

Aus dem Institut für Pathologie
des HELIOS Klinikums Bad Saarow
Akademisches Lehrkrankenhaus
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Retrospektive Untersuchungen zur zytologischen und
histologischen Diagnostik von Knochenmarkmetastasen im
Untersuchungsmaterial des Institutes für Pathologie
des Klinikums Bad Saarow im Zeitraum von 1993-2006

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Angela Pelz

aus Rüdersdorf

Gutachter: 1. Priv.- Doz. Dr. med. habil St. Koch
2. Prof. Dr. med. H. Riess
3. Prof. Dr. med. V. Krenn

Datum der Promotion: 14.06.2009

Meinen Eltern

Abkürzungsverzeichnis

ADT	Arbeitsgemeinschaft Deutscher Tumorzentren
AK	Antikörper
alk. Phos.	alkalische Phosphatase
AML	Akute Myeloische Leukämie
ALL	Akute Lymphatische Leukämie
BFUE	Burst-Forming Unit Erythroid = Vorläuferzelle der Erythrozyten
Ca.	Karzinom
CD	Cluster of Differentiation
CFUE	Colony-Forming Unit Erythrozyten
CFUGEMM	Colony-Forming Unit Granulocyte, Erythroid, Monocyte and Megakaryocyte = Vorläuferzelle der Granulozyten, Erythrozyten, Monozyten u. Megakaryozyten
CML	Chronische Myeloische Leukämie
CLL	Chronische Lymphatische Leukämie
CT	Computertomografie
CUP	Carcinoma of unknown primary, unbekannter Primärtumor
DSA	Digitale Subtraktionsangiografie
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
Ery	Erythrozyten
GIT	Gastro-Intestinal-Trakt
Hb	Hämoglobin
HE	Hämatoxylin-Eosin
HK	Hämatokrit
HL	Hodgkin-Lymphom
Ig	Immunglobulin
IHC	Immunhistochemie
KMB	Knochenmarkbiopsie
LDH	Laktatdehydrogenase
MCH	Mittlerer korpuskulärer Hämoglobingehalt
MCHC	Mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration
MDS	Myelodysplastisches Syndrom
MRT	Magnetresonanztomografie
MPS	Myeloproliferatives Syndrom

MTA	Medizinisch-Technische Assistentin
n. a.	nicht angegeben
ND	Nebendiagnosen
NHL	Non-Hodgkin-Lymphom
OBTZ	Ostbrandenburgisches Tumorzentrum
PAS	Periodic Acid Schiff
PDGF	Platelet-Derived Growth Factor
PSA	Prostata-spezifisches Antigen
PT	Primärtumor
Retikul	Retikulozyten
TGF	Transforming Growth Factor
TNM	T=Tumor, N=Nodes=Lymphknoten, M=Metastasen
Vergr.	Vergrößerung
Vit D	Vitamin D
WHO	World Health Organisation

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

1	Einleitung und Zielsetzung	1
2	Wissenschaftliche Grundlagen	3
2.1	Funktion, Entwicklung und Anatomie des Knochenmarks	3
2.1.1	Funktion	3
2.1.2	Entwicklung	3
2.1.3	Anatomie	4
2.2	Normale Hämatopoese	9
2.2.1	Erythropoese	10
2.2.2	Thrombopoese	10
2.2.3	Granulopoese	11
2.3	Systematik der primären und sekundären Knochenmarkerkrankungen	15
2.4	Metastasierung	16
2.4.1	Metastasierung maligner Tumoren	16
2.4.2	Metastasierungswege	17
2.4.3	Metastasierung in das Knochenmark	18
2.4.3.1	Die Reaktion des Knochens auf die Metastasen	19
2.4.3.2	Die Reaktion des Stromas auf die Metastasen	22
2.5	Inzidenz und regionale Verteilung von Knochenmarkmetastasen	22
2.6	Mögliche Befunde bei Knochenmarkinfiltration	24
2.7	Therapie und Prognose bei Knochenmarkinfiltration	26
2.8	Das CUP-Syndrom	26
3	Material und Methode	28
3.1	Klinikprofil und Versorgungsauftrag	28
3.2	Patienten	30
3.2.1	Einschlusskriterien	30
3.2.2	Ausschlusskriterien	32

II

3.2.3	Anamnestische Daten der Patienten	32
3.3	Möglichkeiten zur Untersuchung des Knochenmarks	36
3.4	Die zytologische und histologische Diagnostik des Knochenmarks	37
3.4.1	Indikationen zur zytologischen und histologischen Knochenmarkdiagnostik	38
3.4.2	Aufarbeitung von Knochenmarkproben zur zytologischen und histologischen Untersuchung. Immunhistochemische Untersuchungen	39
3.5	Kriterien der histopathologischen und zytopathologischen Auswertung	49
3.5.1	Beurteilung von Aspirationspräparaten	49
3.5.2	Auswertung knochenmarkhistologischer Präparate	50
4	Ergebnisse	55
4.1	Patientendaten	55
4.1.1	Alters- und Geschlechterverteilung	55
4.1.2	Zeitlicher Abstand zwischen der Primärtumordiagnose und der Diagnose „Knochenmarkmetastasierung“	56
4.1.3	Überlebensrate und Alter der Verstorbenen	58
4.1.4	Paraklinische und klinische Zusatzbefunde	58
4.2	Tumoranamnese	59
4.2.1	Primärtumorarten	59
4.2.2	Das T-Stadium	60
4.2.3	Histopathologisches Grading des Primärtumors und der Knochenmarkmetastasen	61
4.2.4	Auftreten von Zweittumoren	66
4.3	Effizienz der eingesetzten diagnostischen Verfahren	66
4.4	Indikation der Knochenmarkuntersuchung	67
4.5.	Die Auswertung der zytologischen Präparate	68
4.5.1	Blastäre Zellen	68
4.5.2	Beurteilung der Hämatopoese	68
4.5.3	Das Verhältnis Erythropoese/Granulopoese	69
4.5.4	Knochenmarkfremde Zellen	69
4.5.5	Speichereisen	71
4.6	Die Auswertung der histologischen Präparate	71
4.6.1	Flächenanteil der Tumorzellen	71

III

4.6.2	Das Knochengewebe	72
4.6.3	Art der Knochenreaktion	73
4.6.4	Das Knochenmarkstroma	74
4.6.5	Eisenablagerungen	75
4.6.6	Osteoklastenaktivität	75
4.6.7	Gefäße	75
4.6.8	Makrophagenakkumulation	75
4.6.9	Tumornekrosen	76
4.6.10	Tumorzellanordnung	77
4.7	Morphologische Phänomene und Wachstumsmuster der Knochenmark- metastasen im zytologischen und histologischen Präparat	77
4.8	Die CUP-Fälle	84
5	Diskussion	89
5.1	Diskussion der Methode	89
5.1.1	Stellenwert der zytologischen und histologischen Knochenmarkdiagnostik	92
5.1.2	Alternative Methoden zur Untersuchung des Knochenmarks	95
5.2	Diskussion der Ergebnisse	96
5.2.1	Das untersuchte Patientenkollektiv	96
5.2.1.1	Alters- und Geschlechterverteilung	96
5.2.1.2	Abstand zwischen der Primärtumordiagnose und der Diagnose „Knochenmarkmetastasierung“	96
5.2.1.3	Überlebensrate und Alter der Verstorbenen	97
5.2.1.4	Paraklinische und klinische Zusatzbefunde	98
5.2.2	Diskussion der Primärtumoren	100
5.2.3	Auswertung der zytologischen Präparate	102
5.2.3.1	Knochenmarkfremde Zellen und Artdiagnose	102
5.2.3.2	Die Beurteilung der Hämatopoese	102
5.2.3.3	Das Verhältnis Erythropoese/Granulopoese	103
5.2.3.4	Blastäre Zellen	104
5.2.3.5	Speichereisen	104
5.2.4	Auswertung der histologischen Präparate	105

5.2.4.1	Das Knochengewebe	105
5.2.4.2	Die Hämatopoese	106
5.2.4.3	Das Knochenmarkstroma	107
5.2.5	Diskussion des Wachstumsmusters der Metastasen im histologischen Präparat	108
5.2.5.1	Karzinome der Prostata	108
5.2.5.2	Karzinome der Mamma	109
5.2.5.3	Bronchialkarzinome	110
5.2.6.	Diskussion der Vorgehensweise zur diagnostischen Abklärung der CUP-Fälle	111
6	Zusammenfassung	114
7	Literatur	117
8	Tabellenverzeichnis	128
9	Abbildungsverzeichnis	129
10	Danksagung	133
11	Lebenslauf	134
12	Erklärung an Eides statt	135

1 Einleitung und Zielsetzung

Das Knochenmark ist eines der Organe, die häufiger von hämatogen metastasierenden Tumoren betroffen sind. Bei 30-75 % der Malignompatienten existieren Mikrometastasen im Knochenmark (PANTEL et al. 1999). Sie tragen wesentlich zur Morbidität bei, durch Schmerzen, pathologische Frakturen, Hyperkalzämie, neurologische Komplikationen und Knochenmarksuppression (RUBENS 1991, WANG et al. 2004).

Die Inzidenz der Knochenmarkinfiltration variiert mit der Art des Primärtumors. Besonders häufig treten Knochenmarkmetastasen beim Mammakarzinom, beim Prostatakarzinom und beim Bronchialkarzinom auf (ANNER et al. 1977, SINGH et al. 1977). Bei Kindern handelt es sich häufig um Metastasen bzw. Infiltrate von Neuroblastomen, Rhabdomyosarkomen und Ewing Sarkomen (FINKLESTEIN et al. 1970, DELTA et al. 1964). Generell gilt, dass jeder Tumor, der hämatogen metastasiert, das Knochenmark infiltrieren kann.

Spezielle Möglichkeiten zur Untersuchung des Knochengewebes sind radiologische Untersuchungen, wie das Röntgenbild, die Computertomographie, die Magnetresonanztomografie, die Knochenszintigraphie sowie histologische und zytologische Untersuchungen des Gewebes mittels Knochenmarkaspiration und Beckenkammbiopsien (ADLER 2005).

Die Zahl der zytologischen und histologischen Untersuchungen vom Knochenmark hat in den zurückliegenden Jahren weltweit deutlich zugenommen (FRISCH et al. 1990, WANG et al. 2004).

Im HELIOS Klinikum Bad Saarow haben sich die Untersuchungsaufträge, die das Knochenmark betreffen, im Zeitraum von 1993 bis 2006 verdoppelt. 1993 waren es ca. 6 %, bezogen auf alle zytologischen und histologischen Untersuchungsanforderungen an das Institut für Pathologie. 2006 waren es bereits über 15 %.

Diese Tatsache begründet sich folgendermaßen: Zum einen hat sich der Versorgungsauftrag des Klinikums in den letzten 14 Jahren durch die Betreuung einer wachsenden Anzahl von Patienten mit onkologischen Erkrankungen verändert. Zum anderen hat der Stellenwert der Knochenmarkuntersuchung in der Tumordiagnostik fortwährend zugenommen, nicht zuletzt auch wegen der Möglichkeit des Einsatzes der Immunhistochemie.

Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der deskriptiven Analyse und Auswertung der im zytologischen und histologischen Untersuchungsmaterial archivierten Präparate mit Knochenmarkmetastasen, die im Zeitraum von 1993 bis 2006 diagnostiziert wurden. Der

Schwerpunkt liegt auf den histopathologischen Veränderungen von Knochen und Knochenmark. Es erfolgt eine Datenanalyse, die qualitative und quantitative Aspekte erfasst und auswertet. Anhand des Untersuchungsmaterials des Institutes für Pathologie des Klinikums Bad Saarow sollen folgende Fragen beantwortet werden:

- Wie viele Knochenmarkinfiltrationen durch solide Tumoren wurden im gewählten Zeitraum diagnostiziert?
- Wie war die Alters- und Geschlechterverteilung?
- Um welche Primärtumoren handelte es sich hierbei?
- Welche Indikation ging der Knochenmarkuntersuchung voraus?
- In wie vielen Fällen wurde erst mithilfe der Knochenmarkuntersuchung der Primärtumor identifiziert und wie viele echte CUP-Fälle traten auf?
- Ließen sich bei echten CUP-Fällen im Untersuchungsmaterial im Nachhinein mit entsprechenden immunhistochemischen Untersuchungen die Lokalisation oder die Art der Primärtumoren klären?
- Wie groß war der zeitliche Abstand zwischen der Diagnose des Primärtumors und der von ihm gebildeten Metastase?
- Welche Begleitsymptome traten klinisch auf?
- Welche zyto- und histomorphologischen Eigenschaften und Wachstumsmuster hatten die Metastasen im Knochenmark?
- Ist die gewählte zytologische und histologische Untersuchungsmethode geeignet, um Knochenmarkmetastasen suffizient zu identifizieren?

Die Knochenmarkmetastasierung ist ein fundamentales Problem der klinischen Onkologie. Mit dem Nachweis eines Skelettbefalls ist die Tumorkrankheit systemisch und damit operativ nicht mehr heilbar. Die Erarbeitung neuer Erkenntnisse auf diesem Gebiet dient der Bewertung epidemiologischer Daten des Krebsregisters und dient der Sicherung der Qualität in Diagnostik und Therapie.

2 Wissenschaftliche Grundlagen

2.1 Funktion, Entwicklung und Anatomie des Knochenmarks

2.1.1 Funktion

Das Knochenmark ist das Gewebe, in dem die Stammzellen des hämatopoetischen Systems angesiedelt sind. Diese sind darauf spezialisiert, die Blutzellen des Körpers ständig neu zu bilden. Dies ist nötig, da die meisten Blutzellen nur eine Lebensdauer von wenigen Tagen bis zu mehreren Wochen haben.

Die Erythrozyten dienen dem Sauerstofftransport, die Thrombozyten spielen bei der Blutgerinnung eine essenzielle Rolle und die Leukozyten sind ein unverzichtbarer Teil unseres Immunsystems.

Neben der blutbildenden Funktion enthält das Knochenmark, ebenso wie Milz und Leber, ortständige Makrophagen, die gealterte und beschädigte Erythrozyten durch Phagozytose dem Blutkreislauf entziehen.

2.1.2 Entwicklung

Bis zur 6. Schwangerschaftswoche findet die Hämatopoese im Dottersack, bis zum 7. Fetalmonat hauptsächlich in Leber und Milz statt, wo sie noch ca. 2 Wochen postpartal nachweisbar bleibt.

Im Knochenmark etabliert sich die Hämatopoese ab dem 5./6. Fetalmonat. Während zu Beginn alle Knochen beteiligt sind, zieht sich die Hämatopoese mit fortschreitender Kindesentwicklung bis zum Erwachsenenalter in zentrale Skelettabschnitte zurück. Die ursprünglichen von hämatopoetischen Knochenmark ausgefüllten Räume unterliegen einer Substitution durch Fettmark. Die Gesamtmenge des Knochenmarks variiert dementsprechend in Abhängigkeit vom Lebensalter (Abb. 1).

An einem ausgewachsenen Skelett ist nur noch das Knochenmark der Wirbelkörper, Rippen, Schädel- und Beckenknochen sowie des proximalen Femurs blutbildend.

Eine Umkehr dieser Entwicklung ist im Bedarfsfall, z. B. bei chronischem Sauerstoffmangel, Neoplasmen und Infektionen, möglich. Die embryonalen Blutbildungsstätten sind somit als extramedulläre Bildungsorte reaktivierbar (FRISCH et al. 1999).

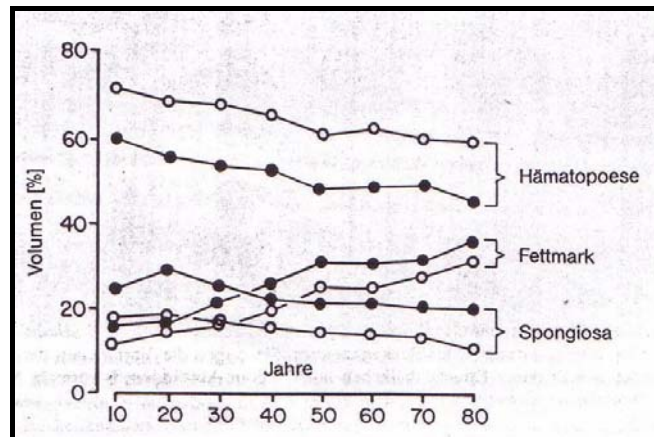


Abbildung 1: Quantitative Auswertung von Hämatopoese, Fettmark und Spongiosa in KMB von 158 Autopsiefällen (nichthämatologische und nicht-osteolytische Erkrankungen). Beachte die stete Abnahme von Hämatopoese und Spongiosa im zunehmenden Alter.

- Beckenkamm ◦ Lendenwirbel (aus FRISCH et al. 1987)

2.1.3 Anatomie

Der Knochen besteht aus einer äußeren Kompakta und der inneren Spongiosa mit Knochenbälkchen. Die Kompakta bildet eine feste äußere Schale, die Verformungen widersteht, während das innere trabekuläre Maschenwerk durch eine Leichtbauweise aus inneren Verstreungen Festigkeit aufweist.

In den Maschen zwischen den Knochen trabekeln liegt das Knochenmark, das sich aus dem Knochenmarkstroma und dem Knochenmarkparenchym zusammensetzt. Das Knochenmark füllt die Spongiosalücken des Knochens auf (FRISCH et al. 1999).

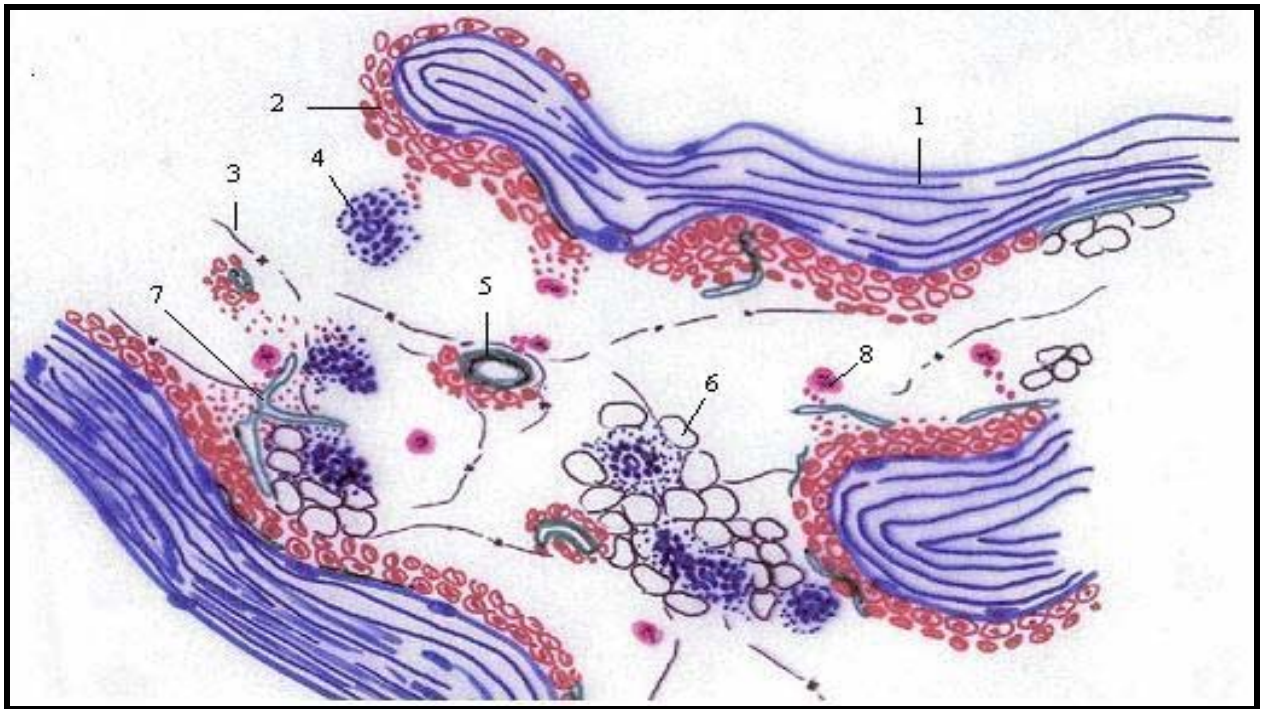


Abbildung 2: Anatomie des Knochenmarks¹

- | | |
|---|--------------------|
| 1. Knochenstrabekel | 5. Arterien |
| 2. Granulopoese (speziell Myeloblasten) | 6. Fettzellen |
| 3. Retikulin | 7. Venen-Sinusoide |
| 4. Erythropoese | 8. Megakaryozyten |

Das Knochenmarkstroma

Unter dem Knochenmarkstroma ist das Gerüst des Knochenmarks mit Fasern und ortständigen Zellen zu verstehen. Es ist mit dem Blutgefäßsystem eng verbunden.

Dieses hämatopoetische Microenvironment bildet ein günstiges Umfeld für das Wachstum und die Entwicklung von Stammzellen (MUELLER-HERMELINK 1990).

Eine Störung in diesem System könnte eine maligne Transformation zur Folge haben und für die Intra- und Extravasation von Tumorzellen mitbedeutend sein. Somit könnte es bei der Etablierung von Metastasen eine große Rolle spielen (FRISCH et al. 1999).

Das Knochenmarkstroma besteht aus unterschiedlichen Strukturen:

¹ Handzeichnung von PD Dr. Stefan Koch, mit freundlicher Genehmigung überlassen

1. Knochengewebe

Das Endost kleidet die Binnenräume des Knochens aus und trennt somit das eigentliche Knochengewebe von den Räumen ab, die das Knochenmark enthalten.

Drei Zelltypen sind darin zu unterscheiden: aktive und ruhende Osteoblasten sowie Osteoklasten. Eine Osteoprogenitorzelle, die als einschichtige Lage hinter den Osteoblasten liegt, regeneriert diese 3 Zelltypen, weil diese ihrerseits mitotisch nicht aktiv sind.

Die Osteoprogenitorzelle geht vermutlich aus einer Stammzellpopulation hervor, die nicht mit der hämatopoetischen Stammzelle identisch ist.

2. Retikulum

Das Retikulum ist ein zartes Faserwerk. Da das Knochenmark mit den Parenchymzellen (eigentliche Blutzellen) ausgefüllt ist, treten diese Fasern optisch in den Hintergrund. Mithilfe von Versilberungstechniken lassen sie sich jedoch sehr gut anfärben.

3. Gefäßsystem

Durch die Foramina nutritiae treten die Arterien und Venen in das Knochengewebe ein und aus. Man unterscheidet einerseits periostale, epiphysale und metaphysale Gefäße voneinander. Andererseits gibt es auch die direkt in das Knochenmark ziehenden Gefäße.

Das Kapillarnetz fließt in eine Reihe dünnwandiger Sinusoide ein, die ihren Inhalt in einen großen Zentralsinus entleeren, bevor sie den Knochen durch einen Kanal als V. emissaria verlassen. Dieses weit verzweigte System besteht aus länglichen Endothelzellen, die mit ihren Fortsätzen untereinander zusammenhängen. Somit entstehen zwischen den Endothelzellen Fenestrationen.

Die Blutzellen treten jedoch nicht zwischen, sondern durch die Endothelzellen hindurch in das Blutsystem ein (FRISCH et al. 1999).

4. Fettmark

Das Fettmark füllt die Knochenmarksräume aus, die nicht für die Hämatopoese benötigt werden. Die Adipozyten gehen aus den Retikulumzellen hervor. Die Menge des Fettgewebes im Knochenmark verhält sich umgekehrt proportional zur Menge des hämatopoetischen Gewebes (BAIN et al. 2000).

5. Nervengewebe

Die Nervenfasern gelangen in Begleitung der Gefäße in den Knochen. Diese haben im Knochen die Funktion, Schmerzen weiterzuleiten, den Sinusfüllungsdruck und den Gewebedruck zu messen.

Die Zellen des Knochenmarks lassen sich entwicklungsgeschichtlich in 2 Kompartimente unterteilen: die eigentlichen ortständigen Stromazellen und die aus der Stammzellimmigration resultierenden eigentlichen hämatopoetischen Zellen, wozu im weiteren Sinne auch die Lymphozyten und Plasmazellen gerechnet werden (SCHAEFER 1983).

Die einzelnen Zelltypen des Knochenmarkstromas sind:

1. Fibroblastische Retikulumzellen

Sie dienen der Synthese des Prokollagens der retikulären Fasern. Sie haben außerdem die Fähigkeit zu phagozytieren. Mit ihrem typischen Gehalt an alkalischer Phosphatase sind sie bei allen Zuständen einer zunehmenden Markfibrose vermehrt, so auch bei sekundär fibrotischen Prozessen, etwa in der Nachbarschaft von Tumormetastasen (SCHAEFER 1983).

2. Osteoblasten

Sie treten als ruhende und aktive Osteoblasten in Erscheinung und sind für die Knochenbildung verantwortlich.

3. Chondroblasten

Sie bilden den für die chondrale Ossifikation notwendigen Knorpel, der im weiteren Verlauf ossifiziert.

4. Fettzellen

Diese bilden in ihrer Gesamtheit das Fettmark.

Da Endothelzellen erst nachträglich in das Knochenmark einsprossen, werden diese nicht zu den Stromazellen gerechnet.

Makrophagen, Gewebsmastzellen und Lymphozyten sind ausdifferenzierte Zellen, die sich direkt der Hämatopoese ableiten und ebenfalls nicht den Knochenmarkstromazellen zugerechnet werden (MUELLER-HERMELINK1990).

Die Knochenmarkstromazellen sind als Syntheseort von Regulationsfaktoren für die Proliferation und Differenzierung der hämatopoetischen Progenitorzellen neben den T-Lymphozyten, Monozyten bzw. Makrophagen und Endothelzellen, in denen ebenfalls Wachstumsfaktoren gebildet werden, die wichtigsten zellulären Bildungsstätten hämatopoetischer Wachstumsfaktoren. Sie beeinflussen die Reifung und Funktion der migrationsfähigen Zellen im Knochenmark (HOFFBRAND 2003, MUELLER-HERMELINK 1990).

Das Knochenmarkparenchym

Das Parenchym ist der Gewebeanteil, der in einem Organ die organspezifischen Aufgaben erfüllt. Im Knochenmark sind das die hämatopoetischen Stammzellen und die daraus abgeleiteten Zelllinien. Das Knochenmarkparenchym besteht aus einer sich rasch entwickelnden hochmobilen Zellpopulation, sodass ein Biopsieschnitt mit einer Momentaufnahme vergleichbar ist. Das erklärt die große Variation von Funktionszuständen in der Knochenmarkbiopsie, die trotzdem noch als Normvarianten angesehen werden müssen (FRISCH et al. 1999).

Markzellularität

Sie gibt die relative Menge der hämatopoetischen Zellen und Fettzellen an. Ist das Knochenmark normozellulär heißt das, dass die Proportionen von Hämatopoese und Fettmark lebensaltergerecht verteilt sind (Tab. 1). Hypozellulär bedeutet, dass die Hämatopoese sinkt und korrespondierend dazu die Fettzellen steigen. Beim hyperzellulären Knochenmark steigt die Hämatopoese und der Fettanteil sinkt (FRISCH et al. 1987).

Tabelle 1: Histomorphometrie des normalen Knochenmarks^a (aus FRISCH et al. 1987)

Variable	Mittelwert	(SD)	Dimension
Hämatopoese	40	(9)	Vol.-%
Fettmark	28	(8)	
Spongiosa	26	(5)	
Osteoid	0,3	(0,2)	
Sinus	4,5	(2,1)	
H/F-Index ^b	1,4		
G/E-Index	2,8		
Lymphozyten (diffus)	20	(12)	pro mm ²
Mastzellen	2	(1)	
Megakaryozyten	8	(4)	
Makrophagen (eisenspeichernd)	16	(10)	
Plasmazellen	21	(18)	
Lymphzellinfiltrate	2		%
Arterien	3	(4)	pro 100 mm ²
Arteriolen	26	(18)	
Kapillaren	101	(61)	
Sinus	1700	(825)	
Osteoblastenindex ^d	5	(5)	%
Osteoklastenindex ^e	4	(3)	pro 100 mm ²

^a Diese Werte wurden an 158 Biopsien gesunder Personen ermittelt

^b H/F-Index = Hämatopoese (Vol.-%)/Fettmark (Vol.-%)

^c G/E-Index = granulopoetische Zellen (n)/erythropetische Zellen (n)

^d OB = % des mit kubischen Osteoblasten bedeckten Spongiosaumfangs

^e OK = Anzahl der Osteoklasten pro 100 mm Spongiosaumfang

SD = Standardabweichung

2.2 Normale Hämatopoese

Die Hämatopoese beginnt nach dem derzeitigen Kenntnisstand mit einer pluripotenten Stammzelle, aus der sich alle Zellen der myeloischen, lymphatischen, megakaryozytären und erythrozytären Reihe entwickeln (Abb. 3 und 4). Stammzellen haben die Fähigkeit zur Selbsterneuerung und tragen dazu bei, dass der gesamte Zellgehalt des Knochenmarks bei Gesunden in einem Gleichgewichtszustand konstant bleibt (FRISCH et al. 1999).

Normalerweise befinden sich Stammzellen in einer Ruhephase und werden nur durch bestimmte Wachstumsfaktoren, den sogenannten Glykoproteinhormonen, in eine Proliferations- und Differenzierungsphase übergeleitet. Wachstumsfaktoren werden von den Monozyten, T-Lymphozyten, Endothelzellen und Fibroblasten gebildet. Sie sind verantwortlich für die Entwicklung der hämatopoetischen Zellen, von der undeterminierten pluripotenten Stammzelle,

zu Stammzellen mit eingeschränkter Pluripotenz, von denen sich letztendlich die einzelnen Zellen des blutbildenden Systems ableiten (MUELLER-HERMELINK 1990). Die hämatopoetischen Zellreihen haben im Markraum eine nahezu gesetzmäßige Lokalisation und unterscheiden sich sowohl durch ihre Anordnung im Knochenmark als auch durch ihre Morphologie (BAIN et al. 2000).

Die Freisetzung der Blutzellen aus dem Knochenmark erfolgt selektiv und in die Sinusendothelien. Es gelangen unter physiologischen Bedingungen nur reife Blutzellen in die Sinusoide (SCHAEFER 1983).

2.2.1 Erythropoese

Erythrozyten dienen dem Sauerstofftransport und sind somit für die Versorgung aller Gewebe unerlässlich.

Die Erythropoese ist ein hoch organisierter Vorgang. Sie findet im Knochenmark in relativ gut begrenzten Zellgruppen (Erythra) im intermediären Markraumgebiet statt (FRISCH et al. 1999).

Makrophagen bilden zumeist das Zentrum dieser erythrozytopoetischen Zellinseln. Innerhalb der Erythra sind innen die größeren unreifen Zellen und außen die kleineren reiferen Zellen angeordnet.

Aus der pluripotenten Stammzelle gehen die sogenannten Vorläuferzellen (CFUGEMM, BFUE und CFUE) hervor. Diese sind nur im In-vitro-Verfahren darstellbar. Der früheste morphologisch erkennbare Vorläufer der Erythropoese ist der Proerythroblast.

Reguliert durch das Hormon Erythropoetin differenzieren sie sich im weiteren Verlauf zu kleineren basophilen Erythroblasten, dann zu polychromatischen Erythroblasten und schließlich zu orthochromatischen Normoblasten. Durch Kondensation und Ausstoßung des Zellkerns entstehen Retikulozyten. Ein einziger Proerythroblast bildet normalerweise 16 reife rote Blutkörperchen. Nach Austritt in das Blut verlieren sie ihre Ribosomen und werden zu reifen Erythrozyten, kernlos, bikonkav und diskusförmig mit einem Durchmesser von 7,4 µm (FRISCH et al. 1999, HOFFBRAND 2003).

2.2.2 Thrombopoese

Die hämatopoetische Stammzelle differenziert sich zu einem Megakaryoblasten, der die unreifste Zellform der Thrombopoese darstellt. Durch stetige Vergrößerung seines Zytoplasmavolumens, durch endomitotische Prozesse und zunehmender und sich fortsetzender Polyploidisierung

differenziert sich der Megakaryoblast über die Stufe des Promegakaryozyten zum Megakaryozyten.

Diese sehr großen Zellen besitzen einen stark gelappten Kern mit einem charakteristischen unregelmäßigen Kernchromatin und ein violette breites Plasma mit einer deutlichen Granulation.

Megakaryozyten sind die eigentlichen plättchenbildenden Zellelemente der Thrombopoese.

Thrombozyten entstehen letztendlich durch Abspaltung von Zytoplasmafragmenten. Die übrig bleibenden nackten Megakaryozytenkerne werden phagozytiert. Es handelt sich hierbei um kleine scheibenförmige, kernlose Zellfragmente.

Aus jedem Megakaryozyt entstehen ca. 4.000 Thrombozyten. Im Knochenmark liegen die Megakaryozyten in der Nähe der Sinusoide, also im intermediären Markraum. Dabei sind höchstens 2-3 Megakaryozyten zusammen anzutreffen (FRISCH et al. 1999, HOFFBRAND 2003, SCHAEFER 1983).

2.2.3 Granulopoese

Innerhalb der weißen Blutkörperchen (Leukozyten) werden zwei große Zellgruppen differenziert.

Man unterscheidet die Phagozyten von den Lymphozyten. Zu den Phagozyten gehören die neutrophilen, basophilen und eosinophilen Granulozyten zusammen mit den Monozyten. Sie werden im Rahmen der Granulopoese gebildet.

Die Granulozyten und Monozyten des Blutes werden im Knochenmark aus einer gemeinsamen Vorläuferzelle gebildet. Aus der morphologisch nicht erkennbaren granulozytär-monozytär determinierten Stammzelle wird über mehrere Entwicklungsstufen des Myeloblasten, Promyelozyten, Myelozyten, letztendlich der Granulozyt.

Die Granulopoese ist mit ihren unreifen Vorstufen, den Myeloblasten, paratrabekulär lokalisiert. Zur Markraummitte schließen sich Zellformen späterer Reifungsstadien an, die während ihrer Ausreifung charakteristische Veränderungen der Zell- und Kerngröße sowie des Zell- und Kerngehalts erfahren. Schließlich liegen in der Markraummitte reife Granulozyten vor.

Die früheste, morphologisch erkennbare Präkursorzelle der Monozytopoese ist der Monoblast. Monoblasten reifen zu Promonozyten und weiter über die Stufe der Monozyten zu reifen Makrophagen (BAIN et al. 2000). Die Monozyten verweilen im Knochenmark nur kurz, zirkulieren 20-40 Stunden im Blut und treten anschließend in das Gewebe über, wo sie dann auch ihre Hauptfunktion erfüllen.

Außerhalb der Blutbahn können Monozyten nach ihrer Umformung zu Makrophagen eine Lebensdauer von bis zu mehreren Monaten bzw. Jahren haben (HOFFBRAND 2003).

Lymphopoese

Gebildet werden die Lymphozyten zunächst in den primären lymphatischen Organen wie Knochenmark und Thymus. Eine Weiterentwicklung und Modifikation der Lymphozyten findet in den sekundären lymphatischen Organen wie Lymphknoten, Milz und dem lymphatischen Gewebe des Verdauungs- und Atmungstrakts statt (HOFFBRAND 2003).

Die Frage der genauen Herkunft und Entwicklung der B- und T-Lymphozytenreihe ist schwierig zu beantworten, weil im Gegensatz zur Granulopoese die einzelnen Stufen der lymphatischen Zytogenese morphologisch nur zum Teil ausreichend differenzierbar sind. Lymphatische Zellen gehören zur normalen Population des Knochenmarks, die zwischen Hämatopoese und Fettmark verteilt sind und Lymphzellinfiltrate bilden (FRISCH et al. 1999).

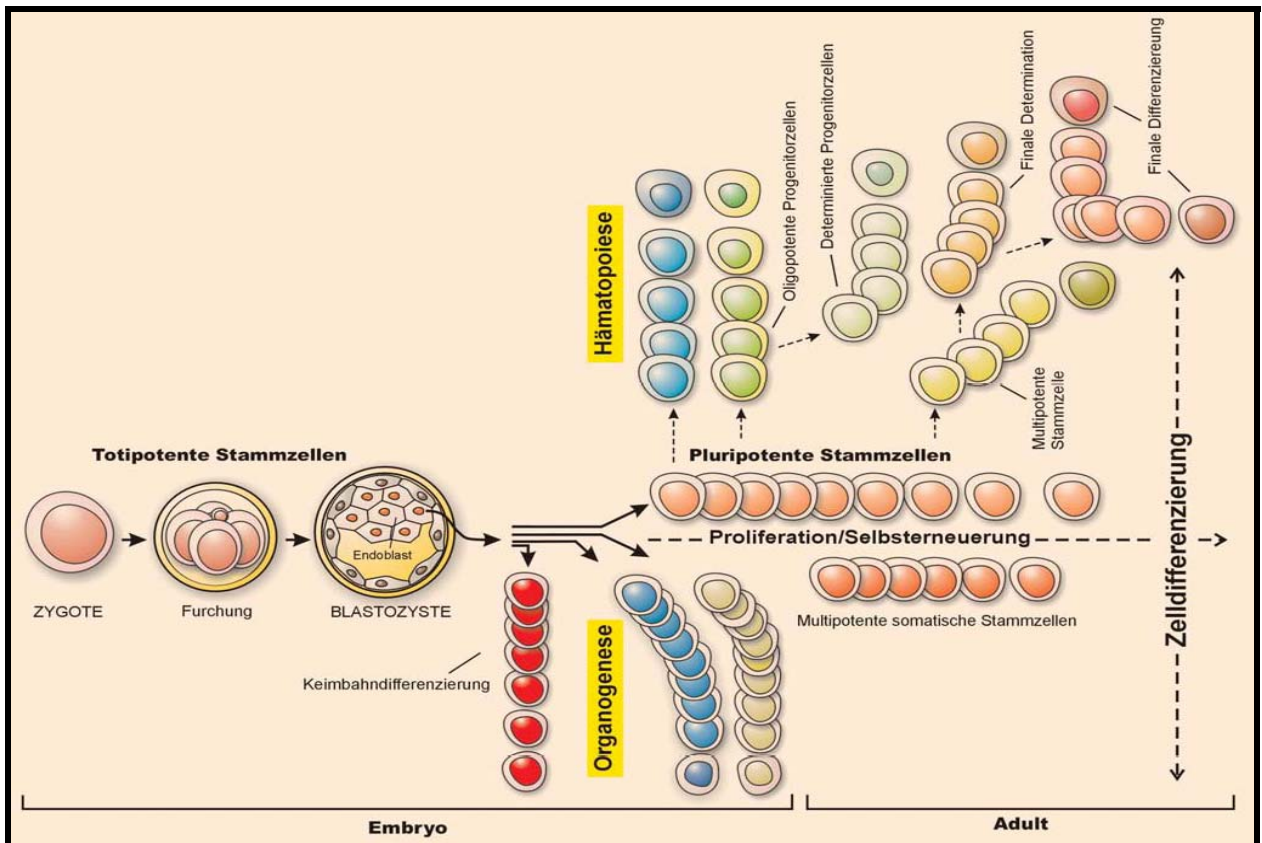


Abbildung 3: Wechselbeziehung zwischen Proliferation, Selbsterneuerung und Differenzierung während der Hämatopoese. Nach der Abtrennung der Urkeimzelle von den totipotenten Stammzellen des Embryos schließt sich die somatische Differenzierung und Organogenese an (untere Hälfte der Abbildung). Aufgrund des zeitlebens hohen Zellumsatzes des Blutsystems bleibt ein pluripotenter Stammzellpool erhalten, der im adulten Organismus neue ausdifferenzierte Blutzellen produziert (obere Bildhälfte). Mit fortschreitender Determinierung nimmt die Entwicklungspotenz der Stammzelle ab, sodass schließlich nach finaler Determination nur noch ein spezifischer Zelltyp ausdifferenzieren kann. Nicht dargestellt ist die Differenzierung nichthämatopoetischen Gewebes (aus WICKENHAUSER 2002).

