

Aus dem Institut für Pathologie
Recklinghausen
Geschäftsführer Prof. Dr. med. W. Wierich

„DNA-Ploidie, Proliferation und Prognose bei Anal-Karzinomen“

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung des doctor medicinae
der medizinischen Fakultät der
Westfälischen Wilhelms- Universität Münster

Vorgelegt von:

Meinolf Terlau, geb. Tomczak
aus Tirschenreuth/Oberpfalz

2003

Dekan: Univ.-Prof. Dr. J. Jürgens

1. Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. H. Herbst

2. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. W. Mellin

Tag der mündlichen Prüfung: 02.10.2003

Die DNA-zytometrischen und immunhistologischen Messungen zu der vorliegenden Arbeit wurden in der Zeit von März 1997 bis Januar 1998 am Pathologischen Institut Recklinghausen vorgenommen.

Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Walter Mellin, unter dessen Anleitung diese Arbeit angefertigt wurde, danke ich für seine stete Gesprächsbereitschaft und die uneingeschränkte Unterstützung meiner Arbeit.

Aus dem Institut für Pathologie Recklinghausen

Geschäftsführer Prof. Dr. med W. Wierich

Referent: Univ.- Prof. H. Herbst Koreferent: Priv.- Doz. Dr. W. Mellini

ZUSAMMENFASSUNG

Terlau, Meinolf

„DNA-Ploidie, Proliferation und klinischer Verlauf bei Analkarzinomen“

Ziel der vorliegenden retrospektiven Studie war die Ermittlung der DNA-Ploidie und der immunhistologischen Wachstumsfraktion (Ki-67 Antigen) von 56 Analkarzinomen und drei Carcinomata in situ der Jahre 1987-1996 im Vergleich zu den jeweils erhebaren klinischen Verläufen. Die Ermittlung der DNA-Ploidie und die immunhistologischen Untersuchungen erfolgten an archiviertem, formalinfixiertem und in Paraffin eingebettetem Gewebematerial unter Verwendung der Feulgenbildzytometrie und des monoklonalen Antikörpers MIB-1 gegen das proliferationsassoziierte Zellkernantigen Ki-67.

Die erhebaren konventionellen klinisch-pathologischen Befunde standen im wesentlichen in Übereinstimmung mit den Literaturangaben, so dass das Untersuchungsgut als repräsentativ gelten kann. Die teilweise bereits vorliegende Fernmetastasierung korrelierte eng mit dem Nodalstatus und dem Auftreten eines lokalen Tumorrezidivs. Die Sterberate war maßgeblich mit dem Auftreten von Fernmetastasen bzw. lokalen Rezidiven korreliert.

Bezüglich der Ki67-Wachstumsfraktion ergab sich eine positive Korrelation mit dem histologischen Malignitätsgrad (höhere Proliferationsraten bei Zunahme der Entdifferenzierung; $p < 0,05$) und eine Korrelation mit dem histologischen Typ (höhere Proliferationsraten unter den kloakogenen Karzinomen im Vergleich zu den übrigen Plattenepithelcarzinomen ; $p < 0,05$). In der Gruppe der sehr stark proliferierenden Tumoren waren tendenziell häufiger regionale Lymphknotenmetastasen nachweisbar.

Dagegen fand sich keine Korrelation zwischen der DNA-Ploidie einerseits und dem histologischen Tumortyp, dem Grading, dem pT-Stadium und dem pN-Stadium andererseits. Die Gruppe der gering hyperdiploiden aneuploiden Tumoren erwies sich allerdings hinsichtlich der Fernmetastasierung, der Rezidivneigung und somit auch der Prognose günstiger als die DNA-diploiden und höhergradig aneuploiden Tumoren, ohne dass hierfür bisher eine plausible Erklärung vorliegt. Ferner kamen unter den Analkanalkarzinomen häufiger Fälle mit höhergradiger Stammlinienaneuploidie vor. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen der DNA-Ploidie und der MIB-1-Wachstumsfraktion konnte nicht nachgewiesen werden.

Die Ergebnisse zur DNA-Ploidie und Ki67-Wachstumsfraktion korrelieren jeweils partiell mit den konventionellen pathologisch-anatomischen Parametern sowie dem klinischen Verlauf, sind andererseits aber nicht so stark prognostisch richtungsweisend, dass sie im Einzelfall eine echte Hilfe bei der individuellen risikoadaptierten Therapieplanung bieten.

Tag der mündlichen Prüfung: 02.10.2003

INHALTSVERZEICHNIS

Abkürzungsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis

Tabellenverzeichnis

1. Einleitung

2. Literaturübersicht

2.1 Klassifikation der malignen Analtumoren

2.1.1 Karzinome

2.1.2 Morbus Bowen

2.1.3 TNM-Klassifikation

2.2 Risikofaktoren und Epidemiologie

2.3 Diagnostik und Therapie

2.4 DNA-Ploidie

2.5.MIB-1

3. Material und Methoden

3.1 Untersuchungsgut

3.1.1 Alter und Geschlecht

3.1.2 Typing und histologischer Malignitätsgrad

3.1.3 Lokalisation und Tumorausbreitungsstadium

3.1.4 Rezidive nach Behandlung und Überleben

3.1.5 Operationsverfahren

3.1.6 Fälle von Morbus Bowen

3.2 Methode

3.2.1 DNA-Zytometrie

3.2.2 Einteilung der DNA-Ploidie

- 3.2.3 MIB-1 Immunhistologie
- 3.2.4 Bestimmung der MIB-1 Fraktion
- 3.2.5 Statistische Auswertung

4. Ergebnisse

- 4.1 Korrelation zwischen den konventionellen Faktoren
 - 4.1.1 Lokalisation / Histologischer Typ
 - 4.1.2 Lokalisation / Alter
 - 4.1.3 Lokalisation / Geschlecht
 - 4.1.4 Lokalisation / Grading
 - 4.1.5 Lokalisation / Tumorstadium
 - 4.1.6 Lokalisation / Rezidiv
 - 4.1.7 Histologischer Typ / Alter
 - 4.1.8 Histologischer Typ / Geschlecht
 - 4.1.9 Histologischer Typ / Grading
 - 4.1.10 Histologischer Typ / Tumorstadium
 - 4.1.11 Histologischer Typ / Rezidiv
 - 4.1.12 Alter / Geschlecht
 - 4.1.13 Alter / Grading
 - 4.1.14 Alter / Tumorstadium
 - 4.1.15 Alter / Rezidiv
 - 4.1.16 Geschlecht / Grading
 - 4.1.17 Geschlecht / Tumorstadium
 - 4.1.18 Geschlecht / Rezidiv
 - 4.1.19 Grading / Tumorstadium
 - 4.1.20 Grading / Rezidiv
 - 4.1.21 pT-Stadium / pN-Stadium
 - 4.1.22 pT-Stadium / pM-Stadium
 - 4.1.23 pT-Stadium / Rezidiv

- 4.1.24 pN-Stadium / pM-Stadium
- 4.1.25 pN-Stadium / Rezidiv
- 4.1.26 pM-Stadium / Rezidiv
- 4.1.27 OP-Verfahren / Rezidiv
- 4.1.28 Überlebensdaten / Alter
- 4.1.29 Überlebensdaten / Geschlecht
- 4.1.30 Überlebensdaten / Lokalisation
- 4.1.31 Überlebensdaten / Histologischer Typ
- 4.1.32 Überlebensdaten / Grading
- 4.1.33 Überlebensdaten / Tumorstadium
- 4.1.34 Überlebensdaten / OP-Verfahren
- 4.1.35 Überlebensdaten / Rezidiv

4.2 DNA-Ploidie und klinischer Verlauf

- 4.2.1 DNA-Ploidie / Alter
- 4.2.2 DNA-Ploidie / Geschlecht
- 4.2.3 DNA-Ploidie / Lokalisation
- 4.2.4 DNA-Ploidie / Histologischer Typ
- 4.2.5 DNA-Ploidie / Grading
- 4.2.6 DNA-Ploidie / Tumorstadium
- 4.2.7 DNA-Ploidie / Rezidiv
- 4.2.8 DNA-Ploidie / Überlebensdaten

4.3 MIB-1-Proliferationsraten

- 4.3.1 MIB-1 / Alter
- 4.3.2 MIB-1 / Geschlecht
- 4.3.3 MIB-1 / Lokalisation
- 4.3.4 MIB-1 / Histologischer Typ
- 4.3.5 MIB-1 / Grading
- 4.3.6 MIB-1 / Tumorstadium

4.3.7 MIB-1 / Rezidiv

4.3.8 MIB-1 / Überlebensdaten

4.4 MIB-1 / DNA-Ploidie

4.5 Morbus Bowen

5. Diskussion

5.1 Analkarzinome- konventionelle, klinisch-pathologische Faktoren in unserem
Untersuchungsgut

5.2 Methodendiskussion

5.3 Ergebnisdiskussion

5.3.1 Korrelation der konventionellen Faktoren

5.3.2 DNA-Ploidie

5.3.3 MIB-1–immunhistologisch bestimmte Wachstumsfraktion

6. Literaturverzeichnis

7. Danksagung

8. Lebenslauf

Abkürzungsverzeichnis

A.	Arteria
AIDS	Aquired Immune Deficiency Syndrom
Ak	Antikörper
ALP	Alkalische Phosphatase
APAAP	Alkalische-Phosphatase-anti-alkalische-Phosphatase-Komplex
APES	Aminopropylethoxy-Silan
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CEA	Carcino-embryonales Antigen
CIN	Cervikale intraepitheliale Neoplasie
cis	Carcinoma in situ
CT	Computertomographie
CV	Variationskoeffizient
d.h.	das heißt
DNA	Desoxyribonucleinacid
ELISA	Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
Gy	Gray
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HPV	Human Papilloma Virus
K	Prüfgröße
Ki-67	Proliferationsantigen
LDH	Laktatdehydrogenase
M.	Musculus
MIB 1	Monoklonaler Antikörper gegen Proliferationsantigen Ki-67
N	Anzahl
P	Irrtumswahrscheinlichkeit
PEC	Plattenepithelkarzinom

pH	negativ dekadischer Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration
RaM-IgG	Rabbit-anti-mouse- Immunglobulin G
s.	siehe
SCCAg	Squamous cell carcinoma antigen
u.a.	unter anderem
UICC	Union Internationale Contre le Cancer
u.U.	unter Umständen
WHO	World Health Organisation
z.T.	zum Teil

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1 Histologische Typenverteilung	Kap 3.1
Abb. 2 Altersverteilung	Kap. 3.1.1
Abb. 3 Lokalisation / Grading	Kap. 4.1.4
Abb. 4 Lokalisation / pT-Stadium	Kap. 4.1.5
Abb. 5 Histologischer Typ / Grading	Kap. 4.1.11
Abb. 6 Alter / Geschlecht	Kap. 4.1.12
Abb. 7 Alter / pT-Stadium	Kap. 4.1.14
Abb. 8 pN-Stadium/pM-Stadium	Kap. 4.1.24
Abb. 9 pM-Stadium/Rezidiv	Kap. 4.1.26
Abb.10 OP-Verfahren/Rezidiv	Kap. 4.1.27
Abb.11 Überlebensdaten/pM-Stadium	Kap. 4.1.33
Abb.12 Überlebensdaten/Rezidiv	Kap 4.1.35
Abb.13 DNA-Ploidie/pM-Stadium	Kap 4.2.6
Abb.14 DNA-Ploidie / Rezidiv	Kap 4.2.7
Abb.15 MIB-1 / Histologischer Typ	Kap.4.3.4
Abb.16 MIB-1 / Grading	Kap. 4.3.5
Abb.17 MIB-1 / pN-Stadium	Kap. 4.3.6

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Schematische Einteilung der malignen Analtumoren	Kap 2.0
Tab. 2: pTN-Klassifikation	Kap 2.1.3
Tab. 3: Alter und Geschlechtsverteilung	Kap 3.1.1
Tab. 4: Histologische Typeneinteilung und Malignitätsgrad	Kap 3.1.2
Tab. 5: Lokalisation der Analkarzinome	Kap 3.1.3
Tab. 6: Verstorbene und Überlebende	Kap 3.1.4
Tab. 7: Prüfgrößen (K) und Irrtumswahrscheinlichkeiten (P)	Kap 3.2.5
Tab. 8: Lokalisation / pT-Stadium	Kap.4.1.5
Tab. 9: Histologischer Typ / Tumorstadium	Kap.4.1.12
Tab.10: pT-Stadium / pN-Stadium	Kap.4.1.21
Tab.11: DNA-Ploidie / Lokalisation	Kap 4.2.3
Tab.12: DNA-Ploidie / Tumorstadium	Kap 4.2.6
Tab.13: MIB-1 / Überlebensdaten	Kap. 4.3.8
Tab.14: MIB-1 / DNA-Ploidie	Kap. 4.4

1. EINLEITUNG

Unter den Malignomen des Gastrointestinaltraktes stellt das Analkarzinom mit einem Anteil von weniger als 2 % eine seltene Entität dar. Unter dem Begriff Analkarzinom werden Tumoren der Anal- und Perianalregion verschiedener histologischer Differenzierungen subsummiert, überwiegend handelt es sich um Plattenepithelkarzinome und kloakogene Karzinome, die Gegenstand der vorliegenden Untersuchung sind.

Die Therapie der Analkarzinome orientiert sich je nach Lokalisation und Stadium an einem bestimmten Therapieschema, wobei heutzutage die Therapie der Analkanalkarzinome primär nicht chirurgisch ist, bei den Analrandkarzinomen jedoch häufig eine Lokalexzision angewandt werden kann. Voraussetzung für die richtige Therapie der Tumoren ist eine exakte Klassifikation und ein exaktes prätherapeutisches Staging .

Die Wandlung der Therapie von der nahezu ausschließlichen operativen Strategie hin zur Radio- bzw. kombinierten Radiochemotherapie ging einher mit weiteren Erkenntnissen über die Biologie der Tumoren, wobei jedoch einerseits geringe Fallzahlen Aussagen erschweren, andererseits heutzutage durch die vornehmlich organerhaltende Therapie nur noch selten ausreichend Tumorgewebe zu Untersuchungszwecken zur Verfügung steht.

In unserem Falle stand paraffineingebettetes Material aus der proktologischen Klinik des Prosper-Hospitals in Recklinghausen, einer der größten Einrichtungen seiner Art in Deutschland, zur Verfügung.

Die Prognose der Analkarzinome hat sich durch die moderne Therapie signifikant verbessert, jedoch wäre es wünschenswert, außer der Tumordinfiltration und dem Lymphknotenbefall weitere prognostische Kriterien zu kennen, um die Therapie der Analtumoren noch differenzierter gestalten zu können. Die DNA-Ploidie hat sich bereits bei vielen Tumoren, unter anderem auch bei den gastrointestinalen Tumoren als gutes prognostisches Kriterium etabliert (Mellin et al 1990). Die stetige Weiterentwicklung der verschiedenen zytophotometrischen Techniken erlaubt auch den Einsatz dieser diagnostischen Methode außerhalb hochspezialisierter Zentren.

Um die Wertigkeit der DNA-Ploidie bei Analkarzinomen zu untersuchen, wurden von uns Paraffinpräparate von Analkarzinomen untersucht, wobei nur Präparate von Lokalexzisionen und Rektumexstirpationen verwendet wurden. Ergänzt wurden die zytophotometrischen Messungen

durch eine immunhistologische Untersuchung der Wachstumsfraktion (Proliferation), eine Methode, die zur Einschätzung des Malignitätsgrades ebenfalls von Bedeutung ist. Grundlage hierfür ist die bekannte Tatsache, dass die Proliferationsaktivität allgemein bei malignen Tumoren mit der Aggressivität, der Prognose und dem Metastasierungsverhalten gut korreliert.

In der vorliegenden Untersuchung soll die prognostische Bedeutung der DNA-Ploidie und der immunhistologisch bestimmten Wachstumsfraktion im Vergleich mit den etablierten Prognosekriterien abgeschätzt werden. Mögliche Auswirkungen auf das therapeutische Vorgehen sollen geprüft und erörtert werden, soweit dies im Rahmen einer retrospektiven Untersuchung möglich ist.

2.LITERATURÜBERSICHT

2.1 KLASSIFIKATION DER MALIGNEN ANALTUMOREN

Eine Reihe von tumorartigen Veränderungen entstehen im Bereich des Analkanals und des Analrandes, wie z.B. Fisteln und Abszesse als entzündliche Tumoren, Zysten der Proktodäldrüsen, lymphoide, entzündliche, hyperplastische Polypen, perianale Hämatome sowie Hämorrhoiden und fibröse Polypen. Hiervon abzugrenzen sind die neoplastischen Tumoren und die präkanzerösen Läsionen (Gebbers und Laissue 1984).

Die Einteilung der malignen Analtumoren geschieht nach den Empfehlungen der Weltgesundheitsorganisation (WHO) zur Klassifikation von Analkanal- und Analrandmalignomen.

Tab.1 Schematische Einteilung der malignen Analtumoren (Jass und Sobin 1989)

ANALKANAL

1. Epitheliale maligne Tumoren

- Plattenepithelkarzinom
- basaloides oder auch kloakogenes Karzinom
- Adenokarzinome, ausgehend von
 - den Analdrüsen
 - anorektalen Fisteln
 - als Rektumtyp
- undifferenziertes Karzinom

2. Nicht epitheliale maligne Tumoren

- Leiomyosarkom
- Rhabdomyosarkom
- andere, seltene Formen

3. Malignes Melanom

4. Unklassifizierte maligne Tumoren

ANALRAND

1. Epitheliale maligne Tumoren

- Plattenepithelkarzinom
- Basalzellkarzinom (Basaliom)
- Malignes Melanom

2. Morbus Bowen

3. Extramammäre Formen des Morbus Paget

4. Nicht epitheliale und unklassifizierbare maligne Tumoren

2.1.1 KARZINOME

Über Ätiologie, Risikofaktoren, Pathogenese und präkanzeröse Läsionen (definiert als morphologisch verändertes Gewebe, in dem eine Karzinomentstehung wahrscheinlicher ist als in normal erscheinendem Gewebe; WHO 1964) oder präkanzeröse Bedingungen (definiert als ein Allgemeinzustand, der mit deutlich erhöhtem Risiko, an einem Karzinom zu erkranken, belastet ist; WHO 1964) der Anal- und Perianalregion ist wenig bekannt. Der Grund hierfür liegt wohl in der niedrigen Inzidenz der Analmalignome.

Die analen Karzinome machen weniger als 2% der kolorektalen Karzinome aus (Behr und Wilson 1976, Pack und Oropeza 1967, Richards et al 1962). Das durchschnittliche Lebensalter

bei Erstdiagnose liegt bei 58 Jahren (Behrs und Wilson 1976, Corman und Haggitt 1977). Frauen sind häufiger von Karzinomen des proximalen Analkanals betroffen, Männer befällt ca. dreimal häufiger ein Karzinom des distalen Analkanals und des Analrandes (Wolfe und Bussey 1968).

Karzinome können im Bereich der Analregion multilocular entstehen (Parturier-Albot et al 1982). Möglich ist auch das Auftreten von Zweitumoren an anderen Organen (Brennen und Steward 1971). Des Weiteren gibt es Berichte über anale Karzinome bei Morbus Crohn (Preston et al 1983) und colitis ulcerosa (Otto und Gebbers 1978).

An exogenen Faktoren kommt unter anderem eine Infektion mit menschlichen Papillomaviren in Betracht. Der Zusammenhang mit dem Zigarettenrauchen kann durch epidemiologische Studien als gesichert angesehen werden.

Die analen Karzinome werden nach ihrer Lokalisation eingeteilt in die Analkanalkarzinome und die des Analrandes. Diese Einteilung hat nicht nur klinische und therapeutische Bedeutung, sondern die Tumoren unterscheiden sich auch hinsichtlich ihres biologischen Verhaltens, ihrer Wuchsform und der Metastasierungstendenz. Die Tumorstadien werden nach dem TNM-System eingeteilt.

Die Tumoren des Analkanals entstehen häufig im Bereich der Transitionalzellzone und selten auch in den Proktodrüsen oder in anorektalen Fisteln. Bekannt ist die große epitheliale Vielfalt der Transitionalzellzone, die wohl auch die histologische Vielfalt der hier angesiedelten Tumoren bedingt.

Die Tumoren infiltrieren vor allem in die Sphinktermuskulatur und in die Prostata, Harnblase, Vagina (Kuehn et al 1968, Welch und Malt 1977). Bei Diagnosestellung der Analkarzinome sind bereits bei 43% der Patienten die regionalen Lymphknoten befallen (Sugarbaker et al 1982). Hämatogen metastasieren die Analkarzinome sehr viel seltener als die kolorektalen Adenokarzinome (Sugarbaker et al 1982).

Die Plattenepithelkarzinome entstehen zumeist in der Übergangszone vom Anoderm zur perianalen Kutis. Histologisch und prognostisch gleichen sie den sonstigen Plattenepithelkarzinomen der Haut und der Lippe. Makroskopisch sind diese Tumoren häufig polypoid oder ulzeriert. Die Differenzierung ist häufig gut. Biologisch verhalten sie sich zumeist weniger aggressiv als die kloakogenen Karzinome, d.h. ihre Wuchsform ist weniger invasiv.

Das kloakogene Karzinom (Synonym: Basaloides Plattenepithelkarzinom oder transitionales kloakogenes Karzinom) ist histologisch dem Basaliom der Haut ähnlich. Im Gegensatz hierzu ist das kloakogene Karzinom ein hochmaligner Tumor mit der Fähigkeit zu metastasieren. Der Ursprung ist vermutlich das Epithel des rektoanalen Übergangs, welches Resten der embryonalen Kloake entsprechen soll.

Histologisch sieht man kleine bis mittelgroße neoplastische Zellen, die in soliden, häufig stark verzweigten Strängen angeordnet sind. In der Tumorperipherie können die Zellen palisadenförmig und zentral konzentrisch angeordnet sein. Möglich sind eine teilweise oder komplette Verhornung oder typische eosinophile Nekrosen.

Vier histologische Differenzierungen sind unterschieden worden (Klotz et al 1967)

Grad I: hochdifferenzierte, solide, uniforme Zellen, Palisadenstellung.

Grad II: leichte Anisozytose und Kernpleomorphie, vermehrte Mitosen, Palisadenstellung.

Grad III: zunehmende Zellpleomorphie, Mitosen, keine oder nur geringe Palisadenstellung.

Grad IV: kleinzellig-anaplastisch

Die Prognose korreliert mit dem Tumorstadium und der Differenzierung (Klotz et al 1967). Mit zunehmender Anaplasie, d.h. Verlust der histo- und zytologischen Funktionsmerkmale neigen die kloakogenen Karzinome vermehrt zur lymphogenen und hämatogenen Metastasierung.

2.1.2 MORBUS BOWEN

Beim Morbus Bowen handelt es sich um eine erythematöse, plaqueartige Verdickung des Epithels mit unregelmäßiger, aber scharfer Begrenzung. Er wird heutzutage als carcinoma in situ definiert und findet sich u. a. im Analbereich.

Histologisch zeigt das Epithel eine aufgehobene Schichtung, Akanthose, Hyper- und Parakeratose, hellzellige Anteile, Kernpleomorphie, bizarre Rieskerne und atypische Mitosen. Nur ein kleiner Prozentsatz dieser Läsionen soll in ein invasives Karzinom übergehen (Lever und Schaumburg-Lever 1983).

Es wird vermutet, dass den Karzinomen des Analkanals in der Regel auch ein in-situ-Karzinom vorausgeht, häufig sind Anteile neben dem bereits invasiven Karzinom in einem histologischen Präparat zu finden. Das histologische Bild eines carcinoma in situ des Analkanals zeichnet sich aus durch den Verlust der regelrechten baso-apikalen Zellschichtung und Differenzierung, Kernpleomorphie, nach apikal verschobenen Mitosen und eine verbreiterte Basalzellschicht. Sie unterscheidet sich nicht von einem in-situ-Karzinom anderer Lokalisation. Zur sicheren Differenzierung gegenüber einem invasiv wachsenden Tumor muß sichergestellt werden, dass an keiner Stelle die lamina basalis überschritten wird.

