UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Klinik für Urologie und Uroonkologie
Klinikum Braunschweig gGmbH

Chefarzt Prof. Dr. med. P. Hammerer

Pre-embedding von Prostatastanzbiopsaten - Ein prospektiv randomisierter Methodenvergleich

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Alkuin Vandromme
aus Nürtingen

Hamburg 2013

(wird von der Medizinischen Fakultät ausgefüllt)

Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 25.04.2014

Veröffentlicht mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. P. Hammerer

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: Prof. Dr. T. Steuber

Prüfungsausschuss, dritte/r Gutachter/in: PD Dr. T. Grob

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis 3
1. Einleitung 5
2. Hintergrund und Stand der Forschung 7
2.1 Prostatabiopsietechniken 7
2.1.1 Sonographisch kontrollierte transrektale Prostatabiopsie 7
2.1.2 Perineale Prostatabiopsie 7
2.1.3 Digital kontrollierte transrektale Prostatabiopsie 7
2.2 Konservierungsmethoden 8
2.2.1 Formalinröhrchen 8
2.2.2 Histoschwammtechnik 9
2.2.3 Filterpapiertechnik 9
2.3 Umfrage 10
2.3.1 Ziel der Umfrage 10
2.3.2 Material und Methoden 10
2.3.3 Ergebnisse 11
2.3.4 Diskussion 15
3. Ziel der Untersuchung 18
3.1 Hintergrund 18
3.2 Ziel 19
4. Material und Methoden 20
4.1 Studiendesign 20
4.1.1 Studienpopulation 20
4.1.2 Biopsieprotokoll 21
4.1.3 Randomisierung 22
4.2 Vorgehen beim „pre-embedding“ 23
4.2.1 Technisches Vorgehen Formalinröhrchen 24
4.2.2 Technisches Vorgehen Histoschwamm 25
4.2.3 Technisches Vorgehen Filterpapier 26
4.3 Histopathologische Aufarbeitung 27
4.4 Oberflächenmessung 28
4.4.1 Kalibrierung 28
4.4.2 Technische Schwierigkeiten 29
4.5 Statistische Analyse 31

4.6 Zulassung der Ethikkommission 31
5. Ergebnisse 32
5.1 Patientencharakteristika 32
5.2 Deskriptive Statistik 33
5.3 Nicht – Unterlegenheitstest 35
6. Diskussion 36
7. Zusammenfassung 43
8. Anhang 44
8.1 Fragebogen 44
8.2 Schreiben Ethikkommission 45
8.3 Abbildungsverzeichnis 46
9. Literaturverzeichnis 48
10. Danksagung 53
11. Lebenslauf 54
12. Eidesstattliche Versicherung 55

1. Einleitung

Die transrektale, systematische, sonographiegesteuerte Prostatastanzbiopsie ist der Goldstandard zur histologischen Sicherung des Prostatakarzinoms (Chun et al. 2010). Neben weiteren Co-Faktoren (klinische Symptomatik, PSA-Wert, digital rektale Untersuchung, rektalsonographischer Befund, Ausbreitungsdiagnostik) ist das Biopsieergebnis entscheidend für die Festlegung der weiteren Vorgehensweise (Graefen und Schlomm 2013). Hier steht also nicht ausschließlich die Bestätigung der Verdachtsdiagnose Prostatakarzinom im Vordergrund, sondern es werden dem Urologen weitere Parameter zum individuellen Behandlungskonzept des Patienten erschlossen (Rubin et al. 2004, Amin et al. 2005). Daher wurden im Rahmen der kontinuierlichen Weiterentwicklung nicht nur Biopsietechniken, Biopsieanzahl, immunhistochemische Marker und weitere bildgebende Techniken untersucht, sondern auch Verfahren zur optimalen Konservierung von Prostatabiopsien. Bereits 1993 wurden Möglichkeiten für die Konservierung von Prostatabiopsaten direkt nach der Entnahme („pre-embedding“) erwähnt (Humphrey und Walther 1993), jedoch ohne weitere wissenschaftliche Analyse hinsichtlich möglicher Vorteile. In mehreren Arbeiten wurde gezeigt, dass „pre-embedding“ direkt nach der Entnahme und die dadurch bestimmte Materialausbeute für die weitere Diagnostik relevant ist (Galosi und Muzzonigro 2002, Rogatsch et al. 2000a, Shaw et al. 1996). Je mehr qualitativ hochwertiges Prostatabiopsiegewebe dem Pathologen zur Untersuchung vorliegt, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit, ein Prostatakarzinom zu entdecken (Oebek et al. 2012, Fiset et al. 2013, Iczkowski et al. 2002). Außerdem bietet eine optimale Materialmenge gute Voraussetzungen für weitere diagnostische Verfahren (zum Beispiel genetische Untersuchungen) (Fukabori et al. 2006). Obwohl ein standardisiertes Vorgehen die Materialausbeute verbessert (Bostwick et al. 2010), sind Biopsietechniken und Konservierungsmethoden bis dato kaum standardisiert (Varma et al. 2013). Dies liegt vermutlich zum Einen an unterschiedlichen technischen Voraussetzungen, zum Anderen an der eingeschränkten Evidenz hinsichtlich der Vorteile der einzelnen Methoden.

In dieser Arbeit sollen daher zunächst die gängigen Methoden zur Biopsatkonservierung in einer Umfrage durch den Pathologen beurteilt werden, in einem weiteren Schritt soll prospektiv randomisiert ein Vergleich hinsichtlich

der Materialausbeute der unterschiedlichen Verfahren, d.h. der real durch den Pathologen beurteilbaren Gewebemenge, erfolgen.

2. Hintergrund und Stand der Forschung

2.1 Prostatabiopsietechniken

Üblicherweise wird für die Prostatabiopsie eine 18 Gauge Tru-Cut Nadel in Kombination mit einer Front- oder Sidefire Führungshilfe und transrektaler Sonographiesonde verwendet (Cicione et al. 2012).

Zahlreiche technische Verbesserungen des normalen B-Mode-Ultraschalls (Power-Doppler, Elastographie, C-TRUS/ANNA, Histoscanning, Fusion mit MRT-Bildern etc.) können zusätzliche Hinweise auf tumorsuspekte Areale geben und so die Karzinomdetektionsrate verbessern (Walz et al. 2013).

2.1.1 Sonographisch kontrollierte transrektale Prostatabiopsie

Entsprechend der aktuellen S3 – Leitlinie werden unter rektalsonographischer Kontrolle nach einem Biopsieschema mindestens 10 Proben, jedoch nicht mehr als 18 Proben aus der peripheren Zone beider Prostatalappen entnommen. Palpatorisch oder sonographisch suspekte Areale sollten zusätzlich biopsiert werden (Heidenreich et al. 2011, Wirth et al. 2011).

2.1.2 Perineale Prostatabiopsie

Bei Vorliegen besonderer anatomischer Situationen (Z.n. Rektumaputation) ist eine transrektale Prostatabiopsie nicht möglich. Hier ist die sonographisch gesteuerte perineale Biopsie eine gute Alternative. Hinsichtlich Karzinomdetektionsrate und Komplikationsprofil finden sich keine signifikanten Unterschiede (Abdollah et al. 2011). Ebenfalls perineal erfolgt die MRT gesteuerte Prostatabiopsie.

2.1.3 Digital kontrollierte transrektale Prostatabiopsie

Die transrektale Biopsie der Prostata unter ausschließlich digitaler Führung ist mit zunehmender Verbreitung der transrektalen Ultraschallsonden in den Hintergrund getreten und entspricht nicht mehr den aktuellen Leitlinien (Wirth et al. 2011).

2.2 Konservierungsmethoden

In erster Linie sollten alle Konservierungsmethoden eine gute Fixierung und Konservierung des jeweiligen Gewebes ohne Zerstörung der Gewebestruktur gewährleisten. Durch entsprechende Beschriftung der verwendeten Gefäße muss eine genaue Zuordnung der einzelnen Biopsate zum Patienten und dem anatomischen Entnahmeort möglich sein (van der Kwast et al. 2003). Im Rahmen des Optimierungsprozesses sind mehrere Verfahren des „pre-embeddings" untersucht worden. Zunächst konnten durch „pre-embedding" per Papier Vorteile bei der planen Einbettung in den Paraffinblock erzielt werden (Shaw et al. 1996). ROGATSCH et al. (2000) wies mit seinem Verfahren eine verbesserte Biopsatform und Materialausbeute im Vergleich zur ursprünglichen Konservierung im formalingefüllten Reagenzröhrchen nach (Rogatsch et al. 2000a). WULLICH et al. (2007) konnte durch eine Modifikation eine weitere Verbesserung hinsichtlich Handhabung und Gewebequalität erreichen (Wullich et al. 2007). Daraus resultieren folgende am häufigsten angewandten „pre-embedding" Verfahren.

2.2.1 Formalinröhrchen

Formalin ist eine ca. 35 prozentige wässrige Formaldehydlösung mit Zusatz von Methanol. Gemäß WHO ist es kanzerogen und kann bei unsachgemäßer Anwendung zu Allergien, Haut-, Atemwegs- oder Augenreizungen führen (Cogliano et al. 2005). Für die Konservierung von Prostatabiopsaten werden sterile Plastikröhrchen verwendet, die mit einem Schraubverschluss versehen und mit 5-10 ml einer 4-8 prozentigen Formalinlösung gefüllt sind. Nach entsprechender Beschriftung (Patientendaten und Lokalisation der Biopsie), werden die entnommenen Prostatastanzzylinder durch Eintauchen der Biopsienadel in die betreffenden Röhrchen abgeschüttelt. So können alle erforderlichen Proben nacheinander entnommen und konserviert werden. Eine Kontrolle auf Vollständigkeit des Zylinders ist durch Betrachten des Röhrchens im Gegenlicht möglich. Für die Weiterverarbeitung muss der Stanzzylinder im Pathologielabor mit einer Pinzette in eine Histokassette gelegt werden.

2.2.2 Histoschwammtechnik

Zur Aufnahme der Biopsien dienen bei der Histoschwammtechnik spezielle grobporige Polyesterschaumstoffplättchen. Nach der Entnahme werden die Biopsien durch Abstreifen der Biopsienadel auf den Histoschwamm aufgetragen. Wahlweise können pro Histoschwamm eine oder mehrere Biopsien aufgetragen werden. Eine makroskopische Kontrolle des Stanzzylinders ist durch Inspektion der aufgetragenen Biopsiezylinder möglich. Nach Beendigung der Probenentnahme wird jeder Histoschwamm einzeln in eine Einbettungskassette gelegt. Um ein Verrutschen der Biopsate während des Transportes zu verhindern, werden die Proben vor dem Verschließen der Einbettungskassette mit einem zweiten Schwamm bedeckt. Anschließend werden die verschlossenen Histokassetten in ein mit Formalin gefülltes Transportgefäß gestellt (Rogatsch et al. 2000a).

2.2.3 Filterpapiertechnik

Analog zur Histoschwammtechnik werden die Biopsate bei der Filterpapiertechnik auf formalingetränkte Filterpapierchen abgestreift. Diese werden ebenfalls durch Auflegen eines zweiten Filterpapiers bzw. Knicken des Filterpapiers gegen Verrutschen gesichert und in entsprechende Histokassetten geordnet. Der Versand erfolgt ebenfalls in einem formalingefüllten Gefäß (Wullich et al. 2007).

2.3 Umfrage

2.3.1 Ziel der Umfrage

Zur Abbildung der momentan vorwiegend verwendeten „pre-embedding“ Methoden von Prostatabiopsaten in Deutschland wurde zunächst eine Fragebogenumfrage an allen Pathologischen Instituten deutscher Universitätskliniken sowie bei den Mitgliedern der DGP (Deutschen Gesellschaft für Pathologie) und mehreren Kliniken der Maximalversorgung durchgeführt. Es erfolgte in diesem Rahmen eine Bewertung der jeweiligen Methode bezüglich der Materialausbeute durch den Pathologen.

2.3.2 Material und Methoden

Ein eine Seite umfassender Fragebogen (s. Anhang 8.1) wurde entwickelt, in welchem nach einer kurzen Schilderung des Themas, sowohl die vom jeweiligen Institut angewandten Konservierungsmethoden (Versandmethoden) angegeben, als auch hinsichtlich der Materialausbeute bewertet werden konnten. Es bestand die Möglichkeit, die drei „gängigsten“ Konservierungsmethoden (Formalinröhrchen, Histoschwamm und Filterpapier) auszuwählen sowie mögliche Sonderverfahren unter „Sonstiges“ anzugeben. Mehrfachnennungen waren möglich. Bewertet werden konnten alle Verfahren auf einer Notenskala von 1 (sehr gut) bis 5 (schlecht) bzw. ohne Angabe einer Note bei fehlender Erfahrung. Der Fragebogen wurde im Juli 2008 an die Institute für Pathologie auf dem Postweg und an die Mitglieder der Deutschen Gesellschaft für Pathologie per E-Mail über deren Sekretariat versandt. Eine Rückantwort konnte entweder per Fax, auf dem Postweg oder (bei den Mitgliedern der DGP) per e-mail erfolgen.

2.3.3 Ergebnisse

Von den insgesamt 35 per Post versandten Fragebögen wurden 23 per Fax beantwortet zurückgesandt (66%). Weitere Rückmeldungen erfolgten nicht. Die Auswertung der Fragebögen zeigte, dass die Konservierung von Prostatabiopsaten in formalingefüllten Röhrchen die am häufigsten verwendete Methode in den teilnehmenden Instituten für Pathologie war (Abbildung 1). 96% verwenden diese Methode zur Konservierung der Stanzzylinder nach Biopsie der Prostata. Mit 57% folgt die Konservierung auf Histoschwämmchen auf Platz 2, an dritter Stelle steht mit 43% die Konservierung mittels Filterpapier. Eine Konservierung mittels anderer Verfahren wurde durch die rücksendenden Institute nicht vermerkt.

