

Aus dem Institut für Pathologie
an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
(Direktor: Prof. Dr. med. F.W. Rath)



**Histopathologische und klinische Prognosemarker
neurogener Tumoren unter besonderer Berücksichtigung
argyrophiler Nukleolus organisierender Regionen**

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin (Dr. med.)

vorgelegt
der Medizinischen Fakultät
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Gabriele Rasch
geboren am 14. 12. 1968

in Halle (Saale)

Gutachter:

1. Prof. Dr. med. habil. Rath
2. Privatdozent Dr. med. habil. Würfl (Leipzig)
3. Prof. Dr. med. habil. Warzok (Greifswald)

Eröffnungsdatum: 14.12.1999

Verteidigungsdatum: 19.10.2000

Referat

In einer retrospektiven Studie wurde die prognostische Bedeutung argyrophiler Nukleolus organisierender Regionen (AgNOR's) an Tumormaterial mit bekanntem klinischen Verlauf untersucht. Dazu wurden 65 formalinfixierten, in Paraffin eingebetteten neurogenen Sarkomen sowie 24 Neurinomen aus dem Archiv des Institutes für Pathologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg ausgewählt. Zusätzlich wurden Kernfläche sowie Nukleolenzahl und -fläche der neurogenen Tumoren ausgewertet. Anschließend erfolgte ein Vergleich dieser morphometrischen Parameter mit der Aussagekraft klinischer Daten (Geschlecht, Alter, Tumorcharakter, Ausdehnung, Metastasierungsneigung, Resektionsart, Lokalisation, Staging). Das Tumormaterial stammte von 28 weiblichen und 25 männlichen Patienten. In die Auswertung gingen 53 Primärtumoren und 12 Tumorrezidive ein. Die minimale Nachbeobachtungszeit betrug 3 Jahre, die maximale Nachbeobachtungszeit erstreckte sich über 15 Jahre.

Einen signifikanten Einfluß auf die Prognose neurogener Sarkome hatten die Kernfläche, die Tumorlokalisierung, die Metastasierung, die Operationsart sowie der Malignitätsgrad.

Anhand der Kernflächen ließen sich neurogene Sarkome von Neurinomen signifikant unterscheiden. Auch die Unterscheidung der neurogenen Sarkome der einzelnen Malignitätsgrade war anhand der Kernflächen signifikant ($p=0,02$). Damit ist dieser morphometrisch ermittelte Parameter von prognostischer Bedeutung bei Patienten, die an einem neurogenen Sarkom erkrankt sind. Die nachgewiesene prognostische Bedeutung der klinischen Parameter unterstreicht außerdem den therapeutischen Wert einer radikalen chirurgischen Exzision mit Erhaltung eines tumorfreien Randes sowie die Bedeutung eines sorgfältig ermittelten Malignitätsgradings.

Der prognostische Einfluß der AgNOR-Zahl und -Fläche, des mittleren AgNOR-Gehalts, der Nukleolenzahl und -fläche, des Alters, Geschlechts, der Tumorausdehnung und des Stagings bei Patienten mit neurogenen Sarkomen war statistisch nicht signifikant.

Damit haben argyrophile Nukleolus organisierende Regionen bei neurogenen Sarkomen keinen prognostischen Aussagewert, welcher die Dignitätsbestimmung ergänzen könnte.

Rasch, Gabriele: Histopathologische und klinische Prognosemarker neurogener Tumoren unter besonderer Berücksichtigung argyrophiler Nukleolus organisierender Regionen. Halle, Univ., Med. Fak., Diss., 67 Seiten, 1999

Inhaltsverzeichnis		Seite
1	Einleitung	1
2	Material und Methoden	7
2.1	Malignitätsgrading	7
2.2	Stadieneinteilung - Staging	8
2.3	Klinische Befunde	8
2.4	Histologische Befunde	9
2.5	Zytomorphometrisch erhobene Befunde	9
2.6	Untersuchung der AgNOR's	10
2.6.1	Aufarbeitung des histologischen Materials	10
2.6.2	Färbemethode	10
2.6.3	Meßeinrichtung	11
2.6.4	Meßvorgang	11
2.7	Statistik und graphische Gestaltung	12
3	Ergebnisse	13
3.1	Klinische Befunde	13
3.1.1	Alter und Geschlecht in Abhängigkeit von der Überlebenszeit	13
3.1.2	Staging in Abhängigkeit von der Überlebenszeit	14
3.1.3	Metastasierung in Abhängigkeit von der Überlebenszeit	14
3.1.4	Tumorausdehnung in Abhängigkeit von der Überlebenszeit	15
3.1.5	Operationsart in Abhängigkeit von der Überlebenszeit	15
3.1.6	Tumorlokalisierung in Abhängigkeit von der Überlebenszeit	16
3.2	Histologische Befunde, Malignitätsgrading und Überlebenszeit	18
3.3	Morphometrisch erfaßtes Verhalten der AgNOR's	20
3.3.1	Durchschnittliche Fläche einer AgNOR	20
3.3.2	AgNOR-Gesamtfläche pro Zelle	21
3.3.3	AgNOR-Zahl pro Zelle	23
3.3.4	Mittlerer AgNOR-Gehalt pro Zellkern (AgNOR-Quotient)	24
3.3.5	Höchste AgNOR-Zahl pro Nukleolus	26
3.3.6	Kernfläche	27
3.3.7	Anzahl der Nukleolen	29
3.3.8	Gesamtfläche aller Nukleolen pro Zelle	30

	Seite
4	Vergleich der Primärtumoren mit deren Rezidiven 32
4.1	Fall 1: 49jähriger Patient 32
4.2	Fall 2: 31jährige Patientin 33
4.3	Fall 3: 49jährige Patientin 33
5	Diskussion 35
5.1	Vergleich AgNOR-abhängiger Parameter bei benignen und malignen Nervenscheidentumoren 35
5.2	Vergleich von Kernfläche, Nukleolenzahl und -fläche bei benignen und malignen Nervenscheidentumoren 40
5.3	Vergleich der Primärtumoren mit deren Rezidiven 41
5.4	Der prognostische Einfluß klinischer Daten 43
5.4.1	Alter und Geschlecht 43
5.4.2	Tumorlokalisation und Metastasierung 44
5.4.3	Tumorausdehnung, Operationsmethode, Staging und Malignitätsgrading 45
6	Zusammenfassung 48
	Literaturverzeichnis 50
	Anlagen 60
	Thesen 64
	Abbildungen 66
	Lebenslauf
	Selbständigkeitserklärung
	Danksagung

Abkürzungsverzeichnis

AJCC	American Joint Committee on Cancer
AgNOR	argyrophile Nukleolus organisierende Region
Abb.	Abbildung
bzw.	beziehungsweise
ca.	zirka
DNA	desoxyribonucleid acid
eds	editors
FNCLCC	Fédération Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer
HPF	high power fields (ein HPF=0,196 mm ²)
min	Minuten
mm ²	Quadratmillimeter
MPNST	maligne periphere Nervenscheidentumoren
µm ²	Quadratmikrometer
n	Fallzahl
NCI	National Cancer Institute
NOR	Nukleolus organisierende Region
NZ	Nukleolenzahl
o.g.	oben genannten
PT	Primärtumor
rDNA	ribosomal desoxyribonucleid acid
rel.	relativ
RNA	ribonucleid acid
rRNA	ribosomal ribonucleid acid
UICC	Union Internationale Contre le Cancer
usw.	und so weiter
vgl.	vergleiche
WHO	World Health Organization
z	AgNOR-Zahl
z.B.	zum Beispiel

1 Einleitung

Das klinische Verhalten maligner Weichteiltumoren ist immer noch schwer einzuschätzen. Dies resultiert aus der Seltenheit, der ubiquitären Lokalisation und nicht zuletzt aus der histopathologischen Vielfalt dieser Tumorart (Guillou und Coindre 1998). In den letzten Jahren wurden verschiedene morphometrische und klinische Parameter auf ihren prognostischen Aussagewert bei Weichteilsarkomerkrankungen geprüft. Allgemeine Akzeptanz haben der histologische Sarkomtyp, die Tumorgröße, die Tumorlokalisation, eine hämatogene Dissemination des Tumors, die Nekroseneigung, die Mitosezahl und das Malignitätsgrading gefunden (Markhede et al. 1982, Ueda et al. 1988, Alvegard et al. 1990, Becker et al. 1991, Tsokos et al. 1992, Tomita et al. 1993, van Unnik et al. 1993, Rummelink et al. 1994, Enzinger und Weiss 1995).

Der Einfluß eines jeden Faktors ist bei den verschiedenen Sarkomtypen jedoch unterschiedlich stark (Miracco et al. 1996, Donhuijsen 1998).

Während die meisten prognostischen Parameter der epithelialen Tumoren von einem erfahrenen Untersucher nach allgemein anerkannten Richtlinien bestimmbar sind, gibt es für das Malignitätsgrading der Weichteilsarkome bisher kein einheitliches System.

Vorschläge für verschiedene histologische Gradingssysteme wurden in der Vergangenheit genügend gemacht. Diese basieren auf morphologischen Parametern wie dem histologischen Typ, der Zelldichte, der nukleären Pleomorphie, der Tumordifferenzierung, des Nekroseanteils, der Mitosezahl, des Anteils an interzellulärer Substanz sowie entzündlichen und hämorrhagischen Veränderungen. Diese Eigenschaften zeigten sowohl bei 2-Grad-, 3-Grad- als auch 4-Grad-Systemen eine Korrelation zur Überlebensrate und zum krankheitsfreiem Überleben (Epstein 1995, Guillou et al. 1997, Coindre 1998, Guillou und Coindre 1998).

In der WHO-Klassifikation von 1993 wurden die folgenden drei Gradingssysteme detailliert beschrieben:

- das French Federation of Cancer Centers System (FNCLCC)
- das Nationale Cancer Institute System (NCI)
- und das Dänische System des Zentrums für Knochen- und Weichteiltumoren in Aarhus

Bisher wurde nur das FNCLCC-System auf seine Reproduzierbarkeit getestet, wobei auch hier immer noch Meinungsverschiedenheiten bestehen (Coindre et al. 1986). Immerhin ist dieses 3-Grad-System bei 90 % aller Weichteilsarkome im Erwachsenenalter anwendbar (Guillou und Coindre 1998).

Das therapeutische Vorgehen bei Sarkomerkrankungen wird im wesentlichen vom Malignitätsgrad abhängig gemacht. Bei Sarkomen 1. Grades erfolgt, wenn möglich, eine Kompartimentresektion mit Erhaltung eines tumorfreien Gewebsrandes, bei Sarkomen 3. Grades zusätzlich eine adjuvante Chemotherapie.

Schwieriger ist die Dignitätsbestimmung und damit die Therapieplanung bei Sarkomen 2. Grades, welche in 40 bis 50 % der Fälle vorkommen. Diese stellen ein Gemisch von Tumoren mit guter und schlechter Prognose dar und sollten im Zusammenhang mit der Tumortiefe betrachtet werden (Tierney et al. 1995). Ravaud et al. (1992) wiesen nach, daß die Prognose oberflächlich gelegener Sarkome 2. Grades fast der Prognose von Sarkomen 1. Grades entspricht. Dagegen haben tief gelegene Sarkome 2. Grades - ähnlich Sarkomen 3. Grades - eine hohe Metastasierungswahrscheinlichkeit und sollten neben der chirurgischen auch eine Chemotherapie erhalten.

Guillou und Coindre (1998) bezeichnen den Tumorgrad als morphologische Translation kumulativer molekularer Ereignisse, die das Tumorwachstum und seine Aggressivität beeinflussen. Neue Technologien (u.a. Immunhistochemie, Zytometrie, Molekularbiologie) tragen zur Dignitätsbestimmung bei. Neben Ki-67 (Drobnjak et al. 1994, Ueda et al. 1994), Ki-S11 (Rudolph et al. 1997), PCNA (Choong et al. 1995) und zytometrischen DNA-Analysen (Gustafson et al. 1997) wurden in letzter Zeit auch argyrophile Nukleolus organisierende Regionen (AgNOR's) auf ihren prognostischen Aussagewert bei Sarkomerkrankungen untersucht (Crocker und Nar 1987, Crocker und Skilbeck 1987, Egan und Smith 1987, Egan et al. 1988, Bockmühl et al. 1991, Wrba et al. 1991, Rüschoff 1992, Tomita et al. 1993, Kuratsu et al. 1994, Miracco et al. 1996).

Nukleolus organisierende Regionen spielen bei der Zellteilung eine entscheidende Rolle. Sie stellen Segmente der DNA dar, in denen ribosomale Gene liegen. Während der Interphase befinden sie sich im Nukleolus, während der Mitose dagegen auf bestimmten akrozentrischen Chromosomen (13-15, 20-21). Sie sollen während der Telophase des Zellzyklus die Konzentration der Chromosomen in den beiden Tochterzellkernen bewirken (Henderson et al. 1974, Schwarzacher et al. 1978, Lewin 1980, Darnell et al. 1986). In der AgNOR-Färbung bindet das Silber an ein Protein, das mit der transkribierten ribosomalen RNA und DNA assoziiert ist. Aus diesem Grund steht die Zahl der argyrophilen NOR's im direkten Zusammenhang mit der ribosomalen Genaktivität. Damit reflektieren AgNOR's das Potential für die Zellproliferation (Kuratsu et al. 1991).

