

**Aus der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie der
Medizinischen Fakultät Charité Universitätsmedizin Berlin**

DISSERTATION

**Klinisch - pathologische Prognosefaktoren des operierten
Gastrointestinalen Stromatumors (GIST)**

**Zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)**

**vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin**

von

Tina Bretschneider

aus München

Gutachter: 1. Priv.-Doz. Dr. med. G. Schumacher

2. Prof. Dr. med. J.-M. Langrehr

3. Prof. Dr. med. J. Sehouli

Datum der Promotion: 18.09.2009

.....	I
Abkürzungsverzeichnis	IV
1 Einleitung	1
1.1 Gastrointestinale Stromatumore	1
1.1.1 Epidemiologie und Risikoprofil	1
1.1.2 Pathologie / Pathogenese	4
1.1.3 Symptomatik und klinisches Bild	5
1.1.4 Diagnostische Ansätze	6
1.1.5 Chirurgische Ansätze	8
1.1.6 Medikamentöse Ansätze	11
1.2 Molekularbiologische Grundlagen	12
1.2.1 Tumorsuppressorgen p53	12
1.2.2 Inaktivierung von Apoptose- und Zellzyklusregulatoren in Tumoren	13
1.2.3 PDGFRA Mutationen	14
1.2.4 Kit Mutationen	14
2 Zielsetzung	15
3 Patienten, Material und Methoden	17
3.1 Patientenkollektiv und Untersuchungszeitraum	17
3.2 Datenerhebung und Datenverwaltung	17
3.3 Diagnostische Maßnahmen	18
3.3.1 Apparative Diagnostik	18
3.3.2 Bildgebende Diagnostik	18
3.4 Experimentelle Methoden	19
3.4.1 Übersicht	19

3.4.2	Präparation der genomischen DNA.....	19
3.4.3	Polymerase-Kettenreaktion (PCR).....	19
3.4.4	SSCP (single-strand conformational polymorphism analysis).....	22
3.4.5	DNA Sequenzierung	25
3.4.6	Reagenzien	27
3.5	Statistische Analysen.....	27
4	Ergebnisse	29
4.1	Patientenkollektiv	29
4.1.1	Operationsjahr des Kollektivs	29
4.1.2	Alters- und Geschlechtsverteilung	29
4.1.3	Krankenhausaufenthaltsdauer	31
4.1.4	Art der Symptome	32
4.1.5	Tumorlokalisation	33
4.1.6	Tumorgröße, Mitoserate und Risikoeinschätzung	34
4.2	Operative Behandlungsmaßnahmen.....	36
4.2.1	Allgemeines operatives Verfahren	36
4.2.2	Operative Therapie einzelner Tumorlokalisationen.....	36
4.3	Peri- und postoperative Phase	38
4.3.1	Radikalität der Eingriffe.....	38
4.3.2	postoperative Komplikationen	39
4.3.3	30-Tages Überleben	39
4.3.4	Auftreten von Rezidiven	39
4.3.5	Lebermetastasierung.....	40
4.4	Medikamentöse Behandlungsmaßnahmen	45
4.5	Mutationsanalyse von p53.....	45
4.6	Überlebensanalyse.....	46

4.6.1	Überlebensanalyse des Gesamtkollektivs	47
4.6.2	Überlebensanalyse in Bezug zu klinischen Parametern	48
5	Diskussion	58
6	Zusammenfassung	68
	Literaturverzeichnis	69
	Eidesstattliche Erklärung	75

Abkürzungsverzeichnis

APS	Amoniumpersulfat
ATP	Adenosintriphosphat
Bp	Base pair
CML	Chronisch Myeloische Leukämie
CT	Computertomographie
dATP	Desoxyadenosintriphosphat
dCTP	Desoxycytidintriphosphat
dGTP	Desoxyguanosintriphosphat
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTPs	Dinukleotidtriphosphate
dTTP	Desoxythymidintriphosphat
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EUS	Endoskopischer Ultraschall
GIST	Gastrointestinaler Stromatumor
HPF	High power field
ICC	interstitielle Cajal Zellen
KD	Kilo Dalton
MRT	Magnetresonanztomographie
ÖGD	Ösophago-Gastro-Duodenoskopie
PCR	Polymerasekettenreaktion
PET	Positronen-Emissionstomographie
PGDFRA	platelet derived growth factor alpha
SSCP	singlestrand conformational polymorphism
TAE-Puffer	Tris-Acetat-EDTA
TBE-Puffer	TRIS-Borat-EDTA-Puffer
TEMED	N,N,N-Tetramethylethylendiamin
UV-Licht	Ultraviolettes Licht
Wt	wild type

1 Einleitung

1.1 Gastrointestinale Stromatumore

1.1.1 Epidemiologie und Risikoprofil

Gastrointestinale Stromatumore sind eine in den letzten Jahren zunehmend besser definierte Untergruppe von mesenchymalen Tumoren meist ausgehend von Zellen der Magenwand oder der Wand des Dünndarms. Sie können in allen Teilen des tubulären Gastrointestinaltraktes lokalisiert sein. Auf Grund ihrer mikroskopischen Ähnlichkeit mit glattmuskulären Tumoren wurden sie zuvor überwiegend den Leiomyosarkomen, Leiomyoblastomen oder Leiomyomen zugeordnet. Im Allgemeinen werden GIST histologisch als Spindelzelltyp (70%), Epitheloidzelltyp (20%) oder gemischtzelliger Typ (10%) klassifiziert (Fletcher CD et al 2002).

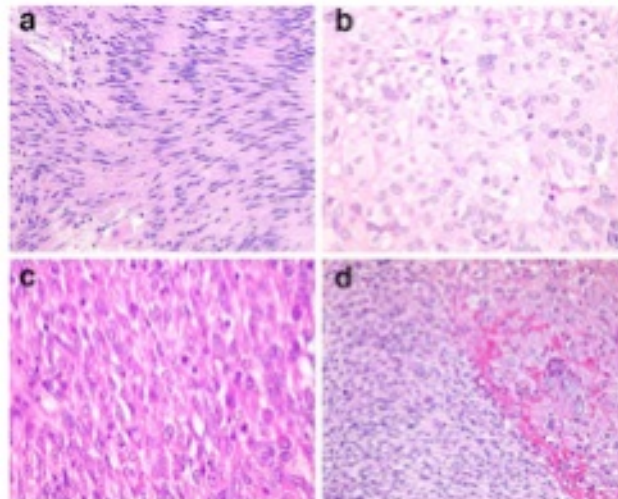


Abbildung 1: Histomorphologische Einteilung Gastrointestinaler Stromatumore. **a** Spindelzelltyp. **b** Epitheloidzelltyp. **c,d** gemischtzelliger Typ.

Einen entscheidenden Erfolg hinsichtlich der histogenetischen Zuordnung der bisher nicht sicher klassifizierbaren Weichgewebstumoren des Magen-Darm-Traktes brachten Untersuchungen in den späten 90er Jahren, in denen es gelang, eine Mutation des c-kit proto-Onkogens in gastrointestinalen Stromatumoren nachzuweisen (Hirota S et al 1998).

Als Ursprungszellen der GIST werden die interstitiellen Cajal-Zellen (ICC) postuliert, die in der Magen-Darmwand als Schrittmacherzellen die Dünndarmmotilität kontrollieren und c-kit (CD117) positiv sind. Das Produkt des c-kit Protoonkogens ist das kit-Protein, ein transmembranöses Rezeptorprotein, das der Tyrosinkinase-Familie angehört und bei normalen

wie auch neoplastischen primitiven hämatopoetischen Zellen, Mastzellen, Melanozyten und Keimzellen exprimiert wird (Ashmann LK et al 1991; Siitonen T et al 1994).

Aber auch bei gastrointestinalen Stromatumoren ist CD117 hoch sensitiv (Sarlomo-Rikala M et al 1998).

Obwohl die Gruppe der GIST die häufigsten mesenchymalen Neoplasien des Gastrointestinaltraktes sind, bleiben sie insgesamt selten. Innerhalb der sarkomatösen Weichteiltumoren machen sie etwa 5% aus (De Matteo RP et al 2000). Ihr Anteil an den malignen Neoplasien des Verdauungstraktes liegt bei nur etwa 0,2% (Spivach A et al 1999). Die Inzidenz der GIST kann nur geschätzt werden, da das Diagnosekriterium, die Immunhistochemie, erst seit wenigen Jahren in der Diagnostik routinemäßig eingesetzt wird und über den Nachweis von CD117 eine Abgrenzung zu Leiomyosarkomen möglich macht (Schlemmer M et al 2006). *Prof. Dr. L.-G. Kindblom* von der Universität in Göteborg hat eine definierte Population in Südwestschweden retrospektiv auf das Vorkommen von GIST untersucht und festgestellt, dass diese Tumorentität häufiger vorkommt, als bisher angenommen. Er geht von einer jährlichen Inzidenz von 14,5/1.000.000 Einwohner aus (Nilsson B et al 2005). Für die Bundesrepublik Deutschland bedeutete dies, dass jedes Jahr etwa 1.200 Patienten neu an einem GIST erkranken.

GIST sind Neoplasien des mittleren Lebensalters und zeigen einen Altersgipfel der Patienten zwischen dem 5. und 6. Lebensjahrzehnt. Obwohl gelegentlich Männer als prädisponiert gelten, an einem GIST zu erkranken (Lee JSY et al 1995), ist wohl vielmehr davon auszugehen, dass es keine geschlechtsspezifische Prädisposition gibt (De Matteo RP et al 2000; Evans HL et al 1985).

Abbildung 2 stellt die Verteilung der Stromatumore im Gastrointestinaltrakt dar. Die GIST treten am häufigsten im Magen und im Dünndarm auf, im Ösophagus, Kolon und Rektum sind sie selten (Miettinen M et al 1998). GIST im Ösophagus und im Omentum sind äußerst selten (Schütte J et al 2003). Die Gastrointestinalen Stromatumoren sind als Primärlokalisierung auch extragastrointestinal angesiedelt. Die Lokalisationen im Retroperitoneum, Mesenterium, Omentum oder der Bauchdecke treten mit einer Häufigkeit von bis zu 9% aller GIST auf (Weiler H et al 2004; DeMatteo RP et al 2000; Miettinen M et al 2001).

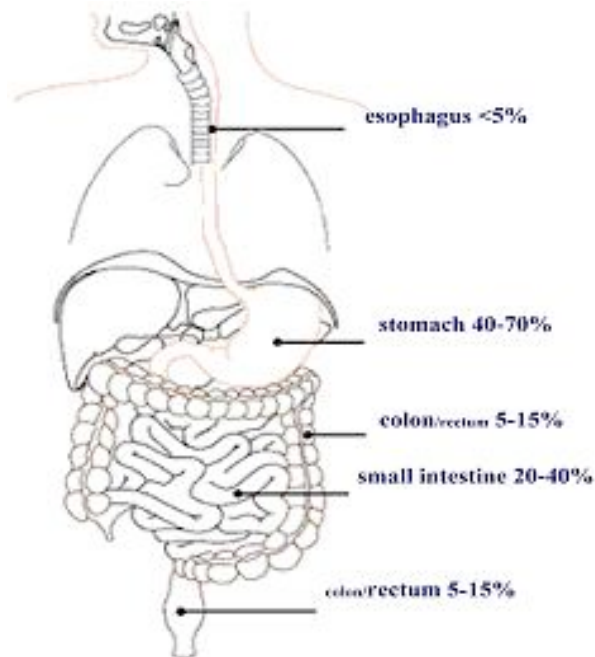


Abbildung 2: Häufigkeitsverteilung von GIST

Kriterien, die eine prognostische Aussage erlauben, sind umstritten. Unstrittig ist aber, dass Tumorgroße und Mitoserate prädiktiv für den Verlauf der Krankheit sind (DeMatteo RP et al 2000). Die Primärlokalisierung des Tumors scheint ein Risikokriterium zu sein. Patienten mit GIST des Magens leben signifikant länger als Patienten mit GIST des Dünndarms (Emory TS et al 1999). Zurzeit müssen alle GIST als maligne angesehen werden, da auch Läsionen < 1 cm, die z.B. bei endoskopischen Routineuntersuchungen entdeckt werden, metastasieren können. Aus diesem Grunde wird eine Einteilung von sehr niedrigem Risiko bis hohem Risiko in der klinischen Praxis angewendet. Tabelle 1 veranschaulicht die Risikokategorien:

Risikogruppe	Tumorgröße	Anzahl Mitosen
Sehr geringes Risiko	< 2 cm	≤ 5 Mitosen / 50 HPF*
Niedriges Risiko	2 – 5 cm	≤ 5 Mitosen / 50 HPF*
Intermediäres Risiko	< 5 cm	6–10 Mitosen / 50 HPF*
	5 – 10 cm	≤ 5 Mitosen / 50 HPF*
	> 5 cm	> 5 Mitosen / 50 HPF*
Hohes Risiko	> 10 cm	Jede Mitoserate
	Jede Größe	> 10 Mitosen / 50 HPF*

Tabelle 1: Risikokategorien (WHO 2002) nach Fletcher (* HPF = High Power Field)

1.1.2 Pathologie / Pathogenese

Mit der Einführung immunhistologischer Techniken haben sich auch bei der Klassifizierung mesenchymaler Tumoren des Gastrointestinaltraktes entscheidende neue Aspekte ergeben. Bei der diagnostischen Abgrenzung der Gastrointestinalen Stromatumore zu anderen Weichteiltumoren zeigte sich, dass die Stromatumoren ein heterogenes Expressionsmuster muskulärer und neurogener Marker aufweisen. Als wesentliches diagnostisches Hilfsmittel diente neben dem CD34-Antikörper ein neuer Antikörper gegen CD117 (Pross M et al 2008).

CD34 ist ein 110 kD großes transmembranöses Glykoprotein, das zuerst bei myeloischen und lymphoiden Vorläuferzellen beschrieben wurde. CD34 wird in normalen als auch in Endothelien von Gefäßtumoren exprimiert. Daneben kann CD34 auch in Weichteiltumoren nachgewiesen werden.

CD34 wird aber auch von interstitiellen Schrittmacherzellen des Magen-Darm Traktes, den sogenannten Cajalzellen, exprimiert (Kindblom LG et al 1998). Cajalzellen sind im Bereich des Plexus myentericus lokalisiert und stellen einen Teil des gastrointestinalen Nervensystems dar. CD34 lässt sich bei benignen wie malignen gastrointestinalen Stromatumoren des gesamten Gastrointestinaltraktes nachweisen (Miettinen M et al 1995).

Ein entscheidender Schritt bei der Aufklärung der Histogenese der GIST war der Nachweis des KIT-Proteins in gastrointestinalen Stromatumoren (Kindblom LG et al 1998; Sarlomo-Rikala M et al 1998; Sircar K et al 1999). Heute ist die CD117 Expression als entscheidender diagnostischer Marker für Gastrointestinale Stromatumoren etabliert, wobei die Reaktivität unabhängig vom histomorphologischen Erscheinungsbild und der Lokalisation des Tumors ist (Miettinen M et al 1999; Sarlomo-Rikala et al 1999).

Die Tumore wachsen unterhalb der Schleimhaut. Je nach Wachstumsrichtung können sie als exophytisch, intramurale oder endophytische Tumoren imponieren (Mechtersheimer G et al 2003). Oberflächliche Ulzerationen sind bei den GIST zu beobachten.

1.1.3 Symptomatik und klinisches Bild

Klinische Symptome sind in der Regel unspezifisch und uncharakteristisch. Kleine GIST sind meist asymptomatisch. Die symptomatischen, fortgeschrittenen GIST verursachen unspezifische Beschwerden wie Unwohlsein, Zunahme des Bauchumfangs, palpable abdominelle Resistenzen, unklare Schmerzzustände, Gewichtsverlust, Obstipation oder Blutungen (Schütte J et al 2003; DeMatteo RP et al 2000; Miettinen M et al 2001; Pross M et al 1999).

Gastrointestinale Stromatumore des Ösophagus fallen meist durch Dysphagien auf. Eine Besonderheit ist mit gastralen Stromatumoren assoziiert. Diese haben ab einer bestimmten Tumorgroße kleine Ulzerationen im Bereich der Schleimhaut. Diese Ulzerationen können zu gastrointestinalen Blutungen oder chronischen Anämien führen. Abbildung 3 veranschaulicht einen GIST des Magens mit Einblutung und Nekrose.



Abbildung 3: GIST mit Einblutung und Nekrose des Magens

Tumoren des Jejunums sind durch einen Ileus oder abdominelle Schmerzen charakterisiert. Bei der Mehrheit der Patienten bestehen unspezifische Beschwerden, oft werden die Tumoren zufällig im Rahmen anderer Untersuchungen entdeckt.

1.1.4 Diagnostische Ansätze

Die klinische Untersuchung steht am Anfang jeder Diagnostik. Gastrointestinale Stromatumore können sehr groß werden, bevor die ersten Symptome manifest werden und die Diagnostik eingeleitet wird. Die präoperative Diagnostik hat die Ziele, die Diagnose GIST zu sichern, die Bestimmung der lokalen Tumorausdehnung sowie eine hämatogene Metastasierung nachzuweisen bzw. auszuschließen. Etwa 50% der Patienten weisen zum Zeitpunkt der Erstdiagnose bereits Metastasen auf (Reichardt P et al 2004). Diese Tatsache zeigt die Wichtigkeit der frühen diagnostischen Untersuchung. Die Diagnostik eines Gastrointestinalen Stromatumors bei der Erstmanifestation ist ähnlich der Diagnostik eines anderen Tumors im Abdominalbereich. Die präoperative Abklärung soll die Fragen der histopathologischen Entität, der lokalen Ausdehnung mit potentieller Resektabilität und einer eventuellen Metastasierung beantworten. Die exakte Klassifizierung der Tumorausdehnung bei Diagnosestellung ist für die Therapieplanung von großer Bedeutung. Mit der durchgeführten Diagnostik wird die Therapieplanung eingeleitet. Dieses prätherapeutische Tumorstaging bildet die Basis für die Einleitung der primär chirurgischen oder multimodalen Therapiekonzepte.

Die bildgebende Diagnostik dient der Erfassung des Primärtumors und eventuell vorhandener Metastasen. Die häufigsten Metastasierungsorte sind die Leber und das Peritoneum. Lunge, Knochen und Lymphknoten sind sehr selten betroffen. Lokalrezidive und lokoregionäre Rezidive sind häufig (Reichardt P et al 2004).

Die Ultraschalldiagnostik von Tumoren des Gastrointestinaltraktes gestaltet sich häufig auf Grund der störenden Gasüberlagerungen schwierig. Sicherlich kann durch die Sonographie nicht auf die Tumorentität von GIST rückgeschlossen werden, allerdings steht dieses bildgebende Verfahren erfahrungsgemäß am Anfang jeder Diagnostik.

Je nach Lokalisation des Primärtumors kommen endoskopische Verfahren wie Ösophago-Gastro-Duodenoskopie (ÖGD) oder Koloskopie mit Gewinnung von Biopsien zum Einsatz. Die hiermit diagnostizierte Größe und exakte Lokalisation des Tumors ist für die Entscheidung des chirurgischen Vorgehens von großer Bedeutung.

Die endosonographische Untersuchung wird heute bei Tumoren des oberen Gastrointestinaltraktes zunehmend eingesetzt. Sie gibt Auskunft über die Lokalisation und Tumorausbreitung. Des Weiteren ist das invasive, infiltrative Wachstum in benachbarte Organsysteme durch diese Untersuchung ersichtlich. Diese Untersuchung ist insbesondere für kleine, auf die Wand des Gastrointestinaltraktes begrenzte Tumore sehr wichtig.

Die Endosonographie gewann in den letzten Jahren zunehmend zur histologischen Sicherung an Bedeutung. Die endosonographisch gesteuerte Feinnadelpunktion scheint bei intramuralen Läsionen der konventionellen Biopsie überlegen zu sein (Vander NM et al 2004).

Die Computertomographie des Abdomens kann durch die typische Heterogenität von GIST, die durch zahlreiche nekrotische Areale gekennzeichnet ist, die Verdachtsdiagnose nahe legen (Burkill GJ et al 2003). Die Hauptindikation zur CT liegt in der Erfassung und Verlaufsbeurteilung der Metastasen. Lebermetastasen zeigen ähnliche Phänomene wie die Primärtumore. Es handelt sich in der Regel um umschriebene Raumforderungen, die entweder gleichmäßig perfundiert sind oder einen zweischichtigen Aufbau aufweisen. Relativ typisch ist ein buntes Bild mit differenter Signalintensität und Binnenstruktur oft multiplen Filiae (Hohenberger P et al 2003).



Abbildung 4: Lebermetastase in der Computertomographie

Bei Unsicherheit über eine mögliche Multilokalität kann eine Positronen-Emissions-Tomographie (PET) hilfreich sein. Die PET dient der Beurteilung der Stoffwechselaktivität von malignen Tumoren. Als Radiopharmakon hat sich dazu *Fluor-desoxy-glukose* (FDG) im klinischen Einsatz etabliert. In der Regel wird FDG nach einer mindestens sechsständigen Nahrungskarenz des Patienten intravenös injiziert. Es werden etwa 30 – 60 Minuten nach

Injektion Teil- oder Ganzkörperaufnahmen entsprechend der klinischen Fragestellung angefertigt. Die Anreicherung im Tumor erfolgt aus heutiger Sicht in erster Linie durch eine Überexpression von Glukosetransportern. Dadurch ist die Glukoseaufnahme in Tumorzellen deutlich höher als in normalen Zellen. Über die PET bei Gastrointestinalen Stromatumoren gibt es auf Grund ihrer geringen Inzidenz nur sehr wenig Literatur. Die PET ist auch ein valides Instrument, um im Verlauf der Behandlung ein Ansprechen zu kontrollieren (Van den Abbeele AD et al 2002).

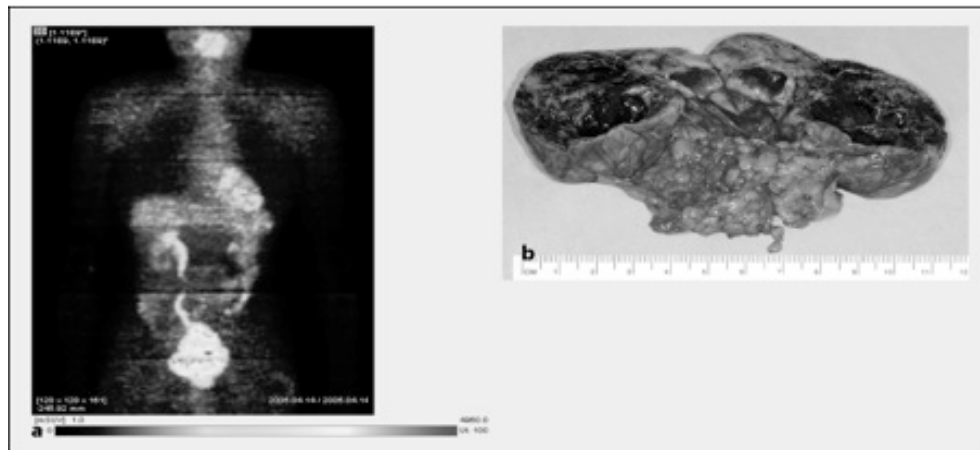


Abbildung 5: a PET-Befund eines Patienten 3 Jahre nach Resektion multipler peritonealer Metastasen eines GIST (Mutation im Exon 11, 9 bp delW557C_K558) unter systemischer Therapie mit Imatinib 400 mg/Tag, kein Anhalt für sonstige Herdbefunde. b Resektionspräparat der peritonealen Metastase durch anteriore Resektion (molekularpathologisch Neumutation im Exon 17Y823D)

1.1.5 Chirurgische Ansätze

Gastrointestinale Stromatumore mit einem malignen Potenzial zeigen ein invasives Wachstum, eine Metastasierung und sind mit dem Risiko eines postoperativen Lokalrezidivs assoziiert (Pross M et al 1999; Bucher P et al 2004; Langer C et al 2003; Hohenberger P et al 2004; Joensuu H et al 2002). GIST mit einer Größe von > 5 cm und einer hohen Mitoserate gelten als GIST mit hohem Risiko (Bucher P et al 2004; Wu PC et al 2003; Schlemmer M et al 2003; Yan H et al 2003). Diese Tumore sollten nicht minimal-invasiv sondern konventionell operiert werden.

Im Behandlungskonzept der Gastrointestinalen Stromatumoren kommt der chirurgischen Therapie nach wie vor eine zentrale Rolle zu. Mit der präoperativen Diagnostik ist zu klären, ob durch die chirurgische Resektion eine komplette Tumorentfernung (R0-Resektion), das heißt mit

einem Sicherheitsabstand von mindestens 2 cm, möglich ist. Zeigt die bildgebende Diagnostik diese Option an, so ist eine komplette chirurgische Resektion nach wie vor die primäre Therapieoption (Eisenberg BL et al 2004; Bucher P et al 2004; DeMatteo RP et al 2000; Hohenberger P 2003; Pross M et al 1999). Der Primärtumor metastasiert in der Regel nicht lymphogen, so dass auf eine Lymphknotendisektion verzichtet werden kann (Hohenberger P et al 2004). Nur wenn eine R0-Resektion gelingt, kann die Prognose des Tumors durch die chirurgische Therapie beeinflusst werden. Bei 40 bis 60 % aller Resektionen von GIST Tumoren ist dies möglich (Eisenberg BL et al 2004; Bucher P et al 2004; DeMatteo RP et al 2000). Als R0-Resektion gilt nur, wenn in allen Dimensionen des Tumorgebietes mikroskopisch kein Tumorgewebe mehr nachweisbar ist.