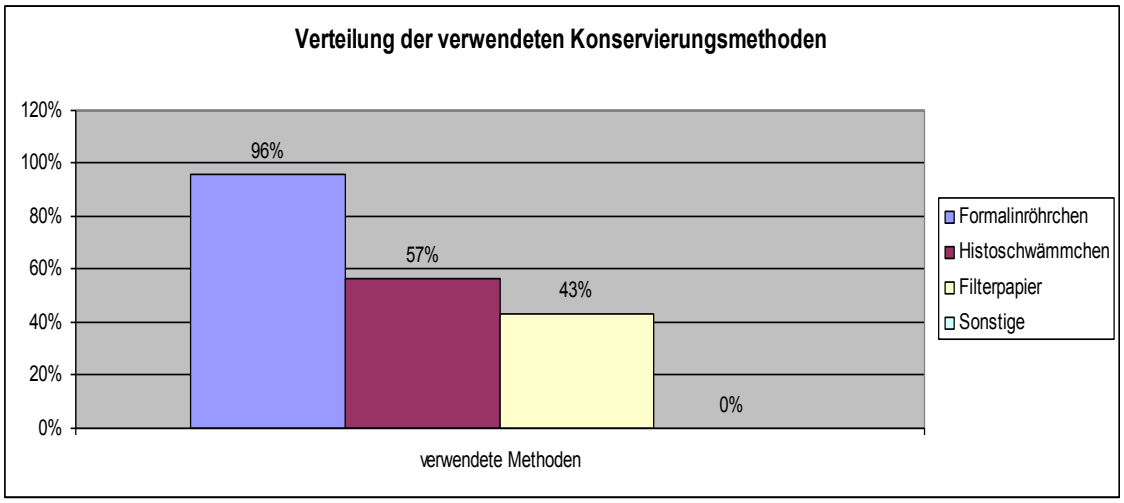


Abbildung 1: Verteilung der verwendeten „pre-embedding“ Methoden

39% der Institute verwenden alle drei genannten Methoden parallel, wobei anhand des Fragebogens nicht nachzuvollziehen ist, bei welcher Indikation diese oder jene Methode verwendet wird.

Ansonsten ist die parallele Verwendung von Formalinröhrchen und Histoschwämmen mit 57% die häufigste. Es folgt mit 39% die ausschließliche Verwendung von Formalinröhrchen. Lediglich ein Institut (4%) verwendet ausschließlich Filterpapier. Die Kombinationen nur Histoschwamm und Filterpapier, nur Formalinröhrchen und Filterpapier sowie die ausschließliche Verwendung von Histoschwämmen kommen nicht vor (Abbildung 2).

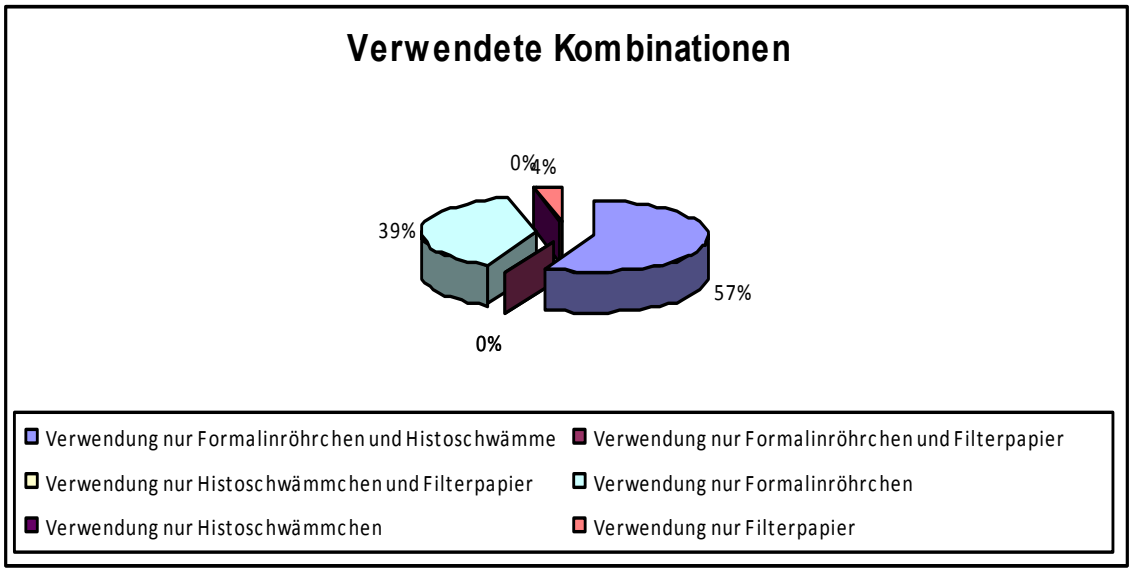


Abbildung 2: Verwendete Kombinationen von „pre-embedding“ Verfahren

In der Bewertung der Materialausbeute (Abbildung 3) zeigten sich die Formalinröhrchen mit dem höchsten Anteil an Note 1 (30%) und Note 2 (44%). Hierbei ist zu beachten, dass bei allen Instituten die meiste Erfahrung mit dieser Methode vorliegt.

Lediglich eines der befragten Institute (4%) gab an, keine Erfahrung mit der Verwendung von Formalinröhrchen zu haben.

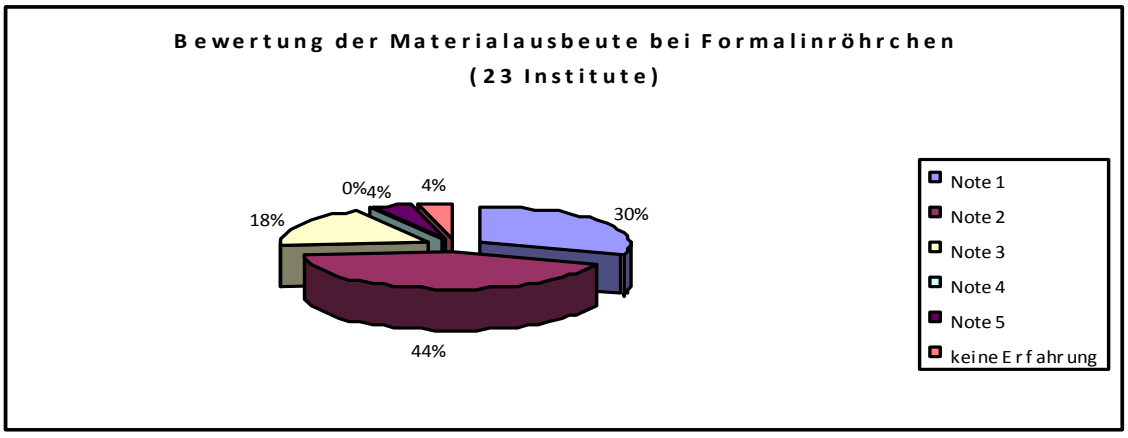


Abbildung 3: Bewertung der Materialsausbeute bei „pre-embedding“ in Formalinröhrchen

Die Konservierung mittels Histoschwämmen zeigte den zweithöchsten Anteil an Note 1 (26%) und Note 2 (13%), wobei lediglich 56% (13 Institute) Erfahrung mit der Verwendung von Histoschwämmen angaben (Abbildung 4).

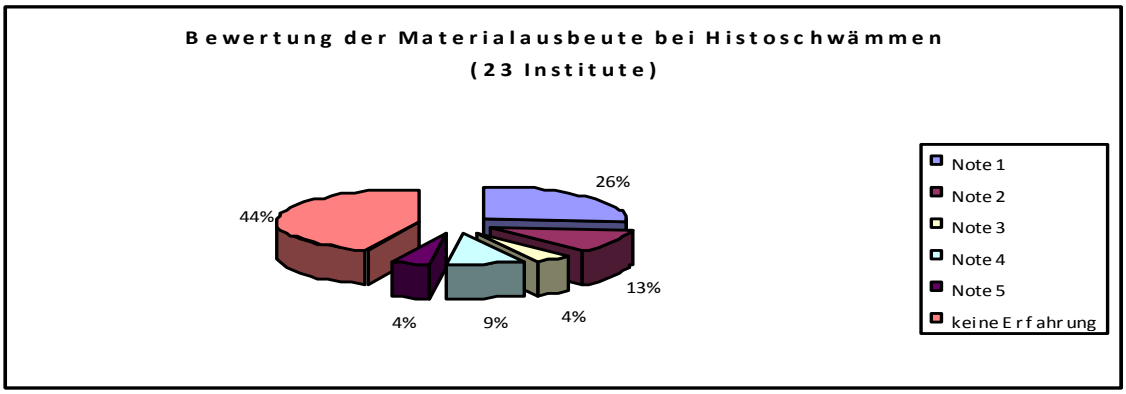


Abbildung 4: Bewertung der Materialausbeute bei „pre-embedding“ auf Histoschwämmen alle Institute

Betrachtet man ausschließlich die Gruppe der Institute, welche Erfahrung mit Histoschwämmen hat (13 Institute), so liegt der Anteil der Note 1 bei 46% und Note 2 bei 23% (Abbildung 5).

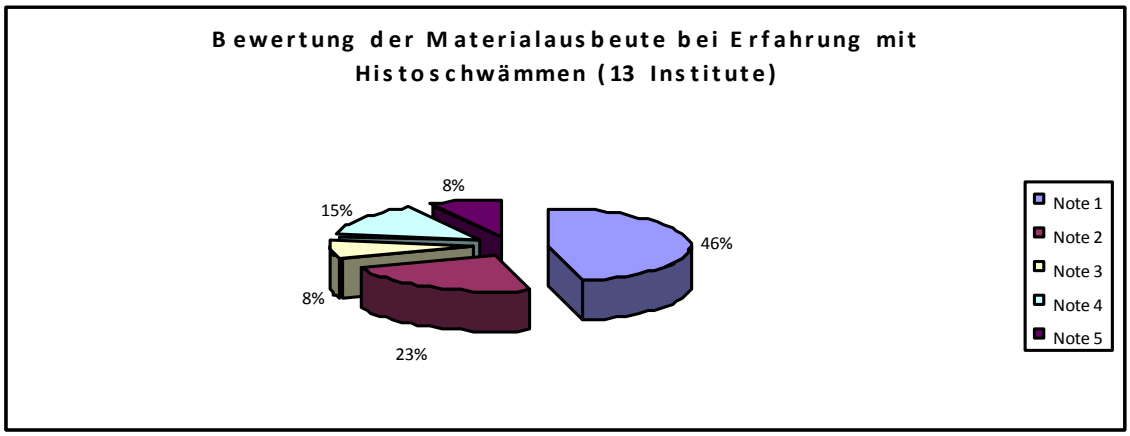


Abbildung 5: Bewertung der Materialausbeute mit „pre-embedding“ auf Histoschwämmen Institute mit Erfahrung in dieser Methode

Die Materialausbeute bei der Konservierung mittels Filterpapier wurde lediglich von 9% aller befragten Institute mit der Note 1 und 17% mit der Note 2 bewertet (Abbildung 6). Insgesamt liegt hier aber auch die wenigste Erfahrung/Verwendung vor. Lediglich 48% der befragten Institute verwenden diese Methode.

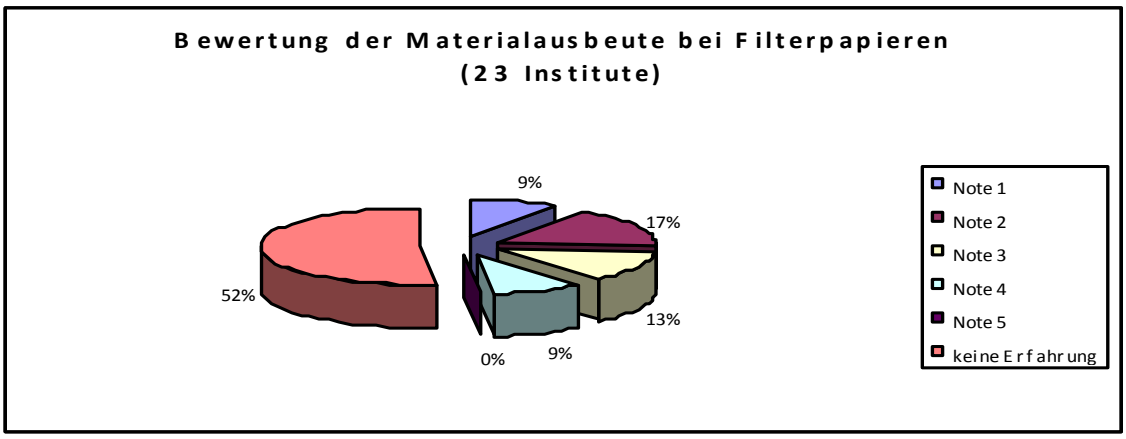


Abbildung 6: Bewertung der Materialausbeute bei „pre-embedding“ auf Filterpapier alle Institute

Betrachtet man auch hier ausschließlich die Gruppe der Institute, welche Erfahrung mit der Methode hat (11 Institute), so wird die Note 1 von 18% und die Note 2 von 37% der Institute vergeben (Abbildung 7).

