

# **Systematische Literaturrecherche zur diagnostischen und prognostischen Relevanz der DNA-Zytometrie beim Prostatakarzinom**

Alfred Böcking, FIAC  
Stefan Biesterfeld, MIAC

## **Gliederung**

1. Zusammenfassung
2. Einleitung
3. Strategie der Aktiven Überwachung
4. Malignitäts-Gradierung nach Gleason
5. Interindividuelle Reproduzierbarkeit der Malignitäts-Gradierungen
6. DNA-Malignitäts-Gradierung
7. Systematische Literatur-Recherche
8. Definitionen der Evidenzlevel
9. Klassierung der Publikationen
10. DNA-Ploidie-Bestimmung bei Active Surveillance
11. Reviews
12. Korrelation Stanze vs. Prostatektomiepräparat
13. Bewertung
14. Methodik der DNA-Ploidie Bestimmung
15. Internationale Standardisierung der DNA-Bildzytometrie
16. Abrechnung der DNA-Zytometrie
17. Tabellen
18. Liste der Referenzpathologen für DNA-Bildzytometrie
19. Referenzen

## **1. Zusammenfassung**

Hier wird über das Ergebnis einer Systematischen Literatur-Recherche zur diagnostischen bzw. prognostischen Validität der „DNA-Zytometrie“ bei Karzinomen der Prostata berichtet, insbesondere im Vergleich zum Gleason-Score. Grundlage ist eine Abfrage in der medizinischen Datenbank PubMed zwischen Januar 1966 und Dezember 2012.

Nach Durchsicht der 1.706 gelisteten Titel wurden 236 Publikationen im Volltext angefordert, die sich mit den gesuchten Korrelationen der an Biopsien durchgeführten DNA-Zytometrie bei Patienten mit Prostatakarzinom befassen, einschließlich fünf diesbezüglicher Reviews.

Darunter fanden sich 49 Arbeiten, in welchen über statistisch signifikante Korrelationen zwischen DNA-zytometrischen Parametern und diagnostischen bzw. prognostischen Variablen berichtet wird (sog. Patienten-relevante Endpunkte). Diese Publikationen sind, getrennt nach verschiedenen Fragestellungen, in sechs Tabellen aufgeführt und nach den erreichten Levels des Oxford Center for Evidence Medicine (2011) sortiert .

Die übrigen Publikationen wurden ausgeschlossen, weil sie sich entweder ausschließlich mit methodischen Aspekten befassen, oder als methodisch unzureichend bewertet wurden. Methodisch zureichende Publikationen ohne signifikante Korrelationen wurden nicht gefunden.

12 Studien des levels 1b, zwei davon multivariat, berichten über eine signifikante Korrelation der DNA-Ploidie mit einem Organ-überschreitenden Wachstum. 16 Veröffentlichungen belegen multivariat, 11 davon level 2b, über eine signifikante Korrelation der DNA-Ploidie mit der Rezidiv-freien- und 20 mit der Gesamt-Überlebenszeit. 26 Studien beweisen, dass die DNA-Ploidie dem Gleason-Score signifikante prognostische Information zufügt (je 15 level 2b bzw. 3b). Drei Arbeiten belegen multivariat signifikant eine Korrelation der DNA-Ploidie mit dem Auftreten eines lokalen Progresses (1 x level 1b, 3 x level 2b). Eine Korrelation der DNA-Ploidie mit dem Auftreten von Metastasen belegen vier Studien multivariat (3 x level 2b). Vier Arbeiten weisen multivariat eine vom Malignitäts-Grad unabhängige signifikante Korrelation mit der Rezidiv-freien Überlebenszeit bzw. der Nicht-Progression des Tumors bei Patienten unter Active Surveillance nach.

Während 15 Publikationen über eine unzureichende interindividuelle Reproduzierbarkeit des subjektiven Gleason-Scores berichten (etwa 50%), belegen zwei jüngere Arbeiten eine über 90%ige für die objektive DNA-Malignitäts-Gradierung.

Die Übereinstimmung der an Stanzbiopsien mit den an zugehörigen Prostatektomiepräparaten ermittelten DNA-Malignitätsgraden ist wesentlich höher als für den neuen Gleason-Score (Repräsentativität).

Die objektive, reproduzierbare und prognostisch valide DNA-Ploidie-Bestimmung an Stanzbiopsien von Prostatakarzinomen kann daher dazu beitragen, die Indikationsstellung zur Active Surveillance sicherer machen.

## **2. Einleitung**

In der Internationalen TNM-Klassifikation der Tumoren der Union Internationale Contre le Cancer (UICC) wird eine Malignitäts-Gradierung neben der Beurteilung der Tumor-Ausbreitung (T), dem Befall von Lymphknoten (N) und dem Vorliegen von Fernmetastasen, mit den Graden G1-4 zur Abschätzung der Prognose eines Patienten mit einem bestimmten Tumor gefordert (UICC, 2002).

Unter Malignitäts-Gradierung versteht man eine skalare Schätzung der prospektiven malignen Potenz bösartiger Tumoren, d.h. ihres Grades der Aggressivität, durch mikroskopische Beurteilung der Bilder gefärbter Zellen oder Gewebsschnitte. Diese erfolgt bisher subjektiv gemäß standardisierter Regeln durch einen Pathologen.

Für das Prostatakarzinom wird weltweit die Malignitäts-Gradierung nach Gleason und Mellinger (1974) an Gewebsschnitten verwendet. 2005 erfuhr diese eine Aktualisierung (Epstein et al., 2005).

Ergänzend kann man zur Malignitäts-Gradierung des Prostatakarzinoms die Abweichung des Gehaltes an Erbsubstanz (DNA) von der normalen Verteilung in mehreren hundert Tumorzellen als Maß für deren Bösartigkeit verwenden (DNA-Malignitäts-Grad, DNA-Ploidie; Böcking et al., 1988).

Ziel der vorgelegten Untersuchung ist eine Zusammenstellung und Bewertung der in der wissenschaftlichen Fachliteratur publizierten Evidenzen zur Eignung der objektiven DNA-Zytometrie an Stanzbiopsien für eine prognostisch valide, den herkömmlichen, subjektiven Gleason-Score ergänzenden Malignitäts-Gradierung des Prostatakarzinoms.

### **3. Strategie der Aktiven Überwachung**

In den aktuellen S3-Leitlinien Prostatakarzinom werden im Kapitel 5.7 die „Voraussetzungen für die Eignung zu einer „Active-Surveillance-Strategie“ genannt. Dazu gehört neben dem Tumorstadium, dem PSA-Wert, der Zahl der befallenen Stanzes und dem Anteil an Tumor darin vor allem der Gleason-Score (Deutsche Gesellschaft für Urologie, 2009).

Gleichzeitig wird in den zugehörigen Hintergrundinformationen unter 5.2.2 darauf verwiesen, dass es in der Literatur bis zu 19 verschiedene histologische Definitionen eines „insignifikanten Prostatakarzinoms“ gibt (Terris et al., 1992; Epstein et al., 1994; Irwin and Trapasso, 1994; Terris et al., 1995; Cupp et al., 1995; Stamey et al., 1995; Goto et al., 1996; Elgamal et al. et al., 1997; Carter et al., 1997; Epstein et al., 1998; Hirano et al., 1998; Epstein et al., 1999; Ghavamian et al., 1999; Horninger et al., 1999; Spitz et al., 2000; Chan et al., 2001; Recker et al., 2001; Jack et al., 2002; Roel et al., 2002; Allan et al., 2003; Augustin et al., 2003; Kattan et al., 2003; Lee et al., 2003; Sokoloff et al., 2004; Miyake et al., 2005; Ochiai et al., 2005; Boccon-Gibot et al., 2005; Steyerberg et al., 2007; Dong et al., 2008; Loeb et al., 2008). Immer spielt darin die Malignitäts-Gradierung nach Gleason und Mellinger (1974) bzw. nach Epstein et al., (2005) eine zentrale Rolle. Während die meisten Autoren darin übereinstimmen, dass ein Gleason-Score  $\leq 6$  in Stanzbiopsien für die Wahl einer AS-Strategie vorliegen sollte, schließen manche Autoren (Helpap und Egevard, 2009) auch einen GS  $3 + 4 = 7a$  mit ein.

### **4. Malignitäts-Gradierung nach Gleason**

Der subjektiv an Gewebsschnitten zu ermittelnde Gleason-Score ist nicht nur mangelhaft reproduzierbar (48%: Engers et al., 2007), er ist auch in nur etwa 70% für den Gesamtumor repräsentativ und mäßig prognostisch valide (Kristiansen, 2009). Aus der Bestimmung dieses scores, resultieren für die betroffenen Patienten aber unter Umständen gravierende therapeutische Konsequenzen. Diese haben hinsichtlich der Lebensqualität im Rahmen der Nutzenbewertung bei Therapie-Entscheidungen große praktische Relevanz. Es erhebt sich daher die Frage, ob es zusätzlich zum Gleason-Score noch weiterführende, objektivere, repräsentativere und prognostisch validere Marker gibt, welche einerseits dazu beitragen, eine nicht indizierte Active-Surveillance zu vermeiden, andererseits mehr Patienten durch Einschluss in AS vor einer Übertherapie zu bewahren.

### **5. Interindividuelle Reproduzierbarkeit der Malignitäts-Gradierungen**

Die in der Literatur vielfach belegte unzureichende interindividuelle Reproduzierbarkeit der subjektiven Malignitäts-Gradierung nach Gleason, die z.T. unter 50% beträgt (Svanholm and Mygind, 1985; Rousselet et al., 1986; Cintara et al., 1991; Özdamar et al., 1996; McLean et al., 1997; Kiss et al., 1997; Lessels et al., 1997; Iczkaoski et al., 1998; Carlson et al., 1998; Allsbrook et al., 2001; Egevard et al., 2001; Bova et al., 2001; de la Taille et al., 2003; Mikami et al., 2003; Glaessgen et al., 2004 a, b; Oyama et al., 2005; Griffith et al., 2006; Moseley et al., 2006; Melia et al., 2006; Veloso et al., 2007; Burchard et al., 2008; Netto et al., 2010), wurde von Engers (2008) ausgiebig besprochen.

Der DNA-Ploidie-Bestimmung beim Prostatakarzinom kommt dagegen eine vergleichsweise hohe interindividuelle Reproduzierbarkeit zwischen 90,2% und 91,3% zu (Böcking et al., 1989; Tils, 2013; Engelhardt, 2013).

### **6. DNA-Malignitäts-Gradierung**

Zeigen Karzinomzellen in der Prostata noch einen normalen, einem zweifachen Chromosomensatz entsprechenden DNA-Gehalt (peridiploid), so ist der Grad ihrer Bösartigkeit vergleichsweise niedrig (DNA-Malignitäts-Grad A). Weicht er deutlich davon ab oder schwankt stark (x-ploid und multiploid), liegt ein höheres Maß an Bösartigkeit vor (DNA-Malignitäts-Grade C-D; Abbildung 2 A-D). Diese Zusammenhänge wurden für das Prostatakarzinom erstmalig von Tavares et al. (1966) belegt. Mit den seit dem publizierten wissenschaftlichen Evidenzen zu diesem Zusammenhang befasst sich diese Recherche.

Während eine therapeutische Intervention bei der Active Surveillance Strategie laut aktuellen S3-Leitlinien erst bei Vorliegen von klinischen Indizien für eine Progression erfolgen soll (Kapitel 5.2.3: „unter genauer Überwachung einschließlich Kontrollbiopsie“), könnte das Vorliegen von höheren DNA-Ploidie-Graden (C, D) in „klinisch insignifikanten Prostatakarzinomen“ die betroffenen Patienten frühzeitiger von dieser Strategie ausschließen, um sie a priori einer potenziell kurativen Therapie zuzuführen. Das Vorliegen von DNA-Diploidie würde damit zusätzlich zum Gleason-Score als Einschlusskriterium für Active Surveillance eingeführt, das Vorliegen höherer Grade der DNA-Ploidie aber als Ausschlusskriterium empfohlen.

Da die DNA-Messungen in der Regel an im Restmaterial der Stanzbiopsien verbliebenen Tumorzellen durchgeführt werden können, ist eine neuerliche Gewebentnahme nicht erforderlich. Karzinomgewebe wird dazu mittels sog. Mikrosdissektion und enzymatischer Zellvereinzlung von normalem Gewebe getrennt und daraus Zellkerne isoliert. In 4,4% fand Tils (2013) in 411 Paraffinblöcken nach Zellvereinzlung nicht mehr genügend Tumor-Zellkerne für eine DNA-Zytometrie .