Bei einer R1- oder R2-Resektion ist mit einem raschen Nachwachsen des Tumors zu rechnen. Daher ist die chirurgische Therapie bei fortgeschrittenen Tumoren nicht die primäre Therapieoption. Die Erstbehandlung sollte hier mit Imatinib erfolgen.

Die Art der chirurgischen Therapie ist abhängig vom Tumorstadium, der Lokalisation und der Prognosefaktoren. Die prognostische Einschätzung in *low risk* oder *high risk* Tumore erfolgt auf folgende Faktoren: Tumorgöße, Mitoserate, Nekroseareale, Infiltration in Nachbarorgane, Lymphknoteninvasion und Metastasierung (Bucher P et al 2004; Bucher P, Taylor S et al 2004; Aparicio T et al 2004).

GIST im Ösophagus sind selten. In der Diagnostik zeigen sich meist kleine Tumore. Die geringe Ausdehnung und die noch nicht vorliegende Invasivität erlauben eine Entfernung mit einer minimal-invasiven Technik (Pross M et al 2004; Ertem M et al 2004).

Bei GIST des Ösophagus kann bei vorwiegend exzentrischer Lage eine transthorakale thorakoskopische Resektion unter Erhaltung des Mukosaschlauches möglich sein. In Fällen, bei denen eine vollständige Resektion angestrebt wird, ist eine vorhergehende Punktionsbiopsie wegen der potentiellen Vernarbung von Mukosa und Muscularis ungünstig. Tumore unter 1 cm Durchmesser zeigen nur selten einen aggressiven Verlauf, so dass auch eine abwartende Beobachtung derzeit als gerechtfertigt erscheint (Hohenberger P et al 2004).

GIST der Magenwand sind in Abhängigkeit von ihrer Lokalisation durch eine Resektion mit freien Sicherheitsrändern zu entfernen. Größere gastrale Stromatumore müssen durch funktionelle Magenresektion (distale Magenresektion mit Gastroduodenostomie und bzw. als Fundus-Corpus-Resektion mit Tubulierung des Restmagens und Ösophagogastrostomie) reseziert werden (siehe Abb. 6 b). In Fällen mit organüberschreitendem Wachstum ist eine

erweiterte Magenresektion notwendig. Wenn der Tumor die Organgrenze überschritten hat, ist die Resektion so auszudehnen, dass bei akzeptablen Morbiditäts- und Mortalitätsrisiko eine R0-Situation ohne intraoperative Tumorperforation erreicht werden kann (Eisenberg BL et al 2004). Eine Notwendigkeit, analog zur Therapie des Magenkarzinoms die Magenpassage prinzipiell nach Billroth-II (Gastrojejunostomie) vorzunehmen, um den Bereich eines etwaigen Tumorrezidivs aus der Passage auszuschließen, besteht weniger. Die Rekonstruktion der Nahrungspassage kann sich nach funktionellen und anatomischen Prinzipien richten (Hohenberger P et al 2004).



Abbildung 6: a Großer GIST des Magens mit Einblutung und zwei-schichtigem Wandaufbau, b mögliche Resektionsgrenzen an der großen Kurvatur, c Resektionspräparat

Das Duodenum stellt eine anatomisch-chirurgisch problematische Region dar. Die in der Regel vom Tumordurchmesser relativ kleinen GIST des Duodenums sind, bedingt durch die lokalen anatomischen Verhältnisse, nicht durch eine limitierte Resektion zu entfernen. Eine anzustrebende R0-Resektion lässt sich meist nur durch eine Pankreatikoduodenektomie realisieren. Bei einem Gastrointestinalen Stromatumor des Dünndarms ist eine Segmentresektion mit einem Sicherheitsabstand von 2-5 cm ausreichend. Die extragastral lokalisierten GIST, insbesondere im Dünndarm, weisen ein aggressives biologisches Verhalten auf (Mechtersheimer G et al 2003; Verreet PR et al 2000; Blanchard DK et al 2000). Dieser Fakt und der relativ späte Zeitpunkt einer Diagnosestellung sind die Ursachen für die schlechten Überlebensraten der Dünndarm-GIST's (Verreet PR et al 2000; Miettinen M et al 2002).

Das Resektionsausmaß wird der Tumorausdehnung angepasst. Bei GIST Tumoren, die auf das Darmsegment begrenzt sind, ist eine Segmentresektion des Tumor tragenden Abschnitts mit einem entsprechenden Sicherheitsabstand (luminaler Mindestabstand von 3 cm) ausreichend (Pross M et al 1999; Hohenberger P et al 2003; Verreet PR et al 2000; Joensuu H et al 2002). Bei einem Tumoreinbruch in Nachbarstrukturen und Nachbarorgane ist die Resektion so

auszudehnen, dass bei akzeptablem Morbiditäts- und Mortalitätsrisiko eine R0-Situation erreicht werden kann. Eine Tumorperforation ist zu vermeiden. Kommt es trotz adäquater Operationstechnik zur Verletzung der „Tumorkapsel“, dann ist von einer Tumorzellverschleppung auszugehen und eine Nachbehandlung mit Imatinib zu erwägen. Eine Lymphknotendisektion ist wegen der extrem seltenen lymphogenen Metastasierung nicht erforderlich, klinisch vergrößerte Lymphknoten sollten aber als Teil des segmentalen Resektats entfernt werden.

GIST des Dickdarms sind selten. Meist handelt es sich um sehr weit fortgeschrittene Tumore mit schlechter Prognose. Die Behandlungskriterien entsprechen den operativen Standards der Therapie von Kolon- und Rektumtumoren. Bei sehr tief sitzenden GIST im Rektum ist eine Rektumextirpation in Erwägung zu ziehen.

1.1.6 Medikamentöse Ansätze

Neben der primär chirurgischen Therapie der Gastrointestinalen Stromatumore ergaben sich innerhalb der letzten Jahre zahlreiche Fortschritte im Bereich der medikamentösen Behandlung der GIST. Bis vor wenigen Jahren existierte keine wirksame systemische Therapie für fortgeschrittene oder metastasierte GIST. Alle Versuche der Mono- oder Polychemotherapie blieben mit Ansprechraten unter 5% erfolglos (Edmonson JH et al 2002). Die hohe Wirksamkeit der Therapie bei einer vorher nahezu chemotherapie-resistenten Erkrankung führte daraufhin innerhalb kurzer Zeit zur Zulassung von Imatinib für die Behandlung von GIST.

Imatinib Mesylat (STI571, CGP57148, Glivec) ist ein ursprünglich für die CML entwickelter, synthetisch hergestellter Inhibitor, der bei dieser Erkrankung konstitutiv aktivierten Bcr-Abl-Kinase (Manley PW et al 2002).

Das 2-Phenylaminopyrimidin-Derivat Imatinib blockiert die Bindung von ATP an der spezifischen Bindungsstelle innerhalb der Kinasedomäne und verhindert damit die Phosphorylierung nachgeschalteter Signalmoleküle. Neben einer Reihe von onkogenen Formen der Bcr-Abl Tyrosinkinase inhibiert Imatinib auch das *ABL-related gene* Protein (ARG, ABL-2), den *Platelet derived Growth Factor* (PDGF) sowie die bei GIST aktivierte Tyrosinkinase KIT (Buchdunger E et al 2002). Imatinib inhibiert die Phosphorylierung sowohl von Wildtyp-KIT als auch der häufigsten mutierten Formen (Exon 9, 11, 13, 17) (Tuveson DA et al 2001; Heinrich MC et al 2003).

Mit Imatinib steht GIST-Patienten eine Therapie zur Verfügung, die auf Grund der sehr guten Wirksamkeit und Verträglichkeit einen deutlichen Gewinn an Lebenszeit und Lebensqualität mit sich bringt. Der Verein „das Lebenshaus e.V.“ ist eine Selbsthilfe-Organisation für betroffene Patienten, die sich über aktuelle Erfahrungsberichte und Krankheitsverläufe sowie Therapie belesen können (www.daslebenshaus.org).

Die empfohlene Dosierung von Glivec® bei Patienten mit nicht resezierbaren und/oder metastasierten malignen GIST liegt bei 400 mg/d. Imatinib wird nach oraler Aufnahme rasch resorbiert und erreicht maximale Plasmaspiegel nach 2 bis 4 Stunden. Die Bioverfügbarkeit beträgt 98%; die Plasmahalbwertszeiten lagen sowohl bei Patienten mit CML als auch mit GIST zwischen 13 und 18 Stunden, was eine einmalige tägliche Einnahme ermöglicht (Croom KF et al 2003).

1.2 Molekularbiologische Grundlagen

Apoptose, der programmierte Zelltod, ist ein Prozess der unter Betätigung einer Vielzahl biologischer Systeme und Signalwege reguliert wird. Die Aktivierung bzw. Hemmung der beteiligten Apoptosegene spielt eine wesentliche Rolle in der malignen Transformation von Tumoren.

Die Fragestellung der vorliegenden retrospektiven Arbeit war die Analyse von molekularen Veränderungen von p53 und die Suche nach prognostisch relevanten Faktoren als Basis für die zukünftige Entwicklung individueller therapeutischer Strategien in Bezug auf dieses Protein.

1.2.1 Tumorsuppressorgen p53

p53 ist ein Tumorsuppressorgen mit einem Molekulargewicht von 53 kD. Das Gen von p53 ist auf dem kurzen Arm des Chromosom 17 lokalisiert und umfasst elf Exons von 16-20 kb zelluläre DNA und kodiert ein Phosphorprotein von 393 Aminosäuren. Das Genprodukt ist nukleär lokalisiert und stellt ein zentrales Protein der Zellzykluskontrolle dar. Die zentrale Funktion von p53 ist die Abtötung von Zellen, die genetische Schäden aufweisen. Diese Zellen gehen dann durch Apoptose zugrunde. Die Apoptose ist ein mehrstufiger Mechanismus, der einem physiologischen Selbstmord der Zelle gleich kommt. Wenn die Funktion von p53 durch eine Mutation im Gen eingeschränkt oder aufgehoben ist, können genetisch geschädigte Zellen

nicht mehr aussortiert werden und so können sich im Laufe von mehreren Zellzyklen genetische Schäden anreichern.

1.2.1.1 Genetische Veränderung von p53

Der Verlust von p53 kann durch die fehlende Hemmung der Replikation geschädigter DNA und gesteigerter Proliferation veränderter Zellen zu genomischer Instabilität führen. Normalerweise bewirkt das Vorhandensein eines intakten p53 eine gute Sensitivität von Zellen gegenüber zytotoxischen Wirkstoffen bzw. Bestrahlung. Zellen mit defektem p53 zeigen daher eine verminderte Zytostatika-induzierte Apoptose bzw. Zellzyklusarrest. Unklarheiten bestehen jedoch bezüglich Frage, wie der Verlust von p53 zur Resistenz führt. Ursächlich hierfür könnte eine Verschiebung des Gleichgewichts zwischen dem proapoptischen Bax und dem antiapoptischen Bcl-2 sein, da p53 ein transkriptioneller Aktivator des bax-Promotors ist und die Expression von Bcl-2 reduziert. Punktmutationen des p53-Gens kommen in malignen Tumoren unterschiedlicher Histogenese sehr häufig vor. Es kommen aber auch kleine Deletionen oder Insertionen, mit Frameshift oder Aminosäure-Austauschen. P53 Mutationen sind häufig in humanen Tumoren zu finden.

In normalen Geweben wird p53 nur in geringer Menge exprimiert, so dass es mit immunhistologischen Mitteln in der Regel nicht nachweisbar ist.

1.2.2 Inaktivierung von Apoptose- und Zellzyklusregulatoren in Tumoren

Einer der ersten Apoptose- und Zellzyklusregulatoren, der mit Krankheitspathogenese und Therapieresistenz in Verbindung gebracht werden konnte, ist das p53-Tumorsuppressorgen (Taylor WR et al 2001). P53 kann durch Mutation, bevorzugt in den Exonen 5 bis 8 der DNA-Bindungsdomäne bzw. durch Deletion (Chromosom 17p) inaktiviert werden. Inaktivierung von p53 durch Missense-Mutationen kann bei einer Vielzahl von Tumoren beobachtet werden (Hollstein M et al 1994). Die Relevanz der p53-Mutationen für die klinische Prognose der GIST ist jedoch nicht eindeutig bewiesen.

1.2.3 PDGFRA Mutationen

PDGFRA (*Platelet derived growth factor receptor alpha*) ist eine Typ3 Rezeptor Tyrosinkinase. Die Mutationen im PDGFRA Gen konzentrieren sich im Wesentlichen auf das Exon 18.

1.2.4 Kit Mutationen

Das kit Protein, ein auf Chromosom 4q11-21 lokalisiertes Protoonkogen, kodiert für eine Typ-III-Rezeptor-Tyrosinkinase. Es ist auf zahlreichen Zellen nachweisbar einschließlich Knochenmarkszellen, Mastzellen, Melanozyten, Keimzellen und den bereits beschriebenen Cajalzellen.

Mutationen im c-kit Gen kommen in etwa 50% der GIST vor und führen zu einer ligandenunabhängigen Phosphorylierung des Tyrosinkinase-Rezeptors und damit zu einer konsekutiven Expression von kit Protein. Allerdings gibt es auch kit-Protein-exprimierende GIST ohne nachweisbare Kit Mutationen bzw. CD117 negative GIST mit kit-Mutationen (Corless CL et al 2004). Mit bis zu 70% am häufigsten treten Mutationen im Exon 11 auf. Mutationen in dieser Region führen zu einer Daueraktivierung der Tyrosinkinase durch ligandenunabhängige Homodimerisation des Rezeptors. Mutationen im Exon 9 und Exon13 sind mit etwa 13% bzw. 4% relativ selten (Reichardt P et al 2004).

2 Zielsetzung

Die klassischen Parameter zur Abschätzung der Prognose für Gastrointestinale Stromatumore sind bekanntermaßen Tumorgöße und Mitosehäufigkeit. Weiterhin kommt neben der Tumorgöße und der Proliferationsrate auch der Lokalisation des Primärtumors als zusätzlicher Prognosefaktor eine wesentliche Bedeutung hinzu. Diese Parameter bieten eine Methode zur Therapieplanung, Prognoseabschätzung und Bewertung des Krankheitsverlaufs. Da Gastrointestinale Stromatumore als potentiell maligne einzuschätzen sind, ist insbesondere bezüglich der Rezidivierungsrate und der hämatogenen Metastasierung, die Therapie und die postoperative Nachsorge von großer Bedeutung. Anhand unserer retrospektiven Daten dienten diese prognostischen Kriterien der Klassifizierung Gastrointestinaler Stromatumore. Ziel war es, klinisch relevante Kriterien Gastrointestinaler Stromatumore bezüglich ihrer Prognose, insbesondere bezüglich des Überlebens zu erfassen, um aus diesen Daten Rückschlüsse für zukünftige Behandlungsstrategien zu erhalten.

Außerdem ist die Unterscheidung zwischen primär lokalisierten und primär metastasierten GIST für das Behandlungsmanagement essentiell. In Bezug auf die Entwicklung von hepatischen Metastasen stellt sich zunächst die Frage nach einer synchronen bzw. einer metachronen Entstehung. Erfasst wurde hierbei, zu welchem Zeitpunkt die hepatischen Metastasen auftraten und welche prognostische Konsequenz dies mit sich bringt. Aufgrund der Therapieresistenz Gastrointestinaler Stromatumore gegenüber Zytostatika und Bestrahlung stellt die chirurgische Therapie die zentrale Rolle im Behandlungskonzept von lokalisierten Gastrointestinalen Stromatumoren dar. Bekanntermaßen ist bei fortgeschrittenen GIST eine medikamentöse Therapie mit Imatinib Mittel der Wahl, dennoch kann bei fortgeschrittenen und metastasierten Tumoren eine Metastasen Chirurgie gerechtfertigt sein.

Neben klinisch-pathologischen Risikofaktoren wurden molekulare Marker ermittelt, welche sich in Studien als prognostisch relevant erwiesen. Von großer Bedeutung für das Behandlungskonzept von GIST ist der Expressions – und Mutationsstatus von kit und PDGFRa. Neben diesem bekannten und bereits in diversen Studien untersuchten Mutationsstatus von kit und PDGFRa stellt sich die Frage nach weiteren Mutationsanalysen.

Veränderungen des p53-Gens gehören zu den häufigsten genetischen Aberrationen in menschlichen Krebszellen. Insgesamt beinhalten ungefähr 55 % aller Krebsarten Mutationen in beiden Allelen des Gens (Hollstein M et al 1991).

Da die Relevanz von Mutationen in diesem Tumorsuppressorgen bei der Entstehung vieler maligner Neoplasien eine wesentliche Rolle spielt, wurde in dieser retrospektiven Analyse der Mutationsstatus von p53 untersucht. Ziel dieser Mutationsanalyse ist die prognostische Relevanz insbesondere in Bezug auf therapeutische Fortschritte.

3 Patienten, Material und Methoden

3.1 Patientenkollektiv und Untersuchungszeitraum

Das Patientengut umfasst 65 Patienten, die im Zeitraum von Januar 2000 bis Dezember 2007 in der Abteilung für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie der Universitätsmedizin Charité Campus Virchow Klinikum auf Grund eines Gastrointestinalen Stromatumors (GIST) operativ behandelt wurden.

Von den retrospektiv erfassten 65 Patienten wurden vom Pathologischen Institut der Charite 43 Gewebeschnitte für die Bestimmung der Mutation des Tumorsuppressorgen p53 zur Verfügung gestellt.

3.2 Datenerhebung und Datenverwaltung

Die klinischen Daten aus den unten beschriebenen Bereichen wurden in einer Microsoft Excel Datenbank festgehalten. Dabei dienten hauptsächlich die Krankenakten des Aufenthaltes auf der chirurgischen Station als Informationsquelle. Krankenakten eventueller späterer Aufenthalte in chirurgischer, internistischer beziehungsweise onkologischer Abteilungen des Virchow Klinikums gaben zusätzlich Auskunft über den späteren Zustand der Patienten. Der Verlauf und derzeitige Status der Patienten wurde bei den Hausärzten, teils telefonisch, teils durch Fragebogen ermittelt. War dem Hausarzt über den Verbleib des Patienten nichts bekannt, so wurden die Patienten telefonisch befragt.

In der Datenbank wurden Parameter zu den Stammdaten der Patienten erfasst, der operative und postoperative Verlauf dokumentiert und der histologische Befund festgehalten. Daten in Bezug auf das Überleben und das Auftreten eines Rezidivs wurden zusammengetragen.

Die Stammdaten enthalten Namen, Geburtsdatum, Geschlecht des Patienten sowie Name und Adresse des behandelnden Hausarztes. Mit dem Aufnahme- und Entlassungsdatum konnte die Krankenhausaufenthaltsdauer berechnet werden. Es wurde vermerkt, ob und falls ja, wann der Patient verstorben ist.

Die wesentlichen klinischen Daten der Tumorlokalisierung, Tumorgröße, Mitoserate, OP-Verfahren bzw. Therapieverfahren, Radikalität, Metastasen sowie Rezidiv- und Todeszeitpunkt wurden erfasst. Auch die Präsenz von c-kit und CD34 wurde dokumentiert.

3.3 Diagnostische Maßnahmen

3.3.1 Apparative Diagnostik

3.3.1.1 Endoskopie

Ein standardisiertes Verfahren in der Diagnostik stellt die Endoskopie dar. Bei unserem untersuchten Kollektiv wurden eine Ösophago-Gastro-Duodenoskopie (ÖGD) in 18 Fällen und eine Koloskopie in 5 Fällen von erfahrenen Endoskopikern durchgeführt. Präoperativ lag bei allen 18 Patienten eine endoskopisch gewonnene Gewebeprobe mit aussagekräftiger histologischer Diagnosestellung vor.

3.3.1.2 Sonographie und Endosonographie

Die Abdomensonographie stellt als einfache und leicht durchführbare Maßnahme, insbesondere zur Metastasensuche eine Standarddiagnostik dar. 19 von 65 Patienten erhielten eine abdominelle Sonographie. 6 von 65 Patienten wurden einer Endosonographie unterzogen.

3.3.2 Bildgebende Diagnostik

Die bildgebende Diagnostik komplettiert die Diagnostik hinsichtlich der Ausdehnung des Primärtumors. Dieser diagnostische Schritt ist für eine chirurgische Therapieplanung unentbehrlich. Es sind sichere Aussagen über die Ausdehnung des Tumors, Infiltration in anatomische Nachbarstrukturen oder eine Metastasierung zu treffen.

3.3.2.1 CT Abdomen

Die Computertomographie (CT) findet als diagnostisches Verfahren Anwendung in der Primärtumorsuche, Metastasensuche sowie als Verlaufskontrolle nach operativer Therapie. Im Rahmen der präoperativen Diagnostik erhielten 36 Patienten ein CT des Abdomens.

3.4 Experimentelle Methoden

3.4.1 Übersicht

Bei der vorliegenden Untersuchung wurde der Mutationsstatus des p53-Gens bestimmt und in Bezug zu den klinisch-pathologischen Daten ausgewertet. Für das Mutationsscreening wurde genomische DNA aus dem Tumorgewebe der Patienten isoliert, welche als Matrize für die durch Polymerasekettenreaktion (PCR) zu amplifizierende Bindungsdomäne des p53-Gens diente. Die amplifizierten Exone 5 - 8 wurden mittels *Single Strand Conformation Polymorphism* (SSCP)-PCR auf Mutationen untersucht.

3.4.2 Präparation der genomischen DNA

DNA wurde mit dem Invisorb *Spin Tissue Mini Kit* (Firma Invitek GmbH, Berlin) wie folgt extrahiert: Um DNA aus dem in Paraffin eingelegten Gewebe zu gewinnen, wurde jeweils 1ml Octan in ein 1,5ml Eppendorf Röhrchen gegeben. Dieser Vorgang diente zur Lösung des Paraffins. Nach kurzem Durchmischen sowie 2-minütiger Zentrifugation bei 14.000 U/min konnte der Überstand vorsichtig verworfen werden. Im Weiteren erfolgte die Zugabe von 0,5 ml 96%-igem Ethanol. Nach einer Zentrifugation musste der Alkoholüberstand entfernt und das Material bei 52°C getrocknet werden. Das Ausgangsmaterial wurde in 400 µl Lyse-Puffer und 40 µl Proteinase K-Lösung bei einer Inkubationstemperatur von 52°C unter kontinuierlichem Schütteln (Thermomixer) über Nacht lysiert. Unlysierte Bestandteile wurden mittels Zentrifugation (Tischzentrifuge, Centrifuge 5415C, Eppendorf, Hamburg) entfernt. Nach Zugabe von 200 µl Bindungs-Puffer (Invitek, Berlin) wurde die DNA an einer Minisäule gebunden, nach Zentrifugation und Waschen mit 550 µl Wasch-Puffer mit 50 µl, auf 52°C erwärmten, Elutions-Puffer (Invitek, Berlin) verdünnt. Nach Inkubation und Zentrifugation bei 10.000U/min wurde das DNA Material bis zur weiteren Verwendung bei -20°C eingefroren.

3.4.3 Polymerase-Kettenreaktion (PCR)

Die Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR) ermöglicht die Vermehrung (Amplifikation) spezifischer DNA Bereiche *in vitro* selbst bei Vorhandensein sehr geringer Ausgangsmengen. Die Methode basiert auf der enzymatischen Vermehrung eines spezifischen DNA-Abschnitts, zwischen zwei Primern (Oligonukleotide). Voraussetzung ist allerdings die Information über die

Sequenz beidseits des zu amplifizierenden DNA-Abschnittes, sowie ein geeignetes Primer-Paar. Die Amplifikation findet in 20-50 aufeinander folgenden Zyklen mit jeweils drei Schritten statt. Im ersten Schritt erfolgt die Denaturierung der genomischen DNA bei 94 °C. Die Auftrennung der doppelsträngigen DNA zu Einzelsträngen ist die Grundlage für den zweiten Schritt der PCR. Hier erfolgt eine Anlagerung des sequenzspezifischen Primers (Annealing) bei Temperaturen zwischen 55 - 75° C. Im dritten Schritt (Elongation) lagern sich mit Hilfe der bis 95°C thermostabilen Taq-Polymerase die komplementären Basen an der template-DNA an. Die 3'-Enden der Primer bilden die Startpunkte für die DNA-Polymerase. Um im dritten Schritt eine komplementäre DNA Sequenz herzustellen, werden neben den Primern die vier Desoxynucleosidtriphosphate dATP, dCTP, dGTP und dTTP benötigt. Über die zyklischen Wiederholungen der drei beschriebenen Schritte in einem programmierbaren Thermocycler kommt es zu einer exponentiellen Vervielfältigung der Zielsequenz im Reaktionsansatz, so dass als Ergebnis eine millionenfache Kopie des spezifischen DNA-Abschnittes vorliegt.

