

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Gerhard-Domagk-Institut für Pathologie
-Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Werner Böcker-

**Immunohistochemische Untersuchung zur Expression von
Mastzelltryptase an Beckenkammbiopsien bei Mastozytose**

INAUGURAL - DISSERTATION

zur

Erlangung des doctor medicinae dentinum

der Medizinischen Fakultät

der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von Schulz, Thomas

aus Castrop-Rauxel

2007

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-
Universität Münster

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Heribert Jürgens

1. Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. med. Gabriele Köhler
2. Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. med. Thomas Büchner

Tag der mündlichen Prüfung: 28.06.07

Zusammenfassung

Aus dem Universitätsklinikum Münster
Gerhard-Domagk-Institut für Pathologie
- Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Werner Böcker-
Referent: Univ.-Prof. Dr. med. Gabriele Köhler
Koreferent: Univ.-Prof. Dr. med. Thomas Büchner

ZUSAMMENFASSUNG

Immunohistochemische Untersuchung zur Expression von Mastzelltryptase an Beckenkammbiopsien bei Mastozytose

Thomas Schulz

In der vorliegenden Studie wurden Knochenmarkpräparate von insgesamt 57 Patienten berücksichtigt, wobei 24 keine systemische Mastozytose, und 33 eine systemische Mastozytose in den konventionellen Färbungen aufwiesen. Im untersuchten Patientenkollektiv konnten keine Abweichungen von den Angaben der WHO, bezüglich der Alters- und Geschlechterverteilung bei systemischer Mastozytose, festgestellt werden.

Durch die Mastzelltryptase, eine Serinprotease, die fast ausschließlich in menschlichen Mastzellen vorkommt und in allen Stadien der Mastzelle gebildet wird, ist ein sehr spezifischer Nachweis von Mastzellen und damit der systemischen Mastozytose möglich. Bei der Korrelation von konservativen Färbungen an Beckenkammbiopsien bei Patienten mit systemischer Mastozytose und ohne systemische Mastozytose aus dem Zeitraum zwischen 1993 und 2003, und den neu angefertigten, immunohistochemischen Färbungen der Mastzelltryptase, findet sich eine Übereinstimmung der Diagnosen in 97 % bei Patienten mit systemischer Mastozytose, und in 95,8 % bei Patienten ohne systemische Mastozytose. In jeweils einem Patientenfall konnte die anhand von konventionellen Färbungen erstellte Diagnose, immunohistochemisch nicht bestätigt werden.

Bei einer durchschnittlichen Beckenkammstanzlänge von 1,4 cm und einer durchschnittlichen Anzahl von 1,7 Infiltraten pro 1 cm Stanzlänge, konnte in den Präparaten das Hauptkriterium nach WHO zur Diagnose einer systemischen Mastozytose gefunden werden.

Die Korrelation der histopathologischen Befunde und der zytologischen Knochenmarksbefunde ergab bei den Patienten mit systemischer Mastozytose eine Übereinstimmung in 80 % der Fälle, bei Patienten ohne systemische Mastozytose lag die Übereinstimmung der Befundung bei 75 %. Die histologische Beurteilung des Knochenmarkes erbringt gegenüber der zytologischen, bei ausreichender Stanzlänge, eine sichere Diagnose einer systemischen Mastozytose.

Tag der mündlichen Prüfung: 28.06.2007

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	6
1.1	Allgemeine Grundlagen	6
1.2	Erstbeschreibung und Definitionen der Mastozytose	8
1.3	Klassifikationen der Mastozytose nach WHO	9
1.4	Kriterien der Diagnose	10
1.5	Ätiologie	11
1.6	Epidemiologie	11
1.7	Ziele und Fragestellung dieser Studie	11
2.	Material und Methoden	13
2.1	Studienpopulation (Patientenkollektiv)	13
2.2	Standardfärbungen	15
2.3	Immunohistochemische Färbemethode	16
2.4	Vorgehen bei der Auswertung der Schnittpräparate	17
2.5	Patientendaten der Hautklinik Münster	18
3.	Ergebnisse	21
3.1	Epidemiologische Verteilung der untersuchten Patienten	21
3.2	Vergleich der konventionellen Beckenkammfärbungen zur Mastozytosedignose und dem immunohistochemischen Nachweis der Mastzelltryptase	22
3.3	Auswertung der Verteilung von Mastzellen in den immunohistochemischen gefärbten Beckenkammstanzpräparaten	27
3.4	Korrelation der Befunde des Gerhard-Domagk-Institutes und der Hautklinik Münster bei Mastozytosepatienten	29
4.	Diskussion	30
4.1	Epidemiologische Verteilung der systemischen Mastozytose	30
4.2	Unterschiede der Nachweisverfahren bei systemischer Mastozytose	30
4.3	Verteilung der Mastzellen in den immunohistochemisch gefärbten Präparaten	32
4.4	Unterschiede der Befunde des Gerhard-Domagk-Institutes und der Hautklinik Münster	33
5.	Literaturverzeichnis	35
6.	Danksagung	41
7.	Lebenslauf	42

1. Einleitung

1.1 Allgemeine Grundlagen

Die Mastozytose stellt eine heterogene Gruppe einer hämatologischen Erkrankung dar, welche durch eine abnorme Größe und Akkumulation von Mastzellen in unterschiedlichen Geweben und Organen charakterisiert ist [27, 38]. Dabei ist zwischen der kutanen und der systemischen Mastozytose zu unterscheiden. Bei der kutanen Mastozytose kommt die Mastzellproliferation und Akkumulation nur in der Haut vor. Eine abnorme Vermehrung von Mastzellen in mindestens einem extrakutanen Organ, ohne oder mit einhergehender kutaner Mastozytose, sind die Kennzeichen einer systemischen Mastozytose [10, 38].

Zu unterscheiden ist zwischen einer benignen und malignen Form der Mastozytose, wobei ein Übergang der benignen in die maligne Form möglich ist. In der benignen Form sind die klinischen Symptome entweder auf die Haut in Form von bräunlich, rötlichen Knötchen beschränkt, oder reflektieren die systemische Mastozytose. Maligne Formen, wie das Mastzellsarkom und Mastozytose mit Leukämie sind sehr selten und treten plötzlich auf, oder entwickeln sich aus einer langjährig verlaufenden, benignen Form der Mastozytose [20].

Als klinisches Symptom tritt bei den Patienten mit Mastozytose nach dem Reiben an den betroffenen Stellen der Haut eine Rötung und juckende Schwellung auf, die als „Darier Sign“ bezeichnet wird.

Die klinische Manifestation der Mastozytose reicht von Hautläsionen, welche sich spontan zurückbilden können, bis zu aggressiven Neoplasien mit systemischer Beteiligung und kurzen Überlebenszeiten. Anaphylaktische Schockzustände können in seltenen Fällen [28] auch auf eine Mastozytose zurückgeführt werden. Anhand von Probeexzisionen der Haut und durch Beckenkammstanzen, welche der Untersuchung des Knochenmarks dienen und histologisch untersucht werden, sowie Urin-beziehungsweise Blutuntersuchungen hinsichtlich der vorhandenen Menge an Serumtryptase, wird die Diagnose der Mastozytose gestellt.

Auf den Mastzellen befinden sich Wachstumsrezeptoren, die kit Rezeptoren genannt werden. Diese Rezeptoren sind dafür verantwortlich, daß sich die Zellen vermehren und ihre Inhaltstoffe ausschütten, wenn sich der Stammzellofaktor SCF an diesen Rezeptor bindet. Zu diesen Inhaltsstoffen (Mediatoren) gehört unter anderem das Histamin, welches für die klinischen Symptome der Mastozytose verantwortlich ist. Die Patienten mit systemischer Mastozytose zeigen alle eine somatische Punktmutation in c-kit, einem Protoonkogene, das die Rezeptor-Tyrosinkinase codiert, dem Rezeptor für den Stammzellofaktor. Diese Mutation spielt zweifelsfrei eine Rolle in der Pathogenese der systemischen Mastozytose, und bietet so auch eine Angriffsmöglichkeit in der Entwicklung neuer spezifischer Therapien [38].

Die weitgehend symptomatische Behandlung der systemischen Mastozytose richtet sich nach den individuell vorherrschenden Beschwerden und deren Intensität [39]. Die wichtigste Maßnahme besteht darin, bekannte Faktoren zu vermeiden, die eine Freisetzung von Mediatoren aus Mastzellen auslösen können. Neben Insektengiften, Nahrungsmitteln (wie Nüsse oder Hühnerei [22]) und bestimmten Medikamenten (wie Acetylsalicylsäure oder Morphin [30]) kommen auch physikalische und psychische Belastungen in Betracht. Die Gabe von beruhigend wirkenden Antihistaminika ist als Therapie bewährt. Neben der Vermeidung der Triggerung der Mastzellendegranulation ist die Hemmung der Freisetzung der Mastzellenmediatoren sowie die Behandlung der durch diese Mediatoren verursachten Symptome die Basis der medikamentösen Therapie.

Eine optimale Therapie stellt die Hemmung der übermäßigen Proliferation der Mastzellen dar. Dies kann derzeit durch eine Dauertherapie mit Ciclosporin oder Glucocorticoiden versucht werden. Bei therapieresistenten aggressiven Verläufen ist der Einsatz von Interferon α -2b zu erwägen. Die Erfolge einer solchen Therapie sind jedoch unsicher ([3], [6]). Zwar ließ sich in einigen Fällen ein Rückgang der Mastzellenzahl objektivieren; dieses war jedoch nicht immer von einer Besserung der klinischen Symptomatik begleitet. Von nur fraglichem therapeutischem Wert ist der Einsatz von Zytostatika [39].

Am erfolgreichsten war nach Literaturberichten in einigen Einzelfällen die Gabe von 2-Chloro-desoxyadenosin [15]. Solche zytostatischen Therapieansätze können jedoch zu

schwerwiegenden Nebenwirkungen führen, so daß immer eine individuelle Nutzen-Risiko-Analyse zu erfolgen hat und eine derartige Therapie nur als ultima ratio erfolgt.

1.2 Erstbeschreibung und Definitionen der Mastozytose

Um 1878 war es Paul Ehrlich (1854–1915), der den Begriff „Mastzellen“ erstmals im Rahmen seiner Arbeit: „Beiträge zur Theorie und Praxis der histologischen Färbung“, erwähnte. In dieser Studie grenzte er die Mastzellen auf der Basis ihrer färberischen Eigenschaften aus der Gruppe der Waldeyer-Plasmazellen ab.

