

# **AK-Zytologie und DNA-Zytometrie beim Prostatakarzinom**

## **1. Wann erachten Sie die Einbeziehung der Ploidie der Tumorzellen bei Ihrer Vorgehensweise als wichtig?**

Meines Erachtens gehört die DNA-Ploidie-Bestimmung (bzw. die diagnostische DNA-Bildzytometrie) zu jeder mikroskopischen Primärdiagnostik eines Prostatakarzinoms, weil von ihrem Ergebnis schwerwiegende therapeutische Weichenstellungen abhängen können.

### **Ursache und Diagnostik von Krebs**

Anders als die gegenwärtige „Mainstream-Wissenschaft“ es annimmt, sind die entscheidenden Veränderungen, welche eine gesunde Drüsenzelle der Prostata zu einer Krebszelle transformieren (gemeinsame pathogenetische Endstrecke der Carcinogenese) höchstwahrscheinlich nicht die Mutation einiger Gene, sondern vielmehr Änderungen der Zahl und / oder Struktur von deren Chromosomen (Aneuploidie). Daher ist es bisher auch noch keinem Wissenschaftler gelungen, durch Einbringung von Mutationen Krebszellen in Kultur zu erzeugen. Dies gelingt aber sehr wohl durch Erzeugung von Chromosomenaberrationen (z. B. durch Bestrahlung). Beim Prostatakarzinom wurden kürzlich von Morris et al. (2008) solche strukturellen Abberationen der Chromosomen 7 und 22 beschrieben. Die meisten der bisher zytogenetisch untersuchten Prostatakarzinome waren tatsächlich chromosomal aneuploid (Ebersdobler et al. 1998; Verdorfer et al., 2001; Barranco et al. 1998). Für mehr und mehr Karzinome werden derzeit die wahrscheinlich ursächlichen, sogenannten primären Chromosomenabberationen beschrieben, wie z. B. der Gewinn des langen Armes von Chromosom Nr. 3 für das Gebärmutterhalskarzinom (Professor Dr. Thomas Ried, National Institute of Health, NIH, Bethesda, USA am 05.07.08 im Deutschen Krebsforschungszentrum in Heidelberg). Diese lassen sich dann auch durch die chromosomale Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) mikroskopisch nachweisen. Für die Diagnose des Harnblasenkarzinoms ist daraus bereits ein von der Firma Vysis, USA, vertriebener

Routinetest geworden, der bei entsprechender Indikation auch von den deutschen Krankenkassen bezahlt wird. Wenn chromosomal Aneuploidie stärker ausgebildet ist, so ist sie als sogenannte DNA-Aneuploidie messbar. Auch die diese messende DNA-Bildzytometrie wird von den deutschen Krankenkassen bei entsprechender Indikation erstattet. Das gilt auch für das Prostatakarzinom.

### Malignitätsgradierung von Krebs

Darüber hinaus ist es schulmedizinisches Wissen, dass bösartige Tumoren im Verlauf der Zeit meist eine sogenannte zytogenetische Progression erleiden. Das heißt, dass es mit jeder weiteren Zellteilung im Sinne einer Kettenreaktion zu neuen (sekundären) Chromosomenabberationen kommt, während die ursprünglichen, sogenannten primären, der Tumorzelle erhalten bleiben. Mit dem daraus resultierenden zunehmendem Chaos der Chromosomenzusammensetzung der Tumorzellen geht eine Steigerung der Bösartigkeit (Malignität) des Tumors einher (zunehmende maligne Potenz, bzw. Malignitätsgrad). Die von Pathologen im Mikroskop beobachtete Vielgestaltigkeit der Tumorzellen (Polymorphie) hat darin ihre Ursache. Das primäre Ereignis bei der Entstehung des Prostatakarzinoms ist also das entstehende Chaos in den Chromosomen (Duesberg, 2007), das sekundäre ist der sich dadurch erklärende, ansteigende Gleason-Score. Warum misst man also nicht gleich die Ursache der steigenden Bösartigkeit, die Zunahme des Chaos in den Chromosomen, was die DNA-Ploidie-Bestimmung (DNA-Bildzytometrie) auch tut. Diese bestimmt zum DNA-Malignitätsgrading die Varianz der DNA-Ploidie-Werte der Tumorzellen, was nicht nur objektiver und reproduzierbarer möglich ist, als die subjektive Gleason-Gradierung, sondern auch besser mit der Prognose des Patienten korreliert. Dies konnte Frau Dr. Pretorius vom Institut für Pathologie der Universität Oslo, Norwegen, jüngst eindrucksvoll beweisen (Pretorius et al., 2008). In ihrer Untersuchung zeigte sie die Überlegenheit der DNA-Bildzytometrie über den Gleason-Score zur Prognose operierter Patienten mit Prostatakarzinom.