3.4.3.1 Herstellung des Agarose - Gels

Zur Herstellung des Agarose Gels für das Auftragen des PCR-Produktes benötigten wir 1,2 – 1,5 g Agarose Pulver. Dieses wurde mit ca. 100 ml 1 x TAE Puffer vermischt. Um das Pulver vollständig zur Lösung zu bringen, erhitzen wir das Gemisch kurz in der Mikrowelle. In einem kühlen Wasserbad wurde anschließend das flüssige Gel abgekühlt und 1µl Ethidiumbromid appliziert. Durch Mischung der Gellösung konnte sich das Ethidiumbromid gut verteilen. Nun konnte die Lösung in die Gelkammer aus Plexiglas gegossen werden. Im flüssigen Zustand wurde ein Kamm aus Plexiglas auf einer Seite des Gels hinzugefügt, ca. 5-10 mm vom oberen Rand entfernt. Sobald das Gel in einen festen Zustand aggregierte, konnte der Kamm entfernt werden. Die Aussparungen, die im Gel zurückbleiben, werden als Taschen bezeichnet. Das Gel wurde nun in TAE-Laufpuffer gelegt. Das Gel muss vollständig bedeckt sein. Die Taschen müssen an der negativen Elektrode der Kammer zu liegen kommen.

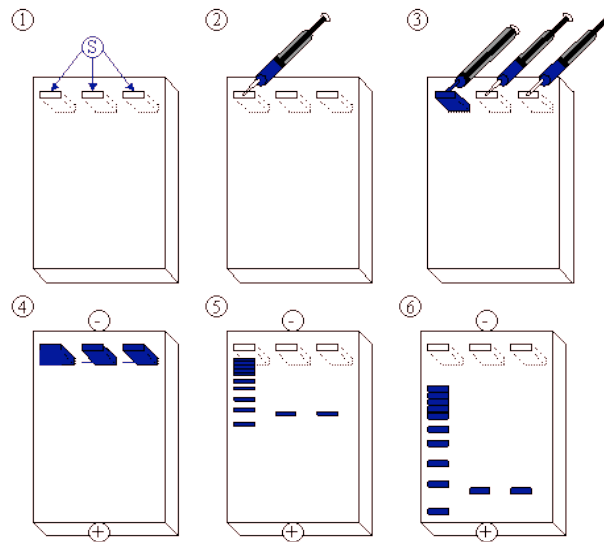


Abbildung 7: Schematische Darstellung der Agarosegel-Elektrophorese

Abbildung 7.1 zeigt schematisch das Agarosegel mit drei Taschen. In Abbildung 7.2 und 7.3 wird die Füllung der einzelnen Taschen mit dem PCR-Produkt durch eine Pipette dargestellt. Die Taschen werden mit 10 μ l PCR Produkt und 2 μ l eines farblichen Markers gefüllt.

Als nächstes wurde ein Spannungsfeld (120 Volt) angelegt (Abbildung 7.4, 7.5, 7.6). Die DNA wanderte von dem negativen (Kathode) zum positiven Pol (Anode). Nach 20 bis 25 Minuten konnte der Lauf beendet und das Gel unter ultraviolettem Licht dargestellt werden.

3.4.3.2 Allgemeiner Ansatz für die PCR

Zur Durchführung einer PCR wurden folgende Komponenten in einem Reaktionsgefäß vereinigt:

- | | |
|---------------------|-----------------|
| 1. genomische DNA | 3,0 μ l |
| 2. dNTPs | 4,0 μ l |
| 3. Taq-Polymerase | 0,3 μ l |
| 4. forward Primer | 0,5 μ l |
| 5. reverse Primer | 0,5 μ l |
| 6. 10 x PCR-Puffer | 5,0 μ l |
| 7. H ₂ O | ad 41,7 μ l |

Nach Hinzugabe aller Komponenten, wurden die Proben in den Thermocycler mit dem bei 105°C vorgeheizten Deckel gegeben. Bei jeder PCR wurde eine Negativkontrolle, in dem alle Komponenten bis auf die DNA enthalten waren, mitgeführt. Alle Programme beginnen mit einem 5-minütigen Denaturierungsschritt bei 94°C und enden mit einer 7-minütigen Elongation der DNA-Stränge bei 72°C. Folgende Tabelle veranschaulicht die einzelnen Zyklen der PCR:

Zyklen	94°C	94°C	52 - 58°C	72°C	72°C
Exon 5a	4 min.	60 sec.	52°C 30 sec.	60 sec.	7min.
Exon 5b	4 min.	60 sec.	54°C 30 sec.	60 sec.	7min.
Exon 6	4 min.	60 sec.	58°C 30 sec.	60 sec.	7min.
Exon 7	4 min.	60 sec.	58°C 30 sec.	60 sec.	7min.
Exon 8	4 min.	60 sec.	54°C 30 sec.	60 sec.	7min.

Tabelle 2: p53-PCR-Programmiervorschrift für Exon 5a bis Exon 8

3.4.4 SSCP (single-strand conformational polymorphism analysis)

Als Screeningverfahren zur Detektion von p53-Mutationen wurde in dieser Untersuchung die Single Strand Conformation Polymorphism (SSCP)-PCR ausgewählt. Die Methode hat sich in verschiedenen Studien als zuverlässiges und informatives Verfahren zur Identifizierung von Mutationen in durch PCR amplifizierten Regionen des Genoms erwiesen.

Dieses Verfahren dient der schnellen und unkomplizierten Identifikation von DNA-Polymorphismen. Nach Amplifikation eines bestimmten DNA-Abschnittes werden die DNA-Proben auf ein nichtdenaturierendes Polyacrylamidgel geladen, um elektrophoretisch aufgetrennt zu werden. Durch intramolekulare Wechselwirkungen kommt es innerhalb eines DNA-Stranges zur spezifischen Rückfaltung und Ausbildung komplexer Strukturen. Diese räumliche Anordnung (Konformität) ist abhängig von der DNA-Sequenz, d.h. bereits ein Unterschied in einer Base bewirkt eine Konformationsänderung. Auf diesem Prinzip der Konformationsänderung, des Längenunterschiedes und der damit verbundenen veränderten elektrophoretischen Mobilität im Gel basiert die SSCP.

3.4.4.1 Ansetzen des TBE (Tris-Borat-EDTA) Puffers

Zur Herstellung eines 5 x TBE Puffers wurden 54g Tris-Base, 27,5 g Borsäure abgemessen und zusammen mit 20 ml 0,5 M EDTA (pH 8,0) in eine 1 Liter Flasche gegeben und mit Aqua bidest aufgefüllt und mindestens 4 Stunden verrührt.

3.4.4.2 Anfertigung von Gelen für den SSCP-Elektrophoreselauf

Vor dem Zusammenbau der Elektrophoresekammern wurden die Elektrophoreseplatten mit A. bidest gereinigt, mit 96%-igen Ethanol abgespült und anschließend getrocknet. Eine der Glasplatten war mit einer erhabenen Gummierung versehen, aus denen sich die Taschen ergaben. Auf eine der beide getrockneten Platten wurde etwas Aqua bidest gegeben und ein GelBond-Folie mit der hydrophoben Seite nach unten blasenfrei aufgelegt und durch Festrollen das Wasser herausgedrückt. Die beiden Platten konnten dann übereinander gelegt und das Konstrukt konnte durch vier Metallklammern fest zusammengehalten werden. Um das Gel fertig zustellen, wurde ein 50 ml Flakon-Röhrchen bereit gestellt.

Mischung für ein Gel :

1. 5ml 40%-ige Acrylamid-Bisacrylamid-Stammlösung
2. 4ml 5xTBE
3. ad. 11ml A. bidest
4. 25 μ l TEMED (N,N,N-Tetramethylethylendiamin)
5. 125 μ l APS (Amoniumpersulfat 10%-ig)

Zuerst erfolgte die Durchmischung der Stoffe der Position 1 bis 3. Des Weiteren konnten die Reagenzien 4 und 5 unter vorsichtigem Schwenken von APS hinzugefügt werden. Nun sollte die Gellösung mit Hilfe einer Pipettenspitze zügig und luftblasenfrei zwischen die präparierten Glasplatten gegossen werden. Nach einer Polymerisationszeit von mindestens 90 Minuten konnten die Elektrophoresekammern in den Sequenzierautomaten eingesetzt werden.

3.4.4.3 Vorbereitung der Multiphor II™ Elektrophoresekammern

Zur Vorbereitung der Multiphor II™ Kammern wurde zunächst etwa 1 Liter 1 x TBE Puffer in jeden Tank gefüllt und das Umwälzthermostat auf die gewünschte Temperatur von 22°C eingestellt. Als nächstes wurden die Proben vorbereitet. Dazu wurde Eis bereitgestellt sowie ein Thermocycler auf 95°C erwärmt. Nun wurde ein SSCP-Ladungspuffer (4µl) mit dem PCR-Produkt (6-15µl) vermischt. Um optimale Elektrophoresebedingungen zu schaffen, startete der Vorlauf bei 100 V und 50 mA. Anschließend wurden die Proben bei 95°C in dem Thermocycler 5 Minuten denaturiert. DNA der Zelllinie LoVo diente als Wildtyp Kontrolle für p53 Mutationen. Je eine Wildtyp Probe wurde wie die untersuchten Proben denaturiert, eine zweite Wildtyp Probe diente der Kontrolle doppelsträngiger DNA. Die Probe wurden aus dem Thermocycler herausgenommen und 3 Minuten lang auf das vorbereitete Eis gestellt. Das zuvor bereitgestellte Polyacrylamid Gel konnte nun aus den Glasplatten vorsichtig herausgelöst werden und auf die zuvor gereinigte Keramikplatte der Multiphor II™ Kammern blasenfrei aufgelegt werden. Dann wurden an beiden Seiten zum Puffertank jeweils vier Pufferstreifen in 1 x TBE getaucht und eine blasenfreie Verbindung zwischen Puffertank und Gel geschaffen. Jetzt wurden die Proben mit einer 20µl Pipette in die Taschen des Gels gefüllt. Nach etwa 60 – 100 Minuten bei 900 Volt war die Elektrophorese beendet.

3.4.4.4 Ansetzen der Silberfärbung

Zur Visualisierung der DNA-Fragmente wurde eine Silberfärbung mit dem PlusOne™-DNA *Silver Staining Kit* durchgeführt:

1. Fixierung der Nukleinsäuren mit 25 ml Fixierlösung (Benzolsulfonsäure 3 %; Ethanol 24 %) im Gel für 30 min.
2. Anfärbung der Nukleinsäuren mit Färbelösung (Silbernitrat 1 %; Benzolsulfonsäure 0,35 %) für 30 min.
3. Spülen mit Aqua dest. für 1 min zur Entfernung der überschüssigen Reagenzien.
4. Entwicklung in Entwicklerlösung (Natriumcarbonat 12,5 %, Formaldehyd 37 % und Natriumthiosulfat 2 %) für 4 min.
5. Beendigung der Reaktion in Stopplösung (Essigsäure 5 %; Natriumacetat 25 %; Glycerin 50 %) für 30 min.

3.4.5 DNA Sequenzierung

Um eine exakte Aussage über die Mutation machen zu können, wurde eine DNA-Sequenzierung durchgeführt. Dafür wurde das interessierende Material (PCR Produkt) in hoher Konzentration in ein Agarose Gel gegossen. Um bessere Ergebnisse zu erzielen, wurden 3g Agarose Pulver, 150ml 1 x TAE Puffer und 3µl Ethidiumbromid benötigt. Das gesamte PCR-Produkt wurde auf ein 1,5% Agarosegel aufgetragen und ausreichend aufgetrennt. Bei zu großem Volumen wurde das PCR-Produkt auf mehrere Taschen verteilt. Im elektrischen Feld (120V) wanderten nun die beweglichen elektrisch geladenen Teilchen. Unter Ultraviolettem Licht wurden die Banden mit möglichst wenig Gelüberstand mit einem sauberen Skalpell ausgeschnitten und in ein sauberes 2 ml Eppendorf Gefäß gegeben. Das UV-Licht sollte nur kurz eingeschaltet werden, da es die DNA zerstört.

3.4.5.1 Extraktion mit Kit Qiaex II

Zunächst wurde der Thermomixer auf 50°C vorgeheizt und jeweils 1200µl Puffer QX1 zu den Gelproben in das 2ml Eppendorf hinzugegeben. Als Nächstes wurden 300µl Isopropanol dazu gefügt und kurz gevortext. Nach einer Zentrifugation bei 14.000 U/min wurde der Überstand verworfen. Nun wurden 500µl OG Puffer hinzugegeben und nach einer weiteren Zentrifugation (14.000U/min) erfolgte eine erneute Entfernung des Überstands. Dann wurden 750µl Wasch-Puffer dazu pipetiert und das Gemisch 3 Minuten inkubiert. Nach Mischung mit 96µl 1 x TAE und 25µl Elution-Puffer und anschließender Zentrifugation konnte der Filter entfernt werden und die DNA in einem Photometer gemessen werden. Anschließend erfolgte das Pipetieren der Sequenzreaktion auf Eis:

5µl Probe und Aqua dest.

2µl Big Dye Terminator (-20°C)

2µl Puffer

1µl Primer

Abschließend wurde die Sequenzreaktion in den vorprogrammierten Thermocycler gestellt.

3.4.5.2 Ethanolfällung des Sequenzreaktionsproduktes

Zu Beginn wurden 10µl Na-acetat (3M, pH=4,6) in ein Eppendorf Röhrchen vorgelegt. Mit 90µl Aqua bidest wurde der 10µl Sequenzreaktionsansatz aufgenommen und in das Eppendorf Röhrchen zu dem Na-acetat gegeben. Im Weiteren wurden 250µl Ethanol sowie 1µl Dextranblau hinzugefügt und kurz durchgeschüttelt. Nun erfolgte eine 10-minütige Inkubation. Anschließend wurden die Gemische bei 14.000 U/min 20 Minuten in die Zentrifuge gestellt. Nach dem Zentrifugieren wurde der Überstand möglichst vollständig aufgenommen und verworfen. Dann wurde das DNA-Pellet bei 37°C für circa 18 Minuten getrocknet. Wichtig war, dass sich kein Ethanol mehr im Eppendorf Röhrchen befand. Nun wurden 20µl HiDi-Formamid hinzugefügt und nach einer 2-minütigen Denaturierung bei 90°C wurden die Proben etwa 10 Minuten auf Eis gelagert und zuletzt wurden die Proben in den Sequenzer gestellt.

3.4.6 Reagenzien

Acryl-Bisacrylamid-Lösung 40 %, 29:1
Agarose
Agarosegel Ladungspuffer
APS, Ammoniumperoxidisulfat 10 %
Aqua bidest.
Borsäure
DAB, Diaminobenzidin
Essigsäure
Ethanol 96 %
EDTA, Ethylendiamintetraessigsäure
Ethidiumbromid 0,5 %
Formamid
Hämatoxylin
Magnesiumchlorid
TEMED, N,N,N-Tetramethylethylendiamin
Natriumacetat
n-Octan
Reaktionspuffer (10 x NH ₄ , pH 8,8)
Trishydrochlorid
Trishydroxylaminomethan
Wasserstoffperoxid
Xylol

3.5 Statistische Analysen

Alle Daten wurden nach Vervollständigung der Datenbank in das Statistik-Software-Paket „SPSS für Windows“ Version 15.0 transferiert. Alle statistischen Berechnungen und das Erstellen der Tabellen und Graphiken erfolgten mit oben genanntem Programm.

In der Datei wurden Variablen eingerichtet, die vor allem für die Kalkulation von Überlebenszeitanalysen von Nutzen sind.

Für jeden untersuchten Patienten liegen folgende Angaben vor:

1. Es ist bekannt, ob das interessierende Ereignis eingetreten ist oder nicht (zensierte Beobachtungen)
2. Es ist bekannt, wann bei einem Patienten das Ereignis eingetreten ist bzw. wann der Patient aus der Studie ohne Ereignis ausgeschieden ist.

Zu festgelegten Intervallen wird nun untersucht, wie viele der Patienten in diesem Intervall von dem betreffenden Ereignis ereilt wurden. Auch die Anzahl der Patienten „unter Risiko“ wird ermittelt. Durch diese beiden Angaben kann die Überlebenswahrscheinlichkeit im jeweiligen Intervall berechnet werden. Werden diese Wahrscheinlichkeiten sukzessive multipliziert und auf der Zeitachse aufgetragen, so erhält man die Treppenkurven.

Eine deskriptive Statistik erfolgte für quantitative Parameter. Qualitative Parameter wurden in absoluten und relativen Häufigkeiten mit entsprechendem, Median, Mittelwert und dazugehöriger Standardabweichung dargestellt.

Die Überprüfung der Zusammenhänge zwischen den Variablen einer Kreuztabelle für nominalskalierte Merkmale wurde mit dem Chi-Quadrat- (χ^2) Test nach Pearson durchgeführt. Dieser Test ist ein Prüfmaß zum Vergleich beobachteter mit erwarteten Häufigkeiten.

Die Kaplan-Meier-Methode berechnet die Schätzung der Überlebenswahrscheinlichkeit so wie das rezidivfreie Überleben nach der Operation. Es wird die Wahrscheinlichkeit berechnet, dass das Ereignis zu einem bestimmten Zeitpunkt eintritt. Dies ist auch für den Fall möglich, dass der Nachbeobachtungszeitraum für alle Patienten unterschiedlich ist. Für den Vergleich verschiedener Gruppen in Bezug auf oben genannte Parameter, wurde der Log Rank Test verwendet, dessen statistisches Signifikanzniveau bei 0,05 liegt.

Ein Test wird als statistisch signifikant angesehen, wenn die zu erwartende Wahrscheinlichkeit unter 5% liegt. ($p < 0,05$).

4 Ergebnisse

4.1 Patientenkollektiv

Im Zeitraum vom 1. Januar 2000 bis 30. Dezember 2007 (7 Jahre) wurden in der chirurgischen Abteilung des Charité Campus Virchow Klinikums, 65 Patienten mit einem Gastrointestinalen Stromatumor operiert.

4.1.1 Operationsjahr des Kollektivs

Die Anzahl der Operationen pro Untersuchungsjahr veranschaulicht Abbildung 8. Der Nachbeobachtungszeitraum erstreckt sich bis zum 31. März 2008.

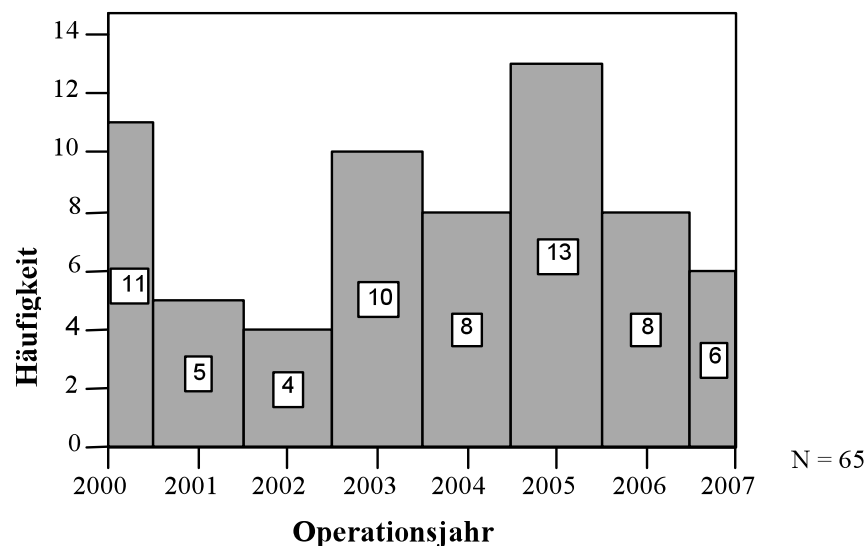


Abbildung 8: Anzahl der Operationen pro Jahr

4.1.2 Alters- und Geschlechtsverteilung

Der jüngste Patient des Kollektivs war weiblich und bei der Operation 35 Jahre alt, der älteste Patient war weiblich und 87 Jahre alt. Das Durchschnittsalter insgesamt betrug 66 Jahre und lag bei Frauen mit 69,2 Jahren höher als bei Männern mit 63,7 Jahren. In Abbildung 9 werden die Patienten entsprechend ihres Alters in Lebensdekaden von 5 Jahren eingeteilt. Die absolute Häufigkeit der Gruppen wird als Balken dargestellt.

Bei der Altersverteilung der untersuchten Patienten zeigte sich ein Peak in der Altersgruppe der 65- bis 70-Jährigen. 13 Patienten (20%) gehören dieser Altersgruppe an. 12 Patienten (18,4%) zählen zu der zweithäufigsten Altersgruppe zwischen 70 und 75 Jahren. 35 Patienten (53,8%) waren männlich und 30 Patienten (46,1%) waren weiblich.

Abbildung 10 veranschaulicht eine Einteilung der Patienten in eine Altersgruppe über bzw. unter 60 Jahren, wobei 46 Patienten (70,7%) der Altersgruppe über 60 Jahren angehören.

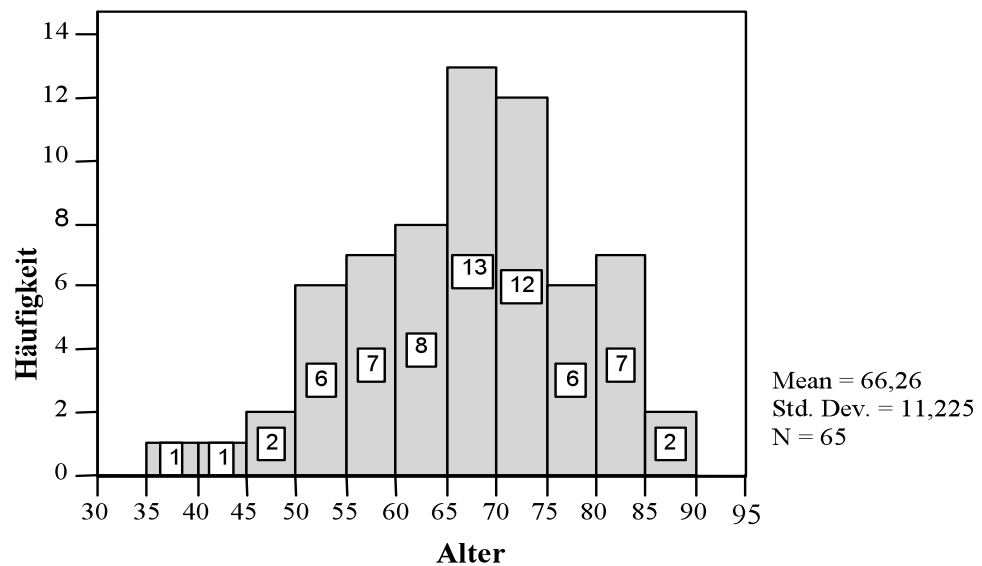


Abbildung 9: Einteilung der Patienten in Lebensdekaden von 5 Jahren

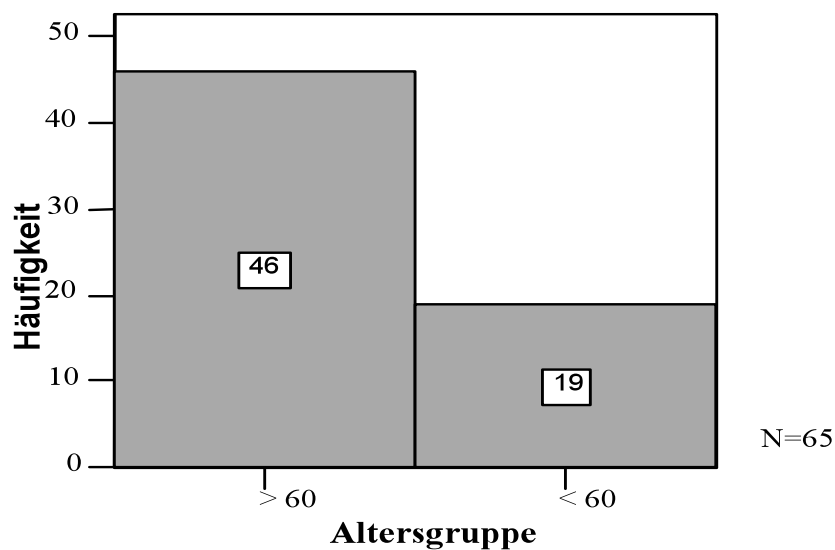


Abbildung 10: Einteilung der Patienten in Altersgruppen

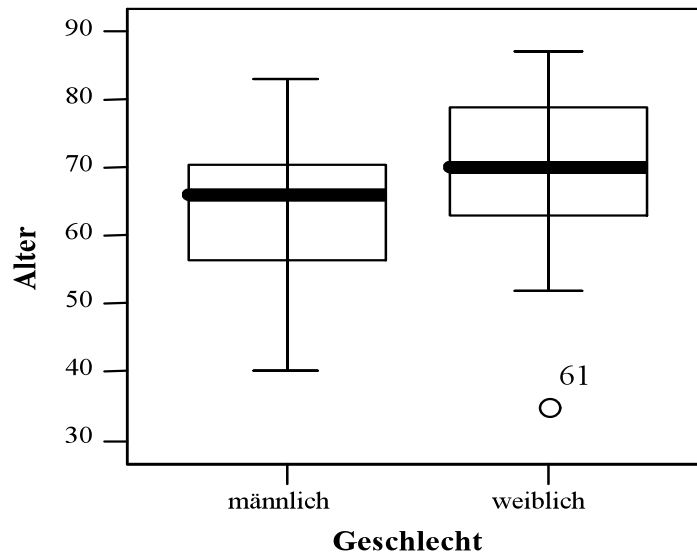


Abbildung 11: Geschlechts- und Altersverhältnis der Patienten

4.1.3 Krankenhausaufenthaltsdauer

Die Krankenhausaufenthaltsdauer ergab sich aus der Zeit gerechnet vom Tage der Aufnahme bis zur Entlassung. Von 65 Patienten verstarben 4 (6,1%) noch während ihres Krankenaufenthaltes an den Folgen ihrer Komplikationen. Im Durchschnitt vergingen 17 Tage bis die Patienten nach Hause oder in ein Rehabilitationszentrum entlassen wurden. Die kürzeste Liegedauer betrug 3 Tage, im Gegensatz dazu wurde ein Patient 64 Tage postoperativ entlassen. Abbildung 12 veranschaulicht die Liegedauer der Patienten.