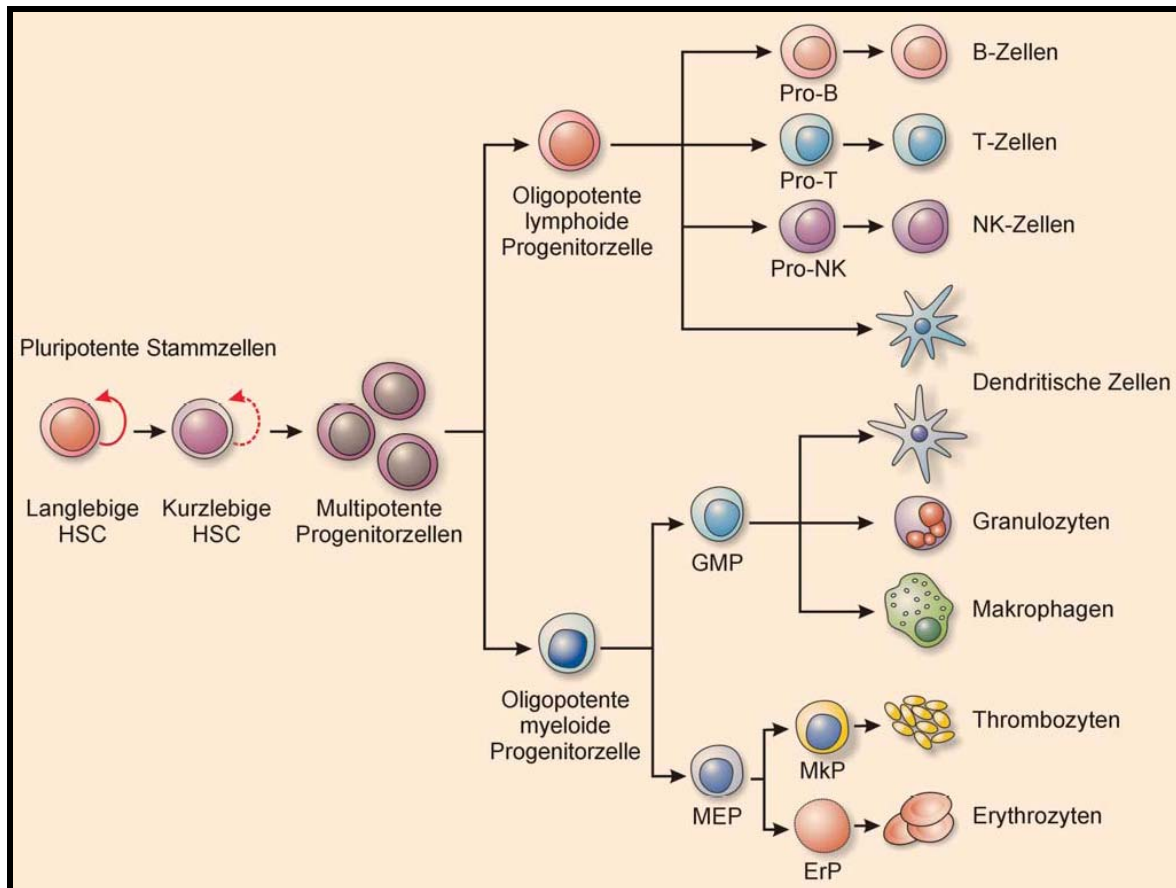


Abbildung 4: Vereinfachtes Modell zur Genealogie hämatopoetischer Stammzellen. Hämatopoetische Stammzellen (HSC) lassen sich in lang- und kurzlebige pluripotente Stammzellen sowie multipotente Progenitorzellen einteilen (die Selbsterneuerungskapazität ist durch einen roten Pfeil gekennzeichnet). Aus Letzteren gehen oligopotente lymphoide und myeloide Progenitorzellen hervor. Diese werden sukzessiv zu unmittelbaren Vorläufern der reifen Blutzellen determiniert.

- ErP = Vorläufer der Erythropoese
- GMP = Granulozyten/Makrophagenvorläuferzelle
- MEP = Megakaryozyten/Erythrozytenvorläuferzelle
- MkP = Megakaryozytenvorläufer
- NK = natürliche Killerzellen

(aus WICKENHAUSER 2002).

2.3 Systematik der primären und sekundären Knochenmarkerkrankungen

Im Jahre 2001 hat die WHO eine Klassifikation der Tumoren des hämatopoetischen und lymphatischen Gewebes publiziert, die die Grundlage für die Diagnostik der in dieser Arbeit ausgewerteten Fälle war. Eine weitere Überarbeitung der Klassifikation wurde im Rahmen einer internationalen Konsensuskonferenz Ende 2007 vorgenommen. Die Publikation einer modifizierten WHO-Klassifikation wird für 2008 erwartet. Die Klassifikation stand während der Erarbeitung der vorliegenden Studie noch nicht zur Verfügung.

WHO-Klassifikation der Tumoren des hämatopoetischen und lymphatischen Gewebes (JAFFE et al. 2001), Hauptgruppen der Erkrankungen (vereinfacht):

1. MPS (chronische-myeloproliferative Syndrome)
2. Myelodysplastische Syndrome/Myeloproliferative Syndrome
3. MDS (myelodysplastische Syndrome)
4. AML (akute myeloische Leukämien)
5. ALL (akute lymphatische Leukämien/Präkursor B- u. T-Zell-Neoplasien)
6. reife B-Zell-Neoplasien (NHL)
7. reife T-Zell- und NK-Zell-Neoplasien (NHL)
8. Hodgkin-Lymphome (primäre Erkrankung der Lymphknoten)
9. immundefizienz-assoziierte lymphoproliferative Erkrankungen
10. Neoplasien der Histozyten und dendritischen Zellen
11. Mastozytose

Die überwiegende Mehrheit der Knochenmarkerkrankungen lässt sich den oben genannten Erkrankungsgruppen zuordnen. Diesen primären Erkrankungen unter Einbeziehung des Knochenmarks stehen sekundäre neoplastische Knochenmarkerkrankungen (Metastasen) gegenüber, die Gegenstand der vorliegenden Arbeit sind.

2.4 Metastasierung

2.4.1 Metastasierung maligner Tumoren

Das entscheidende Kriterium für das maligne biologische Verhalten von Zellen ist ihre Fähigkeit, sich in anderen Geweben des Organismus anzusiedeln und dort weiter zu wachsen.

Um die Metastasierung zu verstehen, ist es wichtig, die Vorgänge beim Tumorwachstum zu kennen.

Die Invasion

Sie stellt ein aktives Einwachsen von Tumorzellen in das normale Gewebe dar. Zunächst kommt es zur Auflösung der Zell-Zell-Kontakte durch Verminderung oder Verlust interzellulärer Haftstrukturen. Es folgt die enzymatische Degradation, d. h. es kommt zur temporären und reversiblen Auflösung extrazellulärer Matrix, beispielsweise von Basalmembranen. Degradierende Enzyme sind beispielsweise Metalloproteinasen, Serinproteasen, Cysteinproteasen, Heparinasen, Hyaluronidasen oder Proteoglykanasen. Sie werden teilweise von den Tumorzellen sezerniert.

Abschließend folgt die aktive Lokomotion der Tumorzellen mit Invasion in das Gewebe. Die Tumorzellen bewegen sich aufgrund ihres Aktinfilamentsystems aktiv amöboid fort und dringen in die zuvor enzymatisch eröffneten Geweberäume (PARKER et al. 2003, SLOAN et al. 2002).

Die Metastasierungskaskade

Die Metastasierung ist die Folge des invasiven Wachstums und bedeutet die Verschleppung von Tumorzellen an einen anderen Ort mit Ausbildung einer Tochtergeschwulst. Hierbei muss die Tumorzelle verschiedene immunologische und spezifische Tumorabwehrmechanismen überwinden. Zum Beispiel besitzt das Blut eine tumorizide Wirkung. Die Tumorzelle kann sich nur schützen, indem sie sich über einen lokalen Gerinnungsvorgang mit Fibrin und Thrombozyten (Tumorzellembolus) umhüllt und sich somit maskiert.

Zu Beginn erfolgt das Eindringen (Intravasation) der Tumorzellen in die Metastasierungswege (Lymphweg, Blutweg, Körperhöhle). Der Ablauf ist mit dem der Invasion identisch.

Es folgt die Verschleppung durch Lymphe, Blut oder Körperflüssigkeit. Der Verschleppungsweg ist durch anatomische Strukturen vorgegeben.

Abschließend muss die Tumorzelle aus den Metastasierungswegen austreten (Extravasation). Hierfür verwendet die Tumorzelle die gleichen Mechanismen wie bei der Intravasation.

Es gibt Neoplasmen, die bevorzugt lokal infiltrierend und zerstörend wachsen und erst spät oder gar nicht metastasieren, wie z. B. Basaliome, Glioblastome und differenzierte Liposarkome. Davon abzugrenzen sind die Neoplasmen, die besonders schnell zur Absiedlung von Fernmetastasen neigen, wie z. B. Prostatakarzinome, Bronchialkarzinome, Mammakarzinome, Osteosarkome, Melanome und Retinoblastome.

2.4.2 Metastasierungswege

Die Fernmetastasierung im Körper erfolgt entweder über die Lymphbahn, über die Blutbahn oder über die Körperhöhlen.

Lymphogene Metastasierung

Sie stellt häufig den primären Metastasierungsweg dar. Die Tumorzellen infiltrieren in die Lymphbahn. Es kommt zu einem Tumorwachstum. Geschieht dies in den Lymphknoten, entsteht eine Lymphknotenmetastase. Eine Ausbreitung bzw. Ausfüllung von Lymphgefäßen durch Tumorzellen bezeichnet man als Lymphangiosis carcinomatosa.

Hämatogene Metastasierung

Diese Form der Metastasierung ist charakteristisch für schnell und destruierend wachsende Malignome, vorzugsweise Sarkome und undifferenzierte Karzinome.

Zunächst gelangen die Tumorzellen in das Blut durch Invasion von Kapillaren und kleinen Venen (Intravasation). Anschließend kommt es zur hämatogenen Verschleppung. Die Tumorzellen arretieren im Kapillarbett, emigrieren aus dem Gefäßsystem (Extravasation) und dringen in das umgebende Organ ein. Dort bilden sie eine Tochtergeschwulst.

Man unterscheidet 3 Metastasierungstypen:

(1) Cava-Typ: Hier infiltrieren Tumorzellen bevorzugt in die Lunge, weil sie über die venöse Blutbahn der Vena cava superior und Vena cava inferior über das rechte Herz den Kapillarfilter der Lunge erreichen. Dies betrifft in erster Linie Tumoren aus der Kopf-Hals-Region, der Schilddrüse, der Niere, der Leber und des unteren Rektums.

(2) Lungenvenen-Typ: Der Sitz des Primärtumors ist beim Lungenvenen-Typ die Lunge selbst. Es kommt zur Ausbreitung der Tumorzellen über die linke Herzkammer mit Metastasen im Gehirn, in den Knochen, in der Niere und vor allem der Leber.

(3) Pfortader-Typ: Tumorzellen, die im Einflussbereich der Pfortader liegen, werden in die Leber verschleppt. Die ist für Tumoren aus dem Magen-Darm-Trakt, dem Pankreas und der Milz charakteristisch.

Kavitäre Metastasierung

Hier breitet sich der Tumor von parenchymatösen Geweben ausgehend von der Oberfläche aus und erlangt damit unter Umständen Zugang zu präformierten anatomischen Hohlrumbildungen, wie bei Pleura- oder Peritonealkarzinosen.

2.4.3 Metastasierung in das Knochenmark

Das Funktionssystem Knochen/Knochenmark ist nach den klassischen Filterorganen Lunge und Leber das dritthäufigste Zielorgan hämatogener Metastasierung (BARTL et al. 2006, HAGE et al. 2000).

Die Tumorzellen gelangen über die Blutbahn in den Knochen, zu den Sinusoiden (Abb. 5).

Begünstigende Faktoren für den bevorzugten Befall des Knochens bei vielen Tumorerkrankungen sind die ausgeprägte Durchblutung, insbesondere des blutbildenden Knochenmarks, die Fenestrierung des Endothels und das Fehlen einer Basalmembran in den Sinusoiden des Knochenmarks. Die Stroma-Zellen und die hämatopoetischen Zellen selbst bieten den Tumorzellen gute Voraussetzungen für die Ansiedlung. In der Knochenmatrix werden TGF β , PDGF und andere Faktoren produziert, welche das Wachstum und die Motilität von Tumorzellen begünstigen. Tumorzellen exprimieren u. a. die Integrine $\alpha_2 \beta_1$ und $\alpha_v \beta_3$, E-Cadherin, welche die Adhäsion an die Knochenmatrix fördern (ORR et al. 2000).

Man nimmt an, dass Tumorzellen, die zu Makrometastasen führen, der Immunreaktion entgehen können, weil sie verschiedene Proteine exprimieren, die normalerweise zu der Proteinstruktur normaler Knochenmarkzellen gehören (FEDARKO et al. 2000). Allgemein betrachtet ist der Ablauf der Metastasierung mit einer hohen Tumorzellletalität verbunden. Es ist aber auch möglich, dass die Tumorzelle zunächst „schlafend“ vor Ort persistiert (LUZZI et al. 1998).

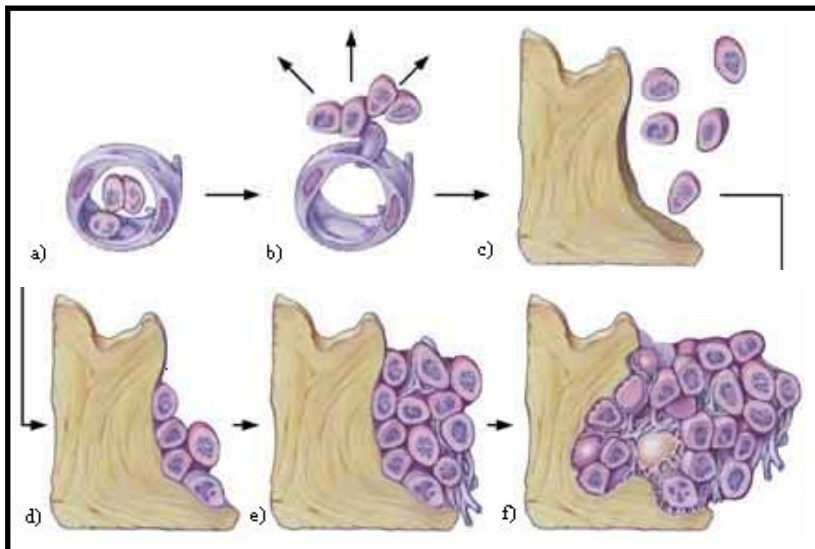


Abbildung 5: Die Stadien der Knochenmetastasierung (aus BARTL et al. 2006)

- a) zirkulierende Tumorzellen, b) Tumorinvasion, c) Tumorzellaussaat im Knochenmark,
 d) Anheften der Tumorzellen an die Knochenoberfläche, e) Mikrometastasen,
 f) Eindringen der Tumorzellen in den Knochen selbst (Knochenkarzinose)

Wie in Abbildung 6 dargestellt, können Metastasen in Beckenkammzyklindern in 4 verschiedenen Konfigurationen in Erscheinung treten.

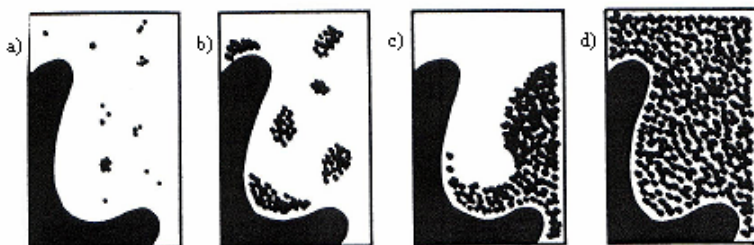


Abbildung 6: Histologische Aspekte der Knochenmarkinfiltration durch Metastasen (aus FRISCH et al. 1999)

- (a) multiple Mikrokolonien – einzelne Zellen oder kleine Cluster
 (b) multiple extravaskuläre Herde mit Stromainduktion
 (c) eine oder mehrere große Massen
 (d) kompletter Ersatz des normalen Marks

2.4.3.1 Die Reaktion des Knochens auf die Metastasen

Das Knochengestüt ist gekennzeichnet durch seine ständigen Umbauvorgänge. Diesen Prozess nennt man auch Remodellation. Osteoblasten synthetisieren Knochen und Osteoklasten sind für

den Abbau verantwortlich. Dieses Gleichgewicht wird durch hochkomplexe Mechanismen innerhalb des Knochens aufrechterhalten. Kommt es zur Störung dieses Gleichgewichts durch Tumormetastasen, so resultiert eine zunehmende knöchernen Remodellation. In über 90 % der Biopsien mit Metastasen zeigte sich eine Änderung der trabekulären Struktur. Das reicht von großen knochenleeren Gebieten bis zu umfangreicher Sklerosierung. In Abbildung 7 sind die sechs bislang histologisch beobachteten Muster dargestellt.

Nach dem morphologischen Befund lassen sich Knochenmetastasen in osteolytische, osteoplastische und gemischte Metastasen unterscheiden (RIEDEN 1988). Die Form und die Häufigkeit der Knochenreaktion sind vom Primärtumor abhängig. Bei einem Mammakarzinom zeigt sich z. B. ein Mischtyp. Das Prostatakarzinom ist dagegen durch osteosklerotische Reaktionen geprägt (BARTL et al. 2006).

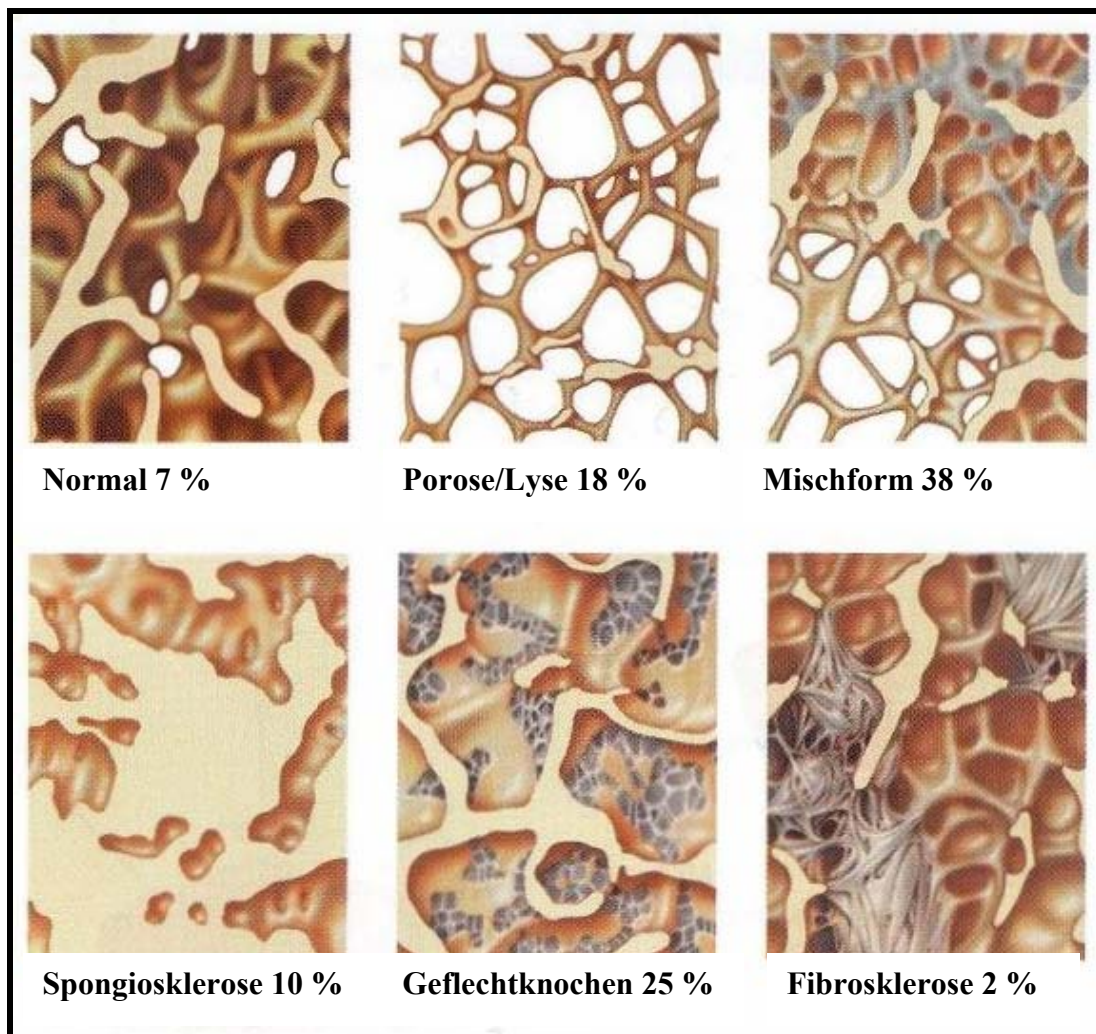


Abbildung 7: Histologische Formen der Knochenreaktion im Metastasenbereich (aus BARTL et al. 2006)

Osteolytische Metastasen

Initial und hauptsächlich verantwortlich für die Knochendestruktion sind die Osteoklasten des Wirtsorgans. Diese werden über die Prostaglandine der E₂-Serie und zusätzliche Osteoklasten aktivierende Tumorzellen stimuliert. Zusätzlich können die meisten Tumorzellen lysosomale Hydrolasen, Proteasen und Kollagenasen produzieren, die direkt knochenzerstörend wirken und so Raum für die Invasion und Proliferation von Tumorzellen schaffen. Die Metastasierung betrifft initial die mit rotem Markgewebe gefüllten Tubuli ossei. Im Anschluss daran greift der Prozess auf spongiöse und kortikale Strukturen über (CARTER 1985, GALASKO 1981, KUETTNER 1981, MUNDY et al. 1981). Histologisch findet sich eine Ansammlung von vergrößerten Osteoklasten in der unmittelbaren Tumorumgebung, jedoch nicht in den Tumormassen selbst. Indem die Osteoklasten der Tumorausbreitung vorangehen, sie sozusagen vermitteln, erodieren sie nach und nach tiefe Hohlräume im spongiösen Knochen und innerhalb der Kortikalis. Sukzessive kommt es zu einer vollständigen Infiltration des Markraumes mit lokaler Markfibrose und infolge einer vollständigen Kompression von Blutgefäßen zu einer Nekrose des Knochengewebes. Im Spätstadium der Knochendestruktion, wenn die verbliebenen Knocheninseln vollständig von Tumorgewebe umgeben sind, nimmt die Osteoklastentätigkeit ab und die Tumorzellen übernehmen den destruierenden Prozess (CARTER 1985, COLEMANN et al. 1985, GALASKO 1981). Abhängig von der Aggressivität eines Tumors kann eine reaktive Anregung der osteogenetischen Potenzen des Knochengewebes eine Knochenneubildung bewirken, die an der Grenzfläche von Tumor- und Knochengewebe als Randsklerose erkennbar ist.

Gemischte Metastasen

Für die Knochenneubildung verantwortlich sind Osteoblasten, die sich an den Knochenbälkchen im Bereich der Tumorinvasion anhäufen und ungeordneten Faserknochen mit inhomogener Mineralisation erzeugen, sodass unmittelbar nebeneinander Bezirke osteoklastischer Resorption und neu angelagerter Spongiosabälkchen mit verschieden hoher Mineralisation anzutreffen sind (CARTER 1985, HEUCK 1978).

Osteoplastische Metastasen

Bei osteoplastischen Knochenmetastasen finden sich histologisch infolge einer starken Proliferation der Tela ossea unregelmäßig vermehrter mineralisierter Faserknochen mit unterschiedlicher Osteozytendichte und verschieden großen osteozytären Lakunen (CARTER

1985, HEUCK 1978). Mit zunehmender Sklerosierung können die Tumorzellen infolge einer Störung der Gefäßversorgung regressive Veränderungen aufweisen.

2.4.3.2 Die Reaktion des Stromas auf die Metastasen

Ein Primärtumor verfügt über folgende Komponenten des Stromas: neue Blutgefäße, inflammatorische Zellen, Bindegewebe, das Matrixbestandteile enthält, wie Fibronektine, Kollagene, Elastine, Glykosaminoglykane, Fibroblasten und Myelofibroblasten und die Fibrin-Gel-Matrix.

Die Bildung des Stromas von Tumoren ähnelt weitgehend dem Ablauf der Wundheilung (DVORAK 1986, SPORN et al. 1986).

Das Stroma von Metastasen ist ebenso aufgebaut wie das des Primärtumors und hat die Fähigkeit, sich selbst zu organisieren und Faktoren zu produzieren, welche das Wirtsgewebe beeinflussen. Sie rufen osteoblastische oder osteoklastische Reaktionen hervor, stimulieren die Hämatopoese oder andere Zelllinien oder die Tumorzellen wirken chemotaktisch für die in das Wirtsgewebe eindringenden Zellen, wie Lymphozyten, Monozyten, Makrophagen und andere. Eine Nekrose des Knochenmarks und der Tumorzellen wird beobachtet, wenn die Blutzufuhr unterbrochen ist. Daraus resultieren Fieber und Knochenschmerzen.

Reaktionen des Stromas können sein: akute oder chronische inflammatorische Reaktionen, vaskuläre Veränderungen, Exsudation, Hämorrhagie und variierender Grad von Fibrosen (FRISCH et al. 1999, SPORN et al. 1986).

2.5 Inzidenz und regionale Verteilung von Knochenmarkmetastasen

Die Zahlen zur Häufigkeit von Knochenmetastasen, die hierfür in der Literatur angegeben sind, differieren stark (ANNER et al. 1977). Die hohe Schwankungsbreite der Zahlenangaben lässt sich vermutlich dadurch erklären, dass meist nicht das gesamte Skelettsystem mit der gleichen Präzision histologisch auf Fernmetastasen hin untersucht werden kann, wie beispielsweise Gehirn, Lunge oder Leber (FRISCH et al. 1999). Die tatsächliche Inzidenz von Knochenmetastasen dürfte daher höher anzusetzen sein.

Tabelle 2: Inzidenz von Skelettmetastasen in Autopsiestudien (aus GALASKO 1981)

Primärtumor	Anzahl der Studien	Inzidenz (%) von Knochenmetastasen	
		Mittelwert	Bereich
Mamma	5	73	47-85
Prostata	6	68	33-85
Schilddrüse	4	42	28-60
Niere	3	35	33-40
Lunge	4	36	30-55
Speiseröhre	3	6	5-7
Gastrointestinaltrakt	4	5	3-11
Rektum	3	11	8-13

Nach UEHLINGER (1981) gibt es insgesamt 3 Verteilungsmuster der Skelettmetastasen:

- 1) Stammskelettyp: Metastasen in symmetrischer Anordnung in Wirbelsäule, Becken, Rippen, Schädel, proximalem Humerus und Femur
- 2) Gliedmaßentyp: Metastasen verteilen sich sporadisch und meist asymmetrisch beidseits der Ellenbogen und Kniegelenke
- 3) Periost-Typ: Hier liegt ein periostaler Befall der langen und kurzen Röhrenknochen vor

Der Stammskelettypus ist der häufigste Metastasierungstyp (UEHLINGER 1981). Der Befall der peripheren Extremitäten und des Periosts ist wesentlich seltener. Die Metastasen im Stammskelett entstehen vor allem über den von BATSON (1940) beschriebenen vertebrealen Venenplexus (Abb. 8).

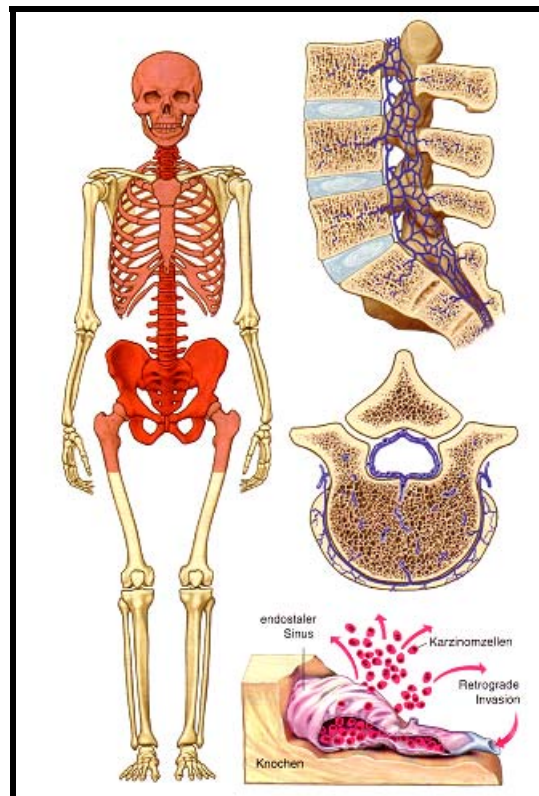


Abbildung 8: Retrograde Ausbreitung der Knochenmetastasen über den Venenplexus der Wirbelsäule (BATSON 1940), daher besonders häufiger Befall des Stammskeletts (rot). Tumorinvasion der Knochenmarkräume über den endostalen Sinus, Endstrecke des venösen Gefäßsystems (aus BARTL et al. 2006)

2.6 Mögliche Befunde bei Knochenmarkinfiltration

Bei einer leukoerythroblastären Anämie im Blut, einer Serum-Laktat-Konzentration über 500 IU/Liter, Knochenschmerzen und einer Blutplättchenzahl unter 100 000/ μ l kann man mit hoher Wahrscheinlichkeit von einer Knochenmarkinfiltration ausgehen (CHERNOW et al. 1978, DELSOL et. al. 1979). Das Vorkommen einer alleinigen leukoerythroblastären Anämie korreliert mehr mit dem Grad einer reaktiven Knochenmarkfibrose als mit dem Grad der malignen Infiltration (RUBINS 1983).

Tabelle 3: Mögliche Befunde bei Knochenmarkinfiltration (aus THEML et al. 1998)

Symptome der subjektiven Wahrnehmung	aus klinischen Befunden	aus bildgebenden Verfahren	Laborbefunde
- Gewichtsverlust	- Blässe	- MRT	- normozytäre,
- Leistungsabfall	- Blutungsneigung	- CT	normochrome Anämie
- Schwäche	- Hepatomegalie	- Röntgen	- Thrombopenie
- Fieber	- Splenomegalie	- Sonografie	- Thrombozytose
- Infektlabilität	- Lymphknoten-		- Leukopenie
- Kachexie	schwellung		- Leukozytose
	- pathologische		- Erythrozytopenie
	Fraktur		- SGOT ↑
			- LDH ↑
			- alk. Phosphatase ↑
			- leukoerythroblastäres
			Blutbild (Zirkulation
			von Erythrozytenvor-
			stufen und unreifen
			Granulozyten)
			- mikroangiopathische
			hämolytische Anämie

Die peripheren Blutbildveränderungen und die in Tabelle 3 aufgeführten Symptome bei Patienten mit Knochenmarkbefall sind als Folge der malignen Erkrankung zu interpretieren und nicht direkt auf die Infiltration zurückzuführen. Die genannten diagnostischen Kriterien sind zur Identifizierung von Patienten besonders bedeutsam, die mit erhöhter Wahrscheinlichkeit eine Knochenmarkmetastasierung aufweisen können. Zur zuverlässigen Abklärung ist dann eine histologische und zytologische Knochenmarkuntersuchung indiziert.

2.7 Therapie und Prognose bei Knochenmarkinfiltration

Hat sich ein Tumor erst einmal bis in das Knochenmark ausgebreitet, ist eine Tumorkrankheit systemisch und damit inoperabel. Ziel der Therapie ist nunmehr die palliative Intervention, die Schmerzen zu minimieren und andere klinische Symptome zu beseitigen (BARTL et al. 2006).

Die mediane Überlebensrate hängt vom jeweiligen Tumortyp ab (Tab. 4).

Tabelle 4: Mittlere Überlebensrate ab Diagnose „Knochenmarkmetastasierung“ (aus PLUNKETT et al. 2005)

Tumorart	Mediane Überlebensrate (Monate)
Mammakarzinom	20
Prostatakarzinom	20
Lungenkarzinom	3

Neben einer systemisch wirksamen Chemo- oder Hormontherapie stellen auch lokale Therapiekonzepte, wie die Radiotherapie eine etablierte und effektive Therapiemöglichkeit dar. Als weitere komplementäre Behandlungsform bietet sich heute die Osteoprotektion durch pharmakologische Osteolysehemmung mit Bisphosphonaten an (BARTL et al. 2006, KREMPIEN et al. 1992, WANNENMACHER et al. 1992).

Insgesamt handelt es sich um ein multidisziplinäres Konzept, das hauptsächlich von den Fachrichtungen Orthopädie, Onkologie und Radiotherapie durchgeführt wird. Voraussetzung einer zeitgerichteten Beurteilung ist eine eindeutige histopathologische Diagnose.

2.8 Das CUP-Syndrom

Karzinommetastasen mit unbekanntem Primärtumor machen mindestens 2 % aller histologisch diagnostizierten Karzinome aus. Dieses Krankheitsbild wurde von NISSENBLATT (1981) als CUP-Syndrom (Carcinoma with Unknown Primary) bezeichnet. Das CUP-Syndrom gehört sogar zu den zehn häufigsten Erscheinungsformen von Geschwulsterkrankungen (MOLL et al. 2005).

Lichtmikroskopisch handelt es sich in etwa 60 % der Fälle um Adenokarzinome, ca. 12 % entfallen auf Plattenepithelkarzinome, den Rest machen undifferenzierte und nicht näher spezifizierte Karzinome aus (MUIR 1995).

Das Knochenmark als dritthäufigstes Zielorgan hämatogener Metastasierung (BARTL et al. 2006, HAGE et al. 2000) ist somit auch häufiger Manifestationsort unbekannter Primärtumoren.

Die Definition des CUP-Syndroms wird in der Literatur uneinheitlich gehandhabt.

Häufig sendet der Kliniker dem Pathologen Biopsien von Metastasen mit der Angabe eines unbekanntem Primärtumors und fragt nach dessen Lokalisation. Wird der Primärtumor früher oder später – auf jeden Fall zu Lebzeiten des Patienten – aufgedeckt, so entspricht das dem initialen CUP-Syndrom, da der zum Beginn der Diagnostik unklare Primärtumor nunmehr identifiziert werden konnte. Demgegenüber ist das echte CUP-Syndrom dadurch gekennzeichnet, dass auch bei sorgfältiger klinischer und pathologischer Diagnostik keine Aufdeckung des Primärtumors gelingt (MOLL et al. 2005).

Immunhistochemische Zusatzuntersuchungen bei CUP-Fällen sollten sinnvollerweise nur mit Markern durchgeführt werden, deren hohe Spezifität für einzelne Tumorgruppen gut dokumentiert ist. Die Bewertung der Immunfärbungen muss im Kontext mit dem klinischen und konventionell-histomorphologischen Gesamtbefund erfolgen (KAUFMANN et al. 2002, MOLL et al. 2005).

3 Material und Methode

3.1 Klinikprofil und Versorgungsauftrag

Das 1954 in Bad Saarow gegründete Klinikum wird im derzeit gültigen Krankenhausbettenplan des Landes Brandenburg als Krankenhaus der qualifizierten Regelversorgung aufgeführt und verfügte im Untersuchungszeitraum von 1993 bis 2005 über etwa 640 Betten in 15 Kliniken. Ferner existieren hier modern ausgestattete Institute für Radiologie, Pathologie und Nuklearmedizin/Strahlentherapie, ein Zentrallabor und eine Krankenhausapotheke.

Seit 1992 besteht am Klinikum das Ost-Brandenburgische Tumorzentrum e.V. (OBTZ), in dem über 70 natürliche und juristische Personen im Sinne eines regionalen Tumorzentrums zusammenarbeiten. Es stellt nach dem Strukturkonzept der Arbeitsgemeinschaft Deutscher Tumorzentren (ADT) ein regionales Tumorzentrum dar.

Den Status eines Akademischen Lehrkrankenhauses der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin besitzt das Klinikum seit 1998.

Das Klinikum Bad Saarow gehörte in den Jahren 1991 bis 2005 zur HUMAINE-Klinikengruppe, die in der Bundesrepublik Deutschland und den Nachbarstaaten überwiegend Akut- und Rehabilitationskliniken führte. Schwerpunktmäßig werden im Klinikum Bad Saarow Patientinnen und Patienten mit akuten Erkrankungen sowie mit Geschwulstleiden in allen hier etablierten medizinischen Fachgebieten behandelt. Etwa 15 % aller primär im Land Brandenburg diagnostizierten Geschwulsterkrankungen werden im Klinikum Bad Saarow festgestellt. Hinsichtlich des Zuweisungsverhaltens der niedergelassenen Ärztinnen und Ärzte ist festzustellen, dass Patientinnen und Patienten mit Geschwulsterkrankungen auch aus fernerer Regionen des Landes Brandenburg und auch aus anderen Bundesländern in das Klinikum eingewiesen werden und wurden.

Die internistische Hämatookologie wurde während des Untersuchungszeitraumes zielstrebig ausgebaut. So wurde 1994 erstmals in einer Brandenburger Klinik die autologe Blutstammzelltransplantation mit konsekutiver Hochdosis-Chemotherapie etabliert (Priv.-Doz. Dr. Wolfgang Schultze) und damit für die Patientinnen und Patienten mit entsprechenden Erkrankungen als Therapieoption zur Verfügung gestellt. In der Klinik für Innere Medizin wurden schwerpunktmäßig Patienten mit Erkrankungen des hämatopoetischen und

lymphatischen Systems behandelt. In diesem Zusammenhang nahm die Etablierung der zytologischen und histologischen Diagnostik von Knochenmarkproben einen hohen Stellenwert ein. Während des gesamten Untersuchungszeitraumes erfolgte die zytologische und histologische Aufbereitung der gewonnenen Knochenmarkproben durch die entsprechenden Laborbereiche des Instituts für Pathologie. Auch die zyto- und histomorphologische Auswertung wurde hier realisiert. Das Institut für Pathologie verfügt über einen diagnostischen Erfahrungsschatz, der auf der Beurteilung von zirka 20.000 Fällen knochenmarkzytologischer Beurteilungen sowie zirka 15.000 knochenmarkhistologischen Untersuchungen basiert. Die Expertise auf dem Gebiet der Beurteilung von Knochenmarkproben wurde durch die seit 1997 regelmäßig stattfindenden hämatologisch-zytologischen Mikroskopierkurse (3 Teile), die zur Weiterbildung bzw. Subspezialisierung von Fachärzten für Innere Medizin und Pathologie entwickelt wurden, vervollkommen. Die aus vielen Teilen der Bundesrepublik Deutschland an diesen Kursen teilnehmenden Kollegen gaben der Knochenmarkdiagnostik durch den intensiven Erfahrungsaustausch zum Teil weitere Impulse. Darüber hinaus fanden die Ergebnisse der Knochenmarkdiagnostik Eingang in die in Bad Saarow in den Jahren 1997, 1999 und 2001 durchgeführten Internationalen Workshops zur autologen Stammzelltransplantation mit Hochdosis-Chemotherapie (LEUTHOLD 2003, TAYEFEH 2007).

Die Diagnostik von Knochenmarkproben erfolgte jedoch nicht nur im Auftrage der Klinik für Innere Medizin, sondern auch im Rahmen der Diagnostik und Verlaufsbeobachtung, insbesondere von Erkrankungen onkologischen Profils aller anderen etablierten Fachgebiete.

Am Klinikum Bad Saarow existieren 12 Kliniken und 3 Institute (Tab. 5).

Tabelle 5: Klinikstruktur und Bettenzahl des Klinikums Bad Saarow 2005

Klinik/Institut	Bettenzahl (n)
Klinik für Anästhesiologie/Intensivtherapie/Rettungsmedizin	16
Klinik für Allgemein - ,Viszeral - und Thoraxchirurgie	63
Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe	35
Klinik für Gefäßchirurgie	32
Klinik für HNO – Heilkunde	25
Kliniken für Innere Medizin	187
Klinik für Kinder – und Jugendmedizin	28
Klinik für Neurochirurgie	34
Klinik für Neurologie	34
Klinik für Traumatologie und Orthopädie	85
Klinik für Urologie	38
Institut für Nuklearmedizin und Strahlenheilkunde	20
Bettenanzahl gesamt	597

3.2 Patienten

3.2.1 Einschlusskriterien

Grundlage der rein retrospektiven Analyse bildet das im Institut für Pathologie archivierte zytologische und histologische Untersuchungsmaterial, das im Zeitraum von 1993-2006 eingesandt wurde.

Insgesamt handelte es sich um mehr als 139 289 Untersuchungsaufträge. Davon waren ca. 13 % Knochenmarkpräparate, d. h. Knochenmarkausstriche sowie Knochenmarkbiopsiezylinder (Tab. 6). In die Auswertung einbezogen wurden Untersuchungsfälle aus dem Klinikum Bad Saarow, dem Klinikum Rüdersdorf und dem Klinikum in Frankfurt/Oder. An diesen Krankenhäusern bestehen eigene Fachabteilungen für Hämatookologie, die konsiliarisch betreut werden.

Tabelle 6: Materialeingänge in das Institut für Pathologie des Klinikums Bad Saarow im Zeitraum von 1993-2006

Jahrgang	Eingänge (gesamt) Histologie	Knochenmark- aspirate	Beckenkamm- biopsien	relativer Anteil Knochenmarkpräparate
1993	7450	255	201	6,12%
1994	8803	391	273	7,54%
1995	8026	492	297	9,83%
1996	8852	600	417	11,49%
1997	9634	763	549	13,62%
1998	10018	863	632	14,92%
1999	10111	778	580	13,43%
2000	10400	890	721	15,49%
2001	10456	783	674	13,93%
2002	10999	854	784	14,89%
2003	11280	776	769	13,70%
2004	11199	702	711	12,62%
2005	11038	687	1034	15,59%
2006	11023	500	749	11,33%
Gesamt	139289	9334	8391	12,73%

Die allgemeinen Patientendaten, Vorbefunde und Anamnesedaten wurden auf einem Begleitblatt übermittelt (Abb. 9-11). Nach Auswertung jedes Präparates durch den Pathologen wurde der Befund dokumentiert.