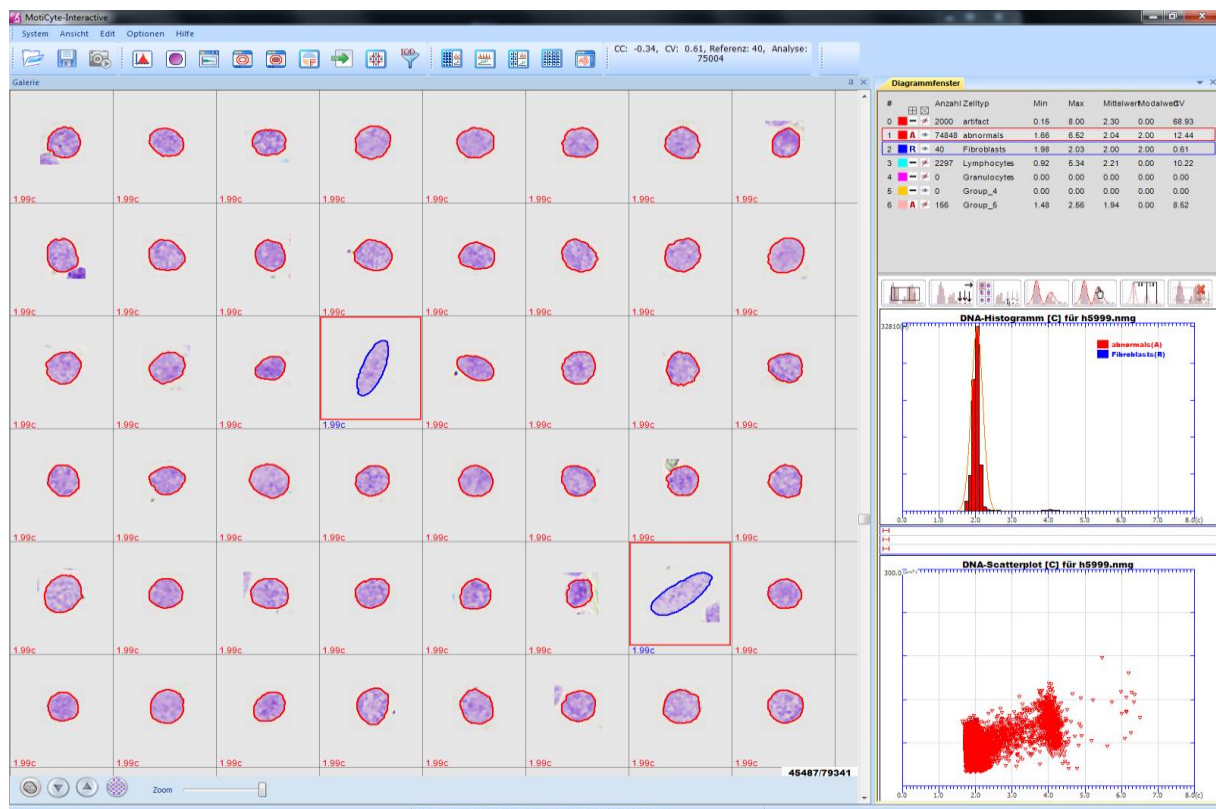


Abbildung1: Interaktiver Monitor einer DNA-Bild-Zytometrie.

Links: Galerie gemessener Zellkerne, zwei von Fibroblasten (blau) und 46 von Tumorzellen (rot). Rechts Mitte: DNA-Histogramm mit peridiploider Verteilung (= Typ A).

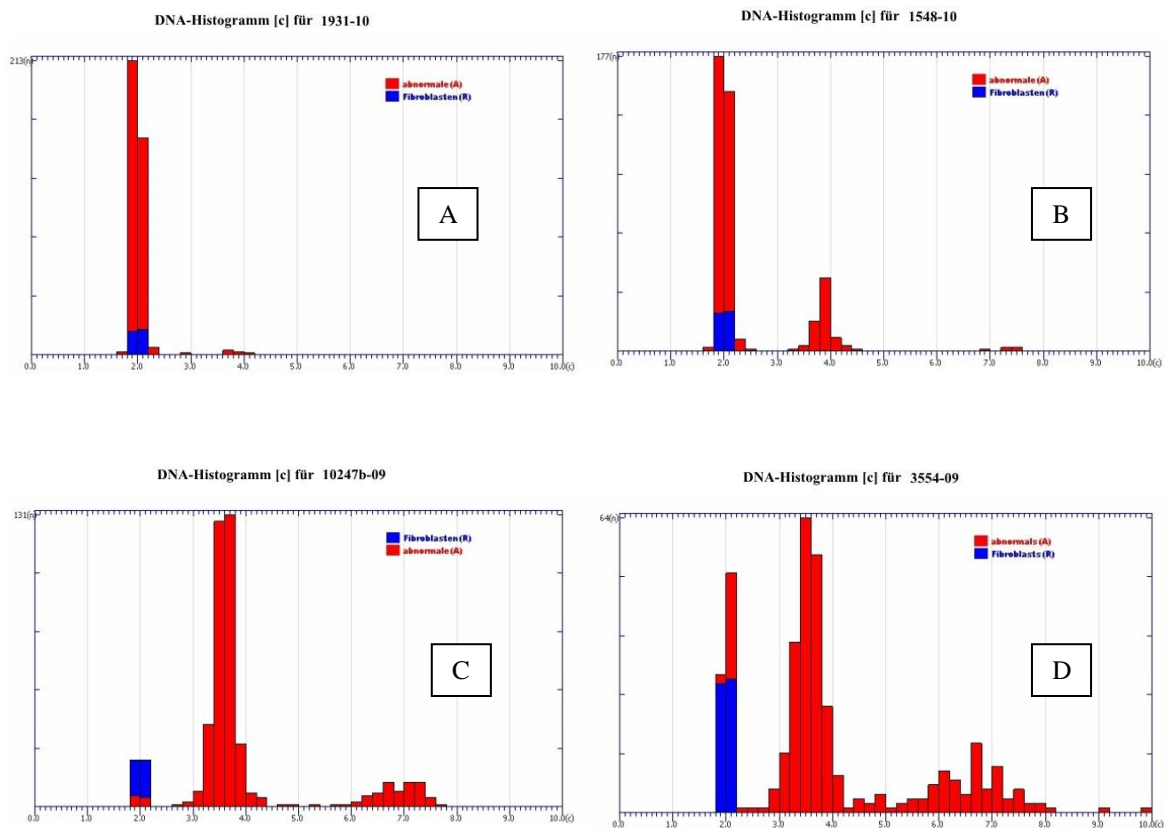


Abbildung 2, A –D:

DNA-Histogramme. DNA-Gehalt in c vs. Zahl der Zellkerne. A.: peridiploide DNA-Verteilung = Grad A, B: peritetraploide DNA-Verteilung = Grad B, C: x-ploide DNA-Verteilung = Grad C, D: multiploide DNA-Verteilung = Grad D (nach Haroske et al., 2001)

## 7. Systematische Literatur-Recherche

Die vorliegende systematische Literatur-Recherche belegt mit der internationalen Fachliteratur Evidenzen für die zum Gleason-Score additive diagnostische und prognostische Relevanz der DNA-Ploidie-Bestimmung beim Prostatakarzinom.

Zeitraum der Recherche: Januar 1966 – Dezember 2012.

Literatur-Datenbank: PubMed

Verwendete Schlüsselworte:

- Prostate cancer & DNA-ploidy (Treffer = 733)
- Prostate cancer & DNA-aneuploidy (Treffer n= 255)
- Prostate cancer & DNA-cytometry (Treffer n= 635)
- Prostate cancer & DNA-image-cytometry (Treffer n=83)

Nach Durchsicht der (zum Teil redundanten) 1.706 gelisteten Titel wurden n = 236 Publikationen im Volltext angefordert, die sich allem Anschein nach mit der gesuchten Korrelation DNA-zytometrischer Untersuchungen an Biopsien mit diagnostischen und

prognostischen Variablen bei Patienten mit Prostatakarzinom befasst haben, einschließlich der diesbezüglichen Reviews (n = 5).

Unter diesen 236 Publikationen fanden sich n = 49, in welchen über statistisch signifikante Korrelationen zwischen DNA-zytometrischen Parametern und diagnostischen bzw. prognostische Variablen, insbesondere im Vergleich zum Gleason-Score, berichtet wurde (Tabellen 1-6).

Die übrigen Publikationen wurden ausgeschlossen, weil sie sich entweder ausschließlich mit methodischen Aspekten befassten, oder als methodisch unzureichend bewertet wurden (z.B. wegen unzulässigen Messungen an Schnitten statt an ganzen Zellkernen, nicht durchgeführter Tumor-spezifischer Mikrodissektion oder zu geringer Zahl vermessener Zellkerne (n<100)).

Methodisch zureichende Publikationen ohne signifikante Korrelationen wurden nicht gefunden.

### **8. Definitionen der Evidenzlevel**

Folgende Eingangskriterien wurden bei der Bewertung der Studien-Qualität verwendet (Oxford Center for Evidence based Medicine, 2011):

- Level 1 b, Diagnose:  
„Validating cohort study with good reference standards; or clinical decision rule tested within one clinical center“.
- Level 2b, Diagnose:  
“Exploratory cohort study with good reference standard; clinical decision rule after derivation, or validated on split samples or data bases”.  
Es musste sich um eine retrospektive Kohortenstudie mit zeitlich definierten Eingangskriterien und mehr als 80% Patienten im Follow-up handeln.
- Level 2b, Prognose:  
“Retrospective cohort study or follow-up of untreated control patients in a randomized controlled clinical trial. Derivation of a clinical decision rule or validated on split samples only.” Es musste sich um eine retrospektive Kohortenstudie mit zeitlich definierten Eingangskriterien und mehr als 80% Patienten im Follow-up handeln.
- Level 3b, Diagnose:  
“Non-consecutive cohort study or very limited population”. Eingang fanden hier retrospektive Kohorten-Studien mit unzureichend definierten zeitlichen Eingangskriterien oder weniger als 80% Patienten im Follow-up.
- Level 3b, Prognose  
Keine Definition in Oxford levels (2011). Eingang fanden hier retrospektive Kohorten-Studien mit unzureichend definierten zeitlichen Eingangskriterien oder weniger als 80%igem Follow-up.
- Level 4, Diagnose:  
“Case series or superseded reference standards”.
- Level 4, Prognose:  
“Case series and poor quality prognostic cohort studies”.

Als gute Referenzstandards im Sinne des Oxford Center for Evidence Based Medicine (2011) für die Korrelation mit der Diagnose wurden angesehen:

- Ergebnisse der histologischen Aufarbeitung von Operationspräparaten (nach radikaler Prostatektomie, RPE), vor allem hinsichtlich der Feststellung eines Organ-überschreitenden Wachstums (Extracapsular spread, EPS) bzw. einer Infiltration der Samenblasen,

mit der Prognose:

- die Rezidiv-freie oder die Gesamt-Überlebenszeit, das Auftreten von Lymphknoten- bzw. Knochenmetastasen im Verlauf der Erkrankung, der klinische Nachweis eines lokalen Progresses oder Rezidivs oder eines sog. biochemischen Rezidivs.

Seit der Publikation von Tavares et al. 1966, gilt es als akzeptiert, dass die prognostisch bzw. diagnostisch relevante Unterscheidung DNA-zytometrischer Befunde beim Prostatakarzinom in die Kategorien diploid vs. non-diploid (= tetraploid, x-ploid und multiploid) zu erfolgen hat. Die nachfolgenden Publikationen galten demnach nicht mehr der Findung einer Clinical Decision Rule (CDR) im Sinne des Oxford Center for Evidence Based Medicine (2011), sondern der Testung der Validität dieser bereits bekannten CDR. Studien, welche die Validität einer vorbekannten CDR testen, rangieren nach dem Oxford Center in level 2 oder höher.

In dieser Auswertung wurden Studien als Level 2b bewertet, wenn bei  $\geq 80\%$  der Patienten der Ausgangs-Kohorte eine DNA-Zytometrie möglich, der Erfassungszeitraum klar definiert war und zusätzlich ein vollständiges klinisches Follow-up vorlag. Ausfälle ergaben sich im Wesentlichen durch nicht mehr verfügbares Untersuchungsmaterial oder fehlendes klinisches Follow-up.