2.1.3 DIE TNM-KLASSIFIKATION

Die Einteilung der malignen Analtumoren geschieht nach dem pTNM-System der UICC (Union Internationale Contre le Cancer) in der dritten Revision von 1997.

Die Klassifikation gilt nur für Karzinome. Eine histologische Diagnosesicherung ist erforderlich.

Tab.2. pTN-Klassifikation

T-Primärtumor

pTx Primärtumor kann nicht beurteilt werden

pT0 Kein Anhalt für Primärtumor

- pTcis Carcinoma in situ
- pT1 Tumor 2 cm oder weniger in größter Ausdehnung
- pT2 Tumor mehr als 2 cm, aber nicht mehr als 5 cm in größter Ausdehnung
- pT3 Tumor mehr als 5 cm in größter Ausdehnung
- pT4 Tumor jeder Größe mit Infiltration benachbarter Organe, wie Vagina, Urethra oder Harnblase (Befall der Sphinktermuskulatur allein wird nicht als T4 klassifiziert)

pN-Regionäre Lymphknoten

- pNx Regionäre Lymphknoten können nicht beurteilt werden
- pN0 Keine regionären Lymphknotenmetastasen
- pN1 Metastasen in perirektalen Lymphknoten
- pN2 Metastasen in inguinalen Lymphknoten einer Seite und/oder in Lymphknoten an der A.iliaca interna einer Seite
- pN3 Metastasen in perirektalen und inguinalen Lymphknoten und/oder in Lymphknoten an der A. iliaca interna beidseits und/oder in bilateralen Leistenlymphknoten

pTN-pathologische Klassifikation:

Die pT und pN Kategorien entsprechen den T-und N-Kategorien.

2.2.RISIKOFAKTOREN UND EPIDEMIOLOGIE

Eine Vielzahl von Risikofaktoren konnte in klinischen und epidemiologischen Studien für das Analkarzinom ausgemacht werden. Bemerkenswerterweise ändert sich das Risikoprofil, im Mittelpunkt des Interesses stehen sicherlich zur Zeit die HIV-Infektion (Human Immundeficiency Virus) und AIDS (Aquired Immune Deficiency Syndrom) (Carter et al 1995).

Mit der Zunahme der Inzidenz dieser Erkrankung seit Mitte der achtziger Jahre zeigte sich ein erhöhtes Risiko für das Auftreten von Analmalignomen. So ist das relative Risiko für ein

Analkarzinom bei und nach der Diagnose AIDS unter homosexuellen Männern 84,1 und 37,7 unter nicht homosexuellen Männern, wobei zu bemerken ist, dass unter jüngeren Männern das Risiko höher ist (Melbye et al 1994). Klinisch bedeutsam ist, dass bei HIV-Infizierten und AIDS-Erkrankten auch an ein Analkarzinom gedacht werden muß.

In epidemiologischen und klinischen Studien wurde der Verdacht auf eine starke Assoziation zwischen einer analen HPV-Infektion (Human Papilloma Virus) und der Entwicklung eines Analkarzinoms aufgeworfen (Beckmann et al.1989, Kiyabu et al 1989). Bekannt ist bereits die Assoziation einer Papillomavirusinfektion mit dem Zervixkarzinom, aber auch anderer genitaler Infektionen. Zahlreiche Veröffentlichungen beschäftigen sich mit dem Vorhandensein diverser Subtypen von Paillomaviren bei Analkarzinomen. Hierbei dominiert der Subtypus HPV 16, seltener werden HPV 6 und HPV 18 gefunden, andere Typen sind Raritäten. Ein serologischer Nachweis von HPV 16-Antikörpern mittels ELISA gelingt bei 89 % der Patienten mit Analkarzinom, gegenüber 24 % bei einer gesunden Kontrollgruppe (Heino et al 1993). Mittels Southern blot und blot dot Analyse gelingt noch in 56% der Fälle der Nachweis von HPV 16 DNA aus dem Tumor (Palmer et al 1989).

Die Assoziation zwischen Zigarettenrauchen und Zervixkarzinom ist bereits bekannt. Ebenso liegt der Anteil der Zigarettenraucher unter den Patienten mit Analkarzinom bei 60 % gegenüber 25 % in der Normalbevölkerung. Gleiches gilt auch für das Vulvakarzinom. Das Risiko, an einem Analkarzinom zu erkranken, nimmt zu mit der Anzahl der gerauchten Zigaretten. Es kann daher davon ausgegangen werden, dass Zigarettenrauchen eine Rolle in der Ätiologie der Analkarzinome spielt und das Rauchen ein Promotor für diese Tumorerkrankung darstellt (Daling et al 1992, Holmes et al 1988).

In der Entstehungsgeschichte der Analkarzinome ist unter anderem eine starke Abhängigkeit von den sexuellen Praktiken zu bemerken. Das relative Risiko bei homosexuellen Männern mit rezeptivem Analverkehr betrug 33,1, bei Frauen allerdings nur 1,8 (Daling et al 1987).

Bemerkenswert ist eine Zunahme der Analkarzinome bei Frauen mit steigender Anzahl der Sexualpartner (Holmes et al 1988).

Eine gestiegene Inzidenz für das Analkarzinom ist beim Morbus Crohn zu bemerken. Das relative Risiko soll um das zehnfache erhöht sein (Slater et al 1984). Als Gründe hierfür denkt man an das generell erhöhte Risiko für Neoplasmen beim Morbus Crohn und die chronischen

analen und perianalen Entzündungen.

Epidemiologische Studien haben ein einhundertfach erhöhtes Risiko für ein Analkarzinom für Empfänger eines Nierentransplantates erbracht (interessanterweise gilt gleiches für das Vulvakarzinom). Zweidrittel der Patienten sind Frauen. Das Durchschnittsalter bei Erstdiagnose war signifikant niedriger als in der Normalbevölkerung, d. h. 37 Jahre bei Frauen und 45 Jahre bei Männern im Vergleich zu 58 Jahren bei der Gesamtpopulation an Patienten mit Analkarzinom. Durchschnittlich treten die Tumoren 88 (6-215) Monate nach Transplantation auf. (Penn 1986).

Die zunehmende Nutzung der Strahlentherapie hat eine Zunahme der strahleninduzierten Tumoren zufolge. Obwohl der Enddarm sich als sehr strahlensensibel erweist, sind die strahleninduzierten Analkarzinome sehr selten, nur zwei Fälle sind in der Weltliteratur beschrieben worden. Bei einem Fall handelt es sich um ein bestrahltes Zervixkarzinom, sieben Jahre später entwickelte sich ein Analkarzinom, welches ebenfalls sieben Jahre überlebt wurde (Lafera und Mac Kay 1987).

Weitere Untersuchungen beschäftigen sich mit den ätiologischen Parallelen zwischen Analkarzinom und Zervixkarzinom (Melbye und Sprogel 1991). 90-95 % der Zervixkarzinome sind Plattenepithelkarzinome. Die Annahme, dass die Entstehung obligatorisch an sexuelle Aktivität gebunden ist, gilt als gesichert (Schmidt-Matthiesen 1992). Risikosteigernd ist der häufige Partnerwechsel.

Beachtenswert erscheint heute die Infektion mit den Papillomaviren (HPV), wobei 16 und 18 die höhere maligne Potenz zu haben scheinen. Ebenso wird dem Nikotin eine Rolle als Kofaktor zugeschrieben (Schmidt-Matthiesen 1992).

Dixon fand bei 25 Patientinnen mit Analkarzinom fünf, die vorausgehend wegen eines Zervixkarzinoms behandelt wurden. Bei allen fünf konnte HPV 16 DNA sowohl in den Präparaten von der Zervix als auch vom Anus nachgewiesen werden. Es scheint, dass junge Frauen mit CIN III oder einem invasiven Zervixkarzinom ein erhöhtes Risiko haben, ein Analkarzinom zu entwickeln (Dixon et al 1991).

Die Geschlechtsverteilung bei den Analkarzinomen schwankt zwischen 3:1 und 1,5:1 zugunsten der Frauen, wenn man die Veröffentlichungen mit kleineren Fallzahlen betrachtet. Große epidemiologische Studien liegen z. B. aus Schweden vor. Dort zeigt sich bei 858 Fällen von

Analkarzinom im Zeitraum von 1970-1989, die im schwedischen Krebs-Register verzeichnet sind, ein Verhältnis von 2:1 zugunsten der Frauen.

Das Durchschnittsalter bei Erstdiagnose beträgt 67 Jahre. 5% der Fälle sind Patienten zwischen 25 und 44 Jahren, 37 % 45-64 Jahre, 58 % sind 65 Jahre oder älter. Die weibliche Dominanz war in allen Gruppen ähnlich. Die Inzidenz betrug 1,4 Fälle auf 100'000 Bewohner pro Jahr bei den Frauen und 0,68 für Männer.

Bemerkenswert war eine höhere Inzidenz der Erkrankung in Großstädten. Ebenso war zu verzeichnen, dass es eine durchschnittliche jährliche Steigerung der Inzidenz um 4,3 % gab, ohne dass eine Geschlechts –oder Risikogruppe dominierte (Goldmann et al 1989).

Im Staate New York verdreifachte sich die Inzidenz zwischen den späten fünfziger Jahren und den achtziger Jahren, wobei es sich hierbei um eine überproportionale Zunahme dieses Tumors unter homosexuellen Männern handelte (1959-1967: 8 %, 1977-1986 : 72 % der Männer), wobei das Geschlechtsverhältnis dennoch konstant blieb (Wexner et al. 1987). Untersuchungen aus der Region Los Angeles zeigten bei ledigen Männern ein 6,1fach erhöhtes Risiko an einem Analkarzinom zu erkranken, als bei verheirateten Männern. Gegenüber verheirateten Personen hatten Geschiedene beiderlei Geschlechts ein deutlich erhöhtes Risiko.

Ein Unterschied zwischen der weißen und der farbigen Bevölkerung konnte nicht ausgemacht werden (Peters und Marck 1983).

Es finden sich auch deutliche geographische Unterschiede. Im Nordosten Brasiliens und in einigen Regionen Indiens ist das Analkarzinom wesentlich häufiger. Die Inzidenz korreliert etwa mit derjenigen der Karzinome von Penis, Vulva und Zervix uteri (Morson und Dawson 1979). Insgesamt gesehen ist das Analkarzinom ein sehr seltener Tumor, der deutlich das weibliche Geschlecht bevorzugt. Allerdings ist eine Verschiebung zu beobachten hin zu den jüngeren Männern, was am ehesten auf die Ausbreitung der HIV-Infektion zurückzuführen ist.

2.3. DIAGNOSTIK UND THERAPIE

Die klinische Symptomatik, die den Patienten wegen eines Analkarzinoms zum Arzt führt, ist sehr unterschiedlich und nur selten eindeutig. Viele Symptome des Tumors lassen zunächst an ein benignes Geschehen denken und führen nicht selten zu einer Fehldiagnose. Geklagte

Symptome sind: Blutauflagerungen auf dem Stuhl bzw. am Toilettenpapier und Blutbeimengungen zum Stuhl, Schmerzen im After, besonders wenn sie stuhlgangsassoziiert sind, zunehmende Inkontinenz, schleimig-schmierige Sekretion am After, unklare Gewichtsabnahme, insbesondere in Verbindung mit Stuhlunregelmäßigkeiten oder auch Fremdkörpergefühl im Bereich des Afters und ein analer Juckreiz.

Eine typische Wuchsform des Analkarzinoms ist nicht auszumachen, im Gegenteil, der Tumor kann verschiedene makroskopische Erscheinungen annehmen, so sind u. a. polypöse und ulzerative Tumoren möglich. Oft imitieren sie, insbesondere bei sehr kleinen und oberflächlichen Neoplasmen, auch Fissuren und Rhagaden.

An die Inspektion und digitale Untersuchung schließt sich obligatorisch eine Proktoskopie an, die durch eine Rektal- bzw. Rektosigmoideoskopie ergänzt werden sollte. Hierbei wird, eventuell unter einer Lokalanästhesie, eine Biopsie entnommen und zur histologischen Begutachtung gesandt. Sämtliche verdächtig aussehenden Stellen müssen biopsiert werden. Diese Untersuchungen müssen auch heute noch als Goldstandard in der Diagnostik des Analkarzinoms angesehen werden und gehören obligat zur präoperativen Untersuchung. Die Untersuchung der höheren Darmabschnitte ist erforderlich zum Ausschluß eines Zweittumors, der gelegentlich mit einem Analkarzinom einhergeht.

Im Rahmen der Staging-Untersuchung des Analkarzinoms erfüllt die Sonographie gleich mehrere Aufgaben. Die endoanale und endorektale Ultraschalluntersuchung ist geeignet, sowohl den normalen Analkanal als auch dessen Pathologika darzustellen. Hiermit werden exakte Aussagen über die Ausdehnung und die Tiefeninfiltration des Tumors möglich, des weiteren eignet sich die Ultrasonographie für die Nachsorge der Tumoren. Neben der digitalen Palpation und der Proktoskopie mit Biopsie komplettiert die Endosonographie das präoperative Staging der Analkarzinome (Herzog et al 1994).

Es scheint, dass das Computertomogramm bei kleineren Tumoren diese nicht nachweisen kann, insbesondere wenn man bedenkt, wie oberflächlich diese wachsen können. Große Tumoren können sicher nachgewiesen werden, jedoch ist die Computertomographie nicht spezifisch, andererseits können die Neoplasmen durch andere Untersuchungen weitaus besser nachgewiesen werden. Eindeutig seinen Sinn hat das CT aber in der Suche nach Metastasen, seien es Lebermetastasen oder Absiedlungen in anderen parenchymatösen Organen oder

Lymphknotenmetastasen im kleinen Becken oder in der Leiste.

Bei den kolorektalen Karzinomen hat sich das Carcinoembryonale Antigen (CEA) als leidlich guter Tumormarker, insbesondere für die Nachbehandlung etabliert. Untersuchungen aus Norwegen zeigen, dass von 106 Patienten mit Analkarzinom nur 20 überhaupt einen erhöhten CEA-Spiegel hatten. Bei diesen 20 Patienten konnte keine signifikante Korrelation beobachtet werden zwischen dem Serum-CEA, Tumor-CEA und der Prognose. Daraus ist zu folgern, dass weder die Messung von Serum-CEA noch von Tumor-CEA von klinischer Wichtigkeit ist (Tanum et al 1992).

Es gibt ferner Untersuchungen über die Wertigkeit des SCCAg (= squamous cell carcinoma antigen). Dieser Tumormarker ist erhöht bei Plattenepithelkarzinomen der Zervix, des Oesophagus, der Lunge, des HNO-Bereiches und zeigt eine relativ gute Diskriminierung zu benignen Erkrankungen. Hinsichtlich der Analkarzinome scheint dieser Marker auch seine Wertigkeit zu haben. So zeigt eine französische Studie bei 66 Patienten mit Plattenepithelkarzinomen des Analkanals eine Sensivität von 44 % und eine Spezifität von 92 %. Bei einem Tumorrezidiv zeigte sich ein steigender SCCAg-Spiegel, der mit der Prognose korrelierte. Hieraus wurde geschlossen, dass die SCCAg-Spiegel ein Bestandteil des klinischen Monitorings der Plattenepithelkarzinome im Analkanal sein sollten (Fontana et al 1991). Petrelli et al berichteten 1988 über eine Sensivität von 59 % und eine Spezifität von 95 %. Die 5-Jahresüberlebensrate beträgt bei Patienten mit einem normalen SCCAG-Spiegel 81% gegenüber 43% bei erhöhtem Spiegel (Goldman et al 1993). Weiterhin soll der Spiegel der alkalischen Phosphatase (ALP) und der Laktatdehydrogenase (LDH) signifikant mit der Entwicklung von Fernmetastasen zusammenhängen (Tanum et al 1994).

Die Möglichkeiten zur Anwendung von zytologischen Abstrichen vom Anus zur Diagnostik analer Neoplasmen sind begrenzt und beschränken sich auf die intraepithelialen Neoplasien. Hierbei erweist sich die Methode als durchaus brauchbar.

Die Therapie der Analkarzinome hat sich in den letzten 15 bis 20 Jahren deutlich gewandelt. Bis zu den 80er Jahren unseres Jahrhunderts war die abdomino-perineale Rektumexstirpation nach onkologischen Kriterien die Therapie der Wahl. Bei Frauen wurde häufig eine hintere Kolpektomie durchgeführt, weiterhin gehörten eine pelvine Lymphadenektomie und eine

permanente Kolostomie zum Umfang der Operation. Die 5-Jahres-Überlebensraten einer lokalen Exzision bei kleineren Tumoren betragen 45-66 % (Greenall 1985, Hughes 1989) und 51% (Singh 1981) und 84 % (Grabenbauer 1993) für die abdomino-perineale Rektumamputation bei größeren Karzinomen.

Durch die Kombination von Radio- und Chemotherapie läßt sich bei den größeren Tumoren eine 5-Jahres-Überlebensrate von 65-80 % bei Erhalt des natürlichen Ausgangs erzielen. Die primäre Therapie des Analrandkarzinoms ist immer noch chirurgisch, falls sich eine sichere lokale Entfernung im Gesunden mit einem Sicherheitsabstand von mindestens 1 cm durchführen läßt. Bestätigt die endgültige Histologie die vollständige Tumorexstirpation im Gesunden mit ausreichendem Sicherheitsabstand an allen Schnitträndern und fehlt der Nachweis von Lymphknotenmetastasen, so ist die operative Therapie bei T1 und T2-Stadien sicher ausreichend. In allen anderen Fällen sollte wie bei einem Analkanalkarzinom vorgegangen werden.

Die Kontinenz darf in keiner Weise durch eine wie auch immer geartete Operation gefährdet werden. Wann immer eine Gefährdung der Kontinenz durch die Operation besteht, ist von der chirurgischen Intervention abzusehen. Dies gilt auch für die Fälle größerer perianaler Tumoren, bei denen sich das Karzinom primär nicht sicher im Gesunden oder nur mit unzureichendem Sicherheitsabstand resezieren läßt oder zusätzlich ein Lymphknotenbefall nachgewiesen wurde. Bei diesen Patienten ist in jedem Fall eine Radiotherapie bzw. eine kombinierte Radio-Chemotherapie indiziert.

Die sehr seltenen Adenokarzinome des Analkanals werden wie tiefsitzende Rektumkarzinome behandelt. Die Therapie der plattenepithelialen oder kloakogenen Adenokarzinome ist primär nicht chirurgisch (Schlag und Sauer 1989). Im Vordergrund steht heutzutage als modernes Therapiekonzept die Radiochemotherapie, die allein in bis zu 70 % eine Kuration unter Sphinktererhalt erreichen kann (Papillon 1982).

Betrachtet man die Ergebnisse der operativen Therapie der Analkarzinome kritisch und beachtet nur die lokale Tumorkontrolle und die Überlebenszeit, so ist dem Organerhalt, sprich der anorektalen Kontinenz, der Vorzug zu geben (Willett 1996). Weiterhin sollte man nicht außer Acht lassen, dass es bei Männern zur Impotenz kommen kann und die perioperative Letalität zwischen 6% und 8% beträgt. Die Strahlendosis, die Art der Fraktionierung, Feldanordnung und Boostmethoden variieren von Klinik zu Klinik. Die Art der Bestrahlung hängt nicht zuletzt von

der Ausstattung und Erfahrung der Klinik ab.

Die Bestrahlung erfolgt üblicherweise bis zu einer Höhe von 45- 50 Gy perkutan unter Einschluß des eigentlichen Tumorbettes und des primären Lymphabflußgebietes (pararektal, iliakal und inguinal). Eine Fraktionierung der Gesamtdosis auf 5 mal 1,8 Gy pro Woche ist üblich. Die Aufsättigung auf die voll wirksame Tumordosis von 60-70 Gy (Boost-Bestrahlung) kann ebenfalls perkutan erfolgen. Zumeist erfolgt die Boost-Bestrahlung nach einer sechs- bis achtwöchigen Pause, um die akuten zystitischen und proktitischen Beschwerden abklingen zu lassen. Schwere radiogene Komplikationen wie die radiogene Proktitis, die Sphinktersklerose, Ulzerationen und Fistelbildungen sind in 10 bis 15 % der bestrahlten Patienten konservativ nicht zu beherrschen und zwingen trotz vollständiger Tumorremission zur Rektumamputation.

Radiogene Komplikationen treten auch gehäuft in Gebieten auf, in denen eine verminderte Durchblutung gegeben ist, ähnlich wie in Narbenarealen. Somit kann eine Narbe nach nicht ausreichender lokaler Tumorentfernung eine radiogene Komplikation induzieren, die letztlich doch zur Anus-*praeter*-Anlage zwingen kann. Eine Besonderheit des Analkarzinoms besteht in seiner langsamen Rückbildungstendenz unter der Strahlentherapie (Döker et al 1995). Häufig hat sich ein Monat nach Beginn der Strahlentherapie der Tumor in Größe und Konsistenz kaum verändert, was als Strahlenresistenz fehlgedeutet werden kann und Anlaß für ein sogenannte Salvage-Operation geben kann. Nach sechs bis acht Wochen allerdings bilden sich auch sehr große Tumoren zurück. Das Ende des zweiten Monats ist der optimale Zeitpunkt, um die Boost-Bestrahlung durchzuführen. Auch wenn diese zweimonatige Pause im Widerspruch zu anerkannten strahlenbiologischen Grundsätzen steht (Orton 1973), hat sich diese Pause empirisch als erfolgreich und richtig erwiesen (Papillon 1989, Cummings 1992) und stellt eine Besonderheit des Analkarzinoms dar. Patienten mit Karzinomen von weniger als 4 cm Durchmesser haben auch bei alleiniger externer Strahlentherapie eine Chance von 62 bis 96 % fünf Jahre zu überleben (Cantril 1983, Schlienger 1989). Die Wirkung der Bestrahlung auf den Tumor läßt sich durch eine systemisch gegebene Chemotherapie noch steigern. Fluorouracil (1g/m²) und Mitomycin (10 mg/m²) haben sich als die effektivsten Substanzen in der Behandlung der Analkarzinome herausgestellt. Die Chirurgie im Rahmen der Analkarzinomtherapie beschränkt sich auf die Behandlung von Therapieversagern (Tumorreste nach Bestrahlungsende), schwerste, konservativ nicht zu beherrschende Komplikationen (radiogene Proktitis, Sphinktersklerose,

Ulzerationen, Fisteln) und Tumorrezidiven. Als Therapie der Wahl ist in diesen Fällen eine abdominoperineale Rektumexstirpation zu nennen.

2.4 DNA-PLOIDIE

Die Ploidie einer Zelle entspricht der Chromosomenzahl, im Unterschied zur DNA-Ploidie, die den DNA-Gehalt einer Zelle angibt. Im Verlauf der Kanzerogenese treten chromosomale Veränderungen auf, die numerischer und/oder struktureller Art sein können (Heim und Mitelman 1987).

Man unterscheidet zwischen primären, charakteristischen und sekundären, im Verlauf der Tumorprogression auftretenden Chromosomenaberrationen (Mellin 1992). Es ist jedoch bekannt, dass auch bei benignen Tumoren Chromosomenabnormalitäten auftreten. Primäre Aberrationen treten meist im Zusammenhang mit der Tumorzellentstehung auf und sind tumortypspezifisch. Sekundäre Veränderungen der chromosomalen Strukturen beobachtet man bei der weiteren Tumorprogression, während tertiäre Chromosomenaberrationen Ausdruck einer genetischen Instabilität sind. (Mellin 1992). Die weitere Unterteilung der numerischen Aberrationen wird in Deletion und Monosomie als Folge von Verlust sowie Duplikation und Trisomie bei Zunahme des genetischen Materials vorgenommen. Inversion, Insertion und Translokation sind Möglichkeiten der Relokation genetischen Materials, die die Grundlage der strukturellen Chromosomenaberrationen bilden. Entscheidend für das Entstehen einer Abweichung vom normalen DNA-Gehalt, also letzten Endes einer chromosomalen Aberration, ist das Auftreten von sog. Zellklonen. Diese stellen Zellpopulationen dar, die durch eine genetische Instabilität über Selektionsvorgänge aus einer gemeinsamen Vorläuferzelle hervorgehen und daher mehr oder weniger identische Chromosomenveränderungen aufweisen.