Ehrlich entdeckte bei den Mastzellen, nachdem er sie mit Anilin behandelte, einen Farbumschlag von blau nach violett. Diese als Metachromasie bezeichnete Färbeeigenschaft beruht auf dem Vorhandensein von basophilen Granula. Aus seiner Sicht waren die mit Granula gefüllten Mastzellen eine Weiterentwicklung der fixen Bindegewebszellen, die sich durch die Anwesenheit eines chemischen Stoffes charakterisieren ließen. Ehrlich sah darin die Folge eines lokal gesteigerten Ernährungszustandes, so daß ihm die Bezeichnung „Mastzellen“ als angemessen erschien [4].

Definition aus dem Jahr 1992 :

Die Mastozytose ist eine lokale oder systemische Proliferation von Mastzellen. Klare maligne Formen erscheinen als lokaler Tumor (Mastzell-Sarkom) oder als maligne systemische Mastozytose mit Leukämie. Bei der systemischen Mastozytose wird als Ursprungszelle die hämatopoietische Stammzelle angenommen [20].

Definition nach WHO aus dem Jahr 2000 :

Die Mastozytose ist eine Proliferation von Mastzellen und deren Akkumulation in einem oder mehreren Organen. Mastzellen entstehen aus haematopoietischen Progenitorzellen, folglich ist die Mastozytose eine haematopoietische Erkrankung. Die Manifestation der Mastozytose ist heterogen, und reicht von Hautläsionen, die sich spontan wieder zurückbilden können, bis zu hochgradig aggressiven Neoplasien mit multisystemischer Beteiligung und kurzen Überlebenszeiten der Betroffenen.

Bei der kutanen Mastozytose ist die Mastzellproliferation auf die Haut beschränkt. Die systemische Mastozytose ist durch die Beteiligung von mindestens einem extrakutanen Organ gekennzeichnet, ohne oder mit einhergehender Mastozytose im peripheren Blut [38].

1.3 Klassifikation der Mastozytose nach WHO

Die aufgeführte histologische Klassifikation der Mastozytose wurde im Jahr 2000, auf einer Konferenz in Wien von Experten auf dem Gebiet der Mastozytose erstellt, und ist von der WHO anerkannt [38].

- 1. Kutane Mastozytose**
- 2. Indolente systemische Mastozytose**
- 3. Systemische Mastozytose mit assoziierter klonaler, nicht haematologisch bestätigter Mastzell-Erkrankung**
- 4. Aggressive systemische Mastozytose**
- 5. Mastzelleukämie**
- 6. Mastzellsarkom**

1.4 Kriterien der Diagnose

Kutane Mastozytose:

Hautläsionen sind typisch für die klinischen Kennzeichen einer Urticaria pigmentosa, einer diffusen kutanen Mastozytose und eines solitären Mastozytoms. Histologisch ist eine Infiltration von Mastzellen in einer multifokalen oder diffusen Anordnung zu erkennen.

Systemische Mastozytose:

Hauptkriterium:

Das Hauptkriterium der systemischen Mastozytose ist das Vorhandensein von multifokalen Infiltraten mit Mastzellen (es müssen Zellnester von 15 oder mehr Mastzellen sein) in einem extrakutanen Organ oder im Knochenmark. Dabei sind die Mastzellen spindelförmig und haben einen runden bis ovalen Zellkern, wobei das Zytoplasma dicht mit Granula gefüllt ist. Dieser Befund sollte durch immunohistochemische oder andere, spezielle Färbungsmethoden bestätigt werden.

Nebenkriterien :

- a) In den Biopsien des Knochenmarks oder anderen extrakutanen Organen sind mehr als 25 % der Mastzellen spindelförmig oder zeigen eine atypische Morphologie.
- b) Der Nachweis der kit-Punkt Mutation am Kodon 816 im Knochenmark, Blut oder anderen extrakutanen Organen.
- c) Mastzellen im Knochenmark, Blut oder anderen extrakutanen Organen die eine Koexpression von CD117 mit CD2 und/oder CD25 aufweisen.
- d) Wenn der Wert der Serumtryptase über 20 ng/ml persistiert.

Die Diagnose Mastozytose kann als gesichert angesehen werden, wenn ein Hauptkriterium und ein Nebenkriterium, oder drei Nebenkriterien erfüllt sind [38].

1.5 Ätiologie

Die Ursachen bzw. Gründe, die zur Entstehung der Mastozytose führen, sind bisher unbekannt. Es gibt nur sehr wenige Fälle, in denen die Mastozytose familiär gehäuft aufgetreten ist [38].

1.6 Epidemiologie

Die Mastozytose ist eine haematopoietische Erkrankung, die in jedem Lebensalter auftreten kann. Allerdings ist zu Erwähnen, das die kutane Mastozytose am häufigsten bei Kindern auftritt, und schon bei der Geburt vorhanden sein kann. Nach Literaturangaben zeigen 80 % der betroffenen Kinder Hautläsionen nach etwa sechs Monaten. In den meisten Fällen kommt es dann zu einer Spontanheilung im Alter von etwa 20 Jahren. Tritt die kutane Mastozytose im fortgeschrittenen Alter auf, ist eine Spontanheilung nicht zu erwarten [20]. Bei Erwachsenen tritt die systemische Mastozytose am häufigsten nach der dritten Lebensdekade auf. Es gibt keine Hinweise, daß die systemische Mastozytose häufiger bei Männern oder Frauen vorkommt, das Verhältnis von erkrankten Männern und Frauen variiert von 1:1 bis 1:3 [38].

1.7 Ziele und Fragestellung dieser Studie

Zur histopathologischen Diagnosefindung bei Patienten mit Verdacht auf, bzw. mit einer bestehenden kutanen oder systemischen Mastozytose war es bis zum Jahr 2000 üblich, den histologischen Nachweis einer systemischen Mastozytose über Beckenkammstanzen mit sogenannten konventionellen Färbeverfahren durchzuführen

(siehe unter Punkt 2.1 Standardfärbungen). Während der letzten Jahre wurde eine Vielzahl an zellspezifischen, zytochemischen und immunohistochemischen Markern für die Identifikation von haematopoietischen Zellen und deren Erkrankungen benutzt, um die Diagnosestellung zu erleichtern [18]. Mit der Einführung des immunohistochemischen Nachweises der Mastozytose durch die Mastzelltryptase, ist seit einigen Jahren ein sehr spezifischer Nachweis möglich (siehe unter Punkt 2.2 immunohistochemische Färbemethode).

Eine Frage, die sich stellte war, ob sich bei den am Gerhard-Domagk-Institut für Pathologie untersuchten Beckenkammstanzpräparaten von Patienten mit klinischer Mastozytose und histologisch am Knochenmark nachgewiesener oder nicht bestätigter systemischer Mastozytose, aus den Jahren 1993 bis 2000, Abweichungen in der Diagnose durch die neu angefertigten, immunohistochemischen Färbungen von den Standardfärbungen hinsichtlich der Diagnose ergeben. Somit läßt sich die diagnostische Wertigkeit der immunohistochemischen Mastzelltryptase-Untersuchung gegenüber den konventionellen Färbungen evaluieren.

Weiterhin sollte bei dieser Untersuchung die Alters- und Geschlechterverteilung der Patienten aus dem Einsendegebiet des Gerhard-Domagk-Institutes erfaßt, und mit den Angaben der Literatur verglichen werden. Die Auswertung der Verteilung und der Anzahl von Mastzellen in den Infiltraten der immunohistochemisch gefärbten Schnittpräparate von Beckenkammstanzbiopsien sollte analog der Angaben zur histologischen Befundung der systemischen Mastozytose nach WHO erfolgen.

Des weiteren wurde die Verteilung und Anzahl von Mastzellinfiltraten pro cm Präparatlänge an den immunohistochemisch gefärbten Präparaten, und die Anzahl der Mastzellen in den Infiltraten ermittelt, und mit den Angaben zur Befundung der WHO [38] verglichen.

Ein weiteres Ziel dieser Studie ist es, die klinischen Befunde der Klinik und Poliklinik für Hautkrankheiten Münster, und die pathohistologischen Präparate des Gerhard-Domagk-Institutes für Pathologie zu korrelieren.

2. Material und Methoden

2.1 Studienpopulation (Patientenkollektiv)

Zu Beginn der Studie wurden in der hauseigenen Datenbank des Gerhard-Domagk-Institutes für Pathologie unter dem Suchbegriff „Mastozytose“ und „systemische Mastozytose“, alle daraufhin untersuchten Fälle aus den Jahren 1993 bis 2003 herausgesucht. Nach Durchsicht der Patientendaten und Unterteilung der Fälle in Patienten ohne systemische Mastozytose und mit systemischer Mastozytose, wurden alle im Archiv des Institutes gelagerten Schnittpräparate, die vom Beckenkamm der Patienten stammen, herausgesucht und in einer Tabelle erfaßt. Insgesamt ergab sich so zunächst eine Studienpopulation von 90 Patienten, wobei 60 Patienten eine systemische Mastozytose aufwiesen, und 30 Patienten keine Knochenmarksbeteiligung erkennen ließen.

Die gefundenen Diagnosen ordneten sich entsprechend der WHO-Klassifikation der kutanen Mastozytose und der systemischen Mastozytose (siehe unter Punkt 1.3) zu, maligne Formen der Mastozytose fanden sich im untersuchten Kollektiv nicht.

Bei den herausgesuchten Fällen zeigte sich, daß in den Jahren 1993 bis 2000 immer alle Standardfärbungen (siehe unter Punkt 2.2) durchgeführt wurden, aber ein immunohistochemischer Nachweis durch die Mastzelltryptase erst ab dem Jahr 2001 (unregelmäßig) zusätzlich zu den Standardfärbungen hinzugezogen wurde.

Durch das nachträgliche Herstellen von immunohistochemischen Färbungen, also dem Anfärben von neu erstellten Schnittpräparaten aller Patienten zum immunohistochemischen Nachweis der Mastzelltryptase, sollten die Diagnosen, die anhand der Standardfärbungen gestellt wurden, überprüft werden. Aus diesem Grund war es nötig, alle eingebetteten Beckenkammstanzen zu den entsprechenden Fällen der Patienten mit und ohne systemische Mastozytose aus den Jahren 1993 bis 2003 aus dem Archiv des Pathologischen Institutes herauszusuchen, und sie durch die, unter Punkt 2.3 aufgeführte Methode, zu färben.

