

**Institut für Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie
der Technischen Universität München
Klinikum Rechts der Isar
(Direktor: Univ. -Prof. Dr. H. K. Höfler)**

Prognosefaktoren gastrointestinaler Stromatumoren des
Magens

Sophie Karela

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München
zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Medizin

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.- Prof. Dr. D. Neumeier

Prüfer der Dissertation:

1. Univ.- Prof. Dr. H. K. Höfler

2. Priv.- Doz. Dr. A. Sandler

Die Dissertation wurde am 24.09.2004. bei der Technischen Universität München eingereicht
und durch die Fakultät für Medizin am 15.12.2004 angenommen.

INHALTSVERZEICHNIS

1. Einleitung	4
2. Fragestellung	6
3. Material	7
4. Methoden	8
4.1 Klinische Aspekte	8
Alter, Geschlecht, präoperative Symptomatik, Haupt –oder Nebenbefund	
4.2 Operative/ Makroskopische Parameter	9
Resektionsart und –ausmaß, Entfernung und Befall von Lymphknoten, Lokalisation, Größe, Ulceration, Makroskopische Abgrenzung, Schnittfläche	
4.3 Färbemethoden und histologische Parameter	9
4.3.1 Schnitt und Objektträger	9
4.3.2 HE Färbung und histologische Beurteilung	10
4.3.2.1 Methode der HE Färbung im Rahmen der Routinefärbung	10
4.3.2.2 Histologische Beurteilung der HE gefärbten Präparate	10
4.3.2.2.1 Histologischer Tumortyp	10
4.3.2.2.2 Zellreichtum	10
4.3.2.2.3 Polymorphie / Atypie	10
4.3.2.2.4 Nekrosen	10
4.3.2.2.5 Mitosen	11
4.3.3 Grundschrirte der immunhistochemischen Färbung	11
4.3.4 MIB 1	13
4.3.4.1 Färbemethode MIB 1	14
4.3.4.2 Zählung der MIB 1 positiven Zellen	15
4.3.4.3 Proliferationsindex (= MIB 1 Index)	15
4.3.5 P53	16
4.3.5.1 P53 Färbemethode	16
4.3.5.2 P53 Expression	17
4.3.6 sm- Aktin	17
4.3.6.1 sm- Aktin Färbemethode	17
4.3.6.2 Beurteilung der sm- Aktin Nachweisbarkeit	17
4.3.7 Desmin	18
4.3.7.1 Desmin Färbemethode	18
4.3.7.2 Beurteilung der Desmin Nachweisbarkeit	19
4.3.8 S100	19
4.3.8.1 S100 Färbemethode	19
4.3.8.2 Beurteilung der S100 Nachweisbarkeit	19
4.3.9 Östrogen und Progesteron	20

4.3.9.1 Östrogen und Progesteron Färbemethode	20
4.3.9.2 Beurteilung der Östrogen und Progesteron Nachweisbarkeit	20
4.3.10 Statistische Auswertung	21
5. Ergebnisse	22
5.1 Klinische Parameter	22
Geschlecht, Alter bei OP, präoperative Symptome; Haupt- oder Nebenbefund	
5.1.1 Verläufe metastasenfrier Patienten	22
5.1.2 Verläufe der Patienten mit Metastasierung	23
5.2 chirurgische Parameter	24
5.2.1 Resektionsart und –ausmaß	24
5.2.2 Entfernung und Befall von Lymphknoten	25
5.2.3 Lokalisation	25
5.2.4 Größe	26
5.2.5 Obere /untere gastrointestinale Blutung/ Ulceration	26
5.2.6 Makroskopische Abgrenzung, intraoperative Metastasierung	27
5.2.7 Schnittfläche	27
5.3 Histologische Ergebnisse	28
5.3.1 HE- Färbung	28
5.3.1.1 Histotyp	28
5.3.1.2 Zellreichtum	29
5.3.1.3 Polymorphie / Atypie	30
5.3.1.4 Nekrosen	31
5.3.1.5 Mitosen	32
5.3.2 Immunhistochemie	33
5.3.2.1 MIB 1	33
5.3.2.1.1 MIB 1 positive Zellen	33
5.3.2.1.2 MIB Index	33
5.3.2.2 P53	34
5.3.2.3 Sm- –Aktin- und Desminnachweisbarkeit	35
5.3.2.3.1 Sm- Aktin	35
5.3.2.3.2 Desmin	35
5.3.2.4 S100	36
5.3.2.5 Östrogen und Progesteron	36

6. Diskussion	37
6.1 Studienaufbau, angewandte statistische Methoden und Bezugswerte	37
6.2 Klinische Ergebnisse	41
6.3 Chirurgische Ergebnisse	43
6.4 Histologische Ergebnisse	48
7. Zusammenfassung	64
8. Literaturverzeichnis	67
9. Abbildungsverzeichnis	76
10. Danksagung	89

1. Einleitung

Mesenchymale Tumoren des Verdauungstraktes sind seit langem Ausgangspunkt vielfältiger oft kontroverser Diskussion (62 S.107). Die Beforschung dieser Entität hinsichtlich Ursprungsgewebe bzw. Differenzierungsziel einerseits und Vorhersagemöglichkeit des biologischen Verhaltens andererseits ist langfristig von ungebrochenem Interesse und über lange Zeiträume ohne wesentliche weiterführende Ergebnisse gewesen (79 S.147).

Diese Tumoren treten am häufigsten im Magen auf (50 S.405) und, obgleich ihr biologisches Verhalten an diesem Ursprungsort in der Mehrzahl der Fälle benigne ist (24 S.84), ist die Prognose in jedem Einzelfall sehr schwierig vorhersagbar (50 S.405) und nur unbefriedigend mit histologischen Kriterien wie Größe, Histotyp, Wachstumsmuster, Zellreichtum und Nekroserate korreliert (24 S.82; 6 S.377; 28 S.43). Auch die Mitoserate, welche als zuverlässigster Prognoseparameter gilt (13 S.160; 50 S.428; 5 S.715; 6), ist mit gewissen Unsicherheiten (50 S.428) wie z.B. schwierige Reproduzierbarkeit und erschwerte Interpretierbarkeit bei mangelhafter Schnittqualität und Fixierung behaftet. Als alleiniges Beurteilungskriterium ist sie auch deshalb nur eingeschränkt hilfreich. Ein weiteres Problem ist, dass von verschiedenen Untersuchern unterschiedliche Diagnosekriterien angewendet werden.

Neue Untersuchungen wie DNA- Bestimmung (41 S.954; 17 S.588-590) und Einführung immunhistochemischer Färbemethoden u.a. zur Visualisierung der Zellkinetik (z.B. PCNA und Ki67) (68 S.791; 71 S.781f) bzw. Messung des Proliferationsindex in der Routinediagnostik finden auch bei der Untersuchung von GIST zunehmend Verwendung, in der Hoffnung objektivere Beurteilungskriterien für deren biologisches Verhalten zu etablieren.

Ursprungsgewebe und Differenzierungsziel sind andere, lange Zeit unklare Aspekte dieser Tumorentität (29 S.947/950).

Die anfänglich aufgrund der vorherrschenden Zellmorphologie und Ursprungslokalisation vermutete Muskelgewebszugehörigkeit wurde schon mit Beginn der Elektronenmikroskopie vermehrt in Frage gestellt (50

S.424-427). Mit der Zunahme immunhistochemischer Untersuchungen fiel eine größtenteils nur partiell nachweisbare myogene Differenzierung auf (53 S.601). Dies führte zu dem in der Zwischenzeit etablierten Konzept der sog. gastrointestinalen Stromatumoren „GIST“ (21 S.41).

Jüngste Erkenntnisse über Nachweis des Kit- Rezeptors (CD117) in GIST sowie CD34 Positivität sprechen für eine Zugehörigkeit dieser Entität zu dem komplexen Zellnetzwerk der „interstitial cells of Cajal (ICC)“, welche auch phänotypisch nachvollziehbar ist (39 S.1259-1263).

Inzwischen ist der Nachweis von CD117, neben dem typischen histomorphologischen Erscheinungsbild, Basis für die Zuordnung zur Gruppe der GIST (27; 51; 9).

Somit lässt sich diese interessante Tumorentität zunehmend präziser definieren, was eine unabdingbare Grundvoraussetzung für die Abschätzung des biologischen Verhaltens darstellt und auch von zunehmender therapeutischer Bedeutung ist.

2. Fragestellung

Auf die in der Einleitung dargestellten Diskussionspunkte und Probleme hinsichtlich der fortbestehenden Schwierigkeiten bei der prognostischen Beurteilung des biologischen Verhaltens der GIST, sowie der Unklarheit über ihre zelluläre Abstammung und Differenzierung aufbauend werden in dieser Arbeit folgende Fragestellungen bearbeitet:

- 1.) Die erneute Überprüfung herkömmlicher makroskopischer und histologischer Diagnosekriterien bzw. Prognosefaktoren auf ihre Aussagekraft bezüglich des biologischen Verhaltens. Zu ihnen gehören Tumorgröße, Zellreichtum, Polymorphiegrad, Nekroseanteil und Mitosezahl.
- 2.) Die Analyse der immunhistochemischen Marker MIB 1 und p53 hinsichtlich ihrer Nutzbarkeit für eine bessere Einschätzung des biologischen Verhaltens dieser Tumorentität. Weiterhin wird ein Vergleich dieser Marker mit herkömmlichen histologischen Beurteilungsmethoden angestellt. Bei MIB-1 wird zudem eine Computer gestützte Auswertung getestet.
- 3.) Myogene und neurogene Differenzierung werden durch Untersuchung der immunhistochemischen Nachweisbarkeit von sm-Aktin, Desmin und S100 dargestellt um weitere Erkenntnisse über Ursprungsgewebe und Enddifferenzierung der GIST zu erhalten und eventuelle Zusammenhänge des biologischen Verhaltens mit der Differenzierung zu erkennen.
- 4.) Östrogen und Progesteron werden immunhistochemisch versucht nachzuweisen um eine potentiell bestehende Verwandtschaft mit Uterusgewebe, in dem es sehr häufig Myome gibt zu erkennen.

Die Verfahren der immunhistochemischen Färbemethoden am untersuchten Material wurden für MIB 1, p53, sm- Aktin und Desmin etabliert.

3. Material

Zunächst wurden alle Patienten mit der Diagnose eines im Magen lokalisierten Leiomyoms, Leiomyosarkoms, Leiomyblastoms, GIST's bzw. mesenchymalen Tumors, welche am Klinikum Rechts der Isar der technischen Universität München von Mai 1981 bis Juni 1996 operativ behandelt worden waren, erfasst.

Ausschlusskriterien aus diesem Kollektiv waren:

- Unzureichendes in Paraffin eingebettetes Untersuchungsmaterial
- fehlende Möglichkeit zum follow up (lediglich intraoperativ bereits metastasierte Tumoren wurden auch bei fehlendem follow up in die Studie aufgenommen)
- Unsicherheit über R0 Resektion bei Erstoperation
- Fehlende Einsichtnahmemöglichkeit in die Patientenakte

Nach Anwendung all dieser Kriterien konnten Paraffinblöcke von insgesamt 43 Patienten (22 männlich , 21 weiblich), zwischen 19 und 85 Jahren untersucht werden.

Bei der Erstbefundung des untersuchten Kollektivs waren 19 Tumoren als benigne eingestuft worden, 14 als sog. Borderline Tumoren und 10 als maligne. Von diesen metastasierten insgesamt 5; 3 bereits intraoperativ, einer zeigte histologisch infiltratives Wachstum.

Bei keinem der Patienten erfolgte eine Untersuchung des metastasierten Gewebes.

Weiterführende Informationen wurden den Patientenakten oder Verlaufsberichten der Tumoramбуlanz entnommen.

Klinischer Verlauf bzw. Tumorfreiheit wurde über telephonischen oder schriftlichen Kontakt mit dem behandelnden Arzt bzw. dem Patienten selbst geklärt.

Tabelle 3 gibt einen Überblick über das gesamte Patientenkollektiv (orange unterlegt sind die Patienten mit Metastasierung im Verlauf).

4. Methoden

In dieser retrospektiven Studie wurden die 43 GIST zunächst ausschließlich nach dem klinischen Verlauf in metastasenfreie oder metastasierte Tumoren unterteilt. Gleichzeitig untersuchten wir das beschriebene Material nach klinischen und makroskopisch-operativen Aspekten. Des Weiteren wurden histologische Parameter und Expression immunhistochemischer Marker erfasst und beurteilt. Diese „Datenerfassung“ erfolgte „blind“, d.h. ohne Kenntnis des Metastasierungsverhaltens. Gemeinsame Eigenschaften innerhalb der beiden Gruppen wurden gesucht und auf ihre Aussagekraft über wahrscheinliches Metastasierungsverhalten geprüft um sie in Zukunft bei der Einschätzung von Dignität oder Metastasierungsverhalten von GIST heranziehen zu können. Tumoren im Kollektiv, welche im Beobachtungszeitraum metastasenfrei waren, jedoch malignitätshinweisende Kriterien zeigten wurden als potentiell maligne eingestuft und werden gesondert diskutiert.

4.1 Klinische Aspekte

Durch Einsichtnahme in die Patientenakte wurden Informationen über Geschlecht, Alter bei Operation, präoperative Symptomatik (obere GI Blutung, Teerstuhl, Bauchschmerzen, Anämie), Tumor als Haupt- oder Nebenbefund, sowie operative / makroskopische Parameter gewonnen.

Den klinischen Verlauf (d.h. Folgeproblematiken, Metastasen- oder Rezidivfreiheit) beurteilten wir durch telefonische oder schriftliche Befragung des weiterbehandelnden Arztes und / oder des Patienten. Auch Befunde aus Kontrollen in der dem Klinikum Rechts der Isar angeschlossenen Tumorambulanz wurden berücksichtigt. Regelmäßiges Aufsuchen des Arztes bei Symptombfreiheit wurde als Minimalanforderung zur Feststellung von Metastasen-/ Rezidivfreiheit gewertet.

4.2 Operative/ Makroskopische Parameter

Angaben aus den Patientenakten über

- die Art des operativen Eingriffes (Magentotal-, Magenteilresektion, Tumorexstirpation)
- das Ausmaß des Lymphknotenbefalls (Anzahl),
- die Lokalisation des Tumors (große Kurvatur, kleine Kurvatur , Fundus, Corpus , Antrum)
- die Größe des Tumors
- bestehende Ulcerationen (ja / nein),
- makroskopische Abgrenzbarkeit (ja, nein) ,
- Aussehen der Schnittfläche (weiß, bunt, grau, rotbraun, verkalkt, fest, mittelfest, glasig, zerfallen; Einblutungen)

wurden den in Klammern aufgeführten Parametern zugeordnet.

Die Aussagekraft dieser Aspekte hinsichtlich des Metastasierungsverhaltens wurde geprüft.

4.3 Färbemethoden und histologische Parameter

Durch makroskopische Beurteilung und Durchsicht der anschließend dazu angefertigten HE und van Gieson Präparate wurden repräsentative Tumorareale ausgewählt. Diese wurden dann am HE Schnitt histologisch bewertet und nach immunhistochemischer Färbung auf MIB-1, p53, sm-Aktin, Desmin, S100, Östrogen- und Progesteron Expression untersucht.

4.3.1 Schnitt und Objektträger

Die ausgewählten Paraffinblöcke wurden mit dem Mikrotom HM 335E geschnitten.

Die Schnittdicke betrug ca. 2 –3 µm. Die Schnitte wurden auf silanisierte Objektträger der Firma DAKO aufgezogen.

4.3.2 HE Färbung und histologische Beurteilung

4.3.2.1 Methode der HE Färbung im Rahmen der Routinefärbungen

10 min. Hämalan nach P. Mayer, dann 5 min. bläuen der Kerne in lauwarmem Wasser, anschließend ca. 8 min. Tauchbad in Eosin 0,3% alkoholisch. Abwaschen mit Aqua dest., differenzieren in 96% Alkohol, dehydrieren in aufsteigender Alkoholreihe (s.u.) bis Xylol.

4.3.2.2 Histologische Beurteilung der HE gefärbten Präparate

Die angefertigten HE Präparate wurden ohne Kenntnis der Beurteilung des Erstuntersuchers unter folgenden Gesichtspunkten durchgemustert:

4.3.2.2.1 Histologischer Tumortyp

Zur Bezeichnung des Histologischen Typs wurde unter Bezugnahme auf die deutlich überwiegende Zellmorphologie in üblicher Weise (3;5;6) unterteilt in spindelzellig, epitheloidzellig oder gemischtzellig.

4.3.2.2.2 Zellreichtum

Der Zellreichtum wurde semiquantitativ als gering, mäßig, und hoch angegeben.

Zudem führten wir eine Zählung der Tumorzellen in 3 HPF durch.

(vgl. 4.3.4.2)

4.3.2.2.3 Polymorphie- und Atypie

Es wurde zwischen einem geringen, mäßigen und hohen Grad an Polymorphie und Atypie unterschieden. Hierbei wurde eine hohe morphologische Ähnlichkeit der Zellen untereinander, sowie ein homogenes Bild des Gewebes als geringer Polymorphie- und Atypiegrad gewertet.

4.3.2.2.4 Nekrosen

Bei der Beurteilung der Nekrosen wurde zwischen frischen Nekrosen und alten, degenerativen Veränderungen unterschieden. Alte, degenerative Veränderungen gingen nicht in die Bewertung ein. Der %-Anteil frischer

Nekrosen am gesamt überblickten Tumorgewebe wurde semiquantitativ als gering (<1%), mäßig (1% - <10%) und hoch (>10%) geschätzt.

4.3.2.2.5 Mitosen

Die mitotische Aktivität eines Tumors ist als ein wesentliches Kriterium zur Einschätzung seines Metastasierungsverhaltens bekannt. Wir führten in Anlehnung an Appelman (3;5) die Zählung der Mitosen in 50 aufeinander folgenden HPF (d.h. 50 Gesichtsfelder mit 400-facher Vergrößerung) durch. Zur Auszählung gewählt wurde ein Bereich, in dem bereits im Überblick (100-fachen Vergrößerung) Mitosefiguren zu erkennen waren. Es wurden nur Mitosefiguren ohne Kernmembran und mit spikes gezählt, deren Zytoplasma keine Eosinophilie zeigte.

4.3.3 Grundschritte der immunhistochemischen Färbung

Die paraffineingebetteten Schnitte wurden 2 – 3 µm dick geschnitten und auf silanisierte Objektträger aufgezogen. Anschließend ließ man sie über Nacht im Brutschrank trocknen.

Um immunhistochemische Färbetechniken an paraffineingebetteten Geweben durchführen zu können, müssen diese zuerst in Xylol (2 x 10 min.) entparaffinisiert und anschließend in absteigender Alkoholreihe (Isopropanol 100% 2 x 3 min, Alkohol 96% 2 x 3 min, Alkohol 70% 2 x 3 min) hydratisiert werden.

Anschließend erfolgt das Spülen mit PBS (= phosphate buffered saline; Stammlösung mit aqua dest. auf 1:20 verdünnt => pH 7,4 10 mM), welches nach jedem der folgenden Schritte wiederholt wird.

Zum Zwecke der Demaskierung des Antigens werden die Schnitte dann im Zitratpufferbad (pH 6,0) - bei MIB-1, sm-Aktin, Desmin und S100, Ösrogen und Progesteron - bzw. in spezifischem Antigen-retrieval (1:4 Verdünnung Retrieval der Fa. Biegner mit aqua dest.) - bei p53 - erhitzt.

Die Erhitzung unterscheidet sich je nach zu demaskierendem Antigen in Methode und Dauer. Einzelheiten werden bei der Beschreibung der Färbemethode jedes verwendeten Antigens ausgeführt.

Nach dem Erhitzen kühlen die Schnitte mindestens 15 min bei geöffnetem

Deckel in der Flüssigkeit aus. Es folgt die dreimalige Spülung mit PBS und anschließend ein 15 minütiges Eintauchen in Peroxidase-Lösung (95 ml aqua dest. + 5 ml 30% H₂O₂) um die endogene Peroxidase zu blocken.

Nach erneuter Spülung in PBS verbleiben sie bis zum Auftragen des Primärantikörpers darin. Art und genaue Anwendung der einzelnen Primärantikörper werden im Rahmen der jeweiligen Kapitel ausgeführt.

Gemeinsam ist den jeweiligen Primärantikörpern die Inkubation in einer feuchten Kammer. Dort werden die Objektträger ausgelegt und die jeweils spezifisch verdünnten Antikörperlösungen (vgl. jeweilige Kapitel) aufgetragen.

Das auf die Primärantikörperinkubation folgende Verfahren ist abhängig von der Wahl des Entwicklungssystems, wobei bei p53, MIB-1, sm-Aktin, S100, Progesteron und Östrogen die LSAB - Methode angewandt wurde, die im folgenden beschrieben wird.

Desmin wurde nach der APAAP Methode entwickelt, welche im Kapitel 4.3.7.1 ausführlich beschrieben wird.

Prinzip der LSAB (Labelled Streptavidin – Biotin) Methode:

Die Methode nutzt die Affinität von Avidin zu Biotin. Statt dem früher verwendeten Avidin aus Hühnereiweiß wird das gentechnisch hergestellte Streptavidin verwendet. Das Vitamin Biotin lässt sich gut an den Brückenantikörper (= Sekundärantikörper) koppeln, wodurch dann die Verbindung zum Streptavidin-Enzymkonjugat hergestellt wird. In einem letzten Schritt findet dann die Enzym – Substrat – Reaktion statt.

Vorgehen bei Entwicklung nach dem LSAB-System (mit DAKO LSAB + KIT, Peroxidase Universal K0679):

Nach dem Spülen mit PBS erfolgt wieder bei Raumtemperatur und in feuchter Kammer die Inkubation mit dem LSAB-System Brückenantikörper: Biotinierter anti- Maus, anti- Ziege und anti- Hase Antikörper in PBS mit Trägerproteinen und 15 mM Salzsäure.

100 µl davon werden auf jedes Präparat pipettiert und die Flüssigkeit so verteilt, dass der gesamte Schnitt bedeckt ist.

Nach einer Einwirkzeit von 30 min und dem erneuten Spülen mit PBS wird

unter oben genannten Bedingungen Streptavidin-Peroxidase (an Meerrettich gebundenes Streptavidin in PBS, welches Trägerprotein und antimikrobiell wirksamen Stoff enthält) für weitere 30 min aufgetragen und anschließend durch erneute Spülung mit PBS abgewaschen.

Es erfolgt nun die 5minütige Inkubation mit DAB als Peroxidase Substrat. In Vorbereitung darauf wird zuvor eine Substrattablette (enthält 10 mg 3,3-Diaminobenzidin Tetrahydrochlorid (DAB) mit dessicant) in Substratpuffer mit etwas H₂O₂ als Katalysator aufgelöst (10 min).

Im Anschluss an die 5minütige Inkubation werden die Überstände mit aqua dest. abgespült und mit Natriumhypochlorid neutralisiert.

Dann erfolgt noch die Gegenfärbung der Zelle. Sowohl Lichtgrün (Fa. Merck) mit einer Einwirkzeit von 3 min als auch Hämalaun Blau - nach gleich im Anschluss beschriebener Methode – wurden getestet. Wir entschieden uns für die Gegenfärbung mit Hämalaun, da dies dem Auge und auch dem Computer bei der Auswertung mit CAS eine bessere Kontrastierung zu braun bzw. rot bietet.

Zur Gegenfärbung mit Hämalaun werden die Schnitte für ca. 10 sec von Hämalaun Blau umspült und dann ca. 5 min unter fließendem, lauwarmem Leitungswasser abschließend gebläut.

Nach Dehydrierung der Schnitte in aufsteigender Alkoholreihe werden diese aus Xylol mit Eukitt (Kinder GmbH und Co) eingedeckt.

4.3.4 MIB-1

Um eine, auf immunhistochemisch darstellbaren Strukturen basierende Aussage über die Proliferationsaktivität der zu untersuchenden Tumoren machen zu können, wurde die Darstellung des proliferationsassoziierten Antigens Ki-67 bzw. seines paraffingängigen Äquivalents MIB-1 für die Studie gewählt.

4.3.4.1 Färbemethode MIB 1

Entparaffinisierung, Hydratisierung und Spülung erfolgen in der unter 4.3.3 dargestellten Weise. Zur Antigendemaskierung durch Erhitzung wurden folgende Methoden erprobt:

a) Mikrowellenbehandlung I: (Mikrowelle 1820 DUO Fa. Bauknecht) für die Dauer von 3x5 min bei einer Leistung von 750 Watt. Die Schnitte waren hierbei aufgeteilt in 2 kleine, mit Zitratpuffer (pH 6,0) gefüllte Cuvetten, welche während des Kochvorgangs abgedeckt waren und zwischen den Kochvorgängen jeweils mit kaltem Zitratpuffer pH 6,0 wieder aufgefüllt wurden.

b) Mikrowellenbehandlung II: Vorgehen wie oben, aber 2 x 7 min bei 750 Watt in Cuvetten, die während der Kochung in einem großen, mit oben beschriebenem Citratpuffer gefüllten, mikrowellenfesten Aufbewahrungstopf standen.

Im Vergleich war bei der II. Methode das Schnittmaterial besser auf dem Objektträger erhalten und es zeigten sich eindeutiger Färbeergebnisse. Deshalb wird sie für die Präparation aller Schnitte gewählt.

Als Primärantikörper wird der monoklonale Antikörper MIB-1 gegen Ki-67 Antigen (Maus IgG, Produkt der Firma Dianova, Kat. Nr. dia 505) in einer 1:20 Verdünnung mit BSA (bovines Serumalbumin (200 mg) der Fa. Sigmar auf 20 ml PBS) benutzt. Nach wie unter 4.3.3 beschriebenem Auftragen beträgt die Inkubationszeit bei Raumtemperatur 90 min. Anschließend erfolgt 3maliges Spülen in PBS.

