

Frankfurter Konsens zur standardisierten prognostischen DNA-Zytometrie beim Prostatakarzinom

Frankfurt-Consens on Prognostic DNA-Cytometry in Prostate Cancer

Alfred Böcking, Stefan Biesterfeld, Josef Dietz, Gunter Haroske, Jörg Kriegsmann, Helma Motherby, Stephan Falk

Unter der Schirmherrschaft der "Akademie für Fortbildung in der Morphologie" fand am 08.11.2014 im Deutschen Filmmuseum in Frankfurt a. M. eine Fortbildungs-Veranstaltung: "Prognostische DNA-Zytometrie beim Prostatakarzinom" statt. Unter der wissenschaftlichen Leitung von A. Böcking, Düren, S. Falk und H. Motherby, Frankfurt trug J. Dietz, stellvertretender Vorsitzender des Landesverbandes Prostatakrebs Selbsthilfe Baden-Württemberg im BPS zur "Aktiven Überwachung von lokal begrenzten Karzinomen der Prostata laut S3-Leitlinie" vor.

Frau V. Goda aus Düren erläuterte technische Details der "Enzymatischen Zellvereinzelung und der Feulgen-Färbung". G. Haroske aus Dresden referierte über die "ESACP-Standards für eine diagnostische/prognostische DNA-Bildzytometrie". A. Böcking erläuterte "Zytogenetische Grundlagen und Ergebnisse der prognostischen DNA-Zytometrie des Prostatakarzinoms" und "Daten aus der Weltliteratur" laut unten genannter Systematischer Literatur-Recherche (1). Außerdem trug er Vorschläge für eine "Standardisierte Befundung prognostischer DNA-Zytometrien von Prostatakarzinomen vor. S. Biesterfeld aus Düsseldorf berichtete über eine "Prospektive Kohortenstudie zur Validierung der prognostischen DNA-Zytometrie bei Patienten mit Prostatakarzinom unter Aktiver Überwachung". J. Kriegsmann erläuterte schließlich "Aspekte der Abrechnung der DNA-Zytometrie".

Nach Abschluss der sich anschließenden Diskussion wurde unter den 22 teilnehmenden Pathologen einstimmig ein Konsens über die nachfolgend präsentierten vier Dokumente erzielt:

Technik der standardisierten prognostischen DNA-Zytometrie beim Prostatakarzinom

1. Indikation
Objektive Malignitäts-Gradierung des Prostatakarzinoms in Ergänzung zum histologischen Gleason-Score 6 und 7
2. Untersuchungsmaterialien
 - a. Stanzbiopsien oder TUR-Material mit einem Adenokarzinom der Prostata für eine topographisch-histologisch gesteuerte enzymatische Zellvereinzelung
 - b. Ausstriche von Feinnadelaspirationsbiopsien mit Tumorzellen
 - c. Schnittpäparate ohne die Möglichkeit der Zellvereinzelung sind nicht analysierbar
 - d. Zu neuroendokrinen oder anderen Sonderformen des Prostatakarzinoms existieren keine gesicherten Daten; diese Tumoren können derzeit hinsichtlich ihrer Prognose DNA-zytometrisch nicht mit der erforderlichen Sicherheit interpretiert werden
 - e. Alle Tumor-haltigen Zell- oder Gewebeproben sollten samt Belegschnitten vorliegen, wenn möglich mit einer Kopie des Vorbefundes
 - f. Das Poolen von Gewebeproben ist statthaft, ggf. Angabe der Probenzahl und Gewebefläche