Die selektive Färbemethode Nukleolus organisierender Regionen mittels Silbernitrat wurde 1975 von Howell et al. und Goodpasture und Bloom entwickelt. Später wurde diese Methode von Ploton et al. (1986) modifiziert, um sie für Paraffinblöcke nutzbar zu machen.

Das Verhalten der AgNOR's in Karzinomen und Sarkomen wurde bereits von mehreren Autoren beschrieben (Egan et al. 1988, Bockmühl et al. 1991, Hara et al. 1991, Wrba et al. 1991, Rüschoff 1992, Tomita et al. 1993, Kuratsu et al. 1995, Miracco et al. 1996).

In einigen Studien konnte für bestimmte Malignome eine Korrelation zwischen AgNOR-Zahl und Malignitätsgrad nachgewiesen werden (Crocker und Nar 1987, Crocker und Skilbeck 1987, Egan und Smith 1987, Hara et al. 1991, Kuratsu et al. 1993, Tomita et al. 1993, Miracco et al. 1996). In anderen Studien hatten AgNOR's jedoch keinen prognostischen Aussagewert (Egan et al. 1988, Wrba et al. 1991).

In der vorliegenden Arbeit wurden daher argyrophile Nukleolus organisierende Regionen an Tumormaterial mit bekanntem klinischen Verlauf untersucht. Dazu wurden 65 in Paraffin eingebettete neurogene Sarkome (53 Primärtumoren und 12 Tumorrezidive) ausgewählt. Diese Gruppe wurde mit einer benignen Kontrollgruppe von 24 Neurinomen verglichen. Es sollte festgestellt werden, ob es signifikante Unterschiede zwischen neurogenen Sarkomen und Neurinomen hinsichtlich verschiedener AgNOR-Parameter, der Kernfläche und der Anzahl der Nukleolen gibt und ob anhand dieser Parameter eine Abgrenzung der einzelnen Malignitätsgrade neurogener Sarkome möglich ist.

Sollte dies der Fall sein, könnte die AgNOR-Analyse bei histomorphologisch suspekten Befunden eine Entscheidungshilfe in der Diagnostik und Dignitätsbestimmung peripherer Nervenscheidentumoren sein.

Maligne Tumoren der peripheren Nervenscheiden werden den Weichteilsarkomen zugeordnet. Diese können in der Regel de novo, altersunabhängig und überall in den Weichteilen entstehen (Laissue und Gebbers 1991).

Da zu dieser Entität ein breites Spektrum möglicher histologischer Bilder gezählt wird, gibt es in der Bezeichnung der im folgenden untersuchten Tumorart eine Vielzahl von Synonyma: neurogenes Sarkom, malignes Schwannom, malignes Neurolemmoma, malignes Neurofibrom, maligner peripherer Nervenscheidentumor (MPNST) oder Neurofibrosarkom. In dieser Arbeit wurde der Einheitlichkeit halber die Bezeichnung „Neurogenes Sarkom“ gewählt.

Neurogene Sarkome nehmen einen Anteil von 5-10 % aller malignen Weichteiltumoren ein (Katenkamp und Stiller 1990, Enzinger und Weiss 1995, Weiss und Brooks 1996, Rath et al. 1999) - sie sind somit relativ seltene Geschwülste, die in allen Malignitätsgraden zu finden sind (Kirchner und Wunsch 1981).

Die Prognose dieser Tumoren hängt von der Tumorgröße und -lokalisation, dem histologischen Bild und dem Erfolg der Primärtherapie ab.

Der Morbus von Recklinghausen (Neurofibromatose Typ 1) stellt für den Patienten einen eindeutig prädisponierenden Faktor dar, an einem neurogenen Sarkom zu erkranken (Feldkamp et al. 1996, Rath et al. 1999).

Bei Patienten mit Neurofibromatose lassen sich zwei Gruppen bilden. Die periphere Neurofibromatose Typ 1 (NF-1, über 90 % der Fälle) ist die klassische Von Recklinghausen'sche Erkrankung und wird durch einen Gendefekt auf Chromosom 17q verursacht. Bei der Neurofibromatose Typ 2 liegt ein Defekt auf Chromosom 22 vor. Sie manifestiert sich vor allem durch Tumoren im zentralen Nervensystem, insbesondere durch ein- oder beidseitige Akustikusneurinome. Bei 3-10 % der Patienten mit Neurofibromatose Typ 1 treten neurogene Sarkome auf (Rath et al. 1999). Die 5-Jahres-Überlebensrate der Patienten ohne Recklinghausen'sche Erkrankung schwankt zwischen 45-75 %. Dagegen haben Patienten mit Morbus von Recklinghausen mit einer 5-Jahres-Überlebensrate von nur 15-30 % eine wesentlich schlechtere Prognose, da die Tumoren in der Regel höher maligne und schlechter operabel sind. Am schlechtesten ist die Prognose bei malignen Triton-Tumoren und neurogenen Sarkomen, deren Entstehung mit einer früheren Bestrahlung im Zusammenhang steht. Der Anteil dieser strahleninduzierten Tumoren wird auf 11 % geschätzt (Foley et al. 1980, Ducatman und Scheithauer 1983).

Die Metastasierungsrate schwankt zwischen 25 und 85 %. Pulmonale Metastasen dominieren, lymphogene Absiedelungen scheinen lediglich bei oberflächlich gelegenen epitheloiden neurogenen Sarkomen vorzukommen (Katenkamp und Stiller 1990).

Die Lokalrezidivrate schwankt nach Ducatman et al. (1986) und Hruban et al. (1990) zwischen 36 und 54 %. Die Mortalitätsrate wird in diesen Studien mit 63-68 % bei einer 5- bzw. 10-Jahres-Überlebensrate von 34-39 % bzw. 23 % beschrieben.

Prinzipiell ist das neurogene Sarkome in jedem Lebensalter mit einer gewissen Häufung zwischen der 3. und 5. Lebensdekade zu finden. Patienten mit einem gleichzeitigen Morbus von Recklinghausen sind dabei 10-15 Jahre jünger, wobei das männliche Geschlecht überwiegt. Ohne assoziierte Neurofibromatose dagegen ist das Geschlechtsverhältnis ausgeglichen oder das weibliche Geschlecht gering bevorzugt (Ducatman et al. 1986, Hruban et al. 1990, Katenkamp und Stiller 1990).

Neurogene Sarkome sind gehäuft im Weichteilgewebe lokalisiert. Sehr selten nimmt der Primärtumor seinen Ausgang vom Hautgewebe oder von einem größeren Nerven. Im Kopf-Hals-Bereich steht der Ausgang von Hirnnerven im Vordergrund, wobei diese Tumorart hier am seltensten zu finden ist. Knapp 30 % aller neurogenen Sarkome mit heterologen Differenzierungsherden manifestieren sich in diesem Bereich. Eine leichte Häufung der Tumorlokalisation ist für die Oberschenkel/Gesäß- und Oberarm/Schulter-Region zu verzeichnen. Andere typische Prädilektionsstellen existieren nicht.

Bedingt durch das relativ rasche Wachstum zählen Schwellungen meist zu den ersten Symptomen. Bei fast der Hälfte der Erkrankten kommen Schmerzen hinzu. Sensible oder motorische Ausfälle sind vergleichsweise selten (Katenkamp und Stiller 1990, Weiss und Brooks 1996, Rath et al. 1999). Die Therapie erfolgt in Abhängigkeit von der Operabilität als komplette radikale Exzision (Woodruff 1993). Bei neurogenen Sarkomen im Bereich der Extremitäten sollte eine rasche Amputation der betroffenen Extremität möglichst weit oberhalb der Läsion erfolgen, da sich der Tumor innerhalb des Nerven über weite Strecken hin ausgedehnt haben kann (Rath et al. 1999). Die zytostatische Therapie blieb bei dieser Tumorart bisher ohne Erfolg (Weiss und Brooks 1996). Rath et al. (1999) halten auch die Strahlentherapie für wirkungslos.

Bis zum gegenwärtigen Zeitpunkt werden die peripheren Nervenscheidentumoren nach Enzinger und Weiss (1995) klassifiziert.

A. Benigne periphere Nervenscheidentumoren

1. Traumatisches Neurom (Amputationsneurom)
2. Morton'sches Neurom
3. Neuromuskuläres Hamartom (Benigner „Triton“ Tumor)
4. Nervenscheidenganglion
5. Neurilemmom (Benignes Schwannom)
6. Solitäres Neurofibrom
 - a) Lokalisiert
 - b) Diffus
 - c) Pacini
 - d) Pigmentiert
 - e) Granularzellig
7. Neurofibromatose (von Recklinghausen)
 - a) Lokalisiert
 - b) Plexiform
 - c) Diffus
8. Pigmentierter neuroektodermaler Tumor des Säuglingsalters (Retinalanlage-Tumor)
9. Ektopes Meningeom
10. Nasales Gliom
11. Benigner myxoider Tumor der Nervenscheiden
(Nervenscheidenmyxom, Neurothekeom)

B. Maligne periphere Nervenscheidentumoren

1. Malignes Schwannom, inklusive
 - a) Maligner „Triton“ Tumor
 - b) Malignes glanduläres Schwannom
 - c) Malignes epitheloides Schwannom
2. Maligner pigmentierter neuroektodermaler Tumor des Säuglingsalters (Retinalanlage-Tumor)
3. Peripherer Tumor des primitiven neuroektodermalen Gewebes (Malignes Neuroepitheliom, Peripheres Neuroblastom)
4. Olfaktorisches Neuroepitheliom (Olfaktorisches Neuroblastom)

Immunhistochemisch kann diese Tumorart hauptsächlich durch den Nachweis des S-100-Proteins klassifiziert werden. Fast alle Neurofibrome und Schwannome sowie 50 bis 70 % der neurogenen Sarkome, eingeschlossen die epitheloiden Typen, sind S-100 positiv. Da aber auch eine Vielzahl von anderen Tumoren eine Reaktion auf S-100 zeigt (z.B. Klarzellsarkome, Melanome der Weichteile, manche Leiomyome, Leiomyosarkome und Liposarkome), ist die endgültige Diagnose immer im Zusammenhang mit anderen morphologischen diagnostischen Verfahren, ggf. einschließlich der Elektronenmikroskopie, zu stellen (Watabe et al. 1983, Weiss und Brooks 1996).

In dieser Arbeit sollte insbesondere die Frage geklärt werden, ob mit der morphometrischen Messung Nukleolus organisierender Regionen in neurogenen Sarkomen eine Aussage zur Prognose dieser Tumorart gemacht werden kann.

2 Material und Methoden

In einer retrospektiven Studie wurden 65 formalinfixierte, in Paraffin eingebettete neurogene Sarkome sowie 24 Neurinome aus dem Archiv des Institutes für Pathologie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg untersucht. Es wurden Präparate aus den Jahren 1982 bis 1994 in die Untersuchungen einbezogen. Das Gewebe wurde in gepuffertem Formalin fixiert.

Das Tumormaterial stammte von 28 weiblichen und 25 männlichen Patienten. Es wurden 53 Primärtumoren und 12 Tumorrezidive (davon sechs 1. Rezidive, vier 2. Rezidive, ein 3. Rezidiv, ein 4. Rezidiv) untersucht.

Vor der Messung wurden alle 65 Präparate hinsichtlich der Diagnose „Neurogenes Sarkom“ anhand der Kriterien von Enzinger und Weiss (1995) am HE-Schnitt reklassifiziert.

Es wurden nur homologe neurogene Sarkome in die Untersuchungen einbezogen.

Als Ausschlußkriterium galt eine fehlende S-100-Reaktion.

2.1 Malignitätsgrading

Es wurde die Methode von van Unnik et al. (1993) zum Grading von Weichteilsarkomen angewandt. Bei diesem System werden, verdichtet durch eine Bewertungszahl, ausschließlich Mitoserate und Nekroseanteil zur Einordnung in den entsprechenden Malignitätsgrad verwendet.

Malignitätsgrad 1: Mitosezahl 0; Nekroseanteil 0 bzw. 1

Malignitätsgrad 2: Mitosezahl 1 bzw. 2; Nekroseanteil 0 bzw. 1

Malignitätsgrad 3: Mitosezahl 2; Nekroseanteil 1

Bewertungszahl:	Nekroseanteil 0:	keine Nekrose
	Nekroseanteil 1:	deutliche Nekrose
	Mitosezahl 0:	0-2 Mitosen/10 HPF
	Mitosezahl 1:	3-20 Mitosen/10 HPF
	Mitosezahl 2:	über 20 Mitosen/10 HPF

2.2 Stadieneinteilung - Staging

Das Staging erfolgte postoperativ nach der UICC, pTNM-Klassifikation Maligner Tumoren (Soft Tissue. In: Hermanek et al. 1992).

