

Aus dem Institut für Pathologie und  
Funktionsbereich Cytopathologie  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf  
Funktionsbereich Cytopathologie  
Leiter: Dr. Schramm und Dr. Pomjanski

# **Verteilung von DNA-Ploidiemustern in Stanzbiopsien von Prostatakarzinomen**

Dissertation

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

vorgelegt von

Maurits Tils

2016

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

gez.:

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

Erstgutachter: Prof. Dr. Böcking

Zweitgutachter: Prof. Dr. Albers

**Diese Arbeit widme ich in großer Dankbarkeit und Liebe meinen Eltern Dorotheé und Dr. Herbert Tils sowie meiner Schwester Mirja.**

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht im:

BÖCKING, A., TILS, M., SCHRAMM, M., DIETZ, J. & BIESTERFELD, S. 2014. DNA-Cytometric Grading of Prostate Cancer systematic review with descriptive data analysis. *Pathology Discovery*, Volume 2

# 1 Abkürzungsverzeichnis

**Tabelle 1: Abkürzungsverzeichnis**

BDP	Bundesverband Deutscher Pathologen
ca.	circa
CV	coefficient of variation
d. h.	das heißt
DGP	Deutsche Gesellschaft für Pathologie
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ESACP	<i>European Society for Analytical Cellular Pathology</i>
EBM	Einheitlicher Bewertungsmaßstab
FCM	Durchflusszytometrie ( <i>DNA-flow-cytometry</i> )
FNAB	Feinnadelaspirationsbiopsie
GEKID	Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland
GKV	Gesetzliche Krankenversicherung
GS	Gleason - Score
HHU	Heinrich - Heine - Universität
ICM	DNA-Bildzytometrie ( <i>DNA-image-cytometry</i> )
IOD	Integrierte optische Dichte
ISUP	<i>International Society of Urological Pathology</i>
Lit.	Literatur
ml	Milliliter
mm	Millimeter
ng	Nanogramm
NICE	<i>National Institute for Health and Clinical Excellence</i>
OP	Operation
PC	Prostatakarzinom
PET-CT	Positronen-Emissions-Computertomographie

PRIAS	<i>Prostate Cancer Research International: Active Surveillance</i>
Prof.	Professor
PSA	Prostata-spezifisches Antigen
QALY	<i>Quality Adjusted Life Years</i>
RKI	Robert Koch Institut
RPE	radikale Prostatektomie
TNM	<i>Classification of Malignant Tumours</i>
TURP	<i>Transurethral resection of the prostate</i>
vs.	versus
WHO	<i>World Health Organization</i>

<b>1</b>	<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>V</b>
<b>2</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL UND METHODE .....</b>	<b>8</b>
<b>3.1</b>	<b>Patientenkollektiv .....</b>	<b>8</b>
<b>3.2</b>	<b>Methode .....</b>	<b>8</b>
3.2.1	Alter .....	8
3.2.2	TNM- <i>Staging</i> .....	9
3.2.3	Gleason-Score .....	11
3.2.4	DNA-Bildzytometrie .....	14
3.2.5	DNA-Malignitäts-Gradierung nach alter Definition .....	15
3.2.6	DNA-Malignitäts-Gradierung nach neuer Definition .....	15
<b>3.3</b>	<b>Vorgehensweise .....</b>	<b>19</b>
3.3.1	Alte DNA-Malignitäts-Gradierung .....	19
3.3.2	Neue DNA-Malignitäts-Gradierung .....	19
3.3.3	Vergleich zwischen alter und neuer DNA-Gradierung .....	19
3.3.4	Interindividuelle Reproduzierbarkeit .....	19
3.3.5	Vergleich der DNA-zytometrischen mit der histologischen Gradierung .....	20
3.3.6	Korrelation der DNA-Malignitäts-Gradierung mit etablierten prognostischen Markern zur Therapieplanung bzw. Indikationsstellung <i>Active Surveillance</i> .....	21
3.3.7	Heterogenität der DNA-Malignitäts-Gradierung innerhalb eines Tumors .....	22
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>23</b>
<b>4.1</b>	<b>Gleason-Score .....</b>	<b>23</b>
<b>4.2</b>	<b>DNA-Malignitäts-Gradierung .....</b>	<b>26</b>
4.2.1	Alte DNA-Malignitäts-Gradierung .....	26
4.2.2	Neue DNA-Malignitäts-Gradierung .....	28
4.2.3	Vergleich zwischen alter und neuer DNA-Gradierung .....	30
4.2.4	Interindividuelle Reproduzierbarkeit .....	32

4.2.5	Vergleich der DNA-zytometrischen mit der histologischen Gradierung.....	36
4.2.5.1	DNA-Gradierung vs. Gleason-Score.....	36
4.2.5.2	TNM-Klassifikation vs. Gleason-Scores und DNA-Gradierung .....	39
4.2.5.2.1	T-Kategorie.....	39
4.2.5.2.2	Tumorstaging vs. Gleason-Score und DNA-Gradierung .....	42
4.2.5.2.3	Lymphknotenbefall vs. Gleason-Score und DNA-Malignitäts-Gradierung.....	46
4.2.5.2.3.1	Lymphknotenbefall vs. Gleason-Score.....	46
4.2.5.2.3.2	Vergleich des Lymphknotenbefalls mit der DNA-Malignitäts-Gradierung des Primärtumors .....	47
4.2.5.2.4	Knochenmetastasen vs. feingewebliche Malignitätsgradierung.....	49
4.2.5.2.4.1	Knochenmetastasen vs. Gleason-Score .....	49
4.2.5.2.4.2	Knochenmetastasen vs. DNA-Malignitäts-Grad .....	51
4.2.5.3	Alter der Patienten vs. Gleason-Score und DNA-Malignitäts-Gradierung .....	52
4.2.5.3.1	Alter der Patienten mit dem Gleason-Score .....	52
4.2.5.3.2	Alter der Patienten mit der DNA-Malignitäts-Gradierung.....	54
4.2.5.4	Gesamtbefall der Stenzen mit dem Gleason-Score und der DNA-Malignitäts-Gradierung .....	55
4.2.6	Änderung der Indikationsstellung: <i>Active Surveillance</i> durch Einbeziehung der DNA-Malignitäts-Gradierung.....	59
4.2.7	Heterogenität der DNA-Malignitäts-Gradierung innerhalb eines Tumors .....	63
<b>5</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>67</b>
5.1	Reproduzierbarkeit der DNA-Bildzytometrie .....	67
5.2	Korrelation der DNA-Malignitätsgradierung mit dem Gleason-Score.....	69
5.3	Korrelation der DNA-Malignitätsgradierung mit dem Tumorstadium und dem Lebensalter .....	70
5.4	Bedeutung eines modifizierten Algorithmus zum DNA-Grading auf die Therapieplanung des Prostatakarzinoms, insbesondere auf die Indikation zur <i>Active Surveillance</i> .....	71
5.5	Kritik an der Arbeit .....	76
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>77</b>
<b>7</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>79</b>

<b>8</b>	<b>TABELLARISCHER ANHANG.....</b>	<b>91</b>
<b>9</b>	<b>TABELLENVERZEICHNIS.....</b>	<b>109</b>
<b>10</b>	<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....</b>	<b>112</b>
<b>11</b>	<b>DANKSAGUNG.....</b>	<b>114</b>

## 2 Einleitung

Das Adenokarzinom der Prostata bleibt trotz aufwändiger Screeningprogramme sowie deutlichen Verbesserungen in Diagnostik und Therapie eine große Herausforderung, da der klinische Verlauf von langsam progredient bzw. indolent und ohne Einschränkung der Lebensqualität und Lebenserwartung bis zu aggressiven, früh metastasierenden Formen mit einer Lebenserwartung von nur wenigen Monaten nach Diagnosestellung reichen kann.

Das Prostatakarzinom ist mit 25,4% aller neu diagnostizierten Krebserkrankungen hierzulande der häufigste Tumor des Mannes. Nach aktuellen Schätzungen erkrankten 63.440 Männer in Deutschland pro Jahr neu an diesem Tumor (Robert-Koch-Institut, 2008). Es ist jedoch davon auszugehen, dass diese Zahl weiter steigen wird, da über intensiviertere Screeningprogramme auf der einen Seite und die zunehmende Alterung der Gesellschaft auf der anderen Seite die Diagnoserate weiter zunehmen wird.

Obwohl dieser Tumor häufig erst im höheren Alter (medianes Lebensalter bei Diagnosestellung: 69 Jahre) diagnostiziert wird, ist das Prostatakarzinom die zweithäufigste Krebstodesursache unter Männern (Robert-Koch-Institut, 2008).

In der aktuellen S3-Leitlinie Prostatakarzinom sind der derzeitige Status der Diagnostik und Therapie zusammengefasst und die aktuellen Herausforderungen beschrieben. Die routinemäßige Bestimmung des Serum-PSA-Wertes hat zwischen 1979 und 2003 zu einem Inzidenzsprung für das Prostatakarzinom um das 4,28-fache geführt (Weißbach, 2009). Obwohl die Inzidenz deutlich anstieg, nahm die standardisierte Mortalität mit dem Alter ab, und zwar mit und ohne Früherkennungsprogramme (Bangma et al., 2007). Damit werden immer mehr Karzinome der Prostata diagnostiziert, die ohne Früherkennung unentdeckt geblieben wären, mit der Folge, dass heute auf einen verhinderten Todesfall 40 Überbehandlungen kommen (Deutsche Gesellschaft für Urologie, 2011) und die Zahl der durchgeführten radikalen Prostatektomien ständig steigt. Durch die frühere Diagnosestellung ergibt sich das therapeutische Dilemma, entweder durch eine radikale Prostatektomie eine „Übertherapie“ einzuleiten oder wegen eines verzögerten Behandlungsbeginns die Prognose für den Patienten unnötig zu verschlechtern (Tribukait, 1993a). Diese Beobachtung hat zu einem Paradigmenwechsel in der Früherkennung des Prostatakarzinoms geführt. Ziel der Früherkennung ist es jetzt, organbegrenzte, aggressive Tumoren zu erkennen (Deutsche Gesellschaft für Urologie, 2011), die unter einer *Active*

*Surveillance* Strategie beobachtet und erst bei Fortschreiten der Erkrankung kurativ behandelt werden (Deutsche Gesellschaft für Urologie, 2011). Die S3-Leitlinie von 2011 empfiehlt die Active Surveillance als gleichberechtigte Therapieoption für das lokal begrenzte Karzinom, die *NICE Clinical Guideline 58 Prostate Cancer* (Cancer, 2008) sogar als alleinige Therapieoption für den organbegrenzten Tumor. Damit ist in der Therapie des Prostatakarzinoms ein Paradigmenwechsel eingeleitet, in dem ein rezidivfreies Überleben das Behandlungsziel ist, um die Lebensqualität des oft betagten Patienten so lange wie möglich zu erhalten (Weißbach, 2010).

Der in den siebziger Jahren des letzten Jahrhunderts entwickelte Gleason-Score hat über die subjektive histologische Bewertung der malignen Potenz von Karzinomen an Resektaten und Biopsaten der Prostata wesentlich zur Verbesserung des Tumorgrading und -staging beigetragen (Deutsche Gesellschaft für Urologie, 2011), jedoch zeigen neuere Untersuchungen, dass die Aussagekraft des Gleason-Scores gerade bei frühen Tumoren begrenzt ist (Helpap and Köllermann, 2012). Retrospektive Studien haben gezeigt, dass die Reproduzierbarkeit des Gleason-Scores mäßig ist (Svanholm and Mygind, 1985, Rousselet et al., 1986, Cintra and Billis, 1991, Ozdamar et al., 1996, Lessells et al., 1997, Iczkowski and Bostwick, 1998, Allsbrook et al., 2001a, Allsbrook et al., 2001b, Egevad, 2001, De la Taille et al., 2003, Glaessgen et al., 2004b, Glaessgen et al., 2004a, Griffiths et al., 2006, Veloso et al., 2007, Burchardt et al., 2008). Die interindividuelle Reproduzierbarkeit ist am geringsten, wenn Tumorgewebe aus verschiedenen Biopsaten begutachtet wird oder cribriforme Gewebemuster auftreten (De la Taille et al., 2003, Glaessgen et al., 2004b).

Mit dem Gleason-Score (Gleason, 1966) etablierte sich ein Schema, mit dem aufgrund der histologischen Untersuchung des befallenen Prostatagewebes ein Tumorgrading definiert wurde und das von verschiedenen Fachgesellschaften zur Prognostik und Therapieplanung des Prostatakarzinoms aufgenommen wurde. Mit dem zunehmenden Kenntnisgewinn in der feingeweblichen Untersuchung, insbesondere der Immunhistochemie, und den gestiegenen Anforderungen an die Therapieplanung durch verbesserte Diagnostik und verschiedene Therapieoptionen zeigen sich die Grenzen des Gleason-Score in der klinischen Routine deutlich. Wesentliche Kritikpunkte am Gleason-Score sind: (a) die mangelnde inter- und intraindividuelle Reproduzierbarkeit (Svanholm and Mygind, 1985, Rousselet et al., 1986, Cintra and Billis, 1991, Ozdamar et al., 1996, Lessells et al., 1997, Iczkowski and Bostwick, 1998, Allsbrook et al., 2001a, Allsbrook et al., 2001b, Egevad, 2001, De la Taille et al., 2003, Glaessgen et al., 2004b,

Glaessgen et al., 2004a, Griffiths et al., 2006, Veloso et al., 2007, Burchardt et al., 2008), (b) die mangelnde Übereinstimmung von Ergebnissen aus Stanzbiopsien und Ektomiepräparaten (Helpap and Egevad, 2006, Veloso et al., 2007, Uemura et al., 2009), (c) mangelhafte prognostische Validität des Scores, da die meisten Ergebnisse Gleason-Score 6 und 7 sind.

Um den gestiegenen Anforderungen aus verbesserter Diagnostik (z. B. PSA-Screening) und Therapieplanung gerecht zu werden, wurde der Gleason-Score 2005 in der *ISUP-Consensus-Conference* überarbeitet (Epstein et al., 2005). Als Ergebnis dieser Konferenz kam es zu einer Höhergradierung einer Vielzahl von Tumoren, um eine bessere Übereinstimmung der Scores zwischen Stanze und Ektomiepräparaten erreichen zu können (Epstein et al., 2005). Diese Publikation bleibt aber Evidenzen für die klinisch-prognostische Validität der vorgeschlagenen Änderungen des erzielten Konsens schuldig (Uemura et al., 2009, Kristiansen, 2009). Auch eine verbesserte Reproduzierbarkeit des modifizierten Gleason-Scores konnte bisher nicht nachgewiesen werden (Kristiansen, 2009, Uemura et al., 2009).

Heute stellt sich immer häufiger die Frage, ob es neben dem Gleason-Score noch weitere, objektivere und validere Marker gibt, die einen höheren prognostischen Wert aufweisen (Böcking et al., 2014, Harnden et al., 2008). So kann die DNA-Bildzytometrie über zytometrisch quantifizierte Effekte der mit der Tumorprogression zunehmenden Chromosomenaberration auf den DNA-Gehalt der Tumorzellkerne ergänzende prognostische Informationen liefern (Keyes et al., 2013, Pretorius et al., 2009, Haroske et al., 2001, Böcking et al., 1995). Die Tumorerheterogenität ist ein wesentlicher Grund für die häufige Unterschätzung der Tumoraggressivität aus Stanzbiopsien (Wang et al., 2000). Da DNA-Messungen heute mithilfe einer standardisierten Bildanalysesoftware automatisch von einem computergesteuerten motorisierten Mikroskop durchgeführt werden können, können subjektive Einflüsse bei der Auswahl zu messender Zellkerne durch verschiedene Untersucher ausgeschlossen werden.

Untersuchungen von Böcking (Wang et al., 2000) und anderen Arbeitsgruppen (Lorenzato et al., 2004, Isharwal et al., 2009) haben gezeigt, dass die sogenannte DNA-Ploidie in Tumorzellkernen eine vom histologischen Grading und Tumorstaging des Prostatakarzinoms unabhängige zusätzliche prognostische Information liefern kann. Bedingt durch die zytogenetische Tumorprogression kann es auch im Verlauf mehrerer Jahre zu einer klinischen Tumorprogression kommen (Duesberg and McCormack, 2013). Damit geht ein signifikanter Anstieg der Abnormalitäten der DNA-Verteilung einher. Viele Arbeiten weisen darauf hin, dass ein hoher

Grad an DNA-Aneuploidie mit fortgeschrittenen Tumorstadien und schlechterer klinischer Prognose verbunden sind (Hussain et al., 1993). Gerade bei Patienten mit einem *low grade* Tumor besitzt der Nachweis eines hohen Grades an DNA-Aneuploidie eine hohe prognostische Validität, während bei Patienten mit einem histologisch entdifferenzierten Tumor die Prognose schlecht zu sein scheint, unabhängig vom DNA-Ploidie-Status (Hussain et al., 1993).

Schon 1982 haben Böcking et al. (1982) die wesentlichen Anforderungen für eine verlässliche Malignitätsgradierung zusammengefasst: (1) Alle bewerteten mikroskopischen Kriterien müssen mit der Prognose des Patienten korrelieren, (2) subjektive Gradierungsergebnisse sollten hinreichend reproduzierbar sein und (3) die aus randomisierten Stanzbiopsien erhobenen Gradierungsbefunde müssen repräsentativ für den Gesamttumor sein.

Böcking et al. (2014) haben in einer systematischen Literaturrecherche die Bedeutung der DNA-Zytometrie für die Prognose des Prostatakarzinoms untersucht. In 66 Publikationen mit Daten zu 15.693 Patienten wird über eine statistisch signifikante Korrelation zwischen den verschiedenen DNA-Ploidie-Parametern und einem klinisch relevanten Endpunkt berichtet (Tabellen 31-36). In dieser systemischen Literaturrecherche werden die methodisch zureichenden Studien nach den Oxford Levels of Evidence (Howick et al., 2011) (Tabelle 30) bewertet und signifikante Korrelationen von DNA-Ploidie-Parametern mit prognostischen Variablen herausgestellt.

- 8 Level-1b-Studien belegen eine statistisch signifikante Korrelation zwischen DNA-zytometrischen Charakteristika und der in Prostataresektaten histologisch nachgewiesenen Ausbreitung des Tumors über die Organkapselwand hinaus (Isharwal et al., 2009, Brinker et al., 1999, Vesalainen et al., 1994, Ross et al., 1994a, Ross et al., 1994b, Greene et al., 1994, Haggman et al., 1994, Badalament et al., 1991). In vier dieser Publikationen wird eine signifikante Verbesserung der diagnostischen Qualität in der Beurteilung einer Organbegrenzung des Tumors über Einbeziehung von DNA-Ploidie-Parametern gegenüber der Verwendung des Gleason-Score allein beschrieben (Tabelle 31).
- In 11 Level-2b-Studien wurde in einer multivariaten Analyse eine statistisch signifikante Korrelation von DNA-zytometrischen Charakteristika mit dem rezidivfreien Überleben von Patienten nach radikaler Prostatektomie in multivariater Analyse belegt (Pretorius et al., 2009, Bantis et al., 2005, Bantis et al., 2009, Deliveliotis et al., 2003, Gettman et al., 1999, Lerner et al., 1996, Zincke et al., 1992,

Wirth et al., 1991, Blute et al., 1989, Nativ et al., 1989, Winkler et al., 1988), entsprechende Korrelationen wurden auch in zwei univariaten Analysen dokumentiert (Amling et al., 1999, Linda B. Mora, 1999). Centeno et al. (1994) beschrieb die gleiche Korrelation bei Patienten nach Bestrahlung in einer multivariaten Analyse. 4 Level-3b-Studien (Carmichael et al., 1995, Hawkins et al., 1995, Montgomery et al., 1990, Voges et al., 1993) stellen eine signifikante Korrelation von DNA-Ploidie-Parametern mit dem rezidivfreien Überleben in multivariaten Analysen fest (Tabelle 32).

- 3 Level-2b-Studien mit multivariatem Studiendesign (Borre et al., 1998, Tribukait, 1991, Tribukait, 1993b, Vesalainen et al., 1994) belegen eine Korrelation von DNA-Ploidie-Parametern mit dem Gesamtüberleben bei Patienten unter Aktiver Überwachung, die unabhängig vom histologischen oder zytologischen Grading ist (Tabelle 6). Gleiches wurde in einer Level-2b-Studie multivariat für das rezidivfreie Überleben beschrieben (Adolfsson and Tribukait, 1990), (Tabelle 32).
- 6 Level-2b-Studien dokumentieren eine signifikante Korrelation der DNA-Ploidie mit dem Gesamtüberleben nach radikaler Prostatektomie (Amling et al., 1999, Ward et al., 2005, Martinez-Jabaloyas et al., 2002), davon zwei in multivariatem Design. In 4 Level-3b-Studien wird Gleiches beschrieben (Montgomery et al., 1990, Bratt et al., 1996, Tinari et al., 1993), davon eine univariat (Miller et al., 1991). Sechs Studien in multivariatem Design (Ahlgren et al., 1997, Forsslund et al., 1996, Martinez-Jabaloyas et al., 2002, Stege et al., 1992, Pollack et al., 1997) dokumentieren damit eine signifikante Korrelation von DNA-Ploidie-Parametern mit dem Gesamtüberleben bei Patienten unter Hormontherapie. 8 Level-3b-Studien (al-Abadi and Nagel, 1992), sieben davon multivariate (Vesalainen et al., 1994, Tribukait, 1993b, Ahlgren et al., 1997, Forsslund et al., 1996, Martinez-Jabaloyas et al., 2002, Pollack et al., 1997, Stege et al., 1992, van den Ouden et al., 1993, Di Silverio et al., 1992, Forsslund et al., 1992, Fordham et al., 1986), zeigen gleiche Ergebnisse. 2 Level-3b-Studien untersuchten das Gesamtüberleben unter Aktiver Überwachung (Vesalainen et al., 1994, Tribukait, 1993b) und beschreiben eine signifikante Korrelation in einer multivariaten Analyse. Jörgensen et al. (1995) repräsentiert die einzige Publikation, in der die DNA-Ploidie-Befunde nicht mit der Überlebenszeit korrelierten. Aber in

diesen Publikationen korrelierten auch weder der Gleason-Score noch der WHO-Score damit (Tabelle 33).

- 18 Level-2b-Studien beschreiben, dass DNA-Ploidie-Parameter signifikante prognostische Informationen liefern, die unabhängig vom Gleason-Score sind, davon 12 nach radikaler Prostatektomie (Pretorius et al., 2009, Ross et al., 1994a, Bantis et al., 2009, Deliveliotis et al., 2003, Amling et al., 1999, Winkler et al., 1988, Stephenson et al., 1987, Blute et al., 1997, Brinker et al., 1999, Bantis et al., 2005, Lerner et al., 1996, Blute et al., 1989, Ward et al., 2005), zwei nach Hormontherapie (Martinez-Jabaloyas et al., 2002, Martinez Jabaloyas et al., 2004), eine nach Bestrahlung (Pollack et al., 2003), eine nach *Active Surveillance* (Borre et al., 1998) und eine nach Brachytherapie (Keyes et al., 2013) und eine nach Androgendeprivation (Martinez-Jabaloyas et al., 2002). In 9 Level-3b-Studien nach radikaler Prostatektomie werden vergleichbare Ergebnisse beschrieben (Di Silverio et al., 1996, Hawkins et al., 1995, Isharwal et al., 2009, Montgomery et al., 1990, Nativ et al., 1989, Ross et al., 1994b, Ross et al., 1999, Tinari et al., 1993, Voges et al., 1993), (Tabelle 34).
- In 5 Level-2b-Studien (Montgomery et al., 1990, Ross et al., 1994a, Ross et al., 1999, Winkler et al., 1988, Zincke et al., 1992) wird eine signifikante Korrelation zwischen DNA-Ploidie-Parametern und dem Auftreten einer lokalen Tumor-Progression oder einem Rezidiv nach radikaler Prostatektomie dokumentiert, in einem Fall nach Hormontherapie (Eskelinen et al., 1991), in einem weiteren nach Brachytherapie (Keyes et al., 2013), (Tabelle 35).
- 3 Level-2b (Ross et al., 1994a, Winkler et al., 1988, Ross et al., 1993) und 1 Level-3b-Studie (Ross et al., 1994b) zeigen eine signifikante Korrelation der DNA-Ploidie-Parameter mit dem Auftreten von Lymphknoten- oder Knochenmetastasen nach radikaler Prostatektomie. 2 Level-3b-Studien zeigen das Gleiche nach Hormontherapie (Tribukait, 1993b, Eskelinen et al., 1991).

Für die klinische Prognose und Therapieplanung beim PC ist die Korrelation zwischen den Ergebnissen der feingeweblichen Untersuchung an Stanzbiopsien mit denen aus zugehörigen Prostatektomiepräparaten aber wesentlich (Repräsentativität einer Untersuchungsmethode).

Aus vergleichenden histologischen und zytologischen Untersuchungen ist bekannt, dass Prostatakarzinome histologisch häufig bemerkenswerte Unterschiede zeigen (Glaessgen et al.,

2004a) und dass daher mit dem Gleason-Score an einer Stanzbiopsie nicht notwendigerweise der höchste Malignitätsgrad im Gesamtmuster beschrieben wird (Glaessgen et al., 2004a). Gerade wenn hoch entdifferenzierte histologische Muster weniger als 5% des Tumors ausmachen, werden diese häufig nicht berücksichtigt, obwohl sie wahrscheinlich prognostisch relevant sind (Glaessgen et al., 2004a). In mehreren Studien wurden Übereinstimmungen zwischen den an Stanzbiopsien und an Resektaten ermittelten Gleason-Scores zwischen 70% und 72% ermittelt (Uemura et al., 2009, Veloso et al., 2007, Helpap and Egevad, 2006). Damit zeigt sich eine konsistente Limitierung des Gleason-Scores im Bereich der Tumore mit hoher Malignität. Dies spielte in den siebziger Jahren des letzten Jahrhunderts eine nur untergeordnete Rolle, da damals die Diagnosen eher in fortgeschritteneren Tumorstadien gestellt wurden (Helpap and Köllermann, 2012).

Leung et al. (1994) und Ross et al. (1994b) berichten über eine 92%ige bzw. 98%ige Übereinstimmung der an Stanzbiopsien und korrespondierenden Prostatektomiepräparaten ermittelten DNA-Ploidiegrade.

In dieser Arbeit werden die Ergebnisse der an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf durchgeführten prognostischen DNA-Bildzytometrien an Prostatabiopsaten mit den Ergebnissen der Malignitäts-Gradierung nach Gleason und dem TNM-Staging derselben Patienten verglichen, um Antworten auf folgende Fragen zu finden:

- Wie hoch die interindividuelle Reproduzierbarkeit der DNA-Malignitäts-Gradierung des Prostatakarzinoms und wie vergleicht sich diese mit derjenigen des Gleason-Scores?
- Korrelieren die Ergebnisse der DNA-Malignitäts-Gradierung mit denen des Gleason-Scores und stellt die DNA-Bildzytometrie gegebenenfalls ein zusätzliches prognostisches Verfahren zur therapeutischen Beratung des Patienten dar?
- Gibt es eine Korrelation zwischen Tumorstadium des Patienten mit dem DNA-Ploidiemuster?
- Welche Bedeutung hat die Einführung eines modifizierten Algorithmus zum DNA-Grading auf die weitere Therapieplanung des Prostatakarzinoms, insbesondere auf die Zuordnung geeigneter Patienten zur *Active Surveillance*?

## **3 Material und Methode**

### **3.1 Patientenkollektiv**

In dieser retrospektiven Arbeit, die zwischen dem 1. November 2009 und dem 30. November 2011 durchgeführt wurde, wurden alle Stanzbiopsie-Präparate, die zwischen dem 01.01.2005 und dem 31.12.2009 zur Malignitäts-Gradierung eines Prostatakarzinoms im Cytopathologischen Institut der HHU Düsseldorf mit Hilfe der DNA-Bildzytometrie untersucht wurden, ausgewertet. Die erhobenen Daten wurden vor der endgültigen Auswertung irreversibel anonymisiert.

Die oben aufgeworfenen Fragen wurden an einem Patientengut mit der bereits von anderen Pathologen bestätigten histopathologischen Diagnose eines Adenokarzinoms der Prostata durchgeführt.

Es wurde eine deskriptive Statistik für die eingeschickten Stanzen bei 393 von 411 erfassten Patienten erstellt. Bei 18 (4,4%) Biopsien waren mangels genügend Restgewebe in den Paraffinblöcken DNA-zytometrische Untersuchungen nicht möglich. Die DNA-Bildzytometrien wurden von Prof. Böcking und seinem Team zwischen dem 01.01.2005 und dem 31.12.2009 durchgeführt, basierend auf der Methode, die erstmals durch Tavares et al. (1966) beschrieben wurde.

Der Mittelwert des Alters der Studienteilnehmer lag bei 61,2 Jahren, dabei war der jüngste Patient 48 und der älteste 84 Jahre alt.

### **3.2 Methode**

In den Akten aller Patienten, für die eine DNA-Bildzytometrie an Stanzbiopsien aus ihrer Prostata durchgeführt werden konnte, wurde nach folgenden Parametern gesucht:

#### **3.2.1 Alter**

Es wurde jeder Mann aufgenommen, der ein histologisch bestätigtes Prostatakarzinom (PC) aufwies. Das Alter der Patienten wurde in Korrelation zum Gleason-Score und zum DNA-Malignitätsgrad gesetzt.

### 3.2.2 TNM-Staging

Die TNM-Klassifikation (engl.: *TNM Classification of Malignant Tumours* oder kurz *TNM Staging System*) wurde von Pierre Denoix in den Jahren 1943 bis 1952 entwickelt. Diese ist das international am weitesten verbreitete System zur Beschreibung des individuellen Standes einer Krebsprogression (*Staging*) und zur Einschätzung der individuellen Prognose einer Krebserkrankung. Für die Prostata gilt diese Klassifikation nur für Adenokarzinome. Übergangszellkarzinome der Prostata werden bei den Tumoren der Urethra klassifiziert (Wagner, 5. Auflage, 1997).

Dabei beschreibt T (= Tumor) die Größe und Ausdehnung des Primärtumors. N (= Nodus lymphaticus, Lymphknoten) gibt an, ob der Patient einen regionalen oder darüber hinausgehenden metastatischen Lymphknoten hat. Hierbei zählen nur die Lymphknoten des kleinen Beckens (Wittekind C, 2005). Komplettiert wird die Klassifikation durch M (= Metastasen), das für Fehlen bzw. Vorhandensein von Fernmetastasen steht. Während es in den beiden letztgenannten Kategorien darum geht, ob Metastasen vorhanden sind oder nicht, gibt es beim *Staging* des Primärtumors mehrere ineinander übergehende Stufen (Tabelle 2 - Tabelle 4).