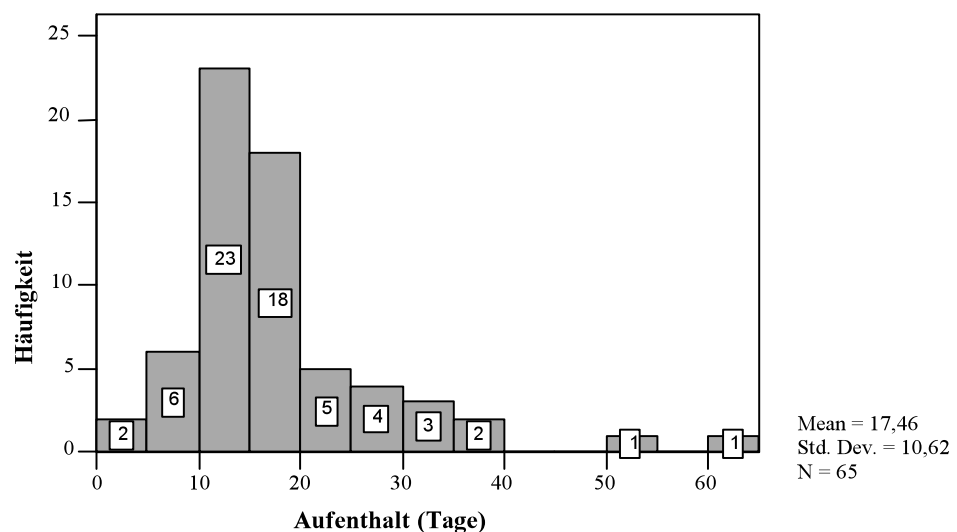


Abbildung 12: Aufenthaltsdauer der Patienten in Tagen

4.1.3.1 Krankenhausaufenthaltsdauer und Altersgruppen

Die Aufenthaltsdauer in Bezug zum Alter wird in Tabelle 3 dargestellt. Es zeigt sich, dass das Alter keinen Einfluss auf die Aufenthaltsdauer hat. Ältere Patienten verweilten, wie die jüngere Vergleichsgruppe im Schnitt 15 Tage, bis sie entlassen wurden.

	Gesamt	< 60 Jahre	≥ 60 Jahre
Median	15.0	15.0	15.0
Minimum	3	3	5
Maximum	64	38	64
Mittelwert	17.5	16.6	17.8
Standardabweichung	10.6	9.6	11.1
Gesamtanzahl	N=65	N=19	N= 46

Tabelle 3: Krankenhausaufenthalt, aufgeteilt nach Altersgruppen

4.1.4 Art der Symptome

Insgesamt 46 (70,7%) Patienten gaben an, symptomatische Beschwerden von Seiten des Gastrointestinalen Stromatumors zu haben und 19 (29,2%) Patienten hatten keinerlei Beschwerden (Abbildung 13). Die häufigsten klinischen Beschwerden waren abdominelle Schmerzen (N=16), des Weiteren traten gastrointestinale Blutungen (N=13) auf, die sich beispielsweise in Malaena bzw. in Hämatemesis äußerten. Diese klinische Symptomatik korreliert mit der Tumorlokalisation, da obere GI-Blutungen in der Regel im Bereich des Ösophagus, Magen und Duodenum auftreten. Gastrale Stromatumoren ab einer bestimmten Tumorgöße sind häufig mit kleinen Ulzerationen im Bereich der Schleimhaut assoziiert. Diese Ulzerationen können zu gastrointestinalen Blutungen oder chronischen Anämien führen. 7 der Patienten hatten unspezifische Symptome. Tabelle 4 erörtert die häufigsten klinischen Symptome.

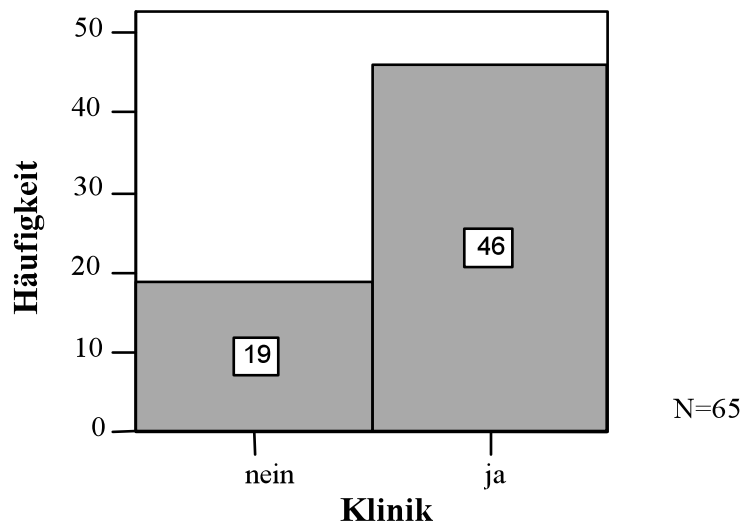


Abbildung 13: Vorhandensein von klinischer Symptomatik

klinische Symptome	Anzahl (N)
abdomineller Schmerz	16
GI Blutung	9
Unspezifisch	7
Gastritis	6
Melaena	3
Anämie	3
Emesis, Hämatemesis	1
Sepsis	1

Tabelle 4: Klinische Symptomatik

4.1.5 Tumorlokalisation

Bei 35 Patienten (54%) trat der GIST im Magen auf, was mit Abstand die häufigste Lokalisation war. Deutlich weniger häufig beobachteten wir eine Manifestation im Dünndarm (N=19; 29%). Interessanterweise gab es verhältnismäßig viele Patienten mit extragastrointestinalen GIST. Abbildung 14 zeigt die Lokalisationen im Retroperitoneum, Mesenterium, Omentum oder der Bauchdecke mit einer Häufigkeit von bis zu N=7; 11% aller GIST.

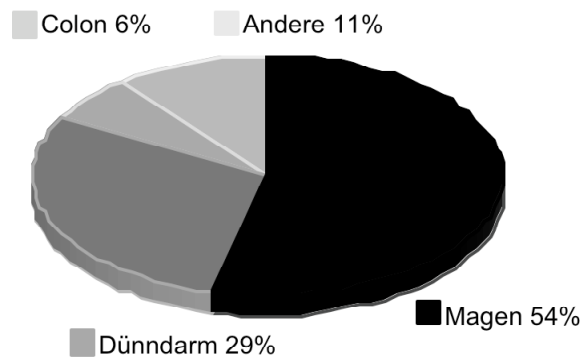


Abbildung 14: Tumorlokalisation, angegeben in Prozent

4.1.6 Tumorgröße, Mitoserate und Risikoeinschätzung

Bei 60 (92,3%) von 65 Patienten des Kollektivs wurden Angaben zur Tumorgröße gemacht. Nach Fletcher et al. erfolgt eine Klassifizierung Gastrointestinaler Stromatumore nach Risikogruppen. Unterschieden wird in ein geringes Risiko, ein intermediäres und ein hohes Risiko, wie im Abschnitt „Einleitung“ bereits dargestellt. Um eine Risikoeinschätzung aggressiven biologischen Verhaltens Gastrointestinaler Stromatumore für die Patienten zu erhalten, wurde die Tumorgröße mit der Mitoserate verglichen. Abbildung 15 illustriert die folgende Risikoeinschätzung unseres Patientenkollektivs. Abbildung 16 stellt die Relation zwischen der Tumorgröße (mm) und der Mitosezahl (HPF) dar.

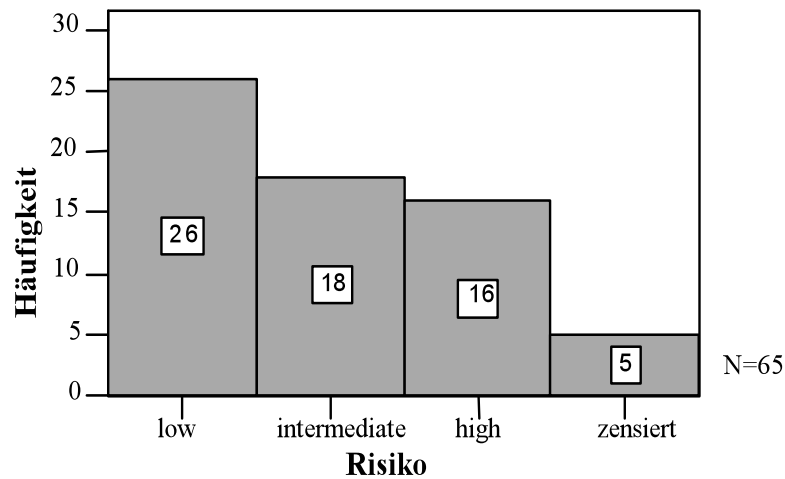


Abbildung 15: Risikoklassifizierung anhand Tumorgröße und Mitoserate

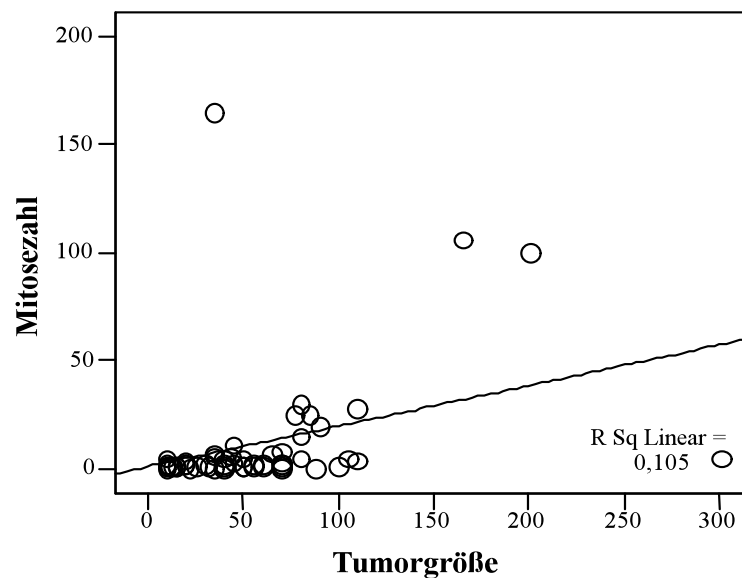


Abbildung 16: Vergleich zwischen Tumorgröße (mm) und Mitosezahl (HPF)

Somit zeigt sich bei 26 (43,3%) Patienten ein geringes Risiko, bei einer Tumorgröße < 5cm und einer Mitoserate < 5/50 HPF. Bei weiteren 18 (30%) Patienten fiel ein intermediäres Risiko, bei einer Tumorgröße >5cm und einer Mitoserate < 5/50 HPF bzw. einer Tumorgröße <5cm und einer Mitoserate > 5/50 HPF auf. Ein hohes Risiko mit einer Tumorgröße > 5cm bzw. > 10cm und einer Mitoserate > 5/50 HPF wurde bei 16 Patienten ermittelt. Folgende Tabelle veranschaulicht abhängig von dem Risiko, die erfolgte Radikalität des Eingriffes. Aus dieser

Tabelle wird ersichtlich, dass auch die meisten R0-Eingriffe (N=23) bei Patienten mit einem geringen Risiko möglich waren.

		R0	R1	R2	nicht reseziert
Risikoprofil	low risk	23	1	1	1
	intermediate risk	13	4	1	
	high risk	6	8	2	
	nicht definiert	2	3		
		R0=44	R1=16	R2=4	1

Tabelle 5: Risikoklassifizierung und Resektionsstatus

4.2 Operative Behandlungsmaßnahmen

4.2.1 Allgemeines operatives Verfahren

Alle 65 Patienten mit der Diagnose Gastrointestinaler Stromatumor wurden chirurgisch behandelt. Eingeschlossen sind hierbei sowohl die Primärfälle, als auch die Rezidiv- und Metastasenresektionen. Entscheidend für eine erfolgreiche operative Behandlung ist eine R0-Resektion. Ein Sicherheitsabstand von mindestens 2cm ist ausreichend. Eine Lymphadenektomie ist nicht erforderlich. Die chirurgische Strategie hängt wesentlich von der Prognoseeinschätzung und Lokalisation ab. Ein Patient konnte nicht reseziert werden. Er erhielt eine Probelaparatomie (PL) und verstarb innerhalb von 3 Tagen nach dem operativen Eingriff an Herzversagen. Je nach Lokalisation und Größe des Primärtumors erfolgten verschiedene chirurgische Therapieansätze.

4.2.2 Operative Therapie einzelner Tumorlokalisationen

Im Bereich des Magens wurden drei Operationsverfahren, wie Tabelle 6 veranschaulicht, angewandt. 16 Patienten mit GIST im Magen erhielten eine lokale Tumorexzision, 12 Patienten wurden durch eine subtotale Gastrektomie versorgt und 5 Patienten erhielten eine totale Gastrektomie. Ein Patient erhielt aufgrund Inoperabilität eine Probelaparatomie (PL) und ein

weiterer Patient erhielt im Rahmen einer Ausdehnung des Tumorgewebes in den distalen Ösophagus eine abdomino-thorakale Resektion des Ösophagus mit Magenhochzug.

OP – Verfahren	Häufigkeit (N)	Prozent (%)
1. totale Gastrektomie	5	14
2. subtotale Gastrektomie	12	34
3. nicht resezierende OP-Verfahren		
- lokale Tumorexzision	16	46
- Probelaparatomie (PL)	1	3
- Andere	1	3
Gesamtzahl	35	100

Tabelle 6: Operationsverfahren von GIST im Magen

Der GIST des Dünndarms wurde in allen 17 Fällen durch eine Dünndarmteilresektion behandelt.

Patienten mit einem GIST im Colon erhielten eine Kolonteilresektion. Ein Patient mit Tumorgewebe im Rektum wurde durch eine tiefe anteriore Rektumresektion versorgt.

Extragastrointestinale Stromatumoren kommen im Retroperitoneum, Omentum und Mesenterium sowie Pankreas und Ösophagus vor. Hierbei wurde je nach Lage und Ausdehnung des Tumorgewebes folgende chirurgische Therapie vorgenommen: Bei Patienten mit GIST im Retroperitoneum, Omentum und Mesenterium wurde das Tumorgewebe reseziert. Bei den Patienten mit GIST im Pankreas bzw. Duodenum/Pankreas erfolgte eine PPPD und diejenigen, welche einen Stromatumor im Ösophagus aufwiesen, wurden einer lokalen Tumorexzision unterzogen.

OP – Verfahren	Häufigkeit (N)
1. PPPD	2
2. Tumorresektion Ösophagus	3
3. Lokale Resektion Tumorgewebe	2
Gesamtzahl	7

Tabelle 7: Operative Verfahren der extragastrointestinalen GIST

4.3 Peri- und postoperative Phase

4.3.1 Radikalität der Eingriffe

In Abbildung 17 wird der Anteil des erfolgten Resektionsausmaßes dargestellt. In einem Fall konnte keine R-Klassifikation ermittelt werden. 68,75% (n=44) der Operationen erfolgten in dem Maße, dass in der histologischen Präparation kein Resttumorgewebe eruiert werden konnte (R0). Der Anteil der Patienten, bei denen nach Operation noch mikroskopisches Resttumorgewebe (R1) vorlag, lag bei 25% (n=16). Bei 6,25% (n=4) hinterblieb sichtbares Tumorgewebe (R2). Nachfolgende Tabelle zeigt das Verhältnis des Resektionsausmaßes in Bezug auf die primäre Tumorlokalisation.

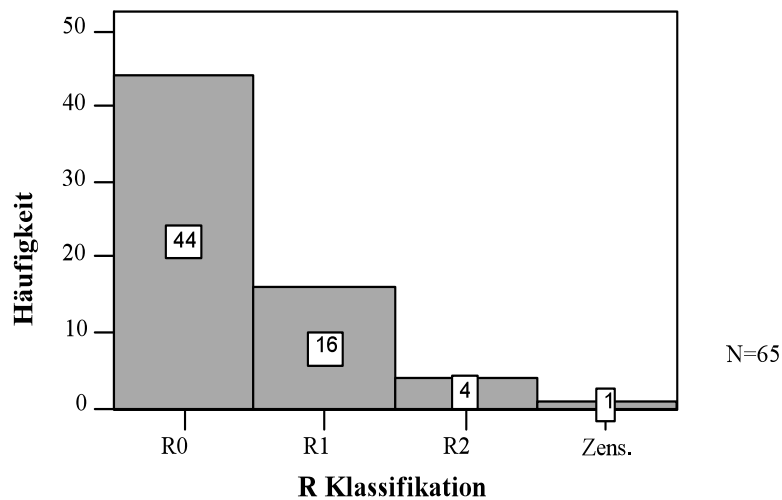


Abbildung 17: Resektionsstatus der Patienten

Detailliert zeigt Tabelle 8 die Aufteilung des erfolgten Resektionsausmaßes bezüglich der Tumorlokalisation. Von 35 Patienten mit Tumorlokalisation im Magen wurden 25 Patienten R0 reseziert, 12 von 19 Patienten mit GIST im Dünndarm konnten R0 reseziert werden und alle 4 Patienten mit GIST im Colon/Rektum wurden R0 reseziert.

	Magen	Dünndarm	Colon	andere	gesamt
R0	25	12	4	3	44
R1	9	5	0	2	16
R2	1	1	0	2	4
	35	19	4	7	64

Tabelle 8: Resektionsstatus und Tumorlokalisation

4.3.2 postoperative Komplikationen

Tabelle 9 stellt die postoperativen Komplikationen in Bezug zum Alter dar. In der Altersgruppe der über 60-Jährigen traten 11 der insgesamt 13 Komplikationen auf.

	< 60 Jahre	≥ 60 Jahre	Gesamtwert
	Anzahl	Anzahl	Anzahl
Pleuraerguss	1	3	4
Dyspnoe/Aspiration	0	1	1
Eitrige Peritonitis	0	1	1
Fasziendehiszenz	1	2	3
Narbenhernie	0	1	1
Obstipation	0	1	1
Ileus	0	1	1
Sepsis	0	1	1
Gesamt	2	11	13

Tabelle 9: postoperative Komplikationen in Bezug auf die Altersgruppen

4.3.3 30-Tages Überleben

4 Patienten verstarben innerhalb der ersten 30 Tage nach der operativen Versorgung des Gastrointestinalen Stromatumors. Alle gehörten der Altersgruppe der über 60-Jährigen an. 2 der 4 Patienten befanden sich in einem metastasierten und rezidierten Stadium. Die Todesursachen waren ein hypoxisches Hirnödem (N=1), Herzkreislaufversagen (N=2) und eine Sepsis (N=1).

4.3.4 Auftreten von Rezidiven

In dem untersuchten Kollektiv wurde bei 8 Patienten ein Rezidiv nachgewiesen. Abhängig von der operativen Therapie des Primärtumors wurde die postoperative R-Situation ermittelt. Von diesen 8 Patienten hatten 2 eine R0 Resektion. 5 der rezidierten GIST wurden R1 reseziert und lediglich ein Patient hatte eine R2 Resektion. Bei 4 Patienten (50%) konnte eine primäre Tumorlokalisation im Dünndarm festgestellt werden. 2 Patienten hatten primär einen GIST im Magen, ein Patient einen im Colon und ein weiterer hatte einen Primärtumor im Omentum majus. Das Intervall zwischen Erstdiagnose und Auftreten eines Rezidives lag im Durchschnitt bei 24,7 (8-48) Monaten. Hinsichtlich des Risikoprofils konnten Angaben zu sechs Patienten gemacht werden. Ein Patient, der ein Rezidiv entwickelte, hatte ein *low risk*. 2 weitere Patienten wiesen ein *intermediate risk* und 3 Patienten ein *high risk* auf. 4 der rezidierten Patienten

wurden mit Imatinib therapiert, 6 Patienten wurden chirurgisch behandelt. Am *follow-up* Termin waren von 8 Patienten noch 3 Patienten am Leben.

Primärtumor	Therapie	R	Rezidiv	Zeitraum	Therapie
Dünndarm	Segmentresektion	R0	Dünndarm	36 Monate	Exzision, Imatinib
Dünndarm	Segmentresektion	R0	Mesenterium	24 Monate	Exzision, Imatinib
Omentum majus	PL	R2	Mesenterium	24 Monate	Nekrosektomie
Magen	Subtotale Gastrektomie	R1	Magen	48 Monate	Imatinib
Colon	Hemikolektomie	R1	Rektum	8 Monate	Imatinib
Dünndarm	Segmentresektion	R1	Dünndarm	36 Monate	Tumordebulking
Dünndarm	Segmentresektion	R1	Dünndarm	12 Monate	Tumorresektion
Magen	Tumorexzision	R1	Magen	10 Monate	Tumordebulking

Tabelle 10: Patienten mit Rezidiven und deren therapeutische Maßnahmen

4.3.5 Lebermetastasierung

Insgesamt 21 (32,3%) Patienten hatten hämatogene Fernmetastasen. Abbildung 14 veranschaulicht die Anzahl der Patienten mit hepatischen Fernmetastasen (N=17, 26%). Abbildung 18 dokumentiert die Überlebensanalyse nach Kaplan Meier. Unter Berücksichtigung zensierter Werte konnte den berichteten Unterschieden nach dem Log-Rank-Test eine statistische Signifikanz ($p=0,002$) zugesprochen werden. 9 von 17 Patienten mit hepatischen Metastasen wurden metachron diagnostiziert. Im Durchschnitt bedeutet dies, dass bis zum Auftreten von hepatischen Metastasen 29 Monate vergingen. 8 Patienten zeigten ein synchrones Auftreten von Lebermetastasen. Bezüglich des Risikoprofils nach der Klassifizierung in *low*, *intermediate* und *high risk* wurden von den 17 Patienten mit Lebermetastasen 3 in *low risk*, 5 in *intermediate risk* und 7 in *high risk* eingeteilt. Bei lediglich zwei Patienten konnte kein Risikoprofil erfasst werden.

