

**Aus dem Institut für Pathologie /Medizinische Fakultät an der  
Universität Rostock**

**Direktor: Prof. Dr. med. Andreas Erbersdobler**

**Neues Invasionsgrading des Peniskarzinoms –  
Vergleich mit dem etablierten WHO-Grading**

**Dissertation  
zur  
Erlangung des akademischen Grades  
Doktor der Medizin  
der Universitätsmedizin Rostock**

**vorgelegt von  
Hayel Derani  
geb. am 10.02.1986 in Damaskus.**

**Rostock, 2022**

[https://doi.org/10.18453/rosdok\\_id00004216](https://doi.org/10.18453/rosdok_id00004216)

**Gutachter:**

**Prof. Dr. med. Andreas Erbersdobler, Universitätsmedizin Rostock, Institut für Pathologie**

**Prof. Dr. med. Oliver Hakenberg, Universitätsmedizin Rostock, Urologische Klinik und Poliklinik**

**Prof. Dr. med. Guido Sauter, Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf, Institut für Pathologie**

**Jahr der Einreichung: 2022**

**Jahr der Verteidigung: 2023**

Inhaltsverzeichnis	Seite
1. Einleitung .....	3
1.1. Epidemiologie .....	3
1.2. Ätiologie und Pathogenese .....	3
1.3. Klinik und Diagnose .....	4
1.4. Pathologie .....	4
1.4.1. Vorläuferläsionen .....	4
1.4.2. Makroskopie .....	5
1.4.3. Mikroskopie .....	6
1.4.4. Immunhistochemie .....	12
1.4.5. Molekularpathologie .....	13
1.4.6. WHO-Grading .....	14
1.4.7. Lymphknotenmetastasen .....	15
1.4.8. TNM Klassifikation und Staging .....	15
1.5. Therapieoptionen .....	17
1.6. Verlauf und Prognose .....	18
1.7. Zelluläres Dissoziations-Grading (CDG) .....	19
1.7.1. Definitionen .....	19
1.7.2. Einsatz bei anderen Tumorentitäten .....	19
2. Fragestellung .....	20
3. Material und Methoden .....	21
3.1. Datenerhebung .....	21
3.2. Mikroskopie .....	21
3.3. Tissue Micro-Array und Immunhistochemie .....	23
3.4. Statistik .....	25
4. Ergebnisse .....	27
4.1. Charakteristik des Patientenkollektivs .....	27
4.1.1. Untersuchungsmaterialien und Patientenalter .....	27
4.1.2. Histologische Tumortypen .....	27
4.1.3. Immunhistologie .....	29
4.1.4. TNM-Klassifikation .....	29

4.1.5. WHO-Grad (WHO-G) und zellulärer Dissoziationsgrad (CDG) .....	30
4.2. Vergleich der Grading-Systeme .....	32
4.2.1. Verteilung der Grading-Systeme .....	32
4.2.2. Prognostische Aussagekraft der Grading-Systeme für den Lymphknotenstatus ....	33
4.2.3. Statistische Untersuchungen.....	34
5. Diskussion .....	37
5.1. Grading-Systeme in der Pathologie .....	37
5.2. Bedeutung und Probleme des Gradings beim Peniskarzinom .....	37
5.3. Zellulärer Dissoziationsgrad in den internationalen Studien .....	38
5.4. Technische Aspekte und Probleme des CDG-Gradings .....	43
5.5. Vergleich mit Kollektiven anderer Studien .....	45
5.6. Bewertung des CDG-Gradings beim Penis-Karzinom .....	48
5.7. Schlussfolgerungen und Ausblicke .....	48
6. Literaturverzeichnis .....	50
Abkürzungsverzeichnis .....	56
Bilder-, Tabellen- und Abbildungsverzeichnis .....	57
Selbstständigkeitserklärung.....	59
Danksagung .....	60
Lebenslauf .....	61
Thesen .....	62

## 1. Einleitung

### 1.1. Epidemiologie

Das Peniskarzinom ist ein relativ seltener Tumor in Europa und Nordamerika und seine Inzidenz liegt in diesen Regionen bei circa 1,0 Neuerkrankungen/100.000 Einwohner. Die Inzidenz ist in Mittel- und Lateinamerika sowie Teilen Südostasiens und Afrikas viel höher (Brasilien 6–8/100.000 Einwohner). Peniskarzinome machen bis zu 6% aller männlichen Tumorerkrankungen in ländlichen Regionen Indiens aus, in Uganda liegt die kumulative Inzidenz bei Männern bis zum 75. Lebensjahr bei 1%. [4,15,20,54,58]

Nach den letzten öffentlichen Daten vom Zentrum für Krebsregisterdaten des Robert Koch-Instituts gab es in Deutschland zwischen 2010 und 2018 durchschnittlich 900 jährliche Neuerkrankungen (800-1004) mit einer durchschnittlichen jährlichen Mortalität von 190 Fällen (158-232) und einem mittleren Erkrankungsalter von 70 Jahren. [24]

Weltweit treten Peniskarzinome meistens bei Männern im Alter von 50-69 Jahren auf. Die zweite Risikogruppe sind Männer, die älter als 70 Jahre alt sind. Die Inzidenz in der Altersgruppe <50 Lebensjahren ist gering. [44,54] Diese Alter-bezogene Verteilung kann durch die langfristige Exposition gegenüber Risikofaktoren erklärt werden.

### 1.2. Ätiologie und Pathogenese

#### Pathogenese

95% aller malignen Penistumoren sind Plattenepithelkarzinome. Andere Malignome (Melanome, Urothelkarzinome, Sarkome) oder Metastasen sind am Penis sehr selten. Es wurden zwei unterschiedliche pathogenetische Wege für das Plattenepithelkarzinom des Penis beschrieben: durch eine Infektion mit humanen Papillomviren (HPV) oder im Rahmen einer chronischen Entzündung. [15,20,44]

Ungefähr ein Drittel der Peniskarzinome ist mit einer HPV-Infektion assoziiert, wobei die Inzidenz in den verschiedenen Ländern variiert. Sexuell übertragene humane Papillom-Viren der Niedigrisiko-Gruppe führen zu Condylomata acuminata, die als gutartig gelten. Hochrisiko-HPV-Typen (v.a. HPV Typ 16 und 18) sind besonders für die Entstehung des Peniskarzinoms verantwortlich. [8,37,44,58]

Beispiele für chronische Entzündungen sind der Lichen sclerosus oder eine chronische Vorhautentzündung bei Phimose. Bei einem signifikanten Teil der Plattenepithelkarzinome ohne nachweisbare HPV-Infektion spielen Mutationen im TP53-Gen eine Rolle. [15,20,44,54]

#### Risikofaktoren

Als Risikofaktoren gelten Phimose, chronisch-entzündliche Erkrankungen von Vorhaut und Glans (Balanoposthitis, Balanitis xerotica obliterans/Lichen sclerosus et atrophicans, Leukoplakie), mangelnde Hygiene, Smegmaretention, Nikotinabusus, regionäre Radiotherapie, Ultraviolett-Bestrahlung (z.B. bei Behandlung der Psoriasis), Kondylome (genitale Warzen) sowie multiple Sexualpartner. [44,54,58]

Des Weiteren kommt es insbesondere bei mangelnder Hygiene und Phimosen zu einer schlechten Beurteilbarkeit der Glans und des inneren Präputialblattes durch den Patienten selbst, sodass ein Peniskarzinom lange unentdeckt bleiben kann. [44,54,58]

Frühkindliche Beschneidung vermindert die Rate an späteren Peniskarzinomen deutlich, im Gegenteil zur Zirkumzision im Erwachsenenalter. Durch Entfernung des inneren Vorhautblattes kann die Schleimhautfläche, auf der ein Peniskarzinom entstehen kann, um die Hälfte reduziert werden. [30,58]

### **1.3. Klinik und Diagnose**

#### **Symptome**

Die Hauptmanifestation ist ein sichtbarer Tumor, eine Ulzeration oder eine erythematöse Läsion am Penis. Schmerzen oder Dysurie sind nicht häufig. Harnverhalt kommt in den fortgeschrittenen Stadien vor. Eine patientenbedingte Verzögerung der Diagnose und der Behandlung ist nicht selten. [44,54]

#### **Klinische Untersuchung**

In vielen Fällen ist das exophytische Peniskarzinom eine Blickdiagnose. Anamnestisch soll die aktuelle Sexualfunktion dokumentiert werden. Bei den oberflächlichen Stadien handelt es sich oft nur um flächenhafte Veränderungen. Chronisch-entzündliche Veränderungen an Glans oder Vorhaut, die bei Kontakt zu Blutungen neigen, sind pathognomonisch. [15,58] Die Tastuntersuchung des Penis soll möglichst die Infiltration von Penisstrukturen beurteilen. Tumorgröße, Morphologie, Lokalisation, Wachstumsmuster und Verschiebbarkeit bzw. Fixierung sollen untersucht und dokumentiert werden. [21,58] Vergrößerte Leistenlymphknoten können palpabel-, oder bei einem fortgeschrittenen Stadium sogar sichtbar sein. Bei der palpatorischen Untersuchung beider Leistenregionen müssen die Anzahl, Größe, Lateralität und Verschiebbarkeit palpabler Lymphknoten für jede Seite beurteilt werden. [20,38,58]

Außerdem sollte vor Beginn einer Therapie eine Biopsie mit definitiver Histologie vorliegen. Frühzeitiger Verdacht und Biopsie sind erforderlich, um Therapieverzögerungen zu vermeiden. [21,38] Die Bildgebung (Doppler-Ultraschall, MRT, PET-CT) spielt nur bei unsicherem Befund oder bei fortgeschrittenem klinischen Stadium eine Rolle. [38]

### **1.4. Pathologie**

#### **1.4.1. Vorläuferläsionen**

Die Penile intraepitheliale Neoplasie (PeIN) ist eine präkanzeröse dysplastische Veränderung im penilen Plattenepithel mit intakter Basalmembran. Ähnlich wie bei der Ätiologie des Peniskarzinoms unterscheidet die WHO-Klassifikation zwischen einer nicht HPV-assoziierten Vorläuferläsion (differenzierte PeIN) und HPV-assoziierten Formen (basaloide PeIN, warzige PeIN, warzig-basaloide PeIN). [15,44] Die differenzierte PeIN ist oft mit einem Lichen sclerosus oder anderen chronischen entzündlichen Erkrankungen verknüpft. Mutationen im TP53-Gen spielen hier eine Rolle. Bei den HPV-assoziierten PeINs handelt es sich meistens um HPV Typ 16. (**Tabelle 1**) [15,44]

Der extramammäre Morbus Paget des Penis ist dagegen ein seltes, nicht-invasives intraepitheliales Adenokarzinom. [15,44] Der Buschke-Löwenstein-Tumor (Riesen kondylom) ist eine exophytische blumenkohlartige Masse in der genitalen oder anorektalen Region. Er kann lokal invasiv sein. In diesen Tumoren wurden HPV6 und HPV11 gefunden. [14] Die Bowenoide Papulose besteht aus rotbraunen Papeln auf der Eichel oder an der Schafthaut

des Penis. Eine HPV-Infektion wurde in diesen Läsionen ebenfalls festgestellt. [14] Während das Carcinoma in situ des Penisschafts Morbus Bowen heißt, wird das Carcinoma in situ der Vorhaut oder Eichel als Erythroplasie von Queyrat bezeichnet. 10% der Männer entwickeln schließlich ein invasives Plattenepithelkarzinom. [14]

Der Lichen sclerosus präsentiert sich als flache, weiße Flecken auf der Eichel und der Vorhaut und entsteht durch chronische Infektion, Trauma oder Entzündung. Er ist normalerweise asymptomatisch. Selten auftretende Symptome wie brennende, schmerzhafte Erektionen und Juckreiz erfordern eine Behandlung mit topischen Steroiden. Es wird nicht empfohlen, diese Läsion zu exzidieren, da die Rezidivrate hoch ist. Zwei bis neun Prozent der Männer mit dieser Erkrankung entwickeln einen Penistumor. Aufgrund des Malignitätsrisikos ist eine langfristige jährliche Nachsorge erforderlich. [14]

<b>Tabelle 1: Pathologische WHO-Klassifikation der PeIN . [44]</b>	
1. Nicht-HPV assoziierte PeIN	differenzierte PeIN
2. HPV-assozierte PeIN	basaloide PeIN warzige PeIN warzig-basaloide PeIN
3. andere seltene Varianten	pleomorphisch spindelig klarzellig pagetoid

#### 1.4.2. Makroskopie

Die meisten Peniskarzinome entstehen im distalen Penis, am häufigsten an der Glans penis (Eichel), dann im Sulcus coronarius (Penisfurche) (**Bild 1**) und im Präputium (Vorhaut). Eine lokale Ausbreitung des Tumors zwischen diesen Abschnitten ist häufig. Der Penisschaft ist am wenigsten betroffen. [15,44]

Der makroskopische Aspekt des Peniskarzinoms ist abhängig vom histologischen Typ. Die Oberfläche kann blumenkohlförmig, warzenartig, polypoid, pilzförmig, zottig, leicht erhaben, flach oder ulzeriert aussehen. Eine multifokale Entstehung ist nicht selten. Die Schnittfläche ist typisch weiß-grau und fest, manchmal granulär, papillär oder hämorrhagisch. Nekrotische Areale kommen ebenfalls vor. Der Tumor kann exophytisch, endophytisch (**Bild 1,2**) oder exo-endophytisch wachsen. Die Invasionsfront ist scharf oder irregulär begrenzt, mit infiltrativem oder expansivem Wachstum. [15,44]

Das Karzinom kann sich sowohl horizontal als auch vertikal ausbreiten. Die penile Faszie und das Corpus spongiosum sind häufige Wege zur Tumorausbreitung im Gegensatz zum Corpus cavernosum, dessen Beteiligung erst mit fortgeschrittenen Stadien verbunden ist. (**Bild 2**) Eine entsprechende makroskopische und mikroskopische Untersuchung dieser Abschnitte ist entscheidend für die richtige Erstellung der Tumor-Klassifikation. Die Ausbreitung entlang der penilen Faszie - oft in Form einer Perineuralscheideninvasion - ist ein entscheidender Befund beim Zuschnitt, da sie oft eine Ursache für positive Resektionsränder oder lokale Tumorrezidive darstellt. [15,61]



**Bild 1: Makroskopie des Peniskarzinoms:  
Ulzeration in der Glans und im Sulcus**



**Bild 2: Peniskarzinom nach Zuschnitt,  
Infiltration des Corpus cavernosum**

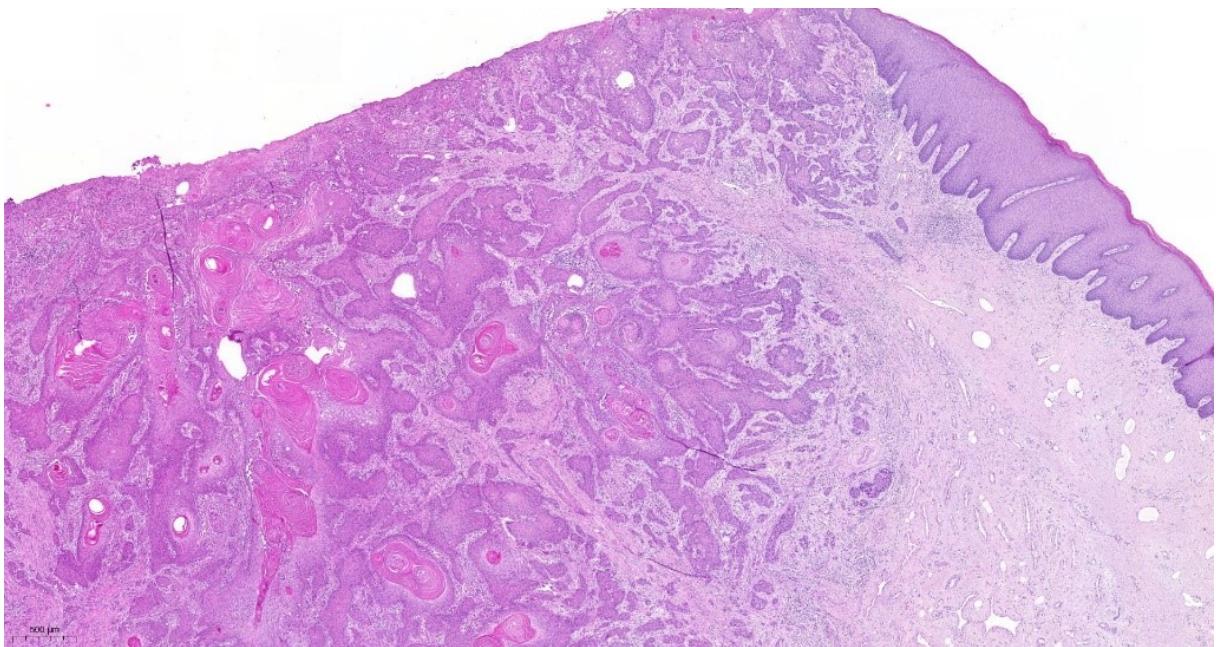
### 1.4.3. Mikroskopie

Die aktuelle histologische Klassifikation der WHO von 2016 basiert grundsätzlich auf der Verbindung des HPV-Status und der klinisch-pathologischen Spezifikationen. Man unterscheidet an erster Stelle zwischen HPV-assoziierten und nicht-HPV-assoziierten Typen (**Tabelle 2**). [44]

Der häufigste histologische Typ mit circa 70–75% aller Fälle ist das „gewöhnliche“ Plattenepithelkarzinom (**Bild 3**), das nach Ausschluss von anderen histologischen Typen diagnostiziert wird. Die Verhornung ist variabel und es kann gut, mäßig oder schlecht differenziert sein. [44]

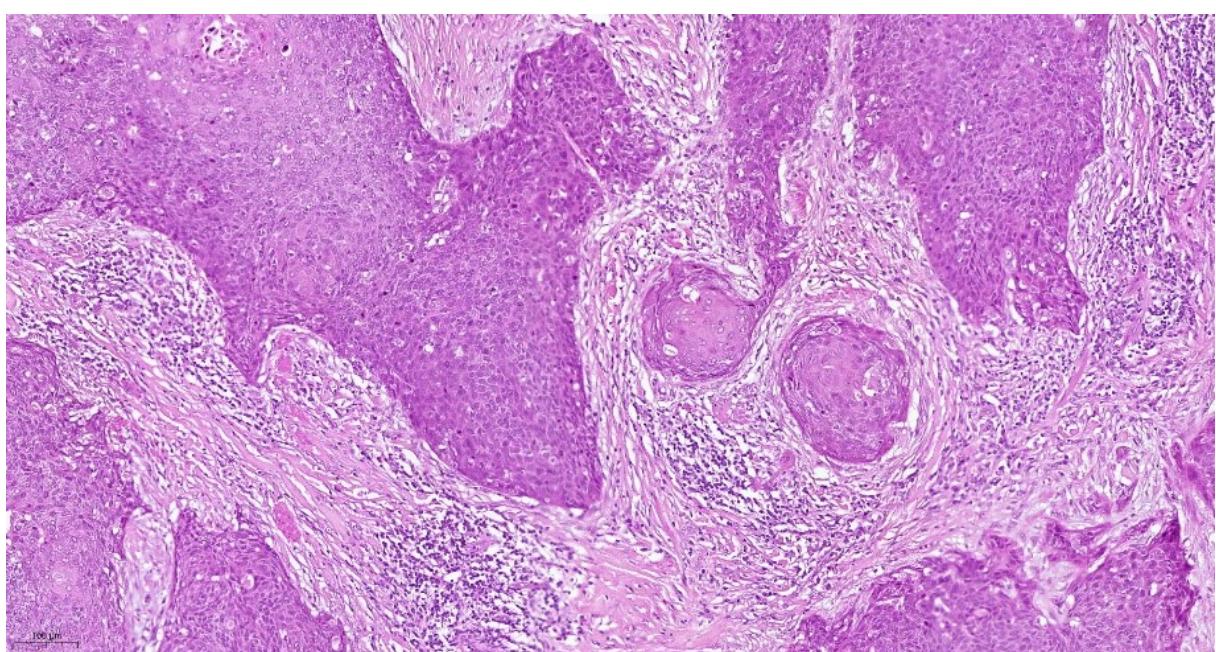
**Tabelle 2: Pathologische WHO-Klassifikation  
des plattenepithelialen Peniskarzinoms. [44]**

A. Nicht HPV-assoziiert
1. Gewöhnliches PEC
2. Pseudohyperplastisches PEC
3. Pseudoglanduläres PEC
4. Verruköses PEC - Rein-verruköses Karzinom - Carcinoma cuniculatum
5. Papilläres PEC NOS
6. Adenosquamöses Karzinom
7. Sarkomatoides PEC
8. Mischdifferenziertes Karzinom
B. HPV-assoziiert
9. Basaloides PEC - Papillär-basaloides Karzinom
10. Warziges PEC
11. Warzig-basaloides PEC
12. Klarzelliges Karzinom
13. Lymphoepitheliom-ähnliches Karzinom
C. Andere seltene Karzinomen



**Bild 3: Gewöhnliches PEC\_2.0x**

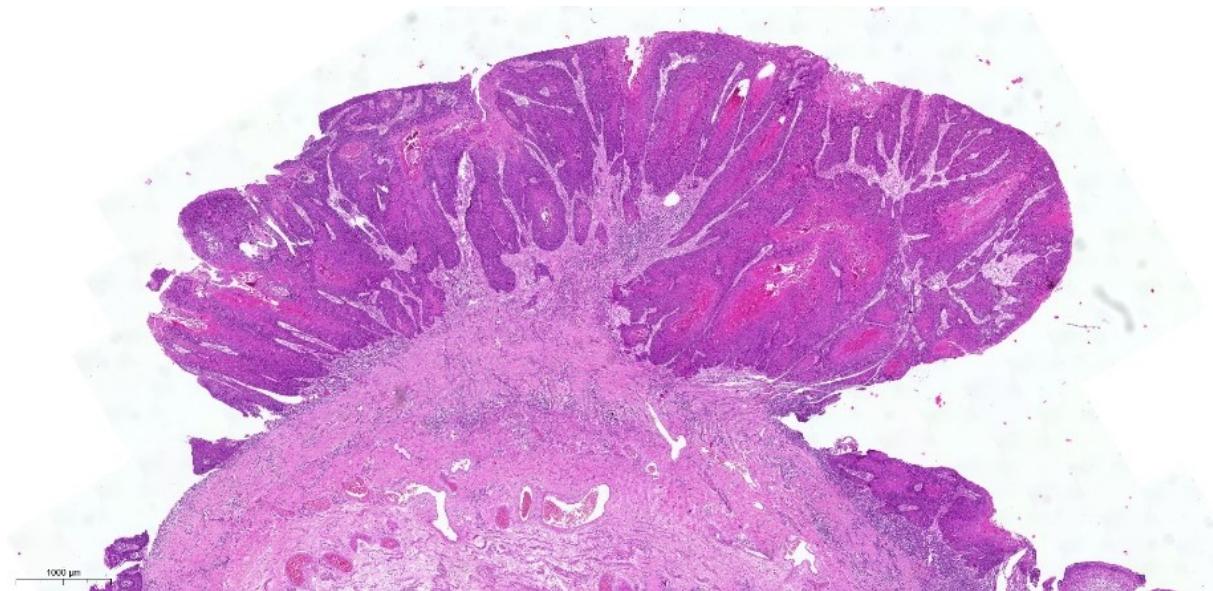
Der mit ca. 5-10% zweithäufigste (und gleichzeitig der häufigste HPV-assoziierte) Typ ist der basaloide Typ (**Bild 4**). Solide Zellnester mit zentralen komedoartigen Nekrosen sind charakteristisch für diesen Typ. Die Zellen sind basophil mit spärlichem Zytoplasma. Es ist insgesamt ein schlecht differenzierter Tumor, der typischerweise p16-exprimiert. [15,17]



**Bild 4: Basaloides PEC\_10.0x**

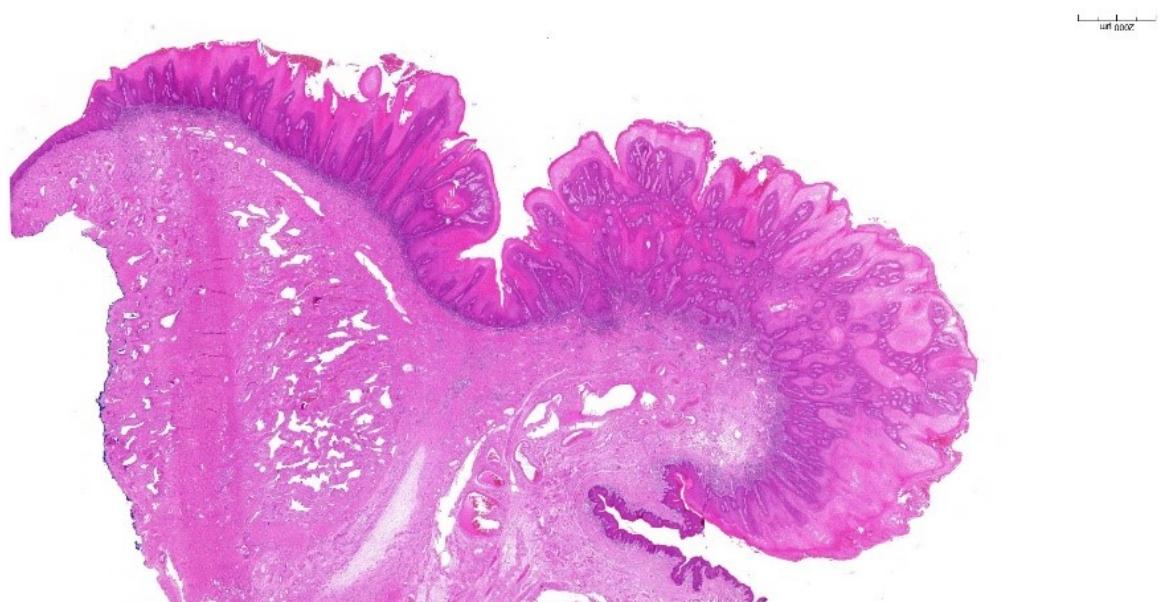
Eine ähnliche Häufigkeit hat auch der mäßig differenzierte warzige Typ (**Bild 5**), der typische lange kondylomatöse Papillen mit prominentem fibrovaskulärem Kernstück zeigt. Dies unterscheidet ihn vom gut differenzierten verrukösen Typ. Hyperkeratose und Parakeratose treten ebenfalls vermehrt auf. Die wichtigsten Merkmale des warzigen Typs sind jedoch die

nukleäre Pleomorphie sowie die Koilozyten (**Bild 8**), die ihn vom ähnlichen, gut differenzierten papillären Plattenepithelkarzinom unterscheiden lässt. Das warzige Karzinom hat im Unterschied zum Condyloma acuminatum ein invasives Wachstumsmuster und die Assoziation mit Hochrisiko-HPV-Typen. [15,44]