Entwickelt wird nach der oben beschriebenen LSAB Methode.

Gegenfärbung, Dehydrierung und Eindecken folgen ebenso dem oben Beschriebenen.

Als Positiv- und Negativkontrolle dienen Schnitte menschlichen Lymphknotengewebes.

4.3.4.2 Zählung der MIB-1 positiven Zellen

Als positiv wurden – unabhängig von der Intensität der Braunfärbung – alle Zellen mit eindeutig als braun erkennbarem Kern gewertet.

Hierzu wurde in geringer Vergrößerung ein repräsentativ erscheinender Bereich ausgewählt und aus diesem in 3 bzw. 50 HPF MIB-1 positive Zellen ausgezählt und addiert.

4.3.4.3 Proliferationsindex (= MIB 1 Index)

Der Proliferationsindex wurde anhand der MIB-1 gefärbten Schnitte auf zweierlei Weisen bestimmt:

In den unter 4.3.4.2 erwähnten 3 HPF wurde neben den MIB-1 positiven Zellen auch die Gesamtzellzahl gezählt. Hieraus ergab sich folgende Berechnung des MIB-1 Index:

$$\text{MIB-1 Index (\%)} = \frac{\Sigma \text{ MIB-1 positiven Zellen in 3 HPF}}{\Sigma \text{ gesamte Zellzahl in 3 HPF}}$$

Alternativ dazu wurde der MIB-1 Index bildanalytisch bei einer 400fachen Vergrößerung mit Hilfe des CAS (Cell Analysis Systems) 200 bestimmt:

CAS 200 ist ein Bildanalysegerät zur Szenenanalyse der Fa. Becton Dickinson u. Co. Im Rahmen des Cell measurement program (CMP) wurde mit dem Auswertprogramm 3 „Object with mask OD“ unter Benutzung zweier Wellenlängen zur Auswertung gearbeitet.

Folgendes Prinzip liegt zugrunde:

Bei 2 unterschiedlichen Wellenlängen wird einmal die Gesamtkernfläche (durch einen dazwischen liegenden Wellenbereich) ermittelt, einmal die Kernfläche der MIB-1 positiven Tumorzellen (eigener Wellenbereich). Als MIB-1 Index ergibt sich dann:

$$\text{MIB-1 Index (\%)} = \frac{\text{Fläche von DAB}}{\text{Fläche von Methylenblau + DAB}}$$

4.3.5 p53

Änderungen des p53 Tumorsupressorgens gehören zu den häufigsten genetischen Veränderungen in menschlichen Tumoren. Folge einer Veränderung des Gens ist eine extreme Zunahme der Lebens-Halbwertszeit des von ihm produzierten Proteins. Ein Zusammenhang zwischen einer Mutation des Gens mit entsprechender p53 Überexpression und dem klinischen Verlauf der Tumorerkrankung ist von anderen Tumorentitäten bekannt und wurde bei GIST untersucht.

Eine Zunahme von vorhandenem p53 Protein läßt sich immunhistochemisch nachweisen.

4.3.5.1 p53 Färbemethode

Entparaffinisierung, Hydratisierung und Spülung erfolgen in der unter 4.3.3 dargestellten Weise.

Die Demaskierung des Antigens durch Erhitzung erfolgt durch Behandlung im Dampfkochtopf (Dampfkochtopf des Typs Vitafit, Fa. Fissler):

Dazu werden ca. 200 ml Antigen retrieval der Fa. Bio Genex in einer 1:4 Verdünnung mit aqua dest. zum Kochen gebracht und anschließend die Schnitte in einer Cuvette in hängendem Gareinsatz über dem Dampf 6 min bei maximalem Druck bedampft. Es folgt eine langsame Abkühlung über ca. 20 min.

Es war auch die Demaskierung durch 3 x 5 min Kochen in der Mikrowelle in der 1:4 Verdünnung Antigen retrieval mit aqua dest. versucht worden. Diese brachte jedoch ein weniger eindeutiges Färbeergebnis, sowie eine schlechtere Präparatqualität wegen Abschwimmens hervor.

Als Primärantikörper wird Anti p53 (CM 1) rabbit polyclonal antibody der Fa. medac Diagnostika in einer 1:150 Verdünnung mit BSA benutzt (Menge pro Schnitt:150 µl).

Hier waren noch 1:100 sowie 1:200 Verdünnungen getestet worden, optimales Ergebnis erbrachte die ausgewählte 1:150 Verdünnung.

Nach wie unter 4.3.3 beschriebenem Auftragen beträgt die Inkubationszeit bei Raumtemperatur 60 min. Anschließend erfolgt 3maliges Spülen in PBS.

Entwickelt wird nach der oben beschriebenen LSAB Methode.

Gegenfärbung, Dehydrierung und Eindecken folgen ebenso dem oben Beschriebenen.

Als Positiv- und Negativkontrolle dienen Schnitte menschlichen Colocarzinomgewebes.

4.3.5.2 p53 Expression

Zur Beurteilung wurde zwischen p53 Expression und fehlender Expression unterschieden. Als p53 Expression wurde lediglich eine deutliche nukleäre Braunfärbung, jedoch unabhängig von ihrer Häufigkeit innerhalb des Präparates gewertet.

4.3.6 sm-Aktin

Sm-Aktin Expression als ein Zeichen muskulärer Differenzierung

4.3.6.1 sm-Aktin Färbemethode

Entparaffinisierung, Hydratisierung und Spülung erfolgen in der unter 4.3.3 dargestellten Weise.

Die Demaskierung des Antigens erfolgt durch Erhitzung in der Mikrowelle, nach der bei MIB-1 gewählten, unter 4.3.4.1 b) beschriebenen Methode.

Als Primärantikörper wird von der Fa. DAKO CORPORATION monoclonal mouse anti-human muscle actin (DAKO-MUSCLE ACTIN HHF 35; code No. M635 lot No. 123) in einer 1:50 Verdünnung mit BSA verwendet. Nach wie unter 4.3.3 beschriebenem Auftragen beträgt die Inkubationszeit bei Raumtemperatur 90 min. Anschließend erfolgt 3maliges Spülen in PBS.

Entwickelt wird nach der oben beschriebenen LSAB Methode.

Gegenfärbung, Dehydrierung und Eindecken folgen ebenso dem Vorgehen bei 4.3.3.

Als Positiv- und Negativkontrolle dienen Schnitte menschlichen Ileums.

4.3.6.2 Beurteilung der sm-Aktin Nachweisbarkeit

Bei der Beurteilung der Nachweisbarkeit erfolgte lediglich eine Unterscheidung in:

Sm-Aktin Positivität vorhanden oder fehlende Nachweisbarkeit.

Als sm-Aktin Positivität wurde auch schwache, jedoch eindeutige Braunfärbung des Zytoplasmas gewertet.

4.3.7 Desmin

Desmin Expression als ein weiteres Zeichen muskulärer Differenzierung

4.3.7.1 Desmin Färbemethode

Entparaffinisierung, Hydratisierung und Spülung erfolgen in der unter 4.3.3 dargestellten Weise.

Zum Zwecke der Demaskierung werden die Präparate nach unter 4.3.5.1 beschriebenen Schema, jedoch in erhitztem Zitratpuffer pH 6,0 im Kochtopf über 4 min bedampft, anschließend abgekühlt und gespült.

Als Primärantikörper wird der monoklonale DE-R-11 Anti Ziege Antikörper der Fa. DAKO in einer 1:200 Verdünnung mit BSA verwendet. Nach wie unter 4.4 beschriebenen Auftragen beträgt die Inkubationszeit bei Raumtemperatur 50 Minuten. Nach dem Abspülen des Primärantikörpers erfolgte die weitere Entwicklung im Rahmen der Routinediagnostik nach dem APAAP-Dual System der Fa. Dianova.

Das Prinzip dieses APAAP (alkalische Phosphatase – anti alkalische Phosphatase)-Dual Systems soll an dieser Stelle ausgeführt werden:

Der Primärantikörper wird durch den Brückenantikörper des APAAP-Komplexes an diesen gebunden (APAAP-Komplex = monoklonaler Maus IgG 1 Antikörper konjugiert mit AP). Falls der Primärantikörper nicht aus der Maus stammt, muss ein zusätzlicher Schritt erfolgen.

Als Dualsystem Brückenantikörper wird für eine Inkubationszeit von 30 min ein Ziege- anti Maus Antikörper aufgetragen. Anschließend ist erneute Spülung mit PBS nötig, bevor für weitere 30 min der Dualsystem APAAP-Komplex aufgetragen wird. Als Enzymsubstrat dient Neufuchsin. Die Einwirkzeit beträgt 10 min.

Gegenfärbung, Dehydrierung und Eindecken folgen wieder dem unter

4.3.3 Beschriebenen.

Als Positiv- und Negativkontrolle dienen Schnitte menschlichen Ileums.

4.3.7.2 Beurteilung der Desmin Nachweisbarkeit

Die Beurteilung erfolgte ebenso wie bei sm-Aktin (vgl. 4.7.2).

4.3.8 S100

Als weiterer Aspekt wurde zur Identifikation neuronaler Differenzierung der GIST, welche neben muskulärer Differenzierung bereits mehrfach diskutiert wurde, die Expression von S100 im vorliegenden Material überprüft.

4.3.8.1 S100 Färbemethode

Durchgeführt wird die Färbung bei uns im Rahmen der Routinediagnostik nach dem unter 4.3.3 beschriebenen LSAB Prinzip.

Als Primärantikörper diene Cow-S100 Hase-anti-Kuh der Fa. DAKO in einer Verdünnung von 1:700 mit BSA. Die Inkubationszeit betrug 50 min. Als Sekundärantikörper wurden biotinierte Ziege anti-Maus anti-Hase Immunglobuline aus dem Kit Code No. K 5001 DAKO Chem. Mate TM Detection Kit für Automaten der Fa. DAKO verwendet. Die Einwirkzeit des Sekundärantikörpers beträgt 30 min.

Gegenfärbung, Dehydrierung und Eindecken folgen dem unter 4.4 Beschriebenen.

Als Positiv- und Negativkontrolle dienen Schnitte menschlichen Ileums.

4.3.8.2 Beurteilung der S100 Nachweisbarkeit

Die Beurteilung erfolgte ebenso wie bei sm-Aktin (vgl. 4.3.6.2).

4.3.9 Östrogen und Progesteron

Vor dem Hintergrund, dass sich besonders häufig im Uterus glattmuskulär differenzierte Tumoren entwickeln, wurden die vorhandenen Tumoren auch auf das Vorhandensein von Östrogen- und Progesteron- Rezeptoren untersucht.

4.3.9.1 Östrogen und Progesteron Färbemethode

Entparaffinisierung, Hydratisierung und Spülung erfolgen in der unter 4.3.3 dargestellten Weise.

Die Demaskierung der Antigene erfolgt in beiden Fällen ähnlich wie unter 4.3.4.1. beschrieben in Citratpuffer durch 3x5 min Erhitzen in der Mikrowelle bei 750 Watt.

Als Primärantikörper dienen die folgenden Produkte:

Bei Östrogen der von der Fa. DAKO hergestellte Monoclonal Mouse Anti-Human Estrogen Receptor (DAKO-ER 1D5 code No. M 7047) in einer Verdünnung von 1:10. Nach wie unter 4.4. beschriebenem Auftragen beträgt die Inkubationszeit bei Raumtemperatur 90 min.

Bei Progesteron wird der Rabbit Anti Human Progesteron Receptor der Fa. DAKO code No. A0098 in einer Verdünnung 1:40 verwendet. Die Inkubationszeit beträgt nach wie unter 4.3.3 beschriebenem Auftragen 60 min.

Nach 3maligem Spülen in PBS wird nach der oben beschriebenen LSAB Methode entwickelt.

Gegenfärbung, Dehydrierung und Eindecken folgen ebenso dem oben unter 4.3.3 Beschriebenen.

Als Positiv- und Negativkontrolle dienen Schnitte menschlichen Uterusgewebes.

4.3.9.2 Beurteilung der Östrogen und Progesteron Nachweisbarkeit

Die gefärbten Schnitte wurden bei mittlerer Vergrößerung auf das Vorhandensein von Östrogen- und Progesteronrezeptoren durchgemustert.

4.3.10 Statistische Auswertung

Bei der statistischen Analyse wurden mittels des Programms SPSS für Windows die nominal- bzw. kategorial skalierten Variablen MIB-1 Index, Tumorgröße > 5cm, MIB-1 Index zu Mitosezahl in 50HPF sowie p53 Positivität im χ^2 Test analysiert. Die Ergebnisse wurden ab $p < 0,05$ als signifikant angesehen.

Zur weiteren Beurteilung und Bewertung wurden Sensitivität und Spezifität, sowie positiver und negativer prädiktiver Wert von histologischem Tumortyp, Zellreichtum, Polymorphie- und Atypiegrad, Nekroseanteil, Mitosen pro 50 HPF, MIB-1 Index sowie p53 Positivität bestimmt.

ROC Kurven wurden bei der Etablierung der MIB-1 positiven Zellen und Gesamtzellzahl in 3 HPF, sowie der Ermittlung des MIB-1 Indexes bei 4,0% zur Bestimmung des Schwellenwertes verwendet und fehlende Zusammenhänge mittels Histogramm dargestellt. Beides wiederum mit Hilfe des o.g. Programmes SPSS.

Den durchgeführten Untersuchungen wurde das Kriterium Metastasierung ja / nein zur Bildung der gegenübergestellten Gruppen zugrundegelegt.

Eine Differenzierung des Kollektivs in benigne und maligne eingeschätzte Tumore auf anderer Basis als der Metastasierung erfolgte nicht. Ebenso wenig wurden die metastasierten Tumoren in Malignitätsgrade graduiert.

Eine Untersuchung der Überlebenszeiträume anhand von Kaplan Maier Kurven zur Einschätzung der Aggressivität metastasierter Tumoren wurde aufgrund der geringen Zahl von an Metastasierung verstorbenen Patienten nicht durchgeführt.

5. Ergebnisse

5.1 Klinische Parameter

22 der insgesamt 43 Patienten waren Männer, 21 Frauen (männlich zu weiblich 1:1). Unter den Patienten mit Metastasierung waren 2 Frauen und 3 Männer.

Das Alter bei Diagnosestellung bei Patienten mit Metastasierung lag zwischen 20 und 85 Jahren (Mittelwert 61 J.; Standardabweichung 24,7 J.). Bei metastasenfrenen Patienten lag es zwischen 19 und 78 Jahren (Mittelwert 45,3 J.; Standardabweichung 20,3 J.).

Es bestand weder ein Zusammenhang zwischen dem Alter bei Diagnosestellung und der Dignität, noch ließ sich eine geschlechtsgebundene Neigung zu primärem Auftreten oder zu Metastasierung im Verlauf ausmachen. Auch von der auf den Tumor hinweisenden Symptomatik konnten keine Rückschlüsse auf das Metastasierungsverhalten gezogen werden.

Eine Übersicht über die klinischen Symptome ist **Tabelle 1** zu entnehmen.

Bei nebenbefundlich diagnostizierten Tumoren (n=4) traten im Verlauf keine Metastasen auf.

5.1.1 Verläufe metastasenfrenier Patienten

Bei 32 Patienten kann auf ein FUP (follow up) von mindestens 2 Jahren (Mittel 49 Monate, mindestens 24, maximal 102 Monate) zurückgeblickt werden. Das FUP beträgt bei Patienten ohne Metastasierung im Mittel 45,3 Monate (Standardabweichung 20,3 Monate, min. 24, max. 102 Monate). Einer von ihnen war bei Erstoperation nicht gesichert R0 reseziert worden, er erkrankte 45 Monate nach Operation an einem lokoregionären Rezidiv, Fernmetastasen wurden nicht gefunden. Nach R0 Resektion ist er seither tumorfrei und in gutem AZ.

Drei Patienten mit kürzerem follow up waren nach 5, 9 und 18 Monaten an

anderer Ursache verstorben.

5.1.2 Verläufe der Patienten mit Metastasierung:

Bei drei Patienten kann auf ein follow up von mindestens zwei Jahren zurückgeblickt werden. 2 davon (FUP 58 bzw. 69 Monate) waren intraoperativ metastasenfrei, zeigten jedoch Metastasen nach 29 bzw. 38 Monaten.

Die Patientin mit erster Metastasierung nach 29 Monaten verstarb 58 Monate nach Erstoperation an ihrem Tumorleiden. Metastasen zeigten sich bei ihr primär in der Haut, dann 31 bzw. 40 Monate nach Erstoperation in den Lymphknoten des truncus coeliacus bzw. Leberhilus und Leber, weitere 8 Monate später dann in der Milz.

Jene mit erster Metastasierung nach 38 Monaten ist trotz inzwischen multipler Filialisierung in weiterhin gutem AZ. Bei ihr fanden sich erste Metastasen 38 Monate nach Erstoperation in der Leber, nach weiteren 16 Monaten zusätzlich in der Milz.

Der Patient mit bereits intraoperativer Metastasierung verstarb nach 43 Monaten an der Erkrankung. Er war bereits bei Erstoperation lediglich palliativ behandelt worden. Weitere Metastasen traten bei ihm 16 Monate post OP in der Leber, Bauchwandhaut und den subphrenischen, paraaortalen, paracavalen sowie periportalen Lymphknoten auf. Nach weiteren 20 Monaten zeigte sich ein diffuser peritonealer Befall.

Bei zwei Patienten mit intraoperativer Filialisierung war kein FUP >24 Monate möglich, da die Erstoperation in zu kurzem Abstand zum Ende der Datenerfassung durchgeführt worden war. Intraoperative Metastasierung war bei ihnen in der Leber bzw. im Milzhilus und in beiden Omenta vorhanden. Kenntnis über weitere Metastasierung im Verlauf bei ihnen fehlt.

Tabelle 2 gibt einen Überblick über die Parameter der Patienten mit metastasierten Tumoren.

5.2 Chirurgische Parameter

5.2.1 Resektionsart und -ausmaß

Hinsichtlich der zur Tumorentfernung durchgeführten Operation, ließen sich 3 Verfahren unterscheiden:

Magentotalresektion (n=8): 7 Patienten, die mit diesem Verfahren behandelt wurden, waren im Verlauf metastasenfrei.

Eine Patientin (intraoperativ frei von Metastasierung) verstarb 57 Monate nach Erstoperation an dem Tumorleiden.

Magenteilresektion (n=8): Dieses Verfahren wurde bei 6 Patienten, welche im Verlauf metastasenfrei waren durchgeführt.

Zwei Patienten mit dieser Therapieform zeigten Metastasierung. Eine 38 Monate nach R0 Resektion. Sie lebt mit multipler Filialisierung. Der Zweite zeigte intraoperative Metastasierung und ist bereits verstorben.

Tumorexstirpation (n=26): 25 der so behandelten Patienten waren im Verlauf metastasenfrei.

Einer zeigte bereits intraoperativ Metastasierung, bei ihm war lediglich eine palliative Operation möglich.

Bei einem Patienten, welcher intraoperativ bereits Metastasen zeigte und lediglich palliativ operiert wurde, fehlt die genaue Angabe über das Operationsverfahren.

Somit lässt sich, eine R 0 Resektion vorausgesetzt, kein Zusammenhang zwischen ausgedehnterem (d.h. mit größerem Sicherheitsabstand einhergehendem) operativen Eingriff und günstigerer Verlaufsprognose sehen.

Im postoperativen Verlauf traten nach Magentotal- und auch -teilresektion die bekannten Komplikationen wie postprandiales dumping Syndrom u.ä. auf. Tumor Lokalexzision war im postoperativen Verlauf stets komplikationslos.

5.2.2 Entfernung und Befall von Lymphknoten

Lymphknoten Mitentfernung erfolgte in 15 Fällen. Bei 13 Patienten waren die untersuchten Lymphknoten tumorfrei. 11 dieser Patienten waren auch im Verlauf metastasenfrem.

Bei beiden intraoperativ metastasenfremen Patienten mit Metastasierung im Verlauf waren die dem Compartment zugehörigen Lymphknoten entfernt worden und tumorfrei gewesen. Erste Metastasen traten bei ihnen in der Leber (38 Monate post OP) bzw. Haut (29 Monate post OP) auf.

Bei zwei weiteren Patienten mit intra- und dann auch postoperativer Metastasierung zeigte sich ein Befall der umliegenden Lymphknoten. Bei beiden war wegen ausgedehnter abdomineller Metastasierung lediglich ein palliativer Eingriff durchgeführt worden.

Bei einem Patienten mit intraoperativer Metastasierung wurden im Rahmen des palliativen Eingriffs keine Lymphknoten entfernt.

Ausgedehnte Mitentfernung umliegender Lymphknoten war in unserer Studie nicht ausschlaggebend für den klinischen Verlauf. Fehlender Lymphknotenbefall bei als maligne zu bewertendem Tumor gab keinen Anhalt für die Prognose. In allen bereits bei Erstoperation metastasierten Fällen waren zugleich mit Lymphknoten benachbarte Organe infiltrativ erfasst oder es fanden sich begleitend Fernmetastasen in Leber und Milz. Folgemetastasen wurden auch in keinem Fall ausschließlich in Lymphknoten gesehen.

5.2.3 Lokalisation

37 % (n=16) der Tumoren waren im Fundusbereich lokalisiert, 25 % (n=11) im Bereich des Corpus und 23 % (n=10) im Bereich des Antrum. Hinsichtlich der Curvaturen lagen 42% (n=18) an der großen und 35 % (n=15) an der kleinen Curvatur.

Zwei der Tumoren mit Metastasen lagen im Fundusbereich, zwei im Corpubereich. Bei einem fehlt die Lokalisationsangabe.

Eine sinnvolle Aussage bezüglich der Lokalisation in verschiedenen

Magenabschnitten und der biologischen Potenz ist aufgrund der geringen Fallzahlen nicht möglich.

5.2.4 Größe

20 der 43 in der Studie untersuchten Tumoren (0,7 bis 22cm, Mittelwert 6,0cm, Standardabweichung 4,3 cm) wiesen einen maximalen Durchmesser von > 5cm auf.

Der Schwellenwert von 5cm wurde in Anlehnung an zahlreiche Autoren bei unserem Tumorkollektiv als Grenzwert für erhöhte Metastasierungswahrscheinlichkeit übernommen.

Alle metastasierten Tumoren waren >5cm im Durchmesser (7 – 22cm, MW 11,2cm, Standardabweichung 6,1cm). Bei den nicht metastasierten lagen die Durchmesser zwischen 0,7 und 16cm (MW 5,3cm; Standardabweichung 6cm).

Eine Tumorgöße >5cm zeigte einen signifikanten Zusammenhang mit dem Auftreten von Metastasen ($p < 0,05$; positiver Vorhersagewert 26,3%; Sensitivität 100%; Spezifität 70%).

15 metastasenfremde Tumoren (38%) waren >5cm.

Abbildung 1 zeigt die Spannweite der Tumorgößen bei metastasierten und nicht metastasierten Tumoren.

5.2.5 Obere / untere gastrointestinale Blutung / Ulcerationen

Gastrointestinale Blutungen (n=15) waren das häufigste Symptom aller Patienten unabhängig von Metastasierung im Verlauf. Sie waren Symptom bei drei der Patienten mit Metastasen, bei den anderen beiden fehlt eine Angabe.

Morphologisches Korrelat stellt die Ulceration des untersuchten Tumors dar. Sie wurde intraoperativ bei 16 Patienten (2 davon mit Metastasen) gefunden, bei 9 Patienten (einer mit Metastasen im Verlauf) waren keine Ulcerationen sichtbar. In 18 Fällen (darunter 2 mit Metastasierung im Verlauf) fehlt die Angabe.

Ein Rückschluss auf das Metastasierungspotential eines Tumors lässt sich somit nicht ziehen.

5.2.6 Makroskopische Abgrenzbarkeit / Intraoperative Metastasierung

Intraoperative Abgrenzbarkeit schien lediglich in 15 Fällen möglich.

In 4 Fällen wurde sie als unmöglich angegeben, einer davon hatte metastasiert. In 24 fehlt eine Angabe.

Intraoperativ infiltrativ erscheinendes Wachstum wurde nicht als Metastasierungsrisiko gewertet, da dies auch bei im Verlauf metastasenfremen Patienten beobachtet wurde.

Intraoperative Metastasierung wurde als Gefäßeinbruch, Pankreas-, Leber-, Milz-, Omentum majus und -minus sowie Lymphknotenmetastasen beobachtet. Ein bevorzugter Metastasierungsort ließ sich nicht erkennen.

5.2.7 Schnittflächen

Unterschiedliche makroskopische Schnittflächen des Tumors lieferten auch keine eindeutigen Hinweise auf die Dignität. „Bunte, eher aufgelockerte Schnittflächen,, welche eher als Hinweise auf Malignität gewertet werden, traten bei metastasierten, wie metastasenfremen Tumoren auf.

5.3 Histologische Ergebnisse

Unter histologischen Aspekten wurden sämtliche Tumoren nach den im Folgenden dargestellten, aus der Literatur entnommenen, Kriterien untersucht. Sie wurden validiert und durch die im Rahmen dieser Arbeit neu angewandten Untersuchungen ergänzt.

Wir stellten sie bei Patienten mit und ohne Metastasierung gegenüber und prüften sie auf ihre Nutzungsmöglichkeit zur Abschätzung des Metastasierungsrisikos.

5.3.1 HE Färbung

5.3.1.1 Histotyp

Im Hinblick auf deutlich überwiegende Zellmorphologie konnten die untersuchten Tumoren wie folgt unterteilt werden:

Von insgesamt 43 Tumoren waren 28 (65 %) rein spindelzellig, 7 (16 %) rein epitheloidzellig und 8 (19 %) zeigten ein Mischbild.