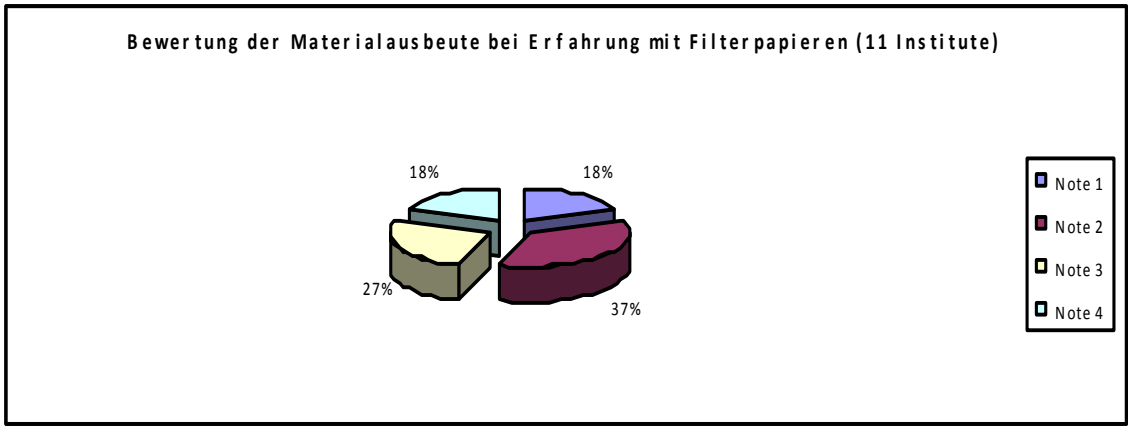


Abbildung 7: Bewertung der Materialausbeute mit „pre-embedding“ auf Filterpapier Institute mit Erfahrung in dieser Methode

2.3.4 Diskussion

Neben der Entnahmetechnik und Anzahl der Biopsate, kann die unmittelbare Konservierung („pre-embedding“) nach der Biopsie und die Untersuchung durch den Pathologen entscheidend für die Entdeckung eines Prostatakarzinoms sein (Rogatsch et al. 2000b). Je mehr Untersuchungsmaterial für den Pathologen zur Verfügung steht, desto höher ist die Karzinomdetektionsrate (Oebek et al. 2012).
Um die Effizienz einer Konservierungsmethode zu beurteilen, ist also eine möglichst große, qualitativ hochwertige Materialausbeute erforderlich.
Zur Optimierung der Prostatabiopsie sind zahlreiche Studien zur Biopsietechnik und Biopsieanzahl durchgeführt worden (Chun et al. 2010). Hinsichtlich der Biopsatqualität für die histopathologische Untersuchung herrscht bei den meisten Urologen Unklarheit, da diese nur durch den untersuchenden Pathologen zu bewerten ist. Die oben genannten Ergebnisse geben Auskunft über die Anwendungshäufigkeit und die subjektive Bewertung der teilnehmenden Pathologen.
Analog zu den europaweit erhobenen Daten von VARMA et al. (2013) zeigte sich, dass „pre-embedding“ in mit Formalin gefüllten Reagenzröhrchen (Formalinröhrchen) die häufigste Anwendung findet. 96% der befragten Institute verwenden diese Konservierungsmethode, 39% der Institute verwenden ausschließlich Formalinröhrchen zur Konservierung (Abbildung 1 und Abbildung 2). Die Bewertung der Materialausbeute als Parameter für die Effizienz der Methode ist ebenfalls gut (30% bewerten sie mit Note 1, 44% mit Note 2).
Obwohl die Bewertung zum großen Teil mit Note 2 oder besser erfolgt, bestehen aus der klinischen Erfahrung auch Nachteile. So kann es zum Beispiel bei frei schwebender Lagerung der Biopsate in Formalin zu einem Schrumpfen des Präparates kommen (Schned et al. 1996), welches zu einer Gewebereduktion führt. Ebenso kann eine genaue Lokalisierung des Stanzzylinders in der Prostata (rektale Seite vs. zentrale Seite) nicht nachvollzogen werden. Durch eine suboptimale optische Kontrolle auf Vollständigkeit des Biopsates im Formalinröhrchen sowie durch mehrfaches „Umlagern“ der Biopsate in unterschiedliche Kassetten im Rahmen des Einbettungsprozesses ist das Risiko einer Fragmentierung erhöht. Hierdurch wird eine plane Paraffineinbettung erschwert. Dies kann zu Ungenauigkeiten bei der Befundung der Präparate führen (Fajardo und Epstein 2010).

Histoschwämme werden von 57% der befragten Institute zum „pre-embedding“ verwendet. 43% der Institute gaben keine Bewertung wegen fehlender Erfahrung mit der Methode an. Von den 57% der Institute, welche diese Konservierungsmethode benutzen, wurde sie bezüglich der Materialausbeute am besten bewertet (Note 1 - 46%, Note 2 - 23%). Interessant ist, dass dennoch keines der teilnehmenden Institute die Probenkonservierung ausschließlich auf Histoschwämmen durchführt (Abbildung 2). Eine mögliche Erklärung sind der erhöhte Zeitaufwand und die erhöhten Materialkosten, die durch die Vielzahl von Schwämmen und Kassetten erforderlich sind. LANIADO et al. (2003) konnte hier durch Verwendung einer Multikompartmentkassette Zeitersparnisse bis zu 79% und Kostenersparnisse bis 83% nachweisen (Laniado et al. 2003). Ein weiterer Faktor ist die Entstehung von Artefakten bei der Konservierung auf Histoschwämmen. FARELL et al. (1992) und KEPES und OSWALD (1991) konnten zeigen, dass bei Nieren- und Leberbiopsien sowie Thalamusgewebe die Beurteilungsmöglichkeit durch diese Artefakte beeinträchtigt wird (Farrell et al. 1992, Kepes und Oswald 1991). Ob dies auf Prostatabiopsate ebenfalls zutrifft, wurde bis dato nicht untersucht.

Trotz offizieller Empfehlungen (Wullich et al. 2007) ist die Konservierung auf Filterpapier mit 43% die bei den befragten Instituten am seltensten angewandte Methode. Auch hier ist auffällig, dass lediglich ein Institut ausschließlich Filterpapier zur Konservierung verwendet (Abbildung 2). In allen anderen Instituten werden die Proben auch in Formalinröhrchen konserviert. Die Bewertung der Materialausbeute in der Gruppe der Anwender ist schlechter (Note 1 - 18%, Note 2 - 37%) als bei den beiden anderen Methoden (Abbildung 7). Mögliche Ursachen hierfür könnten aus unserer klinischen Erfahrung darin liegen, dass die Biopsate beim Abstreifen auf das Filterpapier gequetscht werden. Dies kann es erschweren, das Gewebe adäquat zu fixieren und zu schneiden.

Trotz ihrer Schwächen ist die Konservierung von Prostatabiopsaten in formalingefüllten Röhrchen am weitesten verbreitet. Nur ca. ein Drittel der befragten Institute bewertet die Materialausbeute dieser Methode mit der Bestnote. Dies ist angesichts der Konsequenzen, welche aus den Ergebnissen des histopathologischen Befundes gezogen werden, relativ wenig. Des Weiteren ist allen hier genannten Verfahren die Verwendung mehr oder weniger

großer Mengen an Formalin gemein. Dies bedeutet sowohl für den Urologen, als auch für den Pathologen/MTA eine Exposition mit einer toxischen, kanzerogenen Substanz. Es scheint zur Zeit kein adäquates Verfahren zur Konservierung von Prostatabiopsien zu existieren, welches ohne Formalin auskommt. Das deckt sich auch mit den europaweiten Ergebnissen von VARMA et al. (Varma et al. 2013).

Das Ergebnis einer Prostatastanzbiopsie dient wie Eingangs bereits erwähnt heutzutage nicht mehr nur der Diagnosesicherung, sondern ist mitentscheidend für die Festlegung der weiteren Therapiealternative. Diese kann von „active surveillance“ und „watchful waiting“ über operative und strahlentherapeutische Maßnahmen bis hin zu chemotherapeutischen und anderen systemischen Behandlungsansätzen reichen. Da es sich bei der durchgeführten Umfrage um eine rein subjektive Einschätzung der jeweiligen Pathologen handelt, ist eine weiterführende Untersuchung zur Objektivierung der Umfrageergebnisse erforderlich. Die weite Verbreitung der Formalinröhrchenmethode (Varma et al. 2013) lässt die in der Literatur empfohlene Verwendung der anderen Konservierungsmethoden (Rogatsch et al. 2000a, Wullich et al. 2007) prüfenswert erscheinen. Daher soll die Effektivität der verbesserten „pre – embedding“ Verfahren durch die folgende prospektive, randomisierte Studie untersucht werden.

3. Ziel der Untersuchung

3.1 Hintergrund

Mehrere Publikationen beschreiben optimierte „pre-embedding“ Verfahren für Prostatabiopsate. Auf Grund der gestreckten und planen Lage der Biopsiezylinder konnte eine Verbesserung des histopathologisch untersuchten Materials nachgewiesen werden (Rogatsch et al. 2000a, van der Kwast et al. 2003). Entsprechende Verfahren sind daher sowohl in den europäischen als auch in den deutschen urologischen Leitlinien empfohlen (Heidenreich et al. 2011, Wirth et al. 2011). Die von uns durchgeführte Umfrage zeichnet jedoch ein anderes Bild der täglichen Praxis.

Durch die Anwendung eines „pre-embedding“ Verfahrens sollen die Gewebeverluste im Rahmen des histopathologischen Verarbeitungsprozesses minimiert werden. Mehrere Faktoren (z.B. Zahl der pro Paraffinblock eingebetteten Biopsate (Bostwick und Kahane 2013), Anzahl der pro Block angefertigten Schnitte (Lane et al. 1998) etc.) können dazu führen, dass ein nicht unerheblicher Teil des initial gewonnen Prostatagewebes nicht durch den Pathologen beurteilt werden kann. Daher wählen wir die Materialausbeute, d. h. die letztendlich durch den Pathologen mikroskopisch beurteilbare Gewebemenge, als Grundlage unserer Untersuchung.

Mehrere Studien konnten zeigen, dass die Biopsatlänge ein entscheidender Parameter hinsichtlich Qualität und Karzinomerkennungsrate ist (Iczkowski et al. 2002, Ficarra et al. 2006, Fiset et al. 2013). Ebenso wie bei ROGATSCH et al. (Rogatsch et al. 2000b), MINARDI et al. (Minardi et al. 2002) und GALOSI et al. (Galosi et al. 2001) wurde bei diesen Untersuchungen jedoch eine makroskopische Messung der Biopsate vorgenommen. Aus unserer Sicht ist die Verwendung der makroskopisch gemessenen Biopsatlängen kritisch zu sehen, da sie sämtliche Veränderungen, welche durch den histopathologischen Verarbeitungsprozess entstehen können, vernachlässigt. Hier besteht jedoch die Gefahr der Fragmentierungen und des Materialverlustes. Ebenso besteht die Möglichkeit das Biopsat beim Aufbringen auf das Konservierungsmedium künstlich zu strecken und so die Materialausbeute zu steigern. Diese Faktoren können maßgeblichen Einfluss auf die Qualität des endgültig befundbaren Materials haben. KAO et al. (2002) konnte z.B. zeigen, dass durch eine

geringfügige Änderung des Schnittwinkels von 10° beim Schneiden mit dem Mikrotom bis zu 70% des Gewebes verloren gehen können (Kao et al. 2002). Auch BOSTWICK und MEIERS (2006) und VAN DER KWAST et al. (2013) erwähnen die Bedeutung der medizinisch technischen Laborassistenten beim Anfertigen optimaler Präparate (Bostwick und Meiers 2006, van der Kwast et al. 2013). FAJARDO et al. (2010) beschreibt den Einfluss der Fragmentierung (Fajardo et al. 2010).

Aus diesen Gründen entschieden wir uns für die mikroskopische Messung der Oberfläche am endgültigen histologischen Präparat.

3.2 Ziel

Zur Objektivierung der Umfrageergebnisse soll die Materialausbeute der einzelnen Konservierungsmethoden miteinander verglichen werden. Dies soll durch die mikroskopische Oberflächenmessung der endgültigen histologischen Präparate erfolgen. Es wird die Nicht-Unterlegenheit der Materialausbeute bei „pre-embedding“ im Formalinröhrchen gegenüber „pre-embedding“ auf Filterpapier und „pre-embedding“ auf Histoschwamm getestet.

4. Material und Methoden

4.1 Studiendesign

In einer prospektiven, randomisierten Datenerhebung wurde die Materialausbeute des „pre-embedding“ im Formalinröhrchen mit der Materialausbeute des „pre–embedding“ auf Histoschwamm und Filterpapier verglichen. Zur Fallzahlplanung und zur Schulung der jeweiligen „pre-embedding“ Verfahren führten wir zunächst eine Pilotstudie mit 12 Patienten durch. Nach der im Rahmen der Pilotstudie durchgeführten Fallzahlberechnung waren für eine Power von 90% 57 Patienten in die Studie einzuschließen. Es wurden 60 Patienten eingeschlossen.

4.1.1 Studienpopulation

Untersucht wurden die Prostatabiopsate von 60 Männern, welche wegen eines Prostatakarzinomverdachtes (erhöhter PSA-Wert, suspekter Ultraschall- und/oder Tastbefund) einer transrektalen, sonographiegesteuerten 12-fach-Prostatabiopsie unterzogen wurden. Tabelle 1 zeigt die näheren Charakteristika der Stichprobenpopulation.

Die Biopsien wurden alle ambulant in der Klinik für Urologie und Uroonkologie des Städtischen Klinikums Braunschweig im Zeitraum November 2010 bis Juli 2011 von zwei Untersuchern durchgeführt.

4.1.2 Biopsieprotokoll

Alle Biopsien wurden in Linksseitenlage mit einer kombinierten Lokalanästhesie ambulant durchgeführt. Zunächst erfolgte die rektale Applikation von 11 ml Instillagel® (Lidocainhydrochlorid, Chlorhexidindigluconat), welches im Rahmen der digital rektalen Untersuchung ins Gewebe einmassiert wurde. Anschließend wurden je 5 ml Carbostesin® 0,5 % (Bupivacainhydrochlorid) als peripherer Nervenblock unter sonographischer Kontrolle in den Samenblasenwinkel appliziert (Raber et al. 2008). Nach entsprechender Einwirkzeit erfolgte die 12-fach-Probenentnahme mit einer Bard® Magnum® Biopsiepistole MG 1522 und Bard®-Magnum®-MN1820-Nadel unter rektalsonographischer Kontrolle (Hitachi Preirus Hi Vision mit TRUS-Schallkopf Hitachi 8-4 7,5 MHz) nach einem standardisierten Schema. Mittels „*endfire Führungshilfe*“ wurden pro Seite sechs Proben entnommen. Beginnend rechtsseitig basal peripher (1), dann mittig peripher (2) und apikal peripher (3), Fortsetzung auf der linken Seite basal peripher (4), mittig peripher (5) und apikal peripher (6). Nun Wiederholung der Serie weiter medial: basal medial rechts (7), mittig (8), apikal (9) und basal medial links (10), mittig (11), apikal (12) (Abbildung 8). Die Lokalisationen sind auf dem zugehörigen Untersuchungsprotokoll zusätzlich zu weiteren klinischen Daten vermerkt (Abbildung 9).