Weichteilsarkome zählen demnach zu den drei Neoplasiearten, bei denen der Malignitätsgrad mit dem Stadium der Erkrankung korreliert. So entsprechen Weichteilsarkome des 1. Grades dem Stadium 1, die des 2. Grades dem Stadium 2 und die des 3. Grades dem Stadium 3, vorausgesetzt, Lymphknoten- oder Fernmetastasen fehlen (Soft Tissue. In: American Joint Committee on Cancer 1992).

2.3 Klinische Befunde

Die Auswertung der klinischen Befunde erfolgte anhand der stationären Behandlungsunterlagen.

Auswertungskriterien waren:

1. das Geschlecht der Patienten
2. das Alter zum Zeitpunkt der Primäroperation
3. die Tumorausdehnung; diese wurde in zwei Gruppen untergliedert. Tumoren mit einem Durchmesser unter 5 cm entsprachen der Kategorie T1, solche mit einem Durchmesser über 5 cm der Kategorie T2.
4. die Metastasierungsneigung; zum Zeitpunkt der Primäroperation wurden Lymphknoten- und Fernmetastasen sowie postoperativ auftretende Fernmetastasen ermittelt
5. die Resektionsart; hier erfolgte eine Unterteilung in 2 Gruppen (Patienten, bei denen der Tumor primär exzidiert wurde und solche, bei denen nach einem Intervall von weniger als 3 Monaten nach einer Biopsie die Operation erfolgte); innerhalb dieser Gruppen wurde zusätzlich nach dem Grad der Tumorentfernung unterschieden (weite Exzision, Kompartimentresektion, Extremitätenamputation, Tumorausschälung, palliativer Eingriff)
6. die Tumorlokalisation (Kopf-Hals, Extremitäten, Rumpfwand, intestinal)
7. Überlebenszeit der Patienten in Monaten nach Diagnosestellung

2.4 Histologische Befunde

1. die Mitoserate; sie wurde in den nekrosefreien Gebieten mit der höchsten Zelldichte ermittelt
2. der Nekroseanteil; es wurden eventuell vorhandene Nekroseareale bei niedriger Mikroskopvergrößerung (250x) ermittelt

Beide Parameter gingen mit der vorn beschriebenen Bewertungszahl in das Grading-System nach van Unnik et al. (1993) ein.

2.5 Zytomorphometrisch erhobene Befunde

1. durchschnittliche Fläche einer AgNOR
2. AgNOR-Gesamtfläche pro Zelle
3. durchschnittliche AgNOR-Zahl pro Zelle
4. mittlerer AgNOR-Gehalt (entspricht dem AgNOR-Quotienten - Quotient aus AgNOR-Zahl pro Zelle und AgNOR-Gesamtfläche pro Zelle)
5. größte AgNOR-Zahl pro Nukleolus
6. durchschnittliche Kernfläche
7. Anzahl der Nukleolen
8. Fläche aller Nukleolen pro Zellkern

Da bei 20 der 53 Patienten lediglich die Histologieanforderungsscheine zur Ermittlung der klinischen Daten verfügbar waren, erfolgte die Auswertung der ermittelten Parameter nach zwei Schemata:

1. Der Vergleich vollständiger klinischer Daten (Geschlecht, Alter, Tumorcharakter, Tumorausdehnung, Metastasierungsneigung, Resektionsart, Tumorlokalisation, Staging) sowie des Malignitätsgrades mit den Überlebenszeiten bei 33 Patienten.
2. Der Vergleich des Malignitätsgrades mit den morphometrisch ermittelten Daten bei allen untersuchten Tumoren.

2.6 Untersuchung der AgNOR's

2.6.1 Aufarbeitung des histologischen Materials

Von den in Paraffin eingebetteten Tumoren wurden 4 µm dicke Schnitte angefertigt. Diese wurden auf zuvor polylysierte Objektträger gebracht und drei Stunden bei maximal 45°C im Brutschrank getrocknet, um eine optimale Haftung zu gewährleisten.

Von den Leerschnitten wurde einer mit Hämatoxylin-Eosin (siehe Abb. 13 u. 14) und die übrigen in einer Färbereihe mit dem Silberreagenz (siehe Abb. 15) gefärbt. Optimale Färbeergebnisse waren am vorliegenden Material bei einer Färbedauer von 22 Minuten zu verzeichnen.

2.6.2 Färbemethode

Die Silberfärbung erfolgte in Anlehnung an Ploton et al. (1986) sowie an Crocker und Nar (1987). Das Färbereagenz bestand aus zwei Teilen 50prozentiger AgNO₃-Lösung und einem Teil Gelatinelösung. Es wurden 13 g AgNO₃ in 26 ml Aqua bidest und 1 g Gelatine in 50 ml Aqua bidest gelöst. Zur Gelatinelösung wurden 0,6 ml 98-100prozentige Ameisensäure gegeben. Beide Lösungen wurden vorher frisch hergestellt und erst unmittelbar vor Gebrauch gemischt. Die Entparaffinierung der Leerschnitte erfolgte in absteigender Alkoholreihe. Zunächst wurde mit 2x10 min Xylol begonnen, anschließend 2x5 min in 96prozentigem Alkohol, danach 1x5 min in 80prozentigem Alkohol und schließlich erfolgte die Spülung in Aqua bidest für 5 min.

Die Präparate wurden 22 min im Dunkeln bei Raumtemperatur gefärbt und anschließend 20 min in Aqua bidest gespült. Nach der Dehydrierung in aufsteigender Alkoholreihe (je 1-2 min in einmal 80prozentigem Alkohol, zweimal 96prozentigem Alkohol, zweimal Xylol) erfolgte das Eindecken mit Kanadabalsam.

Bei optimaler Färbung stellten sich die AgNOR's als Ansammlung schwarzer Punkte innerhalb der Nukleolen dar.

Der Versuch, das Färbeergebnis mittels zusätzlicher Präparation in 4prozentigem Formalin (ähnlich der zytologischen Präparation) zu optimieren, mißlang - hierbei wurden lediglich die Nukleolen dunkler gefärbt und eine Abgrenzung der AgNOR's erschwert.

Bemerkenswert ist jedoch, daß die Qualität der gefärbten Gewebeproben bei einer Lagerung von -22°C in lichtgeschützten Präparatekästen 10 Tage erhalten blieb. Ohne diese Maßnahmen verblaßten die Präparate teilweise schon nach 24 Stunden und wurden damit unbrauchbar.

2.6.3 Meßeinrichtung

Für die morphometrischen Messungen wurde ein Bildanalysesystem genutzt. Dieses bestand aus einem PC-gesteuerten Bildanalysegerät (Firma Olympus, Hamburg), einem Mikroskop der Firma Zeiss (Axiophot) und einer CCD/RGB Videokamera der Firma Sony mit einer Auflösung von 380x480 Pixel. Die Präparate wurden unter einer 100x Ölimmersionslinse untersucht, die Mikroskopvergrößerung betrug 200x, zusammen mit der Nachvergrößerung mittels eines zwischengesetzten Kameratubus betrug die Gesamtvergrößerung 5000x.

Um die Genauigkeit der gemessenen Parameter zu prüfen und den Meßfehler durch beispielsweise schlechte Färbungen oder Ungenauigkeiten in der Schnittdicke so gering wie möglich zu halten, wurden die mit Hilfe des Analyseprogramms erfaßten Parameter mit denen, die durch den Untersucher ermittelt wurden, verglichen.

Zusätzlich wurde die positive Reaktion von Infiltratlymphozyten aus dem Tumorrandgebiet als interner Standard genutzt.

2.6.4 Meßvorgang

Es wurden je Präparat 70 Zellkerne aus mindestens zwei zufällig ausgewählten repräsentativen Gebieten des Tumors gemessen. Jeder Zellkern wurde einzeln vermessen (siehe Abb. 16). Es wurden nur Zellkerne ausgewählt, die weder überlagert noch zerschnitten waren. Der entsprechende Zellkern wurde fokussiert, am Rand mit der Computermaus umfahren und so vom übrigen Gewebe abgetrennt. Die Vermessung der einzelnen AgNOR's eines Zellkerns erfolgte per Grauwertanalyse. Das eingestellte Bild wurde in 512x512 Pixel (Meßpunkte) zerlegt und an jedem Pixel der Grauwert bestimmt. Am vorhandenen Bildschirm standen 254 Grauwertstufen zur Verfügung. Nun wurde jeweils die Grenzgrauwertstufe gewählt, bei der die AgNOR's mit den in einem roten Overlay dargestellten Strukturen übereinstimmten. Um den subjektiven Faktor so gering wie möglich zu halten, wurde mehrmals ein Grauwert-Histogramm erstellt, wobei die Zahl der Meßpunkte mit gleichem Grauwert in einer Säule zusammengefaßt waren. Dunkel gefärbte Präparate hatten einen niedrigen Grauwert - der höchste Gipfel des Histogramms repräsentierte dagegen die Hintergrundhelligkeit. Die Analyse erfolgte einerseits „optisch“ durch den Untersucher mittels Zählung der AgNOR's und der Nukleolen, andererseits automatisch durch das „Cue2“-Bildanalysesystem. Hierbei ermittelte das Programm die morphometrischen Meßwerte (Kernfläche, AgNOR-Zahl und -Fläche, Nukleolenzahl und -fläche).

2.7 Statistik und grafische Gestaltung

Die Erfassung und Auswertung der Daten sowie die Gestaltung der Grafiken erfolgte im Programm „SPSS Base 7.0 for Windows“. Einzelergebnisse wurden als Fallzahl unter Angabe ihrer relativen Häufigkeit in Prozent, die Summe der Einzelmessungen anhand ihres arithmetischen Mittelwertes dargestellt. Als Schwelle für Signifikanzaussagen galt $\alpha=5\%$ ($p=0,05$).

Die morphometrischen Meßwerte wurden graphisch in Boxplots dargestellt. In diesen wurden die Einzelergebnisse zusammengefaßt, die sich in einem festgelegten Variabilitätsbereich befanden. Die Einzelergebnisse, die außerhalb des Variabilitätsbereiches lagen, wurden als Extremwerte oder „Ausreißer“ mit dem entsprechenden Meßwert separat aufgeführt. Außerdem wurden Median und Quartile für jede Tumorart markiert. Zur Berechnung der Korrelationen zwischen morphometrisch ermittelten Parametern und den Malignitätsgraden wurde die einfaktorielle Varianzanalyse angewendet. Bei signifikanten Varianzanalyse-Ergebnissen schlossen sich multiple Vergleiche (posthoc-Vergleich, Tukey B) an (Adam 1980, Harms 1988).

Die Beziehung zwischen klinischen Daten und Überlebenszeiten wurde graphisch nach der Methode von Kaplan und Meier (1958) dargestellt. Da fünf der dreiunddreißig Patienten bei Abschluß der Datenerfassung noch lebten, erfolgte eine zensierte Darstellung dieser Überlebenszeiten. Die Signifikanzen der Überlebenszeiten anhand des jeweiligen klinischen Bezugsfaktors (Alter, Geschlecht, Malignitätsgrad, Staging, Metastasierung, Operationsart, Tumorlokalisation, Tumorausdehnung) wurden nach dem Log-Rank-Test ermittelt (Peto et al. 1977).

3 Ergebnisse

3.1 Klinische Befunde

3.1.1 Alter und Geschlecht in Abhängigkeit von der Überlebenszeit

Es wurden die klinischen Daten von 33 Patienten ausgewertet.

Es handelte sich um 22 Frauen (66,7 %) und 11 Männer (33,3 %). 3 Frauen und 2 Männer waren bei Abschluß der Datenerfassung noch am Leben. Bezüglich des Geschlechts war der Unterschied der Überlebenszeiten nicht signifikant ($p=0,9523$).

Das mittlere Diagnosealter betrug bei den weiblichen Patienten 43,2 Jahre. Bei den männlichen Patienten lag das mittlere Diagnosealter bei 42,0 Jahren. Um diesen klinischen Parameter auswerten zu können, wurden drei Altersgruppen gebildet. In der ersten Altersgruppe waren die 2. und 3. Lebensdekade, in der zweiten Gruppe die 4. und 5. Lebensdekade und in der dritten Gruppe die 6. bis 8. Lebensdekade erfaßt (siehe Abbildung 1).

Der Vergleich dieser drei Altergruppen zeigte keinen signifikanten Unterschied bezüglich der Überlebenszeiten nach Diagnosestellung ($p=0,0587$).