**Tabelle 2: Definitionen der T-Kategorien der TNM-Klassifikation (Wittekind C, 2005)**

T - Primärtumor	
TX	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0	Kein Anhalt für Primärtumor
T1	Klinisch nicht erkennbarer Tumor, der weder tastbar noch in bildgebenden Verfahren sichtbar ist
T1a	Tumor zufälliger histologischer Befund ( <i>incidental carcinoma</i> ) in 5 % oder weniger des resezierten Gewebes
T1b	Tumor zufälliger histologischer Befund ( <i>incidental carcinoma</i> ) in mehr als 5 % des resezierten Gewebes
T1c	Tumor durch Nadelbiopsie diagnostiziert (z. B. wegen erhöhtem PSA)
T2	Tumor begrenzt auf Prostata
T2a	Tumor befällt die Hälfte eines Lappens oder weniger
T2b	Tumor befällt mehr als die Hälfte eines Lappens
T2c	Tumor in beiden Lappen
T3	Tumor durchbricht die Prostatakapsel
T3a	Extrakapsuläre Ausbreitung (einseitig oder beidseitig)
T3b	Tumor infiltrierte Samenblase(n)
T4	Tumor ist fixiert oder infiltrierte andere benachbarte Strukturen als die Samenblasen, z. B. Blasen Hals, Sphincter externus, Rektum und/oder Levatormuskel und/oder ist an Beckenwand fixiert

**Tabelle 3: Definitionen der N-Kategorien der TNM-Klassifikation (Wittekind C, 2005)**

N - Regionäre Lymphknoten	
NX	Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden
N0	Keine regionären Lymphknotenmetastasen
N1	Regionäre Lymphknotenmetastasen

**Tabelle 4: Definitionen der M-Kategorien der TNM-Klassifikation (Wittekind C, 2005)**

M - Fernmetastasen	
MX	Fernmetastasen können nicht beurteilt werden
M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen

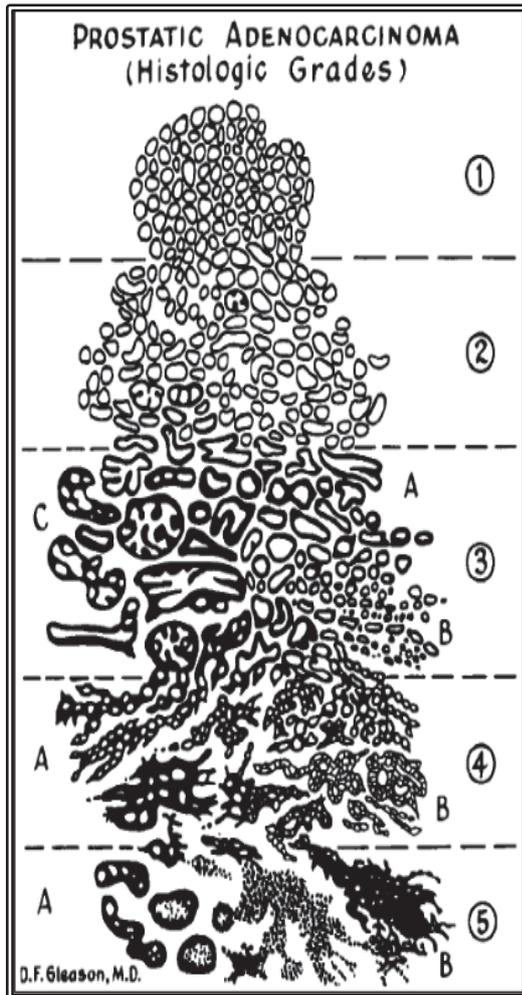
### 3.2.3 Gleason-Score

Donald F. Gleason entwickelte im Jahre 1966 den nach ihm benannten Score (Gleason, 1966). Nach den aktuellen S3-Leitlinien (Deutsche Gesellschaft für Urologie, 2011) werden das TNM-Stadium, der R-Status des Resektates und der Gleason-Score (Roehl et al., 2004, Lopez-Beltran et al., 2006) als prognostisch relevant angesehen (Bostwick and Foster, 1999, Epstein et al., 1996, Partin et al., 2001, Svanholm and Mygind, 1985, Makarov et al., 2007, Kattan and Eastham, 2003). Die Gleason-Gradierung basiert auf der histologischen Beurteilung der Drüsenmorphologie bei relativ geringer mikroskopischer Vergrößerung. Der ursprüngliche Gleason-Score setzt sich aus der Summe zweier Grade zusammen, dem des vorherrschenden und dem des zweithäufigsten Drüsentyps. Diese Grade können jeweils zwischen 1 - 5 liegen (Tabelle 5) und somit eine Summe zwischen 2 und 10 ergeben. Grad 1 beschreibt die am besten differenzierten Tumoranteile und Grad 5 die entdifferenziertesten Teile. In der unten gezeigten Tabelle 5 sind die Definitionen der verschiedenen Malignitäts-Grade dargestellt.

In der von der *International Society of Urological Pathology* 2005 (Epstein et al., 2005) modifizierten Gleason-Gradierung werden Teile des Musters des ursprünglichen Grades 3 als Grad 4 eingestuft. Dadurch soll eine bessere Übereinstimmung der Scores zwischen Stanze und Ektomiepräparat erreicht werden. Weiterhin wurde die Bestimmung des Scores an Stanzbiopsien dahingehend geändert, dass seine Ermittlung nicht mehr aus der Summe des häufigsten und des zweithäufigsten Musters erfolgt (Shah, 2009), sondern dass, sofern ein entdifferenzierteres Muster vorliegt, dieses angegeben werden muss (z. B. Grad 3 [50%], Grad 4 [40%], Grad 5 [10%], ergibt Gleason-Score  $3 + 5 = 8$ ) (Helpap et al., 2011, Kristiansen, 2009). Des weitern sollen die Gleason-Grade (Muster) 1 und 2 in Stanzbiopsien nicht mehr vergeben werden (Helpap et al.,

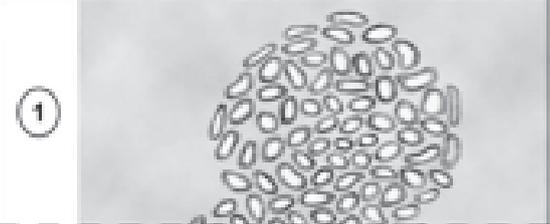
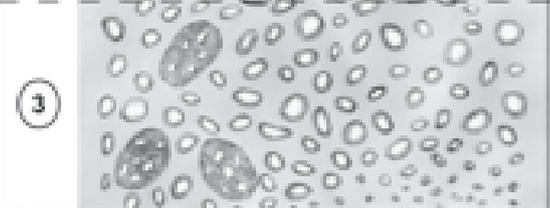
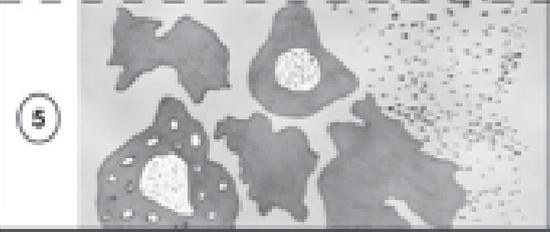
2011). Nach dieser Definition dürfte es damit keinen Patienten mehr geben, dessen Karzinom in Stanzbiopsien einem GS < 6 zugeordnet wird.

**Tabelle 5: Definitionen der “alten“ Gleason-Grade basierend auf: (Manski, 2011, Humphrey, 2004, Gleason, 1966)**



Gleason-Score	Beschreibung
Gleason-Grad 1 oder 2	gut umschriebene, gleich aussehende Drüsenformationen ohne Invasion des Stromas
Gleason-Grad 3	variable Drüsenformationen mit Invasion von Drüsenzellen in das Stroma, einzelne Drüsen aber noch abgrenzbar
Gleason-Grad 4	Drüsen nicht mehr einzeln abgrenzbar, aber Drüsenherkunft noch erkennbar (kribriformes Wachstumsmuster)
Gleason-Grad 5	Drüsenherkunft nicht mehr erkennbar, strang- oder haufenartiges Zellwachstum, Tumorzellnester mit zentraler Nekrose

**Tabelle 6: Definitionen der modifizierten Gleason-Grade der ISPU 2005 (Epstein et al., 2005, Hulpap et al., 2011)**

Gleason-Score	Beschreibung
 <p>①</p>	<p>Umschriebene Knoten von dicht gepackten, aber scharf begrenzten mittelgroßen Drüsen, rundlich bis oval, von mittlerer Größe (größere Drüsen als in Muster 3)</p>
 <p>②</p>	<p>Ähnlich Muster 1; noch weitgehend umschriebene, zum Teil nicht ganz scharf begrenzte Tumorknoten mit minimaler Stromainfiltration. Die Drüsen sind jedoch lockerer arrangiert und nicht mehr so uniform wie in Muster 1</p>
 <p>③</p>	<p>Diskrete Drüseneinheiten; kleinere Drüsen als Muster 1 u. 2. Tumordinfiltrate zwischen nicht neoplastischen Drüsen. Deutliche Variationen in Größe und Form, mitunter umschriebene kleinste kribriiforme Tumorknoten</p>
 <p>④</p>	<p>Fusionierte mikroazinäre Drüsen; wenig differenzierte Drüsen mit schwach ausgebildeten Drüsenlichtungen, oft hypernephroides Muster. Daneben auch große kribriiforme Drüsen mit unscharfen Grenzen</p>
 <p>⑤</p>	<p>Keine klare Drüsenformationen, stattdessen solide Epithelstränge oder Komplexe oder Einzelzellen. Zentrale Drüsennekrosen, entsprechend einem Komedokarzinom, umgeben von papillären, kribriiformen oder soliden Tumormassen</p>

### 3.2.4 DNA-Bildzytometrie

Mit Hilfe der DNA-Zytometrie wird die in Zellkernen enthaltene Menge an Erbsubstanz gemessen und dient damit auch der Bestimmung der Malignität von Zellen in Tumorgeweben. Grundlage dieser Bestimmung ist die Erkenntnis, dass in maligne entarteten Zellen nicht mehr der normale Chromosomensatz ( $2c$ ), sondern ein Vielfaches des Chromosomensatzes beobachtet wird.

In der DNA-Bildzytometrie wird die Verteilung der DNA-Gehalte von Zellkernen als diagnostischer bzw. prognostischer Marker genutzt (Böcking, 1998). Dabei wird der DNA-Gehalt nicht direkt gemessen, sondern die IOD der Kerne nach quantitativer Färbung deren DNA nach R. Feulgen bestimmt (Böcking, 1990). Die Bestimmung des nukleären DNA-Gehaltes erfolgt über einen Vergleich der IOD mit derjenigen von Zellkernen mit bekanntem normalen DNA-Gehalt von  $2c$  (Referenzzellen). In einem DNA-Histogramm wird die Häufigkeitsverteilung der IOD der Zellkerne in der Einheit  $c$  wiedergegeben, wobei  $1c$  der Hälfte des Zellkern-DNA-Gehalts von Zellen einer normalen, nicht pathologischen, diploiden Population in der  $G_0/G_1$ -Phase des Zellzyklus entspricht (Böcking, 2002). Dabei repräsentiert der modale Wert eines DNA-Histogramms den Gipfel eines Peaks (Grote et al., 2004). In der DNA-Bildzytometrie werden sogenannte aneuploide (d. h. nicht normale) Stammlinien beschrieben, deren Modalwerte statistisch signifikant von denjenigen normaler Stammlinien abweichen.

### 3.2.5 DNA-Malignitäts-Gradierung nach alter Definition

Für das Prostatakarzinom wurden anhand der DNA-Histogramme vier Malignitätsgrade unterschieden. Diese sind in Tabelle 7 definiert (Haroske et al., 1998, Haroske et al., 2001).

**Tabelle 7: DNA-Malignitäts-Gradierung nach alter Definition (Haroske et al., 1998)**

<b>DNA-Malignitäts-Grad</b>	<b>Definition</b>
<b>A (peridiploid)</b>	Eine Stammlinie bei $2c \pm 10\%$
<b>B (peritetraploid)</b>	Eine Stammlinie bei $2c \pm 10\%$ , zweite Stammlinie bei $4c \pm 10\%$
<b>C (x-ploid)</b>	Eine zusätzliche Stammlinie außerhalb von $1,8-2,2c$ und/oder $3,6-4,4c \pm 10\%$
<b>D (multiploid)</b>	Mehrere Stammlinien außerhalb von $1,8-2,2c$ und/oder $3,6-4,4c \pm 10\%$

Da es sich bei den DNA-Malignitätsgraden um ein Kontinuum handelt, hatte sich in der diagnostischen Routine eine weitere Aufspreizung der vier DNA-Ploidie-Grade mit der Einführung dreier Zwischenstufen in das etablierte Grading angeboten, ohne dass diese genau definiert und publiziert worden waren. Grundlage war die Absicht, ein *Undergrading* eines peridiploiden Karzinoms mit erhöhter Proliferationsfraktion als reine Typ A zu vermeiden, und damit eine prognostisch nicht gerechtfertigte Zuordnung eines behandlungswürdigen Patienten zur *Active Surveillance* Gruppe zu verhindern.

### 3.2.6 DNA-Malignitäts-Gradierung nach neuer Definition

Aufgrund der Tatsache, dass von mehreren Autoren belegt werden konnte, dass es einen signifikanten prognostischen Unterschied zwischen Patienten mit peridiploider DNA-Verteilung ihres Prostatakarzinoms und Proliferationsfraktionen  $>$  bzw.  $<$  5% gibt (Ahlgren et al., 1997, Tribukait, 1993a), schlug die Arbeitsgruppe um Prof. Böcking vor, zwischen den prognostischen DNA-Gruppen A und B eine Zwischenstufe AB einzuführen (Engelhardt, 2014). Eine weitere Zwischengruppe BC wurde eingeführt, weil sich der kontinuierliche Übergang von einer

peritetraploiden DNA-Verteilung zu einer x-ploiden empirisch offensichtlich über das Zwischenstadium einer Verbreiterung der Stammlinie bei 4c vollzieht. Erstmals wurden auch die Übergangsformen AB und BC präzise definiert. Der Grad B wird nicht erst bei Vorliegen einer voll ausgebliebenen zweiten DNA-Stammlinie bei 4c angenommen, sondern bereits, wenn ein oder mehrere Zellkerne  $> 4,4c$  vorliegen. Dies geschieht deswegen, weil bei gesteigerter Messpräzision (CV der Referenzzellen  $< 2\%$ ) der methodisch verbesserten DNA-Bildzytometrie ein Zellkern mit DNA-Gehalt  $> 4,4c$  nur durch die Annahme der Ausbildung einer zweiten Stammlinie um 4c erklärt werden kann und nicht durch die Proliferation von Zellen einer Stammlinie bei 2c. Die prognostische Relevanz dieser neuen sechsstufigen DNA-Malignitäts-Gradierung muss allerdings noch durch Studien belegt werden.

**Tabelle 8: DNA-Malignitäts-Gradierung nach neuer Definition**

<b>DNA-Malignitäts-Grad</b>	<b>Definition</b>
<b>A (peridiploid)</b>	Eine Stammlinie bei $2c + 10\%$ Proliferationsrate $< 5\%$
<b>A-B</b>	Eine Stammlinie bei $2c + 10\%$ Proliferationsrate $> 5\%$
<b>B (peritetraploid)</b>	Stammlinie bei $2c \pm 10\%$ Ein Zellkern oder mehrere $> 4,4c$
<b>B-C</b>	Eine zweite Stammlinie bei $4c \pm 10\%$ Variationskoeffizient der Stammlinie bei 4c $> 10\%$
<b>C (x-ploid)</b>	Eine Stammlinie außerhalb von $2c \pm 10\%$ oder $4c \pm 10\%$
<b>D (multiploid)</b>	Mehrere Stammlinien außerhalb von $2c \pm 10\%$ oder $4c \pm 10\%$

Eine DNA-Stammlinie nehmen wir an, wenn sich ein Häufigkeits-Gipfel (*peak*) der DNA-Verteilung, der aus mindestens 30 Zellkernen bestehen muss, darstellt und sich mindestens ein Messwert oberhalb desselben findet.

Zur Proliferationsfraktion einer Stammlinie gehören alle Zellkerne, die c-Werte zwischen dem rechten Fußpunkt des Stammlinien-*Peaks* und demjenigen von dessen Verdopplung aufweisen.

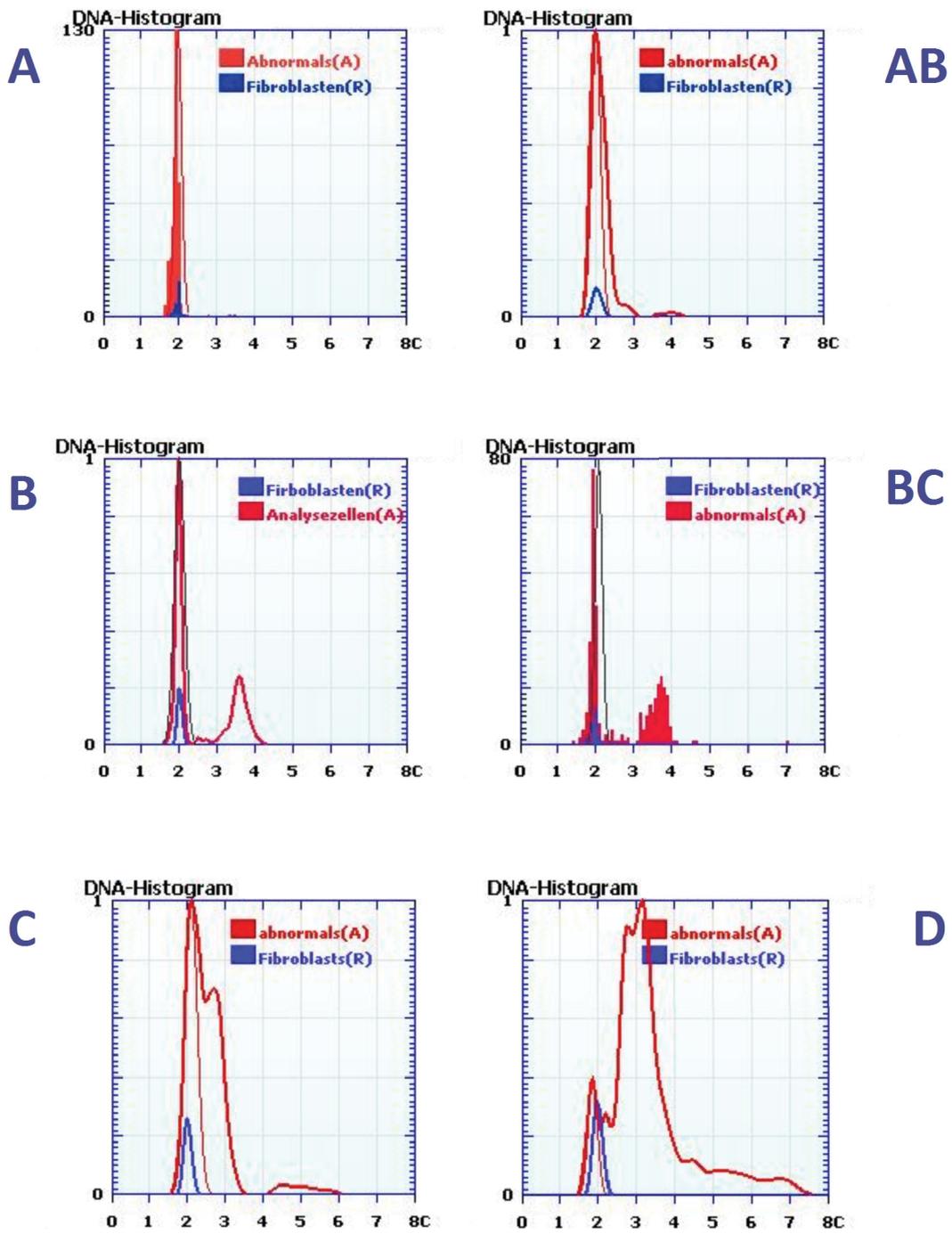


Abbildung 1: Histogramme der DNA-Malignitäts-Gradierung nach neuer Definition

### **3.3 Vorgehensweise**

#### **3.3.1 Alte DNA-Malignitäts-Gradierung**

Im ersten Schritt wurden alle 459 DNA-Histogramme mit der alten Gradierung ausgewertet und diente damit als Standard für den Vergleich mit den Gradierungsergebnissen, wie sie nach der neuen Definition erzielt worden waren.

#### **3.3.2 Neue DNA-Malignitäts-Gradierung**

Danach wurden die 459 DNA-Histogramme von Prof. Böcking nach der „neuen“ DNA-Gradierung befundet. Diese diente als Grundlage des Vergleichs mit allen anderen untersuchten klinischen Variablen.

#### **3.3.3 Vergleich zwischen alter und neuer DNA-Gradierung**

In diesem Schritt wurden die Ergebnisse der alten mit der neuen Gradierung verglichen.

#### **3.3.4 Interindividuelle Reproduzierbarkeit**

Die Reproduzierbarkeit der DNA-Malignitäts-Gradierung nach der neuen Definition wurde überprüft, indem sowohl Prof. Biesterfeld als auch der Autor dieser Arbeit alle Histogramme der 393 auswertbaren Patienten unabhängig voneinander gradiert haben.

### 3.3.5 Vergleich der DNA-zytometrischen mit der histologischen Gradierung

Hierzu wurden die Krankenakten der jeweiligen Patienten für die verwertbaren DNA-Histogramme auf folgende Informationen hin untersucht:

- Länge der Stenzen pro Patient in mm
- Gesamtbefall der Stenzen durch Karzinom-Herde pro Patient in mm
- Anteil des malignen Gewebes pro Stanze in %
- Gleason-Score pro Stanze

Alle untersuchten Parameter wurden zum einen deskriptiv statistisch dokumentiert, zum anderen wurde eine analytische Statistik mit Berechnung von Korrelationskoeffizienten nach Pearson (Hartung, 1999, Zöfel, 2003), der Korrelationen zwischen (Myers, 2001) einzelnen Parametern und eine lineare Regressionsanalyse durchgeführt.

Korrelationen von folgenden Parametern wurden analysiert:

- DNA-Malignitäts-Gradierung neu vs. DNA-Malignitäts-Gradierung alt
- Interindividuelle Reproduzierbarkeit der neuen DNA-Malignitäts-Gradierung
- Gleason-Score vs. DNA-Malignitäts-Gradierung neu
- Gleason-Score vs. DNA-Malignitäts-Gradierung alt
- Gleason-Score vs. TNM-Klassifikation
- DNA-Malignitäts-Gradierung neu vs. TNM-Klassifikation
- Gleason-Score vs. Alter des Patienten
- DNA-Malignitäts-Gradierung neu vs. Alter des Patienten
- Gleason-Score-Mittelwerte vs. Gesamtbefall der Stenzen
- DNA-Malignitäts-Gradierung neu Mittelwerte vs. Gesamtbefall der Stenzen

### 3.3.6 Korrelation der DNA-Malignitäts-Gradierung mit etablierten prognostischen Markern zur Therapieplanung bzw. Indikationsstellung *Active Surveillance*

Als Eingangskriterien zur therapeutischen Strategie der *Active Surveillance* sind verschiedene Algorithmen nach Epstein (1998), Helpap (2006) und Roemeling (2006) in Gebrauch, die auch in den S3-Leitlinien zur Behandlung des Prostatakarzinoms beschrieben sind (Deutsche Gesellschaft für Urologie, 2011). Allen diesen ist gemein, dass neben dem histologischen Grading der PSA-Wert und die Tumorausdehnung über das TNM-System zur Therapieplanung in unterschiedlichem Maße eingebunden werden (Tabelle 9).

Da bei unserem Patientengut nicht in GS 7a und 7b unterschieden wurde, wurde das Einschlusskriterium für Helpap und Egevad mit GS 7 durchgeführt.

Die einzelnen Definitionen sehen wie folgt aus:

**Tabelle 9: Verschiedene Definitionen der Eingangskriterien für die *Active Surveillance*-Strategie**

Bezeichnung	Definition
Epstein 1998	In Stanzbiopsien: $\leq 2$ positiv $< GS 6$ $< 50\%$ Befall pro Stanze $PSA\text{-density} < 0,15$
Helpap und Egevad 2009	GS 6 oder 7a in einer Stanze $< 1\text{mm}$ Befall pro Stanze $PSA \leq 10\text{ ng/ml}$
Roemeling 2006	$GS \leq 3 + 3$ in 1 oder 2 Stanzen $PSA\text{-Dichte} < 0,2$ $PSA\text{-Level} \leq 15\text{ ng/ml}$ Stadium T1c or T2a
S3-Leitlinien 2011	$PSA\text{-Wert} \leq 10\text{ ng/ml}$ $GS \leq 6$ T1c oder T2a Tumor in $\leq 2$ Stanzen $\leq 50\%$ Tumor pro einer Stanze

### **3.3.7 Heterogenität der DNA-Malignitäts-Gradierung innerhalb eines Tumors**

In Abhängigkeit von der Lokalisation der Materialentnahme kann es zu sehr unterschiedlichen Ergebnissen der histologischen oder auch DNA-zytometrischen Verteilungsmustern kommen. Im Rahmen dieser Untersuchung wurde bestimmt, wie oft und welche andere DNA-Verteilungsmuster bei Patienten mit einem peridiploiden Histogramm (Typ A) noch vorliegen können.

## **4 Ergebnisse**

Grundlage dieser Untersuchung waren die Daten von insgesamt 411 Patienten, deren Stanzbiopsiepräparate zur feingeweblichen Untersuchung im Cytopathologischen Institut der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf zum Zeitpunkt der Bearbeitung vorgelegen haben. Bei 18 dieser Patienten war wegen Mangels an restlichem Gewebsmaterial keine DNA-zytometrische Untersuchung durchführbar. Diese wurden deshalb von dieser Nachuntersuchung ausgeschlossen, sodass Gewebeproben von 393 Patienten eingeschlossen wurden. In dieser Arbeit wurden alle Korrelationen, die mit der DNA-Bildzytometrie durchgeführt wurden, mit dem Ergebnis der von Prof. Böcking durchgeführten sechsstufigen Gradierung nach neuer Definition analysiert (4.2.2).

### **4.1 Gleason-Score**

Lediglich bei 230/393 (=58,5%) der Patienten, deren Präparate DNA-zytometrisch untersucht worden waren, fand sich in den Unterlagen eine Dokumentation zum Gleason-Score. Diese Einteilung wurde grundsätzlich aus den histologischen Befunden primär untersuchender Pathologen übernommen. Eine Überprüfung der histologischen Gradierungen der Fremdinstitute wurde im Cytopathologischen Institut der HHU grundsätzlich nicht durchgeführt. Auch im Rahmen dieser Arbeit wurde der Gleason-Score nicht reevaluiert, sondern alle Befunde wurden wie vom untersuchenden Pathologen erhoben in die Bewertung einbezogen. Des Weiteren ist auch nicht bekannt, ob der Gleason-Score nach alter (Gleason, 1966) oder neuer (Epstein et al., 2005) Definition von den jeweiligen Pathologen ermittelt wurde.

Die Gleason-Scores der 230 verwertbaren histopathologischen Befunde sind in Tabelle 10 und in Abbildung 2 und Abbildung 3 dargestellt. Die Schraffierung in Tabelle 10 und dunklere Färbung in Abbildung 2 und Abbildung 3 stellen die Gleason-Grade  $< 6$  dar, die nach der aktuell gültigen Definition in Stanzbiopsien nicht vergeben werden sollen.

**Tabelle 10: Häufigkeit der höchsten Gleason-Scores in Stanzbiopsien und deren Kumulation**

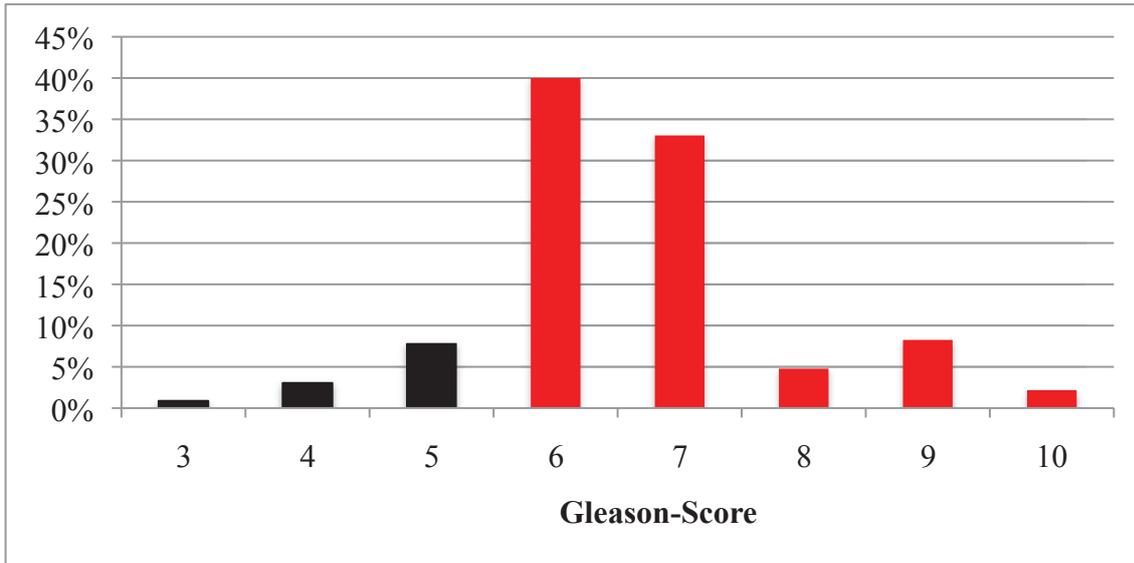
Gleason-Score	Anzahl	%	Kumuliert	Kumuliert %
2	0	0,0%	0	0,0%
3	2	0,9%	2	0,9%
4	7	3,0%	9	3,9%
5	18	7,8%	27	11,7%
6	92	40,0%	119	51,7%
7	76	33,0%	195	84,8%
8	11	4,8%	206	89,6%
9	19	8,3%	225	97,8%
10	5	2,2%	230	100,0%
<b>Total</b>	<b>230</b>	<b>100,0%</b>	<b>230</b>	<b>100,0%</b>

40% aller Prostatakarzinome (92/230) waren dem maximalen Gleason-Score 6 zuzuordnen. Der Gleason-Score 7 war als zweithäufigster mit 33% (76/230) vertreten. Somit waren 73% aller erhobenen Befunde der Mitte der Ordinalskalierung zuzuordnen (Gleason 6 und 7).

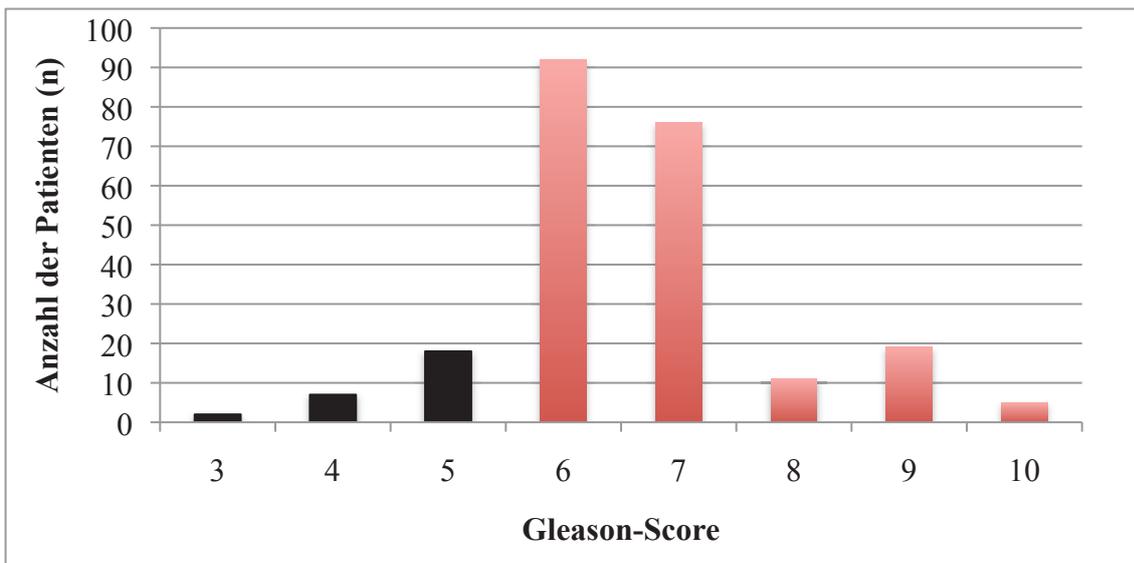
Ein Gleason-Score 2 wurde in diesem Patientengut nicht beobachtet.

Relativ gleichmäßig sind die restlichen Befunde unterhalb (Score  $\leq 5$ ; 27/230; 11,7%) und oberhalb des *Peaks* bei 6 (Score  $\geq 8$ ; 35/230; 15,2%) verteilt. Ein kleiner Häufigkeitsgipfel wurde noch beim Score 9 mit 19/230 (8,3%) Patienten beobachtet.

Für die Therapieplanung der *Active Surveillance* kommen nur Patienten mit einem Gleason-Score  $\leq 6$  in Frage. Dieses Kriterium wurde von 119/230 (51,7%) der Patienten erfüllt. Wenn man jedoch auch Befunde mit einem Gleason-Score 7 miteinbezieht, würden 195/230 Patienten (84,8%) aufgrund der histopathologischen Untersuchung für eine *Active Surveillance* qualifizieren. Jedoch muss einschränkend hinzugefügt werden, dass in diesen Krankenunterlagen keine Unterscheidung in Gleason-Score 7a und 7b vorlag, wie Helpap es für den Einschluss in die *Active Surveillance* fordert (Helpap and Egevad, 2009).



**Abbildung 2: Relative Häufigkeitsverteilung des Gleason-Scores bei 230 Patienten**



**Abbildung 3: Absolute Häufigkeitsverteilung des Gleason-Scores bei 230 Patienten**

## **4.2 DNA-Malignitäts-Gradierung**

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die prognostischen Interpretationen der bereits vorliegenden DNA-Histogramme verwendet, um systematisch die in der Einleitung aufgeworfenen Fragen bearbeiten und beantworten zu können.