## 9. Klassierung der Publikationen

Je nach Aussage wurden diese 49 Publikationen in sechs verschiedenen Tabellen, sortiert nach Einschätzung der erreichten Levels des Oxford Center for Evidence Medicine aufgeführt. In den Tabellen 1 – 6 ist für jede genannte Publikation die verwendete Messmethodik angegeben. Dabei bedeutet FCM: Durchflußzytometrie und ICM: Bildzytometrie.

1. Korrelation der DNA-Ploidie mit Organ-überschreitendem Wachstum (extracapsular spread, ECS) bzw. dem Stadium (Stage) nach radikaler Prostatektomie (RPE)
  - a. 12 Studien
  - b. davon 12 x level 1b
  - c. davon 1 x multivariat
2. Korrelation der DNA-Ploidie mit Rezidiv- / Progress-freier Überlebenszeit
  - a. 23 Studien
  - b. davon 1 x 1b, 11 x level 2b, 10 x level 3b, 1 x level 4
  - c. davon 16 multivariat
3. Korrelation der DNA-Ploidie mit Gesamt-Überlebenszeit
  - a. 23 Studien
  - b. davon 11 x level 2b, 12 x level 3b
  - c. davon 20 mutivariat
4. Addition unabhängiger prognostischer Information der DNA-Ploidie zum Gleason-Score
  - a. 28 Studien
  - b. davon 15 x level 2b, 15 x level 3b

- c. davon 26 multivariat
- 5. Korrelation der DNA-Ploidie mit lokalem Rezidiv oder Progress
  - a. 4 Studien
  - b. davon 1 x level 1b, 3 x level 2b
  - c. davon 3 x multivariat
- 6. Korrelation der DNA-Ploidie mit Vorkommen von Lymphknoten- oder Knochen-Metastasen
  - a. 7 Studien
  - b. davon 3 x level 2b, 3 x level 3b, 1 x level 4
  - c. davon 4 multivariat.

Angegeben wurde jeweils die Zahl untersuchter Patienten, deren Nachbeobachtungszeiten, die Signifikanzniveaus für die Korrelation der DNA-Ploidie-Parameter mit der jeweiligen diagnostischen/prognostischen Variablen und die angewendete Methodik der DNA-Zytometrie.

Insgesamt wurden 5.409 Patienten in diesen 49 Studien beobachtet.

## 10. DNA-Ploidie-Bestimmung bei Active Surveillance

Dazu gibt es vier Studien (Tabellen 2 und 3):

- Borre et al., 1998 belegen multivariat für 120 unbehandelte Patienten eine dem histologischen WHO-Grad überlegene Korrelation der DNA-Ploidie mit der Tumorspezifischen Überlebenszeit (level 2b).
- Adolfson et al., 1990 belegen multivariat eine signifikante Korrelation der DNA-Ploidie mit der Rezidiv-freien Überlebenszeit an 146 primär unbehandelten Patienten (im Vergleich mit zytologischem Malignitätsgrad nach Esposti, 1971) (level 1b).
- Vesalainen et al., 1994 belegen multivariat für 106 primär unbehandelte Patienten eine signifikante Korrelation mit der Überlebenszeit (im Vergleich mit dem Gleason-Score) (level 2b).
- Tribukait, 1993 belegt für 287 primär unbehandelte Patienten multivariat eine Korrelation mit der Überlebenszeit (im Vergleich mit zytologischem Malignitätsgrad nach Esposti, 1971) (level 2b).

## 11. Reviews

Die die prognostische / diagnostische Bedeutung der DNA-Zytometrie betreffenden Reviews von Schröder et al., 1994, Sakr and Grignon, 1997, Bostwick et al., 2000, Ross et al., 2003 und Epstein et al., 2005 erfüllen nicht die heutigen Ansprüche an eine systematische Literatur-Recherche.

Doch beurteilen alle fünf die klinisch-diagnostische Relevanz der DNA-Ploidie-Bestimmung positiv:

- Schröder et al., 1994:  
„The panel agreed that knowledge on DNA-ploidy prior to treatment is of value in treatment decisions, particularly, when surveillance is a treatment option”.  
“The panel expressed strong opinion that DNA-ploidy should uniformly be studied in clinical trials, particularly in patients with localized prostate cancer”.
- Sakr and Grignon, 1997:  
“DNA-ploidy-analysis has good potential as a prognostic marker but technical issues need to be resolved and proof of independent value added to stage and grade is required”.



- Bostwick et al., 2000:  
DNA-Ploidie als CAP-Kategorie II eingestuft (College of American Pathologists).  
„Numerous studies suggest that ploidy-analysis adds clinically useful predictive information in some patients“.  
“It is likely that if DNA-ploidy is to achieve a consensus of clinical utility, standardized method must achieve recommendation”.
- Ross et al., 2003:  
DNA-Ploidie als CAP Kategorie II eingestuft.  
„The majority of retrospective studies have shown that aneuploid DNA-content in prostate cancer independently predicts a poor prognosis for the disease. DNA-ploidy measurements have been performed on needle biopsy specimens by using the tissue section image analysis technique. An aneuploid DNA-ploidy status determined on needle biopsy specimens has correlated successfully with the ploidy-status of corresponding RPE specimens and independently predicted disease outcome. DNA-ploidy determination on needle biopsy specimens has been used to confirm biopsy grading, although this roll is reduced substancially when grading of the biopsy specimen is performed by experts”.
- Epstein et al. 2005:  
“Of all the markers to be discussed, DNA-ploidy is the only one in clinical use in more than an isolated institution or laboratory. The biggest proponent for using DNA-ploidy to predict progression after radical prostatectomy has been the Mayo Clinic. Multiple (n=5) studies from this institution have demonstrated for both pathological T2 and T3 disease that DNA-ploidy predicts progression independent of Gleason-Score and other routinely measured variables. It has also been found in numerous studies (n = 7) that ploidy in radical prostatectomy specimens correlates independently with progression. In 2 large studies, ploidy was not found to be prognostically useful and in 2 smaller series”.

## 12. Korrelation Stanze vs. Prostatektomiepräparat

Leung et al. (1994) berichten über eine 92%ige und Ross et al. (1994) über eine 98%ige Übereinstimmung der an Stanzten und zugehörigen Prostataketomiepräparaten ermittelten DNA-Ploidie-Grade. Diese Übereinstimmung beträgt für den neuen Gleason-Score lediglich 70% (Uemura et al., 2008).

## 13. Bewertung

Die hier dargelegten wissenschaftlichen Evidenzen für die diagnostische und prognostische Validität der DNA-Ploidie-Bestimmung beim Prostatakarzinom begründen die aktuelle Position des Bundesverbandes Deutscher Pathologen (BDP) und der Deutschen Gesellschaft für Pathologie (DGP) betreffend die Eignung der Methode als zum Gleason-Score zusätzliche prognostischer Marker (Helpap et al., 2011).

26 Studien belegen multivariat signifikant, dass die DNA-Ploidie-Bestimmung dem Gleason-Score unabhängige diagnostische und prognostische Information zufügt (Tabelle 4). 15 Publikationen belegen die signifikante Eignung der DNA-Messungen an Stanzbiopsien zur Vorhersage eines Organ-überschreitenden Wachstums (3 multivariat; Tabelle 1). 4 Arbeiten weisen multivariat eine vom Malignitäts-Grad unabhängige signifikante Korrelation mit der Rezidiv-freien Überlebenszeit bzw. der Nicht-Progression unter Active Surveillance nach (Tabellen 2, 3).

Die Repräsentativität der an Biopsien ermittelten DNA-Malignitätsgrade für den Tumor als Ganzes ist wesentlich besser als für den Gleason-Score.

Die objektive, reproduzierbare und prognostisch valide DNA-Ploidie-Bestimmung an Stanzbiopsien von Prostatakarzinomen kann daher dazu beitragen, die Indikationsstellung zur Active Surveillance sicherer machen.

#### **14. Methodik der DNA-Ploidie Bestimmung**

Zwei verschiedene Verfahren stehen zur Messung des DNA-Gehaltes an Tumorzellen zur Verfügung: die Durchfluss-Zytometrie (Flow Cytometry, FCM) und die Bild-Zytometrie (Image- Cytometry, ICM, Abbildung 1). Bei ersterer werden mit Fluoreszenz-Farbstoffen spezifisch für DNA gefärbte Zellkerne unter Druck durch eine Kapillare an einem Laserstrahl vorbei geführt. Die Menge an emittiertem Fluoreszenzlicht gilt als Maß für die Masse an DNA. Bei der ICM wird an spezifisch für DNA-gefärbten, auf einem Glasobjektträger fixierten ganzen Zellen bzw. deren Kernen Mikroskop-photometrisch der Farbstoff-Gehalt als Maß für ihren DNA-Gehalt gemessen (Abbildung 1). Mit gesunden, diploiden Zellen aus derselben Probe werden die Systeme in der Dimension c intern kalibriert. 1c entspricht der DNA-Masse eines (haploiden) Chromosomensatzes.

Vom Ergebnis her sind die mit beiden Verfahren erhaltenen DNA-Histogramme miteinander vergleichbar. Beide Methoden verwenden für die Malignitäts-Gradierung des Prostatakarzinoms auch dieselbe Unterscheidung in peridiploide (Grad A) und nicht peridiploide DNA-Verteilungen (Grade C - D).

Zur DNA-Ploidie-Bestimmung an Zellvereinzelnungs-Präparaten aus Stanzbiopsien oder operativ gewonnenem Gewebe (TUR oder RPE) eignet sich die Bild-Zytometrie besser, als die Durchfluss-Zytometrie, weil bei ersterer durch den Operator deutlich zytomorphologisch zwischen immer in den Proben enthaltenen gutartigen Fibroblasten oder Lymphozyten (als internen Referenzzellen) und ggf. peridiploiden Tumorzellen unterschieden werden kann. Damit wird die irrtümliche Annahme des Vorliegens einer peridiploiden DNA-Verteilung eines Prostatakarzinoms ausgeschlossen (Abbildung 2A). Die Durchflusszytometrie kann aber ohne zusätzliche immunzytochemische Marker diese Unterscheidung nicht treffen. Weiter können Doubletten von Zellkernen in der Fluss-Zytometrie das Vorliegen peritetraploider Tumorzellkerne (Abbildung 2B) vortäuschen. Außerdem liegen in den Resten von Stanzbiopsien oft nur noch wenige hundert Tumorzellen vor, die zwar für eine Bildzytometrie ausreichen, aber nicht für eine Fluss-Zytometrie. Für diese bedarf es mehrerer tausend Zellen.

#### **15. Internationale Standardisierung der DNA-Bild-Zytometrie**

Die Methode der DNA-Bild-Zytometrie ist durch vier Consensus Reports der European Society for Analytical Cellular Pathology (ESACP) hochgradig standardisiert:

- Böcking et al., 1995
- Haroske et al., 1998
- Giroud et al., 1998
- Haroske et al., 2001.

Haroske et al. (2000) berichten zudem über ein Internet-zugängliches tool (EUROQUANT-Server) zur standardisierten Verrechnung und graphischen Darstellung DNA-zytometrischer Messergebnisse.

## 16. Abrechnung der DNA-Zytometrie

Die DNA-Zytometrie zu diagnostischen bzw. prognostischen Zwecken findet sich als Leistungs-Ziffer 19330 im Einheitlichen Bewertungs Maßstab (EBM 2000plus) der Kassenärztlichen Bundesvereinigung: „Zytologische Untersuchung eines Materials mit DNA-Bestimmung. Obligater Leistungs-Inhalt: Densitometrische DNA-Bestimmung an mindestens 100 Zellkernen nach Spezialfärbung. Auswertung und Dokumentation“. Gegenüber Privatpatienten kann sie mit den Ziffern 2 x 4815A und 4852A der Gebührenordnung für Ärzte (GOÄ) ebenfalls abgerechnet werden.

Erfolgt die DNA-Zytometrie an Resten von in Formalin-fixierten und in Paraffin eingebetteten Stanzbiopsien, so ist zunächst eine gezielte, sog. enzymatische Zellvereinzelnung an den Karzinomherden durchzuführen, die im EBM 2000plus mit den Ziffern 19312 abrechenbar ist. Zusätzlich wird die Ziffer 19310 abgerechnet, da zur Messung alle Zellkerne klassifiziert werden müssen. In der GOÄ sind die Ziffern 4852 A sowie 3920 berechenbar.

Ein Pathologe, welcher DNA-Zytometrie nicht selber durchführen kann, wird bei Bedarf die Rest-Tumorgewebe enthaltenden Paraffinblöcke eines Patienten mit Prostatakarzinom samt Überweisungsschein an eines der Institute für Pathologie in Deutschland weiterleiten, die diese Methode vorhalten (Liste im Anhang und unter [www.prostata-shg.de/link/r](http://www.prostata-shg.de/link/r)).