Gewiss muss die DNA-Bildzytometrie standardisiert durchgeführt und diagnostisch interpretiert werden. Dies wurde in bisherigen Studien oft nicht hinreichend beachtet. Vier Consensus Reports der European Society for Analytical Cellular Pathology (ESACP) haben diese Methode bis ins kleinste Detail standardisiert (Böcking et al. 1995; Haroske et al. 1997, 2001; Giroud et al. 2001). Leider haben sich jedoch viele

Autoren bisher nicht an die dort vereinheitlichte Interpretation der DNA-Messergebnisse gehalten, womit sich gelegentliche „schlechte“ Ergebnisse erklären lassen. Ein häufig begangener Fehler bestand z. B. darin, lediglich zwischen DNA-diploid und –aneuploid zu unterscheiden statt auf die zunehmende DNA-Aneuploidie (Typen A – D nach Tribukait, 1993) abzuheben.

### Methode von gestern?

Das Argument, die DNA-Bildzytometrie sei eine „Methode von gestern“ ist kaum überzeugend. Auch die aktuelle These, dass Krebs eine chromosomale Erkrankung sei, stammt ursprünglich von den deutschen Forschern von Hansemann (1890) und Boveri (1902). Sie wird nun nach fast 100 Jahren von mehreren Wissenschaftlern wieder aufgegriffen und aktualisiert (Stindl, 2008; Duesberg, 2007; Hardy and Zacharias, 2005). Die Wissenschaftsgeschichte ist im Übrigen reich an Thesen, die lange Jahre für falsch gehalten wurden und sich letztlich dann doch als richtig erwiesen haben. Dies gilt auch für die chromosomale Theorie der Krebsentstehung von Hansemann und Boveri sowie für die darauf gründende diagnostische bzw. prognostische DNA-Bildzytometrie, deren Wurzeln in die vierziger Jahre des vorherigen Jahrhunderts reichen (Caspersson, 1932; Sandritter, 1952; Atkin and Richards, 1956). Die Tatsache, dass es bereits 1000e Publikationen zur prognostischen Relevanz der DNA-Bildzytometrie bei verschiedenen Tumoren gibt, darf dagegen als Vorteil gegenüber neueren und weniger erprobten Diagnoseverfahren gewertet werden. Die Ausdrucke der wissenschaftlichen Publikationen zur prognostischen Relevanz der DNA-Bildzytometrie beim Prostatakarzinom füllen zwei Leitz-Ordner. Professor Dietl von der Charité Berlin zähle 86, wir 120. Diese Artikel berichten meist positiv über den Zusammenhang zwischen „DNA-Ploidie“ und der Prognose von Patienten mit Prostatakarzinom.

### Messpräzision der DNA-Zytometrie

Außerdem hat die Messtechnik zwischenzeitlich wegen Verbesserungen der digitalen Bildanalyse erhebliche Fortschritte gemacht, so dass DNA-Messungen heute sehr viel genauer sind ( $CV < 2,0 \%$ ) als noch vor fünf Jahren. Auch das Wissen um primäre, Tumortyp-spezifische Chromosomenabberationen sowie die zytogenetische Tumorprogression hat in den letzten Jahren zu einer Renaissance einer biologisch gut begründeten diagnostisch und prognostisch relevanten DNA-Bildzytometrie

geführt. In China wird mit dieser Methode mit Unterstützung der dortigen wissenschaftlichen Fachgesellschaften an jährlich einer Million Abstrichen Gebärmutterhalskarzinom-Frühdiagnostik betrieben. Die British Columbia Cancer Agency (BCCA) in Vancouver, Kanada, plant aktuell zusammen mit uns eine retrospektive und eine prospektive Studie zur prognostischen Bedeutung der DNA-Bildzytometrie bei Brachy-therapierten Prostatakarzinom-Patienten durchzuführen (Palcic, 2008).