Mit einer Volltextsuche im Befundarchiv des Institutes für Pathologie wurden die elektronisch archivierten Befundkopien auf festgelegte Kombinationen von Stichworten hin durchsucht. Stichworte für die Volltextsuche waren:

Beckenkamm oder Knochenmark in Kombination mit den Begriffen wie Karzino* (was alle Begriffe wie Karzinom, Karzinose, karzinoid impliziert), Sarko* (auch hier sind Begriffe wie Sarkom, Sarkomatose mit inbegriffen), Metastase, Metastasen, „solider Tumor“ und Infiltration. Mithilfe dieses Suchrasters wurden die Fälle identifiziert, die:

entweder ein zytologisches Knochenmarkaspirat

oder einen histologischen Beckenkammzylinder betrafen

und zusätzlich einen oder mehrere der oben genannten Begriffe enthielten.

Wenn jemals ein Verdacht auf Infiltration des Knochenmarks durch einen soliden Tumor bestanden hätte oder auch bestätigt wurde, wären diese Kernwörter in den Befunden aufgetreten.

Eine Altersselektion im Patientengut wurde nicht vorgenommen. Eine Differenzierung nach stationärer oder ambulanter Behandlungsform wurde ebenfalls nicht vorgenommen. Knochenmark-untersuchungen im Rahmen von Autopsien, insbesondere zur Abklärung eines zu Lebzeiten nicht identifizierten Primärtumors wurden eingeschlossen.

3.2.2 Ausschlusskriterien

Ausgeschlossen wurden Fälle aus den nur sporadisch einsendenden Kliniken, in denen keine hämatonkologischen Fachabteilungen existieren.

3.2.3 Anamnestische Daten der Patienten

Die hämatologische Diagnostik, ungeachtet ob zytologische oder histologische Fragestellungen bearbeitet werden, gehört zu den schwierigsten morphologischen Untersuchungen. Es sollten stets alle erreichbaren Kriterien zur Diagnose herangezogen werden.

In Kenntnis anamnestischer und klinischer Parameter können gefährliche Fehlinterpretationen durch den Morphologen vermieden werden, denn viele der möglichen Diagnosen sind für den Patienten von schicksalhafter Bedeutung. Der Begleitschein (Abb. 9-11) wird seit nunmehr über 10 Jahren im Klinikum zur Kommunikation zwischen Klinikern und Morphologen standardmäßig benutzt.

Er enthält die Patientendaten, anamnestische, klinische, paraklinische Angaben (Blutbefunde) sowie die Verdachtsdiagnose bzw. die klinische Fragestellung.

HELIOS Klinikum Bad Saarow Ost-Brandenburgisches Tumorzentrum
Akademisches Lehrkrankenhaus der Charité
Institut für Pathologie

Begleitschein zur Anforderung einer zytologischen/histologischen Knochenmarkuntersuchung

Name:

Vorname:

geb.:

Entnahmedatum:

Einsender (Arzt u Station):

Diagnostische Fragestellung:

.....

Wesentliche anamnestische Daten:

.....

.....

Weitere Befunde zur diagnostischen Fragestellung:

Leber: Milz:

Lymphome:

Laufende Therapie (u. a. auch letzte Transfusion):

Folsäurebehandlung: ja nein

Vit.-B-12-Behandlung: ja nein

Abbildung 9: Begleitschein zur Knochenmarkuntersuchung – Vorderseite

Frühere Knochenmarkuntersuchungen (Datum, Eingangs-Nr.):

.....

Frühere histol. Untersuchungen (Datum, Eingangs-Nr.):

.....

Knochenmarkzytologie parallel

durchgeführt: ja/nein

Ery.....	Tpt/l	Leuko.....	Gpt/l
Hb.....	mmol/l	Baso.....	
MCH.....	fmol	Eos.....	
HK.....		Stab.....	
MCHC.....	mmol/l	Seg.....	
Reti.....	Gpt/l	Lymph.....	
MCV.....	fmol	Mono.....	
Fe i. S.....	µmol/l	Lymphoid.....	
EBK.....	µmol/l	
Transferrin.....	g/l	
Thrombo.....	Gpt/l	

BKS.....	mm
AP.....	µmol / (1 s)
LDH.....	µmol / (1 s)
Kreatinin.....	µmol/l

Serum-Protein.....	g/l	Immunglobuline (quant.)	
Albumin.....	%	IgG.....	g/l
Alpha-1-Glob.....	%	IgA.....	g/l
Alpha-2-Glob.....	%	IgM.....	g/l
Beta-Glob.....	%	Albumin.....	g/l
Gamma-Glob.....		Alpha-2 M.....	g/l
.....		Haptoglobin.....	g/l
.....		Transferrin.....	g/l
.....		

Gammopathie ja/nein welche:

Arztunterschrift

Abbildung 10: Begleitschein zur Knochenmarkuntersuchung - Rückseite

HELIOS Klinikum Bad Saarow

Datum:

Akademisches Lehrkrankenhaus der Charité

Institut für Pathologie

Pat.-Nr.:

Immunhistochemische Untersuchung

B.-Nr.:

Organ:

Block-Nr.:

Fragestellung:

Lfd.-Nr.:

Angesetzte Marker:

CK AE1/AE3	Vimentin	ACTH	LCA
CK MNF 116	Desmin	STH	CD3
BerEP4	Neurofilament	TSH	CD4
EMA	GFAP	Prolactin	CD5
CK H MW (34 β E 12	Myoglobin	FSH	CD10
CK L MW	Actin	LH	CD15
CK5/6	Synaptophysin		CD20/L26
CK 5/6/18 (LP34)	NSE	EGFR	CD21
CK7	S-100 mo	Hercep-Test	CD23
CK 10/13	S-100 po	c-erb-B2	CD30/Ki-1
CK14	HMB 45	ER	CD34
CK18	Melan A	PR	CD43
CK19	Chromogranin	Ki67	CD45R/4KB5
CK20	Calcitonin	p53	CD56
CEA	Thyroglobulin	bcl-1 / Cyclin D1	CD68/PG-M1
CA 19-9	TTF-1	bcl-2	CD79a
CA 125	PSA	bcl-6	CD117
Calretinin	PSAP		CD138
E-Cadherin	P504S / AMACR		Glycophorin A
	Inhibin α	IgA	Glycophorin C
Faktor VIII	HCG	IgG	Kappa
CD31	AFP	IgM	Lambda
CD61	PLAP	IgD	DBA 44
Ly Epith D2-40	Amyloid	IgE	Myeloperoxidase
	Alpha-1-Antitrypsin	C1q	Tdt
Lysozym		C3	EBV
Mac 387	Nestin		
Hepatozyten	UEA		

Zusatzfärbungen:

Bemerkung: Ausgang:

Abbildung 11: Anforderungsschein für die immunhistochemische Untersuchung

3.3 Möglichkeiten zur Untersuchung des Knochenmarks

Zur Untersuchung des Skeletts stehen heute zahlreiche spezielle Verfahren zur Verfügung, die gezielt eingesetzt werden können.

Im radiologischen Bereich können mithilfe der Computertomografie (CT) Aussagen über Ausdehnung, biologisches Verhalten und gewebliche Qualifikation einer Knochenläsion getroffen werden. Mithilfe der Kernspintomografie (MRT) haben sich Einblicke in die Knochenmorphologie eröffnet, wobei hierbei keine Strahlenbelastung gegeben ist. Zu den konventionelleren und preiswerteren radiologischen Untersuchungsmethoden gehörten die Nativ-Röntgenaufnahmen in zwei Ebenen, die konventionelle Tomografie und gegebenenfalls die Xeroradiografie. Um pathologische Umbauvorgänge im Knochen zu erfassen, wird die Szintigrafie mit radioaktiven Nukleotiden angewandt. Mit der konventionellen oder der digitalen Subtraktionsangiografie (DSA) lässt sich die Gefäßstruktur einer Knochenläsion darstellen, die wichtige Rückschlüsse auf die Dignität erlaubt.

Die zyto- und histomorphologische Diagnostik wird am Zell- und Gewebematerial vorgenommen, das mit unterschiedlichen Entnahmetechniken gewonnen wird und auch unterschiedlich ausgewertet werden kann. Histochemische Färbemethoden bringen die diversen zytologischen und histologischen Strukturen zur Darstellung. Hinzugekommen ist die Immunhistochemie, die besondere Bedeutung erlangt hat (siehe Kapitel 3.4.2). Insbesondere bei metabolischen Knochenerkrankungen sind auch quantitative Untersuchungen von Nutzen, mit denen objektive Parameter der Knochenstruktur, des Knochenumbaus und der Knochenresorption gemessen werden (siehe Kapitel 3.5). Eine quantitative und qualitative Analyse des Knochens lässt sich zusätzlich mithilfe der Mikroradiografie durchführen. Mit dieser speziellen radiologischen Methode lassen sich Umbauvorgänge und Mineralisationsstörungen des Knochens erfassen. Die DNS-Zytophotometrie der Tumorzellen erbringt objektive Daten des Malignitätsgrades und damit Auskunft über die biologische Potenz (ADLER 2005).

3.4 Die zytologische und histologische Diagnostik des Knochenmarks

Die Diagnostik des Knochenmarks setzt, wie auch die anderer Zell- und Gewebeproben, die Übermittlung relevanter klinischer (Blutbildbefunde) und anamnestischer Angaben (Grunderkrankungen, vorausgegangene Therapien) voraus.

Die Untersuchung des Knochenmarks kann anhand eines Knochenmarkspirats und/oder einer Knochenmarkbiopsie erfolgen. Der Einsatz zytologischer und histologischer Untersuchungen wird von der diagnostischen Fragestellung, den methodisch-technischen Voraussetzungen und nicht zuletzt von der diagnostischen Erfahrung der Untersucher bestimmt.

Untersuchungen an Knochenmarkspiraten ermöglichen schon unmittelbar nach der Materialgewinnung eine diagnostische Beurteilung, wobei besonders zelluläre Details und quantitative Verhältnisse der Hämatopoese beurteilt werden können.

Untersuchungen von Knochenmarkbiopsien sind zeitlich und technisch aufwendiger, ermöglichen allerdings auch über die zellulären Details hinausgehende Aussagen zur topografischen Verteilung der Hämatopoese, des knöchernen und fibrösen Stromas und eventuell vorliegender Fremdzellinfiltrate. Der Einsatz zyto- und histochemischer Detektionsverfahren oder auch zytogenetischer Untersuchungen gestattet gegebenenfalls weitere Aussagen.

Besonders die enge Zusammenarbeit aller an der Knochenmarkdiagnostik beteiligten Disziplinen (z. B. internistische Hämato-Onkologie, Labormedizin und Pathologie) ist der Schlüssel zur Erzielung hochqualitativer Präparate und exakter Diagnosen.

Der folgende Abschnitt beinhaltet Details der verschiedenen Methoden, einschließlich Färbungen, die an Knochenmarkspiraten und Knochenmarkbiopsaten im Institut für Pathologie des Klinikums Bad Saarow angewendet werden.

3.4.1 Indikationen zur zytologischen und histologischen Knochenmarkdiagnostik

Indikationen eines Knochenmarkspirates

Die zytologische Untersuchung ist immer dann vorteilhaft, wenn bestimmte Merkmale der Einzelzelle erfasst werden sollen.

Indikationen einer Knochenmarkbiopsie

Hierbei unterscheidet man zwischen primären und sekundären Indikationen.

Primäre Indikationen:

1. Verdacht auf Erkrankungen mit Mitbeteiligung des Knochens, des Endosts oder der Gefäße;
 - Non-Hodgkin-Lymphom;
 - Maligne Lymphogranulomatose (M. Hodgkin);
 - Andere granulomatöse Knochenmarkerkrankungen (M. Boeck, Tuberkulose);
 - Chronische myeloproliferative Syndrome;
 - Osteomyelofibrose und -sklerose;
 - Myelodysplastische Syndrome
 - Panmyelopathie (z. B. aplastische Anämien);
 - Knochenmarkbeteiligung bei soliden Tumoren;
 - Eigenständige Knochenkrankungen;
2. Verlaufsbeobachtungen bei den oben genannten Erkrankungen (Therapieeffekt, Remission, Rezidiv, Progression, Transformation in NHL, MPS oder MDS)
 - Knochenmarksituation vor beabsichtigter Knochenmark- bzw. Blutstammzelltransplantation

Sekundäre Indikationen

Punctio sicca: Hinweise auf Verminderung der Zelldichte oder diskontinuierliche bzw. fokale Veränderungen am Aspirationsmaterial

3.4.2 Aufarbeitung von Knochenmarkproben zur zytologischen und histologischen Untersuchung. Immunhistochemische Untersuchungen

Die Probeentnahme erfolgt von der Spina iliaca posterior (Abb. 12). Hier wird bei Erwachsenen zunächst in Lokalanästhesie eine Biopsie mit einer Jamshidi-Hohlnadel und im Anschluss daran eine Aspiration von Knochenmark durchgeführt. Die ersten Tropfen des Aspirats werden ohne Antikoagulantien separat aufgefangen. Die Probe wird dann auf einem Objektträger ausgestrichen und nach Pappenheim gefärbt sowie eine Eisenfärbung (Berliner Blau) durchgeführt.

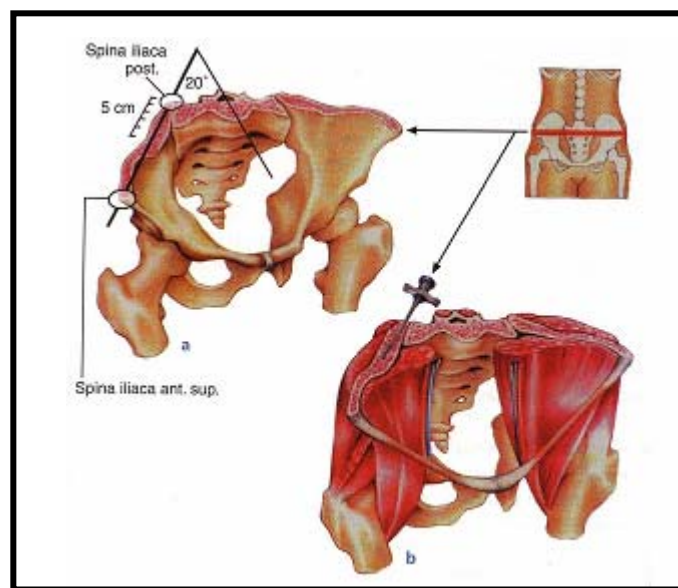


Abbildung 12: Anatomie des Beckens in Höhe des Biopsieortes:

- a) Abstand der Biopsienadel (Jamshidi-Nadel) von der Medianlinie ca. 5 cm und Neigungswinkel ca. 20 Grad nach lateral. Richtung der Biopsienadel von der Spina iliaca posterior auf die gut tastbare Spina iliaca anterior superior zu. Länge der entnommenen Biopsie bis zu 5 cm.
- b) Der Beckenknochen im Biopsiebereich ist beidseits von breiten, schützenden Muskelgruppen umgeben. Arterien, Venen und Nerven im Becken verlaufen weiter medial im sicheren Abstand. Die transiliakale Biopsiemethode und die Fräsmethode am vorderen Beckenkamm sind wegen der höheren Komplikationsrate (Blutungen, Infektionen) nicht mehr zu empfehlen. (aus BARTL et al. 2006)

Der gewonnene Beckenkammbiopsiezyylinder sollte eine Länge von etwa 2,5 cm und 0,4 cm Durchmesser haben (Abb. 13).



Abbildung 13: Beckenkammbiopsie

Der gewonnene Beckenkammbiopsiezyylinder wird in 10%igem gepufferten Formalin an das Institut für Pathologie geschickt. Das unausgestrichene Knochenmarkspirat wird in ein Versandröhrchen mit 10%iger EDTA-Lösung gegeben und ebenfalls an das Knochenmarklabor des Instituts für Pathologie geschickt. Die Weiterverarbeitung muss innerhalb von 2 Tagen, besser jedoch unverzüglich erfolgen. Gefärbte oder ungefärbte Ausstriche werden in einem Versandbehälter für Objektträger versandt.

Nach Fixierung des Beckenkammbiopsiezyinders (etwa 12 Stunden) erfolgt die Entkalkung in EDTA (Dauer ca. 24 Stunden) und die Paraffineinbettung (ca. 12 Stunden). Von den Paraffinblöckchen werden Schnitte von etwa 3 bis 4 μm Dicke hergestellt. Nach Entparaffinierung und Rehydrierung werden konventionelle Färbungen vorgenommen und der Schnitt schließlich in Neutralbalsam mit einem Objektträger eingedeckt. Die angefertigten Präparate werden anschließend durch den Pathologen begutachtet. Er entscheidet unter Zuhilfenahme des Begleitscheins, ob und welche immunhistochemischen Marker (Abb. 11) eingesetzt werden sollen, um eine sichere Diagnose zu stellen. Insgesamt erfordert die Aufbereitung 2 Tage, die zwischen Entnahme und Diagnose liegen.

Als alternatives Einbettungsmedium kann Methacrylat, ein kaltpolymerisierender Kunststoff, eingesetzt werden. Für dessen Polymerisation und die Entplastation sind im Allgemeinen längere Reaktionszeiten zu veranschlagen, als das bei Paraffinpräparaten der Fall ist. Deshalb lässt sich eine diagnostische Aussage in der Regel erst nach mehreren Tagen vornehmen. Das artefaktfreie Präparieren von Methacrylatschnitten setzt seitens des medizinisch-technischen Personals eine große Übung und Erfahrung voraus. Darüber hinaus sind die besonderen Eigenschaften des Kunststoffes in Rechnung zu stellen. Kunststoffschnittpräparate weisen einen exzellenten Erhaltungszustand zytologischer Details auf, sodass deren Analyse vergleichsweise präzise wie bei Ausstrichpräparaten vorgenommen werden kann. Problematisch ist jedoch meistens die Durchführung zusätzlicher immunhistochemischer Reaktionen an in Kunststoff eingebetteten Knochenmarkbiopsaten, die am Paraffinschnitt genauso einfach und routinemäßig vorgenommen werden können wie an allen anderen in Paraffin eingeschlossenen Gewebe- und Organproben.

Routinemäßig werden an den paraffineingebetteten Schnittpräparaten jeweils, unabhängig von der konkreten Fragestellung, verschiedene Färbungen durchgeführt.

Der histochemische Nachweis der *Chloracetatesterase* führt zu einer Orientierung über die Verteilung von Granulo- und Erythrozytopoese. Promyelozyten, Myelozyten und nachfolgende Reifungsstadien bis zu den neutrophilen Granulozyten zeigen dabei eine rote Anfärbung des Zytoplasmas. Die Lokalisation der Bildungszonen der Granulozytopoese und die Beurteilung der Ausreifung dieser Zellreihe sind mit dieser Färbung sehr gut möglich. Erythro- und Megakaryopoese sind nicht angefärbt. Für die Identifikation der myeloischen Blasten muss eine ergänzende immunhistochemische Untersuchung mit Myeloperoxidase vorgenommen werden.

Die *Giemsa-Färbung* kann genutzt werden, um eosinophile und basophile Zellformen in der Granulozytopoese genauer zu differenzieren. Ferner stellen sich hierbei Mastzellen dar, die ergänzend auch mit der Toluoidinblau-Färbung und dem immunhistochemischen Nachweis von CD117 identifiziert werden können. Ferner lassen sich viele zytologische Details aller Zellreihen im Giemsa-Schnitt beurteilen, wobei eine ähnliche Markierung wie in der Pappenheim-Färbung am Knochenmarkaspirat vorliegt.

Mittels der *Trichromfärbung nach Goldner* können die Verteilung des Knochengewebes, des Osteoids sowie Osteoneogenesezonen abgeschätzt werden. Des Weiteren lässt sich bei korrekter

Durchführung der Färbung eine Differenzierung von poly- und normochromatischen Erythroblasten vornehmen. Dabei zeigen normochromatische Erythroblasten eine Zytoplasmafärbung, die der von Erythrozyten weitgehend entspricht (polychromatische Erythroblasten grünes Zytoplasma, normochromatische Erythroblasten und Erythrozyten orange-farbenes Zytoplasma).

In der *PAS-Reaktion* lassen sich besonders gut die Megakaryozyten anhand ihres violett gefärbten Zytoplasmas differenzieren, sofern diese nicht bereits durch ihre besondere Größe auffallen. Insbesondere unterstützt diese Färbung die Identifikation von Mikrokaryozyten bzw. atypisch lokalisierter oder fragmentierter Megakaryozyten. Bei der Suche nach knochenmarkfremden Zellen hilft die PAS-Färbung, adenoid differenzierte Epithelzellen (Siegelringzellen, Adenokarzinomzellverbände) aufgrund ihrer Muzinproduktion zu erkennen.

Die *Versilberungsreaktion nach Gomori* ist geeignet, eine pathologische Verfaserung des Knochenmarks zu erfassen. Darüber hinaus sind knochenmarkfremde Zellinfiltrate (Lymphome, Karzinome) anhand ihres vom üblichen Knochenmarkstroma deutlich abweichenden (zumeist wesentlich dichteren) Stromas zu erkennen. Ferner ist eine quantitative Beurteilung des Verfaserungsgrades des Knochenmarkstromas (insbesondere bei myeloproliferativen Syndromen) hiermit leicht möglich.

Die *Berliner-Blau-Reaktion* gibt eine Orientierung über die Eisenverteilungssituation. Im Normalfall lässt sich innerhalb einzelner Retikulumzellen und weniger Sideroblasten eine sehr geringe Menge feingranulären Eisens im Zytoplasma nachweisen. Vor allem bei reaktiven Knochenmarkveränderungen (Infekte, Entzündungen) stellt sich zumeist eine deutliche Zunahme von Eisengranula in den Retikulumzellen und auch in den Sideroblasten dar. Insbesondere bei myeloablativen Therapien und bei erfolgter Chemotherapie ist als Zeichen des erheblich gesteigerten Zellunterganges eine hochgradige Akkumulation von Speichereisen in Makrophagen bzw. Retikulumzellen zu beobachten. Dieser Befund wird Knochenmarksiderose bezeichnet. Bei der Diagnostik von Tumorzellen und Tumorzellverbänden im Knochenmark kann diese Reaktion hilfreich sein, da epitheliale Zellen im Allgemeinen keine Eisenspeicherung aufweisen. Besondere Bedeutung erlangt die Eisenverteilung bei myelodysplastischen Syndromen bzw. Synthesestörungen der Erythrozyten und des Hämoglobins, da hier in den kernhaltigen Vorstufen ringartig angeordnete Eisengranula beobachtet werden können (Ringsideroblasten).

Für die histopathologische Beurteilung von Knochenmarkbiopsien ist die sonst in der Routinediagnostik übliche Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE) im Allgemeinen nicht sehr hilfreich, da sie keine genaue Differenzierung der einzelnen hämatopoetischen Zellreihen und suspekter knochenmarkfremder Zellen ermöglicht.

Insbesondere für den Nachweis vereinzelt im Knochenmark vorkommender bzw. weniger Tumorzellen in fibrosierten oder sklerosierten Knochenmarkarealen kann die ergänzende Durchführung von *immunhistochemischen Reaktionen* von herausragender diagnostischer Bedeutung sein. Im Allgemeinen sind es spezielle Zytokeratin-Expressionen, die eine Identifikation suspekter Zellen als epitheliale bzw. Karzinomzellen ermöglichen. Als Indikatoren für eine spezielle Zelldifferenzierung können die in den Tabellen 7-9 aufgeführten Marker eingesetzt werden.

Die Immunhistochemie

Die immunhistochemischen Färbeverfahren am formalinfixierten Gewebeschnitt sind heutzutage für den Pathologen ein unverzichtbares Werkzeug bei der Identifizierung, Charakterisierung und Differenzierung von Primärtumoren sowie von Metastasen unbekannter Herkunft geworden (KAUFMANN et al. 2002, KREMER et al. 2005, MOLL et al. 2005).

Alle Immunfärbeverfahren beruhen auf einer Antigen-Antikörper-Reaktion. Nach der Immunisierung von Tieren, meist Mäusen oder Kaninchen, mit Fremdschubstanz (Antigenen/Immunogenen) werden sowohl monoklonale als auch polyklonale Antikörper gewonnen. Der wesentliche Unterschied zwischen den monoklonalen und den polyklonalen Antikörpern besteht darin, dass die monoklonalen Antikörper eine hohe Sensitivität (Erkennung mehrerer Epitope), die polyklonalen Antikörper eine hohe Spezifität (Erkennung eines Epitops) besitzen und die Gewinnung monoklonaler Antikörper wesentlich aufwendiger ist.

In der Immunhistochemie werden im Allgemeinen unmarkierte Primärantikörper verwendet. Diese binden im Gewebeschnitt an das Antigen, gegen das sie gerichtet sind.

Das hier im Institut bevorzugte System zur Visualisierung dieser Antigen-Antikörper-Reaktion ist das Biotin-Streptavidin-System. Hierbei wird ein Markierungsenzym über einen Brückenantikörper an den Komplex von Primärantikörper-Antigen gebunden. Das Enzym produziert am Bindungsort des Komplexes nach einer Reaktion mit Substrat und Chromogen einen Farbstoff, der auf dem Gewebeschnitt präzipitiert und somit visualisiert werden kann.

Die routinemäßige Gewebefixierung in aldehydhaltigen Fixativen kann die Struktur der nachzuweisenden Antigene im Gewebeschnitt so verändern, dass der Antikörper nicht mehr oder nur schlecht bindet (Antigen-Maskierung). Um eine Demaskierung der Antigene zu erreichen und somit die Wiederherstellung der dreidimensionalen Struktur des Epitopes zu gewährleisten, werden die Präparate vorbehandelt. Hierzu gehören die Hitzevorbehandlung (thermische Antigen-Retrieval-Methode) und der enzymatische Andau (proteolytische Vorbehandlung). Die Demaskierung erfolgt direkt im Anschluss an die Deparaffinierung, vor der Inkubation mit dem Primäantikörper.

An den zytologischen Präparaten wird im Institut in Bad Saarow üblicherweise keine Immunhistochemie durchgeführt.

Die am häufigsten angewendeten Primäantikörper sind in Tabelle 7 aufgelistet.

Tabelle 7: Übersicht der angewandten Primärantikörper im Klinikum zur Auflösung initialer CUP-Fälle

Primärantikörper	Clone	Herkunft	Verdünnung	Vorbehandlung
BerEP4	Ber-EP4	DAKO	1:200	HIER ¹⁾ / Citratpuffer pH 6,0
CA125	OC125	DAKO	1:100	HIER / Citratpuffer pH 6,0
Calcitonin	CAL-3-F5	DAKO	1:50	keine
Calretinin	DAK Calret 1	DAKO	1:100	HIER / Citratpuffer pH 6,0
CDX2	AMT28	Novocastra	1:70	HIER / EDTA-Puffer pH 9,0
Chromogranin	DAK-A3	DAKO	1:150	HIER / Citratpuffer pH 6,0
CKAE1/AE3	AE1 u. AE3	DAKO	1:50	HIER / Citratpuffer pH 6,0
CK5/6	D5/16 B4	DAKO	1:50	HIER / Citratpuffer pH 6,0
CK7	OV-TL12/30	DAKO	1:100	HIER / Citratpuffer pH 6,0
CK20	K _s 20.8	Novocastra	1:100	HIER / Citratpuffer pH 6,0
CD56	CD564	Novocastra	1:50	HIER / Citratpuffer pH 6,0
CD117	57A5D8	Novocastra	1:40	HIER / Citratpuffer pH 6,0
E-Cadherin	NCH-38 ⁴	DAKO	1:50	HIER / Citratpuffer pH 6,0
ER	1D5	DCS	1:200	HIER / Citratpuffer pH 6,0
GCDFP-15	23A3	Zyted	1:40	HIER / EDTA-Puffer pH 9,0
Hepatocyte Specific Antigen	OCH1E5(4)	Novocastra	1:50	HIER / Citratpuffer pH 6,0
Ki 67	MM1	Novocastra	1:100	HIER / Citratpuffer pH 6,0
LCA	2B11 u. PD7/26(8)	DAKO	1:200	HIER / Citratpuffer pH 6,0
Mesothelin	5B2	Novocastra	1:25	HIER / Citratpuffer pH 6,0
NSE	BBS/NC/VI-H14	DAKO	1:800	HIER / Citratpuffer pH 6,0
S100	3DC	Novocastra	1:50	HIER / EDTA-Puffer pH 9,0
Synaptophysin	27G12	Novocastra	1:70	HIER / Citratpuffer pH 6,0
TTF-1	SPT24	Novocastra	1:50	HIER / Citratpuffer pH 6,0
P504S (AMACR)	polyklonal	Zyted	vorverdünnt	HIER / Citratpuffer pH 6,0
p63	4A4	SANTA CRUZ	1:500	HIER / Citratpuffer pH 6,0
PSA	PSA 28/A4	Novocastra	1:50	HIER / Citratpuffer pH 6,0
WT1	WT49	Novocastra	1:40	HIER / EDTA-Puffer pH 9,0
Vimentin	V9	DAKO	1:800	HIER / Citratpuffer pH 6,0

1) hitzeinduzierte Antigendemaskierung

Die ergänzenden Untersuchungen der zunächst ungelösten initialen CUP-Fälle in dieser Studie erfolgten in Anlehnung an den von MOLL et al. (2005) vorgeschlagenen Algorithmus.

In einer ersten, orientierenden Algorithmusstufe, die Pan-Cytokeratin, weitere ausgewählte Cytokeratine, Vimentin und CD 45 umfasst, kann eine orientierende Einteilung und Zuordnung zu einer Tumorkategorie getroffen werden (KAUFMANN et al. 2002, MOLL et al. 1992,

RUBIN et al. 2001, TOT et al. 2003, VARADHACHARY et al. 2004). In der Regel müssen nicht alle in Tabelle 8 aufgeführten 6 Antikörper der ersten Algorithmusstufe eingesetzt werden, sondern man kann sich je nach der Konstellation des jeweiligen Falles auf eine Auswahl beschränken. In einer zweiten Algorithmusstufe kann dann zumindestens eine Einengung, im Idealfall sogar eine Bestimmung des Primärtumors erreicht werden. Hier kommen zum einen selektive Marker mit hoher Organspezifität zum Einsatz (Tab. 8) und zum anderen können in dieser zweiten Algorithmusstufe Gruppenmarker eingesetzt werden, die nicht monospezifisch sind, aber in kombinierter Anwendung zur Primärtumoreinengung beitragen (Tab. 9).

Tabelle 8: Immunhistochemische Klassifizierung von metastatischen Tumoren (insbesondere Karzinomen): Erste Algorithmusstufe (aus MOLL et al. 2005)

Erste Algorithmus-Stufe zur Grobeinteilung und Zuordnung zu einer Tumorkategorie

Marker	Positive Tumoren	Negative Tumoren ¹⁾
Pan-Cytokeratine (CK)	Karzinome	Nebennierenrindenkarzinom Seminom Mesenchymale Tumoren
CK7	Adenokarzinome (die meisten) Urothelkarzinom	Kolorektales Karzinom Hepatozelluläres Karzinom Klarzelliges Nierenzellkarzinom
CK20	Kolorektales Karzinom Magenkarzinom Pankreatobiliäre Karzinome Urothelkarzinom Merkelzellkarzinom	Übrige Adenokarzinome
CK5	Platteneithelkarzinome Malignes Mesotheliom Mammakarzinom (duktal G3)	Adenokarzinome (meist)
Vimentin	Schilddrüsenkarzinome Mesotheliom Endometriumkarzinom Ovarialkarzinom (teils) Nierenzellkarzinom (nicht-chromophob) Nebennierenrindenkarzinom Seminom Mesenchymale Tumoren	Übrige Karzinome (meist)
CD45	Maligne Lymphome	Übrige Tumoren

¹⁾ Schwach positive Färbung möglich

Tabelle 9: Immunhistochemische Klassifizierung von metastatischen Tumoren (insbesondere Karzinomen): Zweite Algorithmusstufe (aus MOLL et al. 2005)

Zweite Algorithmus-Stufe zur Einengung bzw. Bestimmung des Primärtumors

Marker	Positive Tumoren
a) Selektive Marker (hoher Organspezifität)	
TTF-1	Lungenkarzinome (Adenokarzinom, kleinzelliges Karzinom), Schilddrüsenkarzinom
Thyreoglobulin	Schilddrüsenkarzinome (follikulär, papillär)
PSA	Prostatakarzinom
Uroplakin III	Urothelkarzinome
HepPar I	Hepatozelluläres Karzinom
Calretinin	Malignes Mesotheliom
b) Gruppenmarker (Auswahl)	
Östrogenrezeptor	Mammakarzinom, Endometriumkarzinom, Ovarialkarzinom (nichtmuzinös), Schweißdrüsenkarzinom
GCDFP-15	Mammakarzinom, Schweißdrüsenkarzinom, Speicheldrüsenkarzinom
Chromogranin A	Neuroendokrine Tumoren
Synaptophysin, CD 56	Neuroendokrine Tumoren
p63	Plattenepithelkarzinome, Urothelkarzinom
PLAP	Keimzelltumoren, verschiedene Adenokarzinome
CEA (CD66e)	Kolonkarzinom, Magenkarzinom, Pankreaskarzinom, Adenokarzinom der Lunge, Adenokarzinom der Cervix uteri u.a.
CA125	Ovarialkarzinom (nichtmuzinös), Endometriumkarzinom, einige andere Adenokarzinome
CA19-9	Pankreaskarzinom, Gallenwegskarzinom, andere Adenokarzinome
CDX2	Kolonkarzinom, Magenkarzinom, (Pankreaskarzinom)
AFP	Hepatozelluläres Karzinom, Keimzelltumoren (u.a.)
S100	Mammakarzinom, Ovarialkarzinom (nichtmuzinös), Endometriumkarzinom, Schweißdrüsenkarzinom, Speicheldrüsenkarzinom

3.5 Kriterien der histopathologischen und zytopathologischen Auswertung

Die folgenden Abschnitte beinhalten die Systematik und die Kriterien, die bei der Beurteilung von Aspirationspräparaten und Biopsiepräparaten im Institut für Pathologie in Bad Saarow herangezogen werden.

3.5.1 Beurteilung von Aspirationspräparaten

Von jedem Untersuchungsfall werden Ausstrichpräparate hergestellt, in dem das Aspirat in eine größere Uhrglasschale gegeben wird und nachfolgend das Ausstreichen der sedimentierten Markbröckchen in zentralen Abschnitten des Objektträgers erfolgt. Das Präparat hat somit eine zonale Gliederung: Zentrale Abschnitte beinhalten die Markbröckchen, die als originäre anatomische Strukturen des Markes gelten können. Dazwischen finden sich relativ dichte Zellrasen der frei aspirierbaren Zellen aus dem Knochenmark. Ferner sind Fettzellkomplexe aspiriert und ausgestrichen worden, die eine Abschätzung der Zellularität ergänzend ermöglichen. Periphere Anteile des Ausstrichpräparates beinhalten zumeist Zellen, die aus dem Knochenmarksinus aspiriert wurden. Von jedem Untersuchungsfall werden zwei Ausstrichpräparate mit der Pappenheim-Färbung und ein Präparat mit der Berliner-Blau-Reaktion gefärbt.

Die Auswertung beginnt mit der Feststellung der Zellausbeute. Hier wird zunächst überprüft, inwiefern Markbröckchen und Fettzellkomplexe vorhanden sind. Die Markbröckchen werden hinsichtlich ihrer optischen Dichte beurteilt. Eine tatsächliche zytomorphologische Auswertung ist nur an deren Rändern möglich, da sich nur hier etwa einschichtige Zellansammlungen darstellen. Bereits die Betrachtung der Markbröckchen gestattet eine Einschätzung, ob es sich hierbei um hämatopoetisches Gewebe mit Durchsetzung mit Fettzellen handelt oder ob beispielsweise atypische, hochgradig suspektae knochenmarkfremde Zellen vorliegen könnten. Darauf wird auch zwischen den Markbröckchen geachtet. Hier lässt sich zugleich anhand der Größe der Fettzellkomplexe und des Durchmessers der Fettzellen abschätzen, ob ein proliferativer Knochenmarkprozess mit Reduktion von Fettzellen vorliegt oder ob im Gegensatz dazu eine Zunahme von Fettzellen bei einer starken Reduktion der Hämatopoese vorliegt. Nach Beurteilung der Zellularität zwischen den Markräumen wird eine Abschätzung der Megakaryozytenanzahl, ihrer Lokalisation als Einzelzellen oder in Clustern im Bereich der Markbröckchen, ihrer Größe und Kernkonfiguration vorgenommen. Danach wird das relative

Verhältnis von Erythro- und Granulozytopoese abgeschätzt. Schließlich wird die Repräsentanz einzelner Reifungsstufen innerhalb von Erythro- und Granulozytopoese beurteilt, wobei insbesondere auf Reifungsstörungen der Erythropoese und auf den Blastenanteil der Granulozytopoese geachtet wird. Ferner wird der Anteil von vorhandenen Plasmazellen, Lymphozyten und Monozyten sowie von basophilen oder eosinophilen Zellen besonders beurteilt und auch hier hinsichtlich des Bestehens etwaiger infiltrativer Prozesse eingeschätzt. Im Zusammenhang mit der vorliegenden Untersuchung wurde insbesondere auf das Vorkommen knochenmarkfremder tumorzellverdächtiger Strukturen geachtet, deren Verteilung von sehr diskret bis massenhaft gestaltet sein kann. In der obligat angefertigten Berliner-Blau-Reaktion wird die Verteilung des Speichereisens und das Auftreten besonderer Auffälligkeiten (z. B. Ringsideroblasten) beurteilt.

3.5.2 Auswertung knochenmarkhistologischer Präparate

Die Auswertung von Schnittpräparaten von Beckenkammbiopsaten beginnt zunächst mit der Feststellung, wie groß das Biopsat ist und ob überhaupt Markräume erfasst worden sind, in denen Aussagen zur Hämatopoese und zu infiltrativ wachsenden knochenmarkfremden Zellen getroffen werden können. Unter Umständen ist die Platzierung der Punktionsnadel mit einer Gewinnung eines zwar wie ein Beckenkammzylinder imponierenden Gewebestücks verbunden. Durch eine tangentielle Position kann es sich dabei jedoch lediglich um einen aus reifem Knochengewebe bestehenden Biopsiezylinder handeln, der manchmal außerdem noch ligamentäres und muskuläres Gewebe beinhaltet. Daran ist eine Aussage zur hämatopoetischen Situation bzw. zu etwaigen Knochenmarkinfiltraten nicht möglich.

Zunächst erfolgt eine Angabe, wie viele Markräume erfasst worden sind. Im gleichen Zusammenhang kann festgestellt werden, ob diese von intakten Spongiosabälkchen umgeben werden. Auch das Vorliegen eines vermehrten Knochenabbaus oder -anbaus wird hierbei erkannt. Ferner wird die Zellularität des hämatopoetischen Gewebes – bezogen auf das Lebensalter – abgeschätzt und eine Aussage getroffen, ob es sich um ein hypo-, normo- oder hyperzelluläres Knochenmark handelt. Indirekt proportional zur Erhöhung der hämatopoetischen Zellularität verhält sich die Anzahl der Fettzellen (FRISCH et al. 1999), deren Verteilung und Größe ebenfalls beurteilt wird. Unter Ausnutzung spezieller färberischer Merkmale in den Routinefärbungen kann dann die Lokalisation der einzelnen hämatopoetischen Zellen bzw. Zellreihen beurteilt werden. Hier fällt in der Granulozytopoese bereits eine Linksverschiebung

oder eine Dominanz der terminalen Reifungsstufen (sog. Rechtsverschiebung) auf. Ferner wird eine hohe Anzahl blastärer Elemente zu identifizieren sein, für deren Zuordnung zur Granulo- oder Erythrozytopoese gelegentlich histochemische oder immunhistologische Zusatzfärbungen erforderlich sind. Ferner wird die Ausdehnung und Anordnung von Knochenmarkblutgefäßen beurteilt. Von Interesse ist auch deren Inhalt (Megakaryozyten bzw. Tumorzellen sind dabei als pathologischer Befund zu erfassen). Des Weiteren wird der Fasergehalt des Knochenmarkraumes beurteilt. Unter normalen Bedingungen ist keine Verfaserung des Markraumes feststellbar. Die Beurteilung der Verteilung des Speichereisens komplettiert die Auswertung.

Die normale topografische Verteilung der Bestandteile des Knochenmarkstromas und des Knochenmarkparenchyms wurde bereits in Abbildung 1 dargestellt.

Im Zusammenhang mit der Bearbeitung der vorliegenden Fragestellung wurden darüber hinaus folgende morphologische Merkmale beurteilt:

- Konfiguration des Knochengewebes: Erhaltungszustand der Knochen trabekel, Beurteilung des direkten Kontaktes von Knochen trabekeln und Tumorzellen; Osteoklastenaktivität und -anordnung, Art der Knochenreaktion
- Hämatopoese: Flächenausdehnung der einzelnen hämatopoetischen Zelllinien
- Veränderungen des Knochenmarkstromas: Fibrose, Eisenablagerungen, Marködem, gelatinöse Transformation, Makrophagenakkumulation und Gefäßbefund
- Vorkommen atypischer Zellen: Flächenausdehnung, Infiltrationstyp, Tumornekrosen, Anordnung der Tumorzellen und -verbände, Differenzierungsgrad des Tumors
- Tumordiagnostik: Tumoridentifizierung durch konventionelle und/oder immun-histochemische Verfahren

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchungen wurde ein spezifiziertes Erfassungsblatt für die Untersuchungsbefunde erarbeitet (Abb. 15 und 16).

