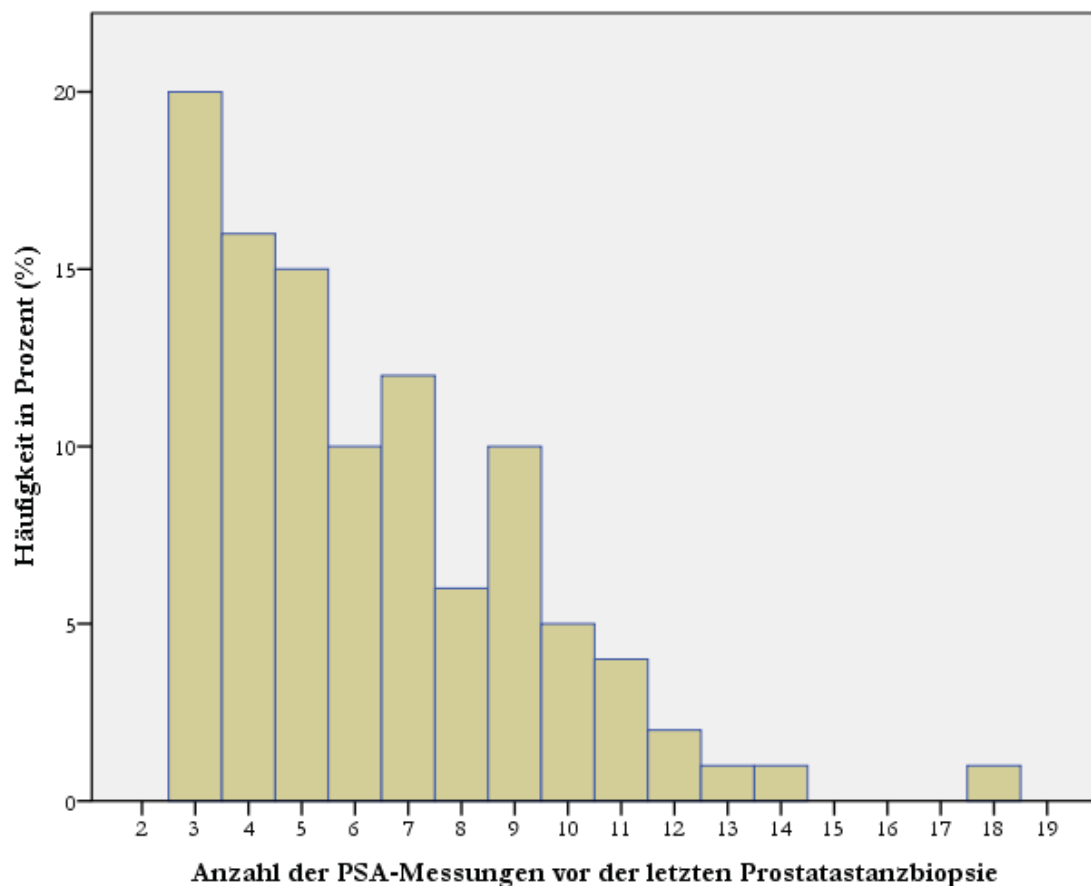


Abb.5: Anzahl der PSA-Messungen vor der letzten Prostatastanziopsie

Der Beobachtungszeitraum der PSA-Messungen wurde definiert als die Zeitspanne zwischen der ersten und letzten PSA-Bestimmung. Im Durchschnitt lag er für die gesamte Kohorte bei 3,5 Jahren (Standardabweichung = 1,83 Minimum = 0,3 Maximum = 7,6). Zwischen den Patientenkollektiven mit und ohne histologisch nachgewiesenem Prostatakarzinom konnte kein signifikanter Unterschied in der Länge des Beobachtungszeitraums gefunden werden ($p = 0,40$). Zwischen der letzten PSA-Messung und der zeitlich nachfolgenden Prostatastanziopsie lagen im Mittel 25 Tage (Standardabweichung = 16,8 Minimum = 3 Maximum = 94).

3.3 PSA-Kinetiken

Die Bestimmung der PSA-Verdopplungszeit (PSADT) erfolgte unter Verwendung von allen verfügbaren PSA-Messungen vor der letzten Prostatastanziopsie. Für die gesamte Kohorte betrug die PSADT im Median 4,7 Jahre (Interquantilabstand = 3,2 - 8,1 Minimum = 0,8 Maximum = 99,0). Bei den Patienten mit histologisch nachgewiesenem Prostatakarzinom wurde eine PSADT von 4,3 Jahren im Median berechnet (Interquantilabstand = 3,0

- 7,6 Minimum = 0,8 Maximum = 99,0). In der Gruppe der Patienten ohne nachgewiesenem Prostatakarzinom betrug die PSADT im Median 4,9 Jahre (Interquantilabstand = 3,6 - 10,8 Minimum = 0,9 Maximum = 99,0). Der Unterschied der PSADT zwischen den Patienten mit Prostatakarzinom und ohne nachgewiesenem Prostatakarzinom zeigte keine statistische Signifikanz ($p = 0,124$). Die Güte der weiteren Algorithmen B1-3 (Kapitel 2.3) zur Indikationsstellung der PSB wird ausführlich in Kapitel 3.6 erläutert.

3.4 Prostatastanzbiopsie

Jeder der 103 Patienten der Kohorte unterzog sich mindestens einmal einer Prostatastanzbiopsie. Wenn bei einem Patienten trotz unauffälliger erster Prostatastanzbiopsie weiterhin der Verdacht auf ein Prostatakarzinom bestand, so erfolgten in einigen Fällen eine oder mehrere Kontrollbiopsien. Aufgrunddessen lag für 39 von 103 Patienten (37,8%) mehr als eine Prostatastanzbiopsie vor (Tabelle 8).

Anzahl der PSB pro Patient	Anzahl der Patienten	Häufigkeit in Prozent (%)
1	64	62,2
2	22	21,3
3	17	16,5

Tabelle 8: Häufigkeitsverteilung der Anzahl an Prostatastanzbiopsien pro Patient

In der Zeit von 2001-2009 stieg die Anzahl der pro bioptischer Sitzung entnommenen Stenzen stetig. Als Mittelwert ergaben sich 10,5 Stenzen pro Biopsie (Standardabweichung = 2,2 Minimum = 6 Maximum = 16). Bei knapp der Hälfte der Biopsien wurden zwölf Stenzen und bei etwa einem Viertel der Biopsien zehn Stenzen mit Prostatagewebe entnommen (Abb.6).

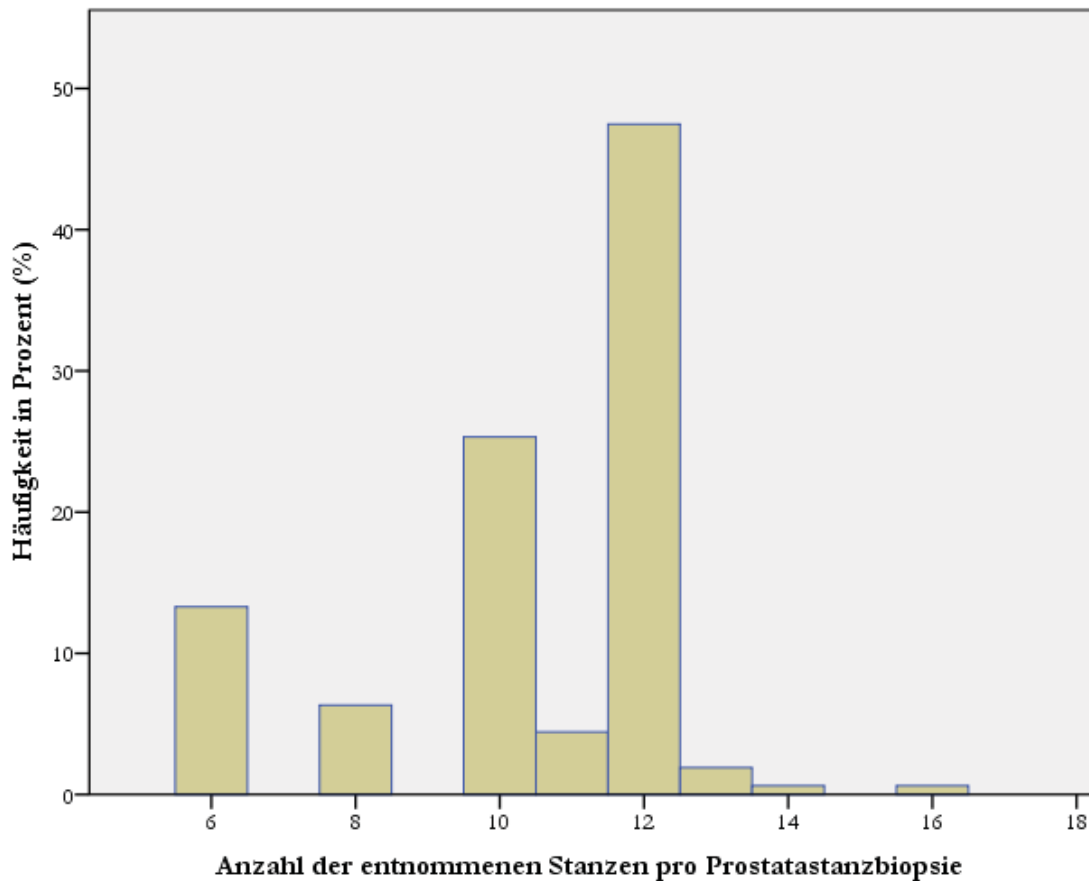


Abb.6: Anzahl der entnommenen Stenzen pro Prostatastanziobiopsie

Als Nebentbefund konnte durchschnittlich in 59% aller Prostatastanzen (Standardabweichung = 34,5 Minimum = 0 Maximum = 100) histologisch eine chronische oder eine akute Prostatitis nachgewiesen werden. Bei den Prostatastanziobiopsien, bei denen kein Karzinom nachgewiesen wurde, lag der Anteil der Stenzen mit Prostatitis im Durchschnitt bei 65% (Standardabweichung = 34,0 Minimum = 0 Maximum = 100). Bei den Prostatastanziobiopsien mit nachgewiesenem Karzinom lag dieser Anteil mit durchschnittlich 53% (Standardabweichung = 34,1 Minimum = 0 Maximum = 100) signifikant niedriger ($p = 0,026$).

Bei allen Patienten mit nachgewiesenem Prostatakarzinom in der Stanziobiopsie erfolgte eine Malignitätseinstufung des Prostatakarzinoms anhand histopathologischer Kriterien. Dies traf für 54 von 103 Patienten (52,4%) zu. Folgende Kriterien wurden berücksichtigt:

- Gleason Score
- Prozentuale Durchsetzung der Stenzen mit Karzinomgewebe
- Absolute Durchsetzung der Stenzen mit Karzinomgewebe
- Anzahl der mit Prostatakarzinom befallenen Stenzen

Über 90% der Prostatakarzinome wurden mit Gleason Score sechs und sieben gradiert. 76% der Fälle entfielen dabei auf Gleason Score sechs und 20% der Fälle entfielen auf Gleason Score sieben (Abb.7).

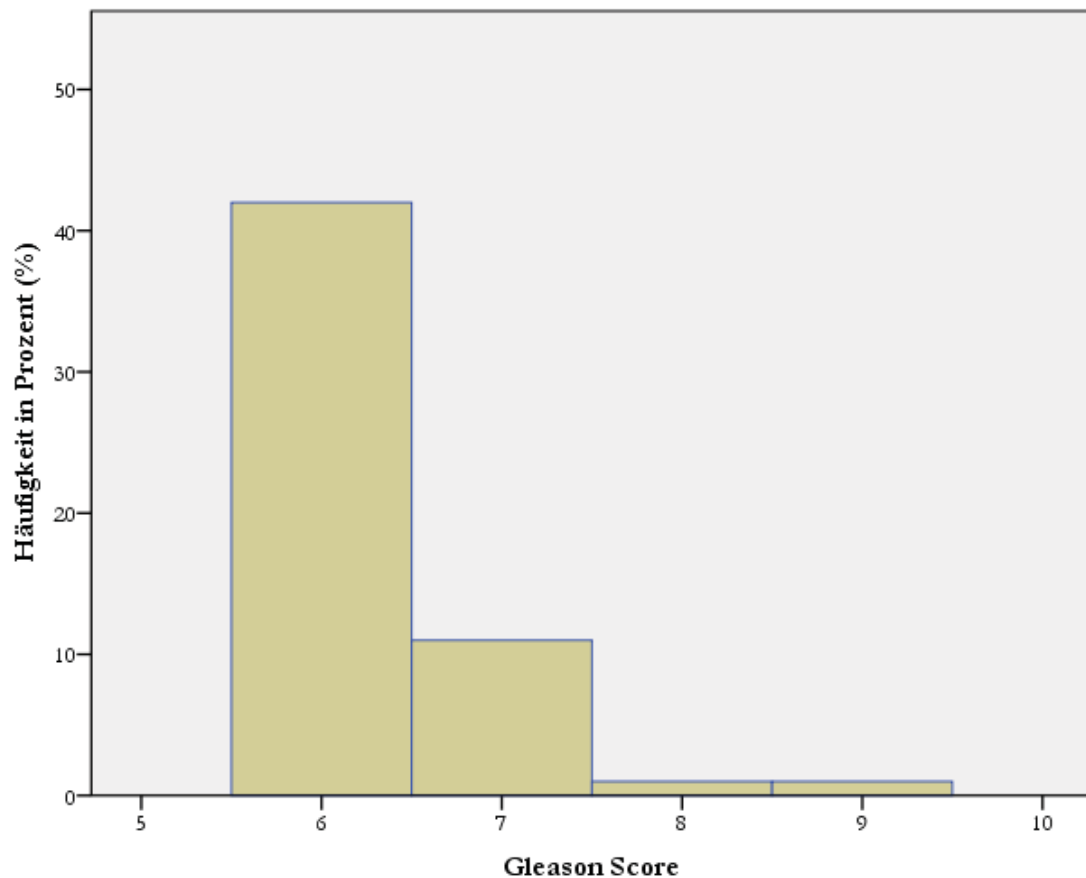


Abb.7: Häufigkeitsverteilung des Gleason Scores in der Prostatastanzbiopsie

Weiterhin wurde die maximale Durchsetzung der Stenzen mit Karzinomgewebe ermittelt, welche im Durchschnitt 33% betrug (Standardabweichung = 29,5 Minimum = 5 Maximum = 100).

Alle Stanzbiopsien, die nachgewiesenermaßen Karzinomgewebe enthielten, wurden zudem ein zweites Mal begutachtet und es wurde die Größe des Karzinomherdes vermessen. Insgesamt wurde die Längenausdehnung der Karzinomherde in 130 Stanzbiopsien bestimmt. Durchschnittlich betrug die Längenausdehnung 3,44 mm (Standardabweichung = 3,50 Minimum = 1 Maximum = 18). In über 40% der Fälle lag ein Karzinomherd mit einer Längenausdehnung von maximal 1 mm vor. Karzinomherde der Größe 2 mm bzw. 3 mm machten anteilig jeweils etwa zehn Prozent aus. In den restlichen 40% der Fälle betrug die Längenausdehnung 4 - 18 mm (Abb.8).

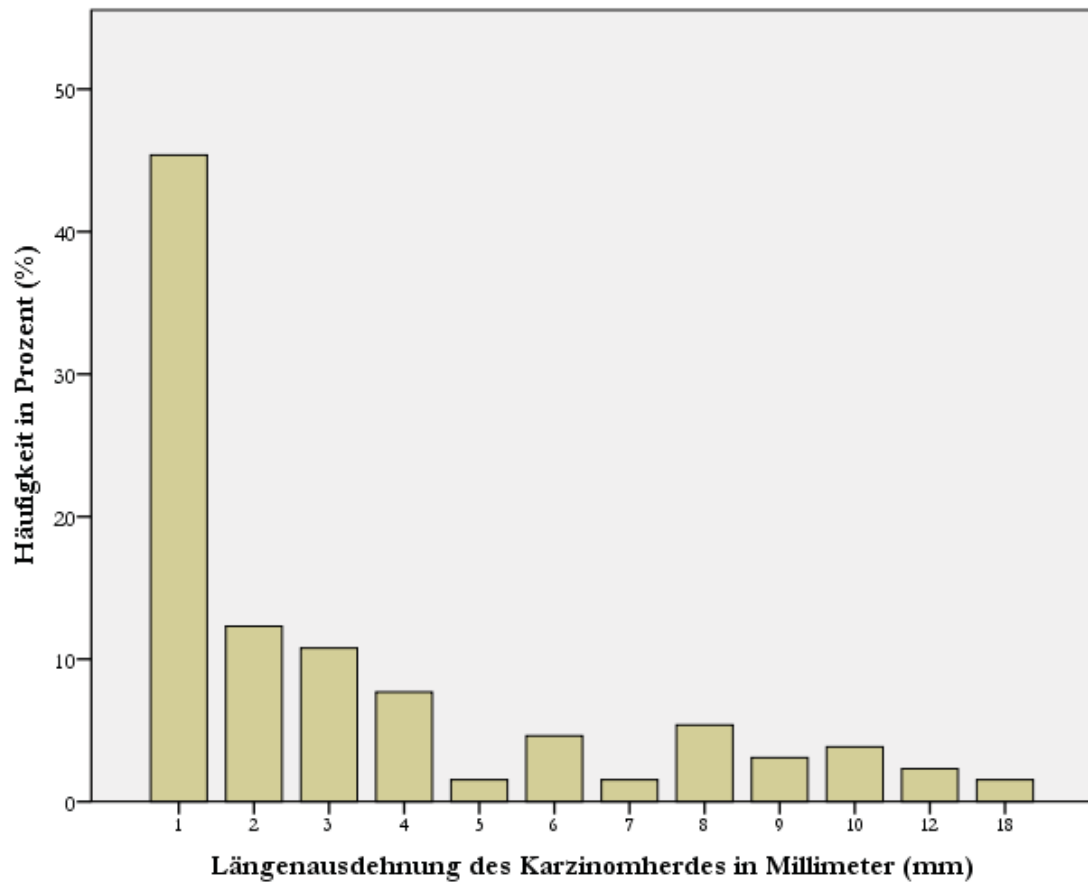


Abb. 8: Längenausdehnung des Karzinomherdes in Millimeter (mm)

Letztendlich wurde errechnet, dass bei allen Prostatastanziopsien, in denen ein Karzinom nachgewiesen wurde, durchschnittlich 2,56 Stanzen von Karzinomgewebe befallen waren (Standardabweichung = 2,12 Minimum = 1 Maximum = 11). In über 60% der Prostatastanziopsien waren nur eine oder zwei Stanzen mit Karzinomgewebe befallen (Abb.9).

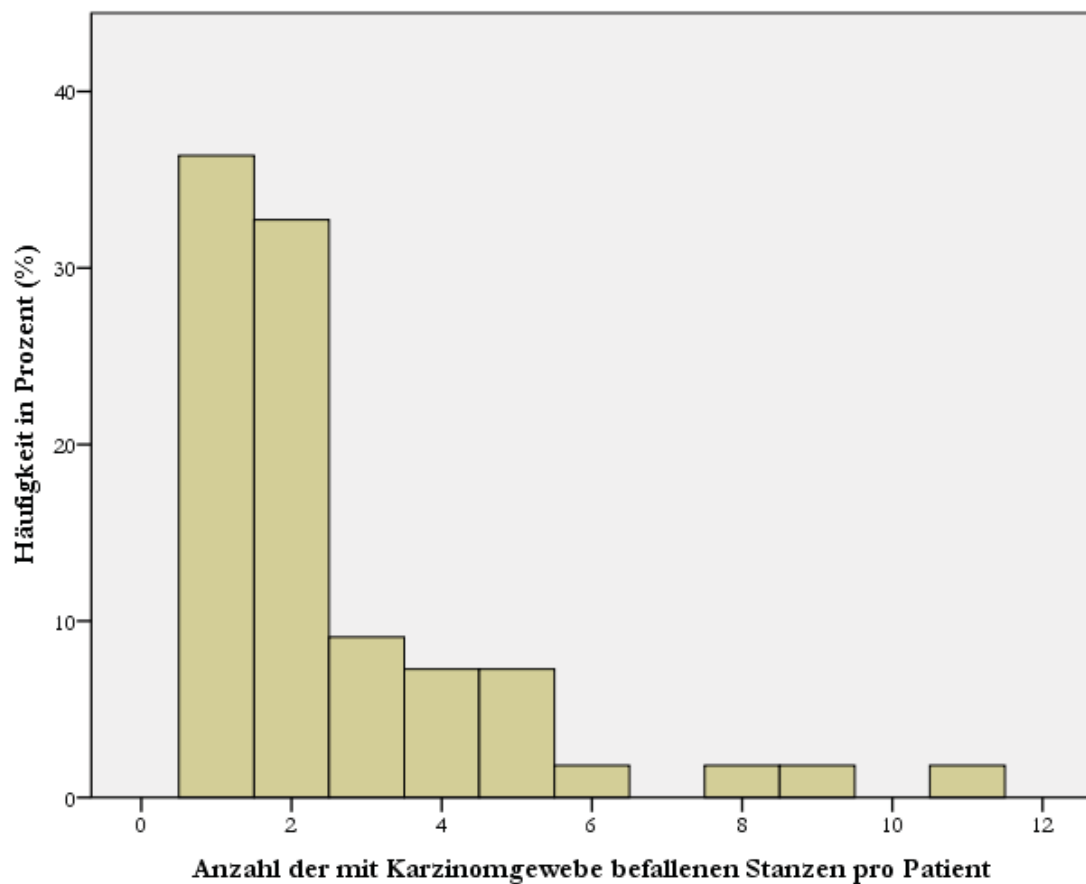


Abb.9: Anzahl der mit Karzinomgewebe befallenen Stanzen pro Patient

Die Erhebung der T-Stadien erfolgte uneinheitlich. Bei 29 Patienten (53,7%) lagen zum Staging unter anderem Ergebnisse der Prostatektomie vor (C-Faktor 4), während bei 26 Patienten (46,3%) das Staging mittels unterschiedlicher Bildgebung (TRUS, Skelettszintigraphie, Röntgen, CT, MRT, PET-CT und Urogramm) sowie der DRU erfolgte (C-Faktor 1-2). Am häufigsten wurde das T-Stadium 1c vergeben (40,7%) gefolgt vom T-Stadium 2c (31,5%). Ein Überschreiten der Prostatakapsel durch den Primärtumor – definiert als T-Stadium 3a und höher – konnte in vier Fällen (7,5%) nachgewiesen werden (Abb.10).

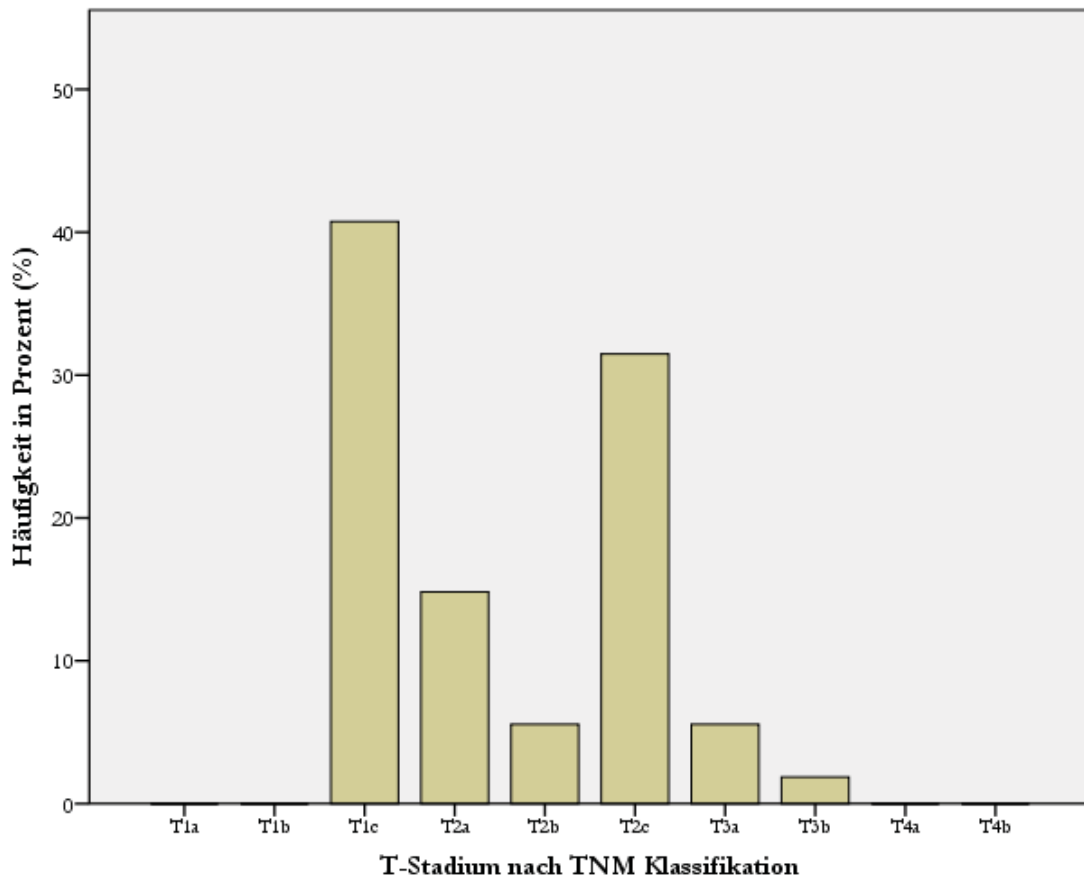


Abb.10: Häufigkeitsverteilung der T-Stadien nach TNM Klassifikation

3.5 Bild-DNA-Zytometrie

Insgesamt konnte bei 86 von 142 Prostatastanzbiopsien (60,6%) eine Bild-DNA-Zytometrie realisiert werden. Bei 56 Prostatastanzbiopsien entfiel die Bild-DNA-Zytometrie aus insgesamt fünf verschiedenen Gründen. In 19 von 56 Fällen (33,9%) war auf den Paraffinblöcken der Prostatastanzbiopsien zu wenig Restmaterial für die Bild-DNA-Zytometrie verfügbar. Bei 18 von 56 Prostatastanzen (32,1%) war der Krebsherd zu klein, sodass nicht genug Material für die Bild-DNA-Zytometrie gewonnen werden konnte. Ein Krebsherd galt als zu klein, wenn seine Längenausdehnung weniger als zwei Millimeter betrug. Bei der zweiten Befundung durch Prof. Böcking bzw. Prof. Biesterfeld wurde in 9 von 56 Prostatastanzbiopsien (16,1%) kein Karzinom mehr gefunden. In weiteren 9 von 56 Fällen (16,1%) entfiel eine DNA-Ploidie Gradierung, da sich nicht genügend Analyse- bzw. Referenzzellkerne fanden. Schlussendlich konnte in einem von 56 Fällen (1,8%) die DNA-Ploidie Gradierung auf Grund eines Färbefehlers nicht erfolgen (Tabelle 9).

Ausfallgründe	Absolute Häufigkeit	Häufigkeit in (%)
Zu wenig Restmaterial	19	33,9
Karzinomherd zu klein	18	32,1
Kein Karzinom nachweisbar	9	16,1
Zu wenige Analyse- / Referenzzellen	9	16,1
Färbefehler	1	1,8
Gesamt	56	100,0

Tabelle 9: **Ausfallgründe und deren Häufigkeit in der Bild-DNA-Zytometrie**

Pro Fall wurden durchschnittlich 266 Analysezellen (Standardabweichung = 83,1 Minimum = 81 Maximum = 434) zur Auswertung in die Bildgalerie aufgenommen. Für die Gruppe der Referenzzellen konnten im Mittel 22 Zellen (Standardabweichung = 8,9 Minimum = 6 Maximum = 39) zur Auswertung herangezogen werden.

Insgesamt konnte bei 42 von 54 Patienten (77,8%) an mindestens einer Prostatastanzbiopsie eine Malignitätsgradierung des Prostatakarzinoms mittels Bild-DNA-Zytometrie durchgeführt werden. Im Durchschnitt wurden 1,95 Stenzen (Standardabweichung = 1,40 Minimum = 1 Maximum = 6) von insgesamt 42 Patienten analysiert. Auf knapp die Hälfte der Patienten entfiel dabei mehr als eine Bild-DNA-Zytometrie (Abb.11).

