

**Aus dem Institut für Pathologie
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz**

**Aussagekraft einer quantitativen,
PC-unterstützten PCNA-Bestimmung an
Leiomyosarkomen und Leiomyomen**

**Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin**

**der Universitätsmedizin
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
vorgelegt von**

**Maja Klaas geb. Buxbaum
aus Berlin-Charlottenburg**

Mainz, 2009

Wissenschaftlicher Vorstand:

1. Gutachter:

2. Gutachter:

Tag der Promotion: 15.12.2009

Inhaltsverzeichnis:

1	Einleitung	1
1.1	Proliferating Cell Nuclear Antigen	1
1.2	Uterine Leiomyome	6
1.3	Uterine Leiomyosarkome	7
1.4	Abgrenzung von Leiomyomen und Leiomyosarkomen, das Konzept myomatöser Borderline-Tumoren	8
1.5	Gastrointestinale Leiomyosarkome	9
2	Ziel der Untersuchung	12
3	Material	13
4	Methoden	14
4.1	Patientengut	14
4.2	Klinische und pathologische Parameter	14
4.3	Technisches Vorgehen	15
4.3.1	Sialinisieren der Objektträger	15
4.3.2	Herstellen der Schnittserien	16
4.3.3	Entparaffinierung und Rehydrierung	16
4.3.4	Hemmung der endogenen Peroxidase	16
4.3.5	Immunhistochemische Färbung	17
4.3.5.1	Inkubieren mit dem Primärantikörper PCNA	17
4.3.5.2	Inkubieren mit dem Sekundärantikörper	17
4.3.5.3	Inkubieren mit dem Tertiärantikörper	17
4.3.5.4	Anfärbung mit DAB	17
4.3.5.5	Gegenfärben mit Methylgrün	17
4.3.5.6	Eindeckeln	18
4.3.6	Computergestützte Bildanalyse	18

4.4	Statistische Auswertung	21
5	Ergebnisse	22
5.1	Allgemeines	22
5.1.1	Alter und Geschlechtsverteilung	22
5.1.2	Tumorgröße / Uterusgewicht	22
5.1.3	Lokalisation und operative Therapie	22
5.1.4	Nachbehandlung und Verlauf	23
5.1.5	Beobachtungszeitraum	23
5.1.6	Grading	24
5.2	Methodische Untersuchungen zur Korrelation von PCNA-basierten Messwerten untereinander	24
5.2.1	Korrelation der zellzahlbasierten ($PCNA_{\text{cellsmed}}$) und flächenbasierten ($PCNA_{\text{areamed}}$) Mittelwerte	24
5.2.2	Korrelation der zellzahlbasierten ($PCNA_{\text{cellsmax}}$) und flächenbasierten ($PCNA_{\text{areamax}}$) Maximalwerte zu den Mittelwerten	26
5.3	Klinische Parameter und PCNA-Meßwerte	30
5.3.1	Klinische Parameter und uterine Leiomyome	30
5.3.1.1	Uterusgewicht	30
5.3.1.2	Myomgröße	31
5.3.1.3	Alter	32
5.3.1.4	Zellreiche gegenüber normalen Leiomyomen	33
5.3.2	Klinische Parameter und uterine Leiomyosarkome	34
5.3.2.1	Grading bei uterinen Leiomyosarkomen	34
5.3.2.2	Tumorgröße bei uterinen Leiomyosarkomen	36
5.3.2.3	Alter bei uterinen Leiomyosarkomen	36
5.3.2.4	Nekrosen bei uterinen Leiomyosarkomen	37
5.3.3	Klinische Parameter und gastrointestinale Leiomyosarkome	39

5.3.3.1	Grading bei gastrointestinalen Leiomyosarkomen	39
5.3.3.2	Tumorgröße bei gastrointestinalen Leiomyosarkome	40
5.3.3.3	Alter bei gastrointestinalen Leiomyosarkome	41
5.3.3.4	Geschlechtsverteilung bei gastrointestinalen Leiomyosarkome	42
5.3.3.5	Nekrosen bei gastrointestinalen Leiomyosarkomen	43
5.4	Untersuchungen zur Zellkerngröße	44
5.5	Analyse der Überlebensdaten, der klinischen und der PCNA-Parameter	45
5.5.1	Metastasierungswege	45
5.5.2	Überlebensdaten	46
5.5.3	PCNA-Parameter, Grading und Überleben unter Zusammenfassung sämtlicher Leiomyosarkome	50
5.5.4	Analyse der Überlebensdaten in Bezug auf andere klinische und pathologische Parameter	51
5.5.4.1	Grading und Prognose	51
5.5.4.2	Tumorgröße und Prognose	52
5.5.4.3	Nekrose und Prognose	52
5.5.4.4	Alter und Prognose	54
5.6	Vergleich der PCNA-Meßwerte der Leiomyome mit jenen der Leiomyosarkome und Leiomyoblastome	55
5.6.1	Anteil der positiven Zellkerne im Vergleich zwischen Leiomyosarkomen und Leiomyomen (receptor positive fraction)	56
5.7	Vergleich zwischen den beiden Sarkomgruppen	57
6	Diskussion	58
6.1	Einfluss klinischer und pathologischer Parameter auf die Höhe der PCNA Messwerte	58
6.1.1	Myomgröße, Tumorgröße	58
6.1.2	Alter	58

6.1.3	Grading	59
6.1.4	Nekrosen	60
6.1.5	Geschlecht	61
6.2	Einfluss klinischer und pathologischer Parameter auf die Prognose der uterinen Leiomyosarkome	61
6.3	Einfluss klinischer und pathologischer Parameter auf die Prognose der gastrointestinalen Leiomyosarkome	64
6.4	Andere „moderne“ histopathologische Parameter bei uterinen und gastrointestinalen LMS	68
6.5	Kerngröße und Malignität	70
6.6	PCNA als ergänzender Parameter bei der Diagnose von Sarkomen und insbesondere Leiomyosarkomen	71
7	Zusammenfassung	75
8	Literatur	77
9	Anhang	93
9.1	Datensammlung	93
9.1.1	Daten der uterinen Leiomyome	93
9.1.2	Daten der uterinen Leiomyosarkome	96
9.1.3	Daten der gastrointestinalen Leiomyosarkome und Leiomyoblastome	100
9.2	Links	103

Abkürzungsverzeichnis:

BSA	bovine Serum Albumine
CTCN	coagulative tumor cell necrosis
DAB	3,3'-Diaminobenzidine
DOD	Death of disease
DOB	Date of birth
FIGO	Fédération Internationale de Gynécologie et d'Obstétrique
FNCLCC	Fédération Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer
FOV	Field of View
G1	Grading 1, gut differenziert
GI	gastrointestinal
GIST	Gastrointestinal stromal tumor
HE	Hysterektomie
HPF	high power field
LM	Leiomyom
LMB	Leiomyoblastom
LMS	Leiomyosarkom
MI	Mitoseindex
MOD	mean optical density
n	Anzahl, number
NHL	Non-Hogkin-Lymphom
PBS	Phosphate buffered saline
PCNA	Proliferating cell nuclear antigen
PCNA _{areamax}	maximale positive Zellkernfläche, aus 20 Gesichtsfeldern gemittelt

PCNA _{areamed}	mittlere positive Zellkernfläche, aus 20 Gesichtsfeldern gemittelt
PCNA _{areamin}	minimale positive Zellkernfläche, aus 20 Gesichtsfeldern gemittelt
PCNA _{cellsmax}	maximale positive Zellzahl, aus 20 Gesichtsfeldern gemittelt
PCNA _{cellsmed}	mittlere positive Zellzahl, aus 20 Gesichtsfeldern gemittelt
PCNA _{cellsmin}	minimale positive Zellzahl, aus 20 Gesichtsfeldern gemittelt
PE	Probenentnahme
RPF	Receptor positive Fraktion, Anteil der positiven Zellkerne an allen gemessenen Zellkernen aus 20 Gesichtsfeldern
RWTH	Rheinisch-Westfälisch Technische Hochschule
SD	Standardabweichung, standard deviation
SEX	Geschlecht
STUMP	smooth muscle tumor of uncertain malignant potential
UT	uterin
WHO	World Health Organization
ZKG	Zellkerngröße

1 Einleitung

1.1 Proliferating Cell Nuclear Antigen

Proliferating Cell Nuclear Antigen, kurz PCNA, ist ein Hilfsprotein der DNA Polymerase δ (Bravo et al. 1987, Prelich et al. 1987, Fairman 1990) mit einem Molekulargewicht von 36 kD und einer Halbwertszeit von 20 Stunden. Verschiedene Forschungsgruppen haben unabhängig voneinander dasselbe Protein identifiziert, so dass zunächst zwei Namen für PCNA existierten: PCNA und Cyclin (Miyachi 1978, Celis 1980). 1984 gelang dann der Nachweis, dass es sich bei Cyclin und PCNA um dasselbe Protein handelt (Mathews et al. 1984).

Die Expression von PCNA differiert während des Zellzyklus, und die Syntheserate korreliert direkt mit der Zellproliferationsrate (Celis et al. 1980). Das PCNA-Niveau nimmt im Verlauf der Mitte der G₁-Phase rasch zu, bleibt in der S-Phase erhöht und sinkt von G₂/M bis G₁ ab (Bolton et al. 1992).

Seit seiner Entdeckung wird PCNA mit der Frage nach einer möglichen Diskriminierung zwischen benignem und malignem Gewebe, nach Korrelation mit klinischen Parametern, Grading und der Prognose verwendet. Eine ganze Reihe von Arbeiten wurde zu diesen Themen veröffentlicht, und in der folgenden Tabelle 1-1 findet sich ein Ausschnitt aus den veröffentlichten Studien, die, wie leicht zu erkennen ist, nicht selten kontroverse Ergebnisse bezüglich der Aussagekraft von PCNA hinsichtlich der Prognose erbracht haben.

Tabelle 1-1 Übersicht über PCNA-Anwendungen in der Prognostik bei verschiedenen Tumorentitäten

Tumor	Fallzahl	Prognosekorrelation	Autoren
Kolonkarzinom	87	ja	Choi et al., 1997
Kolonkarzinom	80	nein	Noguchi et al., 2003
Kolonkarzinom	57	ja	Nakamura et al., 1996
Gastrointestinales Bindegewebe	60	ja	Yu, Fletcher, 1992a
Hepatozelluläres Karzinom	244	nein	Qin et al., 2002
Hepatozelluläres Karzinom	153	ja	Osada et al., 2004
Hepatozelluläres Karzinom	141	ja	Suehiro et al., 1995
Hepatozelluläres Karzinom	80	nein	Mise et al., 1998
Hepatozelluläres Karzinom	51	ja	Zeng WJ et al., 2002
kleinzelliges Ösophaguskarzinom	4	ja	Kimura, et al., 1998
Lymphome des Magens	33	ja	Aoyagi et al., 2002
Lymphome des Magens	29	ja	Belessi et al., 2003
Magenkarzinom	841	nein	Lee KE et al., 2003
Magenkarzinom	164	ja	Takamura et al., 1995
Magenkarzinom	133	ja	Noda et al., 2002

Tumor	Fallzahl	Prognosekorrelation	Autoren
Magenkarzinom	116	ja	Konno et al., 2001
Magenkarzinom	112	ja	Maehara et al., 1999
Magenkarzinom	90	nein	Mangham et al., 1994
Magenkarzinom	74	ja	Elpek et al., 2000
Magenkarzinom	73	ja	Li N , 1993
Ösophaguskarzinom	60	ja	Dabrowski et al., 2001
Mammakarzinom bei Hunden	69	nein	Pena et al., 1998
Cervixkarzinom	47	nein	Konishi et al. 1998
epitheliales Ovarialkarzinom	84	nein	Li JD et al., 2002
Keimzelltumor des Ovars	31	ja	Liu FS et al., 1999
Mammakarzinom	408	ja	Kato et al., 2002
Mammakarzinom	205	ja	Gago et al., 1998
Mammakarzinom	167	ja	Horiguchi J et al., 1998
Mammakarzinom	123	ja	Sheen-Chen et al., 1997
Mammakarzinom	103	ja	Biesterfeld et al., 1992
Mammakarzinom	76	ja	Horita, et al. 2001
Ovarialkarzinom	103	ja	Wu X et al., 1998
Ovarialkarzinom	81	ja	Schonborn et al., 1993
Ovarialkarzinom	49	nein	Reitmaier et al., 2000
Tubenkarzinom	70	ja	Halon A, Rabczynski J, 2003
Uterines Leiomyosarkom	24	ja	Amada et al., 1995
Uterines Leiomyosarkom	6	nein	Chou et al., 1997
Oligodendrogliom	19	ja	Reis-Filho et al., 2000
Hypopharynxkarzinom	48	ja	Yao LS et al., 2002
Kehlkopfkarzinom	102	ja	Dong Y et al., 2000
Kehlkopfkarzinom	93	ja	Sarac et al., 1998
Kehlkopfkarzinom	74	ja	Boran et al., 2003
Kehlkopfkarzinom	60	nein	Buyukbayram H, et al., 2004
Kehlkopfkarzinom	55	ja	Wozniak et al., 2002
Kehlkopfkarzinom	23	nein	Bayazit et al., 2002
Mundhöhle und Oropharynx	56	nein	Sittel et al., 2000
Nasopharynxkarzinom	66	ja	Li L, Zhang WY, 2003
Plattenepithelkarzinom d. Mundhöhle	100	ja	Storkel S et al. , 1993
Plattenepithelkarzinom d. Mundhöhle	64	nein	Sommer T, Olofsson J, 1997
Sinus maxillaris Karzinom	42	nein	Mikuni et al., 1992
Unterlippenplattenepithelkarzinom	54	ja	Daniele et al., 1998
Blasenkarzinom	177	ja	Lavezzi et al., 2001
Blasenkarzinom	128	ja	Inagaki, et al., 1997
Blasenkarzinom	77	ja	Bozlu et al., 2002
Blasenkarzinom	77	ja	Shiina et al., 1996
Blasenkarzinom	16	ja	Ozdemir BH et al., 2001
Nierenzellkarzinom	87	ja	Tannapfel et al., 1996
Nierenzellkarzinom	71	ja	Tamaki et al., 1997
Nierenzellkarzinom	53	ja	Sejima T, Miyagawa I, 1997
renales Adenokarzinom	58	ja	Tejido Sanchez et al., 2002
Melanom der Uvea	30	nein	Ghazvini et al., 1995
Adenokarzinom der Lunge	64	ja	Demarchi et al., 2000
nichtkleinzelliges Bronchialkarzinom	152	ja	Lavezzi et al., 2001
nichtkleinzelliges Bronchialkarzinom	102	ja	Oyama et al., 2000
nichtkleinzelliges Bronchialkarzinom	95	nein	Dworakowska et al., 2002
nichtkleinzelliges Bronchialkarzinom	89	nein	Nguyen et al., 2000

Tumor	Fallzahl	Prognosekorrelation	Autoren
nichtkleinzelliges Bronchialkarzinom	76	ja	Fukuse et al., 2000
Bindegewebs Sarkom	185	ja	Choong et al., 1995
Extrauterines Leiomyosarkom	35	nein	O'Reilly et al., 1997
malignes fibröses Histiozytom	48	ja	Dreinhofer et al., 1994
malignes Mesotheliom	35	ja	Esposito et al., 1997
Rhabdomyosarkom, kindl.	29	ja	Tokuc et al., 1998
Synovialsarkom	56	ja	Oda et al., 1993
Synovialsarkom	49	ja	Lopes et al., 1998
Wilms-Tumor	64	ja	Skotnicka-Klonowicz et al., 2002

Man erkennt, dass die Ergebnisse letztendlich uneinheitlich sind und noch viele Fragen zur Prognostik offen bleiben. In der Diagnostik der Immunhistochemie steht PCNA als Proliferationsmarker neben Ki-67 und AgNOR zur Verfügung, neben den klassischen Methoden der Proliferationsbestimmung durch den Mitoseindex bzw. experimentell durch die In-vitro-Anwendung einer Bromodesoxyuridin- oder ³H-Thymidin-Inkubation. Es wurden verschiedene Studien mit der Frage nach der Eignung von PCNA zur Diagnoseverifizierung vor allem der Dignitätsbestimmung durchgeführt. Im Routineeinsatz des klinischen Alltags wird bevorzugt Ki-67 eingesetzt, auch wenn PCNA ebenfalls reproduzierbare Ergebnisse liefert und S-Phase spezifischer ist als Ki-67. Der Nachteil von PCNA ist bei der Tumordiagnostik die Anfärbung von Nachbar gewebe rund um den Tumor (Linden et al. 1992). Eines der Probleme, das sich in der folgenden Tabelle 1-2 wiederholt zeigt, ist die Problematik sich überschneidender Messwerte, weshalb eine Dignitätsbeurteilung alleine aufgrund des PCNA-Labeling-Indexes bei keiner der beschriebenen Tumorentitäten möglich ist.

Tabelle 1-2: Übersicht über verschiedene untersuchte PCNA-Anwendungen in der Differentialdiagnostik

Organ	Fallzahl	Untersuchter Zusammenhang bzgl. PCNA	Autor
Schilddrüse	54 = 10 adenomatöse Strumen, 20 follikuläre Adenome, 10 follikuläre Karzinome, 14 papilläre Karzinome	Signifikante Unterschiede der Höhe von PCNA zwischen adenomatöser Struma und follikulärem Karzinom bzw. zwischen Adenom und follikulärem / papillärem Karzinom. Jedoch war MIB-1 als Differenzierungsmarker der Borderline-Läsionen besser geeignet.	Lewy-Trenda et al., 2006
Colon	118 = 10 normale Mukosa, 88 Adenome, 20 Karzinome	Signifikant höhere PCNA-Werte für colorektale Karzinome verglichen mit Adenomen.	Yang, Hsu, 1996
Colon	67 Adenokarzinome	PCNA-Positivität zeigt einen kontinuierlichen Anstieg im Verlauf von hyperplastischen Polypen des Colons über Adenome weiter zu Adenokarzinomen aus Adenomen entstanden bis hin zu Adenokarzinomen. Signifikant höhere Werte für Adenokarzinomen gegenüber hyperplastischen Polypen.	Barletta, et al., 1998
Colon	71 colorektale Carcinome	Nicht geeignet zur Sensitivitätsbestimmung bzgl. 5-FU und MTX bei Patienten mit fortgeschrittenem colorektalem Karzinom.	Paradiso et al., 1996

Organ	Fallzahl	Untersucher Zusammenhang bzgl. PCNA	Autor
Magen	149=43 reaktive Hyperplasien, 35 undef. Dysplasien, 35 Dysplasien des Magens and 36 Magenkarzinome	Keine Unterscheidung von reaktiver Hyperplasie, einfacher Dysplasie und undefinierter Dysplasie des Magens aufgrund von PCNA möglich.	Dong et al., 2005
Magen	21 = 14 LM, 7 LMS	Sinnvoller Indikator zur Unterscheidung zwischen LM und LMS des Magens.	Oyama et al., 2000
Magen	45 = 15 normale Mukosa, 15 Dysplasien, 15 Adeno-Ca	Nicht geeignet zur Differentialdiagnose zwischen normaler Mukosa, dysplastischer Mukosa und Karzinom des Magens, trotz significant verschiedener Werte wg. überlappender Werte der 3 Gruppen.	Ozercan et al., 2000
Magen	57	Zusammen mit AgNOR sinnvolle Zusatzuntersuchung zur Diskriminierung von normaler, entzündlich veränderter, dysplastischer und neoplastischer Mukosa des Magens, jedoch nicht absolut eindeutig. Zur alleinigen Differentialdiagnose von proliferativen Läsionen der Magenschleimhaut nicht geeignet, da beachtenswerte Überschneidung der PCNA-Positivität zwischen den untersuchten Typen (normal, inflammatorisch, dysplastisch und neoplastisch) besteht.	Irazusta et al., 1998
Magendarmtrakt	65 GIST	Signifikante Unterschiede der Höhe von PCNA bei benignen und malignen GISTs.	Can, Sokmensuer, 2003
Leber	106 = 14 Dysplasien + 92 Karzinome	Keine Unterscheidung von kleinzelliger Leberdysplasie und hepatozellulärem Karzinom G1/2 möglich, da annähernd gleicher PCNA-Labeling-Index. Höhere PCNA-Werte für hepatozelluläre Karzinome G3.	Adachi, Hashimoto, 1993
Leber	32 20 Leberzell-Ca, 7 zirrh. Noduli, 5 Kontrollen	Signifikante Unterschiede der Höhe von PCNA bei hepatozellulären Karzinomen im Vergleich zu Leberzirrhose und normalem Lebergewebe.	Shehata et al., 2006
Leber	35 = 3 dysplast. Noduli+ 32 Karzinome	Bei der Untersuchung des PCNA-Labeling-Indexes von primären hepatozellulären Karzinomen verglichen mit dysplastischen Noduli Folgendes: In extranodulärem Gewebe ohne Zirrhose 4,2%, in extranodulärem Gewebe mit Zirrhose 6,8%, in dysplastische Noduli 27,9%, im Bereich der hepatozellulären Karzinome 31,9% Labeling-Index.	Saftoiu, Ciurea, 2003
Darm	283 entzündliche Darm-erkrankungen	Nicht geeignet zur Differentialdiagnose entzündlicher Darmerkrankungen.	Keller, Koch, 1994
Darm	62 = 13 wahrscheinl. dysplastische, 15 niedrig-gradige Dysplasie, 5 hoch-gradige, 15 Entzündung ohne Dysplasie, 14 normal	Lediglich als Zusatzuntersuchung geeignet zur Bestimmung des Dysplasiegrades bei entzündlichen Darmerkrankungen, da keine eindeutige Dignitätsbeurteilung möglich.	Kullmann et al., 1996
Ösophagus	106 Proben von 55 Patienten	PCNA ist bei der Untersuchung des Barrett Ösophagus nicht geeignet zur Feststellung von Dysplasien, da es zu Überschneidungen der Werte zwischen vorhandenen und nicht-vorhandenen Dysplasien kommt.	Lapertosa, Baracchini, 1994
Ösophagus	201	Bei der Untersuchung von Dysplasien und Karzinomen des Ösophagus scheint PCNA in Kombination mit Esophagin eine gute Möglichkeit zur frühzeitigen Erkennung von Karzinomen zu sein.	Kimos, Wang, 2004
Ösophagus	213	Die Anzahl der PCNA-positiven Zellen der ösophagealen Schleimhaut nach Behandlung einer Refluxösophagitis zeigt eine Zunahme von normaler Mukosa über Refluxösophagitis zu Dysplasie.	Wang T, Liu B, 2002
Ösophagus	50	PCNA hilfreich zur Früherkennung beim Screening von Barrett's Ösophagus. Signifikante Unterschiede zwischen PCNA-Meßwerten in malignem Barrett's Ösophagus (höchste Werte) verglichen mit benignem Barrett's Ösophagus mit Dysplasie (mittlere Werte) und benignem Barrett's Ösophagus ohne Dysplasie.	Li H, Yao S, 1995
Ösophagus	70 = 24 Dysplasien, 9 regenerative Atypien, 18 benigne Bef., 19 Adenokarzinome	PCNA-Index bei benignen und dysplastischen Veränderungen beim Barrett-Ösophagus signifikant niedriger als bei malignen Veränderungen.	Gillen, McDermott, 1994
Cervix uteri	133 =10+37+26+34+26 (s.n.)	Der PCNA-Labeling Index steigt signifikant mit zunehmendem Grading einer cervikalen Neoplasie (normales Epithel 3,5%, milde Dysplasie 10,3%, mittlere Dysplasie 16,8 %, schwere Dysplasie 23,7%, Karzinoma in Situ 36,3%)	Murakami, Nagai, 1993
Cervix uteri	156 = 32 norm. Epith., 33 CIN 1, 36 CIN 2, 55 CIN 3	Signifikanter Zusammenhang zwischen PCNA-Positivität und Schweregrad der Dysplasie der Cervix uteri. Kein Zusammenhang zum HPV-Status.	Smela, Chosia, 1996

Organ	Fallzahl	Untersuchter Zusammenhang bzgl. PCNA	Autor
Cervix uteri	80 CIN	Bei der Untersuchung der vaskulären Endothelzellen von CIN-Läsionen zeigte PCNA eine significant stärkere Anfärbung bei CIN II-II° verglichen mit CIN I° und Condylomen. Es bestand kein Zusammenhang zum Nachweis von HPV-DNA.	Soini, Pollanen, 1996
Cervix uteri	88 = 10 normale Mukosa, 16 milde, 9 moderate 17 schwere Dysplasien, 36 invasive Karzinome	PCNA zeigt mit zunehmender histopathologischer Atypie der Zervixmukosa einen Anstieg, gefolgt vom Nachweis von Aneuploidie und p53-Überexpression.	Steinbeck et al., 1995
Mamma	60 Carcinome	Kein Unterschied der Expressionsintensität von PCNA bei verschiedenem Grading von invasiv-duktalem Mammakarzinom.	Surowiak et al., 2005
Uterus	100 = 10 prolif. Endometrium, 10 sekret. Endometrium, 30 Hyperplasien ohne Atypien, 10 Hyperplasien mit Atypien, 20 endometr. Adeno-Ca, 10 seröse Ca, 10 klarzellige Ca	Bei einer computergestützten Bildanalyse zeigte PCNA in Bezug auf Endometriumsveränderungen das Folgende: Niedrigste Werte bei endometrialer Hyperplasie. Signifikant höhere Werte bei sowohl adenomatoiden als auch klarzelligen Endometriuskarzinomen verglichen mit endometrialer Hyperplasie mit Atypie.	Elhafey et al., 2001
Uterus	84 = 62 Endometrium-Karzinome, 22 normale Endometr.	PCNA-Index bei Endometriumkarzinomen signifikant höher als bei normalem Endometrium.	Xiao, Tang, 2005
Vulva	25 = 7 normale, 8 Lichen sclerosus, 10 VIN	PCNA als Diagnosehelfer bei Vulvadysplasien Ki-67 unterlegen.	van Hoeven, Kovatich, 1996
Larynx	200 = 154 Plattenepithel-Ca + 25 normale oder hyperplastische Epith. + 21 präneoplast. Epith.	Bei Kehlkopfkarzinomen kann PCNA helfen bei der Bestimmung des Malignitätsgrades. Für Kehlkopfkarzinome signifikant höhere PCNA-Werte verglichen mit normalem und hyperplastischem Epithel.	Krecicki et al., 1999
Larynx	61 = 9 Polypen + 12 Hyperplasien + 10 milde Dysplasien + 8 mässige + 8 schwere + 14 invasive Karzinome	PCNA zur Unterscheidung zwischen epithelialer Hyperplasie und Dysplasie der Stimmbänder nicht geeignet wegen überschneidender Werte. Mittlerer PCNA-Labeling-Index für Polypen 1,12 +/- 1,05 Standardabweichung, für Hyperplasie 4,88 +/- 2,02, für milde Dysplasie 2,76 +/- 1,76, für mässige Dysplasie 3,80 +/- 2,03, für schwere Dysplasie 6,12 +/- 3,01 und für invasive Karzinome 19,07 +/- 10,37.	Urano et al. 1996
Larynx	66 = 10 Hyperplasien + 26 H. mit Dysplasie + 30 Karzinome	PCNA-Positivität zeigt einen kontinuierlichen Anstieg von einfachen Hyperplasien des Larynx (6,64%) über dysplastische Hyperplasien (29,36%) bis hin zu Plattenepithelkarzinomen (62,67%).	Yao et al., 1999
Larynx	72	Nicht geeignet zur Diskriminierung bei Neubildungen des Larynx, da PCNA-Positivität in prämaligen Läsionen höher als in normalem Epithel war, aber niedriger als in Karzinomen.	Zhao et al., 1996
Mundhöhle	36 Karzinome	PCNA als sinnvoller Marker wg. Anstieg im Verlauf bei normalen, hyperplastischen und dysplastischen Epithelien der Mundhöhle bis hin zu Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle.	Zain et al, 1995
Zunge	37	PCNA-positiver Status ist kein verlässlicher Parameter zur Feststellung von okkulten Halsmetastasen bei Zungenkarzinomen.	Keum et al., 2006
Konjunktiven	4 = 1 Plattenepithel-Ca, 3 Dysplasien	Höhere PCNA-Werte bei Plattenepithelkarzinom der Konjunktiven, gefolgt von schwerer Dysplasie, gefolgt von leichter Dysplasie. Zusammen mit p53 und AgNOR nützlich zur Erkennung von frühen Veränderungen.	Aoki et al., 1998
Lunge	203 = 114 Karzinome, 89 benigne Befunde	Geeignet zur Unterstützung der Diagnose von Bronchialkarzinomen mit 80.70%, vs. 6.76 (P < 0.001).	Ding X et al., 2001
Lunge	79 = 32 normal + 47 dysplastisch	Beim Vergleich von normalem Bronchialepithel mit dysplastischem Bronchialepithel zeigen sich höhere PCNA-Werte lediglich significant bei mittlerer bis schwerer Dysplasie.	Pendleton et al., 1993
Lunge	79 = 4 Metaplasien ohne Atypie, 12 Metaplasien mit geringgradiger Dysplasie, 15 mit hochgradiger Dysplasie, 15 PlattenepithelCa im frühen Stadium, 33 fortgeschrittene PlattenepithelCa	Zusammen mit p53 und DNA-Ploidy zur frühen Diagnose des Bronchialkarzinomes geeignet. Untersucht als Vergleich: bronchiale Plattenepithelmetaplasie ohne Atypie, mit niedriggradiger Atypie, mit hochgradiger Atypie, Bronchialkarzinom im frühen Stadium, im fortgeschrittenem Stadium.	Hirano et al., 1994
Bindegewebe	70	Als zusätzliches Hilfsmittel beim Grading von Bindegewebstumoren geeignet, aber nicht in der Lage zwischen benignen und gut-differenzierten Tumoren zu unterscheiden.	Korkolopoulou et al., 1994
Knochen	107 = 90 fibröse Dysplasien + 17 osteofibröse Dysplasien	PCNA hilfreich zur Differentialdiagnose zwischen fibröser Dysplasie des Knochens und osteofibröser Dysplasie.	Maki et al, 2001
Niere	109 = 10 normale, 55 prolif. Glomerulonephritis, 44 nicht prolif. Glomerulonephritis	Geeignet zur Unterstützung der Diskriminierung von proliferativer zu nicht-proliferativer Glomerulonephritis mit 47% vs. 27% (p = 0.03).	Nakopoulou et al., 1997

Organ	Fallzahl	Untersucher Zusammenhang bzgl. PCNA	Autor
Niere	78 = 31 akute Abstoßungen, 47 andere Versagensursachen	Geeignet zur Diagnose von akuter Abstoßung von Nierentransplantaten mit 7.9% vs 2.1%.	Thom et al., 1994

In der vorliegenden Arbeit soll es um die diagnostischen Möglichkeiten gehen, die sich für einen PCNA-Einsatz in der Differentialdiagnostik zwischen gutartigen und bösartigen glattmuskulären Tumoren vorwiegend des Uterus (Leiomyom vs. Leiomyosarkom) ergeben. Hintergrund der Themenstellung ist, dass es in der täglichen diagnostischen Routinepathologie immer wieder einmal Fälle gibt, bei denen die Abgrenzung zwischen beiden Tumorentitäten in den Standardfärbungen (z.B. HE und EvG) schwer fällt oder sogar gar nicht sicher möglich ist. Dazu sollen im Vorfeld beide Tumorentitäten kurz skizziert werden.

1.2 Uterine Leiomyome

4-11% aller Frauen weisen im Laufe ihres Lebens eines oder mehrere uterine Leiomyome auf. Der Altersgipfel liegt im 4. bis 5. Lebensjahrzehnt, jedoch wachsen 10% aller Leiomyome auch noch nach der Menopause.

Makroskopisch handelt es sich um umschriebene, gut begrenzte, runde, feste oder hartgummiähnliche Massen grau-weißlichen Gewebes. Typisch ist die wirbelige Erscheinung der Schnittfläche. Eine Größenzunahme in der Schwangerschaft und unter Hormontherapie ist beschrieben. Klinisch auffällig werden sie durch Blutungsstörungen, meist Menorrhagie und Dysmenorrhoe, aber auch azyklische Blutungen, durch Drucksymptomatik auf Blase, Gastrointestinaltrakt, selten auf Venen und Nerven. Sie können jedoch auch zu Sterilität, Fehl- bzw. Frühgeburt, gestörter Kindslage oder Geburtskomplikationen führen. In seltenen Fällen kann es zu einer Polyzythämie und Hypoglykämie kommen. Zu den möglichen Komplikationen zählen die Stieldrehung, die Hämorrhagie und das Pseudo-Meigs-Syndrom.

Histologisch erkennt man gleichförmige Stränge unauffällig wirkender, glattmuskulärer Zellen, die verdrillt wachsen und etwas zellreicher als das gewöhnliche glattmuskuläre Gewebe sind. Sie können durch schmale Stränge von Kollagen getrennt vorliegen. Das Erscheinungsbild kann sich durch verschiedene Ursachen deutlich ändern, z.B. durch verschiedene Degenerationsformen, darunter Atrophie, Ödem, hyaline, zystische oder myxomatöse Degeneration, Verfettung, Fibrosierung oder Verkalkung. Auch Nekrosen sind, gerade bei größeren Myomen, möglich und dann nicht à priori ein Malignitätszeichen.

Mehrere benigne Sonderformen sind beschrieben worden, dazu zählen das Lipo-leiomyom, das zellreiche Leiomyom, das bizarre oder symplastische Leiomyom und das epitheloide Leiomyom mit seinen Unterformen, dem klarzelligen Leiomyom, auch Leiomyoblastom genannt, und dem plexiformen Leiomyom. (Fletcher, 1995)

1.3 Uterine Leiomyosarkome

Bei ihnen handelt es sich um ausgesprochen seltene Tumore mit einer Prävalenz von 0,6/100.000 Frauen über 20 Jahre (Christopherson et al., 1972). Innerhalb der verschiedenen Länder wurden jedoch unterschiedliche Inzidenzen angegeben, so 3,3/100.000 für Frankreich (Coquard et al., 1997), 0,5/100.000 für Finnland (Saksela et al., 1974) und 0,64/100.000 für die USA (Harlow et al., 1986), wobei dort eine leicht erhöhte Inzidenz für schwarze Frauen gegenüber weißen angegeben wurde. Sie stellen insgesamt ca. 2% der malignen Tumore des Uterus (Bartsch et al., 1968). Der Altersgipfel liegt bei ca. 55 Jahren. Die 5-Jahresüberlebensrate schwankt je nach Literatur zwischen 33% (Blom et al., 1998) und 73% (van-Dinh und Woodruff, 1982). Klinisch fallen sie meist, ähnlich wie uterine Myome, durch einen vergrößerten Uterus und Blutungsstörungen auf. Makroskopisch stellen sie sich häufig als schlecht begrenzte, weiche, gelblich-bräunliche Tumore dar (Demopoulos 1994).

Mikroskopisch sieht man oft große, hyperchromatische Nuclei mit einer irregulären Chromatinverteilung, teilweise auch große pleomorphe, anaplastische Tumorzellen.

Die Abgrenzung zu anderen uterinen Sarkomen kann problematisch sein, wird aber durch den Einsatz myogener immunhistochemischer Marker inzwischen erleichtert. Differentialdiagnostisch sind z.B. endometriale Stromasarkome und Fibrosarkome zu nennen. Ferner sind maligne Müllergangstumoren vom homologen bzw. vom heterologen Typ zu bedenken. In vielen im Weiteren auch verwendeten Veröffentlichungen, die die uterinen Sarkome betreffen, wird lediglich auf 3 Untergruppen eingegangen, nämlich die Leiomyosarkome, die endometrialen Stromasarkome und die Müllerschen Mischtumore (engl. mixed Müllerian sarcoma). Der Grund dafür ist, dass es sich bei diesen um die drei häufiger Vorkommenden handelt.

Die FIGO unterteilt die Sarkome in 4 Stadien:

- Stadium I: Sarkom beschränkt auf den Uterus
- Stadium II: Sarkom beschränkt auf Uterus und Cervix
- Stadium III: Sarkom beschränkt auf das kleine Becken, aber nicht Invasion von Blase oder Rektum

- Stadium IV: Ausbreitung außerhalb des kleinen Beckens oder Invasion von Blase oder Rektum

1.4 Abgrenzung von Leiomyomen und Leiomyosarkomen, das Konzept myomatöser Borderline-Tumoren

Die Unterscheidung zwischen Leiomyomen und Leiomyosarkomen kann schwer fallen, gerade im Unterschied zu vielen epithelialen Tumoren, da die morphologischen Unterschiede zwischen gutartigen und bösartigen Läsionen bei mesenchymalen Tumoren nicht sehr groß sein müssen. Kriterien, auf die man sich stützt, sind z.B. die Zelldichte des Tumors, die mitotische Aktivität und das Auftreten von Zellatypien. Hieraus wurde z.B. von Sternberg (1989) ein diagnostisches Konzept entwickelt (Abb. 1-1).

Moderate to marked atypia	Atypical sym-blastic or epithelioid leiomyoma	UMP	Leiomyosarcoma														
Minimal atypia	Cellular Leiomyoma	Uncertain malignant potential															
Cellularity and cytology of normal endometrium	Usual Leiomyoma	Leiomyoma with increased mitotic counts										Uncertain malignant potential					
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	>15
	Mitotic Index (Mitotic figures / 10 hpf)																
	UMP = Uncertain malignant potential																

Abb. 1-1: Schematische Darstellung der Dignitätsbestimmung glattmuskulärer Tumoren (nach Sternberg, 1989). Abszisse: Mitosezahl pro 10 HPF (= Gesichtsfelder mit 400x Mikroskopvergrößerung), Ordinate: zunehmende Zellularität und Atypiegrad.

Dieses definiert neben klaren Fällen die Gruppe der leiomyomatösen Tumore mit "uncertain malignant potential" (UMP). Auch wenn es eine solche Gruppe bei jeder Tumorabgrenzung durch natürliche Unschärfe morphologischer Kriterien immer geben wird, so ist sie als solche doch unbefriedigend und verlangt nach einer besseren, griffigeren Diagnostik, mit der die Zahl solcher Fälle verringert werden kann.

Als Sonderformen fallen in diese Gruppe auch andere Fälle mit einem mikroskopisch unauffälligen, benignen Bild, jedoch einem biologisch zweifelhaften Verhalten, nämlich die peritoneale Leiomyomatose, das sogenannte „metastasierende Leiomyom“ (mit fehlenden Mitosen, aber Ausbildung von Lymphknoten- oder Lungenmetastasen) und die intravenöse Leiomyomatose.

Dem Konzept nach Sternberg (1989) ähnlich sind andere Entwicklungen, die aber im Grunde sehr vergleichbare Kriterien anwandten (Taylor und Norris 1964, Kempson und Bari 1970, Bell und Kempson 1994).

1.5 Gastrointestinale Leiomyosarkome

Gastrointestinale Leiomyosarkome kommen vom Ösophagus bis zum Rektum vor, mit einem Maximum der Häufigkeit im Magen, gefolgt vom Jejunum. Insgesamt handelte es sich um seltene Tumoren bereits zu den Zeiten, als es noch kein GIST-Konzept gab und viele Tumoren noch als Leiomyosarkome akzeptiert wurden, die nach heutigen Vorstellungen keine mehr sind. Die GIST-Tumore werden seit 2001 von den Leiomyomen durch den Nachweis von cKIT, einen Tyrosinkinaserzeptor, welches in 85% der GIST positiv ist, unterschieden (Fletcher et al. 2002).