Der Bundesverband Deutscher Pathologen (BDP) und die Deutsche Gesellschaft für Pathologie (DGP) haben daher zur Indikationsstellung der DNA-Ploidie-Bestimmung bei Patienten mit Prostatakarzinom am 16.11.2010 festgestellt: „DNA-zytometrische Untersuchungen können im Einzelfall als Zusatzuntersuchung bei bestimmten Fragestellungen, z.B. Active Surveillance, neben dem Gleason-Grad durchgeführt werden, sind aber nicht als Standard anzusehen“ (Helpap et al., 2011).

## 17. Tabellen

Tabelle 1: Korrelation DNA-Ploidie mit Organ-überschreitendem Wachstum (ECS) bzw. Stadium (Stage) nach RPE. Signifikanzen in Fettdruck bezeichnen Ergebnisse multivariater Regressionsanalysen nach Cox.

Autoren	Jahr	Journal	Zahl Patienten Alle, <b>Untersucht</b>	Monat e Follow-up	Signifikanz p univariat <b>multivariat</b>	FC M	ICM Schnitte <b>Zellvereinzelnung</b>	Kommentar	
<b>Oxford level 1b</b>									
Isharwal et al.	2009	J Urol	557, <b>370</b>	60	0,001 AUC-ROC + 1,5%		X	AUC > für DNA als für Gleason Score	ECS
Pretorius et al.	2009	Cell Oncol	193, <b>186</b>	$\bar{x}$ 73,3	< 0,001		X		ECS
Milcent et al.	2007	Progressen Urologie	<b>140</b>	-	GS 7/7 <b>0,0002</b>		?	Nur GS 6 u. 7	Stage
Brinker et al.	1999	J Urol	<b>159</b>	-	0,003		X		Stage

Vesalain et al.	1994	Br J Cancer	325, <b>273</b>	$\bar{x}$ 156	< 0,0001	X			Stage
Ross et al.	1994	Cancer	<b>89</b>	$\bar{x}$ 31,2	0,03		X		ECS
Hussain et al.	1993	Cancer	<b>97</b>	-	< 0,05	X			Stage
Green et al.	1994	J Urol	96, <b>70</b>	-	< 0,0001		X		ECS
Häggmann et al.	1994	Scand J Urol Nephrol	<b>54</b>	-	< 0,0001	X			ECS
Ross et al.	1994	Mod Pathol	<b>56</b>	$\bar{x}$ 28,8	0,03		X		ECS
Badalament et al.	1991	Cancer	<b>112</b>	-	0,04	X			Stage
Frankfurt et al.	1985	Cancer Res	45, <b>34</b>	5	0,05	X		Stages B, C, D GS + Ploidy better than GS alone	Stage

Tabelle 2: Korrelation DNA-Ploidie mit Rezidiv-freier Überlebenszeit. Signifikanzen in Fettdruck bezeichnen Ergebnisse multivariater Regressionsanalysen nach Cox.

Autoren	Jahr	Journal	N Patienten Grundgesamt. <b>Untersucht</b>	Monate Follow-up	Signifikanz p univariat <b>multivariat</b>	FC M	ICM Schnitte <b>Zellver-einzelung</b>	Kommentar	
<b>Nach RPE</b>									
<b>Oxford level 2b</b>									
Pretorius et al.	2009	Cell Oncol	193, <b>186</b>	$\bar{x}$ 73,3	<b>GS 7 &lt; 0,001</b>		<b>X</b>		
Bantis et al.	2005	J Exp Clin Cancer Res	<b>70</b>	$\bar{x}$ 60,0	<b>&lt; 0,007</b>		<b>Imprints</b>		
Deliveliotis et al.	2003	World J Urol	<b>84</b>	$\bar{x}$ 45	<b>0,0074</b>	X			
Amling et al.	1999	J Urol	<b>106</b>	$\bar{x}$ 120	<b>0,002</b>	X		Nach externer Radiatio	
Mora et al.	1999	Cancer Control	130, <b>65</b>	$\bar{x}$ 80	0,002	X			
Nativ et al.	1989	Mayo Clin Proc	159, <b>146</b>	94,8	<b>0,006</b>	X		Stage C n=146	
Blute et al.	1989	J Urol	<b>315</b>	96	<b>0,0004</b>	X		Stages A, B	
Winkler et al.	1988	Mayo Clin Proc	100, <b>91</b>	$\bar{x}$ 90	<b>0,001</b>	X		Low and high GS	
<b>Oxford level 3b</b>									

Hawkins et al.	1995	Urology	<b>894</b>	$\bar{x}$ 100	<b>&lt; 0,05</b>	X		Z.T. +HAT, +Radiatio	
Carmichael et al.	1995	J Urol	<b>112</b>	$\bar{x}$ 102	<b>&lt; 0,034</b>	X		T2, NO, GS $\leq 6$	
Voges et al.	1993	Eur Urol	270, <b>85</b>	$\bar{x}$ 35	<b>&lt; 0,005</b>	X		< 8 ccm & <30% GS 4/5	
Montgomery et al.	1990	Arch Surg	349, <b>261</b>	240	<b>&lt; 0,001</b>	X		Stage B	
Nativ et al.	1989	Mayo Clin Proc	159, <b>38</b>	94,8	<b>0,002</b>	X		GS low-grade subgroup	
<b>Oxford level 4</b>									
Veltri et al.	1994	J Cell Biochem	<b>124</b>	$\bar{x}$ 103,2	0,008		X	PSA-Rezidiv	
<b>Nach externer Radiatio</b>									
<b>Oxford level 2b</b>									
Centeno et al.	1994	Int J Rad Oncol Biol Phys	<b>70</b>	136	<b>0,03</b>	X		T1-4, N0, M0 S-Phase	
<b>Oxford level 3b</b>									
Khoo et al.	1999	The Prostate	151, <b>42</b>	$\bar{x}$ 62	0,003	X			
Pollack et al.	1994	Cancer	314, <b>76</b>	$\bar{x}$ 40	<b>0,05</b>				
<b>Nach Brachytherapie</b>									
<b>Oxford level 3b</b>									
Peters-Gee et al.	1992	Cancer	76, <b>51</b>	$\bar{x}$ 52	< 0,05		X		
<b>Nach Hormontherapie</b>									
<b>Oxford level 3b</b>									
Visakorpi et al.	1991	Br J Cancer	78, 74, <b>60</b>	120	0,0103	X			
<b>Nach Active Surveillance</b>									
<b>Oxford Level 1b</b>									
Adolfson et al.	1990	J Urol	167, <b>146</b>	$\bar{x}$ 50	<b>0,018</b>	<b>X</b>	FNABs Grad 1 & 2	Non-Progression	Behandlung bei Progress
<b>Oxford level 2b</b>									
Borre et al.	1998	The Prostate	<b>120</b>	120	<b>0,024</b>	X	WHO grade	Krankheitsspez. Überleben	
Vesalainen et al.	1994	Br J cancer	<b>106</b>	$\bar{x}$ 156	0,022	X	Gleason score	Krankheitsspez. Überleben	
Tribukait	1993	Eur Urol	<b>287</b>	> 120		X	FNAB	Krankheitsspez. Überleben	

Tabelle 3: Korrelation DNA-Ploidie mit Gesamt-Überlebenszeit. Signifikanzen in Fettdruck bezeichnen Ergebnisse multivariater Regressionsanalysen nach Cox.

Autoren	Jahr	Journal	N Patienten Grundgesamth. <b>Untersucht</b>	M Follow-up	Signifikanz p univariat <b>multivariat</b>	FC M	ICM Schnitte <b>Zellvereinzelung</b>	Kommentar
<b>Nach RPE</b>								
<b>Oxford level 2b</b>								
Martinez – Jabaloyas et al.	2004	Actas Urologicas Espanolas	<b>54</b> mit Knochen-Metastasen	$\bar{x}$ 120	<b>0,009</b>	X		
Amling et al.	1999	J Urol	<b>106</b>	$\bar{x}$ 120	<b>0,001</b>	X		Nach externer Radiatio
Di Silverio et al.	1996	Europ Urol	85	$\bar{x}$ 35	<b>0,05</b>	X		
Bratt et al.	1995	Urology	<b>57</b>	54 - 92	< 0,001	X		auch HAT, TUR
Miller et al.	1991	J Urol	<b>103</b>	$\bar{x}$ 60	< 0,001	X		Stadium D2
Montgomery et al.	1990	Arch Surg	349, <b>261</b>	240	<b>&lt; 0,0001</b>	X		Stadium B
<b>Oxford level 3b</b>								
Pollack et al.	2003	J Clin Oncol	471, 456, <b>149</b>	$\bar{x}$ 96	<b>0,05</b>		<b>X</b>	
Song et al.	1992	J Urol	91, <b>65</b>	> 120	<b>0,0001</b>		X	Cancer cause spec. survival
Stephenson et al.	1987	Cancer Res	91, <b>82</b>	60-180	<b>0,0109</b>	X		D1, N1, an LK gemessen
Martinez-Jablonaya et al.	2002	Urology	<b>127</b>	> 120	<b>0,031</b>	X		
Pollak et al.	1997	Prostate	181, <b>33</b>	$\bar{x}$ 45	<b>0,008</b>	X		
Ahlgren et al.	1997	Urology	125, <b>96</b>	$\bar{x}$ 176	<b>0,004</b>		FNABs	

Forsslund et al.	1996	Cancer	<b>334</b>	360	<b>0,001</b>		FNABs	
Vesalainen et al.	1994	Brit J Cancer	325, <b>273</b>	$\bar{x}$ 156	<b>0,058</b>	X		T1-2, MO
Pollack et al.	1997	Prostate	181, <b>33</b>	$\bar{x}$ 45	<b>0,008</b>			
Tribukait	1993	Eur Urol	<b>309</b>	176	<b>&lt; 0,0001</b>		FNABs	
Di Silvenio et al.	1992	Eur Urol	111, <b>80</b>	$\bar{x}$ 60	<b>&lt; 0,005</b>	X		Stage A - D
Forsslund et al.	1992	Cancer	<b>145</b>	276	<b>&lt; 0,001</b>		FNABs	Cytol. Grad
Fordham et al.	1986	Br J Surg	<b>72</b>	6-144	<b>&lt; 0,001</b>	X		HT in 73%
<b>Oxford level 3b</b>								
Vesalainen et al.	1994	Brit J Cancer	325, <b>106</b>	$\bar{x}$ 156	<b>0,0058</b>	X		T1-2, MO
Tribukait	1993	Euro Urol	399, <b>287</b>	$\bar{x}$ 176	<b>&lt; 0,001</b>	X	FNABs	
Borre et al.	1998	Prostate	<b>120</b>	$\bar{x}$ 180	<b>0,024</b>	X		96 WHO low grades only

Tabelle 4: Addition unabhängiger prognostischer Information der DNA-Ploidie zum Gleason Score. Signifikanzen in Fettdruck bezeichnen Ergebnisse multivariater Regressionsanalysen nach Cox.