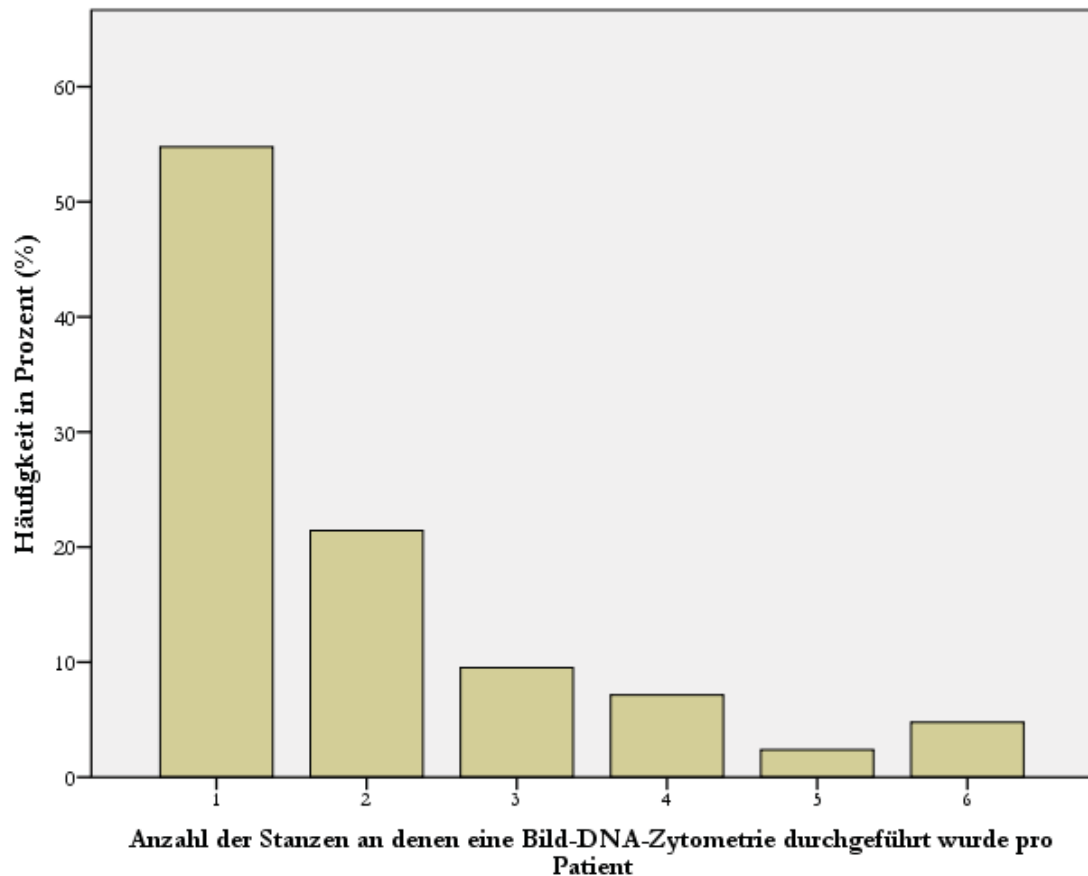


Abb.11: Anzahl der Stenzen an den eine Bild-DNA-Zytometrie durchgeführt werden konnte pro Patient

Im Folgenden wird nun dargelegt, wie sich die DNA-Ploidie Gradierungen der 86 Fälle auf die in Kapitel 2.5.3 definierten DNA-Ploidie Grade verteilen. Angegeben ist jeweils das Ergebnis der Gradierungen von Prof. Böcking und in Klammern das entsprechende Ergebnis Dr. Pomjanskis. Der DNA-Ploidie Grad A wurde in 40,7% (38,4%) der Fälle vergeben. Eine Gradierung mit dem DNA-Ploidie Grad B erfolgte in 27,9% (30,2%) der Fälle, während der Zwischengrad A-B in 11,6% (10,5%) der Fälle zugewiesen wurde. In 3,5% (1,2%) der Fälle wurde der DNA-Ploidie Grad B-C vergeben. Schließlich wurden 11,6% (16,3%) und 4,7% (3,5%) der Fälle jeweils mit den DNA-Ploidie Graden C und D gradiert (Abb.12 und 13).

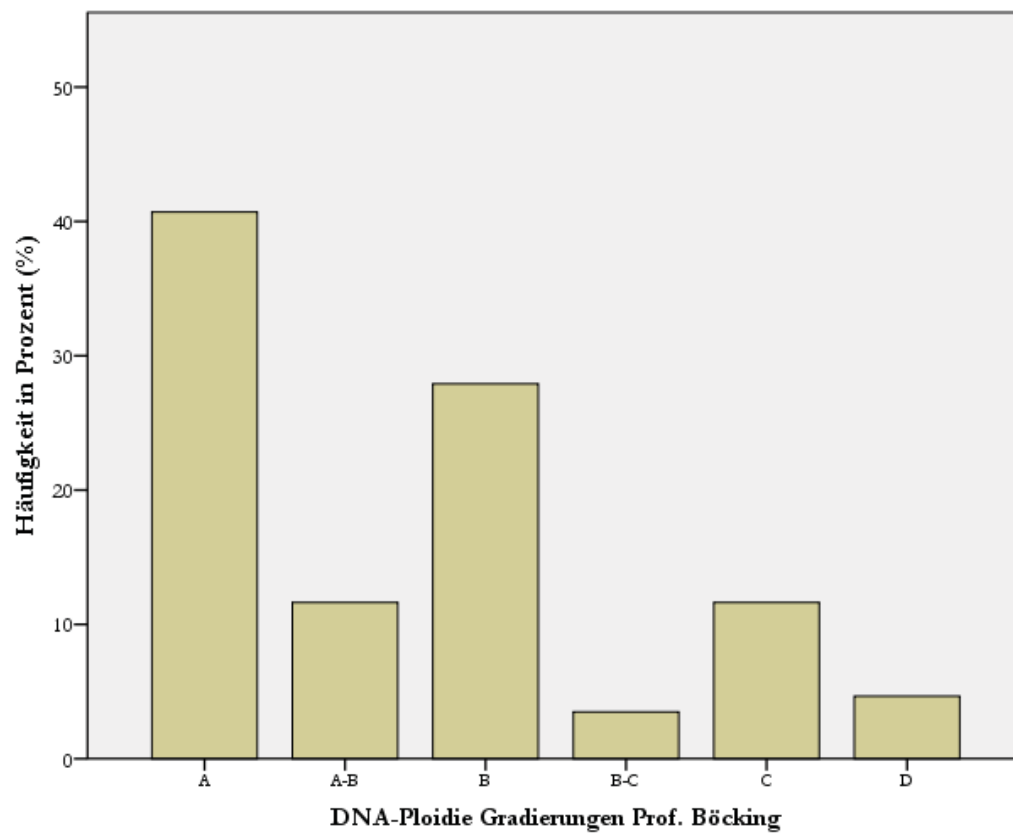


Abb.12: Häufigkeitsverteilung der DNA-Ploidie Gradierungen von Prof. Böcking

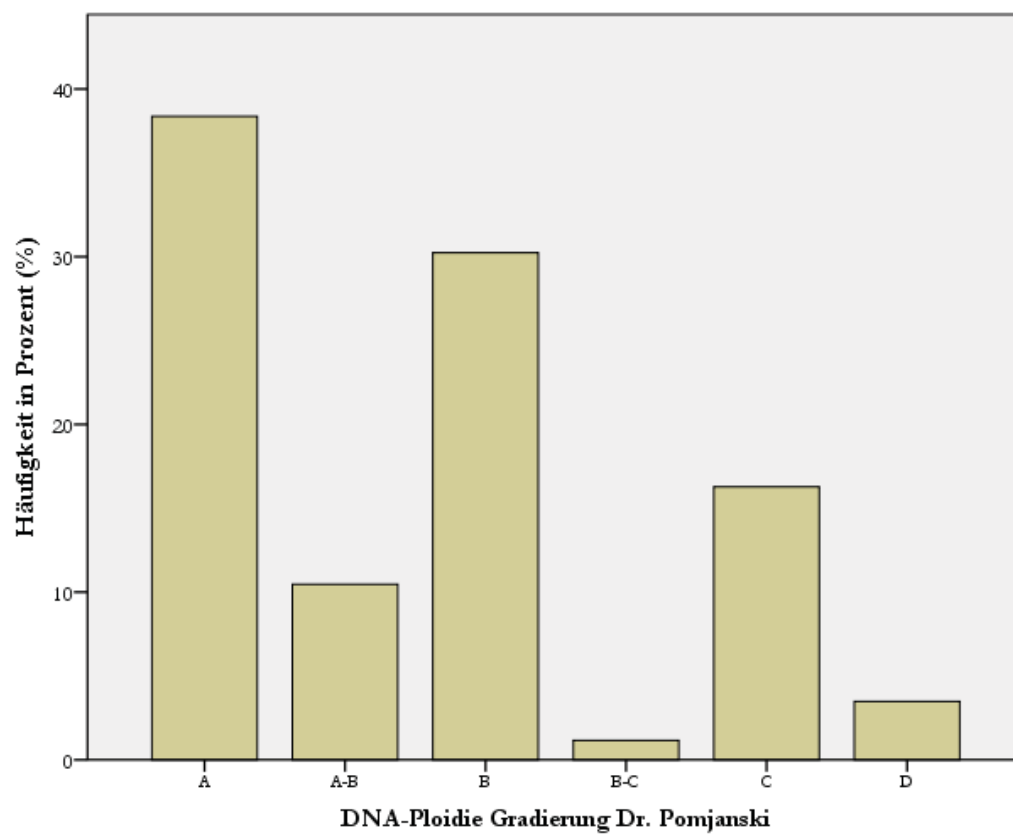


Abb.13: Häufigkeitsverteilung der DNA-Ploidie Gradierungen von Dr. Pomjanski

Eine exakte Übereinstimmung der DNA-Ploidie Gradierungen von Prof. Böcking und Dr. Pomjanski erfolgte in 80 von 86 Fällen (93,0%). Bei sechs Fällen divergierten die jeweiligen Gradierungen, wobei in zwei Fällen vermutlich Flüchtigkeit dafür verantwortlich war. Bei diesen Fällen wurde von einem Beobachter, obwohl Zellkerne mit einem DNA-Gehalt von $>4,4c$ zu finden waren – was *per definitionem* mindestens eine Gradierung mit dem DNA-Ploidie Grad B bedingt (siehe Kapitel 2.5.3) – der DNA-Ploidie Grad A vergeben. Falls zwischen den Gradierungen der Beobachter Differenzen auftraten, so betrugen diese im Durchschnitt knapp zwei DNA-Ploidie Grade, wobei im Einzelfall maximal ein Unterschied von drei DNA-Ploidie Graden vorkam (Tabelle 10). Als weiteren Grund für die diskrepanten Gradierungen kommt neben den genannten Flüchtigkeitsfehlern – die auch in der alltäglichen klinischen Routine auftreten können – eine Fehlinterpretation der Histogramm Darstellungen wegen ungenügender graphischer Auflösung derselbigen in Frage. Dies wird in drei Fällen als ursächlich für die diskrepanten Gradierungen angenommen. In einem Fall bleibt die Ursache der fehlenden Reproduzierbarkeit unklar (Tabelle 10).

Gradierung 1. Beobachter	Gradierung 2. Beobachter	Differenz der DNA- Ploidie Grade	Vermutliche Ursache der diskrepanten Gradierung
A	B	2	Flüchtigkeitsfehler
A	B	2	Flüchtigkeitsfehler
B-C	C	1	Ungenaue Histogramm- Darstellung
B-C	C	1	Ungenaue Histogramm- Darstellung
D	C	1	Ungenaue Histogramm- Darstellung
A-B	C	3	Unklar

Tabelle 10: **Diskrepanzen der DNA-Ploidie Gradierungen**

3.6 Indikationsstellung zur Prostatastanzbiopsie

Im folgenden Kapitel wird dargestellt, wie sensitiv und spezifisch einzelne Parameter (tPSA, PSADT) und Algorithmen die Indikation zur Prostatastanzbiopsie stellen. Zuerst sollen anhand der verwendeten Parameter und Algorithmen diejenigen Patienten identifiziert werden, die ein Prostatakarzinom in der PSB aufweisen (Kapitel 3.6.1). Anschließend sollen

nur noch diejenigen Patienten detektiert werden, deren Prostatakarzinome bestimmte histopathologische und klinische sowie zytopathologische Kriterien erfüllen und damit als klinisch signifikante (Kapitel 3.6.2) respektive non-diploide Prostatakarzinome (Kapitel 3.6.3) gelten. Schlussendlich sollen alle Prostatakarzinome entdeckt werden, die laut Studiendefinition den klinisch signifikanten Prostatakarzinomen zugehörig sind (Kapitel 3.6.4).

3.6.1 Screening auf Prostatakarzinome

Totaler PSA-Wert:

Der totale PSA-Wert allein erlaubt keine statistisch signifikante Unterscheidung zwischen Patienten mit und ohne histologisch nachgewiesenem Prostatakarzinom ($p = 0,680$). In der ROC-Kurve wird eine Fläche von 0,451 (95% Konfidenzintervall = 0,41 - 0,50 Standardfehler = 0,023) erreicht. Anhand der ROC-Kurve konnte abgelesen werden, wie sensitiv und spezifisch die gebräuchlichen PSA-Schwellenwert die Indikation zur Prostatastanzbiopsie in unserer Studie stellen. Zusätzlich wurden jeweils der positiv bzw. negativ prädiktive Wert (PPW/NPW) errechnet (Tabelle 11).

PSA- Schwellenwert in ng/ml	Sensitivität in %	Spezifität in %	PPW in %	NPW in %
2,0	90,6	1,9	49,2	15,8
3,1	79,4	12,4	48,8	36,5
4,0	58,8	29,7	46,4	39,8
5,1	46,7	51,6	50,3	48,0

Tabelle 11: Gütekriterien einzelner PSA-Schwellenwert bei der Indikationsstellung zur Prostatastanzbiopsie PPW: positiv prädiktiver Wert NPW: negativ prädiktiver Wert

Algorithmus A:

Der Algorithmus A (Kapitel 2.3) beschränkt sich bei der Indikationsstellung zur PSB darauf, die PSADT unter Verwendung von allen verfügbaren PSA-Messungen vor der letzten Prostatastanzbiopsie zu bestimmen. Es zeigen sich keine statistisch signifikante Unterschiede der PSA-Verdopplungszeiten zwischen den Patientenkollektiven mit und ohne nachgewiesenem Prostatakarzinom ($p = 0,121$). Die Fläche unter der ROC-Kurve beträgt 0,589 (95% Konfidenzintervall = 0,49 - 0,70 Standardfehler = 0,056) (Abb.14).

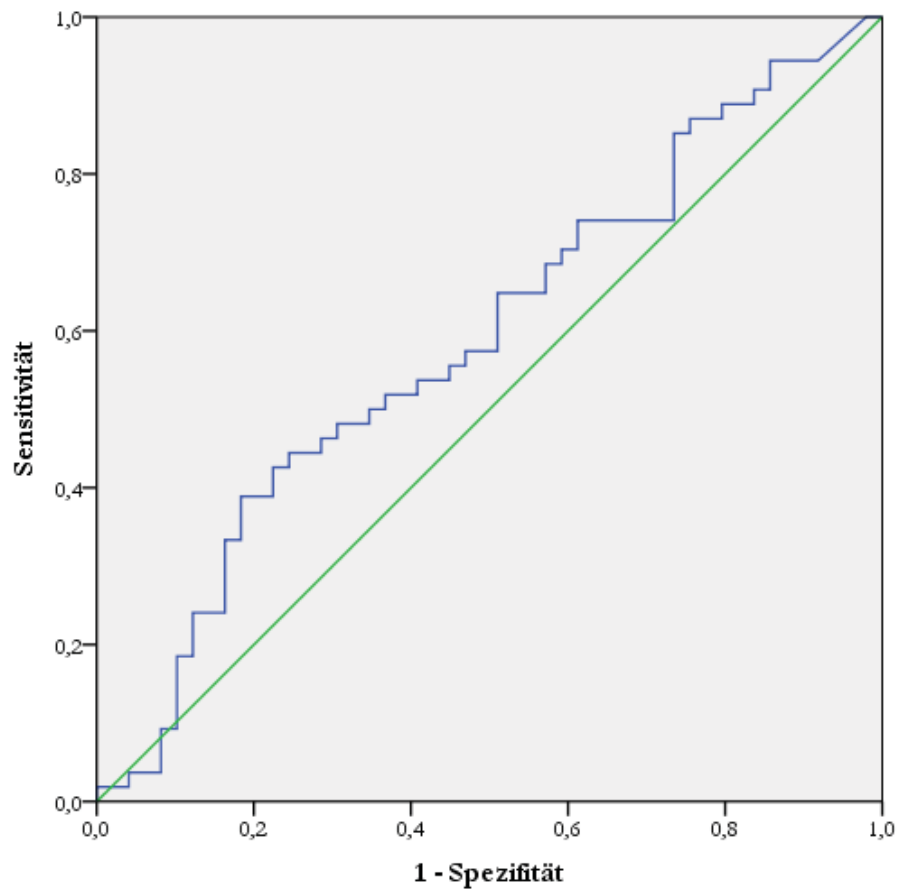


Abb.14: **ROC-Kurve für die Indikationsstellung zur Prostatastanzbiopsie mittels PSADT**
ROC=Receiver Operating Characteristics

Für alle PSADT-Schwellenwerte konnten Sensitivität und Spezifität sowie PPW und NPW berechnet werden, von denen Tabelle 12 eine Auswahl aufführt.

PSADT-Schwellenwert	Sensitivität in %	Spezifität in %	PPW in %	NPW in %
6,0 Jahre	66,7	42,9	56,3	53,8
7,0 Jahre	74,1	30,6	54,8	53,3
8,1 Jahre	77,8	26,5	53,2	50,0
9,1 Jahre	83,3	26,5	55,6	59,1
10,0 Jahre	85,2	24,5	55,4	60,0

Tabelle 12: **Gütekriterien einzelner PSADT-Schwellenwert bei der Indikationsstellung zur Prostatastanzbiopsie** PPW: positiv prädiktiver Wert NPW: negativ prädiktiver Wert

Algorithmus B1:

Der Algorithmus B1 stellt immer dann die Indikation zur PSB wenn die aktuelle PSADT einen bestimmten Schwellenwert unterschreitet (Kapitel 2.3). Für jede neu hinzugekommene PSA-Messung wird die jeweilige PSADT berechnet und jedes Mal von neuem überprüft, ob diese aktuelle PSADT unterhalb des Schwellenwertes liegt. Kein Schwellenwert erlaubt jedoch eine statistisch gesicherte Vorhersage des Prostatakarzinoms in der Prostatastanziopsie (Tabelle 13).

PSADT-Schwellenwert	Chi-Quadrat nach Pearson	Signifikanz (p)
6 Jahre	0,549	0,459
7 Jahre	0,235	0,628
8 Jahre	0,631	0,427
9 Jahre	0,240	0,624
10 Jahre	0,686	0,408

Tabelle 13: **Algorithmus B1 - Signifikanz einzelner PSADT-Schwellenwerte bei der Indikationsstellung zur Prostatastanziopsie**

Algorithmus B2:

Der Algorithmus B2 hingegen stellt die Indikation zur Prostatastanziopsie, wenn sich PSA-Verdopplungszeiten konsekutiv und systematisch verkürzen (Kapitel 2.3). Bei Vorliegen von drei oder vier PSA-Messungen kann der Algorithmus auf Grund von zu wenigen Messpunkten nicht verwendet werden. Daher wurden für diese Fälle PSADT-Schwellenwerte von zwei bis zehn Jahren als Indikation zur PSB gewählt. Für den Algorithmus B2 kann gleichwohl in Verbindung mit keiner der verwendeten PSADT-Schwellenwerte eine statistisch signifikante Vorhersage getätigt werden, ob in der PSB ein Prostatakarzinom vorliegt oder nicht (Tabelle 14).

PSADT-Schwellenwert	Chi-Quadrat nach Pearson	Signifikanz (p)
6 Jahre	1,087	0,297
7 Jahre	0,686	0,408
8 Jahre	0,686	0,408
9 Jahre	0,252	0,616
10 Jahre	0,252	0,616

Tabelle 14: **Algorithmus B2 - Signifikanz einzelner PSADT-Schwellenwerte bei der Indikationsstellung zur Prostatastanziopsie**

Algorithmus B3:

Auch der Algorithmus B3 – als eine Kombination aus Algorithmus B1 und B2 entwickelt, um deren Sensitivität zu erhöhen – kann keine statistisch signifikanten Ergebnisse beim Screening auf Prostatakarzinome aufzeigen (Tabelle 15).

PSADT-Schwellenwert	Chi-Quadrat nach Pearson	Signifikanz (p)
6 Jahre	0,595	0,441
7 Jahre	0,686	0,408
8 Jahre	0,686	0,408
9 Jahre	0,252	0,616
10 Jahre	0,252	0,616

Tabelle 15: Algorithmus B3 - Signifikanz einzelner PSADT-Schwellenwerte bei der Indikationsstellung zur Prostatastanziobiopsie

3.6.2 Screening auf klinisch signifikante Prostatakarzinome

Im Folgenden wurde untersucht, mit welcher Güte die einzelnen Parameter (tPSA, PSADT) und Algorithmen in der Lage sind zwischen klinisch signifikanten und klinisch wahrscheinlich insignifikanten Prostatakarzinom bzw. BPH zu unterscheiden. Als Definitionen des klinisch insignifikanten Prostatakarzinoms wurden die drei gebräuchlichen Definitionen nach Helpap, Epstein und Wirth verwendet (Kapitel 2.6).

Totaler PSA-Wert:

Der totale PSA-Wert allein erlaubt – auch unter Berücksichtigung der Definition des klinisch insignifikanten Prostatakarzinoms nach Epstein, Helpap und Wirth (Kapitel 2.6) – keine statistisch gesicherte Unterscheidung zwischen Patienten mit klinisch signifikantem Prostatakarzinom und klinisch insignifikantem Prostatakarzinom bzw. BPH. In der graphischen Darstellung erreichen die ROC-Kurven Flächen unter der Kurve (AUC) von 0,51 für Epstein und 0,49 für Helpap sowie 0,49 für die Definition nach Wirth (Tabelle 16).

	Epstein	Helpap	Wirth
AUC	0,509	0,488	0,488
Standardfehler	0,023	0,024	0,023
95% Konfidenzintervall	0,46 - 0,55	0,44 - 0,54	0,44 - 0,53
Signifikanz (p)	0,704	0,615	0,599

Tabelle 16: Gütekriterien des totalen PSA-Wertes beim Screening auf klinisch signifikante Prostatakarzinome AUC= Area Under the Curve

Algorithmus A:

Der Algorithmus A (PSADT) kann Aussagen über das Vorliegen von klinisch signifikanten Prostatakarzinomen treffen, die allerdings nur zum Teil statistische Signifikanz erzielen. In Tabelle 17 sind die jeweiligen Werte für die Sensitivität und Spezifität einzelner Schwellenwerte der PSADT aufgeführt. Sie divergieren, je nachdem welche Definition des klinisch insignifikanten Prostatakarzinoms verwendet wird (Tabelle 17).

PSADT-Schwellenwert	Epstein		Helpap		Wirth	
	Sensitivität in %	Spezifität in %	Sensitivität in %	Spezifität in %	Sensitivität in %	Spezifität in %
6,0 Jahre	66,7	41,4	70,5	44,1	69,8	43,4
7,0 Jahre	75,6	31,0	77,3	32,2	79,1	33,3
8,1 Jahre	80,0	27,6	81,8	28,8	83,7	30,0
9,1 Jahre	84,4	25,9	88,6	28,8	90,7	30,0
10,1 Jahre	88,9	24,1	90,9	25,4	95,3	28,3

Tabelle 17: Gütekriterien der PSADT beim Screening auf klinisch signifikante Prostatakarzinome

Die Flächen unter der ROC-Kurve (AUC) betragen 0,589 (Epstein) sowie 0,648 (Helpap) und 0,637 (Wirth). Die ROC-Kurven zeigen teilweise statistische Signifikanz ($p = 0,121$ für Epstein, $p = 0,010$ für Helpap und $p = 0,018$ für Wirth).

Algorithmus B1:

Der schon erläuterte Algorithmus B1 (Kapitel 2.3) stellt immer dann die Indikation zur PSB, wenn eine – für jede hinzugekommene PSA-Messung neu errechnete – PSADT einen bestimmten Schwellenwert unterschreitet. Es sollte ermittelt werden, wie sensitiv und spezifisch die Indikation zur PSB – unter Berücksichtigung der Definition des klinisch insigni-

fikanten Prostatakarzinoms nach Epstein, Helpap und Wirth (Kapitel 2.6) – gestellt werden kann. Das heißt, es sollen mithilfe des Algorithmus B1 nur Prostatakarzinome entdeckt werden, die nicht den Definitionen des klinisch insignifikanten Prostatakarzinoms entsprechen. Dabei zeigen sich signifikante Ergebnisse nur bei Verwendung der Definition nach Wirth und bei ausgewählten PSADT-Schwellenwerten sowie bei der Definition nach Helpap und einem PSADT-Schwellenwert von 4 Jahren. Ansonsten gelingt der Nachweis einer statistischen Signifikanz in keiner anderen Konstellation (Tabelle 18).

PSADT-Schwellenwert	Epstein		Helpap		Wirth	
	Chi-Quadrat	Signifikanz (p)	Chi-Quadrat	Signifikanz (p)	Chi-Quadrat	Signifikanz (p)
2 Jahre	0,927	0,336	2,380	0,123	1,427	0,232
3 Jahre	1,789	1,181	3,680	0,055	4,411	0,036
4 Jahre	1,833	0,176	4,012	0,045	3,398	0,065
5 Jahre	0,544	0,461	3,777	0,052	3,329	0,068
6 Jahre	0,137	0,711	1,641	0,200	2,863	0,091
7 Jahre	0,165	0,684	0,868	0,351	4,252	0,039
8 Jahre	0,592	0,442	1,743	0,187	6,236	0,013
9 Jahre	0,269	0,604	1,201	0,273	5,401	0,020
10 Jahre	0,844	0,358	2,336	0,126	7,937	0,005

Tabelle 18: **Signifikanz des Algorithmus B1 beim Screening auf klinisch signifikante Prostatakarzinome**

Die entsprechenden Werte für Sensitivität und Spezifität bewegen sich bei Verwendung der Definition nach Wirth je nach PSADT-Schwellenwert zwischen 55 - 100% respektive 17 - 65%. Für den PPW und NPW konnten Werte von 46 - 47% bzw. 67 - 100% errechnet werden (Tabelle 19).

Algorithmus B1 – Definition nach Wirth				
PSADT-Schwellenwert	Sensitivität in %	Spezifität in %	PPW in %	NPW in %
3 Jahre	55,8	65,0	46,7	67,2
7 Jahre	95,3	18,3	45,6	84,6
8 Jahre	97,8	18,3	46,2	91,7
9 Jahre	97,8	16,7	45,7	90,9
10 Jahre	100	16,7	46,2	100

Tabelle 19: Gütekriterien des Algorithmus B1 beim Screening auf klinisch signifikante Prostatakarzinome anhand der Definition nach Wirth

Algorithmus B2:

Für den Algorithmus B2 (Kapitel 2.3) zeigt sich – unter Verwendung der Definitionen des klinisch insignifikanten Prostatakarzinoms nach Helpap bzw. Wirth – bei ausgewählten PSADT-Schwellenwerten die Möglichkeit, statistisch gesicherte Vorhersagen über das Vorliegen eines klinisch signifikanten Prostatakarzinoms zu treffen. Für die Definition nach Helpap ergibt sich bei Verwendung von einem PSADT-Schwellenwert von vier und fünf Jahren jeweils eine statistische Signifikanz. Weiterhin kann bei Verwendung der Definition nach Wirth eine statistische Signifikanz bei PSADT-Schwellenwerten von vier bis einschließlich zehn Jahren nachgewiesen werden (Tabelle 20).