Mikroskopisch gibt es neben den typischen spindelzelligen Tumoren analog zu den uterinen Leiomyosarkomen ebenfalls epitheloide Differenzierungsformen sowie epitheloide Leiomyoblastome, diese sowohl als benigne als auch als maligne Tumoren.

Nicht in allen Studien sind Leiomyosarkome separat untersucht worden, gelegentlich werden sie aufgrund ihres seltenen Vorkommens mit anderen Tumoren, z.B. GIST-Tumoren gemeinsam in Studien abgehandelt, was die Extraktion der auf sie bezogenen Ergebnisse erschwert.

Auch bei den gastrointestinalen Leiomyosarkomen macht die Differenzierung zwischen malignen und benignen Tumoren Schwierigkeiten, wobei im Vergleich zum Uterus wiederum ähnliche Größen wie Mitosezahl, Nekrose und Atypiegrad und Zelldichte eine Rolle spielen (Ranchod und Kempson 1977).

Die Überlebensraten werden von den verschiedenen Autoren sehr unterschiedlich angegeben und variieren je nach Tumorlokalisation und OP-Möglichkeit deutlich.

Für den Ösophagus werden von Pesarini et al. (1997) 30-40 % für den Fall einer R0-Resektion angegeben. Shiu et al. (1982) fanden bei 41 Patienten mit Myosarkomen des Magens 5-Jahresüberlebensraten von 56 %, 10-Jahresüberlebensraten von 43%, ohne dabei einen Unterschied zwischen Leiomyosarkomen und malignen Leiomyoblastomen festzustellen. Nach kurativer OP von Myosarkomen des Dünndarms betrug die 5-Jahres-ÜLR in ihrer Studie 100% und 67% für Myosarkome des Dickdarmes, sowie 0% für Tumore, die bereits Nachbarorgane infiltriert hatten, trotz ausgedehnter Resektion.

Peitgen et al. (1996) fanden in einer retrospektiven Untersuchung von 21 Patienten mit LMS des Magens eine 5-Jahres-ÜLR von 44%, bei R0-Resektion 60%, bei R1/2-Resektion 22%. Carson et al. (1994) untersuchten 30 LMS sowie 2 Leiomyoblastome des Magens. Die 5-Jahres-ÜLR nach kurativer Operation betrug 34%, nach palliativer OP 10%, mit einer mittleren Überlebenszeit von 40 bzw. 8 Monaten. Weder Chemotherapie noch Bestrahlung noch Debulking führten dort zu einer signifikanten Verlängerung der Überlebenszeit.

Matsuda et al. (1990) fanden bei der retrospektiven Untersuchung von 9 LMS des Dünndarmes eine 5-Jahres-ÜLR von 41,2%.

In einer Metaanalyse mit Auswertung aller verfügbaren Veröffentlichungen der Weltliteratur aus den Jahren 1881 bis 1996 mit einer Gesamtfallzahl von 1074 Leiomyomen des Dünndarmes und 1689 LMS des Dünndarmes fanden Blanchard et al. (2000) eine 27,8%ige 5-Jahres-ÜLR bei 705 der Patienten mit LMS aus 22 zusammengefaßten Studien.

Bei Yeh et al. (2000) fand sich bei insgesamt 40 Patienten mit rektalem LMS, von denen 16 high-grade Tumore und 23 low-grade Tumore waren, eine 5-Jahres-ÜLR von 75 bzw. 46%.

Als allgemein prognoseverschlechternd sind Tumorgrößen von > 5 cm nach Chou und Eng (1995) sowie bzgl. LMS des Magens ebenso 5 cm bei Grant et al. (1991) und Peitgen et al. (1996), bzw. von über 6-7 cm bei LMS des Magens lt. Koga und Otchiai (1995) bzw. von ebenfalls über 6-7 cm bei LMS des Rektums oder Anus lt. Tjandra et al. (1993), jedoch auch ein Grenzwert von >10 cm bei LMS des Magens bei Fujimoto Y et al. (2003) die Invasion in Nachbarorgane, beschrieben bzgl. LMS des Magens bei Koga und Otchiai (1995), die freie Perforation lt. Ranchod und Kempson (1977) und die R1-Resektion nach Chou und Eng (1995) sowie Brucher et al. (1998), anerkannt, ferner das Auftreten von Fernmetastasen ebenfalls bei Brucher et al. (1998). Aus morphologischer Sicht sind Zellreichtum lt. Ranchod und

Kempson (1977), vermehrte Zelltypen lt. Koga und Otchiai (1995) bzgl. LMS des Magens lt. Fujimoto et al. (2003), sowie Nekrosen lt. Ranchod und Kempson (1977) in der Untergruppe der LMS des Magens lt. Fujimoto et al. (2003) relevant.

2 Ziel der Untersuchung

Aus dem bisher Gesagten ist ersichtlich, dass es zusätzlicher Kriterien zur Verbesserung der Unterscheidung von Leiomyosarkomen und Leiomyomen und zusätzlicher Prognosekriterien bedarf. Gegenstand dieser Arbeit ist daher die Untersuchung von uterinen Leiomyomen sowie Leiomyosarkomen aus dem uterinen und gastrointestinalen Bereich mittels PCNA, einem der in wissenschaftlicher Erprobung befindlichen Proliferationsmarker, mit dessen Verwendung man sich eine objektivere Darstellung proliferativer Aspekte erhofft. In Bezug dazu wurden klinische und pathologische Parameter gesetzt.

Die hier vorgelegte Arbeit ist dabei Teil einer Verbundstudie, bei der in anderen Teilprojekten eine standardisierte Bestimmung der mitotischen Aktivität sowie eine immunhistometrische Quantifizierung der MIB-1-Expression und der Apoptoserate (TUNEL-Methode) vorgenommen wurden.

3 Material

Die einfachen Chemikalien, wie die der absteigenden Alkoholreihe mit Ethanol 70%, Ethanol 96%, Ethanol 100%, Xylol, sowie Methanol und Wasserstoffperoxyd zum Blocken der Erythrozytenperoxidase sind von der Krankenhausapotheke der Universitätsklinik Aachen.

Die weiteren Chemikalien sind von einer Reihe verschiedener Firmern:

Phosphate buffered saline (PBS) Dulbecco Instamed 9,55 g/l, der Biochrom AG, Berlin

Bovine serum albumine (BSA) der Fa. Aurion, Seligenstadt, Code 900011, das in einer 10% Lösung verwendet wurde.

PCNA Klon PC10 sowie Anti-Goat-Anti-Mouse-Biotin der Fa. DAKO, Hamburg

Avidin-Biotin-Komplex der Fa. Vector, Burlingame

Tris(hydroxymethyl)-aminomethan und 1-molare Salzsäure der Fa. Merck, Darmstadt

DAB (3,3'-Diaminobenzidine)-Tabletten 10mg/Tbl der Fa. Sigma-Aldrich, St. Louis

Herstellung der 4 µm Schnittserien mit Leica, Wetzlar, RM 2145 Microtom

bzw. am Reichert-Jung, Wien, Microtom 1150 / Autocut

Vitro-Clud, Einschlussmittel für mikroskopische Technik der Fa. Langenbrinck, Emmendingen

Die Computer-Hardware kam ebenfalls von einer Reihe verschiedener Firmen:

CM2-TV-Bildanalyse-System der Firmen Helmut Hund, Wetzlar und Abos, München

H 500-LL-Mikroskop ebenfalls der Fa. Helmut Hund mit 20-fach Objektiv, einer daran angeschlossenen Graustufen-Videokamera der Fa. Pulnix, Alzenau TM-765, einem softwaregesteuerten Monochromator, einem Kondensator, einem Filterrad mit 650 nm-Rotfilter und 550-nm-Grünfilter, die mit Neutralgläsern gedämpft werden können, einem VGA-Monitor und einem IBM-kompatiblen PC mit Framegrabber der Fa LFS-AT Leutron Vision, Konstanz.

Die Bildverarbeitung erfolgte mit dem RCA-Programm der Fa. Abos.

4 Methoden

4.1 Patientengut

Untersucht wurden in dieser Studie 116 Präparate von 105 Patienten, davon 52 Patienten mit uterinen Leiomyomen, wovon 10 als zellreich beschrieben sind, 2 Patienten mit benignen epitheloiden Leiomyblastomen des Magens, 33 Patienten mit uterinen Leiomyosarkomen mit insgesamt 39 Präparaten aus 39 Eingriffen sowie 18 Patienten mit gastrointestinalen Leiomyosarkomen mit insgesamt 23 Präparaten aus 23 Eingriffen.

Die Patienten sind in der Zeit von 1984 bis 1996 in den Abteilungen für Gynäkologie des Klinikums der RWTH Aachen, des Marienhospitals Aachen, des Luisenhospitals Aachen, des Bethlehem Krankenhauses Stolberg und des Antonius-Hospitals Eschweiler bzw. in den chirurgischen Kliniken der RWTH Aachen, des Bethlehem-Krankenhauses Stolberg, des Luisenhospitals Aachen und des St.-Antonius-Hospitals Eschweiler operiert worden. Mehrere Tru-Cut-Biopsien wurden durch die Klinik für radiologische Diagnostik der RWTH Aachen gewonnen.

Ein Follow-up der Patienten mit malignen Tumoren gelang in 25 Fällen. Die Datengewinnung gestaltete sich hier aufgrund des Umzugs von Patienten, teilweisem Wohnort im Ausland (Belgien) und fehlender bzw. verlorengegangener Akten schwierig.

4.2 Klinische und pathologische Parameter

Die Einteilung in benigne und maligne Tumoren, die im Rahmen der histologischen Erstbegutachtung der eingesandten Präparate erfolgt war, wurde zur Sicherung der Diagnose und der Repräsentativität des noch aufgefundenen, nicht immer kompletten Restmaterials noch einmal gesichtet und gemeinsam mit einem Pathologen nachmikroskopiert. Bei der Auswertung wurden auch bereits vorhandene Sonderfärbungen bzw. immunhistochemische Färbungen miterfasst und berücksichtigt.

Hierbei handelte es sich bei den uterinen Fällen insbesondere um Anwendungen von Desmin und/oder Aktin zur Sicherung der glattmuskulären Herkunft (n = 6 Färbungen). Bei den gastrointestinalen Fällen wurde diverse Male eine S-100-Negativität in Kontrast zu einer Desmin- und/oder Aktin-Positivität diagnostisch genutzt (n = 15 Färbungen). Ferner wurden selten auch Keratin und Vimentin mit eingesetzt. CD34 und CD117 (c-kit) waren seinerzeit noch nicht im Einsatz.

Den als maligne akzeptierten Läsionen wurde semiquantitativ ein Malignitätsgrad von G1 (hoch differenziert), G2 (mäßig differenziert) oder G3 (gering differenziert) zugeordnet.

Mittels eines standardisierten Auswertungsbogens wurden bei den einzelnen Patienten die folgenden Parameter erfasst:

- Datum der Erstdiagnose
- Datum der Operation
- Art der Operation
- Entfernung im Gesunden
- Größe des Tumors bzw. Uterus
- Lokalisation und Datum der Rezidive
- adjuvante bzw. palliative Therapie
- Sterbedatum und Todesursache.

4.3 Technisches Vorgehen

Es wurde eine immunhistochemische, quantitative, computergestützte Analyse der mittels PCNA angefärbten Kerne durchgeführt und so ein Vergleich zwischen benignen und malignen Tumoren, sowie innerhalb der Tumore bezüglich ihrer Entität, sowie ihres Gradings und klinischer Parameter durchgeführt. Die im Vorfeld notwendigen Arbeitsgänge sollen im Folgenden nachgezeichnet werden.

4.3.1 Sialinisieren der Objektträger

Funktion: Bessere Anhaftung der Gewebsschnitte an die Objektträger, um das Ablösen der Schnitte von den Objektträgern zu verhindern.

Durchführung:

1. Aceton-Lösung für 5 Minuten
2. Trocknen im Brutschrank
3. 450 ml Aceton und 50 ml 3(Triethoxysilyl)-Propylamin-Lösung für 5 Minuten
4. Aceton-Lösung für 2 Minuten

5. Nochmalige Aceton-Lösung für 2 Minuten
6. Aqua dest. für 1 Minute
7. Trocknen im Brutschrank.

4.3.2 Herstellen der Schnittserien

Vor der Färbung wurden von den paraffinierten Blöcken am Leica RM 2145 Microtom bzw. am Reichert-Jung Microtom 1150 / Autocut 4 µm dünne Schnittserien hergestellt, die auf sialinisierte Objektträger aufgezogen wurden. Anschließend wurden sie für 24 Stunden in den Brutschrank bei 60 °C gestellt, bevor sie gefärbt wurden.

4.3.3 Entparaffinierung und Rehydrierung

Funktion: Befreiung des Gewebes von Paraffin mit Hilfe einer absteigenden Alkoholreihe.

Durchführung:

1. Versetzung mit Xylol in der Küvette für 10 Minuten
2. Versetzung mit Ethanol 100 % für 10 Minuten
3. Versetzung mit Ethanol 96% für 10 Minuten
4. Versetzung mit Ethanol 70% für 5 Minuten
5. Spülung mit Aqua dest.

4.3.4 Hemmung der endogenen Peroxidase

Funktion: Hemmung der unspezifischen Bindung des sekundären Antikörpers an die endogene Peroxydase der Erythrozyten.

Durchführung: Versetzung mit 58 ml Methanol und 2 ml Wasserstoffperoxyd in der Küvette für 10 Minuten.

4.3.5 Immunhistochemische Färbung

4.3.5.1 Inkubieren mit dem Primärantikörper PCNA

Inkubation mit 100 µl PCNA 1:100 verdünnt mit 1%iger BSA/PBS-Lösung für 45 Minuten. Anschließend 2 maliges Spülen mit je 2 ml PBS.

4.3.5.2 Inkubieren mit dem Sekundärantikörper

Inkubation mit 100µl Anti-Goat-Anti-Mouse-Biotin 1:500 verdünnt mit 1%iger BSA/PBS-Lösung für 30 Minuten. Wiederum anschließend 2 maliges Spülen mit 2 ml PBS.

4.3.5.3 Inkubieren mit dem Tertiärantikörper

Inkubation mit 100 ml Avidin-Biotin-Komplex 1:1:50, verdünnt wiederum mit 1%iger BSA/PBS, welcher mindestens 30 Minuten vorher hergestellt worden ist. Einwirkzeit 30 Minuten. Anschließend wiederum 2maliges Spülen mit je 2 ml PBS, dann Einstellen der Objektträger in PBS-Lösung.

4.3.5.4 Anfärbung mit DAB

Herstellung und Aktivierung der DAB-Lösung: Herstellen eines Tris-Puffers aus 0,3 g Tris(hydroxymethyl)-aminomethan und 50 ml Aqua dest., dessen pH-Wert mit 1-molarer Salzsäure auf 7,6 eingestellt wird. Anschließend Lösung von 3 Tabletten DAB (3,3'-Diaminobenzidine-Tabletten 10mg/Tbl) unter Lichtschutz. Aktivierung mit 50 µl Wasserstoffperoxyd.

Nun Inkubierung der Präparate für 90 Sekunden. Sofortige anschließende Stoppspülung mit Aqua dest.

4.3.5.5 Gegenfärben mit Methylgrün

Gegenfärbung mit Methylgrün für 15 Minuten. Darauffolgend 3malige Spülung mit Butanol. Nun Inkubation mit Xylol für 3 Minuten.

4.3.5.6 Eindeckeln

Eindeckeln mit Vitro-Clud.

4.3.6 Computergestützte Bildanalyse

Die Auswertung der Schnitte erfolgte mit dem CM2-TV-Bildanalyse-System der Firmen Hund und Abos. Dabei handelt es sich um ein computergestütztes System zur Quantifizierung immunhistochemischer Färbungen mittels On-Screen-Zytometrie. Neben einer automatischen Erfassung der Zellkerne ist eine Nachbearbeitung von Hand möglich.

Die Hardware besteht in diesem Fall aus einem H 500-LL-Mikroskop der Fa. Hund bzw. Wetzlar mit 20-fach Objektiv, einer daran angeschlossenen Graustufen-Videokamera der Fa. Pulnix TM-765, einem softwaregesteuerten Monochromator, einem Kondensator, einem Filterrad mit 650 nm-Rotfilter und 550-nm-Grünfilter, die mit Neutralgläsern gedämpft werden können, einem VGA-Monitor und einem IBM-kompatiblen PC mit Framegrabber der Fa LFS-AT Leutron Vision. Als Software wurde das RCA-Programm der Fa. Abos, das in Zusammenarbeit mit dem Institut der Pathologie der RWTH Aachen entwickelt wurde, benutzt. Dieses Programm ermöglicht für die Färbung im Falle von PCNA die Erkennung von Zellkernen im Rotfilter und die Erkennung positiver Zellkerne im Grünfilter, so dass daraus der Anteil der positiv-gefärbten Zellkerne erkennbar wird, wie auch die Anzahl der Zellkerne und der positiven Zellkerne. Ein einzelnes ausgemessenes Gesichtsfeld hat dabei die Größe $0,22 \times 0,22 \text{ mm}^2$ bei einer Gesamtvergrößerung von 800. Weil es sich um größegeeichte Felder handelt, ist ebenfalls die Messung der Kerngröße möglich.

Da von der automatischen Bilderkennung Fehler gemacht werden können, ist nach Erfassung des Gesichtsfeldes mit dem PC im Rotfilter die manuelle Nachbearbeitung möglich, welche es erlaubt, eine Eichung durchzuführen, z.B. fehlerhaft als positiv erkannten Zelldetritus zu löschen oder nicht erkannte Zellkerne zu erkennen und dergleichen mehr.

Im Einzelnen sind folgende Funktionen möglich: „close holes“ zum Schließen von Lücken, z.B. bei Zellkerneinschlüssen, „Cleaning“ zum „Säubern des Bildes“, dabei werden sehr kleine, häufig fehlerhaft als Zellkerne erkannte Objekte, z.B. Detritus, entfernt, „Opening“, führt zu einer Vergrößerung des erkannten Zellkernes durch Glätten der Masken durch Dilatation, „Closing“ ist dementsprechend der umgekehrte Vorgang, „Erosion“ führt zu einer Verkleinerung der Maske, um eine einstellbare Pixelgröße, „Dilatation“ zum umgekehrten Vorgang.

Im anschließenden Messvorgang im Grünfilter sind für den Betrachter auf dem Bildschirm nur noch die positiven Zellkerne als braun erkennbar vor grünem Hintergrund. Jetzt wird die Messung durchgeführt. Das Programm gibt dabei jedem Pixel einen Graustufenwert (optical density) nach dem Lambert-Beer-Gesetz.

Als Unterergebnis dieser Messung erhält man jetzt 4 Werte:

- die Gesamtanzahl der Zellkerne in diesem Gesichtsfeld
- die Gesamtfläche der Zellkerne in diesem Gesichtsfeld
- den prozentualen Anteil der positiven Zellkerne
- den prozentualen Anteil der positiven Fläche.

Insgesamt werden auf diese Weise 20 Gesichtsfelder vermessen, meanderförmig über das Präparat verteilt.

Zu Beginn der Messung kommt der Festlegung des MOD-Wertes (mean optical density) besondere Bedeutung zu. Der MOD-Wert legt fest, ab welcher Farbintensität ein Zellkern als positiv gewertet wird. Seine Festlegung erfolgt im Vergleich zwischen vom Untersucher lichtmikroskopisch als positiv erkannter Zelle und vom Computer als positiv angesehener Zelle. Über eine Erhöhung bzw. Erniedrigung des MOD-Wertes wird für den Schnitt eine möglichst optimale Einstellung erreicht, bei der lichtmikroskopisch positive Zellen vom PC als positiv erkannt werden und gleichzeitig lichtmikroskopisch negative als negativ erkannt werden. Diesem Wert kommt für PCNA aufgrund der unterschiedlichen Farbtiefe der Zellkerne eine besondere Bedeutung zu. Wichtig ist, dass der MOD-Wert bei der ganzen Messung eines Schnittes beibehalten wird und nicht bei jeder Einstellung neu angepasst wird.

Als Ergebnis erhält man die automatische Datenauswertung und die Dokumentation des Messresultates in einem Ausdruck, der die folgenden Werte enthält:

- Gesamtanteil der positiven Zellen an allen Zellen (receptor positive fraction)
- Anzahl der gemessenen Gesichtsfelder, in diesem Fall 20 (number of FOV)
- Gesamtanzahl der gemessenen Kerne (number of nuclei, analysis)
- Gesamtanzahl der gemessenen positiven Kerne (number of nuclei, positive)
- Gesamtfläche der gemessenen Kerne (total size of nuclei, analysis)
- Gesamtfläche der gemessenen positiven Kerne (total size of nuclei, positive)

- Mittlere Größe der gemessenen Kerne (mean size of nuclei, analysis)
- Mittlere Größe der gemessenen positiven Kerne (mean size of nuclei, positive)
- MOD-Wert (receptor MOD-threshold)
- Minimalwert der durchschnittlich positiven Zellkerne in den 20 gemessenen Feldern in %
- Maximalwert der durchschnittlich positiven Zellkerne in den 20 gemessenen Feldern
- Modalwert der durchschnittlich positiven Zellkerne in den 20 gemessenen Feldern.

Dazu erhält man als Ausdruck 2 Graphiken. Die erste stellt die jeweilige optische Dichte der summierten Zellkerne mit Markierung des positiven Anteils dar. Die zweite zeigt den Anteil der positiven Zellen im Verhältnis zur Gesamtzellzahl. Nicht auf dem Ausdruck vermerkt, aber dennoch vom Programm generiert werden die folgenden Werte:

- die Standardabweichung der durchschnittlich positiven Zellkerne in den 20 gemessenen Feldern
- die Varianz
- der Variationskoeffizient (coefficient of variation)
- die Schiefe (skewness)
- die Wölbung (kurtosis).

Mit Hilfe der angegebenen Daten lassen sich leicht die im Weiteren verwendeten Ergebnisse für:

- $PCNA_{areamax}$, die maximal positive Kernfläche in den 20 Gesichtsfeldern in %
- $PCNA_{areamin}$, die minimal positive Kernfläche in den 20 Gesichtsfeldern in %
- $PCNA_{areamed}$, die mittlere positive Kernfläche in den 20 Gesichtsfeldern in %
- $PCNA_{cellsmax}$, die maximal positive Kernzahl in den 20 Gesichtsfeldern in %
- $PCNA_{cellsmmin}$, die minimal positive Kernzahl in den 20 Gesichtsfeldern in %
- $PCNA_{cellsmmed}$, die mittlere positive Kernzahl in den 20 Gesichtsfeldern in %

errechnen.

4.4 Statistische Auswertung

Die statistischen Untersuchungen wurden mit den Programmpaketen Excel (Microsoft® Excel 2002, Copyright Microsoft Corporation) und bias-online (BiAS für Windows®, Version 8.4.2, epsilon-Verlag, KGU Frankfurt, Abteilung Biomathematik) realisiert.

An biometrischen Grunddaten standen zunächst alle Parameter der deskriptiven Statistik, d.h. Modalwert, Median, Mittelwert, Minimal- und Maximalwert, Varianz, Standardabweichung und Variationskoeffizient sowie Angaben zu allen gewünschten Perzentilen zur Verfügung.

Zur Analyse von Zusammenhängen zwischen Parametern bzw. den Diagnosegruppen wurden der t-Test, der Pearson-Korrelationskoeffizient, der Wilcoxon-Vorzeichen-Rangsummentest und der exakte Test nach Fisher, da mit diesem auch kleine Stichprobenumfänge, bei denen keine Normalverteilung angenommen werden kann, untersucht werden können, angewandt.

Mit Hilfe des generalisierten Wilcoxon-Breslow-Tests (Breslow 1970) wurden Überlebenszeiten nach der „product limit method“ (Kaplan und Meier 1958) mit dem Ziel geschätzt, Überlebenskurven von Patientengruppen zwischen einzelnen definierten Parametern zu vergleichen. Zur Gruppenbildung der Patienten wurden als Grenzwerte für die einzelnen Parameter Grenzen durch Quantilisierung der Parameterverteilung im Verhältnis 1: 2: 1 ermittelt.

Statistische Signifikanz wurde jeweils für ein p-Niveau von $p < 0.05$ angenommen, entsprechend einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $< 5\%$, die Nullhypothese fälschlich zu verwerfen.

Wegen der in dieser Arbeit vorliegenden multiplen Testproblematik, welche immer dann vorliegt, wenn anhand eines Kollektivs mehrere statistische Tests bzgl. verschiedener Zielparameter durchgeführt werden, wurde die statistische Auswertung explorativ angesetzt. Um als signifikant nachgewiesene Thesen von dem hier untersuchten Patientenkollektiv auf die Grundgesamtheit zu verallgemeinern, sind daher weitere Studien notwendig.

5 Ergebnisse

5.1 Allgemeines

Im Folgenden nun zunächst die Darstellung der gefundenen klinischen und pathologischen Parameter der Patientinnen und Patienten.

5.1.1 Alter und Geschlechtsverteilung

Die Patientinnen mit Leiomyomen waren im Durchschnitt 46,7 +/- 10,7 (SD) Jahre alt und deckten ein Erkrankungsalter von 25 bis 74 Jahren ab. Diejenigen, bei denen ein uterines Leiomyosarkom diagnostiziert worden war, waren mit 53,1 +/- 13,7 Jahren etwas älter, wobei das Erkrankungsalter von 29 bis 87 Jahre reichte. Noch etwas höher im Altersdurchschnitt lagen die Patienten mit gastrointestinalen Leiomyosarkomen (10 Frauen, 8 Männer) mit 61 +/- 8,9 Jahren und Erkrankungsaltern von 40 bis 80 Jahre. Die beiden Patienten mit gastrointestinalen Leiomyoblastomen, ein Mann und eine Frau, waren 60 bzw. 67 Jahre alt.

5.1.2 Tumorgröße / Uterusgewicht

Das durchschnittliche Uterusgewicht bei Leiomyosarkomen betrug 697 g (82 g bis 3000 g), bei Leiomyomen 292 g (20 g bis 2150 g).

Die durchschnittliche Größe der uterinen Leiomyosarkome betrug 7,2 cm (0,5 cm bis 26 cm), die der gastrointestinalen Leiomyosarkome 6,6 cm (1,5 bis 15,5 cm).

5.1.3 Lokalisation und operative Therapie

Von den 33 Patientinnen mit uterinen Leiomyosarkomen erhielten 12 eine einfache Hysterektomie (HE), 9 eine HE mit Adnexen beidseits, 1 eine HE mit einseitiger Adnektomie, sechs eine Myomenukleation ohne simultane Hysterektomie, eine eine HE mit Adnexektomie plus Omentektomie plus Appendektomie, eine eine Exzision bei Rezidiv und zwei eine Darmteilresektion bei Rezidiv.

Von den 18 Patienten mit gastrointestinalem Leiomyosarkom erhielten von den sieben Magenpatienten fünf eine Magenteilresektion, einer eine totale Gastrektomie mit Leber-PE und einer eine Magenteilresektion mit Splenektomie und Leberlappenteilresektion (bei per continuitatem Infiltration der Leber). Die

beiden Patienten mit LMS im Bereich des Rektums erhielten lokale Exzisionen. Die fünf Patienten mit LMS im Bereich des Dünndarms erhielten Dünndarmteilresektionen, lediglich der Patient mit dem duodenalen LMS erhielt eine lokale Exzision. Ein LMS war im Bereich des Coecum lokalisiert und wurde mit einer Coecumresektion plus Blasendachresektion plus Adnexektomie behandelt.

5.1.4 Nachbehandlung und Verlauf

Ein Follow-up gelang in 16 Fällen beim uterinen LMS und in neun Fällen beim gastrointestinalen LMS. Von den Patientinnen mit uterinen LMS erhielten neun Patientinnen eine Radiatio und vier davon zusätzlich eine Chemotherapie. Eine Chemotherapie ohne Radiatio erhielt keine Patientin.

Von den Patienten mit GI-LMS erhielten zwei Patienten ein Radiatio, davon einer zusätzlich eine Chemotherapie.

Im Verlauf traten bei den uterinen Leiomyosarkomen fünfmal Lokalrezidive auf, ferner sechsmal Lungenmetastasen und je einmal Leber-, Hirn- bzw. Knochenmetastasen.

Bei den gastrointestinalen Leiomyosarkomen fanden sich vier Lokalrezidive, zweimal kam es zu Lungenmetastasen, in vier weiteren Fällen war bei Diagnosestellung bereits eine per-continuitatem-Infiltration der Leber vom Magen aus nachweisbar.

Eine Lymphknotenbeteiligung lag bei keinem der gastrointestinalen LMS-Fälle vor, in einem Fall eines uterinen LMS, das mit einer parailiakalen Lymphonodektomie behandelt wurde, wurde eine solitäre Lymphknotenmikrometastase festgestellt.

5.1.5 Beobachtungszeitraum

Von den Patientinnen mit uterinen LMS, bei denen ein Follow-up gelang, starben 7 Patientinnen am Sarkom, eine Patientin erlag unabhängig einem Myokardinfarkt nach 19 Monaten in einer bereits metastasierten Situation. Im Durchschnitt lebten die Patienten 19,75 Monate nach Erstdiagnose (zwischen 2 und 60 Monaten).

Die 9 Patientinnen, die nicht verstarben, wurden im Schnitt 64,33 Monate nachbeobachtet (zwischen 8 und 148 Monaten).

Von den Patienten mit gastrointestinalen LMS, bei denen ein Follow-up gelang, starben 3 am Sarkom nach im Schnitt 25 Monaten (zwischen 6 und 48 Monaten).

Die 5 Patienten, die nicht verstarben, wurden im Schnitt 66,8 Monate nachbeobachtet (zwischen 61 und 76 Monaten).

5.1.6 Grading

Die Gradingergebnisse der Leiomyosarkome sind im Folgenden aufgeführt.

Tabelle 5-1: Grading der untersuchten Leiomyosarkome

Grading der uterinen LMS		Grading der gastrointestinalen LMS	
G	Anzahl	G	Anzahl
1	19	1	8
1-2	2	1-2	3
2	4	2	4
2-3	1	2-3	0
3	7	3	3

Die Mittelwerte beider Entitäten ergab jeweils 1,6, so dass sich keine groben Unterschiede im Grading nachweisen ließen.

5.2 Methodische Untersuchungen zur Korrelation von PCNA-basierten Messwerten untereinander

Um zu untersuchen, ob aus der Fülle teils ähnlich definierter Variablen (z.B. $PCNA_{\text{cellsmcd}}$ und $PCNA_{\text{areamed}}$) bestimmte als repräsentativ ausgewählt werden konnten, wurden verschiedene Korrelationen zwischen Variablen bestimmt, statistisch ausgewertet und graphisch dargestellt.

Zunächst soll dabei die Beziehung zwischen der zellzahlbasierten und der flächenbasierten Mittelwertauswertung betrachtet werden, danach diejenige zwischen den Mittelwerten und dem Wert der maximal ausgeprägten PCNA-Positivität.

5.2.1 Korrelation der zellzahlbasierten ($PCNA_{\text{cellsmcd}}$) und flächenbasierten ($PCNA_{\text{areamed}}$) Mittelwerte

Bei der Analyse von Korrelationen zwischen $PCNA_{\text{cellsmcd}}$ und $PCNA_{\text{areamed}}$ zeigte sich in allen drei Untergruppen ein sehr hoher Pearson'scher Korrelationskoeffizient (0,988 r, p = 0,013 bzw. 0,0039).

Auch die Mittelwerte der jeweiligen Messwerte lagen fast exakt gleich. Für die uterinen Leiomyome (n = 52) betragen sie für $PCNA_{areamed}$ 2,0%, für $PCNA_{cellsmed}$ 1,9%. Die entsprechenden Wertepaare für die uterinen Leiomyosarkome betragen (n = 33) 16,3% und 14,7%, für die gastrointestinalen Leiomyosarkome (n = 18) 19,1% und 16,4%.

Die genauen Werte und die entsprechenden Datenverteilungen sind in Tabelle 5-2, Tabelle 5-3, Tabelle 5-4 und den Abb. 5-1, dargestellt.

Der Vergleich zeigt, dass zwischen $PCNA_{cellsmed}$ und $PCNA_{areamed}$ stets auch graphisch, nicht nur statistisch eine sehr enge Korrelation besteht, obgleich ein Trend besteht, dass die Werte für $PCNA_{areamed}$ etwas höher ausfallen.

Dennoch erscheint es für die weiteren klinischen Auswertungen gerechtfertigt und geboten, sich auf eine der beiden Variablen zu beschränken. In unserer Arbeitsgruppe war dieses, gerade weil es auch biologische Bezüge direkter abbildet, die zellzahlbezogene Auswertung ($PCNA_{cellsmed}$).

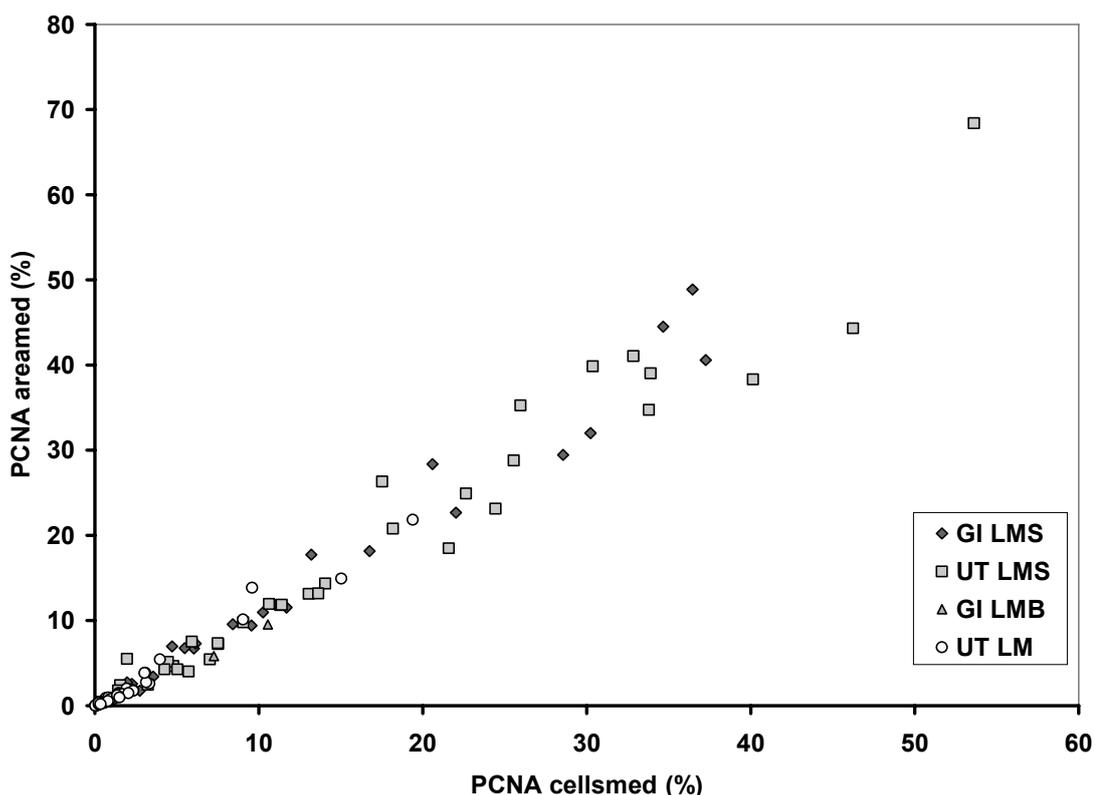


Abb. 5-1 Graphische Darstellung der Datenverteilung des Vergleichs der Variablen $PCNA_{areamed}$ und $PCNA_{cellsmed}$ bei 52 uterinen Leiomyomen, bei 33 uterinen Leiomyosarkomen, bei 18 gastrointestinalen Leiomyosarkomen sowie 2 gastrointestinalen Leiomyoblastomen

Tabelle 5-2 Datenverteilung des Vergleichs der Variablen $PCNA_{areamed}$ und $PCNA_{cellsmed}$ bei 52 uterinen Leiomyomen, $r = 0,988$, $p < 0,0001$

Uterine Leiomyome	$PCNA_{areamed}$	$PCNA_{cellsmed}$
Mittelwert [%]	2,017	1,945
Varianz	17,31	13,25

Tabelle 5-3 Datenverteilung des Vergleichs der Variable $PCNA_{areamed}$ und $PCNA_{cellsmed}$ bei 33 uterinen Leiomyosarkomen, $r = 0,980$, $p = 0,013$

Uterine Leiomyosarkome	$PCNA_{areamed}$	$PCNA_{cellsmed}$
Mittelwert [%]	16,25	14,71
Varianz	264,44	198,24

Tabelle 5-4 Datenverteilung des Vergleichs der Variablen $PCNA_{areamed}$ und $PCNA_{cellsmed}$ bei 18 gastrointestinalen Leiomyosarkomen, $r = 0,982$, $p = 0,0039$

Gastrointestinale Leiomyosarkome	$PCNA_{cellsmed}$	$PCNA_{areamed}$
Mittelwert [%]	16,43	19,07
Varianz	151,94	225,17

5.2.2 Korrelation der zellzahlbasierten ($PCNA_{cellsmax}$) und flächenbasierten ($PCNA_{areamax}$) Maximalwerte zu den Mittelwerten

Im vorhergehenden Kapitel wurde die Korrelation zwischen den Mittelwerten der PCNA-Meßwerte der zellzahl- und flächenbasierten Messungen erläutert. Hier folgt nun der Vergleich der Messwertparameter innerhalb der Zielgruppen untereinander und es zeigt sich, dass die Mittelwerte von $PCNA_{cellsmed}$ bzw. $PCNA_{areamed}$ die größten Korrelationen aufweisen und sich daher für die weitere genauere Betrachtung besser eignen, als beispielsweise die Mittelwerte der Maximalmessungen ($PCNA_{cellsmax}$, $PCNA_{areamax}$), die in der graphischen Darstellung weiter verstreute Punktdiagramme zeigen, erkennbar an der steigenden Varianz. In den folgenden Kapiteln wird somit im Wesentlichen auf $PCNA_{cellsmed}$ sowie $PCNA_{areamed}$ eingegangen. Nun zunächst also der Vergleich der Messweltergebnisse der zellzahlbasierten Mittelwerte und Maximalwerte, dann der flächenbasierten Mittelwerte und Maximalwerte gefolgt vom Vergleich der Maximalwerte untereinander.