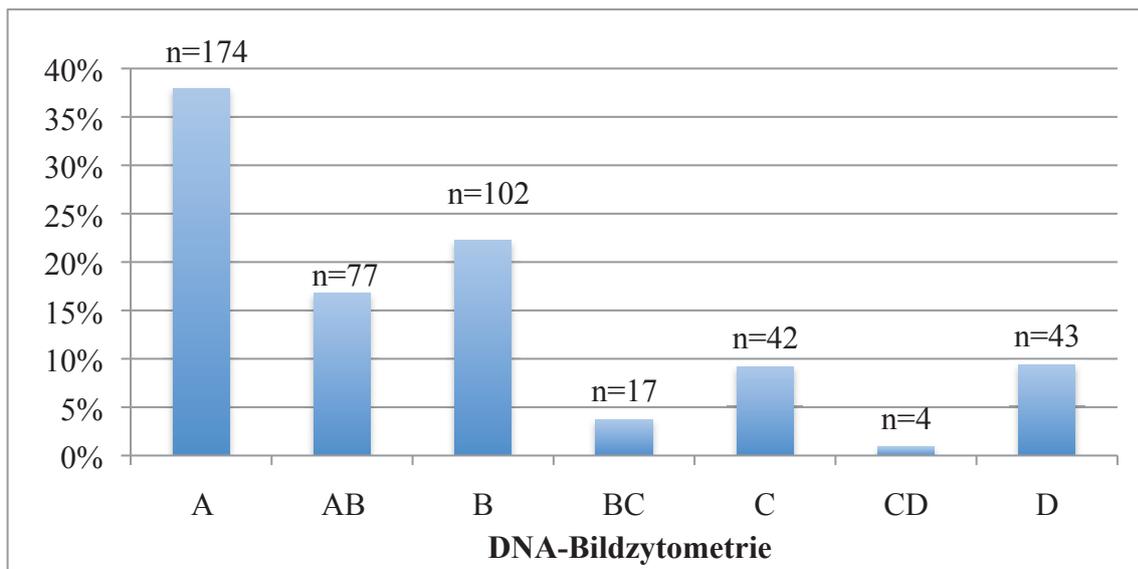
### **4.2.1 Alte DNA-Malignitäts-Gradierung**

In Tabelle 11 ist die Verteilung der DNA-Histogramme der untersuchten Patienten auf die verschiedenen DNA-Malignitäts-Grade nach alter Definition (Haroske et al., 1998, Haroske et al., 2001) dargestellt.

In Abbildung 4 ist die Anzahl der verwertbaren DNA-Histogramme pro Patient zusammengefasst. Dabei entsprechen die 459 Histogramme dem Grad A-B (353/459) (76,9%). Die größte Häufung mit 174/459 (37,9%) wurde für Grad A gezählt, der Grad B ist mit 102/459 (22,2%) die zweithäufigste Verteilung. Die restlichen 106 (23,1%) DNA-Histogramme verteilen sich fast gleichermaßen auf die Grade x-ploid (42/459) (9,2%) und multiploid (43/459) (9,4%). Lediglich 4/459 (0,9%) wurden in die Gruppe CD eingestuft.

**Tabelle 11: Häufigkeit der DNA-Malignitäts-Grade nach alter Definition**

DNA-Malignitäts-Grad	absolut	in Prozent
A	174	37,9%
AB	77	16,8%
B	102	22,2%
BC	17	3,7%
C	42	9,2%
CD	4	0,9%
D	43	9,4%
<b>Total</b>	<b>459</b>	<b>100%</b>



**Abbildung 4: Häufigkeit der DNA-Malignitäts-Grade nach alter Definition**

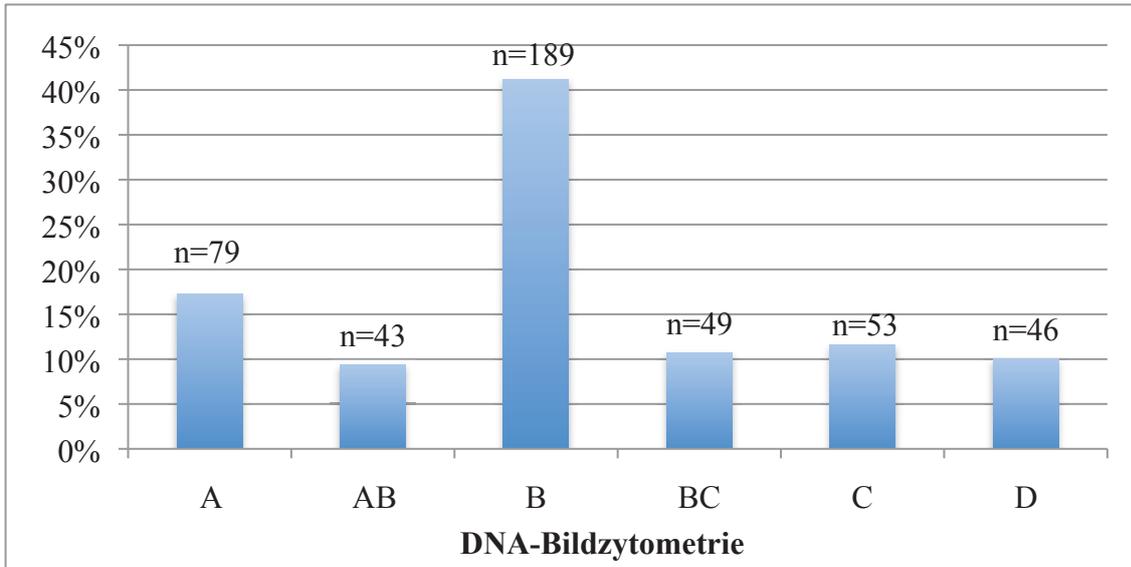
#### 4.2.2 Neue DNA-Malignitäts-Gradierung

Tabelle 12 zeigt die Häufigkeitsverteilung der 459 bewerteten DNA-Histogramme nach der neuen Definition. Diese von 393 Patienten teilen sich in sechs Malignitätsgrade folgendermaßen auf:

Der größte Teil der DNA-Histogramme 311/459 (67,8%) findet sich auch hier in den Graden A-B wieder (Abbildung 5). Mit 189/459 (41,2%) liegt die größte Häufung bei der peritraploiden Verteilung. Die zweite Häufung ist bei der peridiploiden Verteilung mit 79/459 (17,2%) DNA-Histogrammen zu beobachten. 148/459 (32,2%) Karzinome wurden zwischen BC-D gradiert. Hier ist die Verteilung gleichmäßig zwischen 46/459 (10,0%) bei Grad D, über 49/459 (10,7%) bei Grad BC und 53/459 (11,5%) bei Grad C verteilt.

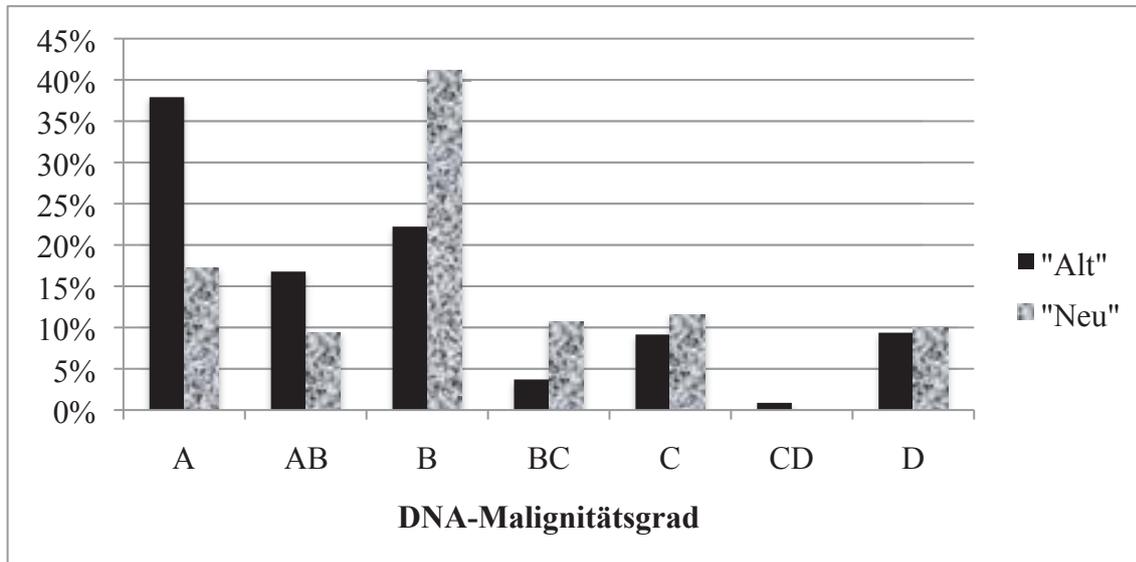
**Tabelle 12: Häufigkeiten der DNA-Malignitäts-Grade nach neuer Definition**

DNA-Malignitäts-Gradierung	absolut	relativ
A	79	17,2%
AB	43	9,4%
B	189	41,2%
BC	49	10,7%
C	53	11,5%
CD	0	0,0%
D	46	10,0%
<b>Total</b>	<b>459</b>	<b>100%</b>



**Abbildung 5: DNA-Malignitäts-Gradierung nach neuer Definition**

### 4.2.3 Vergleich zwischen alter und neuer DNA-Gradierung



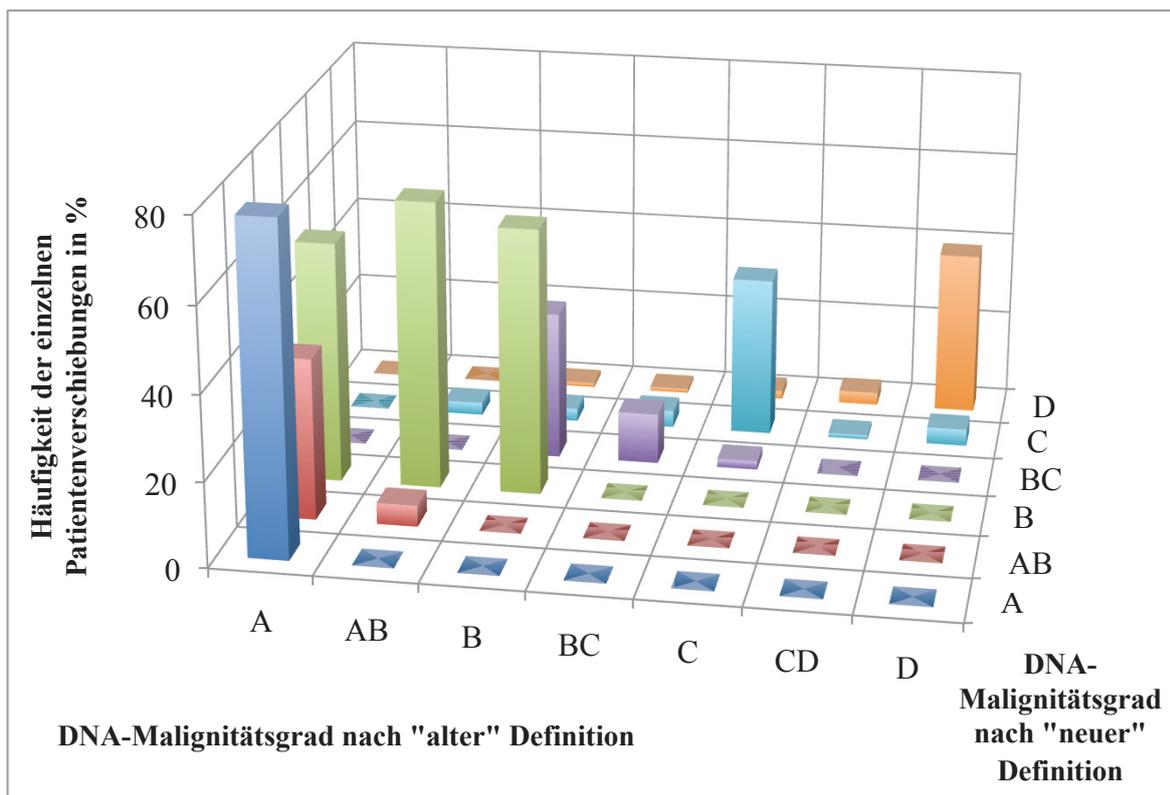
**Abbildung 6: Vergleich der DNA-Histogramme nach der "alten" und "neuen" Definition**

Der Vergleich in Abbildung 6 zeigt, dass es bei dem Wechsel von alter zu neuer DNA-Gradierung zu einer Verschiebung von Grad A (peridiploid) in Richtung Grad B (peritetraploid) kommt. Diese "Rechtsverschiebung" in Richtung höherer Malignität setzt sich kontinuierlich bis zur Gradierung C (x-ploid) fort. In keinem der bewerteten DNA-Histogramme aus den Gradierungen A bis C ist eine Änderung zu einem niedrigeren Wert beobachtet worden. Da die Gradierung CD (Übergang zwischen x-ploid und multiploid) in der neuen Definition nicht vorkommt, wurden die hier in "alt" eingeordneten DNA-Histogramme dreimal in D (multiploid), aber nur einmal in C eingeordnet.

In Tabelle 13 und Abbildung 7 ist der Wechsel in der Einordnung der DNA-Histogramme systematisch zusammengefasst:

**Tabelle 13: Verschiebung der DNA-Malignitäts-Gradierung durch den Wechsel von Definition „alt“ zu Definition „neu“**

Alt \ Neu		A	AB	B	BC	C	D
		$\Sigma = 79$	$\Sigma = 43$	$\Sigma = 189$	$\Sigma = 49$	$\Sigma = 53$	$\Sigma = 46$
A	$\Sigma = 174$	79	38	57	0	0	0
AB	$\Sigma = 77$	0	5	69	0	3	0
B	$\Sigma = 102$	0	0	63	35	3	1
BC	$\Sigma = 17$	0	0	0	12	4	1
C	$\Sigma = 42$	0	0	0	2	38	2
CD	$\Sigma = 4$	0	0	0	0	1	3
D	$\Sigma = 43$	0	0	0	0	4	39



**Abbildung 7: Verschiebung der DNA-Malignitäts-Gradierung durch den Wechsel von Definition "alt" zu Definition "neu"**

Von den ursprünglich 174 als peridiploid beurteilten DNA-Histogrammen (Grad A) sind 79 peridiploid geblieben, 38 sind in die Zwischenstufe (Grad AB) zwischen peridiploid und peritetraploid eingeordnet worden und 57 wurden zu peritetraploid (Grad B) hochgestuft. Nach alter Definition gab es 77 Biopsien, die als AB eingestuft wurden, nach neuer Definition wurden 69 Patienten in peritetraploid (Grad B) eingestuft, drei Patienten wurden zu x-ploid (Grad C) hochgestuft. Eine große Verschiebung hat es auch bei den peritetraploiden DNA-Histogrammen (Grad B) gegeben. Nach alter Definition waren es noch 102 Fälle, nach neuer Definition sind davon nur 63 Fälle gleich befunden worden, während 35 DNA-Histogramme einen Malignitätsgrad weiter nach „rechts“ in die Zwischenstufe BC wanderten. Drei Fälle wurden x-ploid (Grad C) und ein Fall wurde als multiploid (Grad D) beurteilt. In der Zwischenstufe BC gab es keinen Fall, der tiefer eingestuft wurde. Hier wurden vier von den insgesamt 17 Biopsien als x-ploid (Grad C) eingestuft und eine als multiploid (Grad D) bewertet. Von den Biopsien, die als x-ploid (Grad C) eingestuft wurden, haben sich jeweils nur zwei zu einer höheren und eine zu einer tieferen Malignitätsgradierung verändert. 38 von 42 Fälle (90,5%) sind x-ploid (Grad C) geblieben. Die Zwischenstufe CD wurde in der neuen Definition aufgelöst. Bei den vier Biopsien, die sich in dieser Stufe wiederfanden, sind drei von vier als multiploid (Grad D) beurteilt worden, einer wurde abgestuft zu x-ploid (Grad C). Von den insgesamt 43 multiploiden (Grad D) Biopsien sind 39 multiploid geblieben. Lediglich vier Patienten wurden zu einer x-ploiden Malignitätsgradierung (Grad C) abgestuft.

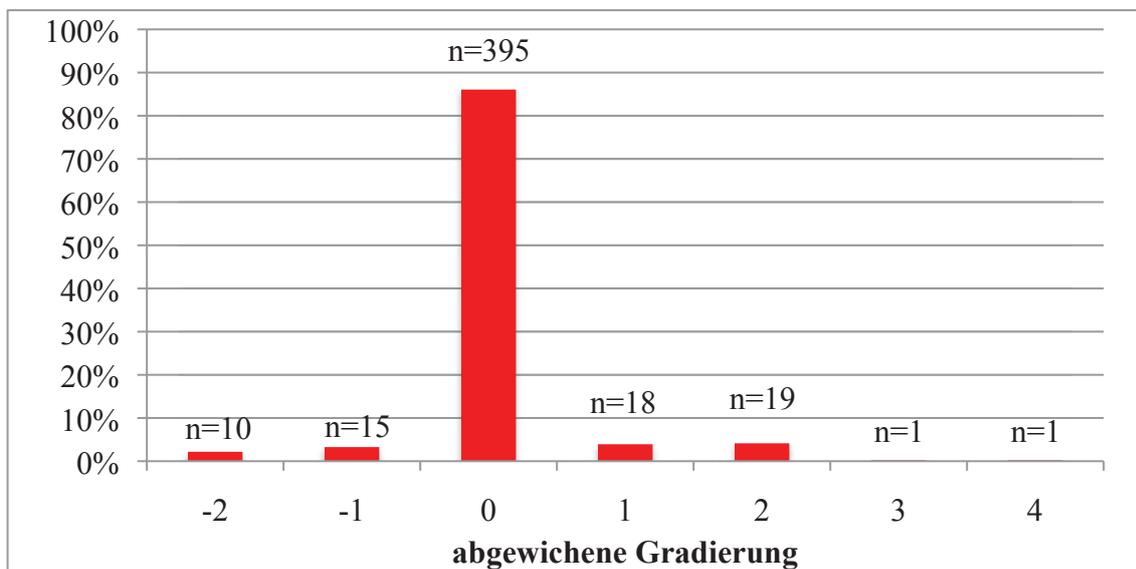
#### **4.2.4 Interindividuelle Reproduzierbarkeit**

Um eine Aussage über die Reproduzierbarkeit der DNA-Malignitäts-Gradierung nach neuer Definition machen zu können, wurden die 393 Patienten mit ihren 459 Histogrammen von Prof. Biesterfeld und dem Autor dieser Arbeit unabhängig voneinander und in Unkenntnis der Vorgradierung nachuntersucht.

Im folgenden Abschnitt wurden nun die Gradierungsergebnisse von Prof. Böcking mit den Ergebnissen von Prof. Biesterfeld und die Ergebnisse von Prof. Böcking mit den Ergebnissen des Autors verglichen, um eine Aussage über die interindividuelle Reproduzierbarkeit der DNA-Malignitäts-Gradierung nach neuer Definition machen zu können.

Abbildung 8 und Tabelle 14 zeigen, dass die Gradierungsergebnisse von Prof. Böcking und Prof. Biesterfeld eine interindividuelle Reproduzierbarkeit der DNA-Malignitäts-Gradierung von

86,1% hatten. In der unabhängigen Bewertung der Fälle nach „neuer“ Definition gab es nur zwei Fälle, die mehr als zwei Malignitätsgrade auseinanderlagen, in jeweils einem Fall wurde eine Abweichung von 3 bzw. 4 Malignitätsgraden beschrieben. Die meisten dieser beschriebenen Abweichungen (19/459) (4,1%) sind bei Prof. Biesterfeld um zwei Malignitätsgrade strenger als die Bewertung von Prof. Böcking. 18/459 (3,9%) Histogramme wurden von Prof. Biesterfeld um einen Malignitätsgrad höher eingestuft als von Prof. Böcking.

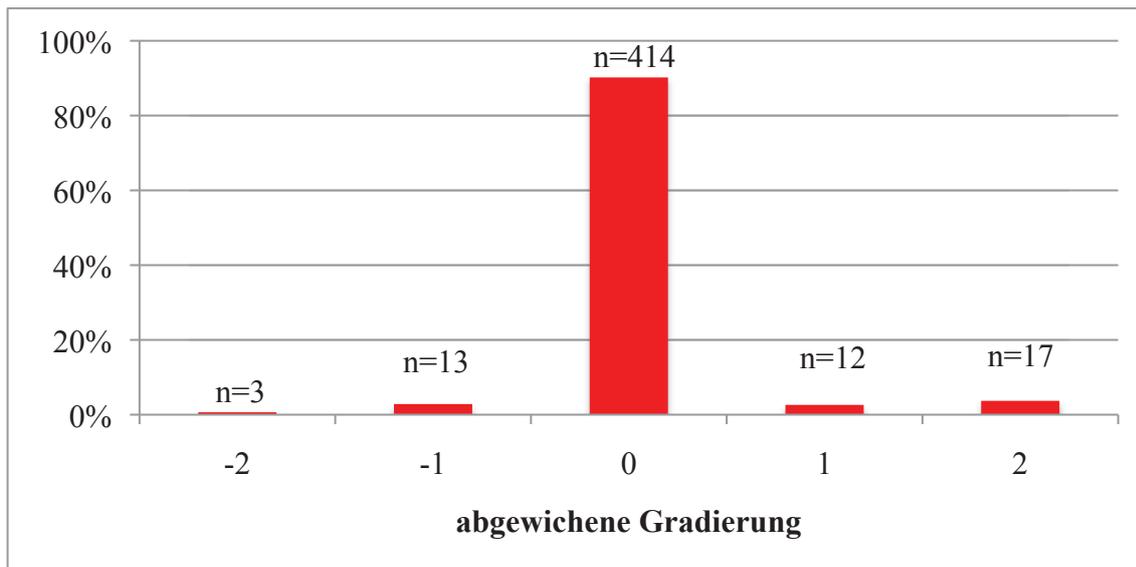


**Abbildung 8: Abweichungen der DNA-Malignitäts-Gradierung zwischen Prof. Böcking und Prof. Biesterfeld**

**Tabelle 14: Abweichungen der DNA-Malignitäts-Gradierung zwischen Prof. Böcking und Prof. Biesterfeld**

Abweichung von der DNA-Malignitäts-Gradierung	Anzahl der Histogramme	Anteil der Histogramme
-2	10	2,2%
-1	15	3,3%
0	395	86,1%
1	18	3,9%
2	19	4,1%
3	1	0,2%
4	1	0,2%
<b>Total</b>	<b>459</b>	<b>100%</b>

Abbildung 9 und Tabelle 15 zeigen zwischen Prof. Böcking und dem Autor eine interindividuelle Reproduzierbarkeit der DNA-Malignitäts-Gradierung von 90,2%. In diesem Vergleich der Einstufung nach „neuer“ Definition gab es kein Histogramm, in dem die Beurteilung um mehr als zwei Malignitätsgrade voneinander differierte.



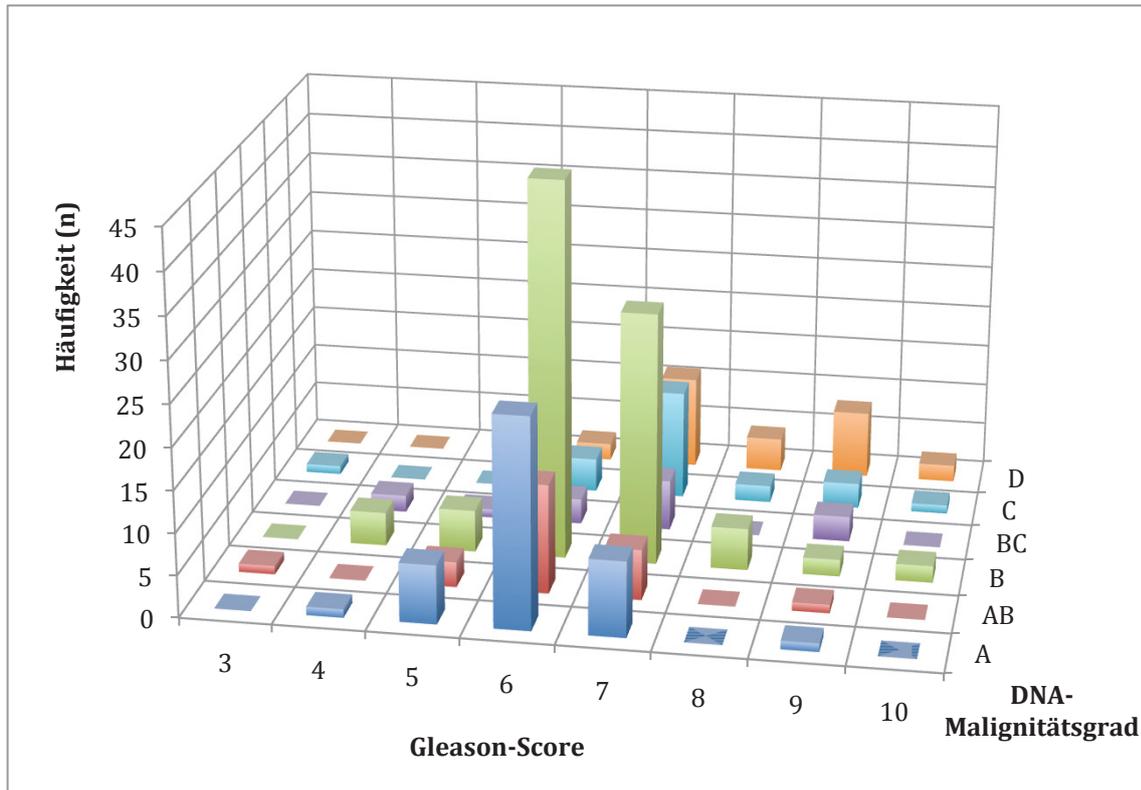
**Abbildung 9: Abweichungen der DNA-Malignitäts-Gradierung zwischen Prof. Böcking und dem Autor**

**Tabelle 15: Abweichungen der DNA-Malignitäts-Gradierung zwischen Prof. Böcking und dem Autor**

Abweichung von der DNA-Malignitäts-Gradierung	Anzahl der Histogramme	Anteil der Histogramme
-2	3	0,7%
-1	13	2,8%
0	414	90,2%
1	12	2,6%
2	17	3,7%
<b>Total</b>	<b>459</b>	<b>100,0%</b>

## 4.2.5 Vergleich der DNA-zytometrischen mit der histologischen Gradierung

### 4.2.5.1 DNA-Gradierung vs. Gleason-Score



**Abbildung 10: Korrelation zwischen dem DNA-Malignitäts-Grad und dem Gleason-Score**

Abbildung 10 und Tabelle 16 zeigen den Vergleich der Bewertungen der Malignität des Prostatakarzinoms durch den Gleason-Score und die DNA-zytometrischen Gradierungen nach der neuen Methode.

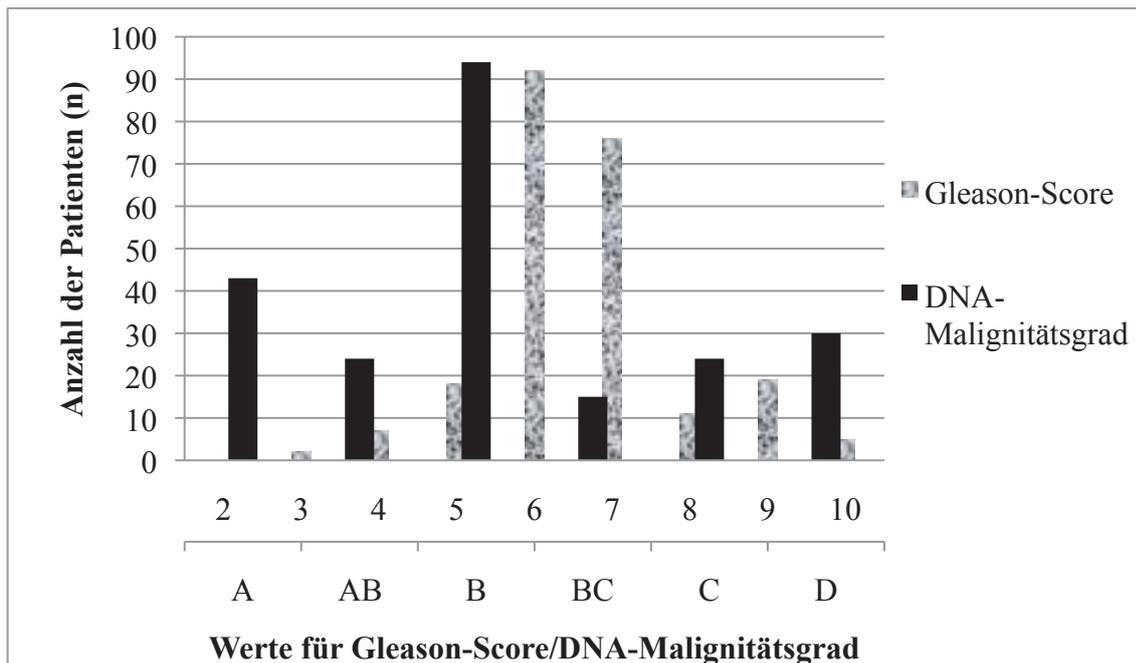
Alle Patienten, die aufgrund der histologischen Untersuchung den Gleason-Scores 6, 7 und 9 zugeordnet waren, wurden in der DNA-zytometrischen Untersuchung in die Grade A bis D (peridiploid bis multiploid) eingeordnet. Die 11 histologischen Präparate, die dem Gleason-Score 8 zugeordnet waren, wurden in der zytometrischen Bewertung fünfmal in Grad B (peritetraploid), zweimal in Grad C (x-ploid) und viermal in Grad D (multiploid) eingeordnet. Die fünf Präparate,

die dem Gleason-Score 10 zugeordnet wurden, fanden sich nach der DNA-zytometrischen Untersuchung im Grad B (peritetraploid) oder höher wieder.

Jedoch fanden sich in den histologischen Präparaten mit geringer Entdifferenzierung des Karzinoms (Gleason-Score  $\leq 5$ ) sehr unterschiedliche Malignitätsgradierungen auf Basis der DNA-zytometrischen Untersuchung. Von den 27 Histogrammen, die einem Gleason-Score 5 oder kleiner zugeordnet waren, wurden nur acht Präparate der Gradierung A (peridiploid) zugeordnet. Vier Präparate wurden der Gradierung AB, neun der Gradierung B und drei der Gradierung BC zugeordnet. Darüber hinaus wurde ein Präparat der Gradierung C und zwei der Gradierung D zugeordnet.

**Tabelle 16: Korrelation zwischen dem DNA-Malignitäts-Grad und dem Gleason-Score bei 230 Patienten**

Gleason-Score	DNA-Malignitäts-Grad						$\Sigma$
	A	AB	B	BC	C	D	
3	0	1	0	0	1	0	<b>2</b>
4	1	0	4	2	0	0	<b>7</b>
5	7	3	5	1	0	2	<b>18</b>
6	25	13	45	3	4	2	<b>92</b>
7	9	6	30	6	13	12	<b>76</b>
8	0	0	5	0	2	4	<b>11</b>
9	1	1	3	3	3	8	<b>19</b>
10	0	0	2	0	1	2	<b>5</b>
<b><math>\Sigma</math></b>	<b>43</b>	<b>24</b>	<b>94</b>	<b>15</b>	<b>24</b>	<b>30</b>	<b>230</b>



**Abbildung 11: Korrelation zwischen der DNA-Malignitäts-Gradierung nach neuer Definition und dem Gleason-Score**

In der Abbildung 11 wurden die Ergebnisse des Gleason-Scores über die DNA-Malignitäts-Gradierung bei normierten Skalen der Malignitätsgrade gelegt. Beim Gleason-Score wurde mit dem Wert zwei auf der Abzisse begonnen, sodass die Anfangspunkte (Gleason-Score 2 und DNA-Malignitäts-Gradierung A) und die Endpunkte (Gleason-Score 10 und DNA-Malignitäts-Gradierung D) übereinanderlagen. In dieser Abbildung 11 sieht man, dass die Ergebnisse der DNA-Bildzytometrie im Vergleich zu den Ergebnissen des Gleason-Scores für den Patienten eine „Linksverschiebung“ hin zu niedrigerer Malignitätsgradierung bedeuten.

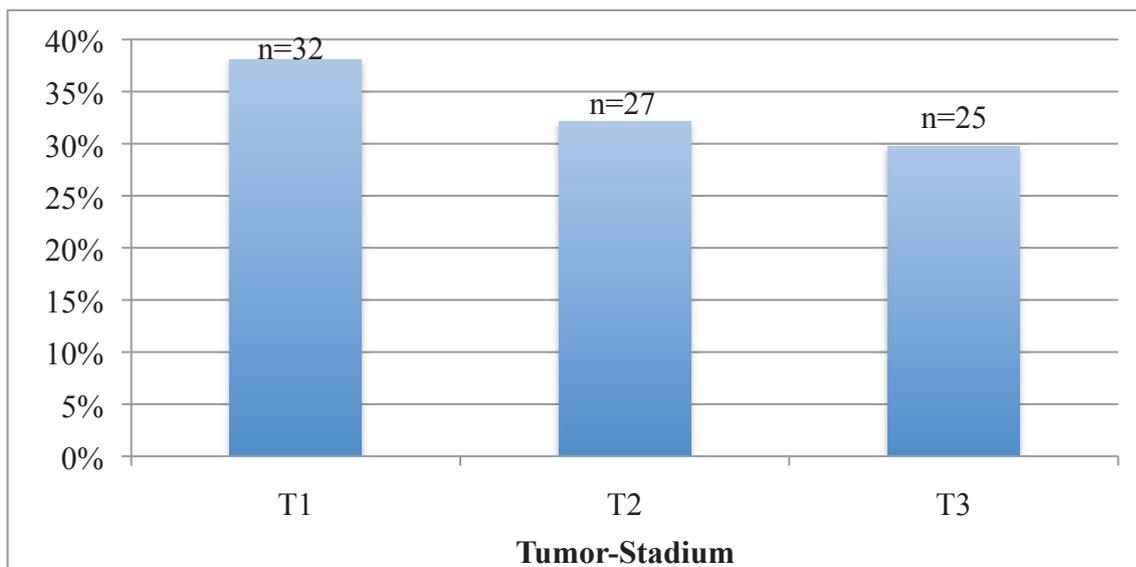
In der hier gewählten Projektion, der DNA-zytometrischen Gradierung über den Gleason-Score, findet sich in beiden Einteilungen eine Häufung im mittleren Bereich. Jedoch zeigt sie nicht, ob diese Parallelität der *Peaks* zufällig entstanden ist oder tatsächlich eine Korrelation vorliegt.