Tabelle 4 fasst den überwiegenden Histotyp in den Tumoren des Gesamtkollektivs, sowie bei metastasierten und metastasenfremen Tumoren zusammen:

Abbildung 2 zeigt den jeweiligen Anteil der Histotypgruppen am Gesamtkollektiv.

Die Metastasierung innerhalb der einzelnen Histotypgruppen ist in **Abbildung 3** dargestellt.

Auffallend war, dass 28 (65%) aller untersuchten Tumoren im überwiegenden Erscheinungsbild spindelzellig waren.

Betrachtet man den prozentualen Anteil der metastasierten Tumoren am jeweiligen Histotypkollektiv (= positiver prädiktiver Wert) so ist dieser nahezu gleich hoch (10%, 12%, 14%). Berechnete Sensitivität und

Spezifität für diesen Aspekt helfen in der Bewertung nicht weiter, da die ausgeprägten Unterschiede in der Gruppengröße die Ergebnisse zu sehr bestimmen.

Der histologische Wachstumstyp war nicht hinweisend auf eine eventuelle maligne Potenz.

5.3.1.2 Zellreichtum

Der Zellreichtum der untersuchten Tumoren wurde semiquantitativ durch Schätzung in 3 Stufen (gering (1), mäßig (2) und hoch (3)) unterteilt.

Von den insgesamt 43 untersuchten Tumoren wurden 4 (9 %) als zellarm, 9 (21 %) als mäßig zellreich und 30 (70 %) als zellreich gewertet.

Die metastasierten Tumoren waren alle zellreich.

Tabelle 5 fasst semiquantitativ den Zellreichtum im Gesamtkollektiv, bei metastasierten und metastasenfremen Tumoren zusammen:

Abbildung 4 veranschaulicht den prozentualen Anteil unterschiedlich zellreicher Tumoren am Gesamtkollektiv.

Abbildung 5 zeigt den jeweiligen %Anteil unterschiedlich zellreicher Tumoren an metastasierten und metastasenfremen GIST

Auffallend ist, dass insgesamt zellreiche Tumoren wesentlich häufiger sind als zellarme. Zellarme und mäßig zellreiche GIST metastasierten nicht. Bezüglich geringen und mäßigen Zellreichtums lässt sich eine Spezifität für Metastasenfreiheit von 66%, ein positiver prädiktiver Wert von 100% und ein negativer prädiktiver Wert von 83% ermitteln.

Alle metastasierten Tumoren zeigten sehr hohen Zellreichtum, welcher sich jedoch auch in 65% der nicht metastasierten Tumoren fand. Bezüglich hohen Zellreichtums beträgt die Sensitivität für Metastasierung 100%, die Spezifität 34% und der positive prädiktive Wert liegt bei 17%.

Daraus lässt sich ableiten, dass geringer und mäßiger Zellreichtum zur Beurteilung des wahrscheinlichen biologischen Verhaltens genutzt werden kann, hoher Zellreichtum hingegen keine Aussagekraft hat.

Das Ergebnis des χ^2 Testes ($p < 0,05$) bestätigt dies.

Im Rahmen der Ermittlung des MIB 1 Index wurde bei jedem Tumor in 3 HPF die Zellzahl durch Zählung ermittelt. Die gezählten Werte zeigen in 10 Fällen (23%) eine deutliche Diskrepanz zwischen Schätzwert und ermittelter Zellzahl. 5 Fälle wurden „unterschätzt“, (alles spindelzellige Tumoren), und 5 Fälle wurden „überschätzt“, (3 gemischtzellige, 1 epitheloidzelliger und 1 spindelzelliger).

Abbildung 6 zeigt die gezählten Zellzahlen innerhalb der semiquantitativ eingestuften Zellreichtumsgruppen.

5.3.1.3 Polymorphie und Atypie

Die Ausprägung von Polymorphie und Atypie wurde bei den untersuchten Tumoren dreifach abgestuft:

12 (28 %) wiesen lediglich einen geringen Polymorphie/Atypiegrad auf,
26 (60 %) lagen in einem mittleren Bereich,
5 (12 %) zeigten ein sehr hohes Maß an Polymorphie und Atypie.

Eine graphische Übersicht zeigt **Abbildung 7**.

4/5 der metastasierten Tumoren zeigten mäßige Polymorphie und Atypie, einer geringe. Kein Tumor mit ausgeprägter Polymorphie metastasierte.

Die Sensitivität für hohen Polymorphie- / Atypiegrad als Hinweis auf Metastasierung liegt bei 0%, die Spezifität bei 86%.

Für mittleren (geringen) lässt sich eine Sensitivität von 80% (20%) bei einer Spezifität von 42,1% berechnen.

Der positive prädiktive Wert für Metastasierung liegt bei hohem Polymorphie- / Atypiegrad bei 0%, für mäßigen bei 15,4% und für geringen bei 8,3%.

Im χ^2 Test zeigt sich kein Zusammenhang.

Diese Zahlenwerte verdeutlichen, dass dem Polymorphie- / Atypiegrad in unserer Studie für diese Tumorentität keine Aussagekraft über Metastasierung im Verlauf beigemessen werden kann.

Abbildung 8 veranschaulicht die oben genannte Problematik.

5.3.1.4 Nekrosen

Der Anteil frischen Nekrosegewebes an der gesamten Tumormasse wurde semiquantitativ in gering (< 1%), mäßig (1% – 9%) und hoch (mind. 10%) eingeteilt. Insgesamt traten Nekrosen mit folgender Häufigkeit auf:

38 (88 %) der Tumoren < 1%;

4 (9%) der Tumoren 1 - 9%;

1 (2%) der Tumoren mind. 10%

Der Anteil älteren Nekrosegewebes ging nicht in die Bewertung ein und wurde auch nicht als Hinweis auf Metastasierung gewertet.

Tabelle 7 zeigt den % Anteil frischer Nekrosen am Tumorgewebe im Gesamtkollektiv, bei im Verlauf metastasierten und metastasenfremen Tumoren.

Mind. 10% der Tumormasse war lediglich in einem Fall frisch nekrotisch, bei diesem Patienten lagen bereits intraoperativ multiple Metastasen vor.

3 Tumoren mit nachfolgender Metastasierung zeigten < 1% frisch nekrotischen Gewebes, einer 1 – 5%.

Sensitivität und Spezifität liegen für geringen Nekroseanteil als Hinweis auf Metastasierung bei 60% bzw. 7,9%, für mäßigen Nekroseanteil bei 20% bzw. 92% und für großen bei 20% bzw. 100%.

Der positive prädiktive Wert für eine Metastasierung ist bei geringem Nekroseanteil 7,9%, bei mäßigem 25% und bei großem 100%.

Insgesamt lässt sich in unserem Kollektiv feststellen, dass ein sehr hoher Anteil an frisch nekrotischem Tumorgewebe mit einer Metastasierung korreliert, geringe Nekroseanteile jedoch nicht für eine geringe Metastasierungswahrscheinlichkeit sprechen.

5.3.1.5 Mitosen

Die Anzahl der Mitosen ist bekannt als ein wesentlicher Anhaltspunkt zur Einschätzung der Dignität. In Anlehnung an Helwig und Appelman führten wir die Mitosezählung in 50 HPF (d.h. 50 Gesichtsfelder mit 400facher Vergrößerung) durch.

Die Grenze von mindestens 10 Mitosen pro 50 HPF setzten wir als Schwellenwert und überprüften die Wertigkeit zur Einschätzung des Metastasierungsverhaltens.

Tabelle 8 gib einen zusammenfassenden Überblick über die kategorisierten (0-9; mindesten 10) Mitosehäufigkeiten in unserem Tumorkollektiv.

Abbildung 9 veranschaulicht kategorisierte Mitosezahl und Metastasierungsverhalten, sowie den Anteil am Gesamtkollektiv.

Abbildung 10 zeigt die absoluten Mitosezahlen bei metastasierten und metastasenfremen Tumoren.

Die Zahlenwerte der Patienten mit Metastasierung können aus **Tabelle 3** ersehen werden.

Es zeigte sich, dass alle Tumoren mit Metastasierung mindestens 10 Mitosen pro 50 HPF aufwiesen. 4 von 9 Tumoren mit > 10 Mitosen pro 50 HPF metastasierten im überblickten follow up Zeitraum nicht.

Dies bedeutet eine Sensitivität einer Mitoserate von mindesten 10 für Metastasierung von 100% und eine Spezifität dieses Kriteriums von 89,5%. Der positive prädiktive Wert beträgt 55,5%, der negative prädiktive Wert 100%. $P < 0,005$ im χ^2 Test bestätigt die Korrelation.

Mitosezahlen von mindestens 10/50HPF sind eindeutig mit einem höheren Metastasierungsrisiko verbunden.

5.3.2 Immunhistochemie

5.3.2.1 MIB-1

5.3.2.1.1 MIB-1 positive Zellen

Der immunhistochemische Nachweis der Proliferationsaktivität wurde mit Hilfe des Nachweises von MIB-1 am untersuchten Material durchgeführt. Die ermittelte Aktivität wurde in Form des Proliferationsindex (= MIB-1 Index) ausgedrückt.

5.3.2.1.2 MIB-1 Index

Dieser wurde definiert als: Anzahl der Tumorzellen mit nukleärer Positivität für MIB-1 (unabhängig von der Intensität) im Verhältnis zur Tumorgesamtzellzahl in 3 HPF (Angabe in %). Den MIB-1 Index Wert von 4% als deutlichen Hinweis auf gesteigertes Metastasierungsrisiko (Schwellenwert) ermittelten wir aus unserem Datensatz und bewerteten ihn mittels ROC Kurven.

Tabelle 9 stellt das Zahlenverhältnis metastasierter bzw. metastasenfrier Tumoren im Hinblick auf einen kategorisierten MIB-1 Index, d.h. einen MIB-1 Index von <4%, bzw. von mindestens 4% dar.

Veranschaulicht wird dieses in **Abbildung 11**.

Die Sensitivität des MIB-1 Index von mindestens 4% für Metastasierung im Verlauf beträgt 80%. Die Spezifität hierbei ist 84,2%.

Der positive prädiktive Wert für Metastasierung bei diesem MIB-1 Index liegt bei 40%, der negative prädiktive Wert bei 97%.

Im χ^2 Test zeigt sich mit $p < 0,005$ ein signifikanter Zusammenhang.

Ein „händisch“ ermittelter MIB-1 Index von mindestens 4% ist demnach signifikant mit einer höheren Metastasierungsrate verbunden.

Die in der computergestützten Auswertung durch CAS ermittelten MIB-1 Indices waren stets deutlich höher als die durch menschliche Zählung ermittelten. Es zeigte sich keine Konstanz in den Abweichungen. Lediglich

bei Tumoren mit allenfalls mäßigem Zellreichtum, bzw. allenfalls mäßiger Polymorphie wurden vergleichbare Ergebnisse erzielt. Mittels ROC Kurve konnte kein bezüglich der Dignitätseinschätzung aussagekräftiger Schwellenwert dieser Indices ermittelt werden.

Abbildung 12 veranschaulicht die MIB-1 Indices und MIB CAS Werte in den Gruppen metastasierter bzw. metastasenfrier Tumoren (Zahlwerte bei den metastasierten s. Tab. 3).

5.3.2.2 P53

P53 Positivität sahen wir dann als gegeben, wenn mindestens 1 Tumorzelle eine eindeutige nukleäre Reaktivität auf p53 zeigte. Dies war bei insgesamt 10 Tumoren des gesamten Kollektivs der Fall (s. **Tabelle 10**).

Abbildung 13 veranschaulicht nochmals p53 Positivität im Gesamtkollektiv, bei Metastasierung und Metastasenfreiheit.

Die Sensitivität der p53 Positivität für Metastasierung im Verlauf beträgt 80%. Die Spezifität hierbei ist 84,2%.

Der positive prädiktive Wert für Metastasierung bei p53 Positivität liegt bei 40%, der negative prädiktive Wert bei 97%.

Hieraus zeigt sich in unserem Kollektiv eine ebenso große Bedeutung der p53 Positivität als Hinweis zur Einschätzung des Metastasierungsverhaltens wie des MIB-1 Index. Eine Verbesserung der Aussagekraft der einzelnen Kriterien lässt sich durch deren kombinierte Anwendung erhalten:

Die Sensitivität eines MIB-1 Index von mind. 4% bei gleichzeitiger p53 Positivität für Metastasierung liegt unverändert bei 80%, die Spezifität erhöht sich jedoch auf 94,7%. Der positive prädiktive Wert für Metastasierung bei Vorhandensein beider Kriterien beträgt 94,7%.

5.3.2.3 Sm-Aktin- und Desminachweisbarkeit als Zeichen für myogene Differenzierung

5.3.2.3.1 Sm-Aktin

Sm-Aktin konnte insgesamt bei 38 Tumoren nachgewiesen werden.

36 (84%) der 43 untersuchten Tumoren zeigten in mind. 10% der Tumorzellen eine Reaktivität auf sm-Aktin. 2 weitere (5%) zeigten diese Reaktivität zwar eindeutig, jedoch in < 10% der Tumorzellen.

Bei 5 (11%) der Tumoren war sm-Aktin nicht nachweisbar. Sie zeigten auch keine Reaktivität auf Desmin. Diese waren 1 spindelzelliger GIST mit Metastasierung, 2 spindelzellige und 2 epitheloidzellige GIST ohne Metastasierung.

5.3.2.3.2 Desmin

Desmin wurde in insgesamt 12 Tumoren nachgewiesen.

Lediglich bei 7 Tumoren (16%) konnte es in mind. 10% der Zellen nachgewiesen werden. Hierzu gehörten 3 Tumoren, welche aufgrund ihrer sehr geringen Zelldichte bei typischer spindelzelliger Morphologie sowie fast vollständigem Fehlen von Mitosen als typische Leiomyome (in Abgrenzung zu GIST) eingestuft wurden.

Bei 5 Tumoren fand sich Desmin in < 10% der Zellen. Die Desmin positiven Tumoren setzten sich aus 7 spindelzelligen, 1 epitheloidzelligen und 1 gemischtzelligen zusammen.

Alle Tumoren, welche in der immunhistochemischen Untersuchung Reaktivität für Desmin zeigten, hatten auch auf sm-Aktin reagiert. In 4 Fällen war die Reaktion auf Desmin schwächer als auf sm-Aktin, nie stärker.

31 Tumoren zeigten keinen Hinweis für Desmin, unter ihnen alle 5 metastasierten.

Somit liegt beim Großteil der Tumoren keine eindeutige myogene Differenzierung vor.

Auch eine Dignitätseinschätzung ist auf der Basis des immunhistochemischen Nachweises myogener Differenzierung nicht möglich.

Abbildung 14 veranschaulicht die oben genannten Zusammenhänge graphisch.

5.3.2.4 S100

S100 als Hinweis auf neurogene Differenzierung ließ sich vereinzelt in 2 spindelzelligen Tumoren nachweisen.

5.3.2.5 Östrogen und Progesteron

Östrogen- bzw. Progesteronrezeptoren konnten bei keinem der untersuchten Tumoren nachgewiesen werden.

6. Diskussion

6.1 Studienaufbau, angewandte statistische Methoden und Bezugswerte

Der Grossteil der in der Literatur publizierten Studien führt als Grundlage des Studienaufbaus die histologische Einordnung der Tumoren nach einigen bekannten, jedoch in ihrer Bedeutung unterschiedlich gewerteten Kriterien (Mitosezahl, Tumorgroße, Nekrosen, Zellreichtum, Atypiegrad u.a.) durch und unterteilt so das Studienkollektiv in benigne, maligne sowie Tumoren unklarer Dignität. Danach erfolgt meist die Korrelation der verschiedenen Gruppen mit den Überlebenszeiten bzw. dem biologischen Verlauf. Das hat oft zur Folge, dass anhand der angewandten Kriterien als benigne eingestufte Tumoren metastasieren, während als maligne eingestufte Tumoren metastasienfrei bleiben (29 S.43).

Wir haben versucht diese Problematik zu umgehen, indem wir bewußt auf eine primäre Dignitätseinteilung des Kollektivs verzichtet haben und nur eine stattgehabte bzw. nicht stattgehabte Metstasierung als Goldstandard des biologischen Verlaufs gewählt haben. Gegen sie wurden dann die verschiedenen Parameter im Hinblick auf ihre Wertigkeit abgeglichen.

Ziel war es Kriterien mit guter Aussagekraft zu erkennen, die prospektiv für die Beurteilung des biologischen Potentials von GIST genutzt werden können. Dabei wurden neben einer möglichst objektiven Evaluierung bekannter diagnostischer Kriterien insbesondere auch neuere Marker wie MIB-1 und p53 untersucht.

Folgende Vorteile liegen in der von uns gewählten Vorgehensweise:

- 1.) Es ist keine a priori Auswahl entscheidender Dignitätskriterien notwendig. D.h. es gibt keinen Fehler durch im Vorfeld stattgehabte Fehleinschätzung von Merkmalen.
- 2.) Man muss aus den uneinheitlichen Systemen zur Dignitätseinschätzung keines auswählen und darauf aufbauen (29 S.43; 4 S.90).

Grundlage unserer Gruppeneinteilung ist das völlig objektive Kriterium der Metastasierung. Dadurch entsteht auch primär keine Gruppe unklarer Dignität. Diese hat in den letzten Jahren aufgrund der Zunahme an Einschätzungskriterien und Untersuchungen bei anhaltender Prognoseunklarheit deutlich zugenommen (29 S.43), weshalb wir es auch als Ziel unserer Untersuchungen sehen diese möglichst zu minimieren.

Auch die angewandten statistischen Methoden und die zugrunde gelegten Bezugswerte sollen an dieser Stelle nochmals erklärt und kritisch beleuchtet werden.

Eine beträchtliche Relativierung sämtlicher statistischer Ergebnisse muss bei den geringen Fallzahlen dieser Studie berücksichtigt werden.

Aufgrund des Studiendesigns haben im follow up Zeitraum metastasenfremde Patienten des untersuchten Kollektives, deren Tumoren ohne operative Therapie im weiteren Verlauf möglicherweise metastasiert hätte (vgl. zunehmendes Metastasierungsrisiko bei zunehmender Tumorgröße), besonderes Gewicht ohne erkannt oder berücksichtigt werden zu können. Durch den nur kurzen Nachbeobachtungszeitraum wird diese Einflussgröße verstärkt. Die erfolgten Untersuchungen und deren Bewertung müssen auch dies berücksichtigen. Den Einschränkungen versuchten wir durch die Herangehensweise an das Thema und in der Auswahl der statistischen Methoden zu begegnen.

Die Untersuchung zweier Inhalte auf einen bestehenden Zusammenhang mit Hilfe des chi² -Tests ist weit verbreitet und hat auch in dieser Studie ihren Platz. Anzumerken ist, dass bei der Größe des untersuchten Kollektivs lediglich bei maximal 3 Variablen ein solcher Zusammenhang bestimmt werden darf, da bei einer häufigeren Bestimmung von Zusammenhängen zunehmend hohe Fehler möglich sind und das Ergebnis an Aussagekraft verliert. Auch beschreibt $p < 0,05$ lediglich den Zusammenhang ohne qualitative Wertung, d.h. ohne Berücksichtigung der Bedeutung von falsch positiven und falsch negativen Ergebnissen.

Um weitere Bewertungsmöglichkeiten für untersuchte Kriterien und bestehende Zusammenhänge zu haben, wurden Sensitivität und Spezifität der untersuchten Größen berechnet und der positive und negative prädiktive Wert ermittelt.

Für GIST stehen bekanntlich keine Früherkennungsmöglichkeiten zur Verfügung. Zudem gab es, außer der R0 Resektion primär, bzw. der radikalen operativen Metastasenentfernung im Verlauf, zum Studienzeitpunkt keine wirksamen Therapiemöglichkeiten (65 S.96). Dies verleiht einer engmaschigen Überwachung von Patienten mit potentiell metastasierendem Tumor zentrale Bedeutung. Voraussetzung hierfür ist eine möglichst exakte Einschätzung dieser Tumorentität zum Zeitpunkt der Erstoperation. Die Schwierigkeiten hierbei sind bereits häufig beschrieben (50 S.405; 13 S.160; 24 S.82; 30 S.39).

Wir haben unter oben genannten Aspekten bei der Prüfung der Testvariablen und deren Bewertung eine möglichst hohe Sensitivität als entscheidend gesehen, einhergehend mit einer größeren Anzahl „falsch positiver Patienten“, welche eine geringere Spezifität und ein geringerer positiver prädiktiver Wert beschreiben.

Einziger „Nachteil“ für diese Patienten besteht darin, dass sie evtl. unnötigerweise Kontrolluntersuchungen zugeführt werden und der psychischen Belastung nach Diagnosestellung einer potentiell malignen Erkrankung ausgesetzt sind. Eine zusätzliche, nebenwirkungsreiche therapeutische oder „prophylaktische“ Behandlung, bzw. ein ausgedehnterer operativer Eingriff werden bei ihnen nicht durchgeführt.

Um die Angst bestmöglich zu nehmen, welche die Diagnose einer

Erkrankung unklarer Dignität und die regelmäßige Durchführung von Nachsorgeuntersuchungen mit sich bringen, kann eine ausführliche Aufklärung über die Aussage des positiven prädiktiven Werts sicherlich hilfreich sein.

Die zu untersuchenden Parameter wurden anhand des „Goldstandards“ für biologisch malignes Verhalten getestet, welcher das Auftreten von Metastasen ist.

Die klinische Pathologie muss Dignitätsentscheidungen zum Zeitpunkt der Erstoperation treffen und deshalb ein anderes „Einordnungssystem“ als die evtl. erst im Verlauf erfolgende Metastasierung zur Verfügung haben um über die Notwendigkeit von Kontrolluntersuchungen zu entscheiden.

Deshalb war es unser Ziel anhand der durchgeführten Untersuchungen eine Einteilung in Dignitätsgruppen zu ermöglichen, in welchen eine a priori Aussage über die Einschätzung des Metastasierungsrisikos gemacht wird. Die Ergebnisse anhand dieser Einschätzung werden weiter unten diskutiert.

6.2 Klinische Ergebnisse

Unsere Studie bestätigt – was auch von den meisten anderen Autoren im Hinblick auf Altersverteilung und Geschlecht bei GIST-Patienten beschrieben wurde (5 S.2; 50 S.405).

Beide Dignitätsformen treten in jeder Altersstufe auf. In unserer Studie ist wie auch in anderen Untersuchungen (30 S.39; 20 S.569) bei der Erkrankung an metastasierten GIST mit 3:2 ein geringfügiges Überwiegen des männlichen Geschlechts zu beschreiben. In Anbetracht der jedoch sehr niedrigen Fallzahlen ist dies lediglich als Beobachtung zu erwähnen.

Auch die typischerweise uncharakteristische, meist eher verdeckte Symptomatik benigner wie maligner GIST ist bereits von verschiedenen Autoren beschrieben worden (50 S.406; 7 S.2). Häufigste Symptome sind die einer oberen gastrointestinalen Blutung aufgrund von Schleimhautulcerationen, also Hämatemesis, Melaena oder Eisenmangelanämie. Oberbauchschmerzen, Gewichtsverlust und Erbrechen stellen weitere Symptome dar.

Insgesamt ist zu bemerken, dass GIST des Magens weitaus häufiger ein benignes als ein malignes biologisches Verhalten zeigen. Die Prognose maligner, metastasierter GIST variiert. Überlebenskurven beschreiben sehr unterschiedliche Verläufe (20 S.569; 50 S.427/435). Die bisher schlechte Prognose bei bereits metastasierten GIST liegt mit begründet in der Tatsache, dass bislang außer einer radikal operativen Therapie kein anderer Therapieansatz bekannt war. Häufig ist diese bei Diagnosestellung nicht mehr möglich, da die Tumoren aufgrund diffuser Symptomatik oft erst bereits metastasiert diagnostiziert und therapiert werden (50 S.435).

Die kürzeste follow up Zeit von 2 Jahren in dieser Studie liegt noch unterhalb des kürzesten beobachteten Metastasierungszeitraums im Studienkollektiv von 2 Jahren und 5 Monaten, so daß Erhebungsdaten von derart kurzem follow up besonders zurückhaltend zu bewerten sind. Die

Zusammenschau mehrerer Studien läßt jedoch erkennen, dass einerseits die Mehrzahl der malignen (d.h. im Verlauf metastasierten) GIST bereits bei der Erstoperation echtes infiltratives Wachstum oder Metastasierung zeigt und andererseits sogar bei primär überwiegend benigne erscheinenden Tumoren z.B. noch nach 11 Jahren Fernmetastasen beobachtet werden. Das biologische Verhalten der GIST ist demnach weiterhin äußerst eingeschränkt vorhersehbar und ein klarer Nachbeobachtungszeitraum, nach dem eine weitere Metastasierung unwahrscheinlich ist, kaum definierbar. Einige Autoren, darunter Lewin und Appelman beschreiben jedoch, dass eine postoperative Metastasierung meist bereits 18 bis 24 Monate nach Erstoperation auftritt (50 S.435; 7 S.2; 20 S.573; 67).

Natürlich gilt stets die Forderung, den Verlauf aller Patienten möglichst langfristig zu überblicken. Die Empfehlung von Samiiian et al (67) lautet für Verlaufskontrollen folgendermaßen:

Körperliche Untersuchung und CT in den ersten zwei postoperativen Jahren 6 monatlich, dann noch mindesten 1 Mal nach einem Jahr.

Fletcher et al (27) spricht sich aufgrund der weiterhin bestehenden Unsicherheiten in der Dignitätseinschätzung deutlich für eine regelmäßige und genaue Verlaufskontrolle aller GIST Patienten über einen möglichst langen Zeitraum aus.