Tabelle 5-5 Datenverteilung des Vergleichs der Variablen $PCNA_{\text{cellsmax}}$ und $PCNA_{\text{cellsmed}}$ bei 52 uterinen Leiomyomen, $r = 0,914$, $p < 0,0001$

Uterine Leiomyome	$PCNA_{\text{cellsmax}}$	$PCNA_{\text{cellsmed}}$
Mittelwert	6,10	1,95
Varianz	104,47	13,25

Tabelle 5-6 Datenverteilung des Vergleichs der Variablen $PCNA_{\text{cellsmax}}$ und $PCNA_{\text{cellsmed}}$ bei 33 uterinen Leiomyosarkomen, $r = 0,85$, $p < 0,0001$

Uterine Leiomyosarkome	$PCNA_{\text{cellsmax}}$	$PCNA_{\text{cellsmed}}$
Mittelwert	30,96	14,71
Varianz	441,47	198,24

Tabelle 5-7 Datenverteilung des Vergleichs der Variablen $PCNA_{\text{cellsmax}}$ und $PCNA_{\text{cellsmed}}$ bei 18 gastrointestinalen Leiomyosarkomen, $r = 0,939$, $p < 0,0001$

Gastrointestinale Leiomyosarkome	$PCNA_{\text{cellsmax}}$	$PCNA_{\text{cellsmed}}$
Mittelwert	34,82	16,43
Varianz	465,74	151,94

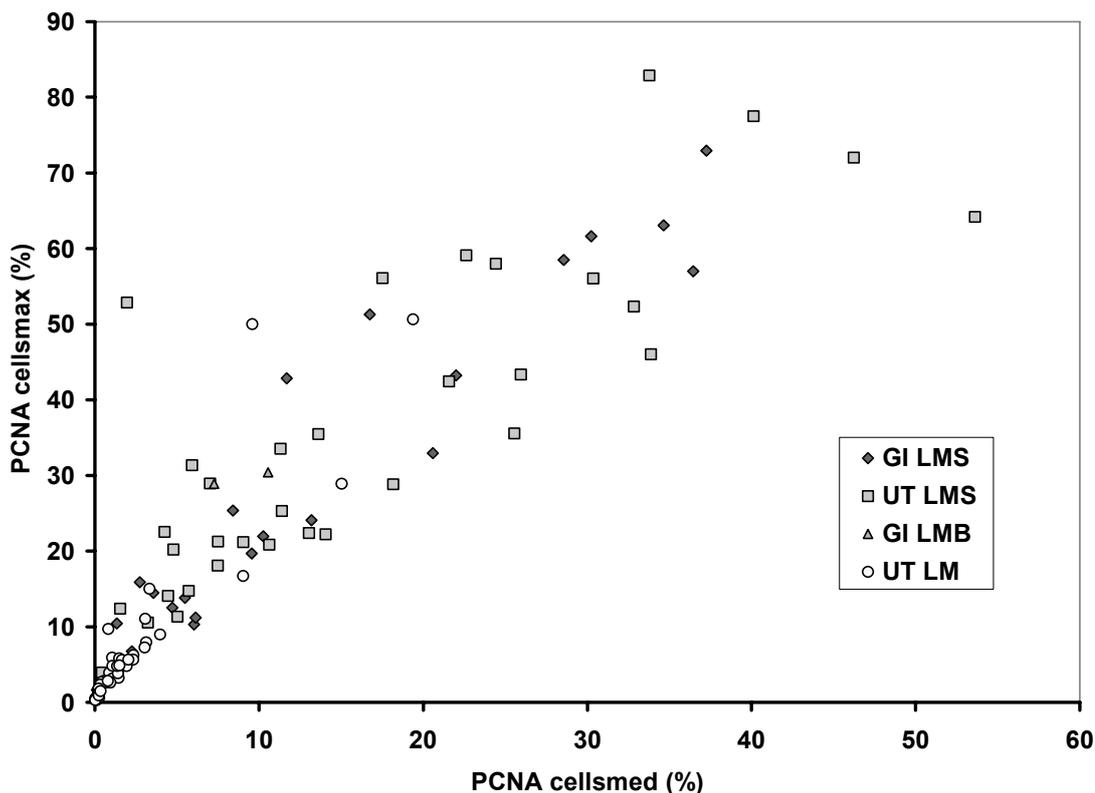


Abb. 5-2: Graphische Darstellung der Datenverteilung des Vergleichs der Variablen $PCNA_{\text{cellsmed}}$ zu $PCNA_{\text{cellsmax}}$ bei 52 uterinen Leiomyomen, 33 uterinen Leiomyosarkomen, 18 gastrointestinalen Leiomyosarkomen sowie 2 gastrointestinalen Leiomyoblastomen

Tabelle 5-8 Datenverteilung des Vergleichs zwischen $PCNA_{areamed}$ und $PCNA_{areamax}$ bei 52 uterinen Leiomyomen, $r = 0,95$, $p < 0,0001$

Uterine Leiomyome	$PCNA_{areamed}$	$PCNA_{areamax}$
Mittelwert	2,017	6,20
Varianz	17,32	117,99

Tabelle 5-9 Datenverteilung des Vergleichs zwischen $PCNA_{areamed}$ und $PCNA_{areamax}$ bei 33 uterinen LMS, $r = 0,89$, $p < 0,0001$

Uterine Leiomyosarkome	$PCNA_{areamed}$	$PCNA_{areamax}$
Mittelwert	16,25	33,20
Varianz	264,44	547,54

Tabelle 5-10 Datenverteilung des Vergleichs zwischen $PCNA_{areamed}$ und $PCNA_{areamax}$ bei 18 gastrointestinalen LMS, $r = 0,93$, $p < 0,0001$

Gastrointestinale Leiomyosarkome	$PCNA_{areamed}$	$PCNA_{areamax}$
Mittelwert	19,07	37,41
Varianz	225,17	516,01

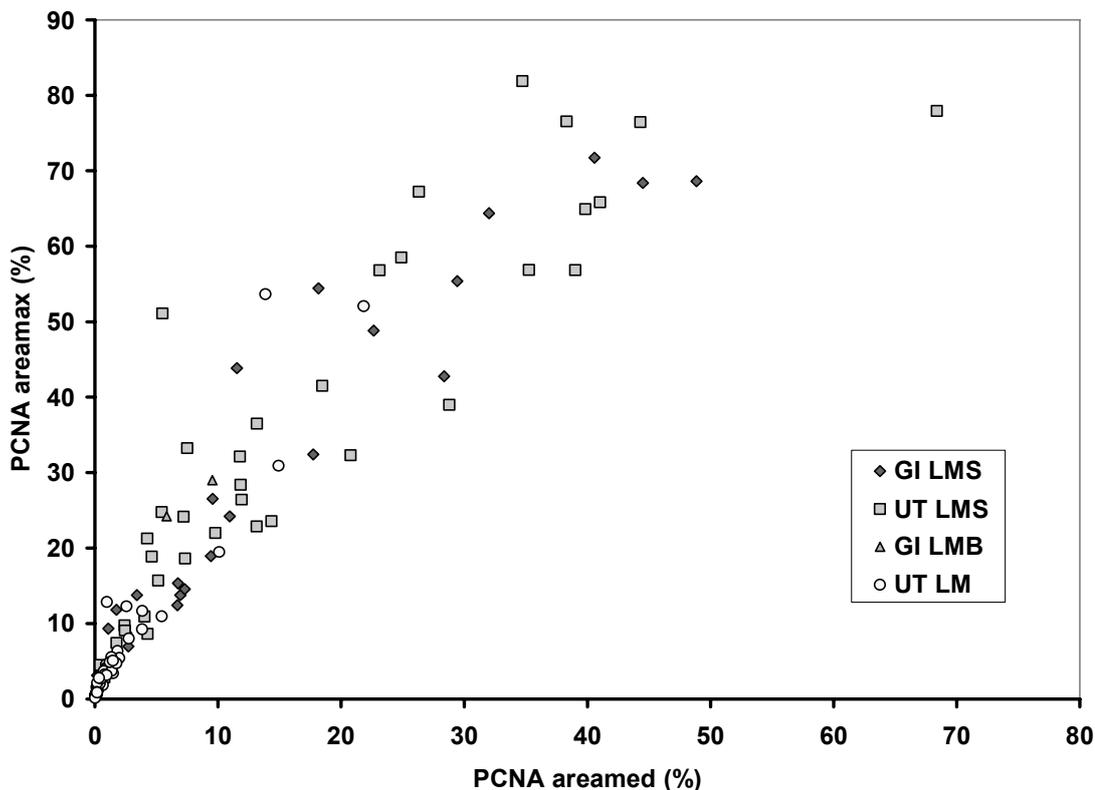


Abb. 5-3 : Graphische Darstellung der Datenverteilung des Vergleichs der Variablen $PCNA_{areamed}$ zu $PCNA_{areamax}$ bei 52 uterinen Leiomyomen, 33 uterinen Leiomyosarkomen, 18 gastrointestinalen Leiomyosarkomen sowie 2 gastrointestinalen Leiomyoblastomen

Tabelle 5-11 Datenverteilung des Vergleichs der Variablen $PCNA_{areamax}$ und $PCNA_{cellsmax}$ bei 52 uterinen Leiomyomen, $r = 0,99$, $p < 0,0001$

Uterine Leiomyome	$PCNA_{areamax}$	$PCNA_{cellsmax}$
Mittelwert	6,20	6,10
Varianz	117,99	104,47

Tabelle 5-12 Datenverteilung des Vergleichs der Variablen $PCNA_{areamax}$ und $PCNA_{cellsmax}$ bei 33 uterinen LMS, $r = 0,98$, $p = 0,007$

Uterine Leiomyosarkome	$PCNA_{areamax}$	$PCNA_{cellsmax}$
Mittelwert	33,20	30,96
Varianz	547,54	441,47

Tabelle 5-13 Datenverteilung des Vergleichs der Variablen $PCNA_{areamax}$ und $PCNA_{cellsmax}$ bei 18 gastrointestinalen LMS, $r = 0,98$, $p = 0,0096$

Gastrointestinale Leiomyosarkome	$PCNA_{areamax}$	$PCNA_{cellsmax}$
Mittelwert	37,41	34,82
Varianz	516,00	465,74

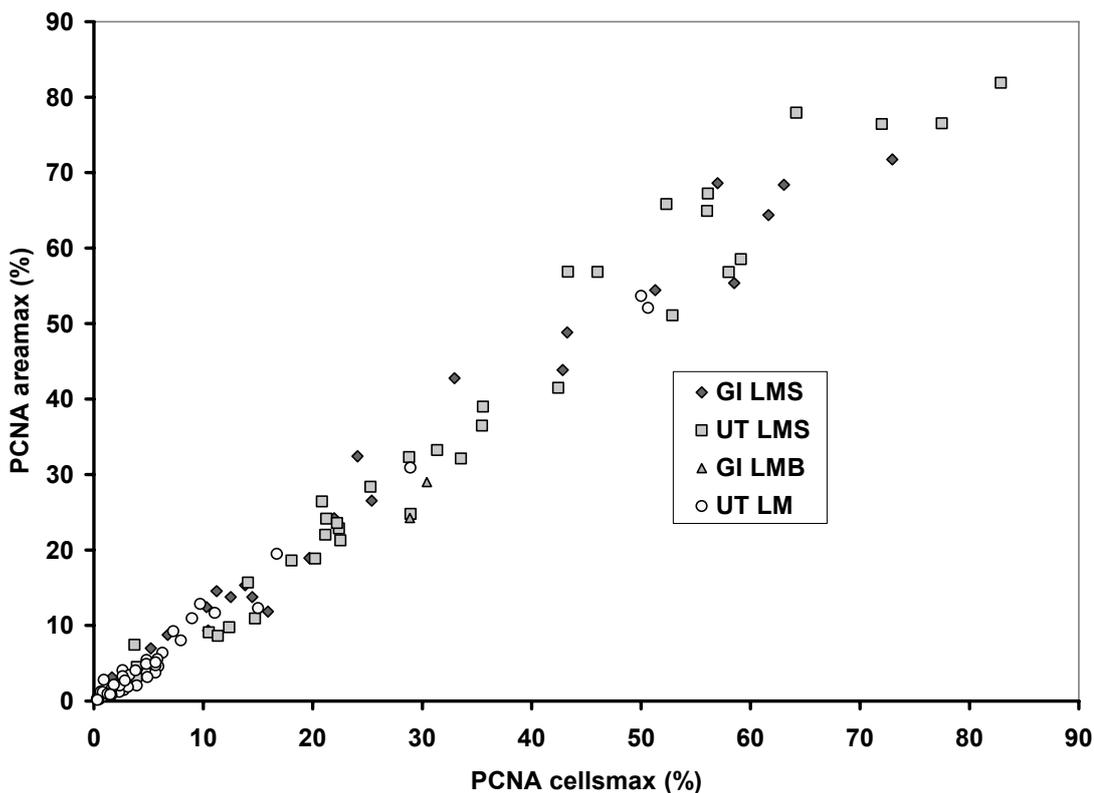


Abb. 5-4 : Graphische Darstellung der Datenverteilung des Vergleichs der Variablen $PCNA_{areamax}$ zu $PCNA_{cellsmax}$ bei 52 uterinen Leiomyomen, 33 uterinen Leiomyosarkomen, 18 gastrointestinalen Leiomyosarkomen sowie 2 gastrointestinalen Leiomyoblastomen

5.3 Klinische Parameter und PCNA-Meßwerte

5.3.1 Klinische Parameter und uterine Leiomyome

5.3.1.1 Uterusgewicht

Beim Vergleich zwischen einem „normwertig“ großen Uterus myomatosus von bis zu 100 g gegenüber einem von über 100 g zeigen sich sämtliche PCNA-Parameter signifikant höher für größere Uteri auf einem hohen Signifikanzniveau. Für das Gesamtgewicht wichtig sind die vorhandenen Myome, (solitäre Myome stellen die Ausnahme dar) so dass die Myomgröße nur bedingt in der Lage ist, die gleichen Ergebnisse zu zeigen. Ein großer Uterus myomatosus bedeutet aber meist auch große Myome und daher ein großes Gewicht, so dass sich hierüber die höheren PCNA-Werte erklären lassen.

Die p-Werte betragen für $PCNA_{areamed}$: 0,0039, $PCNA_{areamax}$: 0,0021, $PCNA_{areamin}$: 0,0439, $PCNA_{cellsmcd}$: 0,0039, $PCNA_{cellsmax}$: 0,0032, $PCNA_{cellsmid}$: 0,0241.

Tabelle 5-14 Datenverteilung der Mittelwerte der PCNA-Parameter bei uterinen Leiomyomen im Bezug zum Uterusgewicht

PCNA-Parameter	Uterusgewicht			
	< 100 g	100 - 250 g	250 - 500 g	> 500 g
$PCNA_{cellsmcd}$	0,53	2,58	1,51	2,80
$PCNA_{cellsmax}$	2,00	7,44	5,41	7,18
$PCNA_{cellsmid}$	0,02	0,24	0,15	0,67
$PCNA_{areamed}$	0,41	2,70	1,45	2,80
$PCNA_{areamax}$	1,66	7,56	5,10	8,36
$PCNA_{areamin}$	0,03	0,21	0,10	0,45
Anzahl (n=40)	11	13	10	6

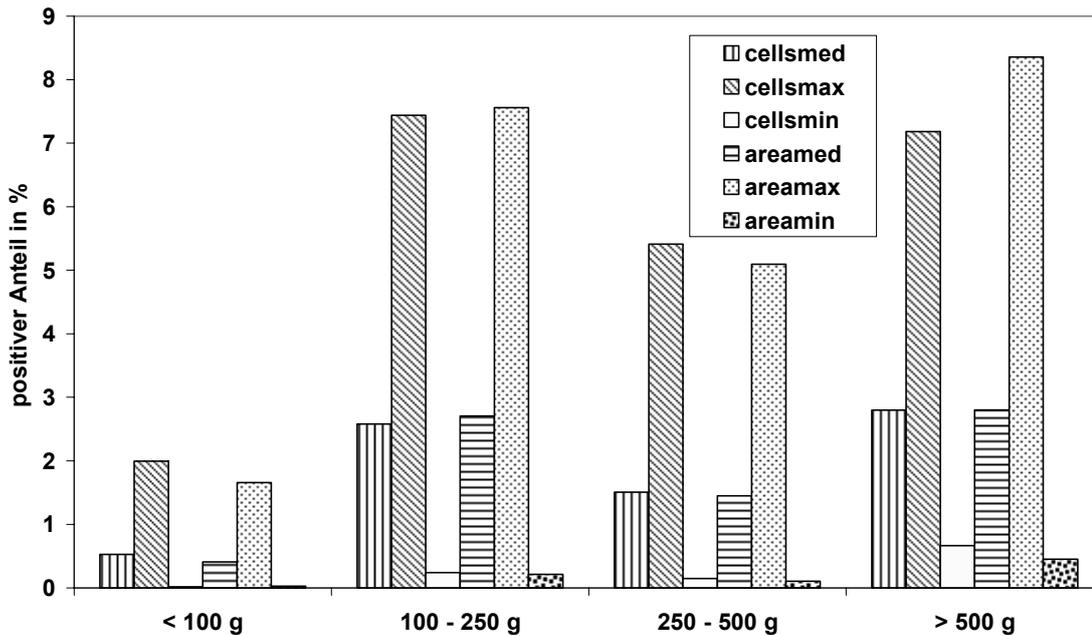


Abb. 5-5 : Graphische Darstellung der Höhe der Mittelwerte der PCNA-Parameter der uterinen Leiomyome in Abhängigkeit vom Uterusgewicht

5.3.1.2 Myomgröße

Auch für die Myomgröße über 5 cm lassen sich im Trend höhere PCNA-Meßwerte nachweisen, dieser Unterschied ist aber statistisch bei p-Werten um 0,07 bis 0,10 noch nicht signifikant.

Tabelle 5-15 Datenverteilung der Mittelwerte der PCNA-Parameter bei uterinen Leiomyomen in Bezug zur Myomgröße

PCNA-Parameter	Myomgröße	
	<= 5 cm	> 5 cm
PCNA _{cellsmed}	0,83	1,67
PCNA _{cellsmax}	2,97	7,12
PCNA _{cellsmin}	0,01	0,21
PCNA _{areamed}	0,73	1,93
PCNA _{areamax}	2,77	7,49
PCNA _{areamin}	0,01	0,13
Anzahl (n=43)	26	17

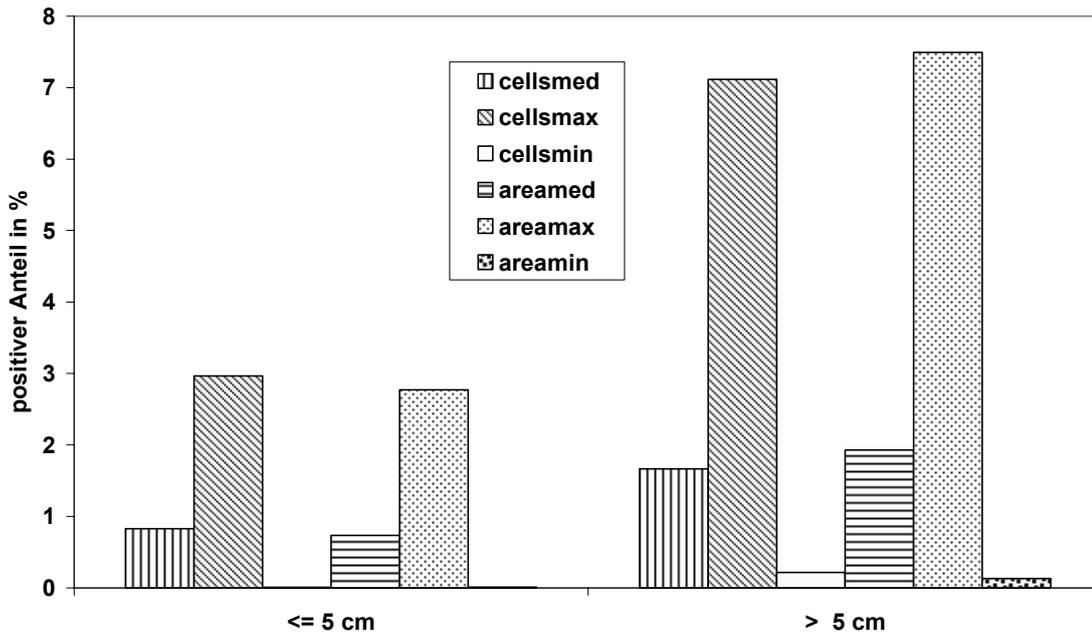


Abb. 5-6 : Graphische Darstellung der Mittelwerte der PCNA-Parameter bei uterinen Leiomyomen von unter und über 5 cm Durchmesser

5.3.1.3 Alter

Anhand der Grafik Abb. 5-7 erkennt man höhere Messwerte für jüngere Patientinnen bis 40 Jahre mit uterinen Leiomyomen, was jedoch nicht signifikant der Fall ist. (p jeweils: $PCNA_{areamed}$: 0,11, $PCNA_{areamax}$: 0,11, $PCNA_{areamin}$: 0,11, $PCNA_{cellsmed}$: 0,11, $PCNA_{cellsmax}$: 0,11, $PCNA_{cellsmin}$: 0,11). Der grafisch darstellbare Trend zu abnehmenden Werten bei zunehmendem Alter lässt auf das bekannte hormonabhängige Wachstum rückschließen, das mit zunehmendem Alter abnimmt.

Tabelle 5-16 Datenverteilung der Mittelwerte der PCNA-Parameter bei uterinen Leiomyomen in Bezug zum Alter

PCNA-Parameter	Alter					
	20-29 Jahre	30-39 Jahre	40-49 Jahre	50-59 Jahre	60-69 Jahre	70-79 Jahre
$PCNA_{cellsmed}$	9,03	2,85	0,86	2,08	1,93	0,91
$PCNA_{cellsmax}$	16,72	9,67	3,40	5,92	4,96	3,12
$PCNA_{cellsmin}$	5,29	5,29	0,00	0,29	0,56	0,00
$PCNA_{areamed}$	10,10	3,12	0,87	1,90	2,45	0,74
$PCNA_{areamax}$	19,49	9,82	3,66	5,53	5,79	2,28
$PCNA_{areamin}$	5,88	0,28	0,00	0,19	0,45	0,00
Anzahl(n=52)	1	14	18	14	3	2

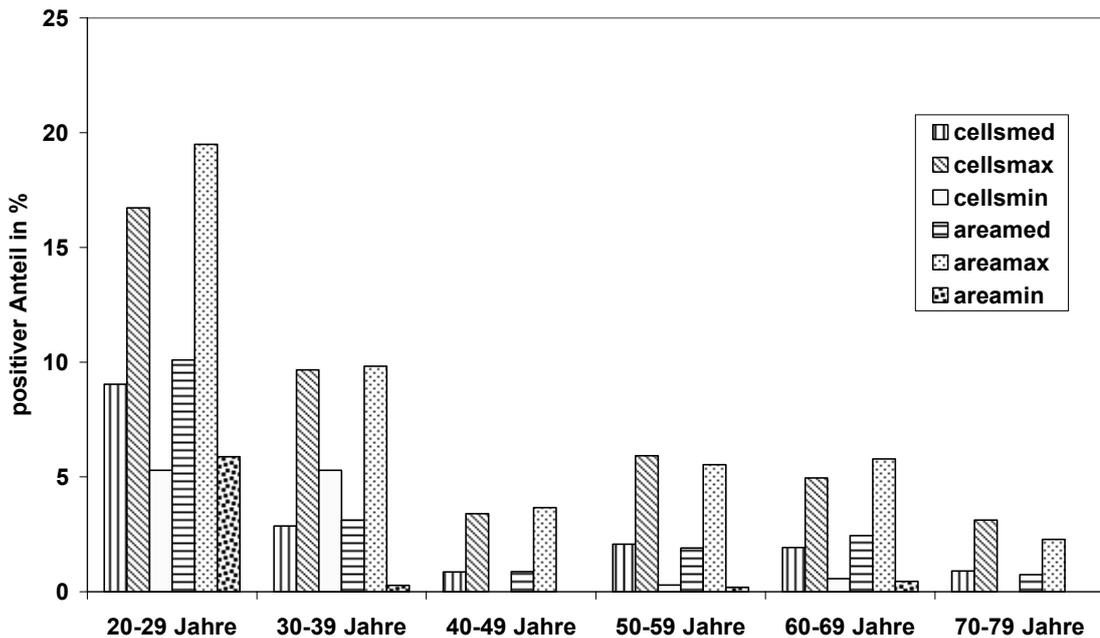


Abb. 5-7 : Graphische Darstellung der Mittelwerte der PCNA-Parameter der uterinen Leiomyome in Abhängigkeit vom Lebensjahrzehnt der Patienten

5.3.1.4 Zellreiche gegenüber normalen Leiomyomen

In 10 der 51 Fälle der Leiomyome handelt es sich histologisch um so genannte zellreiche Leiomyome. Die durchschnittlichen PCNA-Messwerte zeigen sich bei den zellreichen Myomen höher, wie die folgende Tabelle bzw. Grafik erkennen lässt. Die gemessenen Werte liegen jedoch noch deutlich unter den Messwerten der Sarkome, die weiter unten folgen. Außerdem verfehlen die Differenzen knapp die Signifikanz mit p um 0,05.

Tabelle 5-17 Datenverteilung der Mittelwerte der PCNA-Parameter in Bezug zum Zellreichtum bei uterinen Leiomyomen

PCNA-Parameter	Zellreiche Myome	„Normale“ Myome
PCNA _{areamed}	5,50	1,22
PCNA _{areamax}	15,88	3,97
PCNA _{areamin}	0,98	0,10
PCNA _{cellsmed}	4,78	1,29
PCNA _{cellsmax}	15,09	4,02
PCNA _{cellsmin}	1,06	0,14
Anzahl (n 51)	10	41

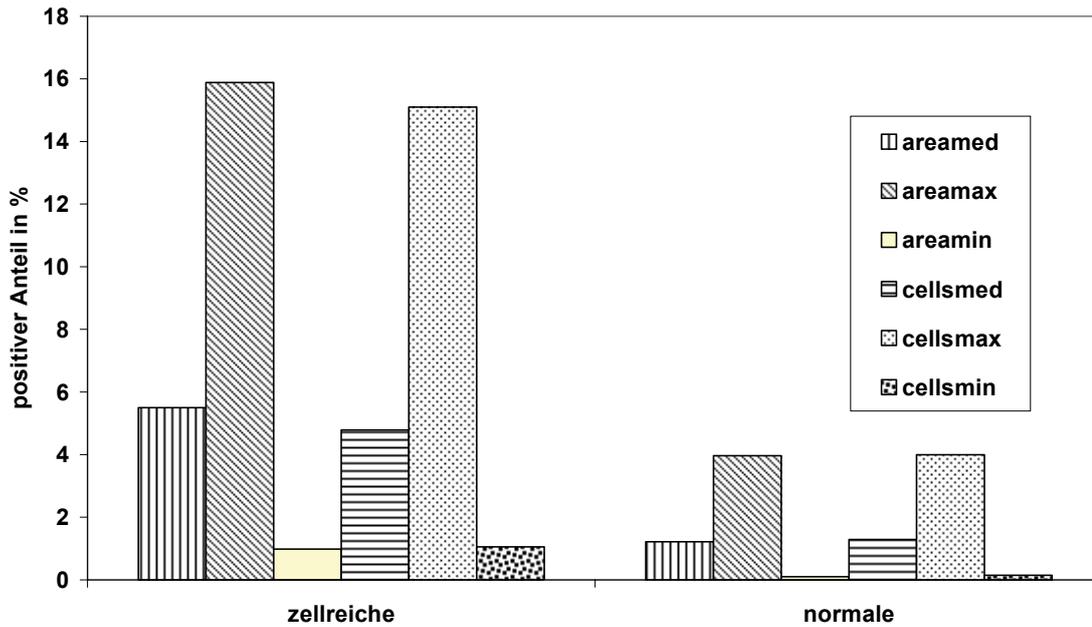


Abb. 5-8: Graphische Darstellung der Datenverteilung der Mittelwerte der PCNA-Parameter bei zellreichen gegenüber nichtzellreichen Leiomyomen des Uterus

5.3.2 Klinische Parameter und uterine Leiomyosarkome

5.3.2.1 Grading bei uterinen Leiomyosarkomen

Unten sind tabellarisch (Tabelle 5-18) und graphisch (Abb. 5-9) die mittleren Messwerte der PCNA-Parameter in Bezug zum Grading dargestellt. Es haben sich keine signifikant höheren PCNA-Meßwerte für ein schlechteres Grading ab G2 - G3 bei uterinen Leiomyosarkomen gezeigt.

Tabelle 5-18 Datenverteilung der mittleren PCNA-Parameter in Bezug zum Grading der uterinen Leiomyosarkome

PCNA-Parameter	Grading				
	G1	G1-2	G2	G2-3	G3
PCNA _{areamed}	13,46	13,38	5,75	39,02	28,94
PCNA _{areamax}	31,20	35,86	12,93	56,85	46,07
PCNA _{areamin}	3,86	5,47	1,51	16,51	12,92
PCNA _{cellsmed}	13,48	8,98	5,70	33,88	23,64
PCNA _{cellsmax}	31,93	30,02	11,72	46,02	39,92
PCNA _{cellsmin}	4,17	4,17	1,51	16,51	12,08
Ges (n=32)	18	2	4	1	7

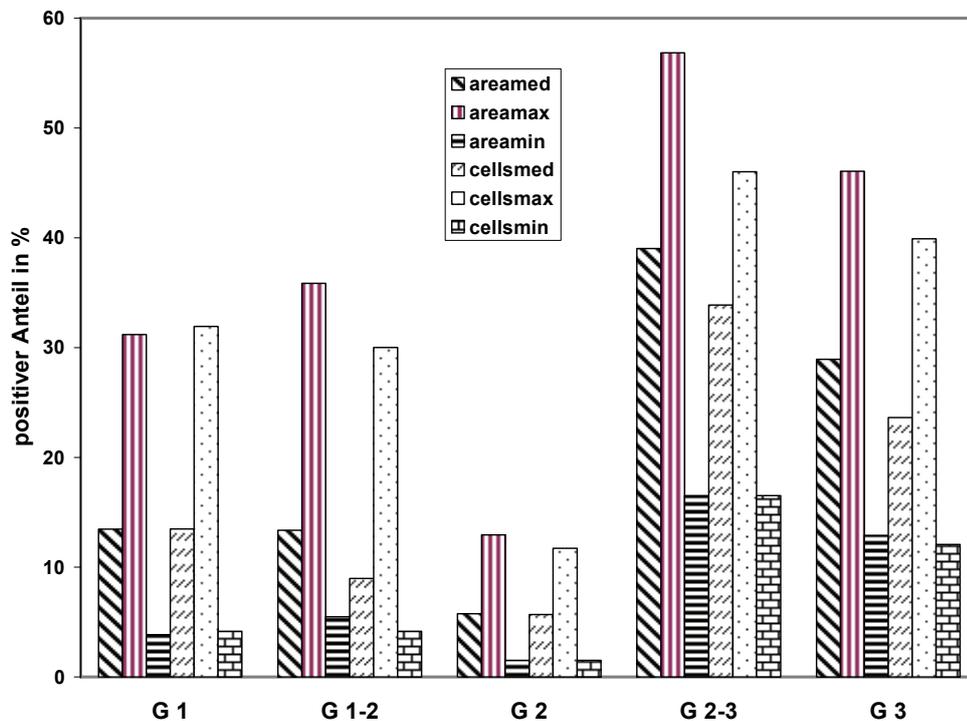


Abb. 5-9 Graphische Darstellung der Datenverteilung der Mittelwerte der PCNA-Parameter innerhalb des jeweiligen Gradings der uterinen Leiomyosarkome

5.3.2.2 Tumorgröße bei uterinen Leiomyosarkomen

In 30 Fällen war die Tumorgröße angegeben. Sie betrug im Durchschnitt 6,68 cm (s=3,59, von 0,5 bis 14 cm). Die PCNA-Meßwerte der uterinen Leiomyosarkome zeigten sich signifikant höher ab einer Tumorgröße von 5 cm als Grenzwert: $p = PCNA_{areamed} 0,001$, $PCNA_{areamax} 0,018$, $PCNA_{areamin} 0,003$, $PCNA_{cellsmed} 0,003$, $PCNA_{cellsmax} 0,036$ und $PCNA_{cellsmin} 0,003$.

Tabelle 5-19 Datenverteilung der Mittelwerte der PCNA-Parameter in Bezug zur Tumorgröße der uterinen Leiomyosarkome

PCNA-Parameter	Tumorgröße	
	≤ 5 cm	> 5 cm
$PCNA_{cellsmed}$	6,56	16,73
$PCNA_{cellsmin}$	1,44	6,23
$PCNA_{cellsmax}$	20,97	34,73
$PCNA_{areamed}$	6,56	18,36
$PCNA_{areamin}$	1,44	6,51
$PCNA_{areamax}$	21,35	37,34
Ges(n=30)	9	21

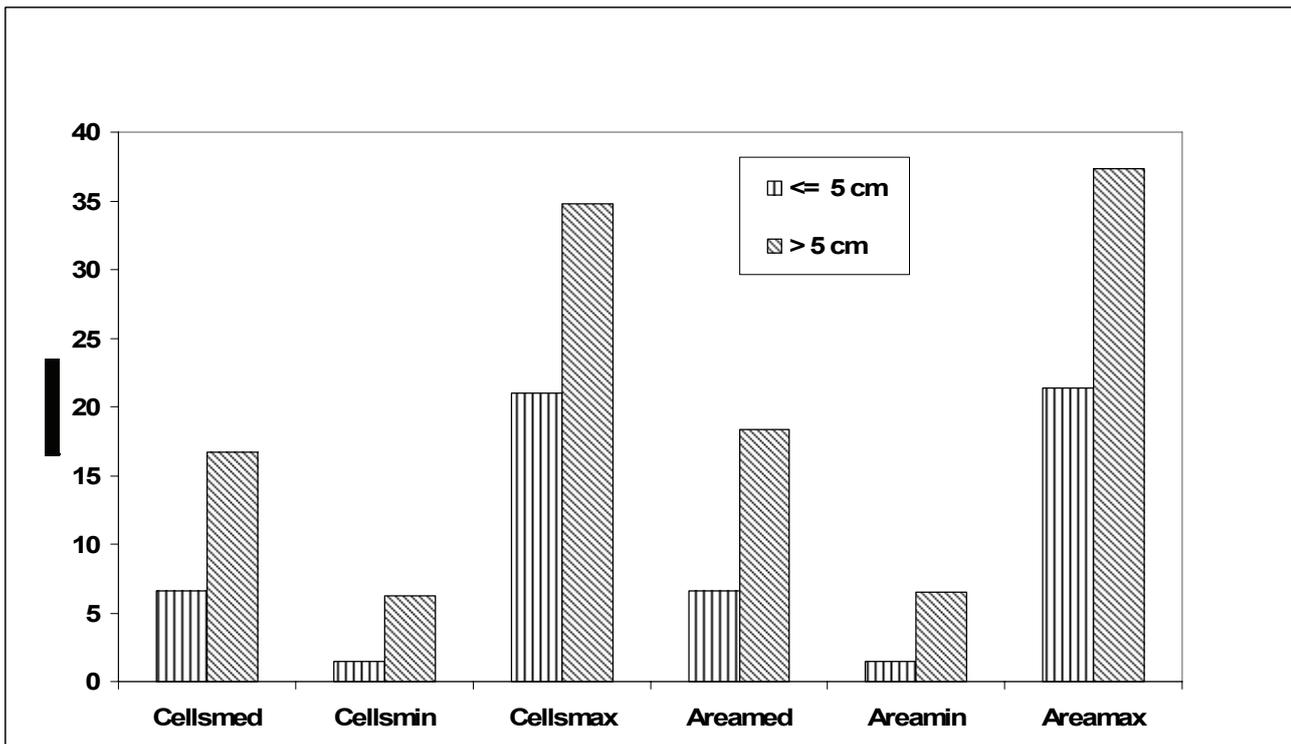


Abb. 5-10: Graphische Darstellung der Datenverteilung der Mittelwerte der PCNA-Parameter der uterinen Leiomyosarkome in Abhängigkeit von einer Tumorgöße kleiner bzw. größer 5 cm

5.3.2.3 Alter bei uterinen Leiomyosarkomen

Im Folgenden sind die Mittelwerte der PCNA-Parameter in den einzelnen Altersgruppen angegeben und graphisch dargestellt.

Schon oberflächlich betrachtet ergibt sich kein Anhalt eines Zusammenhanges zwischen Alter und Messwerthöhe. Demzufolge zeigt sich auch keine signifikante Korrelation der PCNA-Parameter uteriner Leiomyosarkome zum Alter bei einem Vergleich der über und unter 40 jährigen Frauen. ($p = PCNA_{areamed}: 0,41$, $PCNA_{areamax}: 0,29$, $PCNA_{areamin}: 0,19$, $PCNA_{cellsmid}: 0,29$, $PCNA_{cellsmax}: 0,26$, $PCNA_{cellsmin}: 0,33$).

Tabelle 5-20 Datenverteilung der Mittelwerte der PCNA-Parameter bei uterinen Leiomyosarkomen in Bezug zum Alter der Patienten

PCNA-Parameter	Lebensalter						
	20-29 Jahre	30-39 Jahre	40-49 Jahre	50-59 Jahre	60-69 Jahre	70-79 Jahre	80-89 Jahre
PCNA _{cellsmed}	27,09	12,13	13,89	12,61	8,46	24,23	18,56
PCNA _{cellsmin}	10,09	0,96	4,12	5,04	4,18	15,91	8,26
PCNA _{cellsmax}	49,85	31,11	29,13	30,61	17,78	44,22	28,27
PCNA _{areamed}	26,33	11,82	14,36	14,49	8,86	32,37	20,73
PCNA _{areamin}	8,47	0,84	4,17	5,57	4,43	16,78	8,26
PCNA _{areamax}	50,07	32,22	31,07	32,72	17,78	51,63	32,96
Ges(n=33)	2	3	9	10	4	3	2

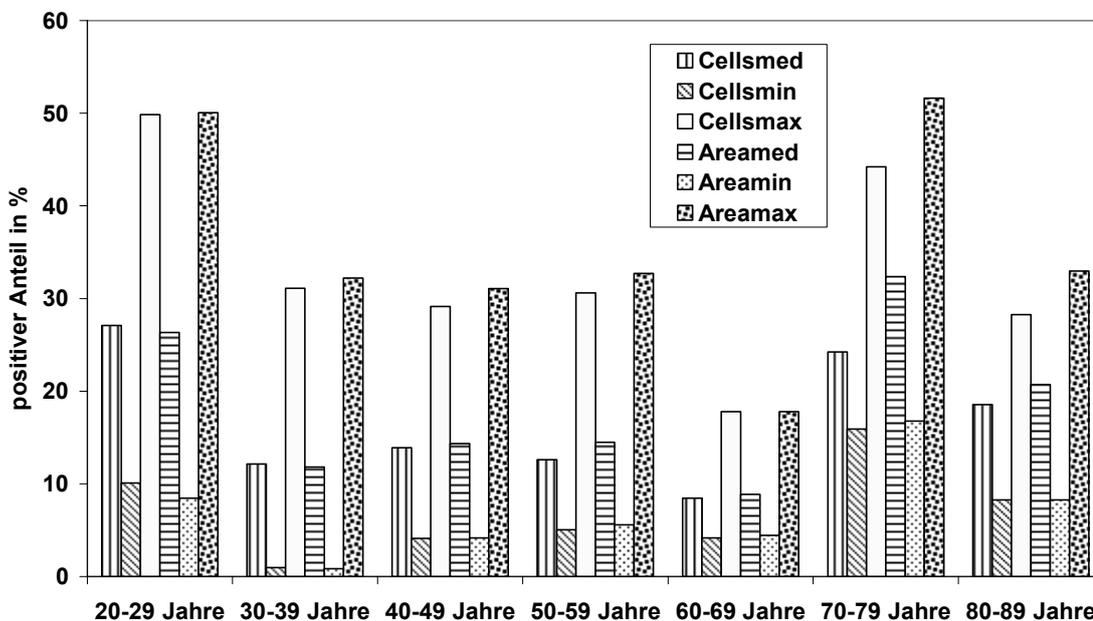


Abb. 5-11 Graphische Darstellung der Datenverteilung der Mittelwerte der PCNA-Parameter in Abhängigkeit vom Alter der Patientinnen bei den uterinen Leiomyosarkomen

5.3.2.4 Nekrosen bei uterinen Leiomyosarkomen

Die Parameter im Vergleich zum Vorhandensein bzw. Fehlen von Nekrosen innerhalb des Tumors sind ebenfalls tabellarisch (Tabelle 5-21) und grafisch (Abb. 5-12) dargestellt. Obwohl die Messwerte der uterinen Leiomyosarkome bei Vorhandensein von Nekrosen im Schnitt für alle Parameter höher sind, lässt sich

dieses nicht signifikant nachweisen. ($p = PCNA_{areamed} 0,17, PCNA_{areamax} 0,20, PCNA_{areamin} 0,18, PCNA_{cellsmed} 0,14, PCNA_{cellsmax} 0,13, PCNA_{cellsmin} 0,13$).