**Bild 5: Warziges PEC\_1.5x**

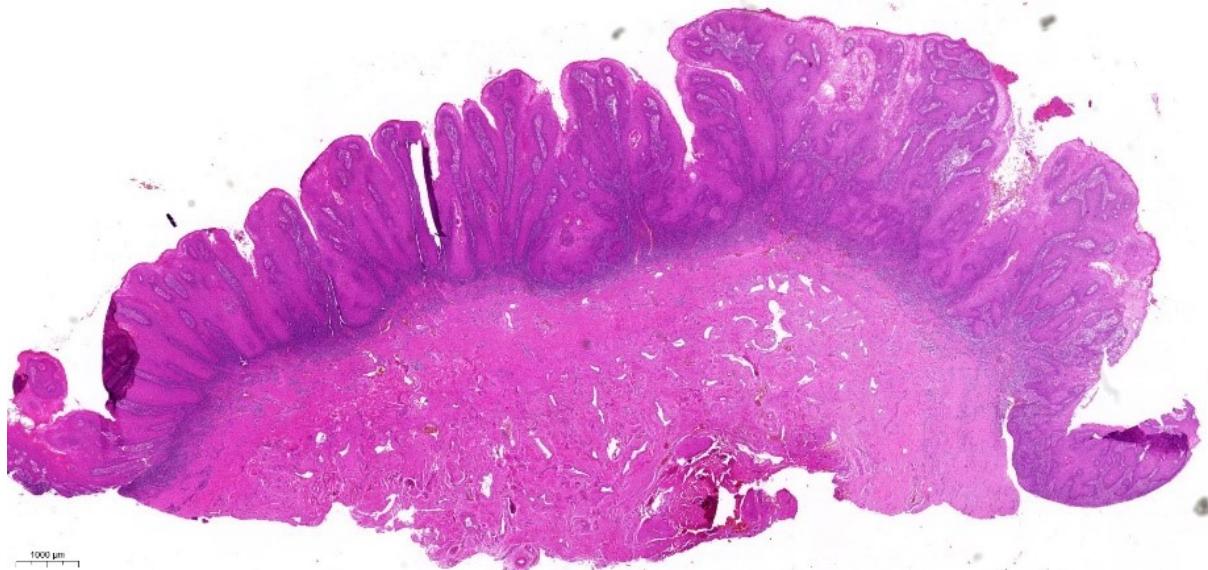
Das verruköse Karzinom (**Bild 6**) ist ein gut differenziertes Karzinom, das typischerweise nicht HPV-assoziiert entsteht. [61] Ein wichtiges histologisches Tumorkriterium des verrukösen Karzinoms ist die Tumorbasis, an der die Tumorzellen ein verdrängendes Wachstumsverhalten zeigen und kein netzartig-infiltratives Muster. Dieses spezifische Wachstumsverhalten dieser Entität wird sogar in tief-invasiven Tumoren aufrechterhalten und resultiert im Subtyp eines Carcinoma cuniculatum. [15,44]



**Bild 6: Verruköses PEC\_0.6x**

Das Carcinoma cuniculatum ist ein Subtyp des verrukösen Karzinoms mit labyrinthartigem Wachstumsmuster, das an die Tunnel eines Kaninchenbaus erinnert („cuniculus“ =lat. für Kaninchen). [44]

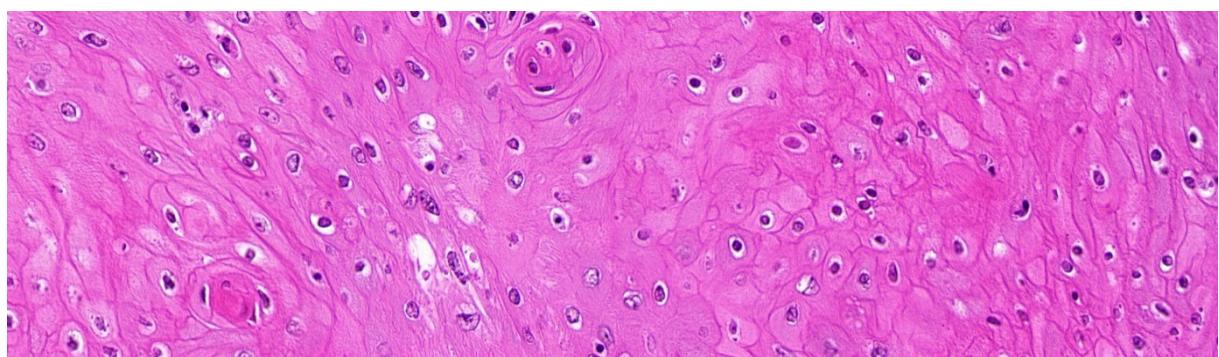
Das papilläre Karzinom (**Bild 7**) ist ein gut differenzierter Tumor mit warzenförmigen Aspekt und Keratinisierung, jedoch ohne Koilozytose. Die Grenzen zwischen Tumor und Stroma sind schlecht abgrenzbar. Es wird nach Ausschluss von verrukösen und warzigen Typen diagnostiziert. [44] Tabelle 3 zeigt die Unterschiede zwischen den warzenförmigen Typen .[10]



**Bild 7: Papilläres PEC\_1.0x**

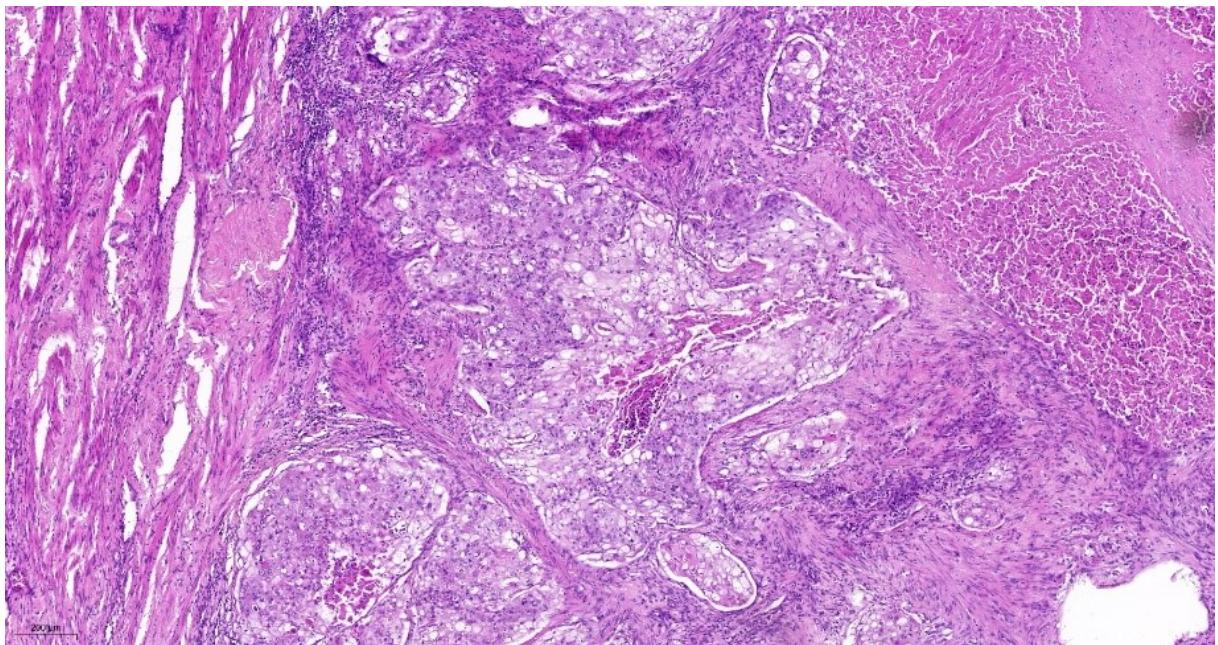
**Tabelle 3: Eigenschaften der warzenförmigen Penistumoren [10]**

Warzenförmige Penistumoren	HPV	Basis	Oberfläche	Koilozytose
Verruköses Karzinom	nein	breit, schiebend	papillär	keine
Carcinoma cuniculatum	nein	tiefe Einstülpungen	papillär	keine
Condyloma acuminatum/ Riesekondylom	Niedrigrisiko-HPV	Keine Invasion, gutartiger Tumor	papillär	oberflächlich
Warziges Karzinom	Ja (HPV 16–18)	unregelmäßig, infiltrativ	papillomatös	durchgehend
Papilläres Karzinom	selten	schlecht abgrenzbar	papillär	keine



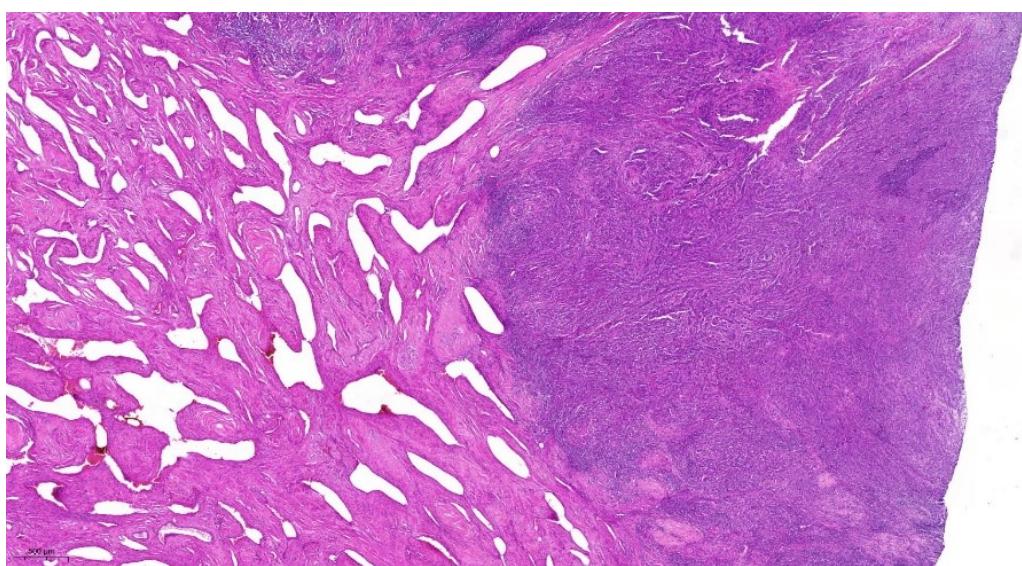
**Bild 8: Koilozytose\_30.0x**

Das klarzellige Karzinom (**Bild 9**) ist ein Plattenepithelkarzinom mit sehr hellem, glykogenreichem Zytoplasma und immunhistologischer Positivität für p16. [12,15]



**Bild 9: Klarzelliges PEC\_5.0x**

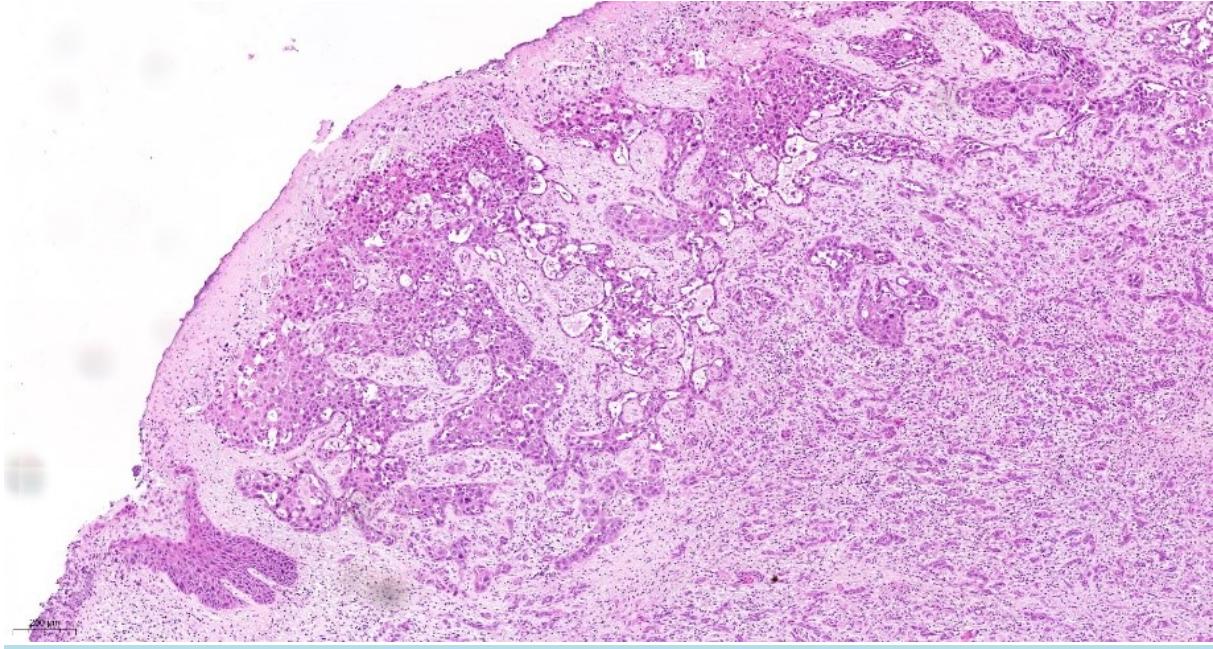
Das Lymphoepitheliom-ähnliche Karzinom (**Bild 10**) hat ein dichtes lymphatisches Stroma und ähnelt morphologisch damit den lymphoepithelialen Karzinomen des Nasopharynx und des Magens. Es ist allerdings nicht mit einer Epstein-Barr-Virusinfektion assoziiert, sondern typischerweise HPV-positiv. [15]



**Bild 10: Lymphoepitheliales PEC\_2.0x**

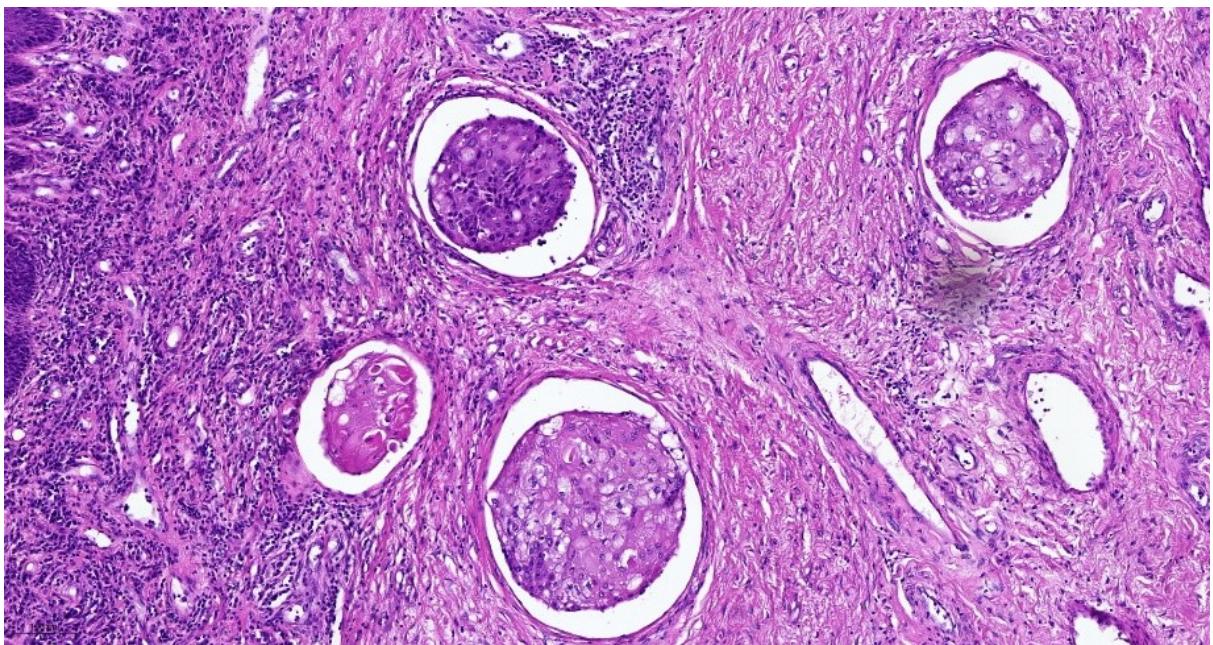
Das pseudohyperplastische Karzinom ist gut differenziert und nicht HPV-assoziiert. Es ist typischerweise an der Vorhaut lokalisiert und mit einem Lichen sclerosus assoziiert. Allerdings ist die Abgrenzung zu einer entzündlich reaktiven Plattenepithelhyperplasie manchmal schwierig. [15]

Das pseudoglanduläre Karzinom (**Bild 11**) ähnelt bei schwacher Mikroskop-Vergrößerung einer Honigwabe. [44]



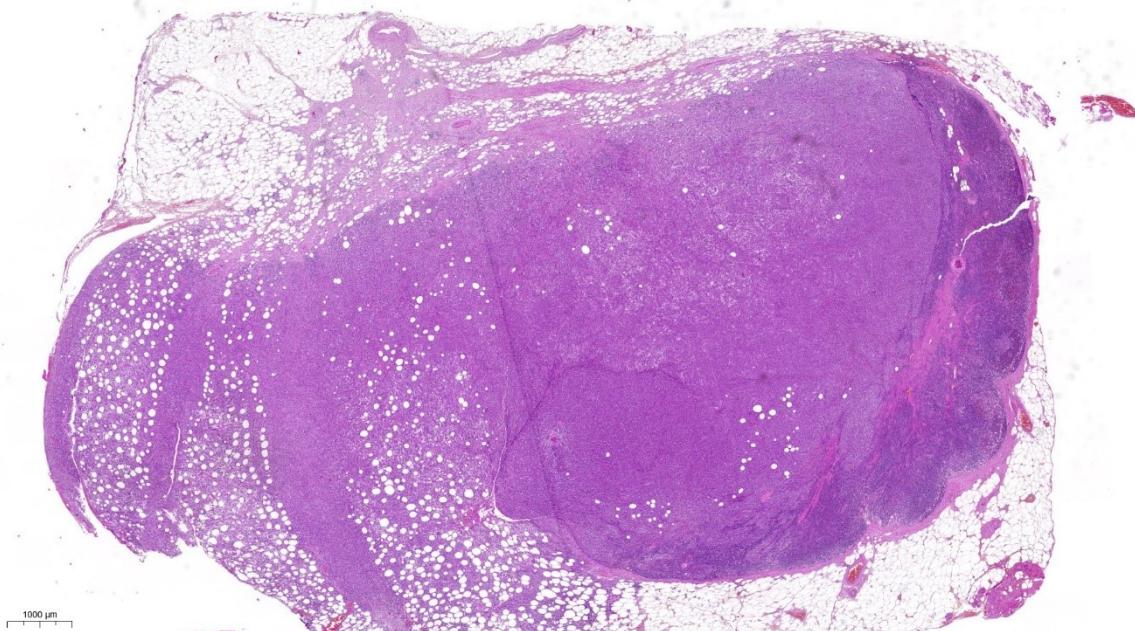
**Bild 11:** Pseudoglanduläres PEC\_5.0x

Das Vorhandensein oder Fehlen einer Perineuralscheideninvagination sollte im histopathologischen Bericht erwähnt werden, da dies ein prognostischer Parameter für inguinale Lymphknotenmetastasen zu sein scheint. Auch eine Suche nach lymphvaskulärer Infiltration (**Bild 12**) ist wichtig für die pT-Klassifikation. [15,63]



**Bild 12:** Angioinvasion \_10.0x.

Eine sorgfältige Untersuchung der Lymphknoten nach Lymphknotenmetastasen (**Bild 13**) ist entscheidend für die pN-Klassifikation. [15,63]



**Bild 13: Lymphknotenmetastase mit extrakapsulärer Ausbreitung\_1.0x.**

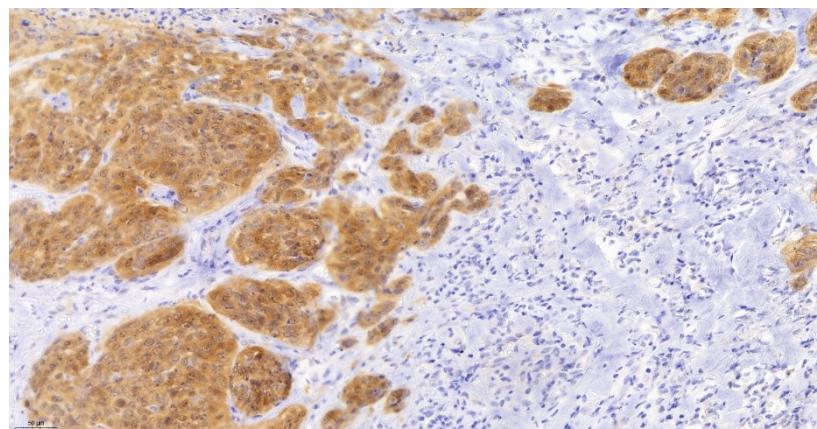
#### 1.4.4. Immunhistochemie

##### p16

Bei der HPV-abhängigen Karzinogenese kommt es zur Überexpression von 2 viralen Onkogenen (E6 und E7), welche durch nachfolgende Ausschaltung der Tumorsuppressorproteine p53 und (RB)-E2F die Zelldifferenzierung, Proliferation und Apoptose beeinflussen. Als Folge der Ausschaltung der oben genannten Tumorsuppressoren kommt es zur starken Hochregulation des zellulären Tumorsuppressors p16<sup>INK4A</sup> in den HPV-infizierten Epithelzellen, was zu einer positiven p16-Immunhistochemie führt. [42]

Die Mehrzahl der HPV-bedingten Tumoren kann durch routinemäßige Hämatoxylin-Eosin-Färbung (H&E-Färbung) identifiziert werden. P16 ist jedoch eine kostengünstige und praktische Färbung zur Identifizierung der meisten HPV-abhängigen Neoplasien.

[11]



**Bild 14: positive p16-Immunhistochemie\_20.0x**

Die höchste Positivität wurde bei basaloiden und gemischt-basaloiden Karzinomen gefunden (**Bild 14**). Zwischenraten waren bei warzigen und gewöhnlichen Karzinomen vorhanden. Es wurde keine Assoziation mit papillären, sarkomatoiden, verrukösen, und

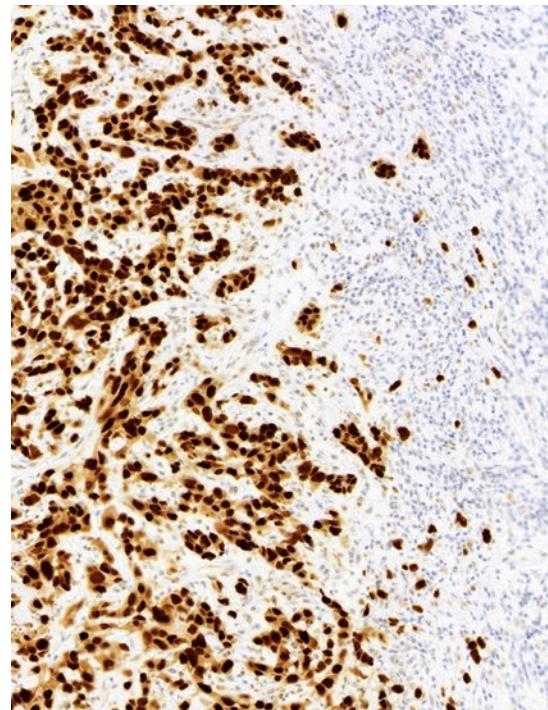
pseudohyperplastischen Karzinomen gefunden. Eine mögliche hilfreiche Situation zum Einsatz der p16-Immunhistochemie ist die Unterscheidung zwischen niedriggradigen warzigen Karzinomen (p16-positiv) und papillären Karzinomen (p16-negativ). Laut einer Umfrage unter ISUP-Mitgliedern (Internationale Gesellschaft für Uropathologie) verwenden ca. 60% der Pathologen p16 als Hilfe bei der Diagnose von Penistumoren. [12]

### **p53**

Das Tumorsuppressorgen TP53, welches im kurzen Arm des Chromosoms 17 lokalisiert ist, weist bei bis zu 50% aller adulten soliden Tumoren eine Mutation auf. [50]

Das Genprodukt von TP53 ist der nukleäre Transkriptionsfaktor p53. Durch die Mutation von TP53 kommt es zur Akkumulation des Proteins im Zellkern, die dann auch immunhistochemisch nachgewiesen werden kann. Eine erhöhte immunhistochemische Expression von p53 korreliert bei verschiedenen Karzinomen wie beim Nierenzellkarzinom mit einer ungünstigen Prognose. [46]

Bei einer HPV-Infektion wird p53 durch das Onkogen E6 inaktiviert, was folglich zu dessen Degradation führt. [8] Für das Peniskarzinom lassen sich sowohl Mutation als auch Überexpression von p53 in 26–91% der Fälle nachweisen (**Bild 15**), so dass es hier neben dem HPV-abhängigen auch einen HPV-unabhängigen Signalweg gibt (z.B. über Lichen sclerosus), der dann u. a. eine Alteration bzw. Mutation von TP53 beinhalten kann. [42]



**Bild 15:** positive p53-Immunhistochemie  
\_10.0x

### **1.4.5. Molekularpathologie**

Im Peniskarzinom finden sich häufig Heterozygotieverluste („loss of heterozygosity“, [LOH]) in der Nähe von Tumorsuppressorgenen (2q, 6p, 8q, 9p, 12q, 17p13), ebenso in korrespondierenden Lymphknotenmetastasen (3p, 6p, 6q, 8q, 9p, 11q, 12q, 15q, 17p, 18q). Besonders häufig sind Allelverluste in den Regionen 9p21 und 17p, die die Tumorsuppressorgene P16 beziehungsweise TP53 kodieren. Bei den viral induzierten Tumoren erfolgt die Inaktivierung von p16 und p53 durch die HPV-Onkogene E6 und E7. P16-Promotor-Hypermethylierung und LOH-Verluste sowie Veränderungen auch anderer Tumorsuppressorgene (KAI1, nm23H1) sind mit Metastasierung assoziiert. Eine prognostische Bedeutung von TP53-Alterationen ist jedoch noch nicht eindeutig geklärt. [20,42]

### **Biomarker der epigenetischen Modifikation**

Die Hypermethylierung des CDKN2A-Genpromoters ist beim Peniskarzinom in bis zu 42% der Fälle nachweisbar. Der CDKN2A-Lokus kodiert zwei Tumorsuppressorproteine (p16<sup>INK4A</sup> und p14<sup>ARF</sup>), wobei die Hypermethylierung von CDKN2A bei HPV-negativen Peniskarzinomen eine

fehlende oder lediglich schwache p16-Expression zeigt. Die epigenetische Inaktivierung der Promoterregion des Thrombospondin-1(TSP-1)-Gens führte in einer kleineren Serie an 24 Patienten zu einem Anstieg der Gesamt mortalität. [42]

Eine grosse Anzahl von HPV-Tests verwendet die PCR-basierte Amplifikation von HPV-DNA Zielsequenzen, hauptsächlich im Bereich des L1 Gens. Die Amplifikation erfolgt mit Konsensusprimern, die mehrere HPV-Typen amplifizieren. Die häufigsten, durch PCR nachgewiesenen HPV-Serotypen sind HPV 16, 18, 31, 33, 45, 56 und 65. Die Sensitivität der p16-Immunhistochemie zum Nachweis von Hochrisiko-HPV beträgt 84% im Vergleich zur PCR, trotzdem wird sie als erste Untersuchung empfohlen. [11,64]

### Aktuell im Fokus stehende molekulare Therapietargets

Gerichtete systemische Therapieansätze gegen folgende molekulare Signalwege werden aktuell als potentiell erfolgversprechend beim Peniskarzinom angesehen: „programmed cell death-1“ (PD-1)/PD-1-Ligand(PD-L1), „epidermal growth factor receptor“ (EGFR), „vascular endothelial growth factor“ (VEGF), HPV-E6/E7, und „human epidermal growth factor receptor“ (HER/AKT/ PTEN). [16,42]

#### 1.4.6. WHO-Grading

Die aktuelle WHO-Klassifikation des Peniskarzinoms schreibt kein spezifisches Gradiingsystem vor. Die meisten Pathologen verwenden heute ein dreistufiges System. Die am häufigsten eingestzte Graduierung ist wie folgt: [15,44]

**WHO-G1-Tumoren (gut differenziert)** zeigen eine starke Verhornung und Reifung der Tumorzellen. Nukleare Atypien sind minimal oder fehlen. Diese Tumoren wachsen in großen Nestern. Der Grad des verrukösen Karzinoms mit einer minimalen Abweichung von der Histologie des normalen Plattenepithels kann als Modell für Tumoren des Grades 1 verwendet werden.