PSADT-Schwellenwert	Epstein		Helpap		Wirth	
	Chi-Quadrat	Signifikanz (p)	Chi-Quadrat	Signifikanz (p)	Chi-Quadrat	Signifikanz (p)
2 Jahre	1,063	0,302	4,086	0,043	3,305	0,069
3 Jahre	1,549	0,213	5,403	0,020	6,695	0,010
4 Jahre	2,356	0,125	7,350	0,007	6,699	0,010
5 Jahre	2,115	0,146	7,763	0,005	7,224	0,007
6 Jahre	0,765	0,382	3,703	0,054	5,829	0,016
7 Jahre	0,844	0,358	2,336	0,126	7,937	0,005
8 Jahre	0,844	0,358	2,336	0,126	7,937	0,005
9 Jahre	0,430	0,512	1,693	0,193	7,068	0,008
10 Jahre	0,430	0,512	1,693	0,193	7,068	0,008

Tabelle 20: Signifikanz des Algorithmus B2 beim Screening auf klinisch signifikante Prostatakarzinome

Die dazugehörigen Werte für Sensitivität und Spezifität liegen hierbei für die Definition nach Helpap zwischen 84 - 91% und 32 - 41% und für die Definition nach Wirth zwischen 77 - 100% und 15 - 48%. Für den positiv prädiktiven Wert (PPW) wurden für die Definition nach Helpap Werte von etwa 50% und für die Definition nach Wirth Werte zwischen 46 - 51% berechnet. Der negativ prädiktive Wert (NPW) bewegt sich für Helpap zwischen 77 - 83% sowie zwischen 74 - 100% für Wirth (Tabelle 21).

Definition nach Helpap					Definition nach Wirth			
PSADT - Schwellenwert	Sensitivität in %	Spezifität in %	PPW in %	NPW in %	Sensitivität in %	Spezifität in %	PPW in %	NPW in %
3 Jahre	-	-	-	-	76,7	48,3	51,2	74,4
4 Jahre	84,1	40,7	51,4	77,4	83,7	40,0	50,0	77,4
5 Jahre	90,9	32,2	50,0	82,6	90,7	31,7	48,8	82,6
6 Jahre	-	-	-	-	95,3	21,7	46,6	86,7
7 Jahre	-	-	-	-	100	16,7	46,2	100
8 Jahre	-	-	-	-	100	16,7	46,2	100
9 Jahre	-	-	-	-	100	15,0	45,7	100
10 Jahre	-	-	-	-	100	15,0	45,7	100

Tabelle 21: Gütekriterien des Algorithmus B2 beim Screening auf klinisch signifikante Prostatakarzinome anhand der Definition nach Helpap und Wirth PPW: positiv prädiktiver Wert NPW: negativ prädiktiver Wert

Algorithmus B3:

Der Algorithmus B3, eine Kombination aus Algorithmus B1 und B2, erzielt statistisch signifikante Ergebnisse beim Screening auf klinisch signifikante Prostatakarzinome, sofern die Definition nach Helpap Wirth und ein PSADT-Schwellenwert von vier bis einschließlich zehn Jahre vorausgesetzt wird (Tabelle 22). Außerdem werden signifikante Ergebnisse erzielt bei der Verwendung der Definition nach Helpap und einem PSADT-Schwellenwert von zwei bis fünf Jahren.

	Epstein		Helpap		Wirth	
PSADT-Schwellenwert	Chi-Quadrat	Signifikanz (p)	Chi-Quadrat	Signifikanz (p)	Chi-Quadrat	Signifikanz (p)
2 Jahre	1,063	0,302	4,086	0,043	3,305	0,069
3 Jahre	1,549	0,213	5,403	0,020	6,695	0,010
4 Jahre	1,845	0,174	6,500	0,011	5,902	0,015
5 Jahre	0,762	0,383	5,235	0,022	4,827	0,028
6 Jahre	0,419	0,518	3,001	0,083	5,024	0,025
7 Jahre	0,844	0,358	2,336	0,126	7,937	0,005
8 Jahre	0,844	0,358	2,336	0,126	7,937	0,005
9 Jahre	0,430	0,512	1,693	0,193	7,068	0,008
10 Jahre	0,430	0,512	1,693	0,193	7,068	0,008

Tabelle 22: **Signifikanz des Algorithmus B3 beim Screening auf klinisch signifikante Prostatakarzino-**
nome

Die zum jeweiligen PSADT-Schwellenwert errechnete Sensitivität für die Definition nach Wirth beträgt zwischen 77 - 100% mit einer dazugehörigen Spezifität von 15 - 48%. Für den PPW und NPW ergaben sich Werte zwischen 46 - 52%, respektive 74 - 100% (Tabelle 23).

Algorithmus B3 – Definition nach Wirth				
PSADT-Schwellenwert	Sensitivität in %	Spezifität in %	PPW in %	NPW in %
3 Jahre	76,7	48,3	51,6	74,4
4 Jahre	83,7	38,3	49,3	76,7
5 Jahre	90,7	26,7	47,0	80
6 Jahre	95,3	20,0	46,1	85,7
7 Jahre	100	16,7	46,2	100
8 Jahre	100	16,7	46,2	100
9 Jahre	100	15,0	45,7	100
10 Jahre	100	15,0	45,7	100

Tabelle 23: **Gütekriterien des Algorithmus B3 beim Screening auf klinisch signifikante Prostatakarzino-**
nome anhand der Definition nach Wirth PPW: positiv prädiktiver Wert NPW: negativ prädiktiver Wert

3.6.3 Screening auf non-diploide Prostatakarzinome

Für die folgende Validierung des totalen PSA-Wertes und der Algorithmen A - B3 wurde festgelegt, dass die Indikation zur Prostatastanzbiopsie immer dann richtig gestellt war, wenn sich ein non-diploider Tumor in mindestens einer der Stenzen fand. Hingegen sollte bei Patienten mit Prostatakarzinomen des DNA-Ploidie Grades A (Kapitel 2.5.3) sowie BPH von einer Prostatastanzbiopsie abgesehen werden. Insgesamt wurden 91 von 103 Fällen berücksichtigt. Die fehlenden zwölf Fälle erklären sich durch Ausfälle bei der Durchführung der Bild-DNA-Zytometrie (Kapitel 3.5).

Totaler PSA-Wert:

Non-diploide Prostatakarzinome konnten allein anhand des totalen PSA-Wertes nicht sicher detektiert werden ($p = 0,986$). Die Fläche unter der ROC-Kurve beträgt 0,500 (95% Konfidenzintervall = $0,45 - 0,56$ Standardfehler = $0,028$) (Abb.15).

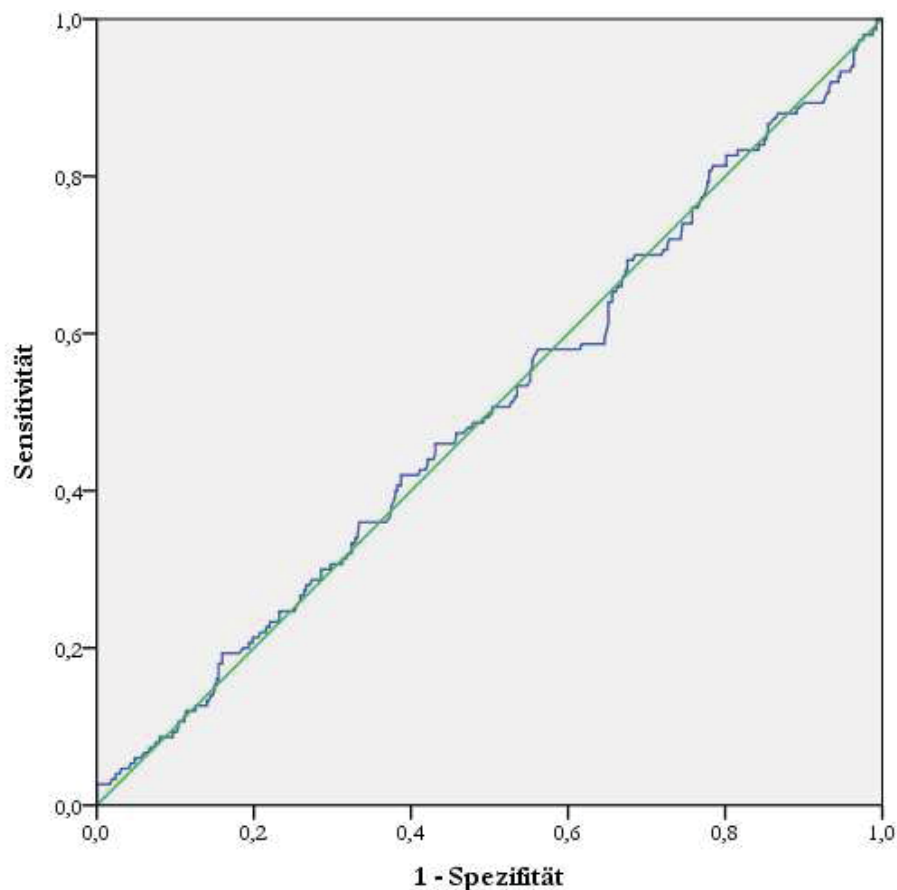


Abb.15: **ROC-Kurve für das Screening auf non-diploide Prostatakarzinome anhand des totale PSA-Wertes** ROC=Receiver Operating Charcteristics

Algorithmus A:

Der Algorithmus A stellt die Indikation zur PSB anhand der PSADT, berechnet aus allen vorliegenden Werten. Es zeigen sich statistische nicht signifikante Unterschiede der PSADT zwischen Patienten mit nondiploiden Prostatakarzinomen und Patienten mit diploiden Prostatakarzinomen bzw. BPH ($p = 0,072$). Die Fläche unter der ROC-Kurve beträgt 0,624 (95% Konfidenzintervall = 0,49 - 0,76 Standardfehler = 0,07) (Abb. 16).

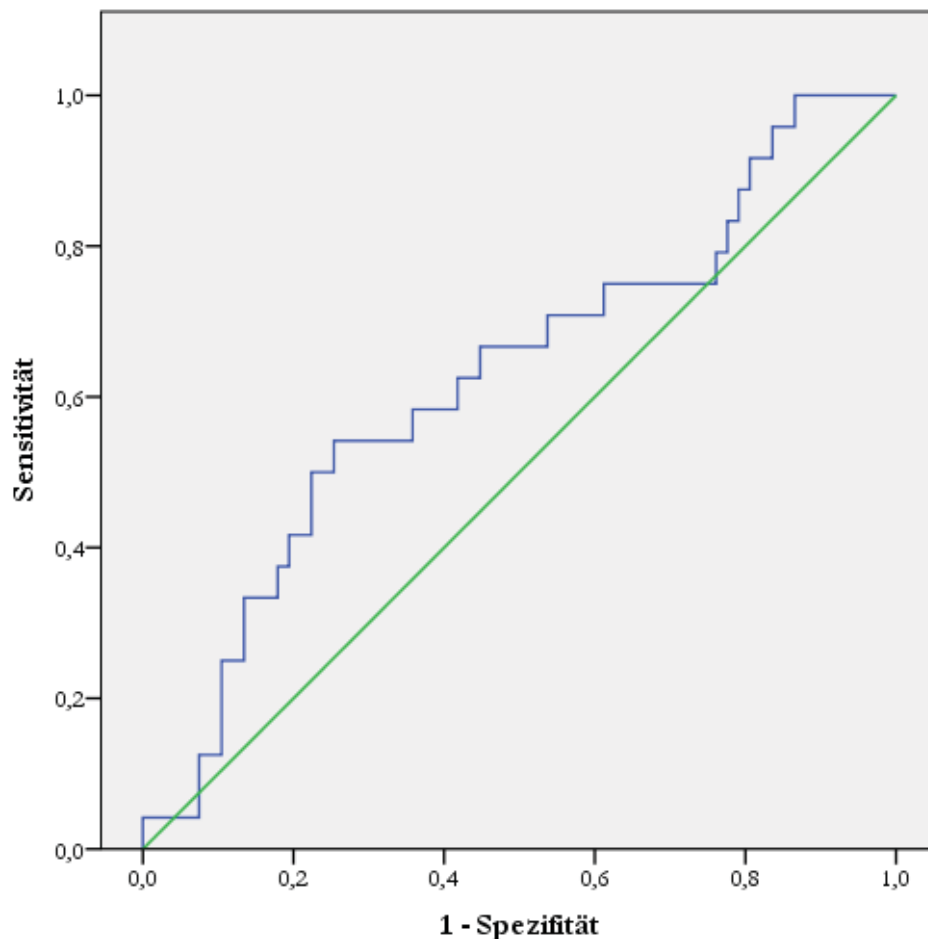


Abb.16: **ROC-Kurve für das Screening auf non-diploide Prostatakarzinome anhand der PSADT**
ROC=Receiver Operating Characteristics

Unter Berücksichtigung der Ergebnisse der Bild-DNA-Zytometrie ergeben sich daher verschiedene Werte für die Sensitivität und Spezifität sowie PPW und NPW der Indikationsstellung zur PSB abhängig vom jeweiligen Schwellenwert der PSADT (Tabelle 24).

PSADT-Schwellenwert	Sensitivität in %	Spezifität in %	PPW in %	NPW in %
6,0 Jahre	70,8	41,8	30,4	80,0
7,0 Jahre	75,0	29,4	27,7	76,9
8,1 Jahre	79,2	23,9	26,1	72,7
9,1 Jahre	83,3	20,9	27,4	77,8
10,1 Jahre	91,7	19,4	28,0	81,3

Tabelle 24: **Gütekriterien der PSADT beim Screening non-diploide Prostatakarzinome** PPW: positiv prädiktiver Wert NPW: negativ prädiktiver Wert

Algorithmus B1:

Der Algorithmus B1 stellt immer dann die Indikation zur PSB, wenn die PSADT einen bestimmten Schwellenwert unterschreitet (Kapitel 2.3), wobei für jede hinzugekommene PSA-Messung von Neuem überprüft wird, ob die neue PSADT unterhalb des Schwellenwertes liegt. Kein Schwellenwert erlaubt jedoch eine statistisch signifikante Vorhersage des nondiploiden Prostatakarzinoms in der PSB (Tabelle 25).

PSADT-Schwellenwert	Chi-Quadrat	Signifikanz (p)
2 Jahre	0,025	0,875
3 Jahre	3,682	0,055
4 Jahre	3,762	0,052
5 Jahre	1,910	0,167
6 Jahre	0,820	0,365
7 Jahre	0,235	0,628
8 Jahre	0,235	0,628
9 Jahre	0,089	0,766
10 Jahre	0,869	0,351

Tabelle 25: **Algorithmus B1 - Signifikanz einzelner PSADT-Schwellenwerte beim Screening auf non-diploide Prostatakarzinome**

Algorithmus B2:

Auch der Algorithmus B2, welcher die Indikation zur Prostatastanzbiopsie stellt, sobald sich PSA-Verdopplungszeiten systematisch verkürzen, ist nicht in der Lage zwischen non-diploiden Prostatakarzinomen und diploiden Prostatakarzinomen respektive BPH zu unterscheiden. Für PSADT-Schwellenwerte von sechs bis zehn Jahre ergibt sich keine statistische Signifikanz (Tabelle 26).

PSADT-Schwellenwert	Chi-Quadrat	Signifikanz (p)
6 Jahre	0,943	0,331
7 Jahre	0,869	0,351
8 Jahre	0,869	0,351
9 Jahre	0,571	0,450
10 Jahre	0,571	0,450

Tabelle 26: **Algorithmus B2 - Signifikanz einzelner PSADT-Schwellenwerte beim Screening auf non-diploide Prostatakarzinome**

Algorithmus B3:

Schlussendlich kann auch der Algorithmus B3, eine Kombination aus Algorithmus B1 und B2, keine statistisch signifikanten Ergebnisse beim Screening auf non-diploide Prostatakarzinome liefern (Tabelle 27).

Algorithmus B3 - Screening of nondiploide Prostatakarzinome		
PSADT-Schwellenwert	Chi-Quadrat	Signifikanz (p)
6 Jahre	0,671	0,413
7 Jahre	0,869	0,351
8 Jahre	0,869	0,351
9 Jahre	0,571	0,450
10 Jahre	0,571	0,450

Tabelle 27: **Algorithmus B3 - Signifikanz einzelner PSADT-Schwellenwerte beim Screening auf non-diploide Prostatakarzinome**

3.6.4 Screening auf klinisch signifikante Prostatakarzinome nach Studiendefinition

Totaler PSA-Wert:

Klinisch signifikante Prostatakarzinome nach Studiendefinition konnten allein anhand des totalen PSA-Wertes nicht sicher herausgefiltert werden ($p = 0,676$). Die Fläche unter der ROC-Kurve beträgt 0,511 (95% Konfidenzintervall = 0,46 - 0,57 Standardfehler = 0,027) (Abb.17).

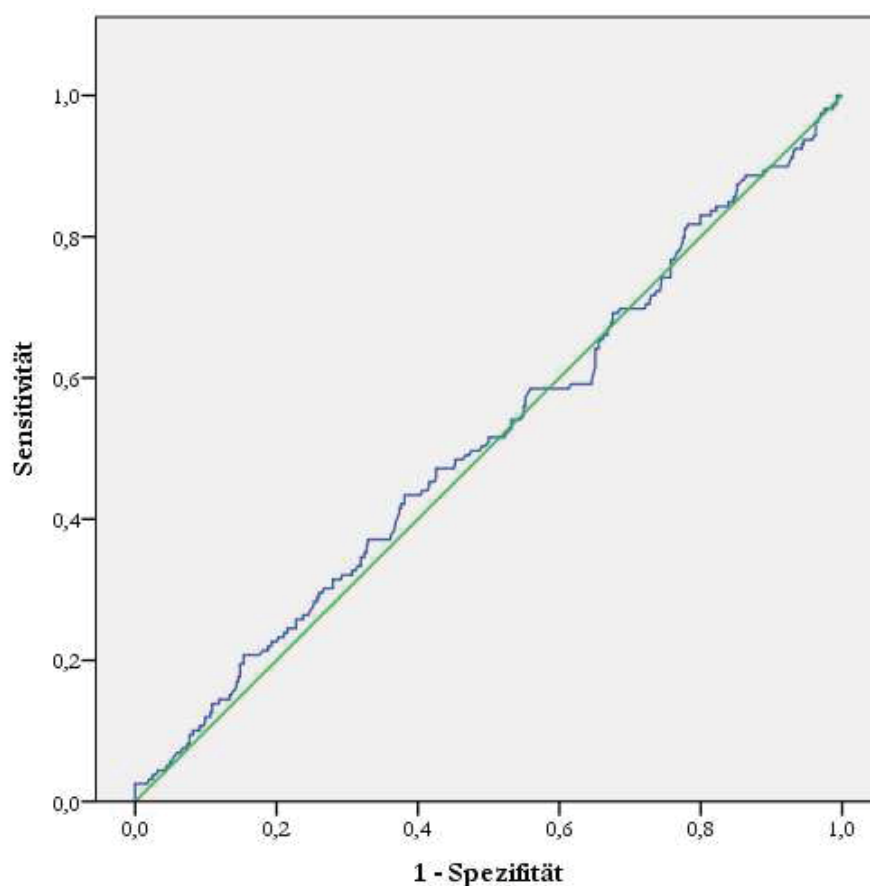


Abb.17: **ROC-Kurve für das Screening auf klinisch signifikante Prostatakarzinome** Prostatakarzinome nach Studiendefinition anhand des totalen PSA-Wertes ROC=Receiver Operating Characteristics

Algorithmus A:

Anhand der PSADT (Algorithmus A) konnten – allerdings ohne statistischer Signifikanz ($p = 0,093$) – klinisch signifikante Prostatakarzinome nach Studiendefinition in der PSB vorhergesagt werden. Je nach PSADT-Schwellenwert variiert die Güte des Tests in Gestalt von Sensitivität, Spezifität, PPW und NPW (Tabelle 28).

PSADT-Schwellenwert	Sensitivität in %	Spezifität in %	PPW in %	NPW in %
6,0 Jahre	69,2	41,5	32,1	77,1
7 Jahre	79,9	29,2	30,8	77,0
8,1 Jahre	80,8	24,6	29,0	72,7
9,1 Jahre	84,6	21,5	30,1	77,8
10 Jahre	92,3	20,0	30,7	81,3

Tabelle 28: **Gütekriterien der PSADT beim Screening klinisch signifikante Prostatakarzinome (Studiendefinition)** PPW: positiv prädiktiver Wert NPW: negativ prädiktiver Wert

Die Fläche unter der ROC-Kurve beträgt 0,613 (95% Konfidenzintervall = 0,49 - 0,74 Standardfehler = 0,07) (Abb.18).

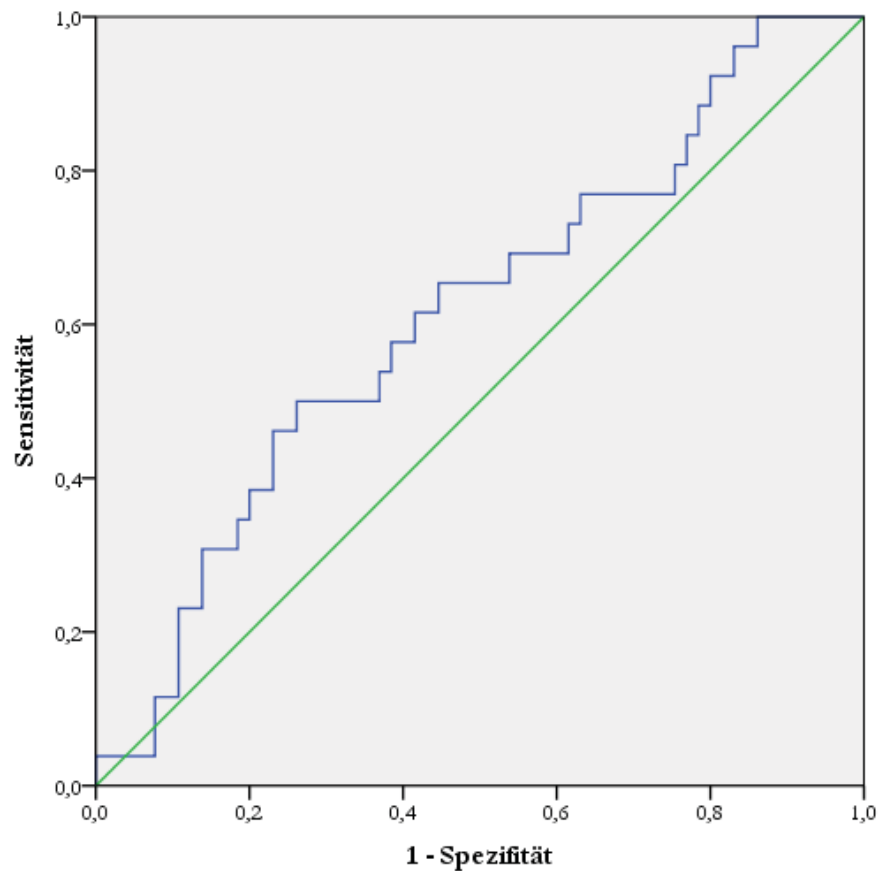


Abb.18: **ROC-Kurve für das Screening auf klinisch signifikante Prostatakarzinome Prostatakarzinome nach Studiendefinition anhand der PSADT** ROC=Receiver Operating Characteristics

Algorithmus B1:

Der Algorithmus B1 (Kapitel 2.3.2.2) konnte mit keinem der gewählten PSADT-Schwellenwerte ein klinisch signifikantes Prostatakarzinom nach Studiendefinition mit entsprechender Sicherheit vorhersagen (Tabelle 29).

PSADT-Schwellenwert	Chi-Quadrat	Signifikanz (p)
6 Jahre	0,260	0,610
7 Jahre	0,404	0,525
8 Jahre	0,404	0,525
9 Jahre	0,197	0,625
10 Jahre	1,110	0,292

Tabelle 29: **Algorithmus B1 - Signifikanz einzelner PSADT-Schwellenwerte beim Screening auf klinisch signifikante Prostatakarzinome nach Studiendefinition**

Algorithmus B2:

Auch der Algorithmus B2 vermag nicht zwischen klinisch signifikanten und klinisch insignifikanten Prostatakarzinomen nach Studiendefinition zu unterscheiden. Mit keinem PSADT-Schwellenwert konnte statistische Signifikanz erreicht werden (Tabelle 30).

PSADT-Schwellenwert	Chi-Quadrat	Signifikanz (p)
6 Jahre	1,292	0,256
7 Jahre	0,665	0,415
8 Jahre	0,443	0,506
9 Jahre	0,918	0,338
10 Jahre	0,647	0,421

Tabelle 30: **Algorithmus B2 - Signifikanz einzelner PSADT-Schwellenwerte beim Screening auf klinisch signifikante Prostatakarzinome nach Studiendefinition**

Algorithmus B3:

Abschließend konnten auch unter Verwendung des Algorithmus B3 und Variation des PSADT-Schwellenwertes nicht statistisch signifikant vorhergesagt werden, ob in der PSB ein klinisch signifikantes Prostatakarzinom nach Studiendefinition vorliegt oder nicht (Tabelle 31).

PSADT-Schwellenwert	Chi-Quadrat	Signifikanz (p)
6 Jahre	0,960	0,327
7 Jahre	1,110	0,292
8 Jahre	1,110	0,292
9 Jahre	0,758	0,384
10 Jahre	0,758	0,384

Tabelle 31: **Algorithmus B3 - Signifikanz einzelner PSADT-Schwellenwerte beim Screening auf klinisch signifikante Prostatakarzinome nach Studiendefinition**

4 Diskussion

Im folgenden Kapitel soll unsere Studie hinsichtlich ihres Aufbaus und ihrer Ergebnisse mit Studien zu ähnlicher Thematik verglichen werden und somit in den aktuellen wissenschaftlichen Kontext gestellt werden. Anhand der in den vorherigen Kapiteln verwendeten Gliederung werden in den Unterpunkten des folgenden Kapitels jeweils Stärken und Schwachpunkte unserer Studie herausgearbeitet sowie Gemeinsamkeiten und Unterschiede zu anderen Studien aufgezeigt.

4.1 Studiendesign

Nach den Kriterien des Oxford Center of Evidence based Medicine (CEBM) entspricht unsere Studie – eine explorative, retrospektive Kohortenstudie mit gutem Referenzstandard – einer Studie des Evidenzlevels 2 B (Phillips et al., 2008). Der Evidenzgrad einer Studie muss bei der Interpretation und beim Vergleich mit anderen Studienergebnissen immer berücksichtigt werden (Müllner, 2005). Mit welcher Güte PSA-Kinetiken die Indikation zur PSB stellen, wurde auch in anderen Studien erörtert, die zum Teil ein höheres Evidenzlevel (Schröder et al., 2008, Vickers et al., 2009) und zum Teil ein vergleichbares bzw. niedrigeres Evidenzlevel aufweisen (Spurgeon et al., 2007, Ng et al., 2009, Nowroozi et al., 2009) (siehe auch Tabelle 32).

Mit insgesamt 103 Teilnehmern verfügt unsere Kohorte nicht über die Anzahl an Patienten wie andere groß angelegte Studien zu verwandten Themen (Eggerer et al., 2008, Schröder et al., 2008). Neben eingeschränkten Ressourcen sind dafür strenge Auswahlkriterien verantwortlich, welche mehr als die Hälfte der Patienten im Vorhinein ausschloss (Kapitel 2.1). Hauptsächlich wurden Patienten nicht in die Kohorte aufgenommen, weil sie weniger als drei PSA-Messungen vor der Prostatastanzbiopsie aufwiesen. Patienten, die sich mit initial stark erhöhten PSA-Werten oder abnormen Befunden in der DRU bzw. TRUS präsentierten, entschieden sich meist nach spätestens zwei PSA-Bestimmung für eine Prostatastanzbiopsie und standen somit für die Kohorte nicht mehr zur Verfügung. Daraus resultierte eine ungewollte Vorauswahl des Patientenguts, dahingehend dass vor allem Patienten mit nicht eindeutigen Karzinomverdacht in die Kohorte aufgenommen wurden. Die Hypothese, dass PSA-Kinetiken verlässlicher als absolute PSA-Schwellenwerte die Indikation zur PSB stellen, wurde daher an Patienten überprüft, bei denen die Entscheidung für oder gegen eine PSB auf Grund des selektierten Patientenguts *a priori* schwerer zu treffen war.