Dabei wird die am häufigsten anzutreffende Chromosomenkonstitution als Stammlinie, parallel existierende als Seiten- oder Sublinie bezeichnet. Ein weiterer wichtiger Begriff ist die sog. Modalzahl, die die häufigste gemeinsame Chromosomenzahl in einer Tumorzellpopulation beschreibt.

Während normale Körperzellen einen diploiden Chromosomensatz haben, besteht in neoplastischem Gewebe in der Regel eine Abweichung vom üblichen Chromosomengehalt.

Numerische Aberrationen mit Vervielfältigung des Chromosomensatzes bezeichnet man als Polyploidie, davon abweichende Chromosomenzahlen als Aneuploidie. Den Zustand normaler Körperzellen entsprechende diploide und polyploide Chromosomensätze zählen als euploid, während maligne Tumoren mit einer um den diploiden Wert schwankenden Chromosomenzahl als peridiploid bezeichnet werden. Bei normaler Chromosomenzahl, aber bestehender struktureller Aberration, spricht man von pseudodiploid.

Weitere Bezeichnungen werden in Abhängigkeit zur vorliegenden Chromosomenzahl vorgenommen (Mellin 1992). Eine genauere Identifizierung von Tumorzellen ist zum einen durch eine exakte Chromosomenanalyse, zum anderen durch eine quantitative, zytophotometrisch durchgeführte DNA-Analyse möglich. Während eine Chromosomenanalyse zeitaufwendig ist und nur in ca. 20 % der soliden Tumoren gelingt, ist eine zytophotometrische DNA-Analyse relativ schnell durchführbar und gelingt sowohl an frischen als auch fixierten und paraffineingebetteten Proben.

Voraussetzung für eine relevante Aussage der DNA-Zytometrie ist die enge Korrelation zwischen der Ploidie und der DNA-Ploidie bzw. dem gemessenen DNA-Gehalt. Allerdings sind in der Regel nur numerische Chromosomenaberrationen nachweisbar, da die minimale, zytophotometrische Nachweisgrenze bei einem Chromosom liegt. Auch die sog. „Markerchromosomen“, wie das Philadelphia-Chromosom sind daher nur einer Chromosomenanalyse zugänglich.

Der Begriff DNA-Ploidie wird analog zur Ploidie verwendet, wobei die DNA-Ploidie in DNA-Indizes angegeben wird. Laut Definition weisen nicht proliferierende Zellen mit normalem DNA-Gehalt einen Index von 1 auf, jedoch können sich hinter einem DNA-Index von 1 Chromosomenaberrationen struktureller oder numerischer Art verbergen (Mellin 1992). Neben der bisher behandelten und für die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit maßgebenden DNA-Stammlinienaneuploidie, die das Auftreten einer Zellpopulation mit einem vom diploiden DNA-Gehalt der Referenzpopulation abweichenden DNA-Gehalt beschreibt, ist die ebenfalls zytophotometrisch bestimmbare Einzelzellaneuploidie zu nennen.

Dabei handelt es sich um einzelne Tumorzellen mit DNA-Werten von über 2,5 (Bzw. 5c), die innerhalb einer ansonsten diploiden DNA-Verteilung vorkommen und wahrscheinlich mutierte Zellen mit ungewisser Selektionsrichtung darstellen. Sie ist gelegentlich für die Dignitätsbestimmung bzw. für das Malignitätsgrading von Bedeutung.

Zur Abbildung kommt letztlich eine Häufigkeitsverteilung des DNA-Gehaltes mit Abtragung der Meßsignalstärke (DNA-Gehalt) auf der Abszisse und der Zellzahl auf der Ordinate. Zellen gleichen DNA-Gehaltes bilden dabei einen scharf begrenzten Peak. Aufgrund nicht vermeidbarer, minimaler präparativer und meßtechnischer Fehler und der daraus resultierenden Streuung ist die Abbildung aller normalen diploiden Körperzellen nicht realisierbar (Mellin 1992).

Neben dem G0/1-Peak ist im unimodalen DNA-Histogramm fast immer ein G2/M-Peak nachweisbar. Vor allem im multimodalen DNA-Histogramm ist eine richtige Zuordnung zu dem entsprechenden G0/1-Peak wichtig, da sonst leicht eine nicht existierende aneuploide Stammlinie diagnostiziert werden kann.

Eine Kalibrierung mit geeigneten Referenzzellen und eine ausreichende Meßpräzision (Variationskoeffizient) sind die Voraussetzung für eine erfolgreiche DNA-Analyse

Die DNA-Ploidie hat sich bei vielerlei Tumoren als gutes prognostisches Kriterium erwiesen. Die wenigen Veröffentlichungen bezüglich der Analkarzinome betreffen nur die Flußzytometrie (Fenger und Bichel 1981) oder die Mikrospektrophotometrie. Über die Bildzytometrie, insbesondere in Verbindung mit einer immunhistologischen Bestimmung der Proliferationsfraktion, liegen keine Arbeiten vor.

1987 veröffentlichten Goldman et al eine Arbeit mit 47 Patienten mit einem Analkarzinom, von denen 31 DNA-Histogramme ermittelt werden konnten. Die hierbei verwendete Methode war die heute eher unübliche Mikrospektrophotometrie. Hierbei werden nach einer Feulgen-Färbung die histologischen Präparate fotografiert und die Lichttransmission der Photos gemessen. Hierbei zeigten nahezu alle Tumoren eine Aneuploidie im DNA-Satz. Das Ergebnis der Studie war, dass es keinen Zusammenhang zwischen DNA-Gehalt und Überlebenszeit oder anderen relevanten klinischen Parametern gab (Goldman et al 1987).

Flußzytometrische Untersuchungen aus dem Jahre 1989 bei einer Gruppe von 117 Patienten mit einem Analkarzinom zeigten einen diploiden Chromosomensatz bei 82 Karzinomen (70%). Von den restlichen 35 Tumoren waren 15 aneuploid und 20 tetraploid. Es bestand ein Zusammenhang zwischen dem histologischen Grading und dem DNA-Gehalt, insofern die gut

differenzierten nahezu alle diploid waren und bei den aneuploiden und tetraploiden ein großer Teil schlecht differenzierter Tumoren vorlag. Die Prognose war etwas schlechter für Patienten mit DNA-Aneuploide bzw. Tetraploidie. Das Resümee aus dieser Studie war, dass die DNA-Ploidie keinen unabhängigen Prognosefaktor darstellt, sondern mit der Histologie und dem Tumorstadium korreliert (Scott et al 1989).

Andererseits fanden Sheperd et al, die 184 DNA-Histogramme von Analkarzinompatienten auswerteten, dass die DNA-Ploidie neben dem klinischen Tumorstaging der brauchbarste prognostische Faktor ist. Von den 184 Histogrammen zeigten sich 142 (77%) diploid und 42 (23%) aneuploid.

2.5 MIB 1

Die Untersuchung der Zellproliferation zur Abschätzung des Tumorwachstums wurde schon früh Ziel zahlreicher Studien. Zum besseren Verständnis soll eine kurze Übersicht über die Zellkinetik vorangestellt werden.

Nach einer von Howard et Pelc 1951 eingeführten Terminologie wird der Zellzyklus, die Periode von einer Zellteilung bis zur nächsten, in vier unterschiedlich lange Phasen unterteilt. Dabei sind die Interphase und die Mitose (Zellteilung) zu unterscheiden. Ziel der Interphase ist die Verdoppelung der DNA. Die Replikationsphase der DNA wird als S-Phase (Synthesephase) bezeichnet. Die zwischen Mitose und S-Phase einerseits und nächster Mitose andererseits verbleibenden Perioden sind die sogenannten G-Phasen (G1= Wachstumsphase und G2= Reparatur- und Vorbereitungsphase) (Hirsch-Kaufmann und Schweiger 1987).

Nicht alle Zellen sind jederzeit zur Vermehrung bereit. Bestimmte Zellen durchlaufen den Zellzyklus nicht ständig, sondern sind zu speziellen Zellen differenziert. Diese Zellen befinden sich in der G0 Phase, der „Ruhephase“ , die eine Auskoppelung aus der G1 Phase darstellt. Die Zellen bleiben vital und üben ihre definierte Zellfunktion aus, teilen sich aber in dieser Phase nicht. Sie haben die Fähigkeit in die G1-Phase zurückzukehren, was bei der Regeneration eine wichtige Rolle spielt (Kleining und Sitte 1992).

In der frühen Lymphomdiagnostik wurden Proliferationsraten zunächst üblicherweise anhand der sich in Mitose befindenden Tumorzellen geschätzt (Donhuijsen 1987).

Die Mitose stellt jedoch nur einen sehr kleinen Teil des Zellzyklus (M-Phase) dar. Die histologisch bestimmbare Mitosefrequenz ist verschiedenen Einflüssen unterworfen, nur beschränkt reproduzierbar (Donhuijsen 1987) und bleibt somit ein statischer Parameter eines an sich dynamischen Prozesses.

Eine weitere Technik zur Zellproliferationsbestimmung war die Autoradiographie. Man markierte mittels radioaktivem Thymidin bzw. Bromodesoxyuridin spezifisch diejenigen Zellen, die gerade DNA synthetisierten (Theml 1973). Diese Methode war kompliziert, kosten- und zeitaufwendig und in der ethischen Diskussion in Bezug auf die Anwendung in Tierexperimenten und am Menschen umstritten.

Eine neue Methode der Zellproliferationsmessung wurde 1978 von Michay et al beschrieben. Sie identifizierten Autoantikörper im Serum von Patienten mit systemischen Lupus erythematosus, die mit einem nukleären, zellproliferationsassoziierten Antigen reagierte. Ein ähnlicher Autoantikörper wurde von Klein et al 1974 im Serum von Leukämie-Patienten entdeckt.

1983 beschrieben Gerdes et al die Entwicklung eines monoklonalen Antikörpers, Ki-67, der mit einem zellproliferationsassoziierten Zellkernantigen reagierte. Benannt ist dieser Antikörper nach dem Ort der Herstellung in Kiel/Deutschland und dem Platz des Wachstums (67. Senke) auf der Gewebekulturplatte. Das Ki-67- Antigen war in allen proliferierenden Zellen nachweisbar, nicht jedoch in „ruhenden“ Zellen (Baisch und Gerdes 1990, Gerdes et al 1983). Eine genaue Zellzyklusanalyse an PHA-stimulierten Lymphozyten zeigte, dass das Ki-67- nukleäre Antigen durch alle sich aktiv im Zellzyklus befindlichen Zellen exprimiert wird (G1-,S-, G2- Phase und Mitose), nicht dagegen in Zellen der G0 Phase.

Mit Hilfe des monoklonalen Antikörpers Ki-67 war eine einfache, objektivier- und reproduzierbare, schnelle Bestimmung der Wachstumsfraktion einer Zellpopulation, egal ob gut- oder bösartig, möglich geworden (Gerdes et al 1992). Die Immunhistologie ist technisch einfach, kostengünstig und dem Pathologen in der Verwendung als übliches diagnostisches Mittel vertraut (Mason und Gatter 1987). Für die Herstellung der Präparate sind keine speziellen Fertigkeiten und Apparaturen notwendig, so dass die Methode in jedem immunhistochemischen Labor angewandt werden kann. Zur Praktikabilität kommt eine gute Reproduzierbarkeit hinzu. Die

Wachstumsfraktionsbestimmung mittels des monoklonalen Antikörpers Ki-67 schließt nahezu die gesamte G1-Phase ein, erfaßt somit alle Proliferationsphasen.

Ein außerordentlicher Nachteil in der Anwendung des Antikörpers Ki-67 war seine fast ausschließliche Verwendbarkeit an frischem Material. Routinemäßig angewandte immunhistologische Fixierungsmaßnahmen in Formaldehyd oder Alkohol überlebten das Antigen in seiner nativen Form nicht (Key 1993). Der 1962 von Saint-Marie geprägte Satz, dass "Antigen-Antikörper-Reaktionen durch konventionelle Fixantien inaktiviert werden", hat die Immunhistochemie an routinemäßig formalinfixiertem und in Paraffin eingebettetem Gewebe für lange Zeit beeinflusst und behindert. Insbesondere durch die Mikrowellenvorbehandlung seit Beginn der 90er Jahre von routinemäßig fixiertem Material ist dieses Dogma widerlegt (Cattoretti et al 1993, Shi et al 1991). Cattoretti et al gelang es 1992, die monoklonalen Antikörper MIB 1-3 gegen rekombinante Epitope des Ki-67-Antigens zu züchten (Cattoretti et al 1992). Diese Antikörper waren echte Ki-67-Äquivalente, wie immunhistochemische Färbungen an frischen Gewebeproben sowie biochemische und molekularbiologische Techniken zeigten (Key et al 1992). Für die Antikörper MIB-1 und MIB-3 konnte die Anwendbarkeit an formalinfixiertem und in Paraffin eingebettetem Biopsiematerial nachgewiesen werden, jedoch ebensogut an frischem, gefrorenem Gewebe (McCormick et al 1993).

Vor der Immunfärbung finden u.U. Dekalzifizierungs- und Depigmentierungstechniken sowie eine anschließende Mikrowelleninkubation statt, die die MIB-1-Reaktion jedoch voll erhalten. Mit Hilfe der neuen Antikörper war es nun möglich, große retrospektive Studien an archiviertem Material durchzuführen (Cattoretti tat dies u.a. an Material eines Paraffinblocks aus dem Jahre 1931). Seit der möglichen Verwendung von MIB-1 an fixiertem Gewebe wurden zahlreiche retrospektive Untersuchungen an archiviertem Material verschiedener Tumoren durchgeführt. Bislang liegen jedoch keine Studien über die Anwendung von MIB-1 an Analkarzinomen vor.

3. MATERIAL UND METHODEN

3.1 UNTERSUCHUNGSGUT

Das Untersuchungsgut zu der vorliegenden, retrospektiven Studie entstammt archiviertem Gewebematerial aus dem Pathologischen Institut Recklinghausen aus den Jahren 1987-1996.

Von allen Fällen maligner Analtumoren aus dem genannten Zeitraum lag ausreichend erhaltenes, routinemäßig formalinfixiertes und in Paraffin eingebettetes Gewebe für die DNA-zytometrischen und immunhistologischen, proliferationsanalytischen Untersuchungen vor. An repräsentativem Material von insgesamt 59 epithelialen analen Neoplasien wurden die DNA-zytometrischen Analysen und die immunhistologischen Bestimmungen der Wachstumsfraktion vorgenommen.

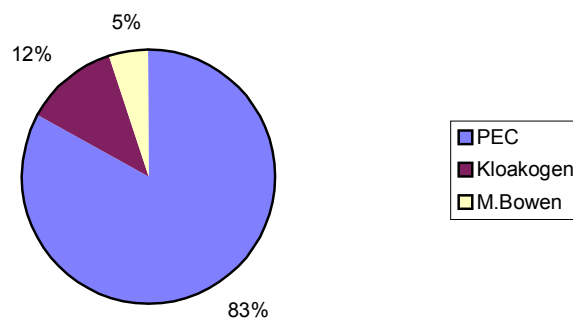
Wegen der nur geringen Anzahl der Fälle von Morbus Bowen und somit nur kasuistischer Beurteilbarkeit, wurden diese am Ende des Kapitels gesondert abgehandelt.

Alle folgenden Angaben und Aussagen beziehen sich also ausschließlich auf die Plattenepithelkarzinome und kloakogenen Karzinome.

Bei den verbleibenden Fällen handelt es sich um 49 Plattenepithelkarzinome und sieben kloakogene Karzinome.

Abb.1

Histologische
Einteilung



Zur Beschreibung des vorliegenden Untersuchungsgutes wurden die konventionellen klinischen und pathologischen Parameter Alter, Geschlecht, histologischer Malignitätsgrad, histologische Typenzugehörigkeit, Ausbreitungsstadium, Lokalisation, Rezidive nach Behandlung, Überleben und OP-Verfahren herangezogen.

3.1.1 ALTER UND GESCHLECHT

Die folgenden Aufstellungen lassen die Fälle von Morbus Bowen unberücksichtigt, sie werden am Ende des Kapitels gesondert behandelt.

Das mittlere Alter im Krankengut betrug 59,5 Jahre mit einer Streuung von 26-84 Jahren. Bezüglich des Geschlechts bestand eine Verteilung von 1 : 2,1 zugunsten der weiblichen Patienten.

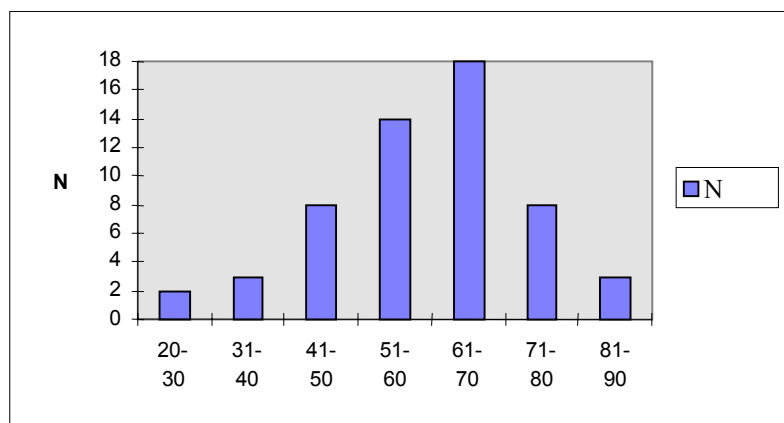
Tab 3. Alter und Geschlechtsverteilung

Histologie	N	Alter in Jahren	Geschlecht
PEC	49	⊙= 58,8 (26-84)	w= 32 m= 17
Kloakogen	7	⊙= 64,9 (56-82)	w= 6 m= 1

Bei den plattenepithelialen Karzinomen zeigt sich ein Geschlechtsverhältnis von 1: 1,9 mit einer Altersspanne von 26-84 Jahren, wobei das mittlere Alter 58,8 Jahre betrug.

Hingegen fand sich bei den kloakogenen Karzinomen ein deutliches Überwiegen des weiblichen Geschlechtes mit 6: 1. Das mittlere Alter in dieser Patientengruppe lag mit 64,9 Jahren deutlich über dem Durchschnitt aller Analkarzinome.

Abb. 2:
Altersverteilung



Das untersuchte Patientengut zeigte sich hinsichtlich der Alters- und Geschlechtsverteilung normverteilt. Für die statistischen Berechnungen wurde eine Unterteilung in drei Altersgruppen vorgenommen:

1. Patienten \leq 50 Jahre
2. Patienten von 51-70 Jahren; typisches Alter für das Auftreten eines Analkarzinoms
3. Patienten $>$ 70 Jahre

3.1.2 TYPING UND HISTOLOGISCHER MALIGNITÄTSGRAD

Die Einteilung des histologischen Malignitätsgrades erfolgte entsprechend der Einteilung von Klotz et al (1967)

Im Untersuchungsgut fand sich in 9 Fällen (16,1 %) ein schlecht differenzierter Tumor (G3), in 35 Fällen (62,5 %) ein mittelgradig differenzierter Tumor und in 12 Fällen (21,4 %) ein gut differenzierter Tumor .

Tab.4 Histologische Typenverteilung und Malignitätsgrad

Grading	N ges	Plattenepithelkarzinome	Kloakogene Karzinome
G1	9	9 (100 %)	0 (0 %)
G2	35	31 (88,5 %)	4 (11,5 %)
G3	12	9 (75 %)	3 (25%)

Gut differenzierte Tumoren waren ausschließlich Plattenepithelkarzinome, bei den mittelgradig differenzierten Tumoren waren 88,5 % Plattenepithelkarzinome und 11,5 % kloakogene Karzinome. Unter den schlecht differenzierten Tumoren fanden sich 25 % kloakogene und 75 % Plattenepithelkarzinome.

3.1.3 LOKALISATION UND TUMORAUSBREITUNGSSTADIUM

Im vorliegenden Material und anhand des klinischen Verlaufes zeigten sich zum Zeitpunkt der Evaluation 39 Tumoren lokalisiert und 14 Tumoren lymphknoten- oder fernmetastasiert.

Hinsichtlich des Ausbreitungsstadiums des Primärtumors fanden sich fünf pT1-Stadien, 23 pT2-Stadien, zwölf pT3- und vier pT4- Stadien. In zwölf Fällen konnte keine Aussage über die korrekte Ausdehnung des Primärtumors getroffen werden, da es sich hierbei um Patienten handelte, die sich einer Nachresektion bei auswärtiger Voroperation unterziehen mußten. Diese Gruppe wurde in der statistischen Auswertung unter dem Begriff „Nachresektion“ gesondert behandelt.

Hinsichtlich des Lymphknotenstatus fanden sich 26 lymphknotennegative Fälle, zehn pN1-Stadien, drei pN2- und ein pN3- Stadium. In 16 Fällen konnte keine Aussage über den Lymphknotenstatus getroffen werden, da es sich ausnahmslos um Lokalexzisionen handelte und nicht um abdomino-perineale Rektumresektionen mit Lymphknotendisektion.

Zum Evaluationszeitpunkt lagen nur sechs Fälle mit nachweisbaren Fernmetastasen vor, in 46 Fällen waren die Patienten fernmetastasennegativ. In vier Fällen konnte anhand des vorliegenden Materials und des klinischen Verlaufes keine eindeutige Aussage über eine Metastasierung getroffen werden.

Die Lokalisation der Tumoren in der Häufigkeit ihres Vorkommens kann aus der Tab. 5 entnommen werden.

Tab. 5 Lokalisation der Analkarzinome

Histologie	Analkanal	Analrand
Plattenepithelkarzinom	40	9
Kloakogenes Karzinom	6	1

3.1.4 REZIDIVE NACH BEHANDLUNG UND ÜBERLEBEN

Zum Zeitpunkt der Evaluation (Juni 1997) waren bereits 13 Patienten an den Folgen der Tumorerkrankung verstorben, ein weiterer Patient an den Folgen eines Zweittumors (Oesophaguskarzinom). Die mittlere Überlebensdauer der am Tumor verstorbenen Patienten betrug 35,5 Monate mit einer Spanne von 3- 105 Monaten. 27 Patienten überlebten den Tumor bis zum Zeitpunkt der Erhebung rezidivfrei. Der durchschnittliche Beobachtungszeitraum lag bei 69,4 Monaten (13-122 Monate). In 14 Fällen konnten keine eindeutigen Daten über den weiteren Verlauf der Krankheitsgeschichte gewonnen werden.

Tab. 6 Verstorbene und Überlebende

Histologie	Verstorbene	Überlebende	Unbekannt
Plattenepithelkarzinom	12 (24,5%)	24 (49%)	13 (26,5%)
Kloakogenes Karzinom	2 (28,5%)	4 (57%)	1 (14,5%)

3.1.5 OPERATIONSVERFAHREN

Zur Therapie der Analkarzinome kamen zwei Verfahren zur Anwendung. Einerseits wurde eine abdomino-perineale Rektumresektion nach Lloyd-Davies durchgeführt zum anderen eine lokale Tumorexstirpation. Ein Analkarzinom wurde als Zufallsbefund bei der histologischen Aufarbeitung einer Analfistelexzision entdeckt. Der Tumor wurde hierbei im Gesunden entfernt, eine weitere Therapie in Form einer Rektumresektion wurde nicht durchgeführt, so dass dieser Fall zur Gruppe der Lokalexzisionen gerechnet wurde. Insgesamt wurden 30 Abdomino-perineale Rektumresektionen und 26 Lokalexzisionen durchgeführt.

3.1.6 FÄLLE VON MORBUS BOWEN

Von den insgesamt 59 untersuchten analen epithelialen Neoplasien im Untersuchungsgut waren drei Fälle nicht invasive Karzinome (Morbus Bowen).

Betroffen waren nur Frauen, das mittlere Alter betrug 57 Jahre (29-77 Jahre). In einem Fall war der Tumor im Analkanal lokalisiert, zwei weitere am Analrand. In allen Fällen wurde eine Lokalexzision durchgeführt. Fernmetastasen traten erwartungsgemäß nicht auf. Über den Verlauf der Erkrankung lagen nur bei einer Patientin Daten vor, die zum Zeitpunkt der Evaluation 51 Monate rezidivfrei war.