Datenblatt zur Auswertung der Knochenmarkhistologie

Name des Patienten	
Befundnummer d. Histo	

1) Qualität- bzw. Erhaltungszustand des Biopsates:

gut mittelmäßig schlecht

2) Größe des Biopsates: x mm

Anzahl der Fragmente:

gut mittelmäßig schlecht

3) Knochengewebe:

Trabekel intakt rarefiziert verdickt

↙ ↘

diffus Osteolysen

verschmälert

direkter Kontakt Knochen trabekel – Tumorzellen:	ja	nein
Osteoklastenaktivität:	ja	nein
direkter Kontakt Osteoklasten – Knochen:	ja	nein
Osteoklastenanordnung:	Cluster	Zelllinien

Art der Knochenreaktion (nach Bartl): Porose/Lyse Mischform Spongiosklerose
 Geflechtknochen Fibrosklerose

4) Hämatopoese:

Flächen%.....			
Hämatopoese	reduziert	normal	vermehrt
Megakaryopoese	reduziert	normal	vermehrt
Granulopoese	reduziert	normal	vermehrt
Erythropoese	reduziert	normal	vermehrt

5) Knochenmarkstroma:

Fibrose:

0	keine Faservermehrung
1	frühe Myelofibrose
2	Myelofibrose
2.1	Retikulinfibrose
2.2	Kollagenfibrose
3	Fortgeschrittene Myelofibrose mit Knochenanbau

Eisenablagerungen:

reduziert normal vermehrt

Marködem:

fehlt fokal/gering stark

Abbildung 14: Datenblatt zur Auswertung der Knochenmarkhistologie – Teil 1

Gelatinöse Transformation:

fehlt fokal/gering stark

Makrophagenakkumulation:

fehlt gering stark

Gefäße:

normal vermehrt

6) Atypische Zellen:

Flächen %:

Infiltrationstyp:

herdförmig interstitiell diffus intrasinusoidal
mit ohne
Endothelkontakt

Spezielle Tumorzellanordnung im Markraum (trifft nur für herdförmig u. interstitiell zu):

paratrabekulär perisinusoidal perivaskulär

Tumornekrosen:

im Tumor im übrigen Knochenmark

Tumorzellanordnung (nach Bartl):

1. Mikrokolonien (Einzelzellen o. sehr kleine TM-Zellcluster)
2. zahlreiche (multiple) TM-Zellfoci mit Stroma-Induktion
3. 1 o. mehrere größere TM-Zellcluster
4. vollständiger Ersatz von Knochen- u. KM

Differenzierungsgrad des Tumors: homogen inhomogen

G1 G2 G3 G4

7) Diagnostik:

Ergebnis der konventionellen Diagnostik:

fragl. Tumor- sicherer genaue Artdiagnose
strukturen TM möglich

Immunhistochemie erforderlich zum

Tumornachweis

zur genauen Artdiagnose

Eingesetzte immunhistochemische Marker:

Foto JA/NEIN

Datenblatt zur Auswertung der Knochenmarkzytologie

Name des Patienten				
Befundnummer d. Zyto				
1) Qualität des Präparates	gut	schlecht	mittel	
2) Anzahl der Bröckel	keine	wenige	zahlreiche	
3) Zelldichte/Zellgehalt der Markbröckelchen	normal	+	++	- -
	nicht beurteilbar			
4) Megakaryopoese	normal	gesteigert	vermindert	fehlt
Erythropoese	normal	gesteigert	vermindert	fehlt
Granulopoese	normal	gesteigert	vermindert	fehlt
Monozyten	normal	gesteigert	vermindert	fehlen
Plasmazellen	normal	gesteigert	vermindert	fehlen
Lymphozyten	normal	gesteigert	vermindert	fehlen
5) Verhältnis E/G				
6) Zählung der Blasten	%			
7) Knochenmarkfremde Zellen	nein	sehr wenige	Zellgruppen	ausgedehnt
	nicht sicher beurteilbar			
8) Merkmale der knochenmarkfremden Zellen	nicht eindeutig	glandulär/adenoid	andere	
9) ist eine genaue Artdiagnose möglich??	ja	nein	nicht sicher	
10) Speichereisen	kein	wenig	normal	viel
	Beurteilung nicht möglich (Fehlen von Markbröckchen in diesen Präparaten)			

Foto JA/NEIN

Abbildung 16: Datenblatt zur Auswertung der Knochenmarkzytologie

4 Ergebnisse

4.1 Patientendaten

Eine Auswahl wichtiger anamnestischer Patientendaten ist in Tabelle 11 (S. 64) zusammengefasst.

4.1.1 Alters- und Geschlechterverteilung

In der Zeit von 1993-2006 wurden im Institut für Pathologie in Bad Saarow bei insgesamt 49 Patienten Knochenmetastasierungen festgestellt. Betroffen waren 22 Frauen und 27 Männer.

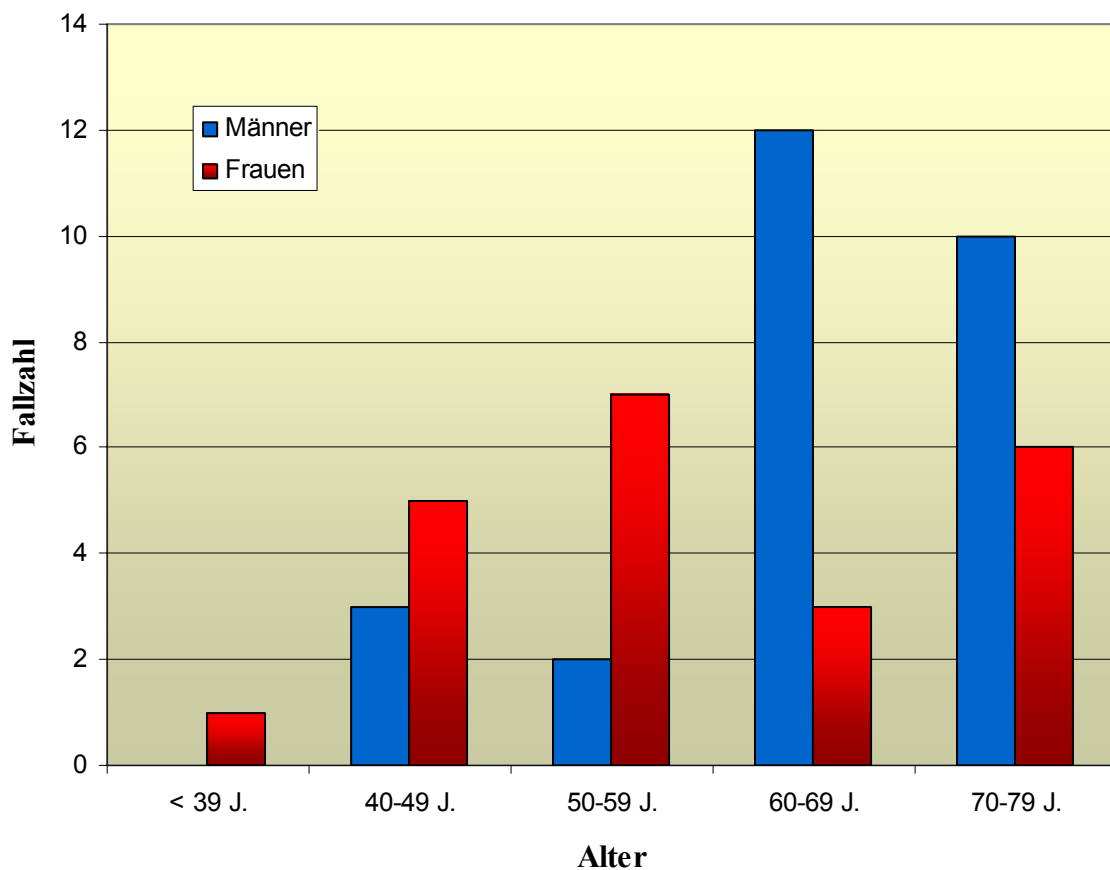


Abbildung 17: Alters- und Geschlechterverteilung der Patienten zum Zeitpunkt der Diagnose „Knochenmarkmetastasierung“, n= 49, 1993-2006

Primärtumordiagnose

Bei der Ermittlung des Durchschnittsalters zum Zeitpunkt der Primärtumordiagnose wurden nur Patienten berücksichtigt, bei denen laut Aktenlage ein genaues Diagnosedatum vorlag. Dies war bei 42 von insgesamt 49 Patienten der Fall.

Bei den 20 berücksichtigten Frauen lag das mittlere Alter zum Diagnosezeitpunkt bei 52,4 Jahren, bei den 22 Männern bei 63,5 Jahren. Der jüngste Patient war weiblich und 33 Jahre alt, der älteste war männlich und 78 Jahre alt.

Diagnose der Knochenmarkmetastasierungen

Bei der Ermittlung des Durchschnittsalters zum Zeitpunkt der Diagnose „Knochenmarkmetastasierung“ konnten aufgrund der vollständigen Datenlage alle 49 Patienten berücksichtigt werden.

Das mittlere Alter der Patienten zum Diagnosezeitpunkt lag bei den Frauen bei 58 Jahren und bei den Männern bei 65,4 Jahren.

Der jüngste Patient war weiblich und 34 Jahre alt, der älteste war männlich und 79 Jahre alt.

Bei den Männern wurde sowohl die Primärtumordiagnose als auch die Diagnose einer Knochenmarkmetastasierung am häufigsten in einem Alter von 60 bis 69 Jahren gestellt, bei den Frauen in einem Alter von 50 bis 59 Jahren.

Ohne nach Geschlechtern zu differenzieren gehörten die meisten Patienten (ca. 33 %) der Altersgruppe von 70 bis 79 Jahren an.

4.1.2 Zeitlicher Abstand zwischen der Primärtumordiagnose und der Diagnose „Knochenmarkmetastasierung“

Die Abbildung 18 verdeutlicht, dass bei einem großen Teil der Patienten (ca. 41 %) die Diagnose „Knochenmarkmetastasierung“ vor der Primärtumordiagnose erfolgte. Dazu gehören die sogenannten initialen CUP-Fälle.

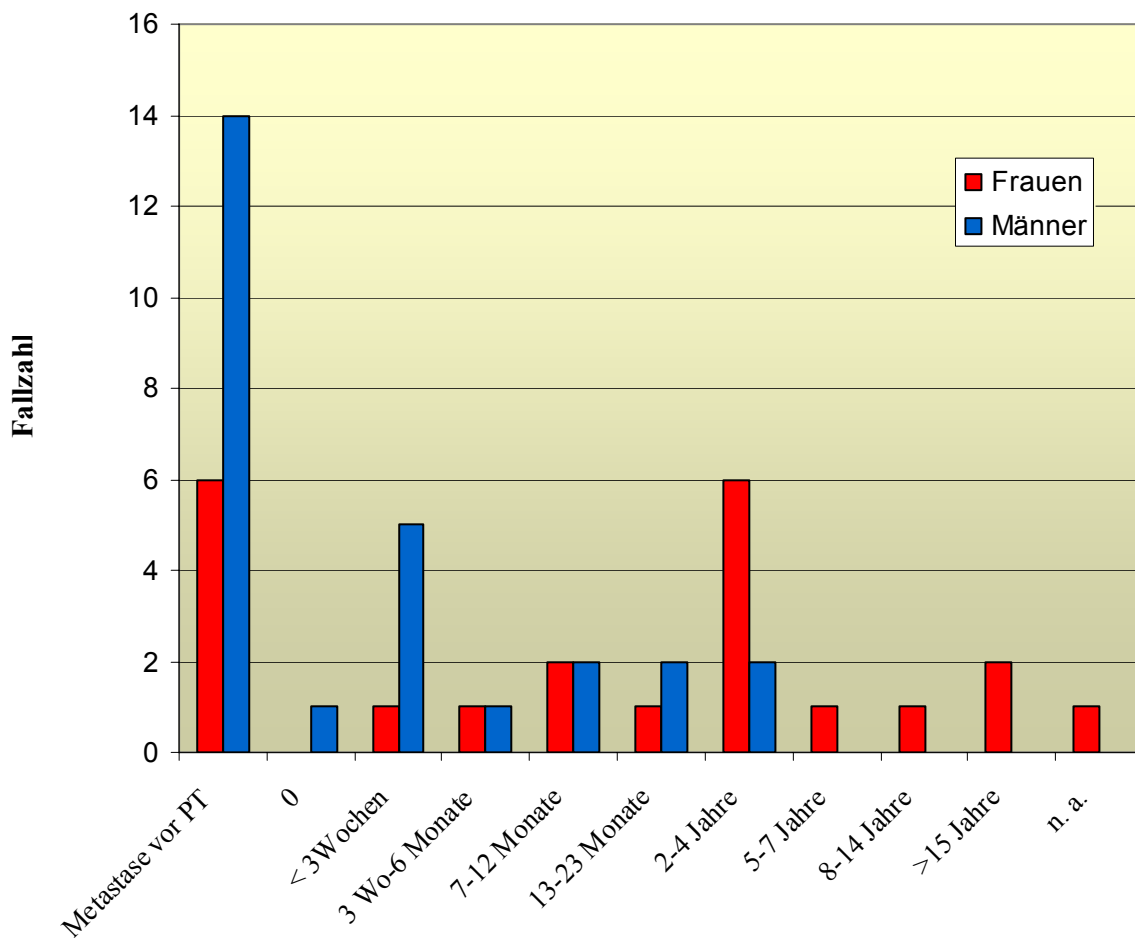


Abbildung 18: Zeitlicher Abstand zwischen der Primärtumordiagnose und der Diagnose einer Knochenmarkinfiltration aufgeschlüsselt nach Geschlecht

Tabelle 10: Zeitlicher Abstand zwischen der Primärtumordiagnose und der Diagnose einer Knochenmarkinfiltration aufgeschlüsselt nach Tumorarten

Zeitlicher Abstand	Primärtumorarten						
	BroCa	MaCa	ProCa	Urothel	GIT	Pankreas	Leber
Metastase vor PT	4	3	6	2	3	1	1
zeitgleich	1						
<3 Wochen	3	1	1		1		
3 Wo-6 Monate	2						
7-12 Monate		1	2	1			
13-23 Monate			1	1	1		
2-4 Jahre		5	1	1	1		
5-7 Jahre		1					
8-14 Jahre		1					
>15 Jahre		2					
n. a.		1					

4.1.3 Überlebensrate und Alter der Verstorbenen

31 der 49 (= 63 %) an einer Knochenmarkinfiltration leidenden Patienten sind bis zum heutigen Zeitpunkt (Stand Februar 2008) verstorben. Acht der verstorbenen Patienten wurden seziiert. Für die weiteren 18 Patienten sind keine Follow-up-Ergebnisse zu eruieren.

Der jüngste verstorbene Patient mit Knochenmarkbefall war weiblich und 34 Jahre alt. Der älteste Patient war männlich und 79 Jahre alt.

Im Durchschnitt starben die Frauen des Patientenkollektivs mit Knochenmarkinfiltration im Alter von 52,6 Jahren und die Männer im Alter von 63,7 Jahren (mittleres Alter).

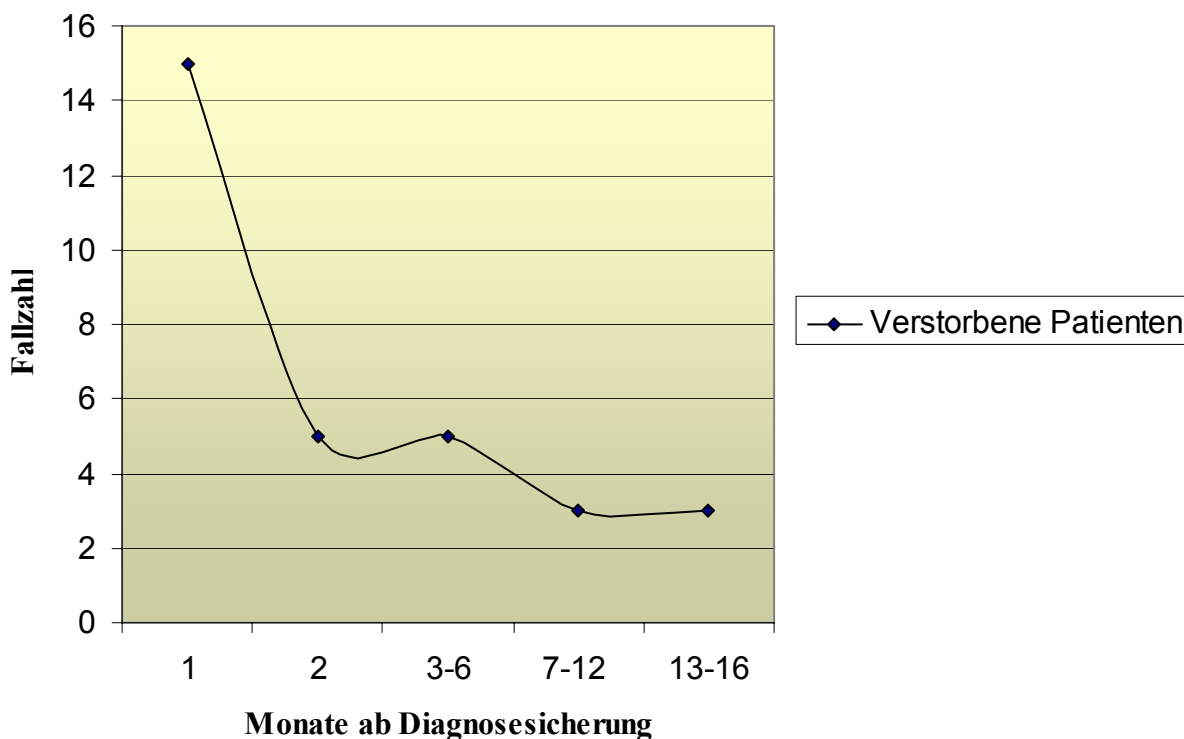


Abbildung 24: Beobachtetes Überleben der Patienten (n=31) nach Diagnosesicherung einer Knochenmarkmetastasierung

4.1.4 Paraklinische und klinische Zusatzbefunde

Unter Einbeziehung der Begleitblätter (Abb. 9-11) ließen sich für die Patienten folgende Symptome eruieren:

- 1) Insgesamt litten 33 von 49 betroffenen Patienten (= 67 %) an einer Anämie, 20 (= 41 %) an einer Thrombopenie, 10 (= 20 %) an einer Panzytopenie.
- 2) Von den 49 Patienten wurden 19 zum Zeitpunkt der Knochenmark- und Blutuntersuchung bereits therapiert. Dabei wurde bei 14 Patienten eine Anämie angegeben, bei 12 eine Thrombopenie, bei 10 eine Panzytopenie. Bei den angegebenen Therapien handelte es sich um Strahlen- und Chemotherapie mit knochenmark-suppressiver Wirkung.
- 3) Bei 25 Patienten fand zum Zeitpunkt der Knochenmarkdiagnostik keine Therapie statt bzw. war ein Patient zum Zeitpunkt der Diagnostik bereits verstorben (Autopsiefall).
- 4) Ein Gewichtsverlust war bei 10 (= 20 %) Patienten angegeben, ein herabgesetztes Allgemeinbefinden bei 19 (= 39 %), Knochenschmerzen bei 11 (= 22,5 %).
- 5) Bei 7 Patienten (= 14,5 %) wurde eine B-Symptomatik (Nachtschweiß, Gewichtsverlust, Fieber) angegeben.
- 6) An pathologischen Frakturen litten 4 Patienten (= 8 %).
- 7) In 16 Fällen (= 32,5 %) wurde ein erhöhter Kalziumspiegel im Blut diagnostiziert.

4.2 Tumoranamnese

4.2.1 Primärtumorarten

Die 49 metastasierenden Primärtumoren sind unterschiedlichen Organlokalisationen zuzuordnen (Abb. 19). Die 15 Mammakarzinome, die ausschließlich bei Frauen auftraten, unterteilen sich weiter in 5 invasiv-duktales und 6 invasiv-lobuläre Mammakarzinome. Bei 4 Patientinnen mit Mammakarzinom wurde keine genaue Unterteilung vorgenommen.

Bei den 10 Bronchialkarzinomen handelte es sich in 7 Fällen um kleinzellige Bronchialkarzinome und in 3 Fällen um Adenokarzinome.

Die 5 Tumoren des Gastrointestinaltraktes waren in 2 Fällen Siegelringzellkarzinome und in 3 Fällen Adenokarzinome.

In 11 Fällen handelte es sich um Prostatakarzinome. In jeweils einem Fall wurde der Primärtumor im Pankreas bzw. in der Leber gefunden.

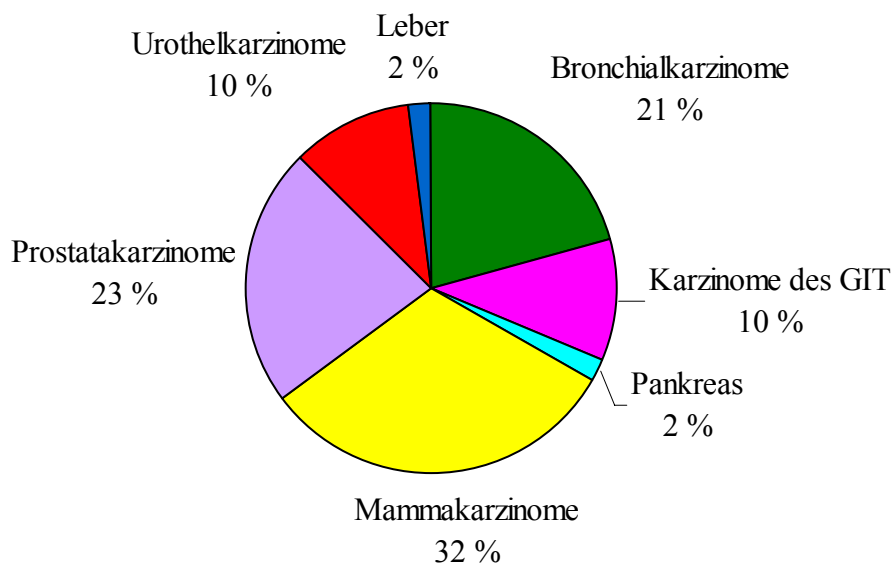


Abbildung 19: Häufigkeit und Verteilung der Primärtumoren

4.2.2 Das T-Stadium

Eine TNM-Klassifikation der metastasierenden Tumoren konnte bei 25 Patienten vorgenommen werden, bei 24 Patienten („n. a.“ bzw. „TX“) war dies nicht möglich (siehe Tab. 11).

Die metastasierenden Mammakarzinome befanden sich zu gleichen Teilen in der T1/T2- und T3/T4-Gruppe mit jeweils 4 Fällen. In 7 Fällen wurden keine näheren Angaben gemacht. Die Gruppe der Prostatakarzinome rekrutierte sich ausschließlich aus der Gruppe der T3- (n=5) und T4- (n=3) Stadien. In 3 Fällen wurden keine näheren Angaben gemacht.

In der Gruppe der kleinzelligen Lungentumoren befand sich ein Tumor in der T2- und zwei Tumoren in der T4-Gruppe. Zu den Stadien der Adenokarzinome der Lunge wurden keine Angaben gemacht. Die Urothelkarzinome befanden sich zum Zeitpunkt der Metastasierung zweimal im T4-Stadium und einmal im T3-Stadium.

Wie das folgende Diagramm veranschaulicht, befand sich die Mehrheit aller Tumoren in den T3- und T4-Stadien (Abb. 20).

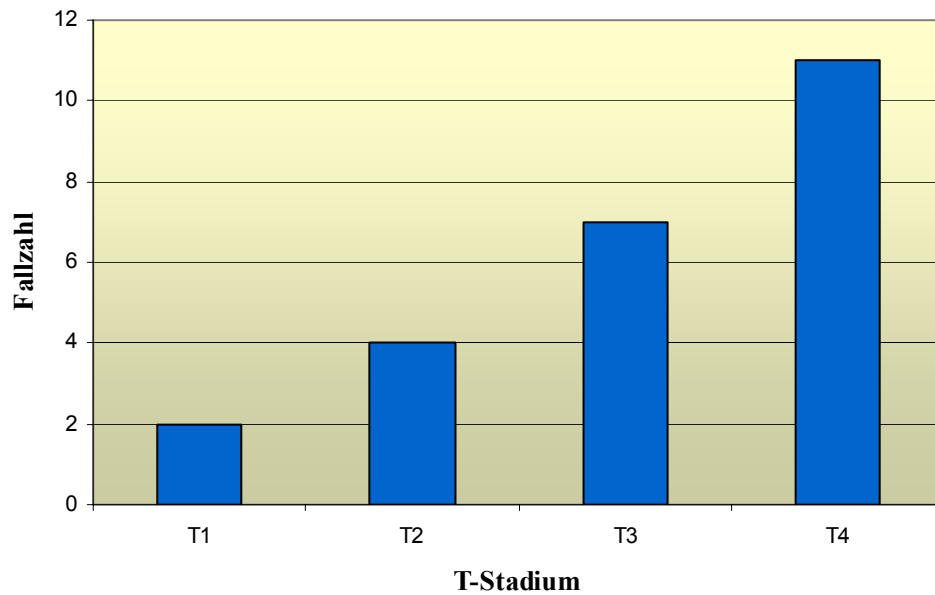


Abbildung 20: Verteilung der Primärtumoren nach Tumorgroße

4.2.3 Histopathologisches Grading des Primärtumors und der Knochenmarkmetastasen

In 31 Fällen (= 63 %) wurde ein Grading des Primärtumors angegeben. Das Grading der Metastasen konnte in 45 Fällen (= 92 %) zur Auswertung herangezogen werden. In 4 Fällen fehlte diese Angabe.

Die Verteilung und Häufigkeit der Tumoren bzw. Metastasen, aufgeschlüsselt nach dem Differenzierungsgrad, verdeutlichen die Abbildungen 21 und 22.

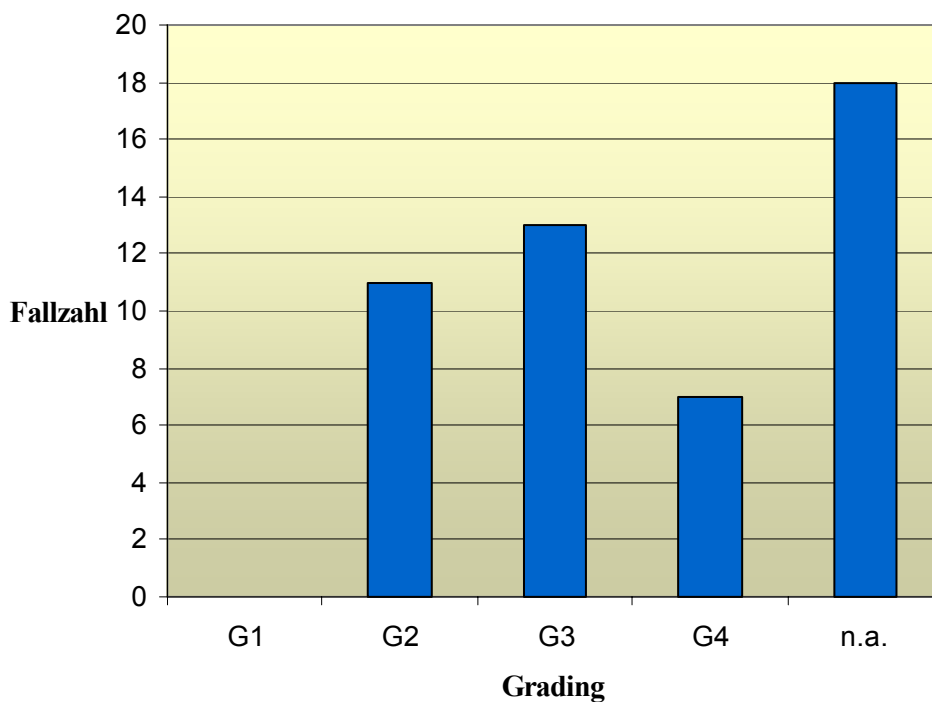


Abbildung 21: Histopathologisches Grading der metastasierenden Primärtumoren

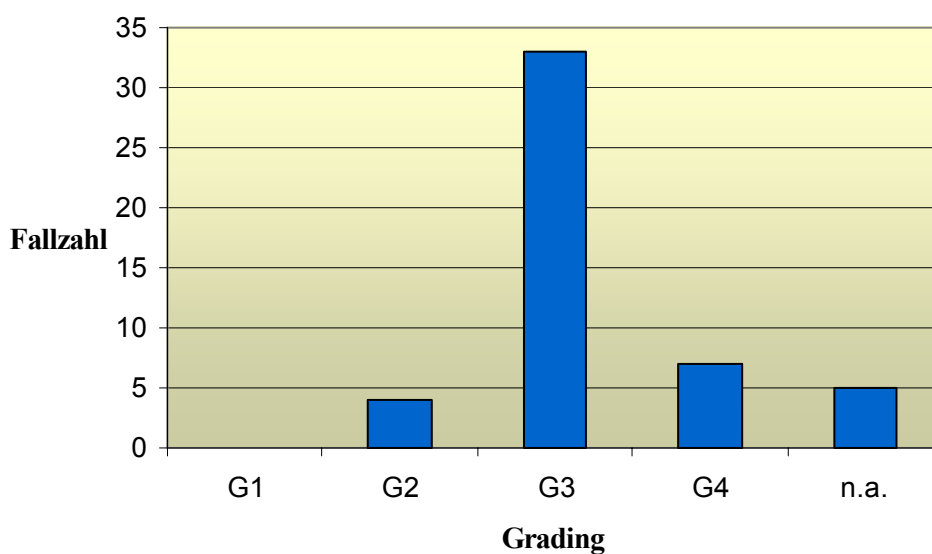


Abbildung 22: Histopathologisches Grading der Metastasen im Knochenmark

Die Unterschiede hinsichtlich des Gradings des Primärtumors und seiner Metastase werden in Abbildung 23 deutlich. In 14 Fällen gab es eine Übereinstimmung (= 28,6 %), in 16 Fällen gab es keine Übereinstimmung (32,7 %) und in 19 (38,7 %) Fällen fehlen die für eine Zuordnung erforderlichen Angaben.

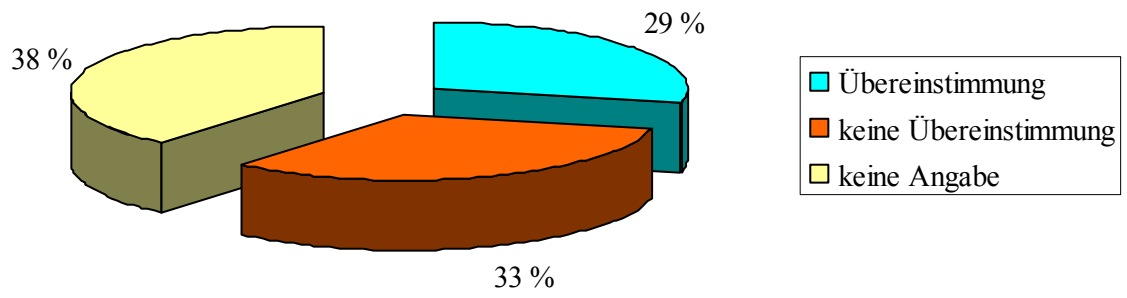


Abbildung 23: Übereinstimmung zwischen dem Grading des Primärtumors und seiner Knochenmarkmetastase

Tabelle 11: Anamnestische Daten der Patienten

Patient	Geschlecht	geboren	Erstdiagnose des Primärtumors	Erstdiagnose des Knochenmarkbefalls	gestorben	Tumor	Grading Primärtumor	Grading Metastase	ICD-O ²⁾	TNM
B.H.	♀	16.08.1959	10.04.2003	15.04.2003	15.01.2004	MaCa ³⁾	2	n.a.	8520/6	cT4d cNx pM1
C.K.	♀	22.03.1924	1986	25.02.2002		MaCa ³⁾	3	3	8500/6	n.a.
E.U.	♀	29.06.1961	06.2004	23.07.2004	15.08.2004	BroCa ⁴⁾	4	4	8041/6	n.a.
E.H.	♂	19.08.1938	16.08.2000	08.08.2000	05.01.2001	ProCa ⁵⁾	3	3	8140/6	n.a.
G.J.	♂	05.04.1927	09.2005	19.08.2005		ProCa ⁵⁾	3	2	8140/6	cT3 N1 M1
G.H.	♂	06.12.1948	14.01.1993	11.01.1993	13.01.1993	BroCa ⁴⁾	3	3	8041/6	pT4 N3 M1
G.H.	♂	23.08.1932	1994	08.06.2001	29.08.2001	ProCa ⁵⁾	n.a.	n.a.	8041/6	n.a.
G.G.	♀	20.06.1930	1984	13.10.1993	22.10.1993	MaCa ³⁾	n.a.	2	n.a.	n.a.
G.H.	♂	01.08.1936	1)	26.09.2000	04.10.2000	BroCa ⁴⁾	n.a.	3	8140/6	n.a.
H.J.	♀	17.08.1953	1994	09.07.1996	29.12.1996	GIT ⁶⁾	n.a.	n.a.	8490/6	n.a.
H.H.	♂	16.02.1929	01.02.2002	04.02.2002		BroCa ⁴⁾	n.a.	2	8140/6	n.a.
H.M.	♀	26.07.1968	03.2002	05.02.2003	14.03.2003	MaCa ³⁾	3	3	8520/6	pT4 pN3 pM1
H.S.	♀	16.12.1927	17.01.2004	16.01.2004		BroCa ⁴⁾	n.a.	3	8140/6	n.a.
H.A.	♀	07.05.1952	10.1993	02.07.1997	08.09.1997	MaCa ³⁾	3	3	8500/6	pT2 p N0 pM1
J.H.-J.	♂	13.08.1930	1998	24.08.2001		ProCa ⁵⁾	n.a.	3	8140/6	n.a.
K.G.	♀	22.12.1948	2002	29.11.2006		MaCa ³⁾	n.a.	3	8500/6	n.a.
K.H.-J.	♂	07.05.1940	03.11.1999	02.11.1999		ProCa ⁵⁾	2	3	8140/6	cT3b N0 M1
K.I.	♀	27.04.1932	1)	05.07.2002	25.08.2003	Urothel(Ca ⁷⁾)	n.a.	4	8120/6	Tx cN0 pM1
K.M.	♀	07.03.1931	1)	22.04.2001		MaCa ³⁾	n.a.	3	n.a.	n.a.
K.D.	♀	13.03.1924	08.09.1997	26.08.1999		Urothel(Ca ⁷⁾)	3	2	8120/6	T4 Nx M1
L.W.	♂	26.03.1931	04.08.1999	20.09.2002	26.09.2002	Urothel(Ca ⁷⁾)	3	3	8130/6	pT3a pN2pM1
L.P.	♂	22.01.1952	11.1998	20.05.1999	26.05.1999	BroCa ⁴⁾	4	3	8041/6	n.a.
L.M.	♀	02.11.1919	n.a.	15.12.1994		MaCa ³⁾	3	3	n.a.	n.a.
L.I.	♂	20.08.1959	20.04.2005	11.04.2005	19.07.2005	GIT ⁶⁾	3	4	8140/6	pT4 N3 M1
L.D.	♂	03.12.1941	19.10.2004	03.09.2004	17.10.2004	BroCa ⁴⁾	4	4	8041/6	pTx N1 M1
M.L.	♂	20.05.1932	1)	30.10.2003	20.12.2003	LeberCa ⁸⁾	n.a.	4	8170/6	Tx Nx M1
M.G.	♂	13.08.1936	09.11.2005	28.11.2005	10.03.2006	GIT ⁶⁾	3	3	8490/6	pT2a pN1 pM1
M.K.	♂	19.07.1932	1)	30.06.2005		PankrCa ⁹⁾	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
M.B.	♂	31.01.1931	11.02.1998	13.02.1998		BroCa ⁴⁾	4	3	8041/6	M1
M.H.	♂	26.10.1920	1)	05.04.2000	22.06.2000	GIT ⁶⁾	n.a.	3	n.a.	n.a.
N.W.	♂	08.05.1937	02.04.2001	30.03.2001	15.04.2002	ProCa ⁵⁾	2	3	8140/6	pT3-4 cNx cM1
N.R.	♀	11.04.1935	02.1994	13.12.2000		MaCa ³⁾	2	3	8500/6	pT2 pN0 pM1
P.H.	♂	16.08.1935	02.1997	31.01.1997	26.02.1997	GIT ⁶⁾	3	3	8140/6	pT4 pN2 pM1

Tabelle 11: Anamnestische Daten der Patienten (Fortsetzung)

Patient	Geschlecht	geboren	Erstdiagnose des Primärtumors	Erstdiagnose des Knochenmarkbefalls	gestorben	Tumor	Grading Primärtumor	Grading Metastase	ICD-O ²⁾	TNM
R.K.	♂	14.09.1940	1)	27.01.2004	18.02.2004	UrothelCa ⁷⁾	n.a.	2	n.a.	n.a.
S.A.	♂	23.01.1939	05.1993	21.02.1995	22.04.1995	GIT ⁶⁾	n.a.	3	8140/6	n.a.
S.E.	♂	15.09.1928	22.03.2003	21.03.2003	14.07.2004	ProCa ⁵⁾	2	3	8140/6	pT4 Nx M1
S.H.	♂	07.09.1939	09.2006	20.10.2006		ProCa ⁵⁾	4	3	8140/6	cT4 pM1
S.U.	♀	05.05.1942	1994	05.11.1997	16.11.1997	MaCa ³⁾	n.a.	3	n.a.	n.a.
S.H.	♂	22.09.1928	04.1995	23.12.1996	12.01.1997	ProCa	2	3	8140/6	pT3 cN1 pM1
S.A.	♀	19.09.1950	06.1995	31.05.1995		MaCa ³⁾	n.a.	3	n.a.	n.a.
S.G.	♂	19.08.1939	06.2005	05.05.2006	14.01.2007	ProCa ⁵⁾	3	3	8140/6	T3b pN1 pM1
W.R.	♀	28.06.1943	01.2000	10.01.2001	23.01.2001	UrothelCa ⁷⁾	2	3	8120/6	pT4a N2 pM1
W.G.	♀	10.01.1937	04.2000	18.06.2002	29.10.2002	MaCa ³⁾	2	3	8520/6	pT1c pN1biii M1
W.C.	♀	27.10.1937	08.1996	16.07.1996	29.04.1997	BroCa ⁴⁾	4	4	8041/6	cT2 cN0 cM1
W.R.	♀	15.10.1952	08.2004	15.09.2004		MaCa ³⁾	n.a.	3	8520/6	n.a.
W.E.	♀	10.02.1944	02.1997	15.06.2000	07.07.2000	MaCa ³⁾	2	3	8520/6	pT3 pN1biv M1
W.W.	♂	03.12.1929	25.08.2000	24.08.2000		ProCa ⁵⁾	2	3	8140/6	pT3 Nx M1b
W.A.	♀	09.12.1949	12.1990	10.11.2005		MaCa ³⁾	2	3	8520/6	pT1p N1 cM1
W.H.-J.	♂	30.12.1929	08.03.2004	24.03.2004	06.04.2004	BroCa ⁴⁾	4	4	8041/6	cT4 cN3 M1

1) Initiale CUP-Fälle, die sich im Rahmen dieser Studie mit Hilfe der IHC identifizieren ließen

2) ICD-O M

8041/6 = Metastase eines invasiven kleinzelligen Karzinoms

8120/6 = Metastase eines Urothelkarzinoms o.n.A.

8130/6 = Metastase eines papillären Urothelkarzinoms

8140/6 = Metastase eines Adenokarzinoms

8170/6 = Metastase eines invasiven hepatozellulären Karzinoms

8490/6 = Metastasen eines Adenokarzinoms, Siegelringzelltyp

8500/6 = Metastase eines invasiven duktales Karzinoms

8520/6 = Metastase eines invasiven lobulären Karzinoms

3) MaCa = Mammakarzinom

4) BroCa = Bronchialkarzinom

5) ProCa = Prostatakarzinom

6) GIT = Karzinom des Gastrointestinaltrakts

7) UrothelCa = Karzinom des Urogenitaltrakts

8) LeberCa = Leberkarzinom

9) PankrCa = Karzinom des Pankreas

4.2.4 Auftreten von Zweittumoren

Bei lediglich 2 Patienten wurden Zweittumoren dokumentiert. Es handelte sich hierbei um einen weiblichen und einen männlichen Patienten.

Bei der Patientin (K.M.) wurde bereits vor der Diagnose einer Knochenmarkmetastasierung sowohl ein Mammakarzinom als auch ein kolorektales Karzinom festgestellt. Erst die immunhistochemischen Untersuchungen am Beckenkammzylinder führten zu dem Ergebnis, dass die Metastasen im Knochen von einem Mammakarzinom stammten und nicht wie zunächst angenommen von dem klinisch manifesten kolorektalen Karzinom ausgingen.

Bei dem männlichen Patienten (L.D.) wurden 2 Tumoren gefunden. Neben dem für die Knochenmarkmetastasierung verantwortlichen neuroendokrinen Bronchialkarzinom wurde im Rahmen der Autopsie auch ein Prostatakarzinom entdeckt.