3. Färbung
 - a. Nachfixation mit Formalin
 - b. Nach R. Feulgen mit Pararosanilin oder Thionin
4. Interne Kalibration
 - a. Mit normalen prostatistischen Epithelzellen oder Lymphozyten auf demselben Objektträger
 - b. Mit auf demselben Objektträger vorhandenen externen oder internen Fibroblasten oder Lymphozyten
 - c. $N \geq 30$
5. Messpräzision
 - a. CV Referenzzellen $< 5\%$
 - b. CC Referenzzellen (Fläche vs. DNA) $r < 0,4$
6. Analysezellen
 $N > 300$
7. Prognostische Interpretation
 - a. Nach Haroske et al., 2001 in: peridiploid (DNA-Malignitätsgrad 1), peritetraploid (DNA-Malignitätsgrad 2), x-ploid (DNA-Malignitätsgrad 3) und multiploid (DNA-Malignitätsgrad 4).
 - b. Bestimmung der Proliferationsfraktion nur bei DNA-Grad 1
 - c. Benennung des Gesamttumors nach dem höchsten Malignitätsgrad
8. Dokumentation
 - a. Art des Untersuchungsmaterials
 - b. Ggf. Zahl gepoolter Proben
 - c. DNA-Histogramm mit Angabe von Zahl und Typ der Referenzzellen
9. Wissenschaftliche Grundlagen der Methode
Vier Consensus-Reports on Diagnostic DNA-Image-Cytometry der European Society for Analytical Cellular Pathology, ESACP: Böcking et al., 1995; Haroske et al. 1998; Giroud et al. 1998; Haroske et al., 2001. Systematischer Review der Weltliteratur: Böcking et al., Pathology Discov. 2014; 2:7. doi.org/10.7243/2052-7896-2-7
10. Benennung der Methode
Kommen für eine automatische Auswahl und Bewertung der für eine diagnostische/prognostische Analyse relevanten Zellkerne neben der Bestimmung von deren DNA-Gehalt digitale Klassifikatoren zum Einsatz, empfiehlt sich die Benennung der Methode als "DNA-Kayometrie".

Standardisierte Befunderstellung in der Prognostischen DNA-Zytometrie des Prostatakarzinoms

DNA-Zytometrie Befund

1. Patient: Name, Vorname, Geburtsdatum
2. Befundendes Institut
3. Eingangs-Nummer (eigen, ggf. fremd)
4. Morphologische Diagnose (ggf. eigen und fremd)
5. Zur prognostischen DNA-Zytometrie eingesandtes / verwendetes Untersuchungsmaterial (z.B. gefärbte Ausstriche von FNABs, Paraffinblöcke mit Stanzen, Gewebe von TURs, RPEs, zugehörige Schnitte)
6. Ggf. histologisch-topographischespezifische Bestimmung(en) und Identifizierung(en) der zu untersuchenden Gewebestruktur(en) an morphologischem Untersuchungsgut mit