Zur Verlaufskontrolle während und nach imatinib Therapie wird in neueren Untersuchungen auch die Anwendung von ¹⁸F-FDG PET oder FDG PET zusätzlich zur klinischen Untersuchung und CT Durchführung empfohlen (43; 42; 36). Eine weitere neue Form der Verlaufskontrolle zur Therapieüberwachung ist die Bestimmung des Serum SCF (stemm cell Factor) / KIT Quotienten im Verlauf der Therapie.

6.3 Chirurgische Ergebnisse

Wie bereits in der Literatur beschrieben, zeigt sich auch in unserer Studie ein signifikanter Zusammenhang zwischen Tumorgröße und biologischem Verhalten (7; 5 S.711, 50 S.427; 27 S. 464; 11; 12). In Anlehnung an Appelmann (4 S.93; 74 S.227; 24 S.82) wählten wir als Schwellenwert für eine Aussage über vermehrt zu erwartendes malignes Verhalten einen maximalen Tumordurchmesser von 5 cm (3 S.429; 28 S.44). Die in unserer Studie metastasierten Tumoren lagen bei mindestens 7 cm. Geht man von dem genannten Schwellenwert 5 cm aus, so beträgt die Sensitivität 100% und die Spezifität 70%. Beide Werte erhöhen sich bei einem Schwellenwert von 7cm.

Die niedrige a posteriori Wahrscheinlichkeit von 26,3% für Metastasierung bei einem Durchmesser > 5cm verdeutlicht, dass auch bei einer Größe von > 5cm gutartiges biologisches Verhalten deutlich häufiger (73,7%) ist als eine Metastasierung (7 S.3). Die Sensitivität und der negative prädiktive Wert von 100% zeigen, dass eine Größe unter 5 cm die Metastasierung sehr unwahrscheinlich macht und damit bei vielen Tumoren eine eindeutigere Prognose erleichtert wird.

Viele Autoren (35 S.669) nutzen die Tumorgröße mit unterschiedlichen Schwellenwerten (28 S.44) als zusätzliches Kriterium bei der Dignitätseinordnung. Andere beschreiben eine lineare Zunahme des Metastasierungsrisikos mit der Größenzunahme. Als dritte Möglichkeit wird im Atlas of Pathology (50 S.427/431f) die Größe nicht primär zur Einordnung in Dignitätsgruppen verwendet, sondern bei anhand anderer Kriterien als maligne eingestuften Tumoren als zentrales Hinweiskriterium auf die Metastasierungs Wahrscheinlichkeit im Verlauf gesehen.

In unserem Kollektiv wie auch in anderen Studien nachvollziehbar führt besonders die Dignitätseinschätzung anhand der oberhalb des Schwellenwertes gelegenen Tumorgröße zu sehr vielen bezüglich der Dignität als unklar eingeschätzten Tumoren. Nach unserer, sowie der Beobachtung verschiedener Autoren (28 S.43/44; 50) metastasieren diese in den seltensten Fällen. Weiterhin finden sich wiederholt und auch in unserem Kollektiv (s.u.) Tumoren mit deutlichen Zeichen für Malignität,

welche sehr klein entfernt wurden und im Verlauf keine Metastasen zeigten.

Aufgrund dieser Beobachtungen halten wir die von Lewin und Appelman propagierte Bewertung der Tumorgröße als Hinweis auf zunehmendes Metastasierungsrisiko, bei bereits anhand anderer Kriterien als maligne eingestuft Tumoren, für den besten Ansatz. Größe allein ist bei ansonsten eher als benigne einzustufendem Tumor kein ausreichendes Malignitätskriterium.

In dem 05/02 von Fletcher et al. veröffentlichten „Consensus approach“ über die Diagnosestellung und Dignitätseinschätzung von GIST stellt die Größe kombiniert mit der Mitosezahl in 50 HPF die Basis für die Risikoeinschätzung eines aggressiven Verhaltens von GIST dar (27 S.464). Anders als bei Lewin und Appelman reicht dort eine Größe > 10 cm zur Beurteilung „high risk“ aus.

Den erwähnten linearen Zusammenhang zwischen Tumorgröße und biologisch aggressivem Verhalten unabhängig von anderer Dignitätseinschätzung (50 S.427) haben wir nicht untersucht.

Bei Auswertung der OP-Berichte fiel auf, daß nach R0 Resektion das Auftreten von Metastasen im Verlauf unabhängig war von dem gewählten Operationsverfahren bzw. dem Resektionsabstand im Gesunden (5 S.3; 60; 49). Bei 2 Patienten mit metastasierendem Tumorleiden waren bemerkenswerter Weise erste postoperative Metastasen im Narbenbereich der Bauchwand aufgetreten.

Die bei nur 5 Patienten mit im Verlauf erfolgter Metastasierung hoch erscheinende Zahl von 18 Magenteil- und –totalresektionen hat 2 Hauptursachen:

- a) Sicherheitsbestreben bei zum OP-Zeitpunkt unbekannter Tumordignität und auf Malignität hinweisender Größe (14 der so entfernten Tumoren waren 5 cm oder größer) sowie fraglich infiltrativem Wachstum.
- b) Bei gegebener Größe und Lokalisation operationstechnisch fehlende Möglichkeit der Lokalexzision und Notwendigkeit einer Magenteil- oder –totalresektion. In einem Fall wurde die Gastrektomie im Rahmen der Therapie einer anderen malignen Erkrankung durchgeführt. Der GIST war lediglich Nebenbefund.

Die einzige Patientin mit Metastasierung im Verlauf, welche intraoperativ frei von Metastasen und histologisch infiltrativem Wachstum war (bei allen anderen im Verlauf metastasierten TU fand sich bereits intraoperative Metastasierung oder histologisch infiltratives Wachstum) hatte eine Magentotalresektion erhalten. Die erste Metastasierung trat bei ihr nach 27 Monaten, also nicht deutlich später als Folgemetastasen bei den anderen 4 Patienten, auf. Sie verstarb 57 Monate nach Erstoperation an der Erkrankung.

3 Patienten mit im Rahmen der Erstbeurteilung malignen Tumoren waren nach totaler Gastrektomie (follow up 48, 47 und 65 Monate; Größe 9; 12; 5,5 cm; Mitosen pro 50 HPF 27; 7; 16; MIB Index 6,5; 5,5; 7,8) im Verlauf frei von Metastasen und Rezidiven. Ebenso 2 nach Lokalexzision (follow up 62 bzw. 87 Monate; Größe 2,5; 2 cm; Mitosen pro 50 HPF 12; 25.). Das OP – Verfahren war bei genannten Patienten jeweils durch die TU Größe bei OP bestimmt worden.

Bezüglich der Lymphknotenentfernung ist Folgendes zu bemerken:

1. Diese waren nur dann befallen, wenn sich auch anderenorts Metastasen zeigten. Sie sind daher eher nicht primärer Metastasierungsort, was eher für primär hämatogene Metastasierung dieser Tumorentität spricht (50 S.435).
2. Metastasen im Verlauf zeigten sich nicht primär in Lymphknoten, sondern in anderen Organen. Das Mitentfernen von Lymphknoten zeigte keinen Zusammenhang mit im Verlauf erfolgter Metastasierung. Es ist also keine primäre Lymphknotenmitentfernung im Sinne einer prophylaktischen Mitentfernung von Mikrometastasen zu empfehlen. Weiterhin lässt Tumorfreiheit von mitentfernten Lymphknoten keine Aussage über potentielle Fernmetastasen zu.

Vergleicht man die durchgeführten operativen Verfahren und berücksichtigt dabei Schwere des operativen Eingriffs und nachfolgende Probleme im Verhältnis zu größtmöglicher Prävention von im Verlauf auftretender Metastasierung, so kommt man zu dem Ergebnis, daß als Therapie der Wahl R0 Resektion durch lokale Tumorentfernung ohne Mitentfernung umliegender Lymphknoten anzusehen ist. Dieses Verfahren birgt größtmögliche Sicherheit vor dem Auftreten von Metastasen und ist zumeist völlig komplikationslos im Verlauf(vgl. auch 7 S.8).

Bekannt ist ein gehäuftes Auftreten gastrointestinaler Stromatumoren im Bereich des Magens, sowie Unterschiede im biologischen Verhalten je nach Lokalisation des Primärtumors im gesamten Gastrointestinaltrakt (24 S.82; 50 S.426)

Diese Tatsachen veranlassten uns, diese Studie auf im Magen lokalisierte GIST zu beschränken. Das biologische Verhalten gastraler GIST ist eher benigne. Sie metastasieren seltener als weiter distal im Verdauungstrakt gelegene (4 S.91).

Betrachtet man nun die Lokalisation der untersuchten GIST innerhalb des Magens, so fällt auf, daß kleine und große Kurvatur in gleicher Häufigkeit befallen sind und die Häufigkeit von proximal (Fundus 43%) kontinuierlich (Corpus 29,5%) nach distal (Antrum 27,5%) abnimmt (50 S.411) Im Antrumbereich wurden keine im biologischen Verhalten malignen Tumoren gefunden, im Fundus und Corpus waren jeweils 2 von ihnen lokalisiert, bei einem fehlte die Angabe.

Der negative prädiktive Wert von 100% bei Lokalisation im Antrum muss aufgrund dessen und der sehr geringen Fallzahl stark relativiert werden. Die Sensitivität von 50% für Malignität bei Lokalisation im Fundus oder Corpus ist zu gering, um diesen Aspekt als Einschätzungshilfe der Dignität zu verwenden.

Der positive prädiktive Wert für Fundus (13,3%) und Corpus (18,2%) unterstützen diese Beurteilung.

Bereits bei der ersten intraoperativen, makroskopischen Betrachtung eines Tumors werden häufig Einschätzungen der Dignität gemacht. Als ausschlaggebend für diese Bewertung gelten die Abgrenzbarkeit gegenüber dem umliegenden Gewebe bzw. bereits infiltrativ erscheinendes Wachstum, inhomogene Schnittfläche, sowie bröckelige Konsistenz.

All diese Aspekte wurden auch anhand unseres Kollektivs überprüft. Statistische Methoden wurden dazu nicht herangezogen, da aufgrund fehlender Angaben über diese Inhalte die Kollektivzahl auf 19 sank und sich die Beschreibung der Tumorschnittfläche aus maximal 10 verschiedenen Aussagen zusammensetzt. Diese Vielseitigkeit im Aspekt der Schnittfläche ist mehrfach beschrieben (50 S.407)

Keines der oben genannten Kriterien zeigt sich verlässlich als Indikator nutzbar. Bemerkenswert erscheint, dass ein makroskopischer Verdacht auf Infiltration benachbarter Strukturen selten histologisch verifizierbar war (50 S.409). In unserem Kollektiv war dies nur einmal möglich, bei der Patientin traten nach R0 Resektion Metastasen im Verlauf auf. Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass eine die meisten Tumoren begleitende Entzündungsreaktion intraoperativ kaum von echt infiltrativem Wachstum zu unterscheiden ist.

6.4 Histologische Ergebnisse

Die Häufigkeit der Tumoren mit dem Überwiegen jeweils morphologisch unterschiedlicher Zelltypen innerhalb der GIST wurde im Kapitel 5.3.1.1 dargestellt. Die Zahlen zeigen, dass trotz eines deutlichen Überwiegens der rein spindelzelligen Tumoren (28 von 43) welches auch anderenorts beschrieben ist (26 S.2243; 50 S.418f; 42; 27 S.461) beide anderen Erscheinungsformen mit 7 bzw. 8 Tumoren nicht zu vernachlässigen sind. Biologisch aggressives Verhalten findet sich übereinstimmend mit anderen Autoren anteilmäßig in jeder Gruppe nahezu gleich häufig (28 S.43; 26 S.2243; 27 S.464)

Auch wenn sich die untersuchten GIST vom histomorphologischen Aspekt deutlich unterscheiden, ähneln sie einander in immunhistochemischer Differenzierung (s.u.) und biologischem Verhalten wesentlich. Dies bestätigt die inzwischen etablierte Praxis, diese Entität unter der Bezeichnung „GIST“ zusammenzufassen und sie von echten Leiomyomen und Leiomyosarkomen abzugrenzen.

Seit Entdeckung der KIT Positivität (CD 117) in der wesentlichen Mehrzahl der GIST, wird der immunhistochemische Nachweis dieses Proteins neben typischen histomorphologischen Kriterien als Diagnosekriterium gefordert. (27; 51; 9)

Hinweise auf unterschiedliche Wertigkeit der untersuchten Parameter zur Malignitätseinschätzung bei spindelzelligen versus epitheloidzelligen GIST konnten in dem von uns untersuchten Kollektiv nicht gefunden werden. Bei Appelman (4) wurden solche unterschiedlichen Gewichtungen beschrieben, bei Franquemont und Fletcher (28 S.43; 27 S.461) nicht.

Zellreichtum als Parameter war in unserer Studie – anders als in anderen Untersuchungen (29 S.949; 28 S.73) – nicht signifikant mit dem Auftreten von Metastasen korreliert. Trotz einer Sensitivität von 100% (d.h. alle metastasierten Tumoren waren sehr zellreich) eignet sich der Parameter, wie die Spezifität von 34% und der positive prädikative Wert von 17% beschreiben, nicht allein für die Annahme eines erhöhten Metastasierungsrisikos (50 S.428); hoher Zellreichtum ist jedoch auch

nach unseren Ergebnissen als „Voraussetzung“ für potentiell malignes Verhalten anzusehen und wird bei malignen Tumoren als typisch beschrieben (50 S.419; 4 S.97; 26 S.2243).

Grund für die scheinbare Abweichung unseres Studienergebnisses von anderen Autoren liegt im Studiendesign. Beurteilt man wie andere die Korrelation zwischen hoher Zellzahl und Einstufung eines Tumors als maligne, so ist diese freilich gegeben, da hoher Zellreichtum Voraussetzung für Zuordnung in diese Gruppe ist, welche metastasierte und metastasenfrie Tumore umfasst.

Der fehlende statistische Zusammenhang in unserer Untersuchung liegt an der Tatsache, dass neben den metastasierten Tumoren auch der größte Teil der nicht metastasierten Tumoren zellreich ist und aus diesem Blickwinkel Zellreichtum kein für metastasierte Tumoren typisches Kriterium ist.

Beide Werte erklären sich dadurch, dass im Unterschied zu typischen Leiomyomen für GIST hoher Zellreichtum charakteristisch ist (6 S.374; 5 S.715).

Geringer und auch mäßiger Zellreichtum machen ein malignes biologisches Verhalten sehr unwahrscheinlich und stützen die Prognose benignen Verhaltens (negativer prädikativer Wert von 100%). In unserer Studie wurden lediglich die 3 typischen Leiomyome, sowie ein benigner spindelzelliger Tumor als zellarm eingestuft.

Wir teilten die untersuchten Tumoren durch Schätzung des Zellreichtums semiquantitativ in 3 Gruppen (geringer, mäßiger, hoher Zellreichtum) ein. Bei dem Vergleich dieser auf Blickschätzung beruhenden Einteilung mit den gezählten Zellzahlergebnissen in 3 HPF zeigten sich in knapp 25% deutliche Abweichungen. Exemplarisch werden im Folgenden einige erwähnt:

Es wurden z.B. bei einem als zellarm eingestuften metastasenfrien spindelzelligen GIST 1773 Zellen gezählt, was im mittleren Zellreichtumsbereich anzusiedeln ist (höchster gezählter Wert im Gesamtkollektiv 5284 Zellen, niedrigster 369 Zellen) Ein metastasierter gemischtzelliger Tumor mit 1743 Zellen hingegen und ein gemischtzelliger metastasenfrier GIST mit 1256 Zellen wurden als sehr zellreich

eingestuft, zwei spindelzellige metastasenfremde GIST mit 659 Zellen bzw. 2636 Zellen als mäßig zellreich.

Metastasierte Tumoren waren allesamt als zellreich eingeschätzt worden. (nie unter- und einmal überschätzt). Grund hierfür ist das typische Zellbild maligner GIST mit kleinen, dicht liegenden Zellen, bei welchen die Kern-Plasma Relation zu Gunsten des Kerns verschoben ist (50 S.421)

Das Phänomen der Fehleinschätzung ist bekannt (50 S.428) und verdeutlicht die Schwierigkeit der Objektivierbarkeit und Reproduzierbarkeit dieser Größe. Ein Grund für die unterschiedliche Einschätzung des Zellreichtums liegt in der hohen Variabilität der Zellmorphologie innerhalb der GIST (s.o.) und in deren charakteristischem Tumorwachstum.

Der Grad an Polymorphie und Atypie, gehört zur histologischen Beschreibung eines Tumors. Bei verschiedenen Tumoren anderer Entität (z.B. Prostatakarzinom) ist er hinweisendes Kriterium auf biologisches Verhalten. Er wurde auch am vorliegenden Kollektiv untersucht. Je nach Studie wird der Bedeutung des Polymorphie-/ Atypiegrades unterschiedlichste Bedeutung beigemessen (7 S.9; 26 S.2234; 50 S.424/419).

In unserer Untersuchung zeigt sich, dass ein hoher Grad an Polymorphie und Atypie in der Gruppe der GIST nicht als hinweisend auf biologisch aggressives Verhalten gewertet werden kann. Alle 5 der im vorliegenden Kollektiv als stark polymorph / atypisch gewerteten Tumoren waren rein epitheloidzellig und ohne Metastasierung im beobachteten Verlauf. 4 der metastasierten Tumoren waren als mäßig polymorph gewertet worden und sogar 1 Tumor mit geringem Polymorphie-/ Atypiegrad hatte metastasiert. Die Ursache dieser Abweichung von der Bedeutung dieses Kriteriums für andere Tumor Entitäten kann teilweise darin gesehen werden, daß derzeit Tumoren aus histomorphologisch sehr unterschiedlichen Zellen (spindelzellig / epitheloidzellig), welche zudem Zellnester innerhalb eines Tumors bilden, in der Gruppe GIST zusammengefasst werden (27 S.461). Bei epitheloidzelligen Tumoren ist es besonders schwierig einen Polymorphie- oder Atypiegrad anzugeben (4 S.89). Zu variabel ist deren

Erscheinungsbild von Natur aus. Das Auge des Betrachters hat unter diesen Bedingungen verstehbare Schwierigkeiten, die Zellen des Tumors mit einem inneren Engramm zu vergleichen und eine Aussage zu treffen.

Auch der Anteil an frischem Nekrosegewebe wurde wie schon mit unterschiedlichen Ergebnissen in anderen Studien (46 S.20; 50 S.429f) unter dem Aspekt einer möglichen Aussagekraft über Metastasierungstendenz betrachtet.

Grundgedanke ist, dass rasches, unkontrolliertes Wachstum wegen Mangelversorgung im Tumorrinneren zu relativ hohem Anteil an frischen Nekrosen führt. Unkontrolliertes Wachstum birgt auch ein erhöhtes malignes Potential (s.o.).

Insgesamt lässt sich hierdurch bei uns keine bedeutende Beurteilungshilfe finden. Mindestens 10% frisches Nekrosegewebe fanden wir lediglich bei einem Tumor, welcher bereits intraoperativ eine weitreichende Metastasierung zeigte. Ein großer Anteil an frischem Nekrosegewebe war also vergesellschaftet mit Metastasierung.

Geringe Anteile von frischem Nekrosengewebe am Gesamttumor fanden wir bei den allermeisten GIST (4 S.712; 6 S.374). Sie erweisen sich als wenig hilfreich zur Abschätzung des biologischen Verhaltens.

Weiterer Kritikpunkt dieser beschriebenen Einschätzung ist die Schwierigkeit, Anteile von Nekrosen am Tumorgewebe ausreichend genau zu schätzen. Bei den untersuchten Tumoren war dies lediglich im Überblick verschiedener Histoschnitte möglich, bzw. mussten wir auf makroskopische Schätzungen aus den vorliegenden Protokollen zurückgreifen. Der deutlich höhere Anteil älterer Nekrosen an den untersuchten Tumoren weist wohl darauf hin, dass benigne wie maligne Tumoren langsam wachsen. Die bereits in der Literatur beschriebene Überlegung, dass bei malignen Tumoren das Metastasierungspotential erst im Verlauf zunehmend entwickelt wird (50) hat u.a. diese Beobachtung als Basis. In diesem Zusammenhang lässt sich auch ein erhöhtes Metastasierungspotential bei zunehmender Tumorgröße erklären.

Die Mitosezahl wird übereinstimmend in nahezu allen Studien zu diesem

Thema als wesentlichstes Kriterium zur Dignitätseinschätzung und Abschätzung des Metastasierungsverhaltens gewertet (50; 28; 27 ;11; 38; 47). Auf sie stützt sich neben der Tumorgröße auch der 2002 veröffentlichte Consensus approach in der Diagnosestellung GIST in seinem Vorschlag zur Dignitätseinschätzung (27). Jedoch auch sie ist als Einzelparameter nicht von ausreichender diagnostischer Sicherheit (19 S.43; 9 S.428; 16 S.82).

An dieser Stelle muss auch kritisch auf die Problematik hingewiesen werden, dass es bei der Nutzung der Mitosezahl als Bewertungsgrundlage keine einheitlichen Richtlinien gibt (28 S.43/44), sondern unterschiedlichste Systeme angewandt werden, welche nicht vergleichbar sind und aus denen unterschiedliche Dignitätsbeurteilungen entstehen.

Es fehlt eine einheitliche Bewertungsgrundlage (50 S.428) für diesen ohnehin schon mit bekannten Beurteilungsproblemen behafteten Parameter (13 S.163; 50 S.428). Die Beurteilungsprobleme beginnen bei der Abhängigkeit dieser Methode von einer optimalen Verarbeitung des Gewebes (rasche Fixierung und optimale Schnittqualität), um eine Komplettierung eines begonnenen Zellzyklus durch die Tumorzellen möglichst zu vermeiden (ansonsten zu niedrige Werte!) und Artefakte – welche fehlinterpretiert werden könnten – gering zu halten.

Weiterhin benötigt die Auswahl repräsentativer Areale (makroskopisch wie auch histologisch) zur Auswertung bei sehr unterschiedlicher Verteilung der Mitosen im gesamten Tumorgewebe, Erfahrung und Geduld. Unter diesem Aspekt erscheint es angeraten, die in 50 Gesichtsfeldern gezählten Mitosen als Bewertungsgrundlage zu nehmen und sich wegen der noch wesentlich höheren Fehlerwahrscheinlichkeit nicht auf 10 oder noch weniger HPF zu beschränken. Neben der Tatsache, daß das Auszählen von Mitosen ausreichend Zeit bedarf, ist es auch ein bekanntes Problem, selbst für sehr erfahrene Pathologen, Mitosefiguren gegenüber pyknotischen Zellkernen abzugrenzen.

In unserer Studie wählten wir den von Appelman propagierten Wert von mind. 10 Mitosen pro 50 HPF (4 S.96) für alle Tumoren, unabhängig vom überwiegenden Zelltyp als Schwellenwert. Dessen Korrelation mit dem Auftreten von Metastasen überprüften wir und es zeigte sich ein

hochsignifikanter Zusammenhang ($p < 0,0005$).

Die prognostische Bedeutung dieses Parameters für Metastasierung zeigt sich in einer Sensitivität von 100%, einer Spezifität von 89,5% und dem positiven prädiktiven Wert von 55,5%.

Die folgende Einzelfalldarstellung unterstreicht nochmals die Bedeutung der Mitosezahl und verbunden damit das Gewicht der bei ihrer Ermittlung bestehenden Fehlerquellen:

Bei einer Patientin wurden bei wiederholter Mitosezählung in 50 Gesichtsfeldern maximal 11 Mitosen gezählt. Der Tumor wurde deshalb als maligne eingestuft. Außer einer Größe $> 5\text{cm}$ wies histologisch und intraoperativ ansonsten nichts auf ein malignes Potential des Tumors hin. 2,5 Jahre nach Erstoperation (R0) traten bei dieser Patientin Metastasen auf und 4 Jahre 9 Monate nach Erstoperation verstarb sie an dem Tumorleiden.

Mind. 10 Mitosen pro 50 HPF wurden im Gesamtkollektiv in 9 Fällen gezählt. Fünf davon metastasierten, 4 waren im Beobachtungszeitraum metastasenfrem. Diese sollen etwas genauer beschrieben werden.

Zwei dieser Tumoren (25 bzw. 12 Mitosen pro 50 HPF) waren sehr klein (2,0 und 2,5 cm), so dass die Entfernung möglicherweise vor einer eventuellen Metastasierung erfolgte (follow up: 87 bzw. 62 Monate).

Ein weiterer Tumor mit 16 Mitosen pro 50 HPF war bei Operation 5,5 cm groß. Auch hier liegt möglicherweise ein relativ geringes Metastasierungsrisiko bei relativ geringer Größe vor (follow up: 63 Monate).

Bei einer Patientin mit 27 Mitosen sowie einer Tumorgröße von 9 cm ist der Beobachtungszeitraum von 49 Monaten möglicherweise zu kurz.

Als eine neue Methode wurde in dieser Arbeit die immunhistochemische Färbung mit MIB-1 am untersuchten Material etabliert um sie dann auf ihre Aussagekraft bezüglich Metastasierungsrisiko zu überprüfen. Der Versuch dieser immunhistochemischen Darstellung der Proliferationsaktivität als Ergänzung zur Mitosezählung wurde wie die weiter unten beschriebenen PCNA Untersuchungen in der Hoffnung gemacht, bei dieser Tumorart, deren Metastasierungspotential derzeit größtenteils anhand der Mitosezahl eingeschätzt wird, diesen mit bekannten Schwierigkeiten behafteten Parameter zu ergänzen.