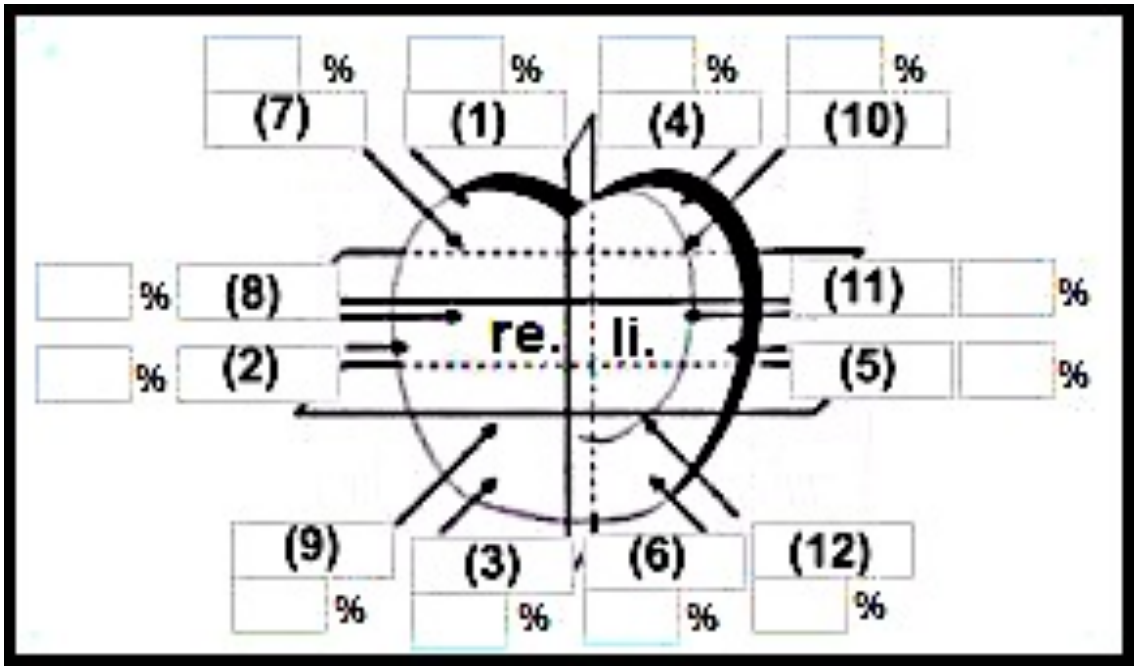
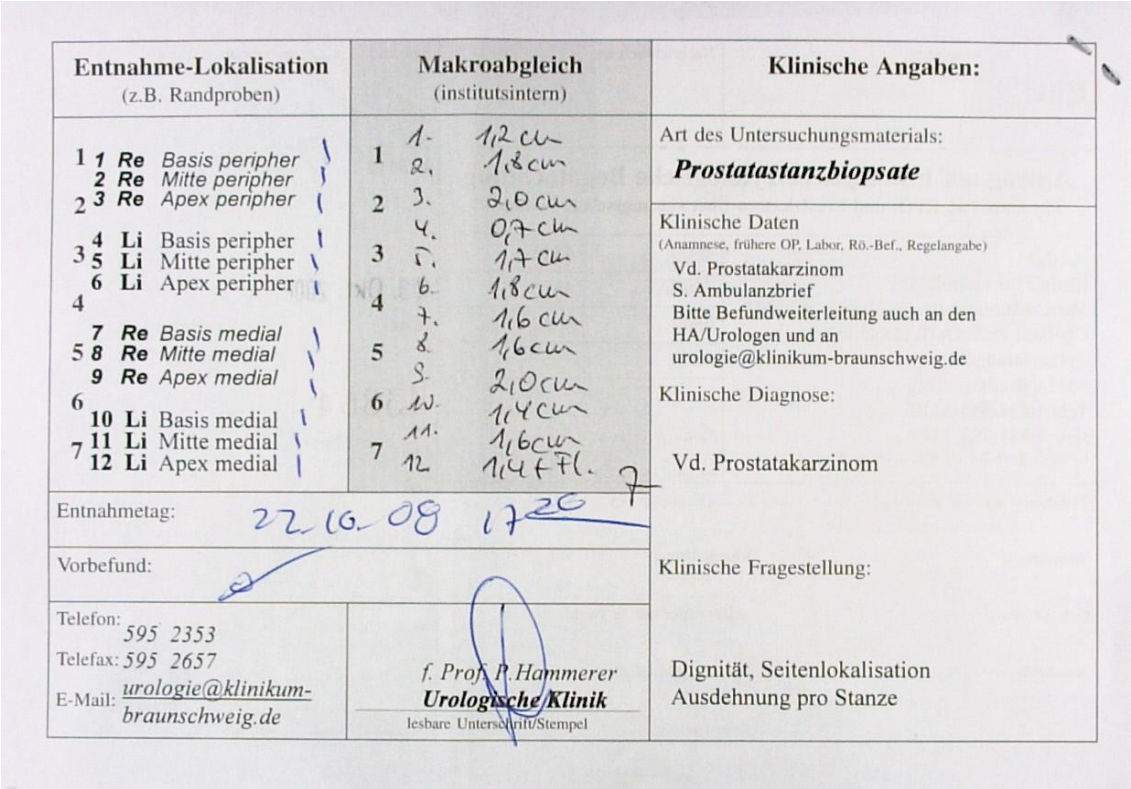


Abbildung 8: Biopsieschema



Entnahme-Lokalisation (z.B. Randproben)	Makroabgleich (institutsintern)	Klinische Angaben:
1 1 Re Basis peripher 2 Re Mitte peripher 2 3 Re Apex peripher 3 4 Li Basis peripher 5 Li Mitte peripher 6 Li Apex peripher 4 5 7 Re Basis medial 8 Re Mitte medial 9 Re Apex medial 6 10 Li Basis medial 7 11 Li Mitte medial 12 Li Apex medial	1 1. 1,2 cm 2. 1,8 cm 2 3. 2,0 cm 4. 0,7 cm 3 5. 1,7 cm 6. 1,8 cm 4 7. 1,6 cm 5 8. 1,6 cm 9. 2,0 cm 6 10. 1,4 cm 11. 1,6 cm 7 12. 1,4 Fl.	Art des Untersuchungsmaterials: ***Prostatastanzbiopsate*** Klinische Daten (Anamnese, frühere OP, Labor, Rö.-Bef., Regelangabe) Vd. Prostatakarzinom S. Ambulanzbrief Bitte Befundweiterleitung auch an den HA/Urologen und an urologie@klinikum-braunschweig.de Klinische Diagnose: Vd. Prostatakarzinom
Entnahmetag: 22.10.08 17:20		
Vorbefund:		Klinische Fragestellung:
Telefon: 595 2353 Telefax: 595 2657 E-Mail: urologie@klinikum-braunschweig.de	f. Prof. P. Hammerer **Urologische Klinik** lesbare Unterschrift/Stempel	Dignität, Seitenlokalisation Ausdehnung pro Stanze

Abbildung 9: Untersuchungsprotokoll

4.1.3 Randomisierung

Um eine patientenabhängige Verfälschung der Untersuchungsergebnisse zu vermeiden, wurden bei jedem Patienten alle drei „pre–embedding“ Verfahren angewendet. Durch den Randomisierungsdienst des Institutes für Biometrie der Medizinischen Hochschule Hannover wurden per Umschlagrandomisierung drei der zwölf möglichen Biopsielokalisationen ausgewählt und dem jeweiligen pre-embedding Verfahren (Histoschwamm, Filterpapier, Formalinröhrchen) zugeordnet. Die restlichen neun Biopsien wurden aus Qualitätssicherungsgründen im klinikintern etablierten Formalinröhrchen konserviert.

4.2 Vorgehen beim „pre-embedding“

Vor Beginn der Biopsie wurden alle drei „pre-embedding“ Verfahren vorbereitet. Es standen pro Patient je ein Histoschwamm, ein Filterpapier und zehn Formalinröhrchen zur Verfügung. Nach Applikation der Lokalanästhesie und entsprechender Einwirkzeit wurde unmittelbar vor Beginn der Biopsie der Randomisierungsumschlag geöffnet. Hierdurch erfolgte die Zuordnung der in die Studie einbezogenen Biopsienummern zum jeweiligen „pre-embedding“ Verfahren (z.B. Biopsie Nr. 2 Histoschwamm, Biopsie Nr. 7 Filterpapier, Biopsie Nr. 11 Formalinröhrchen). Die restlichen Biopsien (z.B. 1,3,4,5,6,8,9,10,12) wurden in Formalinröhrchen konserviert.

4.2.1 Technisches Vorgehen Formalinröhrchen

Direkt nach Entnahme der Biopsie erfolgte der Abwurf des Biopsiezylinders durch Eintauchen der geöffneten Biopsienadel in das mit Formalin gefüllte Röhrchen. Falls nicht bereits spontan erfolgt, fand die Lösung des Biopsates aus der Nadel durch eine leichte Rütttelbewegung der ins Röhrchen eingetauchten Biopsienadel statt. Eine Erfolgssicherung fand durch optische Kontrolle des im Röhrchen befindlichen Stanzzylinders statt. Im Anschluss erfolgte die Beschriftung (Patientendaten und Biopsielokalisation). Es wurde nur ein Biopsat pro Röhrchen konserviert
(Abbildung 10).

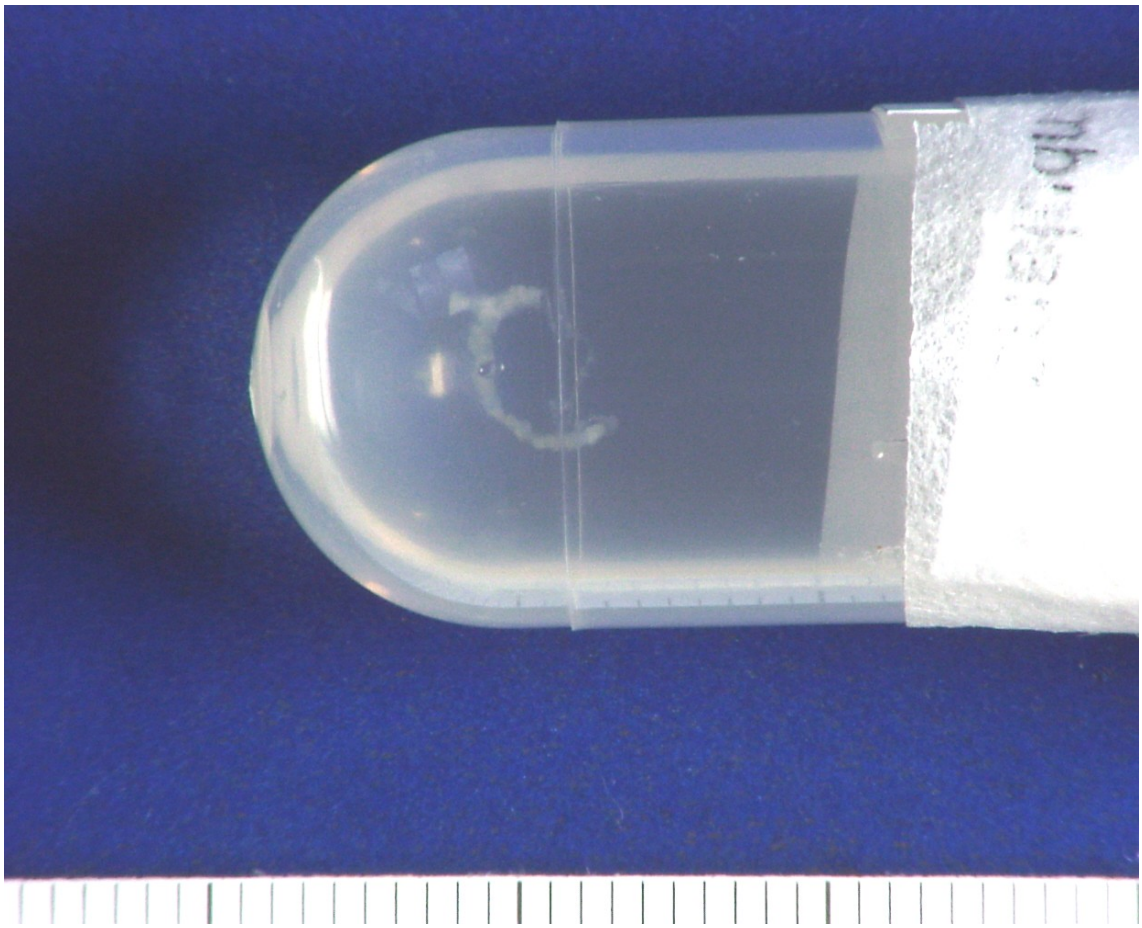


Abbildung 10: „pre-embedding“ im Formalinröhrchen

4.2.2 Technisches Vorgehen Histoschwamm

Entsprechend der sog. „Sandwich“ Technik (Rogatsch et al. 2000a, Minardi et al. 2002) erfolgte direkt nach Entnahme der Biopsie das Abrollen der geöffneten Biopsienadel auf einem mit Formalin benetzten Histologieschwamm (Fa. BioOptica®) und so das Abstreichen des Biopsiezylinders. Weitere Schritte waren die optische Kontrolle auf Vollständigkeit des Biopsiezylinders und gestreckte Lage, Sicherung mit einem zweiten Histoschwamm (Fa. BioOptica®), im Folgenden Einbringen des Histoschwammes in eine Konservierungskassette (Fa. BioOptica®), Verschluss derselben und Verbringen in ein mit Formalin gefülltes Plastikgefäß, so dass Konservierungskassette inklusive Präparat komplett mit Formalin bedeckt waren. Im Anschluss erfolgte die Beschriftung (Patientendaten und Biopsielokalisation). Es wurde nur ein Biopsat pro Kassette konserviert (Abbildung 11).

Abbildung 11: „pre-embedding“ auf Histoschwamm

4.2.3 Technisches Vorgehen Filterpapier

Entsprechend dem von WULLICH et al. (Wullich et al. 2007) empfohlenen Verfahren erfolgte direkt nach der Entnahme der Biopsie das Abrollen der geöffneten Biopsienadel auf einem mit Formalin benetzten Filterpapier (Fa. Sartorius®) und so das Abstreichen des Biopsiezylinders. Analog zum Vorgehen beim Histoschwamm erfolgte die optische Kontrolle auf Vollständigkeit des Biopsizylinders und gestreckte Lage, Sicherung mit einem zweiten Filterpapier, im Folgenden Einbringen des Filterpapiers in eine Konservierungsskasette (Fa. BioOptica®), Verschluss derselben und Verbringen in ein mit Formalin gefülltes Plastikgefäß, so dass Konservierungskassette inklusive Präparat komplett mit Formalin bedeckt waren. Im Anschluss erfolgte die Beschriftung (Patientendaten und Biopsielokalisation). Es wurde nur ein Biopsat pro Kassette konserviert (Abbildung 12).