Es wurde ein Korrelationskoeffizient zwischen der DNA-Malignitäts-Gradierung und dem Gleason-Score von  $r = 0,304$  errechnet. Damit korrelieren die Ergebnisse des Gleason-Scores und der DNA-Malignitäts-Gradierung nur schwach miteinander.

#### 4.2.5.2 TNM-Klassifikation vs. Gleason-Scores und DNA-Gradierung

In diesem Arbeitsschritt wurden unabhängig voneinander die Ergebnisse des Tumorstagings, des Lymphknotenbefalls und des Vorhandenseins von Knochenmetastasen mit den Ergebnissen der korrespondierenden histologischen und DNA-zytometrischen Untersuchungen verglichen.

##### 4.2.5.2.1 T-Kategorie



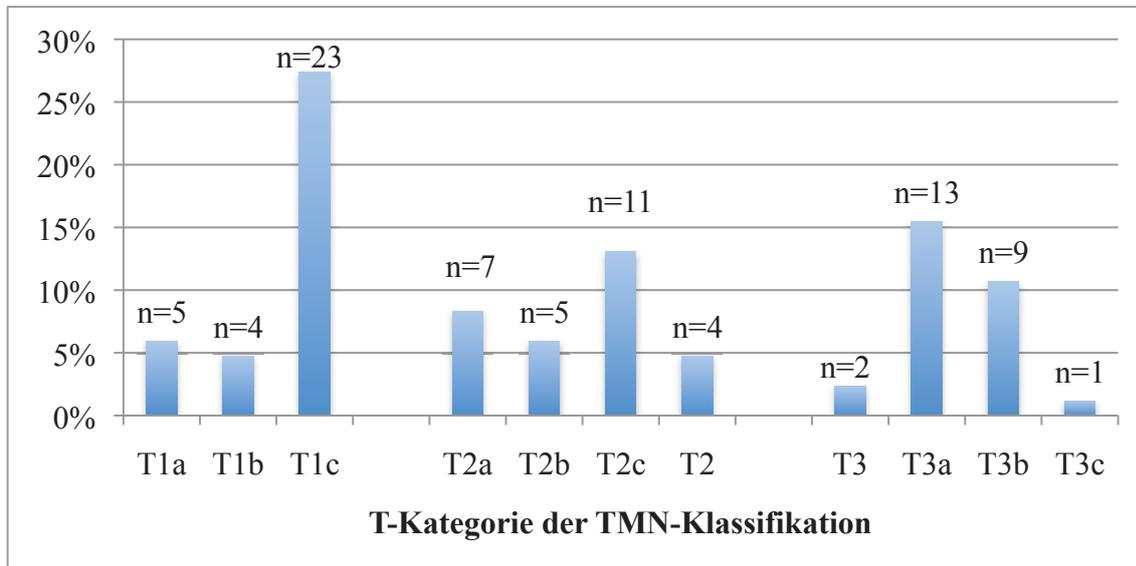
**Abbildung 12: Häufigkeit der Tumor-Stadien**

Für 393 Studienteilnehmer lagen in 84 (21,4%) Fällen Informationen über das Stadium des Primärtumors vor. Die Häufigkeit des Vorkommens der Stadien T 1-3 stellt Abbildung 12 dar. Patienten, die klinisch keinen erkennbaren Tumor aufwiesen, der weder tastbar noch in bildgebenden Verfahren sichtbar war (T1), wurden mit 32 (38,1%) gezählt. Die Anzahl der Patienten, die in einer der T2-Untergruppen klassifiziert worden waren, betrug 27 (32,1%). Es fanden sich 25 Patienten (29,8%) im Stadium T3 (Tabelle 17).

Abbildung 13 beschreibt die Einteilung der Primärtumore in die korrespondierenden Unterstadien.

Bei 23 (27,4%) der 84 Patienten mit einem T1-Tumor wurde die Diagnose über eine Nadelbiopsie gesichert (z. B. wegen erhöhtem PSA). In der Gruppe der Patienten mit T2 ist Stadium T2c mit 11 (13,1%) am häufigsten vertreten. In sieben (8,3%) Fällen befiel der Tumor die Hälfte eines

Lappens oder weniger (T2a). Weitere vier (4,8%) Patienten wurden T2b zugeordnet. In der Gruppe von Patienten mit einem T3-Tumor lag der höchste Wert bei T3a (extrakapsuläre Ausbreitung, einseitig oder beidseitig), 13 (15,5%) Patienten waren hiervon betroffen. Eine Infiltration der Samenblasen wurde bei neun (10,7%) Patienten festgestellt.



**Abbildung 13: Verteilung der Primärtumore in verschiedene Stadien**

**Tabelle 17: Stadien der Prostatakarzinome**

Anzahl der Patienten pro T-Stadium		in %	T1-T3 Gesamt n (%)
T1a	5	6,0%	<b>32 (38,2%)</b>
T1b	4	4,8%	
T1c	23	27,4%	
T2a	7	8,3%	<b>27 (32,2%)</b>
T2b	5	6,0%	
T2c	11	13,1%	
T2	4	4,8%	<b>25 (29,8%)</b>
T3	2	2,4%	
T3a	13	15,5%	
T3b	9	10,7%	
T3c	1	1,2%	
<b>Total</b>	<b>84</b>	<b>100%</b>	<b>84 (100%)</b>

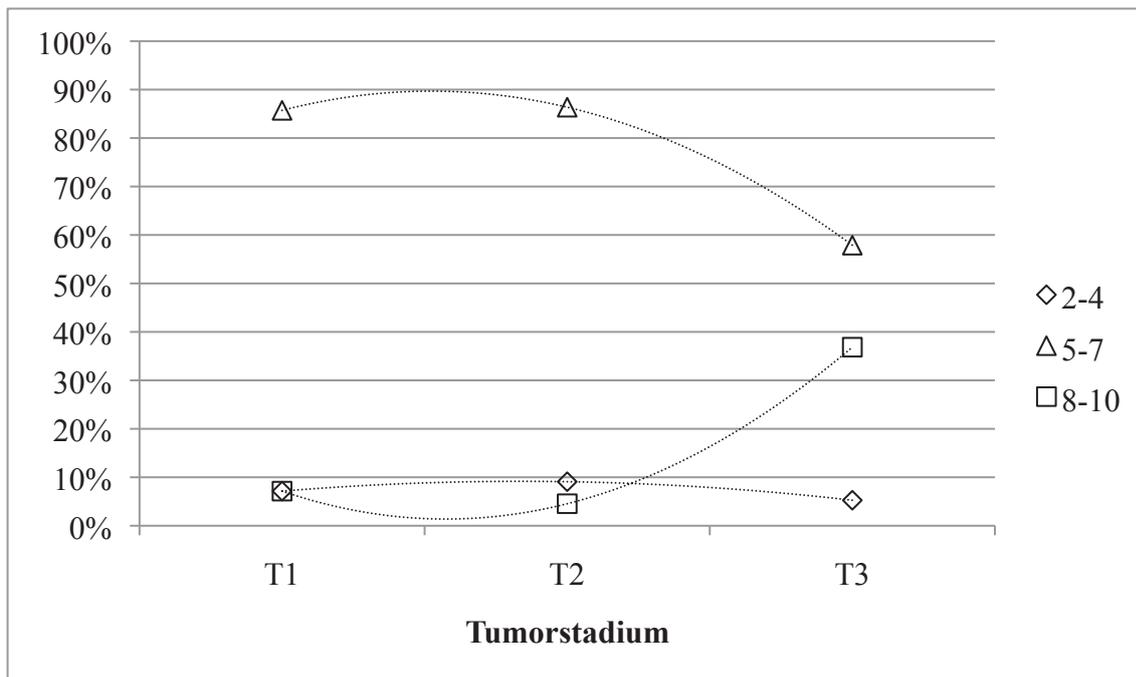
#### 4.2.5.2.2 Tumorstaging vs. Gleason-Score und DNA-Gradierung

**Tabelle 18: Korrelation von Tumorstaging und Gleason-Score**

Gleason-Score	T1	T2	T3	$\Sigma$		T1	T2	T3	$\Sigma$
2	0	0	0	<b>0</b>	Gruppe 1	2	2	1	<b>5</b>
3	1	0	0	<b>1</b>					
4	1	2	1	<b>4</b>					
5	2	1	0	<b>3</b>	Gruppe 2	24	19	12	<b>55</b>
6	13	8	2	<b>23</b>					
7	9	10	10	<b>29</b>					
8	0	1	2	<b>3</b>	Gruppe 3	2	1	7	<b>10</b>
9	0	0	5	<b>5</b>					
10	2	0	0	<b>2</b>					
<b>Total</b>	<b>28</b>	<b>22</b>	<b>20</b>	<b>70</b>	<b>Total</b>	<b>28</b>	<b>22</b>	<b>20</b>	<b>70</b>

Bei 70 (83,3%) der 84 Patienten, bei denen ein Tumorstaging vorlag, fanden sich gleichzeitig korrespondierende Ergebnisse der histologischen Untersuchung mit den Gleason-Scores.

Für den Vergleich der beiden Parameter wurden die Patienten mit Gleason-Scores 2-4, 5-7 und 8-10 in drei Gruppen aufgeteilt. Während sich in der Gruppe 1 (Gleason-Scores 2-4) fünf (7,1%) Patienten fanden, wurden 55 (78,6%) der Gruppe 2 und zehn (14,3%) Patienten der Gruppe 3 zugeordnet und mit dem Tumorstaging verglichen. Dieser Vergleich ist in Abbildung 14 dargestellt.



**Abbildung 14: Häufigkeitsverteilung der Gleason-Scores in Abhängigkeit vom Tumorstadium.**

Während sich die fünf Patienten der Gleason-Score Gruppe 1 gleichmäßig über die 3 Tumorstadien verteilen, ist bei den 55 Patienten der Gruppe 2 ein stark absteigender Trend von T1 zu T3 zu beobachten. In der Gleason-Score Gruppe 3 mit den am stärksten entdifferenzierten Karzinomen fand sich ein starker Anstieg mit steigendem Tumorstadium (im TMN-System).

Von den 28 Patienten, die dem T1-Stadium zugeordnet waren, war bei 24/28 (85,8%) ein Gleason-Score 5-7 dokumentiert. Lediglich 2/28 Patienten (7,1%) waren in Gleason-Score 2-4 bzw. Gleason-Score 8-10 eingeteilt worden. Auch bei den 22 Patienten mit T2 war die Mehrzahl der Patienten (19/22; 86,4%) dem Gleason-Score 5-7 zuzuordnen, lediglich 1/22 Patienten (4,5%) fiel in die Gruppe mit Gleason-Score 8-10; 2 /22 Patienten (9,1%) waren dem niedrigen Gleason-Score 2-4 zugeordnet worden. Auch bei Patienten im T3-Stadium war die Mehrzahl der Patienten (12/20; 60%) der Gruppe 2, nur 7/20 Patienten (35%) der Gruppe 3 und nur 1/20 Patienten (5%) der Gruppe 1 mit den niedrigen Gleason-Scores zugeordnet worden.

Basierend auf der Publikation von Tribukait (Tribukait, 1991) wurden die Ergebnisse der DNA-zytometrischen Untersuchung in die drei Gruppen DNA-diploid, DNA-tetraploid und DNA-non-tetraploid/aneuploid und die Ergebnisse des Tumorstagings in die drei Gruppen T1 bis T3

aufgeteilt und gegenübergestellt. Bei 83 (98,8%) der 84 Patienten, bei denen ein Tumorstaging vorlag, fanden sich gleichzeitig korrespondierende Ergebnisse aus der DNA-zytometrischen Untersuchung mit der DNA-Malignitätsgradierung.

Während sich in der Gruppe 1 (peridiploid und die Zwischenstufe AB: Gruppe: diploid) 19 (22,9%) Patienten fanden, wurden 46 (55,4%) der Gruppe 2 (peritetraploid und die Zwischenstufe BC: Gruppe: tetraploid) und 18 (21,7%) Patienten der Gruppe 3 (x-ploid und multiploid (Gruppe: non-tetraploid/aneuploid) zugeordnet und mit dem Tumorstaging verglichen. Dieser Vergleich ist in Abbildung 15 dargestellt.

Die 19 Patienten der DNA-Gruppe 1 verteilten sich über die drei Tumorstadien von 13/19 Patienten in Stadium T1 bis zu 2/19 Patienten im Stadium T3 absteigend. In der DNA Gruppe 2 wurde bei den 46 Patienten die größte Häufung im Stadium T2 mit insgesamt 21/46 Patienten gezählt, während T1 (11/46) und T3 (14/46) sich fast gleichermaßen aufteilen. DNA-Gruppe 3 zählt jeweils 8/18 Patienten in Stadium T1 und T3 (Tabelle 19) und lediglich 2/18 Patienten im Stadium T2. Abbildung 15 stellt die Anteile der drei DNA-Gruppen in den Tumor-Stadium T1-T3 dar.

Unter den 83 Patienten, für die die korrespondierenden Werte der DNA-Malignitätsgradierung und des Tumorstaging dokumentiert sind, zeigt sich bei den 32 Patienten im T1-Stadium mit 13/32 (40,6%) ein diploides, bei 11/32 (34,3%) und 8/32 (25%) ein aneuploides Verteilungsmuster in der DNA-Malignitätsgradierung. Bei den 27 Patienten mit dokumentiertem T2-Stadium zeigen 21/27 (77,7%) ein tetraploides DNA-Verteilungsmuster, nur 4/27 (14,8%) hingegen ein diploides bzw. 2/27 (7,4%) ein aneuploides Verteilungsmuster. Auch bei den T3-Tumoren dominiert das tetraploide Verteilungsmuster (14/24; 58,3%), gefolgt vom aneuploiden (8/24;33,3%). Nur 2/24 Patienten (8,3%) wiesen ein diploides Muster auf.

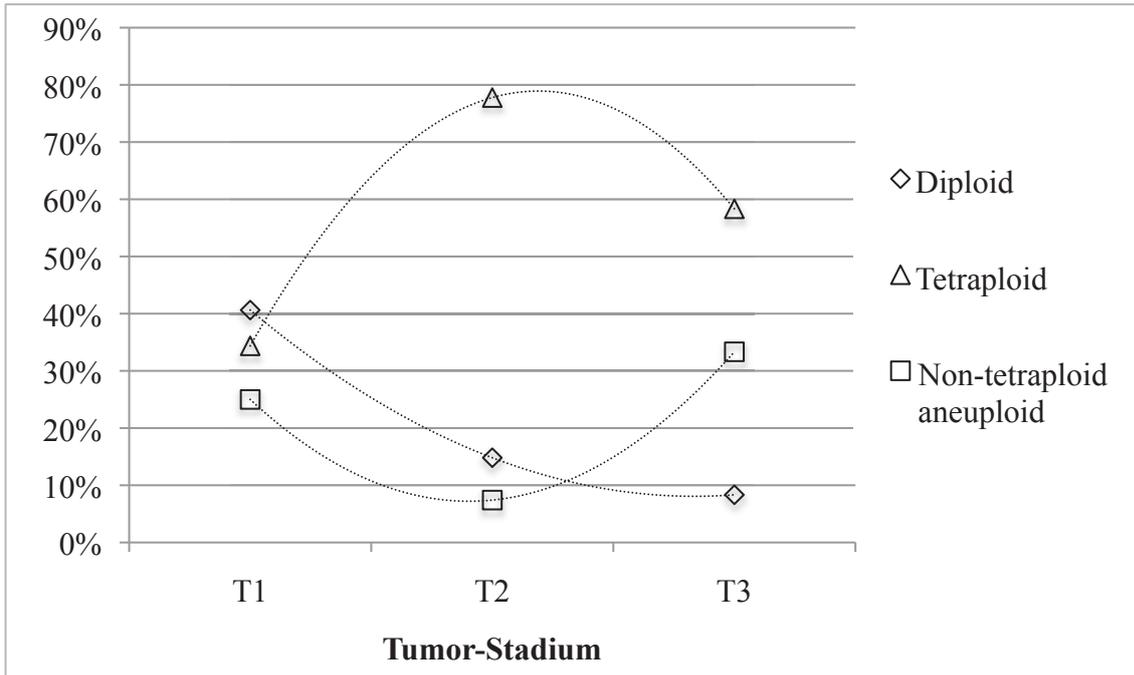


Abbildung 15: Änderung der DNA-Malignitäts-Gradierung mit dem vorliegenden TNM-Stadium

Tabelle 19: DNA-Malignitäts-Gradierung vs. Stadium

DNA-Malignitäts-Gradierung	T1	T2	T3	$\Sigma$		T1	T2	T3	$\Sigma$
A	6	2	2	10	Gruppe 1	13	4	2	19
AB	7	2	0	9					
B	10	19	7	36	Gruppe 2	11	21	14	46
BC	1	2	7	10					
C	4	0	5	9	Gruppe 3	8	2	8	18
D	4	2	3	9					
<b>Total</b>	<b>32</b>	<b>27</b>	<b>24</b>	<b>83</b>	<b>Total</b>	<b>32</b>	<b>27</b>	<b>24</b>	<b>83</b>

### 4.2.5.2.3 Lymphknotenbefall vs. Gleason-Score und DNA-Malignitäts-Gradierung

Bei nur 26 (6,6%) der 393 Patienten fanden sich in den vorhandenen Krankenunterlagen Angaben zu einem Lymphknotenbefall. Von diesen Patienten waren bei 20/26 (76,9%) die untersuchten Lymphknoten tumornegativ, während bei 6/26 (23,1%) ein Tumorbefall der untersuchten Lymphknoten bestätigt wurde.

#### 4.2.5.2.3.1 Lymphknotenbefall vs. Gleason-Score

In der Abbildung 16 sind die Patienten mit bekannter histologischer Untersuchung von Lymphknoten und die korrespondierenden histologischen Untersuchungen des Primärtumors (Gleason-Score) gegenübergestellt. Bei den 20 Patienten, die einen negativen Lymphknotenbefund zeigten, wurde eine relative Häufung der Gleason-Scores 6 und 7 beobachtet, wie sie vergleichbar auch für das gesamte Krankengut beschrieben wurde. Bei den sechs Patienten mit positivem histologischem Befund der Lymphknoten verteilten sich die Einteilungen des Primärtumors gleichmäßig zwischen den Gleason-Scores 6 bis 9 (Tabelle 20).

Entscheidend für die Einordnung der Befunde zur Therapieplanung ist, dass in einem Fall mit Gleason-Score  $\leq 6$  und in zwei Fällen mit Gleason-Score 7 ein positiver Lymphknotenbefund dokumentiert wurde.

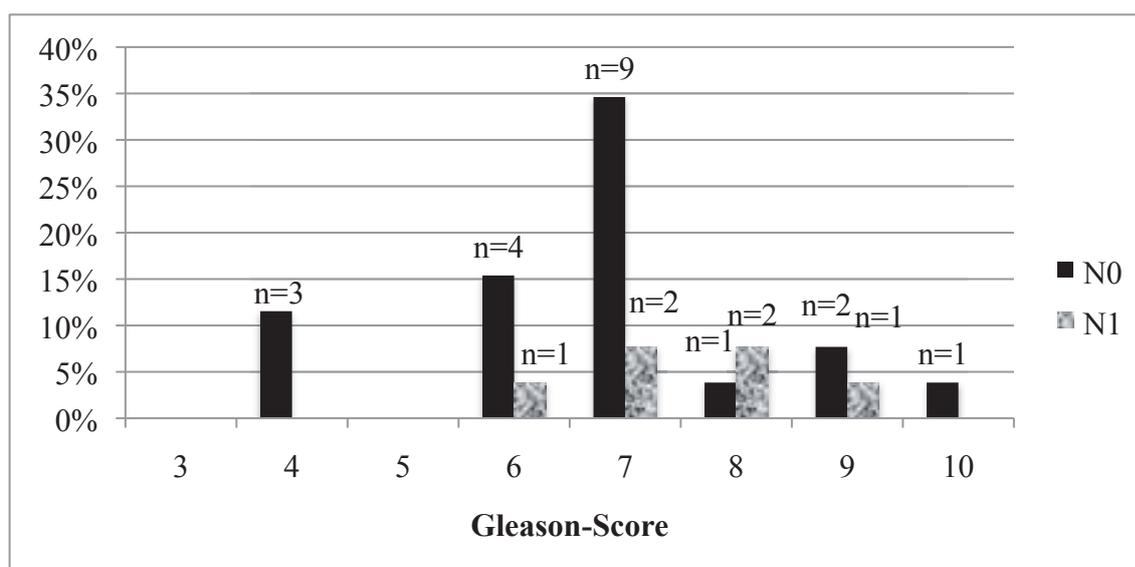


Abbildung 16: Korrelation des Lymphknotenbefalls mit dem Gleason-Score

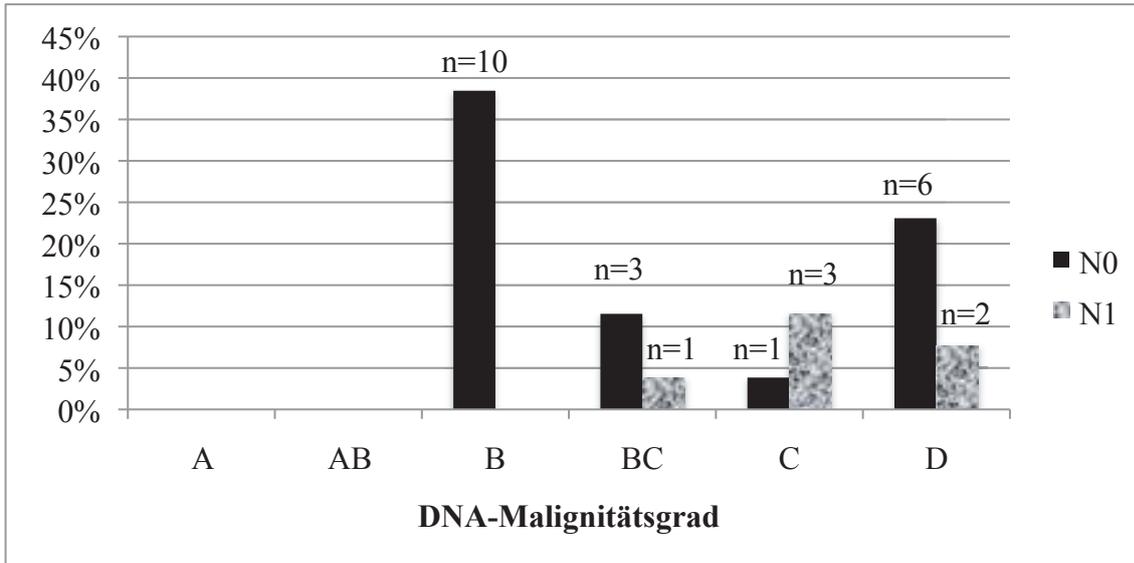
**Tabelle 20: Lymphknotenbefall vs. Gleason-Score**

Gleason-Score	N0 (in n)	N0 (in %)	N1 (in n)	N1 (in %)
3	0	0,0%	0	0,0%
4	3	11,5%	0	0,0%
5	0	0,0%	0	0,0%
6	4	15,4%	1	3,8%
7	9	34,6%	2	7,7%
8	1	3,8%	2	7,7%
9	2	7,7%	1	3,8%
10	1	3,8%	0	0,0%
<b>Total</b>	<b>20</b>	<b>76,9%</b>	<b>6</b>	<b>23,1%</b>

#### 4.2.5.2.3.2 Vergleich des Lymphknotenbefalls mit der DNA-Malignitäts-Gradierung des Primärtumors

Abbildung 17 und Tabelle 21 zeigen die Korrelation zwischen dem Lymphknotenbefall der Patienten und den Ergebnissen der DNA-Malignitäts-Gradierung der Primärtumore. Es gilt hier die gleiche Einteilung wie unter 4.2.5.2.3.1 beschrieben. Von den 20 Patienten, die der Gruppe N0 zugeordnet waren, zeigten zehn eine peritetraploide Gradierung (B), sechs hingegen eine multiploide Gradierung (D), die restlichen vier Patienten verteilten sich auf die Gradierung BC (3/20) und Gradierung C (1/20).

Die sechs Patienten mit positivem Lymphknotenbefall verteilten sich relativ gleichmäßig auf die Gradierungen BC, C und D (Tabelle 21). Kein Patient mit den Malignitätsgraden A-B zeigte einen Lymphknotenbefall.



**Abbildung 17: Korrelation des Lymphknotenbefalls mit der DNA-Malignitäts-Gradierung**

**Tabelle 21: Lymphknotenbefall vs. DNA-Malignitäts-Grade**

DNA-Malignitäts-Gradierung	N0 (in n)	N0 (in %)	N1 (in n)	N1 (in %)
A	0	0,0%	0	0,0%
AB	0	0,0%	0	0,0%
B	10	38,5%	0	0,0%
BC	3	11,5%	1	3,8%
C	1	3,8%	3	11,5%
D	6	23,1%	2	7,8%
<b>Total</b>	<b>20</b>	<b>76,9%</b>	<b>6</b>	<b>23,1%</b>

#### **4.2.5.2.4 Knochenmetastasen vs. feingewebliche Malignitätsgradierung**

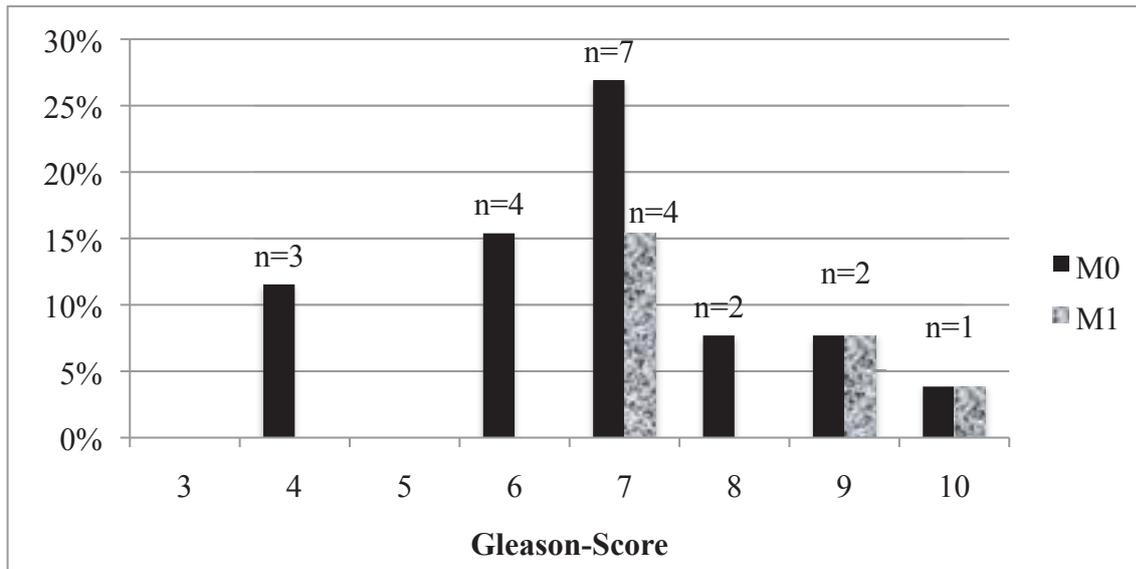
Mit dem gleichen Vorgehen wurden die DNA-Malignitäts-Gradierung und der Gleason-Score den Ergebnissen von Patienten mit Knochenmetastasen gegenübergestellt.

##### **4.2.5.2.4.1 Knochenmetastasen vs. Gleason-Score**

In den Krankenakten der 393 eingeschlossenen Patienten fanden sich bei 26 Patienten Angaben zum Vorliegen von Knochenmetastasen nach einer Skelettszintigraphie. Aufgrund dieses bildgebenden Verfahrens wurden 19 Patienten tumornegativ, sieben Patienten positiv eingestuft.

Tabelle 22 und Abbildung 18 zeigen, dass die 19 (73,1%) Patienten sich ohne nachweisbare Knochenmetastasen (M0) über alle Gleason-Score-Grade verteilten. Lediglich Gruppe 3 und 5 wiesen keine Patienten mit Knochenmetastasen auf. So werden insgesamt elf Patienten den Gruppen 6 und 7 zugeordnet, davon vier (15,4%) der Gruppe 6 bzw. 7 (26,9%) Patienten zur Gruppe 7. In die Gleason-Scores 8 und 9 fielen jeweils zwei (7,7%) Patienten. Dem höchsten Gleason-Score 10 war ein Patient ohne Knochenmetastasen zugeordnet.

Von den sieben Patienten mit Knochenmetastasen wurden vier (15,4%) dem Gleason-Score 7, zwei (7,7%) dem Gleason-Score 9 und ein Patient (3,8%) dem Gleason-Score 10 zugeordnet. Bei allen Patienten, die mit einem Gleason-Score 6 oder niedriger bewertet wurden, wurden keine Knochenmetastasen dokumentiert.



**Abbildung 18: Korrelation von Knochenmetastasen mit dem Gleason-Score**

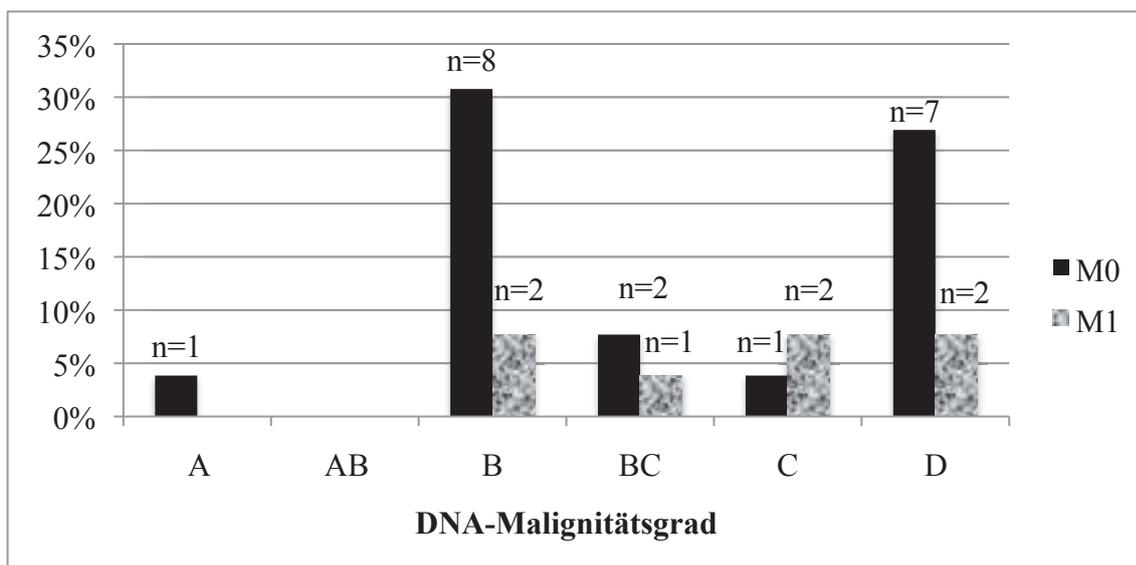
**Tabelle 22: Knochenmetastasen vs. Gleason-Score**

Gleason-Score	M0 (in n)	M0 (in %)	M1 (in n)	M1 (in %)
3	0	0,0%	0	0,0%
4	3	11,5%	0	0,0%
5	0	0,0%	0	0,0%
6	4	15,4%	0	0,0%
7	7	26,9%	4	15,4%
8	2	7,7%	0	0,0%
9	2	7,7%	2	7,7%
10	1	3,8%	1	3,8%
<b>Total</b>	<b>19</b>	<b>73,1%</b>	<b>7</b>	<b>26,9%</b>

#### 4.2.5.2.4.2 Knochenmetastasen vs. DNA-Malignitäts-Grad

Abbildung 19 und Tabelle 23 zeigen die Korrelation der TNM-Tumorstadien mit der DNA-Malignitäts-Gradierung. Wie bereits unter 4.2.5.2.4.1 beschrieben, wurden 19 (73,1%) Patienten in das Stadium M0 und sieben Patienten mit Knochenmetastasen in das Stadium M1 eingeteilt. In Abbildung 19 ist dargestellt, dass bei acht (30,8%) Patienten ohne Knochenmetastasen ein peritraploides DNA-Grading beobachtet wurde und diese damit die größte Gruppe bildeten. Der zweite Gipfel findet sich jedoch in der höchsten Gradierung mit sieben (26,9%) der Patienten in der multiploiden DNA-Gradierung.