Der monoklonale Antikörper Ki-67, bindet ein im Zellkern lokalisiertes Antigen von 345 und 395 kD, welches beginnend mit der G1 Phase während des gesamten Zellzyklus exprimiert wird (31). Seine kurze HWZ bedingt einen raschen Konzentrationsabfall während der Mitose. Die unbedingten Voraussetzungen für die Validität der aus immunhistochemischer Bestimmung gewonnenen Aussage über Proliferationsaktivität erfüllt Ki-67. Es wird anders als PCNA (52) ausschließlich während der semikonservativen DNA Replikation (während G1-, S-, G2- und M- Phase des Zellzyklus), jedoch nicht bei sonstigen Reparaturmechanismen der DNA oder in ruhenden Zellen exprimiert und markiert hoch selektiv in Mitose befindliche Zellen. MIB-1 ist das paraffingängige Äquivalent zu Ki-67 (14). Die Ergebnisse sind gut reproduzierbar, die Anwendung einfach und kostengünstig. MIB-1 ist daher als anerkannter (31; 20; 21) hochspezifischer Proliferationsmarker für unsere Anforderungen bestens geeignet. Der Einsatz von Ki-67 bzw. MIB-1 bietet weiterhin neben der Möglichkeit der relativ einfachen qualitativen Beurteilung, ob Zellen in Teilung vorliegen oder nicht, die Möglichkeit die räumliche Verteilung der Zellen, sowie durch Gegenfärbung deren Phänotyp sichtbar zu machen.

Bereits hinreichend nachgewiesen ist eine ausgeprägte Korrelation zwischen MIB-1 Positivität und Mitosezahl (14; 52; 68; 13 S.162).

Die immunhistochemische Darstellung des Proliferationsmarkers PCNA wurde bereits in mehreren Studien zur Unterstützung der Dignitätsbeurteilung und Prognoseeinschätzung bei GIST untersucht (z.B.:

3 S.430). Es zeigte sich durchwegs eine gute Korrelation der Dignitätseinschätzung durch diesen Marker mit bereits bekannten Methoden (28 S.44). Auch Metastasierungsrisiko und Überlebenskurven waren gut zu korrelieren. Allerdings zeigte sich auch bei den PCNA counts bereits in zunehmendem Maß die weiter oben schon genannte Problematik unterschiedlicher, nicht vergleichbarer Erstellungsmethoden (79 S.148; 1 S.429).

Die MIB-1 Positivität wurde als MIB-1 Index angegeben um die Variable des stark variierenden Zellreichtums bei diesem Kriterium auszuschalten, welche bei Zahlenangaben stark zur Geltung gekommen wäre. Andere Autoren haben aus selbem Grund ähnliche, leider nicht übereinstimmende und deshalb nicht direkt vergleichbare Methoden gewählt (13 S.162; 79 S.347; 35).

Die statistische Auswertung zeigt, wie auch andere nachfolgende Studien (74; 79) eine signifikante Korrelation zwischen MIB-1 Index - bei uns mind. 4% (in den Folgestudien >10%) - und dem Auftreten von Metastasen ($p < 0,005$).

Die Sensitivität für Metastasierung des ermittelten MIB Index von mind. 4% lag bei 80%, die Spezifität bei 84,2%. Beide Werte liegen etwas unter den für die Mitosezahl >9 in 50 HPF ermittelten Werten.

Vorteil des MIB-1 Index ist seine technisch einfache Ermittelbarkeit. Nachteilig ist der dennoch hohe zeitliche Aufwand, welchen die Erfassung der gesamten Zellzahl erfordert. Eine gewisse Ungenauigkeit resultiert aus Fehlern, mit denen bei der Ermittlung der Zellgesamtzahl bzw. der MIB-1 positiven Zellen in sehr zellreichem Gewebe zu rechnen ist. Eine weitere, mit Hilfe der ROC Kurven möglichst gering gehaltene Minderung der Validität liegt in der Ermittlung des MIB-1 Index aus nur 3 HPF. Eine Überprüfung der Werte durch stichprobenartige Auszählung von 50 HPF hatte jedoch keine wesentlichen Wertänderungen erbracht. Andere Autoren errechnen den MIB-1 Index aus 1000 oder auch nur 200 gezählten Zellen (13; 79), diesen Wert erreichen wir bei allen zellreichen und dem Großteil der mäßig zellreichen Tumoren, welchen ja die metastasierten entstammen.

Zur alleinigen Nutzung oder als Hauptkriterium der Dignitätseinschätzung ist der MIB-1 Index nach unseren Ergebnissen nicht geeignet (pos. präd. Wert 40%; Sensitivität 80%), die auch von uns valider gewertete Mitosezählung kann er also nicht ersetzen. Seine Bedeutung liegt in der Möglichkeit zusätzliche Hinweise auf Metastasierung zu erhalten und besonders weniger erfahrene Beurteiler zu unterstützen. Eine Untersuchung der Korrelation zwischen linearem MIB-1 Anstieg und zunehmendem Metastasierungsrisiko wurde nicht gemacht.

In nachfolgenden Studien wurde der MIB-1 Index unterschiedlich bewertet. Er wurde als der Mitosezahl sogar überlegen (68; 13), aber auch lediglich als mit zunehmender Höhe zunehmend hinweisend gewertet (74 S.2247). Die Gruppe um Fletcher relativiert ihn in den von ihr entworfenen Richtlinien (27)

Im Nachbeobachtungszeitraum metastasenfremde Tumoren mit einem MIB-1 Index >4% sind in **Tab. 11** dargestellt.

Teil der Studie war es auch, die Computer gestützte Auswertung der MIB Präparate zu untersuchen und sie mit dem durch menschlichen Betrachter ermittelten MIB1-Index zu vergleichen. Im Vergleich zeigte sich bei uns eine nicht ausreichend exakte Korrelation der ermittelten Werte. Die computergestützten Werte lagen meistens deutlich höher. Bei einem MIB-1 Index Schwellenwert von 4% führt dies zu einem Anstieg der falsch als maligne eingeschätzten Tumoren ohne die Sensitivität zu erhöhen. Hauptgrund hierfür ist die sehr hohe Zelldichte und Polymorphie der untersuchten Tumorentität. Die Fehldifferenzierung des Computers zwischen Zytoplasma und Kern nimmt bei zunehmend hoher Kerndichte und Polymorphie aufgrund der entstehenden höheren Gesamtfarbindensität und der weniger klaren Farbtrennung zu. Ausgeprägte Kernpolymorphie und Unterschiede in der Kerndichte machten es auch notwendig bei jedem Präparat eine gewisse Anzahl an MIB-1 positiven und negativen Zellen als Basis der Errechnung zu umfahren. Dies ließ den Faktor der Zeitersparnis bei Computer gestützter Auswertung wegfallen.

Die Computer gestützte Auswertung wird nach unseren Untersuchungen

den menschlichen Untersucher nicht ersetzen. Bessere Ergebnisse mit der Computer gestützten Untersuchung erzielte Cerillo (13 S.161) in seiner Studie. Es besteht also Bedarf an noch weiteren Untersuchungen dieser Thematik.

Auch als neue Methode zur Erweiterung der Einschätzfaktoren der Metastasierungswahrscheinlichkeit wurde die immunhistochemische Darstellung der p53 Überexpression erprobt.

Änderungen des p53 Tumorsupressorgens gehören zu den häufigsten genetischen Veränderungen in menschlichen Tumoren. Folge einer Veränderung des Gens ist eine extreme Zunahme der Halbwertszeit des von ihm codierten Proteins, sodass eine immunhistochemische Darstellung am paraffineingebetteten Gewebe ermöglicht wird. Mittels seiner DNA bindenden Domäne stellt p53 einen Transskriptionsfaktor dar und induziert die Expression p53 abhängiger Gene. Zu ihnen gehört das CIP-1/ WAF-1, welches ein 21kD Protein kodiert, das wiederum Cyclin abhängige Kinasen inhibiert. Sie steuern den Eintritt in die G1 Phase des Zellzyklus.

Eine Mutation des p53 Gens hat also eine mangelnde Expression von CIP-1 und in nächster Folge ein ungehindertes Eintreten der Zellen in den Replikationszyklus zur Folge (15;32)

Die Auswertung der Präparate nach immunhistochemischer Färbung bietet keine Schwierigkeiten, da eindeutige nukleäre Braunfärbung leicht zu erkennen ist. Die Sensitivität von 80% und Spezifität von 84,2% entspricht ebenso wie die Zahlenwerte des positiven und negativen prädiktiven Werts denen der Untersuchung des MIB-1 Index.

Auch p53 Positivität kann bei anderweitig als maligne eingeschätzten Tumoren nach unserer Studie als guter Hinweis auf Metastasierung im Verlauf genutzt werden. Diese Beobachtung wurde von Al-Bozom (1) 2001 bestätigt, Cunningham findet dagegen keinen Zusammenhang (17).

Metastasenfreie, p53 positive Tumoren sind nicht alle identisch mit metastasensfreien Tumoren, deren MIB-1 Index > 4% war.

Der p53 negative Tumor mit Metastasierung im Verlauf ist der auf S.53

beschriebene mit einem MIB-1 Index von 3,9 und einer Mitosezahl von 11/50HPF.

P53 positive, metastasenfremde Tumoren waren außer bei den in Tabelle 11 dargestellten Patienten A; B; F noch bei den in **Tabelle 12** aufgeführten Patienten aufgetreten.

Wie weiter oben erwähnt (S.39/40) hat eine höchstmögliche Sensitivität oberste Bedeutung bei der Beurteilung neuer Methoden. Diese erhöht sich für die beiden untersuchten Methoden durch deren Kombination. Als optimale Nutzungsmöglichkeit der untersuchten neuen Verfahren stellt sich somit die Forderung des gleichzeitigen Vorhandenseins beider Merkmale dar.

Auch Wang et al. 2001 (77) fand eine deutliche Korrelation zwischen MIB-1 Index > 10% bei gleichzeitiger p53 Positivität und hoher Mortalität.

Aufgrund der bisher wenigen und unterschiedlichen Ergebnisse ist eine weitere Beforschung dieses Aspektes von Interesse.

In der derzeit als GIST bezeichneten Tumorentität werden ehemals als „Leiomyome, Leiomyosarkome, Leiomyoblastome, epitheloidzellige Leiomyome und epitheloidzellige Leiomyosarkome“ benannte Tumoren zusammengefasst. Echte Leiomyome mit charakteristischer Morphologie und immunhistochemisch glattmuskulärer Differenzierung, die typischerweise im Bereich des distalen Ösophagus und der Cardia gelegen sind, können davon als eigene Entität abgegrenzt werden.

Besonders spindelzellige Anteile der GIST erinnern vom histologischen Aspekt an glattmuskuläre Weichteiltumoren (28 S.43). In der Vielzahl von elektronenmikroskopischen und in neuerer Zeit immunhistochemischen Untersuchungen zeigten sie alle in unterschiedlichstem Ausmaß Befunde glattmuskulärer Tumoren (4 S.84/86/89; 28; 53 S.601). Daher wurden auch an unserem Kollektiv sm-Aktin als bester Marker muskulärer Differenzierung bei GIST (cytoplasmatisches Filament) sowie Desmin (cytoplasmatisches Protein) (29 S.947/950) als spezifische Marker glattmuskulärer Zellen untersucht. Unsere Ergebnisse entsprechen im

Wesentlichen denen der meisten Studien (29;53;28;62;75):

Deutliche Hinweise auf eine vollständige glattmuskuläre Differenzierung fanden sich lediglich bei den 3 als typische Leiomyome eingestuft Tumoren.

In allen anderen untersuchten Tumoren zeigte der Großteil der Tumorzellen teilweise eine unvollständige glattmuskuläre Differenzierung. Sm-Aktin war in 89% der von uns untersuchten Tumoren in einem Teil der Zellen nachweisbar, die für eine vollständige glattmuskuläre Differenzierung sprechende zusätzliche Nachweisbarkeit von Desmin war in lediglich 28% der Fälle stellenweise gegeben.

Es bestätigt sich also die Aussage, dass glattmuskuläres Gewebe weder eindeutig Abstammungs- noch Differenzierungsziel dieser Tumorentität ist. Die inzwischen etablierte Abgrenzung dieser Entität von typischen glattmuskulären Tumoren wird durch unsere Ergebnisse unterstützt.

Eine Überprüfung der KIT Positivität wurde aufgrund des zum Studienzeitpunkt noch fehlenden Wissens über die Abstammung der GIST vom ICC nicht durchgeführt.

S100 , ein Protein, das ein exzellenter Marker für Schwannzell-Differenzierung (29 S.953) ist, konnte ebenso mit Voruntersuchungen übereinstimmend (62; 75) sehr selten nachgewiesen werden. Untersucht wurde dieser Marker, da GIST Zellen stellenweise wie Schwannome palisadenförmig angeordnet sind (50 S.411). In einigen Artikeln wurde deshalb bei partieller S100 Positivität eine neuronale Abstammung der GIST diskutiert und sogar vorübergehend die Bezeichnung gastrointestinal autonomic nerve tumors (GANTs) gefordert (28 S.42).

Vorhandene Nachweisbarkeit zeigt sich stets lediglich auf wenige Zellen beschränkt. Unklar bleibt, ob es sich bei diesen um Tumor eigene Zellen oder um im Tumor eingeschlossene Zellen des umgebenden Gewebes handelt. Eine Abstammung dieser Tumorentität von solchem neuronalen Gewebe erscheint aufgrund unserer Ergebnisse und nach Zusammenschau mehrerer Studien sehr unwahrscheinlich.

Mit der Untersuchung der vorhandenen Tumoren auf Östrogen- und Progesteron Rezeptoren sollte der Versuch gemacht werden durch Untersuchung noch nicht getesteter immunhistochemischer Marker evtl. neue Hinweise auf das Tumor Ursprungsgewebe bzw. Differenzierungsziel zu finden. Ein Hinweis auf Gemeinsamkeit in der Abstammung bzw. Differenzierung von GIST und glattmuskulären Tumoren des Uterus konnte nicht gefunden werden.

In der Zwischenzeit konnten weitere Studien durch den immunhistochemischen Nachweis von CD 117 einen Zusammenhang zwischen GIST und den sog. Interstitiellen Zellen von Cajal (ICC) zeigen. ICC bilden ein komplexes, submuköses gelegenes Zellnetz in der Wand des GIT, welches derzeit als Schrittmachersystem der Peristaltik bekannt ist (55; 63). Charakteristisch für dieses Zellsystem und entscheidend für seine Entwicklung ist die Expression von c-kit Tyrosin Kinase Rezeptor (KIT; CD 117) (40; 55; 75; 9, 80;37).

Seit der Erkenntnis, dass GIST in >90% der Fälle CD 117 Positivität zeigen gilt diese bei typischer Morphologie als Diagnosekriterium für GIST (44; 56; 27; 9).

Mit der Entdeckung der CD 117 Positivität wurde also ein großer Fortschritt im Hinblick auf die lange diskutierte Frage über das Ursprungsgewebe der GIST gemacht. ICC bzw. deren Vorläuferzellen können nun als GIST Ursprungs- bzw. Differenzierungsgewebe zugeordnet werden (34; 44). Die histologische Ähnlichkeit zwischen dieser Zellreihe und GIST belegt dies auch morphologisch.

Vor einigen Jahren wurde die chemotherapeutische Anwendbarkeit von STI 571 (imatinib mesylate) entdeckt, welche in bisherigen Untersuchungen sehr vielversprechende Erfolge zeigt und zunehmend zur Verfügung steht (58; 59; 61; 63; 80; 37; 64).

STI 571 wurde als Chemotherapeutikum der CML entwickelt und hat sich als sehr effektiv in allen Stadien dieser Erkrankung gezeigt (58). Da es sich um ein Molekül handelt, das selektiv Bar-Abl, KIT (=Tyrosinkinase Rezeptor c-kit) und PDGF-R Aktivität hemmt (59), wurde seine therapeutische Anwendbarkeit bei GIST postuliert und untersucht.

GIST überexprimieren bekanntermaßen KIT - das Proteinprodukt des meist im Sinne eines gain of function mutierten c-kit proto-oncogens. Aktivierung des KIT Proteins führt zu einer intrazellulären Stimulation mit der Folge erhöhter Zellproliferation und verlängerter Zellüberlebensdauer, welches dann wiederum zur Tumorentstehung führt (80).

Nach bereits erkennbaren unmittelbaren Erfolgen der therapeutischen Anwendung bleiben die Langzeiterfolge der Anwendung von STI 571 als Chemotherapeutikum in GIST derzeit noch abzuwarten.

Zunehmend bekannt werden Fälle von primärer und sekundärer (72) Resistenz gegen imatinib, so dass sich zunehmend Studien mit der Möglichkeit von Kombinationstherapien (23) und alternativen Therapiemöglichkeiten beschäftigen. Alternativchemotherapeutika (z.B. ET 743/trabectedin („yondelis“)), welches in der getesteten Dosierung ohne Erfolg war (8), werden derzeit überprüft (48). Einen Erklärungsansatz für primäre Einzelfallresistenz gegen STI 571 gibt Antonescu et al. (22; 2) in der Beobachtung von Unterschieden in Genexpression und KIT signaling pathway der GIST.

Aufgrund der seit der Entdeckung von STI 571 wesentlich erweiterten Therapiemöglichkeit der GIST kommt deren exakter Diagnose eine deutlich zentralere Bedeutung zu. CD 117 negative, morphologisch typische GIST werden daher zunehmend zu einem Problem. Somit ist die Erforschung und Etablierung weiterer CD 117 unabhängiger Diagnosekriterien wie z.B. DOG 1 (78) oder PKC theta (9) von großer Bedeutung.

Die auf immunhistochemischem Weg erfolgte Erkenntnis über

molekularbiologische Eigenschaften von GIST und deren Nutzung für die Entitätszuordnung und therapeutische Anwendung von STI 571 lassen GIST zu einem Beispiel für molekularbiologisch basierte Tumordiagnostik und Therapie werden.

Dennoch bleibt die Bewertung der Tumoren in Bezug auf ihr biologisches Verhalten, insbesondere auf ihre Metastasierungswahrscheinlichkeit weiterhin schwierig. Die Bedeutung der bekannten hinweisenden Kriterien Mitosen, Größe und histologisches Gesamterscheinungsbild wird in einer Vielzahl der Studien übereinstimmend bewertet (28; 50; 27). DNA Untersuchungen durch flow Cytometrie und Bildanalyse wurden in neuerer Zeit durchgeführt und deuten auf eine Aussagekraft bezüglich Malignität und biologisch aggressivem Verhalten hin (50 S.430; 13; 16 S.163; 18). Auch genetische Mutationen wie z.B. Kit oncogen exon 11 wurden untersucht und deuten auf schlechte Verlaufsprognose hin (25, 38; 47). Sie ermöglichen jedoch bisher für sich alleine betrachtet weiterhin keine eindeutige Einordnung der GIST in Tumoren mit eher benignem oder malignem biologischen Verhalten.

Positivität für CD 34, ein hämatopoetisches Stammzellantigen, wird auch häufig in GIST beschrieben und dann als Hinweis auf Malignität gewertet (69; 70; 75).

So bleibt die letztendliche Beurteilung der Fälle, die sich nicht bereits schon intraoperativ durch ein invasives, organüberschreitendes Wachstum bzw. Metastasen als eindeutig maligne auszeichnen, eine Risikoabschätzung im Sinne eines sog. „risk assessments“ (4) durch Synthese mehrerer Wahrscheinlichkeitskriterien. Diese Methode wird auch in der derzeit gültigen Richtlinie nach Fletcher (s.u.) propagiert.

Weiterhin ist hierbei die Mitosehäufigkeit das zuverlässigste Hinweiskriterium, wobei eine Anzahl von mind. 10 Mitosen in 50 HPF einen signifikanten Schwellenwert darstellt. Insbesondere bei Vorliegen weiterer Malignitätskriterien bietet die Größe einen wichtigen Anhaltspunkt für das Metastasierungsverhalten.

Die zusätzliche Bestimmung von MIB-1 und p53 ist aufgrund unserer Ergebnisse grundsätzlich zu fordern. Neuere Studien relativieren dies

(27). Unbedingt zu fordern ist die Bestimmung von CD 117, welches wesentliche therapeutische Konsequenzen hat.

7. Zusammenfassung

Mesenchymale Tumoren des Verdauungstraktes –mittlerweile als GIST bekannt- sind bereits seit langem von ungebrochenem Interesse für Forscher, da bis vor wenigen Jahren Unklarheit über Ursprungsgewebe und Differenzierungsziel herrschte und bis zum heutigen Zeitpunkt eine Dignitätseinschätzung trotz Heranziehens unterschiedlichster Beurteilungskriterien nur sehr eingeschränkt möglich ist.

In unserer Arbeit werden, in einem auf gastrale GIST beschränkten Kollektiv, auf der Basis des Goldstandards einer Metastasierung als Malignitätsbeweis zum einen seit längerem bestehende Beurteilungskriterien wie Mitosezahl, Tumogrösse, Zellreichtum, Histotyp, Differenzierungsgrad u.a. auf ihre Aussagekraft geprüft. Zum anderen wird die Anwendbarkeit des Nachweises der neuen, auf immunhistochemischen Färbungen basierenden Kriterien MIB-1 und p53 untersucht.

Bezüglich der Entitätszuordnung wurden immunhistochemische Färbungen auf sm-Aktin, Desmin und S100 durchgeführt.

Im Folgenden werden die von uns erarbeiteten Schlussfolgerungen dargestellt (1-9) und im Weiteren mit der derzeit angewandten Vorgehensweise der Dignitätsabschätzung nach Fletcher et al. verglichen:

- 1.) Alter, Geschlecht und präoperative Symptomatik geben keinen Hinweis auf die Dignität eines GIST
- 2.) Im Magen lokalisierte GIST metastasieren im Verlauf selten, das Metastasierungspotential ist jedoch im Einzelfall weiterhin schwer einzuschätzen.
- 3.) Operationsausmaß und Lymphknotenmitentfernung haben unter der Bedingung der R0 Resektion keinen Einfluss auf den klinischen Verlauf.
- 4.) Von den makroskopisch – chirurgischen Parametern hat lediglich die Tumogröße eine, jedoch sehr bedeutende Aussagekraft bezüglich des Metastasierungspotentials. Für eine Grösse von >5cm liegt p bei

<0,05 und die Sensitivität bei 100%

5.) Bezüglich der histologischen Kriterien spricht eine Mitosezahl von mind. 10/50 HPF ($p < 0,005$), typische Morphologie mit dicht liegenden Zellen und große frisch nekrotische Bereiche unabhängig vom Histotyp für eine erhöhte Metastasierungswahrscheinlichkeit.

6.) Ein durch den menschlichen Betrachter ermittelter MIB-1 Index von mind. 4% in 3 HPF ist ebenso wie p53 Positivität signifikant (p jeweils $< 0,005$) mit dem Auftreten von Metastasen korreliert. Gleichzeitiges Vorhandensein beider Kriterien erhöht ihre Aussagekraft (positiv prädiktiver Wert: 94,7%).

7.) Sm-Aktin und Desmin als immunhistochemisch nachweisbarer Ausdruck glattmuskulärer Differenzierung sind in unseren GIST nur stellenweise nachweisbar; sm-Aktin ist sensitiver für myogene Differenzierung als Desmin und in 89% der Tumoren darstellbar, Desmin in 28%.

8.) S100 als Marker neuronaler Differenzierung ist nur in 5% der Tumoren nachweisbar.

9.) Unsere Untersuchungen führen zu folgender Einschätzungsmöglichkeit des Metastasierungsrisikos und damit der Dignitätseinschätzung bei GIST des Magens:

Als POTENTIELL MALIGN ist ein Tumor anzusehen, wenn seine Mitosezahl bei mind. 10/50 HPF liegt und er das typische histomorphologische Bild mit sehr hoher Zelldichte bietet.

Sein METASTASIERUNGSPOTENTIAL steigt deutlich mit einer Tumorgöße über 5cm und / oder einem MIB-1 Index von mind. 4% bei gleichzeitiger p53 Positivität

Der derzeit sehr weit verbreitete „**consensus approach**“ zur Diagnosestellung und Dignitätsbeurteilung von GIST **nach Fletcher et al.** (27) empfiehlt folgendes Vorgehen:

CD 117 Positivität und typisches histologisches Erscheinungsbild als Goldstandard der **Diagnosestellung**, abgesehen von speziellen CD 117 negativen Ausnahmen: Diese werden dann als „spindle cell (or epitheloid) stromal neoplasm most consistent with GIST“ bezeichnet.

Aufgrund des typischen Phänomens der Unberechenbarkeit bezüglich der **Dignitätsbeurteilung** kommt man zunehmend davon ab, von „benignen“ Läsionen zu sprechen.

Propagiert wird eine **Risikoabschätzung** für aggressives Verhalten bei GIST auf folgender Basis:

	Größe	Mitosezahl
Sehr geringes Risiko	<2cm	<5/50 HPF
Geringes Risiko	2-5cm	<5/50 HPF
Mittleres Risiko	<5cm	6-10/50 HPF
	5-10cm	<5/50 HPF
Hohes Risiko	>5cm	>5/50 HPF
	>10cm	jede Mitosezahl
	jede Größe	>10/50 HPF

Diese Herangehensweise deckt sich bezüglich der Bedeutung von Tumorgöße und Mitosezahl bei Dignitätseinschätzung und der Grundidee einer Risikoabschätzung anstelle einer eindeutigen Dignitätsbestimmung aufgrund der fortbestehenden Unwägbarkeit, großenteils mit den von uns erlangten Ergebnissen. Unterschiedlich sind die zugrundeliegenden Schwellenwerte für Mitosezahl und Tumorgöße.

MIB 1 und p 53 haben sich im Verlauf nach Durchführung zahlreicher Studien nicht für die Routinediagnostik etablieren können. Andere Einschätzungsmöglichkeiten werden derzeit untersucht.