Autoren	Jahr	Journal	N Patienten	Monate Follow-up	Signifikanz p multivariat	FCM	ICM Schnitte Zellver-einzelung	Diagnose / Prognose	Kommentar
<b>Nach RPE</b>									
<b>Oxford level 2b</b>									
Pretorius et al.	2009	Cell Oncol	193, <b>186</b>	$\bar{x}$ 73,3	<b>&lt; 0,001</b>		<b>X</b>		GS 7
Bantis et al.	2005	J Exp Clin Cancer Res	<b>70</b>	$\bar{x}$ 60	<b>&lt; 0,007</b>		<b>Imprints</b>	P	
Deliveliotis et al.	2003	World J Urol	<b>84</b>	$\bar{x}$ 45	<b>0,0074</b>	X		P	
Amling et al.	1999	J Urol	<b>106</b>	120	<b>0,002</b>	X			Nach externer Radiatio
Ross et al.	1994	Cancer	<b>89</b>	$\bar{x}$ 31,2	<b>0,006</b>		X	P	Metastasen, Rezidive x3
Blute et al.	1989	J Urol	<b>315</b>	96	<b>0,0004</b>	X		P	Stages A, B
Winkler	19	Mayo	100,	$\bar{x}$ 90	<b>&lt;0,001</b>	X		P	Low and high

at al.	88	Clin Proc	<b>91</b>						GS
Stephenson et al.	1987	Cancer Res	191, <b>82</b>	$\bar{x}$ 91,8	<b>0,0109</b>	X		P	Brachytherapie, an LK-Metastasen, D1, N+
<b>Oxford level 3b</b>									
Isharwal et al.	2009	J Urol	(557) <b>370</b>	3	AUC-ROC + 1,5%		X	D	ECS
Ross et al.	1999	Am J Surg Pathol	<b>111</b>	$\bar{x}$ 27	<b>0,002</b>		X	P	Disease recurrence
Di Silverio et al.	1996	Europ Urol	<b>85</b>	$\bar{x}$ 35	<b>0,05</b>	X		P	
Hawkins et al.	1995	Urology	<b>894</b>	$\bar{x}$ 100	<b>&lt; 0,05</b>	X		P	z.T. auch HT
Ross et al.	1994	Mod Pathol	<b>56</b>	$\bar{x}$ 28,8	<b>0,0026</b>		X	P	M
Montgomery et al.	1990	Arch Surg	349, <b>261</b>	240	<b>0,001</b>	X		P	Progression & cause spec. survival
Nativ et al.	1989	Mayo Clin Proc	159, <b>38</b>	94,8	<b>0,002</b>	X		P	GS low-grade subgroup
<b>Nach externer Radiatio</b>									
<b>Oxford level 2b</b>									
<b>Oxford level 3b</b>									
Song et al.	1992	J Urol	91, <b>65</b>	>120	<b>&lt;0,0001</b>		X	P	Mayo Grad
<b>Nach Brachytherapie</b>									
<b>Oxford level 2b</b>									
<b>Oxford level 3b</b>									
Peters-Gee et al.	1991	Cancer	76, <b>51</b>	$\bar{x}$ 52	<b>&lt; 0,05</b>				
<b>Nach Hormontherapie</b>									
<b>Oxford level 2b</b>									
Martinez-Jabaloyas et al.	2004	Actas Urologicas Espanolas	<b>54</b>	120	<b>0,009</b>		X	P	Alle mit Knochenmetastasen
Martinez-Jablonyas et al.	2002	Urology	<b>127</b>	$\bar{x}$ 120	<b>0,031</b>	X		P	
<b>Oxford level 3b</b>									
Pollack et al.	2003	J Clin Oncol	471, 456, <b>149</b>	$\bar{x}$ 96	<b>0,005</b>		X	P	Nach externer Radiotherapie
Pollack et al.	1997	Prostate	181, <b>33</b>	$\bar{x}$ 45	<b>0,008</b>	X		P	
Ahlgren et al.	1997	Urology	125, <b>96</b>	176	<b>0,0004</b>		FNABs	P	
Forsslund et al.	1996	Cancer	<b>334</b>	360	<b>0,001</b>		FNABs	P	
Vesalai	199	Br J	325,	$\bar{x}$ 156	<b>0,058</b>	X SPF		P	



nen et al.	4	Cancer	<b>101</b>						
Di Silvenio et al.	1992	Eur Urol	111, <b>80</b>	$\bar{x}$ 60	<b>&lt; 0,05</b>	X		P	
Fordham et al.	1986	Br J Surg	<b>72</b>	6-144	<b>&lt; 0,001</b>	X		P	Ploidy + GS better GS alone
<b>Nach Active Surveillance</b>									
<b>Oxford level 2b</b>									
Adolfson et al.	1990	J Urol	167, <b>146</b>	$\bar{x}$ 50	<b>0,018</b>		FNABs Grad 1 & 2	Non-Progression	Behandlung bei Progress
Borre et al.	1998	Prostate	<b>120</b>	$\bar{x}$ 180	<b>0,024</b>	X		P	96 WHO low grades only

Tabelle 5: Korrelation der DNA-Ploidie mit lokalem Rezidiv oder Progress. Signifikanzen in Fettdruck bezeichnen Ergebnisse multivariater Regressionsanalysen nach Cox.

Autoren	Jahr	Journal	N Patienten Grundgesamth. <b>Untersucht</b>	Monate Follow-up	Signifikanz Univariat <b>Multivariat</b>	FCM	ICM Schnitte <b>Zellvereinzelung</b>	Kommentar
Ross et al.	1999	Am J Surg Pathol	<b>111</b>	$\bar{x}$ 27	<b>0,002</b>		X	
Ross et al.	1994	Cancer	<b>89</b>	$\bar{x}$ 31,2	<b>&lt; 0,001</b>		X	3 x häufiger
Eskelinen et al.	1991	Eur Urol	91, <b>35</b>	$\bar{x}$ 187	0,028	X		T1/2,
Adolfson et al.	1990	J Urol	167	58	<b>0,006</b>	X		

Tabelle 6: Korrelation der DNA-Ploidie mit Vorkommen von Lymphknoten- bzw. Knochen-Metastasen. Signifikanzen in Fettdruck bezeichnen Ergebnisse multivariater Regressionsanalysen nach Cox.

Autoren	Jahr	Journal	N Patienten	M Follow-up	Signifikanz p univariat <b>multivariat</b>	FC M	ICM Schnitte <b>Zellvereinzelung</b>	Lymphknoten Knpchen	Bemerkungen
<b>Nach RPE</b>									
<b>Oxford level 2b</b>									
Ross et al.	1994	Cancer	<b>89</b>	$\bar{x}$ 31,2	<b>0,006</b>		X		
Winkler et al.	1988	Mayo Clin Rep	100, <b>91</b>	$\bar{x}$ 90	<0,0001	X		K	D1
<b>Oxford level 3b</b>									
Ross et al.	1994	Mod Pathol	56	$\bar{x}$ 28,8	<b>0,0026</b>		X	LK, K	
<b>Oxford level 4</b>									
Tucci et al.	1994	Brazilian J Med Biol Res	<b>28</b>	$\bar{x}$ 50	0,03		X	K	
<b>Nach Hormontherapie</b>									
<b>Oxford level 2b</b>									
Vesalainen et al.	1994	Br J Cancer	325, <b>273</b>	$\bar{x}$ 156	< 0,0001	X		K	
<b>Oxford level 3b</b>									
Tribukait	1993	Eur Urol	<b>309</b>	176	< <b>0,0001</b>	X			
Eskelinen et al.	1991	Eur Urol	<b>91</b>	$\bar{x}$ 187	<b>0.0601</b>	X		LK	

## 18. Liste der prognostische DNA-Ploidie-Messungen an Prostatakarzinomen anbietenden Pathologen in Deutschland, 2012

www.prostata-shg.de

Lfd.-Nr.	Adresse
1	<p>Institut für Cytopathologie            Prof. Dr. S. Biesterfeld            Moorenstr. 5            D-40225 Düsseldorf            Tel.: +49-211-811 83 46            Fax.: +49-211-811 84 02            Email: Stefan.Biesterfeld@med.uni-duesseldorf.de  <a href="http://www.uniklinik-duesseldorf.de/cytopathologie">www.uniklinik-duesseldorf.de/cytopathologie</a></p>
2	<p>Praxis für Pathologie            Dr. med. S. Savin            Poststr. 6            77652 Offenburg            Tel.: 0781-30868            Fax 0781-9400685            Email: info@pathologie-savin.de  <a href="http://www.pathologie-savin.de">www.pathologie-savin.de</a></p>
3	<p>Institut für Pathologie            Prof. Dr. A. Gschwendtner            Klinikum Coburg GmbH            Postfach 23 53            96412 Coburg            Tel.: 09561-22-6211            Fax: 09561-22-7590            Email: andreas.gschwendtner@klinikum-coburg.de  <a href="http://www.klinikum-coburg.de">www.klinikum-coburg.de</a></p>
4	<p>Institut für Pathologie            PD Dr .med. M. Vieth, Dr. J. Schubert            Klinikum Bayreuth GmbH            Preuschwitzerstr. 101            95445 Bayreuth            Tel: 0921- 400 5602            Fax: 0921- 400 5609            Email: vieth.lkpathol@uni-bayreuth.de, pathologie@klinikum-bayreuth.de,            juergen-schubert@gmx.de  <a href="http://www.klinikum-bayreuth.de">www.klinikum-bayreuth.de</a></p>

Lfd.-Nr.	Adresse
5	Institut für Pathologie Prof. Dr. med. Alfred Böcking Krankenhaus Düren Roonstr. 30 52351 Düren Tel.: 02421-301713 Fax: 02421-391335 Email: <a href="mailto:boecking@uni-duesseldorf.de">boecking@uni-duesseldorf.de</a> <a href="http://www.krankenhaus-dueren.de">www.krankenhaus-dueren.de</a> <a href="http://www.cytopathologie-dna-icm.uni-duesseldorf.de/">http://www.cytopathologie-dna-icm.uni-duesseldorf.de/</a> <a href="http://www.sanfte-krebsdiagnostik.de/">http://www.sanfte-krebsdiagnostik.de/</a>
6	Institut für Pathologie und Zytologie Dr. med. M. Rotter Gemeinschaftspraxis am Klinikum Deggendorf Perlasberger Str. 41 94469 Deggendorf Tel.: 0991-30041 Fax: 0991-31874 Email: <a href="mailto:info@pathologie-deggendorf.de">info@pathologie-deggendorf.de</a> <a href="http://www.pathologie-deggendorf.de">www.pathologie-deggendorf.de</a>
7	Gemeinschaftspraxis für Histologie und Cytologie Dr. Beckert / Dr. Hickmann / Prof. Dr. Wehrmann Auf dem Säer 1 72622 Nürtingen Tel.: 07022-783900 Sekretariat 07022-783903 persönliche Durchwahl Hickmann Fax: 07022-37144 Email: <a href="mailto:e.hickmann@pathologie-nuertingen.de">e.hickmann@pathologie-nuertingen.de</a> <a href="http://www.pathologie-nuertingen.de">www.pathologie-nuertingen.de</a>
8	GP Pathologie Frankfurt PD Dr. med. Stephan Falk, FRCPath, FIAC Ginnheimer Landstr. 86 60487 Frankfurt/M Tel: 069-951447-0 Fax:069-951447-50 Email: <a href="mailto:info@pathologie-frankfurt.de">info@pathologie-frankfurt.de</a> <a href="http://www.pathologie-frankfurt.de">www.pathologie-frankfurt.de</a>
9	Institut für Pathologie Charité – Universitätsmedizin Berlin Prof. Dr. M. Dietel Charitéplatz 1 (Geländeadresse: Virchowweg 15) 10117 Berlin Tel.: 030-450 536 002 Fax: 030-450 536 900 Email: <a href="mailto:manfred.dietel@charite.de">manfred.dietel@charite.de</a> <a href="mailto:Patho-sekretariat@charite.de">Patho-sekretariat@charite.de</a>

Lfd.-Nr.	Adresse
10	Institut für Pathologie Dr. F. Oellig Heidestr. 75 45476 Mülheim/Ruhr Tel.:0208-992780 Fax: 0208-9927830 Email: <a href="mailto:dr.f.oellig@pathologie-muelheim.de">dr.f.oellig@pathologie-muelheim.de</a> <a href="http://www.pathologie-muelheim.de">www.pathologie-muelheim.de</a>
11	Institut für Pathologie Dr. H. Schreiber Berliner Allee 48 30175 Hannover Tel.: 0511-307777 Fax: 0511-323041 Email: <a href="mailto:hartwig.Schreiber@hannover-pathologie.de">hartwig.Schreiber@hannover-pathologie.de</a>
12	Institut für Pathologie Dr.(B)Dr. med. Friederike Poche-de Vos Dr.(B) Peter de Vos Voltmannstr. 279a 33613 Bielefeld Tel.: 0521-400 760 70 Fax: 0521/400 760 80 Email: <a href="mailto:mail@pathologie-pochedevos.de">mail@pathologie-pochedevos.de</a>
13	PPO Praxis für Pathologie Dr. med. Mona Tawfik Schloßstr. 28 12163 Berlin Tel.: 030-79702279 Fax: 030-79702280 <a href="mailto:info@tawfik-pathologie.de">info@tawfik-pathologie.de</a> <a href="http://www.tawfik-pathologie.de">www.tawfik-pathologie.de</a>
14	Pathologisches Institut Celle Prof. Dr. med. A. Wellmann Wittinger Str. 14 29223 Celle Tel.: 05141-721650 Fax: 05141-721659 Email: <a href="mailto:info@pathologen.net">info@pathologen.net</a> <a href="http://www.pathologen.net">www.pathologen.net</a>