Es gab sieben (26,9%) Patienten, für die mindestens eine Knochenmetastase beschrieben wurde. Diese wurden gleichmäßig zwischen der peritraploiden bis zur multiploiden DNA-Malignitäts-Gradierung eingeordnet. Es sind jeweils zwei (7,7%) Patienten mit den Graden B, C und D beschrieben. Ein Patient (3,8%) wurde mit einem DNA-Malignitäts-Grad von BC bewertet. Hervorzuheben ist, dass keine Fernmetastasen bei den Malignitäts-Graden peridiploid (A) und der Zwischenstufe AB gefunden wurden.



**Abbildung 19: Korrelation von Knochenmetastasen mit der DNA-Malignitäts-Gradierung**

**Tabelle 23: Knochenmetastasen vs. DNA-Bildzytometrie**

DNA-Malignitätsgrad	M0 (n)	M0 (%)	M1 (n)	M1 (%)
A	1	3,8%	0	0,0%
AB	0	0,0%	0	0,0%
B	8	30,8%	2	7,7%
BC	2	7,7%	1	3,8%
C	1	3,8%	2	7,7%
D	7	26,9%	2	7,7%
<b>Total</b>	<b>19</b>	<b>73,0%</b>	<b>7</b>	<b>27,0%</b>

#### **4.2.5.3 Alter der Patienten vs. Gleason-Score und DNA-Malignitäts-Gradierung**

In diesem Abschnitt soll geprüft werden, wie das Alter der Patienten zum Zeitpunkt der DNA-zytometrischen Untersuchung mit dem Mittelwert der DNA-Malignitäts-Gradierung pro Altersstufe und dem Gleason-Score korreliert.

##### **4.2.5.3.1 Alter der Patienten mit dem Gleason-Score**

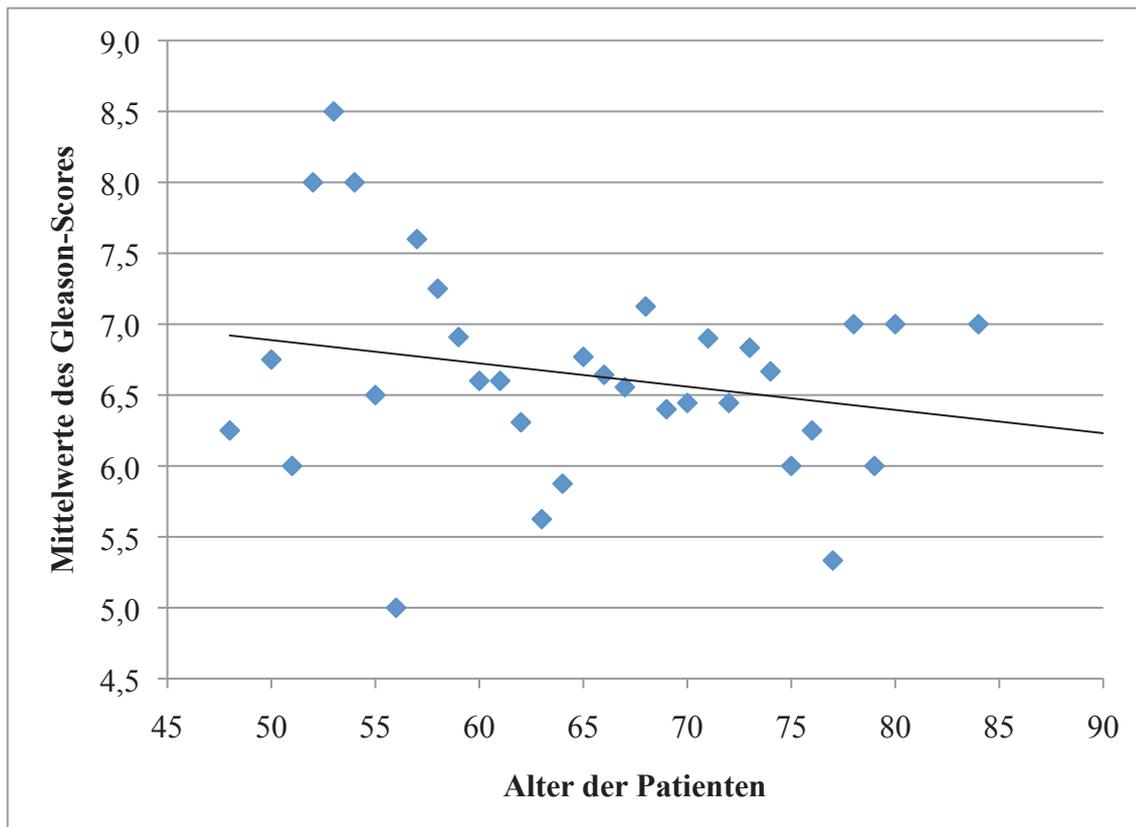
Abbildung 20 zeigt die Mittelwerte des Gleason-Scores in Korrelation mit den einzelnen Altersgruppen.

Dabei wurde der Mittelwert des korrespondierenden Gleason-Scores innerhalb eines Lebensalters wie folgt berechnet: Summe aller Gleason-Scores innerhalb eines Lebensalters/Anzahl der Patienten im entsprechenden Lebensalter.

Hier ist das Alter auf der Abszisse aufgetragen und der Gleason-Score von 4,5 - 9 auf der Ordinate. Die Mittelwerte des Gleason-Scores sind sehr verstreut in den vereinzelt Altersgruppen, somit wurde auch hier wieder eine lineare Trendlinie  $f(x) = mx + b$  (Lepping, 1981) gelegt. Diese Trendlinie verläuft gegen den Anstieg der Altersgruppen negativ. Die meisten Mittelwerte liegen im Bereich zwischen Gleason-Score 6 und 7. Die größten Abweichungen von der Regressionsgeraden  $f(x) = mx + b$  (Lepping, 1981) fanden sich bei den relativ jüngsten

Patienten (Lebensalter < 56 Lebensjahre) und den relativ ältesten Patienten (Lebensalter > 78 Lebensjahre).

Der Korrelationskoeffizient zwischen dem Alter und dem Gleason-Score wurde mit  $r = 0,119$  errechnet. Damit korreliert der Gleason-Score mit dem Alter nur sehr schwach. Die exakten Werte sind in Tabelle 37 im tabellarischen Anhang dargestellt.



**Abbildung 20: Korrelation von Alter mit dem Gleason-Score-Mittelwert**

#### 4.2.5.3.2 Alter der Patienten mit der DNA-Malignitäts-Gradierung

Die Abbildung 21 stellt die Korrelation zwischen dem Alter der Patienten zum Zeitpunkt der DNA-zytometrischen Untersuchung und dem Mittelwert der Ergebnisse der DNA-Malignitäts-Gradierung dar. Die entsprechende Tabelle 38 mit den genauen Werten findet sich im tabellarischen Anhang.

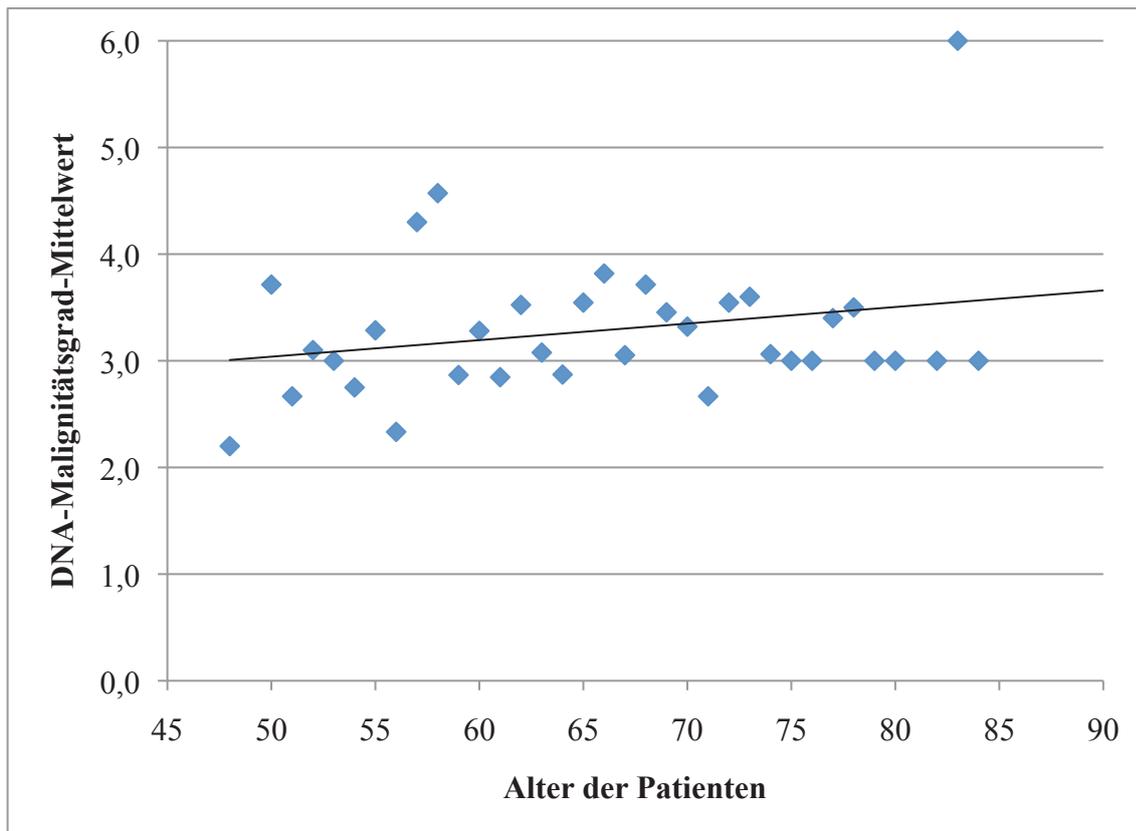
In dieser Korrelation wurden alle Patienten einer Altersstufe in einer Gruppe zusammengefasst. Dabei wurden die DNA-Malignitäts-Gradierungen A bis D numerisch durch die Zahlen 1 bis 6 ersetzt und die Korrelation nach folgender Formel berechnet:

Summe aller DNA-Malignitäts-Gradierungen innerhalb eines Lebensalters/Anzahl der Patienten im entsprechenden Lebensalter.

Danach wurde der Mittelwert der DNA-Malignitäts-Gradierung für diese Altersstufe ermittelt. Daraus ergaben sich die obigen Punkte in Abbildung 21, die auf der Abszisse das Alter von 45 - 90 Jahre und auf der Ordinate die DNA-Malignitäts-Grade von peritetraploid bis multiploid angeben. Durch diese Werte wurde eine lineare Trendlinie  $f(x) = mx + b$  (Lepping, 1981) gelegt, die mit steigendem Alter über die höhere Malignitätsgradierung der einzelnen Patienten anstieg. Die Mittelwerte bewegten sich im Grunde alle zwischen der Zwischenstufe AB und BC, bis auf drei Ausnahmen:

Zwei von diesen drei Ausnahmen fanden sich bei 57- und 58- jährigen Patienten. Die größte Abweichung in Richtung höherer Malignität kam in der Gruppe der 83 - jährigen Patienten vor. Hier befand sich der DNA-Bildzytometrie-Mittelwert zwischen der x-ploiden und multiploiden Gradierung.

Für die Korrelation der DNA-Malignitäts-Gradierung nach neuer Definition mit dem Alter wurde ein Korrelationskoeffizient von  $r = 0,037$  errechnet. Damit lag eine sehr schwache Korrelation vor.



**Abbildung 21: Korrelation von Alter mit den Mittelwerten der DNA-Malignitäts-Gradierung pro Lebensalter**

#### **4.2.5.4 Gesamtbefall der Stenzen mit dem Gleason-Score und der DNA-Malignitäts-Gradierung**

Zur Überprüfung der Beziehung zwischen Tumorbefall der einzelnen Stanzbiopsien mit dem Gleason-Score wurde die Größe des Befalls aller Stenzen zu der Gesamtgröße aller Stenzen pro Patient in Beziehung gesetzt.

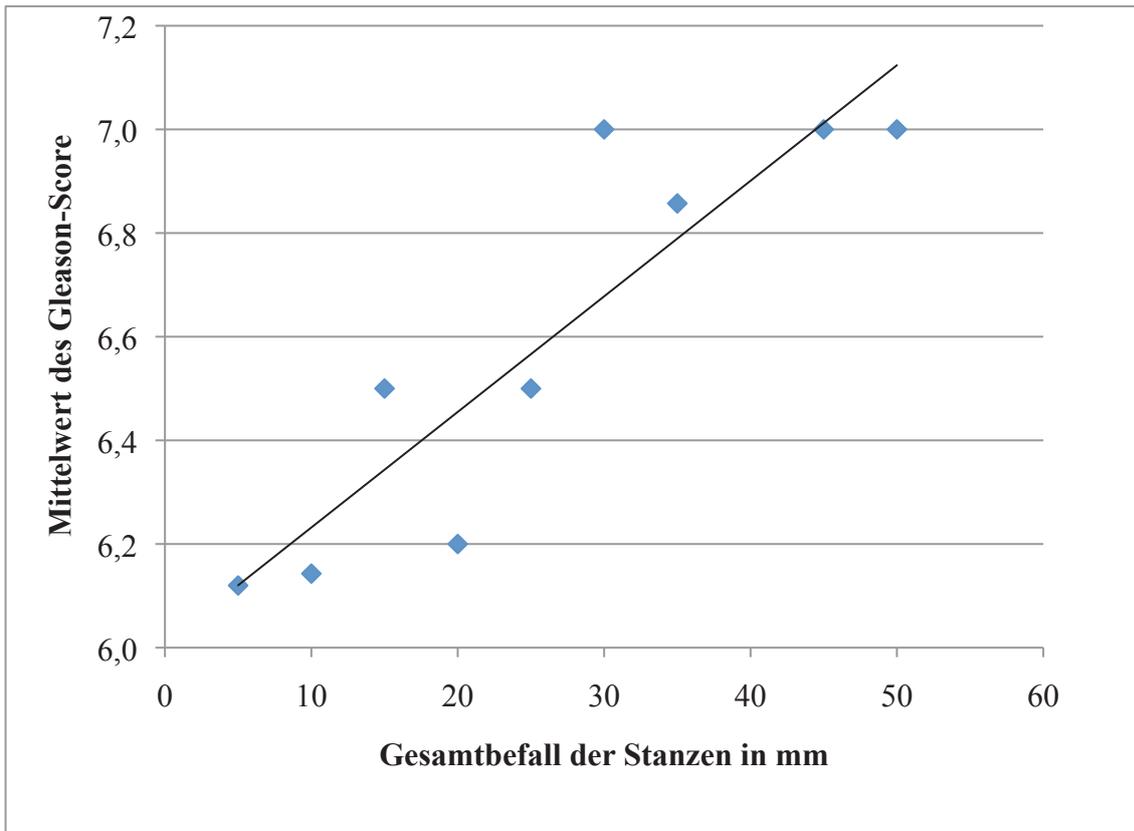
In einem ersten Schritt wurde der Gesamtbefall aus der Summe aller eingesandten Stenzen pro Patient bestimmt.

In einem zweiten Schritt wurde die Größe des Gesamtbefalls pro Patient mit dem jeweiligen Gleason-Score in Beziehung gesetzt. Wenn mehrere Patienten einen gleichen Befall (in mm Gesamtbefall über alle Stenzen) zeigten, wurde für diese Gruppe der korrespondierende Gleason-Score über alle entsprechenden Scores gemittelt.

Eingeschlossen wurden grundsätzlich nur die 69 Patienten, für die ein Gleason-Score aufgrund der Histologie der Stanzbiopsien und gleichzeitig eine Angabe zum Befall der eingesandten Stanzen im Verhältnis zur Größe des Gesamtresektates vorlag.

Abbildung 22 zeigt auf der Abszisse den Gesamtbefall der Stanzen mit Tumorgewebe pro Patient in Millimetern. Die Ordinate zeigt den Mittelwert des Gleason-Scores in Abhängigkeit vom Gesamtbefall der Stanzen. Die relevanten Mittelwerte aller eingeschlossenen Patienten lagen im Bereich von Gleason-Score 6 - 7, deshalb geht die Skalierung nur von 6,0 um 0,2 Einheiten weiter nach oben. Ausgenommen sind drei Patienten, bei denen der Gesamtbefall aller Proben zwischen 63 mm und 125 mm und damit deutlich über der Größe der anderen abgebildeten 66 Proben lag. Die drei Patienten, die hier nicht erfasst wurden, sind im tabellarischen Anhang in Tabelle 39 dargestellt. Zwei Patienten wurden dem Gleason-Score 7 zugeordnet, der verbleibende dritte Patient dem Gleason-Score 6.

Abbildung 22 zeigt, dass mit ansteigendem Gesamtbefall auch die Mittelwerte des Gleason-Scores steigen. Daraus folgte eine lineare Trendlinie  $f(x) = mx + b$  (Lepping, 1981), die einen starken Anstieg des Mittelwertes des Gleason-Scores von 6,1 bis hin zu 7 abbildet.



**Abbildung 22: Gleason-Score-Mittelwert pro Gesamtbefall der Stenzen mit Krebs in mm**

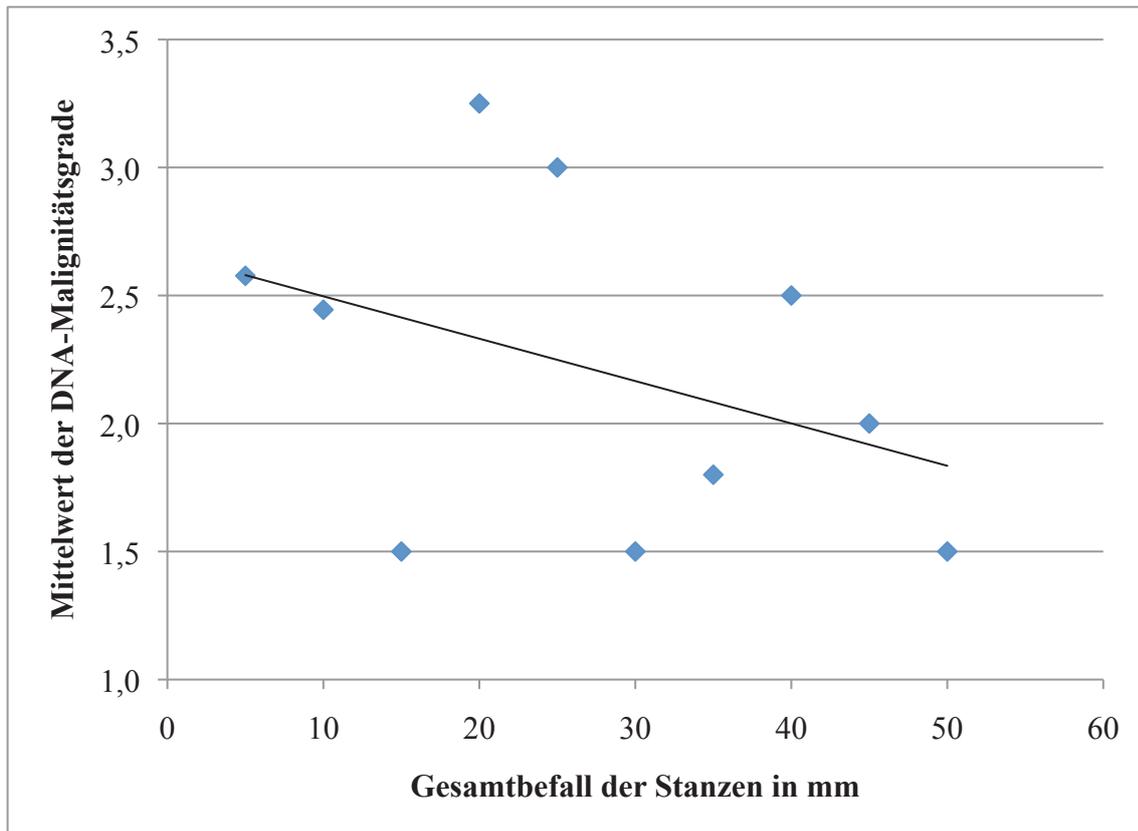
In einem gleichen Ansatz wurde jetzt die Größenausmessung des Gesamtbefalls der Stenzen mit den Ergebnissen der korrespondierenden DNA-Malignitäts-Gradierung korreliert. Dabei wurden die Länge und der Befall der Stenzen dokumentiert.

Für die grafische Darstellung wurden die Gruppen A, AB, B, BC, C und D durch die numerische Ordinalskala 1 bis 6 ersetzt, wobei 1 der Gruppe A (peridiploide-Gradierung) und 6 der Gruppe D (multiploide-Gradierung) entspricht.

Auf der Abszisse wurden die Millimeter des Gesamtbefalls der Stenzen pro Patient, auf der Ordinate die Mittelwerte der korrespondierenden zytologischen Gradierung aufgetragen.

Abbildung 23 zeigt eine ungeordnete Verteilung des Gesamtbefalls der Stenzen in Bezug auf die DNA-Malignitäts-Gradierung. Die lineare Trendlinie  $f(x) = mx + b$  zeigt eine absteigende Tendenz. Von den drei bereits oben erwähnten ausgeschlossenen Patienten fallen zwei in die

x-ploide Gradierung (C) und einer in die Zwischenstufe BC. Die exakten Werte sind in Tabelle 40 im tabellarischen Anhang zu finden.



**Abbildung 23: DNA-Malignitäts-Gradierung-Mittelwert pro Gesamtbefall der Stenzen in mm**

#### **4.2.6 Änderung der Indikationsstellung: *Active Surveillance* durch Einbeziehung der DNA-Malignitäts-Gradierung**

Wegen der zunehmenden Akzeptanz von Prostata-Screening-Programmen mit routinemäßiger Bestimmung des PSA-Wertes steigt die Diagnoserate des Prostatakarzinoms deutlich an. Da jedoch in vielen Fällen wegen des häufig zu beobachtenden langsamen Tumorwachstums ein *Active Surveillance*-Prozedere einer aggressiven Therapieplanung vorzuziehen ist, hat der Gleason-Score eine besondere Bedeutung in der Therapieplanung gewonnen. Die gängigen Eingangskriterien zur *Active Surveillance* Gruppe sind unter 3.3.6 aufgeführt.

Bei 230/393 Patienten (58,5%) fanden sich in den Krankenakten verwertbare Aussagen zum Gleason-Score. Diese konnten demzufolge nach den gängigen Kriterien der *Active Surveillance*-Gruppe zugeordnet werden. Basierend auf Tabelle 10 sind von den maximal 195 Patienten, die sich potentiell für eine *Active Surveillance* Therapie qualifizieren, entsprechend den gängigen Systematiken zugeordnet worden und wurden in den Tabellen 24 bis 27 dargestellt:

**Tabelle 24: Anteil der 230 Patienten, die nach der Definition von Helpap (2009) für eine *Active Surveillance*-Therapie geeignet wären, plus Einbeziehung der diploiden Fälle der DNA-Malignitäts-Gradierung**

	Einschlusskriterien für eine <i>Active Surveillance</i> -Therapie nach Helpap	Nach Einbeziehung des DNA-Malignitäts-Grades	Differenz
Nur Gleason-Score	195 (84,7%)	42 (21,5%)	- 153 (78,5%)
Plus Gesamtzahl der befallenen Stenzen	32	11	- 21
Plus Befall der einzelnen Stenzen in mm und %	32	11	- 21

**Tabelle 25: Anteil der 230 Patienten, die nach der Definition von Epstein (1998) für eine *Active Surveillance*-Therapie geeignet wären, plus Einbeziehung der diploiden Fälle der DNA-Malignitäts-Gradierung**

	Einschlusskriterien für eine <i>Active Surveillance</i> -Therapie nach Epstein	Nach Einbeziehung des DNA-Malignitäts-Grades	Differenz
Nur Gleason-Score	119 (51,7%)	33 (27,7%)	- 86 (72,3%)
Plus Gesamtzahl der befallenen Stenzen	41	10	- 31
Plus Befall der einzelnen Stenzen in mm und %	40	10	- 30

**Tabelle 26: Anteil der 230 Patienten, die nach der Definition von Römeling (2006) für eine *Active Surveillance*-Therapie geeignet wären, plus Einbeziehung der diploiden Fälle der DNA-Malignitäts-Gradierung**

	Einschlusskriterien für eine <i>Active Surveillance</i> -Therapie nach Römeling	Nach Einbeziehung des DNA-Malignitäts-Grades	Differenz
Nur Gleason-Score	119 (51,7%)	33 (27,7%)	- 86 (72,3%)
Plus Gesamtzahl der befallenen Stenzen	41	10	- 31
Plus TNM-Klassifikation	9	4	- 5

**Tabelle 27: Anteil der 230 Patienten, die nach der Definition der S3-Leitlinie (2011) für eine *Active Surveillance*-Therapie geeignet wären, plus Einbeziehung der diploiden Fälle der DNA-Malignitäts-Gradierung**

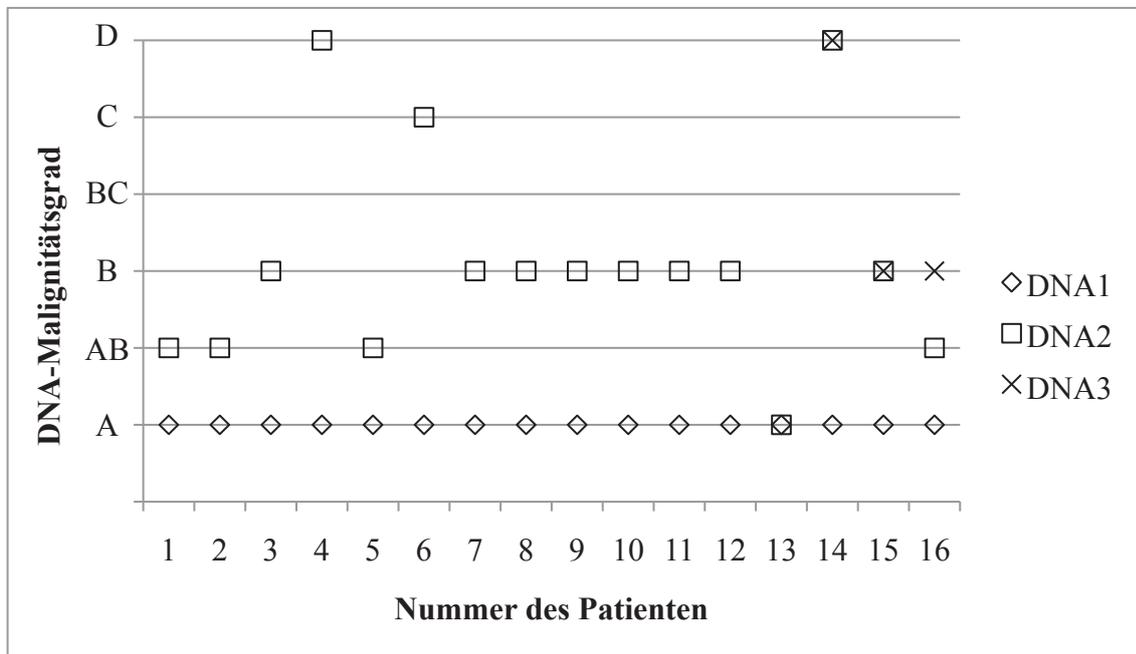
	Einschlusskriterien für eine <i>Active Surveillance</i> -Therapie nach den S3-Leitlinien	Nach Einbeziehung des DNA-Malignitäts-Grades	Differenz
Nur Gleason-Score	119 (51,7%)	33 (27,7%)	- 86 (72,3%)
Plus Gesamtzahl der befallenen Stenzen	41	10	- 31
Plus Befall der einzelnen Stenzen in mm und %	40	10	- 30
Plus TNM-Klassifikation	9	4	- 5

Diese Einteilung stützt sich lediglich auf die verwertbaren Ergebnisse der histologischen Untersuchungen, dokumentierte PSA-Werte der Blutuntersuchungen bleiben hier unberücksichtigt, da sie nicht für alle Fälle vorlagen.

Tabelle 24 - Tabelle 27 zeigen, dass sich basierend auf der Definition von Helpap, von 230 Patienten insgesamt 32, nach Epstein 40, nach Römeling neun und nach der S3-Leitlinie neun Patienten sich für eine *Active Surveillance*-Strategie eignen. Werden die Ergebnisse der DNA-zytometrischen Untersuchung hinzugezogen, qualifizieren sich nach Epstein nur noch zehn Patienten, nach Helpap elf und nach Römeling sowie den S3-Leitlinien noch vier Patienten für eine *Active Surveillance*-Strategie.

Beschränkt man bei den etablierten Eingangskriterien die Bewertung allein auf die Ergebnisse der histologischen Untersuchung, zeigen sich zwischen Epstein mit 40 Patienten, Helpap mit 32 und Römeling sowie S3-Leitlinien mit jeweils neun Patienten deutliche Unterschiede. Hier weist die zusätzliche DNA-zytometrische-Untersuchung mit zehn bzw. elf Patienten ein sehr konsistentes Bild auf.

#### 4.2.7 Heterogenität der DNA-Malignitäts-Gradierung innerhalb eines Tumors



**Abbildung 24: Heterogenität bei peridiploiden DNA-Malignitäts-Graden in einer Biopsie (DNA 1-3 ist die Zahl der unterschiedlichen DNA-Malignitätsgradierungen pro Patient)**

Für die weitere Therapieplanung ist es wichtig, die Patienten zu identifizieren, die eine Heterogenität ihrer DNA-Malignitäts-Grade innerhalb ihres Tumors aufweisen. Wie von Wang et al. (2000) gezeigt, steigt mithilfe zusätzlicher DNA-zytometrischer Untersuchungen die Wahrscheinlichkeit, hoch maligne Tumoranteile neben weniger malignen Tumoranteilen zu finden. Es wäre fatal, Patienten aufgrund ihres niedrigen Gleason-Scores für eine *Active Surveillance* zu empfehlen und sie für kurative Therapien zu verlieren, weil Zellpopulationen mit höheren Malignitäts-Graden unentdeckt geblieben sind.

Aus diesem Grund wurden 16 Fälle, die in der DNA-zytometrischen Untersuchung neben einem diploiden DNA-Muster zusätzlich höher maligne DNA-Muster zeigten, reevaluiert und geprüft, welche in der *Active Surveillance* Gruppe verbleiben bzw. einer aggressiveren Therapie zugeführt werden sollten.

In Tabelle 28 sind 15 Fälle aufgeführt, die neben mindestens einem diploiden Verteilungsmuster zusätzliche Abweichungen zeigten. Bei insgesamt 12 Patienten (Fall 1 bis 12) lagen zwei DNA-zytometrische Untersuchungsergebnisse vor, wobei ein Befund AB (Zwischenstufe zwischen peridiploid und peritetraploid) oder höher entdifferenziert war. Für drei Patienten (Fall 14 bis 16) lagen drei Ergebnisse vor, bei denen mindestens zwei höher entdifferenziert waren. Nur bei einem Patienten (Fall 13) waren beide vorliegenden zytologischen Befunde diploid (Abbildung 24).

In der Übertragung dieser feingeweblichen Befunde auf die Therapieplanung zeigt sich, dass nach Helpap acht dieser Patienten, nach den anderen Definitionen (Epstein, Römeling, S3-Leitlinie) drei Patienten für eine *Active Surveillance*-Therapiestrategie qualifizieren. Wenn jedoch die Ergebnisse der DNA-zytometrischen Untersuchung zusätzlich einbezogen werden, bleibt nur ein Patient in der *Active Surveillance*-Gruppe (Tabelle 28).