8. Literaturverzeichnis

- 1 Al-Bozom, I.A.
P53 expression in gastrointestinal stromal tumors
Pathol Int, 51 (2001) 519 – 523
- 2 Antonescu C.R., Viale A., Sarran L., Tschernyavsky S.J., Gonene M., Segal I., Maki R.G., Succi N.D., DeMatteo R.P., Besmer P.
Gene expression in gastrointestinal stromal tumors is distinguished by KIT genotype and anatomic site
Clin Cancer Res. 2004 May 15;10 (10): 3282 - 90
- 3 Amin, M.B., Ma, C.K., Linden, M.D., Kubus, J.J., Zarbo, R.J.
Prognostic Value of Proliferating Cell Nuclear Antigen Index in Gastric Stromal Tumors
Correlation with Mitotic Count and Clinical Outcome
Am J Clin Pathol 100 (1993) 428 – 432
- 4 Appelman, H.D.
Smooth Muscle Tumors of the Gastrointestinal Tract
What We Know Now That Stout Didn't Know
Am J Surg Pathol, 10 (1986) 83 – 99
- 5 Appelman, H.D., Helwig, E.B.
Gastric epitheloid Leiomyoma and Leiomyosarcoma (Leiomyoblastoma)
Cancer 38 (1976) 708 – 728
- 6 Appelman, H.D., Helwig, E.B.
Cellular Leiomyomas of the Stomach in 49 Patients
Arch Pathol Lab Med 101 (1977) 373 – 377
- 7 Appelman, H.D., Helwig, E.B.
Sarcomas of the Stomach
A.J.C.P. 67 (1977) 2 – 10
- 8 Blay J.Y., Le Cesne A., Verweij J., Scurr M., Seynaeve C., Bonvalot S., Hogendoorn P., Jimeno J., Evrard V., van Glabbeke M., Judson I.
A phase II study of ET – 743/trabectedin (“Yondelis”)for patients with advanced gastrointestinal stromal tumours
Eur J Cancer. 2004 Jun ;40 (9) : 1327 – 31
- 9 Blay P., Astudillo A., Buesa J.M., Campo E., Abad M., Garcia-Garcia J., Miquel R., Marco V., Sierra M., Losa R., Lacave A., Brana A., Balbin M., Freijie J.M.
Protein kinase C theta is highly expressed in gastrointestinal stromal tumors but not in other mesenchymal neoplasias
Clin Cancer Res. 2004 Jun 15; 10 (12 Pt 1): 4089 – 95

- 10 Bono P., Krause A., von Mehren M., Heinrich M.C., Blanke C.D., Dimitri S., Demetri G.D., Joensuu H.
Serum KIT and KIT ligand levels in patients with gastrointestinal stromal tumors treated with imatinib.
Blood. 2004 Apr 15; 103 (8):2929 - 35
- 11 Bucher P., Taylor S., Villiger P., Morel P., Brundler M.A.
Are there any prognostic factors for small intestinal stromal tumors?
Am J Surg. 2004 Jun; 187 (6): 761 – 6
- 12 Bucher P., Villiger P., Egger J.F., Buhler L.H., Morel P.
Management of gastrointestinal stromal tumors: from diagnosis to treatment
Swiss Med Wkly. 2004 Mar 20 ; 134 (11-12): 145 - 53
- 13 Carrillo, R., Candia, A., Rodriguez-Peralto, J.L., Caz, V.
Prognostic Significance of DNA Ploidy and Proliferative Index (MIB-1 Index) in Gastrointestinal Stromal Tumors
HUM PATHOL 28 (1997) 160 – 165
- 14 Cattoretti ,G., Becker, M.H., Key, G., Duchrow, M., Schluter, C., GalleJ., Gerdes, J.
Monoclonal antibodies against recombinant parts of the Ki-67 antigen (MIB 1 and MIB 3) detected proliferating cells in microwave-processed formalin-fixed paraffin sections
Pathol 168 (1992) 357 – 363
- 15 Chiarugi,V., Magnelli,L., Cinelli, M., Basi,G.
Apoptosis and the cell cycle
Cell Mol Biol Res, 40 (1994) 603 – 612
- 16 Cooper, P.N., Quirke, P., Hardy, G.J., Dixon, M.F.
A Flow Cytometric, Clinical, and Histological Study of Stromal Neoplasms of the Gastrointestinal Tract
Am J Surg Pathol, 16 (1992) 163 – 170
- 17 Cunningham, R.E., Abbondanzo, S.L., Chu, W.S., Emroy, T.S., Sobin, L.H., O`Leary, T.J.
Apoptosis, bcl-2 expression, and p53 expression in gastrointestinal stromal/smooth muscle tumors
Appl Immunohistochem Mol Morphol, 9 (2001) 19 – 23
- 18 Cunningham, R.E., Federspiel, B.H., McCarthy, W.F., Sobin, L.H., O`Leary, T.J.
Predicting Prognosis of Gastrointestinal Smooth Muscle Tumors
Role of Clinical and Histologic Evaluation, Flow Cytometry and Image Cytometry
Am J Surg Pathol, 17 (1993) 588 – 594

- 19 Demetri, G. D.
Targeting c-kit mutations in solid tumors: scientific rationale and novel therapeutic options
Semin. Oncol., 28 (2001) 19 – 26
- 20 Dougherty, M.J., Compton, C., Talbert, M., Wood, W.C.
Sarcomas of the Gastrointestinal Tract
Separation into Favorable and Unfavorable Prognostic Groups by Mitotic Count
Ann. Surg. 214 (1991) 569 – 575
- 21 Duchrow, M., Schluter, C., Wohlenberg, C., Flad, H.D., Gerdes, J.
Molecular characterization of the gene locus of the human cell proliferation-associated nuclear protein defined by monoclonal antibody Ki-67.
Cell Prolif, 29 (1996) 1 – 12
- 22 Duensing A., Medeiros F., McConarty B., Joseph N.E., Panigrahy D., Sinder S., Fletcher C.D., Demetri G.D., Fletcher J.A.
Mechanisms of oncogenic KIT signal transduction in primary gastrointestinal stromal tumors (GISTs)
Oncogene. 2004 May 13; 23 (22): 3999 - 4006
- 23 Eisenberg B.L., Judson I.
Surgery and imatinib in the management of GIST: emerging approaches to adjuvant and neoadjuvant therapy.
Ann Surg Oncol. 2004 May; 11 (5):465 - 75
- 24 Emroy, T.S., Sobin, L.H., Lukes, L., Lee, D.H., O`Leary, T.J.
Prognosis of Gastrointestinal Smooth – Muscle (Stromal) Tumors
Dependence of Anatomic Site
Am J Surg Pathol, 23 (1999) 82 – 87
- 25 Ernst, S.I., Hubbs, A.E., Przygodzki, R.M., Emory, T.S., Sobin, L.H., O`Leary, T.J.
KIT Mutation Portends Poor Prognosis in Gastrointestinal Stromal/Smooth Muscle Tumors
Lab Invest 78 (1998) 1633 – 1636
- 26 Evans, H.L.
Smooth Muscle Tumors of the Gastrointestinal Tract
A Study of 56 Cases Followed for a Minimum of 10 Years
Cancer 56 (1985) 2242 – 2250
- 27 Fletcher C.D.M., Berman J.J., Corless C., Gorstein F., Lasota J., Longley B.J., Miettinen M., O`Leary T.J., Remotti H., Rubin B.P., Shmookler B., Sobin L.H., Weiss S.W.
Diagnosis of Gastrointestinal Stromal Tumors : A Consensus Approach
Hum Pathol 33 (2002). 459 - 465

- 28 Franquemont, D.W.
Differentiation and Risk Assessment of Gastrointestinal Stromal Tumors
Am J Clin Pathol 103 (1995) 41 – 47
- 29 Franquemont, D.W., Frierson, H.F.
Muscle Differentiation and Clinicopathologic Features of Gastrointestinal Stromal Tumors
Am J Surg Pathol, 16 (1992) 947 – 954
- 30 Fujimoto, Y., Nakanishi, Y., Yoshimura, K., Shimoda, T.
Clinicopathologic study of primary malignant gastrointestinal stromal tumors of the stomach, with special reference to prognostic factors: analysis of results in 140 surgically resected patients.
Gastric Cancer, 6 (2003) 39 – 48
- 31 Gerdes, J., Li, L., Schlueter, C., Duchrow, M., Wohlenberg, C., Gerlach, C., Strahmer, I., Kloth, S., Brandt, E., Flad, H.D.,
Immunobiochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki-67
Am J Pathol, 138 (1991) 867 – 873
- 32 Gervais, J.L., Seth, P., Zhang, H.
Cleavage of CDK inhibitor p21 Cip1/Waf1 by caspases is an early event during DNA damage-induced apoptosis
J Biol Chem, 273 (1998) 19207 – 19212
- 33 Goldblum, J.R., Appelman, H.D.
Stromal Tumors of the Duodenum
A Histologic and Immunohistochemical Study of 20 Cases
Am J Surg Pathol, 19 (1995) 71 – 80
- 34 Graadt van Roggen, J., F., van Velthuysen, M., L., Hogendoorn, P., C.
The histopathological differential diagnosis of gastrointestinal stromal tumours
J Clin Pathol, 54 (2001) 96 – 102
- 35 Hasegawa, T., Matsuno, Y., Shimoda, T., Hirohashi, S.
Gastrointestinal stromal tumor consistent CD117 immunostaining for diagnosis, and prognostic classification based on tumor size and MIB-1 grade
Hum Pathol, 33 (2002) 669 – 676
- 36 Jager P.L., Gietema J.A., van der Graaf W.T.
Imatinib mesylate for the treatment of gastrointestinal stromal tumors: best monitored with FDG PET
Nucl. Med Commun. 2004 May; 25 (5) 433 – 8
- 37 Joensuu H., Kindblom L.G.
Gastrointestinal stromal tumors—a review.
Acta Orthop Scand Suppl. 2004 Apr; 75 (311): 62 – 71
- 38 Kim T.W., Lee H., Kang Y.K., Choe M.S., Ryu M.H., Chang H.M., Kim J.S.,

- Yook J.H., Kim B.S., Lee J.S.
Prognostic significance of c-kit mutation in localized gastrointestinal stromal tumors.
Clin Cancer Res. 2004 May 1; 10 (9): 3076 – 81
- 39 Kindblom, L.-G., Remotti, H.E., Aldenborg, F., Meis-Kindblom, J.M.
Gastrointestinal Pacemaker Cell Tumor (GIPACT)
Gastrointestinal Stromal Tumors Show Phenotypic Characteristics of the Interstitial Cells of Cajal
Am J Pathol, 152 (1998) 1259 – 1269
- 40 Kitamura, Y., Hirota, S., Nishida, T.
Gastrointestinal stromal tumors (GIST): a model for molecule-based diagnosis and treatment of solid tumors
Cancer Sci., 94 (2003), 315 – 320
- 41 Kiyabu, M.T., Bishop, P.C., Parker, J.W., Turner, R.R., Fitzgibbons, L.P.
Smooth Muscle Tumors of the Gastrointestinal Tract
Flow Cytometric Quantitation of DNA and Nuclear Antigen Content and Correlation with Histologic Grade
Am J Surg Pathol, 12 (1988) 954 – 960
- 42 Lau S., Tam K.F., Kam C.K., Lui C.Y., Siu C.W., Lam H.S., Mak K.L.
Imaging of gastrointestinal stromal tumour (GIST).
Clin Radiol. 2004 Jun; 59 (6): 487 - 98
- 43 Lee C.M., Chen H.C., Leung T.K., Chen Y.Y.,
Gastrointestinal stromal tumor: Computer tomographic features
World J Gastroenterol.2004 Aug 15; 10 (16): 2417 – 8
- 44 Lee, E. J., Lee, O. J., Kim, T. H., Jung, W. T.
A clinical and immunohistochemical study on gastrointestinal stromal tumor
Korean J Gastroenterology, 42 (2003) 204 – 211
- 45 Lerma, E., Olivia,E., Tugues, D., Prat, J.,
Stromal tumours of the gastrointestinal tract:
A clinicopathological and ploidy analysis of 33 cases
Virchows Archiv, 424 (1994) 19 – 24
- 46 Lewin, K.J., Appelmann, H.D.
Tumors of the Esophagus and Stomach
In: "Atlas of Tumor Pathology",
Armed Forces Institute of Pathology, Washington, D.C.
1996, Third Series, Fascicle 18, S.405 – 456
- 47 Ma D.L., Liu X.H., Bai C.G., Xie Q., Feng F.
Effect of c-kit gene mutation on prognosis of gastrointestinal stromal tumor
Zhonghua Wai Ke Za Zhi. 2004 Feb 7; 42 (3): 140 – 4
- 48 Maki R.G.
Gastrointestinal stromal tumors respond to tyrosine kinase targeted therapy.

- Curr Treat Options Gastroenterol. 2004 Feb; 7 (1): 13 - 19
- 49 Matthews B.D., Joels C.S., Kercher K.W., Heniford B.T.
Gastrointestinal stromal tumors of the stomach.
Minerva Chir. 2004 Jun; 59 (3): 219 - 31
- 50 McCormick, D., Chong, H., Hobbs, C., Datta, C., Hall, P.A.
Detection of the Ki-67 antigen in fixed and wax-embedded sections with the monoclonal antibody MIB1
Histopathology, 22 (1993) 355 – 360
- 51 Medeiros F., Corless C.L., Duensing A., Hornick J.L., Oliveira A.M., Heiner M.C., Fletcher J.A., Fletcher C.D.
KIT-negative gastrointestinal stromal tumors: proof of concept and therapeutic implications.
Am J Surg Pathol. 2004 Jul; 28 (7): 889 - 94
- 52 Miettinen, M.
Gastrointestinal Stromal Tumors
An Immunohistochemical Study of Cellular Differentiation
Am J Clin Pathol 89 (1988) 601 – 610
- 53 Miettinen, M., Sarlomo-Rikala, M., Sobin, L.H., Lasota, J.
Gastrointestinal Stromal Tumors and Leiomyosarcomas in the Colon
A Clinicopathologic, Immunohistochemical, and Molecular Genetic Study of 44 Cases
Am J Surg Pathol, 24 (2000) 1339 – 1352
- 54 Miettinen, M., Virolainen, M., Sarlomo-Rikala, M.
Gastrointestinal Stromal Tumors – Value of CD34 Antigen in their Identification and Separation from True Leiomyomas and Schwannomas
Am J Surg Pathol, 19 (1995) 207 – 216
- 55 Min, K., W., Sook Seo, I.
Interstitial cells of Cajal in the human small intestine: immunochemical and ultrastructural study
Ultrastruct Pathol. 27 (2003), 67 – 78
- 56 Morey, A., L., Wanigasekera, G., D., Hawkins, N., J., Ward, R., L.
C-kit mutations in gastrointestinal stromal tumors
Pathology, 34 (2002), 315 - 319
- 57 Newman, P.L., Wadden, C., Fletcher, C.D.M.
Gastrointestinal Stromal Tumors:
Correlation of Immunophenotype with Clinicopathological Features
Journal of Pathology, 164 (1991) 107 – 117

- 58 Nakajima, M., Toga, W.
Tyrosine kinase inhibitor as a therapeutic drug for chronic myelogenous leukemia and gastrointestinal stromal tumor
Nippon Yakurigaku Zasshi, 122 (2003) 482 - 490
- 59 Nishida, T., Yasumasa, K.
Target-based therapy against gastrointestinal stromal tumors – from molecular diagnosis to molecular target therapy
Gan To Kagaku Ryoho, 30 (2003) 1071 - 1078
- 60 Olakowski M., Lampe P., Musiewicz m., Swiatkowska-Szlachta E.
Surgical treatment of gastric mesenchymal tumors
Wiad Lek. 2004;57 (1-2):25 - 8
- 61 Van Oosterom, A. T., Judson, I. R., Verweij, J., Stroobants, S., Dumez, H., Donato di Paola, E., Sciot, R., Van Glabbeke, M., Dimitrijevic, S., Nielsen, O. S.,
Update of phase I study of imatinib (STI571) in advanced soft tissue sarcomas and gastrointestinal stromal tumors: areport of the EORTC Soft Tissue and Bone Sarcoma Group
Eur J Cancer, 38 (2002) 83 - 87
- 62 Ranchod, M., Kempson, R.L.
Smooth muscle tumors of the gastrointestinal tract and retroperitoneum
A pathologic Analysis of 100 cases
Cancer 39 (1977) 255 – 262
- 63 Ray-Coquard, I., Le Cesne, A., Michallet, V., Boukovinas, I., Ranchere, D., Thiesse, P., Baty, V., Blay, J.Y.
Gastro-intestinal stromal tumors: news and comments
Bull Cancer, 90 (2003) 69 – 76
- 64 Reichardt P., Pink D., Mrozek A., Lindner T., Hohenberger P.
Gastrointestinal stromal tumors (GIST)
Z Gastroenterol. 2004 Apr; 42 (4): 327 – 31
- 65 Rudolph, P., Chiaravalli, A.M., Pauser, U., Oschlies, I., Hillemann, M., Gobbo, M., Marichal, M., Eusebi, V., Höfler, H., Capella, C., Klöppel, G.
Stromal tumors of the gastrointestinal tract - proposal for an immunophenotypic classification
Am J Surg Pathol, 24 (2000)
- 66 Rudolph, P., Gloeckner, K., Parwaresch, R., Harms, D., Schmidt, D.
Immunophenotype, Proliferation, DNA Ploidy, and Biological Behavior of Gastrointestinal Stromal Tumors:
A Multivariate Clinicopathologic Study
HUM PATHOL 29 (1998) 791 – 800

- 67 Samiian L., Weaver M., Velanovich V.
Evaluation of gastrointestinal stromal tumors for recurrence rates and patterns of long-term follow-up.
Am Surg. 2004 Mar, 70(3): 187 - 92
- 68 Sbaschnig, R.J., Cunningham, R.E., Sobin, L.H., O`Leary, T.J.
Methods in Pathology
Proliferating-Cell Nuclear Antigen Immunohistochemistry in the Evaluation of Gastrointestinal Smooth-Muscle Tumors
Modern Pathology 7 (1994) 780 – 783
- 69 Seidal. T., Edvardsson, H.
Expression of c-kit (CD117) and Ki67 provides information about the possible cell of origin and clinical course of gastrointestinal stromal tumours
Histopathology, 34 (1999) 416 – 424
- 70 Sarlomo-Rikala, M., Kovatich, A., J., Barusevicius, A., Miettinen, M.
CD117: a sensitive marker for gastrointestinal stromal tumors that is more specific than CD34
Mod Pathol, 8 (1998) 728 - 34
- 71 Shiu, M.H., Farr, G.H., Papachristou, D.N., Hajdu, S.I.
Myosarcomas of the Stomach:
Natural History, Prognostic Factors and Management
Cancer 49 (1982) 177 – 187
- 72 Tamborini E., Bonadiman L., Greco A., Alberini V., Negri T., Gronchi F., Bertulli R., Colecchia M., Casali P.G., Pienotti M.A., Pilotti S.
A new mutation in the KIT ATP pocket causes acquired resistance to imatinib in a gastrointestinal stromal tumor patient
Gastroenterology. 2004 Jul;127 (1): 294 - 9
- 73 Toquet, C., Le Neel, Y.C., Guillou, L., Renaudin, K., Hamy, A., Heymann, M.F., Simon-Valla, S., Le Borgne, J., Maugard,C., Fiche, M.
Elevated (>or=10%) MIB-1 proliferative index correlates with poor outcome in gastric stromal tumor patients: a study of 35 cases
Dig Dis Sci, 47 (2002) 2247 – 2253
- 74 Ueyama, T., Guo, K.-J., Hashimoto, H., Daimaru, Y., Enjoji, M.,
A Clinicopathologic and Immunohistochemical Study of Gastrointestinal Stromal Tumors
Cancer 69 (1992) 947 – 957
- 75 Wang, L., Vargas, H., French, S.W.
Cellular origin of gastrointestinal stromal tumors: a study of 27 cases
Arch Pathol Lab Med, 124 (2000) 1471 – 1475

- 76 Wang, X., Mori, I., Tang, W., Utsunomiya, H., Nakamura, M., Nakamura, Y., Zhou, G., Kakudo, K.
Gastrointestinal stromal tumors: clinicopathological study of Chinese cases
Pathol Int, 51 (2001) 701 – 706
- 77 Wang, X., Mori, I., Tang, W., Utsunomiya, H., Nakamura, M., Nakamura, Y., Zhou, G., Kennichi, K.
Helpful parameters for malignant potential of gastrointestinal stromal tumors (GIST)
Jpn J Clin Oncol, 32 (2002) 347 – 351
- 78 West R.B., Corless C.L., Chen X., Rubin B.P., Subramanian S., Montgomery K., Zhu S., Ball C.A., Nielson T.O., Patel r., Goldblum J.R., Brown P.O., Heinrich M.C., van de Rijn M.
The novel marker, DOG1, is expressed ubiquitously in gastrointestinal stromal tumors irrespective of KIT or PDGF mutation status.
Am J Pathol. 2004 Jul; 165 (1): 107 - 13
- 79 Yu, C.C:-W., Fletcher, C., Newman, P.L., Goodlad, J.R., Burton, J.C., Levison, D.A.
A Comparison of Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) Immunostaining, Nucleolar Organizer Region (AgNOR) Staining, and Histological Grading in Gastrointestinal Stromal Tumours
Journal of Pathology, 166 (1992) 147 – 152
- 80 Xiu Y.S., Carter D., Darwin P.E., Drachenberg C.B.
Gastrointestinal stromal tumors: update
Arkh Patol. 2004 Mar-Apr; 66 (2): 36 – 408

9. Abbildungsverzeichnis

Tabelle 1: Klinische Symptome bei GIST

Symptom	Anzahl
Obere gastrointestinale Blutung	9
Teerstuhl	5
Bauchschmerzen	6
Blutungsanämie	2
fehlende Angaben	14

Tabelle 2: Makroskopische und mikroskopische Parameter der metastasierten Tumoren

Patient	Alter bei OP (Jahre)	follow up (Monate)	Größe (cm)	Histotyp	Zellreichtum	Polymorphie Atypie	Nekrosen	Mitosen pro 50 HPF	MIB 1 pos. Zellen in 50HPF
A	67	58	9	spindel	hoch	gering	<1%	11	431
B	73	69	10	spindel	hoch	mäßig	<1%	28	1823
C	85	12	8	spindel	hoch	mäßig	>10%	44	2073
D	59		22	gemischt	hoch	mäßig	<1%	12	734
E	20	43	7	epitheloid	hoch	mäßig	>1% - <10%	30	1408

Patient	Zellzahl in 3 HPF	MIB 1 positive in 3 HPF	MIB Index (%)	MIB CAS	P- 53	sm - Aktin	Desmin	S- 100
A	1933	75	3,9	5,021	negativ	positiv	negativ	negativ
B	4376	248	5,7	8,367	positiv	negativ	negativ	negativ
C	3374	201	5,6	6,649	positiv	positiv	negativ	negativ
D	1743	127	7,3	6,205	positiv	positiv	negativ	negativ
E	2305	293	12,7	11,08	positiv	positiv	negativ	negativ

Tabelle 3

Patient	Alter bei OP (Jahre)	follow up (Monate)	OP- Verf.	Prä-OP Symptome	Lokalisation	GRÖÙE (cm)	NEKROSEN	HISTOTYP	ZELLREICH-TUM	POLY-MORPHIE; ATYPIE	MITOSEN pro 50 HPF	MITOSEN pro 10 HPF	MIB 1 POS. ZELLEN IN 50HPF	ZELLZAHL IN 3 HPF	MIB 1 POSITIVE IN 3 HPF	MIB-INDEX (%)	MIB CAS	P- 53	SM-AKTIN	DESMIN	S- 100
1	43	34	Exstirpation	obere GI Bltg.	Fundus kl. Curv.	5	<1%	spindel	hoch	mäßig	2	1	323	4424	35	0,8	2,025	negativ	positiv	negativ	negativ
2	63	49	Exstirpation	Teerstuhl	Corpus kl. Curv.	4	>5%-10%	epitheloid	hoch	hoch	6	1	619	1940	65	3	4,524	negativ	negativ	negativ	negativ
3	19	24	Totalres.	o.A.	o.A.	5	<1%	spindel	gering	gering	0	1	0	369	0	0	0,202	negativ	positiv	positiv	negativ
4	70	9	Exstirpation	obere GI Bltg.	Fundus kl. Curv.	3	<1%	spindel	hoch	mäßig	4	1	297	3324	53	1,5	2,371	negativ	positiv	positiv	negativ
5	73	69	Teilres.	o.A.	Corpus kl. Curv.	10	<1%	spindel	hoch	mäßig	28		1823	4376	248	5,7	8,367	positiv	negativ	negativ	negativ
6	46	48	Totalres.	obere GI Bltg.	Fundus gr.Curv.	9	<1%	gemischt	hoch	mäßig	27	0	2398	5284	344	6,5	9,327	positiv	positiv	positiv	negativ
7	68	51	Exstirpation	o.A.	Fundus gr.Curv.	7,5	<1%	spindel	hoch	mäßig	6	6	193	5124	26	0,5	2,156	positiv	positiv	negativ	negativ
8	54	55	Exstirpation	Schmerzen	Fundus gr.Curv.	8,5	<1%	spindel	mäßig	gering	0	1	171	659	19	2,9	5,239	negativ	positiv	positiv	negativ
9	41	46	Teilres.	obere GI Bltg.	Antrum kl. Curv.	16	<1%	epitheloid	hoch	hoch	7	2	557	2688	65	2,4	5,164	negativ	positiv	negativ	negativ
10	59	18	Exstirpation	o.A.	Corpus kl. Curv.	2	<1%	spindel	gering	gering	3	2	385	788	25	3,2	5,888	negativ	negativ	negativ	negativ
11	65	46	Teilres.	obere GI Bltg.	Antrum kl. Curv.	5	<1%	spindel	mäßig	mäßig	0	2	450	1088	21	1,9	3,213	negativ	positiv	negativ	negativ
12	65	30	Teilres.	o.A.	Antrum gr.Curv.	9	>5%-10%	gemischt	hoch	mäßig	5	1	207	1256	28	2,2	4,57	negativ	positiv	negativ	negativ
13	57	37	Exstirpation	Zufallsbef.	Antrum gr.Curv.	4,5	<1%	spindel	hoch	mäßig	3	0	205	1856	25	1,3	4,029	negativ	positiv	positiv	negativ
14	66	102	Exstirpation	o.A.	Fundus kl. Curv.	2,8	<1%	gemischt	hoch	mäßig	1	0	411	2948	72	2,4	4,276	negativ	positiv	positiv	negativ
15	38	25	Exstirpation	o.A.	Fundus	5,5	<1%	epitheloid	hoch	hoch	5	2	556	3592	64	1,8	5,571	negativ	positiv	positiv	negativ
16	61	62	Exstirpation	Teerstuhl	Corpus kl. Curv.	2,5	<1%	epitheloid	hoch	mäßig	12	2	1126	3442	146	4,2	6,84	positiv	positiv	negativ	negativ
17	20	43	o.A	Anämie	Fundus gr.Curv.	7	1%-5%	epitheloid	hoch	mäßig	30	7	1408	2305	293	12,7	11,08	positiv	positiv	negativ	negativ
18	65	51	Exstirpation	Schmerzen	Antrum gr.Curv.	4	<1%	spindel	mäßig	gering	3	0	344	2132	34	1,6	9,618	negativ	negativ	negativ	negativ
19	52	24	Exstirpation	Zufallsbef.	Fundus gr.Curv.	1,3	<1%	gemischt	hoch	mäßig	6	1	374	4644	36	0,8	2,634	negativ	positiv	negativ	negativ
20	63	47	Totalres.	o.A.	Fundus kl. Curv.	12	<1%	gemischt	hoch	mäßig	7	1	910	2455	135	5,5	3,468	negativ	positiv	negativ	negativ

