

# 1 Einleitung

Benigne, borderline und maligne epitheliale Ovarialtumore bedürfen unterschiedlicher Behandlungsstrategien, sind jedoch histologisch teilweise schwer zu diagnostizieren. Während die Identifikation eindeutig benigner und maligner Tumore kaum Probleme bereitet, gestaltet sich die histologische Abgrenzung der Borderlinetumore, sowohl von Zystadenomen, als auch von Karzinomen oft schwierig.

Im Hinblick auf die Gefahr eines „overtreatments“ oder „undertreatments“ der Borderlinetumore erscheint es daher wichtig, zusätzlich zur Histologie weitere Untersuchungen durchzuführen. Gegenstand der hier vorliegenden Arbeit ist die DNA-Image-Zytometrie epithelialer Ovarialtumore, die sich gegenüber der klassischen histologischen phänotypischen Tumorcharakterisierung durch ein genotypisches Malignitätsgrading auszeichnet.

## 1.1 Ovarialtumoren

### *1.1.1 Aufbau des Ovars und Klassifikation der Ovarialtumore*

Durch den histogenetisch vielfältig differenzierten Organaufbau zeigt das Ovar ein sehr breites Spektrum morphologisch und biologisch unterschiedlicher Tumortypen. Das Ovar wird von drei Gewebekomponenten unterschiedlicher Histogenese gebildet. Diese sind:

- Deck- oder Müller-Oberflächenepithel (modifiziertes Mesothel)
- Gonadal differenziertes Stroma (Granulosa- und Theka-Zellen)
- Keimzellen

Entsprechend der Histogenese werden die Tumore nach der WHO-Klassifikation von Serov und Scully [114] in drei Gruppen eingeteilt:

- Epitheliale Tumore
- Keimstrang-Stroma-Tumore
- Keimzelltumore.

Die Histologische WHO-Klassifikation der Ovarialtumoren von 1999 [115] findet sich in Anhang A.

Das klinische und pathologische Staging wird einheitlich nach dem Vorschlag der FIGO (Federation Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique) durchgeführt (ausführliche Beschreibung siehe Anhang B).

### *1.1.2 Epitheliale Tumore*

Epitheliale Tumore des Ovars gehen vom Oberflächenepithel aus, welches sich aus dem Müllerschen Epithel entwickelt und modifiziertem Mesothel entspricht. Morphologisch entspricht dieses Epithel dem Mesothel des Peritoneums.

Die Einteilung epithelialer Ovarialtumore kann nach dem Zelltyp in seröse, muzinöse, endometrioid, hellzellige, Übergangsepithel oder gemischte Zelltypen (nicht klassifizierbare Tumoren) erfolgen. Ferner wird nach der hauptsächlichen Wachstumsrichtung in oberflächlich- papillär oder zystisch, oder nach dem Anteil des fibrösen Stromas differenziert.

Etwa 50-60% der epithelialen Tumore sind benigne, 10-20% borderline, sowie 30-40% maligne Tumore [106].

*Biologie der epithelialen Tumoren* (ausführliche Beschreibung siehe Anhang C)

*Stromatumoren* (ausführliche Beschreibung siehe Anhang D)

*Magenkarzinommetastase* (ausführliche Beschreibung siehe Anhang E)

### 1.1.3 Borderlinetumore

Bereits in der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts wurden Kliniker und Pathologen auf epitheliale Ovarialtumore aufmerksam, welche gehäuft bei jüngeren Frauen in frühen Stadien auftraten, eine hohe proliferative Aktivität aufwiesen, kein invasives Wachstum erkennen ließen und bei einer geringen Rezidivrate nur selten maligne Verläufe zeigten [104][123].

Dies führte zur Herausstellung einer Entität, die aufgrund ihrer intermediären Stellung zwischen den Adenomen und Karzinomen als Borderlinetumore (BOT) bezeichnet wurden. Aufgrund der im Vergleich zu den Karzinomen geringeren Malignität werden sie auch als Tumore niedrig maligner Potenz (low malignant potential, LMP) bezeichnet [106].