Nach dem Heraussuchen der eingebetteten Präparate stellte sich heraus, daß ein großer Anteil der Präparate nicht in Paraffin eingebettet worden war, sondern in Kunststoff. Hierunter fielen 28 der 60 Patientenfälle mit systemischer Mastozytose und 6 der 30 Patientenfälle ohne systemische Mastozytose in beiden Gruppen waren die Jahre 1993 bis 1995 betroffen). Im Jahre 1996 wurde offensichtlich am Gerhard-Domagk-Institut die Bearbeitungstechnik für Beckenkammbiopsien von der Kunststoffeinföbung auf die auch heute noch übliche Paraffineinföbung umgestellt. Da immunohistochemische Färbungen an Schnittpräparaten aus Kunststoffblöcken im Gerhard-Domagk-Institut nicht etabliert sind, können diese Fälle für weitere immunohistochemische Färbungen nicht herangezogen werden. Auch ist nach Literaturberichten eine immunohistochemische Untersuchung an Kunststoffpräparaten nur sehr eingeschränkt möglich.

Insgesamt wurden so aus den Jahren 1995 bis 2003, 57 Patienten mit der klinischen Verdachtsdiagnose der systemischen Mastozytose herausgesucht, und in zwei Gruppen aufgeteilt. In der einen Gruppe befanden sich nun 24 Patientenfälle, bei denen der klinische Verdacht der systemischen Mastozytose nicht bestätigt worden war, und in der anderen befanden sich 33 Patientenfälle mit einer histologisch gesicherten systemischen Mastozytose. Diese Studienpopulation diente als Grundlage der weiteren Untersuchungen. Es folgte die Herstellung von Schnittpräparaten von allen Paraffinblöcken, die daraufhin einer immunohistochemischen Untersuchung zum Nachweis von Mastzelltryptase unterzogen wurden.

	Geschlecht		Gesamt
	weiblich	männlich	
Systemische Mastozytose	17	16	33
Keine systemische Mastozytose	15	9	24
Gesamt	32	25	57

Tabelle 1: Patienten (Studienpopulation) nach Geschlecht und Diagnose

2.2 Standardfärbungen

Zu den Standardfärbungen zum Nachweis der Mastozytose gehören die Silberimprägnation nach Gomori, Giemsa-Färbung, Berlinerblau-Färbung und der Nachweis über die Naphtol-AS-D-Chlorazetatesterase (NACE). Die Färbungen wurden an 5µm dicken Paraffinschnitten durchgeführt.

Silberimprägnation nach Gomori:

Zuverlässig und schnell arbeitet die Modifikation von Gomori (1937), die an formalinfixiertem Material, wie auch nach den anderen üblichen Fixiermethoden, gute Resultate liefert [24].

Färbung mit Giemsa-Lösung:

Die Färbung liefert Ergebnisse, wie sie von den Blutaussstrichen bekannt sind [24]. Als Ergebnis der Färbung werden die Zellkerne und die anderen basophilen Strukturen blau, die acidophilen Strukturen orangerot dargestellt [5]. Metachromatische Granula sind in den Mastzellen nicht zu erkennen [10].

Berlinerblau-Färbung (Eisennachweis):

Die von Perls bereits 1867 eingeführte Reaktion ist ein histochemischer Nachweis für dreiwertiges Eisen. Gomori (1936) empfiehlt eine Vorbehandlung der Schnitte mit Ferrozyanlösung vor Anwendung des eigentlichen Reagens (Ferrozyanid-HCL), da die Diffusion der Ferrozyanidmoleküle nur langsam erfolgt [24].

Dreiwertiges Eisen wird durch hellblaue Körnchen angezeigt, während Hintergrund und Zellkerne der Gegenfärbung entsprechen. Am besten eignen sich in Formalin fixierte Präparate. Es ist günstig, die Reaktion bei 37 °C auszuführen, da die Farbstoff-Niederschläge dann schärfer definiert sind [24].

Naphtol-AS-D-Chlorazetatesterase (NACE):

Abgesehen vom Vorkommen in neutrophilen Granulozyten und Monozyten ist die Naphtol-AS-D-Chlorazetatesterase regelmäßig in den Granula von Gewebsmastzellen in hoher Aktivität nachweisbar, wobei das Enzym bereits in einem frühen Entwicklungsstadium der Mastzellen zu beobachten ist und besonders zur Identifizierung meist mindergranulierter Mastzellen bei systemischer Mastozytose beitragen kann. Tumorbildende Mastzellen zeichnen sich dadurch aus, daß die positiv angefärbten Granula meist in der Peripherie dieser Zellen zu finden sind [23].

2.3 Immunohistochemische Färbemethode

Die in Münster angewandte immunohistochemische Methode ist die LSAB (markiertes Streptavidin-Biotin-)-Methode, und wird in einem dreistufigen Verfahren eingesetzt, bei dem der erste Schritt in der Inkubation des Gewebes mit einem optimal verdünntem, von der Firma Dako Cytomation GmbH, Hamburg zur Verfügung gestelltem, primären monoklonalen Maus-Antikörper besteht. Der zweite Schritt ist die Inkubation mit dem biotinylierten zweiten Antikörper und der dritte die Inkubation mit dem Streptavidin-Enzym-Konjugat. Die Reaktion wird schließlich mit Red Chromogen visualisiert. Das Verfahren läuft in folgender Sequenz ab [1]:

- 1) Maus- Primärantikörper
- 2) Anti-Maus-Immunoglobuline, biotinyliert.
- 3) Streptavidin-Enzym-Konjugat

Die Farbreaktion geschieht mit einem geeigneten Substrat-Chromogen. Obwohl für den Routinegebrauch eine relativ kurze Inkubationszeit von 10 Min. allgemein empfohlen wird, kann durch 30 minütige Inkubation mit diesen Reagenzien (insbesondere mit dem Primärantikörper) eine wesentliche Sensitivitätssteigerung erzielt werden [1].

Die Gewebebiopsien werden wie folgt bearbeitet:

- 1) Das Gewebe wird mit einer Formalinlösung (4 %) fixiert.

- 2) Es folgt die Einbettung mit Paraffin.
- 3) Die Paraffinblöcke werden mit dem Mikrotom in 3µm Scheiben geschnitten und auf Superfrost Plus Objektträger gelegt.
- 4) Trocknung der Präparate über Nacht bei 56 °C.
- 5) Die Präparate werden mit einem Xylol-Lösungsmittel 2 mal 10 Min. entparaffiniert.
- 6) Anschließend kommen die Präparate in eine absteigende Alkoholreihe von 99 % bis 70 % und danach in Aqua dest. .
- 7) Es folgt nach der Epitopdemaskierung im Mikrowellenofen die Behandlung im Dako Autostainer mit der oben beschriebenen LSAB-Methode.
Die Notwendigen Reagenzien stammen aus dem ChemMate Dedication Kit.
- 8) Bläuen der Schnitte unter fließendem Wasser für 5 Minuten.
- 9) Aufsteigende Alkoholreihe von 70 % bis 99 %
- 10) Abschließend wird das Präparat noch mit Xylol behandelt und mit einem Eindeckmedium und einem Eindeckglässchen bedeckt.

2.4 Vorgehen bei der Auswertung der Schnittpräparate

Um die Verteilung von Mastzellen untersuchen zu können, wurden von allen Paraffinblöcken der 33 Patienten mit nachgewiesener systemischer Mastozytose Schnittpräparate angefertigt und immunohistochemisch zur Darstellung der Mastzelltryptase gefärbt (das Verfahren ist unter Punkt 2.3 aufgeführt).

Da die durchschnittliche Anzahl an Mastzellinfiltraten und Anzahl an Mastzellen in den Infiltraten bestimmt werden sollte, war es zunächst notwendig, eine gemeinsame Grundlage für einen Vergleich bei allen Präparaten zu schaffen.

Aus diesem Grund wurde die Länge der Präparate gemessen, um die Anzahl der Mastzellinfiltrate pro cm Präparatlänge angeben zu können. Die Präparate wurden meandrierend nach Infiltraten durchsucht, und die Mastzellen in diesen numerisch erfaßt.

Daraufhin wurde die durchschnittliche Menge an Mastzellinfiltraten pro cm für jedes Präparat ausgerechnet, und diese Anzahl in Bezug zur Häufigkeit in einem Diagramm

dargestellt. Die Anzahl von Mastzellen in den Infiltraten wurde ebenfalls im Bezug zur Häufigkeit dargestellt (siehe unter Punkt 3.3, Abb. 9 und 10).

Als Grundlage der Untersuchungen zur Verlässlichkeit der Mastzelltryptase Färbung diente das BX51M Systemmikroskop der Firma Olympus. Bei den zur Verfügung stehenden Mikroskopieverfahren, wurde mit dem Auflicht /Hellfeld Verfahren gearbeitet.

Die Nenn-Eingangsspannung lag bei 100-120 V/220-240 V ~, 1,8 A/0,8 A, 50/60 Hz, wobei der Spannungsbereich für die Helligkeit stufenlos zwischen 1,0 bis 12,0 regelbar war. Der Vorwahlschalter für die Helligkeitsregelung wurde auf eine optimale Helligkeitsstufe für die Fotografien eingestellt (ca 9 V bei der Markierung für die Benutzung des Fotoapparates).

Im Objektrevolver des Lichtmikroskop waren für die Untersuchungen Objektive mit den Vergrößerungen von 4x/0.13, 10x/0.30 und 20x/0.50 vorhanden.

Die letztere ergab zusammen mit dem Okular, welches eine 10 - fache Vergrößerung hatte, eine maximale Vergrößerung von 200, die sich aus der Multiplikation der Vergrößerung des Objektivs mit der des Okkulars [5] ergibt. Die quantitative Auswertung der histologischen Schnitte erfolgte mit einem 20ger Objektiv.

2.5 Patientendaten der Hautklinik Münster

Bei den, aus dem Archiv der Klinik und Poliklinik für Hautkrankheiten Münster zusammengestellten Daten, handelt es sich um klinische und histologische Befunde von 53 Patienten. Diese wurden im Rahmen der Mastozytose Untersuchungen in der dermatologischen Ambulanz der Hautklinik Münster und im Gerhard-Domagk-Institut für Pathologie erhoben, und uns freundlicherweise von Herrn PD Dr. Randolph Brehler zur Verfügung gestellt.

Um die Qelldateien der Hautklinik Münster und des Pathologischen Institutes miteinander korrelieren zu können, erfolgte zunächst das Abgleichen der Patientendaten hinsichtlich der Namen und Geburtsdaten. Dabei stellte sich heraus, daß nicht alle

Patienten in den Quelldateien des Pathologischen Institutes und der Hautklinik vorkamen, bzw. übereinstimmten. So verringerte sich die Anzahl der Patienten, von denen sowohl klinische Befunde der Hautklinik, als auch histopathologische Befunde des Gerhard-Domagk-Institutes vorlagen, auf 25. Von diesen 25 Patienten hatten 12 eine histologisch gesicherte systemische Mastozytose, und bei 13 Patienten konnte eine systemische Mastozytose im Knochenmark nicht diagnostiziert werden.