4.2 Prostata Spezifisches Antigen

4.2.1 Variabilität der PSA-Messungen

Intraindividuelle Schwankungen von konsekutiven PSA-Messungen erschweren die Verwendung von PSA und PSA-Kinetiken als Screening Methode (Bunting et al., 2002, Price et al., 2001). Sie stellen einen bedeutenden Nachteil des PSA-Wertes dar und haben dazu geführt, dass einige Autoren schon vor knapp zehn Jahren eine Abkehr vom PSA-Wert in der Prostatakrebsfrüherkennung forderten (Stamey, 2004). Zwar konnte ein Großteil der präanalytischen Einflussfaktoren auf den PSA-Wert in unserer Studie ausgeschlossen werden (Kapitel 2.2.2) und entsprechend den Leitlinien wurde nur eine Labormethode zur PSA-Bestimmung verwendet (Arlen et al., 2008), jedoch verbleibt eine durchschnittliche Unsicherheit von etwa $\pm 25\%$ für jede einzelne PSA-Messung. Diese Unsicherheit errechnet sich aus durchschnittlichen biologischen Schwankungen des PSA-Wertes von ca. 20% (Sölétormos et al., 2005) plus 4,1% Messungenauigkeit des verwendeten Assays (Kapitel 2.2.1). Diese Schwankungen des PSA-Wertes sind weder durch ein ausgefeiltes Studiendesign noch durch rechnerische Ansätze auszuschalten und sind vermutlich mitverantwortlich für die mäßige Treffsicherheit der entwickelten Algorithmen, wenn diese die Indikation zur PSB stellen sollen.

4.2.2 Anzahl und Zeitpunkte der PSA-Messungen

In vorhergehenden Studien zu verwandter Thematik wurden zum Teil nur zwei PSA-Messungen zur Berechnung der PSA-Kinetiken vorausgesetzt (Nowroozi et al., 2009, Loeb et al., 2008, Spurgeon et al., 2007). Mittlerweile werden unter anderem in der Leitlinie zur Berechnung von PSA-Kinetiken mindestens drei PSA-Messungen gefordert (Arlen et al., 2008, Ponholzer et al., 2010). Der Grund dafür ist, dass die Aussagekraft von PSA-Kinetiken von der Anzahl der PSA-Messpunkte abhängt. Je mehr PSA-Messungen zur Verfügung stehen umso verlässlicher können PSA-Kinetiken bewertet werden (Sengupta et al., 2008). Mit durchschnittlich 6,3 PSA-Bestimmungen pro Patient (Minimum = 3 Maximum = 18) – erhoben über einen Beobachtungszeitraum von durchschnittlich 3,5 Jahren (Minimum = 0,3 Maximum = 7,6) – entspricht unsere Kohorte den Forderungen der Leitlinien und hebt sich qualitativ von anderen Studien zum Thema PSA-Kinetiken als Indikationsstellung zur PSB (Spurgeon et al., 2007, Nowroozi et al., 2009, Loeb et al., 2008) ab. Es muss jedoch berücksichtigt werden, dass bei sechs Patienten PSA-Werte nur über einen Zeitraum von weniger als sechs Monaten analysiert wurden. Zudem zeigen sich große

Schwankungen der Beobachtungsdauer der PSA-Messungen innerhalb der Kohorte. Beide Punkte schränken die Aussagekraft unserer Studie ein.

4.2.3 Einfluss der medikamentösen Therapie auf den PSA-Wert

Ein entscheidender Schwachpunkt unserer Studie liegt in der Kontamination einzelner PSA-Messungen durch vorhergehende antibiotische Therapie. Bisher ist hauptsächlich der Einfluss von Chinolon-Antibiotika auf den PSA-Wert nachgewiesen (Schaeffer et al., 2005, Stopiglia et al., 2010, Bulbul et al., 2002, Kobayashi et al., 2008), jedoch liegt die Vermutung nahe, dass auch andere Antibiotika bei einigen Patienten den PSA-Wert sinken lassen können. Die Reduktion des PSA-Wertes durch Antibiotikagabe lässt sich durch die hohe Prävalenz der symptomatischen bzw. asymptomatischen Prostatitis erklären (Krieger et al., 2003, Krieger et al., 2008). Fast die Hälfte der Männer mit einem erhöhten PSA-Wert (2,5-10 ng/ml) im Alter von 55-70 Jahren leiden unter einer asymptomatischen Prostatitis der NIH-Klassifikation Typ IV (Krieger et al., 1999). Etwa jeder zweite dieser Patienten reagiert dabei auf Antibiotikagabe mit sinkenden PSA-Werten (Stopiglia et al., 2010).

In unserer Studie waren 115 von 644 PSA-Messungen (17,9%) durch Antibiotikagabe kontaminiert. Eine Kontamination der PSA-Messung lag dann vor, wenn innerhalb der letzten sechs Wochen vor der PSA-Bestimmung über einen längeren Zeitraum ein Antibiotika eingenommen wurde, für das in Studien ein Einfluss auf den PSA-Wertes nachgewiesen wurde. Insbesondere für eine Analyse der PSA-Werte über einen längeren Zeitraum stellt diese Kontamination ein Problem dar: Jeder durch Antibiotikagabe verminderte PSA-Wert verzerrt die natürliche Entwicklung der PSA-Werte und somit die Güte der einzelnen Algorithmen zur Biopsieindikation. Zusätzlich zu dieser nachgewiesenen Kontamination der PSA-Werte durch Antibiotika schränken weitere Dauermedikationen der Patienten die Aussagekraft unserer Studie ein. Sowohl Thiazid-Diuretika, Statine als auch Nichtsteroidale Antiphlogistika scheinen einen Einfluss auf den PSA-Wert zu erzielen (Chang et al., 2010, Mener, 2010). Ob Teile unseres Patientenkollektivs diese Medikamente regelmäßig einnahmen, konnte nicht eruiert werden. Inwieweit andere Studien zum Thema „PSA-Kinetiken als Indikationsstellung zur PSB“ eine Kontamination der PSA-Werte durch medikamentöse Therapie berücksichtigten, konnte auf Grund fehlender Angaben in den Publikationen ebenfalls nicht ermittelt werden.

4.3 PSA-Kinetiken

Als vor etwa 20 Jahren erstmalig eine Reihe von PSA-Werten über einen längeren Zeitraum ausgewertet wurde, bestand die Hoffnung, dadurch die Spezifität des PSA-Wertes zu verbessern (Carter et al., 1992). Heutzutage werden PSA-Kinetiken für die „active surveillance“ Therapiestrategie (Ramírez et al., 2008, Klotz, 2005b, Roemeling et al., 2007, van den Bergh et al., 2008, Bangma et al., 2012) und für die Nachsorge nach primär kurativer Therapie des Prostatakarzinoms (Arlen et al., 2008) immer öfter verwendet. Doch für die Verwendung von PSA-Kinetiken in der Früherkennung des Prostatakarzinoms kann bisher keine eindeutige Empfehlung ausgesprochen werden (Vickers et al., 2009, Wirth et al., 2009, Fitzpatrick et al., 2009, Wirth et al., 2011). Auf Grund von methodischen Schwächen vorhergehender Studien (Vickers et al., 2009, Begg and Greenes, 1983) und fehlender Standardisierung in der Berechnung von PSA-Kinetiken (Arlen et al., 2008) kann zur Zeit nicht sicher beurteilt werden, welcher Nutzen den PSA-Kinetiken in der Prostatakrebsfrüherkennung zu Teil kommt.

Betrachtet man den Umgang mit PSA-Kinetiken, so hebt sich unsere Studie in drei Punkten von Studien zu verwandter Thematik ab: Erstens orientiert sie sich strikt an den offiziellen Empfehlungen zur Berechnung von PSA-Kinetiken (Arlen et al., 2008). Zweitens wurden PSA-Kinetiken in größerem Maße explorativ analysiert als bei anderen Studien zu ähnlicher Thematik (Spurgeon et al., 2007, Nowroozi et al., 2009, Ng et al., 2009, Thompson et al., 2006). So wurden insgesamt vier verschiedene Algorithmen zur Analyse von PSA-Kinetiken getestet, die sich an aktuellen Erkenntnissen zur Entwicklung von PSA-Werten beim Prostatakarzinom orientieren (Vollmer, 2010). Drittens konnten die Indikationsstellungen zur PSB mittels PSA-Kinetiken an Surrogatendpunkten getestet werden, die in ihren Eigenschaften mehrfach variiert wurden. So wurden zur Definition der Surrogatendpunkte sowohl die Ergebnisse der Prostatastanzbiopsie als auch die Ergebnisse der Bild-DNA-Zytometrie herangezogen und zum Teil miteinander kombiniert.

In Tabelle 32 findet sich ein Vergleich aller oben erwähnten Studien zur Verwendung von PSA-Kinetiken als Indikation zur PSB. Es werden jeweils der Studientyp, die Anzahl der Patienten und PSA-Messungen pro Patient, die untersuchten PSA-Kinetiken sowie die primären Studienendpunkte aufgelistet.

Autor	Studientyp (Evidenzlevel)	Anzahl Patienten	Mind. Anzahl PSA-Werte	Untersuchte PSA-Kinetiken	Primärer Studienendpunkt
(Vickers et al., 2009)	systematische Übersichtsarbeit (2a)	87 Studien	k.A.	PSAV PSADT	PSB
(Schröder et al., 2008)	prospektive Kohortenstudie	588	2	PSAV	PSB
(Loeb et al., 2008)	prospektive Kohortenstudie	681	2	PSAV PSADT	Follow-up
(Thompson et al., 2006)	Daten aus randomisierter Studie	5531	2-3	PSAV	PSB
(Spurgeon et al., 2007)	retrospektive Datenanalyse	1699	2	PSAV PSADT	PSB
(Eggner et al., 2008)	retrospektive Datenanalyse	1851	2	PSAV	PSB
(Ng et al., 2009)	Fallserie (4)	199	3	PSAV PSADT	Zweite PSB
(Nowroozi et al., 2009)	retrospektive Kohortenstudie (2B)	460	2	PSADT	PSB
(Ciatto et al., 2008)	k.A.	355	k.A.	PSADT	PSB
Unsere Studie	retrospektive Kohortenstudie (2b)	103	3	PSADT Neue Algorithmen	PSB Bild-DNA-Zytometrie

Tabelle 32: **Vergleich von Studien zur Verwendung von PSA-Kinetiken als Indikation zur Prostatastanzbiopsie** PSADT: PSA-Verdopplungszeit PSAV: PSA-Anstiegsgeschwindigkeit PSB: Prostatastanzbiopsie k.A.: keine Angabe

4.4 Prostatastanzbiopsie

4.4.1 Qualität der Prostatastanzbiopsie und T-Stadienerhebung

Die Prostatastanzbiopsie (PSB) wird zur Sicherung der Verdachtsdiagnose Prostatakarzinom gemeinhin in deutschen und internationalen Leitlinien empfohlen, wobei sowohl ein erhöhter PSA-Wert als auch ein auffälliger Befund in der DRU oder der TRUS eine PSB rechtfertigen kann (Wirth et al., 2009, Thompson and Brantley, 2007, Baker and Graham, 2008, Wolf et al., 2010, Brooks et al., 2010, de Reijke et al., 2007, Heidenreich et al., 2008, Wirth et al., 2011). Die histopathologischen Befunde der PSB dienten in unserer Studie als Surrogatendpunkte, an denen die Indikationsstellung zur PSB überprüft wurde. Die Aussagekraft der PSB ist dabei in großem Maß davon abhängig, wie viele Stenzen bei der Probengewinnung entnommen werden (Eichler et al., 2006, Djavan and Margreiter, 2007, De-longchamps et al., 2009). So wurde in einer systematischen Metaanalyse mit über 20.000 Patienten signifikant nachgewiesen, dass mehr Prostatakarzinome an Prostatastanzbiopsien detektiert werden können, wenn statt nur sechs zwölf Stenzen pro Biopsie entnommen werden, ohne dass zusätzliche Komplikationen auftreten (Eichler et al., 2006). In unserer Studie wurden bei knapp der Hälfte der Prostatastanzbiopsien mindestens zwölf Stenzen entnommen. Im Mittel wurden 10,5 Stenzen entnommen und in etwa 10% der Fälle das Minimum von sechs Stenzen. Somit entsprechen die Standards unserer Studie nicht dem Optimum von mindestens zwölf Stenzen pro bioptischer Sitzung. Jedoch kann angeführt werden, dass knapp 40% unserer Patienten mehr als eine Sitzung durchführen ließen, da bei einem Großteil dieser Patienten trotz initial negativem Biopsieergebnis weiterhin der Verdacht auf ein Prostatakarzinom bestand.

Zusätzlich wird die Qualität unserer Studie dadurch gemindert, dass die T-Stadien der Prostatakarzinome nicht einheitlich erhoben wurden, obwohl sie laut der Definition nach Wirth (Wirth et al., 2011) einen entscheidenden Einfluss darauf haben, ob ein Prostatakarzinom als klinisch insignifikant angesehen werden kann oder nicht. Die T-Stadien konnten in etwa der Hälfte der Fälle an Prostatektomiepräparaten ermittelt werden, wodurch eine verhältnismäßig hohe diagnostische Sicherheit gewährleistet war (C-Faktor 4). Die T-Stadienerhebung der restlichen Fälle erfolgte anhand klinischer Untersuchung, Prostatastanzbiopsie und zum Teil bildgebender Verfahren, wobei alle Verfahren mit einer niedrigeren diagnostischen Sicherheit verbunden sind (C-Faktor 1-2). In den anderen Definitionen des klinisch insignifikanten Prostatakarzinoms von Epstein bzw. Helpap und Egevad

sind die T-Stadien jedoch nicht Teil der Definition (Epstein et al., 1994, Helpap and Egevad, 2009) und somit sind diese Definitionen nicht von der beschriebenen diagnostischen Unsicherheit – auf Grund einer uneinheitlichen T-Stadienerhebung – betroffen.

4.4.2 Gleason Score

Auch über 40 Jahre nach seiner Einführung (Gleason, 1966) gilt der Gleason Score weiterhin als einer der wichtigsten prognostischen Parameter des Prostatakarzinoms (Epstein, 2010). In der letzten Zeit erhalten abwartende Therapiestrategien wie die „active surveillance“ immer mehr Einzug in deutsche und internationale Leitlinien zum Prostatakarzinom, wobei dem Gleason Score bei der Auswahl des geeigneten Patientenkollektivs eine entscheidende Rolle zukommt (Wirth et al., 2011, Heidenreich et al., 2011, Baker and Graham, 2008, Thompson and Brantley, 2007, Bul et al., 2013). Doch es gibt Fallstricke bei der Verwendung dieses Scores (Burchardt et al., 2008): So lässt sich zum einem der Gleason Scores nur mäßig reproduzieren und zum andern werden nicht selten histologische Präparate der Prostatastanziobiopsie im Vergleich zu Prostatektomiepräparaten mit dem Gleason Score untergradiert (Helpap and Egevad, 2007). Weiterhin muss die Heterogenität des Gleason Scores vor allem auch bei multifokalen Tumoren berücksichtigt werden (Arora et al., 2004). Im Folgenden sollen diese drei Punkte unter Berücksichtigung aktueller Literatur näher beleuchtet werden und deren jeweilige Relevanz für unsere Studie aufgezeigt werden.

Eine bedeutende qualitative Einschränkung erfährt unsere Studie – ebenso wie vorangegangene Studien – durch die allgemein bekannte Subjektivität der Bestimmung des Gleason Scores und der damit verbundenen begrenzten Reproduzierbarkeit desselbigen (Montironi et al., 2005b). Der Urheber des Gleason Scores selbst schreibt hierzu: „I am very aware that a grading system stands or falls on its performance by others... As part of the art of histopathology, grading undoubtedly will not be performed equally well by all those who attempt it.“ (Gleason, 1992). Viele rezente Studien bestätigen die allenfalls mäßige Reproduzierbarkeit des Gleason Scores sowohl zwischen unterschiedlichen Pathologen, der so genannten „interobserver reproducibility“ (De la Taille et al., 2003, Burchardt et al., 2008, Glaessgen et al., 2004, Griffiths et al., 2006, Ozdamar et al., 1996), als auch im Falle einer verblindeten doppelten Gradierung durch ein- und denselben Pathologen, gemeinhin bezeichnet als „intraobserver reproducibility“ (Melia et al., 2006, Cintra and Billis, 1991, Ozdamar et al., 1996). Eine häufig zitierte Studie wurde zum Beispiel im Jahr 2001 von Allsbrook et al. initiiert, um die „interobserver reproducibility“ des Gleason Score unter

Pathologen sowie unter spezialisierten Uropathologen zu ermitteln (Allsbrook et al., 2001b, Allsbrook et al., 2001a). Im ersten Teil der Studie wurden von den Studienleitern 46 Schnitte ausgewählt, diesen ein Gleason Score zugewiesen und die Objektträger an neun erfahrenen Uropathologen versendet, um diese Schnitte ein zweites Mal nach dem Gleason Score gradieren zu lassen. Insgesamt lagen somit für jeden Schnitt von zehn Uropathologen die vergebenen Gleason Scores vor und konnten dahingehend untersucht werden, inwieweit sich die jeweiligen Gradierungen untereinander gleichen bzw. unterscheiden. Als Maß für die Übereinstimmung wurde der kappa Koeffizient (κ) bestimmt, wobei ein Wert von $\kappa = 0$ überhaupt keine und ein Wert von $\kappa = 1$ volle Übereinstimmung bedeutet. Unter der Expertengruppe herrschte – bei Vergleich aller Uropathologen untereinander – eine durchschnittliche Übereinstimmung des Gleason Score von $\kappa = 0,56 - 0,70$. Wurde der Gleason Score in Gruppen eingeteilt (2-4, 5-6, 7, 8-10), so ergab sich eine durchschnittliche Übereinstimmung der Expertengradierungen von $\kappa = 0,47 - 0,64$. Im zweiten Teil der Studie wurden von den 46 Schnitten insgesamt 38 „Konsensus Fälle“ ermittelt und in Übereinstimmung von mindestens sieben der zehn Uropathologen in eine der oben genannten Gleason Score Gruppen eingeteilt. Diese 38 Konsensus Fälle wurden an 41 Pathologen (ohne Spezialisierung in Uropathologie) in Georgia, USA, versendet und von denselben ein weiteres Mal gradiert. Es resultierte eine durchschnittliche Übereinstimmung mit den Expertengradierungen von $\kappa = 0,435$, welche in der Publikation als „gerade noch mittelmäßig“ kommentiert wird (Allsbrook et al., 2001b).

Als Reaktion auf die bestehenden Schwachpunkte des Gleason Scores wurde dieser im Jahr 2005 unter Mitarbeit von über 70 weltweit anerkannten Spezialisten überarbeitet und es wurden modifizierte Gleason Score Kriterien vorgestellt (Epstein et al., 2005). Es war das erklärte Ziel dieser Konsensus Konferenz, unter anderem die Reproduzierbarkeit des Gleason Scores zu verbessern (Helpap and Egevad, 2007). Ob sich durch die modifizierten Gleason Score Kriterien Veränderungen zum Beispiel in Hinblick auf dessen Reproduzierbarkeit ergeben haben, ist schwer zu beurteilen. Viele Pathologen hatten bereits vor der Konsensus Konferenz eigenständig die Kriterien des Gleason Scores modifiziert und somit kann bei Vergleichsstudien oft nicht klar zwischen dem originären und modifizierten Gleason Score unterschieden werden (Epstein, 2010). Dennoch wollten Helpap und Egevad im Jahre 2007 beobachtet haben, dass sich die Reproduzierbarkeit des modifizierten Gleason Scores im Vergleich zu seinem Vorgänger verbessert hat (Helpap and Egevad, 2007). Sie berufen sich dabei unter anderem auf eine Studie von Melia et al. aus dem Jahr 2006. Bei dieser Studie wurden die Gradierungen von neun erfahrenen Pathologen verglichen und

eine durchschnittliche „interobserver reproducibility“ des modifizierten Gleason Scores von 78% ermittelt (Melia et al., 2006). Allerdings können vor allem zwei Punkte an dieser Studie kritisiert werden: Zum einen wurde nicht eine exakte Konkordanz der Gleason Scores verlangt, sondern lediglich eine übereinstimmende Einordnung in die Gruppen Gleason Score 2-4, 5-6, 7 und 8-10, was auch in späteren Publikationen kritisch angemerkt wird (Egevad et al., 2012). Zum anderen erfolgten die Gradierungen in sechs Rundläufen, wobei nach jedem Rundlauf eine Sitzung abgehalten wurde, bei der die aktuellen Ergebnisse und die strittigen Fälle diskutiert wurden. Man würde vermuten, dass sich die Reproduzierbarkeit des Gleason Scores durch diese Sitzungen im weiteren Studienverlauf verbessert hätte, doch wider Erwarten konnte dies nicht beobachtet werden. Die Autoren kamen zu dem Schluss, dass „weiterhin einige Aspekte des Gleason Scores schwierig anzuwenden sind“ (Melia et al., 2006). Außerdem stufen die Autoren selbst ihre Ergebnisse zur Reproduzierbarkeit des Gleason Scores als „mittelmäßig und vergleichbar zu anderen Studien“ ein (Melia et al., 2006) – eine Aussage, die sich mit der von Helpap und Egevad beschriebenen verbesserten Reproduzierbarkeit des modifizierten Gleason Scores (Helpap and Egevad, 2007), nicht in Übereinstimmung bringen lässt.

Eine Studie, die systematisch die Reproduzierbarkeit des originären mit der des modifizierten Gleason Scores vergleicht, wurde im Jahr 2007 von Veloso et al. publiziert. Die Autoren konnten dabei keine Überlegenheit der modifizierten Gleason Scores Kriterien feststellen: Weder zeichnete sich der modifizierte Gleason Score durch eine verbesserte „interobserver reproducibility“ noch durch eine größere Übereinstimmung von Gleason Score der PSB und Gleason Score am Prostatektomiepräparat aus (Veloso et al., 2007). Es muss allerdings kritisch angemerkt werden, dass bei dieser Studie in maximal 8% der Fälle dritte Gleason Muster gefunden wurden, welche nach modifizierten Kriterien für den Gesamt-Gleason Score entscheidend sind (Epstein et al., 2005). Jonathan I. Epstein selbst äußerte diese Kritik in Form eines redaktionellen Kommentars zu der oben genannten Publikation (Veloso et al., 2007) und betonte, dass gerade dritte Gleason Muster von prognostischer Bedeutung sein können, wie zum Beispiel ein Studie von Patel et al. aufzeigte (Patel et al., 2007).

In einer weiteren aktuellen Studie mit großer Fallzahl untersuchten Burchardt et al. im Jahr 2008, inwieweit die Gleason Score Gradierungen von 29 deutschen Pathologen mit den Gradierungen des renommierten Pathologen Jonathan I. Epstein übereinstimmen (Burchardt et al., 2008). Insgesamt wurden 331 Schnitte als Tissue Microarray (TMA) auf einer CD-ROM zur Gradierung an alle teilnehmenden Pathologen aus universitären und

nichtuniversitären Kliniken sowie privaten Praxen versendet. Leider wird in der Studie nicht angegeben, ob die teilnehmenden Pathologen nach den originären oder nach den modifizierten Gleason Score Kriterien gradiert hatten. Eine exakte Übereinstimmung der Gleason Score Gradierungen konnte im Durchschnitt in nur 46% der Fälle erreicht werden (interobserver reproducibility). Im Hinblick auf die therapielevanten Gradierungen (Gleason Score <7 , 7 , >7) erzielten die 29 deutschen Pathologen eine Reproduzierbarkeit von 68%. Weiterhin zeigte sich, dass die Hälfte der Pathologen mindestens einen Schnitt mit vier bis fünf Gleason Score Punkten untergradierten und 10% der Pathologen mindestens einen Schnitt mit vier bis fünf Punkten übergradierten. Die Autoren der Studie bezeichnen ihre Ergebnisse als unbefriedigend und regen eine systematische Aus- und Weiterbildung aller Pathologen an, die im Rahmen ihrer Tätigkeit den Gleason Score verwenden (Burchardt et al., 2008). Die Ergebnisse der Studie von Burchardt et al. sind für unsere Studie in besonderem Maße relevant, da aufgezeigt wird, wie akkurat diejenigen Pathologen mit dem Gleason Score arbeiten, die im klinischen Alltag mit ihren Gradierungen zur Therapiefindung für die an Prostatakrebs erkrankten Männer in Deutschland beitragen. In unserer Studie werden unter anderem Gruppen von Patienten mit potentiell klinisch insignifikantem Prostatakarzinom getrennt analysiert und mit anderen Patientengruppen in der Auswertung verglichen. Da bei allen in unserer Studie verwendeten Definitionen des klinisch insignifikanten Prostatakarzinoms der Gleason Score einen entscheidenden Parameter darstellt (Epstein et al., 1994, Epstein et al., 1998, Helpap and Egevad, 2009, Wirth et al., 2009, Wirth et al., 2011), erfährt unsere Studie eine bedeutende Qualitätseinbuße durch die allenfalls mäßige Reproduzierbarkeit des Gleason Scores.

Durch die Einführung der modifizierten Kriterien sollte der Gleason Score nicht nur reproduzierbarer werden, sondern auch die Gradierungen an Präparaten der PSB mit den Gradierungen an Prostatektomiepräparaten häufiger übereinstimmen (Helpap and Egevad, 2007). Eine exakte Übereinstimmung der jeweiligen Gleason Scores konnte vor Einführung der modifizierten Gleason Score Kriterien nach einer Meta-Analyse von 18 Studien nur in 43% der Fälle und eine Übereinstimmung mit ± 1 Gleason Score Einheit in 77% der Fälle erreicht werden (Montironi et al., 2005a). Eine Diskrepanz der Gradierungen tritt laut Beobachtungen zumeist dann auf, wenn ein höhergradiges Gleason Muster im Prostatektomiepräparat gefunden wird, welches zuvor in der PSB noch nicht nachgewiesen werden konnte (Egevad et al., 2012). Aktuelle Untersuchungen zeigen, dass in etwa einem Viertel der Prostatastanzbiopsien, die ein Gleason Score von fünf oder sechs aufweisen,

eine histopathologische Untersuchung des Prostatektomiepräparates einen Gleason Score von sieben oder höher ergibt (Epstein et al., 2012). Nach Einführung der modifizierten Kriterien zeigte sich in einigen Studien eine erhöhte Konkordanz, wenn die Gleason Scores an Präparaten der PSB mit denen an Prostatektomiepräparaten verglichen wurden. So konnten zum Beispiel Helpap und Egevad im Jahr 2006 nachweisen, dass sich die durchschnittliche Übereinstimmung der Gleason Scores von 58% auf 72% verbessert hatte (Helpap and Egevad, 2006). Andere Studien konnten diese Verbesserung hingegen nicht beobachten (Veloso et al., 2007, Uemura et al., 2009, Zareba et al., 2009). Für unsere Studie stellt die potentielle Diskrepanz der Gleason Score Gradierungen zwischen PSB-Präparaten und Prostatektomiepräparaten einen Unsicherheitsfaktor dar, weil sich nur ein kleiner Teil unserer Patienten einer RPE unterzogen haben und somit nur der Gleason Score der PSB für das gesamte Kollektiv vorlag.