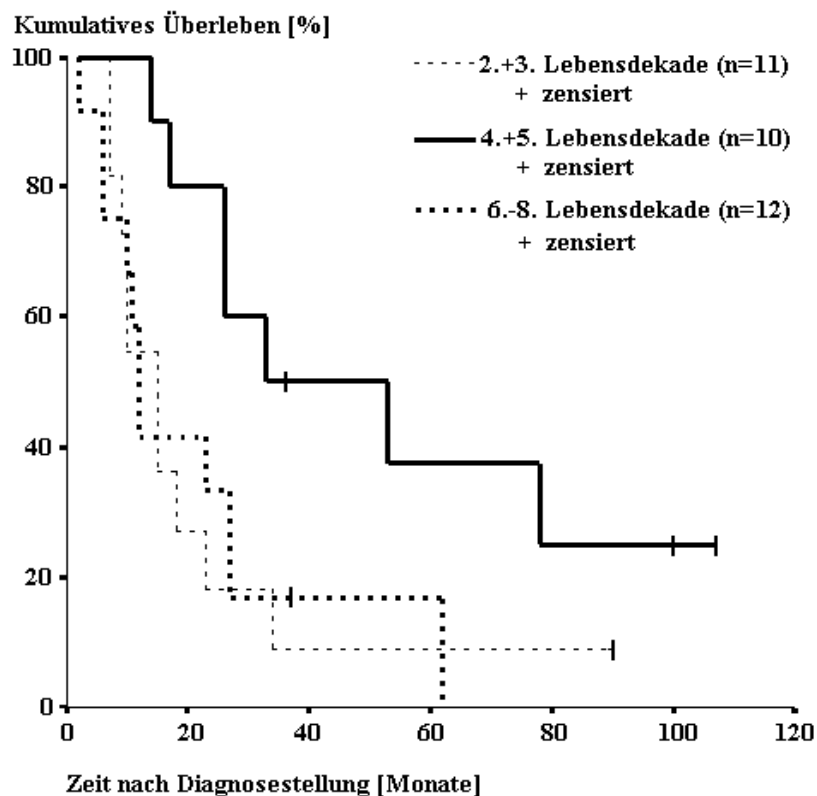


Abbildung 1: Überlebenskurven in Abhängigkeit vom Patientenalter

3.1.2 Staging in Abhängigkeit von der Überlebenszeit

Die Primärtumoren der 33 Patienten wiesen folgendes Staging nach UICC/AJCC (1992) auf: Zwei Tumoren (6,1 %) entsprachen Stadium IA. Davon lebte noch ein Patient bei Abschluß der Datenerfassung, der andere Patient überlebte die Krankheit 26 Monate. Zwei Tumoren (6,1 %) wurden dem Stadium IIA zugeordnet, diese Patienten überlebten 18 und 78 Monate. Zehn Tumoren (30,3 %) entsprachen Stadium IIB. Zwei dieser Patienten waren noch am Leben, die übrigen überlebten im Mittel 25,8 Monate. Drei Tumoren (9,1 %) wurden dem Stadium IIIA zugeordnet, die Patienten überlebten im Mittel 20,3 Monate. Neun Tumoren (27,2 %) befanden sich im Stadium IIIB. Von dieser Gruppe lebte noch ein Patient, die übrigen überlebten im Mittel 18,0 Monate. Fünf Tumoren (15,1 %) konnten Stadium IVA zugeordnet werden. Hier lag die mittlere Überlebenszeit bei 11,0 Monaten, wobei ein Patient bei Abschluß der Datenerfassung noch lebte. Zwei neurogene Sarkome (6,1 %) entsprachen dem Stadium IVB. Hier überlebten die beiden Patienten 6 und 10 Monate. Es ließ sich keine signifikante Abhängigkeit der Überlebenszeiten vom Tumorstadium ermitteln ($p=0,0841$).

3.1.3 Metastasierung in Abhängigkeit von der Überlebenszeit

Vier Patienten (12,1 %) hatten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung weder Lymphknoten- noch Fernmetastasen. Von dieser Gruppe waren sämtliche Patienten bei Abschluß der Datenerfassung noch am Leben. Bei einem Patienten (3,0 %) wurden Lymphknotenmetastasen zum Zeitpunkt der Primäroperation festgestellt. Auch dieser lebte noch bei Abschluß der Datenerfassung. Bei vier Patienten (12,1 %) wurden intraoperativ Lymphknoten- und postoperativ aufgetretene Fernmetastasen festgestellt. Diese überlebten im Mittel 11,0 Monate. Bei zweiundzwanzig Patienten (66,7 %) traten postoperative Fernmetastasen auf, die mittlere Überlebenszeit betrug 24,2 Monate. Bei zwei Patienten (6,1 %) wurden bei der Primäroperation sowohl Lymphknoten- und Fernmetastasen als auch postoperative Fernmetastasen festgestellt. Diese überlebten 6 und 10 Monate. Für die statistischen Berechnungen wurden erneut zwei Gruppen gebildet. In der ersten Gruppe sind die metastasenfremen Patienten sowie der Patient mit gesicherten Lymphknotenmetastasen zusammengefaßt. Die zweite Gruppe wird von den übrigen Patienten repräsentiert (postoperative Fernmetastasen; Lymphknoten- und postoperative Fernmetastasen; Lymphknoten-, Fernmetastasen und postoperative Fernmetastasen). Die Patienten der ersten Gruppe lebten signifikant länger als die Patienten der zweiten Gruppe ($p=0,0001$).

3.1.4 Tumorausdehnung in Abhängigkeit von der Überlebenszeit

Der Tumordurchmesser variierte zwischen 2 und 23 cm (Mittelwert: 7,54).

7 Patienten (21,2 %) hatten eine Tumorausdehnung, die der Kategorie T1 entsprach. Die mittlere Überlebenszeit dieser Patienten betrug 30,5 Monate. Von dieser Untersuchungsgruppe war ein Patient bei Abschluß der Datenerfassung noch am Leben.

26 Patienten (78,8 %) wurden der Kategorie T2 zugeordnet. Vier dieser Patienten lebten noch bei Abschluß der Datenerfassung. Die übrigen 22 Patienten überlebten im Mittel 18,6 Monate. Bezüglich der Tumorausdehnung ergaben sich keine signifikanten Unterschiede der Überlebenszeiten zwischen diesen beiden Patientengruppen ($p=0,4161$).

3.1.5 Operationsart in Abhängigkeit von der Überlebenszeit

Bei 20 Patienten (60,6 %) wurde der Tumor primär exzidiert. Von dieser Gruppe erfolgte bei fünf Patienten eine weite Tumorexzision. Zwei dieser Patienten waren bei Abschluß der Datenerfassung noch am Leben, die drei anderen Patienten überlebten die Erkrankung im Mittel 39,7 Monate. Bei 13 Patienten erfolgte eine primäre Tumorausschälung, diese überlebten im Mittel 18,9 Monate. Bei 2 Patienten konnte nur eine palliative Tumormassenreduktion erfolgen, diese überlebten 6 und 7 Monate. Bei 13 Patienten (39,4 %) erfolgte eine sekundäre Tumorsektion nach Probeentnahme. Von dieser Gruppe wurde bei 10 Patienten der Tumor weit exzidiert, hier betrug die mittlere Überlebenszeit 18,4 Monate, wobei 2 Patienten bei Abschluß der Datenerfassung noch lebten. Bei 2 Patienten erfolgte eine Extremitätenamputation nach Probeentnahme, davon lebte noch ein Patient zum Zeitpunkt der Datenerfassung, der andere überlebte 53 Monate. Bei einem Patienten konnte nur eine Tumorausschälung nach Probeentnahme durchgeführt werden, dieser überlebte die Erkrankung 15 Monate.

In Abbildung 2 sind die relativen Überlebenszeiten in Abhängigkeit zur Operationsmethode dargestellt. Es wurden zwei Patientengruppen gebildet. In Gruppe 1 sind die Patienten zusammengefaßt, bei denen die Tumorexzision weit im Gesunden erfolgte. Gruppe 2 wird durch die Patienten repräsentiert, bei denen kein tumorfreier Rand nach Operation gesichert werden konnte.

Patienten der ersten Gruppe hatten signifikant längere Überlebenszeiten als Patienten, bei denen nur eine palliative Tumormassenreduktion bzw. Tumorausschälung erfolgte ($p=0,0035$).

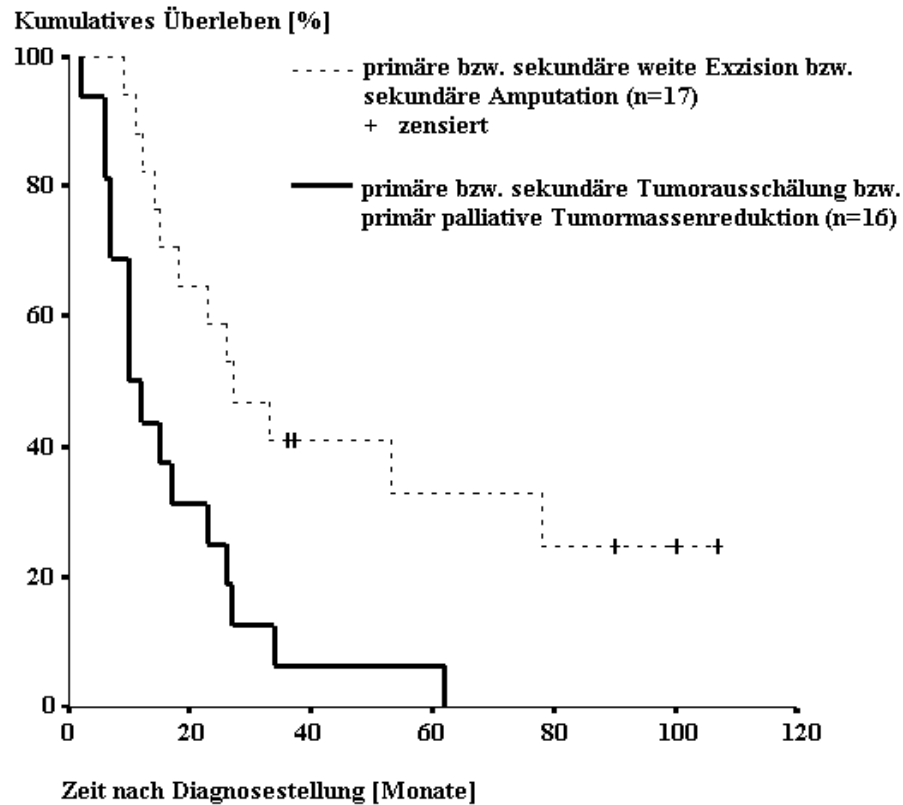


Abbildung 2: Überlebenskurven in Abhängigkeit zur Operationsmethode

3.1.6 Tumorlokalisation in Abhängigkeit von der Überlebenszeit

3 Primärtumoren befanden sich im Kopf-Hals-Bereich (9,1 %), 13 Tumoren waren im Bereich der Extremitäten lokalisiert (39,4 %). Davon befand sich ein Tumor an der oberen Extremität, drei befanden sich an der Schulter, vier im Bereich der Hüfte und des äußeren Beckengürtels und fünf an der unteren Extremität. An der Rumpfwand waren vier Tumoren (12,1 %) lokalisiert. Dreizehn Tumoren (39,4 %) befanden sich intraabdominal. Davon lagen vier intestinal, acht retroperitoneal und einer intrathorakal.

Bezüglich der Tumorlokalisation ergeben sich folgende Überlebenszeiten. Bei acht Patienten befand sich der Tumor retroperitoneal, diese Patienten hatten eine mittlere Überlebenszeit von 10,9 Monaten. Vier der neurogenen Sarkome waren im Bereich der Rumpfwand lokalisiert. Hier betrug die mittlere Überlebenszeit 15,8 Monate. Die drei Patienten, bei denen der Tumor in der Kopf-Hals-Region lokalisiert war, überlebten im Mittel 21,3 Monate. Bei vier Patienten befand sich der Tumor intraabdominal und bei einem Patienten intrathorakal, diese überlebten die Erkrankung im Mittel 24,0 Monate. Von den 13 Patienten, bei denen sich das neurogene Sarkom im Bereich der Extremitäten befand, waren

5 bei Abschluß der Datenerfassung noch am Leben, die übrigen überlebten im Mittel 32,4 Monate.

In Abbildung 3 werden die Patienten in Anlehnung an die Studie von Kuratsu et al. (1994) in drei Gruppen zusammengefaßt. Gruppe 1 stellt die Patienten mit einer Tumorlokalisation in der Kopf-, Hals- und Retroperitonealregion dar. Gruppe 2 faßt die Patienten mit Tumoren im Bereich von Rumpfwand und Intestinum zusammen. Gruppe 3 repräsentiert die Patienten mit Tumoren im Bereich der Extremitäten. Patienten der dritten Gruppe lebten signifikant länger als Patienten der zweiten Gruppe, wobei Patienten der zweiten Gruppe signifikant längere Überlebenszeiten als Patienten der ersten Gruppe hatten ($p=0,0006$).