Tabelle 5-21 Datenverteilung der Mittelwerte der PCNA-Parameter in Bezug zum Vorhandensein bzw. Fehlen von Nekrosen

PCNA-Parameter	Nekrosen vorhanden	keine Nekrosen
$PCNA_{cellsmed}$	17,06	11,88
$PCNA_{cellsmin}$	7,24	4,08
$PCNA_{cellsmax}$	34,63	26,56
$PCNA_{areamed}$	18,65	13,38
$PCNA_{areamin}$	7,22	4,49
$PCNA_{areamax}$	36,29	29,49
Ges = 33	18	15

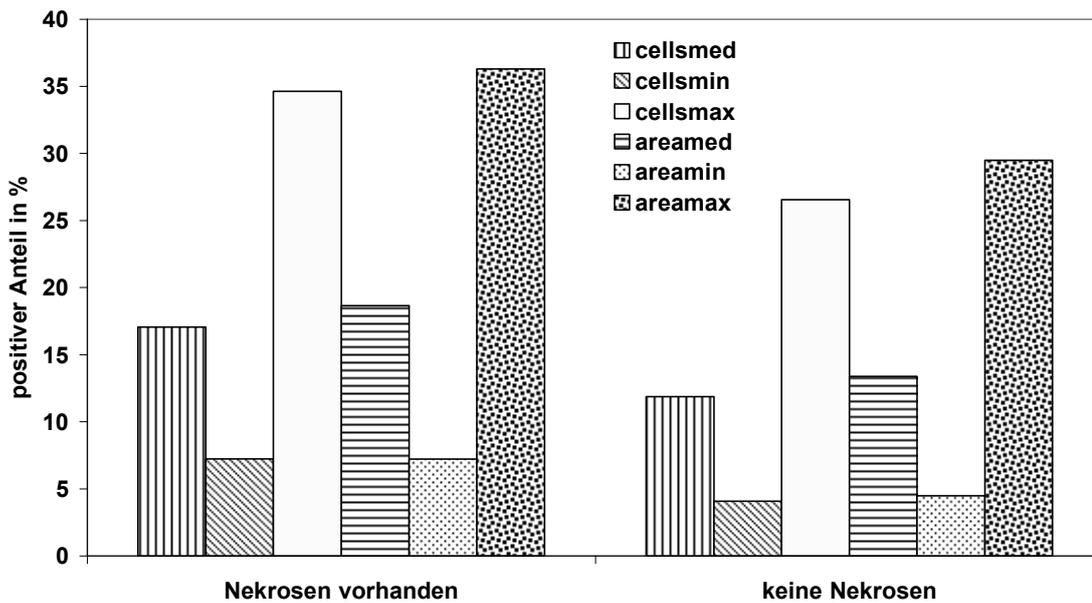


Abb. 5-12 Graphische Darstellung der Datenverteilung der Mittelwerte der PCNA-Parameter bei vorhandenen Nekrosen gegenüber fehlenden Nekrosen

5.3.3 Klinische Parameter und gastrointestinale Leiomyosarkome

5.3.3.1 Grading bei gastrointestinalen Leiomyosarkomen

Folgend sind tabellarisch (Tabelle 5-22) und grafisch (Abb. 5-13) die Mittelwerte der PCNA-Parameter im Verhältnis zum Grading dargestellt. Auch bei den gastrointestinalen Leiomyosarkomen zeigt sich keine signifikante Korrelation der Parameter zum Grading, obwohl, wie an den aufgeführten Zahlen, bzw. an der Grafik erkennbar, ein Trend zu höheren PCNA-Meßwerten bei schlechterem Grading tendenziell erkennbar scheint.

Tabelle 5-22 Datenverteilung der Mittelwerte der PCNA-Parameter in Abhängigkeit vom Grading

PCNA-Parameter	Grading				
	G1	G 1-2	G2	G2-3	G3
PCNA _{cellsmed}	15,92	8,27	20,31		20,78
PCNA _{cellsmax}	33,59	26,91	40,46		38,51
PCNA _{cellsmin}	5,80	0,69	7,58		7,93
PCNA _{areamed}	17,92	9,35	24,09		25,17
PCNA _{areamax}	34,31	28,05	46,07		43,52
PCNA _{areamin}	6,22	0,75	7,76		9,80
n (ges. 18)	8	3	4	0	3

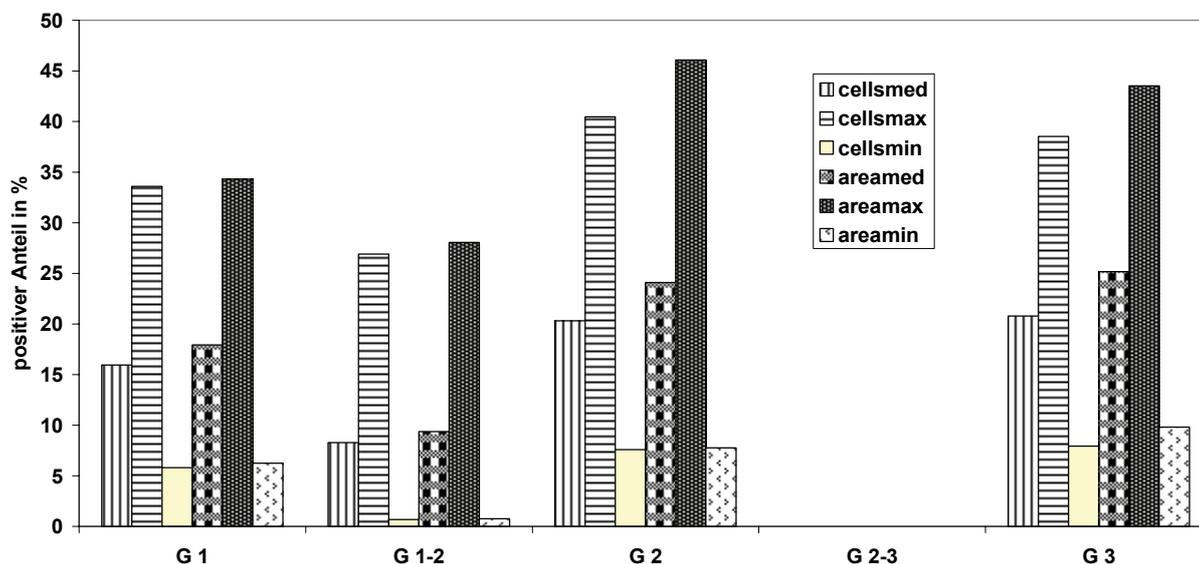


Abb. 5-13 Graphische Darstellung der PCNA-Parameter-Mittelwerte innerhalb des jeweiligen Gradings der gastrointestinalen Leiomyosarkome

5.3.3.2 Tumorgröße bei gastrointestinalen Leiomyosarkomen

In 16 Fällen war die Tumorgröße angegeben. Anhand der Grafik Abb. 5-14 lässt sich deutlich erkennen, dass größere gastrointestinale Leiomyosarkome auch höhere PCNA-Meßwerte aufweisen. Dies bestätigt sich auf einem hohen Signifikanzniveau von $p = PCNA_{areamed} 0,00864$ bzw. $PCNA_{areamax} 0,00431$ bzw. $PCNA_{areamin} 0,010934$ bzw. $PCNA_{cellsmed} 0,003192$ bzw. $PCNA_{cellsmax} 0,00607$ bzw. $PCNA_{cellsmin} 0,001603$.

Tabelle 5-23 Datenverteilung der Mittelwerte der PCNA-Parameter in Abhängigkeit von der Tumorgröße

PCNA-Parameter	Tumorgröße	
	< 5 cm	≥ 5 cm
$PCNA_{cellsmed}$	6,68	18,15
$PCNA_{cellsmax}$	16,80	38,08
$PCNA_{cellsmin}$	1,96	6,56
$PCNA_{areamed}$	7,87	21,41
$PCNA_{areamax}$	18,80	41,06
$PCNA_{areamin}$	2,02	7,28
n (ges. 16)	3	13

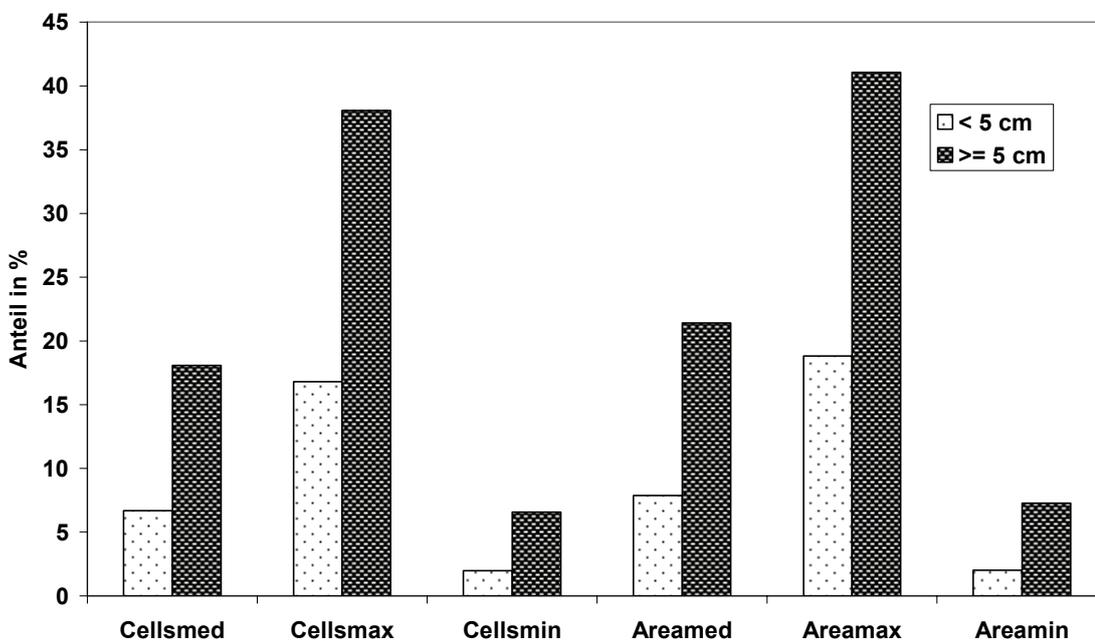


Abb. 5-14 Graphische Darstellung der Mittelwerte der PCNA-Parameter für gastrointestinale Leiomyosarkome jeweils unter und über 5 cm Tumorgröße

5.3.3.3 Alter bei gastrointestinalen Leiomyosarkomen

Ähnlich wie weiter oben bereits bei den uterinen Leiomyosarkomen beschrieben zeigen auch die gastrointestinalen Leiomyosarkome keinen Zusammenhang zwischen Alter und PCNA-Meßwerthöhe.

Tabelle 5-24 Datenverteilung der Mittelwerte der PCNA-Parameter in Abhängigkeit vom Alter der Patienten

PCNA-Parameter	Alter				
	40-49 Jahre	50-59 Jahre	60-69 Jahre	70-79 Jahre	80-89 Jahre
PCNA _{cellsmed}	17,35	24,43	16,71	3,73	5,48
PCNA _{cellsmax}	34,85	40,83	39,06	14,20	13,82
PCNA _{cellsmin}	5,16	9,84	5,60	0,27	1,94
PCNA _{areamed}	18,36	32,11	18,08	4,35	6,75
PCNA _{areamax}	34,96	48,05	41,16	12,80	15,32
PCNA _{areamin}	5,16	12,70	5,43	0,29	1,94
n (ges. 18)	2	4	9	2	1

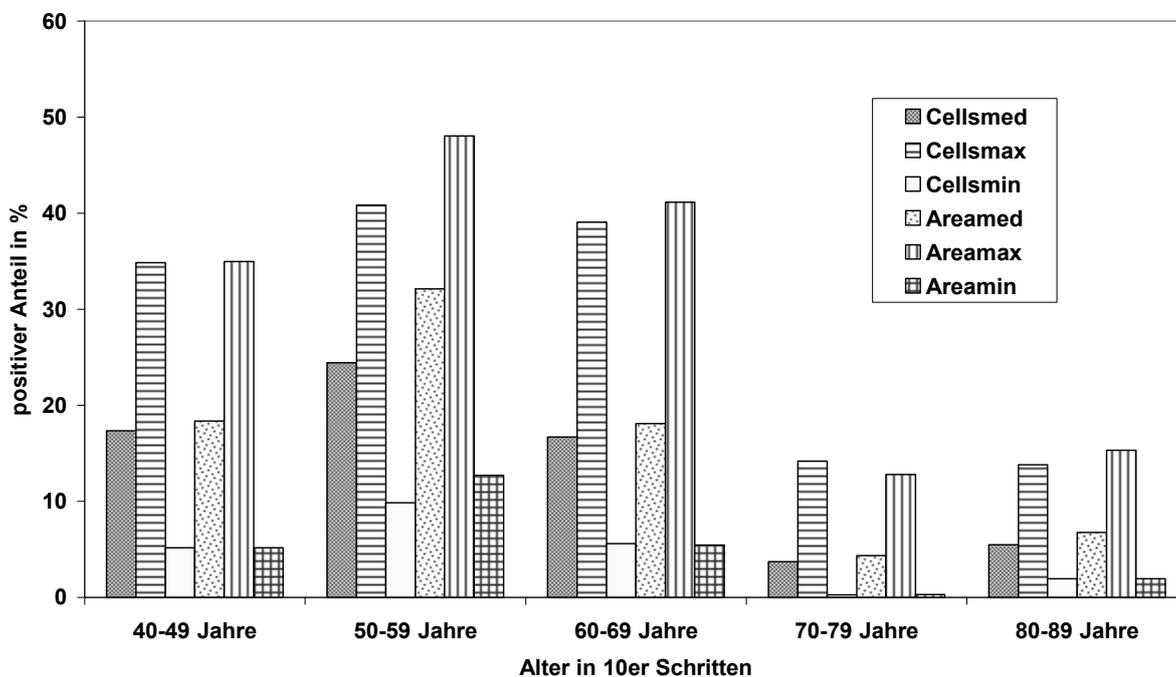


Abb. 5-15 Graphische Darstellung der Mittelwert der PCNA-Parameter in den jeweiligen Lebensjahrzehnten bei gastrointestinalen Leiomyosarkomen

5.3.3.4 Geschlechtsverteilung der gastrointestinalen Leiomyosarkome

Das Geschlecht zeigt zwar ebenfalls eine sichtbare Tendenz zu höheren Messwerten bei Männern, jedoch lässt sich auch hier keine signifikante Korrelation nachweisen.

In der folgenden Tabelle finden sich die Mittelwerte der PCNA-Parameter in Abhängigkeit vom Geschlecht bei gastrointestinalen Leiomyosarkomen.

Tabelle 5-25 Datenverteilung der Mittelwerte der PCNA-Parameter der gastrointestinalen Leiomyosarkome in Abhängigkeit vom Geschlecht

PCNA-Parameter	Geschlecht	
	weiblich	männlich
PCNA _{cellsm}	13,67	18,64
PCNA _{cellsm} _{max}	28,87	39,58
PCNA _{cellsm} _{min}	5,73	5,67
PCNA _{aream}	15,67	21,79
PCNA _{aream} _{min}	6,19	6,30
PCNA _{aream} _{max}	30,90	42,62
n (ges. 18)	8	10

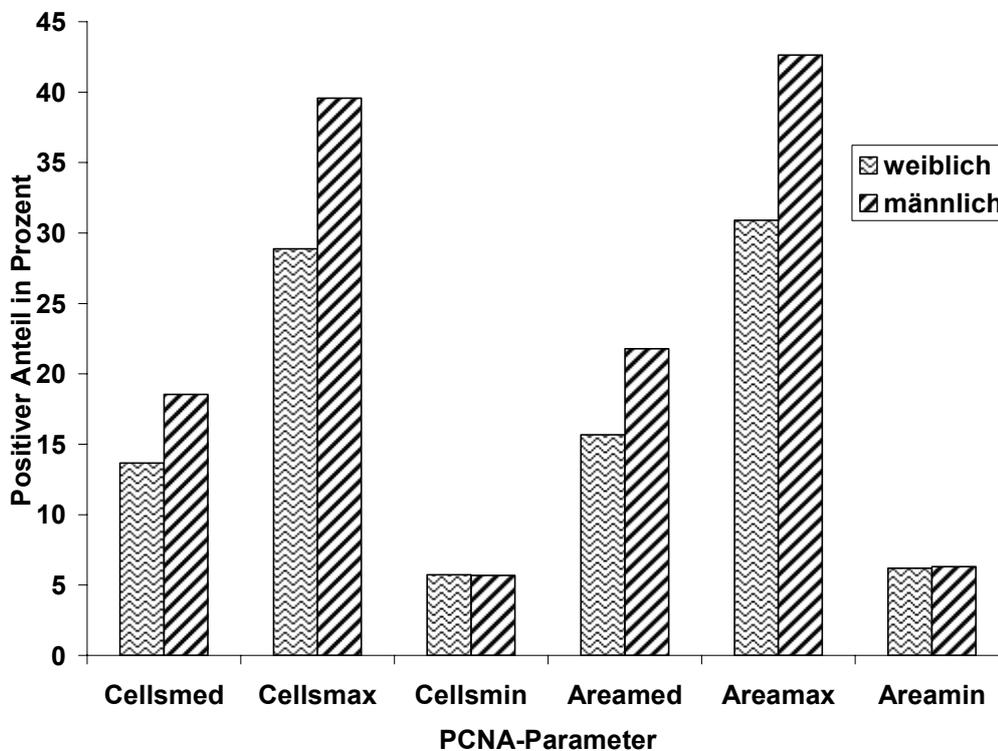


Abb. 5-16 Graphische Darstellung der Mittelwerte der PCNA-Parameter der gastrointestinalen Leiomyosarkome in Bezug auf das Geschlecht

5.3.3.5 Nekrosen bei gastrointestinalen Leiomyosarkomen

Bezüglich des Vorhandenseins von Nekrosen bei gastrointestinalen Leiomyosarkomen ergibt sich schon auf den ersten Blick kein nennenswerter Unterschied in der Höhe der Messwerte, somit auch kein signifikanter Unterschied.

Tabelle 5-26 Datenverteilung der Mittelwerte der PCNA-Parameter in Abhängigkeit vom Vorhandensein von Nekrosen

PCNA-Parameter	Keine Nekrosen	Nekrosen vorhanden
PCNA _{cellsm}	14,63	17,33
PCNA _{cellsm} _{max}	34,23	35,11
PCNA _{cellsm} _{min}	3,78	6,66
PCNA _{areamed}	17,56	19,83
PCNA _{areamed} _{max}	37,80	37,22
PCNA _{areamed} _{min}	4,75	7,00
n (ges. 18)	6	12

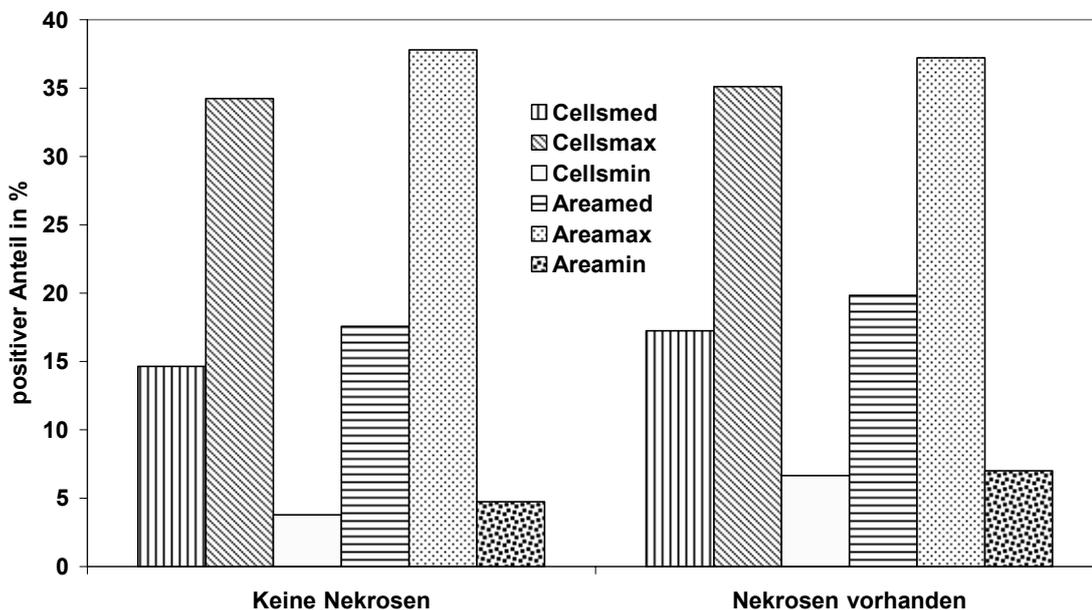


Abb. 5-17 Graphische Darstellung der Datenverteilung der Mittelwerte der PCNA-Parameter der gastrointestinalen Leiomyosarkome bei Vorhandensein bzw. Fehlen von Nekrosen im Tumor

5.4 Untersuchungen zur Zellkerngröße

Es fällt dabei auf, dass sowohl die Zellkerngröße generell als auch die Zellkerngröße der positiv gefärbten Zellen signifikant größer bei Leiomyosarkomen als bei Leiomyomen ist. ($p < 0,0001$). Zwischen den Zellkerngrößen der uterinen und der gastrointestinalen LMS fanden sich keine signifikanten Unterschiede.

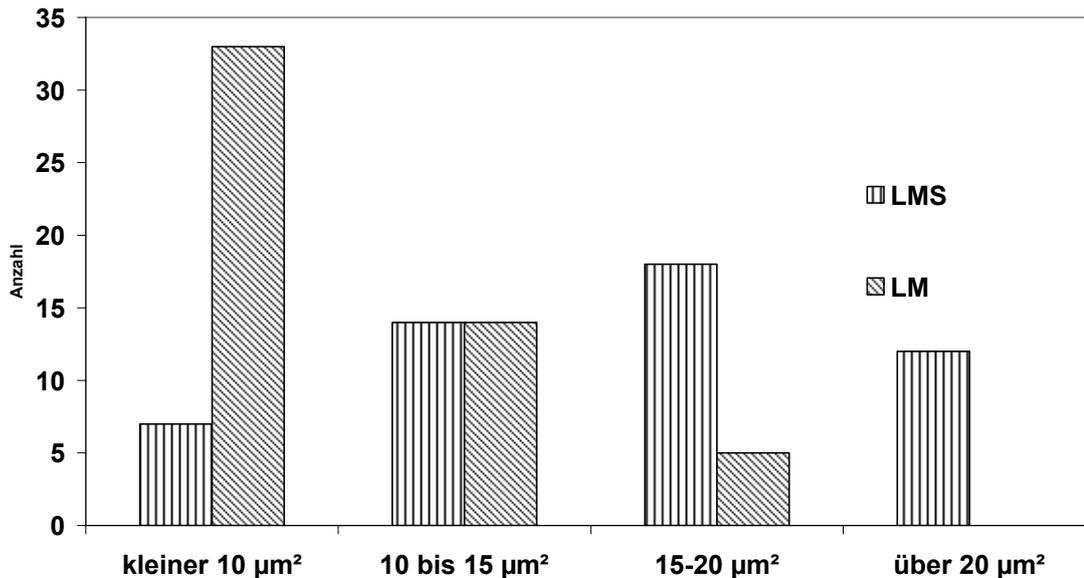


Abb. 5-18 Graphische Darstellung des Anzahl der Präparate mit o.g. mittleren Zellkerngrößen [μm^2] der als PCNA-positiv erkannten Zellkerne der gesamten Leiomyosarkome (längsgestreift) gegenüber den Leiomyomen (schräggestreift)

Tabelle 5-27 Datenverteilung der absoluten Anzahl der Präparate mit jeweils u.g. mittleren Zellkerngrößen der positiven Zellkerne im Vergleich von Leiomyosarkomen und Leiomyomen

Tumorentität	Mittlere Zellkerngröße [μm^2]			
	kleiner 10	10 bis 15	15-20	über 20
Leiomyosarkom	7	14	18	12
Leiomyom	33	14	5	0

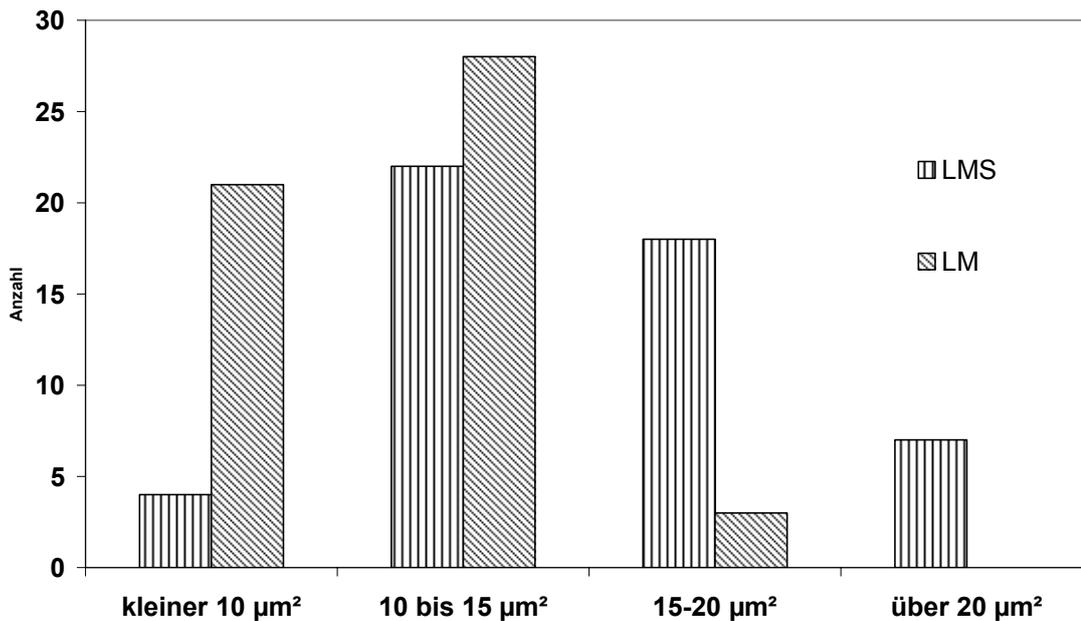


Abb. 5-19 Graphische Darstellung der Anzahl der Präparate mit jeweils o.g. mittleren Zellkerngrößen [µm²] sämtlicher gemessener Zellkerne im Vergleich von Leiomyosarkomen und Leiomyomen

Tabelle 5-28 Datenverteilung der absoluten Anzahl der Präparate mit jeweils u.g. mittleren Zellkerngrößen sämtlicher Zellkerne im Vergleich zwischen Leiomyosarkomen und Leiomyomen

Tumorentität	Mittlere Zellkerngröße [µm ²]			
	kleiner 10	10 bis 15	15-20	über 20
Leiomyosarkom	4	22	18	7
Leiomyom	21	28	3	0

5.5 Analyse der Überlebensdaten, der klinischen und der PCNA-Parameter

5.5.1 Metastasierungswege

14 Patienten erlitten ein Rezidiv. Über die Hälfte davon ein Lokalrezidiv, sowohl bei den gastrointestinalen als auch bei den uterinen LMS ein häufiger Rezidivort. Bei den gastrointestinalen führten jedoch die hepatischen Filiae. Im Text weiter unten folgen die Einzelbeschreibungen der Metastasierungswege im Rahmen der

Darstellung der Überlebenszeit. Hier direkt folgt die tabellarische und grafische Darstellung derselben unter Einbeziehung der Messwerte.

Tabelle 5-29 Datenverteilung der Mittelwerte der PCNA-Parameter der Rezidive der gastrointestinalen Leiomyosarkome

PCNA-Parameter	Rezidivlokalisierung				
	Lokalrezidiv	Leber	Lunge	Hirn	Knochen
PCNA _{areamed}	15,16	14,57			
PCNA _{areamax}	36,77	33,22			
PCNA _{areamin}	4,03	4,10			
PCNA _{cellsmed}	14,47	14,04			
PCNA _{cellsmax}	35,77	32,24			
PCNA _{cellsmin}	3,92	3,98			
Anzahl (n 10)	4	6	0	0	0

Tabelle 5-30 Datenverteilung der Mittelwerte der PCNA-Parameter der Rezidive der uterinen Leiomyosarkome

PCNA-Parameter	Rezidivlokalisierung				
	Lokalrezidiv	Leber	Lunge	Hirn	Knochen
PCNA _{areamed}	34,18	20,78	29,34	9,79	9,79
PCNA _{areamax}	51,53	32,29	42,96	22,02	22,02
PCNA _{areamin}	15,64	8,15	13,46	2,91	2,91
PCNA _{cellsmed}	27,52	18,18	23,41	9,05	9,05
PCNA _{cellsmax}	43,52	28,82	35,42	21,17	21,17
PCNA _{cellsmin}	14,65	8,15	12,60	2,91	2,91
Anzahl (n 9)	5	1	1	1	1

Tabelle 5-31 Datenverteilung der Mittelwert der PCNA-Parameter der gesamten, zusammengefaßten Rezidive

PCNA-Parameter	Rezidivlokalisierung				
	Lokalrezidiv	Leber	Lunge	Hirn	Knochen
PCNA _{areamed}	25,73	15,46	29,34	9,79	9,79
PCNA _{areamax}	44,97	33,08	42,96	22,02	22,02
PCNA _{areamin}	10,48	4,68	13,46	2,91	2,91
PCNA _{cellsmed}	21,72	14,63	23,41	9,05	9,05
PCNA _{cellsmax}	40,07	31,75	35,42	21,17	21,17
PCNA _{cellsmin}	9,88	4,58	12,60	2,91	2,91
Anzahl (n 19)	9	7	1	1	1

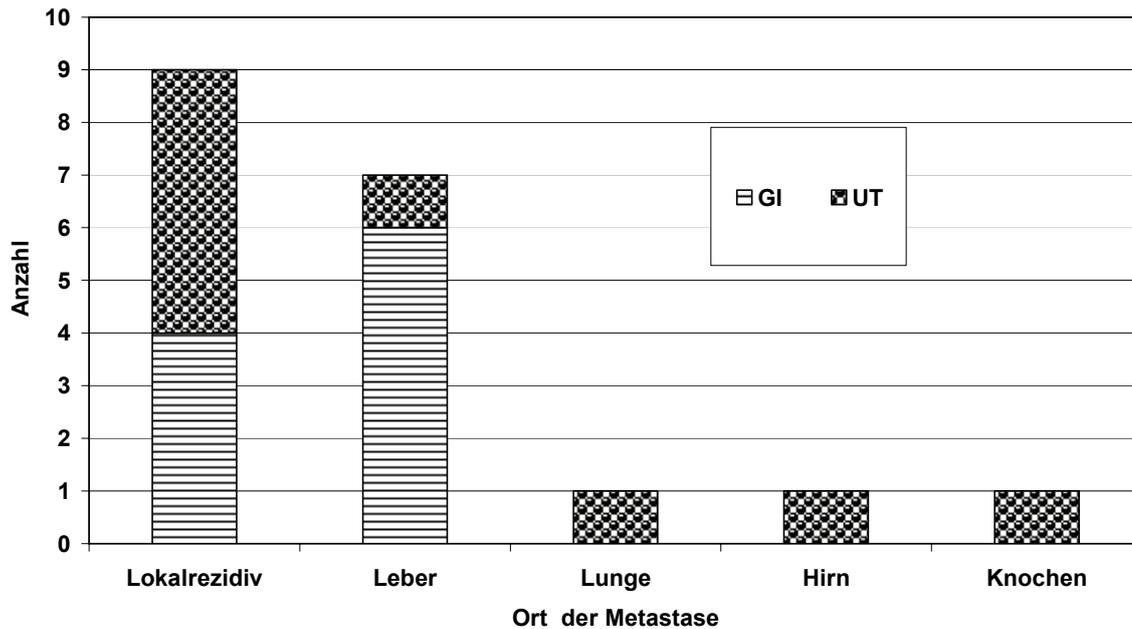


Abb. 5-20 Graphische Darstellung der absoluten Anzahl der Metastasenlokalisationen der uterinen (gepunktet) gegenüber den gastrointestinalen (gestreift) Leiomyosarkomen

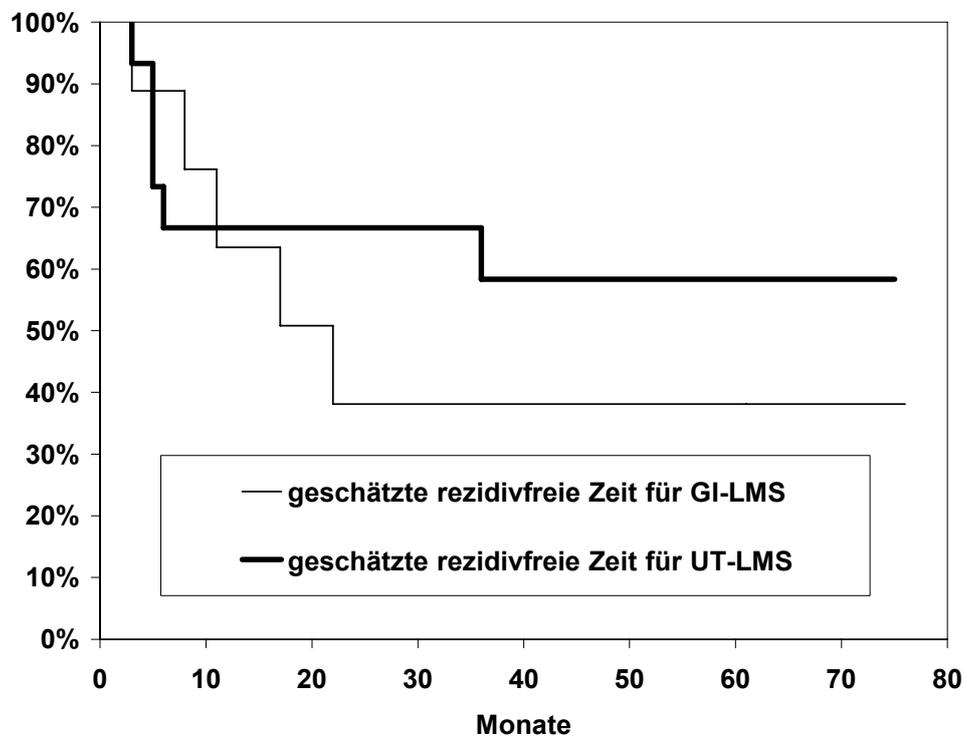


Abb. 5-21 Graphische Darstellung des zeitlichen Ablaufes des Rezidivauftretens bei den uterinen bzw. gastrointestinalen Leiomyosarkomen

5.5.2 Überlebensanalyse für Patienten mit Leiomyosarkomen

Im Folgenden abgebildet ist die geschätzte Überlebenskurve nach Kaplan-Meier. Von 26 nachverfolgten Patienten verstarben 11 an den Folgen der Krankheit, das entspricht 42%, nach im Durchschnitt 22 Monaten.

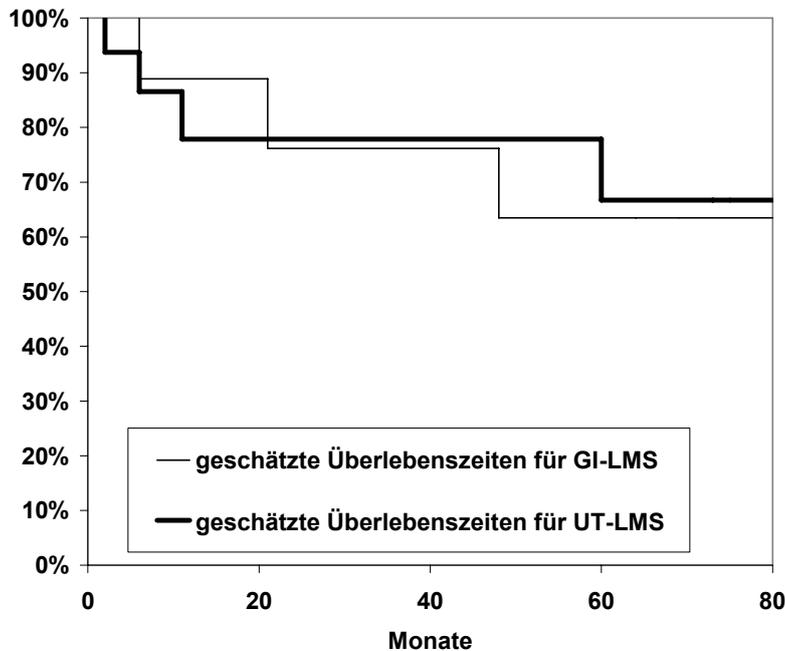


Abb. 5-22 Kaplan-Meier-Überlebenskurven für die uterinen (dicke Linie) bzw. gastrointestinalen (dünne Linie) Leiomyosarkome

Die Patienten mit gastrointestinalen Leiomyosarkomen starben nach 6 bzw. 21 bzw. 48 Monaten an ihrer Krankheit, bzw. sie waren nach 61, 2 mal 64, 69 und 76 Monaten noch am Leben. Von den Patienten, die noch am Leben waren, hatte einer nach 3 Monaten Lebermetastasen, die operiert wurden und lebte nach 64 Monaten ohne weitere Rezidive und ein zweiter hatte nach 22 Monaten Lebermetastasen, die operiert wurden und lebte nach 69 Monaten ohne weitere Rezidive. Bei einer Patientin war das Sarkom bereits zum Erstdiagnosezeitpunkt hepatisch filialisiert, leider ist ihr Todesdatum nicht bekannt. Auch bei einem weiteren Patienten waren bereits bei Erstdiagnose Lebermetastasen vorhanden. Nach Diagnose und Operation lebte er 6 Monate. Eine Patientin starb nach 19 Monaten an einem Myokardinfarkt bei bekannten Filiae.

Bei den uterinen Leiomyosarkomen zeigt sich ein etwas anderes Bild. Eine Patientin war bereits bei Erstdiagnose pulmonal filiarisiert und starb nach 2 Monaten, eine Patientin entwickelte nach 3 Monaten pulmonale Metastasen, leider ist ihr Sterbedatum nicht bekannt. Drei weitere Patientinnen metastasierten nach 5

Monaten, einmal pulmonal, einmal pulmonal + lokal und ein weiteres Mal ausschließlich lokal. Nach 6 Monaten entwickelte eine weitere Patientin pulmonale Filiae ohne dass ihr Todeszeitpunkt bekannt wäre. Eine Patientin entwickelte nach 36 Monaten zunächst ein lokales Rezidiv, im Verlauf dann pulmonale und Lebermetastasen bis sie nach 60 Monaten verstarb.

Im Folgenden sind die PCNA-Meßwerte im Vergleich verstorbener und noch lebender Patienten dargestellt. Für die uterinen Leiomyosarkome sieht man, dass sämtliche Messwerte ein höheres Ergebnis erbrachten. Dieses ist jedoch nicht signifikant. Bei den gastrointestinalen LMS zeigten sich keine höheren PCNA-Meßwerte bei den Verstorbenen.