Einige Studien haben bereits gezeigt, dass das Prostatakarzinom nicht selten multifokal auftritt (Djavan et al., 1999, Chen et al., 2000). Da diese verschiedenen Herde sich zum Teil histomorphologisch unterscheiden, resultiert daraus eine Heterogenität der Gleason Score Muster der jeweiligen Herde. Arora et al. untersuchten im Jahr 2004 diese Heterogenität des Gleason Scores genauer und kamen zu der Erkenntnis, dass mit steigendem Tumorumfolum die Anzahl der Tumorfoki zunahm. Weiterhin wurde beobachtet, dass je mehr Tumorfoki gefunden wurden, desto seltener stimmten die Gleason Muster der verschiedenen Foki mit dem Gleason Muster des Indextumors überein, welcher als der größte Tumorfokus im Prostatektomiepräparat definiert war (Arora et al., 2004). Somit können vor allem beim multifokalen Prostatakarzinom mehrere Herde mit unterschiedlichen Gleason Mustern vorliegen, was man auch als Heterogenität des Gleason Scores bezeichnet. Bei den im Jahr 2005 veröffentlichten modifizierten Gleason Score Kriterien wurden diese Erkenntnisse mitberücksichtigt: So existieren mittlerweile getrennte Gradierungen für Prostatektomiepräparate und die Präparate der PSB, wobei bei Präparaten der PSB das am meisten maligne Gleason Score Muster bei der Vergabe des Gesamt Gleason Scores einbezogen werden muss und sei der Herd auch noch so klein (Epstein et al., 2005, Epstein, 2010). Als Begleiteffekt kann beobachtet werden, dass seit der Einführung der modifizierten Gleason Score Kriterien vermehrt höhergradige Scores vergeben werden (Billis et al., 2008, Berney et al., 2007, Delahunt et al., 2010). Es ist offensichtlich, dass sich unterschiedliche therapeutische Konsequenzen ergeben, je nachdem nach welcher Definition des Gleason Score gradiert wird, weil Therapiestrategien wie „active surveillance“ meist nur denjenigen Patien-

ten angeboten werden, die einen Gleason Score von kleiner oder gleich sechs aufweisen (Klotz, 2005a, Bangma et al., 2012). Die Modifikation der Gleason Score Kriterien könnte somit durch vermehrte Vergabe höhergradiger Scores dafür sorgen, dass einigen Patienten die Möglichkeit einer schonenden und abwartenden Therapiemöglichkeit genommen wird, wobei dieser Effekt bisher noch nicht untersucht wurde. Es konnte jedoch schon vor Veröffentlichung der modifizierten Gleason Score – unter anderem durch Empfehlungen bei Präparaten der PSB den Gleason Score 2-4 nicht mehr zu vergeben (Epstein, 2000) – der Trend ausgemacht werden Prostatastanzbiopsien höher zu gradieren (Smith et al., 2002). Wichtig ist in diesem Zusammenhang anzumerken, dass dadurch eine scheinbare Verbesserung der Gleason Score abhängigen Mortalität beim Prostatakarzinom resultiert, die nicht durch verbesserte Früherkennung oder Therapie zustande kommt, sondern zum Teil oder vollständig durch ein statistisches Artefakt bedingt ist (Albertsen et al., 2005b). Dieses so genannte Will Roger Phänomen wurde zum Beispiel auch schon beim Bronchialkarzinom beobachtet, nachdem durch neue diagnostische Möglichkeiten einigen Patienten ein höheres Tumorstadium zugewiesen wurde (Feinstein et al., 1985). In Zukunft sollten daher – gerade weil durch den modifizierten Gleason Score nun vermehrt höhergradige Scores vergeben werden – Publikationen, die über vermeintlich verbesserte Gleason Score abhängige Mortalitätsraten beim Prostatakarzinom berichten, immer unter Berücksichtigung des Will Roger Phänomens betrachtet werden (Albertsen et al., 2005b).

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass der Gleason Score auch nach seiner Modifikation im Jahr 2005 klinisch relevante Schwachpunkte aufweist. Selbst unter ausgewiesenen Experten besteht immer noch Unsicherheit, wenn es darum geht, die therapeutisch relevanten Gleason Score Muster zu unterscheiden (Egevad et al., 2011). So verwundert es nicht, dass weiterhin von renommierten Autoren Verbesserungsvorschläge formuliert werden: Vis et al. fordern zum Beispiel zusätzlich zum Gleason Score den Anteil an hochgradigem Prostatakarzinomgewebe anzugeben, da dieser Anteil in ihrer Studie eine stärkere prognostische Aussagekraft auswies als der Gleason Score (Vis et al., 2007). Weiterhin wird angeregt, bestehende Definitionen einzelner Muster des Gleason Scores zu konkretisieren (Helpap et al., 2012) sowie den Gleason Scores mit zythopathologischen Kriterien zu kombinieren, um dessen Genauigkeit zu verbessern (Helpap and Kollermann, 2012). Dass der Gleason Score trotz seiner Schwachpunkte immer noch weltweit breite Anwendung findet, ist wohl unter anderem auf seine einfache Handhabung zurückzuführen (Helpap and Kollermann, 2012). Gerade weil der Gleason Score immer noch als einer

der wichtigsten prognostischen Parameter beim Prostatakarzinom gilt (Epstein, 2010) und in deutschen und internationalen Leitlinien zur Therapiefindung angewendet wird, ist es umso wichtiger, auf seine Schwächen hinzuweisen und in Zukunft objektivere Parameter zur Malignitätsgradierung des Prostatakarzinoms zu etablieren (Vis et al., 2007).

4.4.3 Nebenwirkungen und Komplikationen der Prostatastanzbiopsie

Mit dem Versuch, anhand von PSA-Kinetiken die Indikation zur Prostatastanzbiopsie möglichst spezifisch zu stellen, ist der Wunsch verbunden, möglichst vielen Männern eine aus medizinischer Sicht nicht notwendige PSB zu ersparen. Denn wie einige Studien gezeigt haben, kann eine PSB mit nicht unerheblichen Nebenwirkungen und Komplikationen einhergehen. So konnten Miller et al. insgesamt eine – von der Technik unabhängige – Komplikationsrate von etwa 20% ermitteln (Miller et al., 2005). Typische ungefährliche Komplikationen sind zum Beispiel länger als drei Tage persistierende Hämaturie, Hämatospermie und rektaler Blutabgang (Passavanti et al., 2002, Raaijmakers et al., 2002). Es können jedoch auch weitaus folgenschwerere Komplikationen aus einer PSB resultieren. So ist in einem Fallbericht eine Sepsis-assoziierte Erblindung eines immunsupprimierten Patienten nach PSB beschrieben (Heinzelbecker et al., 2009). Neben Ausmaß und Häufigkeit möglicher Komplikationen der PSB ist es aus medizinischer Sicht genauso wichtig, zu erfahren, wie die Patienten die Intervention erleben. Medd et al. befragten im Jahr 2005 31 Männer zu ihren Erfahrungen mit der PSB. Etwa ein Drittel der Befragten bewerteten den erlebten Schmerz und Unbehagen mit sieben von zehn Punkten (0 = überhaupt nicht 10 = größtmöglich vorstellbar), wobei im Mittel ca. vier Punkte angegeben wurden. Ein Leidensdruck entstand zudem für die Befragten auch dadurch, dass sie auf ihre Ergebnisse warten mussten und Angst vor den Ergebnissen empfanden (jeweils etwa 30% der Befragten gaben 7 Punkte an, im Durchschnitt ca. 4 Punkte). Über 70% der Befragten erklärten sich außerdem dazu bereit, an Studien teilzunehmen, die es zum Ziel haben, die PSB angenehmer zu gestalten (Medd et al., 2005). Weiterhin wurde in einer aktuellen Studie der Zusammenhang zwischen erektiler Dysfunktion und der PSB untersucht: Die Autoren konnten zwar im Gegensatz zu vorangegangenen Studien (Klein et al., 2010, Fujita et al., 2009) nicht nachweisen, dass sich eine erektile Dysfunktion auf Grund einer PSB manifestiert bzw. verschlechtert, jedoch zeigte sich signifikant häufiger eine Verschlechterung des International Index of Erectile Function bei denjenigen Patienten, bei denen in der PSB ein Prostatakarzinom gefunden wurde (Helfand et al., 2010).

Abschließend kann festgehalten werden, dass, obwohl einige Autoren wie zum Beispiel Raaijmakers et al. die PSB als eine komplikationsarme diagnostische Prozedur beschreiben (Raaijmakers et al., 2002), Komplikationen der PSB – wie die oben erwähnten Studien darlegen – nicht zu vernachlässigen sind und mitberücksichtigt werden müssen in der Debatte über ein Screening auf Prostatakarzinome. So spielt unter anderem die Akzeptanz der PSB seitens der Patienten eine nicht unbedeutende Rolle in der Früherkennung des Prostatakarzinoms. Diese Akzeptanz kann durch negative Erfahrungen untergraben werden und schlussendlich dazu führen, dass betroffene Männer wichtigen Kontrolluntersuchungen fernbleiben (Mkinen et al., 2002).

4.5 Bild-DNA-Zytometrie

4.5.1 Prognostische Relevanz der Bild-DNA-Zytometrie

In unserer Studie wurde von allen mit Karzinomgewebe befallenen Stanzbiopsien – wie in Kapitel 2.5 beschrieben – eine Bild-DNA-Zytometrie zur weiteren Malignitätseinschätzung des jeweiligen Prostatakarzinoms angefertigt. Ursächlich dafür ist die zweite Studienhypothese, welche besagt, dass diejenigen Prostatakarzinome, die mittels PSA-Kinetiken nicht detektiert werden, sich klinisch insignifikant präsentieren (Kapitel 1.6). Die Definition des klinisch insignifikanten Prostatakarzinoms sollte sich dabei – neben anderen Parametern – auf den ermittelten DNA-Ploidie Grad des jeweiligen Prostatakarzinoms berufen. Bereits 1993 konnte Tribukait zeigen, dass der DNA-Ploidie-Grad eines Prostatakarzinoms maßgeblich die noch verbleibende Lebenszeit nach Diagnosestellung determiniert (Tribukait, 1993a). In einer prospektiven Studie wurden insgesamt 596 an Prostatakarzinom erkrankte Patienten über mindestens zehn Jahre beobachtet und regelmäßig untersucht, wobei 287 Patienten eine „active surveillance“ Therapiestrategie verfolgten und 309 Patienten eine Hormontherapie erhielten. 505 Patienten mit der Diagnose einer benignen Prostatahyperplasie (BPH) dienten als Kontrollgruppe. Der DNA-Ploidie Grad des jeweiligen Prostatakarzinoms – eingeteilt in diploid (A), tetraploid (B) und aneuploid (C) – erwies sich unabhängig von der Therapie als starker prognostischer Marker bezüglich der verbleibenden Überlebenszeit. Eine weitere Studie im Jahre 2009 von Pretorius et al. untermauert die prognostische Bedeutung des DNA-Ploidie-Grad beim Prostatakarzinom. Bei 186 Patienten, die sich einer Prostatektomie unterzogen hatten, wurde der DNA-Ploidie-Grad an den Prostatektomie-Präparaten bestimmt und neben anderen Parametern mit dem Auftreten bzw. Ausbleiben eines Tumorrezidivs korreliert. Nur der DNA-Ploidie Grad sowie der

Gleason Score konnten signifikant ein Tumorrezidiv vorhersagen, wobei der DNA-Ploidie-Grad als einziger Parameter in der Subgruppe aller Patienten mit GS = 7 prognostische Relevanz zeigte (Pretorius et al., 2009).

4.5.2 Reproduzierbarkeit und Heterogenität der Bild-DNA-Zytometrie

Einen entscheidenden Vorteil im Vergleich mit dem Gleason Score, welcher in der Stellungnahme des College of American Pathologists und den oben erwähnten Leitlinien unerwähnt bleibt, bietet die Bild-DNA-Zytometrie dadurch, dass sie in höherem Maße objektiven Kriterien unterliegt und somit einfacher zu reproduzieren ist. Die nur mäßige Reproduzierbarkeit des GS wurde bereits in Kapitel 4.4 dargelegt. Im Gegensatz dazu zeichnet sich die Bild-DNA-Zytometrie durch Reproduzierbarkeitsraten von 87 - 94% aus (Nguyen et al., 2004, Böcking et al., 1988). In unserer Studie wurde eine exakte Übereinstimmung der Gradierungen der Bild-DNA-Zytometrie in 93% der Fälle ermittelt, wobei von den sechs diskrepanten Fällen zwei vermutlich durch Flüchtigkeitsfehler zu erklären sind. Die bereits bestehenden Erkenntnisse zu einer – dem Gleason Score überlegenen – Reproduzierbarkeit der Bild-DNA-Zytometrie wurden somit bestätigt, und es konnte sichergestellt werden, dass unsere Studie keine qualitative Einschränkung durch unterdurchschnittliche Reproduzierbarkeit der Bild-DNA-Zytometrie erfährt.

Als problematisch muss hingegen die Heterogenität der DNA-Ploidie einiger Prostatakarzinome angesehen werden. So verglichen z.B. Häggarth et al. die präoperativen DNA-Ploidie Gradierungen an Prostatastanzbiopsien (sechs Stenzen) mit DNA-Ploidie Bestimmung an Prostatektomie Präparaten. In 9/20 Tumoren (45%) wurde dabei der DNA-Ploidie Grade an der PSB unterschätzt (Häggarth et al., 2005). Im Jahr 2000 hatten Wang et al. bereits gezeigt, dass die Wahrscheinlichkeit, den höchsten DNA-Ploidie Grad in der PSB zu bestimmen, von 40 auf 95% steigt, wenn statt einer mindestens fünf Stenzen evaluiert werden. Die Güte der Bild-DNA-Zytometrie ist daher auch davon abhängig, wie viele Prostatastanzbiopsien analysiert werden (Wang et al., 2000). Auch die Qualität unserer Studie leidet unter der Heterogenität der DNA-Ploidie einiger Prostatakarzinome. So konnten zwar bei etwa der Hälfte der Patienten mindestens zwei Stenzen mittels Bild-DNA-Zytometrie untersucht werden, jedoch besteht durchaus die Möglichkeit, dass einige Prostatakarzinome auf Grund der Heterogenität der DNA-Ploidie in ihrer Malignität unterschätzt wurden.

4.5.3 Die Bild-DNA-Zytometrie in Leitlinien und Stellungnahmen von Fachgesellschaften

In den Empfehlungen des College of American Pathologists (CAP) von 1999 zu geeigneten prognostischen Markern des Prostatakarzinoms findet sich der DNA-Ploidie Grad nur in der Kategorie II hinter dem PSA-Wert, dem GS, etc. und wird daher als Routinenuntersuchung noch abgelehnt. Begründet wird dies damit, dass bisher kein Konsensus über ein geeignetes Standardverfahren herrscht und kleine Prostatakarzinomherde mit der damals einzig standardisierten Methode, der Fluss-DNA-Zytometrie, nicht erfasst werden können (Bostwick et al., 2000). Dass die Methode generell zusätzlichen prognostischen Nutzen beisteuern kann, wird hingegen anerkannt. Mittlerweile liegen mehrfach überarbeitete Konsensus-Empfehlungen zur Bild-DNA-Zytometrie vor (Haroske et al., 1998, Haroske et al., 2001, Böcking et al., 1995b, Böcking et al., 1995a). Zudem erfolgten zahlreiche weitere Studien, welche die Relevanz der DNA-Ploidie für die Diagnose und Therapiefindung beim Prostatakarzinom untermauern (Isharwal et al., 2009, Amling et al., 1999, Ross et al., 1999, Ahlgren et al., 1999, Martínez-Jabaloyas et al., 2002, Pollack et al., 2003, Lorenzato et al., 2004, Deliveliotis et al., 2003). Daher wird in der nächsten Überarbeitung der Empfehlungen des CAP die Aufnahme des DNA-Ploidie Grades in die Kategorie I unter neuen Vorzeichen diskutiert werden müssen.

In Deutschland wird die Bild-DNA-Zytometrie als prognostisch relevanter Marker zwar nicht explizit in den S 3 Leitlinie zum Prostatakarzinom erwähnt, jedoch wird in der Leitlinie auf die Anleitung zur pathologisch-anatomischen Diagnostik von Prostatatumoren des Bundesverbandes Deutscher Pathologen und der Deutschen Gesellschaft für Pathologie verwiesen (Wirth et al., 2011). Hier findet die Bild-DNA-Zytometrie mittlerweile Erwähnung: So können „DNA-zytometrische Untersuchungen im Einzelfall als Zusatzuntersuchung bei bestimmten Fragestellungen, z.B. active surveillance, neben dem Gleason-Grading durchgeführt werden, sind jedoch nicht als Standard anzusehen“ (Helpap et al., 2011).

4.6 Indikationsstellung zur Prostatastanzbiopsie

4.6.1 Totaler PSA-Wert als Indikationsstellung zur Prostatastanzbiopsie

Der totale PSA-Wert alleine konnte in unserer Studie nicht verlässlich vorhersagen, ob sich in der PSB ein Prostatakarzinom findet oder nicht.

Dies änderte sich auch nicht, wenn nur klinisch signifikante (nach entsprechender Definition) bzw. non-diploide Prostatakarzinome detektiert werden sollten. Die ermittelten Werte für Sensitivität, Spezifität bzw. PPW und NPW entsprechen dabei näherungsweise bereits publizierten Ergebnissen aus großen Screening Studien (Thompson et al., 2005), wobei in unserer Studie der PSA-Test zwar sensitiver jedoch weniger spezifisch abschnitt. Die alleinige Verwendung des PSA-Wertes zur Indikationsstellung einer PSB kann somit – unter Berücksichtigung unserer Studienergebnisse und der in Kapitel 4.4.3 beschriebenen Nebenwirkungen und Komplikationen der PSB – nicht empfohlen werden. Diese Erkenntnis deckt sich mit aktuellen Meta-Analysen, welche den PSA-Test als Routine zur Früherkennung des Prostatakarzinoms nicht befürworten (Ilic et al., 2011, Djulbegovic et al., 2010, Ilic et al., 2013).

4.6.2 PSA-Verdopplungszeit als Indikationsstellung zur Prostatastanziopsie

Die alleinige Verwendung der PSA-Verdopplungszeit (PSADT) – unter Berücksichtigung aller PSA-Messungen vor der PSB – stellte in unserer Studie, im Vergleich zur alleinigen Verwendung des PSA-Wertes und den neu entwickelten Algorithmen, am ehesten eine zuverlässige Indikation zur PSB. Wenn es darum geht ein Prostatakarzinom in der PSB vorherzusagen, verfehlt die PSADT knapp statistische Signifikanz ($p = 0,121$). Auch non-diploide Prostatakarzinome konnten anhand der PSADT nicht statistisch signifikant vorhergesagt werden ($p = 0,072$). Mit größerer Treffsicherheit kann die PSADT allerdings zwischen einem klinisch signifikanten Prostatakarzinom und einem klinisch insignifikantem Karzinom (nach entsprechender Definition) bzw. BPH unterscheiden. Die Treffsicherheit ist dabei mit einer AUC von 0,648 am höchsten für die Definition des klinisch insignifikanten Prostatakarzinoms nach Helpap (siehe Kapitel 3.6), wobei bei Verwendung eines PSADT-Schwellenwertes von 10 Jahren die Sensitivität 90,9% und die Spezifität 25,4% beträgt. Es könnte also in Zukunft eine Möglichkeit sein bei Patienten von einer PSB abzu- sehen, die sich zum Beispiel in Anbetracht ihres Alters im Vorhinein für eine abwartende Therapiestrategie entscheiden und zusätzlich eine PSADT von über 10 Jahren aufweisen. Insgesamt betrachtet genügen jedoch die in unserer Studie ermittelten Werte für Sensitivität und Spezifität bzw. positivem und negativem Vorhersagewert nicht den Ansprüchen an ein effektives Werkzeug in der Prostatakrebsfrüherkennung. Andere Autoren ziehen ähnliche Schlüsse aus ihren Ergebnissen (Spurgeon et al., 2007, Vickers et al., 2009, Ng et al., 2009).

4.6.3 Neu entwickelte Algorithmen als Indikationsstellung zur Prostatastanziopsie

Die in unserer Studie getesteten Algorithmen sollten möglichst sensitiv und spezifisch die Indikation zur PSB stellen. Als Entwicklungsansatz für die Algorithmen dienten die in Kapitel 1.3 beschriebenen biologischen Grundlagen der PSA-Kinetiken. Vor allem die von Vollmer beschriebenen Beobachtungen beim unbehandelten Prostatakarzinom – einem zunächst flachen exponentiellen Anstieg der PSA-Werte gefolgt von einem steileren exponentiellen Anstieg der PSA-Werte (Vollmer, 2010) – wurden bei der Ausarbeitung der Algorithmen berücksichtigt. Auch andere Autoren hatten bereits ein solches Verhalten der PSA-Werte über die Zeit beobachtet und ähnliche Algorithmen verfasst (Glättli et al., 2010). Doch in unserer Studie konnten diese neu entwickelten Algorithmen die Früherkennung des Prostatakarzinoms nicht verbessern. Keiner der drei Algorithmen war in der Lage mit statistischer Signifikanz ein Prostatakarzinom in der PSB vorherzusagen. Selbst wenn nur klinisch signifikante Prostatakarzinome oder nondiploide Prostatakarzinome detektiert werden sollten, schnitten die Algorithmen nur teilweise befriedigend ab.

Als mögliche Ursachen für die mangelnde Treffsicherheit der neu entwickelten Algorithmen und in geringerem Maße auch der PSADT können folgende methodische Schwächen der Studie angeführt werden: Erstens unterliegen PSA-Messungen – wie in Kapitel 4.2.1 beschrieben – biologischen Schwankungen von mindestens 20% (Sölétormos et al., 2005), die nicht nur für unsere Studie eine Einschränkung darstellen, sondern alle Studien zu PSA-Kinetiken erschweren (Price et al., 2001). Hinzu kommen laut Herstellerangaben 4,1% Messungenauigkeit der in unserer Studie verwendeten Assays zur PSA-Bestimmung. Zweitens variiert der Beobachtungszeitraum, in dem PSA-Messungen erhoben wurden, erheblich innerhalb unseres Patientenkollektivs, wobei bei sechs Patienten PSA-Messungen nur über einen Zeitraum von weniger als sechs Monate erhoben wurden. Diese Punkte mindern somit die Qualität und Aussagekraft der berechneten PSA-Kinetiken. Drittens erfährt unsere Studie eine bedeutende Verzerrung dadurch, dass Patienten mit erhöhten PSA-Werten unter dem Verdacht einer Prostatitis oftmals ein Antibiotikum verschrieben wurde, welches seinerseits den PSA-Wert senken kann und somit nachfolgende Kontrollmessungen verfälscht (Stopiglia et al., 2010). Etwa 18% aller PSA-Messungen sind in unserer Studie davon betroffen. Auch eine begleitende Medikation mit NSAR, Thiazid-Diuretika oder Statinen kann den PSA-Wert verfälschen (Chang et al., 2010, Mener, 2010), wobei dieser Effekt in unserer Studie auf Grund fehlender Daten zur Begleitmedikation nicht zu ermitteln ist.

Des Weiteren besteht die Möglichkeit, dass die Beobachtungen zur Entwicklung der PSA-Werte am unbehandelten Prostatakarzinom (Vollmer, 2010) nicht oder nur teilweise mit der Wirklichkeit übereinstimmen. Dies könnte als weitere Ursache – neben den oben beschriebenen methodischen Schwächen unserer Studie – für das unbefriedigende Abschneiden unserer Algorithmen bzw. der PSADT diskutiert werden. So gestaltet sich der Weg des PSA von der Synthese in der Zelle bis ins Blut hochkomplex und ist nur zum Teil verstanden (Christiansen et al., 2003). Wie sich eine maligne Entartung der Zelle auf diese Prozesse auswirkt, ist zudem bisher nur teilweise erforscht worden (Song et al., 2003, Ballangrud et al., 1999), und so ist es möglich, dass neue Erkenntnisse aus der Grundlagenforschung dazu führen, dass die momentan verwendeten PSA-Kinetiken überarbeitet bzw. unter neuen Voraussetzungen diskutiert werden müssen.

Insgesamt betrachtet ist es schwer abzuschätzen, inwieweit die oben beschriebenen Störfaktoren für das enttäuschende Ergebnis der neu entwickelten Algorithmen und der PSADT verantwortlich sind. Es werden aber im Rahmen aktueller Studien, wie zum Beispiel der PRIAS Studie (Bangma et al., 2012, Bul et al., 2013), hochwertigere und umfangreichere Datensätze gewonnen, an denen die entwickelten Algorithmen unter verbesserten Bedingungen getestet werden könnten. Die Hoffnung, dass PSA-Kinetiken eine spezifischere Diagnosestellung des Prostatakarzinom ermöglichen und damit „overdiagnosis and overtreatment“ verhindern helfen, scheint nicht zu erlöschen (Loeb et al., 2012). In einer aktuellen Publikation konnten zum Beispiel Benecchi et al. zeigen, dass sich anhand der PSA-Beschleunigung – eine unseren Algorithmen ähnliche Methode – eine spezifischere Vorhersage des Prostatakarzinoms in der PSB treffen lässt (Benecchi et al., 2011). In Zukunft könnten zudem neben den PSA-Kinetiken neue Biomarker wie zum Beispiel PCA3, GSTP1, AMACR oder andere genetische Marker in der Früherkennung des Prostatakarzinoms eine Rolle spielen (Tosoian and Loeb, 2010).

5 Schlussfolgerungen

Ziel unserer Studie war es, die in Kapitel 1.6 formulierten Hypothesen zu überprüfen, wobei die erste Hypothese vollständig und die zweite Hypothese nur teilweise verifizieren werden konnte. Erstens konnte gezeigt werden, dass PSA-Kinetiken spezifischer als die alleinige Verwendung des totalen PSA-Wertes die Indikation zur PSB stellen. Allerdings trifft dies vor allem auf die PSADT zu und nur teilweise auf die neu entwickelten Algorithmen, welche Beobachtungen zum biologischen Verhalten des Prostatakarzinoms (Vollmer, 2010) stärker berücksichtigen sollten. Zweitens wurde untersucht, ob sich diejenigen Prostatakarzinome, die anhand von PSA-Kinetiken übersehen werden, als klinisch insignifikante Prostatakarzinome nach entsprechenden Definitionen (Epstein et al., 1994, Helpap and Egevad, 2009, Wirth et al., 2011) demaskieren. Hierbei zeigte sich ein gemischtes Bild: Einerseits verbesserte sich die Treffsicherheit der PSA-Kinetiken, wenn es darum ging, nur klinisch signifikante Prostatakarzinome zu detektieren. Andererseits wurden aber immer noch klinisch signifikante Prostatakarzinome, sei es nach gängigen Definitionen oder sei es anhand einer Malignitätsgradierung mittels Bild-DNA-Zytometrie, in nicht unbedeutender Anzahl übersehen. Auf Grund dieser Ergebnisse kann keine Empfehlung zur routinemäßigen Verwendung der PSA-Kinetiken in der Prostatakrebsfrüherkennung abgegeben werden. Dies ist eine Erkenntnis, die sich mit Ergebnissen aus anderen Studien deckt (Spurgeon et al., 2007, Ng et al., 2009), darunter auch eine systematische Übersichtsarbeit zu dieser Fragestellung (Vickers et al., 2009). Als Ursache für das enttäuschende Abschneiden der PSA-Kinetiken können zum einen methodische Schwächen unserer Studie und zum anderen die biologische Variabilität der PSA-Messungen (Sölétormos et al., 2005) angeführt werden. Weiterhin liegen keine Studien vor, die mit Sicherheit nachweisen können, wie und in welchem Ausmaß das PSA – insbesondere bei maligne veränderten Zell- und Gewebsstrukturen – ins Blut gelangt. Daher könnten zukünftige Studien durchaus zu dem Schluss kommen, dass PSA-Kinetiken doch einen Platz in der Prostatakrebsfrüherkennung haben. Einige aktuelle Studien zeigen schon jetzt vielversprechende Ergebnisse (Benecchi et al., 2011, Loeb et al., 2012). Vor allem die groß angelegte PRIAS Studie (Bangma et al., 2012, van den Bergh et al., 2007, Bul et al., 2013) könnte hierbei hochwertige Datensätze liefern, mit Hilfe derer PSA-Kinetiken unter optimierten methodischen Voraussetzungen untersucht werden könnten.