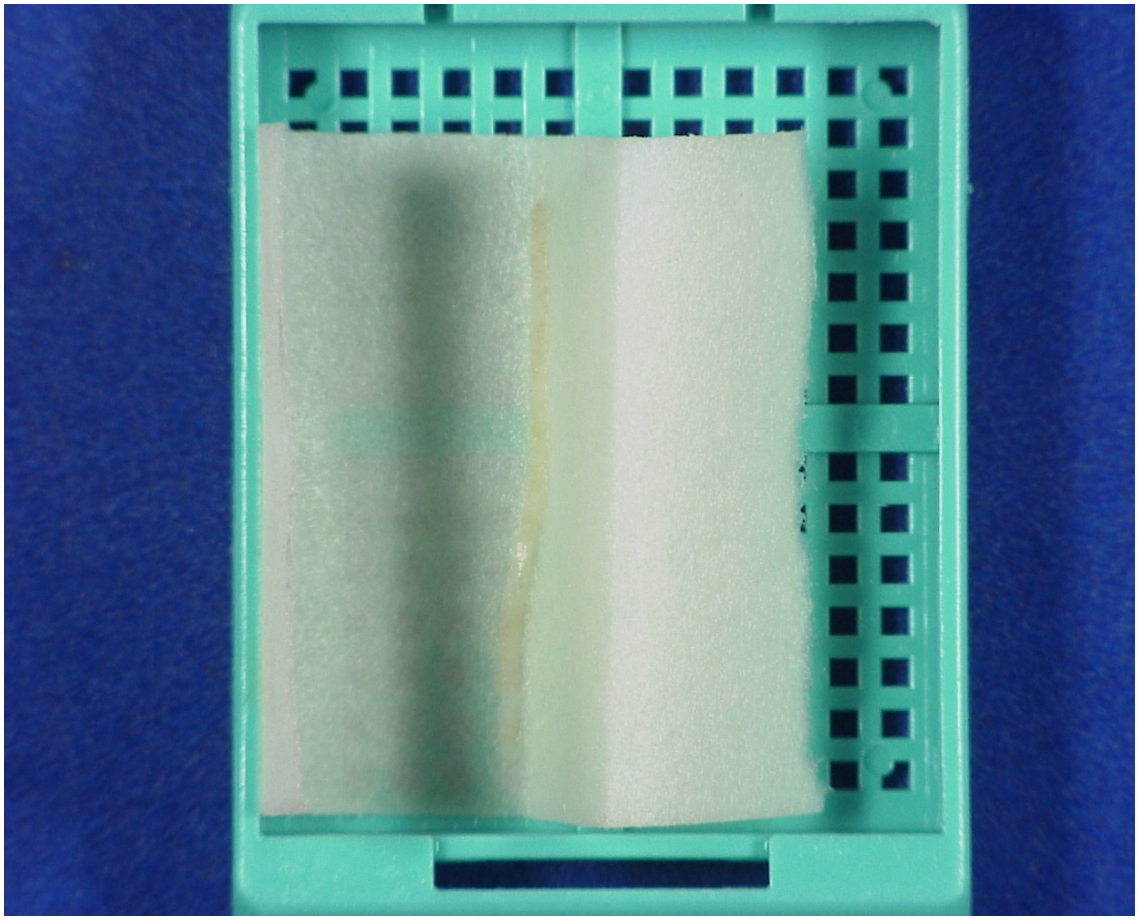


Abbildung 12: „pre-embedding“ auf Filterpapier

4.3 Histopathologische Aufarbeitung

Die histopathologische Aufarbeitung erfolgte gemäß institutsinternem Standard durch die MTA. Nach makroskopischer Messung der Biopsate (Abbildung 9) wird zunächst eine Hämalaun Färbung zur besseren Identifikation durchgeführt. Im Folgenden werden die Biopsate in Präparatkassetten verbracht und entwässert (Tissue Tek VIP, Fa. Sakura). Nach Abschluss der Entwässerung wird jedes Biopsat einzeln in einen Paraffinblock gegossen. Eine plane Lage des Biopsates wird durch Ausrichtung und Andrücken mit einer heißen Pinzette im warmen Paraffin erreicht. Ein Stempel wie von VAN DER KWAST et al. (van der Kwast et al. 2013) beschrieben wird nicht verwendet. Mit einem Leica Microm HM 430 Mikrotom werden routinemäßig fünf Stufen pro Block geschnitten (3x HE, 2x Immunhistochemie). Zur optimalen Abbildung der tieferen Schichten erfolgen die Schnitte im Wechsel. Nach Aufbringen auf Objektträger und Entparaffinierung erfolgt die Färbung der HE-Schnitte mit dem Färbeautomaten (Tissue Stainer TST 44, Fa. MEDITE).

4.4 Oberflächenmessung

Nach abgeschlossener histopathologischer Aufarbeitung und Beurteilung durch unser Institut für Pathologie wurden die studienrelevanten Patienten anhand der Histologienummer identifizert. Die Identifikation der entsprechenden Objektträger fand durch die im Rahmen der histopathologischen Aufarbeitung durchgeführte Objektträgernummerierung statt. Für die Oberflächenmessung wurden die entsprechenden Objektträger der „Heidelberger Mappe“ entnommen. Bei standardmäßiger Anfertigung von drei Schnitten pro Biopsat wurde jeweils der zweite Schnitt untersucht. Zur Ermittlung der Materialausbeute erfolgte die Oberflächenmessung der endgültigen Präparate mit dem Zeiss Axioskop 2 mit Diskus System ver. 4.60.2034. Es erfolge die Photodokumentation und digitale Archivierung der Messungen.

4.4.1 Kalibrierung

Vor jeder Messung erfolgte die Kalibrierung des Systems per Maßstab (Abbildung 13).

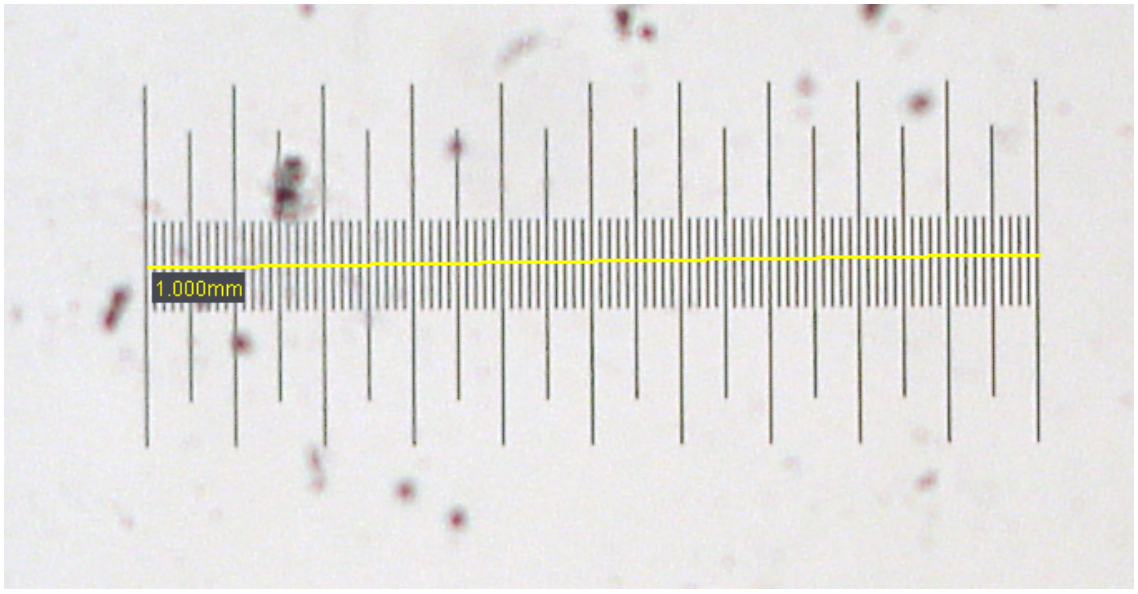


Abbildung 13: Eichmassstab Diskus System ver. 4.60.2034.

4.4.2 Technische Schwierigkeiten

Die Oberflächenmessung wurde beim mittleren der drei angefertigten Schnitte durchgeführt. Zur möglichst genauen Messung wurde eine 25 - fache Vergrößerung verwendet. Da eine exakte Messung des Präparates nicht in einem Sichtfenster möglich war, erfolgte die Einteilung mittels Histolineal und grünem Filzstift (Abbildung 14). Die Messung erfolgte jeweils bis zur grünen Markierung am linken Rand des Gesichtsfeldes (Abbildung 15). Die Oberfläche der einzelnen Teile wurde durch die Oberflächenmessfunktion des Diskus System ver. 4.60.2034 ermittelt. Hierzu ist ein mausgesteuertes Umfahren der zu messenden Struktur erforderlich (schwarze Linie). Die Ermittlung der Oberfläche erfolgte dann durch das System in mm^2. Die 180 Biopsate wurden in insgesamt 814 Einzelbildern vermessen. Zur Ermittlung der Gesamtoberfläche des Biopsates wurden die gemessenen Einzeloberflächen summiert. Es wurde die komplette Oberfläche des mikroskopisch beurteilbaren Gewebes gemessen. Bei fragmentiertem Biopsiezylinder wurden die einzelnen Fragmente getrennt vermessen und die Einzelmessungen summiert um die Gesamtoberfläche zu erhalten.

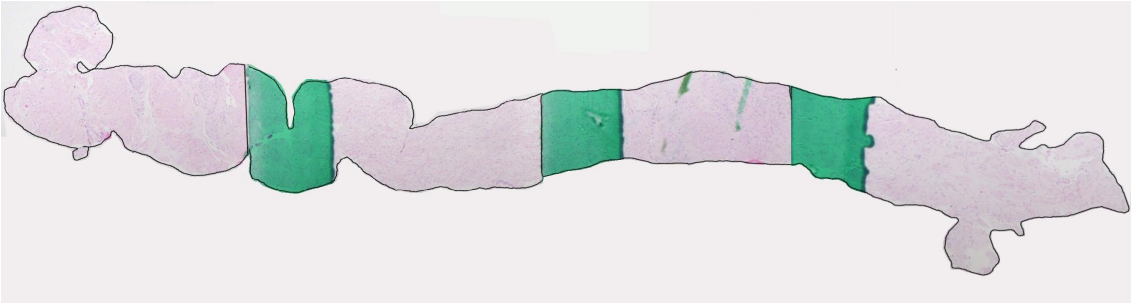


Abbildung 14 Oberflächenmessung Biopsat komplett

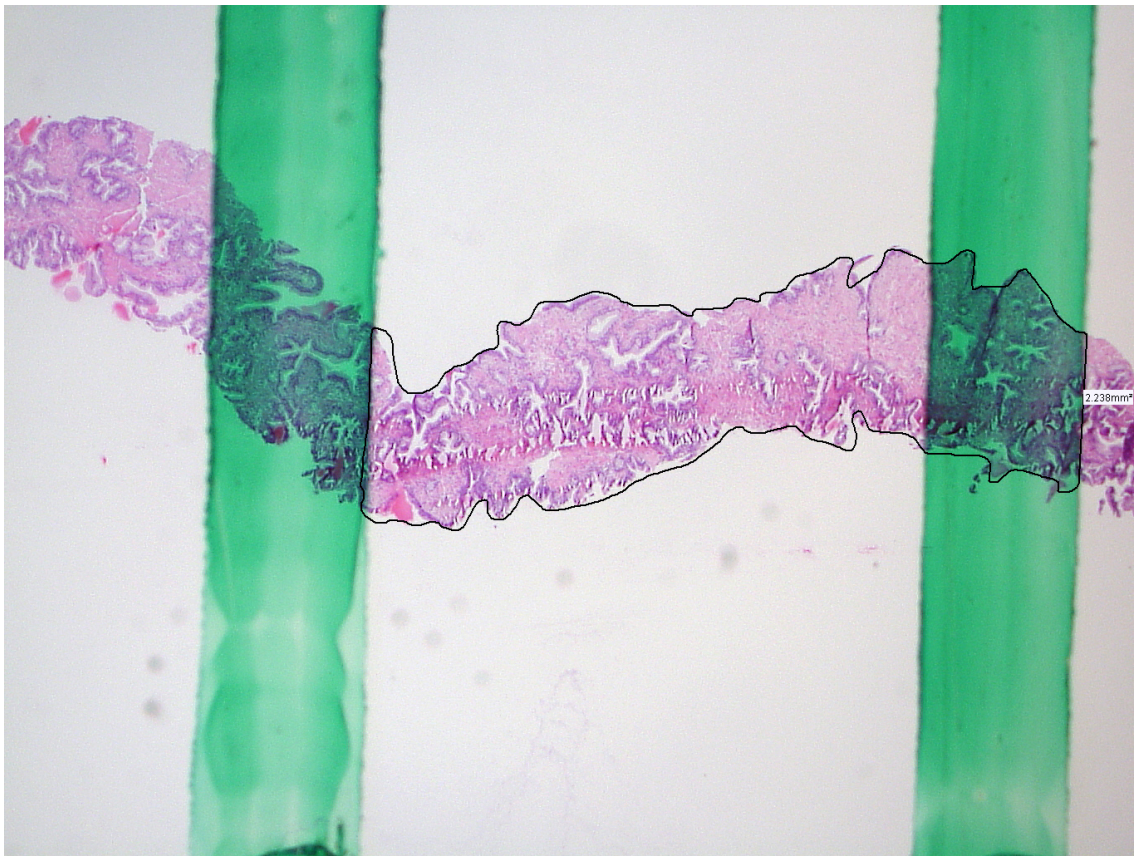


Abbildung 15: Oberflächenmessung Biopsat exakt

4.5 Statistische Analyse

Daten zur Stichprobenbeschreibung sind in Tabelle 1 aufgeführt. Diese wurden nach tabellarischer Werterfassung in einer Exceltabelle (Microsoft® Excel® für Mac 2011 Version 14.3.6) berechnet.