**WHO-G2-Tumoren (mäßig differenziert)** sind in ihren histologischen Merkmalen denen von Karzinomen des Grades 1 und 3 zwischengeordnet. Sie wachsen in unregelmäßigen Nestern mit offensichtlicher Verhornung und teilweiser Zellreifung. Die nukleäre Atypie ist moderat.

**WHO-G3-Tumoren (schlecht differenziert)** sind normalerweise solide oder trabekulär. Sie zeigen eine geringe Verhornung und bestehen überwiegend aus unreifen Zellen. Die Zellen sind pleomorph und zeigen zahlreiche Mitosen. Basaloide und sarkomatoide Karzinome sind prototypische Beispiele für WHO-G3-Tumoren. Der Prozentsatz an anaplastischen Zellen beeinflusst das Risiko einer Lymphknotenmetastasierung. [10]

Es gibt eine allgemeine Korrelation zwischen dem histologischen Grad und den Subtypen von Penis-Plattenepithelkarzinomen (**Tabelle 4**). Die Mehrzahl der verrukösen, papillären NOS-, Cuniculatum- und pseudohyperplastischen Karzinome sind gut differenzierte (WHO-G1) Tumoren. Sarkomatoide, pseudoglanduläre, lymphoepitheliomartige, klarzellige und basaloidale Karzinome sind normalerweise schlecht differenziert (WHO-G3). Ein Beispiel für einen Tumor, der normalerweise in die Kategorie „WHO-G2“ eingestuft wird, ist das warzige Karzinom (kondylomatöses Karzinom). [10]

**Tabelle 4: Graduierung des Penis-PECs im Bezug zu den histologischen Subtypen. [10]**

WHO-G1	WHO-G2	WHO-G3	Variabel
Verruköses PEC	Warziges PEC	Pseudoglanduläres PEC	Gewöhnliches PEC
Carcinoma cuniculatum		Lymphoepitheliom-ähnliches Karzinom	Adenosquamöses Karzinom
Pseudohyperplastisches PEC		Basaloïdes PEC	Mischdifferenziertes Karzinom
Papilläres PEC NOS		Klarzelliges Karzinom	
		Sarkomatoides PEC	

#### 1.4.7. Lymphknotenmetastasen

Ungefähr 20% der Patienten haben zum Zeitpunkt der Diagnose tastbare Leistenlymphknoten. [45] Die diagnostische Beurteilung regionaler Lymphknoten beschränkt sich in der Regel auf die klinische Untersuchung (Feststellung tastbarer Leistenlymphknoten). Bei adipösen Patienten kann die klinische Differenzierung jedoch schwierig sein. In dieser Situation ist eine Ultraschalluntersuchung der Leistenlymphknoten von Vorteil. In einigen Zentren wird die Sentinel-Technik angewandt, um das Ausmaß der inguinalen Dissektion festzulegen. [20]

Das Peniskarzinom metastasiert lymphogen auch in frühen Stadien. Die hämatogene Metastasierung geschieht meist erst in fortgeschrittenen Fällen. Die Suche nach Lymphknotenmetastasen hat großen Einfluss auf die Prognose. Patienten ohne regionäre inguinale Metastasen haben eine sehr gute Überlebensrate (91,7% nach 3 Jahren bei cN0), während sie bei ausgeprägter Lymphknotenmetastasierung schlecht ist (38,3% nach 3 Jahren bei cN3). [54] Demzufolge ist eine sorgfältige histopathologische Aufarbeitung der Präparate notwendig. Im Falle tumorfreier Lymphknoten sollte der histopathologische Befundbericht auch reaktive Veränderungen erwähnen, die eine klinisch nachweisbare Lymphknotenvergrößerung oder eine Auffälligkeit mit bildgebenden Methoden (insbesondere Positronen-Emission-Tomographie, PET) verursacht haben könnten. Bei Nachweis von Lymphknotenmetastasen sollten die Anzahl, der Durchmesser der größten Metastase und die Beziehung zur Lymphknotenkapsel im Befundbericht enthalten sein, da diese Parameter die Prognose beeinflussen. Wenn möglich, sollte auch für die inguinalen Lymphknotenmetastasen eine Aussage zum Resektionsrand gemacht werden. [14,15]

#### 1.4.8. TNM Klassifikation und Staging

Das TNM-System (englische Abkürzung für „tumour, node, metastasis“) enthält 3 Komponenten der Tumorausbreitung: T für die Ausbreitung des Primärtumors, N für die Ausbreitung in die regionären Lymphknoten und M für die Fernmetastasen. Diese Klassifikation hilft dem Klinker bei der Behandlungsplanung und Prognoseschätzung. Man unterscheidet zwischen der klinischen, meistens prätherapeutischen cTNM-Klassifikation und der postoperativen histopathologischen pTNM-Klassifikation. [63]

Die TNM-Klassifikation des Peniskarzinoms (**Tabelle 5**) zeigt einige Besonderheiten. Die pT1-Kategorie wird weiter unterteilt in pT1a und pT1b. Im Gegensatz zu anderen Organen mit Schleimhautoberflächen ist hierfür jedoch nicht die Infiltrationstiefe entscheidend, sondern

der Nachweis einer Lymphgefäßinvasion oder einer schlechten histologischen Differenzierung. [15,63] Da die Unterscheidung zwischen pT1a und pT1b unter Umständen erheblichen Einfluss auf die weitere Therapie des Peniskarzinoms haben kann, wird vom Pathologen diesbezüglich eine besondere Sorgfalt bei der Aufarbeitung und Untersuchung der Gewebeproben gefordert. Ein pT1-Tumor sollte komplett für die Histologie eingebettet werden und es sollte gezielt, gegebenenfalls auch mit immunhistologischen Methoden, auf eine Lymphgefäßinvasion geachtet werden. [15]

In der aktuellen Ausgabe der TNM-Klassifikation von 2017 wird im Vergleich zur vorangegangenen Auflage in der pT-Klassifikation zwischen einer Infiltration des Corpus spongiosum (pT2) und einer Infiltration der Corpora cavernosa (pT3) unterschieden. [15] Dies berücksichtigt die unterschiedliche prognostische Wertigkeit der Tumorinfiltration dieser beiden Schwellkörper-kompartimente. Die Infiltration der penilen Harnröhre hat dagegen in der aktuellen Klassifikation keinen Einfluss auf die pT-Kategorie mehr. [15]

**Tabelle 5: Die pathologische TNM-Klassifikation des Peniskarzinoms 2017. [63]**

pT- Primärtumor	
pTx	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
pT0	kein Anhalt für Primartumor
pTis	Carcinoma in situ
pTa	Nichtinvasives verruköses Karzinom
pT1	Tumor infiltriert subepithiales Bindegewebe
pT1a	Tumor infiltriert subepithiales Bindegewebe, keine lymphovaskuläre Infiltration, nicht schlecht differenziert/undifferenziert
pT1b	Tumor infiltriert subepithiales Bindegewebe, mit lymphovaskulärer Infiltration, oder schlecht differenziert/undifferenziert
pT2	Tumor infiltriert Corpus spongiosum
pT3	Tumor infiltriert Corpus cavernosum
pT4	Tumor infiltriert andere Nachbarstrukturen
pN- Regionäre Lymphknoten	
pNx	Regionäre Lymphknoten nicht beurteilbar
pN0	Keine regionären Lymphknotenmetastasen
pN1	Metastase(n) in einem oder zwei Leistenlymphknoten
pN2	Metastasen in mehr als zwei unilateralen inguinalen oder bilateralen Leistenlymphknoten
pN3	Metastase(n) in Beckenlymphknoten (uni- oder bilateral), oder extranodale Ausbreitung regionärer Lymphknotenmetastasen
pM- Fernmetastasen	
pM0	Keine Fernmetastasen
pM1	Fernmetastasen

Im pathohistologischen Befund sollte dennoch vermerkt werden ob-, und gegebenenfalls wie (z.B. Carcinoma in situ) die Urethra in das Tumorgeschehen einbezogen ist. Der abschließende histopathologische Bericht erfordert somit eine Integration aller Gewebeproben und Untersuchungstechniken zur korrekten Tumorklassifikation einschließlich dem Residualtumorstatus (R-Klassifikation). [15]

**Tabelle 6: Stadien des Peniskarzinoms. [63]**

Stadium 0	Tis	N0	M0
	Ta	N0	M0
Stadium I	T1a	N0	M0
Stadium IIA	T1b, T2	N0	M0
Stadium IIB	T3	N0	M0
Stadium IIIA	T1, T2, T3	N1	M0
Stadium IIIB	T1, T2, T3	N2	M0
Stadium IV	T4	Jedes N	M0
	Jedes T	N3	M0
	Jedes T	Jedes N	M1

## 1.5. Therapieoptionen

### Stadiengerechte Therapie

Grundsätzlich gilt für die operative Therapie des Peniskarzinoms, dass so viel Organerhalt wie möglich und so viel Radikalität wie nötig angestrebt werden soll. Der Erfolg jeder Therapie sollte durch eine histologische Untersuchung gesichert werden. [20,21,38]

**pTis, pTa:** Peniskarzinome, die auf das innere Vorhautblatt beschränkt sind, werden durch „radikale Zirkumzision“ behandelt. Bei oberflächlichen, auf das Epithel beschränkten Tumoren der Glans (pTis, pTa) sollte die Glans erhalten werden. Das Carcinoma in situ (pTis) kann mit topischer Therapie in der Hälfte der Fälle erfolgreich therapiert werden. Dies kann mittels fokaler Chemo- oder Immuntherapie, Laserablation, Strahlentherapie oder operativ erfolgen. Ausführliche Beratung und Beachtung des Patientenwunsches sind wichtig für die Auswahl der Therapie. [20,21,38]

**pT1-4:** Für die verschiedenen Stadien invasiver Peniskarzinome gibt es unterschiedliche operative Verfahren. Invasive Glanustumoren (pT1, pT2) werden durch lokale Exzision, Glansteilresektion oder Glansamputation behandelt. Eine kosmetisch zufriedenstellende Glansrekonstruktion mit Spalthaut oder Mundschleimhaut ist möglich. Größere Tumoren mit Invasion des Corpus spongiosum (pT2) oder der Corpora cavernosa (pT3) erfordern eine Penisteilamputation. Ausgedehnte Tumoren (pT4) erfordern hingegen eine weitergehende Amputation oder eine radikale Penektomie mit kompletter Entfernung der Schwellkörper. Rekonstruktive Verfahren sind in fortgeschrittenen Fällen schwierig und nur im Intervall sinnvoll, falls eine kurative Situation besteht. [20,21,38]

### Chirurgische Resektionsränder

Da ein Lokalrezidiv per se das Leben des Patienten kaum gefährdet, sondern erneut lokal kurativ therapiert werden kann, wird heute die Strategie knapper-, aber eindeutig negativer Schnittränder verfolgt, um die Lebensqualität möglichst zu erhalten. Leitlinien empfehlen, dass die Breite des negativen Schnittrandes am Grading bemessen werden sollte (1 mm bei WHO-G1 und 5 mm bei WHO-G3). [20,21,38]

Bei den Penisteilresektaten gilt es zu berücksichtigen, dass die Corpora cavernosa und das Corpus spongiosum oft in unterschiedlichen Ebenen reseziert werden, um durch eine Rekonstruktion der urethralen Ausflussbahn dem Patienten die Miktion zu erleichtern. Diese Tatsache erfordert deshalb auch unterschiedliche Schnittebenen bei der pathologischen Beurteilung der Resektionsränder.

Die histopathologische Beurteilung der Resektionsränder ist aktuell durch die Organerhaltenden Techniken noch komplexer geworden und erfordert oft multiple biopsieartige Gewebeproben, die dann in Form einer intraoperativen Schnellschnittuntersuchung beurteilt werden müssen. [15]

### Therapie bei Lymphknotenmetastasen (pN+)

Problematisch ist die Behandlung bei klinisch unauffälligen inguinalen Lymphknoten, da abhängig vom lokalen Stadium und Differenzierungsgrad in bis zu 20–25% der Fälle eine inguinale lymphogene Mikrometastasierung (0,2 – 2 mm Größe) vorliegt. Unbehandelt führt

dies innerhalb von 1–2 Jahren zu einem regionären Lymphknotenrezidiv, das mit einer erheblichen Prognoseverschlechterung (Langzeitüberleben < 40%) einhergeht.

Bildgebende Verfahren sind zur Detektion von Lymphknotenmetastasen unter 1 cm Größe nicht sehr hilfreich. Es wird deshalb ab dem Stadium pT1 und Grad G2–3 eine invasive Diagnostik klinisch unauffälliger inguinaler Lymphknoten durchgeführt. Hierzu kommen zwei Verfahren zur Anwendung: die dynamische Sentinel-Lymphknotenbiopsie (DSNB) oder die (diagnostische) modifizierte inguinale Lymphknotendissektion. [20,21,38]

Bei palpatorisch auffälligen Leistenlymphknoten sind eine operative Entfernung, eine histologische Sicherung mithilfe des Schnellschnitts und bei positivem Befund eine radikale inguinale Lymphadenektomie indiziert. Bei Befall von zwei oder mehr Lymphknoten auf einer inguinalen Seite wird zusätzlich eine ipsilaterale pelvine Lymphadenektomie notwendig. [20,21,38]

### **Chemo- und Strahlentherapie**

Lokal fortgeschrittene Tumorstadien können mit palliativer Intention radikal operativ oder strahlentherapeutisch behandelt werden. Bei großen inguinalen Lymphknotenpaketen (cN3) kann eine neoadjuvante oder adjuvante Chemotherapie das Langzeitüberleben verbessern. Lediglich für die adjuvante Bestrahlung des Beckens nach Ausräumung pelviner Lymphknotenmetastasen wurde ein geringfügiger Überlebensvorteil berichtet. [9] Eine palliative Chemotherapie kann bei systemischer Metastasierung (am häufigsten Lunge, Leber, Hirn) eine begrenzte Lebenszeitverlängerung erreichen. Peniskarzinome können grundsätzlich strahlentherapeutisch mittels perkutaner Radiotherapie oder fokaler Brachytherapie behandelt werden. [20,21,38] Der potenzielle Vorteil einer Strahlentherapie besteht im morphologischen Organerhalt, wobei funktionelle Strahlenfolgen für die Schwellkörperfunktion und die Miktion aufgrund häufiger Meatusstenosen (10–35%) unvermeidlich sind. Eine lokale Strahlentherapie wird als Option bis zu einer maximalen Tumogröße von 4 cm in den Stadien T1 und T2 empfohlen. [20,21,38]

### **HPV-Karzinogenese und Impfung**

In Analogie zur Impfung von Mädchen kann angenommen werden, dass eine HPV-Impfung von Jungen der späteren Entwicklung von Peniskarzinomen und Analkarzinomen zum Teil vorbeugen kann. [20]

## **1.6. Verlauf und Prognose**

Populationsbasierte Analysen aus Europa und den USA haben gezeigt, dass es im Gegensatz zu anderen Tumorerkrankungen seit 1990 keinerlei Verbesserungen in den tumorspezifischen Überlebensraten beim Peniskarzinom gegeben hat. [20]

### **Behandlungsergebnisse und Prognose**

Das relative 5-Jahres-Gesamtüberleben beträgt für pTis/pTa-Tumoren 97%, für pT1 90%, für pT2 66% und für pT3 55%, bei Lymphknoten-positiven Patienten (pN1–3) 46%. Die Prognose bleibt gut, wenn die begrenzte lymphogene Metastasierung adäquat therapiert wird. [15] Ein Lokalrezidiv ist meist gut behandelbar und verschlechtert die Überlebensprognose nur geringfügig. Kommt es zu einem Lymphknotenrezidiv, verschlechtert sich das tumorspezifische Überleben auf unter 40%. Eine ausgedehnte Lymphknotenmetastasierung kann nur im Falle eines guten Ansprechens auf eine neoadjuvante Chemotherapie geheilt

werden. Systemisch metastasierte Fälle bleiben infaust. [20,41] Insbesondere die inguinale Lymphknotenentfernung zieht eine Morbidität in Form von Lymphödemen, Lymphozelen und Wundheilungsstörungen nach sich. Minimal invasive operative Verfahren der inguinalen Lymphadenektomie (Laparoskopie, roboterassistiert) gehen mit niedrigerer Morbidität einher. [20]

### **Prognostische Faktoren**

Der histologische Tumortyp, die TNM-Klassifikation, der Differenzierungsgrad und die Perineuralscheideninvasion sind die wichtigsten pathologischen Prognosefaktoren beim Peniskarzinom. Der pN-Status hat eine entscheidende Bedeutung für die Prognose. In immunhistologischen Untersuchungen zeigte sich, dass eine p16-Expression mit einer besseren Prognose assoziiert ist, während der Nachweis einer mutationstypischen p53-Expression prognostisch ungünstig zu sein scheint. [18,19,20] Es ist zu erwarten, dass weitere Forschungen in der molekularen Pathologie und Tumormmunologie des Peniskarzinoms zur Entwicklung vielversprechender Marker hinsichtlich der Prognose und dem Ansprechen auf eine zielgerichtete Therapie oder Immunmodulation führen werden. [20]

## **1.7. Zelluläres Dissoziations-Grading (CDG)**

### **1.7.1. Definitionen**

Es wurde ein neuartiges histopathologisches Bewertungssystem untersucht, welches auf der Knospung von Tumorzellen (Tumor-Budding) und der Größe der Zellnester basiert und als "The Cellular Dissociation Grade" (CDG) (Der zelluläre Dissoziations-Grad) bezeichnet wurde. Dafür wurde ein Scoring-System für das Tumor-Budding (Knospung) sowie für die Zellnestgröße entwickelt, wobei der zelluläre Dissoziationsgrad nach der Summe beider Scores bewertet wird. [6,7,29]

Tumorknospung (Tumor-Budding) wird als Verzweigung kleiner Tumornester mit <5 Tumorzellen in das umgebende Parenchym / Stroma definiert. Zur histopathologischen Bewertung der Tumor-Knospungsaktivität wird nach der höchsten Knospungsaktivität in einem hochauflösenden Gesichtfeld (HPF) gesucht, wobei der Felddurchmesser des HPFs 0,55mm beträgt und der Flächeninhalt 0,238mm<sup>2</sup>. [36]

Vom Tumorstroma umgebene Tumorzellen-Cluster werden als Zellnester definiert. Die Größe des Nests wird nach der Größe des kleinsten invasiven Zellnests klassifiziert. Dies bedeutet, dass im Prinzip bereits ein kleines Nest im allgemeinen Hintergrund großer Nester zu einer höheren Bewertung der Nestgröße führt. [5,6,7,25,26,27,28,29]

### **1.7.2. Einsatz bei anderen Tumorentitäten**

Viele Studien haben das zellulare Dissoziations-Grading-System bei Plattenepithelkarzinomen anderer Organen wie Lunge, Kopf/Halsbereich, Gebärmutterhals und Speiseröhre untersucht. Es wurde gezeigt, dass das zellulare Dissoziations-Grading-System herkömmliche Bewertungssysteme in Bezug auf die Prognose übertrifft. [5,6,7,25,29] Eine ähnliche prognostische Aussagekraft für das CDG-System ergab sich auch bei der Bewertung von präoperativen Biopsien oder von Tumorgewebe nach neoadjuvanter Radiochemotherapie. [26,27,28] Das Tumor-Budding, ein Teil des zellulären Dissoziations-Gradings, ist beim kolorektalen Adenokarzinom als prognostischer Faktor in mehreren Studien nachgewiesen. [13,39,40,47,52,53]

## 2. Fragestellung

Das Vorhandensein und die Anzahl von Lymphknotenmetastasen sind die wichtigsten Prädiktoren für das Überleben bei Patienten mit invasivem Plattenepithelkarzinom des Penis. Staging-Strategien, ob nichtinvasiv (klinische Untersuchung, Bildgebung) oder chirurgisch (Sentinel-Lymphknoten-Biopsie, Staging-Lymphadenektomie), wurden bisher jedoch durch eine beträchtliche Anzahl falsch negativer Befunde und/oder hohe Morbiditätsraten eingeschränkt. Deshalb sollten zusätzliche Kriterien identifiziert werden, um die Vorhersage der Lymphknotenbeteiligung zu verbessern und die Anzahl unnötiger Lymphadenektomien zu verringern. Das Ziel sollte sein, die Patienten mit dem höchsten Risiko einer Leistenlymphknoteninfiltration für eine frühe Leistenlymphadenektomie zu finden und diejenigen Patienten zu schonen, die von einer Lymphadenektomie nicht profitieren. [2]

Anhand der aktuellen europäischen Leitlinien besteht die Indikation zu diesem Eingriff nicht generell, sondern wird anhand der Kriterien „Tumorinfiltration, Tumorgrading und lymphovaskuläre Invasion“ gestellt. [21,38,42] Aufgrund der Einschränkungen herkömmlicher Grading-Systeme bezüglich der Prognose und der Vorhersage von Lymphknotenmetastasen, insbesondere beim Plattenepithelkarzinom verschiedener Organe, wurde nach alternativen Bewertungssystemen gesucht.

In dieser Arbeit soll das in der Literatur viel diskutierte „Zelluläre Dissoziations-Grading-System“ beim Plattenepithelkarzinom des Penis untersucht werden, welches auf der Knospung von Tumorzellen (Tumor-Budding) und der Größe der Zellnester ( Cell Nest Size ) basiert. Weiterhin soll dessen Korrelation mit der Lymphknotenmetastasierung als hauptsächlicher prognostischer Faktor geprüft werden. Schließlich soll das zelluläre Dissoziations-Grading mit dem klassischen WHO-Grading verglichen werden.

### **3. Material und Methoden**

#### ***3.1. Datenerhebung***

Die Grundlage der Arbeit waren die Daten von 101 Patienten, welche wegen der Diagnose eines Plattenepithelkarzinoms des Penis im Zeitraum von 01.04.2014 bis 31.12.2020 an der Universitätsmedizin Rostock behandelt wurden. Die Genehmigung für diese Studie wurde von der Ethikkommission der Universitätsmedizin Rostock unter der Registeriernummer A2020-0192 eingeholt. Die Zusammenstellung der Fallliste erfolgte mittels Schlagwortsuche im internen Befundverwaltungssystem „SAP NetWeaver“ (Version: 7500.2.9.1154, SAP SE 1993-2019). Über die Programmfunction „Vorbefunde Pathologie“ konnten die intern erstellten Befunde zu jedem Fall ermittelt werden.

Durch die Suche ergab sich zunächst eine Liste von 135 Fällen. 34 Fälle wurden von dieser Studie exkludiert: in 15 Fällen wurden andere Penismalignome diagnostiziert, in 12 Fällen handelte es sich nur um ein Plattenepithelkarzinom *in situ* und es gab 6 Fälle mit ausschließlich Lymphknotenmetastasen und 1 Fall mit nur Haut- und Weichgewebe-metastasen ohne weitere interne Befunde über das primäre Plattenepithelkarzinom. Das Kollektiv bestand schließlich aus 101 Fällen.

Die folgenden Daten wurden erhoben:

- 1- Pathologie-Eingangsnummer
- 2- Patientenalter bei Diagnosesicherung
- 3- Typ der Untersuchungsmaterialien: Primärtumor/Rezidiv/Nachresektat/Biopsie
- 4- Histologischer Typ und Subtyp des Tumors
- 5- Pathologischer Grad nach WHO
- 6- Pathologischer Status der TNM-Klassifikation
- 7- Pathologischer Status der Lymphangioinvasion (L)
- 8- Pathologischer Status der Veneninvasion (V)
- 9- Pathologischer Status der Perineuralscheideninfiltration (Pn)
- 10- Vorliegende Immunreaktionen gegen p16 und p53

Bei 41 Fällen mit fehlendem pathologischem Lymphknotenstatus (pNx) konnte in 13 Fällen nach Anfrage bei der Urologischen Klinik noch eine Information über den entsprechenden klinischen Lymphknotenstatus (cN) eingeholt werden.

#### ***3.2. Mikroskopie***

Die Hämatoxylin und Eosin -gefärbten histologischen Schnittpräparate des Kollektivs sowie ggf. die Schnittpräparate der Sonderfärbungen und der Immunhistochemie wurden aus dem Archiv gesammelt und re-evaluierter. Die Mikroskopie erfolgte an einem „Olympus BX41“ Mikroskop.

Die Graduierung der Fälle nach dem zellulären Dissoziations-Gradings-System wurde von zwei Pathologen (Hayel Derani und Prof. Dr. med. Andreas Erbersdobler) durchgeführt.