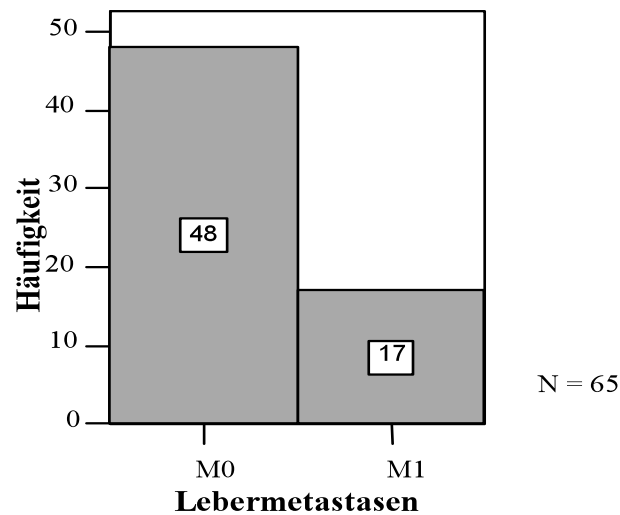


Abbildung 18: Anzahl der hepatische Metastasen

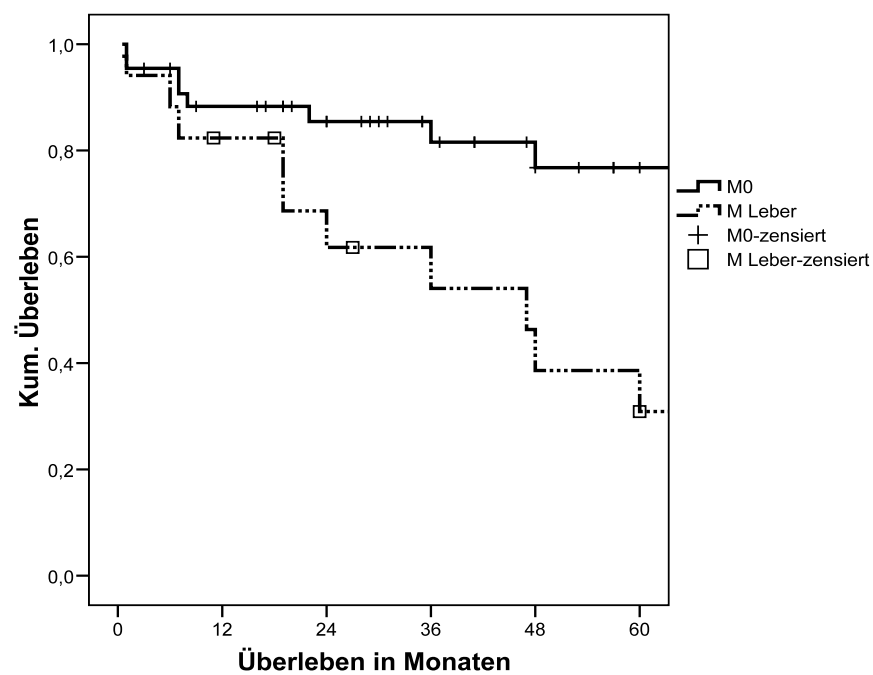


Abbildung 19: Überlebensanalyse M0 und M hepatisch nach Kaplan Meier ($p=0,002$)

4.3.5.1 Lokalisation des Primärtumors und Lebermetastasen

In Abhängigkeit der Entstehung der Metastasen wurde die Primärtumorlokalisierung bestimmt. 8 Patienten zeigten eine Primärlokalisierung im Magen. 5 Patienten hatten einen GIST im Dünndarm und 4 Patienten hatten extragastrointestinal lokalisiertes Tumorgewebe. Es besteht

kein signifikanter Einfluss ($p=0,514$) zwischen der primären Tumorlokalisation und der Entstehung von hepatischen Metastasen.

Der Primärtumor von 3 Patienten mit hepatischen Metastasen wurde R0 reseziert, der von 10 Patienten wurde R1 reseziert und der Primärtumor von 4 Patienten wurde R2 reseziert.

Folgende Tabelle illustriert die Primärlokalisation der Patienten, die im Verlauf hepatische Metastasen aufweisen, sowie deren primäre Behandlungsmaßnahmen und die Radikalität des Eingriffes.

Pat.	Tumorlokalisation	Operationsverfahren	Resektion
1	Magen	Totale Gastrektomie	R1
2	Dünndarm	Segmentresektion	R1
3	Dünndarm	Segmentresektion	R0
4	Magen	Totale Gastrektomie	R0
5	Dünndarm	Segmentresektion	R1
6	Omentum	Tumorresektion	R2
7	Pankreas	PPPD	R2
8	Magen	Tumorexzision	R1
9	Peritoneum	Tumorresektion	R1
10	Magen	Subt. Gastrektomie	R1
11	andere	Tumordebulking	R1
12	Magen	Subt. Gastrektomie	R1
13	Magen	Kardiaresektion	R1
14	Magen	Tumorexzision	R2
15	Dünndarm	Segmentresektion	R2
16	Dünndarm	Segmentresektion	R0
17	Magen	Subt. Gastrektomie	R1

Tabelle 11: primäre Operationsversorgung der Patienten mit hepatischen M (Subt. Gastrektomie = Subtotale Gastrektomie)

4.3.5.2 Metastasengröße und Segmentbefall

Bei 15 der 17 Patienten mit Lebermetastasen konnten Angaben zur Größe gemacht werden. In Abbildung 20 zeigt sich, dass 4 Patienten eine Größe von $<5\text{cm}$, 8 Patienten hatten Lebermetastasen mit einer Größe $>5\text{cm}$ und 3 Patienten wiesen eine Größe von $>10\text{cm}$ auf.



Abbildung 20: Grösse der Lebermetastasen in cm

Tabelle 12 zeigt die Verteilung der Metastasen in den verschiedenen Segmenten der Leber. In 12 Fällen sind mehrere Segmente betroffen. Die Resektionsart der Metastasen war durch die Segmentverteilung bestimmt. Folgende Tabelle stellt das primäre Operationsverfahren dar.

Pat	Linker Leberlappen				Rechter Leberlappen				Therapie der Lebermetastasen
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	
1					X				Thermoablation, Imatinib
2						X			Hemihepatektomie, Imatinib
3					X	X			Hemihepatektomie, Imatinib
4					X	X	X	X	Hemihepatektomie
5					X	X	X	X	Hemihepatektomie, Imatinib
6							X		PL Herzkreislaufversagen
7		X						X	Imatinib
8			X			X	X		Trisektorektomie Wedge
9				X	X	X			verstorben
10	X	X	X	X					Hemihepatektomie, Imatinib
11				X				X	Hemihepatektomie
12							X		Brachytherapie, Imatinib
13		X	X						Segmentektomie
14					X			X	PL, Imatinib
15		X							Segmentektomie, Imatinib
16	X	X							Segmentektomie
17		X	X						Hemihepatektomie

Tabelle 12: Segmentlokalisierung und Therapieverfahren der Lebermetastasen

4.3.5.3 operative Therapie der hepatischen Metastasen

11 (64,7%) von 17 Patienten mit hepatischen Filiae wurden operativ therapiert. 7 (63,6%) von 11 Patienten erhielten eine Hemihepatektomie. 4 Patienten wurden durch eine Segmentektomie behandelt. Nach der Überlebensanalyse zeigt sich keine statistische Signifikanz in Bezug auf die beiden operativen Verfahren der hepatischen Metastasen ($p=0,152$).

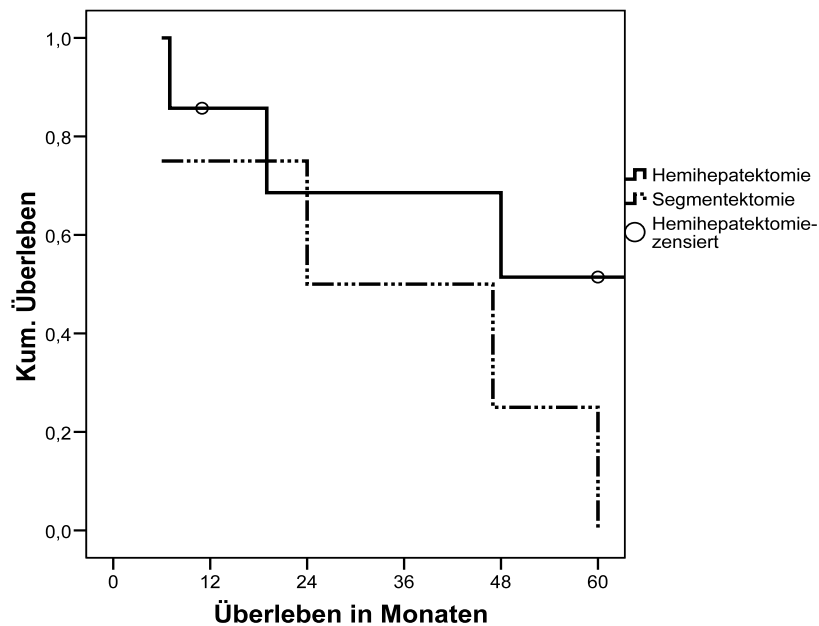


Abbildung 21: Überlebensanalyse in Bezug auf das operative Therapieverfahren der hepatischen Metastasen ($p=0,152$)

4.3.5.4 medikamentöse Therapie der hepatischen Metastasen

9 Patienten erhielten eine medikamentöse Imatinib-Therapie. 8 von 9 Patienten eine Initialdosis von 400 mg/d und lediglich einem Patienten wurde eine Initialdosis von 800 mg/d verabreicht. Zu einer Dosiserhöhung von 400 auf 600 bzw. 800 mg/d kam es bei einem bzw. bei 2 Patienten. Im Durchschnitt wurde die medikamentöse Therapie über einen Zeitraum von 23 Monaten (12 Monate-36 Monate) gegeben.

4.4 Medikamentöse Behandlungsmaßnahmen

Aus unserem untersuchten Patientenkollektiv erhielten insgesamt 20 (30,7%) Patienten eine medikamentöse Therapie mit Imatinib. Bei der medikamentösen Therapie wurden zwei verschiedene Therapieansätze verfolgt. Man unterscheidet zum einen eine adjuvante von einer neoadjuvanten Therapie, wobei der Grossteil (N=18) der Patienten adjuvant behandelt wurden. Einleitend wurde mit einer Dosierung von 400 mg/d begonnen. 19 (95%) der 20 Patienten erhielten eine Standarddosierung von 400mg Imatinib einmal täglich und lediglich ein Patient eine Dosierung von 800mg/d. Der Beobachtungszeitraum der medikamentösen Therapie erstreckte sich über einen Zeitraum von 12 Monaten bis 36 Monate.

Innerhalb dieser Zeit wurde bei 4 Patienten eine Dosissteigerung von 400mg auf 800mg vorgenommen.

Patienten, die diese Therapie erhielten, befanden sich in einem fortgeschrittenen Tumorstadium, d.h. 4 Patienten im rezidierten Stadium und 9 Patienten im metastasierten Stadium. Prinzipiell konnte gezeigt werden, dass primär der überwiegende Anteil der Patienten mit Gastrointestinalen Stromatumoren operativ behandelt wurden. Bei postoperativer R1 / R2 Situation wurde eine medikamentöse Therapie mit Imatinib eingeleitet.

Der überwiegende Anteil der Patienten N=44 erhielt eine R0 Resektion, wovon nur 8 Patienten (18%) medikamentös therapiert wurden. 16 Patienten wurden R1 reseziert und 9 (56,2%) wurden medikamentös behandelt. Nur 4 Patienten hatten einen R2 Resektionsstatus, davon erhielten N=3 (75%) einen Tyrosinkinaseinhibitor. Bei einer postoperativen R1/R2 – Situation ist also eine medikamentöse Therapie indiziert. Da bei dem untersuchten Patientengut der überwiegende Anteil R0 reseziert wurde, ist eine Imatinib Therapie nur in einigen Fällen indiziert.

4.5 Mutationsanalyse von p53

Durch Auftragen der DNA-Produkte auf Agarosegele und Vergleich mit der Wildtyp (WT) Kontrolle LoVo wurde eine erfolgreiche PCR-Amplifikation nachgewiesen. Die Gesamtanzahl der im Tumor-Kollektiv detektierten p53 Mutationen betrug zwei. Nach den Messungen an den Exonen 5, 6, 7 und 8 konnten wir bei je einem Patienten eine Mutation in Exon 6 und Exon 7 nachweisen. Tumore mit Mutationen in zwei oder mehr Exons wurden nicht beobachtet.

Im Einzelnen zeigte sich bei der Mutationsanalyse im Exon 6 der Basenaustausch R213R. Das bedeutet einen Austausch am Codon 213. Bei der Mutation, die in Exon 7 nachgewiesen wurde,

handelte es sich um einen Austausch von G zu C im Intron, welches sich 36 Basen vor Beginn des Exon 7 befindet. Folgende Abbildungen veranschaulichen die p53 Mutation (Exon 6, 7) versus Wild Typ (WT).

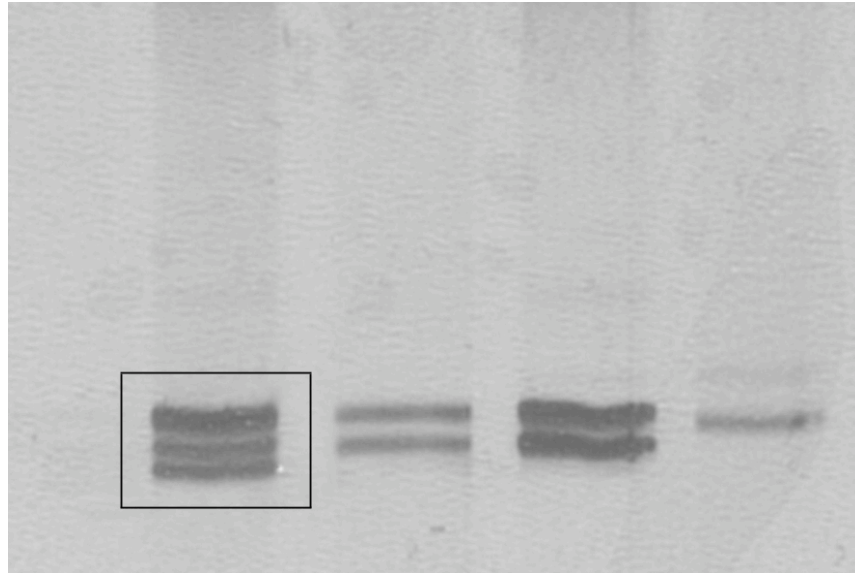


Abbildung 22: SSCP – PCR von p53 Exon 6

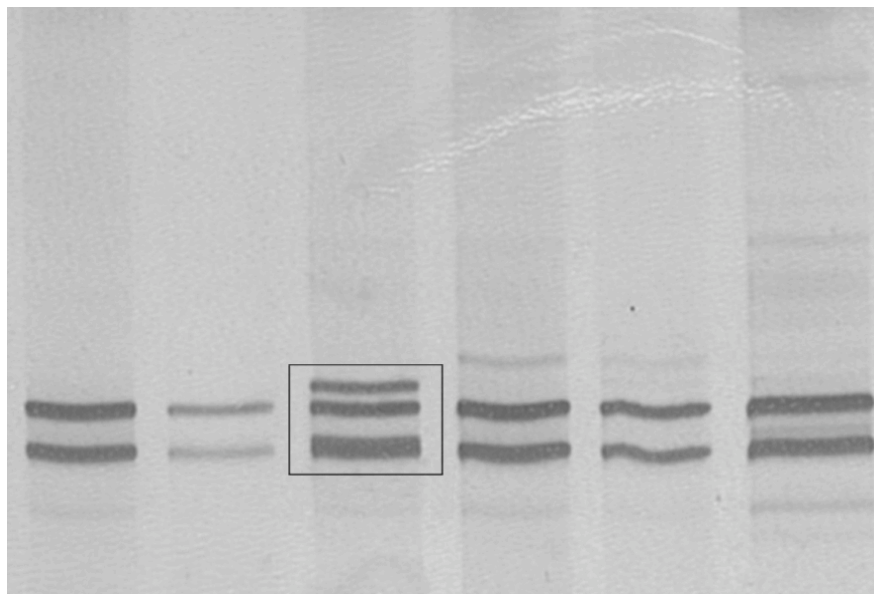


Abbildung 23: SSCP – PCR von p53 Exon 7

4.6 Überlebensanalyse

Im folgenden Kapitel werden die Überlebenszeitanalysen nach Kaplan-Meier dargestellt. Dabei wird jeweils ein potentieller Prognosefaktor mit der Überlebenszeit (in Monaten) der Patienten in Verbindung gebracht. Da nicht für alle Patienten in allen Prognosefaktoren Werte vorlagen,

beziehen sich die Analysen teilweise auf unterschiedlich große Stichproben. Die jeweilige Stichprobengröße wird am Anfang jedes Unterkapitels erwähnt.

4.6.1 Überlebensanalyse des Gesamtkollektivs

Zum Nachsorgezeitpunkt waren von den 65 Patienten noch 40 (64,5%) am Leben und 22 (35,4%) waren verstorben. Die mediane Überlebenszeit lag bei 73 Monaten. Die 5-Jahresüberlebensrate lag im Kollektiv bei 60%. Mit Ausnahme von 3 Patienten konnte bei 62 Personen mindestens ein *follow-up* über den Status „lebend“ oder „verstorben“ erfolgen.

Die Abbildung 24 zeigt eine Kaplan-Meier Überlebenskurve, die den prognostischen Verlauf des gesamten Patientenkollektivs darstellt.

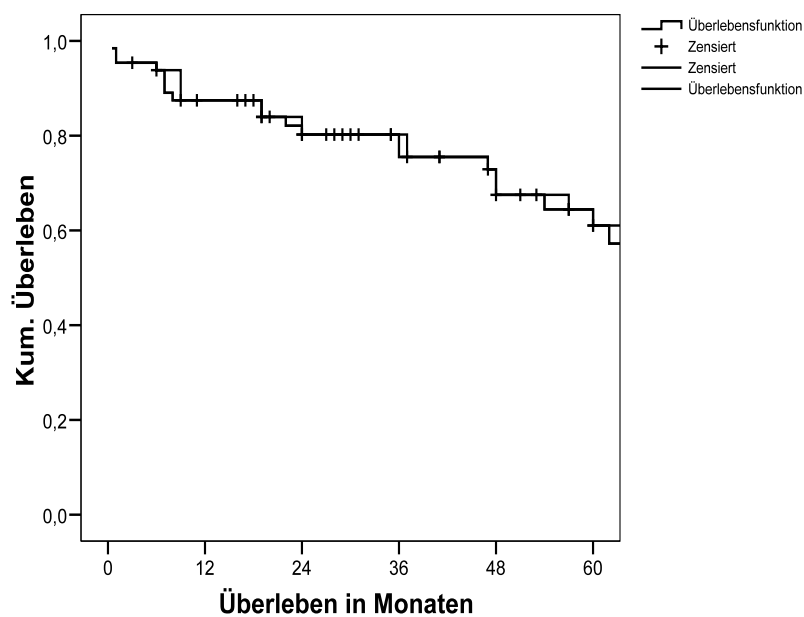


Abbildung 24: 5-Jahresüberleben des gesamten Patientenkollektivs in Monaten nach Kaplan-Meier.

4.6.2 Überlebensanalyse in Bezug zu klinischen Parametern

4.6.2.1 Überleben und Geschlecht

Für die Berechnungen der Überlebenszeiten nach Kaplan-Meier lagen die Daten von 35 (53,8%) Männern und 30 (46,2%) Frauen vor. Bei den Männern lag der Median der Überlebenszeit bei 69,5 Monaten und bei Frauen bei 108 Monaten. Unter Berücksichtigung zensierter Werte kann diesem Unterschied nach dem Log-Rank-Test keine statistische Signifikanz zugesprochen werden ($p=0,638$). Die 5-Jahresüberlebensrate, dargestellt in Abbildung 25, lag bei Männern bei 65% bei Frauen bei 63%.

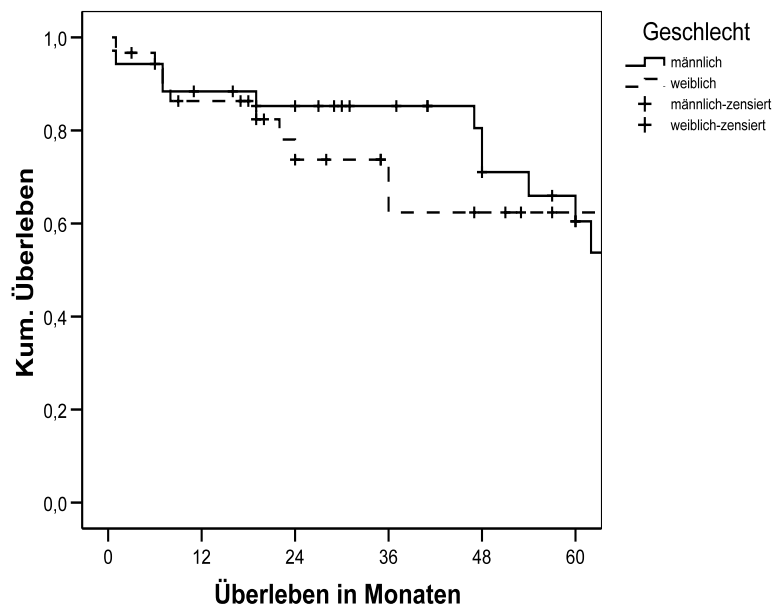


Abbildung 25: 5-Jahresüberleben in Monaten, aufgeteilt nach Geschlecht ($p=0,638$)

4.6.2.2 Überleben und Altersgruppe

Inwieweit Patienten mit fortgeschrittenem Lebensalter eine geringere Überlebenswahrscheinlichkeit haben, veranschaulicht Abbildung 26. Die mediane Überlebenszeit der Personen in der Altersgruppe > 60 Jahren liegt bei 69,6 Monaten. Der

Median in der Altersgruppe < 60 liegt bei 108 Monaten. Bei diesem Vergleich liegt keine statistische Signifikanz vor ($p=0,412$).

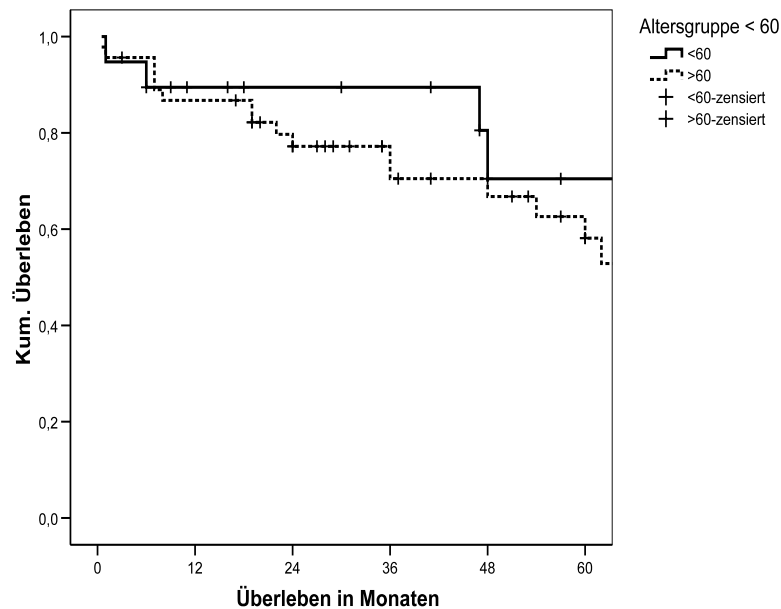


Abbildung 26: 5 -Jahresüberleben in Monaten, aufgeteilt in Altersgruppen ($p=0,412$)

4.6.2.3 Überleben und Tumorlokalisierung

Für die Berechnungen des Einflusses der Tumorlokalisierung bezüglich der Überlebenszeit lagen Daten von allen 65 Patienten vor.

Die Patienten, bei denen der Tumor im Magen lokalisiert war ($N=35$), hatten im Median eine Überlebenszeit von 108 Monaten. Die Patienten, bei denen der Tumor im Dünndarm lokalisiert war ($N=19$), lebten im Median 108 Monaten. Patienten mit einem GIST im Colon und Rektum wiesen im Median eine Überlebenszeit von 63,6 Monaten auf. Patienten mit extragastrintestinalen Stromatumoren hatten ein medianes Überleben von 60 Monaten. Unter Berücksichtigung zensierter Werte kann diesen Unterschieden nach dem Log-Rank-Test keine statistische Signifikanz zugesprochen werden ($p=0,814$).

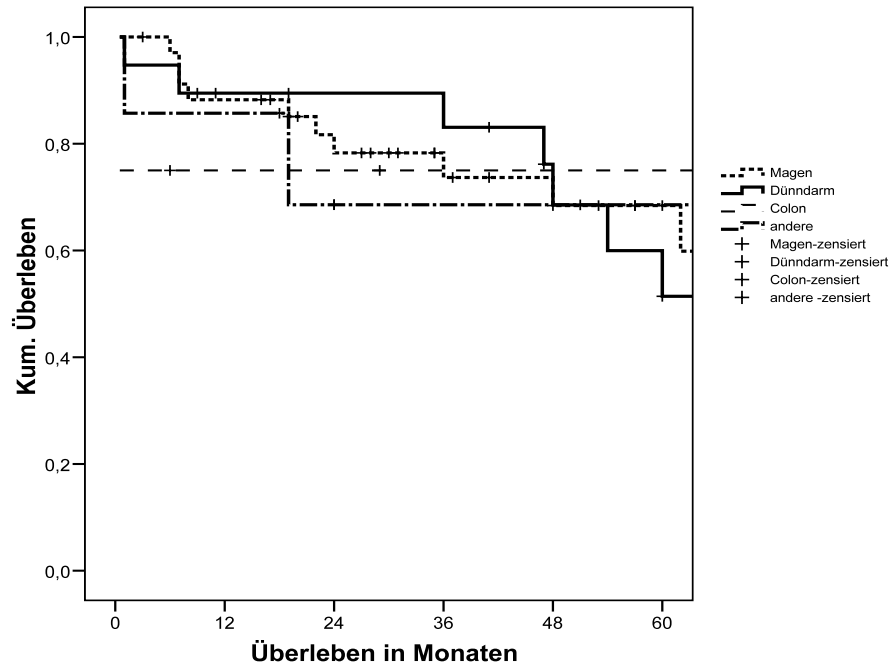


Abbildung 27: 5-Jahresüberleben in Monaten, aufgeteilt nach Tumorlokalisierung ($p=0,814$)

Zwischen der Lokalisation von GIST im Magen zu anderen Lokalisationen zeigt sich nach dem Log-Rank-Test kein signifikanter Einfluss bezüglich der Überlebensverteilung ($p=0,498$).