**Tabelle 28: Therapeutische Effekte einer heterogenitätsbedingten DNA-Höhergradierung.**

Patientennummer	DNA-Malignitätsgrad Ergebnis	Gleason-Score	Angaben zu den Stanzeln	Angabe zur Tumor-Größe und Ausdehnung
<b>1. Heterogenitätsfall</b>	A, AB	Keine Angabe	Keine Angaben zu den Stanzeln	Keine Angaben zu dem Tumor
<b>2. Heterogenitätsfall</b>	A, AB	9	Keine Angaben zu den Stanzeln	Keine Angaben zu dem Tumor
<b>3. Heterogenitätsfall</b>	A, B	Keine Angabe	Keine Angaben zu den Stanzeln	Keine Angaben zu dem Tumor
<b>4. Heterogenitätsfall</b>	A, D	9	Keine Angaben zu den Stanzeln	Keine Angaben zu dem Tumor

<b>5. Heterogenitätsfall</b>	A, AB	5	Keine Angaben zu den Stanzen	Keine Angaben zu dem Tumor
<b>6. Heterogenitätsfall</b>	A, C	Keine Angabe	Keine Angaben zu den Stanzen	Keine Angaben zu dem Tumor
<b>7. Heterogenitätsfall</b>	A, B	5	3 Stanzen sind befallen	Keine Angaben zu dem Tumor
<b>8. Heterogenitätsfall</b>	A, B	7	4 Stanzen sind befallen	T2c
<b>9. Heterogenitätsfall</b>	A, B	7	Keine Angaben zu den Stanzen	Keine Angaben zu dem Tumor
<b>10. Heterogenitätsfall</b>	A, B	6	4 Stanzen sind befallen	Keine Angaben zu dem Tumor
<b>11. Heterogenitätsfall</b>	A, B	7	Keine Angaben zu den Stanzen	Keine Angaben zu dem Tumor
<b>12. Heterogenitätsfall</b>	A, A	7	3 Stanzen sind befallen	T1c
<b>13. Heterogenitätsfall</b>	A, D	7	Keine Angaben zu den Stanzen	Keine Angaben zu dem Tumor
<b>14. Heterogenitätsfall</b>	A, B	Keine Angabe	Keine Angaben zu den Stanzen	Keine Angaben zu dem Tumor

<b>15. Heterogenitätsfall</b>	A, B, B	Keine Angabe	Keine Angaben zu den Stanzen	Keine Angaben zu dem Tumor
<b>16. Heterogenitätsfall</b>	A, AB, B	9	Keine Angaben zu den Stanzen	T3b

## 5 Diskussion

Die Arbeit stellt folgende Fragen:

- Wie hoch ist die interindividuelle Reproduzierbarkeit der prognostischen DNA-Bildzytometrie des Prostatakarzinoms im Vergleich zu der des Gleason-Scores?
- Wie korreliert die DNA-Malignitätsgradierung mit dem Gleason-Score?
- Wie korrelieren die DNA-Malignitäts-Grade mit dem Tumorstadium und dem Lebensalter?
- Welche Konsequenz hätte die Einführung neuer Algorithmen der DNA-Malignitätsgradierung für die Therapieplanung, insbesondere auf die Eingangskriterien zur Active Surveillance-Strategie?

### 5.1 Reproduzierbarkeit der DNA-Bildzytometrie

Die hohe interindividuelle Reproduzierbarkeit der DNA-Bildzytometrie wurde auch für die neue Definition der verschiedenen Grade bestätigt. Die Gradierungsergebnisse von Prof. Böcking und Prof. Biesterfeld zeigten eine interindividuelle Reproduzierbarkeit von 86,1%. Es gab nur zwei Fälle, die mehr als zwei Malignitätsgrade auseinanderlagen. Im Vergleich der Bewertungen von Prof. Böcking und dem Autor ergab sich eine interindividuelle Reproduzierbarkeit von 90,2%. In diesem Vergleich gab es kein Histogramm, in dem die Beurteilung um mehr als zwei Malignitätsgrade differierte. Engelhardt (2014) beschreibt eine Reproduzierbarkeit von 93%.

Basierend auf der Einteilung von Tavares (1966) haben verschiedene Arbeitsgruppen Algorithmen mit bis zu fünf verschiedenen prognostischen Kategorien entwickelt. In drei *Consensus Reports der European Society for Analytical Cellular Pathology* (ESACP) (Böcking et al., 1995, Giroud et al., 1998, Haroske et al., 2001, Haroske et al., 1998) wurde eine standardisierte Definition mit vier Malignitätsstufen (peridiploid, peritetraploid, x-ploid und multiploid) eingeführt. Da bisher viele Arbeitsgruppen mit eigenen prognostischen Algorithmen arbeiten, sind die Ergebnisse zur prognostischen Validität der DNA-Gradierung nur schwer vergleichbar.

Trotzdem bleibt die Unterscheidung in diploide vs. nicht-diploide Zelllinien das wesentliche Unterscheidungsmerkmal mit klinischer Relevanz. Während der Tumorprogression steigern zunächst peridiploide Tumore ihre Proliferationsrate, später entwickelt sich ein zusätzlicher peritetraploider Klon (Tribukait, 1991). Für die Unterscheidung in diploid oder nicht-diploid ist es nicht entscheidend, welchen c-Wert der diploide Peak hat, sondern wie groß seine Proliferationsfraktion ist und ob sich ein zweiter Peak bei 4c oder anderswo findet. Bisher spielte die Breite des 4c-Peaks gemessen als dessen CV keine Rolle in der diagnostischen Routine. Da aber häufig sehr breite 4c-Peaks vorkommen und es ein zytogenetisches Argument dafür gibt, dass die Tumorprogression DNA-zytometrisch zu einer Verbreiterung des 4c-Peaks mit entsprechender Verschlechterung der klinischen Prognose führt, hat Prof. Böcking die Berücksichtigung der Breite des 4c-Peaks mit  $\pm 10\%$  vorgeschlagen und den besagten neuen Algorithmus modifiziert.

In unserem Patientengut wurde die Malignitätsgradierung im Vergleich der neuen mit der alten Definition zur prognostischen Bewertung der DNA-Histogramme bei 95 von 174 (55%) der ursprünglich als A (peridiploid) eingeordneten Histogramme nach der neuen Definition in AB oder höher umgestuft und qualifiziert ihre Träger damit nicht mehr für eine *Active Surveillance*. Diese „Rechtsverschiebung“ in Richtung höherer Malignität setzt sich kontinuierlich bis zum Grad C (x-ploid) fort. Lediglich in einem Fall wurde ein Histogramm der Zwischenstufe CD nach alter Definition zu C, nach neuer Definition niedriger gradiert (siehe Tabelle 13).

Diesen Werten steht die in der Literatur dokumentierte unzureichende interindividuelle Reproduzierbarkeit des Gleason-Scores gegenüber, die zwischen 36% und 83% bei der ursprünglichen (Gleason, 1966) und zwischen 45% und 70% bei der überarbeiteten Definition des Gleason-Scores (Epstein et al., 2005) liegt. Jedoch sind die Ergebnisse von Reproduzierbarkeitsstudien nur schwer zu vergleichen, da die Anzahl der Bewerter und der Ursprung des Materials (RPE, Stanzbiopsie) nicht vergleichbar sind (Glaessgen et al., 2004a). Studien belegen zudem, dass Allgemeinpathologen eher zum *Undergrading* neigen und eine geringere Reproduzierbarkeit haben als spezialisierte Uropathologen (Griffiths et al., 2006). Im Vergleich mit Referenzzentren zeigte sich, dass der Gleason-Grad 6 am häufigsten unterbewertet ist (Helpap and Egevad, 2006).

**Tabelle 29: Interindividuelle Übereinstimmung bei der Malignitätsgradierung des Prostatakarzinoms nach Gleason (Fett nach ISUP 2005).**

Autoren	Methode	Anzahl	Prozent
(Svanholm and Mygind, 1985)	Gleason, 1966	91	36%
(Rousselet et al., 1986)	Gleason, 1966	234	65%
(Ozdamar et al., 1996)	Gleason, 1966	96	70,8%
(McLean et al., 1997)	Gleason, 1966	71	43,7%
(Egevad, 2001)	Gleason, 1966	49	70,5%
(Bova et al., 2001)	Gleason, 1966	221	81%
(Mikami et al., 2003)	Gleason, 1966	16	61,3%
(Griffiths et al., 2006)	Gleason, 1966	81	83%
<b>(Veloso et al., 2007)</b>	<b>Epstein et al., 2005</b>	<b>110</b>	<b>58-69%</b>
<b>(Burchardt et al., 2008)</b>	<b>Epstein et al., 2005</b>	<b>331</b>	<b>45,7%</b>
<b>(Netto et al., 2011)</b>	<b>Epstein et al., 2005</b>	<b>257</b>	<b>70%</b>

## 5.2 Korrelation der DNA-Malignitätsgradierung mit dem Gleason-Score

In den histologischen Präparaten mit geringer Entdifferenzierung des Karzinoms (Gleason-Score  $\leq 5$ ) fanden sich sehr unterschiedliche DNA-Malignitätsgradierungen. Von den 27 Histogrammen, die einem Gleason-Score 5 oder kleiner zugeordnet waren, wurden nur acht Präparate der Gradierung A (peridiploid) zugeordnet. Während die Mittelwerte des Gleason-Scores mit dem Gesamtbefall der Stanze anstiegen, zeigte sich in der DNA-Malignitätsgradierung eine ungeordnete Verteilung in Abhängigkeit vom Gesamtbefall der Stanze (siehe Tabelle 16 und Abbildung 10).

Es zeigte sich insgesamt eine schlechte Korrelation zwischen der DNA-Bildzytometrie und dem Gleason-Score. So errechnete sich ein Korrelationskoeffizient von  $r = 0,304$ . In unserem Patientengut wurden die Gleason-Scores 6 und 7 am häufigsten vergeben.

Hier zeigt sich, dass die DNA-Bildzytometrie gerade bei histologischen Präparaten mit einem niedrigen Gleason-Score wahrscheinlich zusätzliche Informationen beisteuern kann, um die Sicherheit in der Therapieplanung zu erhöhen und Patienten mit tetraploiden und aneuploiden

DNA-Verteilungsmustern nicht unnötig einer *Active Surveillance* zuzuordnen und diesen damit eine frühe kurative Behandlung vorzuenthalten.

### **5.3 Korrelation der DNA-Malignitätsgradierung mit dem Tumorstadium und dem Lebensalter**

Duesberg and McCormack (2013) haben gezeigt, dass in neoplastischen Zellklonen mit zunehmender Anzahl von Mitosen in einer Zelllinie die chromosomalen Anomalien und die Malignität des Tumors zunehmen. Basierend auf dieser Grundlage haben wir die Korrelation der DNA-Malignitätsgradierung bzw. des Gleason Scores mit dem Auftreten von Lymphknoten- und Knochenmetastasen, der Tumorgröße und dem Lebensalter untersucht.

In der Zuordnung des Gleason-Scores zu den dokumentierten Befunden der TNM-Klassifikation zeigt sich bei Patienten mit besser differenzierten Tumoren (Gleason-Score  $< 7$ ) nur eine geringe Korrelation mit dem Tumorstaging. 65% der Patienten ohne positiven Lymphknotenbefund hatten einen Gleason-Score  $\geq 7$ . Bei keinem Patienten mit Gleason-Score  $< 6$  wurde ein Lymphknotenbefall des kleinen Beckens nachgewiesen. Jedoch fand sich ein Patient mit Gleason-Score 6 mit positiven Lymphknotenbefund, der möglicherweise für eine *Active Surveillance* qualifiziert hätte. Patienten mit Knochenmetastasen wurden erst ab einem Gleason-Score von  $> 6$  dokumentiert.

Im Vergleich der DNA-bildzytometrischen Malignitätsgradierung mit der TNM-Klassifikation zeigt sich, dass bei diploiden Mustern das Stadium T1 dominiert, während bei Patienten mit zunehmenden Tumorstadien (T2, T3) eine Zunahme von tetraploid und bzw. aneuploiden DNA-Verteilungsmustern beschrieben wird. Kein Patient mit positivem Lymphknotenbefall wurde dem diploiden oder peritetraploiden Verteilungsmuster zugeordnet. Damit wäre kein Patient mit positivem Lymphknotenbefund aufgrund der DNA-Bildzytometrie einer *Active Surveillance* zugeordnet worden. Bei keinem Patienten mit nachgewiesenen Knochenmetastasen wurde ein diploides DNA-Verteilungsmuster nachgewiesen, jedoch wurden zwei Patienten mit Knochenmetastasen peritetraploid eingestuft.

Die Betrachtung der Korrelation zwischen dem Lebensalter der Patienten und dem korrespondierenden Gleason-Score zeigte nur eine schwache Korrelation, mit einem leichten Trend zu abnehmendem Gleason-Score mit zunehmendem Lebensalter. Hingegen zeigte sich in der DNA-Malignitätsgradierung eine schwache Korrelation mit zunehmender zytologischer Entdifferenzierung bei steigendem Lebensalter.

In der Zusammenfassung der Befunde aus Lymphknoten- und Knochenmetastasen, der Tumorgröße und des Lebensalters des Patienten zeigt sich, dass die Ergebnisse der DNA-Malignitätsgradierung besser mit der Prognose und Therapieplanung des Patienten zu korrelieren scheinen als korrespondierende Befunde des Gleason-Scores. Diese Befunde unterstützen die Aussage von Tribukait (1991), nach der sich das Prostatakarzinom kontinuierlich von niedriger zu höherer Malignität entwickelt. Diese kontinuierliche Zunahme der Entdifferenzierung des Gesamttumors scheint durch die DNA-Malignitätsgradierung besser als über den Gleason-Score erfasst zu werden.

#### **5.4 Bedeutung eines modifizierten Algorithmus zum DNA-Grading auf die Therapieplanung des Prostatakarzinoms, insbesondere auf die Indikation zur *Active Surveillance***

In der S3-Leitlinie Prostatakarzinom wird ein Paradigmenwechsel in der Diagnostik herausgestellt, nach dem das Erkennen von organbegrenzten, aggressiven Tumoren im Vordergrund steht, um einerseits therapiebedürftige Karzinome zu identifizieren und andererseits Patienten mit einem lokal begrenzten Tumor einer *Active Surveillance* zuzuführen (Deutsche Gesellschaft für Urologie, 2011).

Inzwischen wurden mehrere Studien zu Überlebenszeiten von Patienten mit Prostatakarzinom unter *Active Surveillance* mit mindestens fünf Jahren Nachbeobachtung dokumentiert (van den Bergh et al., 2009, Soloway et al., 2008, Dall'Era et al., 2008, Al Otaibi et al., 2008, Klotz, 2006). In allen Studien liegt eine tumorspezifische Überlebenszeit von über 99% vor. Zudem gibt es keinen Hinweis auf zu spät erkannte Progression (Weißbach, 2010). Nach Godtman et al. (2013) können etwa 45% der in Screening-Programmen entdeckten Prostatakarzinome einer *Active Surveillance* zugeführt werden.

In der klinischen Praxis sind die Vorbehalte gegen die *Active Surveillance*-Strategie oft noch hoch. Folgende Argumente spielen dabei eine wesentliche Rolle: (1) Tumore, die in Stanzbiopsaten als *low risk* eingestuft waren, zeigten nach radikaler Prostatektomie eine höhere Malignität oder einen Kapseldurchbruch oder Infiltration der Samenblase, (2) hohe psychische Belastung des Patienten, (3) Impotenz durch häufige Rebiopsien, (4) Anstieg der Malignität über die Zeit und (5) behandelnde Ärzte befürchten, eine Fehlentscheidung zu treffen und sich später evtl. Vorwürfen aussetzen zu müssen. Damit wird die *Active Surveillance* so lange als unsichere Therapieoption angesehen, wie es nicht möglich ist, signifikante Tumore rechtzeitig zu erkennen (Weissbach and Schaefer, 2010) und zeitnah einer kurativen Therapie zuzuführen.

Um das klinisch signifikante, therapiebedürftige Prostatakarzinom von einem insignifikanten unterscheiden zu können, wurden prognostische Kriterien entwickelt. Insgesamt werden in der Literatur bis zu 19 verschiedene Definitionen des insignifikanten Prostatakarzinoms beschrieben (Deutsche Gesellschaft für Urologie, 2011). Anerkannte Parameter sind hier (1) die Größe des Tumors, (2) seine Organbegrenzung, (3) ein Anstieg des PSA-Wertes und (4) als wesentlicher feingeweblicher Marker der Gleason-Score. In den Hintergrundinformationen weist diese S3-Leitlinie darauf hin, dass keines dieser Instrumente klinisch insignifikante Fälle sicher auszusortieren vermag (Deutsche Gesellschaft für Urologie, 2011).

So zeigten Albertsen et al. (2005) in einer Outcome-Studie an Patienten unter *Active Surveillance* über 20 Jahre, dass die Mortalität des Prostatakarzinoms ab 15 Jahre nach Diagnosestellung stabil bleibt. Die karzinombedingten Sterberaten stiegen jedoch in Abhängigkeit vom Gleason-Score. Patienten mit einem niedrigen Gleason-Score (2-4) hatten eine 7%ige Sterberate, Gleason-Score 5 = 14%, GS 6 = 27%, GS 7 = 45% und GS 8-10 = 66%. Jedoch relativieren sich diese auf den ersten Blick beeindruckenden Werte dadurch, dass nach der neuen Definition (Epstein et al., 2005) aus Stanzbiopsien alle Werte < 5 heute in GS 6 zusammengefasst werden. Damit wird die prädiktive Bedeutung des Gleason-Scores für den Einschluss in die *Active Surveillance* deutlich eingeschränkt. Rüschoff et al. (2008) haben in neueren Untersuchungen gezeigt, dass 30% der mit einem GS < 6 am Stanzzyylinder befundenen Biopsiepräparate am radikalen Prostatektomiepräparat heraufgestuft wurden und damit anders behandelt worden wären, wären diese höheren Grade präoperativ bekannt gewesen. So wurde auch hier in 27 (11,7%) der dokumentierten Stanzbiopsien ein Gleason-Score < 6 beschrieben, welcher nach der aktuell gültigen Definition in Stanzbiopsien nicht mehr vergeben werden soll. Insgesamt wurde in den

hier nachuntersuchten Patientendaten bei 119/230 (51,7%) ein Gleason-Score  $\leq 6$  dokumentiert. Bei 76/230 (33,0%) der Befunde wurde ein Gleason-Score von 7 beschrieben. Damit kumuliert die Mehrzahl der Befunde um die für die Therapieplanung kritische Grenze zwischen Gleason-Score 6 und 7. Eine eindeutige Differenzierung zwischen therapiebedürftigen Prostatakarzinomen und solchen, die für eine *Active Surveillance* qualifizieren, erscheint aufgrund dieser Datenlage nur eingeschränkt möglich zu sein.

Böcking et al. (2014) stellten heraus, dass der objektive Nachweis von nur minimalen DNA-Abweichungen in Zellen eines frühen Prostatakarzinoms Arzt und Patient eine zusätzliche Sicherheit geben kann, sich auf die abwartende Behandlungsstrategie der *Active Surveillance* einzulassen. Obwohl trotz der Standardisierung der DNA-Bildzytometrie durch die ESACP die verschiedenen Arbeitsgruppen unterschiedliche Algorithmen verwenden, steht für alle im Vordergrund, peridiploide DNA-Verteilungsmuster von entdifferenzierteren Mustern (peritetraploid bis multiploid), die nicht mehr für eine *Active Surveillance* qualifizieren, zu unterscheiden.

In vier prospektiven Studien wurde die prognostische Relevanz der DNA-Ploidie-Bestimmung bei der Active Surveillance belegt. Borre et al. (1998) dokumentierten Signifikanz in der Vorhersage der tumorspezifischen Überlebensrate, Adolfson et al. (1990) eine statistisch signifikante Korrelation mit dem rezidivfreien Überleben und Tribukait (1993a) sowie Vesalainen et al. (1994) sahen eine statistisch signifikante Korrelation der DNA-Ploidie mit der Gesamtüberlebensrate.

8 Level-1b-Studien haben gezeigt, dass die DNA-Ploidie-Parameter genauer als der Gleason-Score in der Lage sind, Kapselüberschreitendes Tumorwachstum von organbegrenztem zu diskriminieren. Es wird empfohlen, den DNA-Ploidiestatus heranzuziehen, wenn Organbegrenzung die Voraussetzung für die weitere Therapieplanung ist (Badalament et al., 1991, Brinker et al., 1999, Greene et al., 1994, Haggman et al., 1994, Isharwal et al., 2009, Ross et al., 1994a, Ross et al., 1994b, Vesalainen et al., 1994).

Mehrere Arbeiten stellten heraus, dass die DNA-Ploidiebestimmung der histologischen Gradierung nach Gleason zusätzliche Informationen hinzufügen (Adolfsson et al., 1990, Ahlgren et al., 1997, Amling et al., 1999, Bantis et al., 2005, Bantis et al., 2009, Blute et al., 1997, Blute et al., 1989, Borre et al., 1998, Deliveliotis et al., 2003, Di Silverio et al., 1996, Di Silverio et al.,

1992, Fordham et al., 1986, Forsslund et al., 1996, Hawkins et al., 1995, Isharwal et al., 2009, Lerner et al., 1996, Martinez Jabaloyas et al., 2004, Martinez-Jabaloyas et al., 2002, Montgomery et al., 1990, Nativ et al., 1989, Nielsen et al., 1993, Peters-Gee et al., 1992, Pollack et al., 2003, Pretorius et al., 2009, Ross et al., 1994a, Ross et al., 1999, Song et al., 1992, Stephenson et al., 1987, Tinari et al., 1993, Vesalainen et al., 1994, Voges et al., 1993, Ward et al., 2005, Winkler et al., 1988).

In den hier reevaluierten Befunden wurden 174/459 (37,9%) der Patienten nach der alten Definition zur Malignitätsgradierung dem DNA-Malignitätsgrad A (peridiploid) zugeordnet. Nach der neuen Definition hingegen fielen nur noch 79/459 (17,2%) der Tumoren in diesen Malignitätsgrad. Wie unter 3.2.6 beschrieben, wurden in der Malignitätsgradierung nach neuer Definition die Zwischenstufen AB und BC eingeführt und erstmals exakt definiert (Engelhardt, 2014). Damit zeigt sich die neue DNA-Gradierung deutlich "strenger", da es in der Einordnung der Histogramme zu einer „Rechtsverschiebung“ hin zu höherer Malignität kommt. Durch die Anwendung der neuen Definition ist es bei den unter der alten in A bis C gradierten Fällen nie zu einer „Linksverschiebung“ hin zu einem niedrigeren Malignitätsgrad gekommen (siehe Tabelle 13). Dies zeigt, dass die neue Definition deutlich "strenger" ist und versucht, eine Untergradierung zu vermeiden. Ausschließlich Patienten mit einem Malignitätsgrad A (peridiploid) sollten sich für eine mögliche Active Surveillance qualifizieren.

In dieser Untersuchung qualifizierten sich bei Anwendung der Definition nach Helpap 32 Patienten, nach den Definitionen von Epstein 40 Patienten, nach Römeling neun Patienten, sowie nach der S3-Leitlinie neun Patienten für eine Active Surveillance. Unter Einbeziehung der DNA-Malignitätsgradierung und hinsichtlich des Konsenses, dass nur Patienten mit einer peridiploiden DNA-Malignitätsgradierung der *Active Surveillance*-Therapie zugeführt werden sollen, würden nach Helpap 66%, nach den Definitionen von Epstein 75%, nach Roemeling 56% und nach der S3-Leitlinie 56% der eigentlich in eine aktive Überwachung eingeschlossenen Patienten einer anderen Therapie zugeführt. Es zeigt sich also, dass durch Anwendung der DNA-Malignitätsgradierung nach neuer Definition eine deutlichere Einschränkung des Patientengutes, das für eine Active Surveillance qualifiziert, erreicht wird als mit dem Gleason-Score allein (Tabelle 24 - Tabelle 27).

Der Vergleich mit den in der Literatur dokumentierten Daten zeigt, dass die DNA-Bildzytometrie eine reproduzierbarere Methode als der Gleason-Score ist, die an Stanzbiopsien der Prostata

wesentliche Aussagen zur Prognose machen kann. Damit kann die DNA-Bildzytometrie eine wichtige prognostische Ergänzung zusätzlich zum Gleason-Score darstellen, um die Therapieplanung bei Patienten mit sogenannten klinisch insignifikanten, hochdifferenzierten Karzinomen der Prostata mit der Active Surveillance-Strategie sicherer zu machen.

## 5.5 Kritik an der Arbeit

- Es ist allgemein anerkannt, dass retrospektive Studien grundsätzliche erkenntnistheoretische Nachteile aufweisen. Als systematische Schwäche dieser Untersuchung haben wir erkannt, dass wichtige Daten in den Unterlagen nicht oder nicht eindeutig dokumentiert waren. Dazu zählt, dass nur bei 230 der 393 (58,5%) der in die Untersuchung eingeschlossenen Patienten eine verwertbare Aussage zum Gleason-Score aus der histologischen Untersuchung vorlag. Diese wurden an unterschiedlichen Instituten durchgeführt. Aus den Unterlagen ist zudem nicht ersichtlich, ob der Gleason-Score nach der alten (Gleason, 1966) oder neuen Definition (Epstein et al., 2005) erhoben wurde.
- Diejenigen DNA-Histogramme, die vor dem Jahre 2009 ausgedruckt wurden, waren von deutlich schlechterer Qualität als die, die im Jahre 2009 erstellt wurden und damit weniger eindeutig auswertbar. Dies führte in manchen Fällen zu Unsicherheiten in der Reevaluierung der Histogramme nach der neuen Definition der DNA-Malignitätsgradierung.
- Einer weiterer Grund, warum es zu Uneinigkeiten in der Bewertung der DNA-Histogramme kam, war, dass der Variationskoeffizient eines *Peaks* bei 4c, sofern dieser über 10% liegt, entscheidet, ob ein Patient dem Malignitätsgrad B oder BC zugeordnet wird. Da dieser Wert nachträglich subjektiv vom Untersucher zu beurteilen war, sind die diesbezüglich erhaltenen Ergebnisse unzuverlässig. In der Therapieplanung bleibt dieser Aspekt jedoch von untergeordneter Bedeutung, da allein peridiploide DNA-Verteilungsmuster für eine *Active Surveillance* qualifizieren sollten.
- Bei dieser Studie handelt es sich um eine Querschnittsuntersuchung, in der allein Angaben zum Zeitpunkt der DNA-zytometrischen Untersuchung betrachtet wurden. Daten zum weiteren Krankheitsverlauf, insbesondere bei Patienten in der *Active Surveillance*, fehlen in den Unterlagen und wurden auch nicht zusätzlich erhoben.

## 6 Zusammenfassung

In einer retrospektiven Querschnittsanalyse wurde im Institut für Cytopathologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf die interindividuelle Reproduzierbarkeit der DNA-Bildzytometrie des Prostatakarzinoms, seine Korrelation mit dem Gleason-Score und dem Tumorstadium untersucht. Weiter wurde der Effekt einer neuen prognostischen Interpretation der DNA-Histogramme auf die Häufigkeitsverteilung der DNA-Malignitäts-Grade geprüft.

Dazu wurden Befunde von 411 Patienten, die zwischen 2005 und 2009 erstellt wurden, herangezogen.

Die interindividuelle Reproduzierbarkeit der DNA-Malignitätsgradierung des Prostatakarzinoms wurde mit 86,1% zwischen Prof. Böcking und Prof. Biesterfeld bestimmt. Eine interindividuelle Reproduzierbarkeit von 90,2% wurde zwischen Prof. Böcking und dem Autor erreicht. Diese ist damit derjenigen des Gleason-Scores (ca. 58%) deutlich überlegen.

Die Ergebnisse der DNA-Malignitäts-Gradierung korrelieren kaum mit denen des Gleason-Scores (Korrelationskoeffizient  $r = 0,304$ ).

Zwischen dem Tumorstadium und der DNA-Malignitätsgradierung besteht eine schwache Korrelation. Bei DNA-diploiden Mustern dominierte das Stadium T1, während bei Patienten mit höherem Tumorstadium (T2, T3) eine Zunahme von DNA-tetraploiden bzw. x-ploiden und multiploiden DNA-Verteilungsmustern zu beobachten war. Kein Patient mit Lymphknotenmetastasen wurde dem DNA-diploiden oder peritetraploiden Verteilungsmuster zugeordnet. Bei keinem Patienten mit nachgewiesenen Knochenmetastasen wurde ein diploides DNA-Verteilungsmuster beobachtet. Damit wäre keinem Patienten mit positivem Lymphknotenbefund oder Knochenmetastasen aufgrund der DNA-Bildzytometrie einer Active Surveillance empfohlen worden.

Nach einem neuen sensitiveren Algorithmus zur prognostizierenden Interpretation der DNA-Histogramme würden deutlich weniger Patienten für einen DNA-Malignitätsgrad 1 (peridiploid) und damit für eine mögliche Active Surveillance qualifizieren als nach dem herkömmlichen. So verbleiben von den ursprünglichen 37,9% als peridiploid (DNA-Grad 1)

diagnostizierten Histogrammen der alten Definition nur noch 17,2% als solche erhalten. Damit würden 55% der ursprünglich als peridiploid eingestuften Patienten nun höher eingestuft und qualifizierten ihre Träger nicht mehr für eine Active Surveillance. Da dieser neue Algorithmus zu einer von den Angaben in der Literatur abweichenden Häufigkeitsverteilung der vier DNA-Malignitäts-Grade führen würde, sollte vor seiner prognostischen Validierung von seiner Verwendung in der Routine-Diagnostik abgesehen werden.

## 7 Literaturverzeichnis

- ADOLFSSON, J., RONSTROM, L., HEDLUND, P. O., LOWHAGEN, T., CARSTENSEN, J. & TRIBUKAIT, B. 1990. The prognostic value of modal deoxyribonucleic acid in low grade, low stage untreated prostate cancer. *J Urol*, 144, 1404-6; .
- ADOLFSSON, J. & TRIBUKAIT, B. 1990. Evaluation of tumor progression by repeated fine needle biopsies in prostate adenocarcinoma: modal deoxyribonucleic acid value and cytological differentiation. *J Urol*, 144, 1408-10.
- AHLGREN, G., LINDHOLM, K., FALKMER, U. & ABRAHAMSSON, P. A. 1997. A DNA cytometric proliferation index improves the value of the DNA ploidy pattern as a prognosticating tool in patients with carcinoma of the prostate. *Urology*, 50, 379-84.
- AL OTAIBI, M., ROSS, P., FAHMY, N., JEYAGANTH, S., TROTTIER, H., SIRCAR, K., BEGIN, L. R., SOUHAMI, L., KASSOUF, W., APRIKIAN, A. & TANGUAY, S. 2008. Role of repeated biopsy of the prostate in predicting disease progression in patients with prostate cancer on active surveillance. *Cancer*, 113, 286-92.
- 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. C., HANLEY, J. A. & FINE, J. 2005. 20-year outcomes following conservative management of clinically localized prostate cancer. *JAMA*, 293, 2095-101.
- 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*, 32, 74-80.
- 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*, 32, 81-8.
- 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; .
- BADALAMENT, R. A., O'TOOLE, R. V., YOUNG, D. C. & DRAGO, J. R. 1991. DNA ploidy and prostate-specific antigen as prognostic factors in clinically resectable prostate cancer. *Cancer*, 67, 3014-23.
- BANGMA, C. H., ROEMELING, S. & SCHRODER, F. H. 2007. Overdiagnosis and overtreatment of early detected prostate cancer. *World J Urol*, 25, 3-9.

- BANTIS, A., GONIDI, M., ATHANASSIADES, P., TSOLOS, C., LIOSSI, A., AGGELONIDOU, E., ATHANASSIADOU, A. M., PETRAKAKOU, E. & ATHANASSIADOU, P. 2005. Prognostic value of DNA analysis of prostate adenocarcinoma: correlation to clinicopathologic predictors. *J Exp Clin Cancer Res*, 24, 273-8.
- BANTIS, A., PATSOURIS, E., GONIDI, M., KAVANTZAS, N., TSIPIS, A., ATHANASSIADOU, A. M., AGGELONIDOU, E. & ATHANASSIADOU, P. 2009. Telomerase RNA expression and DNA ploidy as prognostic markers of prostate carcinomas. *Tumori*, 95, 744-52.
- BLUTE, M. L., BOSTWICK, D. G., BERGSTRALH, E. J., SLEZAK, J. M., MARTIN, S. K., AMLING, C. L. & ZINCKE, H. 1997. Anatomic site-specific positive margins in organ-confined prostate cancer and its impact on outcome after radical prostatectomy. *Urology*, 50, 733-9.
- BLUTE, M. L., NATIV, O., ZINCKE, H., FARROW, G. M., THERNEAU, T. & LIEBER, M. M. 1989. Pattern of failure after radical retropubic prostatectomy for clinically and pathologically localized adenocarcinoma of the prostate: influence of tumor deoxyribonucleic acid ploidy. *J Urol*, 142, 1262-5.
- BÖCKING, A. 1990. DNA cytometry and automation in clinical diagnostics. *Verh Dtsch Ges Pathol*, 74, 176-85.
- BÖCKING, A. 1998. Standardization of cytopathologic diagnosis. *Pathologe*, 19, 236-41.
- BÖCKING, A. 2002. Identifizierung progredienter Dysplasien des Plattenepithels mittels DNA Bildzytometrie. *MTA Dialog* 6 (3), 490-493.
- BÖCKING, A., GIROUD, F. & REITH, A. 1995. 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., TILS, M., SCHRAMM, M., DIETZ, J. & BIESTERFELD, S. 2014. DNA-Cytometric Grading of Prostate Cancer systematic review with descriptive data analysis. *Pathology Discovery*, Volume 2
- BORRE, M., HOYER, M., NERSTROM, B. & OVERGAARD, J. 1998. DNA ploidy and survival of patients with clinically localized prostate cancer treated without intent to cure. *Prostate*, 36, 244-9.
- BOSTWICK, D. G. & FOSTER, C. S. 1999. Predictive factors in prostate cancer: current concepts from the 1999 College of American Pathologists Conference on Solid Tumor Prognostic Factors and the 1999 World Health Organization Second International Consultation on Prostate Cancer. *Semin Urol Oncol*, 17, 222-72.
- BOVA, G. S., PARMIGIANI, G., EPSTEIN, J. I., WHEELER, T., MUCCI, N. R. & RUBIN, M. A. 2001. Web-based tissue microarray image data analysis: initial validation testing through prostate cancer Gleason grading. *Hum Pathol*, 32, 417-27.