4.3 Effizienz der eingesetzten diagnostischen Verfahren

Im Untersuchungszeitraum wurden zur Beurteilung der Hämatopoese insgesamt 9334 Knochenmarkproben zur zytologischen Untersuchung (dazu zählen sowohl Knochenmarkaspirate als auch Abtupfpräparate) eingesandt. Im gleichen Zeitraum wurden 8391 Beckenkammbiopsien untersucht.

Die Untersuchungsaufträge konzentrierten sich überwiegend auf die Abklärung von Anämien, Zytopenien und auf die Beurteilung einer Knochenmarkinfiltration bei anderenorts gesicherten hämatologischen Systemerkrankungen und entsprechender Therapieeffekte.

Nur sehr wenige Fälle in dem insgesamt umfangreichen und weit gefächerten Untersuchungsspektrum betrafen Fragestellungen nach einer Knochenmarkmetastasierung oder ergaben eine solche im Ergebnis der jeweiligen Probenuntersuchung.

Bei lediglich 38 Fällen (= 0,21 % aller Untersuchungsfälle bzw. 0,41 % der zytologisch untersuchten Fälle) wurde klinischerseits nach einer Knochenmarkmetastasierung gefragt bzw. diese (als bislang unbekannter Befund) im Ergebnis der zytologischen Untersuchung festgestellt. Für die Histologie wurden bei 43 Beckenkammbiopsaten (= 0,24 % aller Untersuchungsfälle bzw. 0,51 % der histologisch untersuchten Fälle) eine Knochenmarkmetastasierung festgestellt.

Insgesamt handelte es sich um 49 betroffene Patienten mit der Diagnose Knochenmarkmetastasierung, von denen bei 41 Patienten sowohl ein Knochenmarkaspirat als

auch ein Beckenkammzylinder in einer Sitzung aus dem Beckenkamm gewonnen wurde. Bilateral wurde nie biopsiert.

Bei 31 Patienten (von 41 korrespondierenden Paaren) lag eine diagnostische Übereinstimmung zwischen positivem Beckenkammbiopsiebefund und korrespondierendem Aspirat vor.

In 7 Fällen gab es keine Übereinstimmung. Hier war der Beckenkammbefund positiv und der Befund des Aspirats bzw. des Abtupfpräparates negativ. In nur einem der zytologischen Präparate war es möglich, eine genaue Artdiagnose zu stellen. Hierbei handelte es sich um ein kleinzelliges Bronchialkarzinom.

4.4 Indikation der Knochenmarkuntersuchung

Die Indikationen für eine Knochenmarkuntersuchung lassen sich im Zusammenhang mit der eigenen Aufgabenstellung (Untersuchung von Knochenmarkkarzinosen) auf wenige klinische Konstellationen reduzieren:

1. Die sogenannten initialen CUP-Fälle

Im eigenen Untersuchungsmaterial war diese klinische Konstellation in 19 Fällen gegeben. Hier wurde versucht, die Lokalisation des Primärtumors mithilfe der Beckenkammdiagnostik zu klären.

2. In 30 Fällen war der Primärtumor bereits bekannt.

Dieser wurde meistens bereits durch chirurgische, chemotherapeutische oder strahlentherapeutische Interventionen behandelt. Anlass zur Knochenmarkuntersuchung war häufig die letztlich eintretende Anämie oder Zytopenie, deren Ursache klinischerseits nicht genau zu deuten war.

3. In 2 Fällen sind Zweittumoren diagnostiziert worden, sodass die Knochenmarkdiagnostik bei dieser klinischen Konstellation darüber Aufschluss geben sollte, von welchem der Tumoren die Knochenmarkkarzinose herrührt.

4.5 Die Auswertung der zytologischen Präparate

4.5.1 Blastäre Zellen

In 22 von 38 Ausstrichpräparaten traten blastäre Zellen nicht-hämatopoetischen Ursprungs auf. Diese sind verdächtig, Zellen eines Karzinoms zu sein. In 16 Ausstrichpräparaten traten keine blastären Zellen auf.

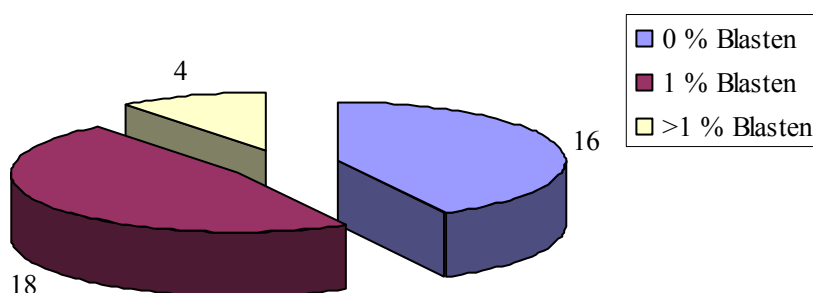


Abbildung 25: Häufigkeit und Auftreten blastärer Zellen in den Ausstrichpräparaten

4.5.2 Beurteilung der Hämatopoese

Wenn keine Markbröckchen aspiriert wurden, war die Zellularität in allen Fällen nicht beurteilbar (in 18 Fällen).

Wenn nur wenige Markbröckchen aspiriert wurden (in 4 Fällen) war die Zelldichte + bis ++ (leicht bis stark erhöht).

In 16 Fällen wurde eine ausreichende Menge an Markbröckel aspiriert. In 94 % dieser Fälle war die Zellularität ++ (stark erhöht).

Die Veränderungen in der Hämatopoese betrafen Megakaryopoese, Erythropoese und Granulopoese in unterschiedlichem Ausmaß.

Die Ansammlung der Plasmazellen und Lymphozyten im Ausstrichpräparat korrelierte miteinander und verändert sich gleichermaßen.

In 16 Fällen fehlten diese Zelllinien in den Aspirationspräparaten.

In keinem Fall fand sich eine Erhöhung beider Zelllinien.

In keinem Fall fand sich eine normale Zellzahl.

In 6 Fällen konnten die Aspirationspräparate unter diesem Gesichtspunkt nicht beurteilt werden.

4.5.3 Das Verhältnis Erythropoese/Granulopoese

Bei 19 von 38 zytologischen Präparaten war das Verhältnis von Erythropoese zu Granulopoese nicht sicher beurteilbar. In der anderen Hälfte der Fälle lag eine Verschiebung zugunsten der Granulopoese in unterschiedlichem Ausmaß vor (Abb. 26).

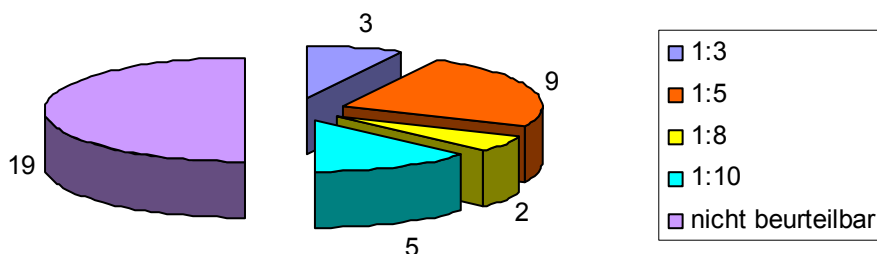


Abbildung 26: Häufigkeitsverteilung des Verhältnisses Erythropoese/Granulopoese in den Ausstrichpräparaten

4.5.4 Knochenmarkfremde Zellen

Die Befunde bezüglich der Infiltration knochenmarkfremder Zellen in Aspirationspräparaten veranschaulicht Abbildung 27. In 7 Fällen konnten keine knochenmarkfremden Zellen gefunden werden.

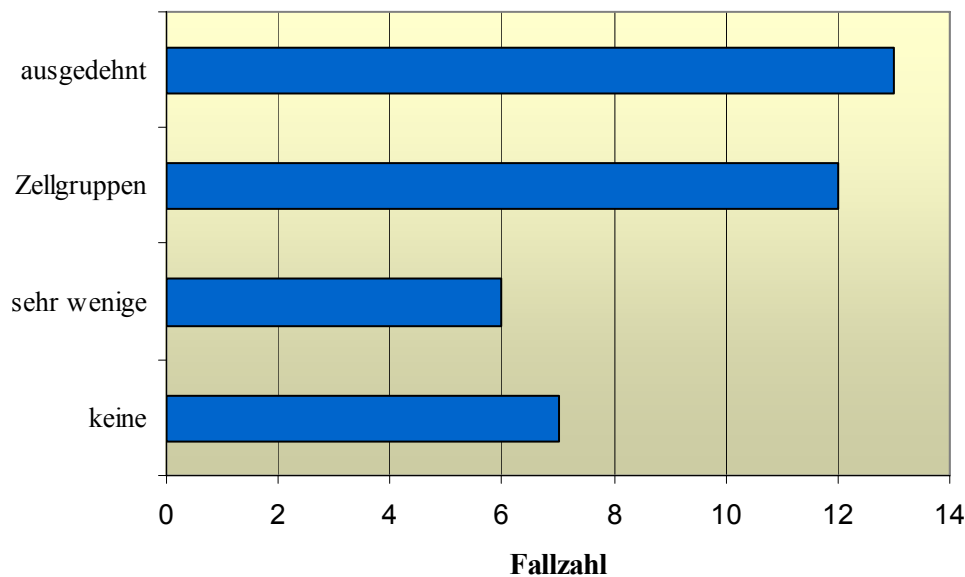


Abbildung 27: Anordnung der Tumorzellgruppen in den knochenmarkzytologischen Präparaten

Wie Abbildung 28 verdeutlicht, konnte in der Mehrzahl der Fälle anhand der Ausstrichpräparate keine eindeutige Zuordnung der knochenmarkfremden Zellen zu einem Tumortyp erfolgen. In ca. ¼ der Fälle war eine genaue Zuordnung in glanduläre/adenoide Formationen möglich. Anhand der Abtupfpräparate (n= 8) konnte in keinem Fall eine Zuordnung vorgenommen werden.

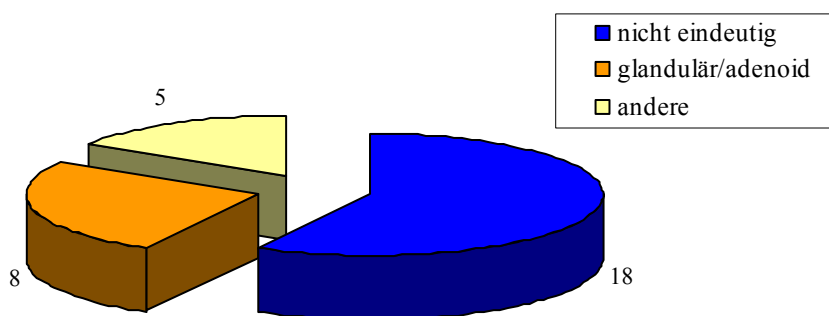


Abbildung 28: Zuordnung der Tumorzellen in Aspirationspräparaten zu einem Tumortyp

Lediglich in einem Fall konnte anhand des knochenmarkzytologischen Präparates eine genaue Artdiagnose gemacht werden. Es handelte sich hierbei um ein kleinzelliges Bronchialkarzinom.

4.5.5 Speichereisen

Eine Übersicht über die Verteilung des Speichereisens im Knochenmark veranschaulicht Tabelle 12.

Tabelle 12: Häufigkeit des Auftretens von Speichereisen in den Ausstrichpräparaten

Menge an Speichereisen	Fallzahl
kein Speichereisen	10
wenig Speichereisen	1
normal	0
viel Speichereisen	13
keine Beurteilung möglich	14

In 10 Fällen (26 %) war kein Speichereisen nachweisbar. 13 Fälle (34 %) zeigten ein vermehrtes Speichereisen. In 14 Fällen (37 %) war keine Beurteilung möglich, weil die hier anzutreffenden Zellverbände Tumorzellen waren, in deren Stroma in der Regel kein Speichereisen enthalten ist.

4.6 Die Auswertung der histologischen Präparate

Die Qualität und der Erhaltungszustand der insgesamt 43 Biopsate waren in 40 Fällen gut, in 2 Fällen mittelmäßig und in nur einem Fall schlecht. Die Anzahl und die flächenmäßige Ausdehnung der Fragmente war in allen Fällen gut.

Der kleinste Biopsiezylinder hatte eine Fläche von 6 x 4 mm, der größte Biopsiezylinder eine Fläche von 38 x 4 mm.

4.6.1 Flächenanteil der Tumorzellen

Die quantitative Flächenausdehnung der Tumorzellen in den untersuchten Biopsaten belief sich zwischen weniger als 20 und 95 % (Tab. 13).

Tabelle 13: Anzahl und Häufigkeit der durch Tumorzellen eingenommenen Fläche in den Biopsiezylindern

Fläche in %	bis 20 %	bis 40 %	bis 60 %	bis 80 %	bis 95 %
Anzahl	12	6	8	6	10

4.6.2 Das Knochengewebe

Die Abbildung 29 verdeutlicht, dass es sich in den untersuchten Präparaten fast ausschließlich um osteolytische Prozesse handelte.

In 37 Fällen (86 %) wurde ein direkter Kontakt zwischen Knochen trabekel und Tumorzellen beobachtet, in 4 Fällen (9 %) fehlte dieser. In 32 Fällen (74 %) wurde ein direkter Osteoklasten-Knochenkontakt verifiziert, in 9 Fällen (21 %) nicht. In den 9 Fällen, in denen kein direkter Osteoklasten-Knochenkontakt bestand, waren auch die Trabekel intakt.

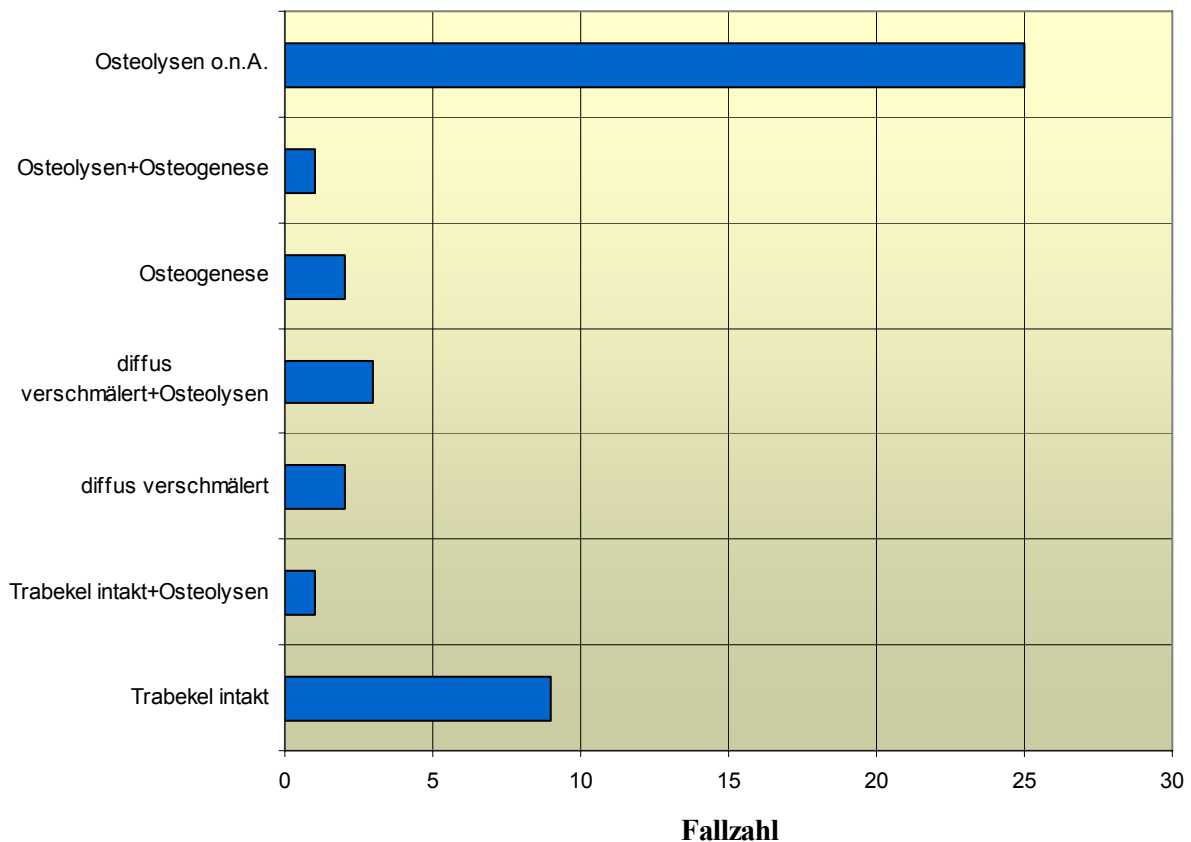


Abbildung 29: Zustandsformen des Knochens in den Präparaten mit Knochenmarkinfiltration

4.6.3 Art der Knochenreaktion

Die Art der durch die Tumorerinfiltration induzierten Knochenreaktionen ist in Abbildung 30 dargestellt. Es dominierte eine Porose bzw. Lyse des ortsständigen ossären Trabekelwerks. Ferner wurden Fibro- und Spongiosklerosen, die Ausbildung von Geflechtknochen und Mischformen festgestellt.

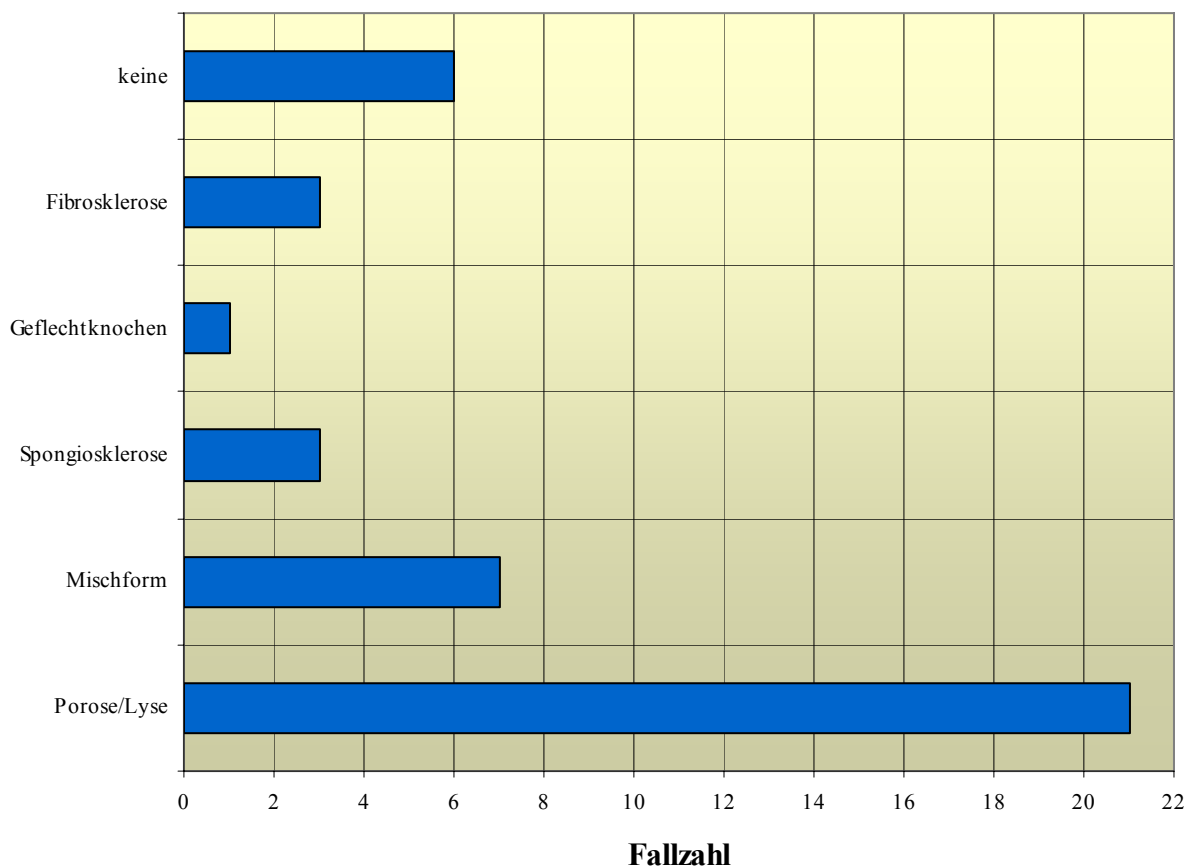


Abbildung 30: Durch die Metastasen verursachte Art der Knochenreaktion

4.6.4 Das Knochenmarkstroma

Eine Verfaserung des Knochenmarkstromas war in 23 Fällen (54 %) feststellbar. Die speziellen Ausprägungen der entsprechenden Veränderungen des Knochenmarkstromas zeigt Abbildung 31. In 10 Fällen (23 %) konnte keine Fibrose festgestellt werden.

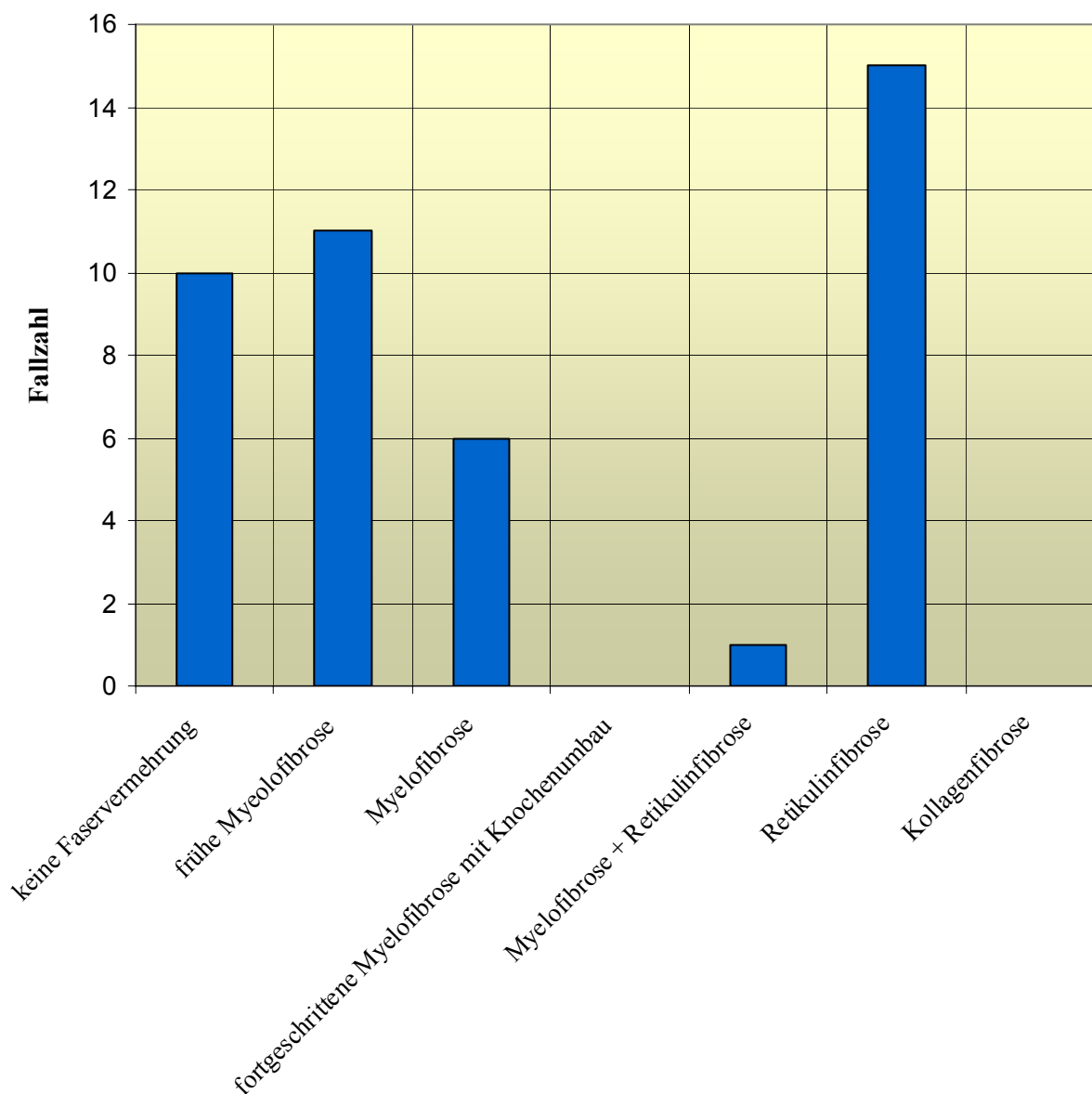


Abbildung 31: Art und Häufigkeit der Fibrose im Knochenmarkstroma unter dem Einfluss der Knochenmarkmetastasierung

4.6.5 Eisenablagerungen

In 29 Fällen (= 67,5 %) fanden sich reduzierte Eisenablagerungen. In 3 Fällen (= 7 %) bestand ein Normalbefund und in 11 Fällen (= 25,5 %) zeigte sich eine erhöhte Eisenablagerung.

4.6.6 Osteoklastenaktivität

In dem Großteil des untersuchten Materials (77 %) haben die Metastasen zu einer Osteoklastenaktivierung geführt. Die Osteoklasten waren davon in 30 Fällen in Clustern angeordnet.

In 9 Fällen (= 21 %) war keine erhöhte Osteoklastenaktivität zu eruieren.

In einem einzigen Fall war eine Beurteilung des Präparates unter diesem Gesichtspunkt nicht möglich.

4.6.7 Gefäße

Die Anzahl der Gefäße war in den Biopsien zumeist normal (30 Fälle = 70 %). In 13 Fällen (30 %) wurde eine vermehrte Gefäßanzahl festgestellt.

4.6.8 Makrophagenakkumulation

Der überwiegende Anteil aller Untersuchungsfälle (91 %) wies keine morphologisch verifizierbare Stimulation oder Akkumulation von Makrophagen auf.

4.6.9 Tumornekrosen

Die Abbildung 32 verdeutlicht, dass Tumornekrosen in den Infiltraten nur selten (14 %) festgestellt wurden. Hierbei konnte die Annahme, dass ein hoher Flächenanteil von Tumorgewebe im Knochenmark mit vielen Tumornekrosen korreliert, nicht bestätigt werden.

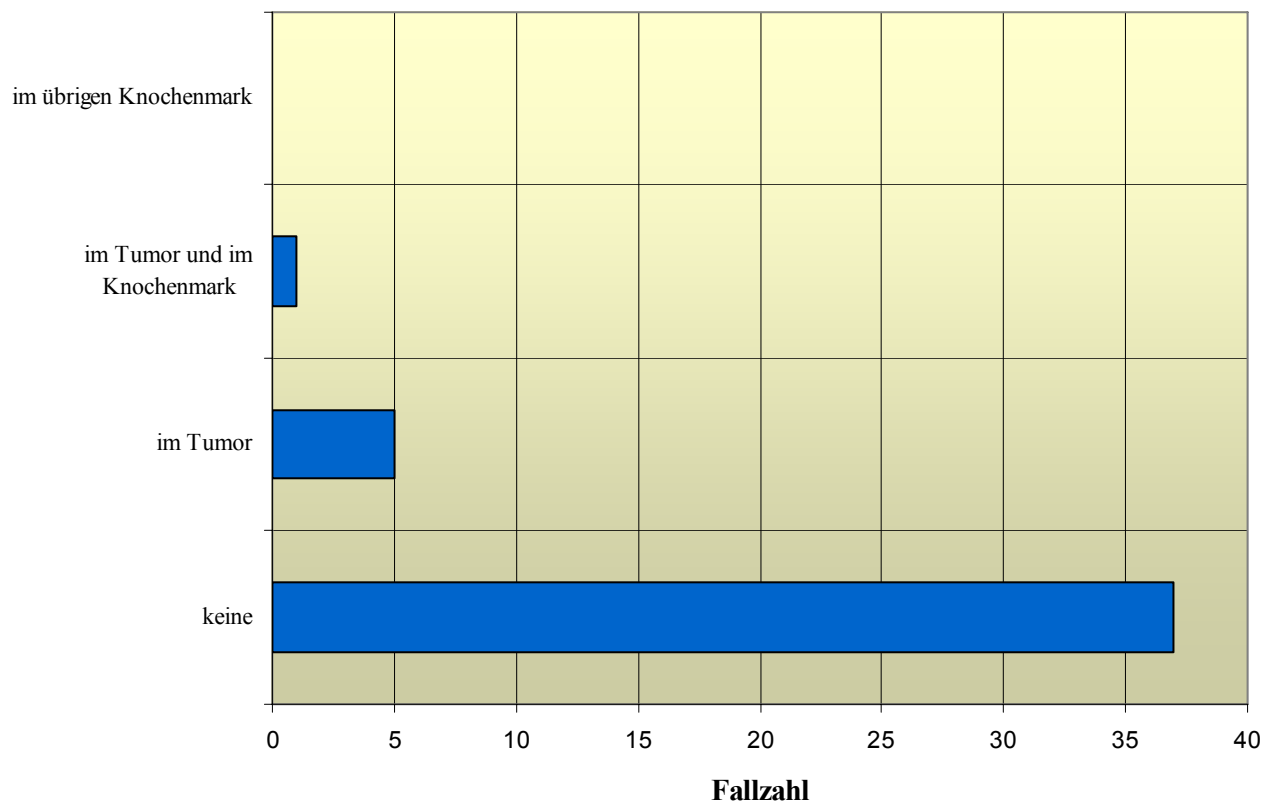


Abbildung 32: Auftreten und Häufigkeit von Tumornekrosen in den Biopsiepräparaten

4.6.10 Tumorzellenanordnung

Es dominierte die Tumorzellenanordnung in ein oder mehreren größeren Zellclustern (16 Fälle = 32 %). In 11 Fällen (= 26 %) kam es zu einem vollständigen Ersatz von Knochen und Knochenmark, in 9 Fällen (= 21 %) waren zahlreiche Tumorzellfoci mit Stromainduktion zu finden und in 7 Fällen (= 16 %) ordneten sich die Tumorzellen in Mikrokolonien an (Abb. 33).

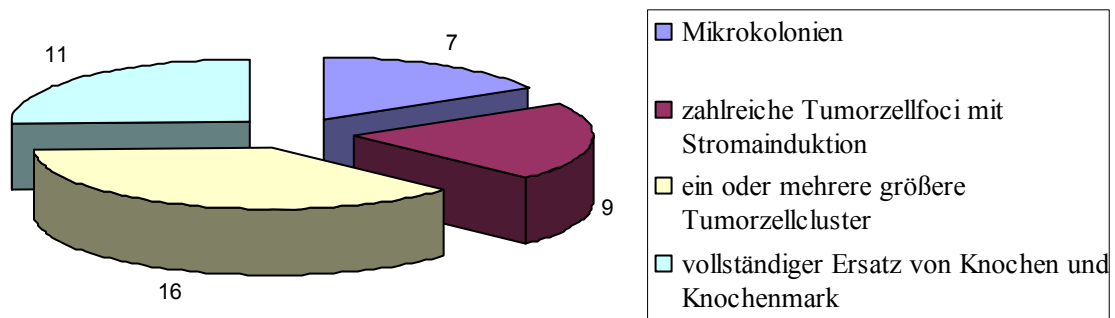


Abbildung 33: Häufigkeit und Anordnung der Tumorzellen in den Biopsiepräparaten

4.7 Morphologische Phänomene und Wachstumsmuster der Knochenmarkmetastasen im zytologischen und histologischen Präparat

Die zytomorphologischen Phänomene und Wachstumsmuster wurden fotografisch dokumentiert, wobei eine Gegenüberstellung von Zytologie (linke Seite) und Histologie (rechte Seite) vorgenommen wurde. Diese Auswahl beschränkt sich auf Präparate von Knochenmarkmetastasen der Mamma (Abb. 34-37), der Prostata und Harnblase (Abb. 38-44), der Lunge (Abb. 45-51) und des Gastrointestinaltrakts (Abb. 52-56).

Knochenmarkmetastasen von Primärtumoren der Mamma

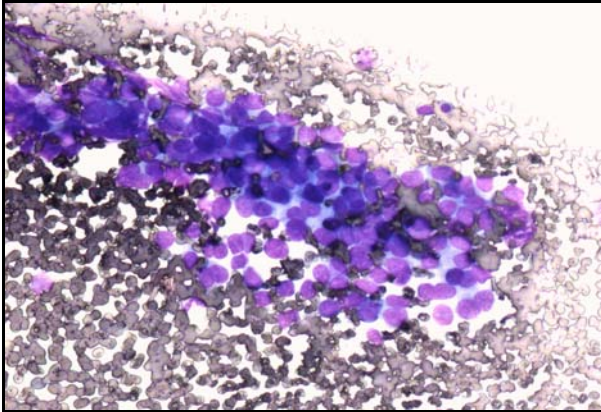


Abb. 34: Kompakte Zellverbände eines gering differenzierten invasiven lobulären Mammakarzinoms. Prominente, chromatinreiche Zellkerne mit sehr schmalen Zytoplasmasäumen. Zytologie, Pappenheim, 20fache Vergr.

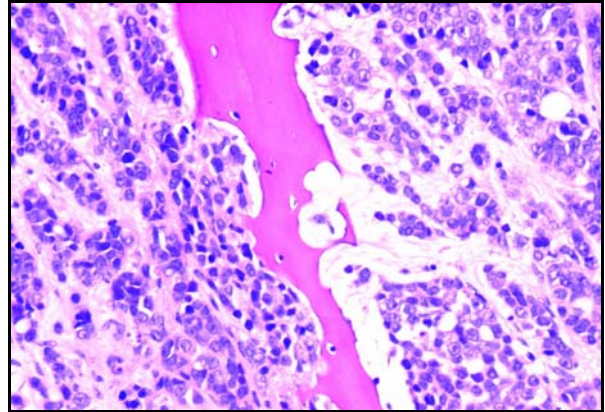


Abb. 35: Knochenmarkmetastase eines gering differenzierten invasiven lobulären Mammakarzinoms. Ausgedehnte glanduläre und in Zellreihen angeordnete Tumorzellen mit hyperchromatischen Zellkernen. Osteolysen des Knochens (rot). Histologie, HE, 20fache Vergr.

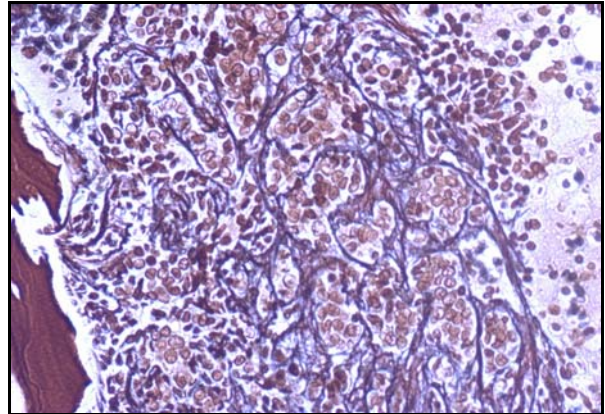


Abb. 36: Knochenmarkmetastase eines gering differenzierten invasiven lobulären Mammakarzinoms. Faserreiches Tumorstroma. Histologie. Versilberungsreaktion nach Gomori, 20fache Vergr.

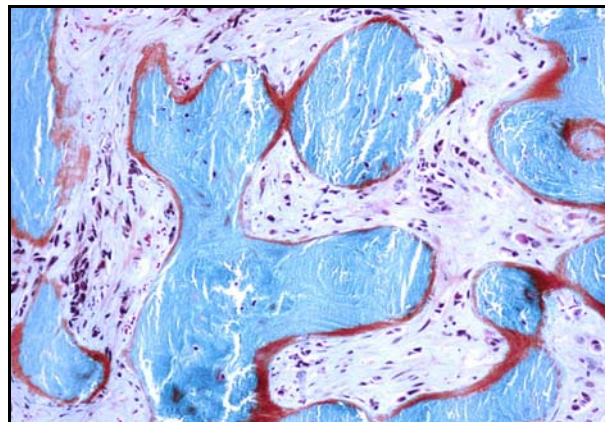


Abb. 37: Knochenmarkmetastase eines invasiven duktales Mammakarzinoms. Fibrose und Sklerose des Markraumes. Osteoneogenese an den Knochen trabekeln. Histologie, Goldner, 10fache Vergr.

Knochenmarkmetastasen von Primärtumoren der Prostata und der Harnblase

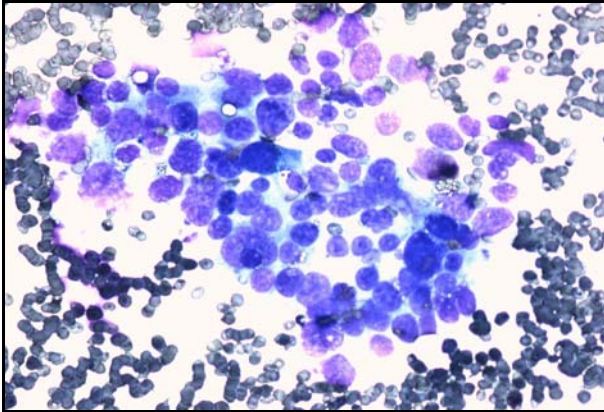


Abb. 38: Einzelzellen und wenig kohäsive Zellgruppen eines gering differenzierten Adenokarzinoms der Prostata. Drei benachbarte kleine Zellen mit auffälligen Nucleolen. Zytologie, Pappenheim, 20fache Vergr.

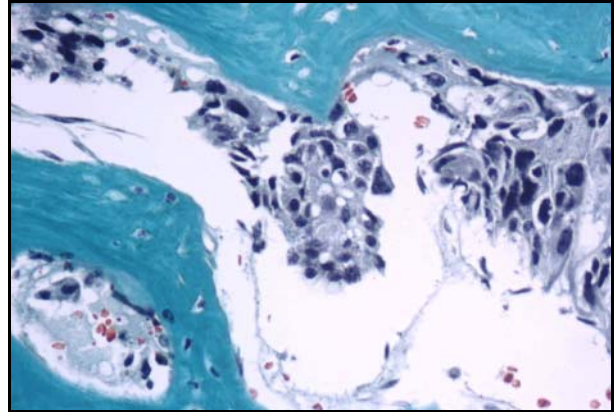


Abb. 39: Knochenmarkmetastase eines gering differenzierten Adenokarzinoms der Prostata. Glanduläre Zellverbände innerhalb und außerhalb von sinusoidalen Blutgefäßen. Histologie, Goldner, 20fache Vergr.

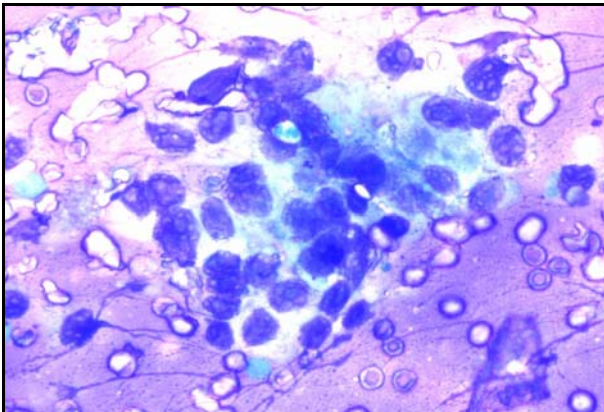


Abb. 40: Einzelzellen und kleinere Zellverbände eines Adenokarzinoms der Prostata. Einzelne Zellkerne zeigen Nucleolen. Zytologie, Pappenheim, 40fache Vergr.

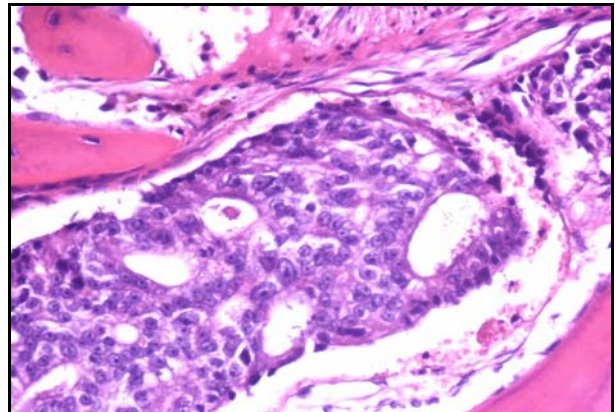


Abb. 41: Knochenmarkmetastase eines gering differenzierten Adenokarzinoms der Prostata. Adenoide Zellverbände mit kribriformem Wachstumsmuster. Histologie, HE, 20fache Vergr.

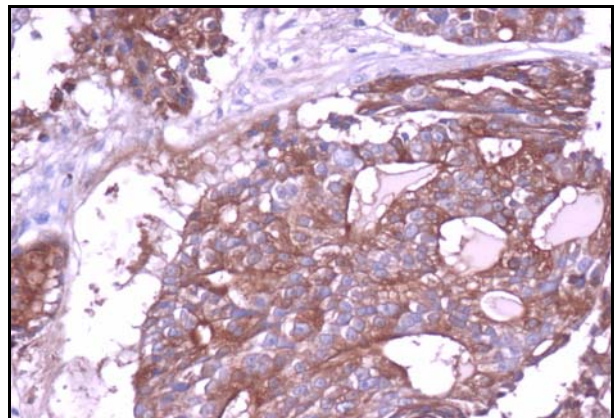


Abb. 42: Knochenmarkmetastasen eines gering differenzierten Adenokarzinoms der Prostata. Immunhistochemische Markierung mit einem Antikörper gegen PSA. Histologie, 20fache Vergr.