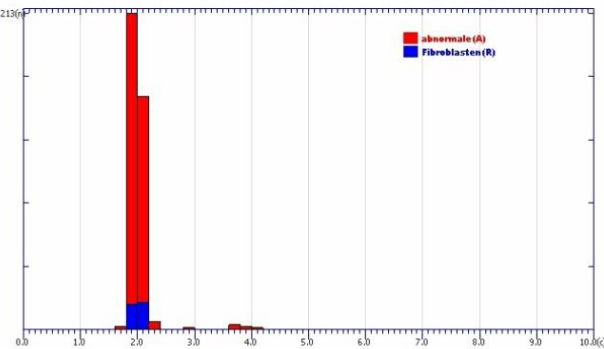
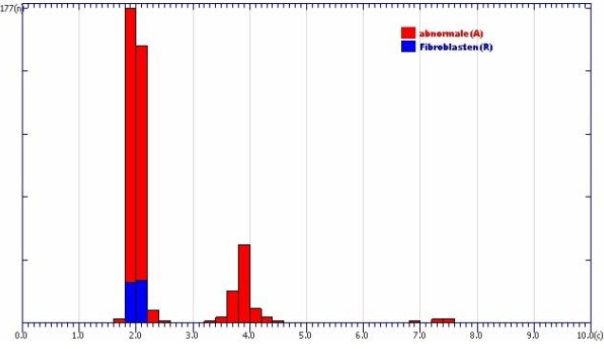
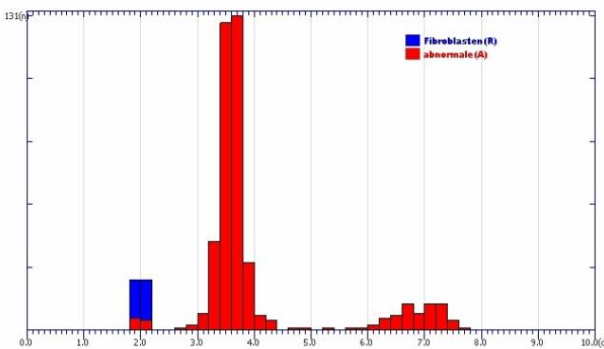
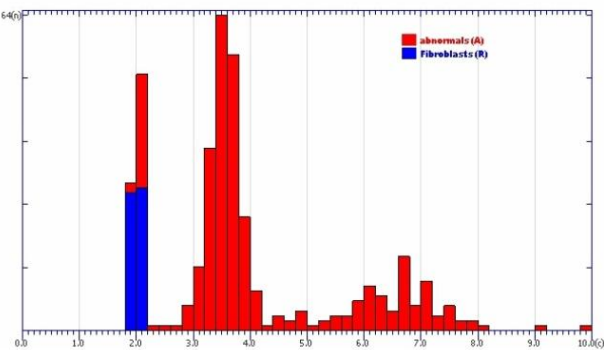
nachfolgender enzymatischer Zellvereinzelung von Karzinomgewebe zur DNA-Zytometrie

7. Ggf. Poolen von mehreren Karzinomherden mit Größenangaben
8. Färbung nach Feulgen mit Pararosanilin / Thionin
9. Interne Kalibration / Referenzzellen (Art, Zahl, CV)
10. Analysezellen (Art, Zahl)
11. DNA-Histogramm (DNA-Gehalt vs. Anzahl)
12. Ggf. exemplarische Bilder von Referenz- und Analysezellen
13. Zahl und Lage von DNA-Stammlinien (Modalwerte)
14. Ggf. Proliferationsfraktion bei solitärer Stammlinie
15. Ggf. standardisierte Indizes der DNA-Verteilung (z.B. rare events)
16. Ggf. kernmorphometrische Parameter
17. Datum, Unterschrift(en)

Zusammenfassendes Gutachten

18. Art des Untersuchungsmaterials
19. Prognostische Interpretation des Histogramms mit Referenz (Haroske et al., 2001)
20. Anlagen (z.B. DNA-Zytometrie-Bericht, Histogramm-Tabelle zur prognostischen Interpretation, Publikationen, Blöcke und Schnitte ggf. zurück)