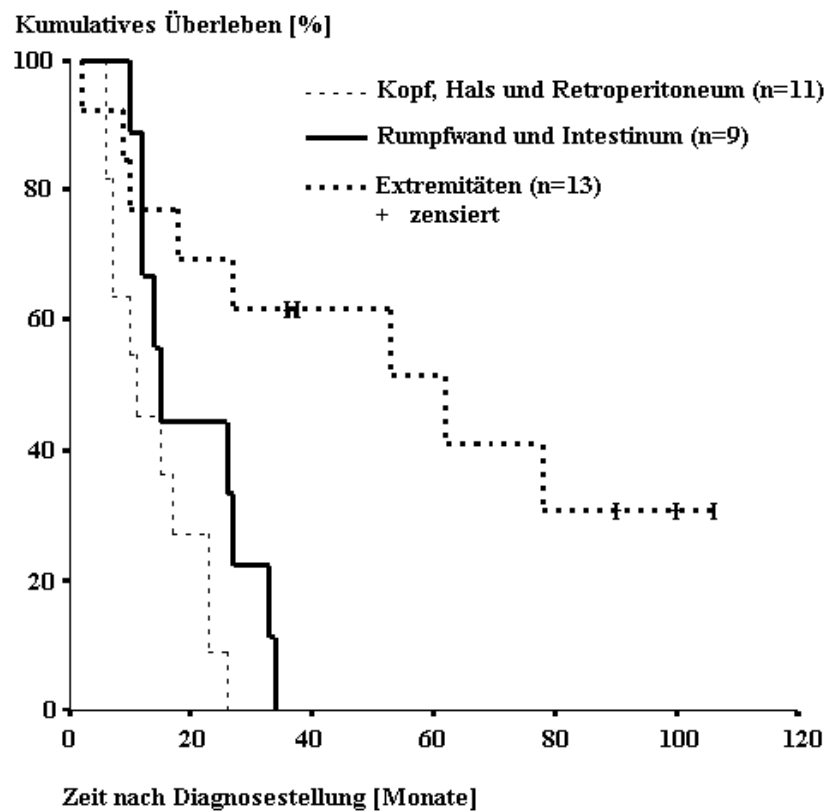


Abbildung 3: Überlebenskurven in Abhängigkeit von der Tumorlokalisation

3.2 Histologische Befunde, Malignitätsgrading und Überlebenszeit

Die Auswertung dieser Parameter erfolgte ebenfalls mit Hilfe der stationären Behandlungsunterlagen, die bei 33 Patienten verfügbar waren. Zum Zeitpunkt der Datenauswertung lebten noch 5 Patienten (15,2 %), 28 Patienten (84,8 %) waren am Tumor verstorben. Die Überlebenszeit schwankte zwischen 2 und 78 Monaten, die mittlere Überlebenszeit betrug 21,2 Monate. Der Median lag bei 15,0 Monaten mit einer Standardabweichung von 17,7. Zwei Patienten hatten neurogene Sarkome des 1. Grades, davon lebte bei Abschluß der Datenerfassung noch ein Patient, der andere überlebte 26 Monate. Bei 15 Patienten wurde der Tumor dem Malignitätsgrad 2 zugeordnet, hiervon lebten noch 3 Patienten, die übrigen 12 Patienten überlebten die Erkrankung im Mittel 26,5 Monate. Von den 15 Patienten mit Tumoren des 3. Grades lebte noch ein Patient bei Abschluß der Datenerfassung, die anderen überlebten im Mittel 16,6 Monate. Für die graphische Darstellung der relativen Überlebenszeit in Abhängigkeit vom Malignitätsgrad wurden die Sarkome des 1. und 2. Grades zusammengefaßt (siehe Abbildung 4). Patienten mit neurogenen Sarkomen der Grade 1 und 2 lebten signifikant länger als Patienten, die an einem neurogenen Sarkom des Grades 3 erkrankt waren ($p=0,0204$).

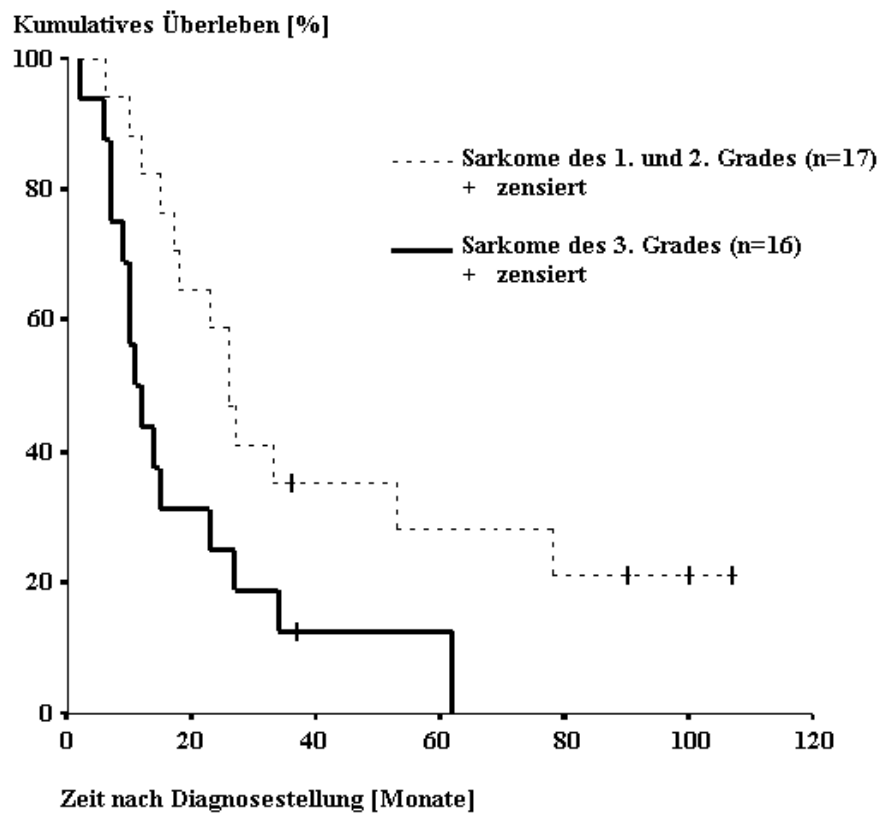


Abbildung 4: Überlebenskurven in Abhängigkeit vom Tumorgrading

Das Malignitätsgrading für alle 65 morphometrisch untersuchten Tumoren erfolgte nach der Methode von van Unnik et al. (1993).

3 Tumoren (4,6 %) entsprachen dem Grad 1, 33 Tumoren (50,8 %) dem Grad 2 und 29 Tumoren (44,6 %) dem Grad 3. Die 3 neurogenen Sarkome des 1. Grades waren Primärtumoren (5,66 %), 26 Tumoren des Grades 2 entsprachen ebenfalls Primärtumoren (49,06 %), 7 waren Rezidive (58,33 %). Von den Tumoren, die dem Grad 3 zugeordnet wurden, waren 24 Primärtumoren (45,28 %) und 5 Rezidive (41,67 %).

Der absolute und relative Anteil der einzelnen Tumorarten bezüglich der Malignitätsgrade wird in Tabelle 1 dargestellt:

	Primärtumoren		Rezidivtumoren	
	Fallzahl n=53	rel. Häufig- keit (%)	Fallzahl n=12	rel. Häufig- keit (%)
Malignitätsgrad 1	3	6	0	0
Malignitätsgrad 2	26	49	7	58
Malignitätsgrad 3	24	45	5	42

Tabelle 1: Anteil verschiedener Malignitätsgrade bei Primärtumoren, Rezidiven und Metastasen (Fallzahl n) unter Angabe ihrer relativen Häufigkeit in Prozent

3.3 Morphometrisch erfaßtes Verhalten der AgNOR's

Um die Unabhängigkeit der Parameter zu gewährleisten, werden hier nur Primärtumoren berücksichtigt - somit wird ausgeschlossen, daß ein und derselbe Patient in verschiedenen Tumorgruppen vertreten ist. Damit kamen 53 maligne und 24 benigne Schwannome zur Auswertung.

Bei den malignen Tumoren entsprachen 3 dem Grad 1, 26 dem Grad 2 und 24 dem Grad 3.

3.3.1 Durchschnittliche Fläche einer AgNOR

Die mittlere AgNOR-Fläche der benignen Tumoren betrug $0,102 \mu\text{m}^2$ (Median $0,103 \mu\text{m}^2$, Standardabweichung $0,014$), die der neurogenen Sarkome aller Grade entsprach $0,101 \mu\text{m}^2$. Bei der Einzeldarstellung hatten die Sarkome des 1. Grades eine mittlere AgNOR-Fläche von $0,095 \mu\text{m}^2$ (Median $0,089 \mu\text{m}^2$, Standardabweichung $0,022$), die Sarkome des 2. Grades eine mittlere AgNOR-Fläche von $0,103 \mu\text{m}^2$ (Median $0,102 \mu\text{m}^2$, Standardabweichung $0,026$) und die Sarkome des 3. Grades eine mittlere AgNOR-Fläche von $0,104 \mu\text{m}^2$ (Median $0,103 \mu\text{m}^2$, Standardabweichung $0,019$).

Der Unterschied der AgNOR-Flächen zwischen Neurinomen und neurogenen Sarkomen ist nicht signifikant. Die neurogenen Sarkome des 1. Grades unterscheiden sich anhand ihrer AgNOR-Flächen nicht signifikant von denen des 2. Grades. Beim Vergleich der AgNOR-Flächen der Sarkome des 1. und 2. Grades mit denen des 3. Grades ergeben sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede ($p=0,919$).

In Tabelle 2 und Abbildung 5 werden die AgNOR-Flächen von benignen und malignen Nervenscheidentumoren dargestellt.

	Mittelwert [μm^2]	Median [μm^2]	Standard- abweichung
Neurinome	0,102	0,103	0,014
Grad-1-Sarkome	0,095	0,089	0,022
Grad-2-Sarkome	0,103	0,102	0,026
Grad-3-Sarkome	0,104	0,103	0,019

Tabelle 2: AgNOR-Flächen benigner und maligner Nervenscheidentumoren

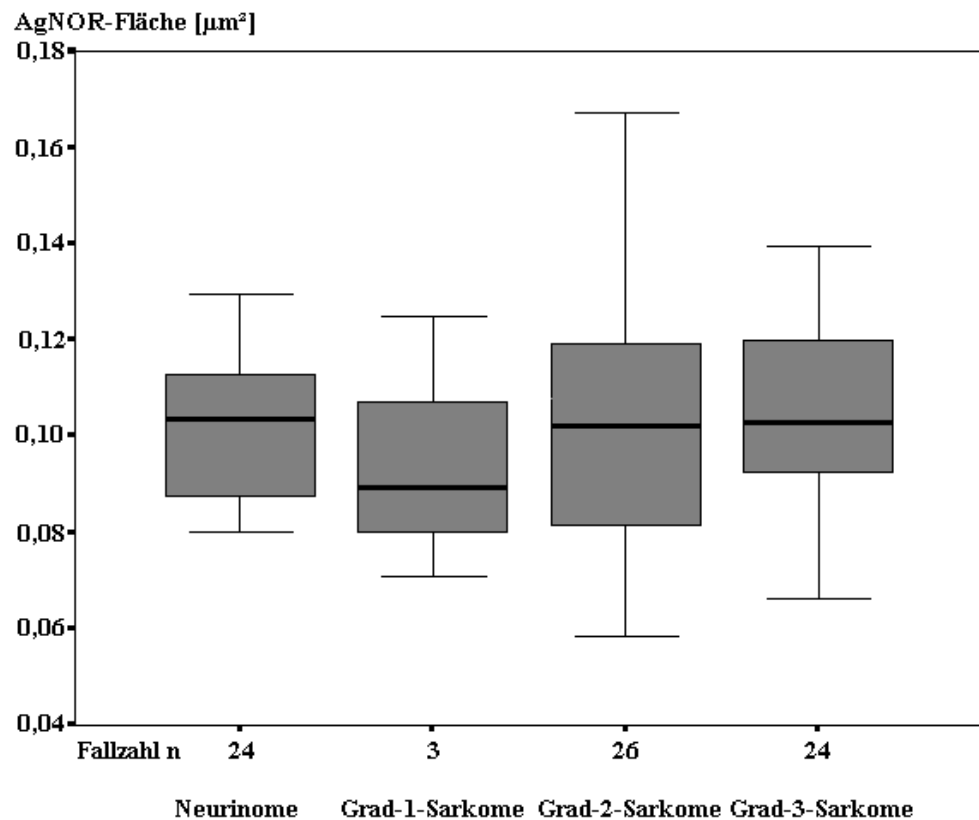


Abbildung 5: AgNOR-Flächen benigner Tumoren und neurogener Sarkome

3.3.2 AgNOR-Gesamtfläche pro Zelle

Die mittlere AgNOR-Gesamtfläche pro Zelle betrug bei den Neurinomen $0,323 \mu\text{m}^2$ (Median $0,313 \mu\text{m}^2$, Standardabweichung $0,069$). Die mittlere AgNOR-Gesamtfläche aller neurogenen Sarkome entsprach $0,400 \mu\text{m}^2$. Die neurogenen Sarkome des Grades 1 hatten eine AgNOR-Gesamtfläche von im Mittel $0,368 \mu\text{m}^2$, für den Median errechnete sich ein Wert von $0,281 \mu\text{m}^2$, die Standardabweichung betrug $0,130$. Bei den neurogenen Sarkome des Grades 2 errechnete sich ein Mittelwert der AgNOR-Gesamtflächen von $0,395 \mu\text{m}^2$ (Median $0,348 \mu\text{m}^2$, Standardabweichung $0,197$). Der Mittelwert der AgNOR-Gesamtflächen der Sarkome des Grades 3 betrug $0,438 \mu\text{m}^2$ (Median $0,381 \mu\text{m}^2$, Standardabweichung $0,238$). Die mittleren AgNOR-Gesamtflächen bei Neurinomen unterscheiden sich nicht signifikant von denen der neurogenen Sarkome. Ebenso gibt es bezüglich der AgNOR-Gesamtflächen keinen signifikanten Unterschied zwischen den Sarkomen der einzelnen Malignitätsgrade ($p=0,199$).