Die ausgewählten repräsentativen Gewebeschnitte wurden mittels eines Schnittscanners: (Pannoramic Desk, 3DHISTECH Ltd, Pannoramic Scanner, Version 2.2.0.110942 RTM) gescannt. Die davon abgebildeten Mikroskopie-Bilder wurden mittels dem Programm Case Viewer (3DHISTECH Ltd, Version 2.4 RTM) erstellt.

**Tumortyp nach WHO:** Entsprechend der 4. Version der WHO-Klassifikation für Penistumoren 2016 (Tabelle 2) wurden die Tumortypen klassifiziert. [44]

**Die TNM-Klassifikation** erfolgte nach der 8. Auflage von 2017. [63]

**Das hochauflösende Gesichtfeld (HPF):** englische Abkürzung für high-power field) wurde typischerweise bei 400-facher Vergrößerung bewertet. Der Durchmesser beträgt 0,55mm und der Flächeninhalt 0.238mm<sup>2</sup>.[36]

**Histologischer Grad nach WHO (WHO-G):** Anhand der Architekturstörung und der Zellatypien wurden die Tumoren gemäß des WHO-Gradings in gut differenzierte (WHO-G1), mäßig differenzierte (WHO-G2) und schlecht differenzierte (WHO-G3) Tumoren unterschieden. Gut differenzierte Tumoren weisen zytologische Merkmale wie beim normalen Plattenepithel, aber irreguläre Neststrukturen auf. Mäßig differenzierte Karzinome zeigen mehr Kernpleomorphismus, Mitosen und Zellatypien. Schlecht differenzierte Tumoren weisen eine hohe Mitoserate einschließlich abnormer Mitosen auf und zeigen kaum Keratinbildung. [2,44]

**Zellulärer Dissoziationsgrad (CDG):** Der CDG beruht auf den Kriterien „Tumor-Budding“ und „Zellnestgröße“. Zur Bewertung wurde das HPF gewählt, das die höchste „Budding-Aktivität“ aufwies. Zusätzlich wurde nach der kleinsten Zellnestgröße der Tumorzellen in den vorhandenen Schnittpräparaten gesucht.

- 1- **Tumor-Budding (TB):** Eine Tumorknospe (Tumor Bud) wurde als ein Zellnest aus weniger als 5 Tumorzellen definiert. Bei der Bewertung des Tumor-Buddings erhielten die Tumoren ohne Budding-Aktivität einen Score von (1). Den Tumoren mit geringer Budding-Aktivität (<5 Knospen pro HPF) wurde ein Score von (2) zugewiesen. Die Tumoren mit hoher Budding-Aktivität ( $\geq 5$  Knospen pro HPF) erhielten einen Score von (3).
  
- 1- **Zellnestgröße (ZNG):** In Bezug auf die Nestgröße der Tumorzellen erhielten die Tumoren mit großen Zellnestern ( $> 15$  Zellen/Nest) einen Score von (1). Tumoren mit 5–15 Zellen/Nest erhielten den Score von (2). Kleine Nester (2–4 Zellen/Nest) wurden mit einem Score von (3) bewertet. Karzinome mit Einzelzellinvasion wurden mit dem Score (4) bewertet.

Der zelluläre Dissoziationsgrad (CDG) entsteht durch die Summe beider Variablen (TB+ZNG), die zwischen 2

<b>Tabelle 7 : Zelluläres Dissoziations-Grading.</b> [5,6,7,25,26,27,28,29]	
<b>Tumor Budding (TB)</b>	<b>Score</b>
Kein Tumor-Budding	1
1-5 Tumorknospen / HPF	2
>5 Tumorknospen / HPF	3
<b>Zellnestgröße (ZNG)</b>	<b>Score</b>
> 15 Zellen pro Nest	1
5-15 Zellen pro Nest	2
2-4 Zellen pro Nest	3
Einzelzelleninvasion	4
<b>Zelluläre Dissoziation</b>	<b>Grad</b>
Summe TB + ZNG = 2-3	CDG-1
Summe TB + ZNG = 4-5	CDG-2
Summe TB + ZNG = 6-7	CDG-3

und 7 variiert (**Tabelle 7**). Die gut differenzierten Tumoren nach CDG-Grading (CDG-1) hatten eine Summe im Bereich von 2 bis 3, mäßig differenzierte Tumoren (CDG-2) hatten eine Summe im Bereich von 4 bis 5 und die schlecht differenzierten Karzinome (CDG-3) hatten eine Summe von 6 bis 7. [5,6,7,25,26,27,28,29]

#### **Fakultative Deskriptoren**

- **Die Lymphgefäßinvasion (L)** gibt an ob keine (L0) oder eine (L1) Invasion der Tumorzellen in die Lymphgefäße histologisch festgestellt wurde.
- **Die venöse Invasion (V)** gibt an ob keine (V0), eine mikroskopische (V1) oder makroskopische (V2) Blutgefäßinvasion vorliegt.
- **Die perineurale Invasion (Pn1)** ist definiert als Tumorzellen innerhalb oder um mindestens 33% eines Nervs. Pn0 steht für „keine perineurale Invasion“ der Tumorzellen. [47] Es ist wichtig, Pn0 und Pn1 nicht mit dem pathologischen Lymphknotenstatus (pN0, pN1, pN2, pN3) zu verwechseln.

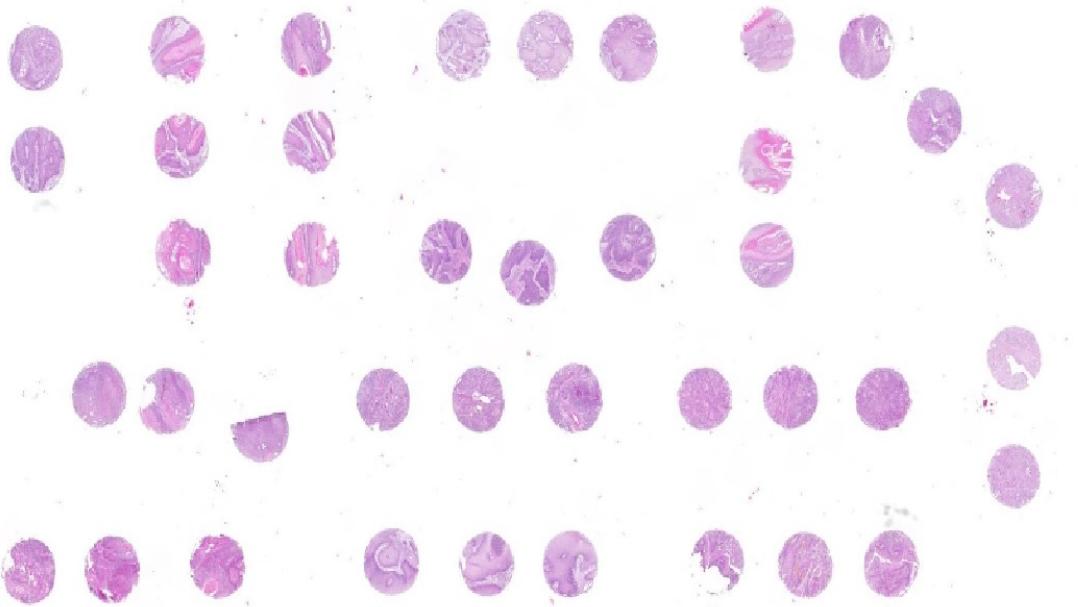
Der histologische Grad, die perineurale Invasion sowie die lymphangiose und venöse Invasion wurden von den vorhandenen Befunden nach Re-Evaluation übernommen. Bei fehlenden Aussagen zum Status wurden sie nach Begutachtung der vorhandenen Schnittpräparate nachträglich ergänzt.

### **3.3. *Tissue Micro-Array und Immunhistochemie***

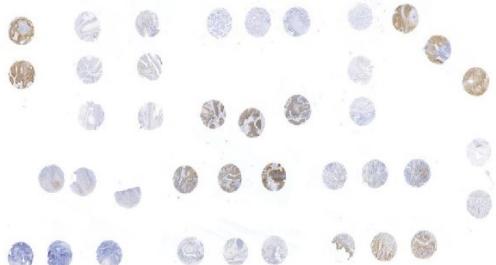
#### **Tissue Micro-Array**

In 14 Fällen wurde der fehlende Status zur Immunreaktion gegen p16 und p53 in den vorhandenen histologischen Befunden nachträglich durch die Anfertigung eines TMA-Schnitts (Tissue Micro-Array) ergänzt (**Bilder 16-a,b,c**).

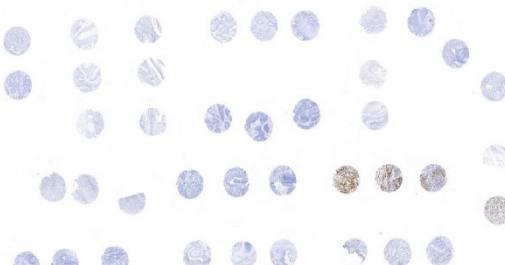
Formalin fixierte, in Paraffin eingebettete Tumorproben wurden unter Verwendung eines manuellen Tissue Micro-Arrayers (Beecher Instruments, Micro-Array Technology) mit einer Stanzengröße von 0,6mm zu einem Tissue Micro-Array-Block zusammengesetzt. Aus den Paraffinblöcken der Primärtumoren in zuvor markierten Bereichen wurden drei Tumorstanzen aus dem Tumorzentrum entnommen. Die Proben wurden in einem vorbereiteten Paraffinblock mit passenden Löchern implantiert. Die Lokalisationen der Proben im TMA-Paraffinblock wurden in einer Skizze vermerkt.



**Bild 16-a: Tissue Mikroarray- Schnitt , 1.0x**



**Bild 16-b: p16 Immunhistochemie , 0.4x**



**Bild 16-c: p53 Immunhistochemie, 0.4x**

### Immunhistochemie

Zur Klassifizierung der Tumoren nach WHO und zur besseren Beurteilung der Tumor-Dissoziation in den Bereichen mit ausgedehnter peritumoraler Entzündung wurden immunhistologischer Untersuchungen durchgeführt. [48]

Parafinschnitte mit einer Dicke von 1-2µm wurden mittels Mikrotom (SM2010R, Leica) angefertigt und auf beschichtete Objekträger (FLEX IHC Microscope Slides, Dako) aufgebracht. Die immunhistochemische Färbung erfolgte nach dem Avidin-Biotin-Peroxidase-Prinzip (ABC) und wurde automatisiert mittels eines Färbeautomaten (Typ Autostainer Link 48, Dako) durchgeführt. Die ABC-Methode zählt zu den indirekten immunhistochemischen Methoden. Zur Vorbehandlung wurden die Präparate bei 97°C und einem pH-Wert von 9 für 20 Minuten erhitzt. Zunächst erfolgte die Inkubation mit einem unkonjugierten Primärantikörper, der an die darzustellenden Epitope bindet. Im nächsten Schritt folgte die Zugabe des Biotin gekoppelten Zweitantikörpers, welcher an den Erstantikörper bindet. Die Peroxidase wandelt das zunächst farblose Substratchromogen um,

sodass eine braune Färbung sichtbar wird. Die Gegenfärbung erfolgte mittels Hämalaun als blaue Färbung nicht-markierter Zellen.

Als Primärantikörper kamen die monoklonalen Mausantikörper Anti-Human p53 (Klon DO-7, Dako) und Anti-Human CK5/6 (Klon D5/16B4, Dako) sowie der gereinigte Mausantikörper Anti-Human p16 (Klon G157-1239, BD Pharmingen) in einer 1:100 Verdünnung zur Anwendung. Die weitere Verarbeitung erfolgte mit dem EnVision FLEX, High pH-Kit (Dako), welches sowohl Sekundärantikörper als auch das Chromogen 3,3,-Diaminobenzidin (DAB+) beinhaltet. Über eine aufsteigende Alkoholreihe wurden die Objektträger in einem CV Mount (Leica) eingedeckt.

### **3.4. Statistik**

Alle Daten wurden in eine Excel-Tabelle eingepflegt. Tabellen und Diagramme wurden mittels Microsoft Excel 2016 und IBM SPSS Statistics Version 27 erstellt. Alle statistischen Berechnungen wurden mit Hilfe des Programms IBM SPSS Statistics Version 27 durchgeführt.

Das Alter wurde als metrische Variable behandelt. Im Gegensatz hierzu wurden alle anderen Parameter als ordinale Variablen behandelt, da sie eine natürliche Reihenfolge ohne metrische Abstände aufweisen. Statistisch wurden einfache Häufigkeiten berechnet.

Im Zuge der Untersuchung der Unabhängigkeit zwischen den Parametern „Lymphknotenstatus (pN)“ und „WHO-Grad (WHO-G)“ sowie „zelluläres Dissoziationsgrad (CDG)“ wurde eine jeweilige **Kreuztabelle** erstellt und der **Chi-Quadrat-Test** genutzt. Es wurde die Nullhypothese H0 „Die Merkmale pN und WHO-G bzw. CDG sind unabhängig“ aufgestellt.

Zur Prüfung des Zusammenhangs zwischen zwei Variablen wurde **die univariate Analyse mit dem Test „Typ III Quadratsumme“** sowie **das logistische Regressionsmodell** genutzt. Die Ergebnisse wurden mit einem p-Wert < 0,05 als signifikant bzw. mit einem p-Wert < 0,01 als hochsignifikant gewertet.

Zur Einschätzung der prognostischen Aussagekraft der beiden Graduierungs-Systeme bezüglich des Vorhandenseins von Lymphknotenmetastasen (pN+) wurden die Sensitivität, die Spezifität sowie die positiven und negativen prädiktiven Werte berechnet. Ein schlecht-differenzierter Tumor (WHO-G3, CDG-3) galt hierbei als „positiver Test“. Als „negativer Test“ wurden die nicht schlecht-differenzierten Tumoren (WHO-G1/2, CDG-1/2) definiert, da diese Einteilung auch für das pT-Stadium zur Unterscheidung zwischen pT1a und pT1b relevant ist. [44]

**Die Sensitivität (SEN)** eines Testverfahrens gibt an, bei welchem Prozentsatz erkrankter Patienten die jeweilige Krankheit durch die Anwendung des Tests tatsächlich erkannt wird. SEN = Anzahl der richtig als krank Erkannten / Anzahl aller Kranken.

SEN(WHO)= Anzahl der (WHO-G3 und pN+) Fälle / Anzahl der pN+ Fälle.

SEN(CDG)= Anzahl der (CDG-3 und pN+) Fälle / Anzahl der pN+ Fälle.

**Die Spezifität (SPE)** eines Testverfahrens gibt die Wahrscheinlichkeit an, dass Gesunde, die nicht an der geprüften Erkrankung leiden, im Test auch tatsächlich als gesund erkannt werden. SPE = Anzahl der richtig als gesund Erkannten / Anzahl aller Gesunden.

SPE(WHO)= Anzahl der (WHO-G1/2 und pN0) Fälle / Anzahl der pN0 Fälle.

SPE(CDG)= Anzahl der (CDG-1/2 und pN0) Fälle / Anzahl der pN0 Fälle.

**Der positive prädiktive Wert (PPV:** englische Abkürzung für positive predictive value) oder positive Vorhersagewert gibt an, wie viele Personen, bei denen eine bestimmte Krankheit mittels eines Testverfahrens festgestellt wurde, auch tatsächlich krank sind. PPV = Anzahl der richtig positiv getesteten Kranken/Anzahl aller positiv Getesteten egal ob sie richtig oder falsch positiv getestet sind.

PPV(WHO)= Anzahl der (WHO-G3 und pN+) Fälle / Anzahl der WHO-G3 Fälle.

PPV(CDG)= Anzahl der (CDG-3 und pN+) Fälle / Anzahl der CDG-3 Fälle.

**Der negative prädiktive Wert (NPV:** englische Abkürzung für negative predictive value) oder negative Vorhersagewert gibt an, wie viele Personen, bei denen eine bestimmte Krankheit mittels eines Testverfahrens nicht festgestellt wurde, auch tatsächlich gesund sind. NPV = Anzahl der richtig negativen Gesunden/Anzahl aller negativ Getesteten egal ob sie richtig oder falsch negativ getestet sind.

NPV(WHO)= Anzahl der (WHO-G1/2 und pN0) Fälle / Anzahl der WHO-G1/2 Fälle.

NPV(CDG)= Anzahl der (CDG-1/2 und pN0) Fälle / Anzahl der CDG-1/2 Fälle.

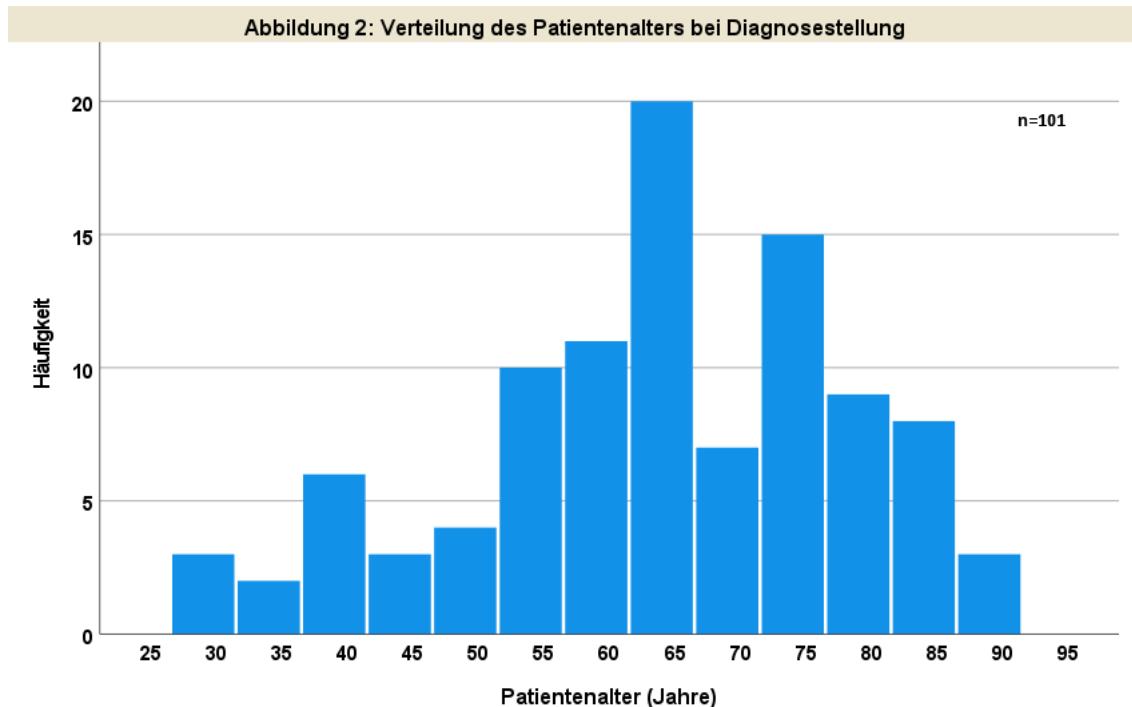
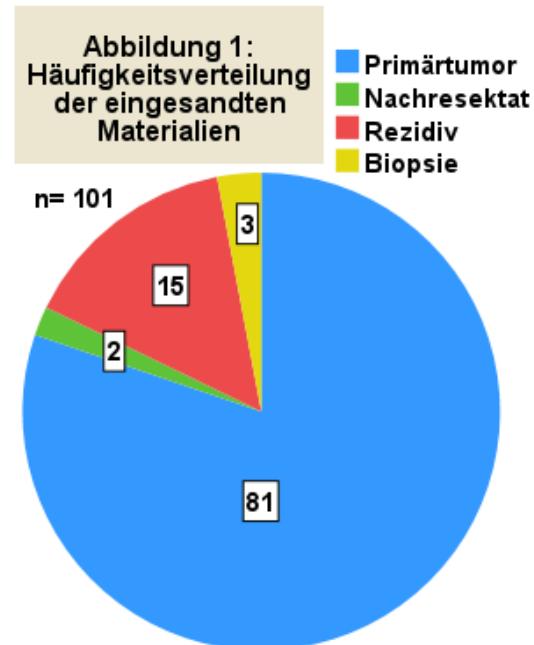
Es wurde auf die Erwähnung eines Prozentsatzes in der Situation verzichtet, wo die Gesamtanzahl der einbezogenen Fällen 101 beträgt, da die Fallanzahl hier dem Prozentsatz fast gleichzusetzen ist.

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Charakteristik des Patientenkollektivs

#### 4.1.1. Untersuchungsmaterialien und Patientenalter

Die initiale Untersuchung am Tumorresektat wurde intern im Institut für Pathologie in der Universitätsmedizin Rostock in 81 von insgesamt 101 Fällen durchgeführt. Die durchgeführte Intervention bei den anderen Fällen variierten wie in die Abbildung (Abbildung 1). Das durchschnittliche Patientenalter bei Diagnosestellung betrug 63 Jahre. Der jüngste Patient erhielt die erste Diagnose „Invasives Plattenepithelkarzinom des Penis“ im Alter von 29 Jahren, der älteste Patient im Alter von 89 Jahren (Abbildung 2).



#### 4.1.2. Histologische Tumortypen

Das gewöhnliche Plattenepithelkarzinom (PEC) war am häufigsten (in 63 von insgesamt 101 Fällen) vorhanden, gefolgt vom basaloiden Typ in 12 Fällen. Die Verteilung der seltenen Tumortypen sind in der Tabelle 8 dargestellt (Tabelle 8).

Erwartungsgemäß war die p16-Immunhistochemie negativ bei den pseudohyperplastischen, pseudoglandulären und verrukösen Typen sowie bei dem Carcinoma cuniculatum und dem papillären Typ, denn sie sind nach WHO-Definition nicht HPV-assoziiert. Genauso war es zu erwarten, dass alle HPV-assoziierten PECs immunhistologisch p16 positiv waren. Das war der Fall bei den basaloiden-, warzigen-, warzig-basaloiden-, klarzelligen und lymphoepithelialen Typen.

Tabelle 8 : Eigenschaften der histologischen Tumortypen des Kollektivs (n=101)						
Histologischer Typ nach WHO	Anzahl	p16+	p53+	L1	V1	Pn1
Nicht HPV-assoziiert	75	4 (5,8%)*	29 (43,2%)*	8 (10,6%)	6 (8%)	11 (14,6%)
Gewöhnliches PEC	63	4 (7,1%)*	29 (51,7%)*	8 (12,6%)	5 (7,9%)	11 (17,4%)
Pseudohyperplastisches PEC	4	0	0	0	0	0
Pseudoglanduläres PEC	1	0	0	0	1 (100%)	0
Rein-Verruköses PEC	4	0	0	0	0	0
Carcinoma cuniculatum	1	0	0	0	0	0
Papilläres PEC NOS	2	0	0	0	0	0
Adenosquamöses Karzinom	0					
Sarkomatoides PEC	0					
Gemischtes PEC	0					
HPV-assoziiert	26	25 (100%)*	2 (8,3%)*	4 (15,3)	3 (11,5%)	3 (11,5%)
Basaloides PEC	12	12 (100%)	0	2 (16,6%)	2 (16,6%)	1 (8,3%)
Papillär-basaloides PEC	1	1 (100%)	0	0	0	0
Warziges PEC	5	5 (100%)	1 (20%)	1 (20%)	1 (20%)	0
Warzig-basaloides PEC	5	4 (100%)*	1 (25%)*	0	0	1 (20%)
Klarzelliges PEC	1	1 (100%)	0	1 (100%)	0	1 (100%)
Lymphoepitheliales PEC	2	2 (100%)	0	0	0	0
Andere seltene Karzinomen	0					

\* Prozentwert bezüglich des Fallanzahls des Tumortyps mit bekannten Angaben zur Immunhistochemie

Interessanterweise war die p16-Immunhistochemie in 4 der 63 gewöhnlichen PEC positiv, obwohl dieser Typ eigentlich nicht HPV-assoziiert ist. In 2 der 4 Fälle handelte es sich um ein Rezidiv eines auswärtig resezierten Primärtumors, sodass die exakte Histologie des Primärtumors nicht re-evaluierter werden konnte. Die Immunhistochemie für p53 war fast ausschließlich positiv beim gewöhnlichen PEC (29/63) sowie in 2 Fällen der HPV-assoziierten Typen. In allen anderen Fällen war die p53-Immunhistochemie negativ.

Eine Lymphbahninvasion wurde in 8 Fällen des gewöhnlichen Typs und in 4 Fällen der HPV-assoziierten Typen nachgewiesen. Eine venöse Invasion wurde in 6 Fällen der nicht HPV-assoziierten Typen und in 3 Fällen der HPV assziierten Typen festgestellt. Eine Perineuralinvasion war in 11 Fällen des gewöhnlichen Typs und in 3 Fällen der HPV-assoziierten Typen vorhanden.

#### 4.1.3. Immunhistologie

Eine positive Immunreaktion für p16 lag in 29 Fällen von insgesamt 93 bewerteten Fällen vor. Die mutationstypische Positivität für p53 war in 27 von 91 bewerteten Fällen vorhanden.

Die Immunhistochemien für p16 und p53 waren gleichzeitig positiv in 3 Fällen (1 gewöhnlicher Typ, 1 warziger Typ, 1 warzig-basaloider Typ) und gleichzeitig negativ in 38 Fällen. Bei einigen Fällen konnte der immunhistochemische Status für p16 und p53 aus technischen Gründen nicht untersucht werden (**Tabelle 9**).