**Tabelle zur prognostischen Interpretation von DNA-Histogrammen beim
Prostatakarzinom (modifiziert aus 2)**

Typische DNA-Histogramme	Diagnose DNA-Grad vs. Gleason-Score	Prognose und Therapie
<p>DNA-Histogramm [c] für 1931-10</p> 	<p>Peridiploide DNA-Verteilung</p> <p>DNA-Grad 1 (Typ A)</p> <p>entspricht etwa GS ≤ 6 (3 + 3 = 6)</p>	<p>Sehr gut</p> <p>Aktive Überwachung/Active Surveillance</p> <p>Befund-Häufigkeit in Stanzen: ca. 55% der Fälle</p>
<p>DNA-Histogramm [c] für 1548-10</p> 	<p>Peritetraploide DNA-Verteilung</p> <p>DNA-Grad 2 (Typ B)</p> <p>entspricht etwa GS 7</p>	<p>Überwiegend gut</p> <p>Für ältere Patienten wie bei Typ A, ggf. Aktive Überwachung/Active Surveillance</p> <p>Befund-Häufigkeit in Stanzen: ca. 26% der Fälle</p>
<p>DNA-Histogramm [c] für 10247b-09</p> 	<p>X-ploide DNA-Verteilung</p> <p>DNA-Grad 3 (Typ C)</p> <p>entspricht etwa GS 8</p>	<p>Unbehandelt ungünstig</p> <p>Behandlung wie bei Prostata-Karzinom mit Gleason ≥ 8</p> <p>Befund-Häufigkeit in Stanzen: ca. 10% der Fälle</p>
<p>DNA-Histogramm [c] für 3554-09</p> 	<p>Multiploide DNA-Verteilung</p> <p>DNA-Grad 4 (Typ C)</p> <p>entspricht etwa GS 9 - 10</p>	<p>Unbehandelt ungünstig</p> <p>Behandlung wie bei Prostata-Karzinom mit Gleason ≥ 8</p> <p>Befund-Häufigkeit in Stanzen : ca. 9% der Fälle</p>

Textvorschläge zur klinisch relevanten prognostischen Interpretation von DNA-Zytometrie-Befunden an Erst- und Folgebiopsien von Prostatakarzinomen.

DNA-Malignitätsgrad 1 (=peridiploid):

Bei Vorliegen der Eingangskriterien für eine „Aktive Überwachung/Active Surveillance“ von Prostatakarzinomen laut S3-Leitlinie bekräftigt dieser prognostisch sehr günstige DNA-zytometrische Befund die Indikation zu dieser Strategie mit kurativer Option. Wir empfehlen, die DNA-Zytometrie bei den Folgebiopsien im Rahmen der „Aktive Überwachung/Active Surveillance“ einzusetzen, um ggf. eine zytogenetische Progression objektiv zu erfassen.

DNA-Malignitätsgrad 2 (=peritetraploid):

Bei Vorliegen der Eingangskriterien für eine „Aktive Überwachung/Active Surveillance“ von Prostatakarzinomen laut S3-Leitlinie kann dieser prognostisch überwiegend gute DNA-zytometrische Befund bei bestimmten Patienten die Indikation zu dieser Strategie mit kurativer Option unterstützen. Wir empfehlen, die DNA-Zytometrie bei den Folgebiopsien im Rahmen der „Aktive Überwachung/Active Surveillance“ einzusetzen, um ggf. eine zytogenetische Progression objektiv zu erfassen.

DNA-Malignitätsgrade 3 und 4 (x-ploid und multiploid):

Trotz evtl. erfüllter Eingangskriterien für eine „Aktive Überwachung/Active Surveillance“ von Prostatakarzinomen laut S3-Leitlinie spricht dieser prognostisch ungünstige DNA-zytometrische Befund gegen diese Strategie.

Eine aktuelle Liste derjenigen Institute in Deutschland, welche die prognostische DNA-Zytometrie (DNA-Zytometrie) des Prostatakarzinoms anbieten und sich dem hier präsentierten „Frankfurter Konsens“ verpflichtet fühlen, ist unter www.prostata-shg.de/link/r einsehbar.

Referenzen:

1. Böcking A, Tils M, Schramm M, Dietz J, Biesterfeld S (2014) DNA-grading of prostate cancer. Systematic review of the literature with descriptive data analysis. Pathol Discov 7:2. Doi.org/10.7243/2052-7896-2-7.
2. Böcking A, Dietz J (2013) Prognostische DNA-Zytometrie beim Prostatakarzinom. Dtsch Z onkol 45(4):144-151.

Korrespondenzautor:

Prof. Dr. Alfred Böcking, Institut für Pathologie, Krankenhaus Düren, Roonstraße 30, 52309 Düren, 0241 73395, alfred.boecking@web.de.
Ehem. Direktor des Instituts für Cytopathologie des Universitätsklinikums Düsseldorf.