Schlussendlich konnten im Rahmen unserer Studie Erkenntnisse zur Reproduzierbarkeit der Bild-DNA-Zytometrie gewonnen werden. Anhand ausführlicher Literaturrecherche

wurden zudem die immer noch bestehenden Schwachpunkte des Gleason Scores vor allem in Hinblick auf seine Reproduzierbarkeit herausgearbeitet. Die Bild-DNA-Zytometrie zeichnete sich hingegen – nachdem eindeutige Klassifikationskriterien festgelegt wurden – mit einer exakten Reproduzierbarkeit der Gradierungen in 93% der Fälle aus. Dies untermauert die robuste Objektivität der Bild-DNA-Zytometrie und hebt sie in diesem Punkt klar vom Gleason Score ab. Zusätzlich ist die prognostische Relevanz der Bild-DNA-Zytometrie von anderen Autoren mehrfach unter Beweis gestellt worden (Pretorius et al., 2009, Tribukait, 1993a). Daher verwundert es nicht, dass die Bild-DNA-Zytometrie mittlerweile in der Anleitung zur pathologisch-anatomischen Diagnostik von Prostatatumoren des Bundesverbandes Deutscher Pathologen und der Deutschen Gesellschaft für Pathologie Erwähnung findet (Helpap et al., 2011). Diese Anleitung wird auch in den aktuellen S 3 Leitlinien als Grundlage der Diagnostik beim Prostatakarzinom zitiert (Wirth et al., 2011). Mit steigender Bedeutung abwartender Therapiestrategien wie zum Beispiel des „active surveillance“ ist es von großer Wichtigkeit, verlässliche Marker zu etablieren, mit Hilfe derer die individuell optimale Therapiestrategie für den jeweiligen Patienten gefunden werden kann (Klotz, 2012a). Momentan wird unter anderem immer noch der Gleason Score herangezogen um geeignete Patienten für das „active surveillance“ Programm zu identifizieren (Bangma et al., 2012), obwohl seine schwache Reproduzierbarkeit auch in den aktuellen S 3 Leitlinien ausdrücklich erwähnt ist (Wirth et al., 2011). Wie unsere Ergebnisse verdeutlichen, zeichnet sich die Bild-DNA-Zytometrie im Gegensatz zum Gleason Score durch eine hohe Reproduzierbarkeit aus und könnte somit helfen, geeignete Patienten für das „active surveillance“ Programm zu identifizieren. Dies wurde auch von anderen Autoren erkannt, und so soll der Stellenwert der Bild-DNA-Zytometrie für die nächste Aktualisierung der S 3 Leitlinien systematisch recherchiert werden (Wirth et al., 2011).

6 Literatur- und Quellenverzeichnis

- ABRAHAMSSON, P., LILJA, H., FALKMER, S. & WADSTRÖM, L. **1988**. Immunohistochemical distribution of the three predominant secretory proteins in the parenchyma of hyperplastic and neoplastic prostate glands. *Prostate*, 12, 39-46.
- AHLGREN, G., FALKMER, U., GADALEANU, V. & ABRAHAMSSON, P. A. **1999**. Evaluation of DNA ploidy combined with a cytometric proliferation index of imprints from core needle biopsies in prostate cancer. *Eur Urol*, 36, 314-9.
- AIHARA, M., LEOVITZ, R., WHEELER, T., KINNER, B., OHORI, M. & SCARDINO, P. **1994**. Prostate specific antigen and gleason grade: an immunohistochemical study of prostate cancer. *J Urol*, 151, 1558-64.
- AL-ABADI, H. & NAGEL, R. **1992**. Nuclear DNA analysis: DNA heterogeneity in the monitoring of patients with locally advanced prostatic carcinoma. *Eur Urol*, 22, 303-10.
- ALBERTSEN, P., HANLEY, J. & FINE, J. **2005a**. 20-year outcomes following conservative management of clinically localized prostate cancer. *JAMA*, 293, 2095-101.
- ALBERTSEN, P. C., HANLEY, J. A., BARROWS, G. H., PENSON, D. F., KOWALCZYK, P. D., SANDERS, M. M. & FINE, J. **2005b**. Prostate cancer and the Will Rogers phenomenon. *J Natl Cancer Inst*, 97, 1248-53.
- ALIX-PANABIÈRES, C., REBILLARD, X., BROUILLET, J., BARBOTTE, E., IBORRA, F., SEGUI, B., MAUDELONDE, T., JOLIVET-REYNAUD, C. & VENDRELL, J. **2005**. Detection of circulating prostate-specific antigen-secreting cells in prostate cancer patients. *Clin Chem*, 51, 1538-41.
- ALLSBROOK, W. C., JR., MANGOLD, K. A., JOHNSON, M. H., LANE, R. B., LANE, C. G., AMIN, M. B., BOSTWICK, D. G., HUMPHREY, P. A., JONES, E. C., REUTER, V. E., SAKR, W., SESTERHENN, I. A., TRONCOSO, P., WHEELER, T. M. & EPSTEIN, J. I. **2001a**. Interobserver reproducibility of Gleason grading of prostatic carcinoma: urologic pathologists. *Hum Pathol*. United States.
- ALLSBROOK, W. C., JR., MANGOLD, K. A., JOHNSON, M. H., LANE, R. B., LANE, C. G. & EPSTEIN, J. I. **2001b**. Interobserver reproducibility of Gleason grading of prostatic carcinoma: general pathologist. *Hum Pathol*. United States.
- AMLING, C. L., LERNER, S. E., MARTIN, S. K., SLEZAK, J. M., BLUTE, M. L. & ZINCKE, H. **1999**. Deoxyribonucleic acid ploidy and serum prostate specific antigen predict outcome following salvage prostatectomy for radiation refractory prostate cancer. *J Urol*, 161, 857-62; discussion 862-3.
- ANDRIOLE, G., CRAWFORD, E., GRUBB, R. R., BUYS, S., CHIA, D., CHURCH, T., FOUAD, M., GELMANN, E., KVALE, P., REDING, D., WEISSFELD, J., YOKOCHI, L., O'BRIEN, B., CLAPP, J., RATHMELL, J., RILEY, T., HAYES, R., KRAMER, B., IZMIRLIAN, G., MILLER, A., PINSKY, P., PROROK, P., GOHAGAN, J., BERG, C. & TEAM, P. P. **2009**. Mortality results from a randomized prostate-cancer screening trial. *N Engl J Med*, 360, 1310-9.
- ARLEN, P., BIANCO, F., DAHUT, W., D'AMICO, A., FIGG, W., FREEDLAND, S., GULLEY, J., KANTOFF, P., KATTAN, M., LEE, A., REGAN, M. & SARTOR, O. **2008**. Prostate Specific Antigen Working Group guidelines on prostate specific antigen doubling time. *J Urol*, 179, 2181-5; discussion 2185-6.
- ARORA, R., KOCH, M. O., EBLE, J. N., ULBRIGHT, T. M., LI, L. & CHENG, L. **2004**. Heterogeneity of Gleason grade in multifocal adenocarcinoma of the prostate. *Cancer*, 100, 2362-6.

- AUFFERMANN, W., REPGES, R. & BÖCKING, A. **1984**. Rapid diagnostic DNA cytometry with an automatic microscope and a TV image-analysis system. *Anal Quant Cytol*, 6, 179-88.
- BAAK, J. & JANSSEN, E. **2004**. DNA ploidy analysis in histopathology. Morphometry and DNA cytometry reproducibility conditions and clinical applications. *Histopathology*, 44, 603-14.
- BAKER, M. & GRAHAM, J. **2008**. Prostate cancer: diagnosis and treatment. National Collaborating Centre for Cancer.
- BALLANGRUD, A., YANG, W., DNISTRIAN, A., LAMPEN, N. & SGOUROS, G. **1999**. Growth and characterization of LNCaP prostate cancer cell spheroids. *Clin Cancer Res*, 5, 3171s-3176s.
- BANGMA, C., ROEMELING, S. & SCHRÖDER, F. **2007**. Overdiagnosis and overtreatment of early detected prostate cancer. *World J Urol*, 25, 3-9.
- BANGMA, C. H., BUL, M. & ROOBOL, M. **2012**. The Prostate cancer Research International: Active Surveillance study. *Curr Opin Urol*, 22, 216-21.
- BATTIKHI, M., ISMAIL, H. & BATTIKHI, Q. **2006**. Effects of chronic bacterial prostatitis on prostate specific antigen levels total and free in patients with benign prostatic hyperplasia and prostate cancer. *Int Urol Nephrol*, 38, 21-6.
- BEGG, C. & GREENES, R. **1983**. Assessment of diagnostic tests when disease verification is subject to selection bias. *Biometrics*, 39, 207-15.
- BENECCHI, L., PIERI, A. M., PASTIZZARO, C. D. & POTENZONI, M. **2011**. Evaluation of prostate specific antigen acceleration for prostate cancer diagnosis. *J Urol*, 185, 821-6.
- BERNEY, D. M., FISHER, G., KATTAN, M. W., OLIVER, R. T., MOLLER, H., FEARN, P., EASTHAM, J., SCARDINO, P., CUZICK, J., REUTER, V. E., FOSTER, C. S. & TRANS-ATLANTIC PROSTATE, G. **2007**. Major shifts in the treatment and prognosis of prostate cancer due to changes in pathological diagnosis and grading. *BJU Int*, 100, 1240-4.
- BILLIS, A., GUIMARAES, M., FREITAS, L., MEIRELLES, L., MAGNA, L. & FERREIRA, U. **2008**. The impact of the 2005 international society of urological pathology consensus conference on standard Gleason grading of prostatic carcinoma in needle biopsies. *J Urol*, 180, 548-52; discussion 552-3.
- BÖCKING, A., GIROUD, F. & REITH, A. **1995a**. Consensus report of the ESACP task force on standardization of diagnostic DNA image cytometry. European Society for Analytical Cellular Pathology. *Anal Cell Pathol*, 8, 67-74.
- BÖCKING, A., GIROUD, F. & REITH, A. **1995b**. Consensus report of the European Society for Analytical Cellular Pathology task force on standardization of diagnostic DNA image cytometry. *Anal Quant Cytol Histol*, 17, 1-7.
- BOSTWICK, D., GRIGNON, D., HAMMOND, M., AMIN, M., COHEN, M., CRAWFORD, D., GOSPADAROWICZ, M., KAPLAN, R., MILLER, D., MONTIRONI, R., PAJAK, T., POLLACK, A., SRIGLEY, J. & YARBRO, J. **2000**. Prognostic factors in prostate cancer. College of American Pathologists Consensus Statement 1999. *Arch Pathol Lab Med*, 124, 995-1000.
- BROOKS, D., WOLF, A., SMITH, R., DASH, C. & GUESSOUS, I. **2010**. Prostate cancer screening 2010: updated recommendations from the American Cancer Society. *J Natl Med Assoc*, 102, 423-9.
- BUL, M., ZHU, X., VALDAGNI, R., PICKLES, T., KAKEHI, Y., RANNIKKO, A., BJARTELL, A., VAN DER SCHOOT, D. K., CORNEL, E. B., CONTI, G. N., BOEVE, E. R., STAERMAN, F., VIS-MATERS, J. J., VERGUNST, H., JASPARS, J. J., STROLIN, P., VAN MUILEKOM, E., SCHRODER, F. H., BANGMA, C. H.

- & ROOBOL, M. J. **2013**. Active surveillance for low-risk prostate cancer world-wide: the PRIAS study. *Eur Urol*, 63, 597-603.
- BULBUL, M., WAZZAN, W., HIJAZ, A. & SHAAR, A. **2002**. The effect of antibiotics on elevated serum prostate specific antigen in patients with urinary symptoms and negative digital rectal examination: a pilot study. *J Med Liban*, 50, 23-5.
- BUNTING, P. **1995**. A guide to the interpretation of serum prostate specific antigen levels. *Clin Biochem*, 28, 221-41.
- BUNTING, P., DEBOER, G., CHOO, R., DANJOUX, C., KLOTZ, L. & FLESHNER, N. **2002**. Intraindividual variation of PSA, free PSA and complexed PSA in a cohort of patients with prostate cancer managed with watchful observation. *Clin Biochem*, 35, 471-5.
- BURCHARDT, M., ENGERS, R., MÜLLER, M., BURCHARDT, T., WILLERS, R., EPSTEIN, J., ACKERMANN, R., GABBERT, H., DE LA TAILLE, A. & RUBIN, M. **2008**. Interobserver reproducibility of Gleason grading: evaluation using prostate cancer tissue microarrays. *J Cancer Res Clin Oncol*, 134, 1071-8.
- BÖCKING, A., CHATELAIN, R., ORTHEN, U., GIEN, G., VON KALCKREUTH, G., JOCHAM, D. & WOHLTMANN, D. **1988**. DNA-grading of prostatic carcinoma: prognostic validity and reproducibility. *Anticancer Res*, 8, 129-35.
- BÖCKING, A. & HENNE, K. **1982**. Wie gelangt saure Prostataphosphatase ins Blut? *Pathologen am Oberrhein 10. Tagung 2.5.1981*. Mannheim: Pathologe.
- CANFIELD, S. **2009a**. Annual screening for prostate cancer did not reduce mortality from prostate cancer. *Evid Based Med*, 14, 104-5.
- CANFIELD, S. **2009b**. Periodic screening with prostate-specific antigen testing reduced mortality from prostate cancer. *Evid Based Med*, 14, 104-5.
- CARROLL, P., ALBERTSEN, P., GREENE, K. & BABAIAN, R. J. **2009**. Prostate Specific Antigen Best Practise Statement: 2009 update. American Urological Association Education and Research, Inc.
- CARTER, H., PEARSON, J., METTER, E., BRANT, L., CHAN, D., ANDRES, R., FOZARD, J. & WALSH, P. **1992**. Longitudinal evaluation of prostate-specific antigen levels in men with and without prostate disease. *JAMA*, 267, 2215-20.
- CARTER, H. B., ALBERTSEN, P. C., BARRY, M. J., ETZIONI, R., FREEDLAND, S. J., GREENE, K. L., HOLMBERG, L., KANTOFF, P., KONETY, B. R., MURAD, M. H., PENSON, D. F. & ZIETMAN, A. L. **2013**. Early detection of prostate cancer: AUA Guideline. *J Urol*, 190, 419-26.
- CHANG, S., HARSHMAN, L. & PRESTI, J. J. **2010**. Impact of common medications on serum total prostate-specific antigen levels: analysis of the national health and nutrition examination survey. *J Clin Oncol*, 28, 3951-7.
- CHATELAIN, R., WILLMS, A., BIESTERFELD, S., AUFFERMANN, W. & BÖCKING, A. **1989**. Automated Feulgen staining with a temperature-controlled staining machine. *Anal Quant Cytol Histol*, 11, 211-7.
- CHEN, M. E., JOHNSTON, D. A., TANG, K., BABAIAN, R. J. & TRONCOSO, P. **2000**. Detailed mapping of prostate carcinoma foci: biopsy strategy implications. *Cancer*, 89, 1800-9.
- CHRISTENSSON, A., LAURELL, C. & LILJA, H. **1990**. Enzymatic activity of prostate-specific antigen and its reactions with extracellular serine proteinase inhibitors. *Eur J Biochem*, 194, 755-63.
- CHRISTIANSEN, J., RAJASEKARAN, S., MOY, P., BUTCH, A., GOODGLICK, L., GU, Z., REITER, R., BANDER, N. & RAJASEKARAN, A. **2003**. Polarity of prostate specific membrane antigen, prostate stem cell antigen, and prostate specific antigen in prostate tissue and in a cultured epithelial cell line. *Prostate*, 55, 9-19.

- CIATTO, S., RUBECA, T., MARTINELLI, F., PONTENANI, G., LOMBARDI, C. & DI LOLLO, S. **2008**. PSA doubling time as a predictor of the outcome of random prostate biopsies prompted by isolated PSA elevation in subjects referred to an outpatient biopsy facility in a routine clinical scenario. *Int J Biol Markers*, 23, 187-91.
- CINTRA, M. L. & BILLIS, A. **1991**. Histologic grading of prostatic adenocarcinoma: intraobserver reproducibility of the Mostofi, Gleason and Böcking grading systems. *Int Urol Nephrol*, 23, 449-54.
- COOMBS, G., BERGSTROM, R., PELLEQUER, J., BAKER, S., NAVRE, M., SMITH, M., TAINER, J., MADISON, E. & COREY, D. **1998**. Substrate specificity of prostate-specific antigen (PSA). *Chem Biol*, 5, 475-88.
- D'AMICO, A., MOUL, J., CARROLL, P., SUN, L., LUBECK, D. & CHEN, M. **2003**. Surrogate end point for prostate cancer-specific mortality after radical prostatectomy or radiation therapy. *J Natl Cancer Inst*, 95, 1376-83.
- DE LA TAILLE, A., VIELLEFOND, A., BERGER, N., BOUCHER, E., DE FROMONT, M., FONDIMARE, A., MOLINIÉ, V., PIRON, D., SIBONY, M., STAROZ, F., TRILLER, M., PELTIER, E., THIOUNN, N. & RUBIN, M. **2003**. Evaluation of the interobserver reproducibility of Gleason grading of prostatic adenocarcinoma using tissue microarrays. *Hum Pathol*, 34, 444-9.
- DE REIJK, T. M., BATTERMANN, J. J., HORENBLAS, S. & DE JONG, I. J. **2007**. Prostate Cancer. Nation-wide guideline. Maastricht: Dutch Urological Association.
- DELAHUNT, B., LAMB, D. S., SRIGLEY, J. R., MURRAY, J. D., WILCOX, C., SAMARATUNGA, H., ATKINSON, C., SPRY, N. A., JOSEPH, D. & DENHAM, J. W. **2010**. Gleason scoring: a comparison of classical and modified (international society of urological pathology) criteria using nadir PSA as a clinical end point. *Pathology*, 42, 339-43.
- DELGADO, R., MIKUZ, G. & HOFSTÄDTER, F. **1984**. DNA-Feulgen-cytophotometric analysis of single cells isolated from paraffin embedded tissue. *Pathol Res Pract*, 179, 92-4.
- DELIVELIOTIS, C., SKOLARIKOS, A., KARAYANNIS, A., TZELEPIS, V., TRAKAS, N., ALARGOF, E. & PROTOGEROU, V. **2003**. The prognostic value of p53 and DNA ploidy following radical prostatectomy. *World J Urol*, 21, 171-6.
- DELONGCHAMPS, N., HAAS, G. & MEDSCAPE **2009**. Saturation biopsies for prostate cancer: current uses and future prospects. *Nat Rev Urol*, 6, 645-52.
- DJAVAN, B. & MARGREITER, M. **2007**. Biopsy standards for detection of prostate cancer. *World J Urol*, 25, 11-7.
- DJAVAN, B., SUSANI, M., BURSA, B., BASHARKHAH, A., SIMAK, R. & MARBERGER, M. **1999**. Predictability and significance of multifocal prostate cancer in the radical prostatectomy specimen. *Tech Urol*, 5, 139-42.
- DJULBEGOVIC, M., BEYTH, R., NEUBERGER, M., STOFFS, T., VIEWEG, J., DJULBEGOVIC, B. & DAHM, P. **2010**. Screening for prostate cancer: systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ*, 341, c4543.
- EASTHAM, J., RIEDEL, E., SCARDINO, P., SHIKE, M., FLEISHER, M., SCHATZKIN, A., LANZA, E., LATKANY, L. & BEGG, C. **2003**. Variation of serum prostate-specific antigen levels: an evaluation of year-to-year fluctuations. *JAMA*, 289, 2695-700.
- EGEVAD, L., ALGABA, F., BERNEY, D. M., BOCCON-GIBOD, L., COMPERAT, E., EVANS, A. J., GROBHOLZ, R., KRISTIANSEN, G., LANGNER, C., LOCKWOOD, G., LOPEZ-BELTRAN, A., MONTIRONI, R., OLIVEIRA, P., SCHWENKGLINKS, M., VAINER, B., VARMA, M., VERGER, V. & CAMPARO, P. **2011**. Interactive digital slides with heat maps: a novel method to improve the reproducibility of Gleason grading. *Virchows Arch*, 459, 175-82.

- EGEVAD, L., MAZZUCHELLI, R. & MONTIRONI, R. **2012**. Implications of the International Society of Urological Pathology modified Gleason grading system. *Arch Pathol Lab Med*, 136, 426-34.
- EGGENER, S., YOSSEPOWITCH, O., ROEHL, K., LOEB, S., YU, X. & CATALONA, W. **2008**. Relationship of prostate-specific antigen velocity to histologic findings in a prostate cancer screening program. *Urology*, 71, 1016-9.
- EICHLER, K., HEMPEL, S., WILBY, J., MYERS, L., BACHMANN, L. & KLEIJNEN, J. **2006**. Diagnostic value of systematic biopsy methods in the investigation of prostate cancer: a systematic review. *J Urol*, 175, 1605-12.
- EPSTEIN, J. **2010**. An update of the Gleason grading system. *J Urol*, 183, 433-40.
- EPSTEIN, J., ALLSBROOK, W. J., AMIN, M., EGEVAD, L. & COMMITTEE, I. G. **2005**. The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. *Am J Surg Pathol*, 29, 1228-42.
- EPSTEIN, J., CHAN, D., SOKOLL, L., WALSH, P., COX, J., RITTENHOUSE, H., WOLFERT, R. & CARTER, H. **1998**. Nonpalpable stage T1c prostate cancer: prediction of insignificant disease using free/total prostate specific antigen levels and needle biopsy findings. *J Urol*, 160, 2407-11.
- EPSTEIN, J., WALSH, P., CARMICHAEL, M. & BRENDLER, C. **1994**. Pathologic and clinical findings to predict tumor extent of nonpalpable (stage T1c) prostate cancer. *JAMA*, 271, 368-74.
- EPSTEIN, J. I. **2000**. Gleason score 2-4 adenocarcinoma of the prostate on needle biopsy: a diagnosis that should not be made. *Am J Surg Pathol*, 24, 477-8.
- EPSTEIN, J. I., FENG, Z., TROCK, B. J. & PIERORAZIO, P. M. **2012**. Upgrading and downgrading of prostate cancer from biopsy to radical prostatectomy: incidence and predictive factors using the modified Gleason grading system and factoring in tertiary grades. *Eur Urol*, 61, 1019-24.
- FEINSTEIN, A. R., SOSIN, D. M. & WELLS, C. K. **1985**. The Will Rogers phenomenon. Stage migration and new diagnostic techniques as a source of misleading statistics for survival in cancer. *N Engl J Med*, 312, 1604-8.
- FITZPATRICK, J. M., BANU, E. & OUDARD, S. **2009**. Prostate-specific antigen kinetics in localized and advanced prostate cancer. *BJU Int*, 103, 578-87.
- FUJITA, K., LANDIS, P., MCNEIL, B. K. & PAVLOVICH, C. P. **2009**. Serial prostate biopsies are associated with an increased risk of erectile dysfunction in men with prostate cancer on active surveillance. *J Urol*, 182, 2664-9.
- GLAESSGEN, A., HAMBERG, H., PIHL, C., SUNDELIN, B., NILSSON, B. & EGEVAD, L. **2004**. Interobserver reproducibility of percent Gleason grade 4/5 in prostate biopsies. *J Urol*, 171, 664-7.
- GLEASON, D. **1966**. Classification of prostatic carcinomas. *Cancer Chemother Rep*, 50, 125-8.
- GLEASON, D. F. **1992**. Histologic grading of prostate cancer: a perspective. *Hum Pathol*, 23, 273-9.
- GLÄTTLI, H.-H., DURNER, J. & GERBER, H.-J. **2010**. *Is it Prostate Cancer ?* [Online]. Kuessnacht: Nature Precedings.
- GRIFFITHS, D., MELIA, J., MCWILLIAM, L., BALL, R., GRIGOR, K., HARNDEN, P., JARMULOWICZ, M., MONTIRONI, R., MOSELEY, R., WALLER, M., MOSS, S. & PARKINSON, M. **2006**. A study of Gleason score interpretation in different groups of UK pathologists; techniques for improving reproducibility. *Histopathology*, 48, 655-62.
- HARNDEN, P., NAYLOR, B., SHELLEY, M., CLEMENTS, H., COLES, B. & MASON, M. **2008**. The clinical management of patients with a small volume of prostatic can-

- cer on biopsy: what are the risks of progression? A systematic review and meta-analysis. *Cancer*, 112, 971-81.
- HAROSKE, G., BAAK, J., DANIELSEN, H., GIROUD, F., GSCHWENDTNER, A., OBERHOLZER, M., REITH, A., SPIELER, P. & BÖCKING, A. **2001**. Fourth updated ESACP consensus report on diagnostic DNA image cytometry. *Anal Cell Pathol*, 23, 89-95.
- HAROSKE, G., GIROUD, F., REITH, A. & BÖCKING, A. **1998**. 1997 ESACP consensus report on diagnostic DNA image cytometry. Part I: basic considerations and recommendations for preparation, measurement and interpretation. European Society for Analytical Cellular Pathology. *Anal Cell Pathol*, 17, 189-200.
- HEDLEY, D., FRIEDLANDER, M. & TAYLOR, I. **1985**. Application of DNA flow cytometry to paraffin-embedded archival material for the study of aneuploidy and its clinical significance. *Cytometry*, 6, 327-33.
- HEIDENREICH, A., AUS, G., ABBOU, C. C., BOLLA, M., JONIAU, S., MATVEEV, V., SCHMID, H.-P. & ZATTONI, F. **2008**. Guidelines on Prostate Cancer. European Association of Urology.
- HEIDENREICH, A., BELLMUNT, J., BOLLA, M., JONIAU, S., MASON, M., MATVEEV, V., MOTTET, N., SCHMID, H. P., VAN DER KWAST, T., WIEGEL, T., ZATTONI, F. & EUROPEAN ASSOCIATION OF, U. **2011**. EAU guidelines on prostate cancer. Part 1: screening, diagnosis, and treatment of clinically localised disease. *Eur Urol*, 59, 61-71.
- HEINZELBECKER, J., VON ZASTROW, C. & ALKEN, P. **2009**. [Blindness after prostate biopsy]. *Urologe A*, 48, 175-6.
- HELFAND, B., BLACKWELL, R. & MCVARY, K. **2010**. Consequences of switching 5alpha-reductase inhibitors on prostate specific antigen velocity. *J Urol*, 184, 218-23.
- HELPAP, B. & EGEVAD, L. **2006**. The significance of modified Gleason grading of prostatic carcinoma in biopsy and radical prostatectomy specimens. *Virchows Arch*, 449, 622-7.
- HELPAP, B. & EGEVAD, L. **2007**. [The value of the modified Gleason grading system of prostate adenocarcinoma in routine urological diagnostics]. *Urologe A*, 46, 59-62.
- HELPAP, B. & EGEVAD, L. **2009**. [Clinical insignificance of prostate cancer: are there morphological findings?]. *Urologe A*, 48, 170-4.
- HELPAP, B., HARTMANN, A. & WERNERT, N. **2011**. Anleitung zur pathologisch-anatomischen Diagnostik von Prostatatumoren. Bundesverbandes Deutscher Pathologen e. V. © und der Deutschen Gesellschaft für Pathologie e. V. ©.
- HELPAP, B. & KOLLERMANN, J. **2012**. Combined histoarchitectural and cytological biopsy grading improves grading accuracy in low-grade prostate cancer. *Int J Urol*, 19, 126-33.
- HELPAP, B., KRISTIANSEN, G., BEER, M., KOLLERMANN, J., OEHLER, U., POGREBNIK, A. & FELLBAUM, C. **2012**. Improving the reproducibility of the Gleason scores in small foci of prostate cancer - suggestion of diagnostic criteria for glandular fusion. *Pathol Oncol Res*, 18, 615-21.
- HÄGGARTH, L., AUER, G., BUSCH, C., NORBERG, M., HÄGGMAN, M. & EGEVAD, L. **2005**. The significance of tumor heterogeneity for prediction of DNA ploidy of prostate cancer. *Scand J Urol Nephrol*, 39, 387-92.
- ILIC, D., NEUBERGER, M. M., DJULBEGOVIC, M. & DAHM, P. **2013**. Screening for prostate cancer. *Cochrane Database Syst Rev*, 1, Cd004720.
- ILIC, D., O'CONNOR, D., GREEN, S. & WILT, T. **2007**. Screening for prostate cancer: a Cochrane systematic review. *Cancer Causes Control*, 18, 279-85.
- ILIC, D., O'CONNOR, D., GREEN, S. & WILT, T. J. **2011**. Screening for prostate cancer: an updated Cochrane systematic review. *BJU Int*, 107, 882-91.