Man darf auch bei der Bewertung der Antwort namhafter Professoren der Pathologie und der Urologie nicht ganz außer Acht lassen, was eine generelle Akzeptanz der diagnostischen DNA-Bildzytometrie für das jeweilige Fach wirtschaftlich bedeuten würde:

Pathologen müssten sich für € 22.000,00 ein entsprechendes neues Gerät beschaffen. Eine DNA-Messung durch hochqualifiziertes Personal dauert derzeit noch ca. 20 bis 30 Minuten. Dafür erhält der Pathologe von GKV-Patienten lediglich € 42,00, wenn die Untersuchungen an Gewebe durchgeführt werden. Urologen würden sich zunehmend mit Patienten, vor allem im höheren Lebensalter konfrontiert sehen, die ihre DNA-diploiden Prostatakarzinome gar nicht behandeln lassen wollen (active surveillance).

## **2. Welche therapeutischen Schlüsse ergeben sich aus den verschiedenen DNA- Stadien**

Die therapeutischen Konsequenzen, die sich aus den verschiedenen DNA-Ploidie-Mustern oder –Graden (peridiploid=A, peritetraploid=B, x-ploid=C und multiploid=D) ergeben, hängen stark vom Ausbreitungsgrad des Tumors (Staging) ab sowie vom Alter und Gesundheitszustand des einzelnen Patienten.

Ein Prostatakarzinom Typ A hat in der Regel eine geringe Wachstumsgeschwindigkeit (um 5 % Proliferationsrate) und Progressionsneigung (setzt kaum Metastasen), so dass bei älteren Männern und im Frühstadium (T1, T2) eine Strategie des aktiven Überwachens angewendet werden kann. Dies gilt erst recht für die sogenannten „klinisch insignifikanten Karzinome“, die in Stanzbiopsien weniger als drei Millimeter im Durchmesser ausmachen und im Organ weniger als fünf cm<sup>3</sup>. Auch bei Typ B-Karzinomen kann bei älteren Männern und lokal begrenztem Tumor durchaus eine „Wait and see-Strategie“ erwogen werden.

Abzuraten ist bei diesen Tumoren allerdings von einer frühzeitigen, alleinigen Hormontherapie, da dadurch der Entwicklung sehr bösartiger, sogenannter Hormontauber Karzinome Vorschub geleistet werden kann (Tribukait, 1993). Die bremsende Wirkung auf das Prostatakarzinom ist meist nur von kurzer Dauer (2 – 3 Jahre). Eine andere Frage ist die anzuratende sukzessive Kombination von Strahlen- und Hormontherapie beim lokal fortgeschrittenen Prostatakarzinom, die deutlich bessere Ergebnisse erzielt als jede Therapie von für sich alleine (Svanson et al., 2006). Allerdings müssen beide Therapieformen nacheinander und nicht nebeneinander angewendet werden (Pollack et al., 2003). Beim Vorliegen von Skelettmetasen macht eine hormonelle Therapie aber meist Sinn, weil sie noch gegen die, wenn auch meist kleine Restfraktion der Typ A- und B-Karzinomzellen wirksam ist. Bei Typ C und D Prostatakarzinomzellen kann, vor allem bei jüngeren Männern in frühen (lokal begrenzten) Stadien eines Prostatakarzinoms, eine totale Prostatektomie oder lokale Strahlentherapie angezeigt sein. Zu bedenken ist, dass gerade diese Tumoren gerne frühzeitig, d. h. schon im Frühstadium T1 oder T2 metastasieren.

Grundsätzlich gilt auch, dass ein Tumor umso strahlenempfindlicher ist, je schneller sich seine Zellen teilen. Das gilt insbesondere für Prostatakarzinome der Typen C und D. Andererseits wirkt eine antihormonelle Therapie eher auf die Typen A und B, wenn auch nur kurzfristig. Daraus erklärt sich der gute Effekt der kombinierten Strahlen- und Hormontherapie beim lokal fortgeschrittenem Prostatakarzinom (Svanson and Mygind, 2001).

Univ.-Prof. Dr. med. Alfred Böcking  
Direktor des Instituts für Cytopathologie  
Universitätsklinikum Düsseldorf  
20.07.2008

---