Lfd.-Nr.	Adresse
15	Institut für Pathologie Bonn-Dulsdorf Prof. Dr. med. Reinhard Bollmann, MIAC Heilsbachstr. 15 53123 Bonn Tel.: 0228-986550 Fax: 0228-986555 Email: <a href="mailto:info@patho-bonn.de">info@patho-bonn.de</a> <a href="http://www.patho-bonn.de">www.patho-bonn.de</a>
16	Institut für Pathologie Prof. Dr. G. Haroske Krankenhaus Dresden-Friedrichstadt Friedrichstr. 41 01067 Dresden Tel: 0251-480-3770 Email: <a href="mailto:patho@khdf.de">patho@khdf.de</a>

## 19. Referenzen

1. Adolfsson, J.; Rönström, L.; Hedlund, P.-O.; Löwhagen, T.; Carstensen, J.; Tribukait, B.: *The prognostic value of modal deoxyribonucleic acid in low grade, low stage untreated prostate cancer*, 1990, Journal of Urology, 144, 1404-1407.
2. Ahlgren, G.; Lindholm, K.; Falkmer, U.; Abrahamsson, P.-A.: *A DNA cytometric proliferation index improves the value of The DNA ploidy pattern as a prognosticating tool in patients with carcinoma of the prostate*, 1997, Urology, 50(3), 379-384.
3. Allan, R.W., Sanderson H., Epstein, J.I.: *Correlation of minute (0.5mm or less) focus of prostate adenocarcinoma on needle biopsy with radical prostatectomy specimen: role of prostate specific antigen density*. 2003, Journal of Urology, 170 (2), 370-372.
4. Allsbrook Jr., W.C.; Mangold, K.A.; Johnson, M.H. et al: *Interobserver reproducibility of Gleason grading of prostatic carcinoma: general pathologist*, 2001, Human Pathology, 32, 81-88.
5. Allsbrook Jr., W.C.; Mangold, K.A.; Johnson, M.H. et al: *Interobserver reproducibility of Gleason grading of prostatic carcinoma: urologic pathologists*, 2001, Human Pathology, 32, 74-80.
6. Amling, C.L.; Lerner, S.E.; Martin, S.K.; Slezak, J.M.; Blute, M.L.; Zincke, H.: *Deoxyribonucleic acid ploidy and serum prostate specific antigen predict outcome following salvage prostatectomy for radiation refractory prostate cancer*, 1999, Journal of Urology, 161, 857-863.
7. Augustin, H., Hammerer, P.G., Graefen, M., Erbersdobler, A., Blonski, J., Palisaar, J., Daghofer, F, Huland, H.: *Insignificant prostate cancer in radiocl prostatectomy specimen: time trends and preoperative prediction*, 2003, European Urology, 43 (5), 455-460.
8. Badalament, R.A.; O'Toole, R.V.; Young, D.C.; Drago, J.R.: *DNA ploidy and prostate-specific antigen as prognostic factors in clinically resectable prostate cancer*, 1991, Cancer, 67, 3014-3023.
9. Bantis, A.; Gonidi, M.; Athanassiades, P.; Tsolos, C.; Liossi, A.; Aggelonidou, E.; Athanassiadou, A.M.; Petrakakou, E.; Athanassiadou, P.: *Prognostic value of DNA analysis of prostate Adenocarcinoma: Correlation to clinicopathologic predictors*, 2005, Journal of Experimental & Clinical Cancer Research, 24, 273-278.
10. Blute, M.L.; Nativ, O.; Zincke, H.; Farrow, G.M.; Therneau, T.; Lieber, M.M.: *Pattern of failure after radical retropubic prostatectomy for clinically and pathologically localized adenocarcinoma of the prostate: influence of tumor deoxyribonucleic acid ploidy*, 1989, Journal of Urology, 142, 1262-1265.
11. Boccon-Gibod, L.M., Dumonceau, O., Toubanc, M., Ravery, V., Boccon-Gibod, L.A.: *Micro-focal prostate cancer: a comparison of biopsy and radical prostatectomy specimen feature*,. 2005, European Urology 48 (6), 895-899.

12. Böcking, A.; Chatelain, R.; Orthen, U.; Gien, G.; v. Kalckreuth, G.; Jocham, D.; Wohltmann, D.: *DNA-grading of prostatic carcinoma: Prognostic validity and reproducibility*, 1988, *Anticancer Research*, 8, 129-135.
13. Böcking, A.; Chatelain, R.; Homge, M.; Daniel, R.; Gillissen, A.; Wohltmann, D.: *Representativity and reproducibility of DNA malignancy grading in different carcinomas*, 1989, *Analytical and Quantitative Cytology and Histology*, 11(2), 81-86.
14. Böcking, A.; Giroud, F.; Reith, A.: *Consensus report of the ESACP task force on standardization of diagnostic DNA image cytometry*, 1995, *Analytical Cellular Pathology*, 8, 67-74.
15. Borre, M., Hoyer, M., Nerstroem, B., Oberggaard, J.: *DNA-ploidy and survival of patients with clinically localized prostate cancer treated without intent to cure*. *The prostate*, 1998, 36, 244 – 249.
16. Bostwick, D.G.; Grignon, D.J.; Hammond, M.E.; Amin, M.B.; Cohen, M.; Crawford, D.; Gospodarowicz, M.; Kaplan, R.S.; Miller, D.S.; Montironi, R.; Pajak, T.F.; Pollack, A.; Srigley, J.R.; Yarbrow, J.W.: *Prognostic factors in prostate cancer - College of American Pathologists Consensus Statement 1999*, 2000, *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 124, 995-1000.
17. Bova, G. S., Parmigiani, G., Epstein, J. I., Wheeler, T, Mucci, N. R., Rubin, M. A.: *Web-based tissue microarray image data analysis: initial validation testing through prostate cancer Gleason grading*. 2002, *Human Pathology*, 28, 636 - 649
18. Brinker, D.A.; Ross, J.S.; Tran, T.A.; Jones, D.M.; Epstein, J.I.: *Can ploidy of prostate carcinoma diagnosed on needle biopsy predict radical prostatectomy stage and grade?* 1999, *Journal of Urology*, 162, 2036-2039.
19. Burchardt, M., Engers, R., Müller, M., Burchardt, T., Willers, R., Epstein, J. I., Ackermann, R., Gabbert, H. E., de la Taille, J. I., Rubin, M. A.: *Interobserver reproducibility of Gleason grading: evaluation using prostate cancer tissue microarrays*. *Journal of Cancer Research and Clinical oncology*, 2008, 134, 1071 – 1078.
20. Carlson, G.D.; Calvanese, C.B.; Kahane, H.; Epstein, J.I.: *Accuracy of biopsy Gleason scores from a large unrotopathology laboratory: use of a diagnostic protocol to minimize observer variability*, 1998, *Urology*, 51, 525-529.
21. Carmichael, M.J.; Veltri, R.W.; Partin, A.W.; Miller, M.C.; Walsh, P.C.; Epstein, J.I.: *Deoxyribonucleic acid ploidy analysis as a predictor of recurrence following radical prostatectomy for stage T2 disease*, 1995, *Journal of Urology*, 153, 1015-1019.
22. Carter, H.B., Epstein, J.I., Chan, D.W., Forzard, J.L., Pearson, J.D.: *Recommended prostate-specific antigen testing intervals for the detection of curable prostate cancer 1997*, *Journal of the American Medical Association* 77 (18), 1456-1460.
23. Centeno, B.A.; Zietman, A.L.; Shipley, W.U.; Sobczak, M.L.; Shipley, J.W.; Preffer, F.I.; Boyle, B.J.; Colvin, R.B.: *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*, 1994, *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 2, 309-315.
24. Chan, T.Y., Chan, D.Y., Stutzman, K.L., Epstein, J.I.: *Does increased needle biopsy sampling of the prostate detect a higher number of potentially insignificant tumors?* 2001, *Journal of Urology*, 166 (6), 2181-2184.
25. Cintra, M.L.; Billis, A.: *Histologic grading of prostatic adenocarcinoma: intraobserver reproducibility of the Mostofi, Gleason and Böcking grading systems*, 1991, *International Urology and Nephrology*, 23(5), 449-454.
26. Cupp, M.R., Bostwick, D.G., Myers, R.P., Oesterling, J.E.: *The volume of prostate cancer in the biopsy specimen cannot reliably predict the quantity of cancer in the radical prostatectomy specimen on an individual basis*, 1995, *Journal of Urology*, 153 (5), 1543-1548.
27. De la Taille, A.; Viellefond, A.; Berger, N.; Boucher, E.; De Fromont, M.; Fondimare, A.; Molinié, V.; Piron, D.; Sibony, M.; Staroz, F.; Triller, M.; Peltier, E.; Thiounn, N.; Rubin, M.A.: *Evaluation of the interobserver reproducibility of Gleason grading of prostatic adenocarcinoma using tissue microarrays*, 2003, *Human Pathology*, 34(5), 444-449.
28. Deliveliotis, C.; Skolarikos, A.; Karayannis, A.; Tzelepis, V.; Trakas, N.; Alargof, E.; Protogerou, V.: *The prognostic value of p53 and DNA ploidy following radical prostatectomy*, 2003, *World Journal of Urology*, 21, 171-176.
29. Deutsche Gesellschaft für Urologie: *Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur Früherkennung, Diagnose und Therapie der verschiedenen Stadien des Prostatakarzinoms*, 2009, Version 1.0.

30. Di Silverio, F.; D'Eramo, G.; Caponera, M.; Persechino, F.; Eleuteri, P.; Cavallo, D.; De Vita, R.; Forte, D.: *The prognostic value of DNA content in patients with prostatic carcinoma*, 1992, *European Urology*, 21, 92-95.
31. Di Silverio, F.; D'Eramo, G.; Buscarini, M.; Sciarra, A.; Casale, P.; Di Nicola, S.; Loreto, A.; Seccareccia, F.; De Vita, R.: *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*, 1996, *European Urology*, 30, 316-321.
32. Dong, F., Kattan, M.W., Steyerberg, E.W., Jones, J.S., Stephenson, A.J., Schröder, F.H., Klein, E.A.: *Validation of pretreatment nomograms for predicting indolent prostate cancer*, 2008, *Journal of Urology*, 180 (1), 150-154.
33. Elgamal, A. A., Van Poppel, H. P., Van der Voorde, W.M., Van Dorpe, J. A., Oyen, R. H., Baert, L. V.: *Impalpable invisible stage T1c prostate cancer: characteristics and clinical relevance in 100 radical prostatectomy specimens – a different view*. *Journal of Urology*, 1997, 157 (1), 244-250.
34. Egevad, L.: *Reproducibility of Gleason grading of prostate cancer can be improved by the use of reference images*, 2001, *Urology*, 57, 291-295.
35. Engelhard, M.: *PSA-Kinetiken als Indikationsstellung zur Prostatastanzbiopsie*, Med. Diss. Universität Düsseldorf, in Vorbereitung, 2013.
36. Engers, R.: *Reproducibility and reliability of tumor grading in urological neoplasms*, 2007, *World Journal of Urology*, 25, 595-605.
37. Eposti, P.L.: *Cytologic malignancy grading of prostatic carcinoma by transrectal aspiration biopsy*, 1971, *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology*, 5, 199-205.
38. Epstein, J.I., Walsh, P.C., Carmichael, M., Brendler, C.B.: *Pathologic and clinical findings to predict tumor extent of nonpalpable (stage 1c) prostate cancer*, 1994, *Journal of the American Medical Association*, 271 (5), 368-374.
39. Epstein, J.I., Chan, D.W., Sokoll, L.J., Walsh, P.C., Cox, J., L., Rittenhouse, H., Wolfert, R., Carter, H.B.: *Nonpalpable stage T1c prostate cancer: prediction Of insignificant disease using free/total prostate specific antigen levels and needle biopsy findings*, 1998, *Journal of Urology*, 160 (6), 2407-2411.
40. Epstein, J.I., Walsh, P.C., Akingba, G., Carter, H.B.: *The significance of prior benign needle biopsies in men subsequently diagnosed with prostate cancer*, 1999, *Journal of Urology*, 162 (5), 1649-1652.
41. Epstein, J.I.; Amin, M.; Boccon-Gibod, L.; Egevad, L.; Humphrey, P.A.; Mikuz, G.; Newling, D.; Nilsson, S.; Sakr, W.; Srigley, J.R.; Wheeler, T.M.; Montironi, R. : *Prognostic factors and reporting of prostate carcinoma in radical prostatectomy and pelvic lymphadenectomy specimens*, 2005, *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology Supplement*, 216, 34-63.
42. Eskelinen, M.; Lipponen, P.; Majapuro, R.; Syrjänen, K.; Nordling, S.: *DNA loidy, S phase fraction and G2 fraction as prognostic determinants in prostatic adenocarcinoma*, 1991, *European Urology*, 20, 62-66.
43. Fordham, M.V.P.; Burdget, A.H.; Matthews, J.; Williams, G.; Cooke, T.: *Prostatic carcinoma cell DNA content measured by flow cytometry and its relation to clinical outcome*, 1986, *British Journal of Surgery*, 73, 400-403.
44. Forsslund, G., Esposti, P. L., Nilsson, B., Zetterberg, A.: *The prognostic significance of nuclear DNA-content in prostatic adenocarcinoma*. 1992, *Cancer*, 69 (6), 1432 – 1439.
45. Forsslund, G.; Nilsson, B.; Zetterberg, A.: *Near tetraploid prostate carcinoma - Methodologic and prognostic aspects*, 1996, *Cancer*, 78(8), 1748-1755.
46. Frankfurt, O.S.; Chin, J.L.; Englander, L.S.; Greco, W.R.; Edson Pontes, J.; Rustum, Y.M.: *Relationship between DNA Ploidy, glandular differentiation, and tumor spread in human prostate cancer*, 1985, *Cancer Research*, 45, 1418-1423.
47. Ghavamian, R., Blute, M.L., Bergstrahl, E.J., Slezak, J., Zincke, H.: *Comparison of clinically nonpalpable prostate specific antigen detected (cT1c) versus palpable (cT2) prostate cancers in patients unersgoing radical retropubic prostatectomy*, 1999, *Urology* 54 (1), 105-110.
48. Giroud, F.; Haroske, G.; Reith, A.; Böcking, A.: *Part II: Specific recommendations for quality assurance*, 1998, *Analytical Cellular Pathology*, 17, 201-208.
49. Glaessgen, A., Hamberg, H., Pihl, C.G., Sunelin, B., Nilsson, B., Egevad, L.: *Interobserver reproducibility of modified Gleason-score in radical prostatectomy speciens*. 2004, *Virchow Archiv* 445(1), 17-24
50. Glaessgen, A.; Hamberg, H.; Pihl, C.G.; Sundelin, B.; Nilsson, B.; Egevad, L.: *Interobserver reproducibility of percent Gleason grade 4/5 in prostate biopsies*, 2004, *Journal of Urology*, 171, 664-667.