- ISHARWAL, S., MILLER, M., EPSTEIN, J., MANGOLD, L., HUMPHREYS, E., PARTIN, A. & VELTRI, R. **2009**. DNA Ploidy as surrogate for biopsy gleason score for preoperative organ versus nonorgan-confined prostate cancer prediction. *Urology*, 73, 1092-7.
- KHATAMI, A., ALI, K., AUS, G., GUNNAR, A., DAMBER, J., JAN-ERIK, D., LILJA, H., HANS, L., LODDING, P., PÄR, L., HUGOSSON, J. & JONAS, H. **2007**. PSA doubling time predicts the outcome after active surveillance in screening-detected prostate cancer: results from the European randomized study of screening for prostate cancer, Sweden section. *Int J Cancer*, 120, 170-4.
- KLEIN, T., PALISAAR, R. J., HOLZ, A., BROCK, M., NOLDUS, J. & HINKEL, A. **2010**. The impact of prostate biopsy and periprostatic nerve block on erectile and voiding function: a prospective study. *J Urol*, 184, 1447-52.
- KLOTZ, L. **2005a**. Active surveillance for prostate cancer: for whom? *J Clin Oncol*, 23, 8165-9.
- KLOTZ, L. **2005b**. Active surveillance with selective delayed intervention using PSA doubling time for good risk prostate cancer. *Eur Urol*, 47, 16-21.
- KLOTZ, L. **2012a**. Active surveillance: the Canadian experience. *Curr Opin Urol*, 22, 222-30.
- KLOTZ, L. **2012b**. Cancer overdiagnosis and overtreatment. *Curr Opin Urol*, 22, 203-9.
- KOBAYASHI, M., NUKUI, A. & MORITA, T. **2008**. Serum PSA and percent free PSA value changes after antibiotic treatment. A diagnostic method in prostate cancer suspects with asymptomatic prostatitis. *Urol Int*, 80, 186-92.
- KRIEGER, J., NYBERG, L. J. & NICKEL, J. **1999**. NIH consensus definition and classification of prostatitis. *JAMA*, 282, 236-7.
- KRIEGER, J. N., LEE, S. W., JEON, J., CHEAH, P. Y., LIONG, M. L. & RILEY, D. E. **2008**. Epidemiology of prostatitis. *Int J Antimicrob Agents*, 31 Suppl 1, S85-90.
- KRIEGER, J. N., RILEY, D. E., CHEAH, P. Y., LIONG, M. L. & YUEN, K. H. **2003**. Epidemiology of prostatitis: new evidence for a world-wide problem. *World J Urol*, 21, 70-4.
- LOEB, S., KETTERMANN, A., FERRUCCI, L., LANDIS, P., METTER, E. & CARTER, H. **2008**. PSA doubling time versus PSA velocity to predict high-risk prostate cancer: data from the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Eur Urol*, 54, 1073-80.
- LOEB, S., METTER, E. J., KAN, D., ROEHL, K. A. & CATALONA, W. J. **2012**. Prostate-specific antigen velocity (PSAV) risk count improves the specificity of screening for clinically significant prostate cancer. *BJU Int*, 109, 508-13; discussion 513-4.
- LORENZATO, M., REY, D., DURLACH, A., BOUTTENS, D., BIREMBAUT, P. & STAERMAN, F. **2004**. DNA image cytometry on biopsies can help the detection of localized Gleason 3+3 prostate cancers. *J Urol*, 172, 1311-3.
- LÖPPENBERG, B., NOLDUS, J., HOLZ, A. & PALISAAR, R. **2010**. Reporting complications after open radical retropubic prostatectomy using the martin criteria. *J Urol*, 184, 944-8.
- MARTÍNEZ-JABALOYAS, J., RUIZ-CERDÁ, J., HERNÁNDEZ, M., JIMÉNEZ, A. & JIMÉNEZ-CRUZ, F. **2002**. Prognostic value of DNA ploidy and nuclear morphometry in prostate cancer treated with androgen deprivation. *Urology*, 59, 715-20.
- MEDD, J., STOCKLER, M., COLLINS, R. & LALAK, A. **2005**. Measuring men's opinions of prostate needle biopsy. *ANZ J Surg*, 75, 662-4.
- MELIA, J., MOSELEY, R., BALL, R., GRIFFITHS, D., GRIGOR, K., HARNDEN, P., JARMULOWICZ, M., MCWILLIAM, L., MONTIRONI, R., WALLER, M., MOSS, S. & PARKINSON, M. **2006**. A UK-based investigation of inter- and intra-observer reproducibility of Gleason grading of prostatic biopsies. *Histopathology*, 48, 644-54.

- MENER, D. **2010**. Prostate specific antigen reduction following statin therapy: Mechanism of action and review of the literature. *IUBMB Life*, 62, 584-90.
- MERMALL, H., SOTHERN, R., KANABROCKI, E., QUADRI, S., BREMNER, F., NEMCHAUSKY, B. & SCHEVING, L. **1995**. Temporal (circadian) and functional relationship between prostate-specific antigen and testosterone in healthy men. *Urology*, 46, 45-53.
- MILLER, J., PERUMALLA, C. & HEAP, G. **2005**. Complications of transrectal versus transperineal prostate biopsy. *ANZ J Surg*, 75, 48-50.
- MKINEN, T., AUVINEN, A., HAKAMA, M., STENMAN, U. & TAMMELA, T. **2002**. Acceptability and complications of prostate biopsy in population-based PSA screening versus routine clinical practice: a prospective, controlled study. *Urology*, 60, 846-50.
- MOHER, D., SCHULZ, K. & ALTMAN, D. **2001**. The CONSORT statement: revised recommendations for improving the quality of reports of parallel-group randomized trials. *JAMA*, 285, 1987-91.
- MONTIRONI, R., MAZZUCCHELI, R., SCARPELLI, M., LOPEZ-BELTRAN, A., FELLEGERA, G. & ALGABA, F. **2005a**. Gleason grading of prostate cancer in needle biopsies or radical prostatectomy specimens: contemporary approach, current clinical significance and sources of pathology discrepancies. *BJU Int*, 95, 1146-52.
- MONTIRONI, R., MAZZUCCHELI, R., SCARPELLI, M., LOPEZ-BELTRAN, A., FELLEGERA, G. & ALGABA, F. **2005b**. Gleason grading of prostate cancer in needle biopsies or radical prostatectomy specimens: contemporary approach, current clinical significance and sources of pathology discrepancies. *BJU Int*, 95, 1146-52.
- MULLIN, J. **2004**. Epithelial barriers, compartmentation, and cancer. *Sci STKE*, 2004, pe2.
- MÜLLNER, M. **2005**. *Erfolgreich wissenschaftlich arbeiten in der Klinik*, Wien, Springer Verlag.
- NAGEL, R. & AL ABADI, H. **1991**. The prognostic significance of ploidy and DNA-heterogeneity in the primary diagnosis and monitoring of patients with locally advanced prostatic carcinoma. *Scand J Urol Nephrol Suppl*, 138, 83-92.
- NG, M., VAN AS, N., THOMAS, K., WOODE-AMISSAH, R., HORWICH, A., HUD-DART, R., KHOO, V., THOMPSON, A., DEARNALEY, D. & PARKER, C. **2009**. Prostate-specific antigen (PSA) kinetics in untreated, localized prostate cancer: PSA velocity vs PSA doubling time. *BJU Int*, 103, 872-6.
- NGUYEN, V., GROTE, H., POMJANSKI, N., KNOPS, K. & BÖCKING, A. **2004**. Interobserver reproducibility of DNA-image-cytometry in ASCUS or higher cervical cytology. *Cell Oncol*, 26, 143-50.
- NIXON, R., WENER, M., SMITH, K., PARSON, R., STROBEL, S. & BRAWER, M. **1997**. Biological variation of prostate specific antigen levels in serum: an evaluation of day-to-day physiological fluctuations in a well-defined cohort of 24 patients. *J Urol*, 157, 2183-90.
- NORDSTROM, T., ALY, M., CLEMENTS, M. S., WEIBULL, C. E., ADOLFSSON, J. & GRONBERG, H. **2013**. Prostate-specific antigen (PSA) testing is prevalent and increasing in Stockholm County, Sweden, Despite no recommendations for PSA screening: results from a population-based study, 2003-2011. *Eur Urol*, 63, 419-25.
- NOWROOZI, M., ZEIGHAMI, S., AYATI, M., JAMSHIDIAN, H., RANJBARAN, A., MORADI, A. & AFSAR, F. **2009**. Prostate-specific antigen doubling time as a predictor of Gleason grade in prostate cancer. *Urol J*, 6, 27-30.
- ORSOLA, A. & MOROTE, J. **2009**. [Epidemiology of urinary incontinence in prostate cancer. Incidence, quality of life and farmacoeconomic features]. *Arch Esp Urol*, 62, 786-92.

- OZDAMAR, S. O., SARIKAYA, S., YILDIZ, L., ATILLA, M. K., KANDEMIR, B. & YILDIZ, S. **1996**. Intraobserver and interobserver reproducibility of WHO and Gleason histologic grading systems in prostatic adenocarcinomas. *Int Urol Nephrol*, 28, 73-7.
- PASSAVANTI, G., PIZZUTI, V., COSTANTINI, F., BRAGAGLIA, A., MELONI, E. & PAOLINI, R. **2002**. [Acceptability and safety of transrectal prostatic 8-core biopsy]. *Arch Ital Urol Androl*, 74, 314-6.
- PATEL, A. A., CHEN, M. H., RENSHAW, A. A. & D'AMICO, A. V. **2007**. PSA failure following definitive treatment of prostate cancer having biopsy Gleason score 7 with tertiary grade 5. *JAMA*, 298, 1533-8.
- PHILLIPS, B., BALL, C., SACKETT, D., BADENOCH, D., STRAUS, S., HAYNES, B., DAWES, M. & HOWICK, J. **2008**. *Oxford Centre for Evidence-based Medicine - Levels of Evidence (March 2009)* [Online].
- POLLACK, A., GRIGNON, D., HEYDON, K., HAMMOND, E., LAWTON, C., MESIC, J., FU, K., PORTER, A., ABRAMS, R. & SHIPLEY, W. **2003**. Prostate cancer DNA ploidy and response to salvage hormone therapy after radiotherapy with or without short-term total androgen blockade: an analysis of RTOG 8610. *J Clin Oncol*, 21, 1238-48.
- PONHOLZER, A., POPPER, N., BREITENECKER, F., SCHMID, H. P., ALBRECHT, W., LOIDL, W., MADERSBACHER, S., SCHRAMEK, P., SEMJONOW, A. & RAUCHENWALD, M. **2010**. Proposal for a standardized PSA doubling-time calculation. *Anticancer Res*, 30, 1633-6.
- PRESTIGIACOMO, A. & STAMEY, T. **1996**. Physiological variation of serum prostate specific antigen in the 4.0 to 10.0 ng./ml. range in male volunteers. *J Urol*, 155, 1977-80.
- PRETORIUS, M., WAEHRE, H., ABELER, V., DAVIDSON, B., VLATKOVIC, L., LOTHE, R., GIERCKSKY, K. & DANIELSEN, H. **2009**. Large scale genomic instability as an additive prognostic marker in early prostate cancer. *Cell Oncol*, 31, 251-9.
- PRICE, C., ALLARD, J., DAVIES, G., DAWNAY, A., DUFFY, M., FRANCE, M., MANDARINO, G., WARD, A., PATEL, B., SIBLEY, P. & STURGEON, C. **2001**. Pre- and post-analytical factors that may influence use of serum prostate specific antigen and its isoforms in a screening programme for prostate cancer. *Ann Clin Biochem*, 38, 188-216.
- PROROK, P., ANDRIOLE, G., BRESALIER, R., BUYS, S., CHIA, D., CRAWFORD, E., FOGEL, R., GELMANN, E., GILBERT, F., HASSON, M., HAYES, R., JOHNSON, C., MANDEL, J., OBERMAN, A., O'BRIEN, B., OKEN, M., RAFLA, S., REDING, D., RUTT, W., WEISSFELD, J., YOKOCHI, L., GOHAGAN, J. & PROSTATE, L. COLORECTAL AND OVARIAN CANCER SCREENING TRIAL PROJECT TEAM **2000**. Design of the Prostate, Lung, Colorectal and Ovarian (PLCO) Cancer Screening Trial. *Control Clin Trials*, 21, 273S-309S.
- RAAIJMAKERS, R., KIRKELS, W., ROOBOL, M., WILDHAGEN, M. & SCHRDER, F. **2002**. Complication rates and risk factors of 5802 transrectal ultrasound-guided sextant biopsies of the prostate within a population-based screening program. *Urology*, 60, 826-30.
- RAMÍREZ, M., NELSON, E., DEVERE WHITE, R., LARA, P. J. & EVANS, C. **2008**. Current applications for prostate-specific antigen doubling time. *Eur Urol*, 54, 291-300.
- RKI & GEKID **2010**. *Krebs in Deutschland 2005-2006*, Berlin, Robert Koch Institut, Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister e. V.

- ROBERT, M., GIBBS, B., JACOBSON, E. & GAGNON, C. **1997**. Characterization of prostate-specific antigen proteolytic activity on its major physiological substrate, the sperm motility inhibitor precursor/semenogelin I. *Biochemistry*, 36, 3811-9.
- ROEHRBORN, C., OESTERLING, J., OLSON, P. & PADLEY, R. **1997**. Serial prostate-specific antigen measurements in men with clinically benign prostatic hyperplasia during a 12-month placebo-controlled study with terazosin. HYCAT Investigator Group. Hytrin Community Assessment Trial. *Urology*, 50, 556-61.
- ROEMELING, S., ROOBOL, M., DE VRIES, S., WOLTERS, T., GOSSELAAR, C., VAN LEENDERS, G. & SCHRÖDER, F. **2007**. Active surveillance for prostate cancers detected in three subsequent rounds of a screening trial: characteristics, PSA doubling times, and outcome. *Eur Urol*, 51, 1244-50; discussion 1251.
- ROOBOL, M., KERKHOF, M., SCHRÖDER, F., CUZICK, J., SASIENI, P., HAKAMA, M., STENMAN, U., CIATTO, S., NELEN, V., KWIATKOWSKI, M., LUJAN, M., LILJA, H., ZAPPA, M., DENIS, L., RECKER, F., BERENGUER, A., RUUTU, M., KUJALA, P., BANGMA, C., AUS, G., TAMMELA, T., VILLERS, A., REBILLARD, X., MOSS, S., DE KONING, H., HUGOSSON, J. & AUVINEN, A. **2009**. Prostate cancer mortality reduction by prostate-specific antigen-based screening adjusted for nonattendance and contamination in the European Randomised Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC). *Eur Urol*, 56, 584-91.
- ROSS, A. E., LOEB, S., LANDIS, P., PARTIN, A. W., EPSTEIN, J. I., KETTERMANN, A., FENG, Z., CARTER, H. B. & WALSH, P. C. **2010**. Prostate-specific antigen kinetics during follow-up are an unreliable trigger for intervention in a prostate cancer surveillance program. *J Clin Oncol*, 28, 2810-6.
- ROSS, J. S., SHEEHAN, C. E., AMBROS, R. A., NAZEER, T., JENNINGS, T. A., KAUFMAN, R. P., FISHER, H. A., RIFKIN, M. D. & KALLAKURY, B. V. **1999**. Needle biopsy DNA ploidy status predicts grade shifting in prostate cancer. *Am J Surg Pathol*, 23, 296-301.
- ROSS, L., BERKOWITZ, Z. & EKWUEME, D. **2008**. Use of the prostate-specific antigen test among U.S. men: findings from the 2005 National Health Interview Survey. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 17, 636-44.
- ROSS, P., MAHMUD, S., STEPHENSON, A., SOUHAMI, L., TANGUAY, S. & APRIKIAN, A. **2004**. Variations in PSA doubling time in patients with prostate cancer on "watchful waiting": value of short-term PSADT determinations. *Urology*, 64, 323-8.
- SAKR, W., HAAS, G., CASSIN, B., PONTES, J. & CRISSMAN, J. **1993**. The frequency of carcinoma and intraepithelial neoplasia of the prostate in young male patients. *J Urol*, 150, 379-85.
- SANDBLOM, G., VARENHORST, E., ROSELL, J., LOFMAN, O. & CARLSSON, P. **2011**. Randomised prostate cancer screening trial: 20 year follow-up. *BMJ*, 342, d1539.
- SCHAEFFER, A., WU, S., TENNENBERG, A. & KAHN, J. **2005**. Treatment of chronic bacterial prostatitis with levofloxacin and ciprofloxacin lowers serum prostate specific antigen. *J Urol*, 174, 161-4.
- SCHMID, H., MCNEAL, J. & STAMEY, T. **1993a**. Clinical observations on the doubling time of prostate cancer. *Eur Urol*, 23 Suppl 2, 60-3.
- SCHMID, H., MCNEAL, J. & STAMEY, T. **1993b**. Observations on the doubling time of prostate cancer. The use of serial prostate-specific antigen in patients with untreated disease as a measure of increasing cancer volume. *Cancer*, 71, 2031-40.
- SCHRÖDER, F. & BANGMA, C. **1997**. The European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC). *Br J Urol*, 79 Suppl 1, 68-71.

- SCHRÖDER, F., CARTER, H., WOLTERS, T., VAN DEN BERGH, R., GOSSELAAR, C., BANGMA, C. & ROOBOL, M. **2008**. Early detection of prostate cancer in 2007. Part 1: PSA and PSA kinetics. *Eur Urol*, 53, 468-77.
- SCHRÖDER, F., HUGOSSON, J., ROOBOL, M., TAMMELA, T., CIATTO, S., NELEN, V., KWIATKOWSKI, M., LUJAN, M., LILJA, H., ZAPPA, M., DENIS, L., RECKER, F., BERENGUER, A., MÄÄTTÄNEN, L., BANGMA, C., AUS, G., VILLERS, A., REBILLARD, X., VAN DER KWAST, T., BLIJENBERG, B., MOSS, S., DE KONING, H., AUVINEN, A. & INVESTIGATORS, E. **2009**. Screening and prostate-cancer mortality in a randomized European study. *N Engl J Med*, 360, 1320-8.
- SCHRÖDER, F., KRANSE, R., RIETBERGEN, J., HOEDEMAEKE, R. & KIRKELS, W. **1999**. The European Randomized Study of Screening for Prostate Cancer (ERSPC): an update. Members of the ERSPC, Section Rotterdam. *Eur Urol*, 35, 539-43.
- SCHRÖDER, F., TRIBUKAIT, B., BÖCKING, A., DEVERE WHITE, R., KOSS, L., LIEBER, M., STENKVIST, B. & ZETTERBERG, A. **1994**. Clinical utility of cellular DNA measurements in prostate carcinoma. Consensus Conference on Diagnosis and Prognostic Parameters in Localized Prostate Cancer. Stockholm, Sweden, May 12-13, 1993. *Scand J Urol Nephrol Suppl*, 162, 51-63; discussion 15-27.
- SENGUPTA, S., AMLING, C., D'AMICO, A. V. & BLUTE, M. L. **2008**. Prostate specific antigen kinetics in the management of prostate cancer. *J Urol*, 179, 821-6.
- SIEGEL, T., MOUL, J., SPEVAK, M., ALVORD, W. & COSTABILE, R. **2001**. The development of erectile dysfunction in men treated for prostate cancer. *J Urol*, 165, 430-5.
- SMITH, E. B., FRIERSON, H. F., JR., MILLS, S. E., BOYD, J. C. & THEODORESCU, D. **2002**. Gleason scores of prostate biopsy and radical prostatectomy specimens over the past 10 years: is there evidence for systematic upgrading? *Cancer*, 94, 2282-7.
- SONG, H., O'CONNOR, K., DAVID, O., GIORDANO, C., PAPPAS-LEBEAU, H. & CLEJAN, S. **2003**. Immunohistochemical analysis of differentiation in static and mixed prostate cancer spheroids. *J Cell Mol Med*, 7, 180-6.
- SPURGEON, S., MONGOUÉ-TCHOKOTE, S., COLLINS, L., PRIEST, R., HSIEH, Y., PETERS, L., BEER, T., MORI, M. & GARZOTTO, M. **2007**. Assessment of prostate-specific antigen doubling time in prediction of prostate cancer on needle biopsy. *Urology*, 69, 931-5.
- STAMEY, T. **2004**. The era of serum prostate specific antigen as a marker for biopsy of the prostate and detecting prostate cancer is now over in the USA. *BJU Int*, 94, 963-4.
- STAMEY, T., YANG, N., HAY, A., MCNEAL, J., FREIHA, F. & REDWINE, E. **1987**. Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. *N Engl J Med*, 317, 909-16.
- STANFORD, J., FENG, Z., HAMILTON, A., GILLILAND, F., STEPHENSON, R., ELEY, J., ALBERTSEN, P., HARLAN, L. & POTOSKY, A. **2000**. Urinary and sexual function after radical prostatectomy for clinically localized prostate cancer: the Prostate Cancer Outcomes Study. *JAMA*, 283, 354-60.
- STENMAN, U. **1997**. Prostate-specific antigen, clinical use and staging: an overview. *Br J Urol*, 79 Suppl 1, 53-60.
- STENMAN, U., LEINONEN, J., ALFTHAN, H., RANNIKKO, S., TUHKANEN, K. & ALFTHAN, O. **1991**. A complex between prostate-specific antigen and alpha 1-antichymotrypsin is the major form of prostate-specific antigen in serum of patients

- with prostatic cancer: assay of the complex improves clinical sensitivity for cancer. *Cancer Res*, 51, 222-6.
- STENMAN, U., LEINONEN, J., ZHANG, W. & FINNE, P. **1999**. Prostate-specific antigen. *Semin Cancer Biol*, 9, 83-93.
- STEPHAN, C., KRAMER, J., MEYER, H., KRISTIANSEN, G., ZIEMER, S., DEGER, S., LEIN, M., LOENING, S. & JUNG, K. **2007**. Different prostate-specific antigen assays give different results on the same blood sample: an obstacle to recommending uniform limits for prostate biopsies. *BJU Int*, 99, 1427-31.
- STOPIGLIA, R., FERREIRA, U., SILVA, M. J., MATHEUS, W., DENARDI, F. & REIS, L. **2010**. Prostate specific antigen decrease and prostate cancer diagnosis: antibiotic versus placebo prospective randomized clinical trial. *J Urol*, 183, 940-4.
- SVATEK, R., SHULMAN, M., CHOUDHARY, P. & BENAİM, E. **2006**. Critical analysis of prostate-specific antigen doubling time calculation methodology. *Cancer*, 106, 1047-53.
- SÖLÉTORMOS, G., SEMJONOW, A., SIBLEY, P., LAMERZ, R., PETERSEN, P., ALBRECHT, W., BIALK, P., GION, M., JUNKER, F., SCHMID, H. & VAN POPPEL, H. **2005**. Biological variation of total prostate-specific antigen: a survey of published estimates and consequences for clinical practice. *Clin Chem*, 51, 1342-51.
- THOMPSON, I., ANKERST, D., CHI, C., GOODMAN, P., TANGEN, C., LUCIA, M., FENG, Z., PARNES, H. & COLTMAN, C. J. **2006**. Assessing prostate cancer risk: results from the Prostate Cancer Prevention Trial. *J Natl Cancer Inst*, 98, 529-34.
- THOMPSON, I. & BRANTLEY, J. **2007**. Guideline for the management of clinically localized prostate cancer: 2007 update. American Urological Association Education and Research, Inc.
- THOMPSON, I. M., ANKERST, D. P., CHI, C., LUCIA, M. S., GOODMAN, P. J., CROWLEY, J. J., PARNES, H. L. & COLTMAN, C. A., JR. **2005**. Operating characteristics of prostate-specific antigen in men with an initial PSA level of 3.0 ng/ml or lower. *JAMA*, 294, 66-70.
- TOSOLIAN, J. & LOEB, S. **2010**. PSA and beyond: the past, present, and future of investigative biomarkers for prostate cancer. *ScientificWorldJournal*, 10, 1919-31.
- TRIBUKAIT, B. **1993a**. Nuclear deoxyribonucleic acid determination in patients with prostate carcinomas: clinical research and application. *Eur Urol*, 23 Suppl 2, 64-76.
- TRIBUKAIT, B. **1993b**. Tumor biology in diagnostic cytology: DNA cytometry in carcinomas of the bladder and prostate. *Recent Results Cancer Res*, 133, 23-31.
- TRIBUKAIT, B., ESPOSTI, P. L. & RONSTROM, L. **1980**. Tumour ploidy for characterization of prostatic carcinoma: flow-cytofluorometric DNA studies using aspiration biopsy material. *Scand J Urol Nephrol Suppl*, 55, 59-64.
- TUBARO, A., DE NUNZIO, C., MARIANI, S., TRUCCHI, A., MIANO, R., VICENTINI, C. & MIANO, L. **2010**. Reduction of prostate-specific antigen after tamsulosin treatment in patients with elevated prostate-specific antigen and lower urinary tract symptoms associated with low incidence of prostate cancer at biopsy. *Urology*, 76, 436-41.
- UEMURA, H., HOSHINO, K., SASAKI, T., MIYOSHI, Y., ISHIGURO, H., INAYAMA, Y. & KUBOTA, Y. **2009**. Usefulness of the 2005 International Society of Urologic Pathology Gleason grading system in prostate biopsy and radical prostatectomy specimens. *BJU Int*, 103, 1190-4.
- VAN DEN BERGH, R., ROEMELING, S., ROOBOL, M., ROOBOL, W., SCHRÖDER, F. & BANGMA, C. **2007**. Prospective validation of active surveillance in prostate cancer: the PRIAS study. *Eur Urol*, 52, 1560-3.

- VAN DEN BERGH, R., ROEMELING, S., ROOBOL, M., WOLTERS, T., SCHRÖDER, F. & BANGMA, C. **2008**. Prostate-specific antigen kinetics in clinical decision-making during active surveillance for early prostate cancer--a review. *Eur Urol*, 54, 505-16.
- VAN LEEUWEN, P., CONNOLLY, D., TAMMELA, T., AUVINEN, A., KRANSE, R., ROOBOL, M., SCHRODER, F. & GAVIN, A. **2010**. Balancing the harms and benefits of early detection of prostate cancer. *Cancer*.
- VELOSO, S. G., LIMA, M. F., SALLES, P. G., BERENSTEIN, C. K., SCALON, J. D. & BAMBIRRA, E. A. **2007**. Interobserver agreement of Gleason score and modified Gleason score in needle biopsy and in surgical specimen of prostate cancer. *Int Braz J Urol. Brazil*.
- VICKERS, A., SAVAGE, C., O'BRIEN, M. & LILJA, H. **2009**. Systematic review of pre-treatment prostate-specific antigen velocity and doubling time as predictors for prostate cancer. *J Clin Oncol*, 27, 398-403.
- VIS, A., ROEMELING, S., KRANSE, R., SCHRÖDER, F. & VAN DER KWAST, T. **2007**. Should we replace the Gleason score with the amount of high-grade prostate cancer? *Eur Urol*, 51, 931-9.
- VOLLMER, R. T. **2010**. Dissecting the dynamics of serum prostate-specific antigen. *Am J Clin Pathol*, 133, 187-93.
- WANG, N., WILKIN, C., BÖCKING, A. & TRIBUKAIT, B. **2000**. Evaluation of tumor heterogeneity of prostate carcinoma by flow- and image DNA cytometry and histopathological grading. *Anal Cell Pathol*, 20, 49-62.
- WELCH, H. & ALBERTSEN, P. **2009**. Prostate cancer diagnosis and treatment after the introduction of prostate-specific antigen screening: 1986-2005. *J Natl Cancer Inst*, 101, 1325-9.
- WHO **2008**. *The Global Burden of Disease 2004 un update*, Genf, The World Health Organization.
- WIRTH, M., WEIßBACH, L., ACKERMANN, R., ALBERTI, W., ALBRECHT, C., BERNT, G.-B., FRÖHNER, M., HINKELBEIN, W., MILLER, K., RÜBBEN, H., WIEGEL, T., WOLFF, J. & WÖRMANN, B. **2009**. Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur Früherkennung, Diagnose und Therapie der verschiedenen Stadien des Prostatakarzinoms. Deutsche Gesellschaft für Urologie e. V.
- WIRTH, M., WEIßBACH, L., BERNT, G.-B., FRÖHNER, M., HINKELBEIN, W., MILLER, K., RÜBBEN, H., STÖCKLE, M., WENZ, F., WIEGEL, T., WOLFF, J. & WÖRMANN, B. **2011**. Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur Früherkennung, Diagnose und Therapie der verschiedenen Stadien des Prostatakarzinoms. Deutsche Gesellschaft für Urologie e. V. (DGU).
- WOLF, A., WENDER, R., ETZIONI, R., THOMPSON, I., D'AMICO, A., VOLK, R., BROOKS, D., DASH, C., GUESSOUS, I., ANDREWS, K., DESANTIS, C., SMITH, R. & COMMITTEE, A. C. S. P. C. A. **2010**. American Cancer Society guideline for the early detection of prostate cancer: update 2010. *CA Cancer J Clin*, 60, 70-98.
- YIN, M., BASTACKY, S., CHANDRAN, U., BECICH, M. & DHIR, R. **2008**. Prevalence of incidental prostate cancer in the general population: a study of healthy organ donors. *J Urol*, 179, 892-5; discussion 895.
- ZAREBA, P., ZHANG, J., YILMAZ, A. & TRPKOV, K. **2009**. The impact of the 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) consensus on Gleason grading in contemporary practice. *Histopathology*, 55, 384-91.