3.2 METHODE

3.2.1 DNA-ZYTOMETRIE

Die DNA-Zytometrie erfolgte in folgenden Arbeitsschritten:

Feulgen-Färbung (Gaub et al 1975)

Nach dem Aufziehen des 7 µm dicken Schnittes auf einen Objektträger erfolgte eine Entparaffinierung mittels Xylol und in einer absteigenden Alkoholreihe.

1. 2 min Spülung mit Aqua dest.
2. Hydrolyse in 5N HCL-Lösung bei 22°C über 60 min
3. 2 x 2 min Spülung mit Aqua dest.
4. Färberische Darstellung der nun frei gewordenen Aldehydgruppe an den Desoxyriboseanteilen der DNA mit Schiff'scher Reagenz (Pararosanilin) über 120 min im Dunkeln
5. 3 x 10 min Spülung mit SO₂-Wasser (frisch angesetzt)

6. 3 Min Äthanol 70 %, 3 Min Äthanol 96 %, 3 Min Äthanol 100 %
7. 10 Min Xylol
8. Eindecken mit Eukitt

Die Messungen erfolgten mit dem AHRENS ACAS DNA-Zytometrie-System V 5.02, einem interaktiven Bildanalyse-System, bei dem die Auswahl der zu untersuchenden Zellen vom Untersucher nach morphologischen Kriterien erfolgt.

Die Messung der integrierten optischen Dichte (IOD) der Zellkerne erfolgt interaktiv am Monitor eines mit einem konventionellen Mikroskop gekoppelten PC-basierten Fernsehbildanalyse-Systems. Das Mikroskop ist mit einer TV-Kamera samt passendem Interferenzfilter gekoppelt.

Der erste Schritt der Messung bestand in der Orientierung im HE-Präparat, um die interessierenden Regionen des Schnittpräparates auffindig zu machen und das Vorhandensein von Referenzzellen zu überprüfen. Anschließend erfolgte die Kalibrierung am Feulgenchnitt mit jeweils 30 Lymphozyten oder anderen sicher diploiden somatischen Zellen aus der unmittelbaren Tumornähe im Feulgenpräparat.

Nach abgeschlossener Kalibrierung wurden mindestens 100 typische Tumorzellkerne nach Zufallskriterien gemessen, indem nach vorheriger Durchfokussierung die jeweilige Zelle mit Hilfe der „Computer-Maus“ angeklickt und dadurch automatisch gemessen wurde. Die regional unterschiedliche, unspezifische Hintergrundabsorption, für die hauptsächlich das meist schmale Zytoplasma verantwortlich war, wurde bei dem verwendeten Bildanalysegerät automatisch vom Zellkernmesswert subtrahiert. Der für das beschriebene Untersuchungsmaterial charakteristische Glare-Fehler, der aus der innerhalb des Präparates auftretenden Streustrahlung resultiert, wurde durch eine spezifische Glare-Korrektur von 10 % weitgehend ausgeglichen.

Als Resultat der Messung erhielt man die entsprechenden DNA-Verteilungshistogramme und war in der Lage, den DNA-Index der Tumorzellstammlinie zu ermitteln.

3.2.2 EINTEILUNG DER DNA-PLOIDIE

Unter den gegebenen Präparat- und Meßbedingungen wurden alle Analkarzinome mit einem DNA-Index bis 1,1 als diploid bzw. als peridiploid eingeordnet. Davon abweichende DNA-Indizes stuften wir als aneuploid bzw. hyperdiploid ein, wobei wir auf eine Abgrenzung DNA-tetraploider Stammlinien verzichteten. Eine weitere Unterteilung erfolgte in niedrig aneuploide und höher aneuploide/tetraploide Indizes, wobei die Grenze bei einem DNA-Index von 1,4 gezogen wurde, d.h. ein DNA-Index von 1,2 bis 1,4 wurde als niedrig hyperdiploid aneuploid eingestuft, ab 1,5 als höher aneuploid. Hyperdiploide Tumoren mit einem DNA-Index im tetraploiden Bereich oder höher, wurden ebenfalls nur als aneuploid klassifiziert, da in diesem Bereich die Meßgenauigkeit abnimmt und DNA-tetraploide Stammlinien nicht mehr mit der notwendigen Sicherheit von nahe tetraploiden Stammlinien unterschieden werden können.

3.2.3 MIB1-IMMUNHISTOLOGIE

Ausgangsmaterial für die im folgenden geschilderte immunhistologische Reaktion war das in der Routinediagnostik verwendete formalinfixierte, in Paraffin eingebettete archivierte Tumormaterial.

Unter Verwendung des monoklonalen Antikörpers MIB-1 gegen das Proliferationsantigen Ki-67 wurde immunhistologisch die Wachstumsfraktion des jeweiligen Tumors ermittelt.

Der monoklonale Antikörper MIB-1 weist das nukleäre, zellproliferationsassoziierte Antigen Ki-67 nach, das in allen aktiven Phasen des Zellzyklus exprimiert wird, und stellt somit die Wachstumsfraktion weitestgehend dar (Gerdes et al 1984). Der Nachweis an routinemäßig hergestellten Paraffinschnitten ist nach Entparaffinierung möglich, und die Reaktivität des Antikörpers bleibt auch nach Dekalzifizierungs- und Depigmentierungstechniken bei anschließender Inkubation in einem Mikrowellengerät voll erhalten.

MIB-1 zeigt in proliferierenden Zellen eine starke Kernfärbung.

Der Antikörper wurde bezogen von der Firma „Dianova“ aus Hamburg.

Die routinemäßig hergestellten Paraffinschnitte wurden auf Objektträger, die mit 3-Aminopropylethoxy-Silan (=APES) beschichtet waren, aufgezogen und über Nacht bei 37°C getrocknet.

Entparaffinierung

Die Rehydrierung erfolgte mittels absteigender Alkoholreihe (2 x Xylol für je zehn Minuten, dann 2 x 100 %iges, 1 x 90 %iges, 1 x 70 %iges Ethanol für je vier Minuten). Anschließend Spülung mit Aqua dest.

Trypsinierung

Zur enzymatischen Andauung wurde ein Trypsin-Ansatz benutzt (0,1 g Trypsin und 0,1 g CaCl₂ gelöst in 100 ml Aqua dest., eingestellt auf einen pH bei 7,8 mittels 0,1 N NaOH).

Die enzymatische Andauung erfolgte zur Erleichterung des Ablaufes der MIB-1-Reaktion: Die Überfixation des Gewebes in Formalin verursacht die Bildung von übermäßigen Aldehydvernetzungen, die die Gewebsantigene maskieren und deren Nachweis mit dem Primär-AK verhindern. Durch die geschilderte enzymatische Andauung wurden die Antigenstellen demaskiert.

Mikrowelleninkubation

Die Schnitte wurden in einem Plastikgefäß mit Citratpuffer, pH 6,0 inkubiert (eingestellt mit Citronensäure) und anschließend erfolgte eine zwanzigminütige Mikrowelleninkubation bei 750 Watt. (cave: Die Objektträger dürfen nicht trockenfallen.). Dann wurden die Präparate auf Zimmertemperatur abgekühlt und die Schnitte mit TBS-Puffer für zwei Minuten gespült.

Immunreaktion

MIB-1-Reaktion nach der **APAAP-Methode** (Cordell et al 1984)

1. Primärantikörper MIB-1: für 30 min Beschichtung mit dem AK, zuvor verdünnt mit RPMI im Verhältnis 1.20
2. 2-3mal waschen mit Tris-Spülpuffer
3. Für 30 min Einwirkung von RaM-IgG (Rabbit anti mouse = Brücken-AK), zuvor verdünnt mit RPMI im Verhältnis 1.30
4. 2-3mal waschen mit Tris-Spülpuffer
5. Für 30 min Einwirkung von APAAP, zuvor verdünnt mit RPMI im Verhältnis 1.100
6. 2mal waschen und parallel Färbelösung herstellen
7. Chromogen-Substratlösung (hier. Neufuchsin-Lösung) für 25 min auf den Schüttler
8. Spülen mit Leitungswasser
9. Kerngegenfärbung mit Hämatoxylin nach MAYER und anschließend mit KAISERS Glyzerin-Gelatine eindecken

Zwecks kontrastreicherer Markierung wurde Neufuchsin als Farbsubstanz verwendet, das in Anwesenheit von alkalischer Phosphatase eine Rotfärbung ergibt. Bei Vorhandensein des Proliferationsantigens erfolgt somit ein Farbumschlag nach Rot; nicht markierte Zellen färben sich durch die Kerngegenfärbung mittels Hämatoxylin dagegen bläulich.

3.2.4 BESTIMMUNG DER MIB-1 FRAKTION

Die Analyse von Kern-Immunfärbungen hat das Ziel, die Anzahl (positiv) gefärbter Kerne relativ zur Gesamtzahl der Kerne zu bestimmen. Die Auszählung der immunhistologisch markierten Kerne im Verhältnis zu den nicht markierten Kernen erfolgt durch automatische Detektion mit Hilfe des AHRENS-ZYTOMETRIE-Systems V 5.02, wobei es sich um den gleichen interaktiven Bildanalysesystem-Aufbau handelt wie bei der DNA-Zytometrie, abweichend vom Standardaufbau wurde jedoch eine Farbbildkamera verwendet.

Für eine automatische Detektion der negativen (unmarkierten) Kerne durch das Programm ist eine schwache Gegenfärbung aller Kerne notwendig, die in ihrer Intensität so optimiert wurde, dass sie die spezifische Färbung nur wenig beeinflusste, aber dennoch eine hinreichende Absorption für eine effektive automatische Detektion hat.

An einer repräsentativen Stelle des Tumors erfolgte zunächst die Eichung des Farbtönen der positiven Zellen. Beim Meßvorgang wurden die positiv markierten Kerne über ihren Farbunterschied zu den nur schwach gegengefärbten negativen Kernen weitgehend automatisch vom Programm detektiert. Anschließend wurden Korrekturen vorgenommen; zu schwach gefärbte positive oder negative Kerne wurden markiert, Artefakte gelöscht, nicht zum Tumor gehörende Zellen wurden nicht gewertet. Bei jedem Tumor wurden mindestens 2000 Kerne gemessen, zusätzlich noch deren Flächenanteil in Prozent, der jedoch weitgehend mit der Anzahl der positiv markierten Zellen in Prozent korreliert. Beide Resultate wurden gespeichert, zur Auswertung wurde jedoch nur die Anzahl der positiven Kerne verwendet.

In der statistischen Auswertung wurde zum einen direkt mit den errechneten Prozentanteilen der Wachstumsfraktion gearbeitet, zum anderen wurde eine Einteilung in Proliferationsgrade vorgenommen:

1. Prozentsätze bis einschließlich 19 % MIB-1 positive Zellen bezeichnen dabei einen schwach proliferierenden Proliferationsgrad (PG 1).
2. Werte zwischen 20 % und 39 % wurden einem mittelgradig proliferierendem Gewebe zugeordnet (PG 2), und
3. bei Proliferationsraten ab 40 % wurde von einem stark proliferierendem Tumor ausgegangen (PG 3).

3.2.5 STATISTISCHE AUSWERTUNG

In der vorliegenden Untersuchung fanden zur statistischen Auswertung des erhobenen Datenmaterials zum einen der Wilcoxon-Test für den Vergleich zweier unabhängiger Stichproben und zum anderen der Chi-Quadrat-Test zur Abhängigkeitsprüfung zweier unabhängiger Stichproben mit qualitativen Werten in zwei Ausprägungen Anwendung.

Da die Parameter Überlebensdauer, DNA-Index und Proliferationsrate der untersuchten Personen nicht normverteilt waren, wurde hinsichtlich dieser Größen bei jeweils großer Fallzahl zum Vergleich zweier Populationen der Wilcoxon-Test für ungepaarte Meßwerte durchgeführt.

Der klassische Chi-Quadrat-Test für eine Vierfeldertafel wurde zum Vergleich von Häufigkeiten verwendet, wenn zwei Versuchseinheiten nach zwei alternativ geteilten Merkmalen unterteilt werden konnten, wobei der Freiheitsgrad stets eins war. Irrtumswahrscheinlichkeiten geringer als $P=0,05$ wurden als signifikant angesehen ($P<0,05$ = schwach signifikant, $P<0,01$ = signifikant, $P<0,001$ = hoch signifikant) (Immich 1974).

Die Berechnungen wurden rechnergestützt mit dem Statistikprogramm Statgraphics V 3.1 unter Zuhilfenahme von Microsoft Excel-Tabellen durchgeführt.

Der Zusammenhang zwischen Prüfgröße und Irrtumswahrscheinlichkeit beider Testverfahren kann der Tab.7 entnommen werden.

Tab. 7: Prüfgrößen (K) und Irrtumswahrscheinlichkeit (P)

Wilcoxon -Test		Chi-Quadrat-Test	
K	P	K	P
1,96	0,05	3,841	0,05 (schwach signifikant)
2,58	0,01	5,024	0,025
3,29	0,001	6,635	0,01 (signifikant)
		7,879	0,005
		10,828	0,001 (hoch signifikant)
		12,116	0,0005

4. ERGEBNISSE

Im nachfolgenden Kapitel erfolgt die Darstellung der Untersuchungsergebnisse, wobei in dem ersten Teil eine Analyse der konventionellen Faktoren in Bezug auf die Prognoseparameter durchgeführt wird. Im zweiten Teil wird der Zusammenhang zwischen der DNA-Ploidie, der Wachstumsfraktion sowie den Prognosekriterien analysiert.

4.1 KORRELATION ZWISCHEN DEN KONVENTIONELLEN FAKTOREN

4.1.1 LOKALISATION / HISTOLOGISCHER TYP

Die Verteilung der histologischen Typen hinsichtlich ihrer Lokalisation zeigte sich wie folgt: Unter den 46 Analkanalkarzinomen fanden sich sechs kloakogene Karzinome, was einem Anteil von 13 % entspricht. Bei den Analrandkarzinomen war einer von zehn Tumoren (10 %) ein kloakogenes Karzinom. Damit bestehen in beiden Gruppen keine wesentlichen Unterschiede.

4.1.2 LOKALISATION / ALTER

Die Analkarzinome wurden hinsichtlich ihrer Lokalisation in die Analkanal- und Analrandtumoren unterteilt. Patienten mit einem Analkanalkarzinom waren im Mittel 59,5 Jahre alt, Patienten mit einem Analrandkarzinom 59,6 Jahre, so dass diesbezüglich kein Unterschied vorliegt.

4.1.3 LOKALISATION / GESCHLECHT

Von den 46 Fällen des Analkarzinoms, die im Analkanal lokalisiert waren, waren 13 Männer (28%) und 33 Frauen (72%) betroffen. Hingegen war bei den Analrandkarzinomen das Ge-

schlechtsverhältnis mit 5:5 ausgeglichen. Im Chi-Quadrat-Test läßt sich ein P-Wert von 0,1822 errechnen. Es findet sich somit keine Signifikanz.

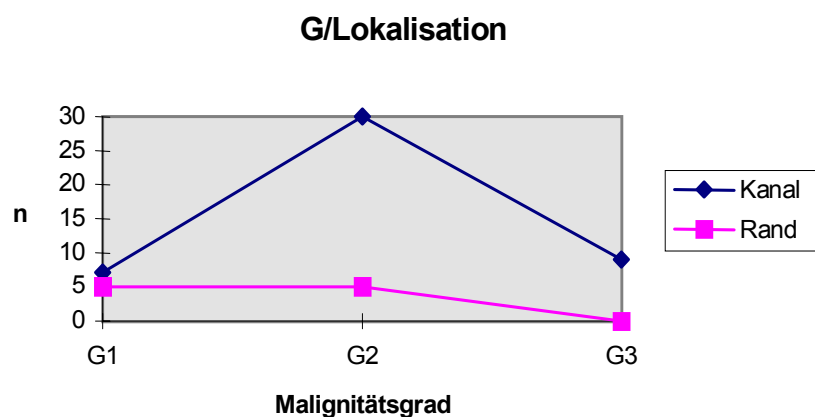
4.1.4 LOKALISATION / GRADING

Eine Betrachtung des histologischen Gradings in Abhängigkeit von der Lokalisation zeigt bei den Analkanalkarzinomen ein erhebliches Überwiegen der mittelgradig differenzierten Karzinome, die mit 62,2 % (n=30) die mit Abstand größte Gruppe darstellten. Gefolgt wurden sie von den schlecht differenzierten Tumoren mit 19,6 % (n=9) und den gut differenzierten Tumoren mit 15,2% (n=7). Bei den Analrandkarzinomen fand sich ein ausgeglichenes Verhältnis zwischen den gut und den mittelgradig differenzierten Karzinomen mit jeweils fünf Fällen, schlecht differenzierte Analrandkarzinome traten nicht auf.

Unter Anwendung des Chi-Quadrat-Testes fand sich ein P-Wert von 0,0318. Analkanalkarzinome zeigten somit einen signifikant höheren histologischen Malignitätsgrad.

Abb.3

Lokalisation /
Grading



4.1.5 LOKALISATION / TUMORSTADIUM

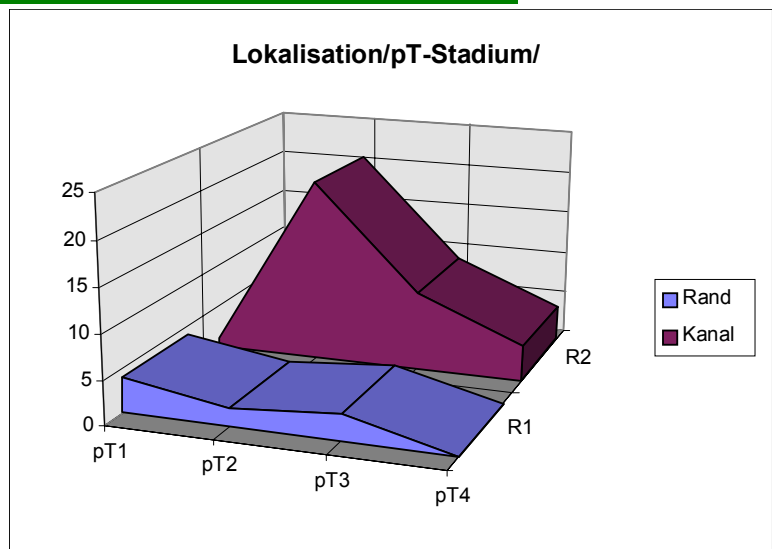
Unter den pT1-Tumoren war ein Karzinom (20 %) im Analkanal lokalisiert, vier (80 %) am Analrand. Bei den pT2-Tumoren waren 21 (91 %) Analkanalkarzinome und zwei (9 %) lagen am Analrand. Die pT3-Tumoren waren zu 75 % (9 Fälle) im Analkanal lokalisiert und zu 25 % (3 Fälle) am Analrand. Die vier pT4-Tumoren waren ausnahmslos Analkanalkarzinome. Insgesamt waren die Analkanaltumoren somit tendenziell weiter fortgeschritten als die Analrandkarzinome.

Tab.8: Lokalisation / pT-Stadium

	pT1	pT2	pT3	pT4
Analrand	4 (80%)	2 (9%)	3 (25%)	0
Analkanal	1 (20%)	21 (91%)	9 (75%)	4 (100%)

Abb.4

Lokalisation / pT-Stadium



Die Untersuchung der Häufigkeit von Lymphknotenmetastasen in Abhängigkeit von der Lokalisation des Primärtumors erbrachte folgende Resultate: Unter den lymphknotennegativen Fällen waren 21 im Analkanal lokalisiert und fünf am Analrand (19,2%), bei den lymphknotenpositiven Fällen waren 12 Tumoren im Analkanal gelegen, zwei am Analrand (14,3%). Somit besteht eine annähernde Gleichverteilung.

Die Abhängigkeit der Entwicklung von Fernmetastasen in Abhängigkeit von der Lokalisation des Primärtumors zeigte sich wie folgt: Sämtliche Tumoren mit Entwicklung von Fernmetastasen waren im Analkanal gelegen, jedoch keiner am Analrand.

Mit einem P-Wert von 0,2038 ergaben sich hieraus jedoch keine relevanten Unterschiede.

4.1.6 LOKALISATION / REZIDIV

Bei den Patienten mit einem Analkanalkarzinom blieben 26 Patienten rezidivfrei, elf Patienten erlitten ein Rezidiv (29,7%), bei den Analrandkarzinomen erlitten drei von fünf Personen ein Rezidiv (60%)

Bei der statistischen Berechnung fand sich im Chi-Quadrat-Test ein P-Wert von 0,1778 und somit keine eindeutige Signifikanz.

4.1.7 HISTOLOGISCHER TYP / ALTER

Untersucht man die Abhängigkeit von Alter und histologischen Typ, so zeigt sich, dass Patienten mit einem Plattenepithelkarzinom durchschnittlich 58,8 Jahre alt sind, die Patienten mit einem kloakogenen Karzinom dagegen 64,9 Jahre. Weiterhin fällt auf, dass sämtliche Patienten unter 50 Jahren (n=12) in der Gruppe der Plattenepithelkarzinome sind, der jüngste Patient mit einem kloakogenen Karzinom war zum Zeitpunkt der Operation 56 Jahre.

Trotz dieser augenscheinlichen Unterschiede zeigt sich beim Vergleich der Mediane beider Gruppen nur ein P-Wert von 0.18 und liegt somit deutlich außerhalb statistischer Signifikanzen.

4.1.8 HISTOLOGISCHER TYP / GESCHLECHT

Im gesamten Untersuchungsgut besteht ein Geschlechtsverhältnis von 1:2,1 zugunsten der weiblichen Patienten. Unter Aufschlüsselung der verschiedenen Histologien, zeigt sich bei den plattenepithelialen Karzinomen noch eine Verteilung von 1:1,88 zugunsten der Frauen, bei den

kloakogenen Karzinomen findet sich jedoch ein Verhältnis von 1:6.

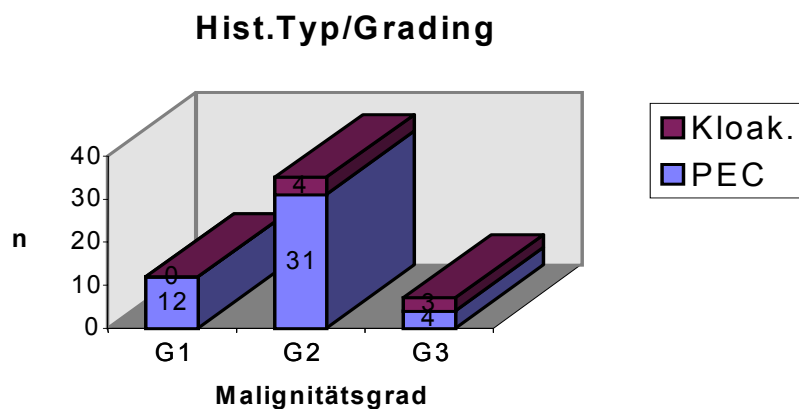
Wohl aufgrund der geringen Fallzahl an kloakogenen Karzinomen (7 mal), ergab der Chi-Quadrat-Test keine statistisch haltbaren Differenzen.

4.1.9 HISTOLOGISCHER TYP / GRADING

Eine Untersuchung des Malignitätsgrades hinsichtlich der histologischen Typeneinteilung zeigte, dass die gut differenzierten Analkarzinome (n=12) ausnahmslos Plattenepithelkarzinome waren. Bei den mittelgradig differenzierten Tumoren (n=35) fanden sich 4 kloakogene Karzinome (11,4%). Unter den schlecht differenzierten Tumoren (n=9) lag der Anteil der kloakogenen Karzinome bei 33%.