- BRATT, O., ANDERSON, H., BAK-JENSEN, E., BALDETORP, B. & LUNDGREN, R. 1996. Metaphase cytogenetics and DNA flow cytometry with analysis of S-phase fraction in prostate cancer: influence on prognosis. *Urology*, 47, 218-24.
- BRINKER, D. A., ROSS, J. S., TRAN, T. A., JONES, D. M. & EPSTEIN, J. I. 1999. Can ploidy of prostate carcinoma diagnosed on needle biopsy predict radical prostatectomy stage and grade? *J Urol*, 162, 2036-9.
- BURCHARDT, M., ENGERS, R., MULLER, M., BURCHARDT, T., WILLERS, R., EPSTEIN, J. I., ACKERMANN, R., GABBERT, H. E., DE LA TAILLE, A. & RUBIN, M. A. 2008. Interobserver reproducibility of Gleason grading: evaluation using prostate cancer tissue microarrays. *J Cancer Res Clin Oncol*, 134, 1071-8.
- CANCER, N. C. C. F. 2008. Prostate Cancer: diagnosis and treatment 58 Prostate Cancer.
- CARMICHAEL, M. J., VELTRI, R. W., PARTIN, A. W., MILLER, M. C., WALSH, P. C. & EPSTEIN, J. I. 1995. Deoxyribonucleic acid ploidy analysis as a predictor of recurrence following radical prostatectomy for stage T2 disease. *J Urol*, 153, 1015-9.
- CENTENO, B. A., ZIETMAN, A. L., SHIPLEY, W. U., SOBCZAK, M. L., SHIPLEY, J. W., PREFFER, F. I., BOYLE, B. J. & COLVIN, R. B. 1994. Flow cytometric analysis of DNA ploidy, percent S-phase fraction, and total proliferative fraction as prognostic indicators of local control and survival following radiation therapy for prostate carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 30, 309-15.
- CINTRA, M. L. & BILLIS, A. 1991. Histologic grading of prostatic adenocarcinoma: intraobserver reproducibility of the Mostofi, Gleason and Bocking grading systems. *Int Urol Nephrol*, 23, 449-54.
- DALL'ERA, M. A., KONETY, B. R., COWAN, J. E., SHINOHARA, K., STAUF, F., COOPERBERG, M. R., MENG, M. V., KANE, C. J., PEREZ, N., MASTER, V. A. & CARROLL, P. R. 2008. Active surveillance for the management of prostate cancer in a contemporary cohort. *Cancer*, 112, 2664-70.
- DE LA TAILLE, A., VIELLEFOND, A., BERGER, N., BOUCHER, E., DE FROMONT, M., FONDIMARE, A., MOLINIE, V., PIRON, D., SIBONY, M., STAROZ, F., TRILLER, M., PELTIER, E., THIOUNN, N. & RUBIN, M. A. 2003. Evaluation of the interobserver reproducibility of Gleason grading of prostatic adenocarcinoma using tissue microarrays. *Hum Pathol*, 34, 444-9.
- 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.
- DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR UROLOGIE 2011. Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur Früherkennung, Diagnose und Therapie der verschiedenen Stadien des Prostatakarzinoms. *Deutsche Gesellschaft für Urologie e. V.*

- DI SILVERIO, F., D'ERAMO, G., BUSCARINI, M., SCIARRA, A., CASALE, P., DI NICOLA, S., LORETO, A., SECCARECCIA, F. & DE VITA, R. 1996. DNA ploidy, Gleason score, pathological stage and serum PSA levels as predictors of disease-free survival in C-D1 prostatic cancer patients submitted to radical retropubic prostatectomy. *Eur Urol*, 30, 316-21.
- DI SILVERIO, F., D'ERAMO, G., CAPONERA, M., PERSECHINO, F., ELEUTERI, P., CAVALLO, D., DE VITA, R. & FORTE, D. 1992. The prognostic value of DNA content in patients with prostatic carcinoma. *Eur Urol*, 21 Suppl 1, 92-5.
- DUESBERG, P. & MCCORMACK, A. 2013. Immortality of cancers: a consequence of inherent karyotypic variations and selections for autonomy. *Cell Cycle*, 12, 783-802.
- EGEVAD, L. 2001. Reproducibility of Gleason grading of prostate cancer can be improved by the use of reference images. *Urology*, 57, 291-5.
- ENGELHARDT, M. 2014. *PSA-Kinetiken als Indikationsstellung zur Prostatabiopsie, Med. Diss., Univ. Düsseldorf, 2014.*
- EPSTEIN, J. I., ALLSBROOK, W. C., JR., AMIN, M. B., EGEVAD, L. 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. I., CHAN, D. W., SOKOLL, L. J., WALSH, P. C., COX, J. L., RITTENHOUSE, H., WOLFERT, R. & CARTER, H. B. 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. I., PARTIN, A. W., SAUVAGEOT, J. & WALSH, P. C. 1996. Prediction of progression following radical prostatectomy. A multivariate analysis of 721 men with long-term follow-up. *Am J Surg Pathol*, 20, 286-92.
- ESKELINEN, M., LIPPONEN, P., MAJAPURO, R., SYRJANEN, K. & NORDLING, S. 1991. DNA ploidy, S phase fraction and G2 fraction as prognostic determinants in prostatic adenocarcinoma. *Eur Urol*, 20, 62-6.
- FORDHAM, M. V., BURDGE, A. H., MATTHEWS, J., WILLIAMS, G. & COOKE, T. 1986. Prostatic carcinoma cell DNA content measured by flow cytometry and its relation to clinical outcome. *Br J Surg*, 73, 400-3.
- FORSSLUND, G., ESPOSTI, P. L., NILSSON, B. & ZETTERBERG, A. 1992. The prognostic significance of nuclear DNA content in prostatic carcinoma. *Cancer*, 69, 1432-9.
- FORSSLUND, G., NILSSON, B. & ZETTERBERG, A. 1996. Near tetraploid prostate carcinoma. Methodologic and prognostic aspects. *Cancer*, 78, 1748-55.

- GETTMAN, M. T., PACELLI, A., SLEZAK, J., BERGSTRALH, E. J., BLUTE, M., ZINCKE, H. & BOSTWICK, D. G. 1999. Role of microvessel density in predicting recurrence in pathologic Stage T3 prostatic adenocarcinoma. *Urology*, 54, 479-85.
- GIROUD, F., HAROSKE, G., REITH, A. & BOCKING, A. 1998. 1997 ESACP consensus report on diagnostic DNA image cytometry. Part II: Specific recommendations for quality assurance. European Society for Analytical Cellular Pathology. *Anal Cell Pathol*, 17, 201-8.
- GLAESSGEN, A., HAMBERG, H., PIHL, C. G., SUNDELIN, B., NILSSON, B. & EGEVAD, L. 2004a. Interobserver reproducibility of modified Gleason score in radical prostatectomy specimens. *Virchows Arch*, 445, 17-21.
- GLAESSGEN, A., HAMBERG, H., PIHL, C. G., SUNDELIN, B., NILSSON, B. & EGEVAD, L. 2004b. Interobserver reproducibility of percent Gleason grade 4/5 in prostate biopsies. *J Urol*, 171, 664-7.
- GLEASON, D. F. 1966. Classification of prostatic carcinomas. *Cancer Chemother Rep*, 50, 125-8.
- GODTMAN, R. A., HOLMBERG, E., KHATAMI, A., STRANNE, J. & HUGOSSON, J. 2013. Outcome following active surveillance of men with screen-detected prostate cancer. Results from the Goteborg randomised population-based prostate cancer screening trial. *Eur Urol*, 63, 101-7.
- GREENE, D. R., ROGERS, E., WESSELS, E. C., WHEELER, T. M., TAYLOR, S. R., SANTUCCI, R. A., THOMPSON, T. C. & SCARDINO, P. T. 1994. Some small prostate cancers are nondiploid by nuclear image analysis: correlation of deoxyribonucleic acid ploidy status and pathological features. *J Urol*, 151, 1301-7.
- GRIFFITHS, D. F., MELIA, J., MCWILLIAM, L. J., BALL, R. Y., GRIGOR, K., HARNDEN, P., JARMULOWICZ, M., MONTIRONI, R., MOSELEY, R., WALLER, M., MOSS, S. & PARKINSON, M. C. 2006. A study of Gleason score interpretation in different groups of UK pathologists; techniques for improving reproducibility. *Histopathology*, 48, 655-62.
- GROTE, H. J., NGUYEN, H. V., LEICK, A. G. & BOCKING, A. 2004. Identification of progressive cervical epithelial cell abnormalities using DNA image cytometry. *Cancer*, 102, 373-9.
- HAGGMAN, M., DE LA TORRE, M., BRANDSTEDT, S., NORLEN, B. J., NORBERG, M. & BUSCH, C. 1994. Pre- and postoperative DNA ploidy patterns correlated to pT-stage, histological grade and tumour volume in total prostatectomy specimens. *Scand J Urol Nephrol*, 28, 59-66.
- HARNDEN, P., NAYLOR, B., SHElLEY, M. D., CLEMENTS, H., COLES, B. & MASON, M. D. 2008. The clinical management of patients with a small volume of prostatic cancer on biopsy: what are the risks of progression? A systematic review and meta-analysis. *Cancer*, 112, 971-81.

- HAROSKE, G., BAAK, J. P., DANIELSEN, H., GIROUD, F., GSCHWENDTNER, A., OBERHOLZER, M., REITH, A., SPIELER, P. & BOCKING, A. 2001. Fourth updated ESACP consensus report on diagnostic DNA image cytometry. *Anal Cell Pathol*, 23, 89-95.
- HAROSKE, G., GIROUD, F., REITH, A. & BOCKING, 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.
- HARTUNG, J. 1999. *Statistik, 12. Auflage*, Oldenbourg Verlag.
- HAWKINS, C. A., BERGSTRALH, E. J., LIEBER, M. M. & ZINCKE, H. 1995. Influence of DNA ploidy and adjuvant treatment on progression and survival in patients with pathologic stage T3 (PT3) prostate cancer after radical retropubic prostatectomy. *Urology*, 46, 356-64.
- HELPAP, HARTMANN & WERNERT 2011. Anleitung zur pathologisch-anatomischen Diagnostik von Prostatatumoren. *Im Auftrag des Bundesverbandes der Deutschen Pathologen und der Deutschen Gesellschaft für Pathologie*.
- 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. 2009. [Clinical insignificance of prostate cancer: are there morphological findings?]. *Urologe A*, 48, 170-4.
- HELPAP, B. & KÖLLERMANN, J. 2012. Combined histoarchitectural and cytological biopsy grading improves grading accuracy in low-grade prostate cancer. *Int J Urol*, 19, 126-33.
- HOWICK, J., CHALMERS, I., GLASZIOU, P., GREENHALGH, T., HENEGHAN, C., LIBERATI, A., MOSCHETTI, I., PHILLIPS, B., THORNTON, H., GODDARD, O. & HODGKINSON, M. 2011. The Oxford 2011 Levels of Evidence. <http://www.cebm.net/index.aspx?o=5653>.
- HUMPHREY, P. A. 2004. Gleason grading and prognostic factors in carcinoma of the prostate. *Mod Pathol*, 17, 292-306.
- HUSSAIN, M. H., POWELL, I., ZAKI, N., MACIOROWSKI, Z., SAKR, W., KUKURUGA, M., VISSCHER, D., HAAS, G. P., PONTES, J. E. & ENSLEY, J. F. 1993. Flow cytometric DNA analysis of fresh prostatic resections. Correlation with conventional prognostic parameters in patients with prostate cancer. *Cancer*, 72, 3012-9.
- ICZKOWSKI, K. A. & BOSTWICK, D. G. 1998. The pathologist as optimist: cancer grade deflation in prostatic needle biopsies. *Am J Surg Pathol*, 22, 1169-70.

- ISHARWAL, S., MILLER, M. C., EPSTEIN, J. I., MANGOLD, L. A., HUMPHREYS, E., PARTIN, A. W. & VELTRI, R. W. 2009. DNA Ploidy as surrogate for biopsy gleason score for preoperative organ versus nonorgan-confined prostate cancer prediction. *Urology*, 73, 1092-7.
- JORGENSEN, T., YOGESAN, K., SKJORTEN, F., BERNER, A., TVETER, K. J. & DANIELSEN, H. E. 1995. Histopathological grading and DNA ploidy as prognostic markers in metastatic prostatic cancer. *Br J Cancer*, 71, 1055-60.
- KATTAN, M. W. & EASTHAM, J. 2003. Algorithms for prostate-specific antigen recurrence after treatment of localized prostate cancer. *Clin Prostate Cancer*, 1, 221-6.
- KEYES, M., MACAULAY, C., HAYES, M., KORBELIK, J., MORRIS, W. J. & PALCIC, B. 2013. DNA ploidy measured on archived pretreatment biopsy material may correlate with prostate-specific antigen recurrence after prostate brachytherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 86, 829-34.
- KLOTZ, L. 2006. Active surveillance versus radical treatment for favorable-risk localized prostate cancer. *Curr Treat Options Oncol*, 7, 355-62.
- KRISTIANSEN, G. 2009. Update Pathologie: Was bedeutet der neue Gleason Score für die Kliniker? [http://www.oncoconferences.ch/mm/Abstract\\_Kristiansen.pdf](http://www.oncoconferences.ch/mm/Abstract_Kristiansen.pdf).
- LEPPING, M. 1981. *Lernstufen Mathematik*, Cornelsen Verlag.
- LERNER, S. E., BLUTE, M. L., BERGSTRALH, E. J., BOSTWICK, D. G., EICKHOLT, J. T. & ZINCKE, H. 1996. Analysis of risk factors for progression in patients with pathologically confined prostate cancers after radical retropubic prostatectomy. *J Urol*, 156, 137-43.
- LESSELLS, A. M., BURNETT, R. A., HOWATSON, S. R., LANG, S., LEE, F. D., MCLAREN, K. M., NAIRN, E. R., OGSTON, S. A., ROBERTSON, A. J., SIMPSON, J. G., SMITH, G. D., TAVADIA, H. B. & WALKER, F. 1997. Observer variability in the histopathological reporting of needle biopsy specimens of the prostate. *Hum Pathol*, 28, 646-9.
- LEUNG, C. S., ZBIERANOWSKI, I., DEMERS, J. & MURRAY, D. 1994. DNA image cytometry of prostatic carcinoma: a comparison of needle core biopsy and subsequent prostatectomy specimens. *Mod Pathol*, 7, 195-9.
- LINDA B. MORA, M., LYNN C. MOSCINSKY, MD, JOSÉ I. DIAZ, MD, PAMELA BLAIR, ALAN B. CANTOR, PHD, JULIO M. POW-SANG, MD 1999. Stage B Prostate Cancer: Correlation of DNA Ploidy Analysis with Histological and clinical Parameters. *Cancer Control*.
- LOPEZ-BELTRAN, A., MIKUZ, G., LUQUE, R. J., MAZZUCHELLI, R. & MONTIRONI, R. 2006. Current practice of Gleason grading of prostate carcinoma. *Virchows Arch*, 448, 111-8.

- 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.
- MAKAROV, D. V., TROCK, B. J., HUMPHREYS, E. B., MANGOLD, L. A., WALSH, P. C., EPSTEIN, J. I. & PARTIN, A. W. 2007. Updated nomogram to predict pathologic stage of prostate cancer given prostate-specific antigen level, clinical stage, and biopsy Gleason score (Partin tables) based on cases from 2000 to 2005. *Urology*, 69, 1095-101.
- MANSKI, D. M. D. 2011. *Urologie Lehrbuch für Ärzte*, <http://www.urologielehrbuch.de>.
- MARTINEZ JABALOYAS, J. M., JIMENEZ SANCHEZ, A., RUIZ CERDA, J. L., SANZ CHINESTA, S., SEMPERE, A. & JIMENEZ CRUZ, J. F. 2004. [Prognostic value of DNA ploidy and nuclear morphometry in metastatic prostate cancer]. *Actas Urol Esp*, 28, 298-307.
- MARTINEZ-JABALOYAS, J. M., RUIZ-CERDA, J. L., HERNANDEZ, M., JIMENEZ, A. & JIMENEZ-CRUZ, F. 2002. Prognostic value of DNA ploidy and nuclear morphometry in prostate cancer treated with androgen deprivation. *Urology*, 59, 715-20.
- MCLEAN, M., SRIGLEY, J., BANERJEE, D., WARDE, P. & HAO, Y. 1997. Interobserver variation in prostate cancer Gleason scoring: are there implications for the design of clinical trials and treatment strategies? *Clin Oncol (R Coll Radiol)*, 9, 222-5.
- MIKAMI, Y., MANABE, T., EPSTEIN, J. I., SHIRAISHI, T., FURUSATO, M., TSUZUKI, T., MATSUNO, Y. & SASANO, H. 2003. Accuracy of gleason grading by practicing pathologists and the impact of education on improving agreement. *Hum Pathol*, 34, 658-65.
- MILLER, J., HORSFALL, D. J., MARSHALL, V. R., RAO, D. M. & LEONG, S. Y. 1991. The prognostic value of deoxyribonucleic acid flow cytometric analysis in stage D2 prostatic carcinoma. *J Urol*, 145, 1192-6.
- MONTGOMERY, B. T., NATIV, O., BLUTE, M. L., FARROW, G. M., MYERS, R. P., ZINCKE, H., THERNEAU, T. M. & LIEBER, M. M. 1990. Stage B prostate adenocarcinoma. Flow cytometric nuclear DNA ploidy analysis. *Arch Surg*, 125, 327-31.
- MYERS, D. G. 2001. *Psychologie*, Springer Verlag.
- NATIV, O., WINKLER, H. Z., RAZ, Y., THERNEAU, T. M., FARROW, G. M., MYERS, R. P., ZINCKE, H. & LIEBER, M. M. 1989. Stage C prostatic adenocarcinoma: flow cytometric nuclear DNA ploidy analysis. *Mayo Clin Proc*, 64, 911-9.
- NETTO, G. J., EISENBERGER, M., EPSTEIN, J. I. & INVESTIGATORS, T. A. X. T. 2011. Interobserver variability in histologic evaluation of radical prostatectomy between

- central and local pathologists: findings of TAX 3501 multinational clinical trial. *Urology*, 77, 1155-60.
- NIELSEN, K., OVERGAARD, J., BENTZEN, S. M. & BRUUN, E. 1993. Histological grade, DNA ploidy and mean nuclear volume as prognostic factors in prostatic cancer. *APMIS*, 101, 614-20.
- 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.
- PARTIN, A. W., MANGOLD, L. A., LAMM, D. M., WALSH, P. C., EPSTEIN, J. I. & PEARSON, J. D. 2001. Contemporary update of prostate cancer staging nomograms (Partin Tables) for the new millennium. *Urology*, 58, 843-8.
- PETERS-GEE, J. M., MILES, B. J., CERNY, J. C., GABA, A. R., JACOBSEN, G. & CRISSMAN, J. D. 1992. Prognostic significance of DNA quantitation in stage D1 prostate carcinoma with the use of image analysis. *Cancer*, 70, 1159-65.
- POLLACK, A., GRIGNON, D. J., HEYDON, K. H., HAMMOND, E. H., LAWTON, C. A., MESIC, J. B., FU, K. K., PORTER, A. T., ABRAMS, R. A. & SHIPLEY, W. U. 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.
- POLLACK, A., TRONCOSO, P., ZAGARS, G. K., VON ESCHENBACH, A. C., MAK, A. C., WU, C. S. & TERRY, N. H. 1997. The significance of DNA-ploidy and S-phase fraction in node-positive (stage D1) prostate cancer treated with androgen ablation. *Prostate*, 31, 21-8.
- PRETORIUS, M. E., WAEHRE, H., ABELER, V. M., DAVIDSON, B., VLATKOVIC, L., LOTHE, R. A., GIERCKSKY, K. E. & DANIELSEN, H. E. 2009. Large scale genomic instability as an additive prognostic marker in early prostate cancer. *Cell Oncol*, 31, 251-9.
- ROBERT-KOCH-INSTITUT 2008. Krebs in Deutschland 2003-2004. Häufigkeiten und Trends.
- ROEHL, K. A., HAN, M., RAMOS, C. G., ANTENOR, J. A. & CATALONA, W. J. 2004. Cancer progression and survival rates following anatomical radical retropubic prostatectomy in 3,478 consecutive patients: long-term results. *J Urol*, 172, 910-4.
- ROEMELING, S., ROOBOL, M. J., POSTMA, R., GOSSELAAR, C., VAN DER KWAST, T. H., BANGMA, C. H. & SCHRODER, F. H. 2006. Management and survival of screen-detected prostate cancer patients who might have been suitable for active surveillance. *Eur Urol*, 50, 475-82.

- ROSS, J. S., FIGGE, H., BUI, H. X., DEL ROSARIO, A. D., JENNINGS, T. A., RIFKIN, M. D. & FISHER, H. A. 1994a. Prediction of pathologic stage and postprostatectomy disease recurrence by DNA ploidy analysis of initial needle biopsy specimens of prostate cancer. *Cancer*, 74, 2811-8.
- ROSS, J. S., FIGGE, H. L., BUI, H. X., DEL ROSARIO, A. D., FISHER, H. A., NAZEER, T., JENNINGS, T. A., INGLE, R. & KIM, D. N. 1994b. E-cadherin expression in prostatic carcinoma biopsies: correlation with tumor grade, DNA content, pathologic stage, and clinical outcome. *Mod Pathol*, 7, 835-41.
- ROSS, J. S., NAZEER, T., CHURCH, K., AMATO, C., FIGGE, H., RIFKIN, M. D. & FISHER, H. A. 1993. Contribution of HER-2/neu oncogene expression to tumor grade and DNA content analysis in the prediction of prostatic carcinoma metastasis. *Cancer*, 72, 3020-8.
- ROSS, J. S., SHEEHAN, C. E., AMBROS, R. A., NAZEER, T., JENNINGS, T. A., KAUFMAN, R. P., JR., 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.
- ROUSSELET, M. C., SAINT-ANDRE, J. P., SIX, P. & SORET, J. Y. 1986. [Reproducibility and prognostic value of Gleason's and Gaeta's histological grades in prostatic carcinoma]. *Ann Urol (Paris)*, 20, 317-22.
- RUSCHOFF, J., MIDDEL, P. & ALBERS, P. 2008. [Active surveillance of localized prostate cancer. Significance of prostate core needle biopsies]. *Pathologe*, 29, 339-47.
- SHAH, R. B. 2009. Current perspectives on the Gleason grading of prostate cancer. *Arch Pathol Lab Med*, 133, 1810-6.
- SOLOWAY, M. S., SOLOWAY, C. T., WILLIAMS, S., AYYATHURAI, R., KAVA, B. & MANOHARAN, M. 2008. Active surveillance; a reasonable management alternative for patients with prostate cancer: the Miami experience. *BJU Int*, 101, 165-9.
- SONG, J., CHENG, W. S., CUPPS, R. E., EARLE, J. D., FARROW, G. M. & LIEBER, M. M. 1992. Nuclear deoxyribonucleic acid content measured by static cytometry: important prognostic association for patients with clinically localized prostate carcinoma treated by external beam radiotherapy. *J Urol*, 147, 794-7.
- STEGE, R., TRIBUKAIT, B., LUNDH, B., CARLSTROM, K., POUSETTE, A. & HASENSEN, M. 1992. Quantitative estimation of tissue prostate specific antigen, deoxyribonucleic acid ploidy and cytological grade in fine needle aspiration biopsies for prognosis of hormonally treated prostatic carcinoma. *J Urol*, 148, 833-7.
- STEPHENSON, R. A., JAMES, B. C., GAY, H., FAIR, W. R., WHITMORE, W. F., JR. & MELAMED, M. R. 1987. Flow cytometry of prostate cancer: relationship of DNA content to survival. *Cancer Res*, 47, 2504-7.

- SVANHOLM, H. & MYGIND, H. 1985. Prostatic carcinoma reproducibility of histologic grading. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand A*, 93, 67-71.
- TAVARES, A. S., COSTA, J., DE CARVALHO, A. & REIS, M. 1966. Tumour ploidy and prognosis in carcinomas of the bladder and prostate. *Br J Cancer*, 20, 438-41.
- TINARI, N., NATOLI, C., ANGELUCCI, D., TENAGLIA, R., FIORENTINO, B., DI STEFANO, P., AMATETTI, C., ZEZZA, A., NICOLAI, M. & IACOBELLI, S. 1993. DNA and S-phase fraction analysis by flow cytometry in prostate cancer. Clinicopathologic implications. *Cancer*, 71, 1289-96.
- TRIBUKAIT, B. 1991. DNA flow cytometry in carcinoma of the prostate for diagnosis, prognosis and study of tumor biology. *Acta Oncol*, 30, 187-92.
- 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.
- 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. C., ROEMELING, S., ROOBOL, M. J., AUS, G., HUGOSSON, J., RANNIKKO, A. S., TAMMELA, T. L., BANGMA, C. H. & SCHRODER, F. H. 2009. Outcomes of men with screen-detected prostate cancer eligible for active surveillance who were managed expectantly. *Eur Urol*, 55, 1-8.
- VAN DEN OUDEN, D., TRIBUKAIT, B., BLOM, J. H., FOSSA, S. D., KURTH, K. H., TEN KATE, F. J., HEIDEN, T., WANG, N. & SCHRODER, F. H. 1993. Deoxyribonucleic acid ploidy of core biopsies and metastatic lymph nodes of prostate cancer patients: impact on time to progression. The European Organization for Research and Treatment of Cancer Genitourinary Group. *J Urol*, 150, 400-6.
- 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*, 33, 639-46; discussion 647-51.
- VESALAINEN, S., NORDLING, S., LIPPONEN, P., TALJA, M. & SYRJANEN, K. 1994. Progression and survival in prostatic adenocarcinoma: a comparison of clinical stage, Gleason grade, S-phase fraction and DNA ploidy. *Br J Cancer*, 70, 309-14.
- VOGES, G. E., EIGNER, E. B., ROSS, W., SUSSMAN, H., STOCKLE, M., FREIHA, F. S. & STAMEY, T. A. 1993. Pathologic parameters and flow cytometric ploidy analysis in predicting recurrence in carcinoma of the prostate. *Eur Urol*, 24, 132-9.

- WAGNER, C. W. U. G. 5. Auflage, 1997. *TNM Klassifikationen maligner Tumoren*, Berlin, Springer Verlag.
- 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.
- WARD, J. F., SLEZAK, J. M., BLUTE, M. L., BERGSTRALH, E. J. & ZINCKE, H. 2005. Radical prostatectomy for clinically advanced (cT3) prostate cancer since the advent of prostate-specific antigen testing: 15-year outcome. *BJU Int*, 95, 751-6.
- WEISSBAC, C. S., A. HEIDENREICH 2010. Ein Paradigmenwechsel. *Urologe* 49:199-205.
- WEISSBAC, J. A. 2009. Aktive Überwachung oder aktive Therapie beim lokalem Prostatakarzinom. *Deutsches Ärzteblatt* 106(22): 371-6.
- WEISSBACH, L. & SCHAEFER, C. 2010. [Active surveillance for screen-detected prostate cancer - a strategy for the future?]. *Aktuelle Urol*, 41, 239-44.
- WINKLER, H. Z., RAINWATER, L. M., MYERS, R. P., FARROW, G. M., THERNEAU, T. M., ZINCKE, H. & LIEBER, M. M. 1988. Stage D1 prostatic adenocarcinoma: significance of nuclear DNA ploidy patterns studied by flow cytometry. *Mayo Clin Proc*, 63, 103-12.
- WIRTH, M. P., MULLER, H. A., MANSECK, A., MULLER, J. & FROHMULLER, H. G. 1991. Value of nuclear DNA ploidy patterns in patients with prostate cancer after radical prostatectomy. *Eur Urol*, 20, 248-52.
- WITTEKIND C, K. M., SOBIN LH. 2005. *TNM-Atlas*, Berlin, Springer Verlag.
- ZINCKE, H., BERGSTRALH, E. J., LARSON-KELLER, J. J., FARROW, G. M., MYERS, R. P., LIEBER, M. M., BARRETT, D. M., RIFE, C. C. & GONCHOROFF, N. J. 1992. Stage D1 prostate cancer treated by radical prostatectomy and adjuvant hormonal treatment. Evidence for favorable survival in patients with DNA diploid tumors. *Cancer*, 70, 311-23.
- ZÖFEL, P. 2003. *Statistik für Psychologen im Klartext*, München, Addison-Wesley Verlag.

## 8 Tabellarischer Anhang

**Tabelle 30: Oxford Centre for Evidence-based Medicine-Levels of Evidence 2011**

Question	Step 1 (Level 1*)	Step 2 (Level 2*)	Step 3 (Level 3*)	Step 4 (Level 4*)	Step 5 (Level 5)
<b>How common is the problem?</b>	Local and current random sample surveys (or censuses)	Systematic review of surveys that allow matching to local circumstances**	Local non-random sample**	Case-series**	n/a
<b>Is this diagnostic or monitoring test accurate?</b> (Diagnosis)	Systematic review of cross sectional studies with consistently applied reference standard and blinding	Individual cross sectional studies with consistently applied reference standard and blinding	Non-consecutive studies, or studies without consistently applied reference standards**	Case-control studies, or "poor or non-independent reference standard**	Mechanism-based reasoning
<b>What will happen if we do not add a therapy?</b> (Prognosis)	Systematic review of inception cohort studies	Inception cohort studies	Cohort study or control arm of randomized trial*	Case-series or case-control studies, or poor quality prognostic cohort study**	n/a
<b>Does this intervention help?</b> (Treatment Benefits)	Systematic review of randomized trials or <i>n</i> -of-1 trials	Randomized trial or observational study with dramatic effect	Non-randomized controlled cohort/follow-up study**	Case-series, case-control studies, or historically controlled studies**	Mechanism-based reasoning
<b>What are the COMMON harms?</b> (Treatment Harms)	Systematic review of randomized trials, systematic review of nested case-control studies, <i>n</i> -of-1 trial with the patient you are raising the question about, or observational study with dramatic effect	Individual randomized trial or (exceptionally) observational study with dramatic effect	Non-randomized controlled cohort/follow-up study (post-marketing surveillance) provided there are sufficient numbers to rule out a common harm. (For long-term harms the duration of follow-up must be sufficient.)**	Case-series, case-control, or historically controlled studies**	Mechanism-based reasoning
<b>What are the RARE harms?</b> (Treatment Harms)	Systematic review of randomized trials or <i>n</i> -of-1 trial	Randomized trial or (exceptionally) observational study with dramatic effect			
<b>Is this (early detection) test worthwhile?</b> (Screening)	Systematic review of randomized trials	Randomized trial	Non-randomized controlled cohort/follow-up study**	Case-series, case-control, or historically controlled studies**	Mechanism-based reasoning

\* Level may be graded down on the basis of study quality, imprecision, indirectness (study PICO does not match questions PICO), because of inconsistency between studies, or because the absolute effect size is very small; Level may be graded up if there is a large or very large effect size.

\*\* As always, a systematic review is generally better than an individual study.

