

Aus der Frauenklinik des Klinikum Benjamin Franklin
der Freien Universität Berlin
Geschäftsführender Direktor: Prof. Dr. med. H.K. Weitzel

DNA-Image-Zytometrie an epithelialen benignen, borderline und malignen Ovarialtumoren

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Humanmedizin
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von: Anna Ditzenbach
aus: Hochhausen

Referent: Prof. Dr. med. Wolfgang Kühn
Korreferent: Prof. Dr. med. W. Lichtenegger

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereiches Humanmedizin der Freien Universität
Berlin

Promoviert am: 14. Dezember 2001

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	8
1.1 Ovarialtumoren	8
1.1.1 Aufbau des Ovars	8
1.1.2 Epitheliale Tumore	9
1.1.3 Borderlinetumore	10
1.1.4 Ätiologie	11
1.1.5 Epidemiologie	12
1.2 DNA- und zytogenetische Grundlagen	13
1.3 Problem der Diagnostik	14
1.4 Zielstellung	15
2 Material und Methode	16
2.1 Klinisches Material	16
2.2 Methode	16
2.2.1 Feulgen-Färbung	17
2.2.2 DNA-Image-Zytometrie	18
2.3 Karyometrie	24
2.4 Meßvorgang und Qualitätsprüfung	24
2.5 Interpretation der Image-Analyse	26
2.6 Statistische Analyse	30
3 Ergebnisse	31
3.1 Beschreibung des Patientinnenkollektivs	31
3.2 Alter der Patientinnen	32
3.3 DNA-Gehalt von Zystadenomen, Borderlinetumoren und Ovarialkarzinomen	32
3.3.1 Ploidie einzelner Tumorentitäten	34
3.3.2 Ploidie des Granulosazelltumors und einer Ovarialmetastase eines Magenkarzinoms	35
3.4 DNA-Gehalt von Zystadenomen, Borderlinetumoren und Ovarialkarzinomen (getrennt für die histologischen Zelltypen serös, muzinös)	36
3.4.1 DNA-Gehalt von serösen Zystadenomen, Borderlinetumoren und Karzinomen	36
3.4.2 DNA-Gehalt von muzinösen Zystadenomen, Borderlinetumoren und Karzinomen	37
3.5 DNA-Gehalt von serösen und muzinösen Ovarialtumoren (für Zystadenome, Borderlinetumoren und Karzinome)	39

3.5.1 Seröse und muzinöse Zystadenome	39
3.5.2 Seröse und muzinöse Borderlinetumore	40
3.5.3 Seröse und muzinöse Karzinome	41
3.6 DNA-Gehalt von Karzinomen unterschiedlichen Gradings	42
3.6.1 G1, G2 und G3 Karzinome	42
3.6.2 Seröse G1, G2 und G3 Karzinome	44
3.6.3 Muzinöse G1 und G2 Karzinome	45
3.7 DNA-Gehalt von Borderlinetumoren und G1 Karzinomen unterschiedlich histologischer Typen	45
3.7.1 Seröse Borderlinetumoren und serösen G1 Karzinome	45
3.7.2 Muzinöse Borderlinetumoren und muzinöse G1 Karzinome	46
3.8 DNA-Gehalt von Ovarialkarzinomen unterschiedlichen histologischen Typs	47
3.8.1 Endometrioide Karzinome unterschiedlichen Gradings	47
3.8.2 Seröse G2 und endometrioide G2 Karzinome	48
3.8.3 Seröse G3 und endometrioide G3 Karzinome	49
3.8.4 Klarzellkarzinome unterschiedlichen Gradings	49
3.8.5 Seröse G2 und Klarzellkarzinome G2	50
3.8.6 Seröse G3 und Klarzellkarzinome G3	51
3.8.7 Nicht klassifizierbare Karzinome	51
3.8.8 Seröse G3 und nicht klassifizierbare Karzinome	52
3.9 Diskriminanzanalyse zur Unterscheidung der Tumorentitäten anhand der >5c-<oktoploiden und >9c-<16c Zellen	52
3.9.1 Zystadenome und Borderlinetumore	52
3.9.2 Seröse Zystadenome und seröse Borderlinetumore	53
3.9.3 Zystadenome und Karzinome	55
3.9.4 Borderlinetumore und Karzinome	56
3.9.5 Seröse Borderlinetumore und seröse Karzinome	57
3.9.6 Borderlinetumore und G1 Karzinome	58
3.9.7 Seröse Borderlinetumore und seröse G1 Karzinome	59
3.9.8 Borderlinetumore und G2 und G3 Karzinome	60
3.9.9 Seröse Borderlinetumore und seröse G2 und G3 Karzinome	62
4 Diskussion	65
4.1 Vergleich von DNA-Image-Zytometrie und Flow-Zytometrie	65
4.2 Diskussion von Material und Methode	66
4.3 Diskussion der Ergebnisse	68

5 Zusammenfassung	79
6 Literaturverzeichnis	81
7 Anhang	92
A Histologische Klassifikation der Ovarialtumoren	92
B FIGO (Federation Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique)	96
C Biologie der epithelialen Tumoren	97
D Keimstrang-Stromatumoren	105
E Metastatische Tumoren	105
8 Danksagung	107
9 Lebenslauf	108

5 Zusammenfassung

Epitheliale Ovarialtumoren werden in benigne, borderline und maligne Tumore unterteilt. Borderlinetumore sind proliferierende, metastasierungsfähige Intermediärformen der epithelialen Geschwülste des Ovars. Biologisch und histologisch stehen sie zwischen den Adenomen und Karzinomen. Ihre diagnostische Abgrenzung ist oft Gegenstand kontroverser Diskussionen.