Das Durchschnittsalter der untersuchten Patienten der Hautklinik lag bei etwa 45,2 Jahren, wobei der jüngste Patient 27 Jahre alt, und der älteste 69 Jahre alt war, somit bestand ein Altersmedian von 42 Jahren.

Da die histopathologischen Untersuchungen in der dermatologischen Ambulanz zeitlich immer direkt aufeinander folgten, ist die Grundlage für eine wissenschaftliche Auswertung in Form einer Korrelation gegeben.

In der Tabelle der Hautklinik waren neben den Namen, Geburtsdaten und Vorstellungsdaten, die Tryptasewerte des Blutserums der Patienten mit und ohne systemischer Mastozytose aufgeführt, die normalerweise bei 20 µg/l liegen [27]. Die Werte der ermittelten Serumtryptase variierten zwischen 22,2 µg/l und 173 µg/l. Des Weiteren wurde aufgeführt, ob die zytologischen und die histologischen Untersuchungen des Knochenmarkes stattfanden, unauffällig oder pathologisch waren.

Neben der Untersuchung des Knochenmarkes fand auch in den meisten Patientenfällen die histologische Begutachtung der von Mastozytose betroffenen Hautstellen statt.

Hierbei wurde ebenfalls unterschieden, ob das Ergebnis unauffällig oder pathologisch war. Schließlich war noch die Diagnose der Patienten aufgeführt, welche in die kutane Mastozytose, die systemische Mastozytose, beziehungsweise in das nicht Vorhandensein einer Mastozytose eingeteilt war.

Die Tabelle der Befunddaten aus der Hautklinik hatte folgenden Aufbau:

Name	Geb. Datum	Vorstellung am:	Tryptase ($\mu\text{g/l}$)	KM Zytologie 0=nicht gelaufen; 1=unauffäl. 2=pathol.	KM Histologie 0=nicht gelaufen; 1=unauffäl. 2=pathol.	Histo Haut 0=nicht gelaufen; 1=unauffäl. 2=pathol.	Masto Zytose 0=nein 1=kM 2=sM
------	---------------	--------------------	---------------------------------	---	--	---	---

Tabelle 2 : Aufbau der Tabelle der Hautklinik Münster

KM = Knochenmark

kM = kutane Mastozytose

sM = systemische Mastozytose

3. Ergebnisse

3.1 Epidemiologische Verteilung der untersuchten Patienten

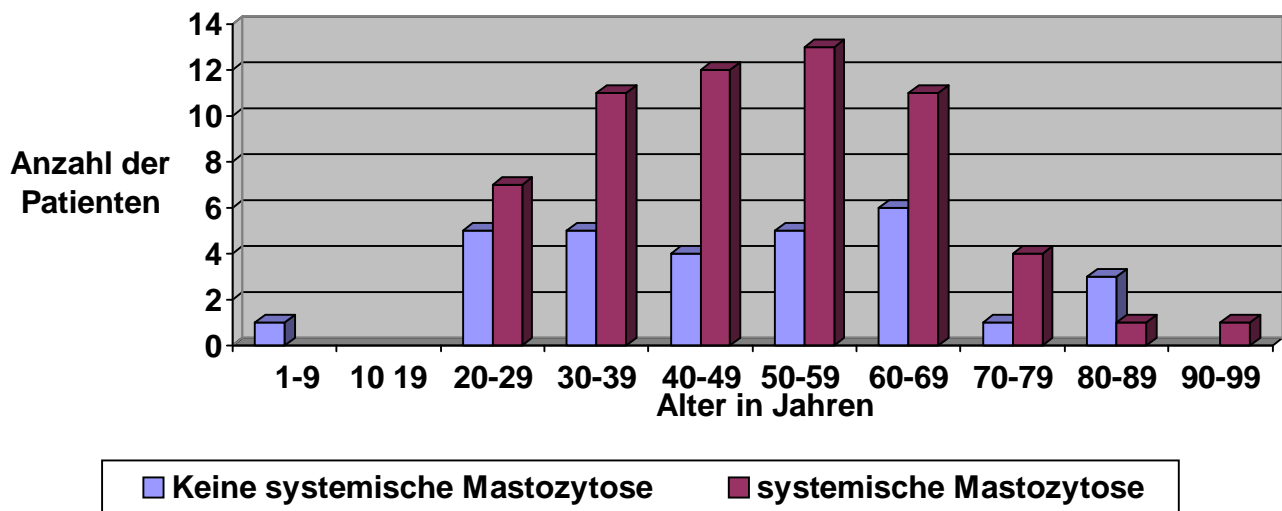


Abb. 1 : Balkendiagramm, Anzahl der Patienten und Alter

Patienten ohne systemische Mastozytose: Geschlecht: männlich: 12
weiblich : 18

Patienten mit systemischer Mastozytose : Geschlecht: männlich:30
weiblich: 30

Die Daten für das Balkendiagramm ergeben sich aus dem Zeitraum von 1993 bis 2003 aus untersuchten Schnittpräparaten von Beckenkammstanzen, die aufgrund der Verdachtsdiagnose der systemische Mastozytose angefertigt wurden.

Insgesamt wurde bei 90 Personen in diesem Zeitraum das Knochenmark histologisch mit konventionellen Färbungen untersucht. Die graphische Darstellung basiert auf Daten der Befunddatei des Gerhard-Domagk-Institutes.

Die Diagnose der Mastozytose ist klinisch schwer zu stellen, weil sie in einer sehr großen Variation von klinischen Bildern auftreten kann. Durch das ausgeschüttete Histamin der Mastzellen kommt es zu zahlreichen Symptomen wie Quaddeln, Juckreiz

und Rötung. Aus diesem Grund wurde die Verdachtsdiagnose nur in 66 % der Patientenfälle bestätigt. Das klinische Bild der Haut präsentiert sich meist mit rot-braunen Knötchen, die, wenn sie gerieben werden, sich zu Quaddeln ausbilden und sogar Bläschen bilden können.

Das oben aufgeführte Balkendiagramm soll einen Eindruck über die Häufigkeit und Verteilung der Erkrankung hinsichtlich des Alters sowie auch über die Verdachtsfälle der systemischen Mastozytose geben. Die Verteilung bei den Fällen mit systemischer Mastozytose ähnelt der gaus'schen Verteilung, wobei die größte Anzahl der Patienten zwischen dem 50. und 59. Lebensjahr, und die meisten Patienten zwischen 30 und 70 Jahre alt waren. Auffällig ist auch, daß kein Mastozytosefall unter dem 20. Lebensjahr zu verzeichnen war. Bei den Verdachtsdiagnosen war die Verteilung ähnlich wie bei den bestätigten Patientenfällen mit systemischer Mastozytose. Die meisten dieser Patienten waren im Alter zwischen 20 und 70 Jahren, und nur 1 Verdachtsfall war unter 20 Jahre alt.

Betrachtet man das Verhältnis von weiblichen und männlichen Patienten aus der Umgebung von Münster mit systemischer Mastozytose und bzw. mit der Verdachtsdiagnose, so ergeben sich, mit einem Verhältnis von 1:1 bzw. 1:1,5, keine Abweichungen von den Veröffentlichungen der WHO (siehe unter Punkt 1.6, Seite 6).

3.2 Vergleich der konventionellen Beckenkammfärbungen zur Mastozytosed Diagnose und dem immunohistochemischen Nachweis der Mastzelltryptase.

Um einen Eindruck von den verschiedenen Färbungen zum Nachweis der systemischen Mastozytose zu bekommen, sind im folgenden Beispiele von Knochenmarkpräparaten mit systemischer und ohne systemische Mastozytose, anhand einer konventionellen und immunohistochemischen Färbung, dargestellt.

1. Beispiele von Präparaten eines Patienten, bei dem keine systemischen Mastozytose nachgewiesen werden konnte:

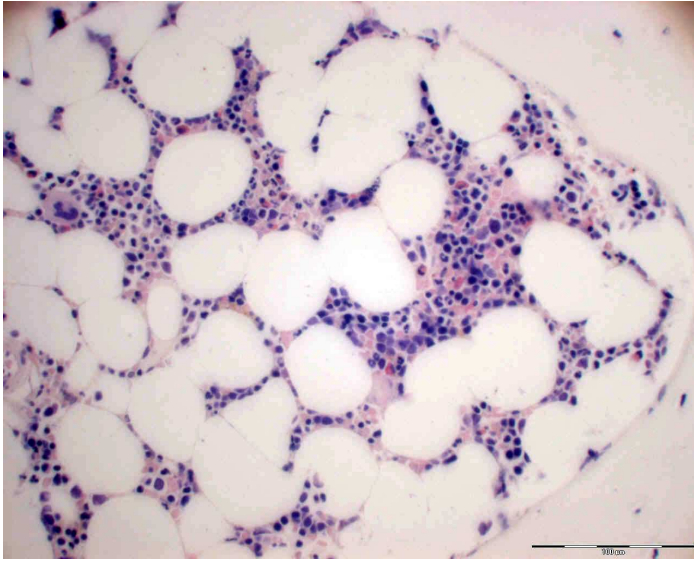


Abb. 2 : Gleichmäßige Verteilung der Hämatopoese mit vollständiger Ausreifung aller drei Zellreihen, es besteht keine Mastzellvermehrung (NACE-Färbung).

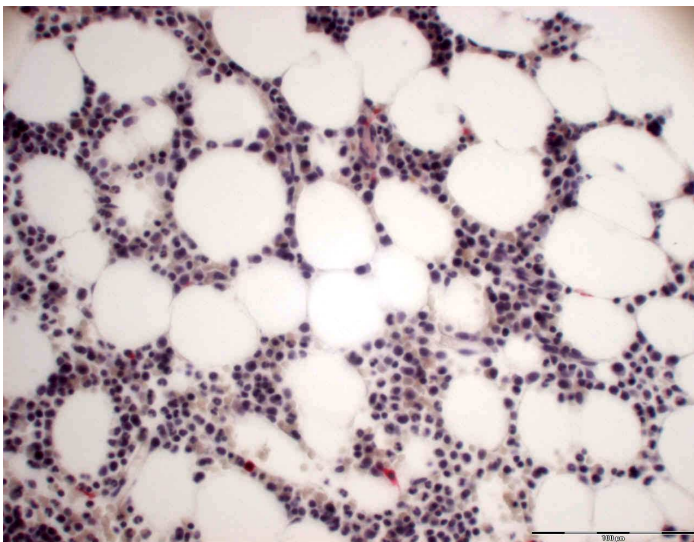


Abb. 3 : Immunohistochemische Färbung zum Nachweis der Mastzelltryptase mit einzelnen, regelrecht verteilten Mastzellen in einem pathologisch nicht verändertem Knochenmark (Mastzelltryptase-Immunohistochemie).