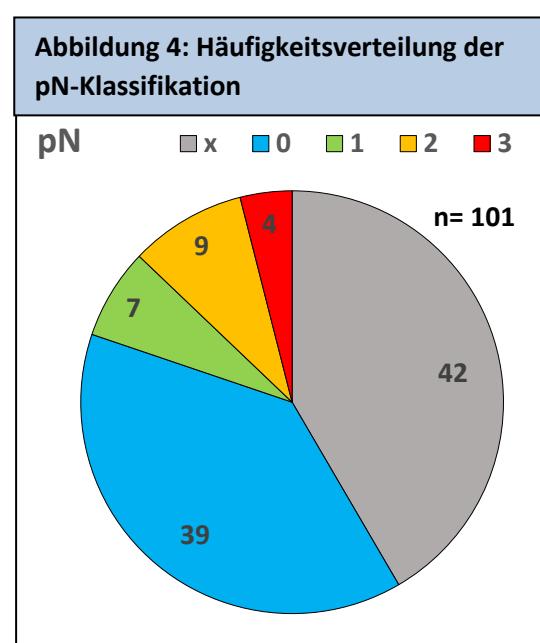
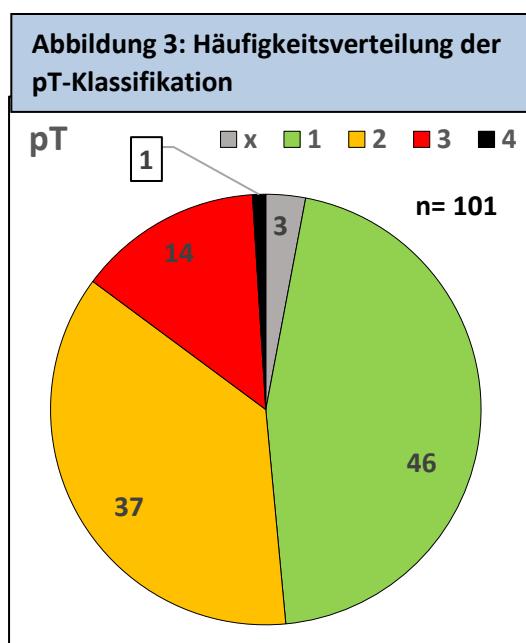
Tabelle 9: Verteilung der (p16 und p53)-Immunhistochemie				
	p16-	p16+	p16x	Summe
p53-	39	25	0	64
p53+	24	3	0	27
p53x	1	1	8	10
Summe	64	29	8	101

x: Keine Angaben

#### 4.1.4. TNM-Klassifikation

**T-Klassifikation:** In 46 Fällen infiltrierte das Karzinom in das subepithiale Bindegewebe (pT1), in 37 Fällen infiltrierte es das Corpus spongiosum (pT2), in 14 Fällen das Corpus cavernosum (pT3) und in einem einzigen Fall in andere Nachbarstrukturen (pT4) (**Abbildung 3**).

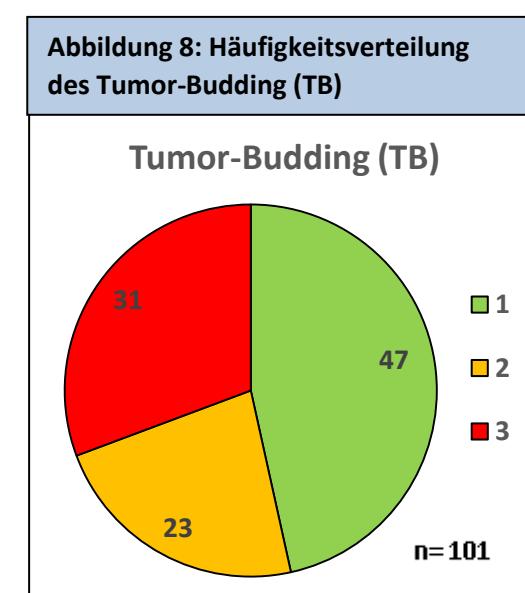
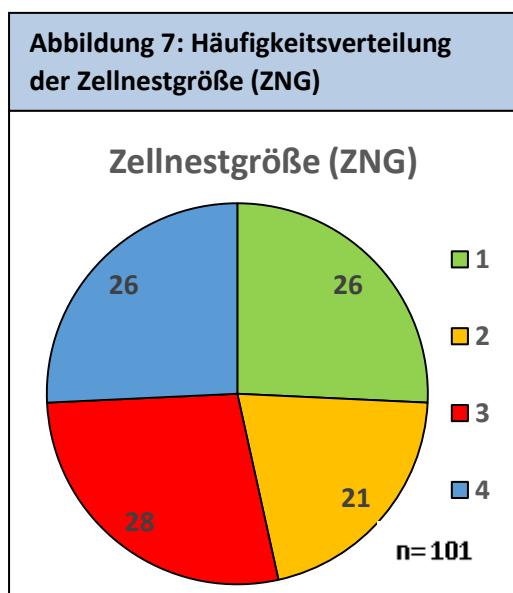
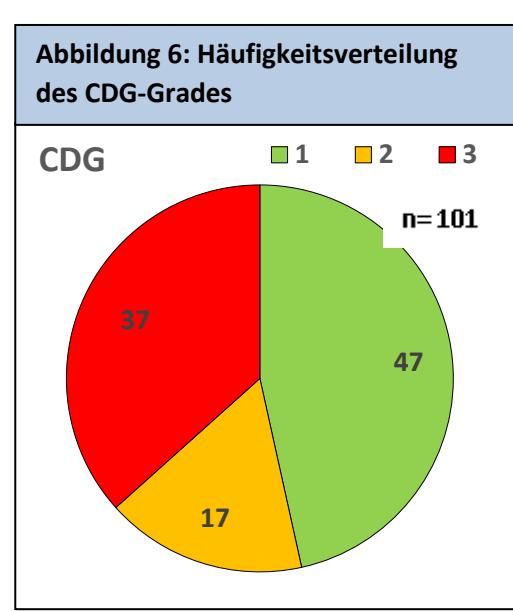
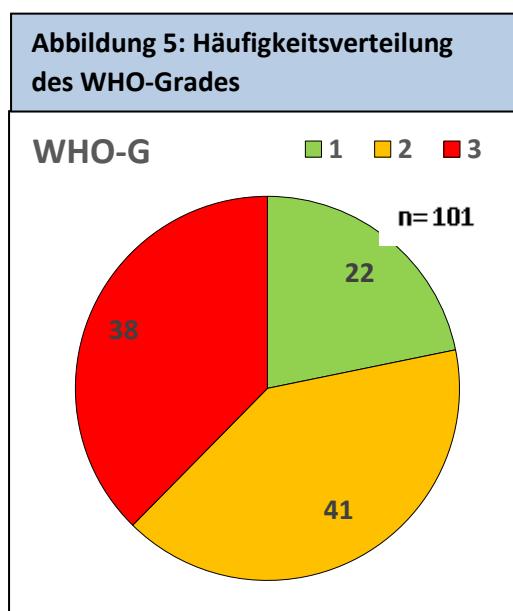
**N-Klassifikation:** Der pathologische Lymphknotenstatus war intern in 59 Fällen bekannt. Bei 42 Fällen gab es keine interne oder externe Angaben über den pathologischen Lymphknotenstatus. In 39 Fällen ergab die histologische Untersuchung der regionären Lymphknoten keinen Nachweis von Metastasen (pN0). In 7 Fällen wurden Metastasen in einem oder zwei Leistenlymphknoten (pN1) gefunden, in 9 Fällen wurden Metastasen in mehr als zwei unilateralen inguinalen oder bilateralen Leistenlymphknoten (pN2) festgestellt und in 4 Fällen wurden Metastasen in Beckenlymphknoten (uni- oder bilateral) oder eine extranodale Ausbreitung regionärer Lymphknotenmetastasen nachgewiesen (pN3). (**Abbildung 4**)



#### 4.1.5. WHO-Grad (WHO-G) und zellulärer Dissoziationsgrad (CDG)

**WHO-Grad (Abbildung 5):** In 22 von insgesamt 101 Fällen wurde das Plattenepithelkarzinom als WHO-G1 bewertet, in 41 Fällen als WHO-G2, und in 38 Fällen als WHO-G3.

**CDG-Grad (Abbildung 6):** Die Verteilung des zellulären Dissoziationsgrades war wie folgt: CDG-1: 47 Fälle, CDG-2: 17 Fälle, CDG-3: 37 Fälle. In 26 von insgesamt 101 Fällen betrug die Zellnestgröße (ZNG) mehr als 15 Zellen pro Zellnest (Score 1), in 21 Fällen war sie zwischen 5-15 Zellen (Score 2), in 28 Fällen zwischen 2-5 Zellen (Score 3). 26 Fälle wiesen ein einzelzelliges Invasionsmuster (Score 4) auf (Abbildung 7). Im Bezug auf das Tumor-Budding waren 47 Fälle ohne Knospung (Score 1), 23 Fälle mit bis zu 5 Knospen pro HPF (Score 2), und 31 Fälle mit mehr als 5 Knospen pro HPF (Score 3) (Abbildung 8). Beispiele für die CDG-Grade 1,2,3 sind in den Bildern 17,18,19 illustriert. (Bilder 17,18,19)



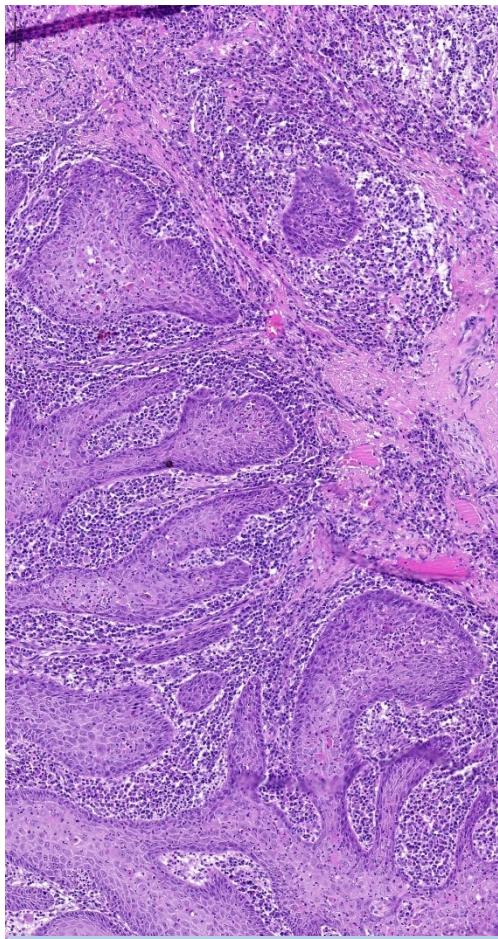


Bild 17: ZNG(1)+TB(1)= CDG-1 \_10.0x

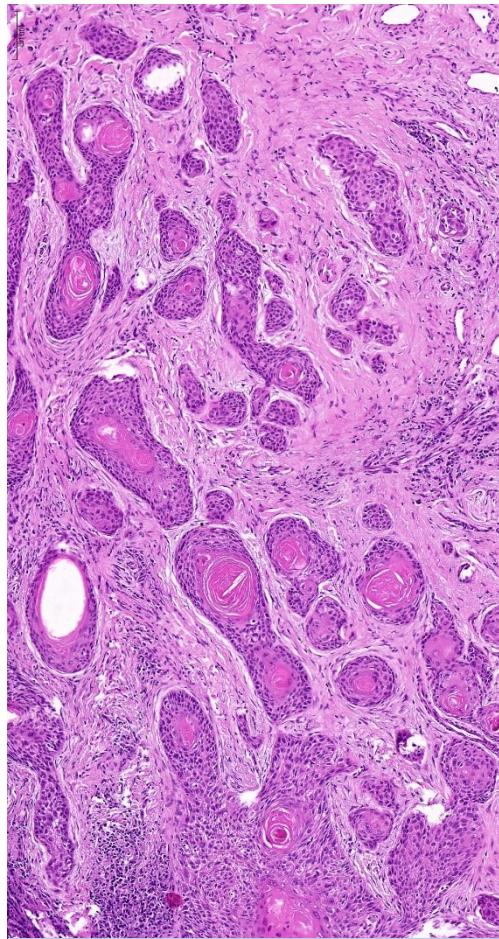


Bild 18: ZNG(3)+TB(2)= CDG-2 \_10.0x

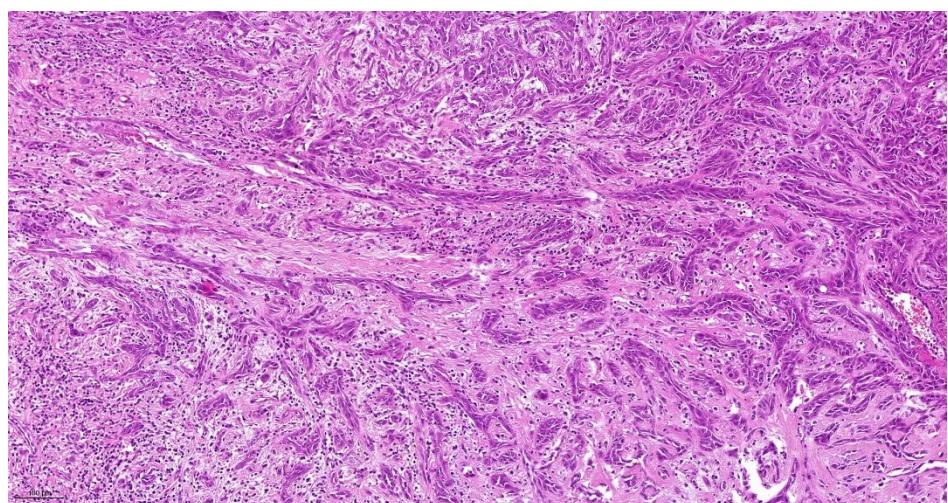
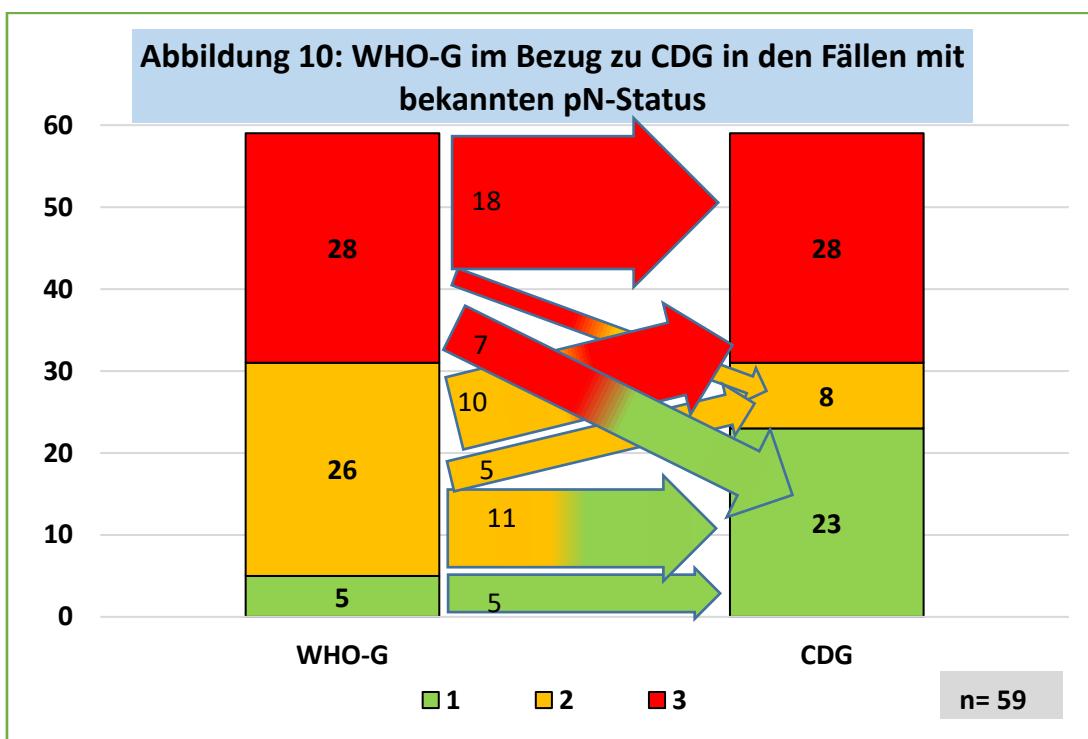
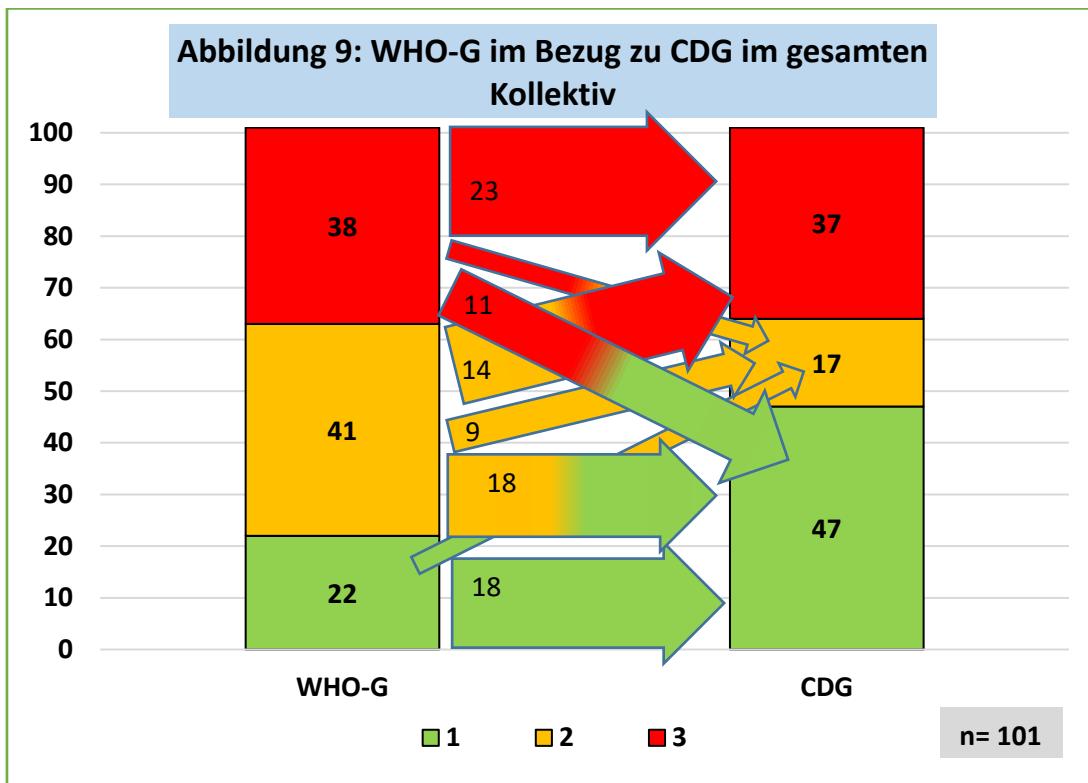


Bild 19: ZNG(4)+TB(3)= CDG-3 \_10.0x

## 4.2. Vergleich der Grading-Systeme

### 4.2.1. Verteilung der Grading-Systeme

Im Bezug auf das gesamte Kollektiv zeigt der Vergleich zwischen beiden Graduierungssystemen, WHO-Grading und CDG-Grading, wesentliche Unterschiede in der Verteilung der Score 1 und 2 auf (Abbildung 9). Ähnliche Ergebnisse findet man auch bei den Fällen mit bekanntem pN-Status (Abbildung 10).



#### 4.2.2. Prognostische Aussagekraft der Grading-Systeme für den Lymphknotenstatus.

##### Spezifität:

Innerhalb der 39 Fälle mit pN0 Status hatten nur 5 Fälle einen WHO-G1 und 20 Fälle einen WHO-G2 (**Abbildung 11**), dementsprechend lag die Spezifität des WHO-G1/G2 für einen pN0-Status bei  $SPE(\text{WHO-G}) = (5+20)/39 = 0,641$ .

Innerhalb der 39 Fälle mit pN0 Status hatten 22 Fälle einen CDG-1 und 7 Fälle einen CDG-2 (**Abbildung 12**), dementsprechend lag die Spezifität des CDG-1/2 für einen pN0-Status jedoch bei  $SPE(\text{CDG}) = (22+7)/39 = 0,743$ .

##### Negativer prädiktiver Wert:

Alle 5 Fälle mit WHO-G1 hatten einen pN0-Status. Bei den 26 Fällen mit WHO-G2 gab es 20 Fälle mit pN0. Der negative prädiktive Wert der WHO-G1/G2 für einen pN0-Status betrug entsprechend  $NPV(\text{WHO-G}) = (5+20)/(5+26) = 0,806$ .

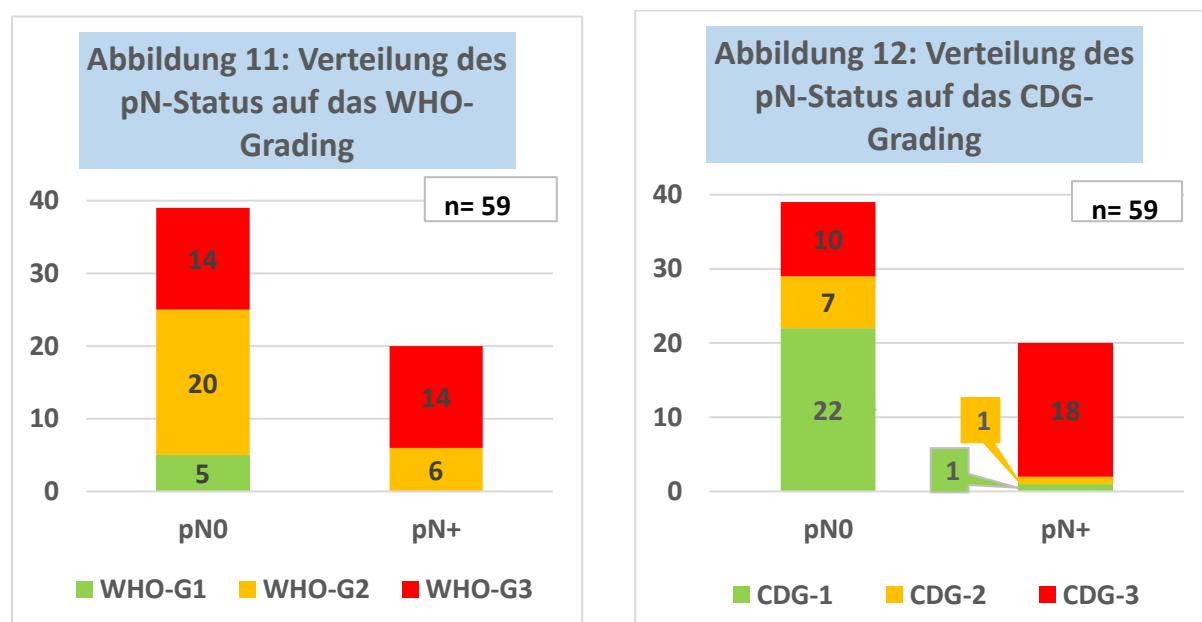
Unter den 23 Fällen mit CDG-1 waren 22 Fälle mit pN0-Status. Innerhalb der 8 Fällen mit CDG-2 gab es 7 Fälle mit pN0-Status. Der negative prädiktive Wert der CDG-1/2 auf einen pN0-Status lag bei  $NPV(\text{CDG}) = (22+7)/(23+8) = 0,935$ .

##### Sensitivität:

Von den 20 Fällen mit nachgewiesenen Lymphknotenmetastasen (pN+) wurden 14 Fälle dem WHO-G3 und 18 Fälle dem CDG-3 zugeordnet. Entsprechend lag die Sensitivität des WHO-G3 für einen (pN+)-Status bei  $SEN(\text{WHO-G}) = 14/20 = 0,7$  im Vergleich zur Sensitivität des CDG-3 für einen (pN+)-Status  $SEN(\text{CDG}) = 18/20 = 0,9$ .

##### Positiver prädiktiver Wert:

Unter den 28 Fällen mit WHO-G3 gab es 14 Fälle mit (pN+)-Status. Unter den 28 Fällen mit CDG-3 waren sogar 18 Fälle mit pN+ Status. Der positive prädiktive Wert des WHO-G3 für einen (pN+)-Status betrug  $PPV(\text{WHO-G}) = 14/28 = 0,5$  im Vergleich zum positiven prädiktiven Wert des CDG-3 für einen (pN+)-Status :  $PPV(\text{CDG}) = 18/28 = 0,642$ .



<b>Tabelle 10 : Korrelation der Grading-Systeme zum pN-Status</b>		
Grading-System	WHO-G	CDG
Sensitivität (SEN)	0,7	0,9
Spezifität (SPE)	0,641	0,743
positiver prädiktiver Wert (PPV)	0,5	0,642
negativer prädiktiver Wert (NPV)	0,806	0,935

#### 4.2.3. Statistische Untersuchungen

Die zweiseitige asymptomatische Signifikanz beim Pearson-Chi-Quadrat-Test zwischen pN und G lag bei  $p=0,134 > 0,05$  (akkurat 0,134473) (Tabelle 11a,b), und zwischen pN und CDG bei  $p=0,001 < 0,01$  (akkurat 0,000766) (Tabelle 12a,b).

Demzufolge konnte die Nullhypothese zwischen pN und WHO-G nicht abgelehnt werden und es besteht entsprechend kein statischer Zusammenhang zwischen pN und WHO-G.

Andererseits wurde die Nullhypothese zwischen pN und CDG hochsignifikant abgelehnt und es besteht ein statistischer Zusammenhang zwischen pN und CDG.

**Tabelle 11a: WHO-G\*pN Kreuztabelle.**

		WHO-G * pN Kreuztabelle			
		Anzahl			
		pN			
		pN0	pN1	pN2	pN3
WHO-G	G1	5	0	0	0
	G2	20	3	1	2
	G3	14	4	8	2
Gesamt		39	7	9	4
Gesamt					

**Tabelle 11b: Entsprechender Chi-Quadrat-Test**

Chi-Quadrat-Tests			
	Wert	df	Asymptotisch e Signifikanz (zweiseitig)
Pearson-Chi-Quadrat	9,775 <sup>a</sup>	6	,134
Likelihood-Quotient	11,705	6	,069
Zusammenhang linear- mit-linear	5,796	1	,016
Anzahl der gültigen Fälle	59		

a. 10 Zellen (83,3%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5.  
Die minimale erwartete Häufigkeit ist ,34.

**Tabelle 12a: CDG\*pN Kreuztabelle.**

		CDG * pN Kreuztabelle			
		Anzahl			
		pN			
		pN0	pN1	pN2	pN3
CDG	1	22	0	1	0
	2	7	1	0	0
	3	10	6	8	4
Gesamt		39	7	9	4
Gesamt					

**Tabelle 12b: Entsprechender Chi-Quadrat-Test**

Chi-Quadrat-Tests			
	Wert	df	Asymptotisch e Signifikanz (zweiseitig)
Pearson-Chi-Quadrat	23,092 <sup>a</sup>	6	,001
Likelihood-Quotient	28,564	6	,000
Zusammenhang linear- mit-linear	17,124	1	,000
Anzahl der gültigen Fälle	59		

a. 9 Zellen (75,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5.  
Die minimale erwartete Häufigkeit ist ,54.