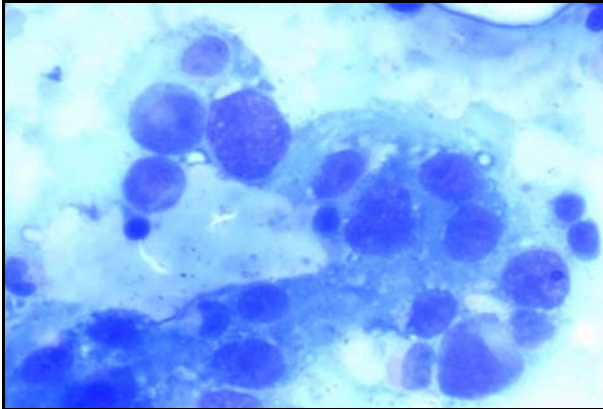
Knochenmarkmetastasen von Primärtumoren der Prostata und der Harnblase**(Fortsetzung)**

Abb. 43: Knochenmarkmetastase eines weitgehend entdifferenzierten Urothelkarzinoms der Harnblase. Kompakte Zellverbände mit pleomorphen hyperchromatischen Zellkernen. Verschiebung der Kern-Zytoplasma-Relationen zugunsten der Kerne. Zytologie, Pappenheim, 60fache Vergr.

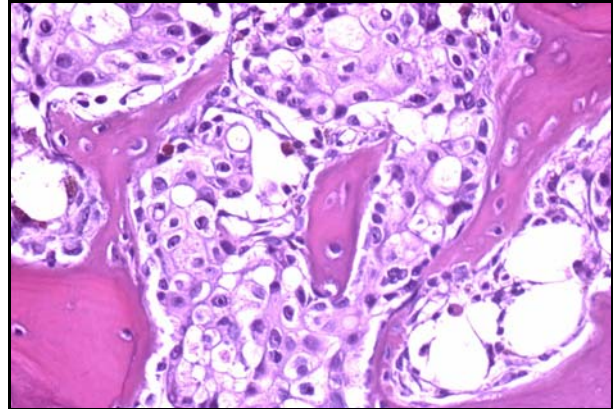


Abb. 44: Knochenmarkmetastasen eines weitgehend entdifferenzierten Urothelkarzinoms der Harnblase. Kompakte Zellverbände mit hyperchromatischen Zellkernen und mäßig breitem Zytoplasma zerstören die Knochen trabekel (rot). Histologie, HE, 20fache Vergr.

Knochenmarkmetastasen von Primärtumoren der Lunge

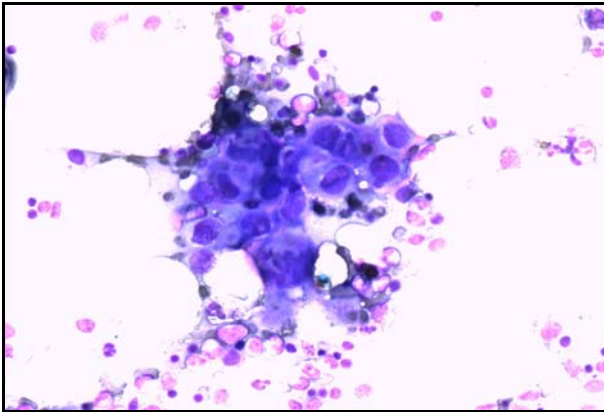


Abb. 45: Verband atypischer Plattenepithelien mit dichten Interzellularbrücken. Variable Kernformen und mäßig breites Zytoplasma. Zytologie, Pappenheim, 20fache Vergr.

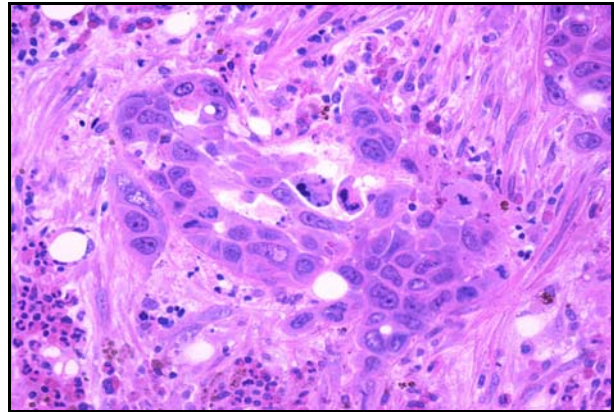


Abb. 46: Knochenmarkmetastase eines gering differenzierten Plattenepithelkarzinoms. Weitgehend kompakte Zellverbände mit Interzellularbrücken und hyperchromatischen Kernen. Mehrere Mitosen. Histologie, HE, 20fache Vergr.

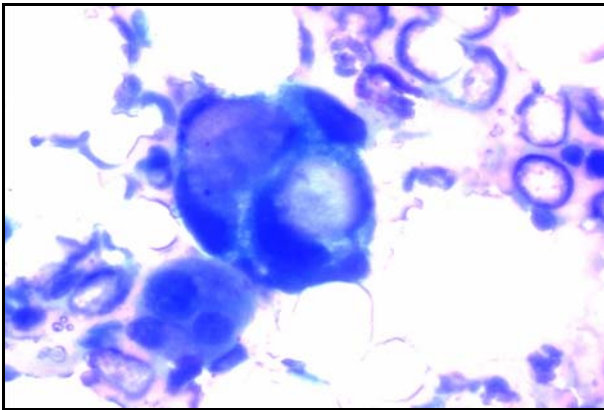


Abb. 47: Gering differenziertes Adenokarzinom der Lunge. Kompakte glanduläre Zellgruppe mit randständigen hyperchromatischen Zellkernen und intrazytoplasmatischer Aufhellung (Schleim). Zytologie, Pappenheim, 60fache Vergr.

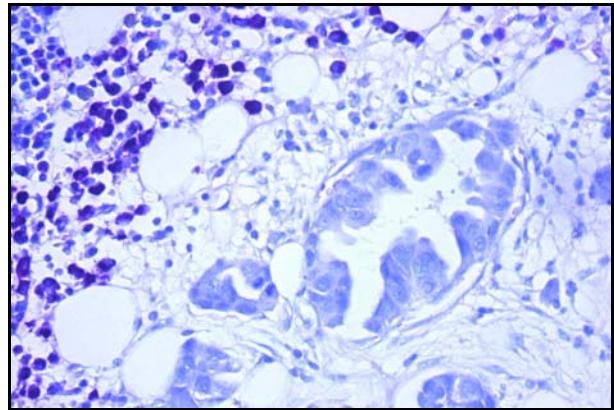


Abb. 48: Knochenmarkmetastase eines gering differenzierten Adenokarzinoms der Lunge. Zentrale Lumenbildung. Histologie, CLAE, 20fache Vergr.

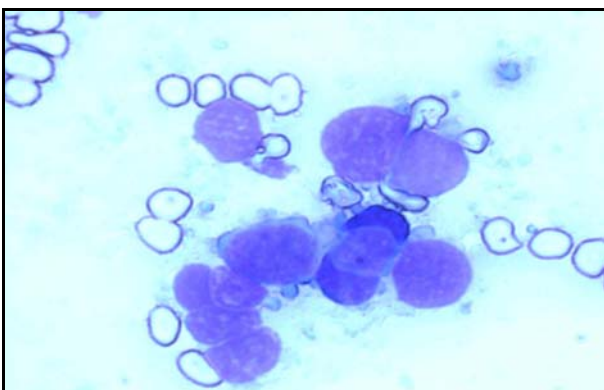


Abb. 49: (Anaplastisches) kleinzelliges Lungenkarzinom. Kleinste Zellverbände blastärer Zellen mit prominenten chromatinreichen Zellkernen. Kern-Zytoplasma-Relationen zugunsten der Kerne verschoben. Zytologie, Pappenheim, 60fache Vergr.

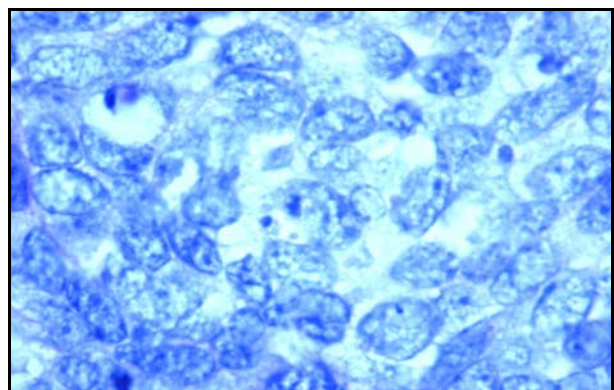


Abb. 50: (Anaplastisches) kleinzelliges Lungenkarzinom. Dichte Zellverbände mit blastären bzw. vesikulierten, chromatinarmen Kernen. Kern-Zytoplasma-Relationen zugunsten der Kerne verschoben. Histologie, PAS, 100fache Vergr.

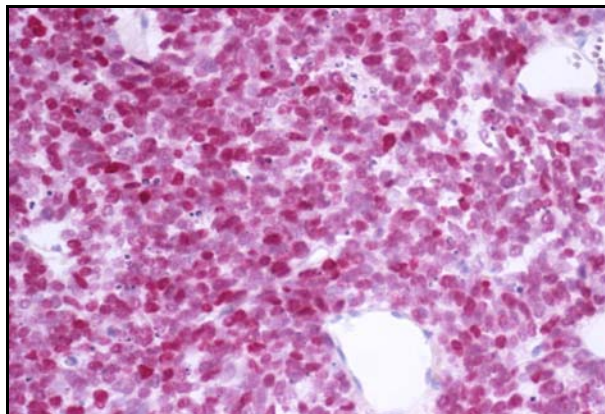
Knochenmarkmetastasen von Primärtumoren der Lunge (Fortsetzung)

Abb. 51: (Anaplastisches) kleinzelliges Lungenkarzinom. Immunhistochemische Markierung der Zellkerne mit einem Antikörper gegen TTF-1. Histologie, 20fache Vergr.

Knochenmarkmetastasen von Primärtumoren des Gastrointestinaltraktes

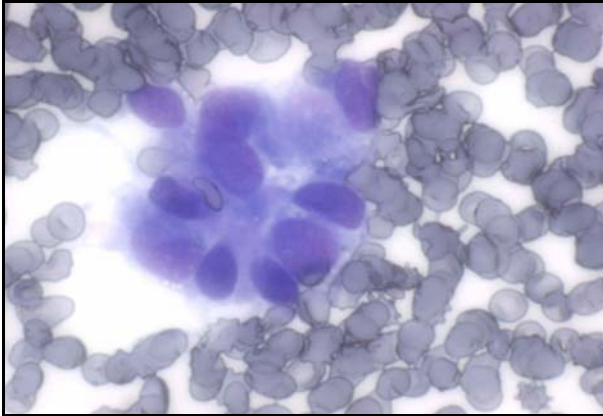


Abb. 52: Adenokarzinom des Magens. Glandulär angeordnete Tumorzellen umsäumen eine lumenähnliche Struktur. Zytologie, Pappenheim, 40fache Vergr.

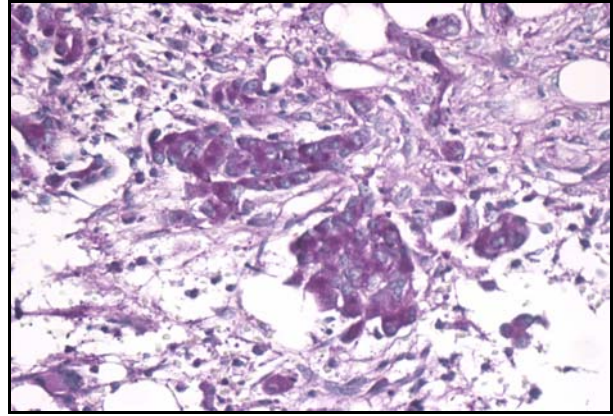


Abb. 53: Knochenmarkmetastase eines gering differenzierten Adenokarzinoms des Magens. Histologie, HE, 20fache Vergr.

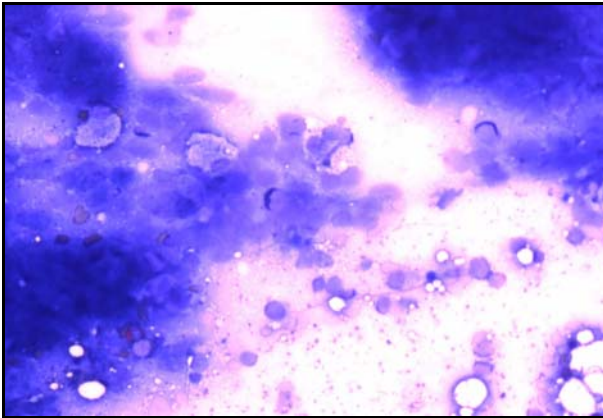


Abb. 54: Hochkohäsive, blastär strukturierte Tumorzellen im Verband (hepatozelluläres Karzinom). Prominente Zellkerne. Einzelne Nukleolen. Erhöhte Vulnerabilität der Zellen. Zytologie, Pappenheim, 20fache Vergr.

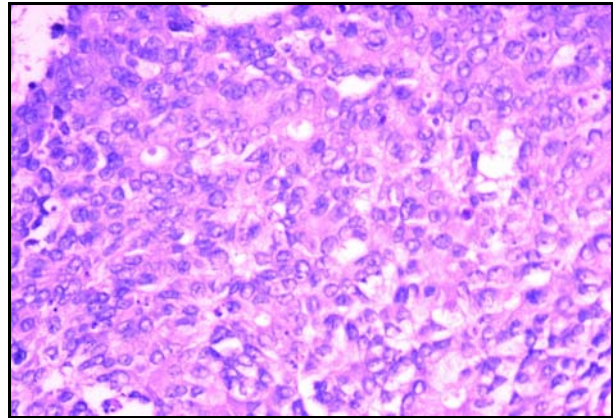


Abb. 55: Knochenmarkmetastase eines gering differenzierten hepatozellulären Karzinoms. Histologie, HE, 20fache Vergr.

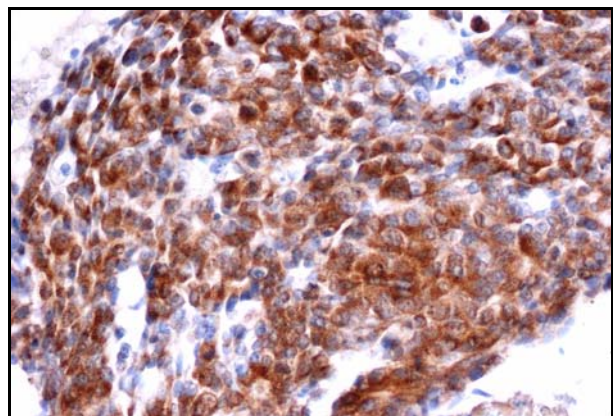


Abb. 56: Knochenmarkmetastasen eines gering differenzierten hepatozellulären Karzinoms. Immunhistochemische Markierung mit einem Antikörper gegen HepPar1. Histologie, 20fache Vergr.

4.8 Die CUP-Fälle

In 19 Fällen war der Primärtumor zum Zeitpunkt der Knochenmarkuntersuchung noch nicht bekannt (sog. initiale CUP-Fälle). Ein Teil davon wurde anhand der weiteren klinischen Befunde geklärt und histologisch verifiziert. In 9 Fällen gelang dies mithilfe der Immunhistochemie. Es blieb kein Fall ungeklärt (Tab. 14).

Tabelle 14: Die Patientendaten der initialen CUP Fälle

	Patient	Geschlecht	geboren	gestorben	Tumor	Histo	Zyto	Anwendung der Immunhistochemie
1.	G.H.	♂	06.12.1948	13.01.1993	BroCa	+	+	ja
2.	H.S.	♀	16.12.1927		BroCa	+	+	nein
3.	L.D.	♂	03.12.1941	17.10.2004	BroCa	n.a.	n.a.	nein
4.	W.C.	♀	27.10.1937	29.04.1997	BroCa	+	+	ja
5.	G.H.	♂	01.08.1936	04.10.2000	BroCa	+	+	nein
6.	L.I.	♂	20.08.1959	19.07.2005	GIT	++	n.a.	ja
7.	P.H.	♂	16.08.1935	26.02.1997	GIT	+	+	nein
8.	M.H.	♂	26.10.1920	22.06.2000	GIT	+	+	nein
9.	M.L.	♂	20.05.1932	20.12.2003	Leber	++	+	ja
10.	S.A.	♀	19.09.1950		MaCa	++	n.a.	nein
11.	K.M.	♀	07.03.1931		MaCa	++	+	ja
12.	M.K.	♂	19.07.1932		Pankreas	++	-	ja
13.	E.H.	♂	19.08.1938	05.01.2001	ProsCa	++	+	ja
14.	J.K.-H.	♂	07.05.1940		ProsCa	+	+	nein
15.	N.W.	♂	08.05.1937	15.04.2002	ProsCa	+	-	nein
16.	S.E.	♂	15.09.1928	14.07.2004	ProsCa	++	+	nein
17.	W.W.	♂	03.12.1929		ProsCa	++	-	ja
18.	K.I.	♀	27.04.1932	25.08.2003	Urothel	+	+	ja
19.	R.K.	♂	14.09.1940	18.02.2004	Urothel	++	+	ja

- = Knochenmarkdiagnostik bringt keine weiteren Anhaltspunkte
- + = Knochenmarkdiagnostik bringt Anhaltspunkte für Tumorinfiltration und lässt Rückschlüsse auf die Lokalisation des Primärtumors vermuten
- ++ = Klarer Nachweis der Tumorlokalisation

In 13 von 19 Fällen ergab die Untersuchung der Aspirationspräparate Anhaltspunkte für eine Knochenmarkinfiltration durch einen soliden Tumor. In diesen Fällen konnte lediglich eine Vermutung der Lokalisation des Primärtumors ausgesprochen werden. Die entsprechenden Primärtumoren konnten im weiteren Verlauf vom Kliniker ausfindig gemacht werden.

Bei den Beckenkammzylindern wurden in 10 Fällen immunhistochemische Untersuchungen durchgeführt. In 9 Fällen konnte somit der Primärtumor entweder stark eingegrenzt oder genau lokalisiert und daher die initiale CUP-Situation abgeklärt werden. Aufgeführt sind im Folgenden die Ergebnisse der immunhistochemischen Untersuchungen initialer CUP-Fälle.

1) Präparat B 7675/00 G.H. ♂

Immunphänotyp:

CKAE1/AE3+/CK7+/CK20-/TTF-1+

Weitere negative Marker: CK5/6, CDX2, HePar, Vimentin, PSAP, P450S/AMACR, ER, p63, CD56

Gering herdförmig positiv: CA125

Diagnose: gering differenziertes Adenokarzinom der Lunge

2) Präparat B 4790/96 W.C. ♀

Immunphänotyp:

NSE+/S100++/Synaptophysin+/Chromogranin+/BerEP4++

Weitere negative Marker: LCA

Diagnose: Die Diagnose war mithilfe der Immunhistochemie nicht eindeutig zu klären. Unter Betrachtung der konventionellen Präparate kommen sowohl ein Mamma- als auch ein Bronchialkarzinom in Betracht.

3) Präparat B 3149/05 L.I. ♂

Immunphänotyp:

CK7+/CK20 schwach positiv

Weitere negative Marker: TTF-1, PSA, PSAP

Diagnose: Die Befundkonstellation spricht für einen Primärtumor in der Oberbauchregion (GIT), keine Metastase eines Adenokarzinoms der Lunge

4) Präparat B 9432/03 M.L. ♂

Immunphänotyp:

CKAE1/AE3+/CK7-/CK20-/HePar+

Weitere negative Marker: CK5/6, CK7, CA125, CDX2, Vimentin, TTF-1, PSAP, P450S/AMACR, ER, p63, CD56

Diagnose: gering differenziertes hepatozelluläres Karzinom

5) Präparat B 8525/01 K.M. ♀

Immunphänotyp:

CKAE1/AE3+/CK7+/CK20-/E-Cadherin+/CDX2-/ER+

Weitere negative Marker: CK5/6, CK7, CA125, Vimentin, TTF-1, p63, CD56

Diagnose: gering differenziertes invasiv-duktales Mammakarzinom, keine Metastase eines kolorektalen Karzinoms (wie ursprünglich angenommen)

6) Präparat B 5670/05 M. K. ♂

Immunphänotyp:

CKAE1/AE3+/CK7-/CK20-/Synaptophysin+

Weitere negative Marker: CK5/6, CDX2, CA125, Calretinin, Mesothelin, HePar, Vimentin, Chromogranin, Calcitonin, TTF-1, PSAP, P450S/AMACR, ER, p63, CD56, CD117

Diagnose: neuroendokrines Karzinom (Primärtumor im Pankreas)

7) Präparat B 6322/00 E.H. ♂

Immunphänotyp:

CKAE1/3+, PSA+, Ki 67+

Weitere negative Marker: PSAP, NSE, S100

Diagnose: spricht für Prostatakarzinom, gegen Bronchialkarzinom

8) Präparat B 6787/00 W.W. ♂

Immunphänotyp:

PSA+/PSAP+

Diagnose: Prostatakarzinom

9) Präparat B 5688/02 K.I. ♀

Immunphänotyp:

CKAE1/AE3+/CK7+/CK20-/E-Cadherin+/p63+/ CA125+(20%)

Weitere negative Marker: CK5/6, CDX2, GCDFP15, Vimentin, TTF-1, ER, WT1, CD56

Diagnose: entdifferenziertes Karzinom, wahrscheinlich Harnblase (Urothelkarzinom)**10) Präparat B 824/04 R. K.** ♂

Immunphänotyp:

CKAE1/AE3+/CK7+/CK20-/p63+

Weitere negative Marker: CK5/6, CA125, CDX2, HePar, Vimentin, TTF-1, PSAP, P450S/AMACR, ER, CD56

Diagnose: mäßig differenziertes Urothelkarzinom

5 Diskussion

5.1 Diskussion der Methode

In der vorliegenden Arbeit wird am Untersuchungsmaterial des Institutes für Pathologie Bad Saarow die Häufigkeit und Verteilung von Knochenmarkmetastasen analysiert. Die histomorphologischen und zytologischen Charakteristika der Knochenmetastasen werden evaluiert.

Das Institut für Pathologie in Bad Saarow hat durch seine hämato-onkologische Spezialisierung einen langjährigen diagnostischen Erfahrungsschatz, der insgesamt auf der Beurteilung von zirka 20 000 Fällen knochenmarkzytologischer Untersuchungsfälle sowie zirka 15 000 knochenmarkhistologischer Untersuchungen basiert.

Bei dem untersuchten Kollektiv handelt es sich um 49 Patienten, deren Knochenmark durch einen soliden Tumor befallen wurde. Zur Untersuchung wurden vom Kliniker entsprechende Gewebeproben am Beckenkamm entnommen.

Das diagnostische Ergebnis der Untersuchung einer Knochenmarkprobe hängt von der Qualität jedes einzelnen der ineinander greifenden Untersuchungsschritte ab.

Dies sind in der Reihenfolge des klinischen Ablaufes:

1. die internistisch-hämatologische Basisdiagnostik
2. die Entnahmetechnik
3. die exakte technische Aufbereitung und Präparateherstellung
4. die Qualität der pathohistologischen und zytologischen Diagnostik

Die Erhebung der klinischen Befunde muss einem standardisierten Untersuchungsgang folgen. Dabei ist die exakte Dokumentation und fehlerfreie Archivierung der gewonnenen Untersuchungsergebnisse von größter Wichtigkeit.

Für die vorliegende Studie wurden die klinischen Untersuchungsergebnisse anhand eines standardisierten, seit nunmehr über 10 Jahren im Klinikum zur Kommunikation zwischen Klinikern und Morphologen genutzten Begleitscheins herangezogen (Abb. 9-11).

Er enthält die Patientendaten, anamnestische, klinische, paraklinische Angaben (Blutbefunde) sowie die Verdachtsdiagnose bzw. die klinische Fragestellung.

Die Grundstruktur des verwendeten Begleitscheins ist dabei für die gestellten Anforderungen sinnvoll und zweckmäßig. Die Archivierung der Befunde erfolgte zuverlässig. Allein die papiergebundene Form der Datenerhebung erscheint aus heutiger Sicht unzeitgemäß und erschwert die Beurteilung und Auswertung.

Weitere wichtige Voraussetzung für eine exakte histologische Diagnose ist die Gewinnung von repräsentativem Gewebematerial. Es liegt in der Verantwortung des Klinikers, dem Pathologen aussagekräftige Biopsate in gutem Erhaltungszustand zu liefern.

Dabei ist zunächst der Ort der Trepanation des Knochens maßgeblich für die Gewinnung eines aussagekräftigen Präparates.

Es sollte eine leicht zugängliche Stelle zur Punktion gewählt werden. Die Prozedur sollte den Patienten minimal traumatisieren und wenig gefährlich sein. Das Biopsat sollte kortikalen und trabekulären Knochen und insgesamt eine repräsentative Knochen- und Knochenmarkstruktur enthalten.

Im Vergleich zum Sternum, den Wirbelkörpern und dem Ilium ist der Volumenprozentsatz von trabekulärem Knochen im Beckenkamm geringer; die Markräume jedoch sind im Sternum und in den Wirbelkörpern größer. Das Verhältnis Parenchym zu Fett ist im Sternum größer. Das ist eine Tatsache, die eigentlich für die Nutzung des Sternums als Aspirationsort spricht. Demgegenüber steht aber der höhere technische Aufwand einer Punktion an Sternum und den Wirbelkörpern und die größere Gefahr der Verletzung wichtiger benachbarter Strukturen (FRISCH et al. 1987).

Da nach der Wirbelsäule das Becken die zweithäufigste Lokalisation von Skelettmetastasen ist (CLAIN 1965), spricht zunächst die risikoärmere Gewinnung der Biopsie für eine Entnahme am Beckenkamm (BAIN et al. 2000). Im Interesse der Risikominimierung wird deshalb in Bad Saarow, wie auch in den meisten Einrichtungen, die sich mit der Knochenmarkdiagnostik befassen, der Beckenkamm als bevorzugter Entnahmeort gewählt.

Nach der Wahl des Entnahmeortes ist die technisch korrekte Durchführung der Biopsie entscheidend. Da die Entnahmetechnik nicht völlig standardisierbar ist, ergibt sich eine gewisse Variabilität der Biopsie. Sie resultiert aus dem Winkel und der Richtung des Einstichs der Biopsienadel und führt dazu, dass unterschiedliche Abschnitte des Beckenkamms mit unterschiedlichen morphologischen Eigenschaften biopsiert werden.

Kritisch geprüft muss darüber hinaus die Frage einer uni- oder bilateralen Biopsietechnik werden. In der hier angewandten Methodik wurde ausschließlich unilateral biopsiert. Im Gegensatz dazu kamen HIRSCH et al. (1979), LANG et al. (1984), SAVAGE et al. (1978) und SINGH et al. (1977) zu dem Ergebnis, dass bilaterale Biopsien des hinteren Beckenkamms eine höhere Treffsicherheit als Einzelbiopsien ergeben. Zu berücksichtigen ist, dass die unilaterale Biopsie eine geringere Belastung der Patienten bedeutet. Die Frage, ob dies den möglicherweise vorhandenen Verlust an diagnostischer Qualität im Vergleich zur bilateralen Biopsie aufwiegt, sollte Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

Ein weiterer wichtiger Teil der Diskussion der Entnahmetechnik betrifft die Länge des Biopsiezylinders. LANG et al. (1984) haben nachgewiesen, dass die Länge des Biopsiezylinders einen entscheidenden Einfluss auf die Häufigkeit des Befallsnachweises hat: 55 % positive Befunde in 130 Biopsien mit weniger als 25 mm Länge und 77 % in 46 Biopsien mit mehr als 25 mm Länge. Die Gewinnung eines größeren Biopsiezylinders würde hier die Sensitivität erhöhen. In der vorliegenden Studie hatten gerade einmal 6 von 43 Präparaten eine Länge von mehr als 25 mm und erfüllen damit die an die Größe der Biopsiezylinder gestellten Forderungen.

Aber nicht nur die technische Ausführung der Trepanation und der Aspiration am Beckenkamm birgt Fehlerquellen, sondern auch die spätere Aufarbeitung des Materials im Labor.

Zu kleine Gewebefragmente, Gewebe aus nekrotischen oder stark entzündlich veränderten Arealen, Gewebe mit starken Quetschungsartefakten oder Gewebe nur aus der Umgebung des eigentlichen Krankheitsherdes lassen keine sichere Diagnose zu und können zu Fehldiagnosen führen (ADLER 2005).

Zur Erreichung aussagekräftiger histologischer Befunde sind die aufgeführten Punkte zu beachten, um eine möglichst präzise Diagnose zu stellen (FRISCH et al. 1999):

- histologische Variation innerhalb der Biopsie
- subkortikale Hypoplasien
- abwechselnd fettgewebsreiche und hyperplastische Gebiete in tieferen Regionen der Biopsie
- Akkumulation eines bestimmten Zelltyps in einem einzelnen intertrabekulären Gebiet
- Artefakte (können schon bei der Biopsieentnahme entstehen – Epidermis, Periost, Kortikalis)
- Biopsieentnahme erfolgte an einer Stelle, an der zuvor bereits biopsiert wurde. In diesem Fall besteht die Biopsie aus Granulationsgewebe, Fibrosematerial und neuem Knochen mit erhöhter osteoblastischer Aktivität und wenig oder gar keiner Hämatopoese oder

Fettgewebe

- Biopsieentnahme erfolgte von einem zuvor bestrahlten Gebiet. In diesem Fall ist das Mark unter Umständen hypozellulär oder mit Fettzellen aufgefüllt.
- nicht repräsentative tangential genommene Biopsien
- Veränderungen des hämatopoetischen Gewebes/der Zellen durch die Aufbereitung durch die MTA., z. B. Schwellung oder Schrumpfung während einer inadäquaten Fixation, insuffiziente Dehydratation, unvollständige Penetration des Paraffins (oder des Kunststoffes) und inadäquate Härtung.

Die Interpretation der Knochenmarkaspirate liegt zumeist in den Händen der Hämatologen, während die histologische Beurteilung des Knochens und Knochenmarks von Histopathologen durchgeführt wird (FRISCH et al. 1987).

Im vorliegenden eigenen Untersuchungsmaterial wurde sowohl die Auswertung der zytologischen als auch der histologischen Präparate von Pathologen vorgenommen. Knochenmarkaspirationspräparate werden jedoch parallel dem Hämatologen zur Verfügung gestellt.

Wenn der Pathologe Fehlerquellen der Knochenbiopsie erkennt, wird er in seinem Gutachten darauf aufmerksam machen und seine Diagnose relativieren, um Fehlinterpretationen zu vermeiden (ADLER 2005).

5.1.1. Stellenwert der zytologischen und histologischen Knochenmarkdiagnostik

Die zytologische Untersuchung des Knochenmarks gilt als wichtigste morphologisch-hämatologische Spezialuntersuchung. Hierbei steht die Beurteilung der Einzelzelle im Vordergrund, während ein Biopsiezylinder hinsichtlich der Gesamtzusammensetzung des Knochenmarks beurteilt werden kann.

Die Beurteilung der nach PAPPENHEIM gefärbten Aspirationspräparate, ergänzt durch eine Berliner-Blau-Reaktion, ermöglicht nach nur kurzer Zeit eine präzise Einschätzung der Hämatopoese und in den meisten Fällen eine ausreichend sichere Aussage zu zytologischen Details. Bei der Diagnostik von Anämien und akuten Leukämien ermöglichen sie einen höheren Erkenntnisgewinn als histologische Untersuchungen (BAIN 2001). Damit bieten zytologische Präparate die Möglichkeit, einen ersten diagnostischen Eindruck zu gewinnen. Selbst eine misslungene Aspiration, möglicherweise aufgrund einer desmoplastischen Reaktion im Gewebe, kann den Verdacht auf eine Knochenmarkinfiltration zulassen.

Bei erfolgreicher Aspiration wird durch das Auftreten knochenmarkfremder Zellen, blastärer Zellen, ein erhöhter Lymphozyten- und Plasmazellanteil im Präparat der Verdacht auf eine „Knochenmarkinfiltration“ erhärtet.

Im Gegensatz zur zytologischen Diagnostik liefert die Biopsie ein Übersichtsbild des Knochenmarks und erlaubt so die verlässliche Beurteilung der Knochenmarkarchitektur, der Zellularität und möglicher Zeichen von Fibrose oder abnormaler Infiltrate. Weiterhin können die relative Zusammensetzung, sowie die Verteilung der Knochenmarkszellen bestimmt werden. Die Biopsie und die histologische Untersuchung sind eine etablierte und zuverlässige Methode zur Diagnostik von Knochenmarkmetastasen und zur Klärung der Herkunft der entsprechenden Primärtumoren, nicht zuletzt auch wegen des möglichen Einsatzes der Immunhistochemie. Mit ihrer Hilfe lassen sich beispielsweise auch tumorspezifische Wachstumsmuster eruieren (BAIN 2001).

In den letzten Jahren gab es eine große Steigerung hinsichtlich der Anzahl der getätigten Beckenkammbiopsien. Das liegt nicht zuletzt auch daran, dass sich die Indikationsbreite für eine Knochenmarkbiopsie vergrößert hat, speziell im Bereich der Inneren Medizin, der Onkologie und der Hämatologie (FRISCH et al. 1999).

Fraglich ist der alleinige diagnostische Wert der zytologischen Untersuchungen zur Diagnostik von Knochenmarkmetastasen. In vorliegender Studie wären 7 Fälle von Knochenmarkmetastasierung unentdeckt geblieben, wenn man nur das Aspirat zur Diagnostik herangezogen hätte. Ein positiver Befund eines Aspirats mit negativem Beckenkammbefund trat nicht auf. Studien von ATAC et al. (1991), JATOI et al. (1999), SAVAGE et al. (1978) und WONG et al. (1993) berichten, dass es auch Fälle gibt, in denen die Aspiration positiv waren und die Beckenkammbiopsien negativ.

Die alleinige Auswertung der Abtupfpräparate muss man ebenso kritisch betrachten. In 6 Fällen, in denen die Aspiration gescheitert ist oder unbefriedigend war, wurden Abtupfpräparate von gleichzeitig gewonnenen Biopsiezylindern hergestellt.

Das Abrollen des Zylinders wurde dann vorgenommen, um vielleicht noch periphere Tumorzellen vom Zylinder zytologisch auswerten zu können. In diesen Präparaten sind häufig diagnostisch relevante Tumorzellen oder Tumorzellverbände enthalten (FRISCH et al. 1999). In der vorliegenden Studie wurden in 3 Fällen (K.M. B8524/01, H.J. B4621/96, K.I. B5688/02) Tumorzellansammlungen gefunden. Die restlichen 3 Abtupfpräparate (L.P. B3926/99, N.W. B2675/01, N.R. B10029/00) brachten keinen Erkenntnisgewinn.

Die von LANG et al. (1984) und SUPRUN et al. (1976) durchgeführten Autopsiestudien zeigen, dass Biopsien in 35-45 % der Fälle und Aspiate in nur 28 % der Fälle positive Ergebnisse liefern, wenn tatsächlich össäre Metastasen vorliegen. Knochenmarkbiopsien sind dementsprechend wesentlich sensitiver, wobei das auch von der Art des infiltrierenden Tumors abhängt (MOID et al. 2005).

Das Missverhältnis im Resultat beider Methoden ist in der Auswirkung der desmoplastischen Stromareaktion des Tumors begründet, die dafür verantwortlich ist, dass Tumorzellen schwieriger zu aspirieren sind als hämatopoetische Zellen (BAIN et al. 2000). Als optimal erwiesen sich in dieser Studie die Verwendung beider Methoden (sowohl die zytologische als auch die histologische Diagnostik), da es in diesen Fällen insgesamt einen höheren Erkenntnisgewinn brachte, als wenn man nur eine Technik angewandt hätte. Zu diesem Resultat kamen auch BAREKMAN et al. (1997), PAPAC (1994), SAVAGE et al (1978) und SHARMA et al. (2003) in ihren Untersuchungen.

Des Weiteren werden im Institut für Pathologie in Bad Saarow von jedem Aspirat immer 2 Ausstrichpräparate angefertigt, die in der Regel zu identischen Ergebnissen führten. Dass diese Maßnahme sinnvoll ist, verdeutlicht ein Fall, bei dem eine gravierende Diskrepanz zwischen beiden Präparaten bestand und dessen Diagnose bei nur einem Präparat fehlerhaft gewesen wäre (Fall G. J.). Vergleichbare Fälle wurden in der Literatur jedoch nicht gefunden.

5.1.2 Alternative Methoden zur Untersuchung des Knochenmarks

Mit Ausnahme der direkten Untersuchung gibt es derzeit keine zuverlässigen Tests zum Nachweis von Skelettmetastasen. Weitere diagnostische Möglichkeiten für das Knochenmark sind bildgebende Verfahren (ADLER 2005, KREMPIEN 1992).

Zunächst bietet sich dem Kliniker als Methode der Wahl zur Aufdeckung von Skelettmetastasen die Skelettszintigrafie (SENN et al. 1998). Im Szintigramm präsentieren sich zahlreiche Prozesse, die den lokalen Metabolismus des Knochens erhöhen und einen sogenannten „hot spot“ hervorrufen, ohne jegliche Spezifität. Das heißt, es kann sowohl eine entzündliche Reaktion, eine humorale Stimulation oder der Stoffwechsel eines malignen Tumors sein (LOW 1981).

Bei verdächtigem szintigrafischem Befund wird gezielt geröntgt (SENN et al. 1998). Das konventionelle Röntgenbild stellt keine typische Screeningmethode dar und hat eine schlechte Sensitivität. Osteolytische Brennpunkte im Knochen werden erfahrungsgemäß erst ab einer bestimmten Größe gesehen (> 1-2 cm), Knochenmarkmetastasen können aber bedeutend kleiner sein. Außerdem müssen mehr als 50 % des Knochens aufgelöst sein, bevor eine Metastase als solche zu identifizieren ist (RUBENS 1991).

Daraus folgt, dass trotz negativer Röntgenbilder und Szintigramme besonders kleine Metastasen im Knochenmark vorhanden sein können. Bildgebende Verfahren spiegeln nur das Ergebnis der dynamischen Prozesse im Knochen wider, und zwar Resorption und Knochenneubildung (BECKER et al. 1973, FRISCH et al. 1987 und INGLE et al. 1978).

In den letzten Jahren kommt zunehmend die Computertomografie (CT) zum Einsatz. Diese ist zwar sensitiver als die konventionelle Röntgenuntersuchung, aber mit einer sehr hohen Strahlenbelastung assoziiert und wird aufgrund der hohen Kosten mit Zurückhaltung eingesetzt (SENN et al. 1998).

Die Magnetresonanztomografie (MRT) ist zum Nachweis von Metastasen des Knochenmarks hoch sensitiv und sowohl der konventionellen Röntgendiagnostik (SMOLARZ et al. 1990) als auch der Skelettszintigrafie (KATTAPURAM et al. 1990) überlegen.

Neuere Methoden zur Diagnostik von Tumoren sind immunzytopathologische Untersuchungen, Durchflusszytometrie und PCR (Polymerase-Chain-Reaction). Diese Methoden erreichen eine höhere Treffsicherheit, Tumordinfiltrationen zu finden als histologische Standardmethoden (PAPAC 1994) und sollten daher zukünftig in die Diagnostik mit einbezogen werden.

5.2. Diskussion der Ergebnisse

5.2.1. Das untersuchte Patientenkollektiv

5.2.1.1 Alters- und Geschlechterverteilung

Das Alter der betroffenen Patienten lag zwischen 34 bis 79 Jahren. Das mittlere Alter der Patienten bei Diagnose des Primärtumors lag im Durchschnitt bei den Frauen bei 52,4 Jahren und bei den Männern bei 63,5 Jahren. Frauen erkrankten in vorliegender Studie ca. 9 Jahre früher als Männer. Das mittlere Alter der Patienten zum Zeitpunkt der Diagnose eines Knochenmarkbefalls lag bei den Frauen bei 58 Jahren und bei den Männern bei 65,4 Jahren. Die meisten Patienten gehörten der Altersgruppe zwischen 70-79 Jahren an (33 %).

Dass die Spannweite der betroffenen erwachsenen Patienten groß ist (sowohl Jugendliche als auch ältere Patienten können eine Metastasierung ausgehend von einem soliden Tumor erfahren), verdeutlichen auch MOHANTY et al. (2003) und SYED (2007) in ihren Studien. In der Untersuchung von MOHANTY et al. (2003) war der jüngste betroffene Patient erst 17 Jahre alt, der älteste 73 Jahre.

Die Geschlechterverteilung der Frauen zu Männern lag in dem untersuchten Patientenkollektiv bei 1:1,2. MOHANTY et al. (2003) untersuchte in einer Studie 46 betroffene Patienten mit einer Knochenmarkinfiltration durch einen soliden Tumor. Die Geschlechterverteilung lag dort bei einem Verhältnis Frau zu Mann von 1:1,8. Damit überwiegen in der Studie von MOHANTY et al. (2003) ebenfalls Männer mit Knochenmarkinfiltrationen. Dagegen dominieren in den Untersuchungen von SYED et al. (2007) mit einem Geschlechterverhältnis von 3,2:1 Frauen.