2. Beispiele von Präparaten eines Patienten mit systemischer Mastozytose:

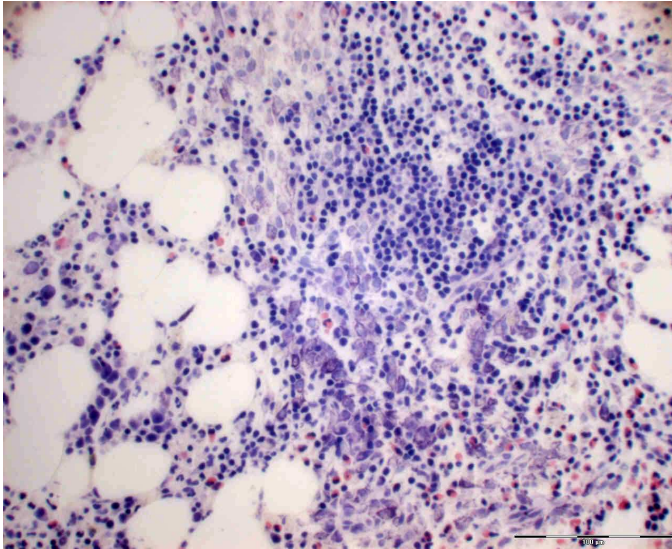


Abb. 4 : Beckenkammstanzbiopsie mit herdförmiger Ansammlung von Mastzellen und Geringem, begleitenden entzündlichen Infiltrat entsprechend einer systemischen Mastozytose (Giemsa-Färbung).

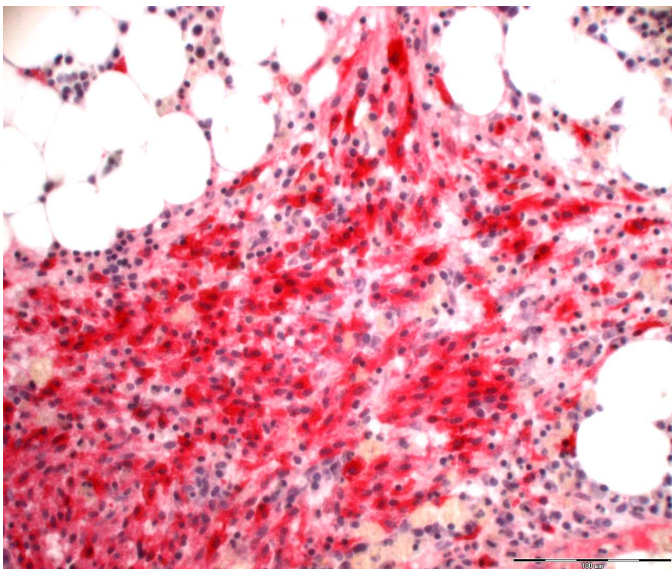


Abb. 5 : Korrespondierende Immunohistochemie zu Abb. 4, mit ausgeprägtem Nachweis der Mastzelltryptase in einer atypischen Ansammlung von Mastzellen bei systemischer Mastozytose (Mastzelltryptase-Immunohistochemie).

Mit Hilfe des immunohistochemischen Nachweises der Mastzellen bei systemischer Mastozytose, zeigte sich, daß in den meisten Patientenfällen die Diagnose, die anhand der konventionellen Färbungen gestellt wurde, validiert werden konnte.

Von den 33 Patientenfällen mit systemischer Mastozytose, zeigten 32 in den neu hergestellten, immunohistochemischen Präparaten eine systemische Mastozytose, jedoch war in einem Präparat (Abb.6), durch die geringe Anzahl an angefärbten Mastzellen, eine systemische Mastozytose nicht eindeutig zuzuordnen.

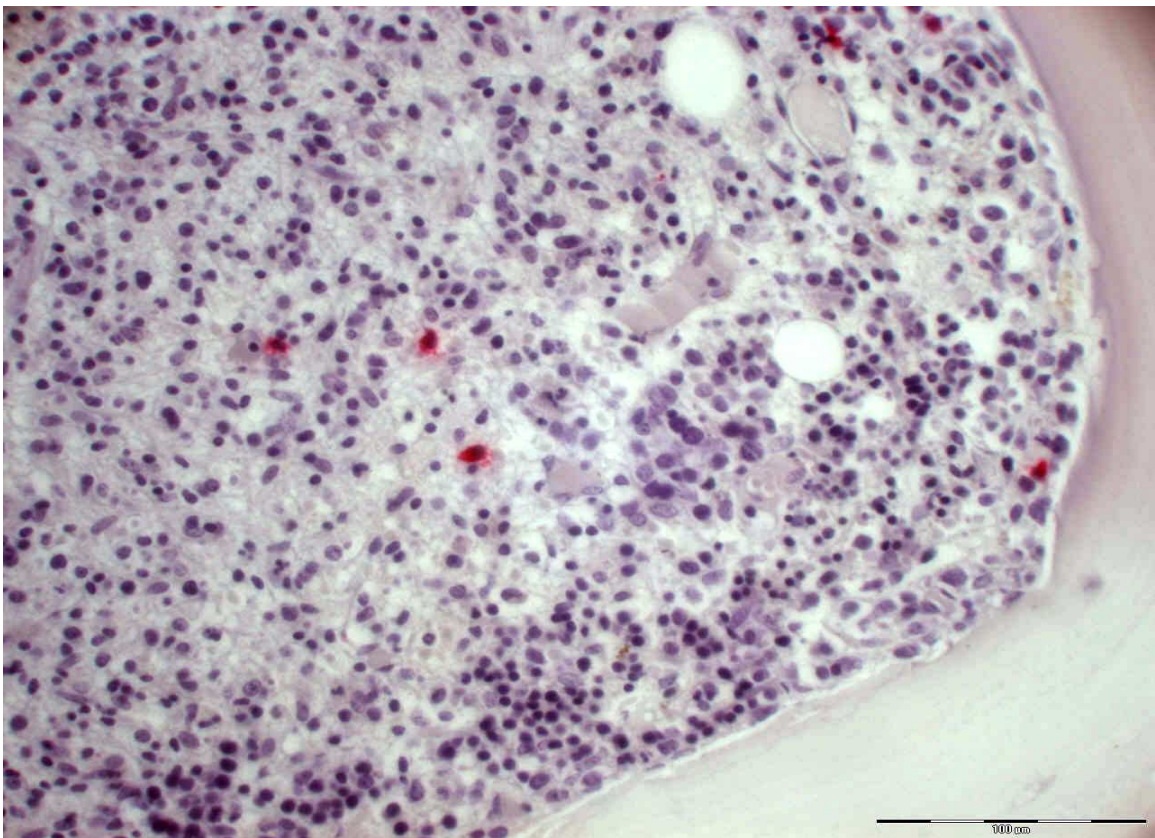


Abb. 6 : Knochenmarkpräparat, in dem die Mastzellen durch die immunohistochemische Färbemethode rötlich hervortreten, eine herdförmige Ansammlung der Mastzellen stellt sich nicht dar. Die Diagnose systemische Mastozytose konnte in diesem Präparat nicht bestätigt werden (Mastzelltryptase-Immunohistochemie).

In drei von 24 Patientenfällen, bei denen durch die konventionellen Färbungen keine systemische Mastozytose nachgewiesen werden konnte, zeigten sich nach dem immunohistochemischen Verfahren zur Färbung der Mastzelltryptase Abweichungen von der ursprünglichen Diagnose.

In diesen drei Fällen (12,5 %), war die Anzahl der Mastzellen in zwei Präparaten erhöht (8,3 %), und in einem Präparat (4,2 %) bestand eine Akkumulation von Mastzellen, die auf das bestehen einer systemischen Mastozytose hindeutet.

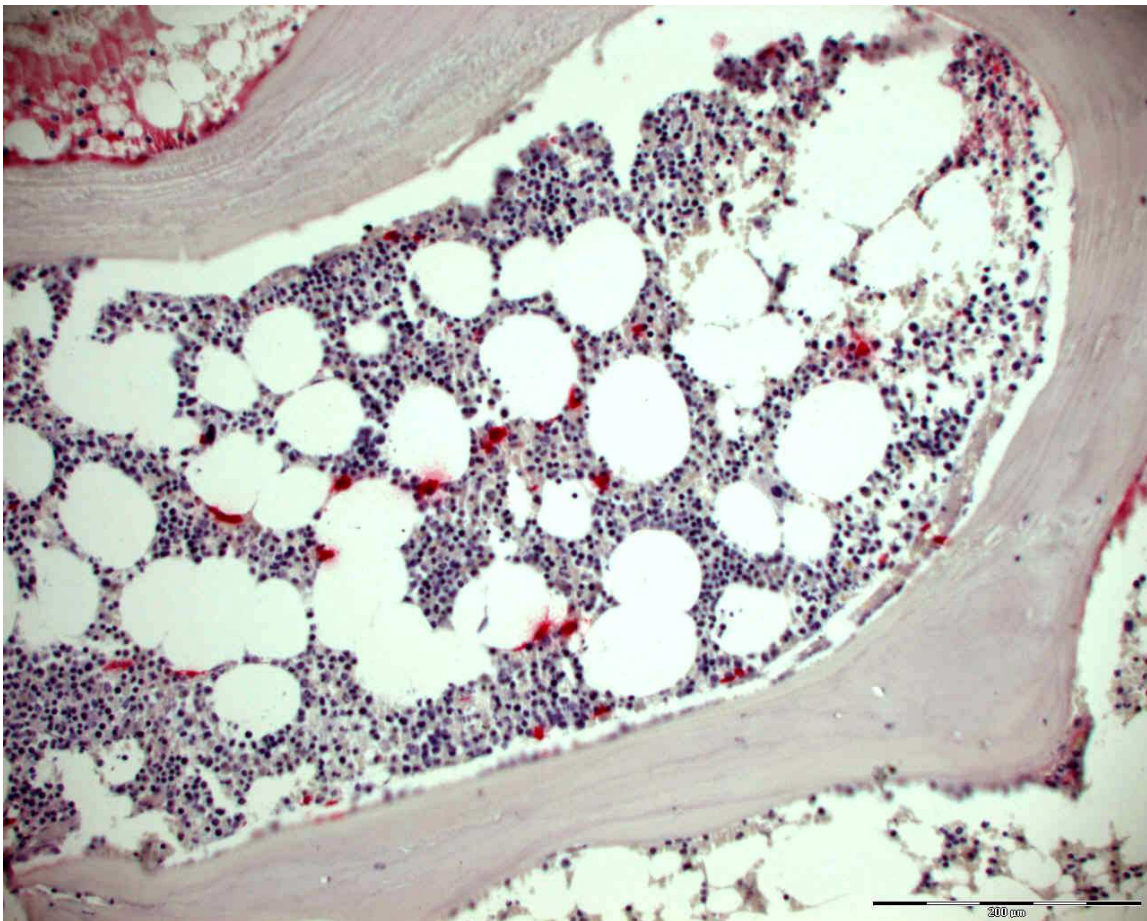


Abb. 7 : Knochenmarkpräparat mit Anfärbung der Mastzelltryptase. Auffällig ist die Vermehrung der Mastzellen in diesem Präparat. Es findet sich eine diffuse Verteilung, somit ist von einer Mastzellhyperplasie auszugehen, eine systemische Mastozytose liegt jedoch nicht vor (Mastzelltryptase-Immunohistochemie).