In der univariate Varianzanalyse ergab ein signifikanter Zwischensubjekteffekt zwischen CDG und pN ( $p < 0,001$ ) aber kein signifikanter Zwischensubjekteffekt zwischen WHO-G und pN ( $p = 0,052$ ). (Tabelle 13a,b)

**Tabelle 13a: WHO-G\*pN Univariate Varianzanalyse**

**Tests der Zwischensubjekteffekte**

Abhängige Variable: pN

Quelle	Typ III Quadratsumme	df	Mittel der Quadrate	F	Sig.
Korrigiertes Modell	5,593 <sup>a</sup>	2	2,797	3,120	,052
Konstanter Term	6,663	1	6,663	7,433	,009
WHO.G	5,593	2	2,797	3,120	,052
Fehler	50,203	56	,896		
Gesamt	79,000	59			
Korrigierte Gesamtvariation	55,797	58			

a. R-Quadrat = ,100 (korrigiertes R-Quadrat = ,068)

**Tabelle 13b: CDG\*pN Univariate Varianzanalyse**

**Tests der Zwischensubjekteffekte**

Abhängige Variable: pN

Quelle	Typ III Quadratsumme	df	Mittel der Quadrate	F	Sig.
Korrigiertes Modell	18,381 <sup>a</sup>	2	9,191	13,756	<,001
Konstanter Term	9,962	1	9,962	14,910	<,001
CDG	18,381	2	9,191	13,756	<,001
Fehler	37,415	56	,668		
Gesamt	79,000	59			
Korrigierte Gesamtvariation	55,797	58			

a. R-Quadrat = ,329 (korrigiertes R-Quadrat = ,305)

Das Modell der logistischen Regression gab einen signifikanten Regressionskoeffizient zwischen CDG und pN ( $p = 0,001$ ) aber keinen signifikanten Regressionskoeffizient zwischen WHO-G und pN ( $p=0,187$ ). (Tabelle 14)

**Tabelle 14: logistische Regression**

**Variablen in der Gleichung**

	RegressionskoeffizientB	Standardfehler	Wald	df	Sig.	95% Konfidenzintervall für EXP(B)		
						Unterer Wert	Oberer Wert	
Schritt 1 <sup>a</sup>	WHO-G	,917	,696	1	,187	2,502	,640	9,783
	CDG	1,830	,563	10,568	1	,001	6,232	2,068
	Konstante	-7,344	2,275	10,424	1	,001	,001	18,780

a. In Schritt 1 eingegebene Variablen: WHO-G, CDG.

Zu der Zusammenfassung der Ergebnisse in den Abschnitten 4.2.2 und 4.2.3 besteht eine höhere prognostische Aussagekraft des zelluläreren Dissoziations-Grading (CDG) für den pN-Status im Vergleich zum WHO-Grading (WHO-G) (Tabelle 10). Es besteht ebenso ein statistisch

signifikanter Zusammenhang zwischen CDG und pN , aber kein signifikanter Zusammenhang zwischen WHO-G und pN. (Tabelle 15).

<b>Tabelle 15: Signifikanzwerte der statistischen Untersuchungen</b>		
	WHO-G * pN	CDG * pN
Prüfung auf Unabhängigkeit : Chi-Quadrat-Test	0,134	0,001
Univariate Varianzanalyse	0,052	0,001
Logistischer Regressionskoeffizienz	0,187	0,001
Bewertung	Keine signifikante Ergebnisse	Signifikante Ergebnisse

## 5. Diskussion

### 5.1. Grading-Systeme in der Pathologie

Die Bezeichnung „Grading“ (englisch für Einteilung, in eine Rangfolge ordnen) wird in der Pathologie bei der Beurteilung von Tumoren benutzt, um den Differenzierungsgrad anzugeben, d. h. das Ausmaß der Abweichung vom normalen Gewebe. Wichtige generelle Grading-Parameter sind die Größe und Form der Zellkerne, die Proliferationsrate sowie die Ähnlichkeit mit dem Ursprungsgewebe. Allerdings wurden für die meisten Tumoren spezifische Kriterien erarbeitet.

Die UICC (Union Internationale contre le Cancer, französisch für Internationale Union gegen Krebs) teilt die bösartigen Tumoren generell in Grad 1, 2, 3, und manchmal auch 4 ein [63]:  
Grad 1 (G1): gut differenzierter Tumor mit hoher Übereinstimmung mit dem Ursprungsgewebe

Grad 2 (G2): mäßig differenzierter Tumor

Grad 3 (G3): schlecht/niedrig differenzierter Tumor

Grad 4 (G4): nicht differenzierter Tumor (undifferenziert bzw. anaplastisch), hier kann der Tumor nicht mehr oder nur nach immunhistochemischen Untersuchungen einem bestimmten Ausgangsgewebe zugeordnet werden.

Das Grading liefert wichtige Informationen zur Therapie und ist ein wichtiger Teil des Tumorprofils, das neben der anatomischen Ausbreitung (TNM-System) eine der Hauptsäulen für die Prognose darstellt. Es wurden verschiedene Gradiingsysteme für Tumoren verschiedener Organe angepasst, z.B. bei der Mamma, dem Endometrium und der Prostata. Die Sarkome haben auch ein spezielles Gradiingsystem. Tumoren des zentralen Nervensystems werden nach dem Tumortyp graduiert. [63]

### 5.2. Bedeutung und Probleme des Gradiings beim Peniskarzinom

Beim Peniskarzinom spielt das Grading eine wichtige Rolle, denn es ist ein Teil der T-Klassifikation und differenziert zwischen pT1a und pT1b. Demzufolge ist es unter Umständen ein Faktor für die Therapie-Planung. Trotzdem schreibt die WHO kein bestimmtes Gradiing-System für das Peniskarzinom vor. [44]

#### 1. Problem: Heterogenität

Die Differenzierung von Plattenepithelzellen ändert sich sowohl im Normalgewebe als auch im plattenepithelialen Karzinom von der Basis zur Oberfläche sehr stark. Dieses Phänomen führt zu heterogenen Differenzierungsmustern und sogar zu mehr als einem Grad innerhalb eines Tumors. Das Grading wird auf der Grundlage des am schlechtesten beobachteten Gradmusters vergeben. [15]

#### 2. Problem: Konkordanz

In einem Studie untersuchten Kakies et al. die Konkordanz verschiedener Untersucher bei der Befundung der histologischen Schnitte von 90 Peniskarzinomfällen, die aus dem Zeitraum zwischen 1998 und 2011 stammten. Zwölf erfahrene Pathologen bewerteten die Schnitte nach den Richtlinien einer Klassifikation für die amerikanischen Pathologen (College of American Pathologists, CAP), die ein vierstufiges Graduierungssystem vorschreibt.

Die Studienergebnisse zeigten, dass die Reproduzierbarkeit auch bei erfahrener Pathologen und einem einfachen morphologischen Graduierungssystem gering ist ( $\kappa = 0,34$ ) und verdeutlichten die Einschränkung der Aussagekraft aufgrund der interindividuellen Variabilität. [33] Darüber hinaus war der Grad 2 insgesamt der am häufigsten vergebener Grad in dieser Studie. Schlechtere Übereinstimmungsichten bestand besonders innerhalb der low-grade-Karzinome (Grad 1/2) im Vergleich zu den high-grade-Karzinomen (Grad 3/4). Dies birgt das Risiko, Grad-G2 im Zweifelfall als "Sammel-Kategorie" zu verwenden. [33]

Die Autoren der Studie bewerteten die Einbeziehung des Grades in das TNM-System des Peniskarzinoms (pT1a vs. pT1b) kritisch und wünschten sich ein detailliertes Klassifizierungssystem mit besser definierter Kategorien. [33]

### ***5.3. Zellulärer Dissoziationsgrad in den internationalen Studien***

Die Grading-Systeme für viele Tumoren in verschiedenen Organen unterliegt ständig einem Verbesserungsprozess, damit eine bessere prognostische Aussagekraft dadurch reflektiert wird. Besonders beim Plattenepithelkarzinom ist das aktuelle Gradingssystem bezüglich der prognostischen Aussagekraft nicht befriedigend, und Alternativen wurden in verschiedenen Studien erforscht.

#### **Mundhöhle**

Almangush et al. haben in einer Studie mit 233 Fällen von T1/T2 N0 M0 oralen Plattenepithelkarzinomen der Zunge in Finnland empfohlen, die Invasionstiefe und das Tumor-Budding zur Beurteilung der Prognose und Behandlungsplanung zu integrieren. [3]

Boxberg et al. haben das CDG-System in 157 bisher unbehandelten Patienten mit oralen Plattenepithelkarzinomen evaluiert und festgestellt, dass das CDG-System signifikant mit einem Gesamt-, krankheitsspezifischen und krankheitsfreien Überleben korrelierte und sich als starker alters-, stadien- und geschlechtsunabhängiger Prognosefaktor für das Überleben erwies. [6]

Shimizu et al. erforschten in Japan 91 Fälle mit oralen Plattenepithelkarzinomen zwischen 2004 und 2013. Die Art der Invasion ( $p < 0,01$ ) sowie das Tumor-Budding ( $p < 0,01$ ) waren mit der Lymphknoten-Metastasierung assoziiert. Tumor-Budding war jedoch der einzige unabhängige Prädiktor für die Lymphknoten-Metastasen. [57]

#### **Larynx und Pharynx**

Boxenberg et al. haben das CDG-System mit weiteren histomorphologischen Parametern und den klinisch-pathologischen Daten von 157 bisher unbehandelten Patienten mit laryngealen oder hypopharyngealen Plattenepithelkarzinomen in Deutschland verglichen und festgestellt, dass das CDG-System eine unabhängige Aussagekraft für das Patientenüberleben bietet und damit deutlich das aktuelle WHO-Grading-Schema übertrifft. [7]

Karpathiou et al. untersuchten 99 Patienten mit Plattenepithelkarzinomen des Larynx und des Pharynx retrospektiv mit PET/CT-Messungen vor der Behandlung. Das metabolische Tumorgesamtvolumen (MTV) und die Gesamtläsionsglykolyse (TLG) waren mit der Tumorzellnestgröße im Tumorzentrum verbunden, wobei höhere Werte mit kleineren Nestern korrelierten. MTV40% war marginal mit dem fibroblastischen Stromatyp und einem

höheren Tumor-Budding assoziiert. Stromareiche Tumoren des Oropharynx mit höherem Tumor-Budding zeigten höhere Werte des maximalen standardisierten Aufnahmewerts SUVmax an. [35]

Sarioglu et al. evaluierten die Bedeutung des Tumor-Buddings bei 64 türkischen Patienten mit Larynxkarzinom, die operativ und adjuvant strahlentherapeutisch behandelt wurden, mit einer medianen Nachbeobachtungszeit von 53 Monaten. Der Vergleich der Fälle mit ausgeprägtem Tumor-Budding mit den anderen Fällen ergab statistisch signifikante Ergebnisse bezüglich der Überlebensraten. Ein ausgeprägtes Tumor-Budding wurde in der univariaten Analyse als prognostischer Faktor für die Freiheit von Fernmetastasen identifiziert. Eine multivariate Analyse der histologischen Parameter ergab, dass nur die Anzahl der metastatisch befallenen Lymphknoten und das Tumor-Budding signifikant mit der Fernmetastasierung assoziiert waren. Da die Fallzahlen mit lokoregionärem Rezidiv in dieser Serie gering waren, waren die Ergebnisse bezüglich der Bedeutung der Knospung in dieser Hinsicht nicht aussagekräftig. [55]

### **Kopf und Hals insgesamt**

Jesinghaus et al. werteten das CDG-System in 160 präoperativen Biopsien von Patienten mit Plattenepithelkarzinomen im Kopf-Hals-Bereich aus, und korrelierten die Ergebnisse mit prä- und posttherapeutischen Staging-Daten und dem klinischen Ergebnis. Der präoperative CDG war in hohem Maße prädiktiv für das postoperative Tumorstadium, einschließlich der Vorhersage okkulter Lymphknotenmetastasen. Uni- und multivariate Analysen ergaben, dass der CDG ein unabhängiger Prognosefaktor für das krankheitsspezifische und krankheitsfreie Gesamtüberleben war. [28]

Agaimy und Weichert haben die Einbindung der Evaluation der Invasionsfront und der Tumorzellknospung (Tumor-Budding) in die Graduierung von Plattenepithelkarzinomen des Kopf-Hals-Bereich vorgeschlagen. [1]

### **Ösophagus**

In einer Kohorte von 135 primär resezierten ösophagealen Plattenepithelkarzinomen in München und Heidelberg haben Jesinghaus et al. das CDG-System untersucht. Die Ergebnisse zeigten einen starken Zusammenhang mit dem krankheitsspezifischen- und Gesamt-Überleben. Hingegen war das WHO-Grading ohne prognostische Bedeutung. [25]

In einer anderen Studie an 122 Patienten mit post-neoadjuvant behandelten ösophagealen Plattenepithelkarzinomen haben Jesinghaus et al. geschlossen, dass das zelluläre Dissoziation-Grading der einzige morphologiebasierte Bewertungsparameter für Plattenepithelkarzinome des Ösophagus war, der prognostische Informationen bei einer postneoadjuvanten Therapie unabhängig beitragen konnte, und als potenzieller Prädiktor für das Ansprechen auf eine konventionelle neoadjuvante Chemotherapie geeignet war. [26]

Darüber hinaus untersuchten Jesinghaus et al. prätherapeutische Biopsien von entweder primär resezierten (Kohorte 1, n=80) oder neoadjuvant behandelten (Kohorte 2, n=75) Plattenepithelkarzinomen des Ösophagus. Das CDG-System war prognostisch relevant für das Überleben in beiden Kohorten und prädiktiv für das pathologische Tumorstadium und das Vorhandensein von Lymphknotenmetastasen bei primär resezierten Patienten. Demzufolge diente es als potenzieller histologiebasierter prätherapeutischer Biomarker, der

das klinische Staging zur Auswahl der am besten geeigneten Therapieentscheidung ergänzen könnte. [27]

### Lunge

Kadota et al. untersuchten die histopathologischen Merkmale in Plattenepithelkarzinomen der Lunge von 485 japanischen Patienten (1999–2009) bezüglich der Überlebensraten. Das Gesamtüberleben war bei Patienten mit Einzelzellinvasion signifikant verringert ( $p= 0,002$  für den gesamten Tumor und  $p= 0,001$  für den Tumorrand), sowie bei den Patienten mit großen Tumorzellkernen ( $p= 0,011$ ) und mit hochgradigem Tumor Budding ( $p< 0,001$ ). In multivariater Analyse waren die Einzelzellinvasion, der Kerndurchmesser und das Tumor-Budding unabhängige prognostische Faktoren des Gesamtüberleben. Die histologische Subtypisierung einschließlich keratinisierender, nicht keratinisierender, basaloider und klarzelliger Subtypen zeigte jedoch keine prognostische Signifikanz. [32]

In einer anderen Studie haben Kadota et al. 2017 ein ähnliches Grading-System erforscht, das Tumor-Budding und Kerndurchmesser der Tumorzellen kombiniert. Dieses System war ein unabhängiger prognostischer Faktor für das rezidivfreie- und Gesamt-Überleben. Hier bestand das Kollektiv aus 216 japanischen Patienten mit Plattenepithelkarzinomen der Lunge in den Jahren 1999 bis 2012. Histologische Subtypen, Differenzierung und Mitosezahl korrelierten jedoch nicht mit der Prognose. [31]

Neppl et al. analysierten retrospektiv 354 primär resezierte pulmonale Plattenepithelkarzinome in der Schweiz. Die Beurteilung des Tumor-Buddings war hochgradig konkordant zwischen den mit Hämatoxylin und Eosin (H&E) und immunhistologisch mit Panzytokeratin (AE1/AE3) gefärbten Objektträgern und signifikant assoziiert mit Tumorgröße, pT, pN, Stadium und Vorhandensein von mediastinalen Lymphknotenmetastasen. Das Tumor-Budding war ein signifikanter prognostischer Parameter für das gesamte-, krankheitsspezifische- und progressionsfreie Überleben. STAS (Spread through airspaces, englisch für Ausbreitung durch die Luftwege) oder konventioneller WHO-Tumorgrad hatten keinen prognostischen Wert. [48]

Weichert et al. analysierten 541 in den Jahren 2002-2010 resezierte pulmonale Plattenepithelkarzinome. Keratinisierung, Tumor-Budding, Stromagehalt und Tumorzellnestgröße, aber nicht die Kerngröße, waren mit unterschiedlichen klinisch-pathologischen Charakteristika und Überlebensraten verbunden. Das CDG-System ergab einen guten alters-, stadien- und geschlechtsunabhängigen Prognosefaktor für das Gesamtüberleben. [62]

Zhao et al. bewerteten 132 pulmonale Plattenepithelkarzinome von chinesischen Patienten. Das Gesamtüberleben war signifikant mit dem Alter, dem Nachweis von Lymphknotenmetastasen, Fernmetastasen und Pleurainvasion sowie der Tumorausbreitung (pT), der Einzelzellinvasion (Tumor-Budding), der Mitosenanzahl und dem Grad der zytologischen Atypie korreliert. Die Subtypen der WHO-Klassifikation von 2004 zeigten jedoch keine prognostische Aussagekraft. Die unabhängigen signifikanten prognostischen Indikatoren des Plattenepithelkarzinoms der Lunge waren in der multivariaten Analyse das Tumor-Budding, die Einzelzellinvasion, die Mitosenanzahl und der Grad der zytologischen Atypie. [67]

## Zervix

Jesinghaus et al. haben das CDG-System neben mehreren anderen histomorphologischen Faktoren (z. B. Keratinisierung, Kerngröße, mitotische Aktivität) in einer Testkohorte ( $n = 125$ ) und einer unabhängigen Validierungskohorte ( $n = 122$ ) beim Plattenepithelkarzinom der Zervix uteri (Gebärmutterhals) erforscht. Höhere CDG-Grade waren in beiden Kohorten des zervikalen Plattenepithelkarzinoms stark mit einer schlechteren Prognose verbunden. Damit hat das CDG-System sich in beiden Kohorten als stadienunabhängiger Prognosefaktor erwiesen. [29]

Weichert et al. bewerteten das CDG-System in 94 bislang unbehandelten Fällen von Plattenepithelkarzinomen des Gebärmutterhalses, Stadium pT1b oder höher, und stellten fest, dass das CDG-System unabhängig vom Alter des Patienten, dem pathologischen Stadium und dem regionalen Lymphknotenstatus eine starke Korrelation mit dem Gesamt-, krankheitsspezifischen- und krankheitsfreien Überleben hat und dass die hochgradigen Tumoren im CDG-System signifikant mit einem fortgeschrittenen pathologischen Stadium und Lymphknotenmetastasen korrelierten. Unter den anderen, potenziell prognostischen Faktoren waren auch pT und pN, während Keratinisierung, Kerngröße, Mitosenanzahl und WHO-Grad prognostisch nicht relevant waren. [62]

## Kolorektales Adenokarzinom

Das Tumor-Budding war auch prognostisch bedeutsam in anderen malignen Tumoren. Die International Tumor-Budding Consensus Conference (ITBCC) hat 2016 das Tumor-Budding als Bewertungssystem für das kolorektale Adenkarzinom vorgeschlagen. Dawson et al. untersuchten in einer europäischen Studie 379 Patienten mit reseziertem Kolonkarzinom. Das Tumor-Budding wurde von 2 Pathologen gemäß den ITBCC-Empfehlungen auf Hämatoxylin- und Eosin-gefärbten Objektträgern bewertet. Hochgradiges Tumor-Budding war mit nachteiligen klinisch-pathologischen Merkmalen, darunter höhere pT-, pN- und TNM-Stadien und mit einer schlechteren Gesamtüberleben in der univariaten Analyse verbunden. [13]

Prall et al. untersuchten retrospektiv die pathologischen Daten von mehr als 500 Patienten mit frühen invasiven kolorektalen Karzinomen und beobachteten bei den Patientengruppen mit hochgradigem Tumor-Budding eine Lymphknotenbeteiligung von etwa 30%, während die Rate in den Gruppen mit geringem Tumor-Budding viel niedriger war. [52]

Morodomi et al. untersuchten präoperative Biopsieproben von 112 Patienten, darunter 40 Fälle mit fortgeschrittenem Rektumkarzinom. Das Vorhandensein oder Fehlen von Tumor-Budding in präoperativen Biopsieproben war auch ein wichtiger Faktor bei der Voraussage einer Lymphknotenmetastasierung. [45]

Die prognostische Aussagekraft des Tumor-Buddings kann in die Entscheidung über die Ausdehnung der chirurgischen Resektion oder über eine adjuvante Chemotherapie bei einem Patienten mit einem kolorektalen Karzinom beitragen. [39] Die Untersuchungen bestätigten, dass auch das intratumorale Budding bei der Beurteilung präoperativer Gewebeproben des Kolonkarzinoms, im Hinblick auf mögliche Lymphknotenmetastasen, herangezogen werden kann. Das ist von großer Bedeutung, da die Biopsien aus den Kolonpolypen und -tumoren naturgemäß nicht aus der Invasionsfront, sondern aus der Tumormitte entnommen werden sollen. [39]

## **Zusammenfassung der Bewertung des zellulären Dissoziationsgrades bei den Tumoren anderer Organe**

Diese Ergebnisse tragen zu einer wachsenden Zahl von Belegen dafür bei, dass ein auf die Zellnestgröße und das Tumor-Budding basierendes Grading-System beim Plattenepithelkarzinom nützlich sein könnte und scheinen Unterschiede in der zugrunde liegenden Biologie der Plattenepithelkarzinom zu erfassen, die für die Aggressivität des Tumors entscheidend sind. Das Tumor-Budding beim Adenokarzinom des Kolons wurde schon länger erforscht und ist ein anerkanntes Kriterium bei der Befundung.

Ein derartig konstruiertes Grading-System scheint mit prognostischer Aussagekraft verbunden zu sein, die bei der Entscheidung über die Behandlungsmethoden wie Ausmaß der chirurgischen Resektion, adjuvanter und neoadjuvanter Chemotherapie, oder erweiterer Lymphadenektomie hilfreich sein könnte.

### **Molekularpathologie und Immunhistologie**

Das Tumor-Budding scheint mit der nukleären Lokalisation von Beta-Catenin verbunden zu sein, die mit E-Cadherin-Aberrationen und dem Verlust der Expression des Epithelzelladhäsionsmoleküls (Ep-CAM) zusammenhängt. Diese Veränderungen tragen zum Verlust interzellulärer Adhäsionen bei. [55]

Guzinska-Ustymowicz hat über ein erhöhtes aggressives Verhalten von kolorektalen Karzinomen in Gegenwart von MMP-9 und Cathepsin-B Überexpression an der Invasionsfront berichtet. Der Verlust der Integrität der Basalmembran und der proteolytische Abbau der extrazellulären Matrix erfolgt durch Proteasen wie Matrix-metallopeptidase-9 (MMP-9) und Cathepsin-B, und kann korrelieren mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit von Fernmetastasen und schlechter Prognose. [19]

Die starke Expression der Laminin-5-gamma-2-Kette in den knospenden Zellen wurde zur Identifizierung von Tumor-Budding bei Analkarzinomen verwendet. Die Proteolyse von Laminin-5 am kurzen Arm der γ2-Kette wandelt dieses Laminin von einem Zelladhäsionstyp in einen Motilitätstyp um. [49]

### **Prognostische Faktoren beim Peniskarzinom**

Alkatout et al. überprüften die Histopathologie von resezierten Plattenepithelkarzinomen des Penis bei 72 Patienten in Kiel, Mannheim, Giessen und Marburg. Das Tumorgewebe wurde auf histologischen Grad, Invasionsmuster, Tumorstadium, Anteil schlecht differenzierter Tumorzellen, Invasionstiefe, Anteil an Tumornekrose, Angioinvasion, histologische Klassifikation, Anzahl der Läsionen, Wachstumsmuster, Anzahl der Mitosen, Grad der Keratinisierung und klinischer Leistenstatus untersucht. Es wurde festgestellt, dass das Vorhandensein von Leistenlymphknotenmetastasen mit dem Grad G2/G3, dem klinisch positiven Leistenstatus, der retikulären Tumor-Invasion, dem Stadium pT2/T3, >50% schlecht differenzierten Tumorzellen, der Invasionstiefe und den komedoartigen Tumornekrosen korreliert. [2]

## **5.4. Technische Aspekte und Probleme des CDG-Gradings**

### **Tumor-Budding-Bestimmung**

Müller et al. stellten einige schwierige Situationen bei der Bestimmung des Tumor-Buddings beim Kolonkarzinom fest: Die sog. „Pseudoknospen“ entstehen durch peritumorale Entzündung, welche zur Destruktion von Tumordrüsen führt. Das Tumor-Budding sollte deshalb nur in den Arealen ohne ausgeprägte Entzündung ausgewertet werden. Bei dichten peri-/intratumoralen Entzündungsfiltraten kann die Immunhistochemie mit einer Zytokeratin-Färbung zur Erkennung von Tumorknospen helfen. [47]

Tumoreinzelzellen und Siegelringzellen, welche freischwimmend im Muzin liegen und auch einzeln auftreten können, sollten nicht als Tumorknospen gewertet werden. Tumorknospen sollten nur als solche gezählt werden, wo sie von Stroma umgeben sind. Nach der aktuellen Datenlage ist es noch nicht sicher, ob Tumor-Budding nach neoadjuvanter Therapie beim Kolonkarzinom eine prognostische Aussagekraft hat, deshalb sollte das Tumor-Budding in diesen Fällen vorsichtig bewertet werden. [47]

### **Grenzwerte**

Ein Problem, das den weit verbreiteten Einsatz des Tumor-Budding zusätzlich zur Scoring-Methode behindert, ist die Bestimmung eines gültigen Grenzwerts für die Deklaration eines Falles als niedrig- oder hochgradig.

Karamitopoulou et al. haben bei einer Studie von 215 Fällen mit kolorektalem Karzinom festgestellt, dass ein Grenzwert von 10 Knospen für die Eingruppierung des Tumor-Buddings in einem niedrigen ( $\leq 10$  Knospen/HPF) und einem hohen Grad ( $> 10$  Knospen/HPF) verwendet werden konnte. Mit dieser Grenze war das hochgradige Budding mit einem höheren Tumorgrad ( $P < 0,0001$ ), einem höheren TNM-Stadium ( $P = 0,0003$ ), einer Gefäßinvasion ( $P < 0,0001$ ), einer infiltrierenden Tumorrandskonfiguration ( $P < 0,0001$ ) und einem reduzierten Überleben verbunden. [34]

Prall et al. haben 186 kolorektale Karzinome mit TNM-Stadium I/II in den Jahren 1994–1999 untersucht. Die Studie hielt einen Grenzwert von 25 Knospen/ $0,785\text{mm}^2$  Sichtfeld für vernünftig (entsprechend 7–8 Knospen/HPF), da sowohl die Sensitivität, als auch die Spezifität für die univariate Überlebensanalyse bei diesem Wert hoch waren (0,76 bzw. 0,739). [53]

Ueno et al. haben das Tumor Budding anders graduiert, nämlich als I, II, III und IV entsprechend der Anzahl der Knospeneinheiten 0–4, 5–9, 10–19 und >20 pro HPF. [60]

### **Mikroskopisches Sichtfeld**

Beim pulmonalen Plattenepithelkarzinom wurde das Tumor-Budding konsistent von mehreren Gruppen mit unterschiedlichen Bewertungsmethoden (nach dem Auswahl der maximalen Budding-Stelle in der niedrigen Vergrößerung) als prognostisch relevant nachgewiesen [48]: a) Bewertung des Buddings in 1 HPF [65], b) Bewertung des Buddings in 10 HPFs, dann Auswahl des maximalen Scores in 1 HPF [32,62], c) Bewertung des Buddings in 10 HPFs, dann Berechnung des Durchschnitts des Scores [32,62].