Nach der WHO Definition von Serov und Scully [114], sind es Tumore, die einige, aber nicht alle morphologischen Kriterien der Malignität aufweisen. Charakteristisch für Borderlinetumore ist das Fehlen von Stromainfiltration und destruktivem Wachstum.

Die Zuordnung eines Tumors zur Gruppe der Borderlinetumore stützt sich ausschließlich auf histo- und zytomorphologische Kriterien [33][117]. Sie zeigen eine komplexe papilläre Architektur mit wenigstens 2 der folgenden Merkmale:

#### 1. Epitheliale Sprossung:

Epitheliale Zellproliferation gewöhnlich in Form von kleinen Papillen ohne Verbindung zum inneren Gewebe, die Zellen tendieren zum büschelartigen Wachstum und/oder sind zum Zystenlumen hin losgelöst.

#### 2. Mehrlagigkeit des Epithels, Atypien:

Schichtung von epithelialen Zellen, auf den Papillen oder in drüsig differenzierten Zellkomplexen, oder eine Produktion von soliden Zelltrauben, wohingegen beim korrespondierenden gutartigen Tumor eine einfache Schicht des Epithels die Regel ist.

### 3. Mitotische Aktivität:

Eine vermehrte Zunahme der mitotischen Aktivität gegenüber den meisten benignen Tumoren oder in dem Falle der muzinösen Tumore eine Änderung in der Verteilung der Mitosen.

### 4. Nukleäre Atypien:

Eine Zunahme der Kern /Zytoplasma-Relation, (Kerngröße). Änderung im Chromatinmuster, Abnormität von Größe, Gestalt und Zahl der Nukleoli (Chromatindichte) [79][109].

Borderlinetumore zeichnen sich nicht nur durch eine besondere Morphologie aus, sondern auch durch eine ihnen eigene Biologie und Klinik [37][116][128]. Diese Tumoren mit niedrig maligner Potenz können mit Aszites, tumorzellhaltigem Peritonealsekret, Pleuraerguß und Implantaten am Peritoneum, an Uterus, Tuben, Haut und Lymphknoten einhergehen [6][63][77]. Die Implantate sind in der überwiegenden Zahl der Fälle histologisch gleichartig aufgebaut wie die Primärtumore. Nur vereinzelt lässt sich im Implantat ein echt invasives Tumorwachstum im Sinne eines invasiven Adenokarzinoms nachweisen, was die Zugehörigkeit des Primärtumors zu der Borderlinegruppe jedoch nicht beeinträchtigt. Den Borderlinetumoren werden gleichfalls die serösen Borderlinetumore mit einer mikroinvasiven Stromainvasion und die serösen Borderlinetumore vom Typ der „mikropapillären oder cribriformen serösen Karzinome“ zugerechnet [13][29][42][79][113].

#### 1.1.4 Ätiologie

Die Ätiologie ist im Einzelnen noch nicht vollständig aufgeklärt.

Ein erhöhtes Risiko, an einem Ovarialkarzinom zu erkranken, haben Nulliparae, Frauen, die eine längere Geschlechtsreifezeit insbesondere eine späte Menopause aufweisen [34][122]. Man nimmt an, dass jede Ovulation mit der nachfolgend notwendigen Proliferation des Oberflächenepithels des Ovars Bedeutung für das spätere Auftreten eines Ovarialkarzinoms haben kann. Außerdem

gibt es familiäre Belastungen mit einer Häufung von Ovarial- und Mammakarzinomen [86]. Als weitere Ursache wird der Gebrauch von kosmetischem Talkum im Intimbereich angegeben. Häufiges Gebären, Stillen, die Einnahme oraler Kontrazeptiva sowie Tubenligatur/Hysterektomie senken das Risiko der Frauen, an Ovarialkarzinomen zu erkranken [34][101][106].

### *1.1.5 Epidemiologie*

Die epithelialen Geschwülste des Ovars bilden mit 65 bis 75% die größte Gruppe der Ovarialtumore und stellen damit annähernd 90% aller malignen Tumore des Eierstockes in der westlichen Welt dar [34][106][113][117]. Die malignen Tumore der Ovarien stehen heute an 5. Stelle der Häufigkeit maligner Tumore der Frau. Die Inzidenz liegt bei 15 / 100 000 Frauen im Jahr.