Tabelle 5-32 Mittelwerte der PCNA-Parameter in der Subgruppenanalyse der Patienten, ausgewertet nach Organzuordnung und Überlebensstatus

	GI LMS		UT LMS		Gesamte LMS	
	verstorben	lebend	verstorben	lebend	verstorben	lebend
PCNA _{cellsmed}	11,53	16,85	21,07	13,38	17,6	14,62
PCNA _{cellsmin}	3,58	6,28	10,88	4,33	8,23	5,02
PCNA _{cellsmax}	28,82	35,65	34,49	27,11	32,43	30,16
PCNA _{areamed}	12,15	17,69	25,93	13,1	20,91	14,74
PCNA _{areamin}	3,76	5,85	11,59	3,96	8,74	4,64
PCNA _{areamax}	31,25	34,48	40,36	28,26	37,05	30,48
Anzahl	4	5	7	9	11	14

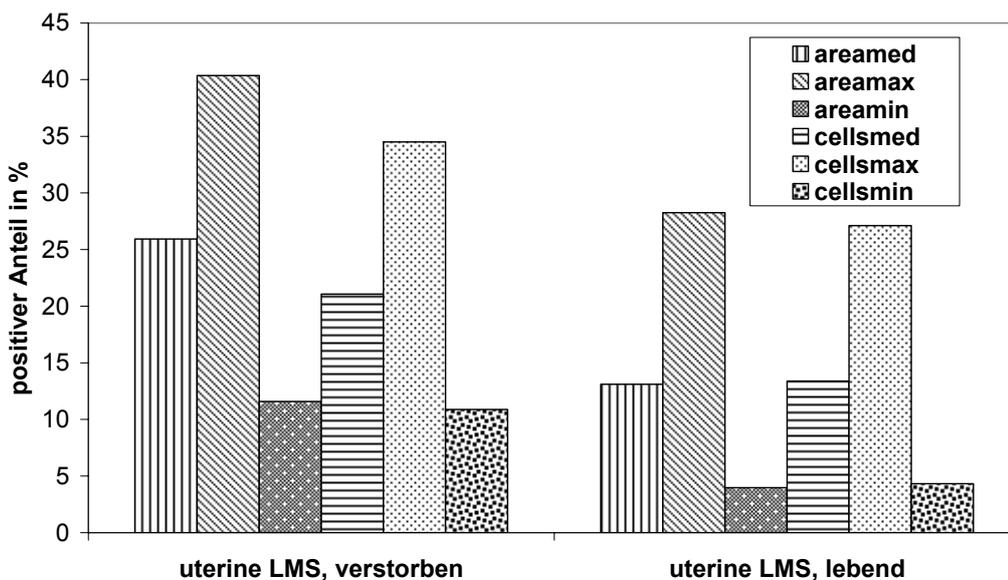


Abb. 5-23 Graphische Darstellung der Mittelwerte der PCNA-Parameter in Abhängigkeit von Tod bzw. Überleben der uterinen Leiomyosarkome

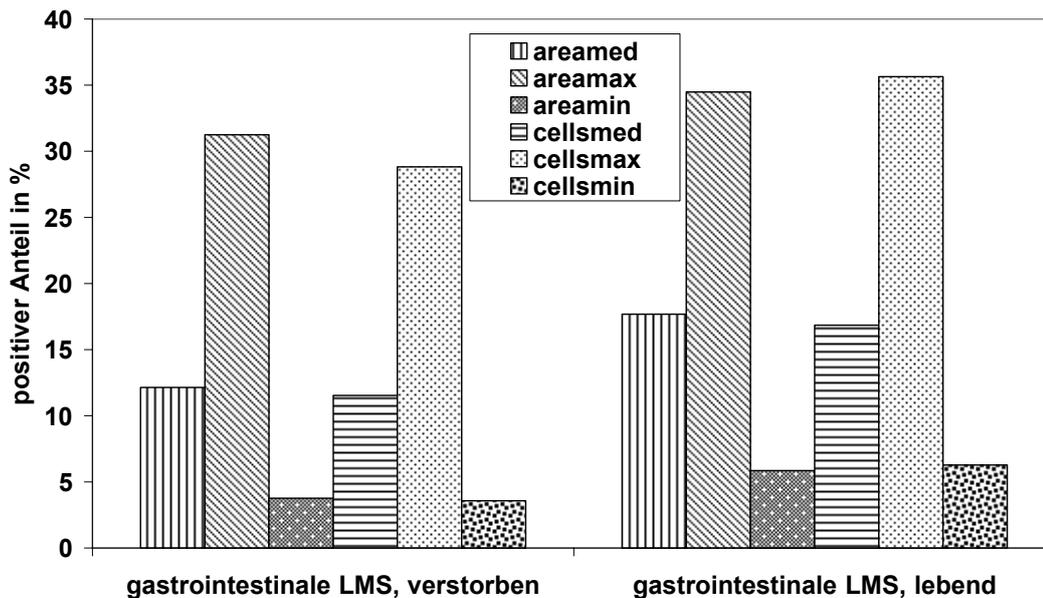


Abb. 5-24 Mittelwerte der PCNA-Parameter in Abhängigkeit von Tod bzw. Überleben der gastrointestinalen Leiomyosarkome

5.5.3 PCNA-Parameter, Grading und Überleben unter Berücksichtigung sämtlicher Leiomyosarkome

In der folgenden Tabelle sind die Mittelwerte der einzelnen PCNA-Meßwerte für sämtliche LMS in Abhängigkeit von ihrem Grading aufgeführt. Leicht zu ersehen ist, dass innerhalb eines Gradings keine prinzipiell höheren PCNA-Meßwerte für eine schlechtere Prognose sprachen. Bezüglich G1 zeigte sich ein umgekehrtes Verhältnis, bezüglich G3 waren die Werte nur geringfügig niedriger. In beiden Fällen zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen Prognose und PCNA-Meßwerthöhe innerhalb des jeweiligen Gradings. Grafisch sind exemplarisch nur die jeweiligen Mittelwerte von $PCNA_{areamed}$ und $PCNA_{cellsmmed}$ aufgrund der besseren Übersicht dargestellt.

Tabelle 5-33 Mittelwerte der PCNA-Parameter in Bezug auf Grading und Prognose in Zusammenfassung sämtlicher Leiomyosarkome

PCNA-Parameter	G1		G2		G3	
	Verstorben	Überlebt	Verstorben	Überlebt	Verstorben	Überlebt
$PCNA_{areamed}$	3,26	15,26	12,07	4,55	35,05	29,43
$PCNA_{areamax}$	17,05	31,40	29,63	13,01	50,98	55,36
$PCNA_{areamin}$	0,17	5,14	3,76	0,27	16,15	7,89
$PCNA_{cellsmmed}$	4,18	15,20	11,40	4,46	27,93	28,56
$PCNA_{cellsmmax}$	19,68	31,08	26,88	10,89	41,96	58,50
$PCNA_{cellsmmin}$	0,27	5,63	3,58	0,27	15,12	7,89
Anzahl	2	11	4	2	5	1

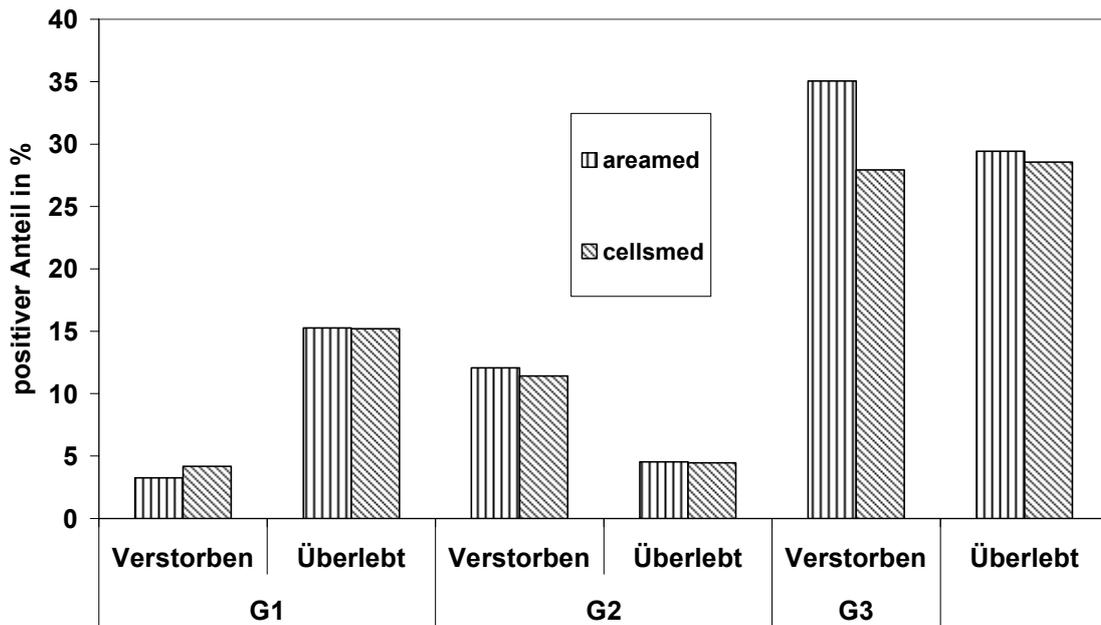


Abb. 5-25 Graphische Darstellung der Mittelwerte für PCNA_{cellsmed} bzw. PCNA_{areamed} in Bezug auf den Krankheitsverlauf innerhalb des jeweiligen Gradings

5.5.4 Analyse der Überlebensdaten in Bezug auf andere klinische und pathologische Parameter

5.5.4.1 Grading und Prognose

Bezüglich der uterinen Leiomyosarkome zeigt sich ein signifikant schlechteres Grading prognoserelevant.

Tabelle 5-34 Datenverteilung des Überlebensstatus in Abhängigkeit vom Überlebensstatus der Patienten mit uterinen Leiomyosarkomen

Grading	An Krankheit verstorben	Gesund
1	1	7
2	1	2
3	7	0

Bezüglich der gastrointestinalen LMS lässt sich bei zu geringer Fallzahl eine solche Aussage nicht machen.

Tabelle 5-35 Datenverteilung des Überlebensstatus der Patienten in Abhängigkeit vom Grading der gastrointestinalen Leiomyosarkome

Grading	An Krankheit verstorben	Gesund
1	1	4
2	3	0
3	0	1

5.5.4.2 Tumorgröße und Prognose

Was die Tumorgröße betrifft, so stellt diese sich als nicht signifikant prognoserelevant sowohl für die gastrointestinalen als auch die uterinen LMS dar. Die Durchschnittsgrößen der gastrointestinalen LMS sind jedoch bei den Patienten, die an der Krankheit verstorben sind, mit 10,62 cm gegenüber 6,12 cm höher. Bei den uterinen LMS sind die Durchschnittstumorgrößen mit 9 cm bzw. 9,37 cm fast identisch.

5.5.4.3 Nekrose und Prognose

Bei Auftreten von Nekrosen zeigt sich eine deutlich schlechtere Prognose. Von den 12 Patienten mit Nekrosen verstarben 9 an der Krankheit, wohingegen lediglich 2 von 13 Patienten bei fehlenden Nekrosen an der Krankheit verstarben. Eine Signifikanz mit $p = 0,01$ ergab sich für den Fall, dass sämtliche LMS zusammengezählt wurden, als auch für die alleinige Betrachtung der uterinen LMS, jedoch nicht lediglich für die gastrointestinalen LMS.

Daraus konnte jedoch nicht auf die Messwerthöhe rückgeschlossen werden, wie im Folgenden grafisch dargestellt. Bei den Patienten mit vorhandenen Nekrosen ergibt sich das paradoxe Bild von niedrigeren Messwerten bei verstorbenen Patienten. Demgegenüber zeigen sich bei fehlenden Nekrosen, wie erwartet, höhere PCNA-Parameter-Mittelwerte bei an der Krankheit verstorbenen Patienten.

Es ergeben sich zwar die niedrigsten Messwerte für die Patienten, die sowohl keine Nekrosen haben, als auch überleben, aber die Patienten mit Nekrosen, die verstarben, haben nicht die höchsten Messwerte. Auch sind die Messwerte der Patienten die trotz Nekrosen überlebten, höher, als die der Patienten ohne Nekrosen, die an der Krankheit verstarben. Die Prognose zeigt somit also eher eine Abhängigkeit vom Vorhandensein von Nekrosen.

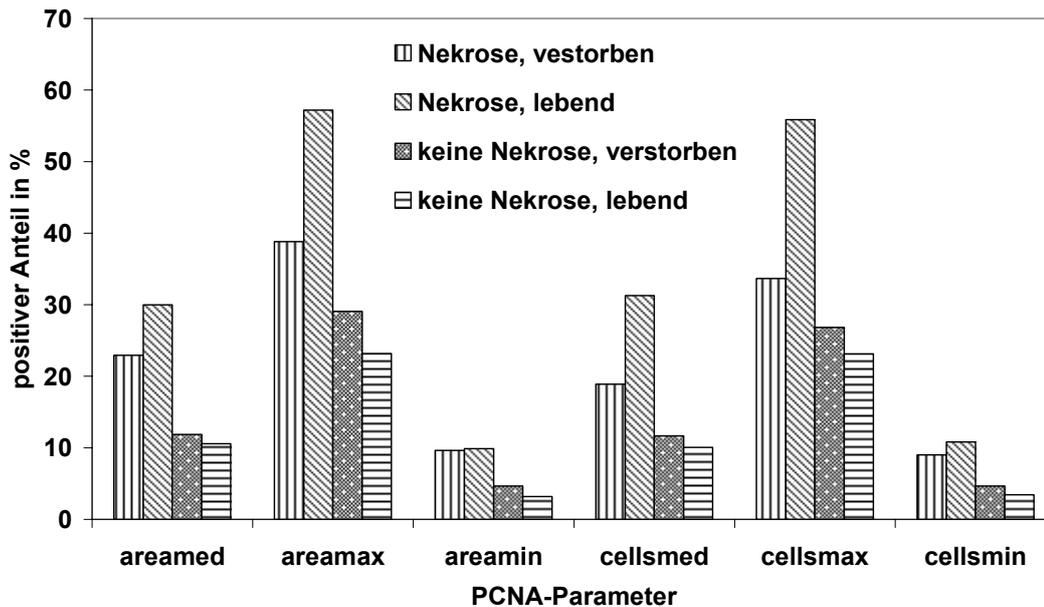


Abb. 5-26 Graphische Darstellung der jeweiligen Mittelwerte der PCNA-Parameter in Abhängigkeit von Nekrose und Überlebensstatus

Tabelle 5-36 Datenverteilung der Mittelwerte der PCNA-Parameter der Patienten mit vorhandenen Nekrosen in Abhängigkeit vom Überlebensstatus

PCNA-Parameter	Überlebensstatus	
	verstorben	lebend
PCNA _{areamed}	22,92	29,98
PCNA _{areamax}	38,82	57,20
PCNA _{areamin}	9,65	9,89
PCNA _{cellsmmed}	18,92	31,28
PCNA _{cellsmmax}	33,67	55,85
PCNA _{cellsmmin}	9,02	10,83
Anzahl	9	3

Tabelle 5-37 Datenverteilung der Mittelwerte der PCNA-Parameter der Patienten ohne Nekrosen in Abhängigkeit vom Überlebensstatus

PCNA-Parameter	Überlebensstatus	
	verstorben	lebend
PCNA _{areamed}	11,87	10,58
PCNA _{areamax}	29,08	23,19
PCNA _{areamin}	4,66	3,20
PCNA _{cellsmmed}	11,67	10,08
PCNA _{cellsmmax}	26,84	23,15
PCNA _{cellsmmin}	4,66	3,44
Anzahl	2	11

5.5.4.4 Alter und Prognose

Aus den folgenden beiden Tabellen bzw. der Grafik ist die schlechtere Prognose bei höherem Alter sowohl für uterine als auch für gastrointestinale Leiomyosarkome ersichtlich, die auch statistisch signifikant mit $p=0,011$ ist, das heißt Patienten über 50 Jahre haben eine signifikant schlechtere Prognose.

Tabelle 5-38 Anzahl der verstorbenen bzw. lebenden Patienten in Abhängigkeit vom Alter bei uterinen Leiomyosarkomen

Überlebensstatus	Alter	
	unter 50 Jahre	über 50 Jahre
Verstorben	1	6
Lebend	6	2

Tabelle 5-39 Anzahl der verstorbenen bzw. lebenden Patienten in Abhängigkeit vom Alter bei gastrointestinalen LMS

Überlebensstatus	Alter	
	unter 50 Jahre	über 50 Jahre
Verstorben	0	4
Lebend	2	3

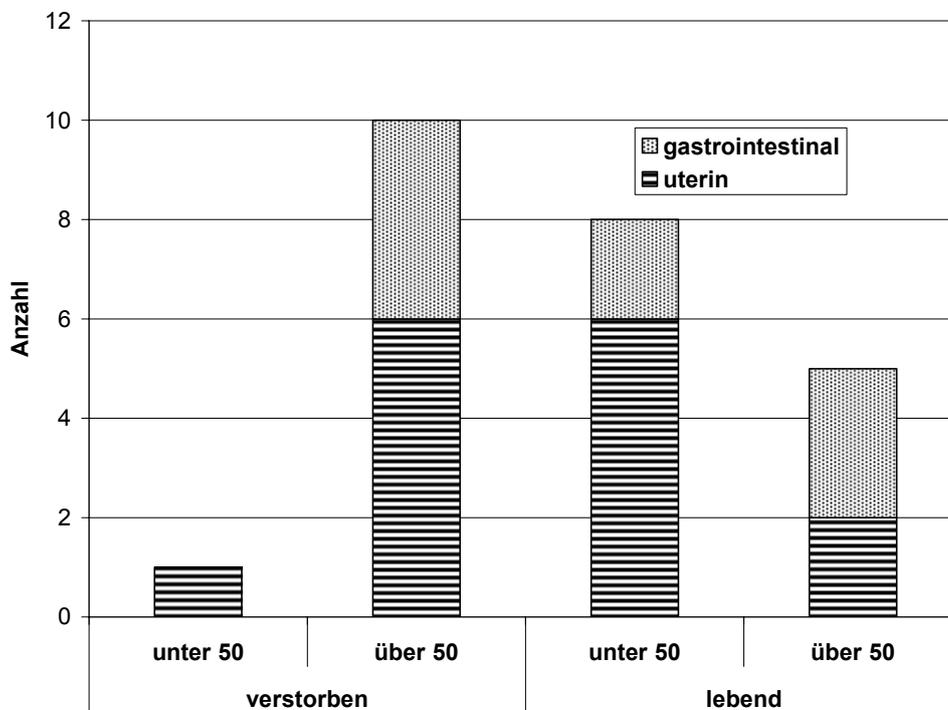


Abb. 5-27 Graphische Darstellung der Prognoseabhängigkeit vom Alter (Trennlinie 50 Jahre) für die beiden Tumorguppen gastrointestinale und uterine Leiomyosarkome

5.6 Vergleich der PCNA-Meßwerte der Leiomyome mit jenen der Leiomyosarkome und Leiomyblastome

Hier zeigen sich signifikant höhere Werte der verschiedenen PCNA-Parameter für LMS im Vergleich mit LM bei sämtlichen bestimmten Parametern, als Ausdruck der erhöhten Proliferationsaktivität. ($p < 0,0001$ bei allen Parametern). Da es sich lediglich um 2 Fälle von Leiomyoblastomen handelt, sind zwar Werte zu erkennen, die zwischen jenen der Myome und jenen der Sarkome liegen, auf eine Signifikanztestung wurde bei $n=2$ jedoch verzichtet.

Tabelle 5-40 Datenverteilung der Mittelwerte der jeweiligen PCNA-Parameter bei Leiomyosarkomen, Leiomyomen und Leioblastomen

PCNA-Parameter	Tumortyp		
	gesamte Sarkome	uterine Myome	Leiomyoblastome
PCNA _{areamed}	17,54	2,02	7,69
PCNA _{areamax}	34,68	6,20	26,62
PCNA _{areamin}	6,07	0,27	1,13
PCNA _{cellsmed}	15,57	1,95	8,9
PCNA _{cellsmax}	32,68	6,10	29,66
PCNA _{cellsmin}	5,86	0,31	1,13
Anzahl	50	52	2

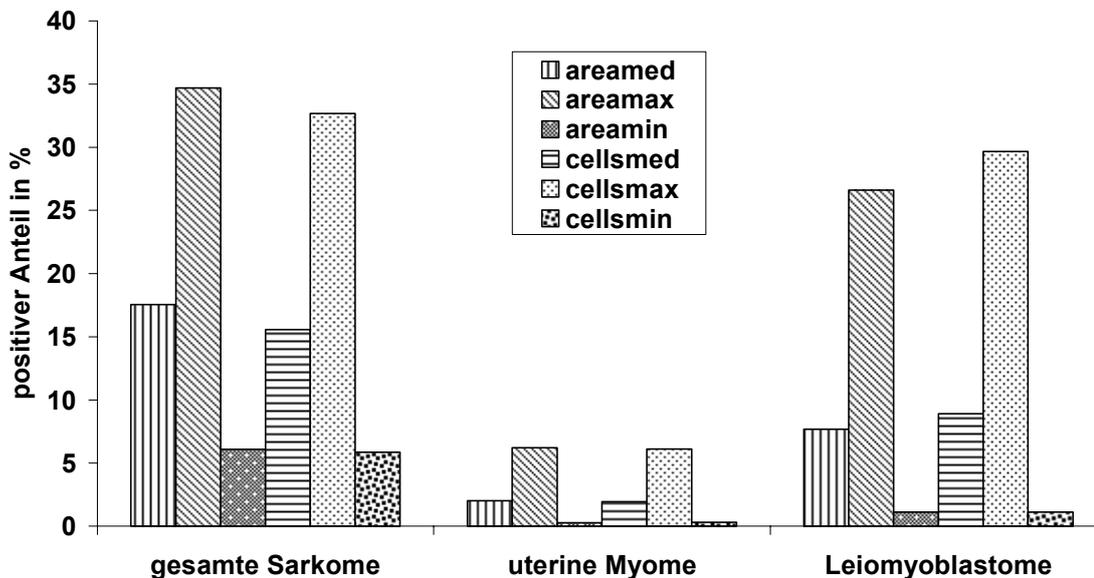


Abb. 5-28 Graphische Darstellung der Mittelwerte der PCNA-Parameter im Vergleich der 3 Grundgruppen der Sarkome, Myome und Blastome

5.6.1 Anteil der positiven Zellkerne im Vergleich zwischen Leiomyosarkomen und Leiomyomen (receptor positive fraction)

Da der aus 20 Gesichtsfeldern bestimmte und gemittelte positive Zellkernanteil bei den Leiomyosarkomen größer ist als bei den Leiomyomen, ist es nahe liegend, dass auch der vom Bildverarbeitungsprogramm berechnete Anteil der positiv gefärbten Zellkerne an allen gemessenen Zellkernen vom Programm als RPF (= receptor positive fraction) bezeichnet, bei den Leiomyosarkomen signifikant höher ist, als bei den Leiomyomen, was sich statistisch auch gut nachweisen läßt ($p < 0,0001$).

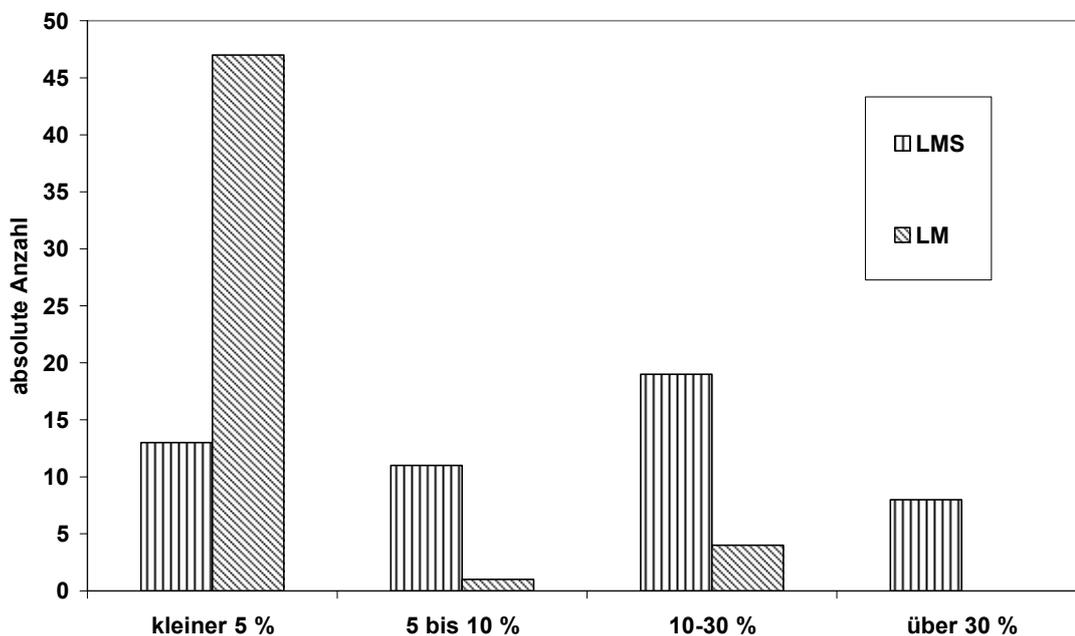


Abb. 5-29 Graphische Darstellung der Receptor positive fraction in Prozent im Vergleich zwischen Myomen und Sarkomen

Tabelle 5-41 Anzahl der Präparate mit der jeweiligen Receptor positive fraction (in %) im Vergleich von Leiomyosarkomen und Leiomyomen

Tumorentität	RPF in Prozent			
	kleiner 5	5 bis 10	10 bis 30	über 30
LMS	13	11	19	8
LM	47	1	4	0

5.7 Vergleich zwischen den beiden Sarkomgruppen

Es besteht kein signifikanter Unterschied der Messwerthöhen der PCNA-Parameter zwischen gastrointestinalen und uterinen Leiomyosarkomen, auch wenn die gastrointestinalen Leiomyosarkome im Schnitt geringfügig höhere Werte aufweisen.

Tabelle 5-42 Datenverteilung der Mittelwerte der PCNA-Parameter bei gastrointestinalen und uterinen LMS

PCNA-Parameter	Primarius	
	Gastrointestinales LMS	Uterines LMS
PCNA _{areamed}	19,07	16,68
PCNA _{areamax}	37,41	33,20
PCNA _{areamin}	6,25	5,98
PCNA _{cellsmed}	16,43	15,09
PCNA _{cellsmax}	34,82	31,47
PCNA _{cellsmmin}	5,70	5,95
Anzahl	18	32

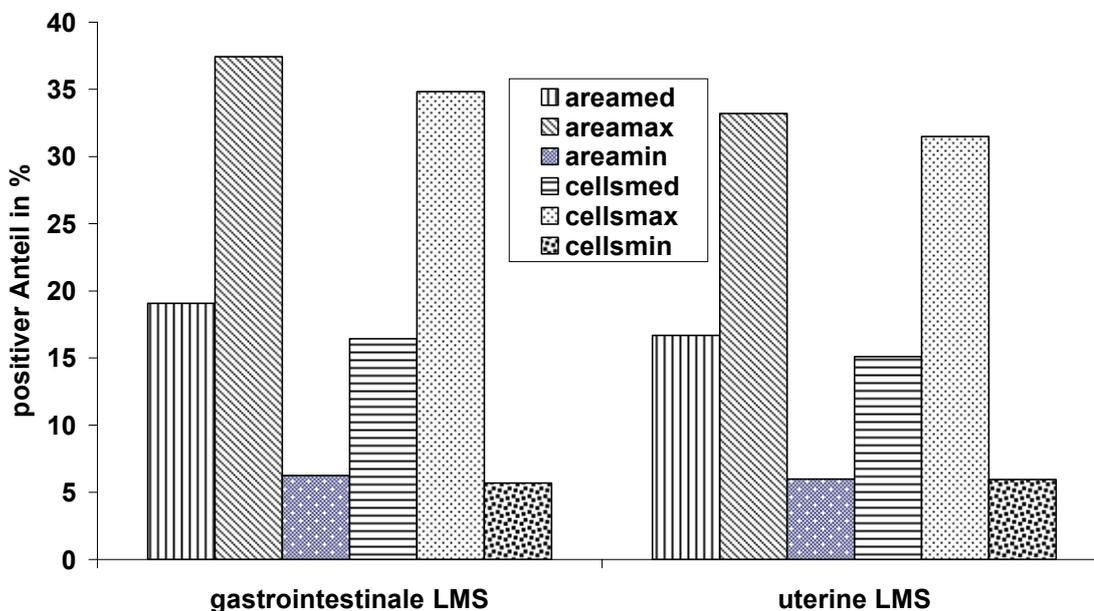


Abb. 5-30 Graphische Darstellung der Mittelwerte der PCNA-Meßwerte im Vergleich der beiden Untergruppen der uterinen und gastrointestinalen Leiomyosarkome

6 Diskussion

Die inhaltliche Gliederung der Diskussion richtet sich im Wesentlichen nach der bisherigen Darstellung der PCNA-Messwert- und sonstigen Ergebnisse und stellt diese der Literatur gegenüber.

6.1 Einfluss klinischer und pathologischer Parameter auf die Höhe der PCNA Messwerte

6.1.1 Myomgröße, Tumorgröße

Wie im Ergebnisteil aufgeführt, hat die Größe des uterinen Leiomyoms einen signifikanten Einfluss auf die Höhe der PCNA-Messwerte, genauso ist dies bei den uterinen und gastrointestinalen Leiomyosarkomen. Jedoch ist die Messwerthöhe bei den Myomen über 5 cm im Vergleich zu den Leiomyosarkomen circa um den Faktor 10 kleiner. Die höheren Messwerte sind leicht erklärbar auf eine erhöhte Zellteilung als Ursache der Größe zurückzuführen. Das schnellere Wachstum von malignen Tumoren findet hier in den höheren Messwerten ihr Äquivalent. In der Literatur finden sich keine Angaben zur Höhe von PCNA-Meßwerten bei uterinen Leiomyomen in Abhängigkeit von Ihrer Größe. Auch die Aussagen zu PCNA-Meßwerten und LMS-Größen oder anderen Größen bösartiger Tumore sind eher begrenzt. Tejido Sanchez et al. (2002) fanden in einer Studie an renalen Adenokarzinomen keinen Zusammenhang zwischen der Tumorgröße und der Höhe der PCNA-Meßwerte.

6.1.2 Alter

Bei uterinen Leiomyomen ist eine verstärktes Wachstum bzw. eine erhöhte Mitoserate unter Hormonzufuhr bzw. stellenweise auch in der Schwangerschaft beschrieben worden. Myles und Hart (1985) beschreiben Mitoseraten von 2/10 HPF und somit höher als im restlichen Gewebe im perihämorrhagischen Gewebe von apoplektischen Myomen. Erhöhte Mitoseraten differieren je nach Art der exogenen Hormonzufuhr. So beschreiben Norris et al. 1988 erhöhte Mitoseraten bei hämorrhagischen zellulären Leiomyomen im perihämorrhagischen Gewebe bei Frauen die orale Kontrazeptiva nehmen. Tiltman zeigte 1985 höhere Mitoseraten in Leiomyomen für Frauen die Gestagendepotpräparate nahmen. Da die Hormonspiegel, v.a. der Gestagenspiegel bei jüngeren Frauen höher als bei älteren sind und zur Menopause hin zunächst der Gestagen und dann der Östrogenspiegel abfällt (Feige, 2001), ließe sich daraus der oben unter Kapitel

5.3.1.3 graphisch dargestellte Abfall der PCNA-Level über die abnehmende Proliferationsaktivität mit zunehmendem Alter erklären. Einher damit geht die bekannte klinische Beobachtung einer Regression von Leiomyomen im Senium. (Muir 1985, Feige 2001)

Bereits Silverberg (1971) wies auf den Zusammenhang zwischen Alter und Prognose in seiner Untersuchung an 34 uterinen LMS hin. Nordal et al. (1995) fanden in einer Untersuchung an 70 uterinen Leiomyosarkomen eine univariate Prognosesignifikanz des Alters, welche sich jedoch multivariat nach Cox nicht nachweisen ließ. In einer Studie an 23 uterinen LMS fanden Jeffers et al. 1996 eine multivariate Prognoseverschlechterung mit zunehmendem Alter. Zu dem gleichen Ergebnis kamen Vardi und Tovell (1980) an 32 uterinen LMS. Gadducci et al. (1995) fanden bei einer Untersuchung an 26 uterinen LMS der Stadien I und II heraus, dass das krankheitsfreie Überleben für prämenopausale Patientinnen vs. postmenopausale Patientinnen verbessert ist. Ähnlich kamen George et al. (1986) in ihrer Untersuchung von 209 uterinen Sarkomen, von denen 81 uterine LMS waren, zu dem Ergebnis einer Abhängigkeit der Prognose vom Menopausenstatus, jedoch konnten sie keine Altersabhängigkeit der Prognose nachweisen.

Bei den gastrointestinalen Leiomyosarkomen fanden Conlon et al. (1995) in einer Studie an 38 primären gastrointestinalen Sarkomen, von denen es sich bei 35 um LMS handelte keinerlei Zusammenhang zwischen Prognose und Alter, ebenso wenig wie Grant et al. (1991) in einer Studie an 53 LMS des Magens. Einen lediglich univariat nachzuweisenden Zusammenhang zwischen Alter und Überleben fanden Howe et al. (2001) in ihrer großen Auswertung der National Cancer Database von knapp 1500 Dünndarmsarkomen.

Auch in dieser Studie zeigte sich eine signifikant schlechtere Prognose in Abhängigkeit vom Alter für Leiomyosarkompatienten sowohl bei den uterinen als auch bei den gastrointestinalen Tumoren. Jedoch ließ sich weder bei den uterinen noch bei den gastrointestinalen Leiomyosarkomen eine Altersabhängigkeit der PCNA-Meßwerte nachweisen.

6.1.3 Grading

In dieser Studie ließ sich kein Zusammenhang zwischen PCNA-Meßwerthöhe und Tumorigradung nachweisen. Dies steht in Kontrast zu einigen Studien. So zeigten Yu und Fletcher 1992a in einer Studie mit 60 gastrointestinalen LMS eine Korrelation zwischen PCNA und Grading. Bestätigen konnten dieses Vrettou et al. in einer Studie mit 12 gastrointestinalen LMS 1995. Auch bei anderen Tumoren

wurde ein Zusammenhang zwischen Messwerthöhe und Grading festgestellt, so bei Krüger und Müller (1995) an 58 Blasenkarzinomen.

6.1.4 Nekrosen

Das Vorhandensein von Nekrosen hat in dieser Studie zu keinen signifikant höheren Werten geführt. Lediglich bei den uterinen LMS sah man geringfügig höhere Werte. Inwiefern Nekrosen zu einer Veränderung der Messwerte führen sollten, ist fraglich. Ein Messen innerhalb der Nekrose wurde nicht durchgeführt, führt es doch zu, verglichen mit dem nichtnekrotischen umgebenden Gewebe, deutlich höheren Werten, auch lassen sich die Zellkerne nicht korrekt identifizieren. Dem steht das Wissen gegenüber, dass beim Vorhandensein von Nekrosen eine Prognoseverschlechterung mehrfach beschrieben worden ist. So beschrieben schon Ranchod und Kempson 1977 in einer Studie an 56 LMS des GI-Traktes ein System, dass eine Malignitätsbeurteilung auch aufgrund des Vorhandenseins von Tumorzellnekrose ermöglicht. Zu dem gleichen Ergebnis kamen Fujimoto et al. (2003) in einer Studie an 140 GIST des Magens.

Auch bei den uterinen LMS zeigt sich diese Prognoseverschlechterung, so bei Bell und Kempson, die 1994 ebenfalls ein histopathologisches System zur Malignitätsbeurteilung unter Einbeziehung der Nekrose, dort als koagulative Tumorzellnekrose bezeichnet (CTCN), beschrieben (s. auch Einführung). Bereits 1982 kamen Van-Dinh und Woodruff in einer Untersuchung an 43 uterinen LMS ebenfalls zu einer Prognoseverbesserung bei fehlenden Nekrosen.

Demgegenüber untersuchten Pautier et al. (2000) in einer Studie mit 78 uterinen LMS den prognostischen Wert des histologischen Gratings analog der französischen Gesellschaft der Onkologischen Zentren (FNCLCC, Fédération Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer), die sich aus einem Scoring für die Tumordifferenzierung, die Mitoseanzahl und Tumornekrose ergibt. Sie konnten keinen prognostischen Einfluß der Nekrose feststellen, lediglich der Mitoseindex zeigte einen solchen.

Wie bereits oben aufgeführt, ließ sich in dieser Studie eine Prognoseverschlechterung beim Vorhandensein von Nekrosen nachweisen. Es ließen sich keine erhöhten PCNA-Werte bei denjenigen Patienten mit vorhandenen Nekrosen, die verstarben im Vergleich zu den Patienten mit Nekrosen, die jedoch überlebten, nachweisen. Im Gegenteil zeigten sich die Werte erniedrigt.

6.1.5 Geschlecht

Sowohl Fujimoto et al. (2003) als auch Gloeckner et al. (1998) beschrieben eine schlechtere Prognose von GI LMS bei Männern, im Gegensatz zu Grant et al. (1991) und Conlon et al. (1995).

Es ließen sich keine Literaturquellen finden, die eine Korrelation zwischen PCNA-Meßwerten und Geschlecht zeigten. In dieser Studie ließ sich ebenfalls keine Korrelation der PCNA-Meßwerte zum Geschlecht zeigen.

6.2 Einfluss klinischer und pathologischer Parameter auf die Prognose der uterinen Leiomyosarkome

In der Literatur sind eine Reihe von Studien mit der Beschreibung unterschiedlichster Prognoseparameter und ihrer Untersuchung hinsichtlich Prognoserelevanz untersucht worden. Nach Eberl, Pfeleiderer hängt die Prognose wesentlich von der Mitoseaktivität ab, wie sie in einer Studie 1980 mit 69 uterinen LMS beschrieben. Nach Guo et al. (1996) ist eine trivariate Analyse unter der Benutzung von MI, Atypiegrad und CTCN (coagulative tumor cell necrosis) am besten in der Lage das aggressive Potential eines uterinen glattmuskulären Tumors zu beschreiben, wie sie in einer Studie mit 42 uterinen LMS nachwies. Eine chinesische Studie aus dem gleichen Jahr von Wang et al. (1996) an 53 Fällen von LMS und zellreichen oder bizarren LM stellte jedoch fest, dass die Mitoseaktivität zwar wichtig sei, aber kein unabhängiges Kriterium zur Prognoseaussage darstellt. In dieser Studie sind Atypie und grenzüberschreitendes Wachstum als wichtige Zusatzkriterien nachgewiesen worden.

In einer amerikanischen Studie an 28 metastasierten Leiomyosarkomen zeigten Jones und Norris 1995 eine schlechte Prognose für epitheloide LMS auf, selbst bei niedrigen Mitoseindexen. Der Großteil der metastasierten Tumore hatte eine Tumorgöße über 5 cm. In einer schwedischen Studie von 1998 fanden Blom et al. bei 49 uterinen Leiomyosarkomen, dass das Tumorstadium nach FIGO den wichtigsten Prognosefaktor darstellt. Bei ihnen hatten DNA-Ploidy und S-Phase-Fraktion einen unabhängigen prognostischen Aussagewert. Bei den Patienten des Tumorstadiums I war das Grading von signifikanter Bedeutung hinsichtlich der Prognose.