5.2.1.2 Abstand zwischen der Primärtumordiagnose und der Diagnose „Knochenmarkmetastasierung“

In der vorliegenden Untersuchung fällt auf, dass in über der Hälfte der Fälle die Diagnose des Knochenmarkbefalls noch vor der eigentlichen Primärtumordiagnose bzw. in zeitlich engem Zusammenhang mit der Diagnose der Knochenmarkinfiltration auftrat. Dieses Phänomen trat bei den Männern häufiger auf als bei den Frauen (Abb. 18). Betrachtet man nun diesen Aspekt unter

Aufschlüsselung nach einzelnen Tumorarten, kommt man zu folgenden Ergebnissen: Bei mehr als 50 % der Patienten mit einem Prostatakarzinom lagen die Knochenmetastasen bereits vor Diagnosestellung vor. Bei den Patienten mit einem Tumor des Gastrointestinaltrakts betraf es genau 50 %, bei denen mit Bronchialkarzinomen und denen mit Urothelkarzinomen waren es 40 % der Patienten, bei denen mit der Diagnosestellung des Tumors das Knochenmark bereits infiltriert war. Beim Mammakarzinom betraf es hingegen gerade einmal 20 % der Patientinnen. 33 % der Metastasen durch ein Mammakarzinom traten hier erst nach 2-4 Jahren, 13 % nach 5-14 Jahren und wiederum 13 % nach über 15 Jahren auf (Tab. 10).

Die eigenen Ergebnisse werden bestätigt durch eine Studie von COLLEONI et al. (2000). Dort wurde beobachtet, dass bei Patientinnen mit einem operierten Mammakarzinom sich die Metastasen, wenn überhaupt erst Jahre nach der Operation manifestieren, nämlich 27 % innerhalb der nächsten 10 Jahre. Zurückzuführen ist dies wahrscheinlich auf die gute Diagnostik bei Mammakarzinomen. Durch die Frühuntersuchung werden die Tumoren schneller erkannt und es kommt hierbei erst zu einem späten Auftreten von Fernmetastasen (OTTO 2007).

Dass insbesondere Patienten mit einem Prostatakarzinom und einem Bronchialkarzinom eine schnelle und unbemerkte Metastasierung in das Knochenmark erfahren, bestätigen auch COLEMAN (1997) und FRISCH et al. (1999). In der Untersuchung von COLEMAN (1997) lagen bei 13 % aller Patienten mit einem Prostatakarzinom bereits vor der Diagnosestellung Knochenmetastasen vor und bei etwa 20-40 % aller Patienten mit fortgeschrittenen Bronchial- und Nierenzellkarzinom. In einer Studie von FRISCH et al. (1999) war bei 50-80 % aller Patienten mit Prostatakarzinom mit Diagnosestellung das Knochenmark infiltriert.

5.2.1.3 Überlebensrate und Alter der Verstorbenen

Die Überlebenszeiten bei malignen Tumoren mit Knochenmarkinfiltration richten sich nicht nur nach dem Alter der Person und der Lokalisation des Primärtumors. Zur genaueren Ermittlung der Prognose im Einzelfall werden normalerweise weitere Kriterien herangezogen, insbesondere das Stadium der Tumorerkrankung bei Diagnose.

In dieser Untersuchung werden ausschließlich die durchschnittlichen Überlebensraten aller Tumorpatienten im entsprechenden Patientenkollektiv des Klinikums Bad Saarow unabhängig vom Stadium der Krankheit dargestellt.

Die relativen Überlebensraten der Patienten mit Knochenmarkmetastasierungen und Follow-up-Ergebnissen umfassen einen Bereich zwischen einigen Tagen und 16 Monaten vom Zeitpunkt der Diagnose „Knochenmetastasierung“.

In der vorliegenden Untersuchung waren bereits 31 Patienten bis zum heutigen Zeitpunkt (Stand Februar 2008) verstorben. 15 Patienten davon verstarben bereits einen Monat nach Diagnosesicherung, weitere 10 Patienten innerhalb der ersten 6 Monate nach Diagnosesicherung. Die Abbildung 24 verdeutlicht, dass sich die Überlebenszeit bei eingesetzter Knochenmarkmetastasierung signifikant reduzierte, was zugleich Ausdruck einer bereits weit fortgeschrittenen Tumorerkrankung ist, die beim heutigen Stand der onkologischen Therapie dennoch mit relativer Schmerzfreiheit und hoher Lebensqualität verbunden sein kann.

Dabei machte es in der vorliegenden Studie kaum einen Unterschied, welcher Tumor in das Knochenmark infiltrierte. Patientinnen mit einem infiltrierenden Mammakarzinom starben nicht signifikant früher als Patienten mit einem Bronchialkarzinom oder einem Prostatakarzinom. Sowohl die Unterscheidung in Geschlecht und Tumorart brachte keine erwähnenswerten Ergebnisse. Die Streuung war in allen Fällen gleich und unterschied sich nicht nennenswert. Das lag zum einen an der geringen Fallzahl und zum anderen an den fehlenden Follow ups.

Eine Studie von PAPAC (1994) verdeutlicht, dass ein Befall des Knochenmarks durch ein kleinzelliges Bronchialkarzinom mit einer zu anderen Tumorarten der Studie vergleichsweise schlechten Prognose und einer hohen Letalität mit verkürzter Lebenszeit einhergeht.

Auch nach PLUNKETT et al. (2005) hängt die mittlere Überlebensrate vom jeweiligen Tumortyp ab. Da die Follow-up-Ergebnisse von 18 Patienten fehlen, ließ sich in der vorliegenden Studie keine repräsentative und vergleichbare mittlere Überlebenszeit ermitteln.

5.2.1.4 Paraklinische und klinische Zusatzbefunde

Die Befundkonstellation „Knochenmarkmetastasierung“ ist sehr komplikationsreich. Die Betroffenen leiden unter Knochenschmerzen, eingeschränkter Mobilität, pathologischen Frakturen, Wirbelsäulenkompressionen, Hyperkalzämie und eingeschränkter Knochenmarkfunktion und neurologischen Ausfallerscheinungen (RUBENS 1991, WANG et al. 2004).

Anhand der Begleitscheine, die mit der Knochenmarkprobe eingesandt wurden, konnten ebensolche Symptome erfasst werden. Hier ist die Datenlage leider unbefriedigend. Eine

detaillierte Ausführung hätte für die Interpretation hilfreich sein können und wurde in den Fällen, in denen es nachvollziehbar dokumentiert wurde, auch berücksichtigt.

In der vorliegenden Untersuchung hatten 33 Patienten eine Anämie, 20 eine Thrombopenie und 10 litten an einer Verminderung aller drei Zelllinien, einer Panzytopenie. Dabei ergaben sich keine bemerkenswerten Korrelationen zwischen Blutbildveränderungen und der Art des infiltrierenden Tumors. Die Frage, ob die Veränderungen im Blutbild speziell etwas mit dem Knochenmarkbefall zu tun haben oder als generelle Begleiterscheinung des malignen Prozesses zu deuten sind, lässt sich in dieser Arbeit nicht beantworten und sollte Gegenstand weiterer Studien werden.

CHERNOW et al. (1978) demonstrierte, dass Patienten mit Knochenmarkmetastasen häufiger an einer Anämie und Thrombozytopenie leiden als Krebspatienten ohne Knochenmarkinfiltration. Weiterhin fand er heraus, dass es hierbei keinen Unterschied macht, welcher Tumor metastasierte. YUN et al. (2006) reduziert die brauchbaren Parameter, die Hinweise auf eine Knochenmarkinfiltration geben, auf eine leukoerythroblastäre Anämie, den Anstieg der Laktatdehydrogenase im Serum, Anstieg der alkalischen Phosphatase und der Aspartat-Aminotransferase.

SEITANIDES et al. (1988) sind der Ansicht, dass es bei Tumorpatienten generell zu Blutbildveränderungen kommt und zwar unabhängig davon, ob das Knochenmark befallen wurde oder nicht. Weitere Studien, die diese These stützen, wurden von BEZWODA et al. (1986), HANSEN et al. (1971), IHDE et al. (1979) und TRITZ et al. (1989) gemacht, deren Untersuchungen sich hierbei allerdings auf die Auswertung von kleinzelligen Bronchialkarzinomen beschränkten.

Bei 19 Patienten wurde bis zum Zeitpunkt der Knochenmarkuntersuchung eine Strahlen- bzw. zytostatische Therapie vorgenommen.

Häufig tritt bei der Behandlung eine Zytopenie auf, sodass die Frage zu klären ist, ob es sich um eine strahlen- oder chemotherapieinduzierte Hypo- oder Aplasie oder um eine metastatische Verdrängung des Knochenmarks handelt (BAIN et al. 2000).

Bei Patienten, die nicht therapiert wurden, ist die Annahme sehr naheliegend, dass Zytopenien bzw. Aplasien auf einen das Knochenmark erfassenden infiltrierenden Prozess, also auf eine Knochenmarkmetastasierung, zurückzuführen sind.

Ein weiterer Aspekt ist die Betrachtung des Kalziumspiegels im Blut, denn ein häufiger Befund im untersuchten Kollektiv war eine Hyperkalzämie (n= 16). Dass dieser Befund allerdings sehr

unspezifisch zu betrachten ist, zeigen die von FRISCH et al. (1987) beschriebenen Mechanismen, die im Falle einer malignen Erkrankung zu einer Hyperkalzämie führen können:

- a) Osteolysen, bedingt durch ausgedehnte Metastasierung, z. B. bei Karzinomen der Mamma, der Schilddrüse, der Lunge sowie bei einigen Lymphomen
- b) Osteolysen ohne nachweisbare Knochenmetastasen, aber in Verbindung mit einigen Karzinomen, die Vit-D-ähnliche Stoffe produzieren
- c) Osteolysen ohne nachweisbare Knochenmetastasen, in Verbindung mit Tumoren, die parathormonähnliche Substanzen sezernieren
- d) Osteolysen ohne nachweisbare Metastasierung, aber in Verbindung mit Tumoren, die eine hormonartige Substanz sezernieren, die nicht mit dem Parathormon oder seinen Vorstufen verwandt ist, z. B. Tumoren der Lunge, der Niere, des Uterus, des Pankreas und des Kolons.

Auch COLEMANN (1997) und MUNDY (2002) geben einen erhöhten Kalziumspiegel als eine der häufigsten Komplikation maligner Prozesse an, die wie von FRISCH et al. (1987) beschrieben, unterschiedlicher Natur sein kann.

Pathologische Frakturen sind eine relativ späte und im vorliegenden Untersuchungsmaterial selten angegebene Komplikation der Knocheninfiltration und als Folge der fortschreitenden Osteolyse zu sehen. Bei 4 Patientinnen, alle mit einem Mammakarzinom, wurde eine pathologische Fraktur ohne nähere Aussage über die Lokalisation angegeben.

Orte pathologischer Frakturen sind laut COLEMANN (1997) Femur, Humerus, Rippen, seltener Wirbelkörper und das Becken. In dieser Untersuchung erlitten von 1.800 Patienten mit Knochenmarkmetastasen 150 (8 %) eine pathologische Fraktur am Femur oder Humerus. Die Primärtumoren hierfür waren in 53 % in der Mamma, in 11 % in der Niere, 8 % in der Lunge, 5 % in der Schilddrüse und nur 3 % in der Prostata gelegen. Auch GALASKO (1991) und HIRAGA et al. (1998) geben das Mammakarzinom als Tumor mit der höchsten Rate pathologischer Frakturen an.

5.2.2 Diskussion der Primärtumoren

Der häufigste maligne Tumor bei Frauen ist das Mammakarzinom, bei Männern ist es das Prostatakarzinom. Das Bronchialkarzinom ist bei Frauen und Männern die dritthäufigste Tumorerkrankung (ROBERT-KOCH-INSTITUT 2008). Da diese Tumoren auch hämatogen

metastasieren, überrascht es nicht, dass diese in der vorliegenden Arbeit auch als im Knochenmark Metastasen bildende Primärtumoren dominieren.

Nach RUBENS (1991) und WALTHER (1939) ist das Mammakarzinom ein an erster Stelle hämatogen metastasierender Primärtumor. Das Prostatakarzinom befindet sich an zweiter Stelle. Diese Ergebnisse stimmen mit den Ergebnissen in vorliegender Untersuchung überein. Des Weiteren traten nach den Studien o. g. Autoren die Primärtumoren in den folgenden Organen bzw. Organsystemen auf: 3. Schilddrüse, 4. Bronchien 5. Urogenitaltrakt und 6. Gastrointestinaltrakt. Eine Knochenmarkmetastasierung bei einem Schilddrüsenkarzinom kam im vorliegenden Untersuchungsgut nicht vor. Ansonsten stimmt die Reihenfolge der Häufigkeiten aus den Studien o. g. Autoren mit der Reihenfolge aus vorliegender Untersuchung überein.

Primärtumoren der Leber und des Pankreas sind im Vergleich zu den oben genannten Tumorlokalisationen relativ selten (ROBERT-KOCH-INSTITUT 2008).

Die Diskussion der TNM-Stadien des vorliegenden Untersuchungsmaterials kann nur mit Einschränkung vorgenommen werden. Trotzdem sämtliche TNM-Stadien seitens der Klinik mit Einschränkung der Staging-Befunde oder nach der histopathologischen Untersuchung komplettiert wurden, fehlen diesbezüglich fast 50 % der TNM-Daten zum Zeitpunkt der festgestellten Knochenmarkmetastasierung, was die Beurteilung erschwerte.

Auch wenn man die T-Stadien der einzelnen Tumoren streng genommen nicht direkt miteinander vergleichen kann, fällt auf, dass sich die Mehrzahl aller Metastasen bildenden Tumoren aus der Gruppe der T3- und T4-Tumoren rekrutiert. Die Korrelation zwischen Tumorgröße und metastatischer Absiedlung zeigt, dass eine Metastasierung erst im fortgeschrittenen Stadium erfolgte.

Die Beurteilung des Gradings der Primärtumoren erfolgte in 31 Fällen. Wie Abbildung 21 zeigt, metastasierten Tumoren, die gering, mäßig oder schlecht differenziert waren, gleichermaßen ausgedehnt.

5.2.3 Auswertung der zytologischen Präparate

5.2.3.1 Knochenmarkfremde Zellen und Artdiagnose

In Knochenmarkaspiraten können Tumorzellen in unterschiedlicher quantitativer Ausdehnung auftreten. Das Auftreten von keiner der hämatopoetischen Zellreihen zuzuordnenden Zellgruppen oder -komplexe ist hochgradig suspekt bzw. tumorverdächtig. Die Identifikation von Tumorzellen in Knochenmarkausstrichen gelingt mit höherer diagnostischer Treffsicherheit, wenn methodisch einwandfreie, „markbröckchenhaltige“ Ausstriche angefertigt werden und der Diagnostiker entsprechende Erfahrung hat. Letzteres ist bei Pathologen, die regelmäßig nicht-gynäkologische Zellausstriche beurteilen müssen, als gegeben anzunehmen.

Die Kriterien der echten (anatomische gewachsenen) Zellverbände können als zytologisches Diagnostikmerkmal herangezogen werden. Kriterien für solide Tumorzellkomplexe sind: Mehrschichtigkeit der Zellverbände, radiäre Anordnung, Lumenbildung, Kernmarginalisierung, intrazytoplasmatische und intraluminale Schleimeinschlüsse und Mitosen sowie Verschiebung der Kern-Plasma-Relation zugunsten des Kernes.

In den Fällen (n=31), bei denen sich suspekte oder sicher knochenmarkfremde Zellen identifizieren ließen, konnte anhand zytomorphologischer Merkmale wie interzellulärer Brücken, intrazytoplasmatischer Schleimakkumulation, Lokalisation des Kernes, Chromatinmuster in 8 Fällen eine eindeutige Zuordnung als adenoide/glanduläre Neoplasie vorgenommen werden. In einem der 31 Knochenmarkaspirate, in denen suspekte oder eindeutige Tumorzellen gefunden wurden, war eine genaue Artdiagnose (kleinzelliges Bronchialkarzinom) möglich.

Da von 41 Fällen in 31 Fällen (= 76 %) bereits anhand der Ausstrichpräparate suspekte oder sicher knochenmarkfremde Zellen identifiziert werden konnten, ist eine hohe diagnostische Treffsicherheit zu belegen, wobei das Untersuchungsergebnis kurz nach der Materialgewinnung vorlag. Somit können die diagnostischen Ergebnisse unmittelbar therapeutische (kurative und palliative) Maßnahmen induzieren. Der geringe ökonomische Aufwand (keine Wartezeit auf Untersuchungstermine mit hochauflösender bildgebender Diagnostik wie CT etc.) spricht für die zytologische Diagnostik.

5.2.3.2 Die Beurteilung der Hämatopoese

Die Anzahl der Markbröckchen und die Dichte hämatopoetischer Zellen in den Markbröckchen korreliert mit dem Ausmaß der Hämatopoese. Eine Verminderung von Aspirationsbröckchen

zugunsten von Fettzellen spricht für eine verminderte Hämatopoese (Ersatz hämatopoetischen Gewebes durch Fettmark). Zum einen kann dies lebensaltersbedingt sein und zum anderen Ausdruck einer Knochenmarksuppression z. B. durch eine Strahlen- oder Chemotherapie. Zusätzliches Auftreten von Tumorzellen spricht für eine Reduktion der Hämatopoese durch einen infiltrativen Prozess (FRISCH et al. 1999).

Im Falle einer ausgedehnten Knochenmarkinfiltration ließen sich keine typischen, aus hämatopoetischen Zellen zusammengesetzten Markbröckchen nachweisen. Hier traten atypisch zusammengesetzte Markbröckchen auf, die aus Fibrosematerial und Tumorzellen bestanden. Im Falle einer aufgehobenen Aspirierbarkeit von Zellverbänden konnten verschiedene Tumoreinzellen und kleinste Tumorzellgruppen gefunden werden. Insbesondere im Anfangsstadium einer Knochenmarkinfiltration kann es zu einer Erhöhung der Zellularität der Hämatopoese kommen. Dies ist als allgemeine Reaktion des hämatopoetischen Systems zu interpretieren. Die Veränderungen in der Hämatopoese in vorliegender Studie betrafen Megakaryopoese, Erythropoese und Granulopoese in unterschiedlichem Ausmaß.

Das Fehlen typischer Markbröckchen und typischer Zellularität und das Auftreten (auch nur weniger) Tumorzellen im Zusammenhang mit einer Zytopenie des peripheren Blutes beweist praktisch eine Knochenmarkinfiltration durch einen malignen Tumor.

In 16 Fällen ließ sich eine Zunahme der Lymphozyten und Plasmazellen feststellen. Dieses Phänomen korreliert wahrscheinlich mit dem Grad der Tumordinfiltration, ist jedoch kein spezifischer Befund einer Knochenmarkmetastasierung (BAIN 2001).

5.2.3.3 Das Verhältnis Erythropoese/Granulopoese

Das Verhältnis von Erythropoese zu Granulopoese ließ sich in nur 19 von 38 Fällen (= 50 %) eruieren. Bei vielen Tumoren bestand zugleich eine Störung der Erythropoese, die insbesondere durch Verabreichung von Chemotherapeutika verstärkt werden kann. Dagegen zeigt die Granulopoese zumeist eine reaktive Proliferationssteigerung und Linksverschiebung.

5.2.3.4 Blastäre Zellen

Das Auftreten auch kleinster kompakter „blastärer“ Zellen mit hoher Kohäsivität (im Extremfall sogar mit Interzellularbrücken) ist hochgradig verdächtig (in vielen Fällen diagnostisch beweisend) für eine Knochenmarkkarzinose.

Nach eigenen Erfahrungen, die durch andere Autoren bestätigt werden, müssen zwei verschiedene Blastentypen unterschieden werden:

1. Blasten bei primären hämatologischen Systemerkrankungen (akute Leukämien, MDS, lymphoproliferative Erkrankungen, MPS). Bei diesen Erkrankungen treten die Blasten nicht in Zellverbänden, sondern in der Regel nur als Einzelzellen auf.
2. Blasten bei Knochenmarkinfiltration solider Tumoren (Metastasen). Die Blasten liegen hierbei meist in kleinen Gruppen weniger Zellen vor. Das Kriterium der echten (anatomisch gewachsenen) Zellverbände kann als zytologisches Diagnostikmerkmal einer Karzinose herangezogen werden.

Hier ist der Ansatzpunkt der zytomorphologischen Diagnostik im Zusammenhang mit der Anamnese, dem Status praesens und den paraklinischen Angaben zu sehen. Anhand der konventionellen Präparate und ggf. unter Hinzuziehung von immunhistochemischen und immunzytochemischen Methoden muss eine zuverlässige Identifizierung dieser Blasten vorgenommen werden (BAIN 2001), die zumeist auch regelmäßig gelingt.

5.2.3.5 Speichereisen

In keinem der Fälle lag eine normale Speichereisenkonzentration vor. In 10 Fällen wurde ein vollständiger Mangel und in einem Fall wurde eine reduzierte Speichereisenkonzentration beobachtet. In 13 Fällen trat eine erhöhte Speichereisenkonzentration auf. Die Einlagerung von Speichereisen erlaubt eine Aussage zum Eisenstoffwechsel und zur Hämoglobinkinetik. Je mehr Erythrozyten und das darin befindliche Hämoglobin zerfallen (beispielsweise durch Chemotherapeutika, Strahlentherapie oder Infiltration durch einen malignen Tumor), desto mehr Eisen lagert sich in Retikulumszellen und Siederoblasten ein (BAIN et al. 2000).

Der beständige Mangel an Speichereisen kann einerseits Ausdruck eines tatsächlichen Eisenverlustes, z. B. im Zusammenhang mit protrahierten Blutungen aus dem Primärtumor oder aus Metastasen erklärt werden. Andererseits ist die EDTA-Entkalkung von Beckenkammbiopsien häufig auch mit einer Herauslösung des Eisens an dem Gewebe

verbunden, also methodisch bzw. artifiziell bedingt. Hier ist die Beurteilung der Eisenfärbung am Aspirationspräparat vergleichsweise hilfreich, die in der Regel die tatsächliche Eisensituation widerspiegelt.

5.2.4 Auswertung der histologischen Präparate

Die entnommenen Biopsien waren in den allermeisten Fällen gut erhalten und somit zur Diagnostik verwendbar.

Ein guter Erhaltungszustand und eine ausreichende Größe von mind. 1,5 x 0,3 cm sind Kriterien, die für eine suffiziente Auswertung und Diagnostik ganz entscheidend sind. Diskutiert werden im folgenden Abschnitt die Konfiguration des Knochengewebes und des Knochenmarkstromas. Weiterhin werden die primärtumorspezifischen Charakteristika hervorgehoben und kritisch beurteilt.

5.2.4.1 Das Knochengewebe

Bei den Veränderungen des Knochengewebes handelte es sich in den meisten Fällen um osteolytische Prozesse. Ob bei verschiedenen Tumor-Entitäten Unterschiede in der Konfiguration oder im Ausmaß von Osteolysen vorliegen, bleibt fraglich bzw. konnte in der vorliegenden Arbeit und wegen der relativ geringen Fallzahl nicht abschließend geklärt werden. Die Anordnung der Osteoklasten bei Knochenmarkkarzinose ist fast ausschließlich clusterförmig.

Metastasen im Knochenmark beeinflussen in der überwiegenden Zahl der Fälle (ungefähr 95 %) den trabekulären Knochen (FRISCH et al. 1999). MUNDY et al. (1981) und GALASKO (1982) fanden heraus, dass durch Metastasen im Knochenmark sowohl Osteoblasten als auch Osteoklasten stimuliert werden und auch jeweils eine dieser Zellarten im individuellen Fall überwiegt. Nur selten ist der Prozess rein osteolytisch oder osteoblastisch. Zumindest in den Frühstadien geht die Resorption des Knochens mit einer Aktivierung der Osteoklasten einher. In späteren Stadien, wenn die Markräume vollständig von Tumorzellen ausgefüllt sind und diese direkt auf der Knochenoberfläche liegen, können andere Mechanismen mitbeteiligt sein (Druckatrophie).

Die Trabekel waren in der Mehrzahl der Fälle alteriert. Dieser Prozess reichte von großen Gebieten ohne Knochen bis hin zu großflächiger Osteosklerose.

Im Vergleich zu den Befunden von FRISCH et al. (1999) ergab sich hinsichtlich der beobachteten Art der Knochenveränderung folgendes Bild (Tab. 15).

Tabelle 15: Vergleich der Art und Häufigkeit von Knochenveränderungen bei Knochenmarkmetastasierung zwischen dem untersuchten Material von FRISCH et al. (1999) und dem Untersuchungsgut des Klinikums Bad Saarow

Art der Knochenreaktion	Studie von FRISCH et al. (1999)	Untersuchungsgut des Klinikums Bad Saarow
1. Porose/Lyse	49 %	18 %
2. Normal	19 %	7 %
3. Mischform	16 %	38 %
4. Spongiosklerose	7 %	10 %
5. Fibrosklerose	7 %	2 %
6. Geflechtknochen	2 %	25 %

Die in der vorliegenden Untersuchung dominierende Art der Knochenreaktion ist die Mischform (38 %), gefolgt von der Geflechtknochenbildung (25 %). Dieses Ergebnis unterscheidet sich signifikant von den von FRISCH et al. (1999) gemachten Beobachtungen, in der die Porose/Lyse mit einem Anteil von 49 % die vorherrschende Reaktion im Knochenmark war.

Ist eine reine osteosklerotische Reaktion anzutreffen, so kann diese sich aus der von Geflechtknochen, d. h. aus Mineralisierung dichten Bindegewebes entwickeln. Auch durch appositionelle Ablagerung von Osteoid aus bereits vorbestehenden Knochenbälkchen durch Osteoblasten oder eine von der Trabekeloberfläche ausgehende knospenförmige Knochenneubildung können zur Osteosklerose führen (BURKHARDT et al. 1982).

Bis auf 9 Fälle war die normale Trabekelstruktur zerstört und die Belastbarkeit des Knochens verringert, sodass pathologische Frakturen auftreten können.

5.2.4.2 Die Hämatopoese

Die Veränderungen in der Hämatopoese in vorliegender Studie betreffen auch in den histologischen Präparaten Megakaryopoese, Erythropoese und Granulopoese in unterschiedlichem Ausmaß.

In 13 Fällen lag in den nicht von Tumorzellen infiltrierten Markabschnitten eine Stimulation des Granulopoese vor, die sich vorwiegend in einer Linksverschiebung manifestierte.

In der Erythropoese war die Aktivierung vergleichsweise gering. Gelegentlich traten hier vermehrt Proerythroblasten und Erythroblasten mit angedeuteter megaloblastärer Reifungsstörung auf.

Die Megakaryozyten entsprachen bevorzugt mittleren Reifungsstadien.

5.2.4.3 Das Knochenmarkstroma

Eine leichte bis mittlere Fibrosierung trat in 32 Fällen (= 74,5 %) auf, in nur einem Fall lag eine starke Fibrosierung vor.

Auch BAIN (2001) und BRUNNING et al. (1994) beobachteten häufig eine Retikulin- und Kollagenfibrose im Knochenmarkstroma bei Metastasenbefall. Sie ist laut BAIN (2001) am ausgeprägtesten in Fällen mit einem hohen Grad der Markinfiltration und tritt laut KIELY et al. (1969), RUBINS (1883) und SPECTOR et al. (1973) besonders häufig bei Karzinomen der Mamma, des Magens, der Prostata und der Lunge auf. Auch in der vorliegenden Arbeit korrelierten der Grad der Fibrosierung mit dem Infiltrationsgrad weitgehend. Dennoch gab es einige Fälle (n= 5), bei denen auch bei nur geringer Infiltration (< 15 %) eine starke Fibrosierung zu erkennen war.

Wichtig ist, dass das Nichterkennen von Tumorzellen im fibrösen Stroma zu einer Fehldiagnose führen kann und dieser Sachverhalt bei der Begutachtung und Auswertung durch den Pathologen berücksichtigt werden muss. Insbesondere bei einem fortgeschrittenen Fibrosegrad des Knochenmarks besteht gelegentlich eine Verwechslungsmöglichkeit mit einer chronischen idiopathischen Fibrose im fibrotischen Stadium. Bei der Diagnostik muss, ggf. unter Anwendung immunhistochemischer Zusatzuntersuchungen, große Aufmerksamkeit darauf verwendet werden, Tumoreinzelzellen nicht zu übersehen.

Hinsichtlich des Gefäßbefundes innerhalb des Knochenmarks ist zu erwähnen, dass gerade einmal in rund einem Drittel eine vermehrte Gefäßanzahl auftrat. Diese Feststellung ist bemerkenswert, da die im Rahmen der Metastasierung abgesiedelten Tumorzellnester nur weiter wachsen können, wenn in ausreichender Menge eine Angiogenese induziert wurde (FRISCH et al. 1987).

Die Struktur der neugeformten Gefäße entspricht nur sehr selten normalen Venen und Arterien (BRUNNING et al. 1994).

Die Vaskularisierung der Metastasen war sehr unterschiedlich – einige waren reich vaskularisiert, andere wiederum ließen keine Blutgefäße erkennen. In einigen Fällen konnten die Tumorgefäße direkt mit der arteriellen Blutversorgung des Wirtsgewebes am Rande des Tumorwachstums kommunizieren. Die ausreichende Blutversorgung lässt sich am Proliferationsverhalten am Tumorrand ablesen, während eine ungenügende Durchblutung zu zentralen Nekrosen führt (FRISCH 1999).

Nekrosen lagen in vorliegender Arbeit kaum vor (14 %), was u. a. Ursache o. g. Mechanismen sein kann. Möglicherweise bedürfen Metastasen im Knochenmark einer vergleichsweise geringeren Gefäßversorgung, weil das Knochenmark durch die allgemein bessere Durchblutung als in parenchymatösen Organen bessere nutritive Bedingungen bietet.

Der festgestellte Infiltrationstyp (herdförmig, interstitiell, diffus, intrasinusoidal mit und ohne Endothelkontakt, paratrabekulär, persinusoidal, perivaskulär) korrelierte nicht mit einem speziellen histologischen Tumortyp oder mit einer konkreten Primärtumorlokalisation. In vorliegender Untersuchung war in 14 von 43 Fällen (= 33 %) eine klare Infiltrationstypenbestimmung möglich. Die meisten Metastasen jedoch waren Mischtypen und wiesen mehrere der oben genannten Eigenschaften einzelner Infiltrationstypen auf. Auch die Aufschlüsselung nach Primärtumoren brachte keine weiteren Erkenntnisse. Hierzu gibt es keine vergleichbaren Befunde in der Literatur.

5.2.5 Diskussion des Wachstumsmusters der Metastasen im histologischen Präparat

5.2.5.1 Karzinome der Prostata

In 9 Fällen (= 82 %) waren die Metastasen der Prostatakarzinome osteolytisch. In allen Fällen bestand ein direkter Kontakt der Tumorzellen zu den Knochen trabekeln und der Osteoklasten zum Knochen. Dem Prostatakarzinom wird entgegen vorliegender Daten von vielen Autoren ein osteoblastisches Muster zugeordnet. Osteolysen sind laut BRUNNING et al. (1994), COTTA et al. (2006) und FRISCH et al. (1999) selten.

In Anlehnung an die Einteilung von BARTL et al. (2006) fanden sich in 4 Fällen (= 36 %) eine Porose/Lyse, in 2 Fällen (= 18 %) eine Mischform, in einem Fall (= 9 %) eine Spongiosklerose, in einem weiteren Fall (= 9 %) eine Geflechtknochenbildung und einmal (= 9 %) eine Fibrosklerose.

In 5 Fällen (= 45 %) war eine Retikulinfibrose zu erkennen und in 4 Fällen (= 36 %) eine frühe bis normale Myelofibrose. Auch COTTA et al. (2006) fanden heraus, dass die Infiltration des

Knochenmarks durch ein Prostatakarzinom mit Fibrosen unterschiedlicher Ausprägung assoziiert ist. Eine stark ausgedehnte Fibrose war sowohl bei COTTA et al. (2006) als auch in vorliegender Untersuchung nicht aufgetreten.

Tumornekrosen traten in 2 von 11 Fällen (= 18 %) auf. Metastasen des Prostatakarzinoms im Knochen manifestieren sich häufig als vom Bindegewebe abgegrenzte Herde, die entweder eine drüsige Struktur erkennen lassen oder aus soliden Zellmassen bestehen. Der Adenotyp zeigt üblicherweise kleine bis mittelgroße Zellen, während der medulläre Typ häufig aus anaplastischen Zellen mit großen deutlichen Nukleolen besteht (FRISCH et al. 1999 und SMALLRIDGE et al. 1981).

Von der Tumorzellanordnung lässt sich ebenso kein typisches Bild ausmachen. Dass das Erscheinungsbild des Prostatakarzinoms im Knochenmark außerordentlich stark variiert, fand auch SMALLRIDGE et al. (1981) heraus.

Es bestehen Hinweise dafür, dass das variable Verhalten des Prostatakarzinoms auch von der Immunantwort des individuellen Patienten und von der hormonellen Ansprechbarkeit des Tumors abhängt (PERTSCHUK et al. 1982).

5.2.5.2 Karzinome der Mamma

Laut COTTA et al. (2006) metastasieren invasiv duktile Karzinome der Mamma häufiger, als lobuläre Karzinome der Mamma. In vorliegender Studie waren beide Subtypen als verantwortliche Primärtumoren gleich häufig vertreten.

COLEMANN (1997) ist der Ansicht, dass in den meisten Fällen der histologische Befund der Metastasen von Mammakarzinomen ein gemischtes Bild sowohl von Osteolysen als auch von Osteosklerose ist. Nach ORR et al. (2004) hängt das histologische Bild mit dem Stadium der Infiltration zusammen. Frühere Stadien sind geprägt durch eine zunehmende osteoklastische Resorption, die in späteren Stadien mit Zunahme des Tumorumfanges zugunsten der Osteosklerose zunimmt.

Das genaue Stadium der Patientinnen ließ sich anhand vorliegender Daten nicht eruieren. In der Mehrzahl der Fälle (= 71,5 %) handelte es sich um mehr oder weniger stark ausgeprägte osteolytische Wachstumsmuster. In 3 Fällen (= 21,5 %) waren die Trabekel intakt und in einem Fall (= 7 %) verdickt.

In 12 Fällen (= 85,5 %) lag ein direkter Kontakt zwischen Knochen trabekel und Tumorzellen vor, in 2 Fällen (= 14,5 %) bestand kein Kontakt.

In 10 Fällen (= 71,5 %) lag ebenso ein direkter Kontakt der Osteoklasten zum Knochen vor, in 4 Fällen (= 28,5 %) nicht. Somit kann, wie bei ORR et al. (2004), in vorliegender Studie die Frage, ob nun der direkte Kontakt zwischen Tumorzellen und Trabekel zu einer Resorption führt oder es vielmehr die Osteoklasten sind, nicht konkret beantwortet werden.

Von der Art der Knochenreaktion war in 6 Fällen (= 43 %) eine Porose/Lyse, in 4 Fällen (= 28,5 %) eine Mischform und in 2 Fällen (= 14,5 %) eine Spongiosklerose zu erkennen.

In allen Fällen bestand im Bereich des Knochenmarkstromas eine Faservermehrung. Auch COTTA et al. (2006) beschreiben häufig auftretenden Fibrosen beim Mammakarzinom. In vorliegender Untersuchung handelte es sich in 3 Fällen (= 21,5 %) um eine frühe Myelofibrose, in 3 Fällen (= 21,5 %) um eine Myelofibrose und in 6 Fällen (= 43 %) um eine Retikulinfibrose. Kollagenfibrosen traten nicht auf. Tumornekrosen traten hier in nur 2 Fällen (= 14,5 %) auf.

5.2.5.3 Bronchialkarzinome

Die Gruppe der Bronchialkarzinome ist sehr heterogen und lässt sich in 4 Hauptgruppen einteilen, die ihrerseits wieder Subtypen und histologische Varianten aufweisen.

1. Plattenepithelkarzinom der Lunge
2. Adenokarzinom der Lunge
3. Großzelliges Bronchialkarzinom
4. Kleinzelliges Bronchialkarzinom

Von den insgesamt 10 Lungentumoren infiltrierten in 7 Fällen kleinzellige Bronchialkarzinome und in 3 Fällen Adenokarzinome das Knochenmark.

Auch COTTA et al. (2006) beschreiben in ihrer Studie, dass kleinzellige Karzinome häufiger in das Knochenmark infiltrieren als Adenokarzinome. Ganz selten sind es Plattenepithelkarzinome und so gut wie nie metastasieren großzellige Karzinome in das Knochenmark.

Ebenso stellten COTTA et al. (2006) fest, dass die Morphologie der Knochenmarkmetastasen von der Art des Primärtumors abhängt.

Im Untersuchungsgut konnte in allen Fällen ein direkter Kontakt zwischen Tumorzellen und Knochen trabekel ausgemacht werden. Die Osteoklasten, wenn vorhanden, waren in Clustern angeordnet. In einigen Fällen gab es keine Knochenveränderungen. In 5 Fällen (= 50 %) reagierte der Knochen mit einer Porose/Lyse.

Tumornekrosen traten im Untersuchungsmaterial in nur einem Fall (= 10 %) auf.

Bei Metastasen von kleinzelligen Bronchialkarzinomen liegt die Fläche des Tumorzellinfiltrats laut MUGGIA et al. (1972) gewöhnlich bei 50 %. In vorliegender Untersuchung liegt die Tumordinfiltration in genau zwei Fällen unter 50 %, in vier Fällen bei 60-95 %. Das wirft die Frage auf, ob die Flächenausdehnung einer Metastasierung als ein Kriterium zur Identifizierung der Primärtumoren diagnostisch verwendbar ist.

Wie bereits von MUGGIA et al. (1972) beschrieben, kann anhand vorliegender Daten bestätigt werden, dass die Tumorzellanordnung beim kleinzelligen Bronchialkarzinom zumeist in Tumorzellclustern oder mit vollständigem Ersatz von Knochen und Knochenmark erfolgt.

Die Aussage von MUGGIA et al. (1972) über gehäuft auftretende myelofibrotische und osteoblastische Reaktionen kann anhand vorliegender Daten nicht bestätigt werden. Es traten sogar vermehrte Fälle mit Osteolysen auf und deutlich mehr Fälle, in denen es zu keiner Faservermehrung kam.

Dasselbe gilt für das Adenokarzinom. Auch hier trat in keinem Fall eine Faservermehrung auf, lediglich in einem Fall eine frühe Myelofibrose. Somit kann die Aussage von COTTA et al. (2006), dass Adenokarzinome im Knochen eine massive desmoplastische Reaktion induzieren, zu einer vollständigen Remodellation des Knochens führen, nur eingeschränkt bestätigt werden. Auch die von COTTA et al. (2006) beschriebenen Nekrosen traten im Untersuchungsgut zumindestens bei den Adenokarzinomen nicht auf.

5.2.6 Diskussion der Vorgehensweise zur diagnostischen Abklärung der CUP-Fälle

In 19 von 49 Fällen (= 39 %) war der Primärtumor zum Zeitpunkt der Knochenmarkuntersuchung noch nicht bekannt. Ein Teil davon wurde anhand der weiteren klinischen Befunde geklärt und histologisch verifiziert. In 9 Fällen gelang dies mithilfe der Immunhistochemie, sodass schlussendlich kein Fall ungeklärt blieb.

Die alleinige Auswertung der Aspirationspräparate zur Auflösung der CUP-Problematik brachte in vorliegender Arbeit allerdings keine Aussagen zur Lokalisation der Primärtumoren.

Dagegen war der Einsatz immunhistochemischer Reaktionen an Beckenkammstanzbiopsien jeweils mit diagnostisch relevanteren Resultaten verbunden. Zur Klärung der Lokalisation des Primärtumors wurden erfolgreich stufenweise gut beschriebene monoklonale Antikörper am formalinfixierten und in Paraffin eingebetteten Gewebe eingesetzt. Voraussetzung hierfür ist, dass die eingesetzten Antikörper die gegenüber der Einbettungsmethode resistenten Antigene oder Epitope erkennen (BECKSTEAD 1986, DAVEY et al. 1990, VAN DER VALK et al. 1989).

Die Anzahl der verfügbaren Antikörper zur Aufdeckung unbekannter Primärtumoren steigt jährlich exponentiell an, was der immer fortwährenden Forschung auf dem Gebiet zu verdanken ist (DABBS 2006).

GRECO et al. (1989), HASKELL et al. (1988), KREMENTZ et al. (1979) und SCHAPIRA et al. (1995) fanden allerdings heraus, dass trotz des Einsatzes der Immunhistochemie bei 5-15 % aller Patienten mit maligner Erkrankung der Primärtumor unentdeckt bleibt.

In der vorliegenden Studie wurden 10 Fälle immunhistochemisch bearbeitet. Generell sollten abhängig von der Konstellation des individuellen Falles sinnvolle Antikörper ausgewählt werden. Dabei sollten Sensitivität und Spezifität der jeweiligen Antikörper bekannt sein. Ein rationeller Einsatz der Antikörper kann durch stufenweises Vorgehen nach einem Algorithmus erreicht werden. Einheitliche Leitlinien existieren hierbei nicht. In der Literatur wurden verschiedene Algorithmen zur immunhistochemischen Tumorklassifikation vorgeschlagen, die zum Teil sehr unterschiedlich sind und mehr oder weniger praktikabel erscheinen. So dürfte der von DE YOUNG und WICK (2000) für maligne epitheliale Tumoren unbekanntes Ursprungs konzipierte Algorithmus in der Routinediagnostik nur sehr schwer anwendbar sein. Diese Vorgehensweise sieht u. a. für jeden keratinpositiven Tumor eine Färbung für PSA und Thyreoglobulin vor und erfordert in den meisten Fällen vier sequenzielle Schritte.