Patient	Alter bei OP (Jahre)	follow up (Monate)	OP- Verf.	Prä-OP Symptome	Lokalisation	GRÖÙE (cm)	NEKROSEN	HISTOTYP	ZELLREICHTUM	POLYMORPHIE; ATYPIE	MITOSEN pro 50 HPF	MITOSEN pro 10 HPF	MIB 1 POS. ZELLEN IN 50HPF	ZELLZAHL IN 3 HPF	MIB 1 POSITIVE IN 3 HPF	MIB-INDEX (%)	MIB CAS	P- 53	SM-AKTIN	DESMIN	S- 100
21	45	65	Totalres.	obere GI Bltg.	Fundus gr.Curv.	5,5	<1%	gemischt	hoch	mäßig	16	1	861	2440	191	7,8	7,996	positiv	positiv	positiv	negativ
22	58	43	Teilres.	obere GI Bltg.	Antrum gr.Curv.	5,5	<1%	spindel	hoch	mäßig	2	2	339	1969	53	2,7	6,855	positiv	positiv	negativ	negativ
23	22	59	Exstirpation	Anämie	Corpus kl. Curv.	5	<1%	spindel	hoch	mäßig	9	3	940	3386	215	6,3	7,092	negativ	positiv	negativ	negativ
24	59		Teilres.	o.A.	o.A.	22	<1%	gemischt	hoch	mäßig	12	3	734	1743	127	7,3	6,205	positiv	positiv	negativ	negativ
25	26	41	Exstirpation	Schmerzen	Corpus gr.Curv.	3	<1%	spindel	mäßig	gering	2	0	28	1968	36	1,8	5,669	negativ	positiv	positiv	negativ
26	51	26	Exstirpation	o.A.	Corpus kl. Curv.	1,2	<1%	spindel	hoch	mäßig	2	1	442	2518	91	3,6	7,834	negativ	positiv	positiv	positiv
27	69	87	Exstirpation	o.A.	Corpus	2	<1%	spindel	hoch	mäßig	25	5	432	1888	66	3,5	3,925	negativ	positiv	negativ	negativ
28	73	56	Teilres.	Schmerzen	Antrum gr.Curv.	4	<1%	spindel	mäßig	mäßig	6		309	2636	31	1,2	3,775	negativ	positiv	negativ	positiv
29	67	77	Exstirpation	Schmerzen	Antrum	4	1%-5%	epitheloid	hoch	hoch	4	0	540	1594	73	4,6	4,973	negativ	positiv	negativ	negativ
30	56	26	Exstirpation	o.A.	Fundus	11	<1%	spindel	gering	gering	2	0	13	1773	3	0,2	0,99	negativ	positiv	positiv	negativ
31	46	5	Exstirpation	o.A.	o.A.	1	<1%	spindel	mäßig	gering	6	0	54	2081	8	0,4	1	negativ	positiv	negativ	negativ
32	61	40	Exstirpation	Zufallsbef.	Corpus gr.Curv.	5	<1%	spindel	hoch	mäßig	4	1	208	3266	13	0,4	1,025	negativ	positiv	negativ	negativ
33	48	24	Exstirpation	o.A.	o.A.	3	<1%	spindel	mäßig	gering	4	2	172	1734	52	3	4,182	positiv	positiv	negativ	negativ
34	73	36	Teilres.	obere GI Bltg.	Antrum	7	<1%	epitheloid	hoch	hoch	3	1	305	2424	28	1,2	4,558	negativ	negativ	negativ	negativ
35	59	45	Exstirpation	o.A.	o.A.	3,5	<1%	spindel	hoch	mäßig	2	1	232	1854	26	1,4	5,498	negativ	positiv	negativ	negativ
36	71	28	Exstirpation	o.A.	Antrum gr.Curv.	1,5	<1%	spindel	hoch	mäßig	5	1	721	2632	72	2,7	6,66	negativ	positiv	negativ	negativ
37	50	51	Totalres.	o.A.	Fundus	0,7	<1%	spindel	gering	gering	0	0	6	555	2	0,4	0,539	negativ	positiv	positiv	negativ
38	85	12	Exstirpation	Zufallsbef.	Corpus kl. Curv.	8	>10%	spindel	hoch	mäßig	44	22	2073	3374	201	5,6	6,649	positiv	positiv	negativ	negativ
39	54	71	Totalres.	Schmerzen	Fundus gr.Curv.	12	<1%	spindel	mäßig	gering	1	0	103	2210	8	0,4	1,276	negativ	positiv	negativ	negativ
40	78	51	Exstirpation	o.A.	Corpus gr.Curv.	6	<1%	gemischt	mäßig	mäßig	2	0	404	1554	51	3,3	6,378	negativ	positiv	negativ	negativ
41	76	45	Totalres.	Zufallsbef.	Fundus gr.Curv.	10	<1%	spindel	hoch	mäßig	6	0	470	2202	29	1,3	2,772	negativ	positiv	negativ	negativ
42	70	28	Exstirpation	Teerstuhl	o.A.	o.A.	<1%	spindel	hoch	gering	0	3	89	3059	8	0,3	0,398	negativ	positiv	negativ	negativ
43	67	58	Totalres.	Teerstuhl	Fundus gr.Curv.	9	<1%	spindel	hoch	gering	11	4	431	1933	75	3,9	5,021	negativ	positiv	negativ	negativ

Tabelle 4: Histologischer Tumortyp im Gesamtkollektiv, bei metastasierten und metastasenfremen Tumoren

	Gesamtkollektiv	Metastasen	keine Metastasen
spindelzellig	28	3	25
epitheloidzellig	7	1	6
gemischt	8	1	7

Tabelle 5: Zellreichtum im Gesamtkollektiv, bei metastasierten und metastasenfremen Tumoren

	Gesamtkollektiv	Metastasen	keine Metastasen
zellarm	4	0	4
mäßig zellreich	9	0	9
zellreich	30	5	25

Tabelle 6: Ausprägung von Polymorphie und Atypie im Gesamtkollektiv

	Gesamtkollektiv	Metastasen	keine Metastasen
geringe Polymorphie	12	1	11
mäßige Polymorphie	26	4	22
hohe Polymorphie	5	0	5

Tabelle 7: Prozentualer Anteil frischer Nekrosen am Tumorgewebe

	Gesamtkollektiv	Metastasen	keine Metastasen
< 1% Nekroseanteil	38	3	35
1% bis < 10%	4	1	3
mind. 10%	1	1	0

Tabelle 8: Kategorisierte Mitosezahlen im Kollektiv

	Gesamtkollektiv	Metastasen	keine Metastasen
0 - 9 Mitosen	34	0	34
mind. 10 Mitosen	9	5	4

Tabelle 9: Kategorisierter MIB-1 Index im Gesamtkollektiv, bei Metastasierung und Metastasenfreiheit

	Gesamtkollektiv	Metastasen	keine Metastasen
MIB-1 Index <4%	33	1	32
MIB-1 Index mind. 4%	10	4	6

Tabelle 10: P53 Expression und Metastasierung

	Gesamtkollektiv	Metastasen	keine Metastasen
P53 Expression	10	4	6
keine P53 Expression	33	1	32

Tabelle 11: Im Nachbeobachtungszeitraum metastasenfrie Patienten mit einem MIB-1 Index von mind. 4%

Patient	MIB-1 Index	Mitosen	Größe	follow up	OP- Verf.	Histo Typ	<u>p53</u>
F	7,8	16/50HPF	5,5cm	65 Mon.	Totalresektion	Gemischt-zellig	<u>positiv</u>
G	6,5	27/50HPF	9cm	48 Mon.	Totalresektion	Gemischt-zellig	<u>positiv</u>
H	6,3	9/50HPF	5cm	59 Mon.	Lokalexzision	Spindel-zellig	negativ
I	5,5	7/50HPF	12cm	47 Mon.	Totalresektion	Gemischt-zellig	negativ
J	4,6	4/50HPF	4cm	77 Mon.	Lokalexzision	Epitheloid-zellig	negativ
K	4,2	12/50HPF	2,5cm	62 Mon.	Lokalexzision	Epitheloid-zellig	<u>positiv</u>

Tabelle 12: Im Nachbeobachtungszeitraum metastasenfrie Patienten mit p53 positiven Tumoren

	MIB-1 Index	Mitosen	Größe	follow up	OP- Verf.	Histo Typ	<u>p53</u>
L	<u>0,5</u>	6/50HPF	7,5cm	51 Mon.	Lokalexzision	spindelzellig	positiv
M	<u>2,7</u>	2/50HPF	5,5cm	43 Mon.	Teilresektion	spindelzellig	positiv
N	<u>3</u>	4/50HPF	3cm	24 Mon.	Lokalexzision	spindelzellig	positiv