Tabelle 3 und Abbildung 6 zeigt die AgNOR-Gesamtflächen pro Zelle bei benignen und malignen Nervenscheidentumoren.

	Mittelwert [$\mu\text{m}^2/\text{Zelle}$]	Median [$\mu\text{m}^2/\text{Zelle}$]	Standard- abweichung
Neurinome	0,323	0,313	0,069
Grad-1-Sarkome	0,368	0,281	0,130
Grad-2-Sarkome	0,395	0,348	0,197
Grad-3-Sarkome	0,438	0,381	0,238

Tabelle 3: AgNOR-Gesamtflächen benigner und maligner Nervenscheidentumoren

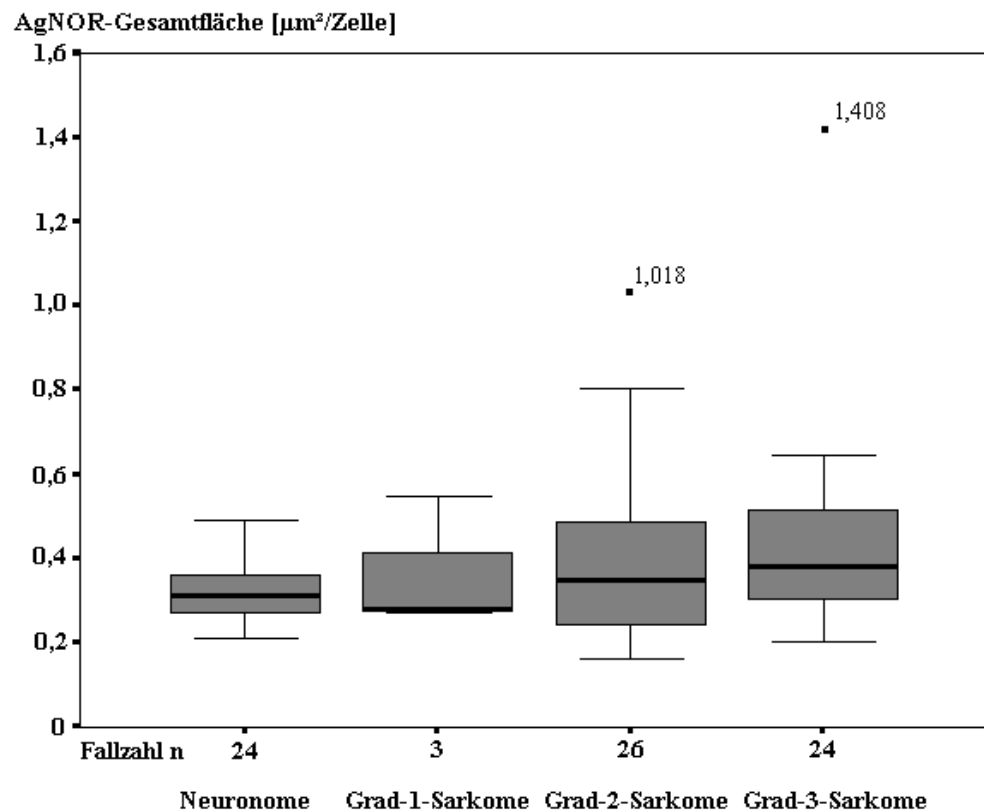


Abbildung 6: AgNOR-Gesamtflächen benigner und maligner Nervenscheidentumoren

3.3.3 AgNOR-Zahl pro Zelle

Bei den benignen Tumoren errechnete sich eine mittlere AgNOR-Zahl von 3,3. Der Median betrug ebenfalls 3,3. Außerdem wurde eine Standardabweichung von 0,7 ermittelt. Die neurogenen Sarkome des Malignitätsgrades 1 hatten eine mittlere AgNOR-Zahl pro Zelle von 3,8; der Median betrug 4,0 bei einer Standardabweichung von 0,6. Bei den Tumoren des Malignitätsgrades 2 errechnete sich ein Mittelwert der AgNOR-Zahl von 3,8; der Median entsprach 3,7; die Standardabweichung war hier 1,2. Die Sarkome des 3. Grades hatten eine mittlere AgNOR-Zahl pro Zelle von 4,2; der Median betrug 3,6; für die Standardabweichung errechnete sich ein Wert von 1,9 (siehe Tabelle 4 und Abbildung 7).

Der Unterschied der mittleren AgNOR-Zahl pro Zelle zwischen Neurinomen und neurogenen Sarkomen aller 3 Malignitätsgrade ist nicht signifikant. Die neurogenen Sarkome des 1. Grades unterscheiden sich anhand ihrer mittleren AgNOR-Zahl pro Zelle nicht signifikant von denen des 2. Grades. Vergleicht man die Sarkome des 1. und 2. Malignitätsgrades mit denen des 3. Malignitätsgrades, ergeben sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede bezüglich der mittleren AgNOR-Zahlen pro Zelle ($p=0,181$).

	Mittelwert [z/Zelle]	Median [z/Zelle]	Standard- abweichung
Neurinome	3,3	3,3	0,7
Grad-1-Sarkome	3,8	4,0	0,6
Grad-2-Sarkome	3,8	3,7	1,2
Grad-3-Sarkome	4,2	3,6	1,9

Tabelle 4: AgNOR-Zahl bei Neurinomen und neurogenen Sarkomen

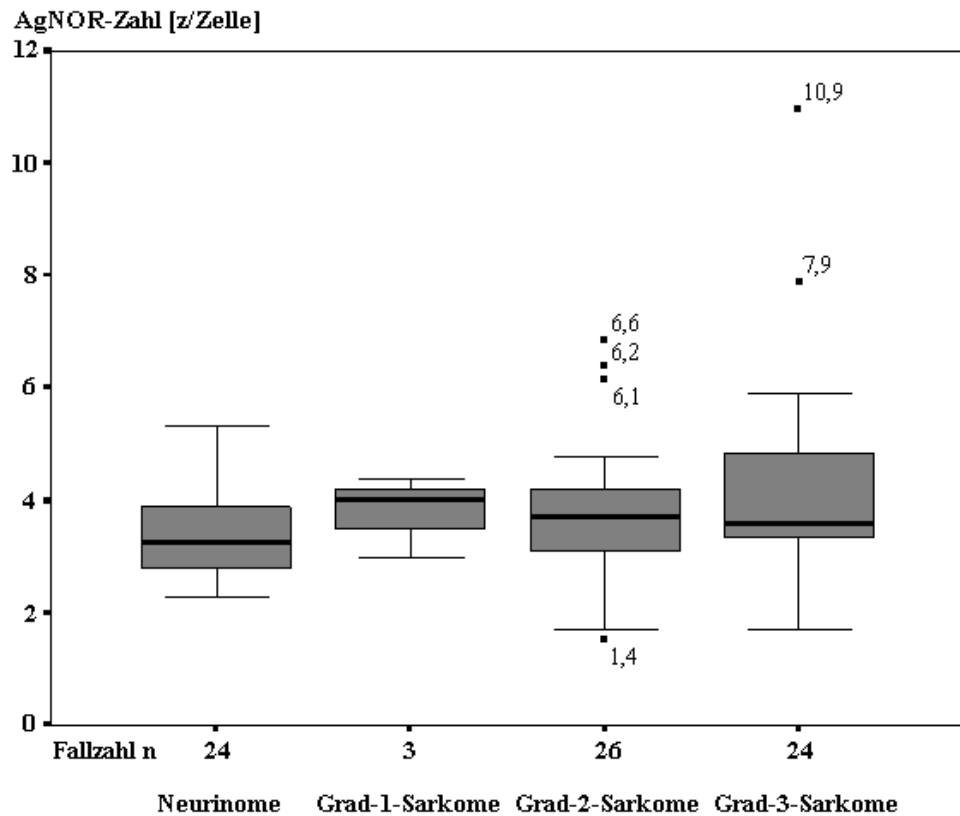


Abbildung 7: Mittlere AgNOR-Zahl pro Zelle bei benignen und malignen Nervenscheidentumoren

3.3.4 Mittlerer AgNOR-Gehalt pro Zellkern (AgNOR-Quotient)

Dieser Wert ist der Quotient aus der mittleren AgNOR-Zahl pro Zelle und der mittleren Kernfläche.

Für die benignen Tumoren errechnete sich ein AgNOR-Quotient von $33,24/\mu\text{m}^2$ (Median $33,10/\mu\text{m}^2$, Standardabweichung 8,44). Der AgNOR-Quotient aller neurogenen Sarkome entsprach $40,69/\mu\text{m}^2$. Bei der Einzeldarstellung hatten die Sarkome des 1. Grades einen AgNOR-Quotienten von $41,72/\mu\text{m}^2$ (Median $35,36/\mu\text{m}^2$, Standardabweichung 9,92), die des 2. Grades einen AgNOR-Quotienten von $38,51/\mu\text{m}^2$ (Median $36,03/\mu\text{m}^2$, Standardabweichung 15,40) und die des 3. Grades einen AgNOR-Quotienten von $41,85/\mu\text{m}^2$ (Median $36,84/\mu\text{m}^2$, Standardabweichung 19,87; siehe Tabelle 5 und Abbildung 8). Der Unterschied zwischen Neurinomen und neurogenen Sarkomen sowie innerhalb der neurogenen Sarkome bezüglich des AgNOR-Quotienten ist nicht signifikant ($p=0,290$).

	Mittelwert [z/ μm^2]	Median [z/ μm^2]	Standard- abweichung
Neurinome	33,24	33,10	8,44
Grad-1-Sarkome	41,72	35,36	9,92
Grad-2-Sarkome	38,51	36,03	15,40
Grad-3-Sarkome	41,85	36,84	19,87

Tabelle 5: AgNOR-Quotienten benigner und maligner Nervenscheidentumoren

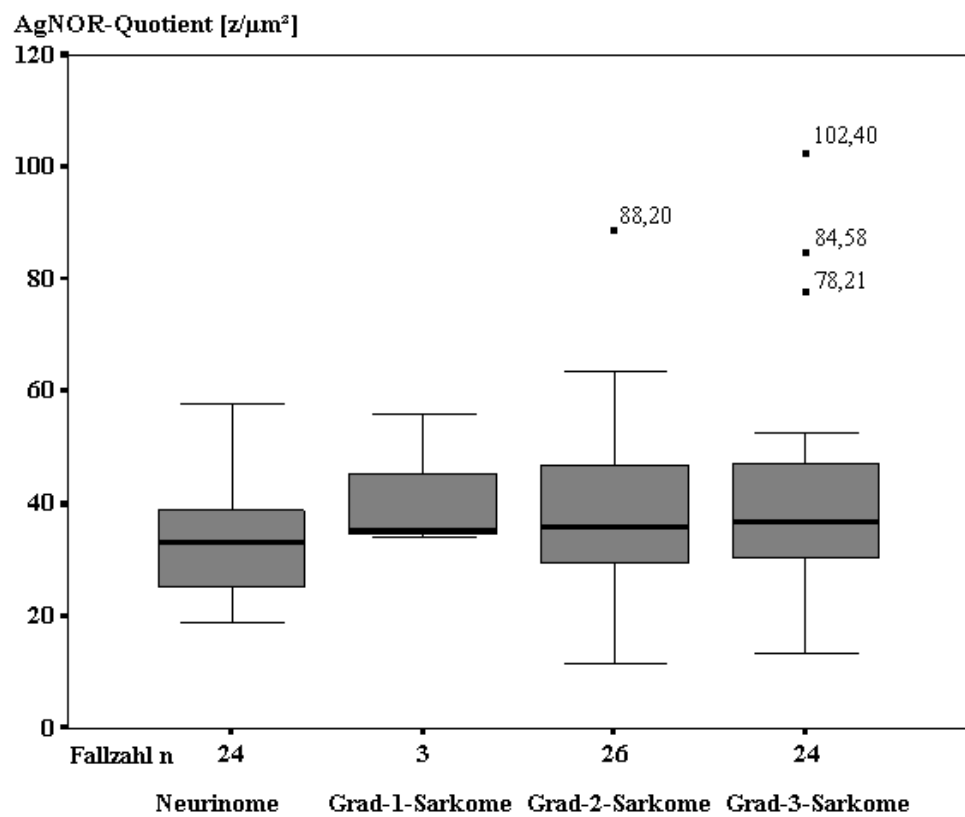


Abbildung 8: AgNOR-Quotienten bei benignen Tumoren und neurogenen Sarkomen

3.3.5 Höchste AgNOR-Zahl pro Nukleolus

Bei den Neurinomen betrug die höchste AgNOR-Zahl pro Nukleolus im Mittel 5,9 (Median 5,5; Standardabweichung 2,0). Alle neurogenen Sarkome wiesen als höchste AgNOR-Zahl ebenfalls einen Mittelwert von 5,9 auf. Führt man die einzelnen Malignitätsgrade auf, so ergab sich für die Sarkome des 1. Grades eine höchste AgNOR-Zahl von im Mittel 4,7 (Median 4,0; Standardabweichung 1,7), für die Sarkome des 2. Grades der Mittelwert 6,2 (Median 6,0; Standardabweichung 2,4) und für die Sarkome des 3. Grades der Mittelwert 6,8 (Median 5,5; Standardabweichung 3,8).