Von den Malignomen des weiblichen Genitaltraktes hat das Ovarialkarzinom die ungünstigste Prognose. Die 5-Jahres-Überlebensraten betragen im Stadium I abhängig vom Tumor-Grading 80-95%. Im Stadium II und III A etwa 55% und im Stadium III B nur 35% [14][50][106].

Borderlinetumore werden mit einer Inzidenz von 1,8-3,7 / 100 000 Frauen pro Jahr angegeben [5][125][126]. Sie liegt damit deutlich niedriger als die des Ovarialkarzinoms. Während letzteres mit zunehmendem Lebensalter häufiger wird, erreicht der Borderlinetumor mit 35 Jahren seine höchste altersbezogene Inzidenz, um bis ins hohe Alter auf diesem Niveau zu verharren. Damit kommen gleichviel Frauen mit Borderlinetumoren in jüngeren Lebensjahren zur Operation wie mit Ovarialkarzinomen. Es stellt sich hiermit bei jeder Frau mit Borderlinetumor und prospektivem Kinderwunsch die Frage nach einer fertilitätserhaltenden Operation. LMP-Tumore haben, sofern Tumore mit invasiven Implantaten ausgeschlossen werden, eine gute Prognose. Nicht unwidersprochen stehen dazu Beobachtungen von Colgan und Aure et al. [6][32], wonach etwa 15-25% der Patientinnen ein Tumorrezidiv entwickeln und an dieser Erkrankung sterben.

## 1.2 DNA- und zytogenetische Grundlagen

Die Chromosomen sind Träger der genetischen Erbinformation (DNA). Die menschlichen Zellen enthalten 46 Chromosomen, von denen eine Hälfte von der Mutter, die andere Hälfte vom Vater stammt. Dies entspricht einem diploiden (doppelten) Chromosomensatz. Die Keimzellen bilden eine Ausnahme, sie enthalten nur jeweils 23 Chromosomen. Der Zellzyklus, den die Zellen zur Zellvermehrung durchlaufen, ist in verschiedene Phasen unterteilt.

In der G<sub>0</sub>-Phase sind die Zellen proliferativ inaktiv, während der G<sub>1</sub>-Phase findet eine kontinuierliche Erhöhung der RNA- und Proteinsynthese statt.

An die G<sub>1</sub>-Phase schließt sich die S-Phase an, in der es durch semikonservative Replikation (Synthese) zur Verdopplung der Zellkern-DNA kommt. In der G<sub>2</sub>-Phase, die zwischen dem Ende der DNA-Verdopplung und der Mitose liegt, enthalten die Zellen die doppelte Menge an DNA (tetraploider Chromosomensatz). Während der M-Phase findet die Kern- und Zellteilung statt. Die Chromosomen werden auf die beiden Tochterzellen verteilt, so dass jede Zelle wieder einen diploiden Chromosomensatz enthält und wiederum in den Zellzyklus eintreten kann [2].

Entsteht in der M-Phase keine Zellteilung, weil der Spindelapparat nicht ausgebildet wird, so kann es zur Endomitose kommen. Es kann dann durch eine erneute DNA-Synthese zu einer ganzzahligen Vervielfältigung des Chromosomensatzes kommen, dies nennt man euploide Polyploidisierung. Eine Veränderung der Zahl eines Chromosoms wird als Aneuploidie bezeichnet. Als aneuploid gelten Zellkerne, wenn sie außerhalb der S-Phase nicht einen genau haploiden Chromosomensatz oder ein ganzzahlig Vielfaches des normalen haploiden Chromosomensatzes enthalten [2][111][133].

Die Aneuploidie beruht, wenn es sich um eine ganze Zelllinie handelt, auf Chromosomenmutationen und ist ein Malignitätskriterium [107]. Nach Heim und Mitelman [64] gilt chromosomale Aneuploidie in der Zyogenetik als harter Marker für neoplastische Zellen.

### 1.3 Problem der Diagnostik

Die histologische Diagnostik von Borderlinetumoren ist schwierig. Unterschiedliche Behandlungsstrategien von Borderlinetumoren und invasiven Ovarialkarzinomen unterstreichen die Bedeutung einer exakten histologischen Diagnose.