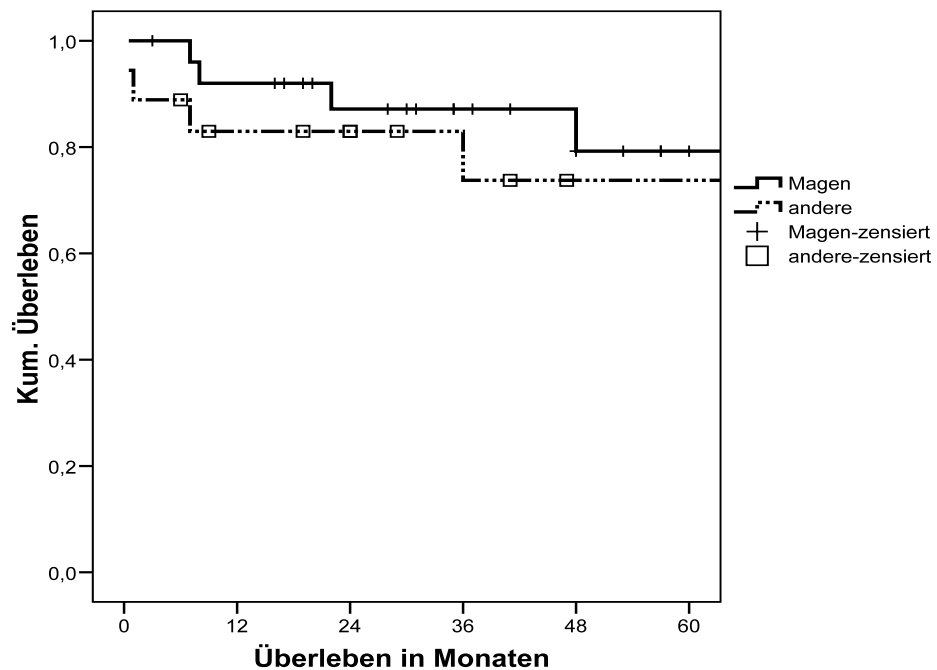


Abbildung 28: Überleben der Patienten mit GIST im Magen und an anderen Lokalisationen ($p=0,498$)

4.6.2.4 Überleben und Tumorgröße

Für die Berechnungen des Einflusses der Tumorgröße auf die Überlebenszeit lagen Daten von 60 Patienten vor. Das mediane Überleben von Patienten mit einer Tumorgröße <5cm (N=31) lag bei 108 Monaten. Patienten mit einem GIST zwischen 5 und 10 cm hatten ein medianes Überleben von 80 Monaten. Bei einer Tumorgröße von >10cm (N=11) lag das mediane Überleben bei 60 Monaten. Eine statistische Signifikanz konnte hier nicht erreicht werden ($p=0,365$).

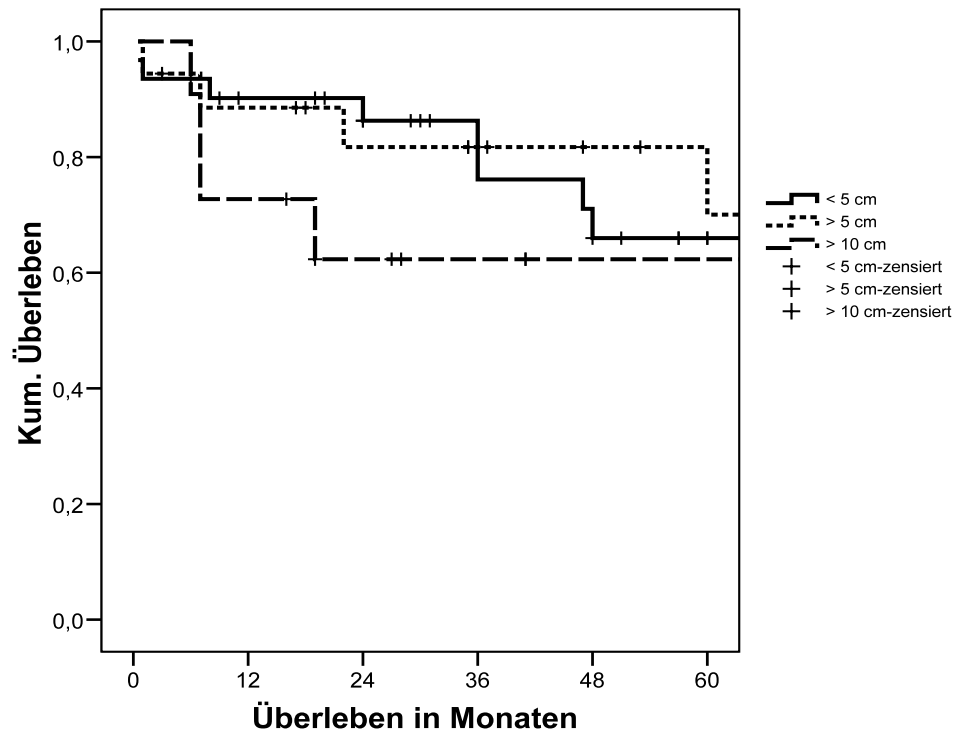


Abbildung 29: 5 -Jahresüberleben in Monaten, aufgeteilt nach der Tumorgröße ($p=0,365$)

4.6.2.5 Überleben und Mitoserate (HPF)

Bezüglich der Mitoserate HPF (*high power field*) werden drei Gruppen unterschieden. Wie in Abbildung 30 illustriert, lag das 5-Jahresüberleben bei den Patienten mit < 5/50 HPF bei 75%, das bei Patienten mit 5–10/50 HPF bei etwa 70 % und das Überleben der Patienten mit > 10/50 HPF lag bei 35 %. Nach dem Log-Rank-Test kann den unterschiedlichen Gruppen keine statistische Signifikanz zugeteilt werden.

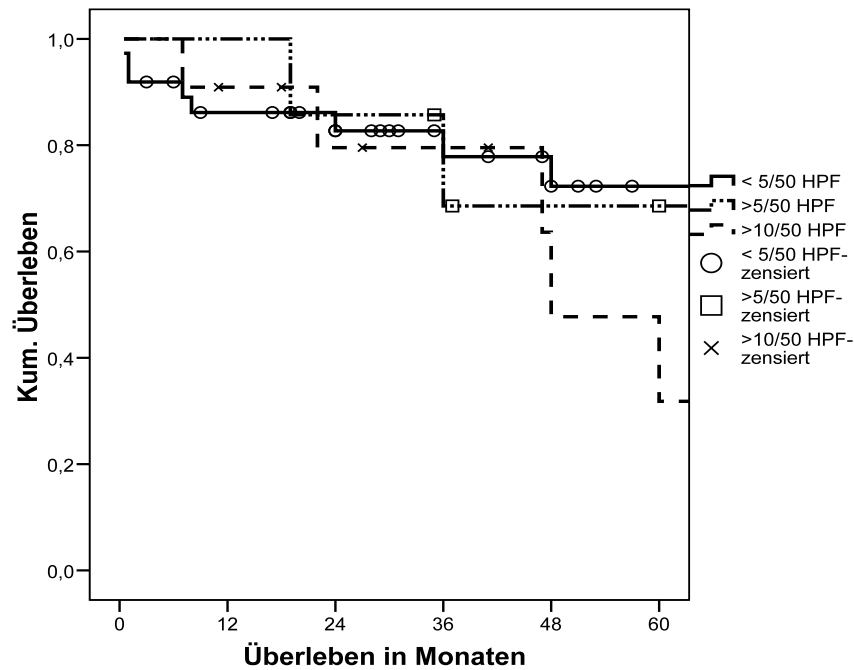


Abbildung 30: Überlebensanalyse in Bezug auf high power field (HPF) nach Kaplan Meier

4.6.2.6 Überleben und Risiko

Abhängig von der Größe des Primärtumors sowie der Mitoserate wurden 26 (43%), 18 (30%) und 16 (27%) der Patienten in ein niedriges, intermediäres und hohes Risiko klassifiziert. Insgesamt konnte bei 60 Patienten ein Risikoprofil erstellt werden. Das mediane Überleben der Patienten in der niedrigen Risikogruppe lag bei 108 Monaten und das der Patienten der intermediären Risikogruppe bei 69,6 Monaten. In der Hochrisikogruppe war das mediane Überleben bei 108 Monaten. Im Gesamtvergleich der Risikogruppen fällt jedoch keine statistische Signifikanz ($p=0,523$) auf. Das 5-Jahresüberleben bei Patienten mit niedrigem Risikoprofil liegt bei 73%, bei Patienten mit intermediärem Risiko bei 60% und das bei Patienten mit hohem Risiko bei 50%.

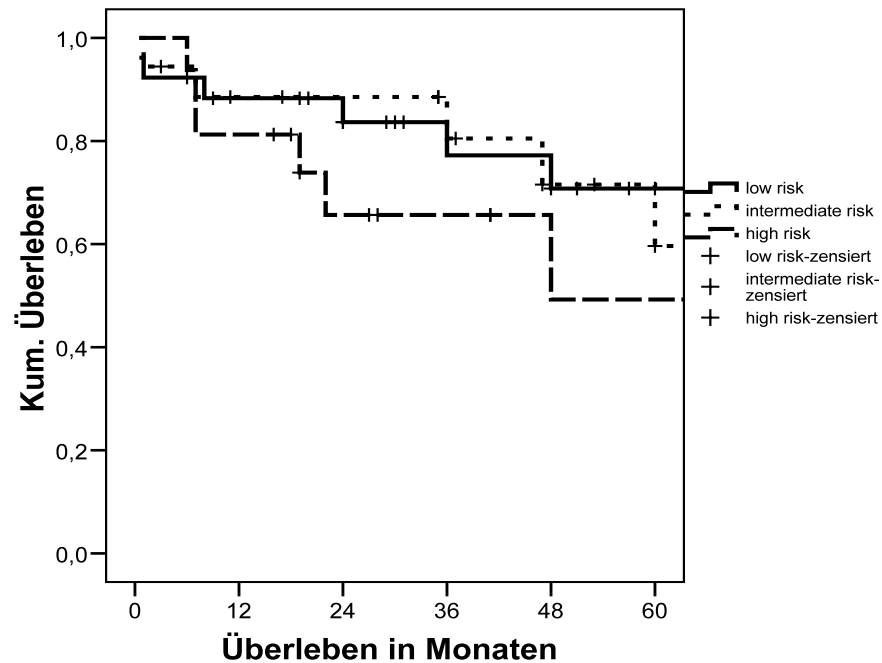


Abbildung 31: 5 -Jahresüberleben und Risikoprofileinteilung (p=0,523)

4.6.2.7 Überleben und Resektionsstatus

Bei 64 (98,5%) Patienten mit GIST konnte das Resektionsausmaß bestimmt werden. Nach kompletter Resektion des Tumorgewebes (R0) (N=44) liegt der Median des Überlebens bei 108 Monaten. Patienten nach einer R1 Resektion (N=16) lebten im Median 68,9 Monaten. Diejenigen Patienten, die R2 reseziert wurden (N=4), hatten ein medianes Überleben von 39,6 Monaten. Unter der Berücksichtigung zensierter Werte konnte den berichteten Unterschieden nach dem Log-Rank-Test keine statistische Signifikanz zugesprochen werden (p=0,080).

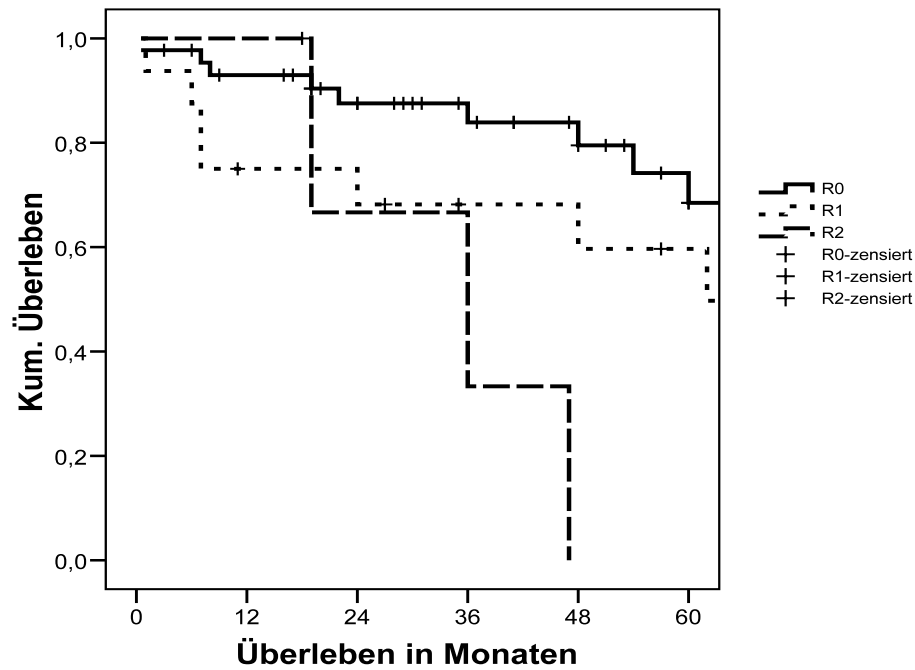


Abbildung 32: 5-Jahresüberleben in Monaten in Bezug auf den Resektionsstatus ($p=0,080$)

4.6.2.8 Überleben und Rezidiv

Auskunft über den Rezidivierungszustand der Patienten ist in Abbildung 33 dargestellt und konnte bei 65 Patienten erstellt werden. Lediglich bei 8 Patienten rezidierte der Tumor. Das mediane Überleben von Patienten ohne Rezidiv lag bei 60 Monaten, der Median bei Patienten mit Rezidiv lag bei 60 Monaten. Im Gesamtvergleich zeigt sich zwischen den beiden Gruppen keine statistische Signifikanz ($p=0,760$).

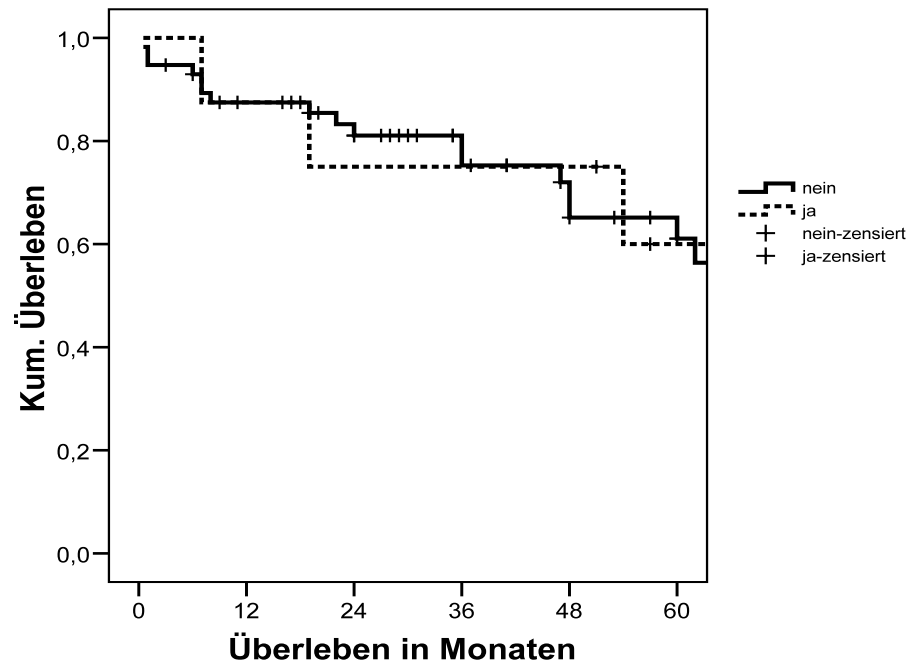


Abbildung 33: 5-Jahresüberleben in Monaten mit/ohne Rezidiv ($p=0,760$)

4.6.2.9 Überleben und Fernmetastasen

21 Patienten hatten zum Zeitpunkt des Primärtumors oder im Verlauf der Erkrankung Metastasen entwickelt. Patienten ohne Metastasen ($N=44$) wiesen im Median eine Überlebenszeit von 60 Monaten auf. Patienten mit Metastasen ($N=21$) wiesen im Median einer Überlebenszeit von 55,7 Monaten auf. Der Vergleich zwischen „M0“ und „M1“ in Bezug auf das Überleben zeigt eine statistische Signifikanz ($p=0,040$). Folgende Abbildung veranschaulicht die 5-Jahresüberlebensrate in Monaten.

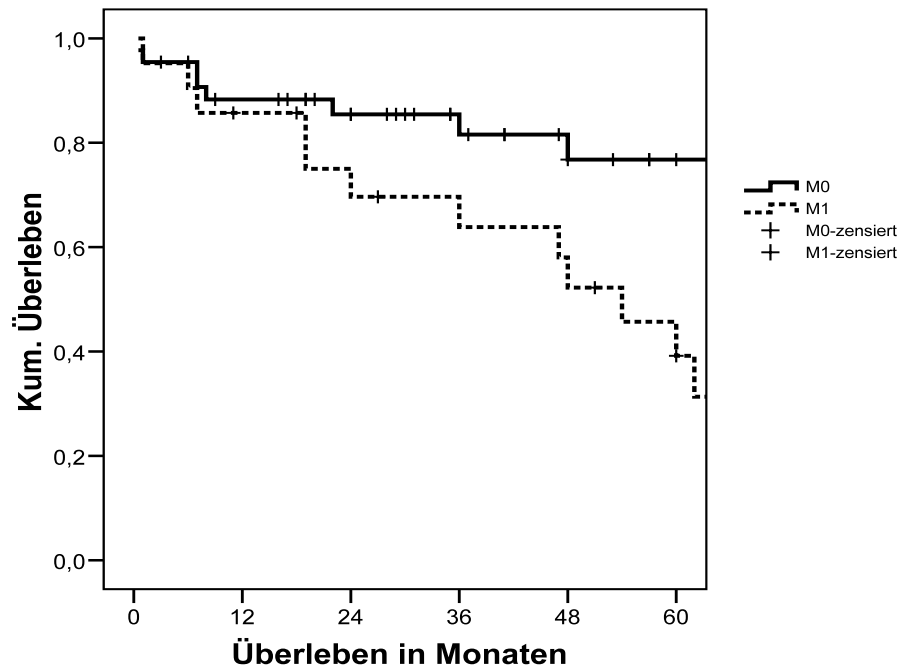


Abbildung 34: 5-Jahresüberleben in Monaten, aufgeteilt nach „M0“, „M1“ ($p=0,040$)

4.6.2.10 Überleben und Imatinib

Von 65 Patienten erhielten 20 Patienten eine medikamentöse Therapie mit Imatinib. Das mediane Überleben von Patienten ohne medikamentöse Therapie liegt bei 60 Monaten. Der Median der Überlebenszeit von Patienten mit Imatinib liegt auch bei 60 Monaten. Unter der Berücksichtigung zensierter Werte konnte den berichteten Unterschieden nach dem Log-Rank-Test keine statistische Signifikanz zugesprochen werden ($p=0,100$).

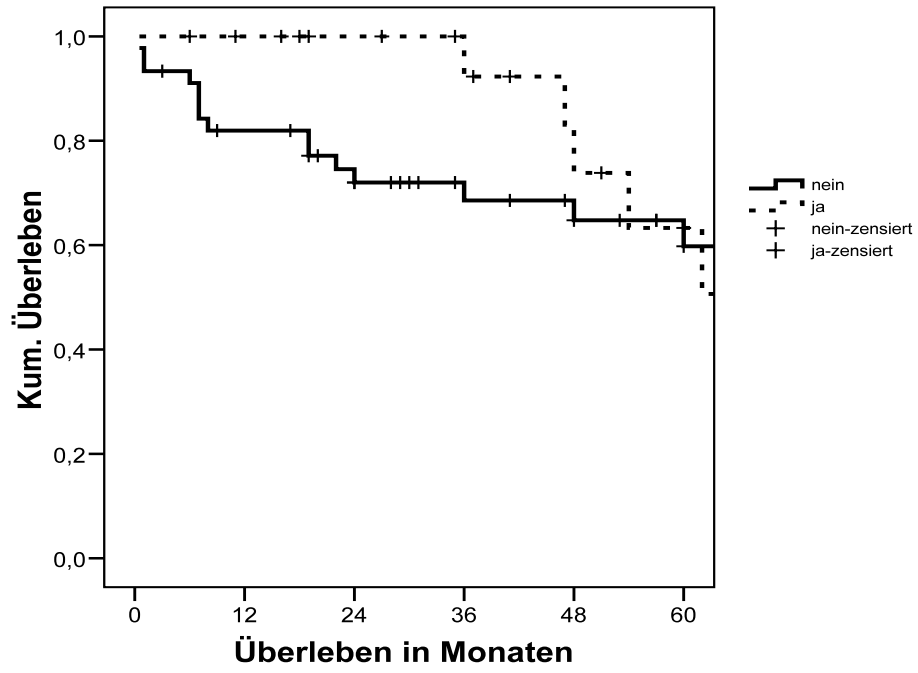


Abbildung 35: 5-Jahresüberleben in Monaten mit/ohne Imatinib ($p=0,100$)

5 Diskussion

Nach Daten der GEKID (Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V.) liegt in Deutschland das mittlere Erkrankungsalter maligner Neoplasien für Männer und Frauen bei 69 Jahren. (GEKID 2008). Das mittlere Sterbealter an malignen Neoplasien in Deutschland liegt für Männer bei 71 und für Frauen bei 75 Jahren. Das mediane Alter bei Erkrankungsbeginn des GIST liegt zwischen 55 und 65 Jahren (DeMatteo RP et al 2000). Das durchschnittliche Erkrankungsalter unseres untersuchten Patientenkollektives entspricht mit 66 Jahren etwa den erwarteten Daten in der Bundesrepublik Deutschland für GIST. Der jüngste Patient unseres Kollektivs war bei der Operation 35 Jahre alt, der älteste Patient war bei der Operation 87 Jahre alt. Der jüngste bislang in der Literatur beschriebene Patient ist 11 Jahre alt (Hohenberger P et al 2003), der bislang älteste 90 (Miettinen M et al 2001). Die demographische Entwicklung mit einer Zunahme der älteren Bevölkerung hat zur Folge, dass sich auch immer mehr Patienten höheren Alters einer chirurgischen Therapie unterziehen müssen. In unserer Studie waren 70,7% der Patienten im Alter > 60 Jahren. In der Literatur waren 80% der Patienten im Alter > 50 Jahren und lediglich 20% im Alter < 50 Jahre (I-Rue Lai et al 2008), so dass unsere Daten in etwa denen aus der Literatur entsprechen.

In der Literatur wird übereinstimmend angegeben, dass es keine geschlechtsspezifische Prädisposition gibt (DeMatteo RP et al 2000). Bei der Geschlechtsverteilung in unserem untersuchten Kollektiv zeigt sich ebenfalls ein ausgeglichenes Verhältnis zwischen männlichem (53,8%) und weiblichem (46,2%) Geschlecht.

Betrachtet man die Gesamtaufenthaltsdauer in Abhängigkeit vom Alter bei GIST lässt sich kein Zusammenhang zwischen den Faktoren Altersgruppe ermitteln. Unsere Ergebnisse bezüglich der Aufenthaltsdauer zeigen keine erheblichen Unterschiede. So ergab sich für die Liegedauer der Patienten in beiden Altersgruppen eine mediane Aufenthaltsdauer von 15 Tagen. In der Literatur wird die mediane Liegedauer der Patienten nach chirurgischer Therapie mit 6,9 +/-4,2 Tagen angegeben. Diese Angabe wurde in einer Studie mit lediglich 15 Patienten, die in einem Zeitraum von 6 Jahren untersucht wurden, erfasst (Braghetto I et al 2007). Die deutlich kürze Aufenthaltsdauer liegt womöglich an der kleineren Patientenzahl. Ein weiterer Grund für den kürzeren Krankenhausaufenthalt mag auch daran liegen, dass die operativen Eingriffe in diesem Kollektiv geringer waren, als in unserem. In einer anderen Studie mit 30 Patienten (Pugliese R et al 2005) entsprach der postoperative Aufenthalt dem unserer Patienten mit im Median 16 Tagen (10-25), obwohl in dieser Untersuchung laparoskopische Eingriffe durchgeführt wurden. Diese

Tatsache wiederum verdeutlicht, dass laparoskopische Eingriffe gegenüber konventionellen Eingriffen bezüglich der Aufenthaltsdauer keinen nennenswerten Vorteil bieten.

Die Symptomatik der GIST hängt neben der Tumorgöße und dem Metastasierungsgrad vor allem von der Lokalisation des Primärtumors im Magen- Darm-Trakt ab (Buitrago-Téllez CH et al 2002; Hohenberger P et al 2003). Insgesamt hatte der überwiegende Anteil der Patienten (70,7%) aus unserer Studie klinische Symptome. 29,2% aller diagnostizierten GIST waren asymptomatische Zufallsbefunde.