51. Gleason, D.F.; Mellinger, G.T.; The Veterans Administration Cooperative Urological Research Group: *Prediction of prognosis for prostatic for prostatic adenocarcinoma by combined histological grading and clinical staging*, 1974, *Journal of Urology*, 111, 58-64.
52. Goto, Y., Ohori, M., Arakawa, A., Kattan, M.W., Wheeler, T.M., Scardino, P.T.: *Distinguishing clinically important from unimportant prostate cancers before treatment: value of systematic biopsies*. *Journal of Urology*, 1996, 156 (3), 1059-1063.
53. Greene, D. R.; Rogers, E.; Wessels, E.C.; Wheeler, T. M.; Taylor, S.R.; Santucci, R.A.; Thompson, T. C.; Scardino, P. T.: *Some small prostate cancers are nondiploid by nuclear image analysis: Correlation of deoxyribonucleic acid Ppoidy Sstatus and pathological features*, 1994, *Journal of Urology*, 151, 1301-1307.
54. Griffiths, D.F.R; 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.: *A study of Gleason score interpretation in different groups of UK pathologists, techniques for improving reproducibility*, 2006, *Histopathology*, 48, 655-662.
55. Häggman, M.; de la Torre, M.; Brändstedt, S.; Norlén, B.J.; Norberg, M.; Busch, C.: *Pre- and postoperative DNA ploidy patterns correlated to pT-stage, histological grade and tumour volume in total prostatectomy specimens*, 1994, *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology Supplement*, 28, 59-66.
56. Haroske, G.; Baak, J.P.A.; Danielsen, H.; Giroud, F.; Gschwendtner, A.; Oberholzer, M.; Reith, A.; Spieler, P.; Böcking, A.: *Fourth updated ESACP consensus report on diagnostic DNA image cytometry*, 2001, *Analytical Cellular Pathology*, 23, 89-95.
57. Haroske, G.; Giroud, F.; Reith, A.; Böcking, A.: *Part I: Basic considerations and recommendations for preparation, measurement and interpretation*, 1998, *Analytical Cellular Pathology*, 17, 189-200.
58. Haroske, G.; Meyer, W.; Oberholzer, M.; Böcking, A.; Kunze, K.D.: *Competence on demand in DNA image cytometry*, 2000, *Pathology Research and Practice*, 196, 285-291.
59. Hawkins, C.A.; Bergstralh, E.J.; Lieber, M.M.; Zincke, H.: *Influence of DNA ploidy and adjuvant treatment on progression and survival in patients with pathologic stage T3 (PT3) prostate cancer after radical retropubic prostatectomy*, 1995, *Journal of Urology*, 46, 356-364.
60. Helpap, B.; Egevad, L.: *Clinical insignificance of prostate cancer: are there morphological findings?*, 2009, *Urologe A*, 48(2), 170-174.
61. Helap, B, Hartmann, A. , Wernert, N.: *Anleitung zur pathologisch-anatomischen Diagnostik von Prostatatumoren des Bundesverbandes Deutscher Pathologen e.V. und der Deutschen Gesellschaft für Pathologie e.V.*, Version 2.0, März 2011. [www.prostata-shg.de](http://www.prostata-shg.de).
62. Hirano, D., Werahera, P.N., Crawford, E.D., Lucia, M.S., DeAntoni, E.P., Miller, G.J.: *Morphological analysis and classification of latent prostate cancer using a 3-dimensional computer algorithm: analysis of tumor volume, grade, tumor doubling time and lifetime expectancy*, 1998, *Journal of Urology*, 159 (4), 1265-1269.
63. Horninger, W., Rogatsch, H., Reissigl, A., Volgger, H., Klocker, H., Hobisch, A., Bartsch, G.: *Correlation between preoperative predictors and pathologic features in radical prostatectomy specimens in PSA-based screening*, 1999, *Prostate*, 40 (1), 56-61.
64. Hussain, M. H.; Powell, I.; Zaki, N.; Maciorowski, Z.; Sakr, W.; KuKuraga, M.; Visscher, D.; Haas, G.P.; Pontes, J.E.; Ensley, J. F.: *Flow cytometric DNA analysis of fresh prostatic resections - Correlation with conventional prognostic parameters in patients with prostate cancer*, 1993, *Cancer*, 72(10), 3012-3019.
65. Iczkowski, K.A.; Bostwick, D.G.: *The pathologist as optimist: cancer grade deflation in prostatic needle biopsies*, 1998, *American Journal of Surgical Pathology*, 22, 1169-1170.
66. Irwin, M.B., Trapasso, J.G.: *Identification of insignificant prostate cancers: analysis of preoperative parameters*. *Urology*, 1994, 44 (6), 862-867.
67. Isharwal, S.; Miller, M.C.; Epstein, J.I.; Mangold, L.A.; Humphreys, E.; Partin A.W.; Veltri, R.W.: *DNA ploidy as surrogate for biopsy Gleason score for preoperative organ versus nonorgan-confined prostate cancer prediction*, 2009, *Urology*, 73(5), 1092-1097.
68. Jack, G.S., Cookson, T.A., Coffey, C.S., Vader, V., Roberts, R.L., Chang, S.S., Smith, J.A., Jr., Shappell, S.B.: *Pathological parameters of radical prostatectomy for clinical stages T1c versus T2 prostate adenocarcinoma: decreased pathological stage and increased detection of transition zone tumors*, 2002, *Journal of Urology*, 168 (2), 519-524.
69. Kassenärztliche Bundesvereinigung. Einheitlicher Bewertungsmaßstab (EBM). Band 1. 01.01.2008, Deutscher Ärzte-Verlag, Köln, Seite 305.
70. Kattan, M.W., Eastham, J.A., Wheeler, T.M., Maru, N., Scardino, P.T., Erbersdobler, A., Graefen, M., Huland, H., Koh, H., Shariat, S.H., Slawin, K.M., Ohori, M.: *Counseling men with*

- prostate cancer: a nomogram for predicting the presence of small, moderately differentiated, confined tumors*, 2003, *Journal of Urology*, 170 (5), 1792-1797.
71. Kiss, F., Lakner, G., Csellar, M., Nagy, P., Toth, A., Vittay, G.: *Reproducibility of malignancy grading in prostatic cancers using the Gleason-Böcking-system*. 1997, *Orv Hetil*, 138 (19), 1195 – 1199.
  72. Khoo, V.S.; Pollack, A.; Cowen, D.; Joon, D.L.; Patel, N.; Terry N.H.A.; Zagars, G.K.; von Eschenbach, A.C.; Meistrich, M.L.; Troncoso, P.: *Relationship of Ki-67 labeling index to DNA-ploidy, S-phase fraction, and outcome in prostate cancer Treated with radiotherapy*, 1999, *Prostate*, 41, 166-172.
  73. Kristiansen, G.: *Was bedeutet der neue Gleason-Score für den Kliniker*, www, 2009
  74. Lee, A.K., Doytchinova, T., Chen, M.H., Renshaw, A.A., Weinstein, M., Richie, J.P., D'Amico, A.V.: *Can the core length involved with prostate cancer identify clinically insignificant disease in low risk patients diagnosed on the basis of a single positive core?* 2003, *Urologic Oncology*, 21 (2), 123-127.
  75. Lessells, A.M.; Burnett, R.A.; Howatson, S.R. et al.: *Observer variability in the histopathological reporting of needle biopsy specimens of the prostate*, 1997, *Human Pathology*, 28, 646-649.
  76. Leung, C.S., Zbieranowski, I., Demers, J., Murray, D.: *DNA image cytometry of prostatic Carcinoma: A comparison of needle core biopsy and subsequent prostatectomy specimens*. 2004, *Modern Pathology*, 17 (2), 195-199
  77. Loeb, S., Roehl, K.A., Thaxton, C.S., Catalona, W.J.: *Combined prostate-specific antigen density and biopsy features to predict "clinically insignificant" prostate cancer*, 2008, *Urology*, 72 (1), 143-147.
  78. Martínez-Jabaloyas, J. M.; Ruiz-Cerdá, J. L.; Hernández, M.; Jiménez, A.; Jiménez-Cruz, F.: *Prognostic value of DNA ploidy and nuclear morphometry in prostate cancer treated with androgen deprivation*, 2002, *Urology*, 59, 715-720.
  79. Melia, J., Moseley, R., Ball, R. Y., Griffiths, D. F. R., Grigor, K., Harnden, P., Jarmulowicz, M., McWilliam, L. J., Montironi, R., Waller, M., Moss, S., Parkinson, M. C.: *A UK-based investigation of inter- and intra-observer reproducibility of Gleason grading of prostatic biopsies*. 2006, *Hisopathology*, 48, 644 – 654.
  80. Di Silverio, F.; D'Eramo, G.; Buscarini, M.; Sciarra, A.; Casale, P.; Di Nicola, S.; Loreto, A.; Seccareccia, F.; De Vita, R.: *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*, 1996, *European Urology*, 30, 316-321.
  81. McLean, M., Srigley, J., Banerjee, D., Warde, P., Hao, Y.: *Interobserver variation in prostate cancer Gleason scoring: are there implications for the design of clinical trials and treatment strategies?* 1997, *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 9, 22 - 225
  82. Miyake, H., Sakai, I., Harada, K., Hara, I., Eto, H.: *Prediction of potentially insignificant prostate cancer in men undergoing radical prostatectomy for clinically organ-confined disease*, 2005, *International Journal of Urology*, 12 (3), 270.274.
  83. Mikami, Y.; Manabe, T.; Epstein, J.I. et al: *Accuracy of Gleason grading by practicing pathologists and impact of education on improving agreement*, 2003, *Human Pathology*, 34, 658-665.
  84. Milcent, S.; Lorenzato, M.; Enaschescu, D.; Enaschescu, C.; Birembaut, P.; Staerman, F.: *La ploïdie cellulaire: facteur prédictif de cancer de prostate localement avancé*, 2007, *Progrès en Urologie*, 17, 819-823.
  85. Miller, J.; Horsfall, D.J.; Marshall, V.R.; Rao, D.M.; Leong, A.S.-Y.: *The prognostic value of deoxyribonucleic acid flow cytometric analysis In stage D2 prostatic carcinoma*, 1991, *Journal of Urology*, 145, 1192-1196.
  86. Montgomery, B.T.; Nativ, O.; Blute, M.L.; Farrow, G.M.; Myers, R.P., Zincke, H.; Therneau, T.M.; Lieber, M.M.: *Stage B prostate adenocarcinoma. A flow cytometric nuclear DNA ploidy analysis*, 1990, *Archives of Surgery*, 125, 327-331.
  87. Mora, L.B.; Moscinski, L.C.; Diaz, J.I.; Blair, P.; Cantor, A.B.; Pow-Sang, J.M.: *Stage B Prostate cancer: correlation of DNA ploidy analysis with histological and clinical parameters*, 1999, *Cancer Control*, 6(6), 587-591.
  88. Nativ, O.; Winkler, H.Z.; Raz, Y.; Therneau, T.M.; Farrow, G.M.; Myers, R.P.; Zincke, H.; Lieber, M.M.: *Stage C prostatic adenocarcinoma: Flow cytometric nuclear DNA ploidy analysis*, 1989, *Mayo Clinic Proceedings*, 64, 911-919.
  89. Ochiari, A., Troncoso, P., Chen, M. E., Lloreta, J., Babian, R. J.: *The relationship between tumor volume and the number of positive cores in men undergoing mutisite extended biopsy: implication for expectant management*. *Journal of Urology*, 2005, 174 (6), 2164 – 2168.