Der Chi-Quadrat-Test zeigt mit einem P-Wert von 0,0308 beim Vergleich der G1 und der G3-Fraktion einen schwach signifikanten Unterschied. Die Berechnung für die G2/G3 bzw. G1/G2-Parteien zeigen mit einem P-Wert von 0,109 bzw. 0,2208 keinen signifikanten Unterschied

Abb.5
Hist. Typ/
Grading



4.1.10 HISTOLOGISCHER TYP / TUMORSTADIUM

Betrachtet man die histologische Typeneinteilung hinsichtlich des Tumorausbreitungstadiums, so finden sich bei den pT1-Tumoren 80 % (n=4) Plattenepithelkarzinome und 20 % (n=1) kloakogene Karzinome. Bei den pT2-Tumoren 91 % (n=21) Plattenepithelkarzinome und entsprechend 9 % (n=2) kloakogene Karzinome. Die pT3-Tumoren verteilen sich wie folgt: 91,6 % (n=11) Plattenepithelkarzinome und 8,4 % (n=1) kloakogene Karzinome. Unter den vier pT4-Tumoren gab es nur Plattenepithelkarzinome. Wie oben beschrieben, hatten wir die Sondergruppe „Nachresektate“ eingeführt, hier fanden sich 75 % (n=9) Plattenepithelkarzinome und 25 % (n=3) kloakogene Karzinome. Aufgrund der kleinen Fallzahlen der kloakogenen Karzinome konnten keine signifikanten Unterschiede erarbeitet werden.

Tab. 9: Histol.Typ / Tumorstadium

	pT1	pT2	pT3	pT4	Nachresektate
PEC	4	21	11	4	9
Kloakogen	1	2	1	0	3

Lymphknotenmetastasen traten nur unter den plattenepithelialen Karzinomen auf. Bei 14 Patienten mit Lymphknotenmetastasen (zehnmal pN1, dreimal pN2 und einmal pN3) fand sich kein Fall eines kloakogenen Karzinoms.

Obwohl es sich hierbei um eine offensichtliche Differenz handelte, fand sich im Chi-Quadrat-Test nur ein P-Wert von 0,1219, sodass es sich statistisch gesehen um keinen signifikanten Unterschied handelt.

Unter den 46 Patienten ohne nachweisbare Fernmetastasierung fanden sich 40 Fälle (87%) eines plattenepithelialen Karzinoms und 6 Fälle (13%) von kloakogenen Karzinomen. Unter den sechs Fällen mit gesicherten Fernmetastasen waren fünf Plattenepithelkarzinome (83%) und entsprechend ein Fall (17%) eines kloakogenen Karzinoms. Damit zeigt sich eine annähernde Gleichverteilung.

4.1.11 HISTOLOGISCHER TYP / REZIDIV

Der histologische Tumortyp scheint auf die Häufigkeit einer Rezidiventwicklung keinen Einfluß zu haben, da sowohl unter den Patienten, die ein Rezidiv entwickelten (n=14), als auch unter denen, die rezidivfrei blieben (n=28) der Anteil der kloakogenen Karzinome mit jeweils 14 % gleich war.

4.1.12 ALTER / GESCHLECHT

Das Altersmittel der an einem Analkarzinom erkrankten Personen betrug 59,5 Jahre. Das durchschnittliche Alter der erkrankten Frauen lag bei 62,0 Jahren, das mittlere Alter unter den männlichen Patienten bei 54,3 Jahren. Wenn man die Alters- und Geschlechtsverteilung der untersuchten Patienten in Beziehung setzt, so erbringt der Wilcoxon-Test mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1,7 % (P=0,017) eine schwache Signifikanz. Somit läßt sich auch statistisch eine eindeutige Altersdifferenz innerhalb der beiden Geschlechter erkennen.

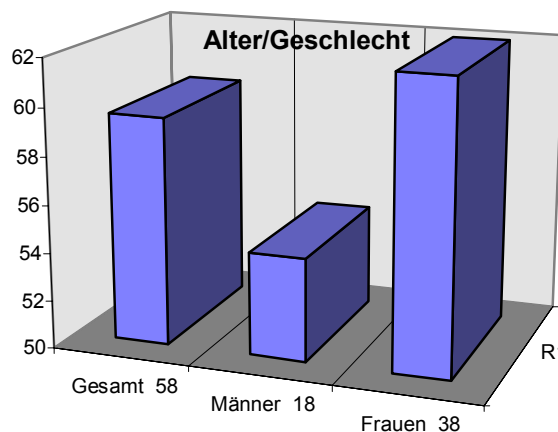


Abb. 6
Alter/Geschlecht

4.1.13 ALTER / GRADING

Die an einem gut differenzierten Analkarzinom erkrankten Patienten waren im Durchschnitt 55,4 Jahre alt. Mit zunehmender Entdifferenzierung stieg auch das mittlere Alter der erkrankten

Personen. So zeigten die Patienten mit einem mittelgradig differenzierten Tumor ein Durchschnittsalter von 60,1 Jahren und solche mit einem schlecht differenziertem Tumor ein mittleres Alter von 62,8 Jahren. Im Wilcoxon-Test zeigt sich jedoch weder im Vergleich der G1/G2- noch der G1/G3-Gruppierungen eine statistische Signifikanz.

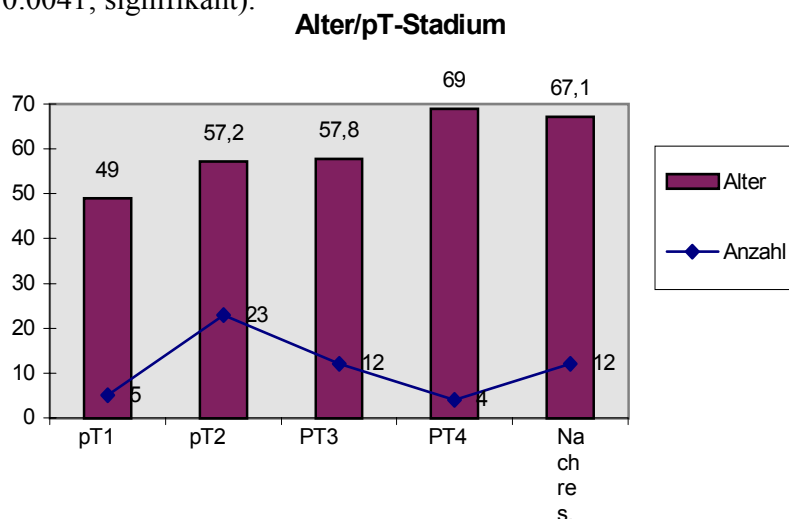
4.1.14 ALTER / TUMORSTADIUM

Hinsichtlich der Betrachtung des Alters in Abhängigkeit vom Ausbreitungsstadium des Primärtumors gibt es eine Besonderheit. Die Primärtumoren werden wie üblich in die Stadien pT1-pT4 eingeteilt, jedoch gab es, wie oben beschrieben, eine Gruppe von 12 Patienten, die sich in der proktologischen Klinik des Prosper-Hospitals Recklinghausen nach einer auswärtigen Voroperation einer Nachresektion unterzogen. Bei dieser Gruppe ist somit eine korrekte Einteilung der Primärtumorgröße nicht sicher zu bewerkstelligen, so dass die Patienten in die Gruppe „Nachresektion“ eingeordnet wurden.

Die Altersverteilung der einzelnen pT-Stadien sieht wie folgt aus: Patienten mit einem pT1-Tumor waren im Durchschnitt 49,0 Jahre alt, diejenigen mit einem pT2- Tumor 57,2 Jahre, mit einem pT3- Tumor 57,8 Jahre. Das durchschnittliche Alter in der pT4- Gruppe lag bei 69,0 Jahren. Gesondert berechnet wurde die Gruppe der „Nachresektate“, hier lag das mittlere Alter bei 67,1 Jahren.

In der statistischen Auswertung konnten signifikante Unterschiede ausgemacht werden einerseits zwischen der Gruppe der Patienten mit einem pT1-Tumor und den Patienten, die einen pT4-Tumor hatten (P-Wert 0.024; schwach signifikant) , als auch zwischen pT1-Tumoren und der Gruppe „Nachresektate“ (P-Wert 0.0041; signifikant).

Abb.7
Alter/pT-Stadium



Das Durchschnittsalter der Personen, die einen negativen Lymphknotenbefund hatten, betrug 58,5 Jahre. Die Patienten mit einem positiven Lymphknotenbefall waren mit 56,9 Jahren nur unwesentlich jünger. Unterteilte man jedoch die Lymphknotenstadien in diejenigen mit einem pN1-Stadium, und andererseits die mit einem pN2 oder pN3-Stadium, so zeigte sich, dass die Patienten mit einem pN1-Stadium durchschnittlich 59,8 Jahre alt sind, die mit einem pN2 oder pN3-Stadium jedoch im Mittel nur 49,75 Jahre. Statistisch läßt sich jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen ermitteln.

Das mittlere Alter der fernmetastasennegativen Patienten und derjenigen, die eine Fernmetastasierung erlitten hatten, unterschied sich mit 59,2 Jahren und 62,2 Jahren nicht wesentlich.

4.1.15 ALTER / REZIDIV

Aufgrund der in bestimmten Fällen nicht möglichen vollständigen Datenerhebung bezüglich des Verlaufes der Tumorerkrankung, reduziert sich die Anzahl der Patienten mit vollständigen Daten zum Rezidivverlauf auf 42 Fälle. Die nachfolgenden Berechnungen mußten also mit kleineren Fallzahlen durchgeführt werden. So liegt der Altersdurchschnitt der Patienten mit einem Rezidiv ihrer Tumorerkrankung mit durchschnittlich 64,1 Jahren deutlich über dem der Patienten, die bis zum Zeitpunkt der Datenerhebung rezidivfrei lebten. Hier lag der Durchschnitt bei 57,1 Jahren.

Im Mann-Whitney-Wilcoxon Vergleich der Mediane beider Gruppen läßt sich ein P-Wert von 0,091 berechnen, es liegt somit keine statistische Signifikanz vor.

4.1.16 GESCHLECHT / GRADING

Im Gesamtpatientengut ist eine Geschlechtsverteilung in Übereinstimmung mit der Literatur von 1:2,1 zugunsten der weiblichen Patienten zu beobachten. Betrachtet man die Geschlechtsverteilung unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Malignitätsgrade, so zeigt sich bei den gut differenzierten Tumoren ein ausgeglichenes Geschlechtsverhältnis von 1:1. Bei den mittelgradig differenzierten Tumoren kommt es zu einem deutlichen Überwiegen der

weiblichen Patienten (1:2,9). Bei den schlecht differenzierten Tumoren findet sich ein Geschlechtsverhältnis von 1:2. Statistische Signifikanzen ergeben sich hieraus jedoch nicht.

4.1.17 GESCHLECHT /TUMORSTADIUM

Die getrennte Betrachtung des pT-Stadiums nach dem Geschlecht ergab bei einem pT1-Stadium einen Anteil von 60% Frauen und 40 % Männern, bei einem pT2-Stadium einen von 61% Frauen und 39% Männern. Patienten mit einem pT3-Stadium waren zu 67% Frauen und zu 33% Männer. An einem pT4-Stadium litten nur Frauen. Gesondert berücksichtigt wurde, wie oben beschrieben die Gruppe „Nachresektate“. Hier überwogen die Frauen im Verhältnis 1:3.

Vergleiche aller Gruppen untereinander durch den Chi-Quadrat-Test und Fisher`s exakten Test konnten jedoch keinen eindeutigen Nachweis erbringen für höhere pT-Stadien bei Frauen im Vergleich zu Männern. Das alleinige Auftreten der pT4-Stadien unter den Frauen unterliegt somit erwartungsgemäß der zufälligen Schwankung der Daten.

Unter den lymphknotennegativen Analkarzinompatienten bestand ein Geschlechtsverhältnis von 1 : 2,25. Unter den Patienten, die eine Lymphknotenmetastasierung erlitten, lag das Geschlechtsverhältnis nur noch 1 : 1,3. Auf eine weitere Aufschlüsselung der pN-Stadien wurde in Anbetracht der geringen Fallzahlen von pN2 und pN3-Stadien verzichtet.

Die statistische Auswertung zeigt im Chi-Quadrat-Test mit einem P-Wert von 0,44 bzw. 0,6767 mit Yates-Korrektur jedoch keinen signifikanten Unterschied.

In der Gruppe der Patienten ohne erkennbare Fernmetastasierung lag der Anteil der Männer bei 32% (n=15) und derjenige der Frauen bei 68% (n=31). In der Gruppe der Patienten, die eine Fernmetastasierung erlitten, lag das Geschlechtsverhältnis bei 33% Männern (n=2) und 67% (n=4) Frauen, somit bestand annähernd eine Gleichverteilung.

4.1.18 GESCHLECHT / REZIDIV

Von 14 an einem Rezidiv erkrankten Patienten waren 8 Frauen (57%) und 6 Männer (43%), also ein Geschlechtsverhältnis von 1:1,33. Unter den Patienten ohne Rezidiventwicklung fanden sich 7 Männer (25%) und 21 Frauen (75%), hiermit ein Geschlechtsverhältnis von 1:3. Im Chi-Quadrat-Test fand sich erwartungsgemäß mit einem P-Wert von 0,2380 kein statistisch signifikanter Unterschied.

4.1.19 GRADING / TUMORSTADIUM

Von den 56 untersuchten Analkarzinomen entfielen fünf Fälle auf das Stadium pT1. Hierunter fanden sich ein gut differenzierter und vier mittelgradig differenzierte Tumoren, schlecht differenzierte Karzinome fanden sich nicht. Mit 23 Fällen war die Gruppe der pT2-Stadien die umfangreichste. Hier fanden sich fünf gut differenzierte, 13 mittelgradig und fünf schlecht differenzierte Karzinome. Im Untersuchungsgut traten 13 Fälle eines pT3-Stadiums auf. Gut differenziert waren drei, mittelgradig differenziert sieben und schlecht differenziert zwei Tumoren. Unter den vier pT4-Stadien waren alle mittelgradig differenziert. In der Gruppe „Nachresektat“ zeigten sich drei gut, sieben mittelgradig und zwei schlecht differenziert. Eine Korrelation zwischen dem histologischen Malignitätsgrad und dem pT-Stadium lag nicht vor.

Im Untersuchungsgut konnten 23 Fälle mit tumorfreien Lymphknoten festgestellt werden. Auf das Grading G1 entfielen 23% (6 Fälle), G2 69% (18 Fälle) und G3 8% (2 Fälle). Bei den lymphknotenpositiven Fällen, insgesamt 14, zeigten 21,5% (3 Fälle) eine gute Differenzierung, 57% (8 Fälle) eine mittelgradige Differenzierung und 21,5% (3 Fälle) eine schlechte Differenzierung. Eine signifikante Abhängigkeit des Nodalstatus vom histologischen Malignitätsgrad besteht nicht (P=0,4518).

Zum Zeitpunkt der Evaluation waren 46 Patienten ohne erkennbare Fernmetastasen. Im Hinblick auf den Malignitätsgrad waren elf Fälle (24%) gut differenzierte Karzinome, 30 Fälle (65%) mittelgradig differenziert, und fünf Fälle (11%) entfielen auf ein G3. Gesicherte Fernmetastasen

konnten in sechs Fällen festgestellt werden. Die Verteilung war wie folgt: 17% (1 Fall) G1, 50% (3 Fälle) G2 und 33% (2 Fälle) G3. Unter Berücksichtigung der zu geringen Fallzahlen bei den gesicherten Metastasen wurde auf eine statistische Berechnung verzichtet.

4.1.20 GRADING / REZIDIV

Die Untersuchung hinsichtlich der Rezidiventwicklung in Abhängigkeit vom histologischen Grading zeigte folgende Verteilung: Achtundzwanzig Patienten waren ohne erkennbares Rezidiv. Auf ein G1-Stadium entfielen fünf Fälle (18%), auf ein G2-Stadium 19 Fälle (68%) und auf ein G3-Stadium vier Fälle (14%). Bei den Patienten mit einem gesicherten Rezidiv zeigte sich folgendes Bild: Das G1-Stadium war dreimal vertreten (21%), G2 siebenmal (50%) und G3 viermal (29%). Nach dem Chi-Quadrat-Test war das Auftreten von Rezidiven unabhängig vom histologischen Malignitätsgrad (P-Wert G1/G3 : 0,6143, G2/G3 : 0,4623) .

4.1.21 pT-STADIUM / pN-STADIUM

Untersucht man die Entwicklung von Lymphknotenmetastasen in Abhängigkeit von der Ausdehnung des Primärtumors, so finden sich unter den pT1-Tumoren keine nachweisbaren Lymphknotenmetastasen. Bereits bei den pT2-Tumoren finden sich acht Fälle von Lymphknotenbefall gegenüber zehn lymphknotennegativen Fällen, was einem Prozentsatz von 45,5 entspricht. Bei den pT3-Tumoren beträgt der Prozentsatz 34 % (vier von zwölf Fällen), bei den pT4-Tumoren ist jeder zweite lymphknotenmetastasiert.

In der statistischen Auswertung unter Zuhilfenahme des Chi-Quadrat-Testes findet sich beim Vergleich der einzelnen pT-Stadien untereinander kein signifikanter Unterschied.

Tab 10: pT-Stadium / pN-Stadium

	pT1	pT2	pT3	pT4
pN0	2	10	8	2
pN+	0	8	4	2

4.1.22 pT-STADIUM / pM-STADIUM

Fernmetastasen in Abhängigkeit von der Ausdehnung des Primärtumors traten bei pT1-Tumoren nicht auf. Bei den pT2-Tumoren fanden sich in 14,3 % (n=3) gesicherte Fernmetastasen, unter den pT3-Tumoren 9 % (n=1) und unter den pT4-Tumoren 33,3 % (n=3).

Der Chi-Quadrat-Test erbrachte folgende P-Wert: pT1/pT2: 0,3689; pT1/pT3: 0,4862; pT1/pT4: 0,1675; pT2/pT3: 0,6730; pT2/pT4 0,4076; pT3/pT4: 0,2875. Somit finden sich keine statistisch signifikanten Unterschiede, was nicht zuletzt wohl an der geringen Patientenzahl mit Fernmetastasen liegen mag.

4.1.23 pT-STADIUM / REZIDIV

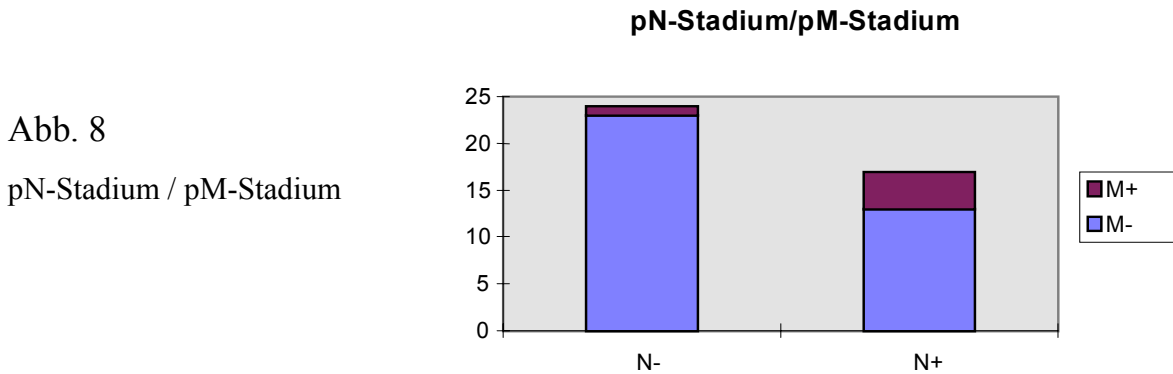
In der Gruppe der pT1-Tumoren fand sich kein gesichertes Rezidiv, bei den pT2-Tumoren traten jedoch in sieben von 14 Fällen (50%) ein Rezidiv auf. In der Gruppe der pT3-Tumoren traten in sieben Fällen drei Rezidive auf (43%), bei den pT4-Tumoren fanden sich in zwei von drei Fällen Rezidive (66%).

Wendet man den Chi-Quadrat-Test an, so sind keine statistisch signifikanten Unterschiede vorhanden.

4.1.24 pN-STADIUM / pM-STADIUM

Unter den Patienten, die in der histologischen Aufarbeitung der Resektionspräparate keine tumorbefallenen Lymphknoten hatten, trat in einem von 23 Fällen eine gesicherte Fernmetastase auf (4,3%). Bei Patienten, die einen positiven Lymphknotenstatus hatten, fanden sich hingegen in vier von dreizehn Fällen gesicherte Fernmetastasen (31%).

Im Chi-Quadrat-Test findet sich mit einem P-Wert von 0,0277 ein schwach signifikanter Unterschied. Somit sind Patienten, die eine Lymphknotenmetastasierung erlitten haben auch signifikant mehr mit Fernmetastasen belastet.



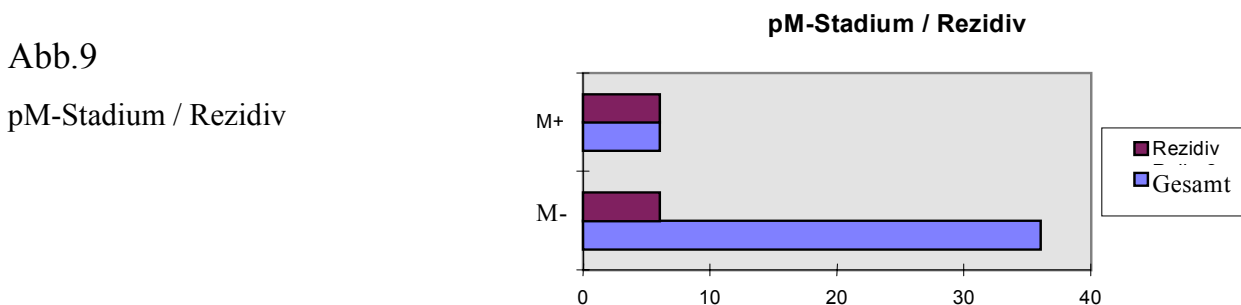
4.1.25 pN-STADIUM / REZIDIV

Patienten mit einem lymphknotennegativen Status zeigten in fünf von 19 Fällen eine Rezidiventwicklung (26%), bei den lymphknotenpositiven Fällen waren es sieben von zwölf Fällen (58%).

Mit einem P-Wert von 0,0746 verfehlte die Berechnung im Chi-Quadrat-Test nur knapp die Signifikanzgrenze.

4.1.26 pM-STADIUM / REZIDIV

Von den 34 Fällen ohne nachweisbare Fernmetastasen erlitten sechs Patienten ein lokales Rezidiv (18%), in allen sechs Fällen von nachweisbaren Fernmetastasen lag auch ein lokales Rezidiv vor. Im Chi-Quadrat-Test findet sich ein P-Wert von 0,0003 (unter Anwendung der Yates-Korrektur für kleine Fallzahlen) und ist somit hoch signifikant.



4.1.27 OP-VERFAHREN / REZIDIV

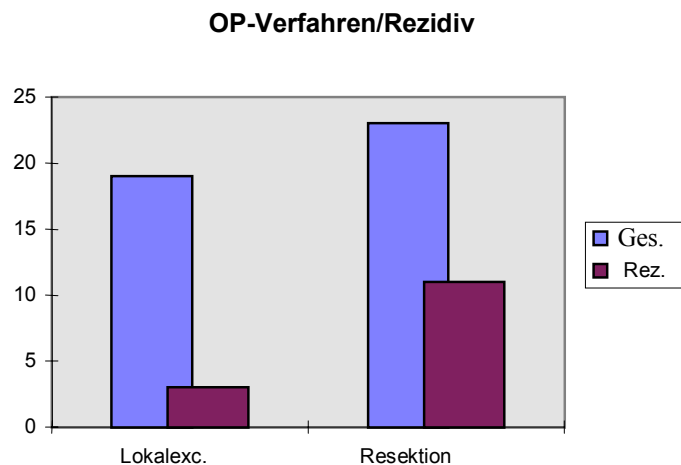
Die Rezidivhäufigkeit der Analkarzinome in Abhängigkeit vom OP-Verfahren, ungeachtet des Tumorstadiums, erbrachte für die abdominoperineale Resektion nach Lloyd-Davies eine Rezidivhäufigkeit von 48 % (n=11). Bei Patienten, bei denen eine Lokalexzision durchgeführt wurde, dagegen eine Rezidivhäufigkeit von nur 16% (n=3).