Abbildung 1: Tumorgröße bei Metastasierung

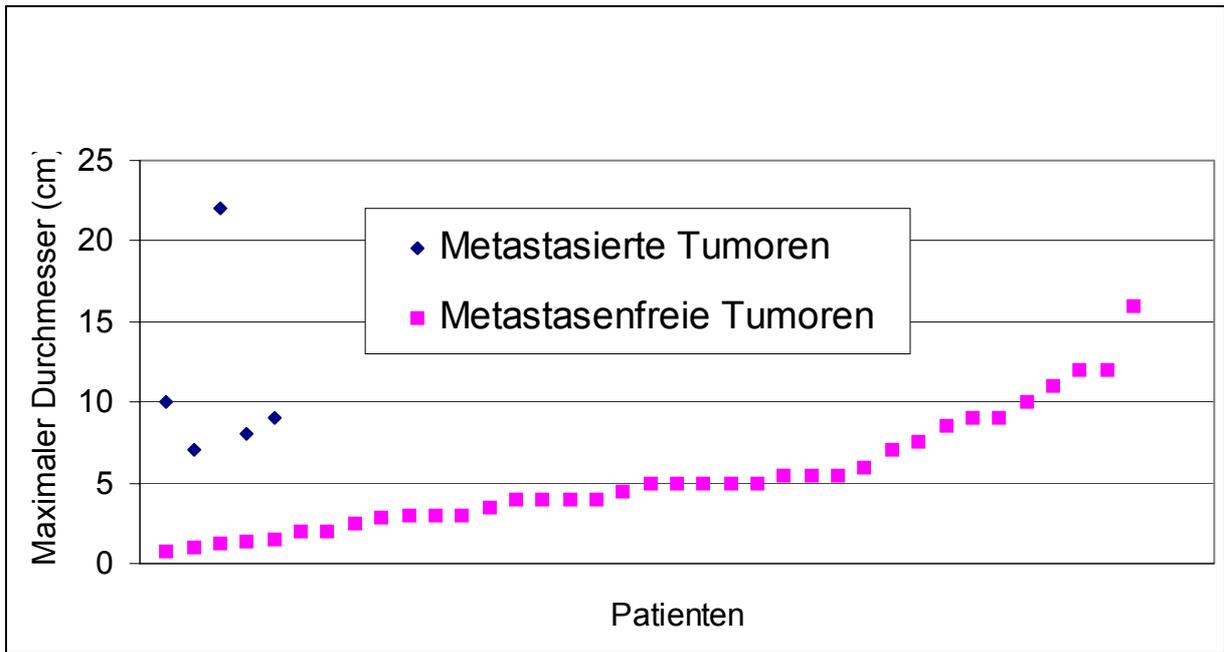


Abbildung 2: Häufigkeit der histologischen Tumortypen im Gesamtkollektiv

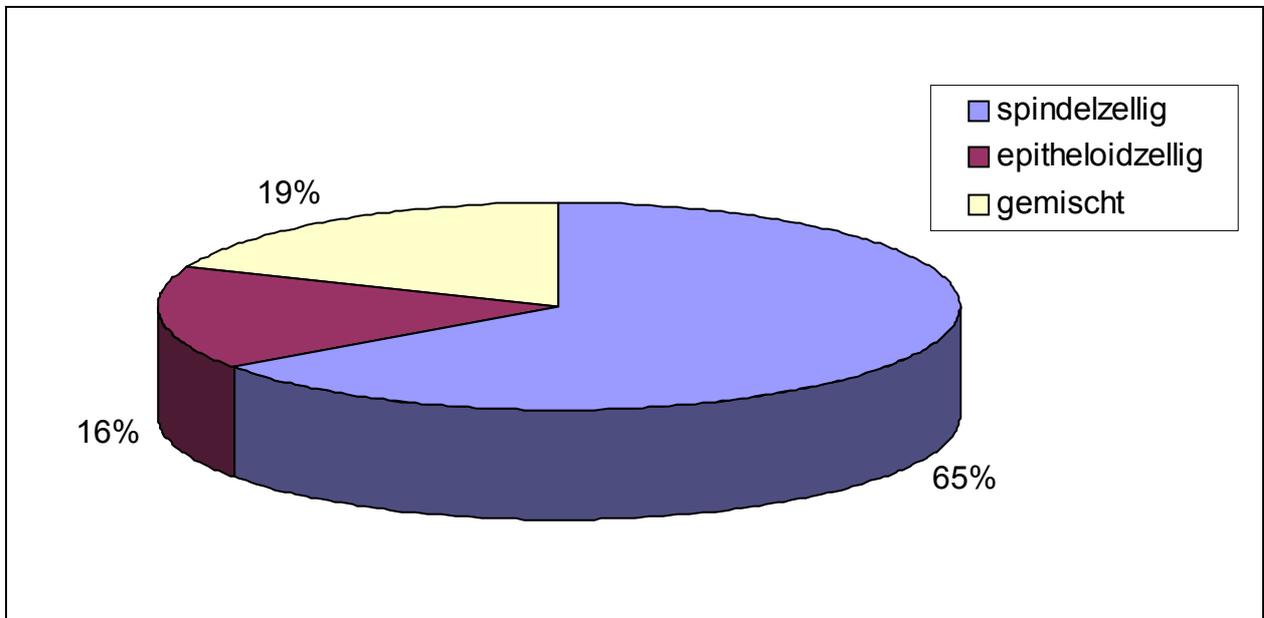


Abbildung 3: Metastasierung innerhalb der Histogruppen

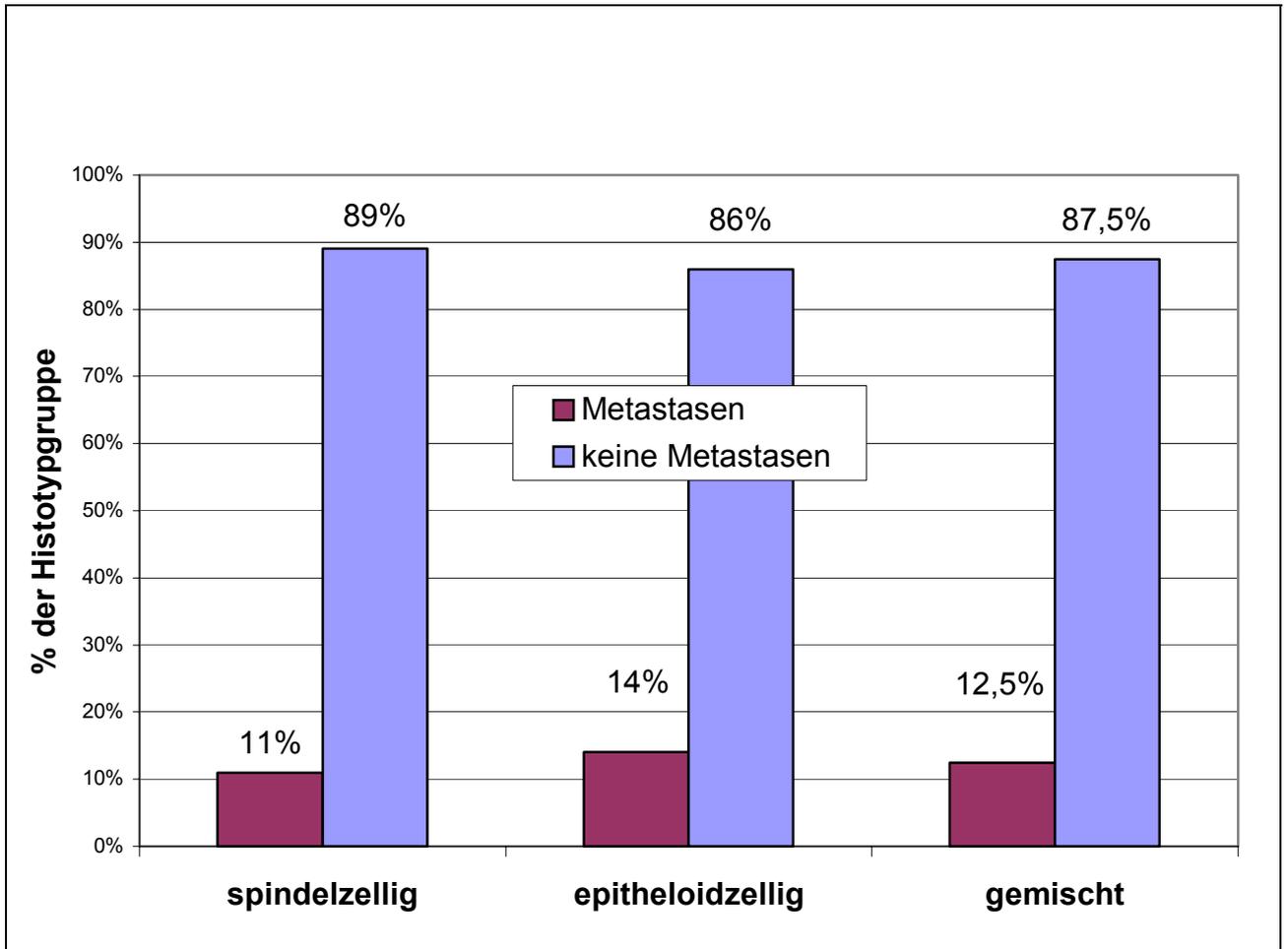


Abbildung 4: Zellreichtum im Gesamtkollektiv

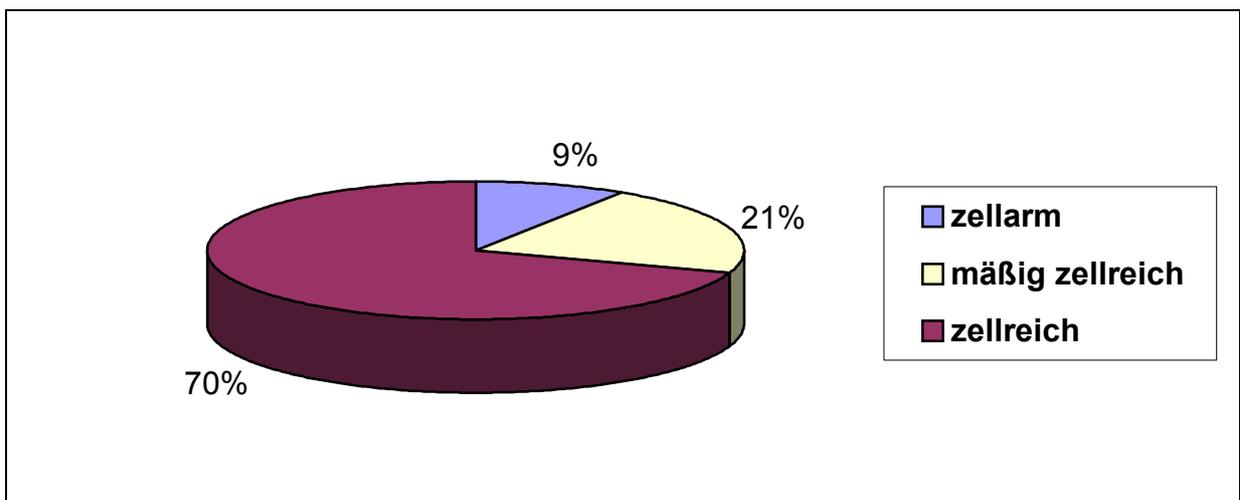


Abbildung 5: Zellreichtum bei Metastasierung

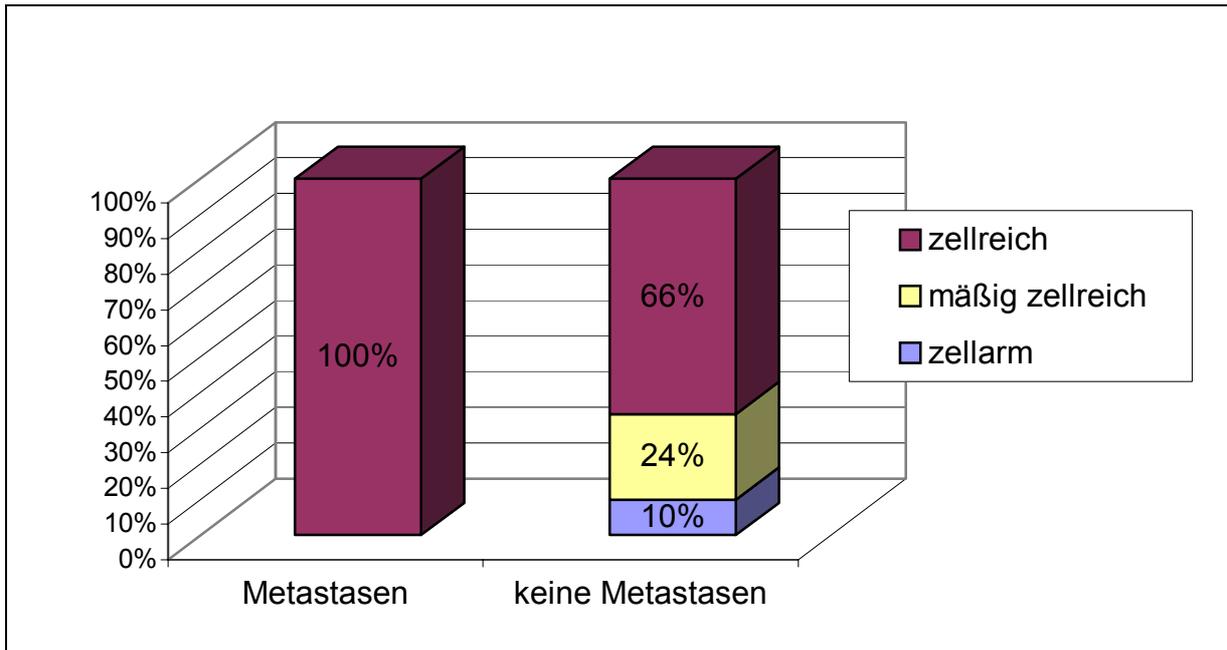


Abbildung 6: Zellreichtum: Zählung und Schätzung

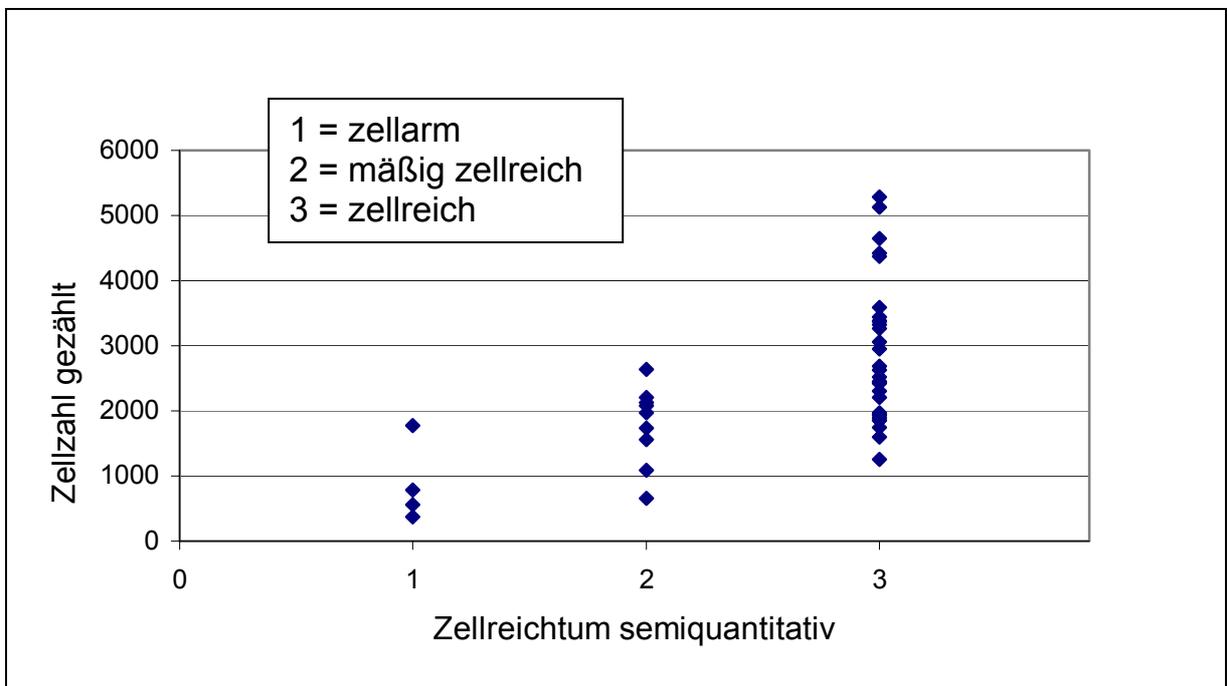


Abbildung 7: Polymorphie und Atypie im Gesamtkollektiv

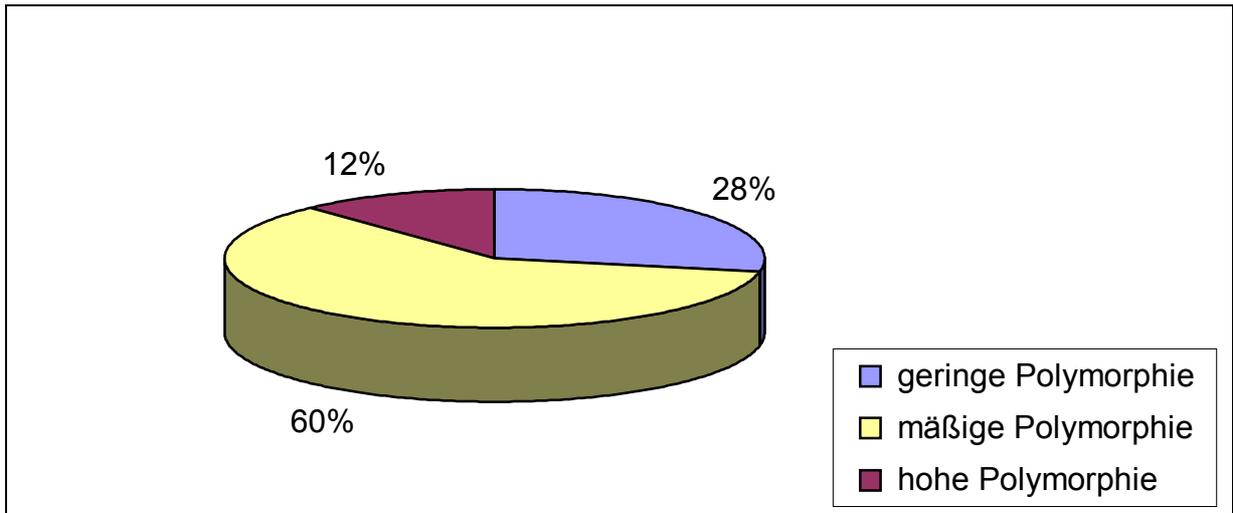


Abbildung 8: Polymorphie und Atypie bei Metastasierung und Metastasenfreiheit

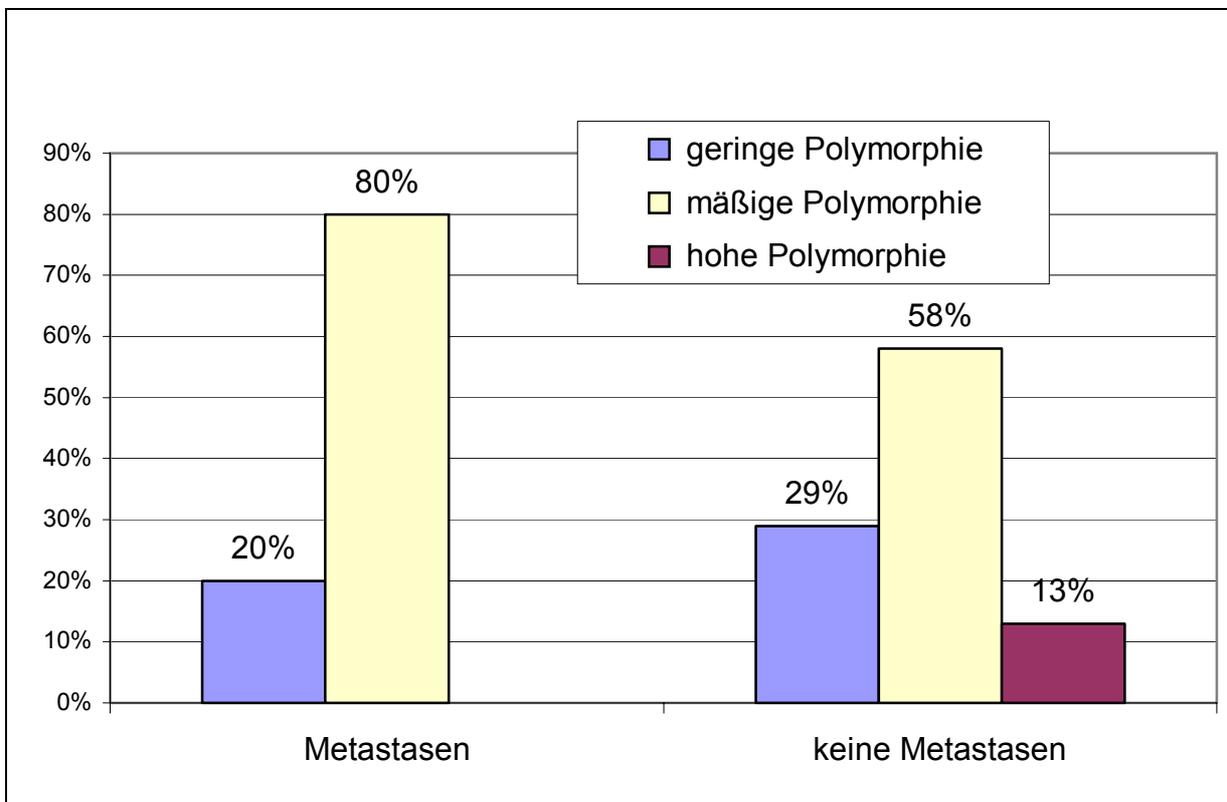


Abbildung 9: Metastasierung und kategorisierte Mitosezahl

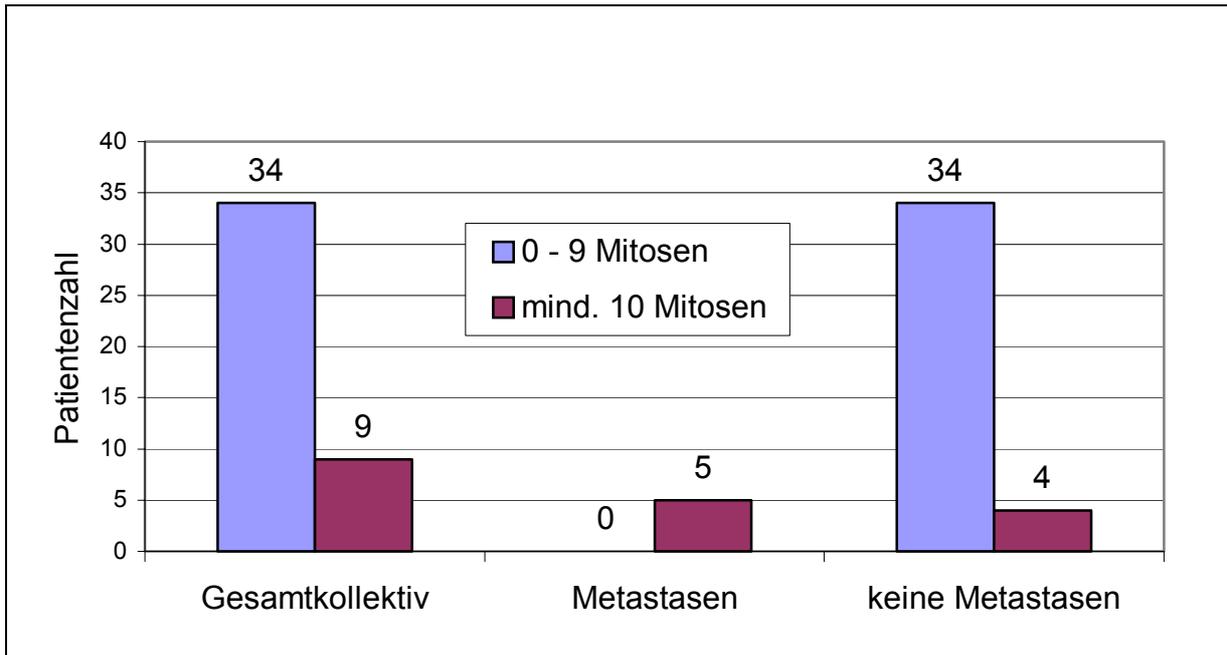


Abbildung. 10: Mitosezahlen bei metastasierten und metastasenfrien Tumoren

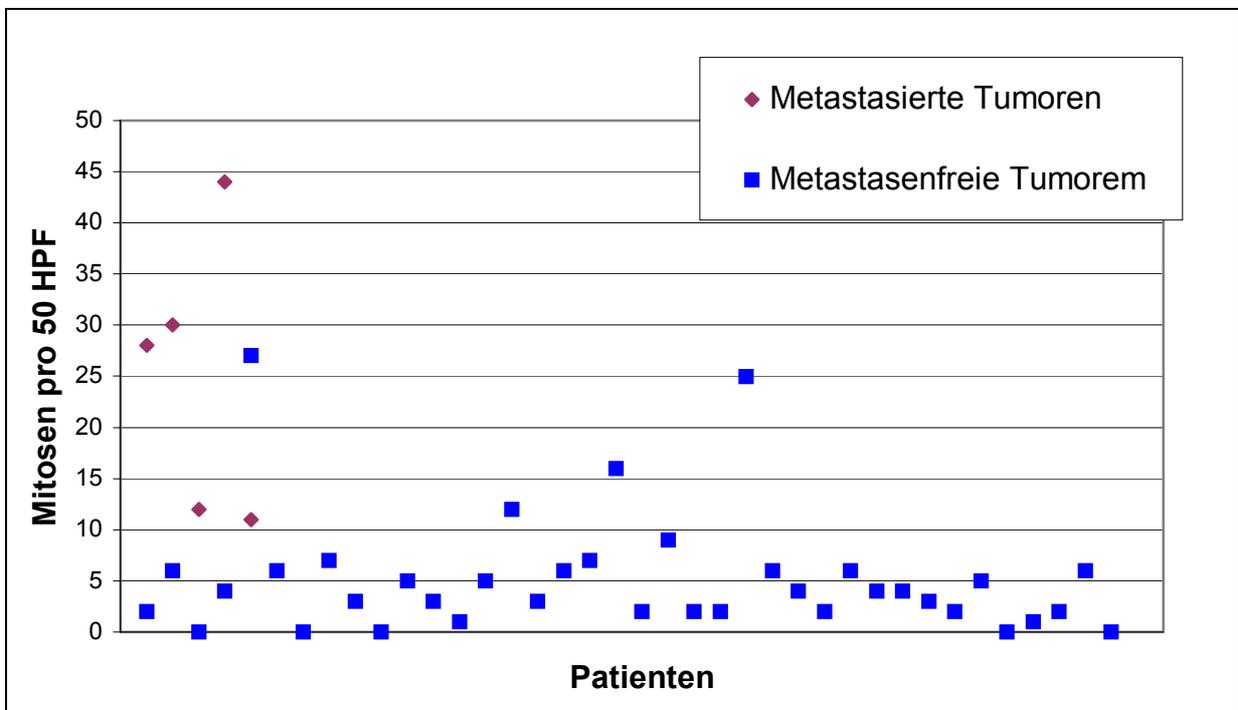


Abbildung 11: Kategorisierter MIB-1 Index im Gesamtkollektiv, bei Metastasierung und Metastasenfreiheit

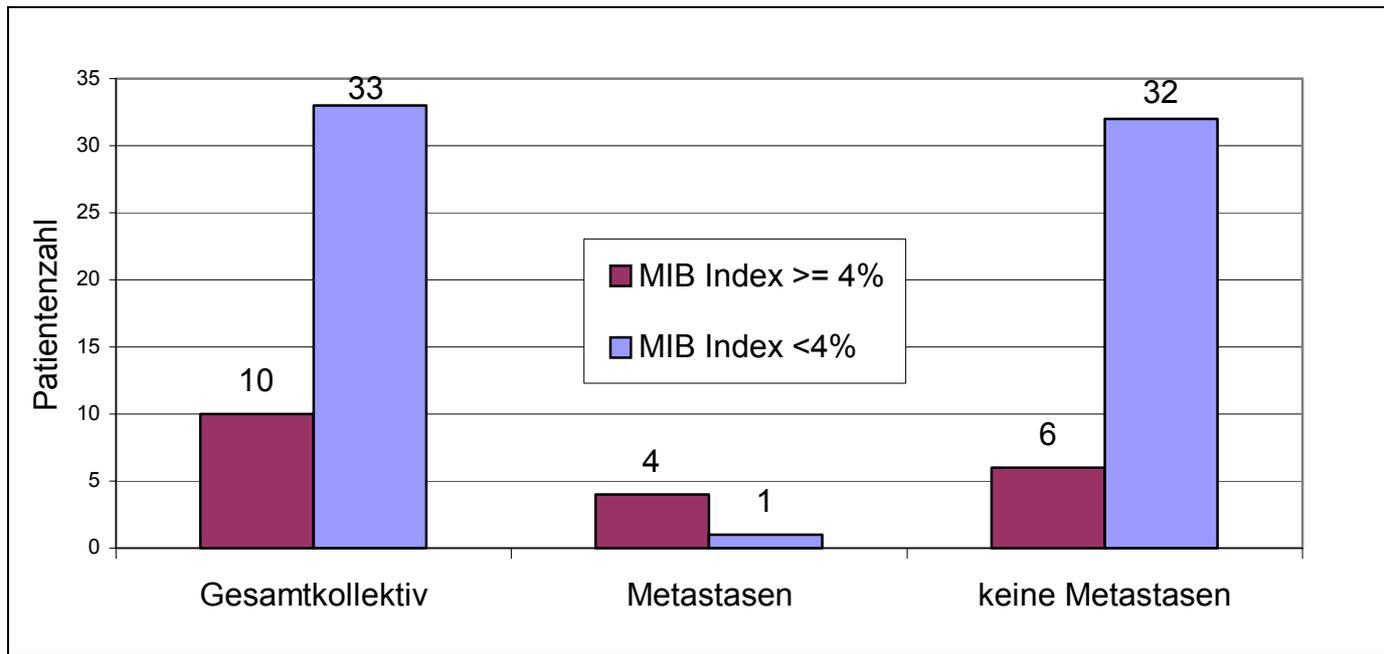


Abbildung 12: MIB-1 Index und MIB-1 CAS im gesamten Kollektiv

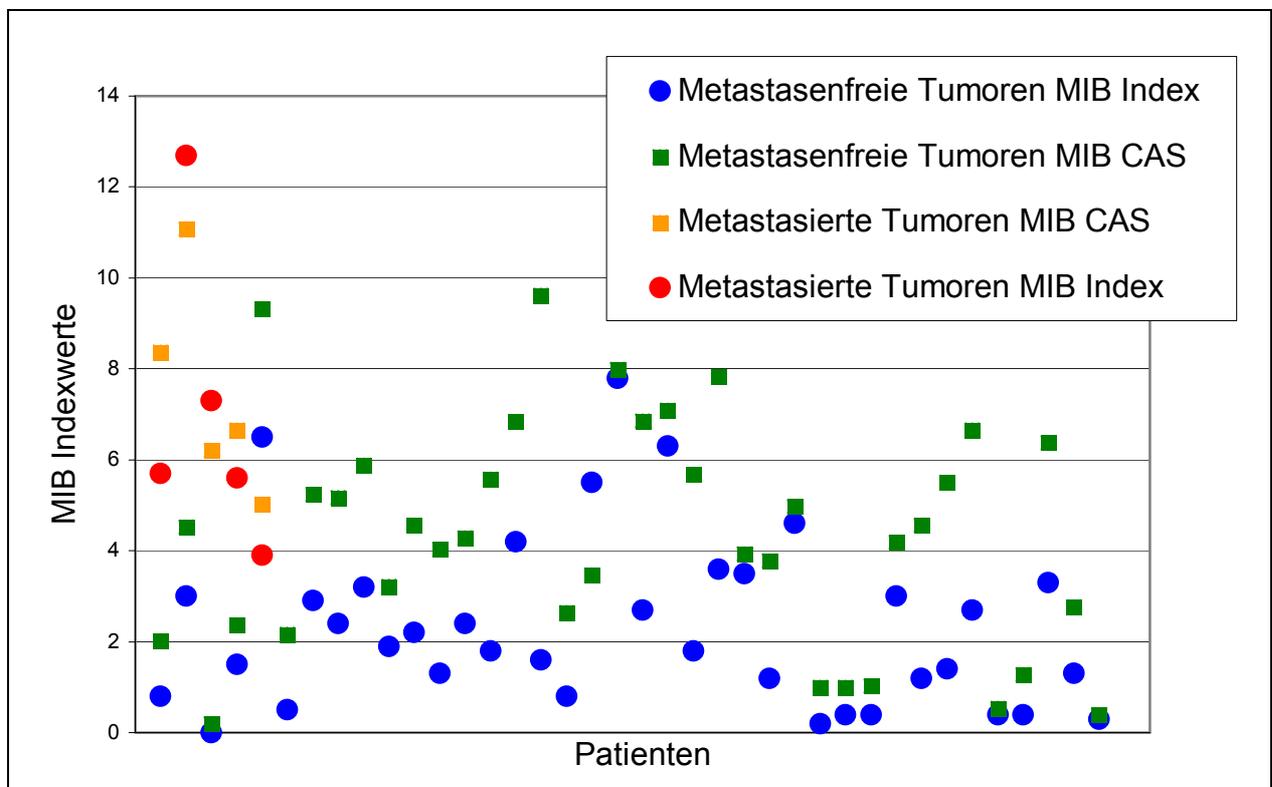


Abbildung 13: p53 Expression

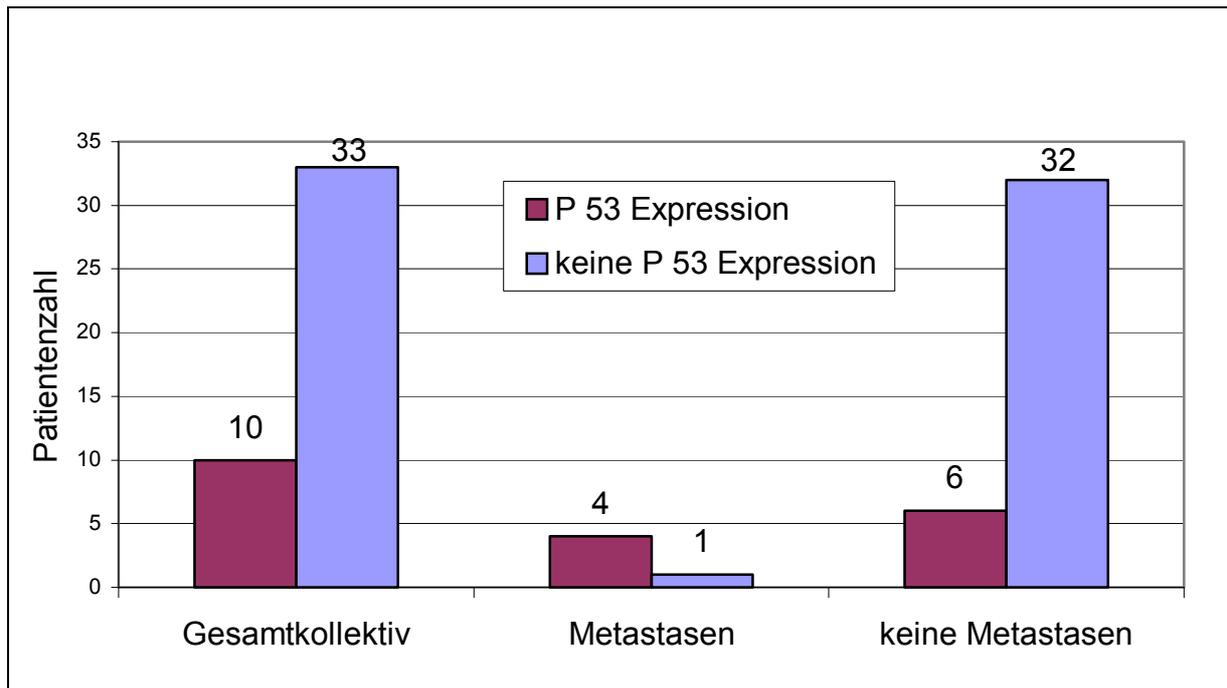
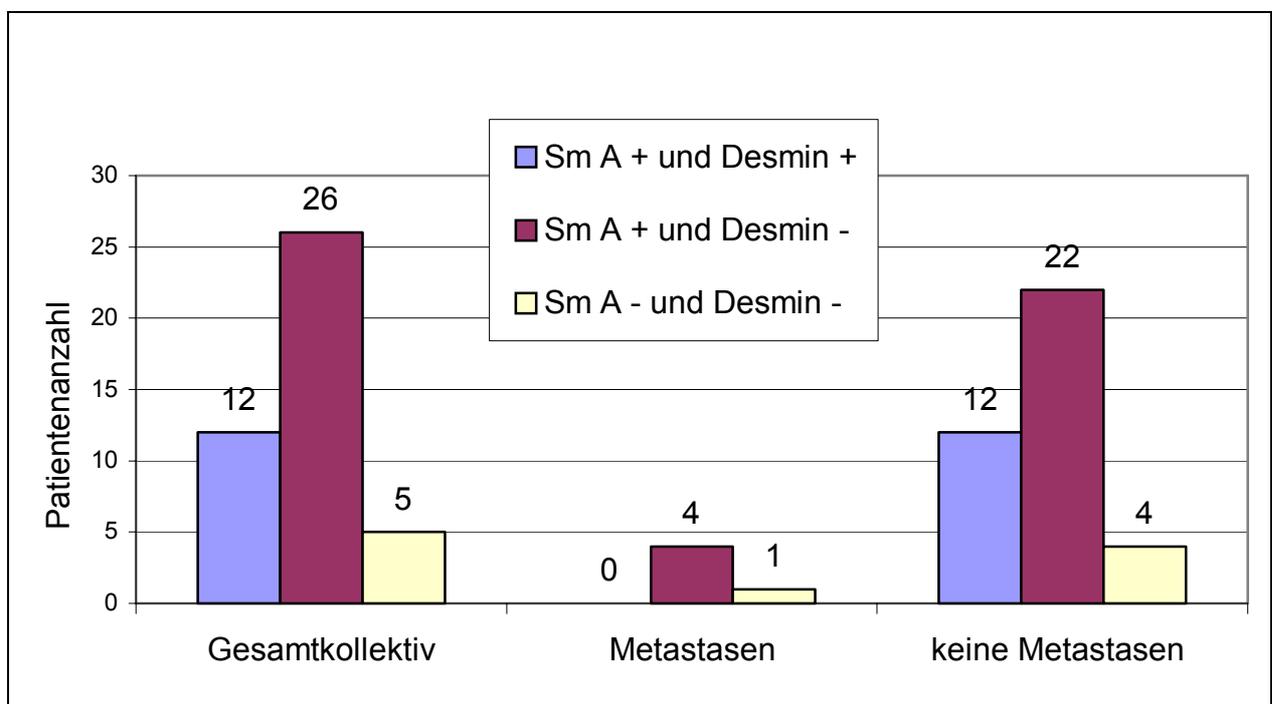


Abbildung 14: Sm-Aktin und Desmin Nachweisbarkeit



10. Danksagung

Folgenden Personen möchte ich an dieser Stelle sehr herzlich danken:

Herrn Prof. Dr. H. Höfler für die Ermöglichung dieser Arbeit.

Frau Dr. med. M. Hillemanns für ihr stetiges, umfassendes Engagement, sowie ihre Zuverlässigkeit und zielstrebige Geduld in allen Phasen der Entstehung. Eine optimale Betreuung!

Herrn PD Dr. m ed. K. Böttcher für die Betreuung bezüglich der chirurgischen Inhalte.

Frau S. Noll und Frau B. Geist für die perfekte Unterstützung bei der Durchführung des praktischen Teils.

Herrn G. Minkus, Frau B. Jütting und Herrn M. Gais – alle 3 Mitarbeiter der GSF in Neuherberg - für Unterstützung und Beratung in der Planungsphase, sowie bei der CAS gestützten Auswertung.

Frau B. Flatau vom Institut für Medizinische Statistik und Epidemiologie der TUM für aufgeschlossene Beratung bei der Erstellung und Bewertung der statistischen Inhalte.

Meinen Eltern und meinem Mann für die großzügige Unterstützung.