Bei Nordal et al. (1998) in Norwegen waren in einer Studie mit 70 LMS Mitosezahl, Grading und Gefäßinvasion nicht prognoserelevant. Die höchste Signifikanz bzgl. der Prognose zeigte das Tumorstadium gefolgt von Atypiegrad gefolgt von Tumordurchmesser. Niemann et al. fanden 1995 in einer amerikanischen Studie

bei der Untersuchung von 58 uterinen glattmuskulären Tumoren, von denen 34 uterine LMS waren, lediglich die Tumorgröße als signifikanten Prognoseparameter heraus. Von ihnen wurde primär die p53 Überexpression untersucht, die zu keinem multivariat unabhängigen Ergebnis führte, jedoch war p53 signifikant assoziiert mit einer kürzeren Überlebenszeit, einem schlechten Tumorgrading und einem schlechteren Tumorstadium.

1996 untersuchten Jeffers et al. in Schottland 23 uterine LMS und 10 glattmuskuläre Tumore mit unsicherem malignem Potential (smooth muscle tumors of uncertain malignant potential, STUMP) auf Proliferation, Ploidy und Prognose. Innerhalb dieser Studie zeigten sich Ki-67 und S-Phase signifikant höher in LMS sowie eine signifikante Korrelation zwischen MI, Ki-67 und S-Phase. Jedoch war bei den LMS lediglich die DNA-Ploidy mit der Prognose korreliert. Multivariat zeigte sich keiner der gemessenen Parameter mit der Prognose korreliert.

1986 fanden Kahanpaa et al. in Finnland in einer Studie mit 119 uterinen Sarkomen, von denen 51 uterine Leiomyosarkome waren, heraus, dass das Tumorstadium den wichtigsten Prognosefaktor darstellt, gefolgt vom Differenzierungsgrad und der Mitoseaktivität. Peters et al. fanden 1992 in einer amerikanischen Studie zur Untersuchung von 33 LMS und STUMP heraus, dass bei der univariaten Analyse eine schlechtere Prognose bei erhöhtem MI, hoher S-Phase, extrauteriner Ausbreitung und postmenopausalem Status besteht. Multivariat ließ sich dieses nur für die S-Phase und die extrauterine Ausbreitung nachvollziehen.

1992 untersuchten Perrone und Dehner in einer amerikanischen Studie 22 glattmuskuläre Tumore mit mindestens 5 Mitosen in 10 HPF. Sie fanden heraus, dass alleine die Mitoseaktivität zwischen 5 und 15 Mitosen pro 10 HPF kein verlässliches Kriterium zur Vorhersage eines aggressiven Verhaltens eines Tumors sei, dem ansonsten eine auffällige Zellatypie fehle, und der aufgrund aller sonstigen klinischen und pathologischen Kriterien einem Leiomyom entspricht. Eine ungünstige Prognose konnte für die mitotisch aktiven Tumore getroffen werden, bei denen ungünstige klinisch-pathologische Eigenschaften vorlagen, unter anderem Postmenopausenstatus, klinischer oder intraoperativer Eindruck der Malignität durch den Operateur, Ausdehnung des Tumors ausserhalb des Corpus uteri, Durchmesser über 10 cm, auffällige Zellatypie, invasives Wachstum, Nekrose und Mitosezahl über 20 Mitosen in 10 HPF.

1995 fanden Gadducci et al. in einer italienischen Studie an 26 uterinen LMS der Stadien I und II, dass das rezidivfreie Überleben besser bei prämenopausalen Patientinnen und bei Tumoren mit unter 20 Mitosen pro 10 HPF ist. Bereits 1980 fanden Vardi und Tovell in einer amerikanischen Studie mit 32 uterinen LMS

heraus, dass das Alter zum Diagnosezeitpunkt einen entscheidenden prognostischen Wert hat.

1982 fanden Van-Dinh und Woodruff in einer Studie mit 43 uterinen LMS die folgenden günstigen Prognosekriterien: Prämenopausalität, die Begrenzung eines Tumors auf ein Wachstum innerhalb eines Myomes, niedrige Mitoseanzahl (unter 4 Mitosen in 10 HPF), das Fehlen von Nekrosen und das Vorhandensein von Hyalinisierung im benachbarten Gewebe, die ein begrenztes Wachstum erwarten lässt.

Silverberg hob 1971 in einer amerikanischen Studie mit 34 uterinen LMS den Menopausenstatus als wichtigsten Prognosefaktor hervor. Ansonsten fand er eine schlechte Prognose bei: Farbigen, infiltrierendem Wachstum, Wachstum über den Uterus hinaus, Anaplasie, hoher Mitoserate, Blutgefäßinvasion und makroskopischem Malignitätsverdacht. Eine gute Prognose bestand, falls das Sarkom innerhalb eines Myoms wuchs.

Auch Larson et al. fanden 1990 in einer schwedischen Studie an 143 uterinen LMS eine gute Prognose bei Prämenopausenstatus. Salazar et al. untersuchten 1978 73 verschiedene uterine Sarkome von denen 20 LMS waren. Sämtliche Sarkome hatten unabhängig vom zugrundeliegenden Sarkomtyp eine schlechtere Prognose bei schlechterem Tumorstadium.

George et al. untersuchten 1986 in einer französischen Studie insgesamt 209 uterine Sarkome. In 81 Fällen handelte es sich um LMS. Die Analyse der Prognosefaktoren zeigte den Menopausenstatus ebenfalls als stärksten Vorhersagewert bezüglich des Überlebens an. Daneben waren zunehmende Tumorgöße und der WHO Performance Status prognoserelevant. Sie fanden keinen signifikanten Zusammenhang zwischen Prognose und dem histologischen Sarkomtyp, der Operationsmethode oder dem Alter.

2000 untersuchten Pautier et al. in einer französischen Studie insgesamt 157 uterine Sarkome, bei denen es sich in 78 Fällen um LMS handelte. Das primäre Ziel der Studie lag im Versuch, das histologische Gradingssystem des FNCLCC für Weichgewebssarkome auf seine Prognoserelevanz an uterinen Sarkomen zu überprüfen, was jedoch nicht gelang. Dieses System summiert die 3 histologischen Hauptkriterien der Tumordifferenzierung, der Mitosezahl und der Tumornekrose zu einem Gesamtpunktwert und ermittelt darüber das Grading. Dieses System zeigte sich jedoch als nicht prognosesignifikant. Für LMS waren das Stadium und die Mitosezahl die einzigen Faktoren, die einen Einfluß auf die Prognose bezüglich Überleben und Rezidiv hatten.

Ebenfalls 2000 fanden Layfield et al. in einer amerikanischen Studie an 45 uterinen glattmuskulären Tumoren keine signifikante Korrelation zwischen dem klinischen Ergebnis und der MDM-2 Expression, der Her-2/neu Expression oder der DNA-Ploidie. Dagegen zeigten sich das Grading, die Mitoseaktivität, die AgNOR-Färbung und die PCNA-Färbung signifikant bezüglich des klinischen Ergebnisses.

In dieser Studie war das Vorhandensein von Nekrosen ebenfalls mit einer deutlich schlechteren Prognose in Zusammenhang zu bringen. Desweiteren war die Prognose für Patientinnen über 50 Jahre signifikant schlechter (bei einem Durchschnittsalter von 53,1 Jahren). Zum Vergleich betrug der Altersdurchschnitt der Leiomyome 46,7 Jahre. Wie leicht anzunehmen war, ist auch die Prognose bei einem schlechteren Grading schlechter.

Die Ergebnisse dieser Studie stehen somit in Einklang mit den oben angegebenen Ergebnissen anderer Studien. Anstelle des Alters wird häufig der Menopausenstatus genannt, der sich leider retrospektiv in dieser Studie nicht erfassen ließ.

Die Tumorgöße hingegen war nicht prognosesignifikant. Die durchschnittliche Größe der UT-LMS war 7,2 cm. Bei den nachverfolgten uterinen LMS betrug die Durchschnittstumorgöße 9 cm bzw. 9,37 cm für die überlebenden bzw. verstorbenen Patientinnen.

6.3 Einfluss klinischer und pathologischer Parameter auf die Prognose der gastrointestinalen Leiomyosarkome

Eine Reihe von Studien wurde ähnlich dieser hier mit einer Summe an **LMS aus den verschiedenen Bereichen des Gastrointestinaltraktes** durchgeführt:

1977 publizierten Ranchod und Kempson ihre Daten von 100 glattmuskulären Tumoren des Gastrointestinaltraktes und Retroperitoneums. Sie betonten, dass es sich bei der Mitoseanzahl um den wichtigsten Malignitätsindikator handelt, da alle Tumoren mit mindestens 5 Mitosen pro 10 HPF ein aggressives Verhalten zeigten. Jedoch bedeutet eine niedrigere Mitosezahl nicht, dass es sich um benigne Tumore handelt, denn 40% aller LMS dieser Studie hatten unter 5 Mitosen pro 10 HPF. In diesen Fällen war aber häufig Tumorzellnekrose vorhanden. Falls nicht, empfahlen sie, die Tumorgöße, Zelldichte und Zellatypie als Hilfsparameter heranzuziehen.

1978 veröffentlichten Akwari et al. eine retrospektive Auswertung der Patienten der Mayo-Klinik der Jahre 1950 bis 1974 mit primären intestinalen LMS. Sie betonten die prognostische Relevanz des Gradings.

1983 stellten Shiu et al. an 34 LMS sowie 4 malignen Leiomyoblastomen des Dünn- und Dickdarmes heraus, dass eine schlechte Prognose bei schlechtem Grading, Tumorgröße über 5 cm, Invasion in Nachbarorgane bzw. freier Perforation besteht.

1995 veröffentlichten Conlon et al. aus dem Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, New York die Daten jener 38 Patienten von 1982 bis 1991, die mit einem primären gastrointestinalen Sarkom behandelt wurden. Diese stellten 2% der gesamten dort behandelten Sarkome. In 20 Fällen waren diese am Magen lokalisiert, in 5 am Duodenum, 4 am Jejunum, 2 am Colon und 7 am Rektum. Bei 35 Fällen handelte es sich um ein LMS. Eine schlechtere Prognose stellten sie für präoperativ bestehenden Gewichtsverlust und Schmerzen bei Diagnose, schlechtes Grading, R1-Resektion sowie Lokalisation im Dünndarm fest. Bei Patienten, die R0 operiert werden konnten, stellte das Grading den wichtigsten prognostischen Faktor dar. Keinen Einfluß auf die Prognose hatten hingegen Alter, Rasse, Geschlecht und Tumorgröße.

Kadoya et al. untersuchten 1989 in einer japanischen Studie 25 GI-LMS. Bei ihnen hatten LMS mit einem Tumordurchmesser über 6 cm, einer Mitoseanzahl über 3,0 / 0,0004 mm² sowie DNA-Aneuploidie eine schlechtere Prognose. In der multivariaten Analyse war der Mitoseindex nützlich zur Vorhersage eines frühen postoperativen Rezidivs, desweiteren eine hohe Zelldichte sowie großer Tumordurchmesser zur Vorhersage eines späten Rezidives.

1991 wurde von Dougherty et al. in einer Studie des Massachusetts General Hospital Cancer Center, Boston mit 55 gastrointestinalen Sarkomen der Jahre 1962 bis 1990, von denen 51 LMS waren, betont, dass der wichtigste prognostische Parameter der Mitoseindex sei.

1989 untersuchte Wen in einer chinesischen Studie 936 glattmukuläre Tumore des GI-Traktes. In 252 Fällen handelte es sich um LMS und in 191 Fällen um LM. Als prognoserelevant innerhalb der LMS wertete er die Tumorgröße, das Grading und die Mitoseanzahl. Zur Differenzierung zwischen benignem und malignem Tumor empfahl er eine Mitoseanzahl ≥ 2 pro 25 HPF, Zellanaplasie, eine hohe Zelldichte, Tumorgröße über 6 cm, Vorhandensein von Nekrosen und zystischen Veränderungen sowie Infiltration von Tumorzellen in das Nachbargewebe.

In einer taiwanesischen Studie aus dem Jahr 1995 an 80 Patienten, von denen 45 ein GI-LMS hatten, stellten Chou und Eng fest, dass ein männliches Geschlecht, Tumorgröße über 5 cm, R1-Resektion, ein fortgeschrittenes Stadium sowie ein hohes Grading univariat prognostisch signifikant schlecht für das Überleben waren. Multivariat konnten nur noch ein fortgeschrittenes Stadium und ein hohes Grading aufrechterhalten werden.

Nun zunächst ein Überblick über die Studien, die sich gezielt mit den **LMS des Magens** befassen: 1995 fanden Koga und Otchiai in einer japanischen Studie mit 83 LMS des Magens eine ungünstige Prognose bei Vorhandensein von Fernmetastasen oder direkter Invasion der Nachbarorgane, hoher Mitosenanzahl, schwerer Kernatypie, Ulzeration der Mucosa oder einem Tumordurchmesser über 6 cm.

In einer japanischen Studie von 1998 bei Katai et al. an 103 LMS des Magens war die Prognose bei ulzerierten Tumoren signifikant schlechter. Innerhalb dieser Studie starb kein Patient an der Krankheit falls die Tumorgöße unter 3 cm betrug. Metastasen fanden sie vor allem in der Leber und im Peritoneum. In Einklang mit der bekannten hämatogenen Metastasierung sahen sie keinen Lymphknotenbefall.

Ebenfalls eine japanische Studie von Fujimoto et al. (2003) an 140 LMS des Magens zeigte einen signifikanten prognostischen Einfluß von männlichem Geschlecht, Tumorgöße über 10 cm, Vorhandensein von Nekrose und hohem Proliferationsgrad, in dieser Studie mittels MIB-1 untersucht.

Im Jahr 1991 untersuchten Grant et al. in einer Studie an der Mayo Klinik 53 Patienten mit LMS des Magens mit der Frage nach dem Vorteil einer radikalen Tumor-OP gegenüber einer wide exzision. Dabei wurden lediglich die Tumorgöße und das histologische Grading als signifikante prognostische Parameter festgestellt. Die radikale Operation konnte keinen Nachweis eines verbesserten Überlebens erbringen. Außerdem zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen Prognose und Alter, Geschlecht oder Tumorlokalisation.

1981 stellten Lindsay et al. bei der Untersuchung von 50 LMS des Magens eine gute Prognose für G1-Tumoren fest. Bei ihnen fanden sich ebenfalls keine Lymphknotenbeteiligungen.

1982 stellten Shiu et al. an 41 Myosarkomen des Magens fest, dass eine schlechte Prognose besteht bei schlechtem Grading, Tumorgöße über 5 cm oder Invasion in die Nachbarorgane.

1987 untersuchten Tsushima et al. 117 glattmuskuläre Tumore des Magens, davon 44 LMS. Prognosesignifikant waren bei ihnen die DNA-Ploidy, das Grading und die Tumorgöße.

Ebenfalls eine schlechte Prognose bei Invasion der Nachbarorgane fanden Sheen-Chen et al. 1994 in einer Studie mit 8 LMS des Magens.

Im folgenden nun eine Übersicht der Studien, die sich gezielt mit den **LMS des Dünndarmes** befassen: Bei den LMS des Dünndarms handelt es sich um seltene Tumore, die in wenigen Studien separat zu ihren prognoserelevanten Faktoren

untersucht wurden. In einer amerikanischen Studie aus dem Jahr 1987 stellten Ricci und Ciccarelli an 16 LMS des Dünndarms die deutliche Abhängigkeit der Prognose vom Grading heraus. G1-Tumore wurden in der Regel ohne Rezidive überlebt, wohingegen G3-Tumore nach im Schnitt nur 9 Monaten zum Tode führten.

Eine Reihe von Studien untersuchte die LMS des Dünndarms in Gemeinschaft mit anderen malignen Tumoren des Dünndarms oder mit Sarkomen des Dünndarms. Eine Schweizer Studie von Brucher, aus dem Jahr 1998 an 71 Dünndarmtumoren, von denen 47 maligne waren, von denen wiederum 5 LMS waren, ergab eine schlechtere Prognose bei Vorhandensein von Fernmetastasen und erfolgter R1-Resektion. In dieser Studie konnte kein Einfluß des T-Stadiums, des Nodalstatus oder des Gradings festgestellt werden. In einer großen retrospektiven Studie in den USA, bei der die Daten der „National Cancer Base“ aus den Jahren 1985 bis 1995 ausgewertet wurden, wurden insgesamt 14.253 Tumore des Dünndarmes gefunden. Bei 1440 handelte es sich um Sarkome. Bei multivariater Analyse waren die folgenden Parameter positiv mit einer guten Prognose korreliert: Tumgröße unter 5 cm, histologischer Typ des Leiomyosarkoms, begrenzte Ausdehnung des Tumors.

Nun folgt kurz ein Überblick über die **LMS des Colons und Rektums**: Was die LMS des Colons und Rektums betrifft, so sind dort wenige Studien zu prognostischen Parametern ausschließlich dieses Gebietes veröffentlicht worden. Watson et al. veröffentlichten 1978 eine Studie mit 36 LMS des Dickdarmes, in der die Mitoseaktivität bester Prognoseparameter bzgl. des Überlebens war. Witzigmann et al. beschrieben 1995 ebenfalls die Anzahl der Mitosen als wichtigstes Kriterium zur Unterscheidung zwischen einem LM und LMS des Rektums. Zusätzliche Kriterien waren eine große Zelldichte, Menge an Nekrosen, Zellatypie und die Größe des Tumors.

Ausschließlich über **ösophageale LMS** sind ebenfalls wenige Studien veröffentlicht worden. 1997 betonten Pesarini et al., dass die Prognose der Patienten vor allem vom histopathologischen Grading in niedrig- bzw. hochgradige Sarkome in Abhängigkeit von der Anzahl der Mitosen beeinflusst wird.

1999 stellten Gao et al. in einer chinesischen Studie an 11 ösophagealen LMS 2 unterschiedliche makroskopische Wachstumsmuster fest, zum einen die polypoid wachsende Form, zum anderen die invasiv wachsende Form. Für die polypoide Form besteht in ihrer Untersuchung eine bessere Prognose.

In dieser Studie war bei den gastrointestinalen Leiomyosarkomen lediglich das Vorhandensein von Nekrosen mit einem signifikant schlechteren Grading assoziiert. Ebenso war auch ein Alter über 50 Jahren mit einer schlechteren

Prognose in Zusammenhang zu bringen. Das Grading hingegen zeigte keinen signifikanten Zusammenhang zur Prognose. Ebenso wenig war die Tumorgröße signifikant für die Prognoseaussage, obwohl die Tumorgröße der Patienten, die verstarben mit 10,6 cm gegenüber denen der Überlebenden mit 4,9 cm deutlich höher war. Hier stellt sich bei der Frage nach der Signifikanz natürlich auch wiederum die Problematik der niedrigen Fallzahl mit lediglich in 8 von 9 nachverfolgten Fällen angegebener Tumorgröße, dar.

Umso bestärkender sind die selbst bei dieser geringen Fallzahl nachweisbaren Prognosesignifikanzen der Nekrosen, die schon von Ranchod und Kempson 1977 zur in der Einführung geschilderten Einteilung führten, darin, dass dieser Parameter ein wichtiges prognostisches Kriterium bleibt. Die Relevanz des Alters ist hingegen in den oben genannten Quellen unterschiedlich beurteilt worden. Nichtsdestotrotz ergab sich hier eine univariate Signifikanz für eine Prognoseverschlechterung über 50jähriger Patienten.

6.4 Andere „moderne“ histopathologische Parameter bei uterinen und gastrointestinalen LMS

Verschiedenste Parameter sind auf ihre Aussagekraft bzgl. einer möglichen Diskriminierung zwischen benignem und malignem Wachstum sowie innerhalb der malignen Tumoren auf ihre prognostische Relevanz untersucht worden.

1987 untersuchten Ricci und Ciccarelli in einer amerikanischen Studie 16 LMS des Dünndarms. Es wurden immunhistochemische Färbungen mit Antikörpern gegen Vimentin, muskelspezifisches Aktin, Desmin und S-100 durchgeführt. Vimentin zeige sich zu 100% positiv, Aktin zu 63% und Desmin und S-100 waren komplett negativ. Sie konnten keinen Zusammenhang zwischen Differenzierung der Tumoren bzw. Prognose der Patienten und der Färbung erkennen.

In einer chinesischen Studie von 1994 an 55 glattmuskulären Tumoren des GI-Traktes kamen Cai et al. zu dem Schluß, dass eine p53-Überexpression als objektiver Parameter zur Unterscheidung zwischen malignen und benignen Tumoren benutzt werden könne und desweiteren in der Lage sei, die Prognose vorherzusagen.

In einer türkischen Studie aus dem Jahr 2005 untersuchten Gokaslan et al. an 17 uterinen LMS, 2 uterinen STUMP (smooth muscle tumors of uncertain malignant potential), 9 atypischen Myome und 15 uterinen LM ihr Färbeverhalten mittels p53 und pTEN, Ki-67 sowie den Östrogen- und Progesteronrezeptoren. Die malignen Tumore zeigten eine deutliche Färbung für Ki-67 und p53. Hingegen zeigte sich der Progesteronrezeptor bei den benignen Tumoren deutlich positiv gefärbt.

Layfield et al. kamen 2000 in einer amerikanischen Studie an 45 uterinen glattmuskulären Tumoren ebenfalls zu dem Ergebnis, dass p53 signifikant höher bei schlechter Prognose ist, des weiteren AgNOR und PCNA. Sie räumten jedoch ein, dass von ihren untersuchten immunhistochemischen Markern keiner den Signifikanzwert bzgl. der Prognose des Mitoseindex sowie der Klassifikation nach Kempson und Bari (1970, s. Kapitel 1.) erreicht.

Nach einer schwedischen Studie an 49 uterinen LMS aus dem Jahr 1998 von Blom et al. kann es sein, dass p53-Überexpression ein höheres Risiko eines Rückfalles bei frühen Tumorstadien anzeigt. Der wichtigste Parameter bzgl. Prognose ist jedoch auch bei ihnen das Stadium. S-Phase-Fraktion und DNA-Ploidy hatten unabhängig voneinander einen prognostischen Aussagewert. In einer japanischen Studie an 51 glattmuskulären Tumoren des Uterus aus dem Jahr 1995 kamen Amada et al. zu dem Ergebnis, dass p53 bzgl. des Überlebens prognosesignifikant war. Eine Kombination aus Ki-67-Index und alpha-SMA war in ihrer Studie hilfreich zur Unterscheidung zwischen LMS und benignen glattmuskulären Tumoren (in diesem Fall 4 bizarre LM und 21 zellreiche LM). Zhai et al. stellten 1999 bei der Untersuchung von uterinen LMS, STUMP, zellreichen LM, bizarren LM und atypischen LM mittels Untersuchung von Östrogenrezeptor, Progesteronrezeptor, p53 und Ki-67 fest, dass eine abnormale Expression von Östrogen- bzw. Progesteronrezeptoren, p53 und Ki-67 häufig mit uterinen LMS assoziiert ist.

Im Unterschied dazu kamen Niemann et al. 1995 in einer Studie an 34 uterinen LMS, 18 LM und 6 STUMP zu dem Ergebnis, dass eine p53 Überexpression in LMS zwar signifikant mit dem Grading und dem klinischen Stadium zum Diagnosezeitpunkt korreliert, desweiteren, dass eine p53 Überexpression zwar assoziiert ist mit einer kürzeren Überlebensdauer, dass diese Ergebnisse aber einer multivariaten Untersuchung nicht standhalten. Der einzige unabhängige Parameter war bei ihnen das Tumorstadium.

Ein weiterer möglicherweise hilfreicher Parameter ist die Silberfärbung der „nuclear organizer region“, kurz AgNOR. Boquist fand 1992 heraus, dass AgNOR signifikant höher in uterinen LMS als in LM und normalem Myometrium ist. Die Färbeeigenschaften in LM und normalem Myometrium waren gleich. Es bestand eine Korrelation zwischen AgNOR und dem MI. Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen, wie bereits oben erwähnt, bereits Layfield und Liu (2000).

In einer chinesischen Studie aus dem Jahr 1994 fanden Wang et al. an 51 LMS, 49 LM und 2 LMB, dass AgNOR zwar in mehr LMS-Zellkernen positiv war als in LM, es aber keine direkte Beziehung zur Tumorgroße, Mitoseanzahl und der Überlebenszeit gab. Außerdem stellten sich weder Vimentin noch Desmin noch

S100 noch Fibronectin noch Cytoceratin als hilfreich zur Differenzierung zwischen LM und LMS heraus.

Auch der Proliferationsmarker Ki-67 wurde in verschiedenen Studien auf seine Tauglichkeit in Bezug auf eine Prognoseaussage untersucht, so z.B. durch Fujimoto et al., der 2003 in einer Studie an 140 GIST zu dem Ergebnis kam, dass männliches Geschlecht, Tumorgröße über 10 cm, ein hoher Mitoseindex und ein hoher Ki-67-Index unabhängig voneinander Indikatoren eines schlechten Überlebens sind. 1996 kamen Jeffers et al. in der bereits weiter oben erwähnten Studie an 23 uterinen LMS und 10 STUMP zu der Feststellung, dass lediglich DNA-Ploidy, Alter und Atypiegrad unabhängig assoziiert mit dem Überleben sind. Kein einzelner Faktor (also weder DNA-Ploidy, Alter und Atypiegrad noch Ki-67, MI oder S-Phase-Fraktion) war unabhängig in der Lage das Überleben in der Gruppe der LMS vorherzusagen. Alternative Messmethoden der Zellproliferation, wie Ki-67, korrelieren demzufolge mit der Mitoserate und liefern keine nützlichen zusätzlichen Informationen.

Die Auswertung der Ki-67-Färbung und des Mitoseindexes ist Teil einer anderen Arbeit dieser Verbundstudie. Im Rahmen dieser Arbeit wurden lediglich die im Rahmen der Erstdiagnostik in Einzelfällen durchgeführten Zusatz-Färbungen ausgewertet. Dabei ließ sich kein einheitliches Bild herausfinden. Die in 2 bzw. 5 Fällen durchgeführte Bestimmung von S-100 ergab ein negatives Ergebnis. Keratin wurden je einmal mit negativem Ergebnis bestimmt. Vimentin war bei den 5 durchgeführten Bestimmungen der GI-LMS positiv, bei den uterinen in je einem Fall positiv bzw. negativ. Desmin war in 4 bzw. 6 Fällen bei den UT-LMS bzw. GI-LMS bestimmt worden und jeweils in der Hälfte der Fälle positiv. Aktin war in beiden UT-LMS, bei denen es bestimmt worden ist, positiv, bei den GI-LMS in 3 von 4 Fällen.

Bezüglich des weiteren klinischen Verlaufs im Sinne von Metastasenbildung oder Tod infolge Krankheit ließ sich in diesen Fällen mit keiner der im Vorabsatz genannten Färbemethoden eine Aussage treffen.

6.5 Kerngröße und Malignität

Bezüglich der Kerngröße sind bisher keine Veröffentlichungen betreffend Leiomyosarkomen erschienen, aber es gibt eine Reihe von Untersuchungen, die sich mit der Frage nach der objektiven Quantifizierung der Kerngröße zur Diskriminierung zwischen benignen und malignen Tumoren, als auch mit der Frage nach der Prognoseaussagekraft beschäftigt haben.

Ein breites Forum bietet hier die Zytologie, die aufgrund der bereits standardmässig möglichen computerunterstützten Auswertung auch die routinemässige Erfassung

der Kerngrößen erlaubt, so wurde auch eine Reihe von histologischen Untersuchungen zu diesem Thema veröffentlicht.

1992 zeigten Wang et al. an 70 Fällen von Prostatakarzinomen und 10 benignen Hyperplasien, dass sich die Kerngröße sowohl bei den Karzinomen gegenüber den Hyperplasien vergrößert, als auch die Kerngröße bei aneuploiden Tumoren erhöht. Hingegen konnte Duskova 1992 nicht den von ihm gewünschten Zusammenhang zwischen Dignität und Kerndurchmesser bei Schilddrüsenkarzinomen zeigen.

Ebenso fanden Salmon et al. 1993 keinen Zusammenhang zwischen der Kerngröße und der Dignität bei Meningeomen. Haroske et al. jedoch fanden 1984 den maximalen Zellkerndurchmesser bei NHL als wichtigen Parameter zur Diskriminierung von niedrig- zu hochmalignen Tumoren.

Schondorf et al. untersuchten 1989 den Einfluß der Zellkerngröße bei Mammakarzinomen auf die Prognose und fanden eine ähnliche gute Aussagekraft der Zellkerngröße wie beim Lymphknotenstatus. Rimmelink et al. beschrieben 1994 ebenfalls einen Zusammenhang zwischen Zellkerngröße und Prognose, hier bezüglich einer Metastasierung und der Zellkerngröße. Sie untersuchten adulte parenchymatöse Sarkome. Auch beim Ovar sind größere Kerndurchmesser bei malignen gegenüber Borderline oder benignen Tumoren beschrieben worden durch Tan et al 1999, als auch innerhalb der malignen Ovarialtumoren größere Zellkerne bei metastasierenden oder rekurrenten Tumoren.

2000 gelang Sato et al. ebenfalls der Nachweis von größeren Zellkernen bei Osteosarkomen gegenüber benignen Knochenveränderungen im Tierexperiment. Zu dem gleichen Ergebnis kamen Jin et al. 1993 bei der Untersuchung von menschlichen Papillomen der Wange gegenüber Plattenepithelkarzinomen.

Die hier gefundenen größeren Kerne bei uterinen und gastrointestinalen Sarkomen gegenüber den uterinen Leiomyomen stehen somit breit im Einklang mit den Ergebnissen der Studien bei anderen Tumoren. Nachteilig an dieser Methode ist natürlich die Abhängigkeit von einer computergestützten Bildanalytik um eine quantitative Messung zu ermöglichen.

6.6 PCNA als ergänzender Parameter bei der Diagnose von Sarkomen und insbesondere Leiomyosarkomen

Eine Relevanz von PCNA für die Prognose von malignen Tumoren ist verschiedentlich diskutiert worden. Siehe dazu auch die in der Einführung angegebene Tabelle. (Kapitel 1.1) Für Sarkome sind diesbezüglich kontroverse Ergebnisse erhoben worden. So ergab sich eine Prognosesignifikanz für 56

Synovialsarkome bei Oda (1993). Ebenfalls fand Tokuc (1998) eine schlechtere Prognose bei hohen PCNA-Labeling-Werten bei 29 kindlichen Rhabdomyosarkomen. O'Reilly (1997) hingegen fand keine signifikante Prognoseverschlechterung bzgl. PCNA bei 35 extrauterinen LMS. Choong (1995) erhielt in einer Studie mit 185 Weichgewebssarkomen eine Korrelation von PCNA zum Überleben, genauso bei Jensen (1998) für 216 Weichgewebssarkomen.

Yu (1992b) fand in einer Studie mit 60 GIST (gastrointestinal stromal tumors) signifikant höhere PCNA-Werte bei schlechterem Grading und unabhängig davon auch eine schlechtere Prognose bei PCNA-positiven Tumoren. Ebenso fanden Vrettou et al. (1995) eine Korrelation zwischen PCNA und Grading beim Vergleich von 12 LMS des GI-Traktes mit 30 LM. Chou et al. (1997) fanden beim Vergleich von 6 uterinen LMS mit 44 LM keine Signifikanz bzgl. der PCNA-Färbung. Diese zeigte sich auch bei einigen LM deutlich hoch. Er vermutete einen DNA-Repair bei LM als Ursache dafür.

In einer deutschen Studie aus dem Jahr 2000 an 58 Stromatumoren des Magens, bei denen ein Follow-up in 45 Fällen gelang, stellten Knoop et al. fest, dass eine signifikante Beziehung des Mitoseindex zum PCNA-Färbeindex bestand und dass der Färbeindex unabhängig prognosesignifikant war. In der bereits oben erwähnten Studie von Layfield et al. (2000), bei der 45 uterine glattmuskuläre Tumore untersucht wurden, wurde zwar unter anderem bzgl. PCNA eine Korrelation mit der Prognose festgestellt, des Weiteren war die Expression von p53 und der Anteil PCNA positiver Kerne in der Lage, die Tumoren in prognostische Gruppen zu unterteilen, jedoch erreichte keine der Techniken die Signifikanz der Mitoserate.

Hier wurde nicht nur die Prognoserelevanz der PCNA-Messwerte sondern auch der Zusammenhang zwischen PCNA-Meßwerten und verschiedenen klinischen Parametern untersucht.

Bereits bei den uterinen Myomen zeigen sich Veränderungen in Bezug auf die leider nicht immer erfasste Myomgröße und das regelhaft, da damals zur Qualitätssicherung gehörende, Uterusgewicht. Sämtliche PCNA-Meßwerte zeigten sich für Uteri über 100g signifikant höher. Der Mittelwert für $PCNA_{\text{cellsmed}}$ der Uteri unter 100g betrug 0,53%, der Mittelwert der Uteri über 100g 2,32%. Auch für die Myomgröße über 5 cm lassen sich höhere PCNA-Meßwerte nachweisen, diese sind jedoch nicht signifikant.

Bei den uterinen Leiomyosarkomen zeigten sich ebenfalls höhere PCNA-Meßwerte für Tumore über 5cm, in diesem Fall sogar signifikant. Dies jedoch auf einem höheren PCNA-Meßwertniveau von $PCNA_{\text{cellsmed}}$ für unter 5cm von 6,56% bzw. 16,73% für über 5 cm. Das Gewicht der Uteri war lediglich in 23 Fällen angegeben

und lag in 21 davon über 100g. Der Unterschied der Messwerte war nur gering und somit auch nicht signifikant nachweisbar: PCNA_{cellsmed} für unter 100g von 12,41% bzw. 15,11% für über 100 g. Bei den gastrointestinalen LMS zeigte sich in Bezug auf die Tumorgöße ein ähnliches Bild: Tumore über 5cm hatten signifikant höhere PCNA-Meßwerte, PCNA_{cellsmed} 6,68% für unter 5 cm vs. 18,15% für über 5 cm.

Untersucht wurde auch der Zusammenhang zwischen PCNA-Meßwerthöhe und Alter der Patienten. Tendenziell ließ sich dabei bezüglich der uterinen Leiomyome eine Erniedrigung der Werte mit zunehmendem Alter feststellen. Bei den uterinen wie gastrointestinalen LMS war hingegen keinerlei Zusammenhang zwischen dem Alter und der Messwerthöhe zu erkennen.

Auch beim Grading ließ sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen PCNA-Meßwerthöhe und Grading feststellen. Lediglich bei den gastrointestinalen LMS war ein Trend zu höheren PCNA-Meßwerten bei schlechterem Grading erkennbar.

Bezüglich des Vorhandenseins von Nekrosen ergeben sich zwar sowohl bei den uterinen als auch bei den gastrointestinalen LMS höhere Messwerte beim Vorhandensein von Nekrosen: PCNA_{cellsmed} bei uterinen 11,88% (keine Nekrosen) gegenüber 17,06% (Nekrosen vorhanden) bzw. gastrointestinal 14,63% (keine Nekrosen) gegenüber 17,33% (Nekrosen vorhanden). Eine Signifikanz dieser Differenzen läßt sich jedoch nicht nachweisen.

Auch beim Geschlecht lassen sich keine signifikanten Unterschiede in der Messwerthöhe bei Männern und Frauen mit gastrointestinalen LMS feststellen, wenn auch die Männer im Schnitt höhere Messwerte aufwiesen, z.B. PCNA_{cellsmed} 18,64% (Männer) gegenüber 13,67% (Frauen).

Als einer der Kernpunkte dieser Studie zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen PCNA-Meßwerten und Prognose der Patienten, auch wenn die PCNA-Meßwerte der verstorbenen Patienten leicht höher als die der lebenden waren (PCNA_{cellsmed} 17,6% (DOD) gegenüber 14,62% (Überlebt)). Für die UT-LMS sieht man, dass sämtliche mittleren PCNA-Messwerte ein höheres Ergebnis im Falle des Todes am Sarkom erbrachten. Dieses ist jedoch nicht signifikant. (z.B. PCNA_{cellsmed} 13,38% (Überlebt) gegenüber 21,07% (DOD)) Bei den GI-LMS zeigten sich paradoxerweise niedrigere PCNA-Meßwerte für den Tod am Sarkom (z.B. PCNA_{cellsmed} 11,53% (DOD) gegenüber 16,85% (Überlebt)).

Die Messwerte der Sarkome im Vergleich zu denen der Myome waren jedoch signifikant höher, mit PCNA_{cellsmed} 15,57% (Sarkom) gegenüber 1,95% (Myom), so dass sich nach dieser Studie die PCNA-Färbung als Hilfsmittel zur Diskriminierung zwischen LM und LMS eignet. Im Alltag hat sich die quantitative Messung bisher nicht durchgesetzt, obwohl sie die Möglichkeit einer benutzerunabhängigen

reproduzierbaren Messung bietet. Nachteilig ist hier zum einen, dass neben dem notwendigen PC auch die bilderfassenden Materialien angeschafft werden müssen. Auch beinhaltet die Notwendigkeit der Eichung auf einen Modalwert zu Beginn einer jeden Messung trotz aller Versuche einer Objektivität immer noch das subjektive Element des Betrachters, der letztendlich entscheiden muß, ab wann er die Zellen als positiv einschätzt. Dies ist insbesondere bei PCNA von kritischer Bedeutung, da wie bereits in der Einführung bemerkt, PCNA zu unterschiedlichen Färbeintensitäten neigt, und sich daher die Eichung schwieriger gestaltet. Des Weiteren ist der in dieser Art der Messung hohe Zeitaufwand einer Einzelmessung, der mit minimal 40, jedoch auch durchaus 90 Minuten pro Präparat, beziffert werden kann. Ein Aufwand der im Alltag eines klinisch tätigen Pathologen kaum zu bewältigen ist. Im Rahmen der fortschreitenden Entwicklungen sind jedoch auch hier zunehmend bessere Programme, die eine einfachere und genauere Zellkernerkennung ermöglichen, zu erwarten. Im Rahmen der zunehmenden Vernetzungen der pathologischen Institute und niedergelassenen Pathologen ist so der Versand von standardisiert aufgenommenen Gesichtsfeldern mit Auswertung bei Referenzpathologien vorstellbar.

Nachteilig bei der Literaturlaufarbeitung wirkt sich in vielen Studien die geringe Fallzahl aus, die einen verfälschenden Einfluss haben könnte. Interessant sind diesbezüglich eine Reihe von chinesischen Studien, die jedoch zu einem großen Teil den immensen Nachteil haben lediglich auf Mandarin veröffentlicht worden zu sein, sodass sie im Alltag der wohl meisten deutschen Mediziner in Ermangelung eines Übersetzers keine Berücksichtigung finden können. Eine Tatsache, die in Anbetracht der in den Abstracts genannten Studiengrößen schade ist. Aber auch für den Fall, dass die Studien mittels suffizienter Übersetzungsprogramme verständlich wären, bestünde natürlich noch die grundsätzliche Frage, inwiefern eine unterschiedliche genetische Ätiologie der Tumore unterschiedliche PCNA-Meßwerte verursachen könnte.

7 Zusammenfassung

Ziel der Studie war die Untersuchung inwieweit PCNA als immunhistochemisches Hilfsmittel eine Verbesserung der Abgrenzung von uterinen LM gegenüber uterinen LMS und eine Hilfe bei der Prognoseaussage bei uterinen und gastrointestinalen LMS darstellt. Dabei wurden auch weitere, herkömmliche, in einer Reihe von Studien untersuchte Prognoseparameter mit in Betracht gezogen.