Unter Anwendung des Chi-Quadrat-Testes fand sich mit einem P-Wert von 0,0284 eine schwache statistische Signifikanz.

Bei der Beurteilung dieser Ergebnisse ist aber zu berücksichtigen, daß die abdominoperineale Resektion in einem weiter fortgeschrittenem Tumorstadium zur Anwendung kam.

Abb. 10

OP-Verfahren/Rezidive



4.1.28 ÜBERLEBENS DATEN / ALTER

Zur Berechnung der Überlebensdaten wurden nur Patienten herangezogen, bei denen eine 60-monatige Nachbeobachtungszeit gewährleistet war.

Innerhalb der Nachbeobachtungszeit zeigte sich hinsichtlich der Altersverteilung der Patienten folgendes: Die innerhalb von 60 Monaten verstorbenen Patienten waren im Durchschnitt bei Erstdiagnose 63,4 Jahre alt, diejenigen, die den oben genannten Zeitraum überlebten, waren im Mittel 57 Jahre alt.

Im Mann-Whitney-Wilcoxon-Test zum Vergleich der Mediane beider Gruppen fand sich ein P-Wert von 0,6768 und somit kein eindeutiger Unterschied zwischen beiden Gruppen.

4.1.29 ÜBERLEBENS DATEN / GESCHLECHT

In der Gesamtgruppe der Patienten mit einem Analkarzinom besteht ein Geschlechtsverhältnis von 2,1:1 zugunsten der Frauen. Unter den Patienten, die den Tumor 60 Monate überlebten, lag das Verhältnis bei 3,25: 1 zugunsten der Frauen. Bei den Patienten, die ihrem Tumorleiden innerhalb des genannten Zeitraumes erlagen, bestand ein Geschlechtsverhältnis von 1,25:1 zugunsten der Männer. Mit einem P-Wert von 0,1025 im Chi-Quadrat-Test konnte sich diese Tendenz jedoch statistisch nicht halten.

4.1.30 ÜBERLEBENS DATEN / LOKALISATION

Rückschlüsse über die Überlebensdaten hinsichtlich der Lokalisation der Primärtumoren sind anhand unseres Patientengutes nicht möglich, da uns bei den Analrandkarzinomen keine Mitteilungen über Verstorbene und auch sonst keine vollständigen Verlaufsdaten vorliegen.

4.1.31 ÜBERLEBENS DATEN / HISTOLOGISCHER TYP

Unter den verstorbenen Patienten verteilten sich die histologischen Typen wie folgt: Plattenepithelkarzinome 78 % (n=7), kloakogene Karzinome 22 % (n=2). Bei den Überlebenden zeigte sich folgende Verteilung: Plattenepithelkarzinome 88 % (n=15) und kloakogene Karzinome 12 % (n=2). Die Unterschiede sind nicht signifikant.

4.1.32 ÜBERLEBENS DATEN / GRADING

Der histologische Malignitätsgrad unter den verstorbenen Patienten verteilte sich wie folgt: G1 11% (n=1), G2 und G3 jeweils 44,5 % (n=4). Bei den Patienten, die im Beobachtungszeitraum überlebten, verteilte sich das histologische Grading wie folgt: G1 17,5 % (n=3), G2 65 % (n=11) und G3 17,5 % (n=3). Im Chi-Quadrat-Test zeigte sich mit einem P-Wert von 0,3410 kein signifikanter Unterschied.

4.1.33 ÜBERLEBENS DATEN / TUMORSTADIUM

Die Untersuchung der Abhängigkeit der Überlebenszeit von der Größe des Primärtumors zeigt folgendes: Bei den am Tumor verstorbenen Patienten findet sich kein pT1-Tumor, fünfmal ein pT2-Tumor (72%), einmal ein pT3 und einmal ein pT4-Stadium (jeweils 14 %). Die Patienten, die den Tumor 60 Monate oder mehr überlebten, zeigten folgende Verteilung: Ebenfalls kein pT1-Tumor, auf einen pT2- Tumor entfielen 58 % (n=7), 25 % hatten einen pT3-Tumor (n=3) und 17 % einen pT4-Tumor (n=2). Die Verteilung zeigt hier keine wesentlichen Differenzen, auch in der statistischen Berechnung unter Zuhilfenahme des Chi-Quadrat-Testes zeigen sich mit P-Wert von 0,7921 (pT2/pT4), 0,5510 (pT2/pT3) und 0,8091 (pT3/pT4) keine Differenzen.

Das Lymphknotenstadium beeinflusste die Überlebensraten wie folgt: Unter den Verstorbenen waren 43 % lymphknotennegativ (n=3), entsprechend hatten 57 % einen positiven Lymphknotenstatus (n=4). Bei den Überlebenden fanden sich drei Fälle mit positivem Lymphknotenstatus (23%).

Tendenziell zeigt sich also ein deutlicher Vorteil der Patienten ohne Lymphknotenbefall, jedoch zeigt sich im Chi-Quadrat-Test mit einem P-Wert von 0,1276 keine eindeutige Signifikanz, was aber auch auf die geringen Fallzahlen zurückzuführen ist.

Unter den Patienten, die verstorben waren, traten in 57 % Fernmetastasen auf (n=4), bei den Überlebenden jedoch nur in 12 % der Fälle (n=2).Auch in der statistischen Berechnung zeigt sich im Chi-Quadrat-Test mit einem P-Wert von 0,0196 eine schwache Signifikanz.

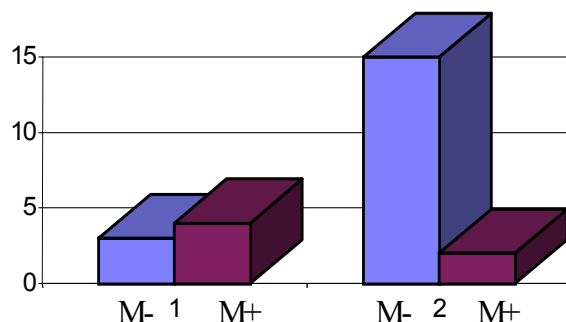
Überlebensdaten/pM-Stadium

Abb. 11

Überlebensdaten / pM-Stadium

Gruppe 1: Verstorbene

Gruppe 2: Überlebende



4.1.34 ÜBERLEBENS DATEN / OP-VERFAHREN

An Operationsverfahren wurden im Gesamtpatientengut 26mal eine Lokalexcision und 30mal eine abdominoperineale Rektumexstirpation durchgeführt. Bei den am Tumor Verstorbenen Patienten war zweimal eine Lokalexcision (22%) und siebenmal eine Rektumexstirpation (77%) durchgeführt worden, bei den Überlebenden siebenmal eine Lokalexcision (42%) und zehnmal eine Rektumexstirpation (58%).

Die Unterschiede sind mit einem P-Wert von 0,3338 nicht signifikant..

4.1.35 ÜBERLEBENS DATEN / REZIDIV

Der unmittelbare Zusammenhang zwischen dem Auftreten eines Rezidives und der Lebenserwartung ist folgerichtig und wird durch unsere Untersuchungen bestätigt. Unter den verstorbenen Patienten erlitten alle ein Rezidiv, dagegen hatten nur zwei der Überlebenden (12%) ein Rezidiv erlitten.

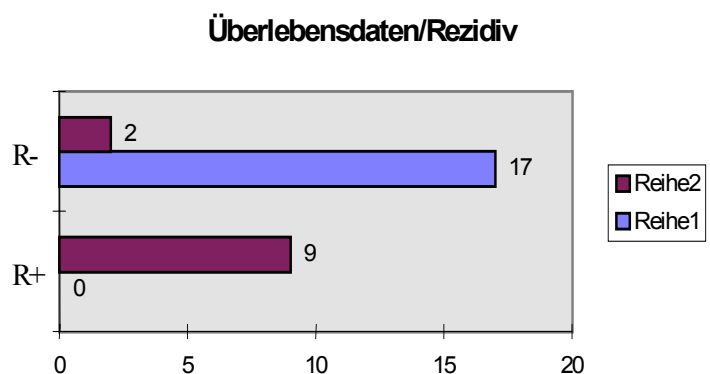
Im Chi-Quadrat-Test mit Yates-Korrektur findet sich ein P-Wert von 0,0001 . Das Ergebnis ist somit hoch signifikant.

Abb. 12

Überlebensdaten/Rezidiv

Reihe1:Überlebende

Reihe 2: Verstorbene



4.2 DNA-PLOIDIE

Nachdem in den vorausgegangenen Kapiteln die konventionellen Prognosefaktoren untereinander verglichen wurden, soll jetzt eine Korrelation dieser Parameter mit den von uns untersuchten Meßwerten erfolgen. Zunächst werden die Ergebnisse der DNA-Ploidie in Beziehung gesetzt mit den bekannten konventionellen Prognosekriterien.

Die DNA-Ploidie wurde, wie oben beschrieben, in drei Gruppen eingeteilt. Hierbei wurde ein DNA-Index von 1,0 bis 1,1 einer euploiden (diploiden) Stammlinie zugeordnet, ein DNA-Index von 1,2-1,4 einer niedrig aneuploiden Stammlinie, und darüber hinausgehende DNA-Indizes einer höher aneuploiden Gruppe.

In 12 Fällen konnte eine diploide Stammlinie identifiziert werden. 25 mal fand sich eine niedrig aneuploide Stammlinie, 19 Fälle entfielen auf eine höher aneuploide/tetraploide Stammlinie.

4.2.1 DNA-PLOIDIE / ALTER

Betrachtet man die Altersverteilung innerhalb der Gruppen, so findet sich in der Gruppe der euploiden Tumoren ein Patientenaltersdurchschnitt von 59,8 Jahren. Kaum davon abweichend ist der Patient in der Gruppe der niedrig aneuploiden Tumoren im Schnitt 59,5 Jahre alt und in der Gruppe der höher aneuploiden Tumoren 59,4 Jahre alt. Es besteht somit nahezu eine Gleichverteilung.

4.2.2 DNA-PLOIDIE / GESCHLECHT

Im Gesamtpatientengut besteht eine Geschlechtsverteilung von 2,1:1 zugunsten der Frauen. Bei den euploiden Karzinomen findet sich ein Verhältnis von 1:1. Hingegen zeigen die niedrig aneuploiden Karzinome eine ausgeprägte Bevorzugung des weiblichen Geschlechtes von 5,25:1. Die höher aneuploiden Tumoren zeigen ein Geschlechtsverhältnis von 1,375:1 zugunsten der

weiblichen Patienten. Im Chi-Quadrat-Test zeigt sich folgendes: P-Wert euploid versus niedrig aneuploid: 0,0538, euploid gegen höher aneuploid: 0,8206, niedrig versus höher aneuploid 0,0648, eine statistische Signifikanz liegt nicht vor.

4.2.3 DNA-PLOIDIE / LOKALISATION

Der DNA-Index zeigt bei den beiden differierenden Lokalisationen Analkanal und Analrand folgende Besonderheiten: Unter den diploiden Tumoren fand sich keiner, der am Analrand gelegen war, sämtliche Karzinome (n=12) waren im Analkanal lokalisiert. Bei den niedrig aneuploiden Karzinomen waren 20 (80%) im Analkanal und 5 (20%) am Analrand gelegen. Die höher aneuploiden Tumoren verteilten sich wie folgt: 14 waren im Analkanal gelegen (74 %) und 5 am Analrand (26%).

Im Chi-Quadrat-Test fanden sich folgende Ergebnisse: Diploide Tumoren versus niedrig aneuploide Tumoren: P-Wert 0,0836 (nicht signifikant), niedrig aneuploide versus höher aneuploide Tumoren: P-Wert 0,5515 (nicht signifikant), diploide versus höher aneuploide Tumoren: P-Wert 0,0380 (schwach signifikant).

Tab. 11: DNA-Ploidie / Lokalisation

	Diploid	niedrig aneuploid	höher aneuploid
Analkanal	12	20	14
Analrand	0	5	5

4.2.4 DNA-PLOIDIE / HISTOLOGISCHER TYP

Patienten, deren Tumoren einen diploiden DNA-Gehalt haben, zeigen histologisch ausschließlich Plattenepithelkarzinome. Unter den 25 niedrig aneuploiden Karzinomen finden sich sechs kloakogene Karzinome und 18 Plattenepithelkarzinome. Unter den höher aneuploiden

Karzinomen befinden sich ein kloakogenes Karzinom und 18 Plattenepithelkarzinome.

Unter Zuhilfenahme des Chi-Quadrat-Testes zeigen sich folgende Ergebnisse: P-Wert für euploid versus niedrig aneuploid 0,3465, euploid versus höher aneuploid 0,8439, niedrig aneuploid versus höher aneuploid 0,2168. Somit liegen alle errechneten Werte außerhalb der statistischen Signifikanz.

4.2.5 DNA-PLOIDIE / GRADING

Die Verteilung der histologischen Malignitätsgrade hinsichtlich der DNA-Ploidie zeigt folgende Ergebnisse: Unter den euploiden Tumoren sind 23 % (n=3) gut differenziert, 54 % (n=7) mittelgradig und 23 % (n=3) schlecht differenziert. Bei den niedrig aneuploiden Karzinomen finden sich 17 % (n=4) gut differenziert, 70,5 % (n=17) mittelgradig differenziert und 12,5 % (n=3) schlecht differenziert. Die höhergradig aneuploiden Tumoren sind zu 26 % (n=5) gut differenziert, 58 % (n=11) sind mittelgradig und 16 % (n=3) schlecht differenziert.

Eine Korrelation zwischen der DNA-Ploidie und dem histologischen Malignitätsgrad ist nicht zu erkennen.

4.2.6 DNA-PLOIDIE / TUMORSTADIUM

Eine Betrachtung hinsichtlich der Ausdehnung des Primärtumors erbrachte für die diploiden Tumoren acht pT2 und zwei pT4-Tumoren. Für die niedrig aneuploiden Karzinome galt folgende Verteilung: Drei pT1-Tumoren, acht pT2-Tumoren und sieben pT3-Tumoren. Die höher aneuploiden Karzinome verteilten sich wie folgt: Zwei pT1-Tumoren, sieben pT2-Tumoren, fünf pT3-Tumoren und zwei pT4-Tumoren. Ein Zusammenhang zwischen der DNA-Ploidie und dem Tumorstadium ist nicht zu erkennen.

Nach dem Lymphknotenstatus getrennt betrachtet, fanden sich bei den diploiden Karzinomen ebenso viele lymphknotenpositive wie negative Fälle (jeweils 5). Bei den niedrig aneuploiden Tumoren fanden sich 14 negative Fälle und drei lymphknotenpositive Fälle. Die höher aneuploiden Fälle verteilten sich wie folgt: Sechsmal fanden sich Lymphknotenmetastasen, in sieben Fällen waren die Lymphknoten tumorfrei.

Im Chi-Quadrat-Test zeigte sich folgendes: Der Vergleich der euploiden Gruppe mit den niedrig aneuploiden Tumoren erbrachte ein P-Wert von 0,0614 und lag somit knapp über der Signifikanzgrenze. Die euploiden und die höher aneuploiden Tumoren zeigten mit einem P-Wert von 1,0 keinen Unterschied, der Vergleich niedrig aneuploider und höher aneuploider Tumoren lag mit einem P-Wert von 0,0510 knapp über der Signifikanzgrenze.

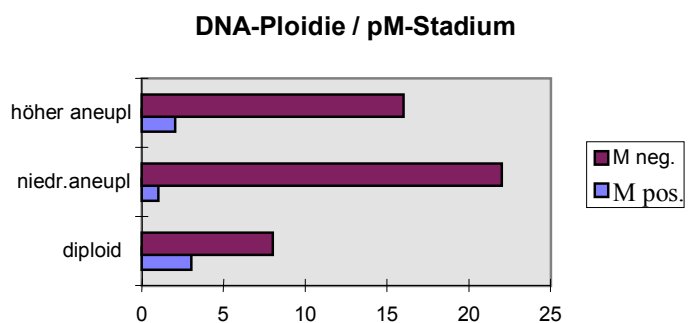
Tab.12: DNA-Ploidie / Tumorstadium

	<i>diploid</i>	<i>niedrig aneuploid</i>	<i>höher aneuploid</i>
pN-	5	14	7
pN+	5	3	6

Die Fernmetastasenhäufigkeit in Abhängigkeit von der Verteilung der DNA-Ploidie zeigte sich wie folgt: Bei den diploiden Tumoren fanden sich drei von elf (27 %) fernmetastasiert. Die niedrig aneuploiden Tumoren waren nur zu 4,3 % (n=1) metastasiert, und bei den höhergradig aneuploiden Karzinomen waren 11 % (n=2) fernmetastasiert.

Die euploiden Tumoren verglichen mit den niedrig aneuploiden Tumoren erbrachten ein P-Wert von 0,0407, das Ergebnis ist somit statistisch schwach signifikant. Der Vergleich der diploiden Tumoren mit den höher aneuploiden Tumoren bzw. die niedrig aneuploiden Tumoren mit den höher aneuploiden Tumoren erbrachte mit einem P-Wert von 0,3316 bzw. 0,3080 keinen signifikanten Unterschied.

Abb 13:
DNA-Ploidie / M-Stadium



Dieses Ergebnis entspricht nicht den Erwartungen, sodass eine erneute Berechnung mit anderen Gruppen durchgeführt wurde. Es wurden die euploiden Fälle gegen alle nicht euploiden getestet. Unter den euploiden Fällen fanden sich 27 % Metastasen (drei von elf), unter den nicht euploiden 7,3 % (drei von 41). Und damit relativ weniger. Der Chi-Quadrat-Test erbrachte einen P-Wert von 0,0946, hier findet sich keine statistische Signifikanz.

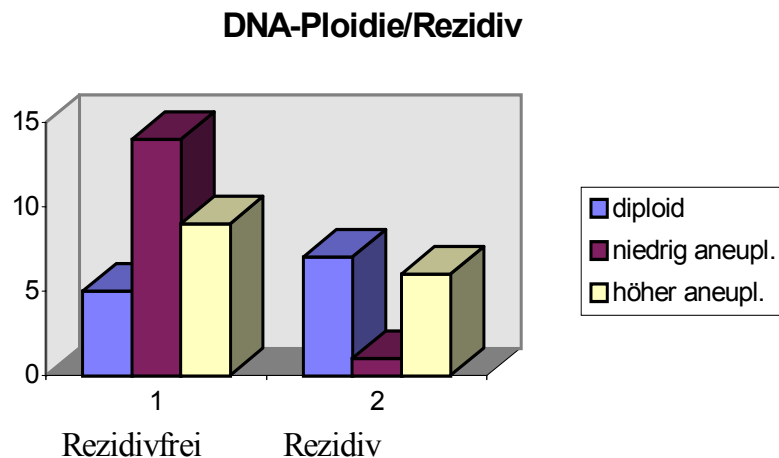
Möglicherweise ist das günstigere Abschneiden der niedrig aneuploiden Tumoren nur durch die Gruppenbildung vorgetäuscht, d.h. zufallsbedingt.

4.2.7 DNA-PLOIDIE/REZIDIV

Die Häufigkeit einer Rezidiventwicklung in Abhängigkeit vom DNA-Index stellt sich wie folgt dar: Bei den diploiden Tumoren trat in 42% (5/12) ein Rezidiv auf. Unter den niedrig aneuploiden Tumoren jedoch nur in 7% (1/15) und bei den höher aneuploiden Tumoren in 40%(6/15). Unter Anwendung des Chi-Quadrat-Testes fand sich folgendes: Im Vergleich der diploiden Tumoren mit den niedrig euploiden Tumoren ergab sich ein P-Wert von 0,0102 (schwach signifikant), niedrig aneuploid versus höher aneuploid bzw. diploid gegen höher aneuploid 0,1337 bzw. 0,2988 (nicht signifikant).

Abb. 14

DNA-Ploidie / Rezidiv



4.2.8 DNA-PLOIDIE / ÜBERLEBENS DATEN

Patienten, deren Tumoren einen diploiden DNA-Gehalt hatten, waren zum Zeitpunkt der Erhebung bereits zu 62,5 % (5/8) verstorben, während diejenigen, die einen niedrig aneuploiden DNA-Gehalt hatten, nur zu 12,5 % (1/8) verstorben waren. Unter den Patienten mit einer höheren Abweichung der DNA-Ploidie waren 33 % (3/9) verstorben.

Eine statistische Signifikanz konnte mit P-Wert von 0,1469 (diploid gegen niedrig aneuploid), 0,2113 (diploid gegen höher aneuploid) bzw. 0,8928 (niedrig gegen höher aneuploid) nicht errechnet werden.

4.3 MIB-1 -PROLIFERATIONSRATEN

In diesem Kapitel soll die Abhängigkeit der Größe der Proliferationsfraktion von den konventionellen Parametern untersucht werden.

4.3.1 MIB-1 / ALTER

Im Kapitel Methoden wurde bereits die Einteilung der Proliferationsfraktion in niedrig, mittel und hochproliferierende Karzinome dargestellt. Betrachtet man den Altersdurchschnitt in diesen Gruppen, so sind die Patienten in der Gruppe der niedrig proliferierenden Tumoren im Mittel 56,5 Jahre alt, Patienten mit einem mittelgradig proliferierenden Tumor waren durchschnittlich 62,2 Jahre alt, und diejenigen mit einem stark proliferierenden Tumor hatten ein mittleres Alter von 60, 7 Jahren.

Im Mann-Whitney-Wilcoxon-Test zum Vergleich der Mediane der drei Gruppen fanden sich folgende Ergebnisse: Der Vergleich der schwach proliferierenden Tumoren mit den mittelgradig proliferierenden Tumoren erbrachte ein P-Wert von 0,1185, mittelgradig proliferierende Tumoren verglichen mit den stark proliferierenden Tumoren: P-Wert 0,7170 und schwach proliferierende

Tumoren mit stark proliferierende Tumoren 0,2716. Die vorgestellten Unterschiede sind somit nicht signifikant.

4.3.2 MIB-1 / GESCHLECHT

Die Häufigkeiten der Proliferationsklassen unter Frauen und Männern verteilte sich wie folgt: Bei den Männern fand sich 10 mal ein niedriger Proliferationsgrad (55%), fünfmal ein mittlerer Proliferationsgrad (28%) und dreimal (17%) ein hoher. Bei den Frauen sah es folgendermaßen aus: Ein niedriger Proliferationsgrad trat 13 mal auf (34%), ein mittlerer 17 mal (45%) und ein hoher Proliferationsgrad achtmal (21%).

Statistisch signifikante Unterschiede ergaben sich mit P-Wert von 0,1399 (schwach gegen mittelgradig profilierend), 0,7739 (mittelgradig gegen stark profilierend) und 0,3630 (schwach gegen stark proliferierend) nicht.

4.3.3 MIB-1 / LOKALISATION

Die Größe der Proliferationsfraktion zeigte hinsichtlich der unterschiedlichen Lokalisationen folgende Verteilung: Im Analkanal sind 17 (37%) niedrig proliferierende Tumoren gelegen, 19 (41%) mittelgradig proliferierende und zehn (22%) stark proliferierende Tumoren. Dagegen sind es am Analrand sechs (60%) gering , drei (30%) mittelgradig und ein (10%) stark proliferierender Tumor.

Im Chi-Quadrat-Test konnte ein P-Wert von 0,7281 errechnet werden, es besteht somit kein signifikanter Unterschied. Tendenziell zeigen die Analrandkarzinome aber geringere Proliferationsraten.

4.3.4 MIB-1 / HISTOLOGISCHER TYP

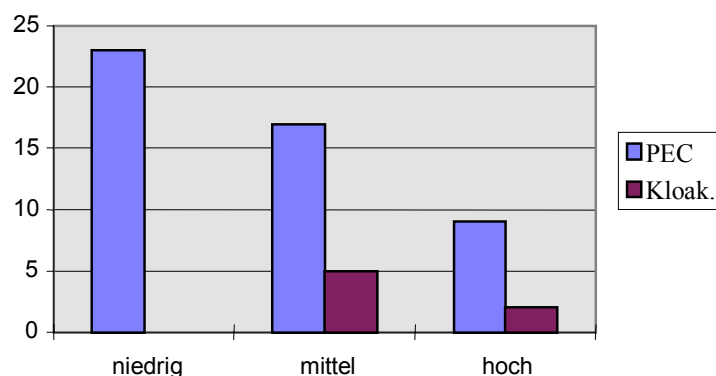
Die Gruppe der niedrig proliferierenden Karzinome setzte sich ausschließlich aus Plattenepithelkarzinomen zusammen (n=23). Bei den mittelgradig und stark proliferierenden Tumoren lag der Anteil an kloakogenen Karzinomen bei 23 %(n=5) bzw. 18 %(n=2).