Unter Einbeziehung des Institutes für Biometrie der Medizinischen Hochschule Hannover (Herr R. Scherer) erfolgte die deskriptive Statistik und die statistische Analyse. Es wurde der einseitige t-Test für gepaarte Daten verwendet. Berechnet wurden die zum Test zugehörigen 95%igen Konfidenzintervalle für die Mittelwerte der Differenzen der Oberflächen: Zum Einen für die Differenz zwischen Formalinröhrchen und Histoschwamm, zum Anderen für die Differenz zwischen Formalinröhrchen und Filterpapier (Tabelle 3). Als Nicht – Unterlegenheitsgrenze wurde -1 mm^2 festgelegt. Nicht – Unterlegenheit wird angenommen, wenn die untere Grenze der beiden Konfidenzintervalle größer als die festgelegte Nicht – Unterlegenheitsgrenze von -1 mm^2 ist. Mit insgesamt 60 Patienten konnte die geplante statistische Aussagekraft von 90% erreicht werden. Der einseitige p Wert von $< 0{,}025$ wurde als statistisch signifikant interpretiert. Die statistische Auswertung erfolgte mit SAS Vers. 9.2.

4.6 Zulassung der Ethikkommission

Nach Anfrage bei der Ethikkommision der Ärztekammer Niedersachsen kam die Unterkommission zur Beurteilung medizinischer Forschung am Menschen bei der Ärztekammer Niedersachsen zu dem Schluss, dass die geplante Untersuchung nicht nach § 15 der Berufsordnung der Ärztekammer Niedersachsen der Ethikkommission bei der Ärztekammer Niedersachsen zur Beratung vorgelegt werden muss (siehe Anhang 8.2).

5. Ergebnisse

5.1 Patientencharakteristika

Das mittlere Alter zum Zeitpunkt der Biopsie lag bei 62 Jahren (Standardabweichung 8), der mittlere PSA Wert bei 9,49 ng/ml (Standardabweichung 6,79). Das mittlere Gesamtprostatavolumen betrug 66,75 ml (Standardabweichung 39,7), die mittlere Anzahl der Vorbiopsien 1,32 (Standardabweichung 1,07). Eine tabellarische Auflistung findet sich in Tabelle 1.

Tabelle 1: Stichprobenbeschreibung

Variable	Gesamt (n=60)
Alter bei Biopsie (in Jahren)	
Mittelwert	62
Standardabweichung	8
PSA (ng/ml)	
Mittelwert	9,49
Standardabweichung	6,79
Gesamtprostatavolumen (ml)	
Mittelwert	66,75
Standardabweichung	39,7
Anzahl der Vorbiopsien	
Mittelwert	1,32
Standardabweichung	1,07

5.2 Deskriptive Statistik

Die mittlere Oberfläche der Biopsate, welche im Formalinröhrchen konserviert wurden, lag bei 6,58 mm^2. Die Standardabweichung betrug 2,62. Die mittlere Obefläche der Biopsate, welche auf dem Histoschwamm konserviert wurden, lag bei 6,76 mm^2. Die Standardabweichung betrug 2,45. Die mittlere Oberfläche der Biopsate, welche auf Filterpapier konserviert wurden, lag bei 6,75 mm^2. Die Standardabweichung betrug 2,87.
Eine tabellarische Auflistung findet sich in Tabelle 2.

Tabelle 2: Deskriptive Statistik der Oberflächenmessung der untersuchten Biopsate in allen drei Vergleichskollektiven

	N	Mittelwert	Standardabweichung
Formalinröhrchen	60	6.58 mm^2	2.62
Histoschwamm	60	6.76 mm^2	2.45
Filterpapier	60	6.75 mm^2	2.87

Abbildung 16 stellt die Ergebnisse der Oberflächenmessung der Biopsate in Abhängigkeit des jeweiligen „pre-embedding“ Verfahrens im Boxplot dar. Es zeigten sich bei allen drei Verfahren ähnliche Oberflächen, wobei die Oberflächen beim Formalinröhrchen insgesamt am Kleinsten sind. Bei Patient 42 bestand ein Ausreißer beim Formalinröhrchen, bei Patient 37 einer beim Filterpapier.

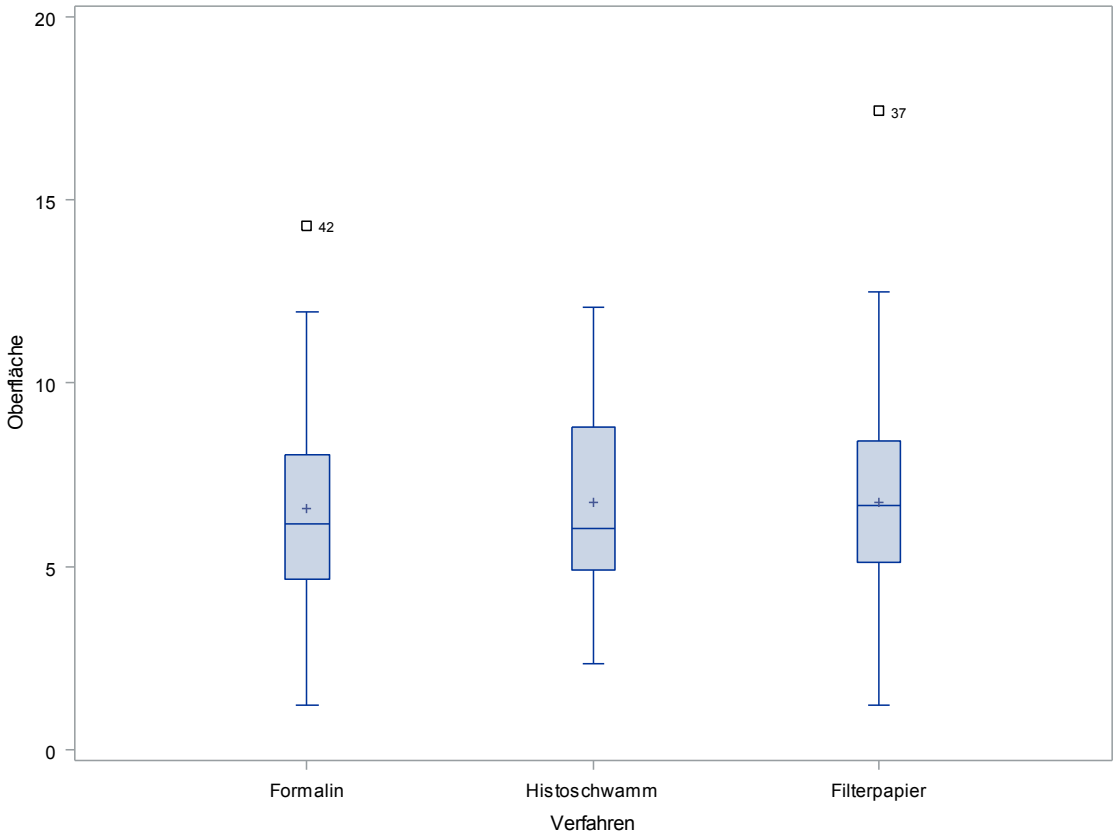


Abbildung 16: Boxplot der Ergebnisse der Oberflächenmessung in allen drei Vergleichskollektiven

5.3 Nicht – Unterlegenheitstest

Im Folgenden wurden die drei verschiedenen „pre–embedding“ Verfahren mit dem t-Test für gepaarte Daten und einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% verglichen. Bei der Testung Formalinröhrchen gegen Histoschwamm lag die untere Grenze des Konfidenzintervalls bei -0,933, die obere Grenze bei 0,557. Bei der Testung Formalinröhrchen gegen Filterpapier lag die untere Grenze des Konfidenzintervalls bei -0,986, die obere Grenze bei 0,639. Dies zeigt die Nicht – Unterlegenheit des „pre-embedding“ Verfahrens im Formalinröhrchen gegenüber Histoschwamm und die Nicht - Unterlegenheit des Formalinröhrchens gegenüber Filterpapier. Eine tabellarische Auflistung zeigt Tabelle 3.

Tabelle 3: Statistische Auswertung der Unterschiede zwischen „pre-embedding“ Verfahren mittels Nicht–Unterlegenheitstest

	Mittelwert der Differenzen	Untere Konfidenz - intervallgrenze	Obere Konfidenz - intervallgrenze	p - Wert
Formalinröhrchen – Histoschwamm	-0.188	-0.933	0.557	0.616
Formalinröhrchen – Filterpapier	-0.173	-0.986	0.639	0.671

6. Diskussion

Wegen ihrer hohen therapeutischen Relevanz (Ukimura et al. 2013) stellt die Befundung einer Prostatastanzbiopsie hohe Anforderungen an den Pathologen (Fine et al. 2012). Eine Vielzahl von Faktoren beeinflusst die Wahrscheinlichkeit im Rahmen einer Prostatastanzbiopsie ein Prostatakarzinom zu erkennen und dieses in seinem „Charakter“ (Ausdehnung, Aggressivität etc.) korrekt zu beschreiben und dementsprechend einen optimalen Therapieplan entwerfen zu können. Einige Faktoren, wie zum Beispiel Prostatavolumen, ethnische Herkunft des Patienten oder PSA-Wert sind nicht beeinflussbar. Auf andere Faktoren wiederum, wie zum Beispiel Entnahmelokalisation, Gewinnung optimaler Stanzzylinder oder Zahl der pro Paraffinblock eingebetteten Biopsate, kann der Urologe oder Pathologe maßgeblich Einfluss nehmen (Bostwick und Meiers 2006).

„Pre-embedding“ Verfahren sind eine Möglichkeit das Ergebnis einer Prostatastanzbiopsie zu optimieren, indem sie die Menge und Qualität des histopathologisch untersuchbaren Gewebes erhöhen.

Grundlage für die Bewertung eines „pre-embedding“ Verfahrens ist die Materialausbeute. MINARDI et al. (2000) und ROGATSCH et al. (2000) konnten zeigen, dass mit einem verbesserten „pre-embedding“ Verfahren eine erhöhte Menge an gut beurteilbarem Gewebe erreicht werden kann (Minardi et al. 2002, Rogatsch et al. 2000a).

Die offensichtlich begrenzte Anwendung dieser Verfahren in der Praxis führte zu unserer Untersuchung.

Insgesamt ist die Datenlage zur Optimierung der Materialausbeute durch ein verbessertes „pre-embedding“ Verfahren bei Prostatastanzbiopsaten übersichtlich. Nur wenige Autoren haben sich direkt mit dem Zusammenhang zwischen einem speziellen „pre-embedding“ Verfahren und der daraus resultierenden Gewebemenge oder Karzinomdetektionsrate beschäftigt. Des Weiteren wurde in diesen Untersuchungen meistens die makroskopisch bestimmte Länge des Biopsiezylinders als Hauptparameter herangezogen. Um die verschiedenen Verfahren möglichst exakt miteinander vergleichen zu können entschieden wir uns aus den unter „3. Ziel der Untersuchung“ bereits erläuterten Gründen zur mikroskopischen Oberflächenmessung des endgültigen Biopsiepräparates. Somit ist ein unmittelbarer Vergleich unserer

Ergebnisse mit den Daten von ROGATSCH et al. (2000), MINARDI et al. (2002), FISET et al. (2013) und ICZKOWSKI und BOSTWICK (2000) wegen der dort ausschließlich makroskopisch durchgeführten Längenbestimmung der Biopsate schwierig (Rogatsch et al. 2000a, Minardi et al. 2002, Fiset et al. 2013, Iczkowski und Bostwick 2000). Dies ist unseres Wissens nach die erste Arbeit, welche die verschiedenen „pre-embedding“ Verfahren in einer prospektiv randomisierten Studie miteinander vergleicht.

In unserer Studie wurde das Material untersucht, an dem der Pathologe die Diagnose stellt. Eine Verfälschung der Ergebnisse durch den histopathologischen Verarbeitungsprozess sollte so minimiert werden.

Die von uns durchgeführte Untersuchung hat, bedingt durch die Fokussierung auf die Materialausbeute, jedoch Grenzen. Im Vergleich zu den Arbeiten von ROGATSCH et al. (2000) und ICZKOWSKI et al. (2002) (Rogatsch et al. 2000b, Iczkowski et al. 2002) kann eine Aussage hinsichtlich der Karzinomdetektionsrate der jeweiligen Verfahren nicht erfolgen. Hierzu hätten je Patient 12 Biopsien pro „pre-embedding“ Methode (also insgesamt 36 Biopsate pro Patient) durchgeführt werden müssen. Dies ist medizinisch und ethisch nicht vertretbar. Alternativ wäre ein Vergleich in verschiedenen Patientenkollektiven gewesen, welches jedoch zu Verfälschungen auf Grund der individuellen Patientcharakteristika (zum Beispiel Prostatagröße, PSA-Wert etc.) hätte führen können.

Um untersucherabhängige Verfälschungen zu reduzieren, erfolgte die Durchführung aller Biopsien ausschließlich durch zwei biopsierfahrene Ärzte (beide Untersucher führen ca. 60 Prostatastanzbiopsien pro Jahr durch). Eine Verfälschung durch den routinierteren Umgang der Untersucher mit der hausintern etablierten Formalinröhrchenmethode versuchten wir u.a. durch eine Pilotstudie mit 12 Patienten und allen drei „pre-embedding“ Verfahren zu vermeiden. Hier konnten sich die Untersucher die notwendige Routine beim Umgang mit den „pre-embedding“ Verfahren Histoschwamm und Filterpapier aneignen.

Eventuell könnte der erhöhte Aufwand bei den in die Studie eingeschlossenen Biopsaten (Vorbereitung der „pre-embedding“ Verfahren, Öffnen der Randomisierungsumschläge etc.) zu einer überdurchschnittlichen Aufmerksamkeit des Biopseurs hinsichtlich der makroskopischen

Biopsatqualität geführt haben. Angesichts der ähnlichen Ergebnisse sollte dies jedoch nicht zur Bevorzugung eines bestimmten Verfahrens geführt haben.

Im Rahmen des von uns durchgeführten Vergleichs zeigte sich für alle Biopsate die mit der „pre-embedding“ Methode Formalinröhrchen konserviert worden waren eine mittlere Oberfläche von 6,58 mm^2 , für alle auf dem Histoschwamm konservierten Biopsate 6,76 mm^2 und für alle auf Filterpapier konservierten 6,75 mm^2 . In der statistischen Auswertung zeigte sich trotz der geringfügig größeren Oberflächen bei „pre-embedding“ auf Histoschwamm oder Filterpapier keine Unterlegenheit des „pre-embeddings“ im Formalinröhrchen.