Es findet sich bezüglich der höchsten AgNOR-Zahl pro Nukleolus ebenfalls kein signifikanter Unterschied beim Vergleich der benignen mit den malignen Tumoren sowie bei der Unterscheidung zwischen den malignen Tumoren der einzelnen Malignitätsgrade ($p=0,541$).

Tabelle 6 und Abbildung 9 zeigen eine Zusammenfassung der höchsten AgNOR-Zahlen pro Nukleolus bei benignen und malignen Nervenscheidentumoren.

	Mittelwert [z/Nukleolus]	Median [z/Nukleolus]	Standard- abweichung
Neurinome	5,9	5,5	2,0
Grad-1-Sarkome	4,7	4,0	1,7
Grad-2-Sarkome	6,2	6,0	2,4
Grad-3-Sarkome	6,8	5,5	3,8

Tabelle 6: Höchste AgNOR-Zahl pro Nukleolus benigner und maligner Nervenscheidentumoren

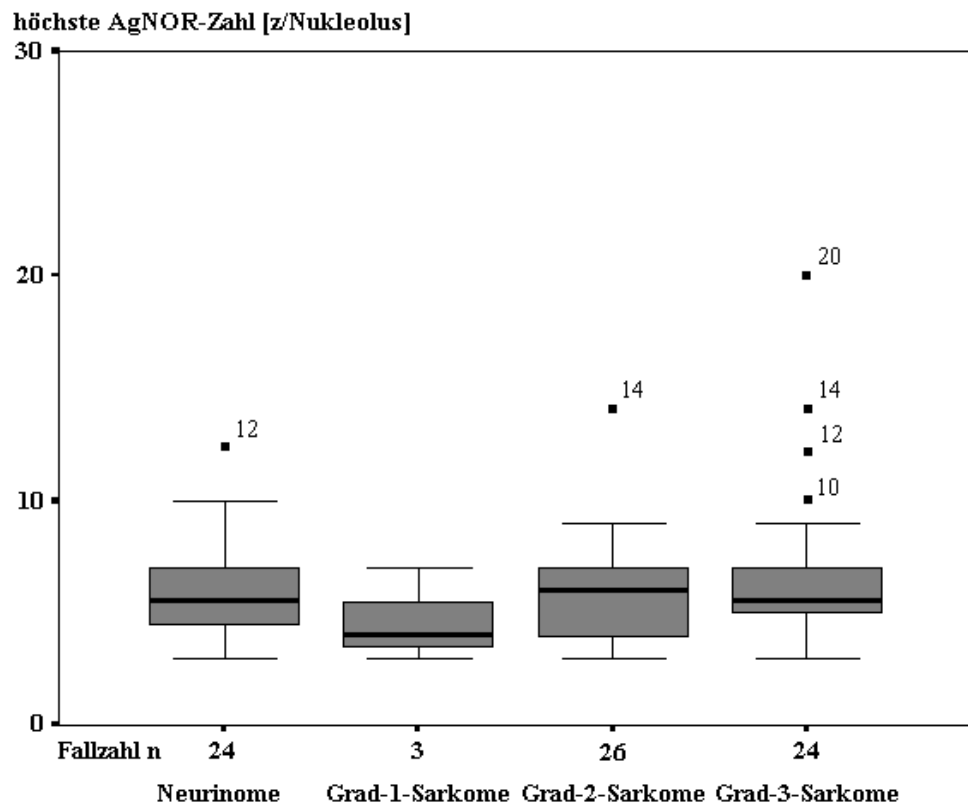


Abbildung 9: Höchste AgNOR-Zahl pro Nukleolus benigner und maligner Nervenscheidentumoren

3.3.6 Kernfläche

Die mittlere Kernfläche der benignen Tumoren betrug $42,62 \mu\text{m}^2$, die aller malignen Tumoren im Mittel $55,23^2 \mu\text{m}$.

Bei den benignen Tumoren errechnete sich ein Mittelwert der Kernflächen von $42,62 \mu\text{m}^2$. Der Median betrug $43,03 \mu\text{m}^2$. Außerdem wurde eine Standardabweichung von 5,24 ermittelt. Die neurogenen Sarkome des Malignitätsgrades 1 hatten eine mittlere Kernfläche von $59,68 \mu\text{m}^2$, der Median betrug $49,25 \mu\text{m}^2$ bei einer Standardabweichung von 18,28. Bei den Tumoren des Malignitätsgrades 2 errechnete sich ein Mittelwert der Kernflächen von $53,37 \mu\text{m}^2$, der Median entsprach $57,95 \mu\text{m}^2$, die Standardabweichung betrug 14,48. Die Tumoren des 3. Grades hatten eine mittlere Kernfläche von $52,64 \mu\text{m}^2$ sowie einen Median von $49,35 \mu\text{m}^2$. Die Standardabweichung betrug 17,34. (siehe Tabelle 7 und Abbildung 10).

Die mittleren Kernflächen der benignen Tumoren sind signifikant kleiner als die der malignen Tumoren aller drei Malignitätsgrade . Vergleicht man die mittleren Kernflächen innerhalb der Sarkomgruppen, so haben Sarkome des 1. Grades signifikant größere Kernflächen als Sarkome des 2. und 3. Grades. Die Kernflächen der Sarkome des 2. Grades sind signifikant größer als die der Sarkome des 3. Grades ($p=0,02$).

	Mittelwert [μm^2]	Median [μm^2]	Standard- abweichung
Neurinome	42,62	43,03	5,24
Grad-1-Sarkome	59,68	49,25	18,28
Grad-2-Sarkome	53,37	57,95	14,48
Grad-3-Sarkome	52,64	49,35	17,34

Tabelle 7: Kernflächen benigner und maligner Nervenscheidentumoren

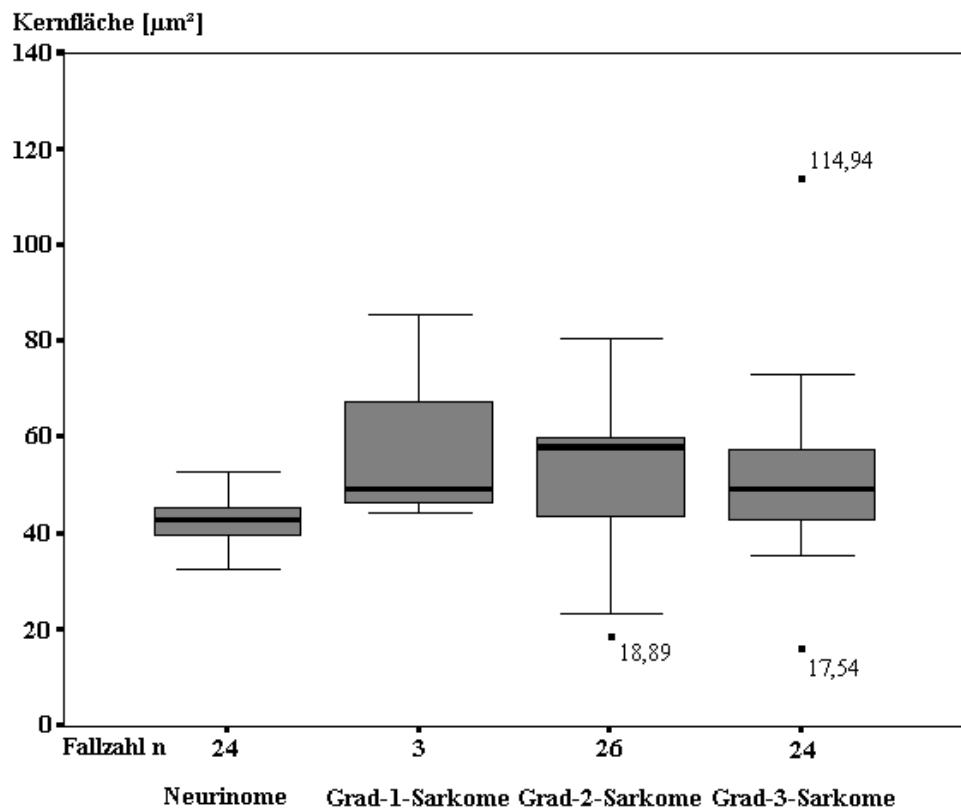


Abbildung 10: Kernflächen benigner Tumoren im Vergleich zu neurogenen Sarkomen

3.3.7 Anzahl der Nukleolen

Bei den Neurinomen errechnete sich ein Mittelwert der Nukleolenzahl von 1,1 (Median 1,1; Standardabweichung 0,1). Für die neurogenen Sarkome in ihrer Gesamtheit betrug der Mittelwert der Nukleolenzahl 1,1. Bei den Sarkomen des 1. Grades entsprach die mittlere Nukleolenzahl 1,2 (Median 1,1; Standardabweichung 0,2). Die neurogenen Sarkome des Malignitätsgrades 2 und 3 hatten bezüglich der Nukleolenzahl identische Parameter (Mittelwert 1,1; Median 1,1; Standardabweichung 0,1).

Die globale Unterscheidung anhand der Nukleolenzahl zwischen malignen und benignen Tumoren sowie zwischen den neurogenen Sarkomen der einzelnen Malignitätsgrade ist nicht signifikant ($p=0,471$).

In Tabelle 8 und Abbildung 11 wird die Anzahl der Nukleolen pro Zelle bei benignen und malignen Nervenscheidentumoren dargestellt.

	Mittelwert [NZ/Zelle]	Median [NZ/Zelle]	Standard- abweichung
Neurinome	1,1	1,1	0,1
Grad-1-Sarkome	1,2	1,1	0,2
Grad-2-Sarkome	1,1	1,1	0,1
Grad-3-Sarkome	1,1	1,1	0,1

Tabelle 8: Nukleolenzahl pro Zelle benigner und maligner Nervenscheidentumoren

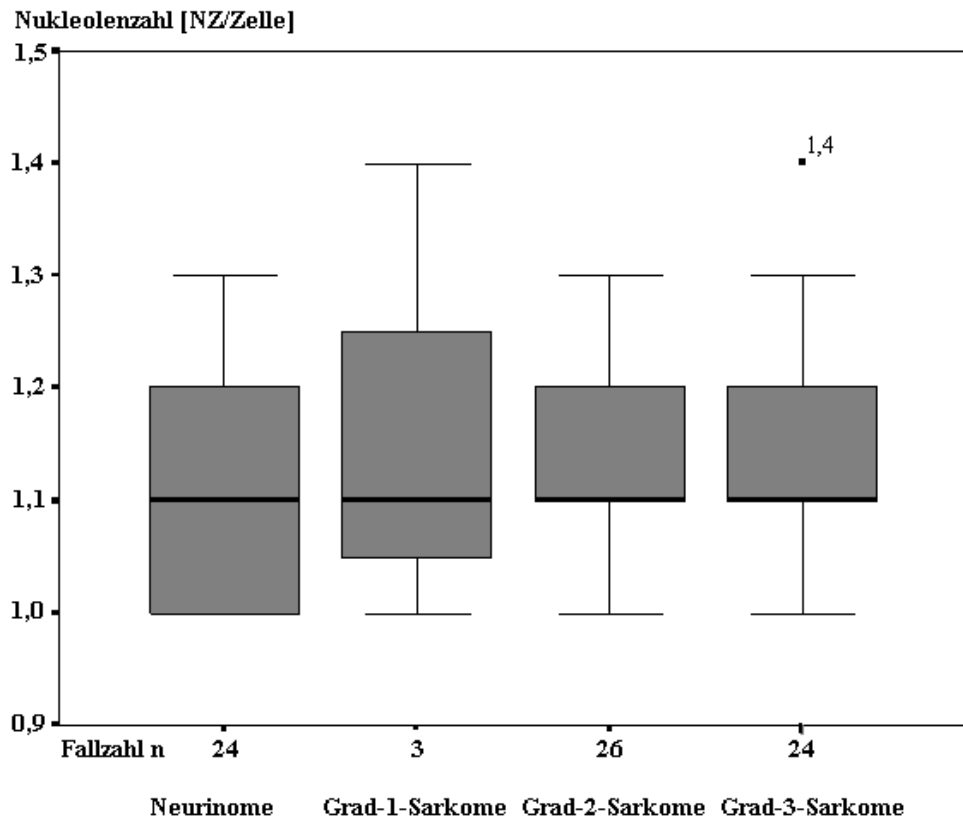


Abbildung 11: Anzahl der Nucleolen pro Zelle benigner und maligner Nervenscheidentumoren

3.3.8 Gesamtfläche aller Nucleolen pro Zelle

Die benignen Tumoren hatten eine mittlere Nucleolengesamtfläche von $2,60 \mu\text{m}^2$ (Median $2,39 \mu\text{m}^2$, Standardabweichung $0,64$). Dem gegenüber errechnet sich für alle neurogenen Sarkome eine mittlere Gesamtfläche der Nucleolen von $3,42 \mu\text{m}^2$. Bei den Sarkomen des 1. Grades entsprach der Mittelwert der Nucleolengesamtfläche $3,41 \mu\text{m}^2$ (Median $2,66 \mu\text{m}^2$, Standardabweichung $1,53$). Für die Sarkome des 2. Grades wurde ein Mittelwert der Nucleolengesamtfläche von $3,13 \mu\text{m}^2$ errechnet (Median $2,80 \mu\text{m}^2$, Standardabweichung $1,25$). Für die neurogenen Sarkomen des 3. Grades errechnete sich ein Mittelwert der Nucleolengesamtfläche von $3,73 \mu\text{m}^2$ (Median $2,98 \mu\text{m}^2$, Standardabweichung $2,13$; siehe Tabelle 9 und Abbildung 12).