**Tabelle 31: Correlation of DNA-ploidy on biopsies with extracapsular spread (ECS) after radical prostatectomy (RPE). Bold p-values refer to Cox multivariate regression analysis**

	Year	Journal	Number of patients investigated	Months follow-up	Significance p	Flow/ Image Cytometry
<b>Oxford level 1b</b>						
Isharwal et al.	2009	J Urol	370	5	< 0,001 AUC-ROC + 1,5%	ICM
Brinker et al.	1999	J Urol	159	-	0,003	ICM
Vesalainen et al.	1994	Br J Cancer	273	$\bar{x}$ 156	< 0,0001	FCM
Ross et al.	1994	Cancer	89	$\bar{x}$ 31,2	0,04	ICM
Green et al.	1994	J Urol	70	-	< 0,0001	ICM
Häggmann et al.	1994	Scand J Urol Nephrol	54	-	< 0,0001	ICM
Ross et al.	1994	Mod Pathol	56	$\bar{x}$ 28,8	0,03	ICM
Badalament et al.	1991	Cancer	112	-	0,04	FCM

**Tabelle 32: Correlation of DNA-ploidy with recurrence-free survival time. Bold p-values refer to Cox multivariate regression analysis**

	Year	Journal	Number of patients	Months follow-up	Significance p	Flow/ Image Cytometry	Comment
<b>After RPE</b>							
<b>Oxford level 2b</b>							
Bantis et al.	2009	Tumori	112	$\bar{x}$ 60	0,001	ICM	pT2a-c, pT3a
Pretorius et al.	2009	Cell Oncol	186	$\bar{x}$ 73,3	GS 7 < 0,001	ICM	
Bantis et al.	2005	J Exp Clin Cancer Res	70	$\bar{x}$ 60,0	< 0,007	ICM	

Deliveliotis et al.	2003	World J Urol	84	$\bar{x}$ 45	0,0074	FCM	
Amling et al.	1999	J Urol	106	$\bar{x}$ 120	0,002	FCM	After salvage prostatectomy
Gettman et al.	1999	Adult Urology	211	60	< 0,001	FCM	
Mora et al.	1999	Cancer Control	65	$\bar{x}$ 80	0,002	FCM	
Lerner et al.	1996	J Urol	904	$\bar{x}$ 38,4	p 0,0089	FCM	pT1, pT2
Zincke et al.	1992	Cancer	370	$\bar{x}$ 60	0,0008	FCM	Plus hormonal treatment
Wirth et al.	1991	Eur Urol	80	120	0,00013	FCM	pT 1-3
Nativ et al.	1989	Mayo Clin Proc	146	94,8	0,006	FCM	Stage C n=146
Blute et al.	1989	J Urol	315	96	0,0004	FCM	Stages A, B
Winkler et al.	1988	Mayo Clin Proc	91	$\bar{x}$ 90	0,001	FCM	Low and high GS
<b>Oxford level 3b</b>							
Hawkins et al.	1995	Urology	894	$\bar{x}$ 100	< 0,05	FCM	Partially HAT, & radiation
Carmichael et al.	1995	J Urol	112	$\bar{x}$ 102	< 0,034	FCM	T2, NO, GS <=6
Voges et al.	1993	Eur Urol	85	$\bar{x}$ 35	< 0,005	FCM	< 8 ccm & <30% GS 4/5
Montgomery et al.	1990	Arch Surg	261	240	< 0,001	FCM	Stage B
Lee et al.	1988	J Urol	88	60	< 0,001	FCM	Interval free of disease
<b>Oxford level 4</b>							
Veltri et al.	1994	J Cell Biochem	124	$\bar{x}$ 103,2	0,008	ICM	PSA-recurrence
<b>After external radiation</b>							
<b>Oxford level 2b</b>							
Centeno et al.	1994	Int J Rad Oncol Biol Phys	70	136	0,03	FCM	T1-4, NO, M0 S-Phase
<b>Oxford level 3b</b>							

Khoo et al.	1999	The Pro-state	42	$\bar{x}$ 62	0,035	FCM	
Pollack et al.	1994	Cancer	76	$\bar{x}$ 40	0,05	FCM	
<b>After brachytherapy</b>							
<b>Oxford level 3b</b>							
Peters-Gee et al.	1992	Cancer	51	$\bar{x}$ 52	< 0,05	ICM	
<b>After hormonal therapy</b>							
<b>Oxford level 2b</b>							
Stege et al.	1992	J Urol	67	> 24	0,01	FCM	
<b>Oxford level 3b</b>							
Visakorpi et al.	1991	Br J Cancer	60	120	0,0103	FCM	
<b>After active surveillance</b>							
<b>Oxford level 2b</b>							
Adolfson et al.	1990	J Urol	146	$\bar{x}$ 50	0,018	FCM	Non-progression therapy if progressed

**Tabelle 33: Correlation of DNA-ploidy with overall survival. Bold p-values refer to Cox multivariate regression analysis**

Authors	Year	Journal	Number of patients	Months follow-up	Significance p	Flow/Image Cytometry	Comment
<b>After RPE</b>							
<b>Oxford level 2b</b>							
Ward et al.	2005	BJU International	816	$\bar{x}$ 123,6	<b>0,008</b>	FCM	cT3 only
Martinez – Jabaloyas et al.	2004	Actas Urol Espan	54	$\bar{x}$ 120	<b>0,009</b>	FCM	With bone marrow metastases
Amling et al.	1999	J Urol	106	$\bar{x}$ 120	<b>0,001</b>	FCM	After external radiation
Myers et al.	1997	J Urol	62	$\bar{x}$ > 120	0,0014	FCM	Plus hormonal treatment

Di Silverio et al.	1996	Europ Urol	85	$\bar{x}$ 35	<b>0,05</b>	FCM	
Zincke et al.	1992	Cancer	370	$\bar{x}$ 60	0,004	FCM	Plus hormonal treatment
<b>Oxford level 3b</b>							
Bratt et al.	1996	Urology	57	54-92	<b>0,009</b>	FCM	S-phase fraction
Tinari et al.	1993	Cancer	63	84	<b>0,0044</b>	FCM	Stages T1-T4
Miller et al.	1991	J Urol	103	$\bar{x}$ 60	< 0,001	FCM	Stage D2
Montgomery et al.	1990	Arch Surg	261	240	< <b>0,0001</b>	FCM	Stage B
<b>After external radiation</b>							
<b>Oxford level 3b</b>							
Pollack et al.	2003	J Clin Oncol	149	$\bar{x}$ 96	<b>0,05</b>	ICM	
Song et al.	1992	J Urol	65	> 120	<b>0,0001</b>	ICM	Cancer cause specific survival
<b>After brachytherapy</b>							
<b>Oxford level 2b</b>							
Stephenson et al.	1987	Cancer Res	82	60-180	<b>0,0109</b>	FCM	D1, N1, measured on lymph nodes
<b>After hormonal therapy</b>							
<b>Oxford level 2b</b>							
Martinez-Jablonayas et al.	2002	Urology	127	> 120	<b>0,031</b>	FCM	
Pollack et al.	1997	Prostate	33	$\bar{x}$ 45	<b>0,008</b>	FCM	
Ahlgren et al.	1997	Urology	96	$\bar{x}$ 176	<b>0,004</b>	ICM	
Forslund et al.	1996	Cancer	334	360	<b>0,001</b>	ICM	
Jørgensen et al.	1995	Brit J Cancer	59	36	<b>n. s.</b>	ICM	Neither GS nor WHO-grade correlated
Vesalainen et al.	1994	Brit J Cancer	273	$\bar{x}$ 156	<b>0,058</b>	FCM	T1, M0
Stege et al.	1992	Europ Urol	271	$\geq$ 24	< <b>0,015</b>	FCM	T1-4
<b>Oxford level 3b</b>							

Pollack et al.	1997	Prostate	33	$\bar{x}$ 45	<b>0,008</b>	FCM	
Vesalainen et al.	1994	Brit J Cancer	101	$\bar{x}$ 156	<b>0,058</b>	FCM	T1-2, M0
Tribukait	1993	Eur Urol	309	176	<b>&lt; 0,0001</b>	ICM	
Van den Ouden et al.	1993	J Urol	963	96	<b>0,023</b>	FCM	Stages T1-T4
Al-Abadi and Nagel	1992	Europ Urol	271	120	0,001	ICM	Stages T3-T4
Di Silverio et al.	1992	Eur Urol	80	$\bar{x}$ 60	<b>&lt; 0,005</b>	FCM	Stage A-D
Forsslund et al.	1992	Cancer	145	276	<b>&lt; 0,001</b>	ICM	Cytological grade
Fordham et al.	1986	Br J Surg	72	6-144	<b>&lt; 0,001</b>	FCM	HT in 73%
<b>Oxford level 4</b>							
Miller et al.	1991	J Urol	103	> 60	< 0,001	FCM	Stage D2
<b>After active surveillance</b>							
<b>Oxford level 3b</b>							
Vesalainen et al.	1994	Brit J Cancer	106	$\bar{x}$ 156	<b>0,0058</b>	FCM	T1-2, M0
Tribukait	1993	Europ Urol	287	$\bar{x}$ 176	<b>&lt; 0,001</b>	FCM	FNABs
<b>Oxford level 4</b>							
Tribukait	1991	Acta On-col	125	<b>72</b>	<b>n.n.</b>	FCM	FNABs
<b>Oxford level 3b</b>							
<b>After TUR</b>							
<b>Oxford level 2b</b>							
Borre et al.	1998	Prostate	120	$\bar{x}$ 180	<b>0,024</b>	FCM	96 WHO low grades only

**Tabelle 34: Addition of independent prognostic information to the Gleason-Score. Bold p-values refer to Cox multivariate regression analysis**

Authors	Year	Journal	Number of patients	Months of follow-up	Significance p	Flow/ Image Cytometry	Diagnosis / Prognosis	Comment
---------	------	---------	--------------------	---------------------	----------------	-----------------------	-----------------------	---------

After RPE								
Oxford level 2b								
Bantis et al.	2009	Tumori	112	$\bar{x}$ 60	<b>0,001</b>	ICM	P	pT2a-c, pT3a
Pretorius et al.	2009	Cell Oncol	186	$\bar{x}$ 73,3	<b>&lt; 0,001</b>	ICM		GS 7
Ward et al.	2005	BJU international	816	$\bar{x}$ 126,6	<b>0,008</b>	FCM		pT3 only
Bantis et al.	2005	J Exp Clin Cancer Res	70	$\bar{x}$ 60	<b>&lt; 0,007</b>	ICM	P	
Deliveliotis et al.	2003	World J Urol	84	$\bar{x}$ 45	<b>0,0074</b>	FCM	P	
Amling et al.	1999	J Urol	106	120	<b>0,002</b>	FCM		After external radiation
Ross et al.	1999	Urology	211	60	<b>&lt; 0,001</b>	FCM	P	Prediction of recurrence
Blute et al.	1997	Adult Urology	2712	At primary diagnosis	<b>0,005</b>	FCM	D	Correlation with positive margins
Lerner et al.	1996	J Urol	904	$\bar{x}$ 42	<b>p 0,0089</b>	FCM		pT1, pT2
Ross et al.	1994	Cancer	89	$\bar{x}$ 31,2	<b>0,006</b>	ICM	P	Metastases & recurrences x3
Blute et al.	1989	J Urol	315	96	<b>0,0004</b>	FCM	P	Stages A, B
Winkler et al.	1988	Mayo Clin Proc	91	$\bar{x}$ 90	<b>&lt;0,001</b>	FCM	P	Low and high GS
Oxford level 3b								
Isharwal et al.	2009	J Urol	370	3	AUC-ROC + 1,5%	ICM	D	ECS
Ross et al.	1999	Am J Surg Pathol	111	$\bar{x}$ 27	<b>0,002</b>	ICM	P	Disease recurrence
Di Silverio et al.	1996	Europ Urol	85	$\bar{x}$ 35	<b>0,05</b>	FCM	P	
Hawkins et al.	1995	Urology	894	$\bar{x}$ 100	<b>&lt; 0,05</b>	FCM	P	Partially HT

Ross et al.	1994	Mod Pathol	56	$\bar{x}$ 28,8	<b>0,0026</b>	ICM	P	
Tinari et al.	1993	Cancer	81	84	<b>0,0044</b>	FCM	P	Stages T1 – T4
Voges et al.	1993	Eur Urol	85	70	<b>0,001</b>	FCM		Time to recurrence
Montgomery et al.	1990	Arch Surg	261	240	<b>0,001</b>	FCM	P	Progression & cause spec. survival
Nativ et al.	1989	Mayo Clin Proc	38	94,8	<b>0,002</b>	FCM	P	GS low-grade subgroup
<b>After TUR</b>								
<b>Oxford level 3b</b>								
Nielsen et al.	1993	APMIS	79	120	<b>0,0035</b>	FCM	P	Grading acc. to Shelley
<b>After external radiation</b>								
<b>Oxford level 2b</b>								
Pollack et al.	2003	J Clin Oncol	149	108	<b>0,03</b>	ICM	P	Survival
<b>Oxford level 3b</b>								
Song et al.	1992	J Urol	65	>120	<b>&lt;0,0001</b>	ICM	P	Mayo Grade
<b>After brachytherapy</b>								
<b>Oxford level 2b</b>								
Stephensen et al.	1987	Cancer Res	82	$\bar{x}$ 91,8	0,0109	FCM		Pelvic lymph node dissection, D1, N+
<b>Oxford level 3b</b>								
Peters-Gee et al.	1992	Cancer	51	$\bar{x}$ 52	<b>&lt; 0,05</b>	ICM		
<b>After hormonal therapy</b>								
<b>Oxford level 2b</b>								
Martinez-Jabaloyas et al.	2004	Actas Urol Espan	54	120	<b>0,009</b>	ICM	P	All with bone metastases
Martinez-Jabaloyas et al.	2002	Urology	127	> 120	<b>0,031</b>	FCM	P	

Oxford level 3b								
Pollack et al.	2003	J Clin Oncol	149	$\bar{x}$ 96	<b>0,005</b>	ICM	P	After external radiation
Ahlgren et al.	1997	Urology	96	176	<b>0,0004</b>	ICM	P	FNABs
Forsslund et al.	1996	Cancer	334	360	<b>0,001</b>	ICM	P	FNABs
Vesalainen et al.	1994	Br J Cancer	101	$\bar{x}$ 156	<b>0,058</b>	FCM	P	
Di Silverio et al.	1992	Eur Urol	80	$\bar{x}$ 60	<b>&lt; 0,05</b>	FCM	P	
Fordham et al.	1986	Br J Surg	72	6-144	<b>&lt; 0,001</b>	FCM	P	Ploidy + GS better than GS alone
After active surveillance								
Oxford level 2b								
Adolfson et al.	1990	J Urol	146	$\bar{x}$ 50	<b>0,018</b>	FCM	Non-Progression	FNABs. Therapy if progressed
After TUR								
Oxford level 2b								
Borre et al.	1998	Prostate	<b>120</b>	$\bar{x}$ 180	<b>0,024</b>	FCM	P	96 WHO low grades only

**Tabelle 35: Correlation of DNA-ploidy with local recurrence or progress. Bold p-values refer to Cox multivariate regression analysis**

Authors	Year	Journal	Number of patients	Months of follow-up	Significance	Flow/ Image Cytometry	Comment
After RPE							
Oxford level 2b							
Ross et al.	1999	Am J Surg Pathol	111	$\bar{x}$ 27	0,002	ICM	
Ross et al.	1994	Cancer	89	$\bar{x}$ 31,2	<b>&lt; 0,001</b>	ICM	3 x more frequent

Zincke et al.	1992	Cancer	370	$\bar{x}$ 60	< 0,0001	FCM	Plus hormonal treatment
Montgomery et al.	1990	Arch Surg	283	$\bar{x}$ 112,8	< 0,001	FCM	Stage B
Winkler et al.	1988	Mayo Clin and Foundation	91	>60	< 0,0001	FCM	Stage D1
<b>After hormonal therapy</b>							
<b>Oxford level 2b</b>							
Eskelinen et al.	1991	Eur Urol	35	$\bar{x}$ 187	0,028	FCM	T1/2
<b>After Brachytherapy</b>							
<b>Oxford level 2b</b>							
Keyes et al.	2013	In J Rad Oncol Biol Phys	94	$\bar{x}$ 90	0,011	ICM	PSA recurrence

**Tabelle 36: Correlation of DNA-ploidy with occurrence of lymph node- or bone metastases. Bold p-values refer to Cox multivariate regression analysis**

Authors	Year	Journal	Number of patients	Months of follow-up	Significance p	Flow/ Image Cytometry	Lymph nodes/ Bone	Remarks
<b>After RPE</b>								
<b>Oxford level 2b</b>								
Ross et al.	1994	Cancer	89	$\bar{x}$ 31,2	0,006	ICM		
Ross et al.	1993	Cancer	100	At primary diagnosis	0,0001	ICM	L & B	71 after laparotomy
Winkler et al.	1988	Mayo Clin Rep	91	$\bar{x}$ 90	<0,0001	FCM	B	D1
<b>Oxford level 3b</b>								
Ross et al.	1994	Mod Pathol	56	$\bar{x}$ 28,8	0,0026	ICM	L, B	
<b>Oxford level 4</b>								
Tucci et al.	1994	Brazilian J Med Biol Res	28	$\bar{x}$ 50	0,03	ICM	B	

After hormonal therapy								
Oxford level 3b								
Tribukait	1993	Eur Urol	309	176	< 0,0001	FCM		
Eskelinen et al.	1991	Eur Urol	91	$\bar{x}$ 187	0.0601	FCM	Ln	

**Tabelle 37: Alter vs. Gleason-Score**

Alter vs. Gleason-Score	3	4	5	6	7	8	9	10
48	0	0	1	2	0	1	0	0
49	0	0	0	0	0	0	0	0
50	0	0	0	2	1	1	0	0
51	0	0	0	2	0	0	0	0
52	0	0	0	1	0	0	2	0
53	0	0	0	0	1	0	0	1
54	0	0	0	1	1	2	2	0
55	1	0	0	0	2	1	1	0
56	0	0	2	0	0	0	0	0
57	0	0	0	1	2	0	2	0
58	0	0	1	3	1	1	2	1
59	0	0	0	4	6	0	0	1
60	0	0	2	7	3	1	2	0
61	0	0	0	5	4	1	0	0
62	0	0	0	9	4	0	0	0
63	0	2	0	6	1	0	0	0
64	0	2	3	6	5	0	0	0
65	0	0	0	6	5	1	1	0
66	0	0	2	4	7	0	0	1
67	0	0	1	3	4	1	0	0
68	0	0	0	3	4	0	2	0
69	0	1	1	4	5	1	0	0

70	0	0	0	6	4	0	0	0
71	0	0	0	5	3	1	2	0
72	0	0	1	4	3	1	0	0
73	0	1	1	0	2	0	2	0
74	1	0	1	2	3	0	1	1
75	0	0	1	2	1	0	0	0
76	0	0	1	1	2	0	0	0
77	0	1	0	3	0	0	0	0
78	0	0	0	0	1	0	0	0
79	0	0	0	1	0	0	0	0
80	0	0	0	0	1	0	0	0
81	0	0	0	0	0	0	0	0
82	0	0	0	0	0	0	0	0
83	0	0	0	0	0	0	0	0
84	0	0	0	0	1	0	0	0
85	0	0	0	0	0	0	0	0
86	0	0	0	0	0	0	0	0
87	0	0	0	0	0	0	0	0
88	0	0	0	0	0	0	0	0
89	0	0	0	0	0	0	0	0
90	0	0	0	0	0	0	0	0

**Tabelle 38: Alter vs. DNA-Bildzytometrie**

Alter vs. DNA-Bildzytometrie	A	AB	B	BC	C	D
48	1	2	2	0	0	0
49	0	0	0	0	0	0
50	0	0	4	1	2	0
51	1	0	1	1	0	0
52	1	1	5	2	1	0
53	1	0	2	0	1	0

54	3	1	2	1	0	1
55	1	2	2	0	1	1
56	2	1	2	1	0	0
57	2	0	3	1	0	4
58	1	0	4	4	2	4
59	4	4	4	0	1	2
60	4	0	14	1	5	1
61	5	3	13	3	1	1
62	3	2	6	5	3	2
63	0	2	8	3	0	0
64	7	4	14	2	2	2
65	3	3	9	1	2	4
66	5	0	15	1	6	6
67	5	2	7	1	2	2
68	1	2	9	3	4	2
69	4	3	6	5	3	2
70	6	1	11	1	2	4
71	4	1	7	2	1	0
72	2	1	13	1	2	3
73	2	0	3	2	2	1
74	4	2	4	3	2	1
75	3	0	4	0	1	1
76	1	4	3	0	3	0
77	1	0	1	2	1	0
78	0	0	1	1	0	0
79	0	0	3	0	0	0
80	0	0	1	0	0	0
81	0	0	0	0	0	0
82	0	0	1	0	0	0
83	0	0	0	0	1	1
84	0	0	1	0	0	0

85	0	0	0	0	0	0
86	0	0	0	0	0	0
87	0	0	0	0	0	0
88	0	0	0	0	0	0
89	0	0	0	0	0	0
90	0	0	0	0	0	0

**Tabelle 39: Gleason-Score vs. Gesamtbefall der Stenzen (in mm)**

mm der Stanze vs. Gleason-Score	3	4	5	6	7	8	9	10
1	0	0	0	4	1	1	0	0
2	0	0	1	2	1	0	0	0
3	0	0	0	6	1	0	0	0
4	0	0	1	2	0	0	0	0
5	0	1	0	2	2	0	0	0
6	0	0	0	3	0	0	0	0
7	0	0	0	1	1	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	1	0	1	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	1	0	0	0
15	0	0	0	1	0	0	0	0
16	0	0	0	1	0	0	0	0
17	0	0	0	0	0	0	0	0
18	0	0	0	2	1	1	0	0
19	0	0	0	1	1	0	0	0

20	0	1	0	1	2	0	0	0
21	0	0	0	0	1	0	0	0
22	0	0	0	0	1	0	0	0
23	0	0	0	1	0	0	0	0
24	0	0	0	0	0	0	0	0
25	0	0	0	0	0	0	0	0
26	0	0	0	0	0	0	0	0
27	0	0	0	0	0	0	0	0
28	0	0	0	0	1	0	0	0
29	0	0	0	0	0	0	0	0
30	0	0	0	0	0	0	0	0
31	0	0	0	1	0	0	0	0
32	0	0	0	0	2	0	0	0
33	0	0	0	0	1	0	0	0
34	0	0	0	0	1	0	0	0
35	0	0	0	1	0	1	0	0
36	0	0	0	0	0	0	0	0
37	0	0	0	0	0	0	0	0
38	0	0	0	0	0	0	0	0
39	0	0	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0	0	0
41	0	0	0	0	1	0	0	0
42	0	0	0	0	0	0	0	0
43	0	0	0	0	0	0	0	0
44	0	0	0	0	0	0	0	0
45	0	0	0	0	0	0	0	0
46	0	0	0	0	1	0	0	0
47	0	0	0	0	0	0	0	0
48	0	0	0	0	0	0	0	0
49	0	0	0	0	1	0	0	0

50	0	0	0	0	0	0	0	0
63	0	0	0	0	1	0	0	0
73	0	0	0	1	0	0	0	0
125	0	0	0	0	1	0	0	0

**Tabelle 40: DNA-Bildzytometrie vs. Gesamtbefall der Stanzen (in mm)**

mm der Stanze vs. DNA-Bildzytometrie	A	AB	B	BC	C	D
1	0	2	3	0	0	1
2	1	0	3	0	0	0
3	0	3	3	0	1	0
4	0	1	2	0	0	0
5	2	0	3	0	1	0
6	1	1	1	0	0	0
7	1	0	0	0	1	0
8	0	0	0	1	0	0
9	0	1	0	0	0	0
10	1	0	1	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0
14	2	0	0	0	0	0
15	0	0	2	0	0	0
16	0	0	1	0	0	0
17	0	0	0	0	0	0
18	1	0	1	0	1	0
19	0	0	1	0	1	0
20	2	0	2	1	0	0
21	0	0	0	0	1	0

22	0	0	0	1	0	0
23	0	0	1	0	0	0
24	0	0	1	0	0	0
25	0	0	0	0	0	0
26	0	0	1	0	0	0
27	0	0	0	0	0	0
28	0	0	0	0	0	1
29	0	0	0	0	0	0
30	0	0	0	0	0	0
31	0	0	1	0	0	0
32	0	0	2	0	0	0
33	0	0	0	0	0	1
34	0	0	0	0	0	1
35	0	0	0	0	1	1
36	0	0	0	0	0	0
37	0	0	0	0	0	0
38	0	0	0	0	0	0
39	0	0	0	0	0	0
40	0	0	0	0	0	0
41	1	0	1	0	0	0
42	0	0	0	0	0	0
43	0	0	0	0	0	0
44	0	0	0	0	0	0
45	0	0	0	0	0	0
46	0	0	1	0	0	0
47	0	0	0	0	0	0
48	0	0	0	0	0	0
49	0	0	0	0	0	1
50	0	0	0	0	0	0
63	0	0	0	0	1	0

73	0	0	0	1	0	0
125	0	0	0	0	1	0

## 9 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Abkürzungsverzeichnis.....	V
Tabelle 2: Definitionen der T-Kategorien der TNM-Klassifikation (Wittekind C, 2005).....	10
Tabelle 3: Definitionen der N-Kategorien der TNM-Klassifikation (Wittekind C, 2005).....	10
Tabelle 4: Definitionen der M-Kategorien der TNM-Klassifikation (Wittekind C, 2005).....	11
Tabelle 5: Definitionen der “alten“ Gleason-Grade basierend auf: (Manski, 2011, Humphrey, 2004, Gleason, 1966).....	12
Tabelle 6: Definitionen der modifizierten Gleason-Grade der ISPU 2005 (Epstein et al., 2005, Helpap et al., 2011).....	13
Tabelle 7: DNA-Malignitäts-Gradierung nach alter Definition (Haroske et al., 1998).....	15
Tabelle 8: DNA-Malignitäts-Gradierung nach neuer Definition.....	16
Tabelle 9: Verschiedene Definitionen der Eingangskriterien für die <i>Active Surveillance</i> -Strategie.....	21
Tabelle 10: Häufigkeit der höchsten Gleason-Scores in Stanzbiopsien und deren Kumulation.....	24
Tabelle 11: Häufigkeit der DNA-Malignitäts-Grade nach alter Definition.....	27
Tabelle 12: Häufigkeiten der DNA-Malignitäts-Grade nach neuer Definition.....	28
Tabelle 13: Verschiebung der DNA-Malignitäts-Gradierung durch den Wechsel von Definition „alt“ zu Definition „neu“.....	31
Tabelle 14: Abweichungen der DNA-Malignitäts-Gradierung zwischen Prof. Böcking und Prof. Biesterfeld.....	34
Tabelle 15: Abweichungen der DNA-Malignitäts-Gradierung zwischen Prof. Böcking und dem Autor.....	35
Tabelle 16: Korrelation zwischen dem DNA-Malignitäts-Grad und dem Gleason-Score bei 230 Patienten.....	37
Tabelle 17: Stadien der Prostatakarzinome.....	41
Tabelle 18: Korrelation von Tumorstaging und Gleason-Score.....	42
Tabelle 19: DNA-Malignitäts-Gradierung vs. Stadium.....	45

Tabelle 20: Lymphknotenbefall vs. Gleason-Score .....	47
Tabelle 21: Lymphknotenbefall vs. DNA-Malignitäts-Grade .....	48
Tabelle 22: Knochenmetastasen vs. Gleason-Score .....	50
Tabelle 23: Knochenmetastasen vs. DNA-Bildzytometrie .....	52
Tabelle 24: Anteil der 230 Patienten, die nach der Definition von Helpap (2009) für eine <i>Active Surveillance</i> -Therapie geeignet wären, plus Einbeziehung der diploiden Fälle der DNA-Malignitäts-Gradierung .....	60
Tabelle 25: Anteil der 230 Patienten, die nach der Definition von Epstein (1998) für eine <i>Active Surveillance</i> -Therapie geeignet wären, plus Einbeziehung der diploiden Fälle der DNA-Malignitäts-Gradierung .....	60
Tabelle 26: Anteil der 230 Patienten, die nach der Definition von Römeling (2006) für eine <i>Active Surveillance</i> -Therapie geeignet wären, plus Einbeziehung der diploiden Fälle der DNA-Malignitäts-Gradierung .....	61
Tabelle 27: Anteil der 230 Patienten, die nach der Definition der S3-Leitlinie (2011) für eine <i>Active Surveillance</i> -Therapie geeignet wären, plus Einbeziehung der diploiden Fälle der DNA-Malignitäts-Gradierung .....	61
Tabelle 28: Therapeutische Effekte einer heterogenitätsbedingten DNA-Höhergradierung ...	64
Tabelle 29: Interindividuelle Übereinstimmung bei der Malignitätsgradierung des Prostatakarzinoms nach Gleason (Fett nach ISUP 2005). .....	69
Tabelle 30: Oxford Centre for Evidence-based Medicine-Levels of Evidence 2011 .....	91
Tabelle 31: Correlation of DNA-ploidy on biopsies with extracapsular spread (ECS) after radical prostatectomy (RPE). Bold p-values refer to Cox multivariate regression analysis ....	92
Tabelle 32: Correlation of DNA-ploidy with recurrence-free survival time. Bold p-values refer to Cox multivariate regression analysis .....	92
Tabelle 33: Correlation of DNA-ploidy with overall survival. Bold p-values refer to Cox multivariate regression analysis .....	94
Tabelle 34: Addition of independent prognostic information to the Gleason-Score. Bold p-values refer to Cox multivariate regression analysis .....	96
Tabelle 35: Correlation of DNA-ploidy with local recurrence or progress. Bold p-values refer to Cox multivariate regression analysis .....	99
Tabelle 36: Correlation of DNA-ploidy with occurrence of lymph node- or bone metastases. Bold p-values refer to Cox multivariate regression analysis .....	100

Tabelle 37: Alter vs. Gleason-Score .....	101
Tabelle 38: Alter vs. DNA-Bildzytometrie.....	102
Tabelle 39: Gleason-Score vs. Gesamtbefall der Stenzen (in mm) .....	104
Tabelle 40: DNA-Bildzytometrie vs. Gesamtbefall der Stenzen (in mm).....	106

## 10      **Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: Histogramme der DNA-Malignitäts-Gradierung nach neuer Definition .....	18
Abbildung 2: Relative Häufigkeitsverteilung des Gleason-Scores bei 230 Patienten .....	25
Abbildung 3: Absolute Häufigkeitsverteilung des Gleason-Scores bei 230 Patienten .....	25
Abbildung 4: Häufigkeit der DNA-Malignitäts-Grade nach alter Definition .....	27
Abbildung 5: DNA-Malignitäts-Gradierung nach neuer Definition .....	29
Abbildung 6: Vergleich der DNA-Histogramme nach der "alten" und "neuen" Definition .....	30
Abbildung 7: Verschiebung der DNA-Malignitäts-Gradierung durch den Wechsel von Definition "alt" zu Definition "neu" .....	31
Abbildung 8: Abweichungen der DNA-Malignitäts-Gradierung zwischen Prof. Böcking und Prof. Biesterfeld .....	33
Abbildung 9: Abweichungen der DNA-Malignitäts-Gradierung zwischen Prof. Böcking und dem Autor .....	35
Abbildung 10: Korrelation zwischen dem DNA-Malignitäts-Grad und dem Gleason-Score .....	36
Abbildung 11: Korrelation zwischen der DNA-Malignitäts-Gradierung nach neuer Definition und dem Gleason-Score .....	38
Abbildung 12: Häufigkeit der Tumor-Stadien .....	39
Abbildung 13: Verteilung der Primärtumore in verschiedene Stadien .....	40
Abbildung 14: Häufigkeitsverteilung der Gleason-Scores in Abhängigkeit vom Tumorstadium .....	43
Abbildung 15: Änderung der DNA-Malignitäts-Gradierung mit dem vorliegenden TNM-Stadium .....	45
Abbildung 16: Korrelation des Lymphknotenbefalls mit dem Gleason-Score .....	46
Abbildung 17: Korrelation des Lymphknotenbefalls mit der DNA-Malignitäts-Gradierung .....	48
Abbildung 18: Korrelation von Knochenmetastasen mit dem Gleason-Score .....	50
Abbildung 19: Korrelation von Knochenmetastasen mit der DNA-Malignitäts-Gradierung .....	51
Abbildung 20: Korrelation von Alter mit dem Gleason-Score-Mittelwert .....	53

Abbildung 21: Korrelation von Alter mit den Mittelwerten der DNA-Malignitäts-Gradierung pro Lebensalter.....	55
Abbildung 22: Gleason-Score-Mittelwert pro Gesamtbefall der Stenzen mit Krebs in mm ...	57
Abbildung 23: DNA-Malignitäts-Gradierung-Mittelwert pro Gesamtbefall der Stenzen in mm .....	58
Abbildung 24: Heterogenität bei peridiploiden DNA-Malignitäts-Graden in einer Biopsie (DNA 1-3 ist die Zahl der unterschiedlichen DNA-Malignitätsgradierungen pro Patient).....	63

## **11 Danksagung**

Recht herzlich bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Alfred Böcking für seine immer freundliche und geduldige Unterstützung sowie die Bereitschaft, immer ein offenes Ohr für seinen Doktoranden zu haben und mir bei allen Problemen zur Seite zu stehen.

Ebenso gilt mein Dank auch Herrn Prof. Dr. med. Stefan Biesterfeld für seine Mitarbeit, Beratung und seine Gradierung der Patienten für diese Arbeit.

Ein ganz besonderer Dank gilt meinen Eltern Dr. med. Herbert Tils und Dorothee Tils, die mich zu jeder Zeit aufgefangen haben und mich immer vollstens sowohl bei der Doktorarbeit und als auch bei meinem Medizinstudium begleitet haben. Dieser Dank gilt auch meiner lieben Schwester.

## **Eidesstattliche Versicherung**

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

30.03.2015, Maurits Tils