Sinnvoller erscheinen deswegen zweistufige Algorithmen, wie beispielsweise von VARADHACHARY et al. (2004) vorgeschlagen, die in der ersten Stufe mit CK 7 und CK 20 eine orientierende Färbung durchführen und in der zweiten Stufe weitere selektive Marker einsetzen (Tab. 8 und 9). Nach einem ähnlichen Schema ist in der vorliegenden Arbeit vorgegangen worden.

9 Fälle konnten mit dieser Methode stark eingegrenzt bzw. aufgelöst werden. In nur einem Fall hat dies zu keinem Ergebnis geführt. Hier machte vielmehr die konventionelle Auswertung des Beckenkammpräparates eine Eingrenzung möglich und zugleich deutlich, wie wichtig auch die Diagnostik am konventionellen histologischen Präparat ist. Auch DABBS (2006) und MOLL (2005) beschreiben, dass die konventionelle histopathologische Auswertung mit Formulierung einer Arbeitsdiagnose die Basis für die anschließenden immunhistochemischen Untersuchungen darstellt.

Kritisch anzumerken ist, dass die Zuverlässigkeit immunhistochemischer Untersuchungen durch die Entkalkung, die bei der Bearbeitung des Knochengewebes erfolgt, eingeschränkt sein kann. Durch die Entkalkung kann sich die Antigenität des Gewebes partiell verändern, was bei der Befundinterpretation berücksichtigt werden muss (BAIN et al. 2000), weil sie falsch negative Antigen-Antikörper-Reaktionen hervorbringen kann. Aber auch falsch-positive immunhisto-

chemische Reaktionsergebnisse können auftreten, wie bei der Anwendung der Methacrylateinbettung im eigenen Labor festgestellt wurde.

6 Zusammenfassung

Bei fortgeschrittenen Karzinomerkrankungen kann es zur Knochenmetastasierung kommen. Die damit verbundenen klinischen Symptome sind meist uncharakteristisch. Prädiktive Faktoren oder Befunde sind bislang nicht bekannt. Gelegentlich ist die Feststellung einer Knochenmarkkarzinose der erste morphologische Beweis für eine fortgeschrittene Karzinomerkrankung, bei der die Lokalisation des Primärtumors noch nicht (sog. initiale CUP-Fälle) oder auch nach subtiler Diagnostik nicht identifiziert werden konnte (echte CUP-Fälle).

Das Klinikum Bad Saarow, ein Krankenhaus mit 640 Betten (Stand 2005), ist auf die Behandlung von Patientinnen und Patienten mit akuten Erkrankungen und Geschwulstleiden spezialisiert. Fast alle medizinischen Fachgebiete (12 Kliniken und 3 Institute) verfügen über umfassende diagnostische und therapeutische onkologische Leistungsangebote. Trotz des Einsatzes moderner bildgebender diagnostischer Verfahren besteht bei Patientinnen und Patienten gelegentlich der Verdacht einer Knochenmarkmetastasierung.

In der vorliegenden Arbeit wurden Knochenmarkaspirate ($n = 9334$) und -biopsate ($n = 8391$) analysiert, die in den Jahren 1993-2006 an das Institut für Pathologie des Klinikums Bad Saarow geschickt wurden. Diese wurden unter dem Gesichtspunkt ausgewertet, inwieweit bei bekanntem Primärtumor eine Knochenmarkmetastasierung vorlag, die eine aktuelle klinische Symptomatik erklären konnte. Ferner war zu überprüfen, inwiefern bei bislang unbekanntem Primärtumor aus der Knochenmarkdiagnostik nähere Aufschlüsse zum Primärtumor zu erlangen waren. Das umfangreiche Untersuchungsgut enthielt lediglich 49 Fälle, in denen diese Fragestellungen abgeklärt werden sollten. Dabei wurden klinische und paraklinische Angaben berücksichtigt.

In allen Fällen handelte es sich um erwachsene Patienten. Pädiatrisch-hämatologische bzw. -onkologische Diagnostik wurde im o. g. Zeitraum im Klinikum in Bad Saarow nicht durchgeführt. Das Verhältnis zwischen Frauen und Männern lag bei 22:27. Bei Frauen trat das Mammakarzinom als häufigster Tumortyp auf (15 von 22 Frauen), bei den Männern das Prostatakarzinom (11 von insgesamt 27 Männern). Das mittlere Alter zum Zeitpunkt der Diagnose „Knochenmarkmetastasierung“ lag bei den Frauen bei 58 Jahren und bei den Männern bei 65,4 Jahren.

Bei 19 der 49 zugrunde liegenden Fälle handelte es sich um „initiale CUP-Fälle“, bei denen die Metastase noch vor der eigentlichen Primärtumordiagnose entdeckt worden war. Es fiel auf, dass

dieses Phänomen bei Männern mit Prostatakarzinom wesentlich häufiger auftrat, als bei den Frauen.

Die Diagnose „Knochenmarkmetastasierung“ korrelierte mit Blutbildveränderungen, wie Anämien, Thrombozytopenien und Hyperkalzämien sowie mit Gewichtsverlust, reduziertem Allgemeinbefinden, Knochenschmerzen, B-Symptomatik und in seltenen Fällen auch mit pathologischen Frakturen.

Das Wachstumsmuster der Metastasen war sehr variabel und nicht nur von der Art des Primärtumors abhängig, sondern auch von dem Stadium der Metastasierung.

In den zytologischen Präparaten trat im Zusammenhang mit einer Metastasierung häufig eine Störung der Erythropoese auf. Die Granulopoese imponierte meist mit einer reaktiven Proliferationssteigerung (Linksverschiebung). In über 57 % traten nichthämato gene blastäre Zellen auf, die hochgradig tumorverdächtig sind.

In den meisten Fällen handelte es sich um osteolytische Wachstumsmuster, wobei hierbei die Osteoklasten zumeist in Clustern vorzufinden waren. Die Veränderungen der Hämatopoese betrafen Megakaryopoese, Erythropoese und Granulopoese in unterschiedlichem Ausmaß. Die Granulopoese war mit einer Proliferationssteigerung assoziiert, in der Erythropoese war die Aktivierung vergleichsweise gering, die Megakaryozyten entsprachen bevorzugt mittleren Reifungsstadien. Der Grad der Fibrosierung korrelierte überwiegend mit dem Grad der Infiltration. Dennoch gab es einige Fälle (= 12 %), bei denen auch bei nur geringer Infiltration (< 15 %) eine starke Fibrosierung zu erkennen war. Nekrosen traten selten auf (= 14 %). Der festgestellte Infiltrationstyp (herdförmig, interstitiell, diffus, intrasinusoidal mit und ohne Endothelkontakt, paratrabekulär, persinusoidal, perivaskulär) korrelierte nicht mit einem speziellen histologischen Tumortyp oder mit einer konkreten Primärtumorlokalisation.

Die Metastasen des Prostatakarzinoms imponierten in über 80 % mit einem osteolytischen Wachstumsmuster im Knochenmark, waren mit Fibrosen unterschiedlicher Ausprägung assoziiert und sehr selten mit Tumornekrosen (= 18 %) verbunden. Die Metastasen des Mammakarzinoms waren ebenso überwiegend osteolytischer Natur (= 71,5 %). In allen Fällen gingen diese mit einer Faservermehrung einher. In keinem Fall trat eine Tumornekrose auf. Bei den Bronchialkarzinomen handelte es neben kleinzelligen Karzinomen (= 70 %) auch um Adenokarzinome (= 30 %), die das Knochenmark infiltrierte. Knochenmarkmetastasierungen bei Plattenepithelkarzinomen oder großzelligen Karzinomen der Lunge wurden nicht festgestellt. Das Wachstumsmuster war hauptsächlich von Osteolysen geprägt, selten von Fibrosen. In einem Fall (Metastasen eines kleinzelligen Bronchialkarzinoms) traten Nekrosen auf.

Wie die vorliegende Studie verdeutlicht, war nur in wenigen Fällen allein anhand der knochenmarkzytologischen Untersuchung von Aspirationspräparaten eine definitive Diagnostik solider Tumoren möglich. Dagegen gestattet die konventionell-morphologische Untersuchung von Beckenkammstanzbiopsien in Kombination mit immunhistochemischen Untersuchungen eine zuverlässige Diagnostik einer Knochenmarkmetastasierung. In allen Fällen sog. initialer CUP-Situationen war zugleich eine Identifikation von Primärtumoren möglich, was für die weitere Therapieplanung von Bedeutung sein dürfte.

7 **Literaturverzeichnis**

Adler CP. Knochenkrankheiten: Diagnostik makroskopischer histologischer und radiologischer Strukturveränderungen des Skeletts. 3. Aufl. Springer, Berlin Heidelberg New York, 2005.

Anner RM, Drewinko B. Frequency and Significance of Bone Marrow Involvement by Metastatic Solid Tumours. *Cancer* 1977; 39: 1337-1344.

Atac B, Lawrence C, Goldberg SN. Metastatic tumor: the complementary role of the marrow aspirate and biopsy. *Am J Med Sci* 1991; 302: 211-213.

Bain BJ, Clark DM, Lampert IA, Koch S. Knochenmarkpathologie. Blackwell, Berlin Wien, 2000.

Bain BJ. Bone marrow aspiration. *J Clin Pathol* 2001; 54: 657-663.

Bain BJ. Bone marrow trephine biopsy. *J Clin Pathol* 2001; 54: 737-742.

Barekman CL, Fair KP, Cotelingam JD. Comparative utility of diagnostic bone-marrow components: a 10-year study. *Am J Hematol* 1997; 56: 37-41.

Bartl R, von Tresckow E, Bartl C. Bisphosphonat-Manual: Springer, Berlin Heidelberg New York, 2006.

Batson OV. The Function of the vertebral veins and their role in the spread of metastases. *Ann Surg* 1940; 112: 138-149.

Becker FO, Schwartz TB. Normal Fluoride 18 Bone Scans in Metastatic Bone Disease. *JAMA*, 1973; 225: 628-629.

Beckstead JH. The bone marrow biopsy: A diagnostic strategy. *Arch Pathol Lab Med* 1986; 110: 175-179.

Bezwoda WR, Lewis D, Livini N. Bone marrow involvement in anaplastic small cell lung cancer. Diagnosis, hematologic features, and prognostic implications. *Cancer* 1986; 58: 1762-1765.

Brunning RD, McKenna RW. Tumors of the Bone Marrow. Atlas of Tumor Pathology, Third Series, Fascicle 9. Armed Forces Institute of Pathology, Washington 1993.

Burkhardt R, Frisch B, Schlag R, Sommerfeld W. Carcinomatous osteodysplasia. *Skeletal Radiol* 1982; 8: 169-178.

Carter RL. Patterns and mechanisms of bone metastases. *J R Soc Med* 1985; 78: 2-6.

Chernow B, Wallner SF. Variables Predictive of Bone Marrow Metastasis. *Cancer* 1978; 42: 2373-2378.

Clain A. Secondary Malignant Disease Of Bone. *Br J Cancer* 1965; 19: 15-29.

Coleman RE. Skeletal complications of malignancy. *Cancer* 1997; 80: 1588-1594.

Coleman RE, Rubens RD. Bone metastases and breast cancer. *Cancer Treat Rev.*1985; 12: 251-270.

Colleoni M, O'Neill A, Goldhirsch A, Gelber RD, Bonetti M, Thurlimann B et al. Identifying breast cancer patients at high risk for bone metastases. *J Clin Oncol* 2000; 18: 3925-3935.

Cotta CV, Konoplev S, Medeiros LJ, Bueso-Ramos CE. Metastatic tumors in bone marrow: histopathology and advances in the biology of the tumor cells and bone marrow environment. *Ann Diagn Pathol* 2006; 10: 169-192.

Dabbs DJ, Immunohistology of Metastatic Carcinoma of Unknown Primary. In: Dabbs DJ. *Diagnostic Immunohistochemistry*. 2. Aufl. Churchill Livingstone Elsevier 2006, 180-226.

Davey FR, Elghetany MT, Kurec AS. Immunophenotyping of hematologic neoplasm in paraffin-embedded tissue sections. *Am J Clin Pathol* 1990; 93: 17-26.

Delsol G, Guiu-Godfrin B, Guiu M, Pris J, Corberand J, Fabre J. Leukoerythroblastosis and Cancer Frequency, Prognosis and Physiopathologic Significance. *Cancer* 1979; 44: 1009-1013.

Delta BG, Pinkel D. Bone marrow aspiration in children with malignant tumors. *J Pediatr* 1964; 64: 542-546.

Denekamp J. Endothelial cell proliferation as a novel approach to targeting tumour therapy. *Br J Cancer* 1982; 45: 136-139.

De Young BR, Wick MR: Immunohistologic evaluation of metastatic carcinomas of unknown origin: an algorithmic approach. *Semin Diagn Pathol* 2000; 17: 184-193.

Dvorak HF. Tumors: wounds that do not heal. Similarities between Tumor Stroma Generation and Wound Healing. *N Engl J Med* 1986; 315: 1650-1659.

Fedarko NS, Fohr B, Robey PG, Young MF, Fisher LW. Factor H binding to bone sialoprotein and osteopontin enables tumor cell evasion of complement-mediated attack. *J Biol Chem* 2000; 275: 16666-72.

Finklestein JZ, Ekert H, Isaacs H Jr, Higgins G. Bone Marrow Metastases in Children with Solid Tumors. *Am J Dis Child* 1970; 119: 49-52.

Folkman J. Proceedings: Tumor angiogenesis factor. *Cancer Res* 1974; 34: 2109-2113.

Frisch B, Bartl R. *Atlas of the Bone Marrow Pathology: Current Histopathology*. Kluwer , Dordrecht, 1990.

Frisch B, Bartl R. *Biopsy Interpretation of Bone and Bone Marrow*. 2. Aufl. Arnold, London, 1999.

Frisch B, Bartl R. Bone Marrow Biopsies Updated: New Prospects for Clinical Diagnostics. In: Frisch B, Lewis SM, Burkhardt R, Bartl R. *Beckenkammbiopsien-klinisch interpretiert*. Springer, Berlin Heidelberg New York, 1987.

Galasko CSB. The anatomy and pathways of skeletal metastases. In: Weiss L, Gilbert HA. Bone metastases. Hall Medical, Boston, 1981, 49-63.

Galasko CSB. Mechanism of lytic and blastic metastatic disease of bone. Clin Orthop Rel Res 1982; 169: 20-7.

Galasko CSB. The Role of the Orthopaedic Surgeon in the Treatment of Skeletal Metastases. In: Rubens RD, Fogelman I. Bone Metastases: Diagnosis and Treatment. Springer, Berlin Heidelberg New York, 1991.

Greco F, Hainsworth J. The management of patients with adenocarcinoma and poorly differentiated carcinoma of unknown primary site. Semin Oncol 1989; 16: 116-122.

Gullino PM. Angiogenesis and neoplasia. N Engl J Med 1981; 305: 884-885.

Hage WD, Aboulaflia AJ, Aboulaflia DM. Incidence, location and diagnostic evaluation of metastatic bone disease. Orthop Clin North Am 2000; 31:515-528.

Hansen HH, Muggia FM, Selawry OS. Bone-Marrow Examination in 100 Consecutive Patients with Bronchogenic Carcinoma. Lancet 1971; 2: 443-445.

Haskell CM, Cochran AJ, Barsky SH. Metastasis of unknown origin. Curr Probl Cancer 1988; 12: 5-58.

Heuck F. Röntgenmorphologie der sekundären, metastatischen Knochentumoren. Radiologe 1978; 18: 287-301.

Hiraga T, Tanaka S, Ikegame M, Koizumi M, Iguchi H, Nakajima T, Ozawa H. Morphology of bone metastasis. Eur J Cancer 1998; 34: 230-239.

Hirsch FR, Hansen HH, Hainau B. Bilateral Bone-Marrow Examinations in Small-Cell Anaplastic Carcinoma of the Lung. Acta Pathol Microbiol Immunol Scand 1979; 87: 59-62.

Hoffbrand AV, Pettit JE, Moss PAH, Hoelzer D. Grundkurs Hämatologie. 2. Aufl. Blackwell, Berlin Wien, 2003.

Hoskin PJ. Radiotherapy in the Management of Bone Metastases. In: Rubens RD, Fogelman I. Bone Metastases: Diagnosis and Treatment. Springer, Berlin Heidelberg New York, 1991.

Ihde DC, Simms EB, Matthews MJ, Cohen MH, Bunn PA, Minna JD. Bone Marrow Metastases in Small Cell Carcinoma of the Lung: Frequency, Description, and Influence on Chemotherapeutic Toxicity and Prognosis. *Blood* 1979; 53: 677-86.

Ingle JN, Tormey DC, Tan HK. The Bone Marrow Examination in Breast Cancer: Diagnostic Considerations and Clinical Usefulness. *Cancer* 1978; 41: 670-4.

Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues: WHO. International Agency for Research on Cancer, Lyon, 2001.

Jatoi A, Dallal GE, Nguyen PL. False-negative rates of tumor metastases in the histologic examination of bone marrow. *Mod Pathol* 1999; 12: 29-32.

Kattapuram SV, Khurana JS, Scott JA, El-Khoury GY. Negative scintigraphy with positive magnetic resonance imaging in bone metastases. *Skeletal Radiol* 1990; 19: 113-116.

Kaufmann O, Fietze E, Dietel M. Immunohistochemische Diagnostik bei Karzinommetastasen mit unbekanntem Primärtumor. *Pathologe* 2002; 23: 183-197.

Kiely JM, Silverstein MN. Metastatic Carcinoma Simulating Agnogenic Myeloid Metaplasia and Myelofibrosis. *Cancer* 1969; 24: 1041-1044.

Krebs in Deutschland 2003-2004. Häufigkeiten und Trends. 6. überarbeitete Auflage. Robert-Koch-Institut (Hrsg) und Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (Hrsg). Berlin, 2008

Krements ET, Cerise EJ, Foster DS, Morgan LR Jr. Metastases of undetermined source. *Curr Probl Cancer* 1979; 4: 4-37.

Kremer M, Quintanilla-Martínez L, Nährig J, von Schilling C, Fend F. Immunohistochemistry in bone marrow pathology: a useful adjunct for morphologic diagnosis. *Virchows Arch* 2005; 447: 920-937.

Krempien B, Manegold CH. Zur Pathogenese und Diagnostik von Knochenmetastasen und Tumorosteopathien. In: Ewerbeck V, Friedl W. *Chirurgische Therapie von Skelettmetastasen - Eine interdisziplinäre Standortbestimmung*. Springer, Berlin Heidelberg New York, 1992. 5-13.

Kuettner KE. Resistance of cartilage to invasion. In: Weiss L, Gilbert HA (eds) *Bone metastases*. Hall Medical, Boston, 1981, 131-165.

Lang W, Stauch G, Soudah B, and Georgii A. The Effectiveness of Bone Marrow Punctures for Staging Carcinomas of Breast and Lung. In: *Pathology of the Bone Marrow*, Lennert K (Ed): Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1984.

Leuthold J. Untersuchungen zur Qualität von peripheren Blutstammzellpräparaten – ultrastrukturelle Studien zur Beurteilung der Kryoprotektion. *Math.-Nat. Dissertation*. Berlin, 2002.

Low JC. The radionuklide scan in bone metastases. In Weiss L, Gilbert HA. *Bone metastases*. Hall Medical, Boston, 1981, 231-244.

Luzzi KJ, Mac Donald IC, Schmidt EE, Kerkvliet N, Morris VL, Chambers AF, Groom AC. Multistep nature of metastatic inefficiency: dormancy of solitary cells after successful extravasation and limited survival of early micrometastases. *Am J Pathol* 1998; 153: 865-873.

Mohanty SK, Dash S. Bone marrow metastasis of solid tumors. *Indian J Pathol Microbiol* 2003, 46: 613-6.

Moid F, DePalma L. Comparison of relative value of bone marrow aspirates and bone marrow trephine biopsies in the diagnosis of solid tumor metastasis and Hodgkin lymphoma: institutional experience and literature review. *Arch Pathol Lab Med* 2005; 129: 497-501.

Moll R, Löwe A, Laufer J, Franke WW. Cytokeratin 20 in human carcinomas. A new histodiagnostic marker detected by monoclonal antibodies. *Am J Pathol* 1992; 140: 427-447.

Moll R. CUP-Syndrom: Gibt es Fortschritte? *Verh Dtsch Ges Path* 2005; 89: 125-136.

Muggia FM, Hansen HH. Osteoblastic metastases in small cell (oat-cell) carcinoma of the lung. *Cancer* 1972; 30: 801-805.

Mueller-Hermelink HK, Baumann I. Das Knochenmarkstroma: Funktion und Pathologie. *Verh Dtsch Ges Path* 1990; 74: 93-105.

Muir C. Cancer of unknown primary site. *Cancer* 1995; 75: 353-356.

Mundy GR, Spiro TP. The mechanism of bone metastasis and bone destruction by tumor cells. In: Weiss L, Gilbert HA (eds) *Bone metastases*. Hall Medical, Boston, 1981, 64-82.

Mundy GR. Metastases to Bone: Causes, Consequences and Therapeutic Opportunities: *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 584-593.

Nissenblatt MJ. Carcinoma with unknown primary tumor (CUP syndrome). *South Med J* 1981; 74: 1497-1502.

Orr FW, Lee J, Wilhelmina CM, Singh G. Pathophysiologic interactions in Skeletal Metastasis. *Cancer* 2000; 80: 1588-1594.

Otto M, Retrospektive Analyse zum Vorkommen und zur histopathologischen Diagnostik des Mammakarzinoms im HUMAINE Klinikum/Mammazentrum Bad Saarow im Zeitraum von 1995-2000. Dissertation. Medizinische Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin, 2007.

Pantel K, Cote RJ, Fodstat O. Detection and Clinical Importance of Micrometastatic Disease. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 1113-1124.

Papac RJ. Bone Marrow Metastases: A Review. *Cancer* 1994; 74: 2403-13.

Parker B, Sukumar S. Distant metastasis in breast cancer: molecular mechanism and therapeutic targets. *Cancer Biol Ther* 2003; 2: 14-21.

Pertschuk LP, Rosenthal HE, Macchia RJ, Eisenberg K et al. Correlation of histochemical and biochemical analyses of androgen binding in prostatic cancer. Relation of therapeutic response. *Cancer* 1982; 49: 984-993.

Plunkett TA, Rubens RD. Clinical Feature and Prognosis of Bone Metastasis. In: Jasmin C, Coleman RE, Coia LR, Capanna R, Saillant G. *Textbook of Bone Metastases*. Wiley, Hoboken, 2005, 65-75.

Rieden K. *Knochenmetastasen: Radiologische Diagnostik, Therapie und Nachsorge*. Springer, Berlin Heidelberg New York, 1988.

Rubin BP, Skarin AT, Pisick E, Rizk M, Salgia R. Use of cytokeratins 7 and 20 in determining the origin of metastatic carcinoma of unknown primary, with special emphasis on lung cancer. *Eur J Cancer Prev* 2001; 10: 77-82.

Rubins JM. The Role of Myelofibrosis in Malignant Leukoerythroblastosis. *Cancer* 1983; 51: 308-311.

Rubens RD. The Nature of Metastatic Bone Disease. In: Rubens RD, Fogelman I. *Bone Metastases: Diagnosis and Treatment*. Springer, Berlin Heidelberg New York, 1991, 1-10.

Savage RA, Hoffmann GC, Shaker K. Diagnostic Problems involved in detection of metastatic neoplasms by bone-marrow aspirate compared with needle biopsy. *Am J Clin Pathol* 1978; 70: 623-627.

Schaefer HE. Zur Zytologie und Histologie des normalen menschlichen Knochenmarks. *Verh Dtsch Ges Path* 1983; 67: 80-100.

Schapira DV, Jarrett AR. The need to consider survival, outcome, and expense when evaluating and treating patients with unknown primary carcinoma. *Arch Intern Med* 1995; 155: 2050-2054.

Seitanides B, Giakoumakis G, Tsakona C. Increased red cell volume distribution width in patients with bone marrow metastases. *J Clin Path* 1988; 41: 1246.

Senn HJ, Drings P, Glaus A., Jungi WF, Pralle HB, Sauer R, Schlag PM. Checkliste Onkologie. 4. Aufl. Thieme, Stuttgart, 1998.

Sharma S, Murari M. Bone marrow involvement by metastatic solid tumors. *Indian J Pathol Microbiol* 2003; 46: 382-384.

Singh G, Krause JR, Breitfeld V. Bone Marrow Examination for Metastatic Tumor: Aspirate and Biopsy. *Cancer* 1977; 40: 2317-2321.

Sloan EK, Anderson RL. Genes involved in breast cancer metastasis to bone. *Cell Mol Life Sci* 2002; 59: 1491-1502.

Smallridge RC, Wray HL, Schaaf M. Hypocalcaemia with osteoblastic metastases in a patient with prostatic carcinoma. A cause of secondary hyperparathyroidism. *Am J Med* 1981; 71: 184-188.

Smolarz K, Jungehülsing M, Krug B, Linden A, Göhring UJ, Schicha H. Kernspintomographie des Knochenmarks bei Karzinompatienten mit einer solitären Mehranreicherung im Sklettszintigramm. *Nuklearmedizin* 1990; 29: 269-273.

Stein KH, Flenker H, Henne C, Storjohann H. Basiswissen Histologie und Zytologie: Lehr- und Arbeitsbuch: MTA-Praxis. 3. Aufl. Hoppenstedt Zeitschriften, Frankfurt am Main, 2004.

Spector JI, Levine PH. Case report. Carcinomatous bone marrow invasion simulating acute myelofibrosis. *Am J Med Sci* 1973; 266: 144-148.

Sporn MB, Roberts AB. Peptide Growth Factors and Inflammation, Tissue Repair, and Cancer. *The Journal of Clinical Investigation* 1986; 78: 329-332.

Suprun H, Rywlin AM. Metastatic Carcinoma in Histologic Sections of Aspirated Bone Marrow: A Comparative Autopsy Study. *South Med J* 1976; 69: 438-439.

Syed NN, Moiz B, Adil SN, Khurshid M. Diagnostic importance of bone marrow examination in non-hematological disorders. *J Pak Med Assoc* 2007; 57: 123-125.

Tayefeh N. Retrospektive Untersuchungen zu Todesursachen bei Patienten nach Hochdosis-Chemotherapie und autologer Blutstammzell-Transplantation (ABSZT) im Autopsiematerial des Institutes für Pathologie des Klinikums Bad Saarow. Dissertation. Medizinische Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin, 2007

Thiel H, Schick HD. *Praktische Differentialdiagnostik in Hämatologie und Onkologie*. Thieme, Stuttgart New York, 1998.

Tot T, Samii S. The clinical relevance of cytokeratin phenotyping in needle biopsy of liver metastases. *APMIS* 2003; 111: 1075-1082.

Tritz DB, Doll DC, Ringenberg QS, Anderson S, Madsen R, Perry MC, et al. Bone marrow involvement in small cell lung cancer. Clinical significance and correlation with routine laboratory variables. *Cancer* 1989; 63: 763-766.

Uehlinger E. Sekundäre Knochenschwülste. In: Schinz HR, Baensch WE, Frommhold W, Glauner R, Uehlinger E, Wellauer J. *Lehrbuch der Röntgendiagnostik*. 6. Aufl. Thieme, Stuttgart New York, 1981, 702-758.

Van der Valk P, Mullink H, Huijgens PC, Tandema TM, Vos W and Meijer CJLM. Immunohistochemistry in bone marrow diagnosis. Value of a panel of monoclonal antibodies on routinely processed bone marrow biopsies. *Am J Surg Pathol* 1989; 13: 97-106.

Varadhachary GR, Abbruzzese JL, Lenzi R. Diagnostic strategies for unknown primary cancer. *Cancer* 2004; 100: 1776-1785.

Walter HE. Untersuchungen über Krebsmetastasen; die Streufähigkeit als Maß der Bösartigkeit einer Geschwulst. *Z Krebsforsch*. 1939; 48 : 468-494.

Wang C, Rabah R, Blackstein M, Riddell RH. Bone Marrow metastasis of angiosarcoma. *Path Res Pract* 2004; 200: 551-555.

Wannenmacher M, Rieden K, Eble MJ. Indikation und Ergebnisse zur primären und postoperativen Strahlentherapie bei drohenden und eingetretenen pathologischen Frakturen durch Knochenmetastasen. In: Ewerbeck V, Friedl W. Chirurgische Therapie von Skelettmastasen - Eine interdisziplinäre Standortbestimmung. Springer, Berlin Heidelberg New York, 1992, 5-13.

Wickenhauser C. Hämatopoetische Stammzellen und neoplastische Erkrankungen des hämatopoetischen Systems. Pathologie 2002; 23: 457-464.

Wong KF, Chan JK, Ma SK. Solid tumour with initial presentation in the bone marrow-a clinicopathologic study of 25 adult cases. Hematol Oncol 1993; 11: 35-42.

Yun HK, Shin MG, Bo D, Kim da W, Cho D, Shin JH, Suh SP, Ryang DW. Laboratory evaluation of bone marrow metastasis: single institute study. Korean J Lab Med 2007; 27: 96-101.

8 Tabellenverzeichnis

- Tabelle 1: Histomorphometrie des normalen Knochenmarks
- Tabelle 2: Inzidenz von Skelettmetastasen in Autopsiestudien
- Tabelle 3: Mögliche Befunde bei einer Knochenmarkinfiltration
- Tabelle 4: Mittlere Überlebensrate ab Diagnose „Knochenmarkmetastasierung“
- Tabelle 5: Klinikstruktur und Bettenzahl des Klinikums Bad Saarow 2005
- Tabelle 6: Materialeingänge in das Institut für Pathologie des Klinikums im Zeitraum von 1993-2006
- Tabelle 7: Übersicht der angewandten Primärantikörper im Klinikum zur Auflösung initialer CUP-Fälle
- Tabelle 8: Immunhistochemische Klassifizierung von metastatischen Tumoren (insbesondere Karzinomen): Erste Algorithmusstufe
- Tabelle 9: Immunhistochemische Klassifizierung von metastatischen Tumoren (insbesondere Karzinomen): Zweite Algorithmusstufe
- Tabelle 10: Zeitlicher Abstand zwischen dem Auftreten des Primärtumors und der Diagnose der entsprechenden Metastase aufgeschlüsselt nach Tumorarten
- Tabelle 11: Anamnestische Daten der Patienten
- Tabelle 12: Häufigkeit des Auftretens von Speichereisen in den Ausstrichpräparaten
- Tabelle 13: Anzahl und Häufigkeit der durch Tumorzellen eingenommenen Fläche in den Biopsiezylindern
- Tabelle 14: Die Patientendaten der initialen CUP-Fälle
- Tabelle 15: Vergleich der Art und Häufigkeit von Knochenveränderungen bei Knochenmarkmetastasierung zwischen dem untersuchten Material von FRISCH et al. (1999) und dem Untersuchungsgut des Klinikums Bad Saarow

9 **Abbildungsverzeichnis**

- Abbildung 1: Quantitative Auswertung von Hämatopoese, Fettmark und Spongiosa im KMB von 158 Autopsiefällen (nichthämatologischer und nicht-osteolytischer Erkrankungen)
- Abbildung 2: Anatomie des Knochenmarks
- Abbildung 3: Wechselbeziehung zwischen Proliferation, Selbsterneuerung und Differenzierung während der Hämatopoese.
- Abbildung 4: Vereinfachtes Modell zur Genealogie hämatopoetischer Stammzellen
- Abbildung 5: Die Stadien der Knochenmarkmetastasierung
- Abbildung 6: Histologische Aspekte der Knochenmarkinfiltration durch Metatastasen
- Abbildung 7: Histologische Formen der Knochenreaktion im Metastasenbereich
- Abbildung 8: Retrograde Ausbreitung der Knochenmetastasen über den Venenplexus der Wirbelsäule
- Abbildung 9: Begleitschein zur Knochenmarkuntersuchung - Vorderseite
- Abbildung 10: Begleitschein zur Knochenmarkuntersuchung - Rückseite
- Abbildung 11: Anforderungsschein für die immunhistochemische Untersuchung
- Abbildung 12: Anatomie des Beckens
- Abbildung 13: Beckenkammstanzbiopsie
- Abbildung 14: Datenblatt zur Auswertung der Knochenmarkhistologie – Teil 1
- Abbildung 15: Datenblatt zur Auswertung der Knochenmarkhistologie – Teil 2
- Abbildung 16: Datenblatt zur Auswertung der Knochenmarkzytologie
- Abbildung 17: Alters- und Geschlechterverteilung der Patienten zum Zeitpunkt der Diagnose „Knochenmarkmetastasierung“ im Institut für Pathologie in Bad Saarow, n= 49, 1993-2006
- Abbildung 18: Zeitlicher Abstand zwischen der Primärtumordiagnose und der Diagnose einer Knochenmarkinfiltration
- Abbildung 19: Häufigkeit und Verteilung der Primärtumoren
- Abbildung 20: Verteilung der Primärtumoren nach Tumorgröße
- Abbildung 21: Histopathologisches Grading der metastasierenden Primärtumoren
- Abbildung 22: Histopathologisches Grading der Metastasen im Knochenmark

- Abbildung 23: Übereinstimmung zwischen dem Grading des Primärtumors und seiner Knochenmarkmetastase
- Abbildung 24: Beobachtetes Überleben der Patienten (n=31)
- Abbildung 25: Häufigkeit und Auftreten blastärer Zellen in den Ausstrichpräparaten
- Abbildung 26: Häufigkeitsverteilung des Verhältnisses Erythropoese/Granulopoese in den Ausstrichpräparaten
- Abbildung 27: Anordnung der Tumorzellgruppen in den knochenmarkzytologischen Präparaten
- Abbildung 28: Zuordnung der Tumorzellen in Aspirationspräparaten zu einem Tumortyp
- Abbildung 29: Zustandformen des Knochens in den Präparaten mit Knochenmarkinfiltration
- Abbildung 30: Durch die Metastasen verursachte Art der Knochenreaktion im Knochenmark
- Abbildung 31: Art und Häufigkeit der Fibrose im Knochenmarkstroma unter dem Einfluss der Knochenmarkmetastasierung
- Abbildung 32: Auftreten und Häufigkeit von Tumornekrosen in den Biopsiepräparaten
- Abbildung 33: Häufigkeit und Anordnung der Tumorzellen in den Biopsiepräparaten
- Abbildung 34: Kompakte Zellverbände eines gering differenzierten invasiven lobulären Mammakarzinoms. Prominente, chromatinreiche Zellkerne mit sehr schmalen Zytoplasmasäumen. Zytologie, Pappenheim, 20fache Vergr.
- Abbildung 35: Knochenmarkmetastase eines gering differenzierten invasiven lobulären Mammakarzinoms. Ausgedehnte glanduläre und in Zellreihen angeordnete Tumorzellen mit hyperchromatischen Zellkernen. Osteolysen des Knochens (rot). Histologie, HE, 20fache Vergr.
- Abbildung 36: Knochenmarkmetastase eines gering differenzierten invasiven lobulären Mammakarzinoms. Faserreiches Tumorstroma. Histologie. Versilberungsreaktion nach Gomori, 20fache Vergr.
- Abbildung 37: Knochenmarkmetastase eines invasiven duktales Mammakarzinoms. Fibrose und Sklerose des Markraumes. Osteoneogenese an den Knochen trabekeln. Histologie, Goldner, 10fache Vergr.
- Abbildung 38: Einzelzellen und wenig kohäsive Zellgruppen eines gering differenzierten Adenokarzinoms der Prostata. Drei benachbarte kleine Zellen mit auffälligen Nukleolen. Zytologie, Pappenheim, 20fache Vergr.

- Abbildung 39: Knochenmarkmetastase eines gering differenzierten Adenokarzinoms der Prostata. Glanduläre Zellverbände innerhalb und außerhalb von sinusoidalen Blutgefäßen. Histologie, Goldner, 20fache Vergr.
- Abbildung 40: Einzelzellen und kleinere Zellverbände eines Adenokarzinoms der Prostata. Einzelne Zellkerne zeigen Nukleolen. Zytologie, Pappenheim, 40fache Vergr.
- Abbildung 41: Knochenmarkmetastase eines gering differenzierten Adenokarzinoms der Prostata. Adenoide Zellverbände mit kribriformem Wachstumsmuster. Histologie, HE, 20fache Vergr.
- Abbildung 42: Knochenmarkmetastasen eines gering differenzierten Adenokarzinoms der Prostata. Immunhistochemische Markierung mit einem Antikörper gegen PSA. Histologie, 20fache Vergr.
- Abbildung 43: Knochenmarkmetastase eines weitgehend entdifferenzierten Urothelkarzinoms der Harnblase. Kompakte Zellverbände mit pleomorphen hyperchromatischen Zellkernen. Verschiebung der Kern-Zytoplasma-Relationen zugunsten der Kerne. Zytologie, Pappenheim, 60fache Vergr.
- Abbildung 44: Knochenmarkmetastasen eines weitgehend entdifferenzierten Urothelkarzinoms der Harnblase. Kompakte Zellverbände mit hyperchromatischen Zellkernen und mäßig breitem Zytoplasma destruieren die Knochen trabekel (rot). Histologie, HE, 20fache Vergr.
- Abbildung 45: Verband atypischer Plattenepithelien mit dichten Interzellularbrücken. Variable Kernformen und mäßig breites Zytoplasma. Zytologie. Pappenheim, 20fache Vergr.
- Abbildung 46: Knochenmarkmetastase eines gering differenzierten Plattenepithelkarzinoms. Weitgehend kompakte Zellverbände mit Interzellularbrücken und hyperchromatischen Kernen. Mehrere Mitosen. Histologie, HE, 20fache Vergr.
- Abbildung 47: Gering differenziertes Adenokarzinom der Lunge. Kompakte glanduläre Zellgruppe mit randständigen hyperchromatischen Zellkernen und intrazytoplasmatischer Aufhellung (Schleim). Zytologie, Pappenheim, 60fache Vergr.
- Abbildung 48: Knochenmarkmetastase eines gering differenzierten Adenokarzinoms der Lunge. Zentrale Lumenbildung. Histologie, CLAE, 20fache Vergr.

- Abbildung 49: (Anaplastisches) kleinzelliges Lungenkarzinom. Kleinste Zellverbände blastärer Zellen mit prominenten chromatinreichen Zellkernen. Kern-Zytoplasma-Relationen zugunsten der Kerne verschoben. Zytologie, Pappenheim, 60fache Vergr.
- Abbildung 50: (Anaplastisches) kleinzelliges Lungenkarzinom. Dichte Zellverbände mit blastären bzw. vesikulierten, chromatinarmen Kernen. Kern-Zytoplasma-Relationen zugunsten der Kerne verschoben. Histologie, PAS, 100fache Vergr.
- Abbildung 51: (Anaplastisches) kleinzelliges Lungenkarzinom. Immunhistochemische Markierung der Zellkerne mit einem Antikörper gegen TTF-1. Histologie, 20fache Vergr.
- Abbildung 52: Adenokarzinom des Magens. Glandulär angeordnete Tumorzellen umsäumen eine lumenähnliche Struktur. Zytologie, Pappenheim, 40fache Vergr.
- Abbildung 53: Knochenmarkmetastase eines gering differenzierten Adenokarzinoms des Magens. Histologie, HE, 20fache Vergr.
- Abbildung 54: Hochkohäsive, blastär strukturierte Tumorzellen im Verband (hepatozelluläres Karzinom). Prominente Zellkerne. Einzelne Nukleolen. Erhöhte Vulnerabilität der Zellen. Zytologie, Pappenheim, 20fache Vergr.
- Abbildung 55: Knochenmarkmetastase eines gering differenzierten hepatozellulären Karzinoms. Histologie, HE, 20fache Vergr.
- Abbildung 56: Knochenmarkmetastasen eines gering differenzierten hepatozellulären Karzinoms. Immunhistochemische Markierung mit einem Antikörper gegen HePar1. Histologie, 20fache Vergr.

10 Danksagung

Besonderer Dank gilt PD Dr. med. habil. Stefan Koch, Chefarzt des Institutes für Pathologie des Helios Klinikums in Bad Saarow, für die Überlassung des Themas als auch für die zahlreichen Anregungen und Diskussionen, ohne welche die Arbeit in vorliegender Form nicht zustande gekommen wäre.

Frau Januschkewitz, Frau Lengsfeld und dem restlichen Team des Institutes für Pathologie danke ich aufrichtig für die freundliche Unterstützung.

Nicht zuletzt ein herzliches Dankeschön meiner Familie und meinen Freunden für ihre unendliche Geduld und Beratung.

11 Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

12 Erklärung an Eides statt

„Ich, Angela Pelz, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: **„Retrospektive Untersuchungen zur zytologischen und histologischen Diagnostik von Knochenmarkmetastasen im Untersuchungsmaterial des Institutes für Pathologie des Klinikums Bad Saarow im Zeitraum von 1993-2006“** selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum

Unterschrift