Die Auswertung der Färbungen erfolgte quantitativ mittels einer PC-gesteuerten Bildverarbeitung, die neben der positiven Zellfläche und Zellzahl auch die Kernfläche berechnet. Vorteil der quantitativen Messung ist die Möglichkeit der Reproduzierbarkeit unabhängig vom Benutzer, im Gegensatz zu semiquantitativen Analysen, die häufiger angewendet werden.

Es fällt dabei auf, dass sowohl die Zellkerngröße generell als auch die Zellkerngröße der positiv gefärbten Zellen signifikant größer bei LMS als bei LM ist. ($p < 0,0001$). Zwischen den Zellkerngrößen der uterinen und der gastrointestinalen LMS fanden sich keine signifikanten Unterschiede.

Bezüglich der Abgrenzung zwischen uterinen LM und LMS zeigten sich signifikant höhere PCNA-Meßwerte für LMS (mittlere positive Zellkernzahl 15,08%, mittlere positive Zellkernzahl 16,67%) gegenüber LM (mittlere positive Zellkernzahl 1,95%, mittlere positive Zellkernzahl 2,02%). Zu den gastrointestinalen LMS-PCNA Messwerten gab es keinen signifikanten Unterschied (mittlere positive Zellkernzahl 19,07%, mittlere positive Zellkernzahl 16,43%). Des Weiteren fiel auf, dass die Zellkerngröße, sowohl der mittels PCNA positiv gefärbten, als auch der ungefärbten (also der PCNA negativen) Zellkerne, der malignen Tumoren signifikant größer war. Es gab keinen signifikanten Unterschied in der Zellkerngröße der uterinen und der gastrointestinalen LMS. Da es sich dabei um bisher wenig untersuchte Parameter handelt, bedarf dieses der weiteren Untersuchung.

Kein signifikanter Zusammenhang zeigte sich bei der Höhe der PCNA-Meßwerte und der Prognose sowohl der uterinen als auch der gastrointestinalen LMS.

In dieser Studie stellten sich als signifikant prognoserelevant lediglich das Alter sowohl bei den uterinen und gastrointestinalen LMS heraus. Bei den uterinen LMS war auch noch ein schlechteres Grading und das Vorhandensein von Nekrosen signifikant mit der Prognose korreliert.

Nicht signifikant prognoserelevant waren sowohl bei den uterinen wie den gastrointestinalen LMS die Tumorgöße und die PCNA-Meßwerthöhe. Bei den

gastrointestinalen Leiomyosarkomen zusätzlich noch das Vorhandensein von Nekrosen.

Ein signifikanter Zusammenhang wurde zwischen PCNA-Meßwerten und der Uterusgröße bzw. auch der Myomgröße bei den uterinen Leiomyomen sowie analog der Tumorgöße der uterinen und der gastrointestinalen LMS festgestellt. Innerhalb der Gruppe der uterinen Myome zeigten sich für zellreiche Myome zwar höhere Messwerte, die jedoch nicht signifikant waren.

Kein Zusammenhang zeigte sich dagegen für die Höhe der PNCA-Meßwerte und dem Grading der uterinen sowohl als auch der gastrointestinalen Leiomyosarkome, dem Alter der Patientinnen bei den uterinen LMS, dem Vorhandensein von Nekrosen bei den uterinen sowohl als auch bei gastrointestinalen LMS und dem Geschlecht bei den gastrointestinalen LMS.

Die Ergebnisse stehen bezüglich der Aussage der Prognose teilweise in Widerspruch, teilweise in Einklang mit den bisherigen Veröffentlichungen. Ein großes Hemmnis ist die geringe Fallzahl, die vor allem durch die Seltenheit der Tumore bedingt ist, desweiteren die ungenügende Nachverfolgung der Patienten, die auch daraus resultiert, dass es sich um eine retrospektive Studie handelt. Hier bedarf es größerer Studien, möglicherweise als multizentrische Studien mit genauer Verlaufsbeobachtung, um auch im deutschsprachigen Raum eine weitere Erforschung dieser seltenen, umsomehr sehr interessanten und an den untersuchenden Pathologen besondere Ansprüche stellende Tumore zu geben.

8 Literatur

- Adachi E, Hashimoto H, Tsuneyoshi M, (1993). Proliferating cell nuclear antigen in hepatocellular carcinoma and small cell liver dysplasia. *Cancer* **72**: 2902-2909
- Akwari OE, Dozois RR, Weiland LH, Beahrs OH. (1978) Leiomyosarcoma of the small and large bowel. *Cancer* **42**: 1375-1384
- Amada, Nakano, Tsuneyoshi. (1995) Leiomyosarcoma versus bizarre and cellular leiomyomas of the uterus: a comparative study based on the MIB-1 and proliferating cell nuclear indices, p53 expression, DNA flow cytometry and muscle specific actins. *International Journal of Gynecological Pathology* **14**: 134-142
- Anderson (Ed.), Muir's Textbook of Pathology, pp 12.34 – 12.35, 24.15 – 24.17, 12th Edition, Edward Arnold, London (1985)
- Anderson, W. A. D. und John M. Kissane (Eds.), (1985) Pathology in two Volumes, 8th Edition, pp 1088-1089, 1490-1493, 1659-1661, Mosby, St. Louis
- Aoki S, Kubo E, Nakamura S, Tsuzuki A, Tsuzuki S, Takahashi Y, Akagi Y. (1998) Possible prognostic markers in conjunctival dysplasia and squamous cell carcinoma. *Japanese Journal of Ophthalmology* **42**:256-261
- Aoyagi K, Kohfuji K, Yano S, Murakami N, Miyagi M, Takeda J, Shirouzu K. (2002) The expression of proliferating cell nuclear antigen, p53, p21, and apoptosis in primary gastric lymphoma. *Surgery* **132**: 20-26
- Barletta A, Marzullo F, Pellicchia A, Montemurro S, Labriola A, Lomonaco R, Grammatica L, Paradiso A. (1998) DNA flow cytometry, p53 levels and proliferative cell nuclear antigen in human colon dysplastic, precancerous and cancerous tissues. *Anticancer Research* **18**:1677-1682
- Bartsich, Bowe, Moore. (1968) Leiomyosarcoma of the uterus: a 50-year review of 42 cases. *Obstetrics & Gynecology* **32**: 101-106
- Bayazit Y, Bakir K, Ucak R, Mumbuc S, Ozer E, Kanlikama M. (2002) Clinical and histopathological correlates of the proliferative activity in squamous cell laryngeal carcinoma. *Revue de Laryngologie Otologie Rhinologie* **123**: 43-46
- Belessi CJ, Parasi AS, Manioudaki HS, Laoutaris NP, Legakis NC, Peros GT, Androulakis GA. (2003) Prognostic impact of DNA ploidy pattern, S-phase fraction (SPF), and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in patients with primary gastric lymphoma. *Journal of Surgical Oncology* **82**: 247-255
- Bell, Kempson, Hendrickson. (1994) Problematic uterine smooth muscle neoplasms. *The American Journal of Surgical Pathology* **18**: 535-558
- Biesterfeld, Klein, Dose, Bohndorf, Fuzesi. (1992) Subsequently occurring leiomyosarcoma and desmoid tumor of the right thigh. *Pathology – Research and Practice* **188**: 360-366
- Blanchard DK, Budde JM, Hatch GF, Wertheimer-Hatch L, Hatch KF, Davis GB, Foster RS, Skandalakis JE. (2000) Tumors of the small intestine. *World Journal of Surgery* **24**: 421-429

- Blom, Guerrieri, Stal. (1998) Leiomyosarcoma of the uterus: A clinicopathologic, DNA flow cytometric, p53, and mdm-2 analysis of 49 cases. *Gynecologic Oncology* **68**: 54-61
- Bolton WE, Mikulka WR, Healy CG, Schmittling RJ, Kenyon NS. (1992) Expression of proliferation associated antigens in the cell cycle of synchronized mammalian cells. *Cytometry* **13**: 117-126
- Boquist. (1992) Nucleolar organizer regions in uterine sarcomas. *Virchows Archiv A. Pathological Anatomy and Histopathology*. **420**: 353-358
- Boran C, Yildiz L, Kandemir B, Karagoz F, Baris S, Aydin O. (2003) Correlation of proliferating cell nuclear antigen and bcl-2 expression with tumor front grading and metastasis in laryngeal squamous cell carcinoma. *Neoplasma* **50**: 139-143
- Bozlu M, Orhan D, Baltaci S, Yaman O, Elhan AH, Tulunay O, Muftuoglu YZ. (2002) The prognostic value of proliferating cell nuclear antigen, Ki-67 and nucleolar organizer region in transitional cell carcinoma of the bladder. *International Urology and Nephrology* **33**: 59-66
- Bravo, MacDonald, Bravo. (1987) Existence of two populations of cyclin/proliferating cell nuclear antigen during the cell cycle: association with DNA replication sites. *The Journal of Cell Biology* **105**: 1549-1554
- Brucher, Roder, Fink, Stein, Busch. (1998) Prognostic factors in resected primary small bowel tumors. *Digestive Surgery* **15**: 42-51
- Buyukbayram H, Cureoglu S, Arslan A, Isikakdogan AR. (2004) Prognostic value of PCNA and mutant p53 expression in laryngeal squamous cell carcinoma. *Cancer Investigation* **22**: 195-202
- Cai, Jiang, Zhang. (1994) Flow cytometric quantitation of p53 protein expression in gastrointestinal smooth muscle tumors: clinicopathological correlation and prognostic significance. *Chung-Hua-Wai-Ko-Tsa-Chih (Chinese journal of surgery)* **32**: 483-486
- Can B, Sokmensuer C. (2003) Clinicopathologic features, cellular differentiation, PCNA and P53 expressions in gastrointestinal stromal tumors. *Hepatogastroenterology* **50**: 213-218
- Carney JA, Sheps SG, Go VL, Gordon H. (1977) The triad of gastric leiomyosarcoma, functioning extra-adrenal paraganglioma and pulmonary chondroma. *The New England Journal of Medicine* **296**: 1517-1518
- Carson, Karakousis, Douglass, Rao, Palmer. (1994) Results of aggressive treatment of gastric sarcoma. *Annals of Surgical Oncology* **1**: 244-251
- Celis, Madsen, Nielsen, Celis. (1986) Nuclear patterns of cyclin (PCNA) antigen distribution subdivide S-phase in cultured cells--some applications of PCNA antibodies. *Leukemia Research* **10**: 237-249
- Choi HJ, Jung IK, Kim SS, Hong SH. (1997) Proliferating cell nuclear antigen expression and its relationship to malignancy potential in invasive colorectal carcinomas. *Diseases of the Colon and Rectum* **40**: 51-59
- Choong, Akerman, Willen, Andersson, Gustafson, Alvegard, Rydholm. (1995) Expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and Ki-67 in soft tissue sarcoma. Is prognostic significance histotypespecific. *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavia* **103**: 797-805

- Chou, Eng. (1996) Smooth muscle tumors of the gastrointestinal tract: Analysis of prognostic factors. *Surgery* **119**: 171-177
- Chou, Huang, Tsai, Huang. (1997) Uterine leiomyosarcoma has deregulated cell proliferation, but not increased microvessel density compared with uterine leiomyoma. *Gynecologic Oncology* **65**: 225-231
- Christopherson, Williamson, Gray. (1972) Leiomyosarcoma of the uterus. *Cancer* **29**: 1512-1517
- Clement, Young, Scully. (1992) Diffuse, perinodular and other patterns of hydropic degeneration within and adjacent to uterine leiomyomas. Problems in differential diagnosis. *American Journal of Surgical Pathology* **16**: 26-32
- Conlon KC, Casper ES, Brennan MF. (1995) Primary gastrointestinal sarcomas: analysis of prognostic variables. *Annals of Surgical Oncology* **2**: 26-31
- Coquard, Romestaing, Ardiet. (1997) Uterine sarcoma treated by surgery and postoperative radiation therapy. Patterns in relapse, prognostic factors and role of radiation therapy. *Bulletin du Cancer* **84**: 625-629
- Dabrowski A, Szumilo J, Brajerski G, Wallner G. (2001) Proliferating nuclear antigen (PCNA) as a prognostic factor of squamous cell carcinoma of the oesophagus. *Annales Universitatis Mariae Curie-Sklodowska* **56**: 59-67
- Daniele, Rodolico, Leonardi, Tralongo. (1998) Prognosis in lower lip squamous cell carcinoma: assessment of tumor factors. *Pathology – Research and Practice* **194**: 319-324
- Demarchi LM, Reis MM, Palomino SA, Farhat C, Takagaki TY, Beyruti R, Saldiva PH, Capelozzi VL. (2000) Prognostic values of stromal proportion and PCNA, Ki-67, and p53 proteins in patients with resected adenocarcinoma of the lung. *Modern Pathology* **13**: 511-520
- Demopoulos RI, (1994) Chapter 17 Uterine sarcomas. In *Blaustein's Pathology of the Female Genital Tract*. 4th Edition, pp 323-328, Blaustein (ED), Springer Verlag, New York
- Ding X, Yang J, Hu S, Wu X, Li Q, (2001) Evaluation of p53, p21waf1, and PCNA in the diagnosis on lung cancer. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi (Chinese Journal of Epidemiology)* **22**: 54-57
- Dong B, Xie YQ, Chen K, Wang T, Tang W, You WC, Li JY. (2005) Differences in biological features of gastric dysplasia, indefinite dysplasia, reactive hyperplasia and discriminant analysis of these lesions. *World Journal of Gastroenterology* **11**: 3595-3600
- Dong Y, Sui L, Tai Y, Sugimoto K, Hirao T, Tokuda M. (2000) Prognostic significance of cyclin E overexpression in laryngeal squamous cell carcinomas. *Clinical Cancer Research* **6**: 4253-4258
- Dougherty MJ, Compton C, Talbert M, Wood WC. (1991) Sarcomas of the gastrointestinal tract. Separation into favorable and unfavorable prognostic groups by mitotic count. *Annals of Surgery* **214**: 569-574
- Dreinhofer, Akerman, Willen, Anderson, Gustafson, Rydholm. (1994) Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in high-grade malignant fibrous histiocytoma: prognostic value in 48 patients. *International Journal of Cancer* **59**: 379-382

- Duskova J. 1992 Nuclear size and character of the nucleolar organizer in benign and malignant follicular tumors of the thyroid gland. *Ceskoslovenska Patologie* **28**: 201-206
- Dworakowska D, Gozdz S, Jassem E, Badzio A, Kobierska G, Urbaniak A, Skokowski J, Damps I, Jassem J. (2002) Prognostic relevance of proliferating cell nuclear antigen and p53 expression in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* **35**: 35-41
- Eberl, Pflleiderer. (1980) Sarkomas of the uterus: morphological criteria and clinical course. *Pathology, Research and Practice* **169**: 165-172
- Elhafey AS, Papadimitriou JC, El-Hakim MS, El-Said AI, Ghannam BB, Silverberg SG. (2001) Computerized image analysis of p53 and proliferating cell nuclear antigen expression in benign, hyperplastic, and malignant endometrium. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine* **125**: 872-879
- Elpek GO, Gelen T, Aksoy NH, Karpuzoglu T, Keles N. (2000) Microvessel count, proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 indices in gastric adenocarcinoma. *Pathology and Oncology Research* **6**: 59-64
- Esposito V, Baldi A, De Luca A, Paciocco G, Groger A, Sgaramella G, Claudio PP, Giordano GG, Baldi F, Caputi M, Kaiser H, Giordano A. (1997) Role of PCNA in differentiating between malignant mesothelioma and mesothelial hyperplasia: prognostic considerations. *Anticancer Research*, **17**: 601-604
- Fairman MP. (1990) DNA polymerase delta/PCNA: actions and interactions. *Journal of Cell Science* **95**: 1-4
- Feige. *Frauenheilkunde*. Urban und Fischer, 3. Auflage (2006), München, 770-774
- Fletcher, Christopher D.M. (Editor) *Diagnostic Histopathology of Tumors*. Volume 1, pp. 472-477, Churchill, Livingstone 1995, New York
- Fletcher CD, Berman JJ, Corless C, Gorstein F, Lasota J, Longley BJ, et al. (2002) Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: A consensus approach. *Human Pathology*, **33**:459–65.
- Fujimoto Y, Nakanishi Y, Yoshimura K, Shimoda T. (2003) Clinicopathologic study of primary malignant gastrointestinal stromal tumor of the stomach, with special reference to prognostic factors: analysis of results in 140 surgically resected patients. *Gastric Cancer* **6**: 39-48
- Fukuse T, Hirata T, Naiki H, Hitomi S, Wada H, (2000) Prognostic significance of proliferative activity in pN2 non-small-cell lung carcinomas and their mediastinal lymph node metastases. *Annals of Surgery* **232**: 112-118
- Gadducci, Fabrini, Bonuccelli, Moda, Fanucchi, Laddaga, Facchini. (1995) Analysis of treatment failures in patients with early-stage uterine leiomyosarcoma. *Anticancer Research* **15**: 485-488
- Gago FE, Tello OM, Diblasi AM, Ciocca DR. (1998) Integration of estrogen and progesterone receptors with pathological and molecular prognostic factors in breast cancer patients. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* **67**: 431-437
- Gao Y, Wang L, Zhang D. (1999) Surgical treatment of esophageal leiomyosarcoma: a review of the literature and report of 11 cases. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi (Chinese journal of oncology)* **21**: 470-472

- George, Pejovic, Kramar. (1986) Uterine Sarcomas: Prognostic Factors and Treatment Modalities-Study on 209 Patients. *Gynecologic Oncology* **24**: 58-67
- Ghazvini S, Kroll S, Char DH, Frigillana H. (1995) Comparative analysis of proliferating cell nuclear antigen, bromodeoxyuridine, and mitotic index in uveal melanoma. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* **36**: 2762-2767
- Gillen P, McDermott M, Grehan D, Hourihane DO, Hennessy TP. (1994) Proliferating cell nuclear antigen in the assessment of Barrett's mucosa. *British Journal of Surgery* **81**: 1766-1768
- Gloeckner K, Rudolph P, Feller AC. (1998) Prognostic factors for gastrointestinal stromal tumors Prognostische Faktoren Gastrointestinaler Stromatumoren.. *Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Pathologie* **82**: 253-260
- Gokaslan H, Turkeri L, Kavak ZN, Eren F, Sismanoglu A, Ilvan S, Durmusoglu F. (2005) Differential diagnosis of smooth muscle tumors utilizing p53, pTEN and Ki-67 expression with estrogen and progesterone receptors. *Gynecologic and Obstetric Investigation* **59**: 36-40
- Grant, Kim, Farrugia, Zinsmeister, Goellner. (1991) Gastric leiomyosarcoma. Prognostic factors and surgical management. *Archives of Surgery* **126**: 985-990
- Guo, Liu, Huang. (1996) Reappraisal of the pathological criteria for uterine leiomyosarkoma. *Chinese Journal of Pathology* **25**: 266-269
- Halon A, Rabczynski J. (2003) PCNA and laminin as prognostic factors in primary Fallopian tube carcinoma. *Folia Morphologica (Warszowa)* **62**: 475-478
- Harlow, Weiss, Lofton. (1986) The epidemiology of sarcomas of the uterus. *Journal of the National Cancer Institute* **76**: 399-402
- Haroske G, Ehlers U, Ehlers HM, Kunze KD. (1984) Cytomorphometric characterization of NHL (non-Hodgkin's lymphomas) of low and high grade malignancy. *Archiv für Geschwulstforschung* **54**: 41-51
- Hirano T, Franzen B, Kato H, Ebihara Y, Auer G. (1994) Genesis of squamous cell lung carcinoma. Sequential changes of proliferation, DNA ploidy, and p53 expression. *American Journal of Pathology* **144**: 296-302
- Horiguchi J, Iino Y, Takei H, Maemura M, Takeyoshi I, Yokoe T, Ohwada S, Oyama T, Nakajima T, Morishita Y. (1998) Long-term prognostic value of PCNA labeling index in primary operable breast cancer. *Oncol Reports* **5**: 641-644
- Horita K, Yamaguchi A, Hirose K, Ishida M, Noriki S, Imamura Y, Fukuda M. (2001) Prognostic factors affecting disease-free survival rate following surgical resection of primary breast cancer. *European Journal of Histochemistry* **45**: 73-84
- Howe JR, Karnell LH, Scott-Conner C. (2001) Small bowel sarcoma: analysis of survival from the National Cancer Data Base. *Annals of Surgical Oncology* **8**: 496-508
- Inagaki T, Ebisuno S, Uekado Y, Hirano A, Hiroi A, Shinka T, Ohkawa T. (1997) PCNA and p53 in urinary bladder cancer: correlation with histological findings and prognosis. *International Journal of Urology* **4**: 172-177
- Irazusta SP, Vassallo J, Magna LA, Metze K, Trevisan M. (1998) The value of PCNA and AgNOR staining in endoscopic biopsies of gastric mucosa. *Pathology Research and Practice* **194**(1):33-39

- Tindall in Jeffcoates Principles of Gynecology, 5th Edition, (1987), pp. 417-432, Butterworth Heinemann, London, Boston
- Jeffers, Oakes, Richmond, Macaulay. (1996) Proliferation, ploidy and prognosis in uterine smooth muscle tumors. *Histopathology* **29**: 217-223
- Jensen V, Sorensen FB, Bentzen SM, Ladekarl M, Nielsen OS, Keller J, Jensen OM. (1998) Proliferative activity (MIB-1 index) is an independent prognostic parameter in patients with high-grade soft tissue sarcomas of subtypes other than malignant fibrous histiocytomas: a retrospective immunohistological study including 216 soft tissue sarcomas. *Histopathology* **32**: 536-46
- Jin Y; White FH; Yang L. (1993) A histological morphometric study of nuclear size in benign and malignant neoplasms of the human cheek. *Histopathology* **23**: 271-4
- Jones, Norris. (1995) Clinicopathological study of 28 uterine leiomyosarcomas with metastasis. *International Journal of Gynecological Pathology* **14**: 243-249
- Kadoya N, Yonemura Y, Oyama S, Kosaka T, Izumi R, Miwa K, Miyazaki I. (1989) A clinicopathological studies on gastrointestinal leiomyosarcomas, with special reference to prognosis. *Nippon Geka Gakkai Zasshi (Journal of Japan surgical society)* **90**: 1873-1878
- Kahanpaa, Wahlstrom, Grohn, Heinonen, Niemenen, Widholm. (1986) Sarcomas of the uterus: a clinicopathologic study of 119 patients. *Obstetrics and Gynecology* **67**: 417-424
- Kaplan, Meier. (1958) Nonparametric estimation from incomplete observation. *Journal of the American Statistical Association* **53**: 457-481
- Katai H, Sasako M, Sano T, Maruyama K. (1998) Surgical treatment for gastric leiomyosarcoma. *Annales Chirurgiae et Gynaecologiae*. **87**: 293-296
- Kato T, Kameoka S, Kimura T, Nishikawa T, Kobayashi M. (2002) C-erbB-2 and PCNA as prognostic indicators of long-term survival in breast cancer. *Anticancer Research* **22**: 1097-1103
- Keller K, Koch HK. (1994) The use of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) expression and intraepithelial lymphocyte count in the differential diagnosis of inflammatory bowel disease. *Italian Journal of Gastroenterology* **26**: 233-237
- Kempson RL, Bari W. (1970) Uterine sarcomas. Classification, diagnosis, and prognosis. *Human Pathology* **1**: 331-349
- Keum KC, Chung EJ, Koom WS, Cho JH, Cho SH, Choi EC, Lee CG, Suh CO, Kim GE. (2006) Predictive value of p53 and PCNA expression for occult neck metastases in patients with clinically node-negative oral tongue cancer. *Archives of Otolaryngology - Head & Neck Surgery* **135**: 858-864
- Kimos MC, Wang S, Borkowski A, Yang GY, Yang CS, Perry K, Olaru A, Deacu E, Sterian A, Cottrell J, Papadimitriou J, Sisodia L, Selaru FM, Mori Y, Xu Y, Yin J, Abraham JM, Meltzer SJ. (2004) Esophagin and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) are biomarkers of human esophageal neoplastic progression. *International Journal of Cancer* **111**: 415-417
- Kimura, Konishi, Inoue, Earashi, Maeda, Yabushita, Kuroda, Tsji, Miwa. (1998) Primary small cell carcinoma of the esophagus: flow cytometric analysis and immunohistochemical staining for the p53 protein and proliferating cell nuclear antigen. *Journal of Surgical Oncology* **68**: 246-249

- Knoop M, St Friedrichs K, Dierschke J. (2000) Surgical management of gastrointestinal stromal tumors of the stomach. *Langenbecks Archives of Surgery* **385**: 194-198
- Koga, Otchiai. (1995) Reevaluation of Prognostic Factors in Gastric Leiomyosarcoma. *American journal of gastroenterology* **90**: 1307 – 1312
- Konishi I, Nanbu K, Mandai M, Tsuruta Y, Kataoka N, Nagata Y, Mori T. (1998) Tumor response to neoadjuvant chemotherapy correlates with the expression of P-glycoprotein and PCNA but not GST-pi in the tumor cells of cervical carcinoma. *Gynecologic Oncology* **70**: 365 - 371
- Konno S, Takebayashi Y, Aiba M, Akiyama S, Ogawa K, (2001) Clinicopathological and prognostic significance of thymidine phosphorylase and proliferating cell nuclear antigen in gastric carcinoma. *Cancer Letters* **166**: 103-111
- Korkolopoulou P, Christodoulou P, Papanikolaou A, Tsenga A, Thomas-Tsagli E. (1994) Assessment of proliferating-cell nuclear antigen immunostaining in soft-tissue tumours: relationship to histological grade and mitotic activity. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* **120**: 393-398
- Krecicki T, Jelen M, Zalesska-Krecicka M, Rak J, Szkudlarek T, Jelen-Krzeszewska J. (1999) Epidermal growth factor receptor (EGFR), proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and Ki-67 antigen in laryngeal epithelial lesions. *Oral Oncology* **35**: 180-186
- Krüger S, Müller H. (1995) Correlation of morphometry, nucleolar organizer regions, proliferating cell nuclear antigen and Ki67 antigen expression with grading and staging in urinary bladder carcinomas. *British Journal of Urology* **75**: 480-484
- Kullmann F, Fadaie M, Gross V, Knuchel R, Bocker T, Steinbach P, Scholmerich J, Ruschoff J. (1996) Expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and Ki-67 in dysplasia in inflammatory bowel disease. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology* **8**: 371-379
- Lapertosa G, Baracchini P, Fulcheri E. (1994) Assessment of proliferating cell nuclear antigen expression in dysplastic intestinal type Barrett's esophagus. Gruppo Operativo per lo Studio delle Precancerosi Esofagee. *Pathologica* **86**: 174-179
- Larson, Silfverswärd, Nilsson, Pettersson. (1990) Prognostic factors in uterine leiomyosarcoma. A clinical and histopathological study of 143 cases. The Radiumhemmet series. *Acta Oncologica* **29**: 185-192
- Lavezzi AM, Biondo B, Cazzullo A, Giordano F, Pallotti F, Turconi P, Maturri L. (2001) The role of different biomarkers (DNA, PCNA, apoptosis and karyotype) in prognostic evaluation of superficial transitional cell bladder carcinoma. *Anticancer Research* **21**: 1279-1284
- Layfield LJ, Liu K, Dodge R, Barsky SH. (2000) Uterine smooth muscle tumors: utility of classification by proliferation, ploidy, and prognostic markers versus traditional histopathology. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine* **124**: 221-227
- Lee KE, Lee HJ, Kim YH, Yu HJ, Yang HK, Kim WH, Lee KU, Choe KJ, Kim JP. (2003) Prognostic significance of p53, nm23, PCNA and c-erbB-2 in gastric cancer. *Japanese Journal of Clinical Oncology* **33**: 173-179

- Lewy-Trenda I, Janczukowicz J, Wierzchniewska-Lawska A, (2006) Practical application of proliferation markers' (MIB-1, PCNA, AgNOR) expression analysis for differential diagnostics of nodular thyroid lesions. *Wiadomosci Lekarskie (Medizinische Nachrichten)* **59**: 32-37
- Li H, Yao S, Stuart R. (1995) Expression and clinical significance of the AgNOR and PCNA in Barrett's adenocarcinoma and its precancerous lesions. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi* **17**: 286-288
- Li JD, Li MD, Li YF, Huang X, Liu JH, Liu FY, Zhang CQ. (2002) Relationship between expressions of p53, c-erbB2 genes, proliferating cell nuclear antigen and prognosis of patients with ovarian epithelial carcinoma. *Ai Zheng (Chinese journal of cancer)* **21**: 292-296
- Li L, Zhang WY. (2003) Expression and clinical significance of p27(kip1), p16 and proliferating cell nuclear antigen in nasopharyngeal carcinoma. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi (Chinese journal of pathology)* **32**:347-349
- Li N (1993) Proliferating cell nuclear antigen (PCNA/cyclin) in gastric carcinoma in relation to its prognosis. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi. (Chinese journal of oncology)* **15**:34-36
- Linden, Torres, Kubus, Zarbo. (1992) Clinical application of morphologic and immunocytochemical assessments of cell proliferation. *American Journal of Clinical Pathology* **97**: S4-S13
- Lindsay PC, Ordonez N, Raaf JH. (1981) Gastric leiomyosarcoma: clinical and pathological review of fifty patients. *Journal of Surgical Oncology* **18**: 399-421
- Liu M, Lawson G, Delos M, Jamart J, Chatelain B, Remacle M, Marbaix E. (2003) Prognostic value of cell proliferation markers, tumour suppressor proteins and cell adhesion molecules in primary squamous cell carcinoma of the larynx and hypopharynx. *European Archives of Otorhinolaryngology* **260**: 28-34
- Liu FS, Chen JT, Liu SC, Shih A, Shih RT, Ho ES. (1999) Expression and prognostic significance of proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 in malignant ovarian germ cell tumors. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* **62**: 695 - 702
- Lopes JM, Hannisdal E, Bjerkehagen B, Bruland OS, Danielsen HE, Pettersen EO, Sobrinho-Simoes M, Nesland JM. (1998) Synovial sarcoma. Evaluation of prognosis with emphasis on the study of DNA ploidy and proliferation (PCNA and Ki-67) markers. *Analytical Cellular Pathology* **16**: 45-62
- Maehara Y, Kabashima A, Tokunaga E, Hasuda S, Oki E, Kakeji Y, Baba H, Sugimachi K. (1999) Recurrences and relation to tumor growth potential and local immune response in node-negative advanced gastric cancer. *Oncology* **56**: 322-327
- Maki M, Saitoh K, Horiuchi H, Morohoshi T, Fukayama M, Machinami R, (2001) Comparative study of fibrous dysplasia and osteofibrous dysplasia: histopathological, immunohistochemical, argyrophilic nucleolar organizer region and DNA ploidy analysis. *Pathology International* **51**: 603-611
- Mangham DC, Rowlands DC, Newbold KM, Reynolds GM, Fielding JW, Hallissey MT. (1994) Expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in gastric carcinoma: no evidence for prognostic value. *Journal of Clinical Pathology* **47**: 473-474

- Mathews MB, Bernstein RM, Franza BR, Garrels JI. (1984) Identity of the proliferating cell nuclear antigen and cyclin Nature **309**: 374-376
- Matsuda K, Hosokawa O, Kaizaki T, Takashima Y, Kasahara Y, Misaki H, Murakita K, Nakagawa K, Takeda T, Tanikawa Y, et al. (1990) Clinicopathological analysis of leiomyosarcomas of the small intestine and a review of the Japanese literature. Gan No Rinsho (Japan Journal of Cancer Clinics) **36**: 2079-2085
- Miettinen M, Furlong M, Sarlomo-Rikala M, Burke A, Sobin LH, Lasota J. (2001) Gastrointestinal stromal tumors, intramural leiomyomas, and leiomyosarcomas in the rectum and anus: a clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 144 cases. American Journal of Surgical Pathology **25**: 1121-1133
- Miettinen M, Lasota J. (2003) Gastrointestinal stromal tumors (GISTs): definition, occurrence, pathology, differential diagnosis and molecular genetics. Polish Journal of Pathology **54**: 3-24
- Miettinen M, Sarlomo-Rikala M, Sobin LH, Lasota J. (2000) Esophageal stromal tumors: a clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular genetic study of 17 cases and comparison with esophageal leiomyomas and leiomyosarcomas. American Journal of Surgical Pathology **24**: 211-222
- Mikuni H, Fukuda S, Furuta Y, Takasu T, Nagahashi T, Inuyama Y. (1992) Contribution of proliferating cell nuclear antigen to prognostic evaluation of carcinomas of the maxillary sinus. Nippon Jibiinkoka Gakkai Kaiho **95**: 1944-1999
- Mise, Tashiro, Yogita, Wada, Harada, Fukuda, Miyake, Isikawa, Izumi, Sano. (1998) Assessment of the biological malignancy of hepatocellular carcinoma: relationship to clinicopathological factors and prognosis. Clinical Cancer Research **4**: 1475-1482
- Miyachi K, Fritzler MJ, Tan EM, (1978) Autoantibody to a nuclear antigen in proliferating cells. Journal of Immunology **121**: 2228-2234
- Murakami T, Nagai N, Ota S, Ohama K. (1993) Comparative study of HPV infection and proliferating cell nuclear antigen of uterine cervix. Nippon Sanka Fujinka Gakkai Zasshi **45**: 967-972
- Myles JL, Hart WR. (1985) Apoplectic leiomyomas of the uterus. A clinicopathologic study of five distinctive hemorrhagic leiomyomas associated with oral contraceptive usage. American Journal of Surgical Pathology **9**: 798-805
- Nakamura T, Tabuchi Y, Nakae S, Ohno M, Saitoh Y. (1996) Serum carcinoembryonic antigen levels and proliferating cell nuclear antigen labeling index for patients with colorectal carcinoma. Correlation with tumor progression and survival. Cancer **77**: 1741-1746
- Nakopoulou L, Stefanaki K, Salpigidis K, Boletis J, Papadakis J, Zeiss PM, Vosnides G. (1997) The value of proliferating cell nuclear antigen (PCNA)/cyclin in the assessment of cell proliferation in glomerulonephritis. Histology and Histopathology **12**: 655-662
- Nguyen VN, Mirejovsky P, Mirejovsky T, Melinova L, Mandys V. (2000) Expression of cyclin D1, Ki-67 and PCNA in non-small cell lung cancer: prognostic significance and comparison with p53 and bcl-2. Acta Histochemica **102**: 323-338
- Niemann, Raab, Lenel, Rodgers, Robinson. (1995) p 53 protein overexpression in smooth muscle tumors of the uterus. Human Pathology **26**: 375-379

- Noda H, Maehara Y, Irie K, Kakeji Y, Yonemura T, Sugimachi K. (2002) Increased proliferative activity caused by loss of p21(WAF1/CIP1) expression and its clinical significance in patients with early-stage gastric carcinoma. *Cancer* **94**: 2107-2112
- Noguchi T, Kikuchi R, Ono K, Takeno S, Moriyama H, Uchida Y. (2003) Prognostic significance of p27/kip1 and apoptosis in patients with colorectal carcinoma. *Oncology Reports* **10**: 827-831
- Nordal, Kristensen, Kaern. (1995) The prognostic significance of stage, tumor size, cellular atypia and DNA ploidy in uterine leiomyosarcoma. *Acta Oncologica* **34**: 797-802
- Norris HJ, Hilliard GD, Irey NS. (1988) Hemorrhagic cellular leiomyomas ("apoplectic leiomyoma") of the uterus associated with pregnancy and oral contraceptives. *International Journal of Gynecological Pathology* **7**: 212-224
- O'Reilly, Raab, Niemann. (1997) p53, proliferating cell nuclear antigen, and ki-67 expression in extrauterine leiomyosarcomas. *Modern Pathology* **10**: 91-97
- Ober WB, Tovell HMM. (1959) Mesenchymal sarcomas of the uterus. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* **77**: 246-268
- Oda, Hashimoto, Takeshita, Tsuneyoshi. (1993) The prognostic value of immunohistochemical staining for proliferating cell nuclear antigen in synovial sarcoma. *Cancer* **72**: 478-485
- Osada S, Saji S, Kuno T. (2004) Clinical significance of combination study of apoptotic factors and proliferating cell nuclear antigen in estimating the prognosis of hepatocellular carcinoma. *Journal of Surgical Oncology* **85**: 48-54
- Oyama T, Osaki T, Nose N, Ichiki Y, Inoue M, Imoto H, Yoshimatsu T, Kodate M, Uramoto H, Mizoue T, Yano K, Yasumoto K. (2000) Evaluations of p53 immunoreactivity, nucleolar organizer regions, and proliferating cell nuclear antigen in non-small cell lung carcinoma. *Anticancer Research* **20**: 505-510
- Oyama T, Watanabe H, Iwafuchi M, Maejima T, Ajioka Y. (1993) Diagnostic value of proliferating cell nuclear antigen for myogenic tumors of the stomach. *Gastroenterologia Japonica* **28**: 193-200
- Ozdemir BH, Ozdemir OG, Sertcelik A. (2001) The prognostic importance of the nucleolar organizer region (AgNOR), Ki-67 and proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in primary nonurachal bladder adenocarcinoma. *Acta pathologica, microbiologica et immunologica scandinavia* **109**: 428-434
- Ozercan IH, Bahcecioglu IH, Ozercan MR, Bozlak N, Dogan C, Yekeler H. (2000) Proliferating cell nuclear antigen and nucleolar organizer region for differential diagnosis of dysplasia and adenocarcinoma in gastric biopsies. *Indian Journal of Gastroenterology* **19**: 57-60
- Paradiso A, Rabinovich M, Vallejo C, Machiavelli M, Romero A, Perez J, Lacava J, Cuevas MA, Rodriguez R, Leone B, Sapia MG, Simone G, De Lena M. (1996) p53 and PCNA expression in advanced colorectal cancer: response to chemotherapy and long-term prognosis. *International Journal of Cancer* **69**: 437-441
- Pautier P, Genestie C, Rey A, Morice P, Roche B, Lhomme C, Haie-Meder C, Duvillard P. (2000) Analysis of clinicopathologic prognostic factors for 157 uterine sarcomas and evaluation of a grading score validated for soft tissue sarcoma. *Cancer* **88**: 1425-1431