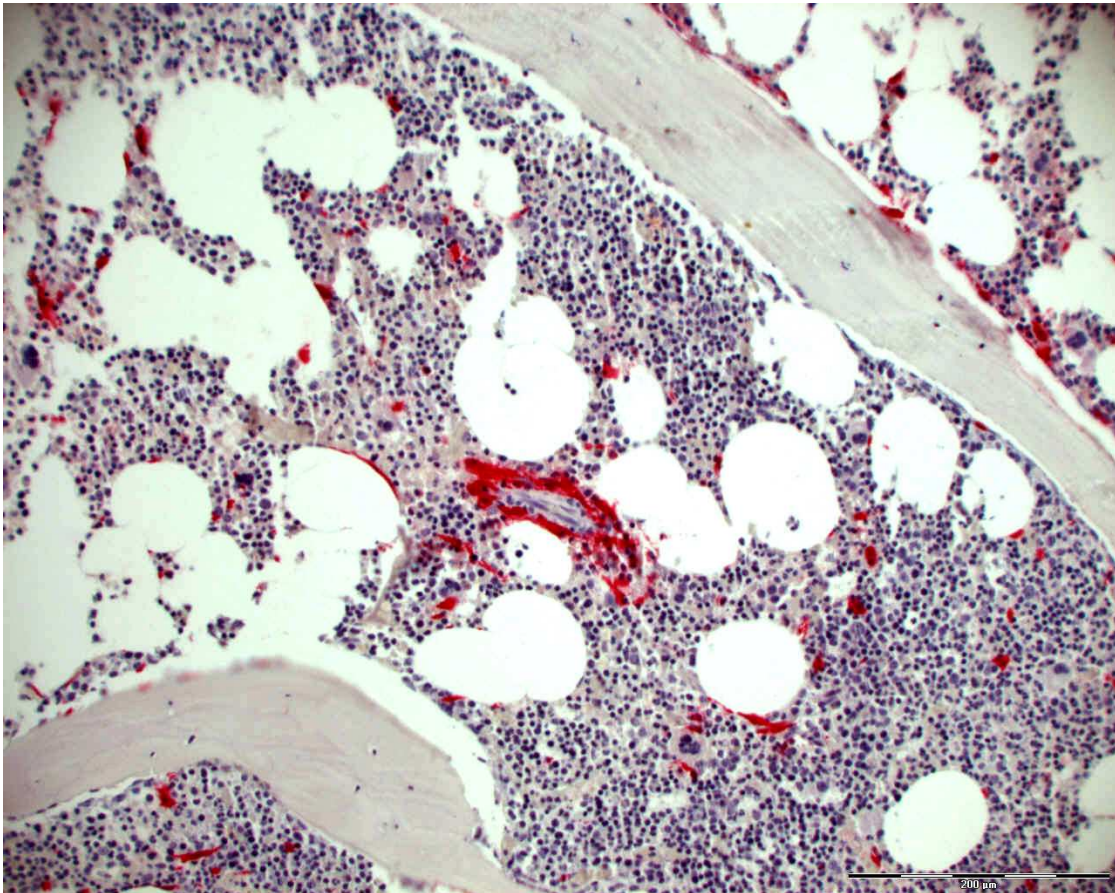


Abb. 8 : Foto eines Knochenmarkpräparates mit Anfärbung der Mastzelltryptase. Auffällig ist die herdförmige Akkumulation der Mastzellen, dieser Befund ist als systemische Mastozytose zu werten (Mastzelltryptase-Immunohistochemie).

3.3 Auswertung der Verteilung von Mastzellen in den immunohistochemisch gefärbten Beckenstanzpräparaten

Nachdem die Länge aller 33 Präparate mit systemischer Mastozytose ausgemessen wurde, wobei die längste Beckenkammstanzbiopsie 2 cm und die kürzeste 0,8 cm lang war, zeigte sich auch ein Unterschied in der Anzahl der Infiltrate pro Präparat, welche zwischen 9 Infiltraten und 0 Infiltraten (bei den Präparaten ohne Infiltrate, lag eine diffuse Verteilung von Mastzellen vor, so daß keine Infiltrate erkennbar waren, aber durch die hohe Anzahl an spindelförmigen Mastzellen die Diagnose der systemischen Mastozytose, sicher gestellt werden konnte) lag. Daraufhin wurde die durchschnittliche

Menge an Mastzellinfiltraten pro cm für jedes Präparat ausgerechnet, und diese Anzahl in Bezug zur Häufigkeit in einem Diagramm dargestellt.

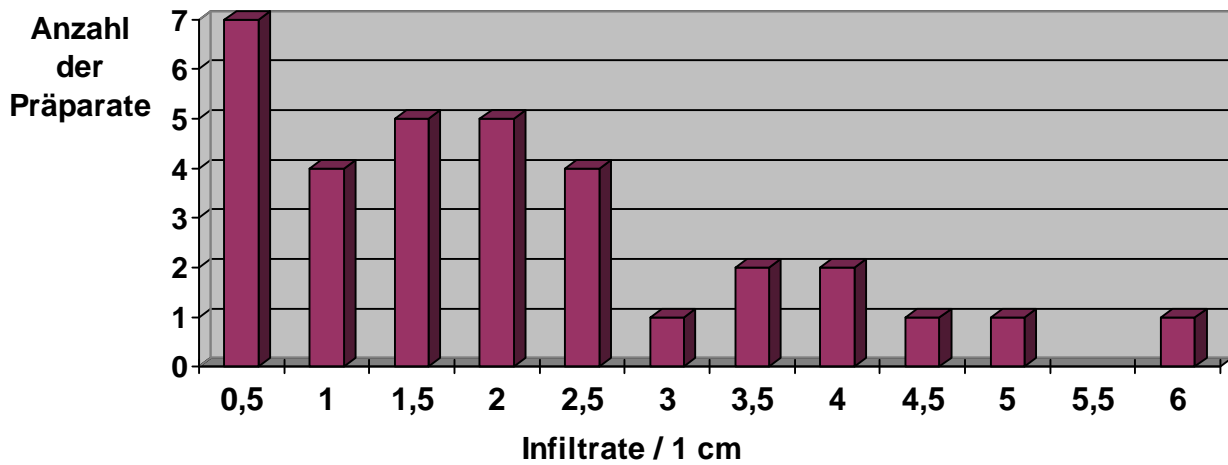


Abb. 9 : Balkendiagramm, Anzahl der Präparate und Infiltrate / 1 cm

Des weiteren wurde die Anzahl von Mastzellen in den Infiltraten der 33 Präparate bestimmt, welche in den Infiltraten in sehr unterschiedlichen Mengen vorkamen. Die Anzahl reichte von 20 Mastzellen bis 290 Mastzellen pro Infiltrat. Die durchschnittliche Anzahl der Mastzellen pro Infiltrat lag bei 81 Mastzellen.

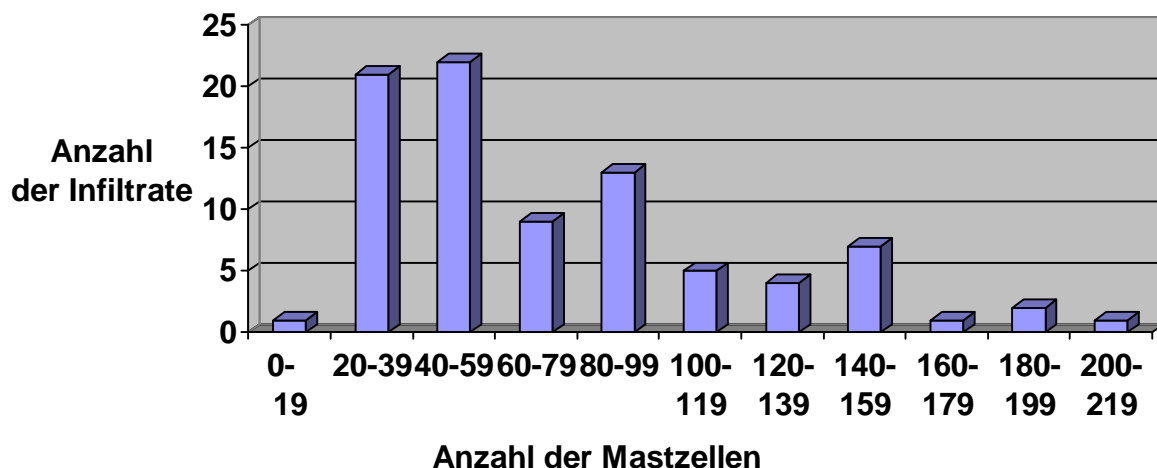


Abb. 10 : Balkendiagramm, Anzahl der Infiltrate und Anzahl der Mastzellen

3.4 Korrelation der Befunde des Gerhard-Domagk-Institutes und der Hautklinik Münster bei Mastozytosepatienten.

Bei der folgenden Korrelation der Daten des Gerhard-Domagk-Institutes für Pathologie und der Daten aus dem Archiv der Klinik und Poliklinik für Hautkrankheiten Münster, wurden 25 Patienten berücksichtigt, wobei 12 Patienten eine systemische Mastozytose, und 13 Patienten keine systemische Mastozytose aufwiesen.