90. Özdamar, S.O.; Sarikaya, S.; Yildiz, L.; Atilla, M.K.; Kandemir, B.; Yildiz, S.: *Intraobserver and interobserver reproducibility of WHO and Gleason histologic grading systems in prostatic adenocarcinomas*, 1996, *International Urology and Nephrology*, 28(1), 73-77.
91. Oyama, T., Allsbrook, W. C., Jr., Kurokawa, K., Matsuda, H., Segawa, A., Sano, T., Suzuki, K., Epstein, J.I.: *A comparison of interobserver reproducibility of Gleason-Grading of prostatic carcinoma in Japan and the United States*. 2005, *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*. 129, 1004 – 1010.
92. Oxford Centre for Evidence based Medicine, 2009, <http://www.cebm.net/index.aspx?o>, 21.04.2011.
93. Peters-Gee, J. M.; Miles, B.J.; Cerny, J.C.; Gaba, A.R.; Jacobsen, G.; Crissman, J.D.: *Prognostic significance of DNA quantitation in stage D1 prostate carcinoma with the use of image analysis*, 1992, *Cancer*, 70(5), 1159-1165.
94. Pollack, A.; Troncoso, P.; Zagars, G.K.; von Eschenbach, A.C.; Mak, A.C.; Wu, C.S.; Terry, N.H.: *The significance of DNA-ploidy and S-phase fraction in node-positive (stage D1) prostate cancer treated with androgen ablation*, 1997, *Prostate*, 31, 21-28.
95. 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.: *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*, 2003, *Journal of Clinical Oncology*, 21(7), 1238-1248.
96. Pollack, A.; Zagars, G.K.; El-Naggar, A.K.; Gauwitz, M.D.; Terry, N.H.A.: *Near-Diploidy: A new prognostic factor for clinically localized prostate cancer treated with external beam radiation therapy*, 1994, *Cancer*, 73(7), 1895-1903.
97. Pretorius, M.E.; Waehre, H.; Abeler, V.M.; Davidson, B.; Vlatkovic, L.; Lothe, R.A.; Giercksky, K.-E.; Danielsen, H.E.: *Large scale genomic instability as an additive prognostic marker in early prostate cancer*, 2009, *Cellular Oncology*, 31, 251-259.
98. Roel, K.A., Antenor, J.A., Catalona, W.J.: 2002, *Journal of Urology*, 167 (2), 2435-2439.
99. Recker, F., Kwiatkowski, M.K., Huber, A., Stamm, B., Lehmann, K., Tscholl, R.: *Prospective detection of clinically relevant prostate cancer in the prostate specific antigen range 1 to 3 ng/ml combined with free-to-total ratio 20% or less: the Aarau experience, 2001*, *Journal of Urology*, 166 (3), 851-855.
100. Ross, J.S.; Figge, H.; Bui, H. X.; del Rosario, A. D.; Jennings, T. A.; Rifkin, M.D.; Fisher, H.A.G.: *Prediction of pathologic stage and postprostatectomy disease recurrence by DNA ploidy analysis of initial needle biopsy specimens of prostate cancer*, 1994, *Cancer*, 74(10), 2811-2818.
101. Ross, J.S.; Sheehan, C.E.; Ambros, R.A.; Nazeer, T.; Jennings, T.A.; Kaufman Jr., R.P.; Fisher, H.A.; Rifkin, M.D.; Kallakury, B.V.: *Needle biopsy DNA ploidy status predicts grade shifting in prostate cancer*, 1999, *American Journal of Surgical Pathology*, 23(3), 296-301.
102. Ross, J.S.; Jennings, T.A.; Nazeer, T.; Sheehan, C.E.; Fisher, H.A.G; Kauffman, R.A.; Anwar, S.; Kallakury, B.V.S.: *Prognostic factors in prostate cancer*, 2003, *American Journal of Clinical Pathology*, 120 (Suppl 1), 85-100.
103. Rousselet, M.C.; Saint-Andre, J.P.; Six, P.; Soret, J.Y.: *Reproducibility and prognostic value of Gleason`s and Gaeta`s histological grades in prostatic carcinoma*, 1986, *Annales d`Urologie*, 20(5), 317-322.
104. Sakr, W.A.; Grignon, D.J.: *Prostate Cancer: Indicators of Aggressiveness*, 1997, *European Urology*, 32(Suppl 3), 15-23.
105. Schröder, F.; Tribukait, B.; Böcking, A.; de Vere White, R.; Koss, L.; Lieber, M.; Stenkvist, B.; Zetterberg, A.: *Clinical utility of cellular DNA measurements in prostate carcinoma*, 1994, *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology Supplement*, 162, 51-64.
106. Sokoloff, M. H., Yang, X. J., Fumo, M., Mhoon, D., Brendler, C. B.: *Ccharacterizing prostatic adenocarcinoma in men with a serum prostate specific antigen level of < 4.0 ng/ml*. *British Journal of Urology International*, 2004, 93 (4), 499-502.
107. Song, J.; Cheng, W.S.; Cupps, R.E.; Earle, J.D.; Farrow, G.M.; Lieber, M.M.: *Nuclear deoxyribonucleic acid content measured by static cytometry: Important prognostic association for patients with clinically localized prostate carcinoma treated by external beam radiotherapy*, 1992, *Journal of Urology*, 147, 794-797.
108. Spitz, M.R., Strom, S.S., Yamamura, Y., Troncoso, P., Babaian, R.J., Scardino, P.T., Wheeler, T., Amos, C.I., von Eschenbach, A., Kagan, J.: *Epidemiologic determinants of clinically relevant prostate cancer, 2000*, *International Journal of Clinical Practise*, 89 (3), 259-264.

109. Stamey, T.A., Freiha, F.S., McNeal, J.E., Redwine, E.A., Whittemore, A.S., Schmid, H.P.: *Localized prostate cancer. Relationship of tumor volume to clinical significance for the treatment of prostate cancer*, 1993, *Cancer*, 71 (3 Suppl.), 933-938.
110. Stephenson, R.A.; James, B.C.; Gay, H.; Fair, W.R.; Whitmore Jr., W.F.; Melamed, M.R.: *Flow cytometry of prostate cancer: Relationship of DNA content to survival*, 1987, *Cancer Research*, 47, 2504-2507.
111. Steyerberg, E.W., Roobol, M.J., Kattan, M.W., van der Kwast, T., de Koning, H.J., Schröder, F.H.: *Prediction of indolent prostate cancer: validation and updating of a prognostic nomogram*, 2007, *Journal of Urology*, 177 (1), 107-112.
112. Svanholm, H.; Mygind, H.: *Prostatic carcinoma reproducibility of histologic grading*, 1985, *Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica Section A*, 93, 67-71.
113. Tavares, A. S., Costa, J., De Carvalho, A., Reis, M.: *Tumour ploidy and prognosis in carcinomas of the bladder*. *British Journal of Cancer*, 1966, 20, 438 – 441.
114. Terris, M.K., Haney, D.J., Johnstone, I.M., McNeal, J.E., Stamey, T.A.: *Prediction of prostate cancer volume using prostate-specific antigen levels, transrectal ultrasound, and systematic sextant biopsies*, 1995, *Urology*, 45 (1), 75-80.
115. Tils, M.: *DNA-Malignitäts-Gradierung Beim Prostatakarzinom – Reproduzierbarkeit, Korrelation mit dem Gleason-Score und dem Staging*. Med. Diss., Universität Düsseldorf, in Vorbereitung, 2013.
116. Tribukait, B.: *Nuclear deoxyribonucleic acid determination in patients with prostate carcinomas: Clinical research and application*, 1993, *European Urology*, 23(2), 64-76.
117. Tucci Jr., S.; Blumenfeld, W.; Narayan, P.: *Ploidy status correlates with outcome in stage B prostate adenocarcinoma*, 1994, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 27, 25-32.
118. Uemura, H., Hushino, K., Sasaki, T., Mioshi, Y., Ishiguro, H., Inayama, Y, Kubeto, Y.: *Usefulness of the 2005 International Society of Urological Pathology Gleason grading system in prostate biopsy and radical prostatectomy*. *British Journal of Urology*, September 2008
119. UICC International Union Against Cancer, Hrsg.: Wittekind, Ch.; Meyer, H.-J., Bootz, F.: *TNM Klassifikation maligner Tumoren*, Springer 2002, 6.Auflage.
120. Veloso, S.G., Lima, M. F., Salles, P.G., Berenstein, C. K., Scalon, J. D., Bambirra, E. A.: *Interobserver agreement of Gleason score and modified Gleason score in needle biopsy and in surgical specimen of prostate cancer*. 2007, *International Brazilian Journal of Urology*, 33 (5), 639 – 651.
121. Veltri, R.W.; Partin, A.W.; Epstein, J.E.; Marley, G.M.; Miller, C.M.; Singer, D.S.; Patton, K.P.; Criley, S.R.; Coffey, D.S.: *Quantitative nuclear morphometry, Markovian texture descriptors, and DNA content captured on a CAS-200 image analysis system, combined with PCNA and Her-2/neu immunohistochemistry for prediction of prostate cancer progression*, 1994, *Journal of Cellular Biochemistry*, 19, 249-258.
122. Vesalainen, S.; Nordling, S.; Lipponen, P.; Talja, M.; Syrjänen, K.: *Progression and survival in prostatic adenocarcinoma: a comparison of clinical stage, Gleason grade, S-phase fraction and DNA ploidy*, 1994, *British Journal of Cancer*, 70, 309-314.
123. Visakorpi, T.; Kallioniemi, O.-P.; Paronen, I.Y.I.; Isola, J.J.; Heikkinen, A.I.; Koivula, T.A.: *Flow cytometric analysis of DNA ploidy and S-phase fraction from prostatic carcinomas: implications for prognosis and response to endocrine therapy*, 1991, *British Journal of Cancer*, 64, 578-582.
124. Voges, G. E.; Eigner, E. B.; Ross, W.; Sussman, H.; Stöckle, M.; Freiha, F.S.; Stamey, T. A.: *Pathologic parameters and flow cytometric Pploidy analysis in predicting recurrence in carcinoma of the prostate*, 1993, *European Urology*, 24, 132-139.
125. Winkler, H.Z.; Rainwater, L.M.; Myers, R.P.; Farrow, G.M.; Therneau, T.M.; Zincke, H.; Lieber, M.M.: *Stage D1 prostatic adenocarcinoma: Significance of nuclear DNA ploidy patterns studied by flow cytometry*, 1988, *Mayo Clinic Proceedings*, 63, 103-112.

Prof. Dr. Alfred Böcking, Institut für Pathologie, Krankenhaus Düren, Roonstraße 30, 52351 Düren, Tel. 02421 301713, boecking@uni-duesseldorf.de

Prof. Dr. Stefan Biesterfeld, Institut für Pathologie, Schwerpunkt Cytopathologie, Universitätsklinikum Düsseldorf, Moorenstraße 5, 40225 Düsseldorf, Tel. 0211 8118346Stefan.biesterfeld@med.uni-duesseldorf.de

Redaktion und web-Präsentation:

Josef Dietz, Landesverband Baden-Württemberg im Bundesverband Prostatakrebs-Selbsthilfe, Max Reger Straße 10, 75015 Bretten, Tel. 07252 5800156,  
info@prostata-shg.de

Aachen, den 24.02.2013