- Peitgen, Walz, Schmidt, Hoederath, Wilke, Eigler. (1996) Leiomyosarcoma of the stomach: clinical aspects, morphology and therapy. *Medizinische Klinik* **91**: 123-130
- Pena, Nieto, Perez-Alenza, Cuesta, Castano. (1998) Immunohistochemical detection of Ki-67 and PCNA in canine mammary tumors: relationship to clinical and pathological variables. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* **10**: 237-246
- Pendleton N, Dixon GR, Burnett HE, Occleston NL, Myskow MW, Green JA. (1993) Expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in dysplasia of the bronchial epithelium. *Journal of Pathology* **170**: 169-172
- Perrone, Dehner. (1988) Prognostically favorable "mitotically active" smooth-muscle tumors of the uterus. A clinicopathologic study of ten cases. *American Journal of Surgical Pathology* **12**: 1-8
- Pesarini, Ernst, Ell, Wittekind, Hahn. (1997). Leiomyosarcoma of the esophagus. Clinical aspects, diagnosis and therapy based on an individual case (clinical conference). *Medizinische Klinik* **92**: 234-240
- Peters, Howard, Andersen, Figge. (1992) Deoxyribonucleic acid analysis by flow cytometry of uterine leiomyosarcomas and smooth muscle tumors of uncertain malignant potential. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* **166**: 1646-1654
- Prelich G, Tan CK, Kostura M, Mathews MB, So AG, Downey KM, Stillman B. (1987) Functional identity of proliferating cell nuclear antigen and a DNA polymerase-delta auxiliary protein. *Nature* **326**: 517-520
- Qin LX, Tang ZY, Ma ZC, Wu ZQ, Zhou XD, Ye QH, Ji Y, Huang LW, Jia HL, Sun HC, Wang L. (2002) P53 immunohistochemical scoring: an independent prognostic marker for patients after hepatocellular carcinoma resection. *World Journal of Gastroenterology* **8**: 459-463
- Ranchod, Kempson. (1977) Smooth muscle tumors of the gastrointestinal tract and retroperitoneum: a pathologic analysis of 100 cases. *Cancer* **39**: 255-262
- Reis-Filho JS, Faoro LN, Carrilho C, Bleggi-Torres LF, Schmitt FC. (2000) Evaluation of cell proliferation, epidermal growth factor receptor, and bcl-2 immunoexpression as prognostic factors for patients with World Health Organization grade 2 oligodendroglioma. *Cancer* **88**: 862-869
- Reitmaier M, Rudlowski C, Biesterfeld S, Rath W, Schroder W. (2000) Comparative studies on the biological significance of the marker for proliferation Ki-67-Antigen and PCNA in primary ovarian carcinoma. *Zentralblatt für Gynäkologie* **122**: 361-367
- Remmelink M, Salmon I, Petein M, Gras T, Zandona C, Pasteels JL, Kiss R. (1994) Determination of DNA ploidy, nuclear size, and proliferative activity by means of the computer-assisted image analysis of Feulgen-stained nuclei in 68 soft tissue tumors of adults. *Human Pathology* **25**: 694-701
- Ricci, Ciccarelli. (1987) A clinicopathological and immunohistological Study of 16 patients with small intestinal leiomyosarcoma. *Cancer* **60**: 1790-1799

- Saftoiu A, Ciurea T, Georgescu C, Banita M, Comanescu V, Rogoveanu I, Gorunescu F, Georgescu I. (2003) Immunohistochemical assessment of proliferating cell nuclear antigen in primary hepatocellular carcinoma and dysplastic nodules. *Journal of Cellular and Molecular Medicine* **7**: 436-446
- Saksela, Lampinen, Procope. (1974) Malignant mesenchymal tumors of the uterine corpus. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* **120**: 452-460
- Salazar, Bonfiglio, Patten, Keller, Feldstein, Dunne, Rudolph. (1978) Uterine Sarcomas. Natural history, Treatment and Prognosis. *Cancer* **42**: 1152-1160
- Salmon I, Kiss R, Levivier M, Rummelink M, Pasteels JL, Brotchi J, Flament-Durand J. (1993) Characterization of nuclear DNA content, proliferation index, and nuclear size in a series of 181 meningiomas, including benign primary, recurrent, and malignant tumors. *American Journal of Surgical Pathology* **17**: 239-247
- Sarac S, Ayhan A, Hosal AS, Kaya S. (1998) Prognostic significance of PCNA expression in laryngeal cancer. *Archives of Otolaryngology - Head & Neck Surgery* **124**: 1321-1324
- Sato T, Miura T, Nakano K, Nozaka H, Sato T, Ishikawa T, Chiba M, Kanagawa Y, Kizawa C, Hasegawa S, Yasujima M. (2000) Reliable differential diagnosis between osteosarcoma and regenerative bone cells in rats through simultaneous analysis of nuclear DNA content and size. *Analytical and Quantitative Cytology and Histology* **22**: 327-332
- Schonborn I, Minguillon C, Mohner M, Ebeling K. (1993) Bedeutung der PCNA-Proliferationsfraktion und histomorphologischer Prognosefaktoren für das Überleben beim Mammakarzinom. *Pathologie* **14**: 307-312
- Schondorf H, Bastert G, Lobel M, Naujoks H. (1989) Die Kernflächengröße als Malignitätsparameter beim Mammakarzinom. *Geburtshilfe und Frauenheilkunde* **49**: 272-276
- Sejima T, Miyagawa I. (1999) Expression of bcl-2, p53 oncoprotein, and proliferating cell nuclear antigen in renal cell carcinoma. *European Urology* **35**: 242-248
- Sheen-Chen SM, Eng HL, Chou FF, Chen WJ. (1997) The prognostic significance of proliferating cell nuclear antigen in patients with lymph node-positive breast cancer. *Archives of Surgery* **132**: 264-267
- Shehata MA, Nosseir HR, Nagy HM, Farouk G. (2006) Cyclin dependent kinase inhibitor p27(kip1) expression and subcellular localization in relation to cell proliferation in hepatocellular carcinoma. *Egyptian Journal of Immunology* **13**: 115-130
- Shiina H, Igawa M, Nagami H, Yagi H, Urakami S, Yoneda T, Shirakawa H, Ishibe T, Kawanishi M. (1996) Immunohistochemical analysis of proliferating cell nuclear antigen, p53 protein and nm23 protein, and nuclear DNA content in transitional cell carcinoma of the bladder. *Cancer* **78**: 1762-1774
- Shiu, Farr, Egeli, Quan, Hajdu. (1983) Myosarcomas of the small and large intestine: a clinicopathologic study. *Journal of Surgical Oncology* **24**: 67-72
- Shiu, Farr, Papachristou, Hajdu. (1982) Myosarcomas of the stomach: natural history, prognostic factors and management. *Cancer* **49**: 177-187

- Silverberg. (1971) Leiomyosarcoma of the uterus. *Obstetrics and Gynecology* **38**: 613-628
- Sittel C, Ruiz S, Kvasnicka HM, Volling P, Jungehulsing M, Eckel HE. (2000) Zur prognostischen Relevanz der Proliferationsmarker Ki-67 (MIB 1), PCNA und p53 bei kombiniert chirurgisch und radiologisch therapierten Karzinomen des Oropharynx und der Mundhöhle. *Laryngorhinootologie* **79**: 86-92
- Skotnicka-Klonowicz G, Kobos J, Los E, Trejster E, Szymik-Kantorowicz S, Daszkiewicz P. (2002) Prognostic value of proliferating cell nuclear antigen in Wilms' tumour in children. *European Journal of Surgical Oncology* **28**: 67-71
- Smela M, Chosia M, Domagala W. (1996) Proliferation cell nuclear antigen (PCNA) expression in cervical intraepithelial neoplasia (CIN). An immunohistochemical study. *Polish Journal of Pathology* **47**: 171-174
- Soini Y, Pollanen R, Kemppainen S, Paakko P, Lehto VP. (1996) The association of vascular proliferation with HPV status and epithelial PCNA positivity in cervical intraepithelial lesions. *acta pathologica, microbiologica et immunologica scandinavia* **104**: 183-190
- Sommer T, Olofsson J. (1997) Significance of p53, PCNA and Ki-67 in the prognosis of squamous cell carcinoma of the oral cavity Die Bedeutung von p53, PCNA und Ki-67 für die Prognose von Plattenepithelkarzinomen der Mundhöhle.. *Laryngorhinootologie* **76**: 189-196
- Soule EH, Mahour GH, Mills SD, Lynn HB. (1968) Soft-tissue sarcomas of infants and children: a clinicopathologic study of 135 cases. *Mayo Clinic Proceedings* **43**: 313-326
- Steinbeck RG, Heselmeyer KM, Moberger HB, Auer GU. (1995) The relationship between proliferating cell nuclear antigen (PCNA), nuclear DNA content and mutant p53 during genesis of cervical carcinoma. *Acta Oncologica* **34**: 171-176
- Sternberg (Editor), Antonioli (Editor). *Diagnostic Surgical Pathology*. 1st edition (1989), pp. 1635-1654, Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia
- Storkel S; Reichert T; Reiffen KA; Wagner W. (1993) EGFR and PCNA expression in oral squamous cell carcinomas--a valuable tool in estimating the patient's prognosis. *European Journal of Cancer. Part B, Oral Oncology* **29**: 273 - 277
- Suehiro T, Matsumata T, Itasaka H, Yamamoto K, Kawahara N, Sugimachi K. (1995) Clinicopathologic features and prognosis of resected hepatocellular carcinomas of varied sizes with special reference to proliferating cell nuclear antigen. *Cancer* **76**: 399-405
- Surowiak P, Pudelko M, Maciejczyk A, Dziegiel P, Wojnar A, Zabel M. (2005) The relationship of the expression of proliferaton--related antigens Ki67 and PCNA in the cells of ductal breast cancer with the differentiation grade. *Ginekologia Polska* **76**: 9-14
- Takamura H, Yonemura Y, Fonseca L, Ninomiya I, Tsugawa K, Miwa K, Miyazaki I. (1995) Correlation of DNA ploidy, c-erbB-2 protein tissue status, level of PCNA expression and clinical outcome in gastric carcinomas. *Nippon Geka Gakkai Zasshi (journal of japan surgical society)* **96**: 213-222

- Tamaki M, Maeda S, Deguchi T, Kawada Y. (1997) Usefulness of DNA ploidy, AgNORs, PCNA and c-erbB-2 as predictors of prognosis in patients with renal cell carcinoma. *Hinyokika Kiyo* **43**: 697-702
- Tan Y, Sinniah R, Bay BH, Singh G. (1999) Expression of metallothionein and nuclear size in discrimination of malignancy in mucinous ovarian tumors. *International Journal of Gynecological Pathology* **18**: 344-350
- Tannapfel A, Hahn HA, Katalinic A, Fietkau RJ, Kuhn R, Wittekind CW. (1996) Prognostic value of ploidy and proliferation markers in renal cell carcinoma. *Cancer* **77**: 164-171
- Taylor, Norris. (1966) Mesenchymal tumors of the uterus. IV. Diagnosis and prognosis of leiomyosarcomas. *Archives of Pathology* **82**: 40-44
- Tejido Sanchez A, Sanchez Chapado M, Rosino Sanchez A, Passas Martinez J, Bethencourt Codes F, Ruiz Ramos P, Leiva Galvis O. (2002) PCNA and Ki-67 expression in locally confined renal adenocarcinoma. Relationship with various histopathologic variables and prognostic significance. *Archivos Espanoles de Urologia* **55**: 257-265
- Terada T, Nakanuma Y. (1992) Cell kinetic analyses and expression of carcinoembryonic antigen, carbohydrate antigen 19-9 and DU-PAN-2 in hyperplastic, pre-neoplastic and neoplastic lesions of intrahepatic bile ducts in livers with hepatoliths. *Virchows Archive A: Pathological Anatomy and Histology* **420**: 327-335
- Thom M, Palmer A, Cattell V, Cook T. (1994) Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) as a diagnostic marker of acute cellular rejection in routinely processed biopsies of renal allografts. *Nephrology, Dialysis, Transplantation* **9**: 153-155
- Tiltman AJ. (1985) The effect of progestins on the mitotic activity of uterine fibromyomas. *International Journal of Gynecological Pathology* **4**: 89-96
- Tjandra, Antoniuk, Webb, Petras, Fazio. (1993) Leiomyosarcoma of the rectum and anal canal. *Australian and New Zealand Journal of Surgery* **63**: 703-709
- Tokuc G, Dogan O, Ayan I, Kebudi R, Dogan S, Demiryont M, Camlica H. (1998) Prognostic value of proliferating cell nuclear antigen immunostaining in pediatric rhabdomyosarcomas. *Acta Paediatrica Japonica* **40**: 573-579
- Tsushima K, Rainwater LM, Goellner JR, van Heerden JA, Lieber MM. (1987) Leiomyosarcomas and benign smooth muscle tumors of the stomach: nuclear DNA patterns studied by flow cytometry. *Mayo Clinic Proceedings* **62**: 275-280
- Urano M, Iwata S, Takasu A, Mori S, Sakurai K, Katoh H, Yamamoto S, Kasahara M, Kuroda M, Hakuno T. (1996) An immunohistochemical study of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and MIB-1 in epithelial hyperplasia and dysplasia of the vocal cords. *Nippon Jibiinkoka Gakkai Kaiho (Journal of the Oto-Rhino-Laryngological Society of Japan)* **99**: 395-401
- van Hoesven KH, Kovatich AJ. (1996) Immunohistochemical staining for proliferating cell nuclear antigen, BCL2, and Ki-67 in vulvar tissues. *International Journal of Gynecological Pathology* **15**: 10-16
- Van-Dinh, Woodruff. (1982) Leiomyosarcoma of the uterus. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* **J44**: 813-823

- Vardi, Tovell. (1980) Leiomyosarcoma of the uterus: clinicopathologic study. *Obstetrics and Gynecology* **56**: 428-434
- Vrettou, Karkavelas, Christoforidou, Meditskou, Papadimitriou. (1995) Immunohistochemical phenotyping and PCNA detection in gastrointestinal stromal tumors. *Anticancer Research* **15**: 943-949
- Wang N, Stenkvisit BG, Tribukait B. (1992) Morphometry of nuclei of the normal and malignant prostate in relation to DNA ploidy. *Analytical and Quantitative Cytology and Histology* **14**: 210-216
- Wang T, Liu B, Wang L, Wang M, Jiang J. (2002) The expression and implication of proliferating cell nuclear antigen and p53 protein in reflux esophagitis lesions. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi (China Journal of Endoscopy)* **41**: 39-42
- Wang, Tang, Yu. (1994) Histological and immunohistological study and AgNOR analysis of smooth muscle tumors of the digestive tract. *Chung-Hua-Nai-Ko-Tsa-Chih (Chinese Journal of Internal Medicine)* **16**: 128-131
- Wang, Xu, Zhang. (1996) Smooth muscle neoplasms of the uterus. *Chinese Journal of Pathology* **25**: 263-265
- Watson LC, Mueller EO, Thompson JC. (1978) Leiomyosarcoma of the colon. *Southern Medical Journal* **71**: 726-728
- Wen J. (1989) Pathological study of 936 cases of smooth muscle tumor in the alimentary tract. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi (Chinese Journal of Pathology)* **18**: 167-170
- Witzigmann H, Sagasser J, Leipprandt E, Witte J. (1995) Leiomyosarkom des Rektums. *Zentralblatt für Chirurgie* **120**:69-72. discussion 73-74
- Wozniak A, Golusinski W, Kaczmarek E, Kaczmarek J, Kaczmarek J. (2002) Prognostic significance of Ki 67 and PCNA expression in laryngeal squamous cell carcinoma morphometric evaluation of labelling index-L1. *Otolaryngologia Polska* **56**: 437-443
- Wu X, Zhang Z, Cai S. (1998) Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in ovarian carcinoma and its relation to lymph node metastasis and prognosis. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi (Chinese Journal of Oncology)* **20**: 68-70
- Xiao L, Tang LD. (2005) Significance of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) index and microvessel density (MVD) in endometrial carcinoma.], *Ai Zheng (Chinese journal of cancer)* **24**: 19-22
- Yang HB, Hsu PI, Chan SH, Lee JC, Shin JS, Chow NH, (1996) Growth kinetics of colorectal adenoma-carcinoma sequence: an immunohistochemical study of proliferating cell nuclear antigen expression. *Human Pathology* **27**: 1071-1076
- Yao LS, Li XP, Li Q, Zhang JH. (2002) Correlation of proliferating cell nuclear antigen expression with the clinical and biological characteristics and prognosis of hypopharyngeal carcinoma. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao (Academic Journal of Second Military Medical University)* **22**: 448-450
- Yao Q, Lu X, Huang Z, Cao Y, Jiang J. (1999) The meaning of the expression of PCNA and c-erbB-2 in the hyperplasia of laryngeal epithelium]. *Lin Chuang Er Bi Yan Hou Ke Za Zhi (Journal of Clinical Otorhinolaryngology)* **13**: 263-264

- Yeh CY, Chen HH, Tang R, Tasi WS, Lin PY, Wang JY. (2000) Surgical outcome after curative resection of rectal leiomyosarcoma. *Diseases of the Colon and Rectum* **43**: 1517-1521
- Yu, Woods, Levison. (1992a) The assessment of cellular proliferation by immunohistochemistry: a review of currently available methods and their applications. *Histochemical Journal* **24**: 121-131
- Yu, Fletcher. (1992b) A comparison of PCNA-immunostaining, AgNOR-staining, and histological grading in gastrointestinal stromal tumors. *Journal of Pathology* **166**: 147-152
- Zain RB, Sakamoto F, Shrestha P, Mori M. (1995) Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) expression in oral squamous cell carcinoma - an aid to conventional histological grading?. *Malaysian Journal of Pathology* **17**: 23-30
- Zeng WJ, Liu GY, Xu J, Zhou XD, Zhang YE, Zhang N. (2002) Pathological characteristics, PCNA labeling index and DNA index in prognostic evaluation of patients with moderately differentiated hepatocellular carcinoma. *World Journal of Gastroenterology* **8**: 1040-1044
- Zhai, Kobayashi, Mori. (1999) Expression of steroid receptors, Ki-67, and p53 in uterine leiomyosarcomas. *International Journal of Gynecological Pathology* **18**: 20-28
- Zhao R, Hirano M, Kurita S. (1996) Expression of proliferating cell nuclear antigen in premalignant lesions of the larynx. *American Journal of Otolaryngology* **17**: 36-44

9 Anhang

9.1 Datensammlung

9.1.1 Daten der uterinen Leiomyome

No.	Art	Nummer	DOB	PCNA _{areamed}	PCNA _{areamax}	PCNA _{areamin}	PCNA _{cellsmed}
1	UT-LM	32412/90	3.Sep.55	13,84	53,66	1,17	9,59
2	UT-LM	25072/84	16.Feb.49	21,84	52,06	2,77	19,39
3	UT-LM	05824A/ss	24.Jun.60	10,10	19,49	5,88	9,03
4	UT-LM	24465/95	9.Dez.44	2,56	12,29	0,00	3,32
5	UT-LM	18877/96	9.Aug.52	1,01	4,13	0,00	1,30
6	UT-LM	23270/96	1.Jul.52	3,85	11,67	0,00	3,08
7	UT-LM	21160/96	22.Mai.22	0,11	0,79	0,00	0,15
8	UT-LM	20749/96	10.Mai.63	1,84	6,37	0,00	2,34
9	UT-LM	21683/96	29.Jun.49	0,30	1,44	0,00	0,54
10	UT-LM	16376/96	2.Jul.41	1,98	5,42	0,00	1,93
11	UT-LM	28312/96	10.Feb.40	0,92	4,59	0,00	1,05
12	UT-LM	13905/96	5.Apr.53	0,01	0,19	0,00	0,10
13	UT-LM	12001/96	12.Aug.39	0,04	0,46	0,00	0,07
14	UT-LM	22817/96	20.Jul.50	0,02	0,24	0,00	0,02
15	UT-LM	28404/96	15.Mai.45	0,48	2,05	0,00	0,87
16	UT-LM	16383/96	5.Apr.57	0,46	2,84	0,00	0,56
17	UT-LM	15945/96	19.Sep.41	0,25	1,20	0,00	0,40
18	UT-LM	16473/96	21.Okt.46	0,31	1,85	0,00	0,25
19	UT-LM	12853/96	20.Jun.51	0,65	1,86	0,00	1,06
20	UT-LM	22539/96	23.Jan.55	0,89	4,08	0,00	0,66
21	UT-LM	04536/96	25.Apr.38	14,92	30,92	2,71	15,03
22	UT-LM	19753/96	20.Apr.34	1,47	3,40	0,32	1,44
23	UT-LM	21679/96	24.Dez.28	0,46	3,02	0,00	0,38
24	UT-LM	11781/96	2.Apr.41	1,34	5,55	0,00	1,48
25	UT-LM	14944/96	5.Mrz.60	0,13	0,74	0,00	0,23
26	UT-LM	13903/96	30.Sep.33	0,02	0,42	0,00	0,02
27	UT-LM	22818/96	14.Nov.57	1,02	4,05	0,00	1,40
28	UT-LM	29087/96	2.Feb.64	0,15	1,55	0,00	0,22

No.	Art	Nummer	DOB	PCNA _{areamed}	PCNA _{areamax}	PCNA _{areamin}	PCNA _{cellsmed}
29	UT-LM	23928/96	27.Feb.24	0,12	0,49	0,00	0,21
30	UT-LM	22844/96	11.Okt.41	0,17	0,67	0,00	0,19
31	UT-LM	14148/96	28.Jun.58	0,06	0,53	0,00	0,16
32	UT-LM	17915/96	9.Jun.49	0,23	1,21	0,00	0,26
33	UT-LM	17453/96	7.Jul.50	0,97	12,84	0,00	0,82
34	UT-LM	29553/96	4.Okt.48	0,18	1,18	0,00	0,21
35	UT-LM	15842/96	11.Aug.39	2,75	8,01	0,00	3,13
36	UT-LM	04406/96	7.Feb.56	0,15	0,81	0,00	0,18
37	UT-LM	18364/96	11.Okt.52	0,38	2,06	0,00	0,33
38	UT-LM	22085/96	22.Jun.52	0,19	2,13	0,00	0,22
39	UT-LM	09115/96	30.Aug.58	0,72	3,69	0,00	1,07
40	UT-LM	12592/96	10.Jan.23	1,37	3,76	0,00	1,66
41	UT-LM	14046/96	24.Nov.62	1,74	4,71	0,00	2,33
42	UT-LM	23945/96	19.Nov.56	3,84	9,23	0,00	3,03
43	UT-LM	18875/96	26.Nov.59	0,79	3,26	0,00	0,94
44	UT-LM	29089/96	2.Mai.55	0,01	0,14	0,00	0,03
45	UT-LM	18064/96	3.Mai.55	1,22	4,88	0,00	1,37
46	UT-LM	19522/96	6.Feb.41	0,52	2,69	0,00	0,79
47	UT-LM	15841/96	12.Aug.49	1,47	5,09	0,00	2,04
48	UT-LM	19710/96	27.Dez.31	5,43	10,94	1,04	3,97
49	UT-LM	14149/96	7.Okt.58	0,96	3,16	0,00	1,50
50	UT-LM	22631/96	5.Mrz.38	0,16	0,93	0,00	0,24
51	UT-LM	22815/96	27.Mai.50	0,34	2,79	0,00	0,24
52	UT-LM	17395/96	2.Aug.42	0,18	0,85	0,00	0,35

No.	PCNA _{cells} max	PCNA _{cells} min	RPF	Zellkerngröße	ZKG positiv	Zellreich?	Gewicht Ut
1	50,00	2,17	15,98	12,26	11,29	ja	
2	50,64	3,10	23,12	13,00	11,35	ja	137
3	16,72	5,29	9,16	12,70	13,87	ja	
4	15,00	0,00	3,33	14,39	10,12	ja	360
5	5,00	0,00	1,18	12,97	10,12	nein	319
6	11,04	0,00	3,41	8,69	10,35	nein	187
7	0,61	0,00	15,32	14,23	12,41	nein	
8	6,25	0,00	2,40	10,02	7,86	ja	

No.	PCNA _{cells} max	PCNA _{cells} min	RPF	Zellkerngröße	ZKG positiv	Zellreich?	Gewicht Ut
9	2,75	0,00	0,52	17,20	9,50	nein	199
10	4,80	0,00	1,98	10,36	10,61	nein	142
11	5,91	0,00	0,97	9,68	8,30	nein	284
12	0,28	0,00	0,01	13,24	8,85	nein	
13	0,58	0,00	0,09	14,02	7,85	nein	460
14	0,49	0,00	0,02	11,28	3,58	nein	130
15	3,91	0,00	0,75	9,42	5,14	nein	95
16	2,84	0,00	0,54	10,76	8,33	ja	54
17	2,33	0,00	0,46	11,03	6,49	nein	
18	1,21	0,00	2,71	9,67	12,12	ja	2150
19	3,12	0,00	1,10	9,42	5,73	nein	177
20	2,62	0,00	0,62	8,32	11,48	nein	160
21	28,92	4,00	14,26	16,56	16,42	nein	560
22	3,24	0,21	1,45	15,87	15,60	nein	80
23	2,68	0,00	0,50	10,51	12,00	nein	74
24	5,81	0,00	1,74	8,79	9,36	nein	399
25	0,83	0,00	0,29	11,11	5,61	nein	82
26	0,34	0,00	0,02	9,79	11,17	nein	76
27	3,82	0,00	1,57	7,68	4,54	nein	290
28	1,61	0,00	0,22	9,86	5,55	nein	
29	0,60	0,00	0,20	12,60	9,34	ja	82
30	0,92	0,00	0,24	10,66	8,70	nein	30
31	0,45	0,00	0,09	14,21	9,45	ja	72
32	0,62	0,00	0,26	10,30	8,70	nein	900
33	9,71	0,00	0,88	14,18	13,99	nein	570
34	0,82	0,00	0,22	9,86	5,55	nein	500
35	7,95	0,00	3,29	10,50	9,04	nein	113
36	1,61	0,00	0,22	9,86	5,55	nein	270
37	2,36	0,00	0,33	12,40	15,15	nein	145
38	1,82	0,00	0,23	12,30	13,40	nein	711
39	4,83	0,00	1,11	10,49	6,74	nein	
40	5,63	0,00	1,66	10,28	9,32	nein	
41	5,64	0,00	2,27	8,40	6,76	nein	
42	7,26	0,00	3,32	9,12	10,94	ja	
43	2,63	0,00	1,03	8,97	6,46	nein	354

44	0,31	0,00	0,03	9,10	4,37	nein	
45	4,79	0,00	1,58	7,35	6,86	nein	300
46	2,84	0,00	0,22	9,86	5,55	nein	125
47	5,65	0,00	2,24	11,49	7,71	nein	111
48	8,97	1,48	4,39	14,60	18,06	nein	440
49	4,89	0,00	1,58	8,26	5,20	nein	20
50	1,25	0,00	0,28	9,23	6,00	nein	94
51	0,91	0,00	0,25	11,04	17,24	nein	130
52	1,49	0,00	0,33	5,23	3,01	nein	215

9.1.2 Daten der uterinen Leiomyosarkome

No.	Art	Nummer	DOB	PCNA _{areamed}	PCNA _{areamax}	PCNA _{areamin}	PCNA _{cellsmed}
53	UT-LMS	20531/87	10.Aug.22	5,43	24,77	0,33	7,02
54	UT-LMS	18201/94	15.Jan.40	4,27	8,61	1,29	5,03
55	UT-LMS	22090/92	17.Okt.42	11,93	26,43	3,59	10,62
56	UT-LMS	16095/87	10.Mai.58	38,32	76,55	11,22	40,13
57	UT-LMS	23826/95	25.Aug.46	44,30	76,45	17,91	46,23
58	UT-LMS	27994/92	26.Apr.56	5,14	15,71	0,47	4,46
59	UT-LMS	30282/95	3.Aug.48	4,26	21,28	0,66	4,25
60	UT-LMS	12245/92	4.Okt.49	0,58	3,27	0,00	0,83
61	UT-LMS	06004/91	2.Feb.56	23,13	56,81	1,35	24,43
62	UT-LMS	37619/93	13.Aug.64	14,35	23,58	5,71	14,05
63	UT-LMS	31604/92	4.Feb.47	11,84	28,38	2,82	11,39
64	UT-LMS	12989/85	8.Feb.48	7,20	24,13	0,70	7,50
65	UT-LMS	11908ss/88	15.Jan.11	2,40	9,75	0,00	1,55
66	UT-LMS	18796/90	27.Aug.38	11,79	32,12	2,73	11,31
67	UT-LMS	15497/87	1.Feb.22	28,80	38,98	17,37	25,55
68	UT-LMS	23206/84	14.Apr.43	18,48	41,48	6,24	21,58
69	UT-LMS	30876/90	17.Apr.40	5,49	51,09	0,00	1,97
70	UT-LMS	25623/85	21.Mai.37	4,63	18,84	0,00	4,79
71	UT-LMS	21602/88	10.Okt.18	26,31	67,22	10,94	17,53
72	UT-LMS	10501/95	18.Sep.35	0,44	4,49	0,00	0,43
73	UT-LMS	14656/95	12.Sep.35	0,78	2,86	0,00	0,82
74	UT-LMS	25840/93	12.Jan.41	1,76	7,41	0,00	1,42

No.	Art	Nummer	DOB	PCNA _{areamed}	PCNA _{areamax}	PCNA _{areamin}	PCNA _{cellsmed}
75	UT-LMS	31119/92	19.Jun.34	13,14	22,86	5,49	13,05
76	UT-LMS	36920/95	31.Jan.08	39,02	56,85	16,51	33,88
77	UT-LMS	09877/88	12.Jun.35	20,78	32,29	8,15	18,18
78	UT-LMS	25878/90	26.Jun.35	41,04	65,82	21,88	32,84
79	UT-LMS	26846/95	22.Okt.24	68,40	77,93	39,39	53,61
80	UT-LMS	12666/94	9.Apr.47	35,26	56,86	8,44	25,95
81	UT-LMS	09960/91	6.Mai.34	9,79	22,02	2,91	9,05
82	UT-LMS	9016A7/86	15.Jul.29	24,89	58,53	9,67	22,63
83	UT-LMS	03868/90	30.Jun.07	2,44	9,07	0,00	3,23
84	UT-LMS	06356/91	11.Jun.42	2,54	14,48	0,92	2,54
85	UT-LMS	19124/92	6.Apr.46	7,33	18,60	0,54	7,49

No	PCNA _{cellsmax}	PCNA _{cellsmmin}	RPF	Zellkern- größe	ZKG positiv	Grading	Tumorgröße	Nekrose?	Uterus- gewicht
53	28,93	0,54	6,68	13,57	10,32	1	6	ja	193
54	11,33	1,40	4,91	13,80	11,24	1	26	nein	3000
55	20,85	3,59	10,75	12,63	13,85	1	11	nein	800
56	77,48	14,04	39,27	12,70	11,93	1	8,4	ja	730
57	72,00	17,91	46,60	13,26	13,58	1	7,5	ja	420
58	14,08	0,47	4,51	15,68	17,19	1	6	nein	
59	22,53	0,99	4,23	17,05	16,49	1	5,5	nein	506
60	3,90	0,00	0,34	8,35	5,05	1	4	nein	580
61	58,00	1,35	23,06	9,95	9,48	1	7	nein	
62	22,22	6,14	14,45	17,53	17,64	1	6,5	nein	
63	25,28	2,37	11,34	19,29	20,31	1	8,5	ja	837
64	21,25	1,06	7,52	17,96	15,75	1	3	ja	223
65	12,37	0,00	2,91	11,09	9,18	1	12	ja	
66	33,54	3,16	10,18	21,20	21,96	1	12	nein	264
67	35,55	16,18	25,00	14,55	16,64	1	5,8	ja	177
68	42,43	5,91	20,72	14,61	13,00	1	2,5	ja	87
69	52,85	0,00	6,12	13,33	10,21	1	5	ja	228
70	20,20	0,00	4,22	16,13	16,44	1	5	ja	222
71	56,09	8,33	19,54	19,66	26,58	1,5	7	nein	
72	3,94	0,00	0,83	9,26	8,78	1,5	5	nein	461

No	PCNA _{cellsmax}	PCNA _{cellsmin}	RPF	Zellkern- größe	ZKG positiv	Grading	Tumorgröße	Nekrose?	Uterus- gewicht
73	2,70	0,00	0,81	10,33	9,99	2	13	ja	1620
74	3,72	0,00	1,29	11,20	14,00	2	5	nein	
75	22,39	5,49	13,29	18,54	18,33	2	1,5	ja	
76	46,02	16,51	30,64	18,02	23,29	2,5	8	ja	265
77	28,82	8,15	18,05	11,98	13,78	3		ja	
78	52,32	16,73	32,65	16,15	20,41	3	6	ja	258
79	64,19	39,39	54,05	20,57	26,11	3	5	ja	
80	43,32	8,44	26,31	18,55	24,80	3	14	ja	1140
81	21,17	2,91	8,96	24,24	25,94	3	10	ja	2850
82	59,11	8,95	24,90	18,68	18,17	3	6	ja	153
83	10,52	0,00	2,78	12,76	10,30	3	0,5	ja	82
84	14,48	0,92	3,55	35,53	32,46	1	14	ja	940
85	18,06	0,54	7,40	14,87	14,12	2	11	ja	

No	Follow- Up?	DOD	DOD nach Monate n	Krankheitsfreies Überleben nach Monaten	Des min	Ak- tin	S-100	Keratin	Vimentin
53	ja	ja	11						
54	ja	nein		64	pos				neg
55	ja	nein		16					
56	ja	nein		148					
57	ja	nein		63					
58	ja	nein		52					
59	ja	nein		8					
60	ja	nein		80					
61	nein								
62	nein								
63	nein								
64	nein								
65	nein								
66	nein								
67	nein								
68	nein								
69	nein								

No	Follow-Up?	DOD	DOD nach Monaten	Krankheitsfreies Überleben nach Monaten	Desmin	Aktin	S-100	Keratin	Vimentin
70	nein								
71	nein								
72	nein								
73	ja	ja							
74	ja	nein		73					
75	nein								
76	nein				neg	pos			
77	ja	ja	60						
78	ja	ja							
79	ja	ja			neg	pos	neg		pos
80	ja	ja	6						
81	ja	ja	2						
82	nein								
83	nein				pos		neg	neg	
84	nein								
85	ja	nein		75					

No	Metastasen	Lokal	Leber	Lunge	Hirn	Skelett
53	ja	ja				
54						
55						
56						
57						
58						
59						
60						
61						
62						
63						
64						
65						
66						

No	Metastasen	Lokal	Leber	Lunge	Hirn	Skelett
67						
68						
69						
70						
71						
72						
73	ja			ja		
74						
75						
76						
77	ja	ja	ja	ja		
78	ja	ja		ja		
79	ja	ja		ja		
80	ja	ja		ja		
81	ja			ja	ja	ja
82						
83						
84						
85						

9.1.3 Daten der gastrointestinalen Leiomyosarkome und Leiomyblastome

No	Art	Nummer	DOB	Lokalisation	Sex	PCNA _{areamed}	PCNA _{areamax}	PCNA _{areamin}
86	GI-LMS	19318/94	13.Mrz.31	Rektum	m	9,41	18,93	1,67
87	GI-LMS	25744/94	20.Apr.14	Rektum	m	6,75	15,32	1,94
88	GI-LMS	05504/96	5.Mai.40	Oesophagus	m	28,36	42,78	17,04
89	GI-LMS	06262/93	23.Apr.32	Magen	m	1,09	9,33	0,00
90	GI-LMS	17585/94	23.Feb.24	Magen	w	1,74	11,83	0,00
91	GI-LMS	10092/89	14.Mrz.35	Magen	w	44,51	68,38	16,36
92	GI-LMS	30016/93	27.Aug.28	Magen	m	9,56	26,54	1,69
93	GI-LMS	25822/95	7.Nov.33	Magen	w	18,15	54,43	4,32
94	GI-LMS	29178/94	11.Dez.33	Magen	m	22,65	48,82	9,32

No	Art	Nummer	DOB	Lokalisation	Sex	PCNA _{areamed}	PCNA _{areamax}	PCNA _{areamin}
95	GI-LMS	00212/96	23.Mrz.56	Magen	w	29,43	55,36	7,89
96	GI-LMS	26132/95	12.Okt.39	Duodenum	w	48,86	68,61	16,00
97	GI-LMS	14454/93	16.Jan.31	Dünndarm	w	40,57	71,74	17,25
98	GI-LMS	28067/95	6.Apr.48	Dünndarm	w	7,29	14,55	2,43
99	GI-LMS	02567/95	16.Mrz.31	Dünndarm	w	32,00	64,37	10,14
100	GI-LMS	00259/95	17.Jun.21	Dünndarm	m	6,95	13,76	0,57
101	GI-LMS	36527/93	2.Nov.35	Dünndarm	w	6,70	12,42	1,39
102	GI-LMS	31195/94	10.Aug.29	Darm	w	11,53	43,85	0,00
103	GI-LMS	10901/96	15.Aug.29	Coecum	w	17,73	32,41	4,46
104	GI-LMB	35962/88	23.Feb.21	Magen	m	9,54	29,00	2,25
105	GI-LMB	32227/92	6.Mai.32	Magen	w	5,83	24,23	0,00

No	PCNA _{cellsmcd}	PCNA _{cellsmax}	PCNA _{cellsmid}	RPF	Zellkern- größe	Positive ZKG	Grading	Tumor- größe (cm)	Nekrosen?
86	9,55	19,70	1,67	9,67	15,85	15,75	1		nein
87	5,48	13,82	1,94	5,52	14,72	17,84	1	1,5	ja
88	20,59	32,95	11,44	21,19	13,39	18,03	3	6	ja
89	1,33	10,43	0,00	1,67	11,77	8,09	1	15	nein
90	2,74	15,89	0,00	3,44	7,72	3,98	1	5	nein
91	34,65	63,06	11,26	36,01	22,23	28,04	1	9	ja
92	8,41	25,37	1,52	8,46	15,33	17,15	1,5	1,5	nein
93	16,75	51,29	4,32	16,59	17,84	19,35	2	15,5	ja
94	22,01	43,24	9,32	20,40	23,61	24,83	2	5	nein
95	28,56	58,50	7,89	29,01	10,05	10,50	3	8	nein
96	36,44	57,00	16,00	37,61	39,97	52,15	2	2,5	nein
97	37,25	72,94	19,40	37,14	15,93	16,55	1	8	nein
98	6,14	11,20	2,43	6,24	13,81	15,52	1	3,5	nein
99	30,23	61,64	9,68	29,49	13,90	14,95	1		nein
100	4,71	12,50	0,54	7,88	12,74	13,61	1,5	6,5	nein
101	6,04	10,30	0,68	6,06	17,69	19,15	2	7	ja
102	11,69	42,85	0,00	10,83	17,01	15,83	1,5	2	ja
103	13,19	24,08	4,46	13,39	13,95	18,67	3	9	ja
104	10,54	30,43	2,25	10,79	17,54	15,98		5,5	

No	PCNA _{cellsmed}	PCNA _{cellsmax}	PCNA _{cellsmin}	RPF	Zellkern- größe	Positive ZKG	Grading	Tumor- größe (cm)	Nekrosen?
105	7,26	28,88	0,00	6,94	12,42	9,87		6	nein

No	Follow- Up?	DOD	DOD nach Monaten	Krankheitsfreies Überleben nach Monaten	Desmin	Aktin	S- 100	Keratin	Vimen- tin
86	ja	nein		64					
87	nein								
88	nein								
89	ja	ja	48						
90	ja	nein		64	pos		neg		pos
91	nein								
92	nein				pos	pos		neg	pos
93	ja	ja	21		neg	pos	neg		
94	ja	ja	6		pos	neg	neg		pos
95	ja	nein		69					
96	nein								
97	ja	nein		76					
98	ja	nein		61					
99	nein				neg		neg		pos
100	nein								
101	nein	ja							
102	ja	Nein, MI(19)							
103	nein				neg	pos	neg		pos
104	ja	nein		132	pos				
105	nein				neg	pos	neg	neg	

No	Metastasen	Lokal	Leber
86	ja	ja	ja
87			
88			
89	ja	ja	ja

No	Metastasen	Lokal	Leber
90			
91			
92			
93	ja	ja	ja
94	ja		ja
95	ja		ja
96			
97			
98			
99	ja	ja	
100			
101	ja		ja
102			
103			
104			
105			

9.2 Links

Uniklinik Mainz: www.klinik.uni-mainz.de

FIGO: www.figo.org

Medline: www.medline.de

Uniklinik Aachen: www.ukaachen.de

RWTH Aachen: www.rwth-aachen.de

Leo Deutsch-Englisches Wörterbuch der TU München: <http://dict.leo.org>

Bias für Windows: www.bias-online.de