Entsprechend fanden sich signifikante Unterschiede zwischen den gering proliferierenden und den mittelgradig proliferierenden (P-Wert 0,0153) bzw. stark proliferierenden (P-Wert 0,0350) Tumoren. Unterschiede zwischen den mittelgradig und den stark proliferierenden Tumoren konnten mit einem P-Wert von 0,7633 im Chi-Quadrat-Test nicht festgestellt werden.

MIB-1/ Histol. Typ

Abb. 15

MIB-1 / Histologischer Typ



4.3.5 MIB-1 / GRADING

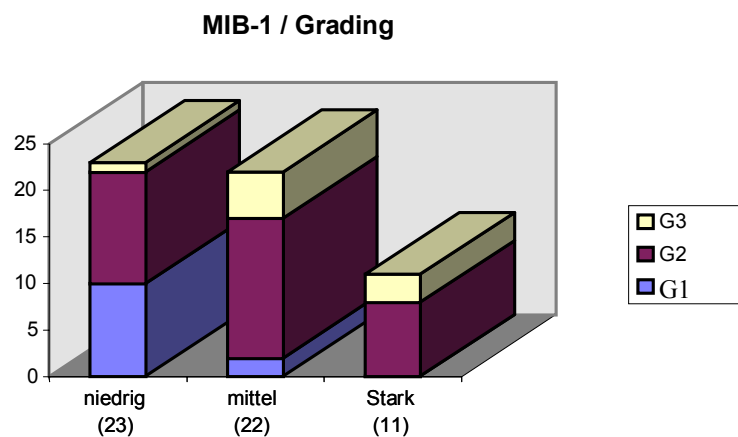
Die Untersuchung des Malignitätsgrades in Abhängigkeit vom Proliferationsgrad zeigt folgende Ergebnisse: Unter den 23 Tumoren, die einem niedrigen Proliferationsgrad zugeordnet wurden, sind 10 Fälle von gut differenzierten Tumoren (43%), zwölf mittelgradig differenzierte (52%) und nur ein schlecht differenziertes Karzinom (5%). Bei der Gruppe der mittelgradig proliferierenden Tumoren zeigt sich bereits eine Verschiebung zu den höheren Malignitätsgraden. Von 22 mittelgradig proliferierenden Tumoren waren zwei gut differenzierte Karzinome (9%),

15 G2-Tumoren (68%) und fünf G3-Karzinome(23%). Die stark proliferierenden Tumoren zeigten keinen Fall eines gut differenzierten Karzinoms, 73% waren mittelgradig differenziert (n=8), und 27% (n=3) waren schlecht differenziert.

In der statistischen Auswertung fanden sich signifikante Unterschiede zwischen den schwach proliferierenden und den mittelgradig proliferierenden Tumoren (P-Wert 0,0156) und den schwach proliferierenden und stark proliferierenden Tumoren (P-Wert 0,0133). Signifikante Unterschiede konnten zwischen den mittelgradig und den stark proliferierenden Tumoren mit einem P-Wert von 0,5815 im Chi-Quadrat-Test nicht nachgewiesen werden. Insgesamt besteht jedoch ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem histologischen Malignitätsgrad und dem MIB-1-Proliferationsgrad.

Abb. 16

MIB-1 / Grading



4.3.6 MIB-1 / TUMORSTADIUM

Die Betrachtung der einzelnen pT-Stadien in den drei verschiedenen Proliferationsgruppen zeigt folgende Ergebnisse: Unter den niedrig proliferierenden Tumoren findet sich kein Fall eines pT4-Tumors, 10,6 %(n=2) der Tumoren sind pT1-Tumoren, 52,6 %(n=10) pT2- und 36,8 %(n=7) pT3-Tumoren. Die mittelgradig proliferierenden Karzinome verteilen sich wie folgt: 12,5 %(n=2) pT1- Tumoren, 43,75 %(n=7) pT2-Tumoren, 25 %(n=4) pT3- Tumoren und 18,75 %(n=3) pT4-Tumoren. Unter den stark proliferierenden Karzinomen sind jeweils 11 %(n=1) pT1, pT3

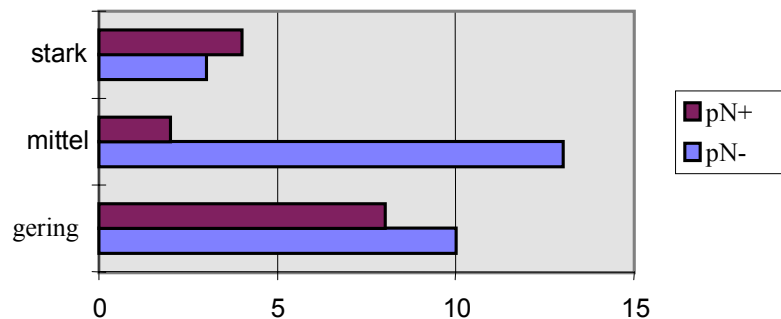
und pT4- Tumoren, 66%(n=6) sind pT2-Tumoren. Die Verteilung innerhalb der einzelnen Proliferationsgruppen ist somit ähnlich, eine globale Berechnung des P-Wertes im Chi-Quadrat-Test ergab 0,4755, hier allerdings mit vier Freiheitsgraden. Ein signifikanter Zusammenhang liegt offensichtlich nicht vor.

Patienten, die einen positiven Lymphknotenstatus hatten, fanden sich in der Gruppe der gering proliferierenden Karzinome zu 44 %(n=8), in der Gruppe der mittelgradig proliferierenden Karzinome jedoch nur zu 13 %(n=2), bei den stark proliferierenden Tumoren zu 57 %(n=3).

Signifikante Unterschiede ergaben sich beim Vergleich der gering proliferierenden Tumoren mit den mittelgradig proliferierenden Tumoren (P-Wert 0,0400).Dieser Zusammenhang erscheint allerdings nicht plausibel. Nicht signifikant waren die Ergebnisse des Vergleiches der mittelgradig mit den stark proliferierenden Tumoren (P-Wert 0,0565) und der gering proliferierenden mit den stark proliferierenden Tumoren (P-Wert 0,8908).

MIB-1 / pN-Stadium

Abb.17
MIB-1 / pN-Stadium



Eine Fernmetastasierung lag bei den niedrig proliferierenden Karzinomen in 9 %(n=2) vor, bei den mittelgradig proliferierenden lag der Prozentsatz bei 11 %(n=2) und bei den höher proliferierenden Tumoren bei 20 %(n=2).

Mit P-Werten von 0,4507, 0,5522 und 0,8772 im Vergleich der einzelnen Gruppen ergaben sich kein signifikanten Unterschiede.

4.3.7 MIB-1 / REZIDIV

Die Rezidivhäufigkeit in den einzelnen Proliferationsgruppen verteilt sich wie folgt: Niedrig proliferierende Karzinome hatten in 29,4 % (n=5) ein Rezidiv, mittelgradig proliferierende Tumoren in 35,3 % (n=6) und höher proliferierende in 37,5 % (n=3).

Es zeigt sich somit eine annähernde Gleichverteilung der Rezidivhäufigkeit in Abhängigkeit von der Größe der Proliferationsfraktion, so daß offenbar kein Zusammenhang vorliegt.

4.3.8 MIB-1 / ÜBERLEBENS DATEN

Zur Beurteilung kamen nur Patienten, bei denen ein mindestens 60 monatiger Beobachtungszeitraum gewährleistet war. In der Gruppe der niedrig proliferierenden Karzinome waren innerhalb der Beobachtungszeit 33 % (n=2) der Patienten verstorben. Unter den Patienten, deren Tumor eine mittlere Proliferation zeigte, waren bereits 57 % (n=4) verstorben und bei den höher proliferierenden 50 % (n=3).

Unter Anwendung des Chi-Quadrat-Testes zeigten sich folgende Ergebnisse: gering proliferierende Tumoren gegen mittelgradig proliferierende: P-Wert 0,5988, mittelgradig gegen stark proliferierende Tumoren: P-Wert 0,7829 und gering gegen stark proliferierende Tumoren: P-Wert 0,4642. Die geringer proliferierenden Tumoren waren nur tendenziell (nicht signifikant) im Verlauf günstiger als die der höher proliferierenden Gruppe.

	PG 1	PG 2	PG 3
Verstorbene	2	4	3
Überlebende	4	3	3

Tab.13: MIB-1 / Überlebensdaten

4.4. MIB-1 / DNA-PLOIDIE

Die Untersuchung der MIB-1 Proliferationsfraktion in Abhängigkeit von der DNA-Ploidie zeigte folgende Ergebnisse: Unter den gering proliferierenden Tumoren gab es fünf diploide (21,7%), elf niedrig aneuploide (47,8%) und sieben (30,4%) höher aneuploide Fälle. Unter den mittelgradig proliferierenden Tumoren gab es 6 diploide Fälle (27,3%), acht niedrig aneuploide (36,35%)und acht höher aneuploide (36,35%) Fälle. Bei den stark proliferierenden Tumoren waren zwei (18,2) diploid, fünf (45,4%) niedrig aneuploid und vier (36,4%) höher aneuploid. Statistische Signifikanzen ergaben sich hieraus nicht.

Tab. 14: MIB-1 / DNA-Ploidie

PG 1 (23)	5 (21,7%)	11 (47,8%)	7 (30,4%)
PG 2 (22)	6 (27,3%)	8 (36,35%)	8 (36,35%)
PG 3 (11)	2 (18,2%)	5 (45,4%)	4 (36,4%)
	Diploid	niedrig aneuploid	höher aneuploid

4.5 MORBUS BOWEN

Im untersuchten Patientengut fanden sich nur drei Fälle eines Morbus Bowen, so dass bei dieser geringen Fallzahl eine gesonderte Betrachtung vorgenommen wurde. Es ist anzunehmen, dass im Patientengut der Chirurgischen Klinik II, Abteilung für Koloproktologie des Prosper-Hospitals Recklinghausen mehr Fälle von Morbus Bowen auftraten, jedoch wurde von uns nicht konkret danach gesucht.

Die untersuchten Präparate stammten ausschließlich von Frauen, das mittlere Alter lag bei 57 Jahren (29-77). Zwei der Läsionen waren am Analrand lokalisiert, eine im Analkanal. Metastasen traten nicht auf. Da hier in allen Fällen nur eine Lokalexzision durchgeführt wurde, sind keine Lymphknotenpräparate vorhanden. Ein Beobachtungszeitraum von 60 Monaten konnte in

keinem Fall erreicht werden.

Die DNA-Ploidie wurde mit 1,3, 1,6 und 1,7 bestimmt, es lag also kein Fall eines euploiden Tumors vor. Zwei Fälle müßte man also den höher aneuploiden Graden zuordnen und einen den niedrig aneuploiden.

Der Proliferationsindex wurde mit 10, 12 bzw 37 % proliferierende Zellen bestimmt. Dies sind also zweimal ein niedrig proliferierender Tumor und einmal ein stärker proliferierender Tumor.

5. DISKUSSION

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, einen Vergleich der bekannten konventionellen klinisch-pathologischen Befunde mit der immunhistologisch bestimmten Wachstumsfraktion sowie der DNA-Ploidie der Analkarzinome vorzunehmen. Es sollte untersucht werden, ob sich die von uns bestimmten Faktoren dazu eignen, die Prognosebeurteilung zu präzisieren und eventuell die Therapie der Analkarzinome gezielter vorzunehmen.

5.1. ANALKARZINOME –KONVENTIONELLE, KLINISCH-PATHOLOGISCHE FAKTOREN IN UNSEREM UNTERSUCHUNGSGUT

Es wurden für die vorliegende Arbeit insgesamt 56 Fälle maligner Analtumoren, hiervon 49 Plattenepithelkarzinome und sieben kloakogene Karzinome feulgenbildzytometrisch und hinsichtlich der Wachstumsfraktion untersucht. Drei Fälle eines Morbus Bowen wurden zwar untersucht, aufgrund der geringen Fallzahl jedoch aus der statistischen Berechnung herausgenommen. Sehr seltene Malignome, wie Melanome und Lymphome des Analkanals und des Analrandes wurden von vornherein aus der Untersuchung ausgeschlossen. Im wesentlichen fand sich eine Übereinstimmung unseres Untersuchungsgutes mit den Literaturangaben hinsichtlich der konventionellen Tumorparameter. Die Angaben des Geschlechtsverhältnisses liegen bei größeren Studien bei 2:1 zugunsten des weiblichen Geschlechtes. In unserem Untersuchungsgut konnte ein Verhältnis von 2,1:1 gefunden werden und entspricht somit der üblichen Verteilung.

Deutliche Abweichungen zeigten sich hinsichtlich der histologischen Typisierung der Tumoren. Während zumeist ein Überwiegen der kloakogenen Karzinome beschrieben wurde, zeigte sich in unserem Patientengut nur ein Anteil von ca. 15 % kloakogener Karzinome. Der Grund hierfür liegt darin, daß früher niedrig differenzierte Plattenepithelkarzinome fälschlicherweise als kloakogene Karzinome klassifiziert wurden. Heute besteht z. T. die Auffassung, die kloakogenen Karzinome als schlecht differenzierte Plattenepithelkarzinome anzusehen. Eine klinische Konsequenz besteht nicht, so dass dies für die weitere Betrachtung ohne Einfluß bleibt.

Das mittlere Alter in unserem Patientengut betrug 59,5 Jahre und liegt somit im Bereich der Literaturangaben ist (Beahrs und Wilson 1976, Corman und Haggitt 1977).

Außergewöhnlich ist, dass alle Patienten einer Operation unterzogen wurden, da das aktuelle Therapiekonzept zumeist eine Radio-bzw. Radiochemotherapie vorsieht, die in unserem Patientengut in einigen Fällen an die operative Therapie angeschlossen wurde. Ausschlaggebend hierfür ist, dass es im Zeitraum der Untersuchung erst zu diesen Änderungen des Therapiekonzeptes gekommen ist. Andererseits verfügt die proktologische Klinik (als eine der größten ihrer Art in Deutschland) über eine sehr große Fallzahl an Analkarzinomen. Häufig wurden auch bereits auswärtig voroperierte Patienten nachreseziert.

Die retrospektiven Informationen über den Krankheitsverlauf der Patienten können als befriedigend betrachtet werden. Zum einen war der Verlauf durch die an der proktologischen Klinik häufig durchgeführten Nachbehandlungen dokumentiert, zum anderen erwiesen sich die nach-behandelnden Ärzte als sehr kooperativ. Einige Patienten wurden in Krebsregistern geführt. In Anbetracht der geringen Inzidenz der Analkarzinome ist die untersuchte Fallzahl als recht hoch zu bewerten. Zusammenfassend fanden sich nur wenig bedeutsame Abweichungen vom einschlägigen Schrifttum hinsichtlich der konventionellen Parameter.

5.2 METHODENDISKUSSION

Für die vorliegende, retrospektive Untersuchung stand formalinfixiertes und paraffineingebettetes Archivmaterial zur Verfügung. Fixiertes Gewebe bereitet besonders aufgrund der auftretenden Kernschrumpfung einige meßtechnische Probleme (Mellin 1992). Die daraus resultierende erhöhte Chromatindichte, besonders bei chromatinreichen Kernen führt durch Streustrahlung innerhalb des Präparates zu falsch niedrigen Meßwerten (Mellin 1992). Aus diesem Grund wurden als Referenzzellen solche Zellen gewählt, die als sicher diploid und in Bezug auf Chromatindichte und Verteilung den Tumorzellen ähnlich waren (z. B. Lymphozyten). Zur Minimierung dieser Fehlerquelle wurde ein Korrekturprogramm verwendet, wodurch eine Streustrahlung von 10 % korrigiert wurde. Schnittpräparate beinhalten weiterhin das Problem der Kernanschnitte und Kernüberlappungen, was durch eine optimale Schnittdicke

(in unserem Falle 7 Mikrometer) sowie durch exaktes Durchfokussieren und Einstellen der entsprechenden Kerne weitestgehend vermieden werden kann.

Die bildzytometrische DNA-Ploidieanalyse beinhaltet durch die Auswahl des zu untersuchenden Tumoreals und der einzelnen Tumorzellkerne eine mögliche subjektive Fehlerquelle. Andererseits lassen sich bei der interaktiven Messung auch offensichtliche Fehler vermeiden, die im Rahmen einer automatischen Messung nicht erkannt werden können.

Bei dem verwendeten Zytometriesystem wurden neben der selektiven Zellkernmessung eine zusätzliche automatische Messung aller in den Blickfeldern detektierten Zellkerne durchgeführt, die in der Regel eine identische Stammliniencharakteristik erkennen ließ, und eine mehr zufallsmäßige Kontrolluntersuchung darstellt.

Aber unabhängig davon können bereits geringe meßtechnische Fehler ein anderes Ergebnis bedingen. DNA-Ploidie-Indizes ab 1,2 können jedoch als sicher aneuploid angesehen werden, da sich nach den Voruntersuchungen normale Lymphozyten und Fibrozyten in ihrem DNA-Ploidie-Gehalt lediglich um maximal 10 % unterschieden.

Insgesamt liegt mit der Technik der Bildzytometrie eine geeignete Methode zur Bestimmung der DNA-Ploidie vor, die den Vorteil einer simultanen morphologischen Beurteilung bietet und die Auswertung von paraffineingebettetem Archivmaterial erlaubt. Bei Beachtung und Vermeidung der bereits oben genannten Fehlerquellen ist eine relevante und genaue Interpretation der Daten mit hoher Aussagekraft möglich. Bei Fällen mit mehreren Gewebeproben bzw. Paraffinblöcken sowie zweifelhaft erscheinenden Werten wurden mehrere Messungen vorgenommen.

Über immunhistologische Proliferationsanalysen von Analkarzinomen mittels des monoklonalen Antikörpers Ki-67 liegen keine Publikationen vor, obwohl dieser bereits seit 1984 zur Verfügung steht. Die proliferationsanalytischen Untersuchungen anderer maligner Tumoren beschäftigen sich mit dem Zusammenhang zwischen Proliferationsgrad und konventionellen Faktoren wie Malignitätsgrad und Prognose. Mit dem MIB-1-Antikörper werden Zellen in allen Zellzyklusphasen (außer der G₀ Phase) nachgewiesen.

Der Nachweis gelingt auch an paraffineingebettetem Material. Es wurden nur Fälle mit eindeutiger immunhistologischer Reaktion ausgewertet. Nur in Einzelfällen war eine Wiederholung der Immunreaktion notwendig gewesen.

5.3 ERGEBNISDISKUSSION

Die Bedeutung der DNA-Ploidie und der Wachstumsfraktion kann nur in Ihrem Bezug zu den konventionellen Tumorparametern ermessen werden. Die Analyse der konventionellen Tumoreigenschaften gibt ferner wichtigen Aufschluß darüber, inwieweit das Untersuchungsgut repräsentativ ist.

5.3.1 ABHÄNGIGKEIT DER KONVENTIONELLEN FAKTOREN UNTEREINANDER

Im Untersuchungsgut waren die an einem Analkarzinom erkrankten Frauen signifikant älter als Männer. Frauen waren im Mittel 62,0 Jahre alt, Männer dagegen nur 54,3 Jahre.

Weiterhin war zu bemerken, dass das Tumorausbreitungsstadium mit zunehmendem Alter zunahm. So beträgt der Altersunterschied zwischen Patienten, die an einem pT1-Tumor erkrankten und solchen, die an einem pT4-Tumor erkrankten, im Mittel immerhin 20 Jahre. Mitbestimmend hierfür ist sicherlich auch das frühere Aufsuchen des Arztes unter jüngeren Patienten sowie die zunehmende Indolenz älterer Patienten oder auch falsches Schamgefühl.

Der histologische Malignitätsgrad lag bei den kloakogenen Karzinomen höher als bei den plattenepithelialen Karzinomen. Es findet sich zunehmend die Auffassung, die kloakogenen Karzinome als schlecht differenzierte Plattenepithelkarzinome anzusehen (Gebbers und Laissue 1984)

Im Hinblick auf die Lokalisation zeigt sich, dass die Karzinome im Analkanal durchschnittlich schlechter differenziert sind als die am Analrand. Das Tumorausbreitungsstadium des Tumors war im Analkanal deutlich größer als am Analrand. Allerdings ist es sicherlich so, dass die Tumoren am Analrand eher klinisch apparent werden und so früher, d. h. mit geringerer Ausbreitung und evtl. noch besserer Differenzierung zur Behandlung kommen.

Die Entwicklung von Fernmetastasen ist abhängig vom Lymphknotenstatus zum Zeitpunkt der Operation. Lymphknotennegative Patienten erlitten nur zu 4,3 % eine Fernmetastasierung, wohingegen Personen mit einem positiven Lymphknotenstatus zu 31 % Fernmetastasen

entwickelten.

Das Auftreten eines lokalen Rezidives korrelierte hoch signifikant mit dem Auftreten von Fernmetastasen. So hatten alle Patienten mit gesicherten Fernmetastasen auch ein lokales Rezidiv. Umgekehrt hatten nur 18 % der Patienten ohne Fernmetastasen ein lokales Rezidiv.

Ein Rezidiv trat nach einer Lokalexzision nur bei 16 % der Patienten auf, wohingegen bei einer abdominoperinealen Resektion eine Rezidivhäufigkeit bei 48 % lag. Maßgebend hierfür scheint aber auch der Grund für die Wahl des Operationsverfahrens zu sein. Eine Resektion nach Lloyd-Davies wurde eher bei fortgeschrittenen Karzinomen durchgeführt, die naturgemäß eine höhere Rezidivhäufigkeit aufweisen.

Die Überlebenszeit der Patienten mit einem Analkarzinom wurde vorwiegend durch zwei Faktoren bestimmt. Zum einen reduzierte das Auftreten von Fernmetastasen die Überlebenszeit signifikant, zum anderen war gleiches zu beobachten bei Patienten, die ein Rezidiv hatten.

5.3.2 DNA-PLOIDIE

Im Untersuchungsgut zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen der DNA-Ploidie einerseits und der Rezidivneigung, der Fernmetastastisierung, und der Lokalisation andererseits.

Eine Korrelation der DNA-Ploidie mit dem Alter, dem Geschlecht und dem histologischen Typ bestand statistisch nicht. Auch der histologische Malignitätsgrad, die Ausdehnung des Primärtumors und der Nodalstatus zeigten keinen Zusammenhang mit der DNA-Ploidie. DNA-diploide Tumoren waren ausschließlich im Analkanal nachweisbar, während DNA-aneuploide Karzinome sowohl am Analrand als auch im Analkanal vorkamen. Die unterschiedliche Verteilung der DNA-Stammlinienploidie am Analrand bzw. im Analkanal signalisiert offenbar auch Unterschiede in der Tumorbiologie der Tumoren verschiedenen Ursprungs.

Die Beobachtung, dass die niedrig aneuploiden Karzinome sowohl in Bezug auf die Rezidivneigung, als auch auf die Fernmetastastisierung und den klinischen Ausgang günstiger sind als die diploiden und die höher aneuploiden Karzinome erscheint nicht plausibel.

Insbesondere das besonders ungünstige Abschneiden der DNA-diploiden Karzinome steht im Widerspruch zu den Erfahrungen bei anderen Karzinomen des Gastrointestinaltraktes. Selbst wenn man unterstellt, dass die DNA-diploiden Karzinome nur zufällig ungünstigere klinische Verläufe zur Folge hatten, so besteht immerhin doch kein Grund mehr zu der Annahme, dass DNA-aneuploide Analkarzinome einen schlechteren klinischen Verlauf nehmen als DNA-diploide

5.3.3. MIB 1 IMMUNHISTOLOGISCHE BESTIMMUNG DER WACHSTUMSFRAKTION VON ANALKARZINOMEN

Im Untersuchungsgut fanden sich signifikante Zusammenhänge zwischen der MIB-1 Wachstumsfraktion einerseits und dem histologischen Malignitätsgrad, dem histologischen Typ sowie dem Lymphknotenstatus andererseits.