Die Vielfalt der Histologie der Borderlinetumoren des Ovars ist von einzelnen morphologischen Kriterien wie z.B. Atypiegrad, extraovarielle Manifestation (Implantate), Ploidie und DNA-Gehalt charakterisiert. Da die Übereinstimmungsrate bei der histologischen Beurteilung derartiger Tumore gering ist und insbesondere bei den muzinösen Typen eine Abgrenzung von Borderlinemalignität zu invasivem Wachstum extrem schwierig sein kann [32], stellt sich die Frage, ob mittels Image-Zytometrie-Untersuchungen die morphologische Diagnose weiter erhärtet werden kann.

Die klinische Bedeutung liegt darin, dass sich Borderlinetumore im biologischen Verhalten, in der Prognose bezüglich des operativen Managements und in der postoperativen Therapie sowohl von den benignen Adenomen als auch von den Karzinomen unterscheiden.

Insbesondere Ende der 80er Jahre wurden zahlreiche Untersuchungen mittels Flow-Zytometrie durchgeführt. Ploidiestatus, DNA-Index und S-Phasenfraktion dienten hierbei der Charakterisierung von Ovarialtumoren unterschiedlicher Dignität [39][48][49][76][98]. Gewisse Nachteile dieser Methode führten dazu, dass in letzter Zeit vermehrt die statische DNA-Zytometrie mittels Bildanalyse zur Anwendung kam, da sie sich problemlos an Zellausstrichen, Tupfpräparaten und histologischen Schnitten von in Paraffin eingebettetem Material durchführen lässt.

Die Image-Zytometrie (ICM) erlaubt durch die Messung des Gehaltes der DNA im Gegensatz zum klassischen histomorphologischen Tumorgrading, bei dem der Tumor rein phänotypisch eingeordnet wird, ein genotypisches Malignitätsgrading. Ein weiterer Vorteil der Image-Zytometrie ist die objektivere Beurteilung des Tumors, da die gemessenen Daten aufgrund der Messmethode weniger vom beurteilenden Untersucher abhängig sind.

## 1.4 Zielstellung

Da sich Borderlinetumore nicht nur im biologischen Verhalten und in der Prognose, sondern auch in der Therapie von benignen Befunden als auch von Karzinomen unterscheiden, besteht ein Bedarf nach zusätzlichen Untersuchungen, welche die Diagnose erhärten. Ziel ist es, mittels der DNA-Zytometrie einen Beitrag zur Diagnostik und einer sich daraus ableitenden Therapie schwierig zu klassifizierender epithelialer Ovarialtumore insbesondere Borderlinetumoren, zu leisten.

Nach Unterteilung in die histologischen Untergruppen (serös / muzinös / endometrioid / Klarzell- und nicht klassifizierbare Tumore) und in Bezug auf verschiedene Malignitätsgrade (Zystadenome, Borderlinetumore, Karzinome) kann der DNA-Gehalt der einzelnen Entitäten bestimmt und die Ergebnisse miteinander verglichen werden.

Das bekannte Problem der konventionellen Histologie - die geringe Übereinstimmungsrate - soll durch diese Zusatzuntersuchung kompensiert werden. Sollte sich dies als möglich erweisen, könnte bei der Therapie von histologisch schwierig zu beurteilenden Ovarialtumoren einerseits ein „overtreatment“, insbesondere eine zu radikale Operation, ein Verlust der Fertilität und eine unnötige Chemotherapie bei Borderlinetumoren vermieden werden. Des weiteren ein „undertreatment“, d.h. eine zu geringe operative Radikalität und nicht ausreichend operatives Staging bzw. Unterlassen einer zytostatischen Behandlung bei invasiven Ovarialkarzinomen.

Bei der vorliegenden Untersuchung handelt es sich um eine rein morphologisch-morphometrische Studie, die nicht zum Ziel hat, das klinische Staging, follow-up (rezidivfreies Intervall, Gesamtüberlebenszeiten) zu den erhobenen Messergebnissen in Bezug zu bringen.