Unter diesen Voraussetzungen können die Verfahren als gleichwertig hinsichtlich der Materialausbeute betrachtet werden.

ROGATSCH et al. (2000) konnte in seiner Untersuchung an einem frischen Prostatektomiepräparat durch sein verbessertes „pre-embedding“ eine erhöhte Materialausbeute nachweisen. Es wurden 24 Stanzbiopsien aus dem OP-Präparat gewonnen. 12 wurden im Formalinröhrchen und 12 und zwischen zwei Nylonschwämmen gelagert. In einem relativ komplizierten Messverfahren ermittelte er prozentual die beurteilbare Gewebemenge im Vergleich zum gesamten Biopsat (Rogatsch et al. 2000a). Bei einer von ihm durchgeführten nicht randomisierten Folgestudie an 500 Patienten des Tiroler PSA-Screeningprogrammes untersuchte er seine verbesserte „pre-embedding“ unter realen klinischen Bedingungen. Hier konnte er eine erhöhte Karzinomdetektionsrate bei den 250 Patienten, welche mit der von ihm entwickelten „pre-embedding“ Methode untersucht wurden, nachweisen. Zur Beurteilung der Materialausbeute wählte er hier allerdings die makroskopisch gemessene Länge des Stanzzylinders (Rogatsch et al. 2000b). Aus den schon genannten Gründen halten wir die makroskopische Länge der Biopsate für einen relativ ungenauen Wert. ROGATSCH et al. (2000) ermittelt dementsprechend eine Überlegenheit der „Nylonschwammtechnik“ an 12 Biopsaten aus einem frischen Prostatektomiepräparat (Rogatsch et al. 2000a).
MINARDI et al. (2002) modifizierte die von ROGATSCH et al. (2000) entwickelte Technik zur sogenannten “Sandwich-Technik“, indem er zwei

formalinbenetzte Histoschwämme verwendete (Minardi et al. 2002, Rogatsch et al. 2000a). Er konnte hiermit makroskopische Biopsatlängen von 14 mm (min. 5mm, max.19mm) erreichen. Ein unmittelbarer Vergleich zu einem anderen Verfahren erfolgte nicht

Im Rahmen unserer Arbeit wurden o.g. Verfahren prospektiv randomisiert an 60 Patienten untersucht. Als Vergleichsparameter wurde die mittlere Oberfläche des endgültigen histologischen Präparates gewählt. Die von ROGATSCH et al. (2000) gefundene Unterlegenheit des „konventionellen pre-embeddings“ im Formalinröhrchen konnte dabei nicht nachvollzogen werden (Rogatsch et al. 2000a).

WULLICH et al. (2007) bezieht sich in seiner Arbeit ebenfalls auf die von ROGATSCH et al. (2000) entwickelte Methode (Wullich et al. 2007, Rogatsch et al. 2000a). Statt Histoschwämmen verwendet er mit Formalin getränktes Filterpapier, um die Biopsate darauf abzurollen (Wullich et al. 2007). Eine Objektivierung der Gewebemengen oder ein direkter Vergleich mit einem anderen „pre-embedding“ Verfahren erfolgt nicht.

Sowohl unsere Umfrageergebnisse als auch die von uns erhobenen Daten bestätigen die von anderen Autoren (Rogatsch et al. 2000a, Minardi et al. 2002, Wullich et al. 2007) beschriebenen Vorteile der verbesserten „pre-embedding“ Methoden hinsichtlich der Materialausbeute nicht.

Auffällig war eine Diskrepanz zwischen den von uns gemessenen Oberflächen aller Verfahren und den in der Literatur makroskopisch ermittelten Biopsatlängen. FICARRA et al. (2006) konnte bei seiner Untersuchung zur transperinalen Prostatabiopsie bei Verwendung einer identischen Biopsienadel makroskopisch Biopsatlängen von ca. 14 mm erreichen (Ficarra et al. 2006). FISET et al. (2013) konnte zeigen, das Biopsatlängen von 13 mm eine optimale Sensivität und Spezifität für die Karzinomerkennung haben (Fiset et al. 2013). ÖBECK et al. (2012) empfiehlt eine Biopsatlänge von 11,9 mm um den Qualitätsstandards zu entsprechen (Oebek et al. 2012). Analog zu unserer Studie wurden die Biopsien alle mit einer 18 G Biopsienadel und einem LSN (Length of sample notch) von 18-19 mm durchgeführt. Der Längsschnitt eines idealen Biopsiezylinders hätte eine Oberfläche von 18 G/1,024 mm x 19 mm = 19,46

mm^2 . Rechnet man die makroskopisch ermittelten Biopsatlängen entsprechend um (Biopsatlänge in mm x 18G/1,024 mm), erhält man deutlich größere Oberflächen als die von uns bei allen Verfahren gemessenen (Formalinröhrchen: 6,58mm^2 +/- 2,62, Histoschwamm: 6,76mm^2 +/- 2,45, Filterpapier: 6,75mm^2 +/- 2,87).

FUKABORI et al. (2006) hat in einer Untersuchung zur simultanen Gewebegewinnung für histopathologische und molekularbiologische Untersuchungen ebenfalls Prostatabiopsate vermessen. Auch er entschied sich für eine mikroskopische Messung und legte einen rechteckigen Längsschnitt zugrunde. Die dort errechnete Oberflächen von 5,98 mm^2 bestätigen unsere Messergebnissen. (Fukabori et al. 2006).

Wie schon diskutiert wäre eine mögliche Ursache die erhebliche Beeinflussung der Materialausbeute durch den histopathologischen Verarbeitungsprozess. Die Arbeiten von KAO et al. (2002), BOSTWICK et al. (2006) und VAN DER KWAST et al. (2013) stärken eine solche Vermutung (Kao et al 2002, Bostwick und Meiers 2006, van der Kwast et al. 2013) weshalb in dieser Arbeit die mikroskopische Messung gewählt wurde.
VARMA et al. (2013) konnte in seiner europaweiten Umfrage zeigen, dass 55,6% der befragten Institute die Biopsate im Formalinröhrchen (oder ähnlichen Verfahren) konservieren, 22,8% auf Filterpapier und 21,2% auf Histoschwämmen (Varma et al. 2013). Dies lässt ebenso wie die Ergebnisse unserer Umfrage vermuten, dass die Überlegenheit der „pre-embedding“ Methoden Histoschwamm und Filterpapier im Vergleich zur Formalinröhrchenmethode nicht so groß ist, dass sie flächendeckend angewandt werden.
Neben den zahlreichen in der Literatur genannten Vorteilen der untersuchten „pre-embedding“ Verfahren, wären technische und organisatorische Probleme mögliche Ursachen für eine geringe Verbreitung.
Bei den im Folgenden geschilderten Schwierigkeiten handelt es sich um subjektive Einschätzungen. Zur Objektivierung sind weitere Untersuchungen (z.B. Messung von Untersuchungszeiten, Vergleich der Artefakt- bzw. Fragmentzahl etc.) erforderlich.

Nach unserer Erfahrung ist eine Prostatastanzbiopsie mit „pre-embedding“ im Formalinröhrchen zeitsparend durch einen Untersucher und ohne Assistenzpersonal durchführbar. Entgegen der Literatur war die Untersuchungszeit im Rahmen dieser Arbeit bei „pre-embedding“ der Biopsate auf Histoschwamm bzw. Filterpapier durch das aufwendigere Abstreichen der Biopsate erhöht. Da für viele Patienten der transrektale Ultraschallkopf im Rektum trotz Lokalanästhesie sehr unangenehm ist, sollte die Untersuchungszeit so kurz wie möglich sein. FAVAZZA et al. (2002) publizierte ein Verfahren, mit welchem die Untersuchungszeit deutlich verkürzt werden konnte (Favazza et al. 2002). Das Präparat wird dabei durch ein erneutes „Abfeuern“ der Biopsiepistole aus der Nadel ausgeworfen. Eine simultane Anwendung mit den „verbesserten pre-embedding“ Verfahren erscheint schwierig, da die Zeitersparnis durch das schnelle, aber unkontrollierte Auswerfen des Biopsates erfolgt. Ein planes, gestrecktes Ablegen auf Histoschwamm oder Filterpapier ist dabei nicht möglich. Natürlich kann dieser Zeitverlust durch Assistenzpersonal, welches das Abstreichen übernimmt, oder eine Verwendung von zwei Biopsiepistolen ausgeglichen werden. Hieraus können aber u.U. erhöhte Material- und Personalkosten resultieren.

Auch im weiteren histopathologischen Verarbeitungsprozess fanden wir Nachteile im Vergleich zur Formalinröhrchenmethode.
Zum Teil gestaltete sich das Ablösen der Präparate vom formalingetränkten Histoschwamm als schwierig, da die grobporige Struktur des Schwammes trotz Formalintränkung eine starke Adhärenz des Biopsates am Schwamm verursachte. Daraus resultierte neben mikroskopisch nachweisbaren Artefakten eine erhöhte Anzahl von Fragmenten.
Welche Auswirkungen schwamminduzierte Artefakte auf die korrekte Diagnosestellung eines Prostatakarzinoms haben ist bis dato nicht nachgewiesen. FARELL et al. (1992) und KEPES und OSWALD (1991) konnten jedoch negative Einflüsse bei anderen Geweben (z.B. Niere, Leber und Thalamus) feststellen (Farrell et al 1992, Kepes und Oswald 1991). Bei der Filterpapiermethode fanden sich z.T. Quetschartefakte, welche u.U. ähnlich negative Einflüsse haben könnten.

Des Weiteren führte ein Ablösen mit der Pinzette zu einer erhöhten Fragmentierung. FAJARDO et al. (2010) konnte zeigen, dass dies negative Auswirkungen auf die korrekte Karzinomdiagnostik hat (Fajardo et al. 2010).
Der längere Kontakt von Untersucher und Patient mit dem potentiell gesundheitsschädlichen (Cogliano et al. 2005) Formalin durch die offenliegenden, formalingetränkten Schwämme bzw. Filterpapiere ist aus unserer Sicht ebenfalls ungünstig.

7. Zusammenfassung

Mit dieser Arbeit konnte nachgewiesen werden, dass das in Deutschland am häufigsten (96%) angewandte „pre-embedding“ Verfahren mittels Formalinröhrchen den aufwändigeren Alternativen (Histoschwamm und Filterpapier) hinsichtlich der Materialausbeute in der Effektivität gleichwertig ist.
Trotz der widersprüchlichen Datenlage in der Literatur, stellt aus unserer Sicht die Verwendung des Formalinröhrchens als „pre-embedding“ Verfahren eine Alternative zu den in den Leitlinien empfohlenen Verfahren dar.
Eine Äquivalenz der genannten Verfahren hinsichtlich anderer Parameter (z.B. Karzinomdetektionsrate) sollte, ebenso wie mögliche Nachteile der einzelnen Verfahren, weiter untersucht werden.

8. Anhang

8.1 Fragebogen

Klinikum Braunschweig

Städtisches Klinikum Braunschweig gGmbH
Urologische Klinik
Salzdahlumer Straße 90 • 38126 Braunschweig

«Adresse»

Ihr Schreiben vom
[Datum eingeben]
Ihr Zeichen
[Ihr Zeichen eingeben]
Mein Zeichen
[Mein Zeichen eingeben]
(Bitte immer angeben)
Durchwahl
Tel.: (05 31) 5 95 - 2353
Fax: (05 31) 5 95 - 2657
E-Mail
urologie@klinikum-braunschweig.de

Urologische Klinik

Prof. Dr. P. Hammerer
Chefarzt

Bearbeitet durch

24.07.2008

Betr.: pre-embedding" von Prostatastanzbiopsien

«Anrede»,

die verwendeten Verfahren zur Verarbeitung von Prostatastanzbiopsien sind europaweit sehr heterogen. Im Rahmen einer Doktorarbeit versuchen wir, die unterschiedliche Bearbeitung der Prostatastanzzylinder zu erfassen und zu optimieren.

Wir wären Ihnen sehr verbunden, wenn Sie die in Ihrer Klinik verwendete Methode für Prostatastanzzylinder ankreuzen und alle genannten Methoden bewerten würden.

Mit freundlichen Grüßen

Prof. Dr. Peter Hammerer A. Vandromme

Faxantwort an Urologische Klinik Braunschweig: Fax: 0531 595 2657

Beurteilung der Methoden aus Sicht des Pathologen ***Bewertung der Materialausbeute***

	Skala 5 (schlecht) bis 1 (sehr gut)				
verwendete Versandmethode	5	4	3	2	1
Formalinröhrchen	O	O	O	O	O
Histoschwämme	O	O	O	O	O
Filterpapier	O	O	O	O	O
Sonstige (bitte kurze Beschreibung)	O	O	O	O	O

Telefon (05 31) 5 95 – 0
Telefax (05 31) 5 95 – 1322
www.klinikum-braunschweig.de

Städtisches Klinikum Braunschweig gGmbH
Freisestr. 9/10 • 38118 Braunschweig
Geschäftsführer: Dipl.-Kfm. Helmut Schüttig
Aufsichtsrat: Dr. Bernd Grötrup, Vorsitzender
Norddeutsche Landesbank
Konto 815 159 • BLZ 250 500 00
Post-Giro Hannover
Konto 40 43-306 • BLZ 250 100 30
Amtsgericht Braunschweig, HRB 9319

8.2 Schreiben Ethikkommission

ÄKN ÄRZTEKAMMER
NIEDERSACHSEN
Körperschaft des öffentlichen Rechts

Geschäftsstelle der Ethikkommission

Ärztekammer Niedersachsen Postfach 3 07 30003 Hannover

Geschäftsstelle:
Berliner Allee 20
30175 Hannover

Tel.: (05 11) 380 **22 08**
Fax: (05 11) 380 **21 19**
E-Mail: ethikkommission@aekn.de

Ansprechpartner/in
Kai Bogs

Städtisches Klinikum Braunschweig gGmbH
Urologie
Herrn Alkuin Vandromme
Freisestraße 9/10
38118 Braunschweig

Ihr Zeichen, Ihr Schreiben vom	**Bitte in der Antwort angeben** Unser Zeichen	Datum
	Bo	18. Mai 2010

Vergleich verschiedener Verfahren zur Untersuchung von Prostatabiopsieproben

Sehr geehrter Herr Vandromme,

hiermit bestätigen wir den Eingang Ihrer E-Mail vom 10. Mai 2010 nebst den Angaben zu Ihrem Forschungsvorhaben. Wie diesen zu entnehmen ist, soll die Auswertung der Forschungsdaten in anonymisierten Form erfolgen, so dass ein Rückschluss auf die Patientendaten also nicht möglich ist.