Hinsichtlich des Alters und des Geschlechtes der Patienten, der pT-Stadien, der Entwicklung von Fernmetastasen, der Lokalisation, der Rezidivneigung und der Überlebensdaten fanden sich keine statistisch signifikanten Zusammenhänge mit der Höhe der MIB-1-Wachstumsfraktion.

Es zeigte sich jedoch eine deutliche Zunahme der Größe der Proliferationsfraktion mit zunehmender Entdifferenzierung bzw. zunehmenden histologischen Malignitätsgrad. Die stark proliferierenden Tumoren waren ausschließlich G2 und G3 Tumoren.

Weiterhin war ein signifikanter Zusammenhang zu erkennen zwischen der Größe der Proliferationsfraktion und dem histologischen Typ. Niedrig proliferierende Karzinome waren ausschließlich Plattenepithelkarzinome, kloakogene Karzinome fanden sich nur in den Gruppen der mittelgradig und stark proliferierenden Karzinome. Da sich jedoch die Überlebenszeiten beider Tumortypen nur geringfügig unterschieden (statistisch nicht signifikant), ist der prognostische Wert gering. Tendenziell sind die Überlebenszeiten bei den Patienten mit kloakogenen Karzinomen jedoch kürzer, so dass eine Zunahme der Proliferationsfraktion ungünstig zu sein scheint.

Fernmetastasen traten in der Gruppe mit mittlerer Proliferationsstärke seltener auf (13%) als bei den gering proliferierenden (44%) und den stark proliferierenden (57%) Tumoren. Dieses

Ergebnis ist bezogen auf die gering und mittelgradig proliferierenden Tumoren nicht plausibel und signalisiert, dass andere Faktoren einen stärkeren Einfluß auf die Metastasierung ausüben als die Wachstumsfraktion eines Tumors

Abschließend ist anzumerken, dass einerseits die Ergebnisse zur DNA-Ploidie und Ki67-Wachstumsfraktion zwar jeweils partiell mit den konventionellen pathologisch-anatomischen Faktoren sowie den klinischen Verläufen korrelierten, dass sie andererseits auch nicht so stark prognostisch richtungsweisend erschienen, dass sie im Einzelfall eine konkrete Hilfe bei der individuellen risikoadaptierten Therapieplanung bieten. Die Frage, inwieweit die DNA-Ploidie und die Ki67 Wachstumsfraktion für das Ansprechen einer Strahlen-/Chemotherapie bei den Analkarzinomen von Bedeutung sind, läßt sich anhand der hier untersuchten, in erster Linie operativ behandelten Fälle nicht bewerten.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. AHRENS, O.: Betriebsanleitung Cytometrie-System ACAS 5.02 (1995)
2. BAISCH, H., GERDES, J.: Identification of proliferating cells by Ki-67 antibody. *Methods in Cell Biology* (1990) 33 217-226
3. BECKMANN, A. M., DALING, J. R., SHERMAN, K. J., MADEN, C., MILLER, B. A., COATES, R. J., KIVIAT, N. B., MYERSON, D., WEISS, N. S., HISLOP, T. G.: Human papillomavirus infection and anal cancer . *Int J Cancer* (1989) 43 (6) 1042-1049
4. BRENNAN, J.T., STEWART, C.F.: Epidermoid carcinoma of the anus. *Ann Surg* (1972) 176 787-790
5. CANTRIL, S.T., GREEN, J.R., SCHALL, G.L., SCHAUPP, W.C.: Primary radiation therapy in the treatment of anal carcinoma *Int J Radiat Oncol Biol Phys* (1983) 9 1271-1278
6. CARTER, P. S., DE RUITER, A., WHATRUP, C., KATZ, D. R., EWINGS, P., MINDEL, A. NORTHOVER, J. M.: Human immunodeficiency virus infection and genital warts as risk factors for anal intraepithelial neoplasia in homosexual men. *Br J Surg* (1995) 82(4) 473-474
7. CATTORETTI, G., ET AL: Monoclonal antibodies against recombinant parts of the KI-67 antigen (MIB 1 and MIB 3) detect proliferating cells in microwave processed formalin-fixed paraffin sections *J of Pathol* (1992) 168 357-363

8. CATTORETTI, G. ET AL: Antigen unmasking on formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. *J of Pathol* (1993) 83-98
9. CORDELL, J. L., ET AL: Immunoenzymatic labeling of monoclonal antibodies using immune complexes of alkaline phosphatase and monoclonal antialkaline phosphatase (APAAP-complexes). *J Histochem Cytochem* (1984) 32 219-229
10. CUMMINGS, B.J.: Concomitant radiotherapy and chemotherapy for anal cancer. *Semin Oncol* (1992) 19 (Suppl. 11) 102-108
11. DALING, J. R., SHERMAN, K. J., HISLOP, T. G., MADEN, C., MENDELSON, M. T., BECKMANN, A. M., WEISS, N. S.: Cigarette smoking and the risk of anogenital cancer. *Am J Epidemiol* (1992) 135(2) 180-189
12. DALING, J. R. , WEISS, N. S., HISLOP, T. G., MADEN, C., COATES, R. J. , SHERMAN, K. J., ASHLEY, R. L., BEAGRIE, M., RYAN, J. A., COREY, L.: Sexual practices, sexual transmitted diseases, and the incidence of anal cancer. *N Engl J Med* 317(16) 973-977
13. DIXON, A. R., PRINGLE, J. H., HOLMES, J. T., WATKIN, D. F.: Cervical intraepithelial neoplasia and squamous cell carcinoma of the anus in sexually active women . *Postgrad Med J* (1991) 557-559
14. DOKER, R., ROTH, S. L., ROHER, H. D.: Interdisziplinäre Therapie des Analkarzinoms, *Schweiz Rundsch Med Prax* (1995) 1389-1397
15. DONHUIJSEN, K.: Mitosis counts: Reproducibility and significance in grading of malignancy. *Hum Pathol* (1986) 17 1122-1125

16. DONHUIJSEN, K.: Mitoses in non-Hodkin's lymphomas: Frequency and prognostic relevance. *Path Res Pract* (1987) 182 352-357
17. FENGER, C., BICHEL, P.: Flow cytometric analysis of anal canal epithelium and anorectal tumours. *Acta Pathol Microbiol Scand A* (1981) 89 351-355
18. FONTANA, X., ET AL: Evaluation du „ Squamous cell carcinoma antigen“ comme marquer du cancer epidermoide du canal anal. *Ann Gastroenterol Hepatol* (1991) 27 293-296
19. GAUB, J. J., AUER, G., ZETTERBERG, A.: Quantitative cytochemical aspects of a combined Feulgen naphthol-yellow-S staining procedure for the simultaneous determination of nuclear and cytoplasmic proteins and DNA in mammalian cells. *Exp Cell Res* (1975) 92 323-332
20. GEBBERS, J. O. LAISSUE, J .A.: Pathologie der Analtumoren. *Schweiz Rundschau Med Prax* (1984) 73(27) 847-862
21. GERDES, J., SCHWAB, U., LEMKE, H., STEIN, H.: Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer* (1983) 31 13-20
22. GERDES, J. ET AL: Cell-cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol* (1984) 133 1710-1715
23. GERDES, J.: Immunobiochemical and molecular biologic characterization of the cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by monoclonal antibody Ki-67. *Am J Pathol* (1991) 138 867-873

24. GERDES, J., BECKER, M.H.G., KEY, G., CATTORETTI, G.: Immunological detection of tumour growth fraction (Ki-67 Antigen) in formalin-fixed and routinely processed tissues (in letter to the editor) *J of Pathol* (1992) 1681 85-87
25. GOLDMAN, S., AUER, G., ERHARDT, K.; SELIGSON, U.: Prognostic significance of clinical stage, histologic grade, and nuclear DNA content in squamous cell carcinoma of the anus. *Dis Colon Rectum* (1987) 30(6) 444-448
26. GOLDMAN, S., GLIMELIUS, B., NILSSON, B., PAHLMANN, L.: Incidence of anal epidermoid carcinoma in Sweden 1970-1984. *Acta Chir Scand* (1989) 155(3) 191-197
27. GOLDMAN, S., GLIMELIUS, B., NORMING, U., PAHLMAN, L., SELIGSON, U.: Transanorectal ultrasonography in anal carcinoma. A prospective study of 21 patients. *Acta Radiol* (1988) 337-341
28. GOLDMANN, S., SVENSSON, C., BRONNERGARD, M., GLIMELIUS, B., WALLIN, G.: Prognostic significance of serum concentration of squamous cell carcinoma antigen in anal epidermoid carcinoma. *Int J Colorectal Dis* (1993) 8(2) 98-102
29. GRABENBAUER, G. G., SCHNEIDER, I. H., GALL, F.P., SAUER, B.: Epidermoid carcinoma of the anal canal: treatment by combined radiation and chemotherapy. *Radiother Oncol* (1993) 27 (1) 59-62
30. GREENALL, M. J., QUAN, S. H., STEARNS, M. W., URMACHER, C., DECOSSE, J. J.: Epidermoid cancer of the anal margin. Pathologic features, treatment, and clinical results. *Am J Surg* (1985) 149(1) 95-101

31. GREENALL, M. J., QUAN, S. H. URMACHER, C., DECOSSE, J.J.: Treatment of epidermoid carcinoma of the anal canal. *Surg Gynecol Obstet* (1985) 161(6) 509-517
32. HEIM, S., MITELMAN, F.: *Cancer cytogenetics*. Alan R Liss Inc. (1987)
33. HEINO, P., GOLDMANN, S., LAGERSTEDT, U., DILLNER, J.: Molecular and serological studies of human papillomavirus among patients with anal epidermoid carcinoma. *Int J Cancer* (1993) 53(3) 377-381
34. HERMANEK, P. SCHEIBE, O., SPIESSL, B. (Hrsg.): *TNM-Klassifikation maligner Tumoren*, 4. Aufl. 1992 UICC Springer Berlin Heidelberg New York 96-103
35. HERZOG, U., BOSS, M., SPICHTIN, H. P.: Endoanal ultrasonography in the follow-up of anal carcinoma. *Surg Endosc* (1994) 8(10) 1186-1189
36. HIRSCH-KAUFMANN, M., SCHWEIGER, M. (Hrsg): *Biologie für Mediziner*, 2. Aufl. (1987) Stuttgart/New York. Georg-Thieme-Verlag
37. HOLMES, F., BOREK, D., OWEN-KUMMER, M., HASSANEIN, R., FISHBACK, J., BEHBEHANI, A., BAKER, A., HOLMES, G.: Anal cancer in women. *Gastroenterology* (1988) 95(1) 107-111
38. HUGHES, L. L., RICH, T. A., DELCLOS, L., AJANI, J. A., MARTIN, R. G.: Radiotherapy for anal cancer: experience from 1979-1987. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* (1989) 17(6) 1359-1361
39. IMMICH, H.: *Medizinische Statistik*. 3. Aufl. Stuttgart/New York: F.K.Schattauer Verlag, 1974

40. JASS, J. R., SOBIN, L. H.: Histological typing of intestinal tumors, 2nd edn Springer, Berlin 1989 41-47
41. KEY, G. ET AL: New Ki-67-equivalent murine monoclonal antibodies (MIB 1-3) generated against bacterially expressed parts of the Ki-67 cDNA containing three 62 base pair repetitive elements encoding for the Ki-67 epitope. Lab Investigation (1993) 629-636
42. KEY, G.: New antiserum against Ki-67 antigen suitable for double immunostaining of paraffin wax sections. J Clin Pathol (1993) 1080-1084
43. KIYABU, M. T., SHIBATA, D., ARNHEIM, N., MARTIN, W. J., FITZGIBBONS, P. L.: Detection of human papillomavirus in formalin-fixed, invasive squamous carcinoma using the polymerase chain reaction. Am J. Surg Pathol (1989) 13(3) 221-224
44. KLEIN, G., STEINER, M., WIENER, F., KLEIN, E.: Human leukemia-associated anti-nuclear reactivity Proc Nat Acad Sci (1974) 71 685-689
45. KLEINING, H., SITTE, P.: in: Zellbiologie. Gustav Fischer Verlag. 3. Aufl. (1992) 485-486
46. KLOTZ, R. G., PAMUKCOGLU, T. H., SOUILLARD, D. H.: Transitional cloacogenic carcinoma of the anal canal. Clinicopathologic study of three hundred seventy-three cases. Cancer (1967) 1727-1745
47. KUEHN, P.G., EISENBERG, H., REED, J.F.: Epidermoid carcinoma of the perianal skin and of the anal canal. Cancer (1968) 22 932-938

48. LAFERA, G.A., MACKAY, C.: Radiation induced carcinoma of the anus. *Scott Med J* (1987) 88-89
49. MASON, D.Y, GATTER, K.C.: The role of immunocytochemistry in diagnostic pathology. *J Clin Pathol* (1987) 1042-1054
50. MCCORMICK, D., YU, C., HOBBS, C., HALL, P.A.: The relevance of antibody concentration to the immunohistological quantification of cell proliferation-associated antigens. *Histopathology* (1993) 22 543-547
51. MCCORMICK, D. ET AL: Detection of the Ki-67 antigen in fixed and wax-embedded sections with the monoclonal antibody MIB 1. *Histopathology* (1993) 22 355-360
52. MELBYE, M., COTE, T.R., KESSLER, L., GAIL, M., BIGGAR, R.J.: High incidence of anal cancer among AIDS patients. The AIDS/Cancer Working Group. *Lancet* (1994) 343(8898) 636-639
53. MELBYE, M., SPROGEL, P.: Aetiological parallel between anal cancer and cervical cancer. *Lancet* (1991) 657-659
54. MELLIN, W.: DNA-Ploidie und Prognose der Adenokarzinome des oberen Gastrointestinaltraktes, Habilitationsschrift, Medizinische Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster, 1992
55. MELLIN, W., OLF, C., BOECKER, W.: DNA cytometry in gastric cancer- a comparison between static cytometry on cytologic and histologic preparations and flow cytometry. *Verh Dtsch Ges Pathol* (1990) 74 203-206

56. MELLIN, W.: Cytophotometry in tumour pathology. A critical review of methods and applications and some results of DNA-analysis. *Path Res Pract* (1990) 186 37-62
57. MICHAY, K., FRITZLER, M. J., TAN, E. M.: Autoantibody to a nuclear antigen in proliferating cells. *J Immunol* (1978) 121 2228-2234
58. MORSON, B.C., DAWSON, I.M.P.: *Gastrointestinal Pathology*, 2nd edit. Blackwell, Oxford, London, Edinburgh, Melbourne (1979)
59. ORTON, C.G., ELLIS, F.: A simplification of the NSD concept in practical radiotherapy. *Br J Radiol* (1973) 46 529-533
60. OTTO, H.F., GEBBERS, J.O.: Präkanzeröse Epitheldysplasien bei Colitis ulcerosa. Untersuchungen über die bioptischen Möglichkeiten der Früherfassung von Colitiscarcinomen. *Virchows Arch* (1978) 381 223-239
61. PACK, G.T., OROPEZA, R.: A comparative study of melanoma and epidermoid carcinoma of the anal canal: A review of 20 melanomas and 29 epidermoid carcinomas (1930 to 1965). *Dis Colon Rectum* (1967) 10 161-176
62. PALMER, J. G., SCHOLEFIELD, J.H., COATES, P.J., SHEPERD, N.A., JASS, J.R., CRAWFORD, L.V., NORTHOVER, J.M.: Anal cancer and human papillomaviruses. *Dis Colon Rectum* (1989) 1016-1022
63. PAPILLON, J.: Rectal and anal cancers. Conservative treatment by irradiation- an alternative to radical surgery. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1982)

64. PAPILLON, J., MONTBARBON, J.F., GERARD, P.: Interstitial curietherapy in the conservative treatment of anal and rectal cancers. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* (1989) 17 1161-1169
65. PENN, I.: Cancers of the anogenital region in renal transplant recipients. Analysis of 65 cases. *Cancer* (1986) 611-616
66. PETERS, R.K., MACK, T.M.: Patterns of anal carcinoma by gender and marital status in Los Angeles County. *Br J Cancer* (1983) 48(5) 629-636
67. PETRELLI, N. J., SHAW, N., BHARGAVA, A., DAUFELDT, J., HERRERA, L., STULC, J. P., SISCHY, B., MITTELMAN, A.: Squamous cell carcinoma antigen as a marker for squamous cell carcinoma of the anal canal. *J Clin Oncol* (1988) 782-785
68. PRESTON, D.M., FOWLER, E.F., LENNARD-JONES, J.E., HAWLEY, P.R.: Carcinoma of the anus in Crohn's disease. *Br J Surg* (1983) 70 346-347
69. RICHARDS, J.C., BEAHR, O.H., WOOLUER, L.B.: Squamous cell carcinoma of the anus, anal canal, and rectum in 109 patients. *Surg Gynecol Obstet* (1962) 114 475-482
70. ROSEAU, G., PALAZZO, L., COLARDELLE, P., CHAUSSADE, S., COUTURIER, D., PAOLAGGI, J.A.: Endoscopic ultrasonography in the staging and follow-up of epidermoid carcinoma of the anal canal. *Gastrointest Endosc* (1994) 40(4) 447-450
71. SAINT-MARIE, G.: A paraffin embedding technique for studies employing immunofluorescence. *J Histochem Cytochem* (1962) 250-258

72. SCHLAG, P.M., SAUER, R.: Tumoren des Gastrointestinaltraktes- Anal-Karzinom. In: Herfarth, Chr, Schlag, P: Richtlinien zur operativen Therapie maligner Tumoren. Gräfling (1989) 62-65
73. SCHLIENGER, M., KRZISCH, C., PENE, F., MARIN, J.L., GINDREY, V.B., MAUBAN, S., BARTHELEMY, N., HABRAND, J.L., SOCIE, G., PARC, R.: Epidermoid carcinoma of the anal canal, treatment, results and prognostic variables in a series of 242 cases. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* (1989) 1141-1151
74. SCHMIDT-MATTHIESEN, H.: Präkanzerosen und Karzinome der Cervix uteri. In: Schmidt-Matthiesen (Hrsg.): Gynäkologie und Geburtshilfe, 8. Aufl. Schattauer Stuttgart/ New York (1992) 462
75. SCOTT, N.A., BEART, R.W. JR, WEILAND, L.H., CHA, S.S., LIEBER, M.M.: Carcinoma of the anal canal and flow cytometric DNA analysis. *Br J Cancer* ((1989) 60(1) 56-58
76. SHEPERD, N.A., SCHOLEFIELD, J.H., LOVE, S.B., ENGLAND, J., NORTHOVER, J.M.: Prognostic factors in anal squamous carcinoma: a multivariate analysis of clinical, pathological and flow cytometric parameters in 235 cases. *Histopathology* (1990) 16(6) 545-555
77. SHI, S.R., KEY, M.E., KALRA, K.L.: Antigen retrieval in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues: an enhancement method of immunohistochemical staining based on microwave oven heating of tissue sections. *J Histochem Cytochem* (1991) 39 741-748
78. SINGH, R., NIME, F., MITTELMAN, A.: Malignant epithelial tumours of the anal canal. *Cancer* (1981) 411-415

79. STEARNS, M.W., QUAN, S.H.Q.: Epidermoid carcinoma of the anorectum. *Surg Gynecol Obstet* (1970) 131 953-957
80. SUGARBAKER, P.H., GUNDERSON, L.L., MACDONALD, J.S.: Cancer of the anal region. In: DeVita, V.T., Hellman, S., Rosenberg, S.A.(eds.) *Cancer. Principles and practice of oncology* (1982) 724-731, Lippincott, Philadelphia, Toronto
81. TANUM, G.: Diagnosis and treatment of anal carcinoma. An overview. *Acta Oncol* (1992) 31(5) 513-518
82. TANUM, G., HANNISDAL, E., STENWIG, B.: Prognostic factors in anal carcinoma. *Oncol* (1994) 51(1) 22-24
83. TANUM, G., STENWIG, A.E., BORMER, O.P., TVEIT, K.M.: Carcinoembryonic antigen in anal carcinoma. *Acta Oncol* (1992) 333-335
84. THEMEL, H.: Kinetics of lymphocytes in chronic lymphocytic leukemia: studies using continuous 3-H-thymidine infusion in two patients. *Blood* (1973) 42 623-636
85. WELCH, J.P., MALT, R.A.: Appraisal of the treatment of carcinoma of the anus and anal canal. *Surg Gynecol Obstet* (1977) 145 837-841
86. WEXNER, S.D., MILSOM, J.W., DAILEY, T.H.: The demographics of anal cancers are changing. Identification of a high-risk population. *Dis Colon Rectum* (1987) 30(12) 942-946
87. WILLETT, C.G.: Organ preservation in anal and rectal cancers. *Curr Opin Oncol* (1996) 329-333

88. WINKELMAN, J., GROSFELD, J., BIGELOW, B.: Colloid carcinoma of the anal-gland origin. Report of a case and review of the literature. Am J Clin Pathol (1964) 42 395-401
89. WOLFE, H.R.I., BUSSEY, H.J.R.: Squamous cell carcinoma of the anus. Br J Surg (1968) 55 295-301

7. DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Personen bedanken, deren Hilfe die Durchführung und Erstellung dieser Arbeit ermöglicht oder erleichtert hat.

Herrn PRIV.-DOZ. DR. MED. W. MELLIN in besonderer Weise für die Überlassung des Themas und die vorzügliche Betreuung der Arbeit.

Herrn PROF. DR. MED. W. WIERICH für die Bereitstellung von Archiv und Apparaturen

Herrn PROF. DR. MED. J. GIRONA für die gute Zusammenarbeit bei der Gewinnung des Patientenkollektivs und der Patientendaten.

Ganz herzlich bedanke ich mich bei der leitenden MTA FRAU OBERFELD für das Schneiden und Färben der histologischen Präparate.

Dank gilt allen niedergelassenen Kollegen für die Überlassung von Patientendaten.

Herrn DR. MED THOMAS GÖRLITZ danke ich für die praktische Hilfe und zahlreichen Ratschläge bei der Textverarbeitung meiner Arbeit.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei meiner Frau SUSANNE TERLAU für ihre Hilfe und Ermutigung bedanken, da ohne sie diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

8. LEBENS LAUF

Name: Meinolf Terlau
Geburtsname: Tomczak
Geburtsdatum: 08.07.1967
Geburtsort: Tirschenreuth/Oberpfalz
Vater: Dieter Tomczak, Forstoberamtsrat
Mutter: Marietheres Tomczak, Büroangestellte
Familienstand: verheiratet, zwei Kinder
Ehefrau: Susanne Terlau, Apothekerin
Schulausbildung: 1978-1979 Städtisches Gymnasium Troisdorf
1979-1987 Missionshaus St. Xaver Bad Driburg
Schulabschluß: Juni 1987 Abitur
Wehrdienst: 1987-1988
Hochschule: 03.10.1988-19.06.1995 Studium der Humanmedizin an
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster
Bestandene Prüfungen: 8.90 ärztliche Vorprüfung (Münster)
8.91 erster Teil der ärztlichen Prüfung (Münster)
3. 94 zweiter Teil der ärztlichen Prüfung (Münster)
5.95 dritter Teil der ärztlichen Prüfung (Paderborn)
AiP: 01.07.1995-31.12.1996 in der urologischen Klinik des
Knappschaftskrankenhauses Bergmannsheil-Buer
Weiterbildung: 01.12.1997-31.3.1999 als Weiterbildungsassistent in der
chirurgischen Abteilung des St. Marien-Krankenhauses
Vreden
Seit dem 01.04.1999 als Weiterbildungsassistent in der Abteilung für
Urologie und Kinderurologie des St. Borromäus-Hospitals in Leer

Leer, den 03.10.2003

(Meinolf Terlau)