Die DNA-Zytometrie ermöglicht, den DNA-Gehalt einzelner Tumorzellen zu ermitteln. In dieser Studie wurden Ovarialtumore DNA-zytometrisch vermessen und untersucht, ob sich Borderlinetumore von anderen Tumorentitäten unterscheiden.

Zur Überprüfung der Gruppenunterschiede auf Signifikanz wurde der Kruskal-Wallis-Test und der Mann-Whitney-U-Test verwendet. Für ausgewählte Vergleiche der Ovarialtumore unterschiedlicher Dignität und Malignitätsgrade wurden Diskriminanzanalysen gerechnet.

Es wurden 221 Ovarialtumoren untersucht. Es handelt sich um 44 Zystadenome, 53 Borderlinetumore und 124 Karzinome.

In der DNA-Zytometrie finden sich diploide, tetraploide, $>5c$ - $<oktoploide$, oktoploide, $>9c$ - $<16c$ und $>16c$ Zellen.

In der bildanalytischen DNA-Diagnostik von benignen, borderline und invasiven malignen epithelialen Ovarialtumoren erweisen sich die Ploidieparameter „Diploidie und Tetraploidie“ und die Grade der Aneuploidie unter allen überprüften Parametern als die wesentlichsten, um einen Ovarialtumor zytometrisch charakterisieren zu können.

Mittels der Ploidieparameter konnten Borderlinetumore einerseits von Zystadenomen, andererseits von Karzinomen signifikant unterschieden werden.

Zystadenome zeigten hierbei immer diploide Zellen. Niedrig aneuploide Zellen fanden sich häufig in kleiner Anzahl. Hoch aneuploide Zellen kamen in serösen Zystadenomen nicht vor.

Borderlinetumore zeigten in der statischen DNA-Zytometrie in 94% niedrig aneuploide Zellen und in 17% hoch aneuploide Zellen.

Invasive Ovarialkarzinome sind immer aneuploid, in 84% sind es hoch aneuploide Tumoren.

Die DNA-Bildanalyse ermöglicht, Karzinome verschiedener Gradingstufen (G1-G3) voneinander zu unterscheiden. G2 Karzinome lassen sich DNA-zytometrisch allerdings nicht von G3 Karzinomen differenzieren. Die statistische Auswertung zeigte, dass sich G1 Karzinome DNA-zytometrisch von Borderlinetumoren unterscheiden ($p < 0,05$). Die Diskriminanzanalyse machte deutlich, dass die Vorhersagekraft der korrekten Diagnosen am höchsten ist in der Gruppe Zystadenome / Karzinome. Die DNA-Zytometrie ist eine objektive Methode, um Borderlinetumore von Zystadenomen und Karzinomen zu unterscheiden. Problematisch ist die Festlegung eines cut off points aneuploider Zellen für die einzelnen Tumorentitäten. Ungelöst sind sicher methodische Probleme der Schnittdicke an histologischen Schnitten. Nach wie vor kann auf eine qualifizierte Histologie in der Diagnostik epithelialer Ovarialtumoren nicht verzichtet werden.

8 Danksagung

Meinen Eltern.

Mein Dank gilt allen, die mir bei der Vollendung dieses Werkes geholfen haben.

Mein besonderer Dank geht an Herrn Professor Kühn für das Thema der Arbeit, die vielen wissenschaftlichen Anregungen, sein immerzu offenes Ohr und die richtungsweisenden Impulse, die ich von ihm erhielt.

Herrn Dr. Ruhnke für die freundliche Unterstützung und Beratung in bildanalytischen und computertechnischen Fragen.

Herrn PD Dr. Dr. Hopfenmüller, Frau Bisson für die freundliche Beratung bei den statistischen Berechnungen und Fragestellungen.

Frau Kühnert, Frau Buck und Frau Mehmering für die vielfältige Hilfe und freundliche Unterstützung im Labor.

9 Lebenslauf

Name	Anna Ditzenbach
Geburtsdatum und -ort	12.01.1959, Hochhausen, Main-Tauber-Kreis
Eltern	Josef Ditzenbach Maria Ditzenbach geb. Both
Schulbildung	
1965-1968	Grundschule Hochhausen
1968-1973	Hauptschule Wenkheim
1986-1988	Allgemeine Hochschulreife VHS-Kolleg in Schöneberg/Berlin
Berufsausbildung	
1973-1975	Ausbildung als Hauswirtschaftsgehilfin in Bad Mergentheim
1976-1979	Ausbildung als Krankenschwester in Mannheim Theresienkrankenhaus
Tätigkeit als Krankenschwester	
1979-1984	in Mannheim: Theresienkrankenhaus, Zentralinstitut für Seelische Gesundheit, Heinrich-Lanz-Krankenhaus
1984-1996	in Berlin: Klinikum Charlottenburg, Univeristätsklinikum Rudolf Virchow
Studium	
1989-1997	Studium der Humanmedizin an der Freien Universität Berlin
Mai 1997	Ärztliche Prüfung
Ärztin im Praktikum	
1997-1999	Gynäkologie und Geburtshilfe, Kreiskrankenhaus Aurich, Dr. Wunsch
Ärztin	
seit 1999	Schering AG Berlin, Abteilung Klinische Pharmakologie
seit Juli 2001	Innere Medizin, Diakoniekrankenhaus Seehausen, Dr. Gasiorek