34,7% unseres Patientenkollektivs klagten initial als Hauptsymptom über abdominelle Schmerzen. Auch Schmerzen werden in einigen Studien als häufiges Erstsymptom (29%) angegeben (I-Rue Lai et al 2008). Schmerzen können lokal vom Epigastrium bis ins Becken auftreten (Hillemanns M et al 2000, Miettinen M et al 2001, Zigelboim I et al 2003) oder diffus über den gesamten Bauchraum (Buitrago-Téllez CH et al 2002, Hu X et al 2003, Roberts PJ et al 2002, Siewert E et al 2004).

Eines der häufigsten Erstsymptome Gastrointestinaler Stromatumore sind Blutungen (Buitrago-Téllez CH et al 2002, Hu X et al 2003, Irani S et al 1999, Lehnert T et al 1998, Matsui H et al 2000, Roberts PJ et al 2002, Sanchez Fernandez P et al 1999, Siewert E et al 2004, Till V et al 2002); diese können als akute Blutung auftreten, z.B. als Hämatemesis (Hillemanns M et al 2000) oder auch, je nach Lokalisation, als Melaena (Grieco A et al 2002; Hillemanns M et al 2000) oder als Auflagerung auf dem Stuhl (Cueto J et al 1999; Miettinen M et al 2001). Auch I-Rue Lai et al beschreibt Gastrointestinale Blutung als Erstsymptom (40%) (I-Rue Lai et al 2008).

Eine sekundäre Anämie kann dann das Leitsymptom sein (Grieco A et al 2002; Hillemanns M et al 2000; Lucchetta MC et al 2005; Perego M et al 1998; Till V et al 2002), im Extremfall kommt es bei massiven Blutungen zum hämorrhagischen Schock (Siewert E et al 2004).

Blutung respektive Anämie waren auch bei unseren GIST-Patienten mit 26% ein häufiges Erstsymptom, jedoch traten in unserem Kollektiv keine nennenswerten hämorrhagischen Komplikationen auf.

Ähnlich wie im internationalen Vergleich, traten auch in unserem Patientenkollektiv die häufigsten Gastrointestinalen Stromatumore im Bereich des Magens (54%) auf. Daneben waren 29% der GIST im Dünndarm vertreten. Interessanterweise traten bei unserem Patientengut verhältnismäßig viele Tumore extragastrointestinal (11%) auf. Literaturdaten zufolge zeigte sich eine Häufigkeitsverteilung von GIST mit 51% im Magen und 36% im Dünndarm (DeMatteo RP et al 2000).

Vergleicht man nun die Prognose von GIST im Magen mit der Prognose von GIST an anderen Lokalisationen, zeigt sich in unserem Patientenkollektiv kein signifikanter Unterschied bezüglich des Überlebens. Patienten mit einem Gastrointestinalen Stromatumor im Magen haben eine 5 Jahresüberlebensrate von etwa 83%. Diejenigen, die einen extragastralen GIST hatten, haben ein 5 Jahresüberleben von etwa 79%. Eine Studie von Miettinen et al zeigt die prognostische Relevanz Gastrointestinaler Stromatumore bezüglich ihrer primären Lokalisation, die deutlich von unseren Daten abweichen (Miettinen M et al 2006). In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass gastrale Stromatumore im Vergleich zu interstinalen Stromatumoren mit ähnlichen Kriterien eine bessere Prognose haben. Dies kann in der hier vorliegenden Studie nicht bestätigt werden. Die Ursache für diesen Unterschied bleibt noch unklar. In einer anderen Studie zeigte sich dagegen kein Unterschied im Überleben zwischen GIST des Magens und GIST anderer Lokalisationen (Cary BM et al 2001; Hassan I et al 2008). In einer aktuellen Arbeit aus dem *Memorial Slogon Kettering Cancer Center* in New York zeigte die Analyse aller vollständig resezierter, primärer GIST von 1983 bis 2002 eine statistisch hochsignifikante Korrelation zwischen dem rezidivfreien Überleben und der Organmanifestation des GIST mit der besten Prognose für GIST des Magens gefolgt von GIST des Dünndarms und dem schlechtesten Verlauf bei kolorektalen GIST (DeMatteo RP et al 2008). Aufgrund der niedrigen Anzahl der Patienten mit kolorektalen GIST kann dies bei uns nicht bestätigt werden. Eine Ursache für die in der Literatur beschriebene bessere Prognose gastraler GIST liegt womöglich an der Tatsache, dass diese frühzeitiger durch klinische Symptome auffällig werden.

Bei der histopathologischen Klassifizierung Gastrointestinaler Stromatumore wird zwei Parametern eine besondere Bedeutung bezüglich der Prognose zugeteilt. Anhand von Tumorgröße und Mitosezahl erfolgt eine Risikobeurteilung der GIST. Da GIST nicht streng in benigne und maligne Neoplasien kategorisiert werden können, haben sich diese Kriterien zur Beurteilung durchgesetzt. Nach einem Konsensus der Pathologen werden gegenwärtig Größe und Mitosezahl im Mikroskop (HPF) für eine Unterscheidung in „sehr geringes Risiko – niedriges Risiko – intermediäres Risiko – hohes Risiko eines aggressiven klinischen Verlaufes“ herangezogen (Blay JY et al 2005).

40% unseres Kollektivs konnten in ein geringes Risiko eingestuft werden, 24,6% der Patienten gehörten der Hochrisikogruppe an. In unserer Studie kann keine Signifikanz bezüglich des Überlebens zwischen den verschiedenen Risikogruppen festgestellt werden, was deutlich von den Daten der Literatur abweicht. Für GIST des Magens wird der Mitosehäufigkeit der höchste prognostische Wert zugesprochen (Wong NACS et al 2003).

Eine Ursache der Diskrepanz zwischen unseren Daten und denen aus der Literatur bleibt ebenfalls unklar. Möglicherweise liegt das an der geringen Fallzahl unserer Untersuchung.

Tumordurchmesser über 5cm, Infiltration der Mukosa des Ausgangsorgans oder umliegender Gewebe, Tumornekrosen, eine Mitoserate $> 5/10$ Gesichtsfelder im mitosereichsten Areal sowie Mutationen des c-kit-Gens sind Anhaltspunkte für Malignität (Buitrago-Téllez CH et al 2002).

Der Einfluss der Tumorgöße auf das Überleben der Patienten zeigt in unserer Studie zwar deutliche, aber nicht signifikante Unterschiede. Das mediane Überleben der Patienten mit einer Tumorgöße $< 5\text{cm}$ war im Gegensatz zu dem mit einer Tumorgöße $> 10\text{cm}$ 48 Monate länger.

Die Rolle der Mitoserate ist aufgrund der verschiedenen Klassifikationen schwer zu beurteilen, hohe Mitoseraten stellen aber bei allen Autoren ein deutlich höheres Risiko dar. Bei Miettinin 2001 verstarben 70% mit einem Mitoseindex $> 5/50$ HPF (high power fields), jedoch kein Patient mit weniger als 5 auf 50 HPF.

Die größte Diskrepanz beschreibt De Matteo 2002, indem dort alle Patienten mit mehr als 2 Mitosen auf 10 HPF (10/50 HPF) nach 5 Jahren verstorben waren; bei weniger als 2 auf 10 HPF hatten 80 % nach 5 Jahren überlebt. Unser Berliner Kollektiv zeigt eine 5-Jahresüberlebensrate von 75% bei einer Mitoserate von $< 5/50$ HPF. Im Gegensatz dazu verstarben 35% der Patienten mit mehr als 10/50 HPF nach 5 Jahren. Allerdings konnte hierbei keine Signifikanz gezeigt werden.

Die prognostische Einstufung von GIST gestaltet sich schwierig, da nach neueren Erkenntnissen möglicherweise alle GIST ein gewisses Metastasierungspotential besitzen (Fletcher CD et al 2002). Auch kleinere Tumore mit einer niedrigen Mitoserate können nach mehreren Jahren zu metachroner Metastasierung führen.

Gegenwärtig werden unterschiedliche Charakteristika zur Prognoseabschätzung diskutiert. Eine Studie von Wilmanns C et al untersuchte bei 41 Patienten klinische und pathohistologische Merkmale zur Entwicklung eines Malignitätsscores zur Vorhersage der Metastasierungswahrscheinlichkeit Gastrointestinaler Stromatumoren. Dabei wurden die Größe und Lokalisation des Primärtumors, der Mitose-index und die klinische Symptomatik sowie das histologische Erscheinungsbild berücksichtigt.

Verglichen mit unserem Patientenkollektiv konnte keine statistische Signifikanz ($p=0,514$) zwischen der primären Tumorlokalisation und der Entstehung von hepatischen Metastasen gezeigt werden.

In Abhängigkeit des Risikoprofils hatten 5 Patienten ein intermediäres und 7 Patienten ein hohes Risiko. In unserem Patientengut scheint die Größe und die Mitoserate einen Einfluss auf die Entwicklung von hepatischen Metastasen zu nehmen.

Das Behandlungskonzept Gastrointestinaler Stromatumore hat sich in den letzten Jahren aufgrund neuer Einblicke in molekularen Mechanismen, die für Prognose, Behandlungsantwort und Resistenz gegen Therapie verantwortlich sind, geändert.

Die komplette chirurgische Resektion ist nach wie vor die primäre Therapieoption (Eisenberg Bl et al 2004; Bucher P et al 2004; DeMatteo RP et al 2000; Hohenberger P 2003; Pross M et al 1999). Anzustreben ist eine en-bloc-Resektion mit einem Resektionsrand von 2-3 cm im gesunden Gewebe (Irani S et al 1999; Lehnert T et al 1998; Pross M et al 1999; Thalheimer A et al 2004; Verreet PR et al 2000). In einzelnen Studien konnte gezeigt werden, dass ein positiver Resektionsrand (R0 vs. R1) keinen Einfluss auf das Überleben der Patienten hat (DeMatteo et al 2000). Der Primärtumor metastasiert in der Regel nicht lymphogen, so dass auf eine Lymphknotendissektion verzichtet werden kann (Hohenberger P et al 2004). Zu beachten ist, dass gelegentlich über eine intraoperative Ruptur durch mechanische Einwirkung berichtet wird (Füzesi L et al 2003). Ein wichtiger Bestandteil der Behandlung von GIST ist die regelmäßige Überprüfung des Behandlungsergebnisses, sowie ein interdisziplinäres Nachsorgemanagement.

Bei GIST-Tumoren des Magens ist das Resektionsausmaß abhängig von der Primärtumorgröße (Hohenberger P et al 2004). Unsere Patienten wurden nach dem internationalen Standard operiert.

GIST im Bereich des Magens wurden in unserem Kollektiv durch lokale Tumorexzision (46%), durch subtotale Gastrektomie (34%) und durch totale Gastrektomie (14%) behandelt. In der Literatur wurden die gastralen Stromatumoren durch Wedge Resektion (70%), durch subtotale Gastrektomie (15%) und durch totale Gastrektomie (10%) operativ versorgt (I-Rue Lai et al 2008). 71% der gastralen Stromatumore wurden in unserem Kollektiv R0 reseziert, 17% wurden R1 reseziert und nur 2,8% wurden R2 reseziert.

GIST von Jejunum, Ileum und Kolon werden durch segmentale Resektionen mit angemessenem Sicherheitsabstand entfernt (Verreet PR et al 2000), was auch in unserem Patientenkollektiv die Standardtechnik war.

Kann eine R0-Resektion erfolgreich durchgeführt werden, zeigte sich in unserem untersuchten Kollektiv eine 5-Jahresüberlebensrate von 70%.

In einer retrospektiven Analyse von De Matteo et al. betrug die krankheitsfreie 5-Jahres-Überlebensrate nach vollständiger Resektion (R0) des Primärtumors 54% (De Matteo RP et al Ann Surg 2000). In dieser Analyse wurden 200 Patienten untersucht, von denen bereits 47% Metastasen und 7% Lokalrezidive aufwiesen. Die Überlebensrate nach vollständiger Resektion war hier abhängig von der Tumorgröße. Mehr als 2/3 seiner Patienten hatten eine Tumorgröße > 5cm. Wahrscheinlich waren die chirurgische Eingriffe bei DeMatteo aufgrund der Tumorgröße > 5cm umfangreicher als unsere.

Niedrig maligne GIST haben nach einer chirurgischen Therapie eine exzellente Prognose (5-Jahresüberlebensrate > 90%). Hoch maligne GIST haben auch nach chirurgischer Resektion eine schlechte Prognose (medianes Überleben < 12 Monate) (Bucher P et al 2008).

Bis vor kurzem existierte keine wirksame systemische Therapie für fortgeschrittene oder metastasierte GIST. Wie bereits in Kapitel „Einleitung“ erwähnt blieben alle Versuche der Mono- oder Polychemotherapie mit Ansprechraten unter 5% erfolglos (Edmonson JH et al 2002). Nicht resezierbare bzw. metastasierte GIST besitzen eine Resistenz gegenüber konventioneller Chemotherapie sowie Bestrahlung (DeMatteo RP et al 2000). Die Therapie fortgeschrittener GIST hat in den letzten Jahren einen Wandel erfahren (Reichardt P et al 2002).

Die Einführung von Imatinib für die Behandlung von metastasierten oder nicht resezierbaren GIST hat deren Krankheitsverlauf deutlich verändert. Imatinib war der erste klinisch verfügbare Tyrosinkinaseinhibitor am KIT- und PDGFA-Rezeptor. Angesichts der Abhängigkeit des GIST-Wachstums von aktivierenden KIT- und PDGFRA-Mutationen, wurden zeitgleich mehrere Studien initiiert, die eine Wirksamkeit bei fortgeschrittenen GIST zeigten (Blanke C et al 2008; Demetri GD et al 2002; van Oosterom AT et al 2001; Verweij J et al 2004; Verweij J et al 2003). Die mediane Überlebenszeit nach Diagnose stieg zwischen 2000 und 2006 von 19 Monaten (DeMatteo RP et al 2000) auf 4,8 Jahre (Demetri GD et al 2007). In fortgeschrittenen Fällen ist eine gerichtete Therapie mit den Tyrosinkinaseinhibitoren, die zu Ansprechraten von bis 80% führen der Goldstandard (Demetri GD et al 2001; Heinrich MC et al 2000). Ergebnisse aus Phase I und II Studien zeigen die Effektivität der systemischen Therapie mit Imatinib für metastasierte und lokal inoperable GIST. Jüngsten Daten zufolge beträgt die 3-Jahresüberlebensrate der Patienten mit metastasierten GIST unter Imatinib Therapie etwa 68% (Van Glabbeke M et al 2005; Verweij J et al 2004)

Neben dem adjuvanten Einsatz von Imatinib sind auch Erfolge durch neoadjuvante Therapie bei zunächst inoperablen GIST beschrieben. Durch Tumorregression auf eine komplett resektable

Größe können kurative Eingriffe ermöglicht werden (Katz D et al 2004). Da Imatinib nicht von Beginn an erhältlich war, wurden in unserem Kollektiv nur 20 Patienten damit behandelt. Wenn auch nicht signifikant, scheint ein positiver Effekt auf das Überleben vorzuliegen.

Die Häufigkeit einer Metastasierung bei Diagnosestellung wird in der Literatur mit bis zu knapp 50 % angegeben, wobei hiervon am häufigsten die Leber (65 %) und das Peritoneum (21 %) betroffen sind, während Metastasen in Knochen und Lunge deutlich seltener auftreten (Istok R et al 2005; Nakayama T et al 2003; Roberts PJ et al 2002). Entscheidend für den Verlauf der Erkrankung und für das therapeutische Management ist der Zeitraum, indem die hepatischen Metastasen entstehen. In einer Studie von Rutkowski P et al wurden bei 35 von 50 (70%) mit GIST Lebermetastasen entdeckt. Der Zeitraum zwischen der Erstdiagnose GIST und der Entstehung von Lebermetastasen lag im Median bei 16 Monaten (3-246 Monaten) (Rutkowski P et al 2003). Nur 3 von 35 Patienten mit Lebermetastasen waren in dieser Studie resektabel. In unserem Patientengut lag der mediane Zeitraum des Auftretens von metachronen Lebermetastasen bei 29 Monaten.

Neben der in diversen Studien erwiesenen Effizienz der medikamentösen Therapie mit Imatinib sollte auch die operative Behandlungsmöglichkeit metastasierter GIST diskutiert werden. Bei begrenzter Krankheitsprogression können chirurgische Eingriffe und auch lokale Therapien wie Radiofrequenzablation als therapeutische Optionen für ausgewählte Patienten in Betracht gezogen werden (Demetri GD et al 2007). In unserem Kollektiv wurde nur ein Patient durch Radiofrequenzablation therapiert.

In einigen Fällen mit isoliert progredienten Metastasen, insbesondere in der Leber, ist eine Metastasenchirurgie gerechtfertigt (Hohenberger P et al 2004). In einer aktuellen retrospektiven Untersuchung von 1452 Patienten, die eine Leberresektion aufgrund von Lebermetastasen nicht kolorektalen oder neuroendokrinen Ursprungs erhielten, konnten bei den GIST-Metastasen mit einer 5-Jahresüberlebensrate von 70% die mit Abstand besten Ergebnisse erzielt werden (Adam R et al 2006). Andererseits kommt es nach der Resektion von hepatischen GIST-Metastasen in 56-88% der Fälle zu einem Rezidiv in der Restleber und in 84-94% insgesamt zu Rezidiven (DeMatteo RP et al 2001; Gomez D et al 2007; Nunobe S et al 2005).

Eine Studie von Maehara N et al (2008) analysierte die operative Behandlungsmaßnahme von 14 Patienten mit GIST des Magens. Bei vier von 14 Patienten lagen hepatische Metastasen vor. Alle Patienten mit Lebermetastasierung unterlagen einer operativen Therapie. Auch in dieser Studie wurden Segmentektomien und Hemihepatektomien durchgeführt. Das mediane Überleben dieser

Patienten lag bei 64,8 Monaten. In einer weiteren Studie von Lang et al wurden 7 von 9 Patienten mit Lebermetastasen einer chirurgischen Therapie unterzogen. 5 Patienten erhielten eine Lebersegmentresektion und 2 Patienten eine Hemihepatektomie oder eine erweiterte Hemihepatektomie. Alle diese Patienten wurden nach Vorbehandlung mit Imatinib als initial irresektabel eingestuft. Die Daten von Lang et al zeigen, dass durch eine erneute Operation auch eine R0-Resektion bei fortgeschrittenen GIST möglich ist. In unserem Patientenkollektiv wurden ebenfalls diese beiden operativen Ansätze der Lebermetastasen gewählt. Aufgrund der geringen Fallzahl konnte keine statistische Signifikanz der beiden operativen Verfahren festgestellt werden.

Die mediane Überlebenszeit von Patienten mit metastasierten GIST wird in retrospektiven Analysen mit etwa 10 – 20 Monaten angegeben (Pierie JP et al 2001). Die 5-Jahresüberlebensrate unserer Patienten mit hepatischen metastasierten GIST liegt bei 30 %.

Bei lokal weit fortgeschrittenen GIST ist im Einzelfall zu klären, ob eine primäre Resektion (Multiviszeralresektion) bei für den Patienten kalkulierbarem Risiko technisch möglich erscheint.

Entscheidend für die Suffizienz der Behandlung in diesen Situationen ist ein interdisziplinärer, multimodaler Ansatz mit Besprechung jeden einzelnen Falles zwischen Chirurgen, Radiologen und medizinischen Onkologen.

In unserem Patientengut traten postoperative Komplikationen überwiegend in der Altersgruppe > 60 Jahren auf. Im Einzelnen wurden bei dieser Patientengruppe Pleuraerguss und Fasziendehiszenz beobachtet. Viele Studien belegen, dass ältere Patienten zwar häufiger, aber nicht signifikant öfter an postoperativen Komplikationen leiden als ihre jüngere Vergleichsgruppe. Zwar können schon mehr Komplikationen der Gruppe der Älteren zugesprochen werden, aber nicht in dem Maße, dass die Indikation zur Operation bezweifelt werden könnte. Viele ältere Patienten haben Begleiterkrankungen aufzuweisen, die den postoperativen Verlauf beeinflussen.

In der Literatur findet man unterschiedliche Erfahrungswerte in der Entstehung von Rezidiven bei GIST. In einer Arbeit von Ng et al. wurde bei 132 komplett resezierten Tumoren eine Rezidivrate von 90 % angegeben. (Ng EH et al 1992). Der mediane Zeitraum zwischen Resektion und Rezidiv betrug dabei 18 Monate. In einer anderen Untersuchung von Lehnert fand sich bei der Auswertung von 974 Patienten aus 20 Studien eine Rezidivrate von 50% (Lehnert T 1998). Eine weitere Studie von Evans beobachtete bei 56 Patienten nach 10 Jahren

Nachbeobachtung nur 4 rezidivfreie Fälle (Evans HL 1985). Die Zeit bis zum Auftreten eines Rezidivs beträgt im Median 19 bis 25 Monate, allerdings ist auch mit Spätrezidiven nach vielen Jahren zu rechnen (Reichardt P et al 2004). Unsere eigene Rezidivrate von 12% (8 Patienten) deutet auf eine mit der Literatur vergleichbaren geringen Rate hin. Das Intervall zwischen Erstdiagnose und Auftreten eines Rezidivs lag bei unseren Patienten im Durchschnitt bei 24,7 (8-48) Monaten und entspricht somit den Literaturdaten. In Korrelation mit der Risikoklassifizierung berichteten Miettinen et al. über eine Rezidivrate von 12,5 % in der *low risk* Gruppe für rektale GIST (Miettinen M et al 2001) und von 7% für duodenale GIST (Miettinen M et al 2003). Pierie et al. geben für ihre auf die Mitosezahl gegründeten Risikogruppen eine Rezidivrate von 18% für die *low risk*- und von 71% für die *intermediate risk*- und *high risk*-Gruppe an (Pierie JP et al 2001). Die Tatsache, dass in Publikationen für die *low risk*-Gruppe eine 5-Jahresüberlebensrate von 95-100% angegeben wird, zeigt eine sehr geringe Rezidivrate für *low risk* GIST (Bucher P et al 2004; Hasegawa T et al 2002; Singer S et al 2002; Yan H et al 2003). Nur ein Patient unseres Kollektivs, der ein Rezidiv entwickelte, hatte ein *low risk*. Zwei weitere Patienten hatten ein *intermediate risk* und drei Patienten hatten ein *high risk*. Aufgrund der geringen Fallzahl kann in unserer Studie keine Signifikanz ermittelt werden. Sicherlich sollte hier auch erwähnt sein, dass in unserem Patientengut 50% (4) der Rezidive einen Primärtumor im Dünndarm aufwiesen. Aufgrund der geringen Fallzahl kann hier sicherlich ebenfalls keine Signifikanz festgestellt werden, jedoch zeigt sich bei uns zumindest eine Tendenz in der Abhängigkeit der Primärtumorlokalisation und der Entstehung von Rezidiven. Die chirurgische Therapie im Rezidivfall scheint limitiert zu sein. Mit der Einführung von Imatinib ist der chirurgischen Behandlung von GIST-Rezidiven ein wirksames Therapeutikum zur Seite gestellt (Bümming P et al 2003; Scaife CL et al 2003). Auch in unserem Kollektiv wurden beide Ansätze verfolgt.

In der Tumorgenese Gastrointestinaler Stromatumore wird der c-kit Mutation bekanntermaßen große Bedeutung zugeordnet. Ziel der hier präsentierten Studie war es den Einfluss von p53 Mutationen bezüglich GIST zu ermitteln.

Entsprechend einer automatisierten Datenbank, der internationalen Agentur für Krebsforschung (IARC) TP53 Mutation Datenbank, die Informationen über mehr als 20 000 humane p53 Mutationen enthält, haben 5-50% menschlicher Neoplasien Veränderungen in diesem Gen (Olivier M et al 2002).

Andere Studien haben über p53 Mutationsraten von bis zu 80% berichtet (Aunoble B et al 2000; Shahin MS et al 2000; Havrilesky L et al 2003). p53 Mutationen sind mit einem höheren

Stadium, einer schlechteren Prognose und einem schlechten Ansprechen bezüglich der Behandlung von menschlichen Neoplasien wie Brust, Kolon und Bronchial Karzinomen verbunden (Olivier M et al 2002; Havrilesky L et al 2003; Munro AJ et al 2005; Mitsudomi T et al 2000; Russo A et al 2005; Kucera E et al 1999).

Mutationen des p53 Tumorsuppressorgens wurden in einer Vielzahl humaner Tumoren beschrieben (Levine AJ 1997). Nur unzureichende Daten stehen zur p53 Mutation bei GIST zu Verfügung.

Für Studien zur Identifizierung und Charakterisierung von p53 Mutation und zur Bewertung der diagnostischen bzw. prognostischen Bedeutung steht die Untersuchung der genetischen Ebene und der Proteinexpression, basierend auf Mutations-Analysen und immunhistochemischen Methoden, im Vordergrund.