Betrachtet man die 12 Patienten mit systemischer Mastozytose, bei denen durch die histologische Untersuchung des Knochenmarkes eine übermäßige Vermehrung und Akkumulation von Mastzellen nachgewiesen werden konnte, also eine systemische Mastozytose vorlag, so fällt auf, daß der Hautbefund überwiegend, nämlich mit 85 %, eine kutane Mastozytose darstellte. In nur 15 % der histologischen Untersuchungen der Haut lag keine kutane Mastozytose vor.

Bemerkenswert ist die Tatsache, daß, obwohl eine histologisch gesicherte systemische Mastozytose bei den untersuchten Patienten vorlag, die zytologische Untersuchung des Knochenmarkes nur in acht Fällen eine systemische Mastozytose, und in zwei Fällen keine systemische Mastozytose ergab. Bei den restlichen zwei Patienten lag keine zytologische Untersuchung des Knochenmarkes vor. Somit wurde die Diagnose bei den 12 Patienten mit systemischer Mastozytose in 12 Fällen durch die histopathologische Untersuchung des Knochenmarkes bestätigt, und von den zehn Fällen aus dieser Gruppe, die zytologisch untersucht wurden, konnte nur in acht Fällen eine systemische Mastozytose nachgewiesen werden.

Von den 13 Patienten, bei denen histologisch keine systemische Mastozytose diagnostiziert wurde, hatten 11 Patienten eine nachgewiesene kutane Mastozytose, und bei den verbleibenden zwei Patienten fand keine histologische Untersuchung der Haut statt. Der klinische Hautbefund war wahrscheinlich ausschlaggebend für die folgende histologische und zytologische Untersuchung des Knochenmarkes.

Alle 13 Patienten ohne systemische Mastozytose zeigten histologisch ein normales Knochenmark, es lag also keine erhöhte Anzahl von Mastzellen vor.

Auffallend ist das Ergebnis der zytologischen Untersuchung, bei welcher Markblutaussstriche mikroskopisch ausgewertet wurden. Bei 12 dieser 13 Patienten ohne systemische Mastozytose, wurde die zytologische Untersuchung durchgeführt. Neun der

Patienten hatten zytologisch einen normalen Befund des Knochenmarkes, und bei drei Patienten wurde anhand der zytologischen Untersuchung des Knochenmarkes eine Mastzellvermehrung festgestellt, und aus diesem Grund der Befund einer systemischen Mastozytose zugeordnet.

4. Diskussion

4.1 Epidemiologische Verteilung der systemischen Mastozytose

Betrachtet man die epidemiologische Verteilung der Patienten mit systemischer Mastozytose, bzw. mit der Verdachtsdiagnose aus der Umgebung von Münster, entsprechend dem Einsendegut des Gerhard-Domagk-Institutes für Pathologie, in dem Zeitraum von 1993 bis 2003, so liegt das Verhältnis von männlichen und weiblichen Patienten bei 1:1 bzw. 1:1,5. Damit bestehen keine Abweichungen von den Veröffentlichungen der WHO, wonach das Verhältnis von betroffenen Männern und Frauen bei 1:1 bis 1:3 liegt [38]. Die Altersverteilung der Patienten mit systemischer Mastozytose zeigt auch, daß die meisten Erkrankungen zwischen dem 30 und 60 Lebensjahr aufgetreten sind. Somit ergeben sich auch hier keine auffälligen Abweichungen von den Literaturangaben und den Veröffentlichungen der WHO.

4.2 Unterschiede der Nachweisverfahren bei systemischer Mastozytose

Beim Vergleich der konventionellen Färbungen mit der immunhistochemischen Färbemethode an Knochenmarkpräparaten bei Patienten mit systemischer Mastozytose, beziehungsweise beim nicht Vorliegen einer systemischen Mastozytose zeigte sich, daß

die anhand der konventionellen Färbungen gestellten Diagnosen in den meisten Fällen durch die immunohistochemische Färbung bestätigt werden konnten.

In den 33 Fällen, in denen eine systemische Mastozytose durch die konventionellen Färbungen diagnostiziert wurde, konnte in 32 Patientenfällen (97 %) der Befund durch die immunohistochemische Färbung bestätigt werden. In einem Fall (3 %) war das Präparat in der immunohistochemischen Färbung nicht auffällig (siehe Abb. 6), so daß dieser Fall nicht als systemische Mastozytose zu bewerten war.

Bei den 24 Patientenfällen, bei denen die Untersuchung mit den konventionellen Färbungen keine systemische Mastozytose ergab, zeigten die neu angefertigten immunohistochemischen Färbungen jedoch in drei Patientenfällen (12,8 %) Abweichungen von der ursprünglichen Diagnose.

In zwei Fällen (8,3 %) war die Anzahl an Mastzellen erhöht (siehe Abb. 7), es bestand also eine Mastzellhyperplasie, die jedoch nicht zu einer Änderung des Befundes führt. In diesen Präparaten konnte also die ursprüngliche Diagnose, daß keine systemische Mastozytose vorlag, bestätigt werden.

Im weiteren Patientenfall (4,2 %) war eine, für die systemische Mastozytose typische, herdförmige Akkumulation von Mastzellen zu erkennen (siehe Seite 28, Abb. 8). Die Anzahl der Zellen lag in diesem Mastzellherd bei über 15 Mastzellen, somit ist Hauptkriterium der Diagnose der systemischen Mastozytose erfüllt (siehe Seite 10, Punkt 1.4). Über 25 % der Mastzellen zeigten in diesem Knochenmarkpräparat eine spindelförmige Morphologie, so daß auch ein Nebenkriterium zur Diagnosestellung nachweisbar war. Da hierdurch das Hauptkriterium und ein Nebenkriterium erfüllt waren, ist von einer systemischen Mastozytose auszugehen, welche mittels der konventionellen Färbungen nicht diagnostiziert wurde.

4.3 Verteilung der Mastzellen in den immunohistochemisch gefärbten Präparaten

Die Anzahl der Mastzellinfiltrate varrierte in den Präparaten mit systemischer Mastozytose zwischen 0 und 9 Infiltraten. Die folgenden Ausführungen betreffen nur die 27 Präparate, in denen Mastzellinfiltrate nachweisbar waren. Nach der Berechnung der Mastzellinfiltrate pro cm Präparatlänge, lag in 18 Präparaten (66 %) die Anzahl der Infiltrate zwischen 0,5 und 2,5 pro cm Präparatlänge. In weiteren sechs Präparaten (22 %) lag die Zahl sogar bei 2,5 bis 4,5 Infiltraten pro cm Präparatlänge. Somit ist bei einer durchschnittlichen Beckenkammstanzlänge von 1,4 cm und einer Breite von 1,0-1,5cm davon auszugehen, daß sich Mastzellinfiltrate bei vorhandener systemischer Mastozytose nachweisen lassen.

Aus der Abbildung 10 (Balkendiagramm) geht hervor, daß in 50 % der Infiltrate zwischen 20 und 60 Mastzellen vorhanden waren und in ca. 30 % der Infiltrate die Anzahl an Mastzellen zwischen 60 und 120 lagen. Insgesamt hatten also 80 % der Infiltrate eine Anzahl von 20 bis 120 Mastzellen, wobei nur ein Infiltrat (1,5 %) weniger als 20 Mastzellen vorhanden waren, und 14 % der Infiltrate mehr als 120 Mastzellen aufwiesen. Damit ist in allen Präparaten das Hauptkriterium der WHO zur Diagnosestellung bei systemischer Mastozytose erfüllt. Dass nach den Angaben der WHO ein Mastozytoseherd ab 15 Mastzellen als eine systemische Mastozytose zu werten ist, ist anhand der Präparate nachvollziehbar, da dieser Wert nur in einem Infiltrat zutreffend war und dieser wahrscheinlich das Anfangsstadium einer systemischen Mastozytose darstellt, denn alle weiteren Infiltrate in den untersuchten Präparaten wiesen eine deutlich höhere Anzahl an Mastzellen auf. So ist bei einer systemischen Mastozytose von einer herdförmigen Mastzellproliferation mit deutlicher Zellvermehrung auszugehen, gleichzeitig findet sich eine Verdichtung des agyrophilen Gitterfasergerüsts.

4.4 Unterschiede der Befunde des Gerhard-Domagk-Institutes für Pathologie und der Hautklinik Münster

Im Rahmen der Korrelation der Befunde des Gerhard-Domagk-Institutes für Pathologie und der Befunde der Hautklinik Münster, wurden insgesamt 25 Patienten berücksichtigt. In 12 Patientenfällen wurde anhand der histologischen Knochenmarksuntersuchung eine systemische Mastozytose nachgewiesen. Von diesen 12 Patienten hatten 85 % eine bestehende kutane Mastozytose. Dies läßt darauf schließen, daß der histologische Hautbefund der Grund für die Untersuchung des Knochenmarkes war.

Bei 15 % der Patienten lag keine kutane Mastozytose vor. Offensichtlich bestand hier lediglich klinisch der Verdacht einer kutanen Mastozytose, der sich nach der histologischen Untersuchung der Haut nicht bestätigte.

Die zytologische Untersuchung des Knochenmarkes wurde nur bei zehn dieser Patienten durchgeführt. Acht Patienten (80 %) konnte hiernach eine systemische Mastozytose zugeordnet werden, bei den verbleibenden zwei Patienten (20 %) war die Anzahl der Mastzellen nicht erhöht. Dies läßt auf eine höhere Sensitivität der histologischen Untersuchung gegenüber der zytologischen schließen.

In 13 Patientenfällen konnte durch die histologische Untersuchung der Knochenmarkpräparate keine systemische Mastozytose nachgewiesen werden. Von diesen Patienten hatten 11 eine kutane Mastozytose, also 84 %. Die kutane Mastozytose war auch hier der Grund für die histologische Untersuchung des Knochenmarkes. In den restlichen zwei Fällen wurde die Haut nicht histologisch untersucht. Auffällig ist das Ergebnis der zytologischen Untersuchungen des Knochenmarkes, die bei 12 der 13 Patienten ohne systemische Mastozytose durchgeführt wurde. Bei neun Patienten (75 %) war die Anzahl der Mastzellen nicht erhöht, und bei weiteren drei, der zytologischen Untersuchungen, wurde eine Mastzellvermehrung festgestellt, und somit eine systemische Mastozytose vermutet. Unter Einbeziehung der histologischen Knochenmarksuntersuchung ist der Befund jedoch als uncharakteristische Mastzellhyperplasie zu werten.