Allerdings berücksichtigt die Bewertung von 10 HPFs die Heterogenität und zeigt eine höhere Übereinstimmung zwischen den Beobachtern als die Bewertung von einem HPF. Darüber hinaus hat ein Scoring-System, das auf der Auswertung von 10 HPFs basiert, den

Vorteil, dass diese Methode bereits bei anderen Untersuchungen wie der Mitosenzählung bei Brustkrebs, Weichteltumoren und gastrointestinalen Stromatumoren angewendet wird und daher den Pathologen bekannt und vertraut ist. [34]

### **CDG- Grad 2**

Wir haben bei der praktischen Umsetzung des CDG-System einen Nachteil festgestellt: Definitionsgemäß ist eine Tumorknospe (Tumor-Budd) ein Zellnest aus weniger als 5 Zellen. Das bedeutet dass ein Score 2 im Tumor-Budding oder höher (Vorhandensein vom Tumor-Budding) unmittelbar einen Score 3 für die Nestgröße oder höher bedeutet. Die Score-Summe 4 existiert praktisch nicht, und der CDG- Grad 2 ist theoretisch die Score-Summe (4-5), aber praktisch immer ausschließlich die Score-Summe 5.

### **Intratumorales Budding**

Tumor-Budding wird beim kolorektalen Adenoarzinom in das peritumorale Budding (PTB, Tumorknospen an der Tumورfront) und das intratumorale Budding (ITB, Tumorknospen im Tumorzentrum) unterteilt [40]. Wir haben bei den Peniskarzinome nur das peritumorale Tumor-Budding untersucht.

### **Immunhistologie**

Neppl et al. zeigten, dass die Anwendung immunhistochemischer Färbungen für Pancytokeratin die Scores des Tumor-Buddings bei den pulmonalen Plattenepithelkarzinomen nicht signifikant verändert. Auch wenn das Scoring des Tumor-Buddings auf immunhistologisch-gefärbbten Objekträgern subjektiv einfacher und schneller war, lieferte das Scoring auf H&E-gefärbbten Objekträgern gleiche Ergebnisse. Es war Kosten-günstiger und konnte sofort zum Zeitpunkt der Diagnose durchgeführt werden. Die immunhistologische Färbung kann somit schwierigen Fällen vorbehalten bleiben, ohne die Gefahr einer Überschätzung der Tumorknospenzahl, auch im Fall einer begleitenden Entzündung oder Fragmentierung des Tumors. [48]

Dies steht im Gegensatz zur Situation bei Dickdarmkrebs, wo einzelne Fälle allein durch die H&E-Färbung unterschätzt werden können. Der Grund für diesen Unterschied liegt möglicherweise in der unterschiedlichen Zusammensetzung des Stomas zwischen Adenokarzinom und Plattenepithelkarzinom. [48] Dies haben Karamitopoulou et al. beim kolorektalen Karzinom bestätigt, indem die Beurteilung der Tumorknospung nach Färbung mit einem Pan-Cytokeratin-Antikörper die Visualisierung von Knospen erheblich verbesserte. Folglich war die Anzahl der Tumorknospen bei diesem Ansatz höher. [34]

### **Konkordanz**

Boxberg et al. haben die Tauglichkeit des CDG-Systems für die alltägliche Praxis erforscht. Es wurden 108 orale Plattenepithelkarzinome von drei unabhängigen Pathologen – zwei erfahrenen Kopf-Hals-Pathologen und einem in Ausbildung befindlichen Pathologen – nach dem vorgeschlagenen Bewertungsschema retrospektiv bewertet, wobei die Bewertungsergebnisse der jeweils anderen verblindet waren. Demzufolge wurde festgestellt dass das CDG-System eine ausgezeichnete Übereinstimmung zwischen den Bewertern ergab, was die Eignung dieses Einstufungssystems für die pathologische Routinepraxis weiter unterstützt. [5]

Die Tatsache, dass Tumorknospen ausgezählt (und nicht als vorhanden/nicht vorhanden angegeben) werden, können dazu führen, dass zwischen verschiedenen Untersuchern unterschiedliche Werte für das Tumor-Budding bestimmt werden. Die Interobserver-Variabilität lässt sich durch Ausbildung und Erfahrung reduzieren, ist aber zugleich ein potenzielles Feld für die Anwendung von automatisierten Algorithmen in der digitalen Pathologie. [47]

## **5.5. Vergleich mit Kollektiven anderer Studien**

### **Häufigkeit**

Das Peniskarzinom ist ein seltener Tumor, den ein Pathologe rein statistisch alle 20 Monate zur Begutachtung bekommt. Denn nach einem Vergleich mit den öffentlichen Angaben des Robert Koch-Instituts und der Bundesärztekammer wurden im Zeitraum 2014-2017 in Deutschland jährlich zwischen 851-980 Neuerkrankungen registriert und im gleichen Zeitraum waren in Deutschland durchschnittlich ca. 1500 Pathologen tätig. [23,24]

Alkatout et al. 2011 haben eine mit unserer Arbeit ähnliche retrospektive Studie mit 72 Patienten publiziert, die in einem größeren Zeitraum ( 1996 bis 2005 ) an drei verschiedenen Kliniken (Kiel, Gießen/Marburg und Mannheim) wegen eines Plattenepithelkarzinoms des Penis behandelt wurden. [2] Zum Vergleich wurden 101 Fälle in unserer Studie untersucht, die in der Universitätsmedizin Rostock zwischen 01/04/2014 und 31/12/2020 behandelt wurden. (**Tabelle 16a**) Das ist eine relativ große Zahl von Peniskarzinom-Fällen in einem einzigen Klinikum. Der Grund dafür ist, dass die Urologische Klinik der Universitätsmedizin Rostock ein überregionales Zentrum für Peniskarzinome ist und die dort tätigen Ärzte an den Behandlungsleitlinien mitgearbeitet haben. [21,38]

<b>Tabelle 16a: Eigenschaften der Kollektive in der Forschung über Peniskarzinom</b>				
	Gesamtkollektiv	pN bekannt	nur cN bekannt	Zeitraum
Derani	101	59 (58,4%)	13 (12,8%)	2014-2020 (6,7 Jahre)
Alkatout [2]	72	47 (65,2%)	25 (34,7%)	1996-2005 (10 Jahre)

Die Häufigkeit der verschiedenen klinischen und pathologischen Faktoren waren in beiden Studien ähnlich. Ein Unterschied liegt in der Anzahl der Fälle ohne pathologische (pN) oder klinische (cN) Angaben zur regionären Lymphknoten. Wir hatten auch relativ weniger Fälle mit pT2-Status. (**Tabelle 16b**).

<b>Tabelle 16b: Eigenschaften der Kollektive in der Forschung über Peniskarzinom</b>						
	pT1	pT2	pT3/pT4	N0	N+	Nx
Derani (n=101)	46 (45,5%)	37 (36,6%)	15 (14,8%)	49 (48,5%)	23 (22,7%)	29 (28,7%)
Alkatout (n=72) [2]	31 (43%)	31 (43%)	10 (13,8%)	38 (52,7%)	33 (45,8%)	1 (1,3%)
N: pN, wenn pN nicht bekannt war, dann cN						

Der WHO-G1 war der am wenigsten repräsentierte Grad in beiden Studien. Der WHO-G2 war der häufigste Grad in beiden Studien. Der WHO-G3 war bei uns häufiger. Die prozentuale Anteile der lymphatischen und venösen Invasion waren etwa gleich häufig. Wir hatten mehr Fälle der nicht-gewöhnlichen histologischen Typen. (**Tabelle 16c**).

**Tabelle 16c: Eigenschaften der Kollekte in der Forschung über Peniskarzinom**

	WHO-G1	WHO-G2	WHO-G3	V0/L0	V1/L1	Gewöhnlicher Typ	Nicht-gewöhnlicher Typ
Derani (n=101)	22 (21,7%)	41 (40,5%)	38 (37,6%)	84 (83,1%)	17 (16,8%)	63 (62,3%)	38 (37,6%)
Alkatout (n=72) [2]	14 (19,4%)	36 (50%)	22 (30,5%)	62 (86,1%)	10 (13,8%)	53 (73,6%)	19 (26,3%)

### Klinischer und pathologischer Lymphknotenstatus (cN/pN)

Alle Patienten in der Studie von Alkatout et al. hatten einen bekannten klinischen Lymphknotenstatus (cN), darunter waren 25 Patienten mit einer klinischen Nachbeobachtung (nur cN) von mindestens 24 Monaten. Das pathologische Staging (pN) erfolgte bei 47 Patienten [2]. In unserer Studie hatten wir 59 Fälle mit histopathologisch bekanntem Lymphknotenstatus (pN) und 13 Fälle mit klinisch bekanntem Lymphknotenstatus (cN). Den restlichen 29 Fällen wurde kein pathologischer oder klinischer Lymphknotenstatus (pNx/cNx) zugeordnet (Tabelle 16a).

Das Vorhandensein von tastbaren inguinalen Lymphknoten (cN+) bedeutet nicht unbedingt das Vorhandensein von Lymphknotenmetastasen (pN+). Die Vergrößerung und sogar die Verfestigung der Lymphknoten kann andere Gründe haben, z.B. altersbedingt degenerative- oder entzündliche Gründe. Auf der anderen Seite spricht ein cNO-Status nicht unbedingt für einen pNO-Status.

Bei der histologischen Untersuchung fanden Alkatout et al. Lymphknotenmetastasen (pN+) in 17 von 45 Fällen (ca. 37,8%) mit klinisch negativem Lymphknotenstatus (cNO). Andererseits wurde in 10 von 26 Fällen (38,5%) keine histologische Lymphknotenmetastase (pNO) trotz (cN+) Status gesehen. (Tabelle 17) [2]

Tabelle 17: pN im Bezug zu cN [2]		
n=71	pNO	pN+
cNO	28 (62,2%)	17 (37,8%)
cN+	10 (38,5%)	16 (61,5%)

### P16<sup>ink4a</sup>-Immunhistologie

Zu den aktuellen Kriterien der Kategorisierung der p16<sup>ink4a</sup>-Positivität gehörten die Färbungstopographie (nuklear und/oder zytoplasmatisch), der Prozentsatz und/oder die Verteilung positiver Zellen und die Färbungsintensität (schwach, mäßig und stark). Bei der Verwendung dieses Systems gibt es jedoch keine eindeutigen Grenzwerte, und folglich wird ein gewisses Maß an Subjektivität zu erwarten sein. [11]

In unseren Ergebnissen beobachteten wir in 4 Fällen bei Plattenepithelkarzinomen vom gewöhnlichen Typ eine Positivität für p16, obwohl dieser Typ eigentlich nicht HPV-assoziiert ist. Cubilla et al. fanden allerdings auch eine mittlere bis niedrige Positivität für p16 in der Immunhistologie bei den warzigen und gewöhnlichen Typen. Die negativen Fälle für p16 tendierten dazu, den gut differenzierten und keratinisierenden Varianten des Peniskarzinoms zu entsprechen. [11]

### Immunhistochemie zur Beurteilung des Invasionsmusters

Ähnlich mit den internationalen Studien [34,48,52,53,57] haben wir in einigen Fällen zusätzliche immunhistologische Färbungen (CK5/6) gebraucht, um die Tumorknospen zu verdeutlichen. Hintergrund war meistens die übermäßige entzündliche Reaktion im umgebenden Stroma.

### Klinischer Verlauf

Bani-Hani et al. erforschten in einer retrospektiven Datenanalyse 65 vollständige Datensätze von ursprünglich 84 Patienten, die in den Jahren 2000-2013 mit der Diagnose „Peniskarzinom“ in der urologischen Klinik der Universitätsklinik Rostock behandelt wurden. Die Überlebenszeit nach Diagnosestellung betrug insgesamt im Median 33,6 Monate, und im Detail 132,8/ 52,9/ 21,2/ 28/ 7,7 Monate entsprechend den Stadien pTis/ pT1/ pT2/ pT3/ pT4. Die 5-Jahres-Überlebensraten lagen bei 74,7%/ 28,0%/ 46,9% entsprechend den Stadien pN0/ pN+/ pNx. Die 10-Jahres-Überlebensraten lagen bei 64,0%/ 28,0%/ 23,4% entsprechend den Stadien pN0/ pN+/ pNx. Bei den gemäß der Leitlinien therapierten Patienten betrug die 5- und 10-Jahres-Überlebensrate 73,2% bzw. 62,8%. Für die Patienten, die abweichend der aktuellen Leitlinien behandelt wurden, lag die 5- bzw. 10-Jahres-Überlebensrate bei 41,8%, bzw. 0,0%. [4]

### Prognostische Faktoren

Als prognostische Faktoren für die Lymphknotenmetastasen haben Alkatout et al. die folgenden Faktoren bei der univariaten Analyse festgestellt: das histologische WHO-Grading ( $P= 0,001$ ), das Invasionsmuster ( $P= 0,022$ ), die T-Kategorie, die Invasionstiefe und die Tumornekrose. Der klinische Lymphknotenstatus (cN) war grenzwertig korrelierend. Die vaskuläre Invasion, der histologische Typ, Mitosenanzahl und die Verhornung hatten keine statische Relevanz. [2]

Tabelle 18: Prognostische Faktoren für Lymphknotenmetastasen beim Peniskarzinom						
	Alkatout n= 72 [2]			Derani n=59		
	pN0	pN+	Univariate Analyse, p-Wert	pN0	pN+	Univariate Analyse, p-Wert
WHO-G	0,001			0,052		
WHO-G1	13	1	Univariate Analyse, p-Wert	5	0	
WHO-G2	18	18		20	6	
WHO-G3	7	15		14	14	
pT	0,027			0,004		
pT1	22	9		19	1	
pT2	12	19		16	12	
pT3-pT4	4	6		4	7	
V/L	0,12			0,643		
V0/L0	35	27		34	14	
V1/L1	3	7		5	6	
Typ	0,988			0,987		
Gewöhnlicher Typ	28	25		26	13	
nicht-gewöhnlicher Typ	10	9		13	7	

In unserer Studie nach univariater Analyse hatte der pT Status statistisch signifikanten Einfluss auf den pN Status, während der statistische Einfluss des WHO-Gradings nur grenzwertig war. Die vaskuläre Invasion und der Tumortyp hatten keinen Einfluss (**Tabelle 18**). Das zelluläre Dissoziation-Grading hatte bei unserer Studie allerdings einen deutlichen Einfluss ( $P= 0,001$ ) auf den pN Status, was als indirekt kompatibel mit dem Einfluss des Invasionsmusters ( $P= 0,022$ ) in der Studie von Alkatout et al. gewertet werden kann. [2]

## **5.6. Bewertung des CDG-Gradings beim Penis-Karzinom**

In unserer Studie haben wir den Lymphknotenstatus als wichtigsten prognostischen Faktor festgelegt. Damit das Tumor-Grading Aussagekraft gewinnen kann, soll es eine proportionale Zuordnung mit den prognostischen Faktoren zeigen. Der kleinste Grading-Score soll möglichst auf keine Lymphknotenmetastasen (pN0) hindeuten und der höchste Grading-Score soll mit Lymphknotenmetastasen (pN+) assoziiert sein.

Die Ergebnisse (**Abschnitte 4.2.2 und 4.2.3**) unserer Studie zeigten, dass die prognostische Aussagekraft des CDG-Systems für die Lymphknotenmetastasen deutlich höher im Vergleich zur Aussagekraft des WHO- Grading-Systems war. Die niedrigeren Grade des CDG-Systems waren aussagekräftiger für einen pN0-Status als die niedrigen WHO-Grade, und die höheren Grade des CDG-Systems waren stärker assoziiert mit regionären Lymphknotenmetastasen (pN+). Die Sensitivität und die Spezifität sowie die positiven und negativen prediktiven Werte für den pN-Status waren deutlich höher beim CDG-Grading als beim WHO-Grading (**Tabelle 10**).

Der pathologische Status der regionalen Lymphknoten (pN) beim plattenepithelialen Peniskarzinom zeigte einen hochsignifikanten Zusammenhang mit dem zellulären Dissoziation-Grading (CDG) des Primärtumors, und keinen statistisch signifikanten Zusammenhang mit dem WHO-Grading (**Abschnitt 4.2.3**) (**Tabelle 15**). Diese Ergebnisse stimmen mit den internationalen Studien zu anderen Tumorentitäten (Kopf und Hals, Ösophagus, Lunge, Zervix und Kolon) überein, und bekräftigen, dass das zelluläre Dissoziations-Grading ein wichtiger prognostischer Faktor für das Plattenepithelkarzinom ist.

## **5.7. Schlussfolgerungen und Ausblicke**

Das zelluläre Dissoziations-Grading hat sich im plattenepithelialen Peniskarzinom als guter prognostischer Faktor für das Auftreten von Lymphknotenmetastasen erwiesen. Die Pathologen sollten genug Gewebe vom Tumor einbetten, um die stärkste zelluläre Dissoziationsstelle nicht zu übersehen. Der endgültiger CDG-Grad kann am Besten im Tumorhauptresektat bewertet werden. Eine genaue Definition der Grenzwerte zwischen den Scores ist allerdings nötig, damit dieses Bewertungssystem in der klinischen Praxis alltagstauglich angewendet werden kann.

Die Etablierung dieses Grading-Systems könnte zur Verbesserung der Behandlung von Patienten mit Peniskarzinom beitragen. Es sollte überlegt werden, ob ein angepasstes Grading-System mit Rücksicht auf die prognostische Aussagekraft in die Empfehlungen der WHO übernommen werden kann.

Eine weitere Erforschung des Zusammenhangs zwischen der zellulären Dissoziation mit den spezifischen Tumor-Wirt-Interaktionen und den molekularen Ereignissen sollte in zukünftigen Studien angegangen werden. Weitere prognostische Merkmale wie Lokalisation

am Penis, Invasionstiefe und peritumoröse Entzündungsreaktion müssten weiter erforscht werden. Eine Immuntherapie, die auf die zelluläre Dissoziation der Tumorzellen erzielt, könnte vielversprechend sein. Die Zentralisierung der Behandlung dieses seltenen Tumors (Peniskarzinom) erleichtert perspektive randomisierte Studien.

## 6. Literaturverzeichnis

1. Agaimy, A.; Weichert, W. (2016): Grading von Tumoren der Kopf-Hals-Region. In: *Der Pathologe* 37 (4), S. 285–292. DOI: 10.1007/s00292-016-0173-9.
2. Alkatout, Ibrahim; Naumann, Carsten Maik; Hedderich, Jürgen; Hegele, Axel; Bolenz, Christian; Jünemann, Klaus-Peter; Klöppel, Günter (2011): Squamous cell carcinoma of the penis: Predicting nodal metastases by histologic grade, pattern of invasion and clinical examination. In: *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations* 29 (6), S. 774–781. DOI: 10.1016/j.urolonc.2009.10.014.
3. Almangush, Alhadi; Bello, Ibrahim O.; Keski-Säntti, Harri; Mäkinen, Laura K.; Kauppila, Joonas H.; Pukkila, Matti et al. (2014): Depth of invasion, tumor budding, and worst pattern of invasion: Prognostic indicators in early-stage oral tongue cancer. In: *Head Neck* 36 (6), S. 811–818. DOI: 10.1002/hed.23380.
4. Bani-Hani, Katharina (2018): Aktuelle Überlebenszeiten von Peniskarzinompatienten bei stadiengerechter Therapie. DOI: 10.18453/rosdok\_id00002082
5. Boxberg, Melanie; Bollwein, Christine; Jöhrens, Korinna; Kuhn, Peer-Hendrik; Haller, Bernhard; Steiger, Katja et al. (2019a): Novel prognostic histopathological grading system in oral squamous cell carcinoma based on tumour budding and cell nest size shows high interobserver and intraobserver concordance. In: *Journal of clinical pathology* 72 (4), S. 285–294. DOI: 10.1136/jclinpath-2018-205454.
6. Boxberg, Melanie; Jesinghaus, Moritz; Dorfner, Christiane; Mogler, Carolin; Drecoll, Enken; Warth, Arne et al. (2017): Tumour budding activity and cell nest size determine patient outcome in oral squamous cell carcinoma: proposal for an adjusted grading system. In: *Histopathology* 70 (7), S. 1125–1137. DOI: 10.1111/his.13173.
7. Boxberg, Melanie; Kuhn, Peer-Hendrik; Reiser, Marianne; Erb, Anna; Steiger, Katja; Pickhard, Anja et al. (2019b): Tumor Budding and Cell Nest Size Are Highly Prognostic in Laryngeal and Hypopharyngeal Squamous Cell Carcinoma: Further Evidence for a Unified Histopathologic Grading System for Squamous Cell Carcinomas of the Upper Aerodigestive Tract. In: *The American journal of surgical pathology* 43 (3), S. 303–313. DOI: 10.1097/PAS.0000000000001178.
8. Chipollini J, Chaing S, Azizi M, Kidd LC, Kim P, Spiess PE (2017) Advances in understanding of penile carcinogenesis: the search for actionable targets. *Int J Mol Sci.* <https://doi.org/10.3390/ijms18081777>
9. Clark, P. E., Spiess, P. E., Agarwal, N., Biagioli, M. C., Eisenberger, M. A., Greenberg, R. E., Herr, H. W., Inman, B. A., Kuban, D. A., Kuzel, T. M., Lele, S. M., Michalski, J., Pagliaro, L., Pal, S. K., Patterson, A., Plimack, E. R., Pohar, K. S., Porter, M. P., Richie, J. P., Sexton, W. J., ... National Comprehensive Cancer Network (2013). Penile cancer: Clinical Practice Guidelines in Oncology. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network : JNCCN*, 11(5), 594–615. <https://doi.org/10.6004/jnccn.2013.0075>
10. Colecchia, Maurizio (2016): Pathology of Testicular and Penile Neoplasms. Cham: Springer International Publishing. ISBN: 978-3-319-27615-1
11. Cubilla, Antonio L.; Lloveras, Belén; Alejo, María; Clavero, Omar; Chaux, Alcides; Kasamatsu, Elena et al. (2011): Value of p16INK4a in the Pathology of Invasive Penile Squamous Cell

- Carcinomas: A Report of 202 Cases. In: *The American journal of surgical pathology* 35 (2). DOI: 10.1097/PAS.0b013e318203cdba
12. Cubilla, Antonio L.; Velazquez, Elsa F.; Amin, Mahul B.; Epstein, Jonathan; Berney, Daniel M.; Corbishley, Cathy M.; Members of the ISUP Penile Tumor Panel (2018): The World Health Organisation 2016 classification of penile carcinomas: a review and update from the International Society of Urological Pathology expert-driven recommendations. In: *Histopathology* 72 (6), S. 893–904. DOI: 10.1111/his.13429.
  13. Dawson, Heather; Galuppini, Francesca; Träger, Peter; Berger, Martin D.; Studer, Peter; Brügger, Lukas et al. (2019): Validation of the International Tumor Budding Consensus Conference 2016 recommendations on tumor budding in stage I-IV colorectal cancer. In: *Human pathology* 85, S. 145–151. DOI: 10.1016/j.humpath.2018.10.023.
  14. Engelsgjerd, Joshua S.; LaGrange, Chad A. (2022): Penile Cancer. In: StatPearls. Treasure Island (FL). PMID: 29763105
  15. Erbersdobler, A. (2018): Pathologie und histopathologische Begutachtung des Peniskarzinoms. In: *Der Urologe* 57 (4), S. 391–397. DOI: 10.1007/s00120-018-0592-8.
  16. Fenner, Ferdinand (2017): Der Transkriptionsfaktor E2F1 in Peniskarzinomzellkulturen. DOI: 10.18453/rosdok\_id00001870
  17. Gunia S, Erbersdobler A, Hakenberg OW, Koch S, May M. p16(INK4a) is a marker of good prognosis for primary invasive penile squamous cell carcinoma: a multi-institutional study. *J Urol.* 2012 Mar;187(3):899-907. doi: 10.1016/j.juro.2011.10.149. Epub 2012 Jan 15. PMID: 22245329.
  18. Gunia S, Kakies C, Erbersdobler A, Hakenberg OW, Koch S, May M. Expression of p53, p21 and cyclin D1 in penile cancer: p53 predicts poor prognosis. *J Clin Pathol.* 2012 Mar;65(3):232-6. doi: 10.1136/jclinpath-2011-200429. Epub 2011 Dec 1. PMID: 22135025.
  19. Guzińska-Ustymowicz, Katarzyna (2006): MMP-9 and cathepsin B expression in tumor budding as an indicator of a more aggressive phenotype of colorectal cancer (CRC). In: *Anticancer research* 26 (2B), S. 1589–1594. PMID: 16619576
  20. Hakenberg, Oliver Walther; Dräger, Desiree Louise; Erbersdobler, Andreas; Naumann, Carsten Maik; Jünemann, Klaus-Peter; Protzel, Chris (2018): The Diagnosis and Treatment of Penile Cancer. In: *Deutsches Arzteblatt international* 115 (39), S. 646–652. DOI: 10.3238/arztebl.2018.0646.
  21. Hakenberg O.W. (Chair), E. Compérat, S. Minhas, A. Necchi, C. Protzel, N. Watkin (Vice-chair) (2020): EAU Guidelines (European Association of Urology ). Edn. presented at the EAU Annual Congress Amsterdam, 2020. ISBN 978-94-92671-07-3. EAU Guidelines Office, Arnhem, The Netherlands. <http://uroweb.org/guidelines/compilations-of-all-guidelines/>.
  22. Horn, Lars-Christian; Hentschel, Bettina; Braumann, Ulf-Dietrich (2008): Malignancy Grading, Pattern of Invasion, and Juxtatumoral Stromal Response (Desmoplastic Change) in Squamous Cell Carcinoma of the Uterine Cervix. In: *International Journal of Gynecological Pathology* 27 (4). doi: 10.1097/PGP.0b013e31816fc2dbIARC
  23. <https://www.bundesaerztekammer.de/ueber-uns/aerztestatistik/>
  24. <https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Datenbankabfrage/>
  25. Jesinghaus, Moritz; Boxberg, Melanie; Konukiewitz, Björn; Slotta-Huspenina, Julia; Schlitter, Anna M.; Steiger, Katja et al. (2017): A Novel Grading System Based on Tumor Budding and Cell Nest Size Is a Strong Predictor of Patient Outcome in Esophageal Squamous Cell