Bei der Suche nach Mutationen in der DNA-Bindungsdomäne des p53-Gens wurden in der hier präsentierten Studie in 2 von 43 Tumorproben genetische Alterationen nachgewiesen. Dieses Ergebnis liegt nicht im Rahmen der zu erwartenden Häufigkeit von p53-Mutationen in GIST. Die prognostische Relevanz von p53-Mutationen wird schon seit einiger Zeit für verschiedene Tumorentitäten untersucht. Nur wenige Studien untersuchten diese Relevanz von p53-Mutationen in Bezug auf Gastrointestinale Stromatumore. Eine Studie von M H Ryu et al. aus Korea untersuchte 2007 125 Patienten bezüglich der prognostische Relevanz von p53 Mutation bei lokalisierten GIST. Hierbei wurde die Mutationsanalyse in den Exons 4 -8 durchgeführt. In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass Patienten mit *high risk* Tumoren p53 Mutationen aufweisen. Ein Patient aus unserem Kollektiv, bei dem eine Mutation nachgewiesen werden konnte, kann aufgrund der Größe seines Primärtumors von > 10 cm sicherlich als Hochrisikopatient eingestuft werden. Auch der zweite Patient mit einer Mutation zeigt bezüglich der Mitoserate von 25/50 HPF ein deutlich hohes Risikoprofil. Allerdings kann aufgrund der geringen Anzahl der in unserem Kollektiv gefundenen Mutationen keine ausreichende prognostische Einschätzung bezüglich der Relevanz von p53 und GIST gemacht werden. Es gilt in der Zukunft zu prüfen, ob Mutationen im p53 Tumorsuppressorgen einen signifikanten Einfluss auf den Verlauf der Patienten mit GIST haben. Bei der in unserem Patientenkollektiv untersuchten Mutationsanalyse lässt sich keine prognostische Einstufung von GIST nachweisen.

6 Zusammenfassung

In einem Kollektiv von 65 Patienten mit Gastrointestinalen Stromatumoren (GIST) wurden retrospektiv der Vitalstatus und die klinischen Daten erfasst. Die untersuchten Parameter wurden statistisch auf ihre prognostische Relevanz für das *overall survival* untersucht. Erwähnt sei, dass die meisten Patienten noch vor der Einführung von Imatinib behandelt wurden.

Die sonst üblicherweise propagierten Prognoseparameter wie Alter des Patienten, Tumorgroße, Mitoseindex und Resektionsrand hatten in dieser Studie nur bedingte Relevanz.

In der hier dargestellten Studie wurde ein besonderes Augenmerk auf diverse klinisch relevante Prognosefaktoren gelegt. Die häufig in der Literatur beschriebenen und bereits erwähnten Prognosefaktoren erwiesen sich in unserer Studie als nicht signifikant. Parameter, die bezüglich des Überlebens statistische Signifikanz zeigten, waren Resektionsstatus und das Vorhandensein von Fernmetastasen. Bezüglich des Faktors Überleben und Resektionsstatus kann der chirurgischen Therapie nach wie vor besondere Bedeutung beigemessen werden, denn nur eine komplette Resektion von GIST kann zu einer Heilung führen. Da es auch nach erfolgreicher chirurgischer Therapie zum Auftreten von Rezidiven kommen kann, sollte ein multimodales Konzept aus kombinierter medikamentöser, chirurgischer und auch radiologischer Therapie angestrebt werden. Weiterhin sollten insbesondere bei fortgeschrittenen bzw. metastasierten GIST weitere Studien auf molekularer Ebene erfolgen, um neue Erkenntnisse bezüglich medikamentöser Therapie zu erhalten. Die therapeutische Wirksamkeit von Imatinib und anderen Tyrosinkinaseinhibitoren wie Sunatinib ist in vielen internationalen Studien bewiesen, hier ist eine kombinierte Therapie weiterhin sinnvoll. Auch bei Patienten, die initial einen inoperablen Primärtumor sowie bei Nachweis von synchronen oder metachronen Metastasen, die zunächst primär mit Imatinib behandelt werden, sollte nach einem Intervall eine chirurgische Therapie angestrebt werden, denn bei frühzeitiger Erkennung und engmaschiger Kontrolle scheint die chirurgische Therapie von rezidierten und metastasierten GIST durchaus auch erfolgversprechend zu sein.

Neue molekulare Marker könnten nach weiterer Untersuchung und Validierung in prospektiven Studien etablierte klinisch-pathologische Prognosefaktoren ergänzen und so zur Therapieoptimierung beitragen.

Literaturverzeichnis

1. **Aparicio** T, Boige V, Sabourin JC et al. Prognostic factors after surgery of primary resectable gastrointestinal stromal tumors. *Eur.J.Surg Oncol.* 2004; 30:1098-103.
2. **Aunoble** B, Sanches R, Didier E, Bignon YJ. Major oncogenes and tumor suppressor genes involved in epithelial ovarian cancer (review). *Int. J. Oncol.* 2000; 16; 567–576.
3. **Blanchard** DK, Budde JM, Hatch GF, III et al. Tumors of the small intestine. *World J.Surg.*2000; 24:421-9.
4. **Blay** JY, Bonvalot S, Casali P et al. (2005) Consensus meeting for the management of gastrointestinal stromal tumors. Report of the GIST Consensus Conference of 20-21 March 2004, under the auspices of ESMO. *Ann Oncol* 16(4): 566-589.
5. **Bucher** P, Taylor S, Villiger P, Morel P, Brundler MA. Are there any prognostic factors for small intestinal stromal tumors? *Am. J. Surg.* 2004; 187:761-6
6. **Bucher** P, Villiger P, Egger JF, Buhler LH, Morel P. Management of gastrointestinal stromal tumors: from diagnosis of treatment. *Swiss. Med. Wkly.* 2004; 134: 145-53
7. **Buitrago-Téllez**, CH (2002). Bildgebende Diagnostik und histopathologische Korrelation gastrointestinaler Stromatumoren. *Praxis* 91:1497-1501.
8. **Burkill** GJ, Badran M, Al-Muderis O, Thomas MJ, Judson I, Fisher C, Moskovic EC. Malignant Gastrointestinal Stromal Tumor: Distribution, Imaging Features, and Pattern of Metastatic Spread. *Radiology* 2003;226:527-532.
9. **Corless** CL, Fletcher JA, Heinrich MC. Biology of gastrointestinal stromal tumors. *J Clin Oncol* 2004;22:3813-3825.
10. **Croom** KF, Perry CM. Imatinib mesylate: in the treatment of gastrointestinal stromal tumors. *Drugs* 2003; 63:513-522.
11. **DeMatteo** RP, Lewis JJ, Leung D, Mudan SS, Woodruff JM, Brennan MF (2000) two hundred gastrointestinal stromal tumors: recurrence patterns and prognostic factors for survival. *Ann Surg* 231(1):51-58.
12. **Demetri** GD, Benjamin RS, Blanke CD, Blay JY, Casali P, Choi H, et al. NCCN Task Force report: management of patients with gastrointestinal stromal tumor (GIST) –update of the NCCN clinical practice guidelines. *J Natl Compr Canc Netw.* 2007;5 Suppl 2:S1–29; quiz S30.
13. **Duffaud** F, Blay JY (2003). Gastrointestinal stromal tumors: biology and treatment. *Oncology* 65:187-97.
14. **Edmonson** JH, Marks RS, Buckner JC et al. Contrast of response to dacarbazine, mitomycin, doxorubicin and cisplatin (DMAP) plus GM-CSF between patients with advanced malignant GIST and patients with other advanced leiomyosarcomas. *Cancer Inves* 2002; 20:853-854.
15. **Eisenberg** BL, Judson I. Surgery and imatinib in the management of GIST: emerging approaches to adjuvant and neoadjuvant therapy. *Ann. Surg. Oncol.* 2004; 11:465-75.
16. **Emory** TS, Sobin LH, Lukes L, Lee DH, O'Leary TJ. Prognosis of gastrointestinal smooth-muscle (stromal) tumors: dependence on anatomic site. *Am J Surg Pathol.* 1999; 23(1):

82-87

17. **Ertem M**, Baca B, Dogusoy G, Erguney S, Yavuz N. Thorascopic enucleation of a giant submucosal tumor of the esophagus. *Surg Laparosc. Endosc.Percutan.Tech.* 2004;14:87-90.
18. **Evans HL**. Smooth muscle tumors of the gastrointestinal tract. A study of 56 cases followed for a minimum of 10 years. *Cancer* 1985;56:2242-2250.
19. **Fernandez A**, Aparicio J (2004). Imatinib and gastrointestinal stromal tumor (GIST): a selective targeted therapy. *Rev Esp Enferm Dig* 96:723-9.
20. **Fletcher CD**, Berman JJ, Corless C et al.: Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: Aconsensus approach. *Hum Pathol* 2002; 33:459-465.
21. **GEKID**, 6. überarbeitete, aktualisierte Auflage Saarbrücken 2008
22. **Grieco A**, Cavallaro A, Potenza AE et al. (2002). Gastrointestinal stromal tumor (GIST) and ulcerative colitis. *J Exp Clin Cancer Res* 21:617-20.
23. **Gupta S**, Punia RS, Kaushik R (2004). Gastrointestinal stromal tumour of the colon presenting with intestinal obstruction. *Indian J Cancer* 41:175-7.
24. **Hartmann K**, Wardelmann E, Ma Y et al (2005) Novel germline mutation of KIT associated with familial gastrointestinal stromal tumors and mastocytosis. *Gastroenterology* 129(3):1042-1046.
25. **Hasegawa T**, Matsuno Y, Shimoda T, Hirohashi S. Gastrointestinal stromal tumor: consistent CD 117 immunostaining for diagnosis, and prognostic classification based on tumor size and MIB-1 grade. *Hum Pathol* 2002;33:669-676.
26. **Havrilesky L**, Darcy M, Hamdan H et al. Prognostic significance of p53 mutation and p53 overexpression in advanced epithelial ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group Study. *J. Clin. Oncol.* 2003; 21; 3814–3825.
27. **Heinrich MC**, Griffith DJ, Druker BJ, Wait CL, Ott KA, Zigler AJ (2000) Inhibition of c kit receptor tyrosine kinase activity by STI571, a selective tyrosine kinase inhibitor. *Blood* 96:925-932.
28. **Hillemanns M**, Höfler H (2000). Aktuelle Klassifikation des gastrointestinalen Stromatumors. *Chirurg* 71:1327-34.
29. **Hirota S**, Isozaki K, Moriyama Y et al. Gain of function mutations of c kit in human gastrointestinal stromal tumors. *Science* 1998; 279:577-580.
30. **Hirota S**, Nishida T, Isozaki et al. (2002) Familial gastrointestinal stromal tumors associated with dysphagia and novel type germline mutation of KIT gene. *Gastroenterology* 122(5):1493-1499.
31. **Hohenberger P**, Reichardt P, Gebauer B, Wardelmann E. [Gastrointestinal stromal tumors (GIST) – current concepts of surgical management]. *Dtsch. Med Wochenschr.* 2004; 129: 1817-20.
32. **Hohenberger P**, Reichardt P, Stroszczyński C, Schneider U, Hossfeld DK. Gastrointestinale Stromatumoren - Tumorentität und Therapie mit Imatinib. *Deutsches Ärzteblatt* 2003; 100:1612-8.
33. **Hohenberger P**. Neue Konzepte der chirurgischen Therapie gastrointestinaler Stromatumoren (GIST). *Viszeralchirurgie* 2003; 38:379-86.

34. **Hollstein** M, Rice K, Greenblatt MS et al, 1994. Database of p53 gene somatic mutations in human tumors and cell lines. *Nucleic Acids Res* 22, 3551-5.
35. **Hollstein**, M, Sidransky, D, Vogelstein, B et al.: p53 Mutations in Human Cancer. *Science* 5 (1991) 49.
36. **Hu** X, Forster J, Damjanov I (2003). Primary malignant gastrointestinal stromal tumor of the liver. *Arch Pathol Lab Med* 127:1606-8.
37. **Irani** S, Fartab M (1999). Gastrointestinaler Stromatumor: ein chirurgisch-onkologisches Sorgenkind? *Chirurg* 70:259-64.
38. **I-Rue** Lai, Chinung-Nien Chen, Ming-Tsan Lin, Po-Huang Lee. Surgical Treatment of Gastric Gastrointestinal Stromal Tumors: Analysis of 92 Operated Patients. *Dig Surg* 2008; 25:208-212.
39. **Istok** R, Szabo I, Illyes G (2005). Gastrointestinal stromal tumor metastasized to the ovary. *Orv Hetil* 146:223-6.
40. **Joensuu** H, Fletcher C, Dimitrijevic S, Silberman S, Roberts P, Demetri G. Management of malignant gastrointestinal stromal tumors. *Lancet Oncol.* 2002; 3: 655-64.
41. **Katz** D, Segal A, Alberton Y et al. (2004). Neoadjuvant imatinib for unresectable gastrointestinal stromal tumor. *Anticancer Drugs* 15:599-602.
42. **Kindblom** LG, Remotti HE, Aldenborg F, Meis-Kindblom JM. Gastrointestinal pacemaker cell tumor: gastrointestinal stromal tumors show phenotypic characteristics of the interstitial cells of Cajal. *Am J Pathol.* 1998; 152(5):1259-1269.
43. **Kovacs** M, Nagy P, Pak G, Feher J (2005). Gastrointestinal stromal tumors (GISTs): clinical and pathological features. *Orv Hetil* 146:1375-81.
44. **Kovacs** M, Nagy P, Pak G, Feher J (2005). Gastrointestinal stromal tumors (GISTs): clinical and pathological features. *Orv Hetil* 146:1375-81.
45. **Kucera** E, Speiser P, Gnant M et al. Prognostic significance of mutations in the p53 gene, particularly in the zinc-binding domains, in lymph node- and steroid receptor positive breast cancer patients. Austrian Breast Cancer Study Group. *Eur. J. Cancer* 1999; 35; 398-405.
46. **Lang** H, Bauer S, Niebel W, Erhard, J, Ebeling P, Flasshove M, Grabellus F, Schütte J, Broelsch CE. Resektion von residueller Tumormasse bei Patienten mit metastasiertem GIST nach Vorbehandlung mit Imatinib. Deutsche Gesellschaft für Chirurgie. München 05.-08.04.2005. Düsseldorf, Köln: German Medical science; 2005.Doc 05dgh3538
47. **Langer** C, Gunawan B, Schuler P, Huber W, Fuzesi L, Becker H. Prognostic factors influencing surgical management and outcome of gastrointestinal stromal tumors. *Br. J. Surg.* 2003; 90: 332-9.
48. **Lehnert** T, Schwarzbach M, Willeke F, Herfarth C (1998). Gastrointestinale Stromatumoren- eine spezielle Entität mit besonderen Radikalitätsprinzipien. *Langenbecks Arch Chir Suppl Kongressbd* 115:356-8.
49. **Lehnert** T. Gastrointestinal sarcoma (GIST)-a review of surgical management. *Ann Chir Gynaecol* 1998;87:297-305.
50. **Levine** AJ: p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell.* 1997, 88: 323-31.
51. **Lucchetta** MC, Liberati G, Petracchia L et al. (2005). Gastrointestinal stromal tumors: a

- seldom diagnosed cause of severe anemia. *Dig Dis Sci* 50:815-9.
52. **Matsui H**, Uyama I, Fujita J et al. (2000). Gastrointestinal stromal tumor of the stomach successfully treated by laparoscopic proximal gastrectomy with jejunal interposition. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 10:239-42.
 53. **Mechtersheimer G**, Lehnert T, Penzel R, Joos S, Egerer G, Otto HF. Gastrointestinale Stromatumoren. Eine morphologisch und molekular eigenständige Tumorentität mit neuer therapeutischer Perspektive. *Pathologe* 2003; 24: 182-91.
 54. **Miettinen M**, Furlong M, Sarlomo-Rikala M et al. (2001). Gastrointestinal stromal tumors, intramural leiomyomas, and leiomyosarcomas in the rectum and anus: a clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 144 cases. *Am J Surg Pathol* 25:1121-33).
 55. **Miettinen M**, Kopczynski J, Makhlof HR, Sarlomo-Rikala M, Gyorffy H, Burke A, Sobin LH, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors, intramural leiomyomas, and leiomyosarcomas in the duodenum. A clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 167 cases. *Am J Surg Pathol* 2003;27:625-641.
 56. **Miettinen M**, Lacosta J. Gastrointestinal stromal tumors-definition, clinical, histological, immunohistochemical and molecular genetic features and differential diagnosis. *Virchows Arch.* 2001; 438:1-12.
 57. **Miettinen M**, Majidi M, Lasota J. Pathology and diagnostic criteria of gastrointestinal stromal tumors: a review. *Eur.J.Cancer* 2002;38 Suppl 5:S39-51.
 58. **Miettinen M**, Sarlomo-Rikala M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors: recent advances in understanding of their biology. *Hum Pathol.* 1999; 30(10): 1213-1220.
 59. **Miettinen M**, Virolainen M, Sarlomo-Rikala M. Gastrointestinal stromal tumors-value of CD34 antigen in their identification and separation from true leiomyomas and schwannomas. *Am J Surg Pathol.* 1995; 19(2):7-16.
 60. **Mitsudomi T**, Hamajima N, Ogawa M, Takahashi T. Prognostic significance of p53 alterations in patients with non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *Clin. Cancer Res.* 2000; 6; 4055– 4063.
 61. **Munro AJ**, Lain S, Lane DP. P53 abnormalities and outcomes in colorectal cancer: a systematic review. *Br. J. Cancer* 2005; 92; 434–444. 133–144.
 62. **Nakayama T**, Hirose H, Isobe K et al. (2003). Gastrointestinal stromal tumor of the rectal mesentery. *J Gastroenterol* 38:186-9.
 63. **Ng EH**, Pollock RE, Munsell MF, Atkinson EN, Romsdahl MM. Prognostic factors influencing survival in gastrointestinal leiomyosarcomas. Implications for surgical management and staging. *Ann Surg* 1992; 215:68-77.
 64. **Nilsson B**, Bumming P, Meis-Kindblom JM et al. 2005 Gastrointestinal stromal tumors: the incidence, prevalence, clinical course, and prognostication in the preimatinib mesylate era – population – based study in western Sweden. *Cancer* 15; 103(4): 821-829.
 65. **Olivier M**, Eeles R, Hollstein M, Khan MA, Harris CC, Hainaut P. The IARC TP53 database: new online mutation analysis and recommendations to users. *Hum. Mutat.* 2002; 19; 607–614.
 66. **Perego M**, Strada E, Alvisi C, Ascari E (1998). Gastrointestinal stromal tumor as the cause of intestinal hemorrhage: description of a clinical case. *Ann Ital Med Int* 13:125-7

67. **Pierie** JP, Choudry U, Muzikansky A, Yeap BY, Souba WW, Ott MJ (2001) The effect of surgery and grade on outcome of gastrointestinal stromal tumors. *Arch Surg* 136(4): 383-389.
68. **Pross** M, Manger T, Schulz HU, Lippert H, Roessner A, Gunther T. Gastrointestinale Stromatumoren (GIST) – Probleme in Diagnostik und Therapie. *Chirurg* 1999; 70: 807-12.
69. **Pross** M, Rahden von BHA, Schubert D., Feussner H. Rendezvousverfahren im Bereich des Ösophagus. *Chir Gastroenterol* 2004;20:100-4.
70. **Reichardt** P , Pink D, Mrozek A, Lindner T, Hohenberger P. Gastrointestinale Stromatumore (GIST). *Z Gastroenterol* 2004;42:327-331.
71. **Roberts** PJ, Eisenberg B (2002). Clinical presentation of gastrointestinal stromal tumors and treatment of operable disease. *Eur J Cancer* 38 Suppl 5:S37-8.
72. **Russo** A, Bazan V, Iacopetta B, Kerr D, Soussi T, Gebbia N. The TP53 colorectal cancer international collaborative study on the prognostic and predictive significance of p53 mutation: influence of tumor site, type of mutation, and adjuvant treatment. *J. Clin. Oncol.* 2005; 23; 7518–7528.
73. **Sanchez** Fernandez P, Martinez Ordaz JL, Blanco Benavides R (1999). Gastrointestinal stroma tumor with gastric involvement. *Rev Gastroenterol Mex* 64:139-42.
74. **Sarlomo-Rikala** M, Kovatich AJ, Barusevicius A, Miettinen M. CD117: a sensitive marker of gastrointestinal stromal tumors that is more specific than CD34. *Mod Pathol.* 1998; 11(8): 728-734.
75. **Schlemmer** M, Milani V, Tschoep K, Fahn W, Wendtner CM. Gastrointestinale Stromatumoren. *Dtsch. Med. Wochenschr.* 2003; 128: 2015-9.
76. **Schlemmer** M, Wendtner CM. Gastrointestinale Stromatumoren - Neuer Ansatz einer molekularbiologisch gezielten Therapie. *Kliniker* 2003;32:237-241.
77. **Schütte** J, Antoch G. Präoperative Diagnostik bei Gastrointestinalen Stromatumoren. *Viszeralchirurgie* 2003;38:366-73.
78. **Shahin** MS, Hughes JH, Sood AK, Buller RE. The prognostic significance of p53 tumor suppressor gene alterations in ovarian carcinoma. *Cancer* 2000; 89; 2006–2017.
79. **Shiu** MH, Farr GH, Papachristou DN, Hajdu SI. Myosarcomas of the stomach: natural history, prognostic factors and management. *Cancer* 1982; 49:177-87.
80. **Siewert** E, Tietze L, Maintz C et al. (2004). Gastrointestinale Stromatumoren (GIST): variable klinische Manifestationen vom Zufallsbefund bis zur akuten gastrointestinalen Blutung. *Z Gastroenterol* 42:233-42.
81. **Singer** S, Rubin BP, Lux ML, Chen CJ, Demetri GD, Fletcher CDM, Fletcher JA. Prognostic value of KIT mutation type, mitotic activity and histologic subtype in gastrointestinal stromal tumors. *J Clin Oncol* 2002;20:3898-3905.
82. **Sircar** K, Hewlett BR, Huizinga JD, Chorneyko K, Berezin I, Riddell RH. Interstitial cells of Cajal as precursors of gastrointestinal stromal tumors. *Am J Surg Pathol.* 1999; 23(4): 377-389.
83. **Taylor** WR, Stark GR, 2001. Regulation of the G2/M transition by p53. *Oncogene* 20, 1803-15.
84. **Till** V, Dolai M, Pilipovic B et al. (2002). Gastrointestinal stromal tumor: case report. *Med*

- Pregl 55:423-6.
85. **Van den Abbeele AD**, Badawi RD. Use of positron emission tomography in oncology and its potential role to assess response to imatinib mesylate therapy in gastrointestinal stromal tumors (GISTs). *Eur J Cancer* 2002; 38(Suppl 5): 60-65.
 86. **Van Glabbeke M**, Verweij J, Casali PG et al. (2005) Initial and late resistance to imatinib in advanced gastrointestinal stromal tumors are predicted by different prognostic factors: a European Organisation for Research and Treatment of Cancer-Italian Sarcoma Group-Australasian Gastrointestinal Trials Group study. *J Clin Oncol* 23:5795-5804.
 87. **Vander NM, III**, Eloubeidi MA, Chen VK et al. Diagnosis of gastrointestinal tract lesions by endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy. *Cancer* 2004; 102:157-63.
 88. **Verreet PR**, Clausing TA, Schoepp C. Prinzipien des chirurgischen Vorgehens beim Stromatumor. *Chirurg* 2000; 71:1335-44.
 89. **Verweij J**, Casali PG, Zalberg J et al. (2004) Progression-free survival in gastrointestinal stromal tumors with high-dose imatinib: randomised trial. *Lancet* 364(9440):1127-1134.
 90. **Weiler H**, Kersjes W, Herrmann G. Extragastrintestinaler Stromatumor (EGIST) mit Lebermetastasen. *Med Welt* 2004;55:111-4.
 91. **Willmore-Payne C**, Layfield LJ, Holden JA (2005). c-KIT mutation analysis for diagnosis of gastrointestinal stromal tumors in fine needle aspiration specimens. *Cancer* 105:165-70.
 92. **Wong NACS**, Young R, Malcomson et al. (2003) Prognostic indicators for gastrointestinal stromal tumors: a clinicopathological and immunohistochemical study of 108 resected cases of the stomach. *Histopathology* 43:118-126.
 93. **Wu PC**, Langerman A, Ryan CW, Hart J, Swiger S, Posner MC. Surgical treatment of gastrointestinal stromal tumors in the imatinib (STI-571) era. *Surgery* 2003; 134: 656-65.
 94. www.daslebenshaus.org
 95. **Yan H**, Marchettini P, Acherman YI, Gething SA, Brun E, Sugarbaker PH. Prognostic assessment of gastrointestinal stromal tumor. *Am J Clin. Oncol.* 2003; 26:221-8.
 96. **Zigheboim I**, Henao G, Kunda A et al. (2003). Gastrointestinal stromal tumor presenting as a pelvic mass. *Gynecol Oncol* 91:630-5.

Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Tina Bretschneider erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: >Klinisch-pathologische Prognosefaktoren des operierten Gastrointestinalen Stromatumors (GIST)< 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.“

Berlin, den 20.03.2009

Tina Bretschneider