Nach Durchsicht der Unterlagen teilen wir Ihnen daher mit, dass es sich bei Ihrem Forschungsvorhaben nach Ansicht der Unterkommission zur Beurteilung medizinischer Forschung am Menschen der Ethikkommission bei der Ärztekammer Niedersachsen (ÄKN) nicht um biomedizinische Forschung am Menschen oder um epidemiologische Forschung mit personenbezogenen Daten handelt. Das Vorhaben muss daher nicht nach § 15 der Berufsordnung der ÄKN der Ethikkommission bei der ÄKN zur Beratung vorgelegt werden.

Mit freundlichen Grüßen

i. A.

Dipl.-Ök. Kai Bogs

8.3 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Verteilung der verwendeten „pre-embedding“ Methoden 11

Abbildung 2: Verwendete Kombinationen von „pre-embedding“ Verfahren 12

Abbildung 3: Bewertung der Materialsausbeute bei „pre-embedding“ in Formalinröhrchen 12

Abbildung 4: Bewertung der Materialausbeute bei „pre-embedding“ auf Histoschwämmen alle Institute 13

Abbildung 5: Bewertung der Materialausbeute mit „pre-embedding“ auf Histoschwämmen Institute mit Erfahrung in dieser Methode 13

Abbildung 6: Bewertung der Materialausbeute bei „pre-embedding“ auf Filterpapier alle Institute 14

Abbildung 7: Bewertung der Materialausbeute mit „pre-embedding“ auf Filterpapier Institute mit Erfahrung in dieser Methode 14

Abbildung 8: Biopsieschema 21

Abbildung 9: Untersuchungsprotokoll 22

Abbildung 10: „pre-embedding“ im Formalinröhrchen 24

Abbildung 11: „pre-embedding“ auf Histoschwamm 25

Abbildung 12: „pre-embedding“ auf Filterpapier 26

Abbildung 13: Eichmassstab Diskus System ver. 4.60.2034. 28

Abbildung 14 Oberflächenmessung Biopsat komplett 29

Abbildung 15: Oberflächenmessung Biopsat exakt 30

Tabelle 1: Stichprobenbeschreibung 32

Tabelle 2: Deskriptive Statistik der Oberflächenmessung der untersuchten Biopsate in allen drei Vergleichskollektiven 33

Abbildung 16: Boxplot der Ergebnisse der Oberflächenmessung in allen drei Vergleichskollektiven 34

Tabelle 3: Statistische Auswertung der Unterschiede zwischen „pre-embedding“ Verfahren mittels Nicht–Unterlegenheitstest 35

9. Literaturverzeichnis

Abdollah F, Novara G, Briganti A et al. „Trans-rectal versus trans-perineal saturation rebiopsy of the prostate: Is there a difference in cancer detection rate.“ *Urology*, Apr 2011; 77(4): 921-5.

Amin M, Boccon-Gibod L, Egevad L et al. „Prognostic and predictive factors and reporting of prostate carcinoma in prostate needle biopsy specimens.“ *Scand J Urol Nephrol Suppl.* , May 2005; 216: 20-33.

Bostwick D, Qian J, Drewnowska K et al. „Prostate needle biopsy quality in reduction by dutasteride of prostate cancer events study: Worlwide comparison of improvement with investigator training and centralized laboratory processing.“ *Urology*, Jun 2010; 75(6): 1406-10.

Bostwick DG, Kahane H. „Adequate histologic sectioning of prostate needle biopsies.“ *Ann Diagn Pathol.*, Aug 2013; 17(4): 357-60.

Bostwick DG, Meiers I. „Prostate biopsy and optimization of cancer yield.“ *Eur Urol.* , Mar 2006; 49(3): 415-7.

Chun F, Epstein J, Ficarra V et al. „Optimizing performance and interpretation of prostate biopsy: A critical analysis of the literature.“ *Eur Urol.*, Dec 2010; 58(6): 851-64.

Cicione A, Cantiello F, De Nunzio C et. al. „Prostate biopsy quality is independent of needle size: A randomized single-center prospective study.“ *Urol Int.*, 2012; 89(1): 57-60.

Cogliano VJ, Grosse Y, Baan RA. „Meeting report: Summary of IARC monographs on formaldehyde, 2-butoxyethanol and 1-tert-butoxy-2 propanol.“ *Environ Health Perspect.*, Sep 2005; 113(9): 1205-8.

Fajardo DA, Epstein JI. „Fragmentation of prostatic needle biopsy cores containing adenocarcinoma: The role of specimen submission.“ *BJU Int.*, Jan 2010; 105(2): 172-5.

Farrell DJ, Thompson PJ, Morley AR. „Tissue artefacts caused by sponges.“ *J Clin Pathol.*, Oct 1992; 45(10): 923-4.

Favazza T, Ferkel JA, Bennermann R et al. „A simple method to improve the efficiency of transrectal ultrasound guided prostate biopsy.“ *J Urol.*, Nov 2002; 168(5): 1989.

Ficarra V, Martignoni G, Novella G et al. „Needle core length is a quality indicator of systematic transperineal prostate biopsy.“ *Eur Urol.* , Aug 2006; 50(2): 266-71.

Fine SW, Amin MB, Berney DM et al. „A contemporary update on pathology reporting for prostate cancer: Biopsy and radical prostatectomy specimens.“ *Eur Urol.*, Jul 2012; 62(1): 20-39.

Fiset PO, Aprikian A, Brimo F. „Length of prostate biopsy cores: Does it impact cancer detection?“ *Can J Urol.*, Aug 2013; 20(4): 6848-53.

Fukabori Y, Yoshida K, Nakano K et al. „Preparation of a single prostate needle biopsy specimen for histological diagnosis and RNA analysis.“ *J Urol.*, Sep 2006; 176(3): 1204-7.

Galosi A, Muzzonigro G. „Methods to obtain more clinical and pathologic information from needle core biopsy of the prostate gland.“ *Ann N Y Acad Sci.* Jun 2002; 963: 218-20.

Galosi AB, Dellabella M, Polito M. „A new method for embedding fragments of prostate biopsy: The "sandwich" technique. Preliminary experience.“ *Urologia*, 2001; 68(2).

Graefen M, Schlomm T. „From diagnostic tool to disease monitoring: The growing role of prostate biopsies.“ *Eur Urol.*, Feb 2013; 63(2): 231-3.

Heidenreich A, Bolla M, Joniau S et al. „Guidelines on Prostate Cancer.“ *EAU Guidelines*, 2011: 16.

Humphrey PA, Walther PJ. „Adenocarcinoma of the prostate I. Tissue sampling considerations.“ *Am J Clin Pathol.* , Jun 1993; 99(6): 746-59.

Iczkowski KA, Bostwick DG. „Sampling, submission, and report format for multiple prostate biopsies: A 1999 survey.“ *Urology*, Apr 2000; 55(4): 568-71.

Iczkowski KA, Casella G, Seppala RJ et al. „Needle core length in sextant biopsy influences cancer detection rate.“ *Urology*, May 2002; 59(5): 698-703.

Kao J, Upton M, Zhang P et al. „Individual prostate biopsy core embedding facilitates maximal tissue representation.“ *J Urol.* , Aug 2002; 168(2): 496-9.

Kepes JJ, Oswald O. „Tissue artefacts caused by sponge in embedding cassettes.“ *Am J Surg Pathol.* Aug 1991; 15(8): 810-2.

Lane RB, Lane CG, Mangold KA et al. „Needle biopsy of the prostate: What constitutes adequate histologic sampling?“ *Arch Pathol Lab Med.*, Sep 1998; 122(9): 833-5.

Laniado ME, McMullen I, Walker MM et al. „Use and rationale of a multicompartment microcassette for site-specific biopsies of the prostate in a consecutive cohort of men.“ *Prostate Cancer Prostatic Dis.*, 2003; 6(1): 50-2.

Minardi D, Galosi A, Dell'Atti L et al. „A method to improve histopathological analysis of prostate biopsies: The "sandwich" technique.“ *European Urology Supplements*, 2002; 1(1): 118.

Oebek C, Doganca T, Erdla S et al. „Core length in prostate biopsy: Size matters.“ *J Urol.*, Jun 2012; 187(6): 2051-5.

Raber M, Scattoni V, Roscigno M et al. „Topical prilocaine-lidocaine cream combined with peripheral nerve block improves pain control in prostatic biopsy: Results from a prospective randomized trial.“ *Eur Urol.*, May 2008; 53(5): 967-73.

Rogatsch H, Mairinger T, Horninger W et al. „Optimized preembedding method improves the histologic yield of prostatic core needle biopsies.“ *Prostate*, Feb 2000; 42(2): 124-9.

Rogatsch H, Moser P, Volgger H et al. „Diagnostic effect of an improved preembedding method of prostate needle biopsy specimens.“ *Hum Pathol.*, Sep 2000; 31(9): 1102-7.

Rubin MA, Bismar TA, Curtis S et al. „Prostate needle biopsy reporting: How are the surgical members of the society of urologic oncology using pathology reports to guide treatment of prostate cancer patients?“ *Am J Surg Pathol.*, Jul 2004; 28(7): 946-52.

Schned AR, Wheeler KJ, Hodorowski CA et al. „Tissue-shrinkage correction factor in the calculation of prostae cancer volume.“ *Am J Surg Pathol.* , Dec 1996; 20(12): 1501-6.

Shaw E, Daniel BW, Woford ED et al. „Prostate biopsies: Optimized cancer detection and staging.“ *J S C Med Assoc.*, Jun 1996; 92(6): 261-6.

Ukimura O, Coleman JA, de la Taille A et al. „Contemporary role of systematic prostate biopsies: Indications, techniques and implications for patient care.“ *Eur Urol.*, Feb 2013; 63(2): 214-30.

van der Kwast TD, Bubendorf L, Mazerolles C et al. „Guidelines on processing and reporting of prostate biopsies: The 2013 update of the pathology committee of the European randomized stud of screening for prostate cancer (ERSPC).“ *Virchows Arch.*, Sep 2013; 463(3): 367-77.

van der Kwast TD, Lopes C, Santonja C et al. „Guidelines for processing and reporting of prostatic needle biopsies.“ *J Clin Pathol.* , May 2003; 56(5): 336-40.

Varma M, Berney DM, Algabe F et al. „Prostate needle biopsy processing: A survey of laboratory practice across Europe.“ *J Clin Pathol.*, Feb 2013; 66(2): 120-3.

Walz J, Loch T, Salomon G et al. „Lokale Bildgebung der Prostata.“ *Urologe A*, Apr 2013; 52(4): 490-6.

Wirth M, Weißbach L, Ackermann R et al. „Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur Früherkennung, Diagnose und Therapie der verschiedenen Stadien des Prostatakarzinoms.“ 2011 (Online im Internet) URL: http://www.dgu.de/fileadmin/MDB/PDF/S3_LL_PCa_-110331_Version1.03.pdf (Stand: 30.10.2013, 04:39 Uhr).

Wullich B, Füssel S, Grobholz R. „Optimierte Standards der Prostatastanzbiopsie.“ *Urologe A*, Jun 2007; 46(6): 675-82.

10. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt

Herrn Prof. Dr. med. P. Hammerer,

der es ermöglicht hat diese Arbeit anzufertigen. Insbesondere danke ich ihm für die kontinuierliche Förderung und Forderung während meiner urologischen Laufbahn.

Ferner danke ich

Herrn Dr. med. Ansgar Dellmann für ein immer offenes Ohr und viele gute Ratschläge

Herrn Ralph Scherer für die Hilfestellung bei der statistischen Analyse

Herrn Dr. med. Maciej Kwiatkowski für die Korrekturlesung

Herrn Dr. med. Alexey Pryalukhin für den internationalen Austausch

Herrn Dr. med. Lukas Manka und

Herrn Mircea Grindei-Nevrincean für den Aufwand in ihren Biopsiesprechstunden

11. Lebenslauf

Name:	Vandromme
Vorname:	Alkuin
Geburtsdatum:	22.09.1974
Geburtsort:	72622 Nürtingen
Familienstand:	verheiratet, 2 Töchter

Schulausbildung:

1985-1994	Max-Planck-Gymnasium Nürtingen mit Abitur am 21.06.1994

Berufsausbildung:

1994-1996	Zivildienst beim DRK-Kreisverband Nürtingen–Kirchheim/Teck und Ausbildung zum Rettungssanitäter
Sommersemester 1996	Beginn des Humanmedizinstudiums an der Georg-August-Universität Göttingen
Apr. 2002–Apr. 2003	Praktisches Jahr am Klinikum der Stadt Wolfsburg
Mai 2003	Abschluss des Studiums mit dem dritten Abschnitt der ärztlichen Prüfung
Jun. 2003-März 2005	Arzt im Praktikum und Assistenzarzt in der Klinik für Allgemein- und Gefäßchirurgie des Klinikums der Stadt Wolfsburg (Chefarzt: Prof. Dr. med. J. Meyer)
Apr. 2005-Aug. 2006	Assistenzarzt in der Klinik für Urologie des Klinikums der Stadt Wolfsburg (Chefärzte: Dres. med. A. Heinz und A. Leitenberger)
Sept. 2006 – Dez. 2010	Assistenzarzt in der Urologischen Klinik des Städtischen Klinikums Braunschweig gGmbH (Chefarzt: Prof. Dr. med. P. Hammerer)
Seit dem 24.11.2009	Facharzt für Urologie
Seit dem 05.06.2010	Fellow of the European Board of Urology (FEBU)
Seit dem 01.01.2011	Oberarzt in der Klinik für Urologie und Uroonkologie des Städtischen Klinikum Braunschweig (Chefarzt: Prof. Dr. med. P. Hammerer)

12. Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.
Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.
Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Braunschweig, den 04.11.2013

Unterschrift: .....
(Alkuin Vandromme)