Aufgrund der herdförmigen Anordnung der Mastzellen und der Beurteilung im Gewebeverband, ist die histologische Auswertung der zytologischen Bewertung, bezüglich der Aussagefähigkeit, vorzuziehen.

Allerdings ist zu berücksichtigen, daß die histologische Untersuchung von Knochenmarksbiopsien, gerade im Anfangsstadium der Mastozytose, nicht immer zur Diagnosefindung ausreicht [2]. In klinisch-diagnostisch unklaren Fällen sind somit Verlaufskontrollen und spätere, erneute Knochenmarksbiopsien, zu empfehlen.

Literaturverzeichnis

1. Boenisch T M.S. (2003)
Immunochemische Färbemethoden , 3. Auflage
DakoCytomation Corp. 2003
2. Butterfield JH, Li CY (2004)
Bone marrow biopsies for the diagnosis of systemic mastocytosis:
Is one biopsy sufficient?
Am. J.Clin.Pathol. 2004 Feb; 121(2): 264 - 267
3. Casassus P, Caillat-Vigneron N, Martin A et al. (2002)
Treatment of adult systemic mastocytosis with interferon-a: results of a multicentre
phase II trial on 20 patients.
Br. J. Haematology 2002; 119: 1090 – 1097
4. Dhom G (2001)
Geschichte der Histopathologie
Springer Verlag 2001
5. Dobozy O (1990)
Biologiepraktikum
Semmelweis Verlag Budapest 1990
6. Escribano L, Akin C, Castells M, Orfao A, Metcalfe DD (2002)
Mastocytosis: current concepts in diagnosis and treatment.
Ann. Hematol. 2002; 81: 677 – 690
7. Escribano L, Orfao A, Diaz-Augustin B, Villarubia J, Cervero C, Lopez A
Marcos MA, Bellas C, Fernandez-Canadas S, Cuevas M, Sanchez A, Velasco JL,
Navarro JL, Miguel JF (1998)
Indolent systemic mast cell disease in adults: Immunophenotypic characterisation
Of bone marrow mast cells and its diagnostic implications
Blood 1998; 91: 2731 - 2736

8. Faramarz N (1993)
Pathology of BONE MARROW (second edition)
Williams and Wilkins, 1993
9. Hartmann K, Artuc M, Baldus SE, Zirbes TK, Hermes B, Thiele J,
Mekori YA and Henz BM (2003)
Expression of Bcl-2 and Bcl-xL in Cutaneous and Bone Marrow Lesions of
Mastocytosis
American Journal of Pathologie. 2003; 163:819 - 826
10. Horny, Hans-Peter M.D.; Sillaber, Christian M.D.;
Menke, David M.D.; Kaiserling, Edwin M.D.; ... (1998)
Diagnostic Value of Immunostaining for Tryptase in
Patients With Mastocytosis
The American Journal of Surgical Pathologie,
Volume 22, September 1998
11. Horny H-P, Parawaresch MR, Lennert K (1983)
Klinisches Bild und Prognose generalisierter Mastozytosen
Klin. Wochenschr. 1983; 61: 785 -793
12. Huges DM, Kurtin PJ, Hanson CA and Li CY (1995)
Identification of normal and neoplastic mast cells by immunohistochemical
demonstration of tryptase in paraffin sections
J. Surg. Pathol. 1 (1995), pages 87 - 96
13. Irani AA, Schechter NM, Craig SS, DeBlois G, Schwartz LB (1986)
Two human mast cell subsets with distinct neutral protease composition
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1986; 83: 4464 - 8
14. Junqueira L C , Carneiro J (1996)
Histologie, 4. Auflage
Springer Verlag 1996

15. Kluin-Nelemans H, Oldhoff JM, van Doormaal JJ (2003)
Cladribine therapy for systemic mastocytosis
Blood 2003; 102: 4270 – 4276
16. Lam KW, et al. (1980)
Clinical Chemistry
26, S. 420-422 (1980)
17. Lennert K, Parwaresch MR (1979)
Mast cells and mast cell neoplasia: A review
Histopathologie 1979; 3:349 - 365
18. Li CY (2001)
Diagnosis of Mastocytosis: value of Cytochemistry and
Immunohistochemistry
Science Direct – Leukemia Research : Volume 25, Issue 7, July 2001
Pages 537- 541
19. Li CY, Travis WD, Van Hale and Yam LT (1986)
Useful cytochemical stains for the diagnosis of systemic mast cell disease (SMCD)
J. Histochem. Cytochem. 34 (1986): p.1355
20. Lukes R J, M.D. ; Collins RD, M.D. (1992)
Tumors of the Hematopoietic System
Armed Forces Institut of Pathologie, 1992
21. Molderings G J, Brüß M, Raithel M, Wilken V,
Hartmann K, Brockow K, Wardelmann E, Scheurlen C, Homann (2005)
Systemische Mastozytose als Grund für chronische gastrointestinale Beschwerden:
Deutsches Ärzteblatt 102, Ausgabe 24 vom 17.06.2005,
Seite A-1744 / B-1470 / C - 1386

22. Raithel M, Hahn EG, Baenkler HW (2002)
Klinik und Diagnostik von Nahrungsmittelallergien. Gastrointestinal
vermittelte Allergien Grad I bis IV.
Deutsches Ärzteblatt 2002; 99: A 780 – 786 [Heft 12].
23. Remmele,W. (1999)
Pathologie 1 (2 Auflage)
Springer Verlag 1999
24. Romeis, Benno (1989)
Mikroskopische Technik, 17. neubearbeitete Auflage
Urban und Schwarzenberg 1989
25. Schwartz LB, Sakai K, Bradford TR, et al. (1996)
The alpha form of human tryptase ist the predominant type present in blood at
Baseline in normal subjects and is elevated in those with systemic mastocytosis
J. Clin. Invest. 1996; 96: 2702 - 10
26. Seo IS, Li CY and Yam LT (1993)
Myelodysplastic syndrome: diagnostic implications of cytochemical and
immunocytochemical studies
Mayo Clin. Proc. 68 (1993), pages 47 - 53
27. Sperr WR, Jordan JH , Fliegl M, Escribano L,
Bellas C, Dirnhofer S, Semper H, Simonitsch-Klupp I,
Horny HP, Valent P (2002)
Serum Tryptase Levels in Patients with Mastozytosis: Correlation with Mast
Cell Burden and Implication for Defining the Category of Disease.
International Archives of Allergy and Immunology 2002; 128: 136 - 141(Pages)
28. Ständer H, Beier K, Metze D und Brehler R (2005) :
Anaphylaktische Reaktion bei okkult systemischer Mastozytose
Ein seltener dermatologischer Notfall
Springer Verlag , Berlin - Heidelberg 2005

29. Travis WD, Li C-Y, Bergstrahl EJ, Yam LT, Swee RG (1988)
Systemic mast cell disease. Analysis of 58 cases and literature review
Medicine 1988; 67: 345 - 68
30. Valent P, Akin C, Sperr WR et al. (2003)
Diagnosis and treatment of systemic mastocytosis: state of the art
Br. J. Hematology 2003; 122: 695 - 717
31. Valent P (1996)
Biology, classification and treatment of human mastocytosis
Wien, Klinische Wochenschrift 1996;108:385 - 397
32. Valent P (1996)
Mast cell differentiation antigens: expression in normal and malignant cells
and use for diagnostic purposes
Eur. J. Clin. Invest 1996; 25: 715 - 20
33. Valent P, Spanblöchl E, Sperr WR, et al. (1992)
Induction of differentiation of human mast cells from bone marrow and blood
Mononuclear cells by recombinant human stem cell factor (SCF)/kit ligand
(KL) in long-term culture
Blood 1992; 80: 2237 - 45
34. Virchow R (1858)
Die Cellularpathologie in ihrer Begründung auf physiologische und
pathologische Gewebelehre.
Berlin 1858, Verlag August Hirschwald
35. Walls AF, Benett AR, Mc Bride HM, Glennie MJ, Holgate ST and
Church MK (1990)
Produktion and characterisation of monoclonal antibodies specific for human mast
cell tryptase
Clin. Exp. Allergy 20 (1990), pages 581 - 589

36. Walls AF, Jones DB, Williams JH, Church MK and Holgate ST (1990)
Immunohistochemical identification of mast cells in formaldehyde-fixed tissue
using monoclonal antibodies specific for tryptase
J. Pathol. 162 (1990), pages 119 - 126

37. Webb TA, Li CY, Yam LT (1982)
Systemic mast cell disease: a clinical and hematopathologic study of 26 cases
Cancer 49 (1982), pages 927 - 998

38. World Health Organisation (2001)
Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues
IARC Press Lyon, 2001

39. Worobec AS (2000)
Treatment of systemic mast cell disorders.
Hematology/Oncology Clinics of North America 2000; 14: 659 – 687

DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich Frau Prof. Dr. med. Gabriele Köhler für die freundliche und engagierte Unterstützung, Förderung und Betreuung dieser Arbeit sehr herzlich danken.

Weiterhin danke ich Frau Petra Meier, ldt. MTA am Gerhard-Domakg-Institut für Pathologie, für die unkomplizierte Zusammenarbeit und ihren Einsatz, die wesentlich zum Gelingen dieser Studie beigetragen haben.

Insbesondere möchte ich mich bei meinen Eltern für die Unterstützung auf meinem bisherigen beruflichen und privaten Lebensweg bedanken.

Lebenslauf

Name: Schulz
Vorname: Thomas
Geburtsdatum: 24.10.1978
Geburtsort: Castrop-Rauxel

Eltern: Barbara Schulz-Schoedon, geb.
Schoedon, Opernsängerin

Dr. Dietmar Schulz, Zahnarzt

Geschwister: Dr. Hartmut Schulz, Zahnarzt

1985-1989: Grundschule Grüner Weg, Castrop-Rauxel
1989-1998: Adalbert-Stifter-Gymnasium, Castrop-Rauxel
09.06.1998: allgemeine Hochschulreife (Abitur)

01.07.1998 –
30.04.1998: Wehrdienst

WS 99/2000: Beginn des Studiums der Humanmedizin,
Semmelweis Universität, Budapest

Juni 2001: medizinisches Physikum an der Semmelweis
Universität Budapest

WS 2001/2002: Beginn des Studiums der Zahnmedizin an der
Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

August 2002: zahnmedizinisches Physikum an der Westfälischen
Wilhelms-Universität Münster

Juli 2005: zahnmedizinisches Staatsexamen an der
Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

August 2005: Approbation als Zahnarzt

Seit August 05: Assistenz Zahnarzt in der Praxis Dr. D. Schulz,
Castrop-Rauxel