7 Anhang

Einwilligungserklärung zum Datenschutz

Mir ist bekannt, dass bei dieser Studie personenbezogene Daten, insbesondere medizinische Befunde, über mich erhoben, gespeichert und ausgewertet werden sollen. Die Verwendung der Angaben über meine Gesundheit erfolgt nach gesetzlichen Bestimmungen und setzt vor der Teilnahme an der Studie folgende freiwillig abgegebene Einwilligungserklärung voraus, d.h. ohne die nachfolgende Einwilligung kann ich nicht an der Studie teilnehmen.

1) Ich erkläre mich damit einverstanden, dass im Rahmen dieser Studie erhobene Daten, insbesondere Angaben über meine Gesundheit, erhoben, in Papierform oder auf elektronischen Datenträgern im Institut für Cytopathologie des Universitätsklinikums Düsseldorf aufgezeichnet und gespeichert werden.

2) Ich bin darüber aufgeklärt worden, dass ich meine Einwilligung in die Aufzeichnung, Speicherung und Verwendung meiner Daten jederzeit widerrufen kann. Bei einem Widerruf werden meine Daten unverzüglich gelöscht.

3) Ich erkläre mich damit einverstanden, dass meine Daten nach Beendigung oder Abbruch der Studie 10 Jahre aufbewahrt werden. Danach werden meine personenbezogenen Daten gelöscht.

Name des Studienteilnehmers/gesetzlichen Vertreters in Druckbuchstaben

Datum, Unterschrift

Einverständniserklärung über die Verwendung von menschlichem Gewebe für Zwecke medizinischer Forschung

Sehr geehrter Patient,

bei Ihnen wurde ein Eingriff vorgenommen, bei dem eine Gewebeprobe aus der Prostata entnommen wurde. Die Entfernung dieses Gewebes erfolgte ausschließlich zur Sicherung der Diagnose. Wir würden gerne einen Teil des entnommenen Gewebestückes für wissenschaftliche Untersuchungen verwenden. Es handelt sich bei dem zu untersuchenden Gewebe um Restgewebe, welches nach bereits erfolgter Sicherung Ihrer Diagnose aufbewahrt wird. Es ist sichergestellt, dass die Verwendung des Gewebestückes für wissenschaftliche Untersuchungen auch im Nachhinein die Überprüfbarkeit und Wiederholbarkeit Ihrer Diagnose an den davon angefertigten Schnitten nicht beeinträchtigt.

Die Untersuchungen dienen ausschließlich der Grundlagenforschung. Ein unmittelbarer Nutzen aus solchen Untersuchungen ist für Sie selbst oder für die behandelnden Ärzte nicht zu erwarten. Die erhaltenen Daten werden jedoch möglicherweise in Zukunft zu verbesserten Behandlungsmethoden führen. Ihr Einverständnis zur Nutzung eines Teils des bei Ihnen entnommenen Gewebes zu Forschungszwecken ist selbstverständlich freiwillig. Sie können Ihr Einverständnis jederzeit ohne Angaben von Gründen widerrufen. Für die medizinische Behandlung entstehen Ihnen dadurch natürlich keine Nachteile. Im Falle Ihres Widerrufs werden die Untersuchungen an dem Gewebestück beendet und die Ergebnisse umgehend vernichtet.

Einwilligungserklärung:

Über Inhalt, Ablauf und Tragweite der geplanten Untersuchung wurde ich aufgeklärt. Die Patienteninformation habe ich gelesen, verstanden und alle meine Fragen klären können. Ich bin damit einverstanden, dass ein Teil des bei mir entnommenen Gewebes für wissenschaftliche Untersuchungen genutzt wird.

Name des Patienten

Ort, Datum

Unterschrift

Name des Arztes

Ort, Datum

Unterschrift

Informationsschreiben zur Studie

Sehr geehrter Patient,

in Zusammenarbeit mit der urologischen Gemeinschaftspraxis von Herrn Dr. med. Gleisner (DGU) in Wuppertal führen wir eine Studie durch mit dem Ziel die Früherkennung des Prostatakrebses zu verbessern.

Da Sie die Voraussetzung für eine Teilnahme an der Studie erfüllen, möchten wir Sie bitten mitzumachen. Ihre Teilnahme würde helfen Männer Ihres Alters, bei denen der Verdacht auf Prostatakrebs besteht, in Zukunft schonender zu behandeln. Wenn Sie teilnehmen möchten, so müssen Sie lediglich eine Einverständniserklärung unterschreiben. Es werden für die Studie **keine** weiteren Untersuchungen oder Blutentnahmen notwendig. Für die Studie werden nur diejenigen Daten und gegebenenfalls Gewebeproben verwendet, welche bereits vor Jahren bei Untersuchungen zur Prostatakrebsfrüherkennung in der urologischen Gemeinschaftspraxis erhoben wurden (siehe Begleitinformation).

Wir untersuchen dabei Entwicklungen des Prostata Spezifischen Antigens (PSA) über die Zeit. Unsere These ist, dass bei einer bösartigen Erkrankung der Prostata (Prostatakarzinom) ein schnellerer Anstieg der PSA-Werte zu beobachten ist als bei einer gutartigen Prostataerkrankung, der benignen Prostatahyperplasie (BPH). Auf Basis dieser These existiert eine Software, die anhand von mindestens drei PSA-Werten eine Aussage trifft, ob ein Verdacht auf ein Prostatakarzinom vorliegt und eine Gewebsentnahme der Prostata (Prostatastanzbiopsie) durchgeführt werden sollte. Wir möchten in unserer Studie testen, wie verlässlich diese Software arbeitet. Die Studie ist durch die Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf genehmigt (Studennummer 3987). Wenn sich am Ende der Studie zeigt, dass diese Software sicher und zuverlässig arbeitet, so könnte dadurch vielen Männern eine (wiederholte) Gewebsentnahme der Prostata erspart werden. Unsere Studie schließt sich somit dem Bestreben an, die Früherkennung und die Therapie des Prostatakarzinoms so sicher und sanft wie möglich zu gestalten. Zögern Sie bitte nicht mich bei Rückfragen zu kontaktieren. Sie können mich telefonisch montags und mittwochs unter der Nummer 02421 - 301713 erreichen und gerne auch einen Termin zum persönlichen Gespräch vereinbaren.

Mit freundlichen Grüßen



Patienten-Begleitinformation mit Aufklärung über die DNA-Zytometrie

Wie wird die Studie ablaufen?

1. Ihre PSA-Werte werden in die Software eingegeben.
2. Die Software gibt eine Empfehlung ab, ob eine Gewebsentnahme der Prostata empfohlen worden wäre.
3. Wir überprüfen die Empfehlung der Software anhand der Ergebnisse Ihrer bereits stattgefundenen Gewebsentnahme.
4. An den aufbewahrten Resten Ihrer damals entnommenen Gewebprobe wird eine Untersuchung der Krebszellen durchgeführt. Es handelt sich dabei um eine Bild-DNA-Zytometrie, mit deren Hilfe die Aggressivität des Prostatakarzinoms abgeschätzt werden kann. Diese Methode ist etabliert, wird jedoch noch nicht standardmäßig durchgeführt. Eine zusätzliche Gewebsentnahme ist dafür nicht notwendig. Auch die Qualität Ihrer zur Diagnostik verwendeten Schnittpräparate von den damals entnommenen Gewebeproben wird nicht beeinflusst, da wir für die Untersuchung ausschließlich Restmaterial verwenden. Eine Wiederholung und Überprüfung Ihrer Diagnose ist und bleibt jederzeit möglich.

Was müssen Sie noch wissen?

- Die Teilnahme an der Studie erfordert **keine** zusätzliche Blutentnahme, Gewebsentnahme oder sonstige Eingriffe.
- Die Ergebnisse unserer Studie haben **keinen** Einfluss auf jede Art von Entscheidungen, die Sie gemeinsam mit ihrem Arzt getroffen haben. In Zukunft könnten jedoch viele Männer von den Erkenntnissen dieser Studie profitieren.
- Ihre persönlichen Daten werden ausschließlich zum Zwecke dieser Studie verwendet und nicht an Dritte weitergegeben. Ihre Daten werden mit dem Zahlencode des

Patientenverwaltungsprogramms der urologischen Gemeinschaftspraxis verschlüsselt. Eine Identifikation Ihrer Person ist nur möglich, wenn dieser Zahlencode über das praxiseigene Patientenverwaltungsprogramm rückverfolgt wird. Außerhalb der Gemeinschaftspraxis ist eine Identifikation nicht möglich.

- Für eine Teilnahme an der Studie ist eine Einverständniserklärung notwendig. Dies betrifft zum einen die Verwendung Ihrer persönlichen Daten und zum anderen die Analyse von Resten Ihrer Gewebeprobe mit Hilfe der Bild-DNA-Zytometrie. Bitte unterschreiben Sie die beifügten Einverständniserklärungen und senden Sie diese in dem frankierten Rückumschlag an die urologische Gemeinschaftspraxis zurück.

Wir hoffen, dass Sie der wissenschaftliche Ansatz und das Konzept unserer Studie überzeugt haben und würden uns über Ihre Teilnahme freuen. Bitte unterschreiben Sie dafür die beifügten Einverständniserklärungen und senden Sie diese an uns

Patienten-Begleitinformation ohne Aufklärung über die DNA-Zytometrie

Wie wird die Studie ablaufen?

1. Ihre PSA-Werte werden in die Software eingegeben.
2. Die Software gibt eine Empfehlung ab, ob eine Gewebsentnahme der Prostata empfohlen worden wäre.
3. Wir überprüfen die Empfehlung der Software anhand der Ergebnisse Ihrer bereits stattgefundenen Gewebsentnahme.

Was müssen Sie noch wissen?

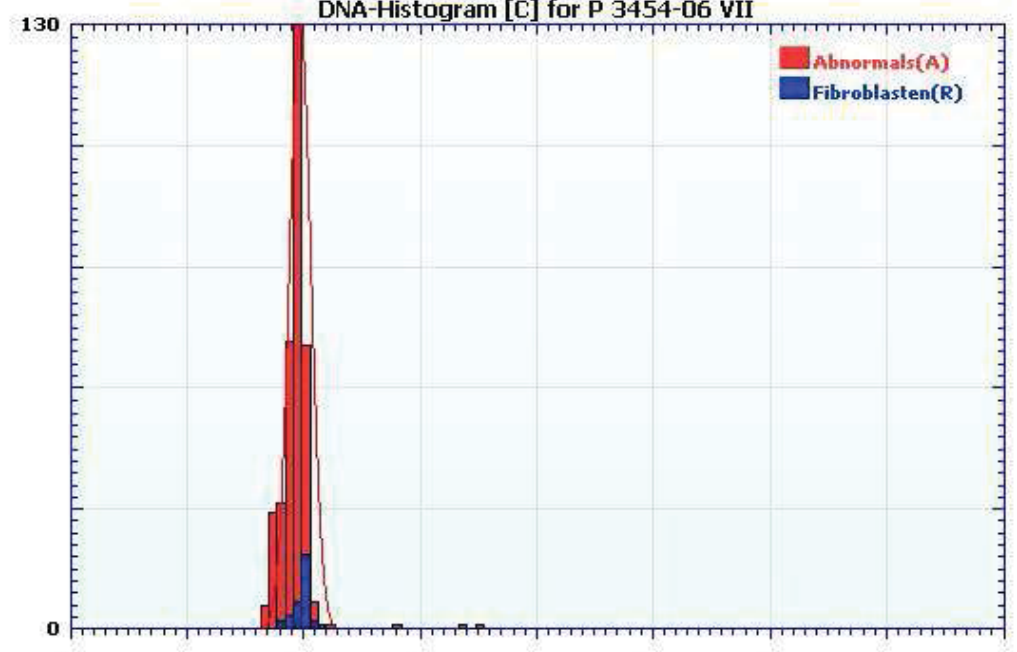
- Die Teilnahme an der Studie erfordert **keine** zusätzliche Blutentnahme, Gewebsentnahme oder sonstige Eingriffe.
- Die Ergebnisse unserer Studie haben **keinen** Einfluss auf jede Art von Entscheidungen, die Sie gemeinsam mit ihrem Arzt getroffen haben. In Zukunft könnten jedoch viele Männer von den Erkenntnissen dieser Studie profitieren.
- Ihre persönlichen Daten werden ausschließlich zum Zwecke dieser Studie verwendet und nicht an Dritte weitergegeben. Ihre Daten werden mit dem Zahlencode des Patientenverwaltungsprogramms der urologischen Gemeinschaftspraxis verschlüsselt. Eine Identifikation Ihrer Person ist nur möglich, wenn dieser Zahlencode über das praxiseigene Patientenverwaltungsprogramm rückverfolgt wird. Außerhalb der Gemeinschaftspraxis ist eine Identifikation nicht möglich.
- Für eine Teilnahme an der Studie ist eine Einverständniserklärung notwendig. Dies betrifft die Verwendung Ihrer persönlichen Daten. Bitte unterschreiben Sie die beigefügten Einverständniserklärungen und senden Sie diese im frankierten Rückumschlag an die urologische Gemeinschaftspraxis zurück.

Muster DNA-Zytometrie Histogramm

Typ A: DNA-diploid

Cytopathologie. Universitätsklinikum Düsseldorf Leitung: Prof. Dr. med. S. Biesterfeld Moorenstr. 5, 40225 Düsseldorf, Tel.: (0211)-8118346, Fax: (0211)-8118402	
DNA Image Cytometry	
Patient ID:	Material ID:
Last Name:	Organ:
First Name:	Material:
Birth Date:	Date of sample:
Sex:	Staining:
Barcode:	

DNA-Histogram [C] for P 3454-06 VII



Diagnostic Interpretation of DNA-Distribution

Physician's Signature		Date	
Technician's Signature:		Date	

MotiCyte-DNA-Manual Report

Muster DNA-Zytometrie Histogramm

Typ B: DNA-tetraploid

Cytopathologie, Universitätsklinikum Düsseldorf Leitung: Prof. Dr. med. S. Biesterfeld Moorenstr. 5, 40225 Düsseldorf, Tel.: (0211)-8118346, Fax: (0211)-8118402	
DNA Image Cytometry	
Patient ID:	Material ID:
Last Name:	Organ:
First Name:	Material:
Birth Date:	Date of sample:
Sex:	Staining:
Barcode:	

DNA-Histogram [C] for P 23920-08 VII A

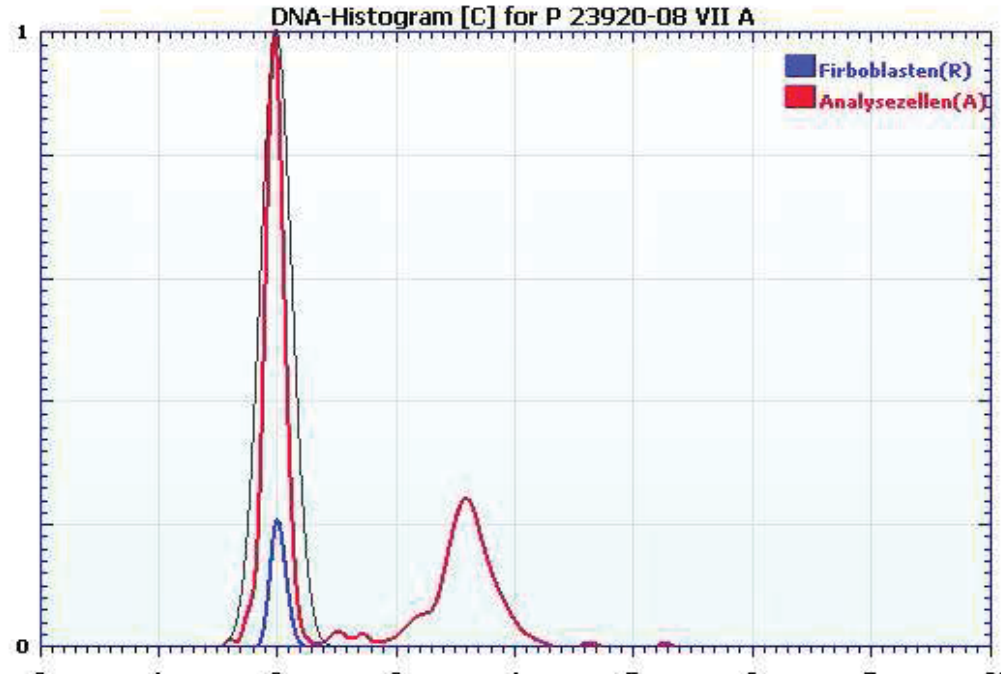
The histogram displays DNA content on the x-axis (labeled 0 to 8C) and relative frequency on the y-axis (labeled 0 to 1). Two distinct peaks are visible: a primary peak at approximately 2.0C and a secondary peak at approximately 3.8C. The red curve, representing 'Analysezellen(A)', shows a much higher frequency than the blue curve, representing 'Fibroblasten(R)'. Both curves show a similar bimodal distribution pattern.

Diagnostic Interpretation of DNA-Distribution

Physician's Signature	Date
Technician's Signature	Date

MotiCyte-DNA-Manual Report

Dreiseitiges Muster Protokoll einer DNA-Zytometrie

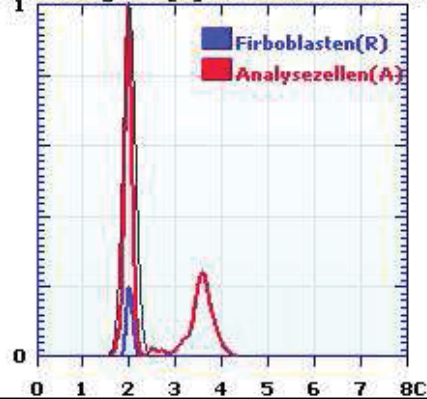
Cytopathologie, Universitätsklinikum Düsseldorf Leitung: Prof. Dr. med. S. Biesterfeld Moorenstr. 5, 40225 Düsseldorf, Tel.: (0211)-8118346, Fax: (0211)-8118402	
DNA Image Cytometry	
Patient ID: Last Name: First Name: Birth Date: Sex:	Material ID: Organ: Material: Date of sample: Staining:
Barcode:	
DNA-Histogram [C] for P 23920-08 VII A  Diagnostic Interpretation of DNA-Distribution	
Physician's Signature:	Date:
Technician's Signature:	Date:
MotiCyte-DNA-Manual Report	

DNA Image Cytometry

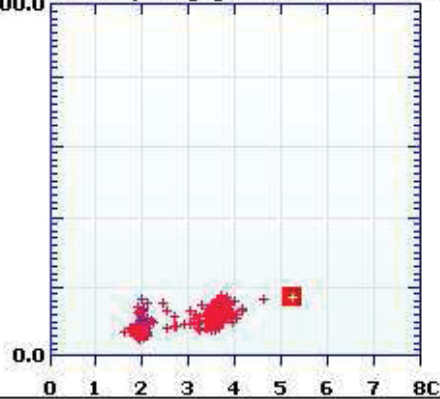
Patient ID:	Material ID:
Last Name:	Organ:
First Name:	Material:
Birth Date:	Date of sample:
Sex:	Staining:

Barcode:

DNA-Histogram [C] for P 23920-08 VII A



DNA-Scatterplot [C] for P 23920-08 VII A



Statistics	Stem1 1
Modal Value	1.98
DNA Index	0.99
Correlation	0.08

Reference Cell Type

Fibroblasten
 Number 31
 Correction 0.28
 CV[%] 2.33

Basic Indices

2c Reference IOD 274.27
 2c Deviation Index 0.91
 Diploid Dev. Quotient 1.29
 Z Value 9.17
 Ploidy Balance 0.57

Analysis Cells

Number	307	Aneuploid R.(d)	0.61
Min.[c]	1.61	Aneuploid R.(t)	0.02
Max.[c]	5.27	Modal[c]	1.95

Absolute Indices(events)

2.5c Ex Events	119
3c Ex. Events	112
4c Ex. Events	6
5c Ex. Events	1
7c Ex. Events	0
9c Ex. Events	0

Relative Indices (rate)

2.5c Ex. Rate	38.76
3c Ex. Rate	36.48
4c Ex. Rate	1.95
5c Ex. Rate	0.33
7c Ex. Rate	0.00
9c Ex. Rate	0.00

Diagnostic Interpretation of DNA-Distribution

Physician's Signature

Date

Technician's Signature:

Date

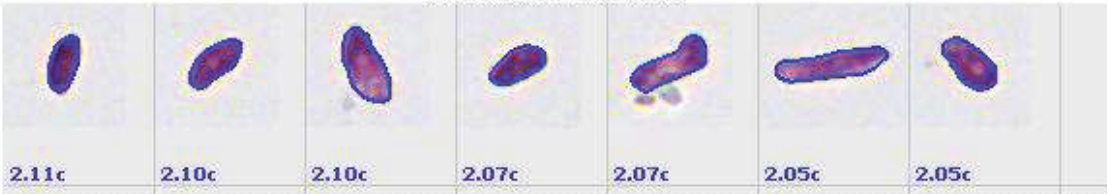
MotiCyte-DNA-Manual Report

DNA Image Cytometry

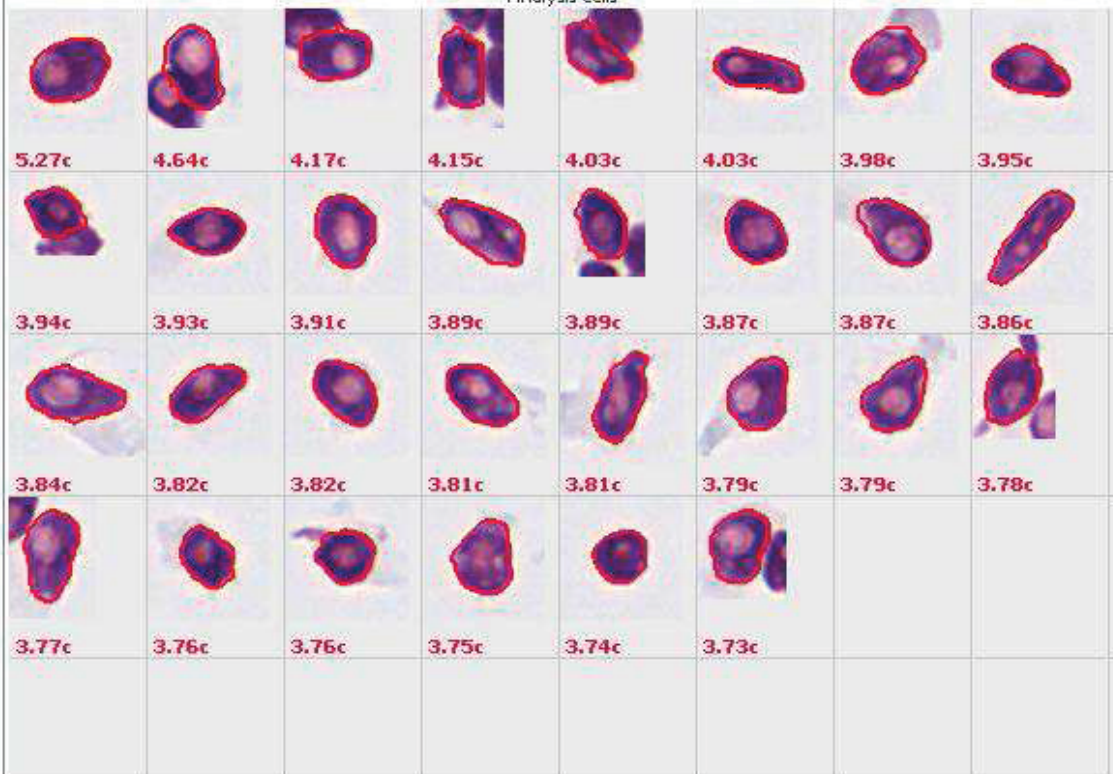
Patient ID:	Material ID:
Last Name:	Organ:
First Name:	Material:
Birth Date:	Date of sample:
Sex:	Staining:

Barcode:

Reference cells - Fibroblasten



Analysis cells



MotiCyte-DNA-Manual Report

Danksagung

Ich bedanke mich bei Herrn Prof. Dr. med. Alfred Böcking für seine weise Führung und jederzeit konstruktive Begleitung meiner Arbeit sowie die immer großzügig bemessene Zeit für Gespräche in jeder Phase der Arbeit.

Ich möchte mich bei Herrn Prof. Dr. med. Stefan Biesterfeld bedanken für seine Hilfe bei der histopathologischen Analyse der Prostatakarzinom-Präparate sowie seine beratende Unterstützung. Bei Herrn Prof. Dr. med. Stephan Störkel möchte ich mich bedanken für seine Unterstützung und Zusammenarbeit, ohne die die Bild-DNA-Zytometrie nicht Teil der Arbeit geworden wären. Ich möchte mich des Weiteren bei Frau Dr. med. Natalia Pomjanski bedanken, für Ihre Mühe bei der Gradierung der Bild-DNA-Zytometrien und der Ausarbeitung eines neuen Gradierungssystem, wodurch es möglich wurde die Reproduzierbarkeit der Bild-DNA-Zytometrie zu ermitteln. Weiterhin möchte ich Frau Birgit Buckstegge, Herrn Dr. Leonid Berynskyy und Herrn Witali Pomjanski danken für Ihre Anleitung und Mithilfe bei der Durchführung der Bild-DNA-Zytometrien.

Bedanken möchte ich mich vor allem auch bei der urologischen Gemeinschaftspraxis von Herrn Dr. med. Jochen Gleissner und der urologischen Gemeinschaftspraxis von Herrn Dr. med Martin Roth in Wuppertal für ihre großzügige Unterstützung bei der Datenerhebung und ihre hilfreiche Beratung bei vielerlei Fragen. Insbesondere danke ich Frau Ziaja und Frau Colak für ihren unermüdlichen Einsatz und ihre Unterstützung beim Einholen der Einverständniserklärungen. Weiterhin möchte ich mich bei Herrn Dr. Reinhart Willers bedanken für seine Geduld und Zeit mit der er mich in statistischen Fragen beraten hat. Schlussendlich bedanke ich mich herzlich bei meiner Mutter, meinem Vater, meinen Geschwistern Andrea, Lisa und Niels sowie meiner Freundin Theresia für die jahrelange unermüdliche Unterstützung in jeder Lebenslage und das geduldige Korrekturlesen vieler Seiten.

Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere an Eides statt, dass die Dissertation selbstständig und ohne unzulässige fremde Hilfe erstellt worden ist und die hier vorgelegte Dissertation nicht von einer anderen Medizinischen Fakultät abgelehnt worden ist.

26. September 2014

Michael Engelhardt