- Carcinoma. In: *The American journal of surgical pathology* 41 (8), S. 1112–1120. DOI: 10.1097/PAS.0000000000000865.
26. Jesinghaus, Moritz; Boxberg, Melanie; Wilhelm, Dirk; Münch, Stefan; Dapper, Hendrik; Quante, Michael et al. (2019a): Post-neoadjuvant cellular dissociation grading based on tumour budding and cell nest size is associated with therapy response and survival in oesophageal squamous cell carcinoma. In: *British Journal of Cancer* 121 (12), S. 1050–1057. DOI: 10.1038/s41416-019-0623-2.
  27. Jesinghaus, Moritz; Brühl, Frido; Steiger, Katja; Klare, Peter; Reiser, Marianne; Scheiter, Alexander et al. (2019b): Cellular Dissociation Grading Based on the Parameters Tumor Budding and Cell Nest Size in Pretherapeutic Biopsy Specimens Allows for Prognostic Patient Stratification in Esophageal Squamous Cell Carcinoma Independent From Clinical Staging. In: *The American journal of surgical pathology* 43 (5), S. 618–627. DOI: 10.1097/PAS.0000000000001230.
  28. Jesinghaus, Moritz; Steiger, Katja; Stögbauer, Fabian; Haller, Bernhard; Kolk, Andreas; Straßen, Ulrich et al. (2020): Pre-operative cellular dissociation grading in biopsies is highly predictive of post-operative tumour stage and patient outcome in head and neck squamous cell carcinoma. In: *British Journal of Cancer* 122 (6), S. 835–846. DOI: 10.1038/s41416-019-0719-8.
  29. Jesinghaus, Moritz; Strehl, Johanna; Boxberg, Melanie; Brühl, Frido; Wenzel, Adrian; Konukiewitz, Björn et al. (2018b): Introducing a novel highly prognostic grading scheme based on tumour budding and cell nest size for squamous cell carcinoma of the uterine cervix. In: *The journal of pathology. Clinical research* 4 (2), S. 93–102. DOI: 10.1002/cjp2.95.
  30. Joakim Dillner, Geo von Krogh, Simon Horenblas & Chris J.L.M. Meijer (2000) Etiology of Squamous Cell Carcinoma of the Penis, Scandinavian Journal of Urology and Nephrology, 34:205, 189-193, DOI: 10.1080/00365590050509913
  31. Kadota, Kyuichi; Miyai, Yumi; Katsuki, Naomi; Kushida, Yoshio; Matsunaga, Toru; Okuda, Masaya et al. (2017): A Grading System Combining Tumor Budding and Nuclear Diameter Predicts Prognosis in Resected Lung Squamous Cell Carcinoma. In: *The American journal of surgical pathology* 41 (6). DOI: 10.1097/PAS.0000000000000826
  32. Kadota, Kyuichi; Nitadori, Jun-Ichi; Woo, Kaitlin M.; Sima, Camelia S.; Finley, David J.; Rusch, Valerie W. et al. (2014): Comprehensive pathological analyses in lung squamous cell carcinoma: single cell invasion, nuclear diameter, and tumor budding are independent prognostic factors for worse outcomes. In: *J Thorac Oncol* 9 (8), S. 1126–1139. DOI: 10.1097/JTO.0000000000000253.
  33. Kakies, Ch; Lopez-Beltran, A.; Comperat, E.; Erbersdobler, A.; Grobholz, R.; Hakenberg, O. W. et al. (2014): Reproducibility of histopathologic tumor grading in penile cancer--results of a European project. In: *Virchows Archiv : an international journal of pathology* 464 (4), S. 453–461. DOI: 10.1007/s00428-014-1548-z.
  34. Karamitopoulou, Eva; Zlobec, Inti; Koelzer, Viktor; Kondi-Pafiti, Agathi; Patsouris, Efstratios; Gennatas, Konstantin; Lugli, Alessandro (2012): Proposal for a 10-high-power-fields scoring method for the assessment of tumor budding in colorectal cancer. In: *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc* 26. DOI: 10.1038/modpathol.2012.155.
  35. Karpathiou, Georgia; Gavid, Marie; Prevot-Bitot, Nathalie; Dhomps, Anthony; Dumollard, Jean Marc; Vieville, Marine et al. (2019): Correlation Between Semiquantitative Metabolic

- Parameters After PET/CT and Histologic Prognostic Factors in Laryngeal and Pharyngeal Carcinoma. In: *Head and Neck Pathology*. DOI: 10.1007/s12105-019-01116-z.
36. Kim, David; Pantanowitz, Liron; Schüffler, Peter; Yarlagadda, Dig Vijay Kumar; Ardon, Orly; Reuter, Victor E. et al. (2020): (Re) Defining the High-Power Field for Digital Pathology. In: *J Pathol Inform* 11, S. 33. DOI: 10.4103/jpi.jpi\_48\_20.
  37. Leijte JA, Kirrander P, Antonini N, Windahl T, Horenblas S. Recurrence patterns of squamous cell carcinoma of the penis: recommendations for follow-up based on a two-centre analysis of 700 patients. *Eur Urol*. 2008 Jul;54(1):161-8. doi: 10.1016/j.eururo.2008.04.016. Epub 2008 Apr 15. PMID: 18440124.
  38. Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF): S3-Leitlinie Diagnostik, Therapie und Nachsorge des Peniskarzinoms, Langversion 1.0, 2020, AWMF Registernummer: 043-042OL, <https://www.leitlinienprogramm-onkologie.de/leitlinien/peniskarzinom/>, (abgerufen am 16.01.2022): S3-Leitlinie Peniskarzinom.
  39. Lugli, A.; Cathomas, G. (2012): Pathologie: Tumor Budding beim kolorektalen Karzinom: ein Spitzenspieler auf der Ersatzbank? In: *Swiss Med Forum* 12 (03). DOI: 10.4414/smf.2012.07746.
  40. Lugli, Alessandro; Kirsch, Richard; Ajioka, Yoichi; Bosman, Fred; Cathomas, Gieri; Dawson, Heather et al. (2017): Recommendations for reporting tumor budding in colorectal cancer based on the International Tumor Budding Consensus Conference (ITBCC) 2016. In: *Modern Pathology* 30 (9), S. 1299–1311. DOI: 10.1038/modpathol.2017.46.
  41. Manjunath A, Brenton T, Wylie S, Corbishley CM, Watkin NA. Topical Therapy for non-invasive penile cancer (Tis)-updated results and toxicity. *Transl Androl Urol*. 2017 Oct;6(5):803-808. doi: 10.21037/tau.2017.06.24. PMID: 29184776; PMCID: PMC5673801.
  42. May, M.; Brookman-May, S. D.; Ecke, T. H.; Burger, M. (2018): Die molekulare Charakterisierung des Peniskarzinoms. In: *Der Urologe* 57 (4), S. 398–407. DOI: 10.1007/s00120-018-0596-4.
  43. McCluggage, W. Glenn (2018): Towards developing a meaningful grading system for cervical squamous cell carcinoma. In: *The journal of pathology. Clinical research* 4 (2), S. 81–85. DOI: 10.1002/cjp2.98.
  44. Moch, Holger; Humphrey, Peter A. ; Ulbright, Thomas M. ; Reuter, Victor E. (2016): WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs (4th edition). IARC: Lyon 2016. Unter Mitarbeit von Moch et al. ISBN: 978-92-832-2437-2
  45. Morodomi, T.; Isomoto, H.; Shirouzu, K.; Kakegawa, K.; Irie, K.; Morimatsu, M. (1989): An index for estimating the probability of lymph node metastasis in rectal cancers. Lymph node metastasis and the histopathology of actively invasive regions of cancer. In: *Cancer* 63 (3), S. 539–543. DOI: 10.1002/1097-0142(19890201)63:3<539::aid-cncr2820630323>3.0.co;2-s.
  46. Morshaeuser L, May M, Burger M et al (2017) p53expression in patients with renal cell carcinoma correlates with a higher probability of disease progression and increased cancer-specific mortality after surgery but does not enhance the predictive accuracy of robust outcome models. *Urol Oncol*. pii: S1078-1439(17)30596-3. <https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2017.11.011>

47. Müller, Felix; Lugli, Alessandro; Dawson, Heather (2021): Tumor Budding beim kolorektalen Karzinom – Informationen zur klinischen Anwendung und Anleitung zur praktischen Bestimmung. In: *Der Pathologe*. DOI: 10.1007/s00292-021-01016-6.
48. Neppl, Christina; Zlobec, Inti; Schmid, Ralph A.; Berezowska, Sabina (2020): Validation of the International Tumor Budding Consensus Conference (ITBCC) 2016 recommendation in squamous cell carcinoma of the lung—a single-center analysis of 354 cases. In: *Modern Pathology* 33 (5), S. 802–811. DOI: 10.1038/s41379-019-0413-7.
49. Nilsson, P. J.; Rubio, C.; Lenander, C.; Auer, G.; Glimelius, B. (2005): Tumour budding detected by laminin-5 γ2-chain immunohistochemistry is of prognostic value in epidermoid anal cancer. In: *Annals of Oncology* 16 (6), S. 893–898. DOI: 10.1093/annonc/mdi179.
50. Olivier M, Hollstein M, Hainaut P. TP53 mutations in human cancers: origins, consequences, and clinical use. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2010;2(1):a001008. doi:10.1101/cshperspect.a001008
51. Persson B, Sjödin JG, Holmberg L, Windahl T; Steering Committee of the National Penile Cancer Register in Sweden. The National Penile Cancer Register in Sweden 2000-2003. *Scand J Urol Nephrol*. 2007;41(4):278-82. doi: 10.1080/00365590601183709. PMID: 17763217.
52. Prall, F. (2007): Tumour budding in colorectal carcinoma. In: *Histopathology* 50 (1), S. 151–162. DOI: 10.1111/j.1365-2559.2006.02551.x.
53. Prall, F.; Nizze, H.; Barten, M. (2005): Tumour budding as prognostic factor in stage I/II colorectal carcinoma. In: *Histopathology* 47 (1), S. 17–24. DOI: 10.1111/j.1365-2559.2005.02161.x.
54. Rimtebaye, Kimassoum; Mahamat, Mahamat Ali; Kimassoum, Freddy Rimtebaye; Nemia, Frederic Meurde; Djekoundade, Antoinette; Andjeffa, Valentin et al. (2021): Clinical Characteristics and Difficulties in the Management of Cancer of the Penis. In: *OJU* 11 (11), S. 436–442. DOI: 10.4236/oju.2021.1111043.
55. Sarioglu, Sulen; Acara, Cagdas; Akman, Fadime Can; Dag, Nihal; Ecevit, Cenk; Ikiz, Ahmet Omer et al. (2010): Tumor budding as a prognostic marker in laryngeal carcinoma. In: *Pathology, research and practice* 206 (2), S. 88–92. DOI: 10.1016/j.prp.2009.09.006.
56. Schmidt, Ligia B.; Beesley, Lauren J.; Russo, Nickole; Bellile, Emily L.; Inglehart, Ronald C.; Liu, Min et al. (2018): Redefining Perineural Invasion: Integration of Biology With Clinical Outcome. In: *Neoplasia* 20 (7), S. 657–667. DOI: 10.1016/j.neo.2018.04.005.
57. Shimizu, Shota; Miyazaki, Akihiro; Sonoda, Tomoko; Koike, Kazushige; Ogi, Kazuhiro; Kobayashi, Jun-Ichi et al. (2018): Tumor budding is an independent prognostic marker in early stage oral squamous cell carcinoma: With special reference to the mode of invasion and worst pattern of invasion. In: *PloS one* 13 (4), e0195451. DOI: 10.1371/journal.pone.0195451.
58. Sievert, K.-D.; Dräger, D.-L.; Köhn, F.-M.; Milerski, S.; Protzel, C.; Hakenberg, O. W. (2018): Peniskarzinom: Diagnose und Staging. In: *Der Urologe* 57 (4), S. 418–422. DOI: 10.1007/s00120-018-0602-x.
59. Stendahl, U.; Eklund, G.; Willén, R. (1981): Invasive squamous cell carcinoma of the uterine cervix. IV. Analysis of a histopathologic malignancy grading system and construction of a partial index. In: *Acta radiologica. Oncology* 20 (5), 289-4. DOI: 10.3109/02841868109130209.

60. Ueno, Hideki; Ishiguro, Megumi; Nakatani, Eiji; Ishikawa, Toshiaki; Uetake, Hiroyuki; Matsuda, Chu et al. (2019): Prospective Multicenter Study on the Prognostic and Predictive Impact of Tumor Budding in Stage II Colon Cancer: Results From the SACURA Trial. In: *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology* 37 (22), S. 1886–1894. DOI: 10.1200/JCO.18.02059.
61. Velazquez EF, Ayala G, Liu H, Chaux A, Zanotti M, Torres J, Cho SI, Barreto JE, Soares F, Cubilla AL. Histologic grade and perineural invasion are more important than tumor thickness as predictor of nodal metastasis in penile squamous cell carcinoma invading 5 to 10 mm. Am J Surg Pathol. 2008 Jul;32(7):974-9. doi: 10.1097/PAS.0b013e3181641365. PMID: 18460979.
62. Weichert, Wilko; Kossakowski, Claudia; Harms, Alexander; Schirmacher, Peter; Muley, Thomas; Dienemann, Hendrik; Warth, Arne (2016): Proposal of a prognostically relevant grading scheme for pulmonary squamous cell carcinoma. In: *The European respiratory journal* 47 (3), S. 938–946. DOI: 10.1183/13993003.00937-2015.
63. Wittekind, Christian (2017): TNM Klassifikation Maligner Tumoren. Achte Auflage: WILEY-VCH. ISBN: 978-3-527-34280-8
64. Wentzensen N. Molekulare Diagnostik der HPV-Infektion [Molecular diagnosis of HPV infections]. *Pathologe*. 2011;32(6):461-466. doi:10.1007/s00292-011-1475-6
65. Yamaguchi, Yoko; Ishii, Genichiro; Kojima, Motohiro; Yoh, Kiyotaka; Otsuka, Hajime; Otaki, Yoichi et al. (2010): Histopathologic features of the tumor budding in adenocarcinoma of the lung: tumor budding as an index to predict the potential aggressiveness. In: *J Thorac Oncol* 5 (9), S. 1361–1368. DOI: 10.1097/JTO.0b013e3181eaf2f3.
66. Zare, Somaye Y.; Aisagbonhi, Omonigho; Hasteh, Farnaz; Fadare, Oluwole (9000): Independent Validation of Tumor Budding Activity and Cell Nest Size as Determinants of Patient Outcome in Squamous Cell Carcinoma of the Uterine Cervix. In: *The American journal of surgical pathology* Publish Ahead of Print. doi: 10.1097/PAS.0000000000001472
67. Zhao, Yang; Shen, Hongchang; Qiu, Chen; Zhang, Tiehong; Hu, Pingping; Qu, Xiao et al. (2015): Invasion Types Are Associated With Poor Prognosis in Lung Squamous Carcinoma Patients. In: *Medicine (Baltimore)* 94 (43), e1634-e1634. DOI: 10.1097/MD.0000000000001634.

## Abkürzungsverzeichnis

20.0x: 20 fache mikroskopische Vergrößerung

bzw. : beziehungsweise

ca. : circa

CDG: englische Abkürzung für cellular dissociation grading, Zelluläres Dissoziations-Grading.

WHO: englische Abkürzung für World Health Organisation, Weltgesundheitsorganisation

WHO-G: WHO-Grad

HPV: humaner Papillomvirus

PEC: Plattenepithelkarzinom

NOS: englische Abkürzung für not otherwise specified, nicht anders spezifiziert.

HPF: englische Abkürzung für high-power field, hochauflösenden Gesichtsfeld.

TMA: englische Abkürzung für Tissue Micro-Array, Gewebemikropanel.

TNM: englische Abkürzung für „tumour, node, metastasis“, Tumor, Lymphknoten, Metastasen.

pT: Pathologischer Status der Tumorausdehnung.

PeIN: Penile intraepithelial Neoplasie.

pTis: Carcinoma in situ.

pTa: Nicht-invasives verruköses Karzinom.

pN: Pathologischer Status der regionären Lymphknoten.

pN+: Vorhandensein von Lymphknotenmetastasen, unabhängig vom Anzahl.

pNx: Unbekannter pathologischer Status der regionären Lymphknoten.

cN: Klinischer Status der regionären Lymphknoten.

L: Status der Lymphgefäßinvasion.

V: Status der venösen Invasion.

Pn: Status der Perineuralinvasion.

PPV: englische Abkürzung für positive predictive value, der positive prädiktive Wert.

NPV: englische Abkürzung für negative predictive value, der negative prädiktive Wert.

SEN: Sensitivität

SPE: Spezifität

## Bilder-, Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

<b>Bilder</b>	<b>Seite</b>
Bild 1: Makroskopie des Peniskarzinoms: Ulzeration in der Glans und im Sulcus .....	6
Bild 2: Peniskarzinom nach Zuschnitt, Infiltration des Corpus cavernosum .....	6
Bild 3: Gewöhnliches PEC_2.0x .....	7
Bild 4: Basaloides PEC_10.0x .....	7
Bild 5: Warziges PEC_1.5x .....	8
Bild 6: Verruköses PEC_0.6x .....	8
Bild 7: Papilläres PEC_1.0x .....	9
Bild 8: Koilozytose_30.0x .....	9
Bild 9: Klarzelliges PEC_5.0x .....	10
Bild 10: Lymphoepitheliales PEC_2.0x .....	10
Bild 11: Pseudoglanduläres PEC_5.0x .....	11
Bild 12: Angioinvasion _10.0x. ....	11
Bild 13: Lymphknotenmetastase mit extrakapsulärer Ausbreitung_1.0x. ....	12
Bild 14: positive p16-Immunhistochemie_20.0x .....	12
Bild 15: positive p53-Immunhistochemie _10.0x .....	13
Bild 16-a: Tissue Mikroarray- Schnitt , 1.0x .....	24
Bild 16-b: p16 Immunhistochemie , 0.4x .....	24
Bild 16-c: p53 Immunhistochemie, 0.4x .....	24
Bild 17: ZNG(1)+TB(1)= CDG-1 _10.0x .....	31
Bild 18: ZNG(3)+TB(2)= CDG-2 _10.0x .....	31
Bild 19: ZNG(4)+TB(3)= CDG-3 _10.0x .....	31

<b>Tabellen</b>	<b>Seite</b>
Tabelle 1: Pathologische WHO-Klassifikation der PeIN .....	5
Tabelle 2: Pathologische WHO-Klassifikation des plattenepithelialen Peniskarzionms ....	6
Tabelle 3: Eigenschaften der warzenförmigen Penistumoren .....	9
Tabelle 4: Graduierung des Penis-PECs im Bezug zu den histologischen Subtypen. ....	15
Tabelle 5: Die pathologische TNM-Klassifikation des Peniskarzinoms 2017. ....	16
Tabelle 6: Stadien des Peniskarzinoms. ....	16

Tabelle 7 : Zelluläres Dissoziations-Grading. ....	22
Tabelle 8 : Eigenschaften der histologischen Tumortypen des Kollektivs. ....	28
Tabelle 9: Verteilung der (p16 und p53)-Immunhistochemie .....	29
Tabelle 10 : Korrelation der Grading-Systeme zum pN-Status .....	34
Tabelle 11a,b: WHO-G*pN Kreuztabelle, Entsprechender Chi-Quadrat-Test .....	34
Tabelle 12a,b: CDG*pN Kreuztabelle, Entsprechender Chi-Quadrat-Test .....	34
Tabelle 13a: WHO-G*pN Univariate Varianzanalyse .....	35
Tabelle 13b: CDG*pN Univariate Varianzanalyse .....	35
Tabelle 14: logistische Regression .....	35
Tabelle 15: Signifikanzwerte der statistischen Untersuchungen .....	36
Tabelle 16a,b,c : Eigenschaften der Kollektive in der Forschung über Peniskarzinom ....	45,46
Tabelle 17: pN im Bezug zu cN .....	46
Tabelle 18: Prognostische Faktoren für Lymphknotenmetastasen beim Peniskarzinom ....	47

<b>Abbildungen</b>	<b>Seite</b>
Abbildung 1: Häufigkeitsverteilung der eingesandten Materialien .....	27
Abbildung 2: Verteilung des Patientenalters bei Diagnosestellung .....	27
Abbildung 3: Häufigkeitsverteilung der pT-Klassifikation .....	29
Abbildung 4: Häufigkeitsverteilung der pN-Klassifikation .....	29
Abbildung 5: Häufigkeitsverteilung des WHO-Grades .....	30
Abbildung 6: Häufigkeitsverteilung des CDG-Grades .....	30
Abbildung 7: Häufigkeitsverteilung der Zellnestgröße (ZNG) .....	30
Abbildung 8: Häufigkeitsverteilung des Tumor-Budding (TB) .....	30
Abbildung 9: WHO-G im Bezug zu CDG im gesamten Kollektiv .....	32
Abbildung 10: WHO-G im Bezug zu CDG in den Fällen mit bekannten pN-Status .....	32
Abbildung 11: Verteilung des pN-Status auf das WHO-Grading .....	33
Abbildung 12: Verteilung des pN-Status auf das CDG-Grading .....	33

## **Selbstständigkeitserklärung**

Hiermit versichere ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit mit dem Titel: „Neues Invasionsgrading des Peniskarzinoms – Vergleich mit etablierten WHO-Grading“ selbstständig und nur unter Verwendung der ausgewiesenen Hilfsmittel angefertigt habe. Sämtliche Stellen der Arbeit, die im Wortlaut oder dem Sinn nach anderen Werken entnommen sind, habe ich durch genaue Quellenangaben kenntlich gemacht.

Hayel Derani

## Danksagung

Herzlichen Dank an Herr Prof. Dr. A. Erbersdobler, meinen Doktorvater und Betreuer der Arbeit, für die Chance der Dissertation und die geduldige Unterstützung bei deren Umsetzung.

Vielen Dank an das Institut für Pathologie an der Universitätsmedizin Rostock, an alle ärztlichen Kolleginnen und Kollegen und an die Medizin-technischen Assistentinnen für das ermöglichen dieser Arbeit.

Lieben Dank an meine Familie, meine Eltern und meine Verlobte für die Unterstützung.



## **Lebenslauf**

geboren am: 10.02.1986 in Damaskus, Syrien

### **Studium**

2004	Wissenschaftliches Abitur
09/2004 - 12/2011	Studium der Humanmedizin – Universität Damaskus Abschluss: Doktor in Humanmedizin
01/2012 - 01/2016	Weiterbildung als Assistenzarzt in der Pathologie in den Universitätskliniken, Universität Damaskus Abschluss: Facharzt in der Pathologie
02/2016 – 09/2016	Diplom in Management und Diplom in Personalmanagement von der internationalen professionellen Manager Assoziation
04/2017 - 07/2017	Hospitalitation in der Pathologie-Institut bei Klinikum Chemnitz
08/2017 - 10/2017	Hospitalitation in der Inneren Medizin ,der allgemeinen Chirurgie und der zentralen Notaufnahme bei Klinikum Chemnitz
10/2018 - 05/2020	Spenderarzt bei Plasmaspendezentrum PlasmaVita, Chemnitz
12/2019	Deutsche Approbation als Arzt
Seit 06/2020	Wissenschaftlicher Mitarbeiter /Assistenzarzt in der Pathologie Institut für Pathologie, Universitätsmedizin Rostock

### **Publikationen**

Zack F, Nigbur S, Manhart J, Derani H, Boy D, Port A, Kolbe V, Büttner A (2021) Erste Ergebnisse der Obduktionen der im Zusammenhang mit den SARS-CoV-2-Infektionen Verstorbenen aus der Unimedizin Rostock. Ärzteblatt M-V 31:125-128

## Thesen

### Hintergrund:

Der Lymphknotenstatus (pN) ist der wichtigste Prädiktor für das Überleben bei Patienten mit invasivem Plattenepithelkarzinom. Aktuelle Staging-Strategien sind mit falsch negativen Befunde und/oder hohen Morbiditätsraten vergesellschaftet. Deshalb sollten zusätzliche Kriterien identifiziert werden, um die Vorhersage der Lymphknotenbeteiligung zu verbessern und die Anzahl unnötiger Lymphadenektomien zu verringern. Das Ziel sollte sein, die Patienten mit dem höchsten Risiko einer Leistenlymphknoteninfiltration für eine frühe Leistenlymphadenektomie zu finden und diejenigen Patienten zu schonen, die von einer Lymphadenektomie nicht profitieren.

### Aufgabestellung:

In dieser retrospektiven Arbeit wurde das in der Literatur viel diskutierte „Zelluläre Dissoziations-Grading-System“ beim Plattenepithelkarzinom des Penis untersucht. Weiterhin wurden der zelluläre Dissoziationsgrad (CDG) mit dem WHO-Grad (WHO-G) als mögliche Prognosefaktoren für pN verglichen.

### Methodik:

Das Kollektiv basierte auf die Daten von 101 Fällen mit Plattenepithelkarzinomen des Penis (2014-2020, Universität Rostock). Der CDG-Grad für diese Fälle wurde auf Basis von anderen internationalen Studien bewertet. Das HPF mit der höchsten Knospungsaktivität und der kleinsten Nestgröße von Tumorzellen wurde ausgewählt. Ein systematischer Score wurde für das Tumor-Budding und die Nestgröße der Tumorzellen vergeben. In der Summe entstand der CDG-Grad.

### Ergebnisse:

Es gab wesentliche Unterschiede in der Verteilung der Graden 1 und 2 zwischen WHO-Grading und CDG-Grading. Das CDG-Grading hatte einen höheren prognostischen Wert für den Lymphknotenstatus (pN) als das WHO-Grading. Die Sensitivität, Spezifität und die positiven und negativen prädiktiven Werte für pN waren bei CDG signifikant höher als bei WHO-G. pN zeigte eine hochsignifikante Assoziation mit CDG, aber keine signifikante Assoziation mit WHO-G. Diese Ergebnisse stimmen mit ähnlichen internationalen Studien an anderen Organen (Kopf-Hals-Bereich, Ösophagus, Lunge, Zervix, Kolon) überein.

### Fazit:

Ein Gradingsystem mit Merkmalen des Tumor-Buddings und der zellulären Dissoziation der Tumorzellen liefert beim Plattenepithelkarzinom des Penis wesentlich bessere prognostische Informationen als ein Gradingsystem, das auf die zelluläre Atypie basiert.