Eine Unterscheidung der benignen von den malignen Tumoren aller drei Grade anhand der Gesamtfläche aller Nucleolen pro Zelle ist nicht signifikant. Eine Unterscheidung innerhalb der einzelnen Malignitätsgrade anhand dieses Parameters ist ebenfalls nicht signifikant ($p=0,087$).

	Mittelwert [$\mu\text{m}^2/\text{Zelle}$]	Median [$\mu\text{m}^2/\text{Zelle}$]	Standard- abweichung
Neurinome	2,60	2,39	0,64
Grad-1-Sarkome	3,41	2,66	1,53
Grad-2-Sarkome	3,13	2,80	1,25
Grad-3-Sarkome	3,73	2,98	2,13

Tabelle 9: Nucleolengesamtfläche benigner und maligner Nervenscheidentumoren

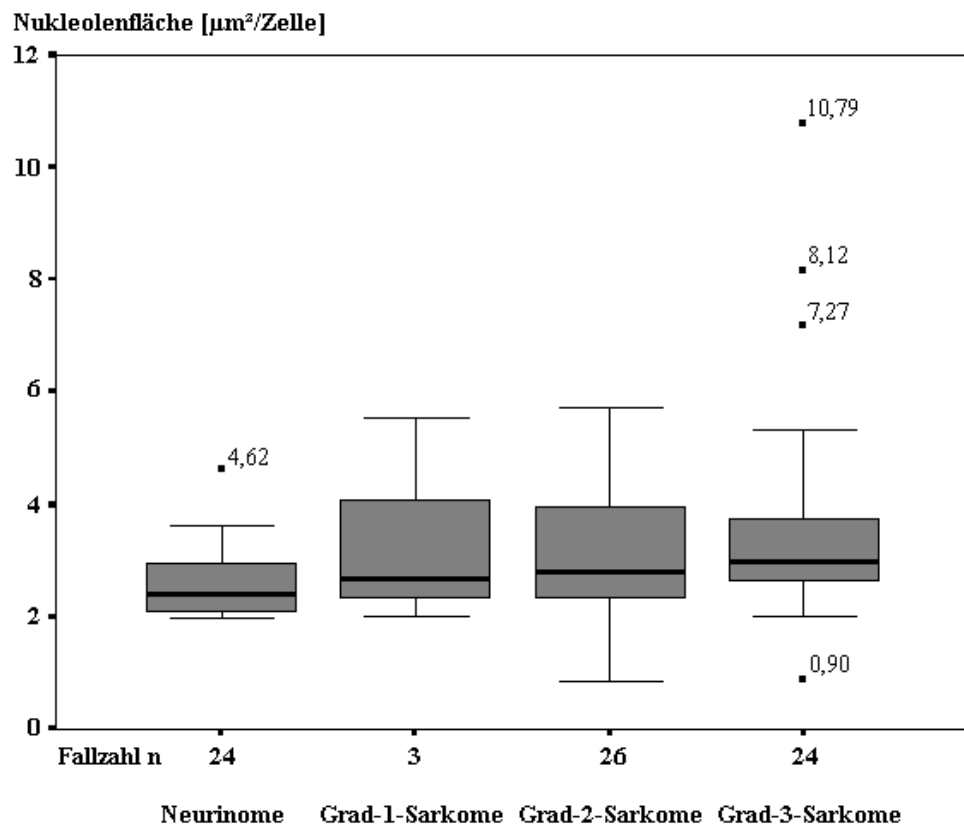


Abbildung 12: Fläche aller Nucleolen pro Zelle bei benignen und malignen Nervenscheidentumoren

4 Vergleich der Primärtumoren mit deren Rezidiven

Da beim vorhandenen Tumormaterial nur von drei Patienten (ein männlicher Patient, zwei weibliche Patienten) die Primärtumoren mit dem jeweils dazugehörigen ersten Rezidivtumor verfügbar waren, ist eine statistische Auswertung nicht sinnvoll. Daher wurde einer kasuistischen Darstellung der Vorrang gegeben.

4.1 Fall 1: 49jähriger Patient

Es handelte sich um einen männlichen Patienten, der zum Zeitpunkt der Primäroperation 49 Jahre alt war. Das Intervall zwischen dem Primärtumor und dem ersten Rezidiv betrug 26 Monate. Insgesamt hatte dieser Patient drei Rezidivtumoren. Er verstarb 33 Monate nach Erstoperation. Der Primärtumor dieses Patienten wies den Malignitätsgrad 2 auf, während dessen sämtliche Rezidive dem Malignitätsgrad 3 zugehörten. Der Durchmesser des Primärtumors betrug 9 cm, auch die Rezidive wiesen eine Ausdehnung von über 5 cm auf. Der Primärtumor hatte das Stadium II B, das erste Rezidiv dagegen Stadium IV B. Zum Zeitpunkt der Erstoperation fanden sich noch keine Lymphknotenmetastasen, diese sowie Fernmetastasen waren zum Zeitpunkt der Exzision des 1. Rezidivtumors vorhanden. Der Primärtumor befand sich intraabdominal. Er wurde nach einer Biopsie weit exzidiert, das erste Rezidiv konnte nur noch ausgeschält werden.

Bei den morphometrisch ermittelten Daten des 49jährigen Patienten ergaben sich folgende Relationen. Die mittlere AgNOR-Fläche des Primärtumors betrug $0,167 \mu\text{m}^2$, die des Rezidivtumors betrug $0,116 \mu\text{m}^2$. Die Gesamtfläche der AgNOR's entsprach beim Primärtumor dieses Patienten $1,019 \mu\text{m}^2$, die des Rezidivs $0,545 \mu\text{m}^2$. Die AgNOR-Zahl pro Zelle betrug beim Primärtumor 6,1; beim Rezidiv dagegen 4,7. Für den AgNOR-Quotienten errechnete sich beim Primärtumor ein Wert von $36,52/\mu\text{m}^2$, beim Rezidivtumor hingegen ein Wert von $40,27/\mu\text{m}^2$. Die höchste AgNOR-Zahl betrug sowohl beim Primär- als auch beim Rezidivtumor 9. Bezüglich der mittleren Kernflächen wurde ein Wert von $57,88 \mu\text{m}^2$ beim Primärtumor und ein Wert von $64,00 \mu\text{m}^2$ beim Rezidivtumor errechnet. Die durchschnittliche Nukleolenzahl betrug beim Primärtumor 1,3 und beim Rezidivtumor 1,2. Die Nukleolengesamtfläche entsprach beim Primärtumor einem Wert von $5,30 \mu\text{m}^2$, beim Rezidivtumor einem Wert von $5,90 \mu\text{m}^2$.

4.2 Fall 2: 31jährige Patientin

Beim zweiten Fall handelte es sich um eine weibliche Patientin, die zum Zeitpunkt der Primäroperation 31 Jahre alt war. Bei dieser Patientin wurde nur ein Rezidivtumor festgestellt. Das Intervall zwischen Primär- und Rezidivtumor betrug 40 Monate. Es wurde kein Wechsel des Malignitätsgrades beobachtet, beide Tumoren gehörten dem Grad 2 an. Die Durchmesser des Primär- und des Rezidivtumors betragen 3 cm. Der Primärtumor befand sich im Stadium II A, der Rezidivtumor wies das Stadium IV A auf. Zum Zeitpunkt der Primäroperation war die Patientin frei von Lymphknotenmetastasen. Auch hier wurden bei der Rezidivoperation Lymphknoten- und postoperative Fernmetastasen nachgewiesen. Die Patientin überlebte die Erkrankung 78 Monate. Primär- und Rezidivtumor waren an der unteren Extremität lokalisiert. Es erfolgte bei beiden Operationen eine primäre weite Tumorexzision.

Bei der 31jährigen Patientin betrug die mittlere AgNOR-Fläche des Primärtumors $0,128 \mu\text{m}^2$, die des Rezidivtumors $0,103 \mu\text{m}^2$. Die Gesamtfläche der AgNOR's entsprach beim Primärtumor dieser Patientin $0,550 \mu\text{m}^2$, die des Rezidivs $0,498 \mu\text{m}^2$. Die AgNOR-Zahl pro Zelle betrug beim Primärtumor 4,3; beim Rezidiv dagegen 4,8. Für den AgNOR-Quotienten errechnete sich beim Primärtumor ein Wert von $33,62/\mu\text{m}^2$, beim Rezidivtumor hingegen ein Wert von $47,05/\mu\text{m}^2$. Die höchste AgNOR-Zahl betrug beim Primärtumor 9 und beim Rezidiv 10. Für die mittleren Kernflächen des Primärtumors errechnete sich ein Wert von $42,32 \mu\text{m}^2$ und für die des Rezidivtumors ein Wert von $48,93 \mu\text{m}^2$. Die durchschnittliche Nukleolenzahl betrug beim Primärtumor dieser Patientin 1,2; beim Rezidivtumor hingegen 1,1. Die Nukleolengesamtfläche betrug beim Primärtumor $4,21 \mu\text{m}^2$, beim Rezidivtumor betrug sie $4,65 \mu\text{m}^2$.

4.3 Fall 3: 49jährige Patientin

Der dritte Fall wird durch eine weibliche Patientin repräsentiert, die zum Zeitpunkt der Primäroperation 49 Jahre alt war. Bei dieser Patientin wurde ein Rezidivtumor nach einem Intervall von 25 Monaten beobachtet. Sie verstarb 53 Monate nach Erstoperation. Primär- und Rezidivtumor entsprachen dem Malignitätsgrad 2. Der Primärtumor dieser Patientin wies das Stadium II B auf, der Rezidivtumor befand sich im Stadium IV A. Der Durchmesser des Primärtumors betrug 9 cm, der des Rezidivtumors betrug 4 cm. Zum Zeitpunkt der Erstoperation fanden sich noch keine Lymphknotenmetastasen, diese sowie

Fernmetastasen waren bei der Entfernung des Rezidivs vorhanden. Der Primärtumor war an der unteren Extremität lokalisiert. Es erfolgte eine Extremitätenamputation nach Probeentnahme. Der Rezidivtumor, welcher am Extremitätenstumpf lokalisiert war, wurde primär weit exzidiert.

Hier wurde für die mittlere AgNOR-Fläche des Primärtumors ein Wert von $0,067 \mu\text{m}^2$ errechnet. Beim Rezidivtumor betrug die mittlere AgNOR-Fläche $0,090 \mu\text{m}^2$. Die Gesamtfläche der AgNOR's entsprach beim Primärtumor dieser Patientin $0,179 \mu\text{m}^2$, die des Rezidivs $0,324 \mu\text{m}^2$. Die AgNOR-Zahl pro Zelle betrug beim Primärtumor 2,7; beim Rezidiv dagegen 3,6. Für den AgNOR-Quotienten errechnete sich beim Primärtumor ein Wert von $40,30/\mu\text{m}^2$, beim Rezidivtumor hingegen ein Wert von $40,28/\mu\text{m}^2$. Die höchste AgNOR-Zahl betrug beim Primärtumor 5 und beim Rezidiv 7. Für die mittleren Kernflächen des Primärtumors errechnete sich ein Wert von $38,03 \mu\text{m}^2$. Beim Rezidivtumor betrug dieser Wert $45,36 \mu\text{m}^2$. Die durchschnittliche Nukleolenzahl betrug beim Primärtumor dieser Patientin 1,0 und beim Rezidivtumor 1,1. Für die Nukleolengesamtfläche errechnete sich beim Primärtumor ein Wert von $1,95 \mu\text{m}^2$ und beim Rezidivtumor ein Wert von $3,17 \mu\text{m}^2$.

In Tabelle 10 sind die morphometrisch ermittelten Werte nochmals vergleichend dargestellt.

Tumor-Charakter	AgNOR Fläche [μm^2]	AgNOR Gesamtfläche [μm^2]	AgNOR Zahl/Zelle [z/Zelle]	AgNOR-Quotient [z/μm^2]	höchste AgNOR Zahl [z/Nukl.]	Kernfläche [μm^2]	Nukleolenzahl [NZ/Zelle]	Nuk.ges. Fläche [μm^2/Zelle]
PT 30	0,167	1,019	6,1	36,52	9,0	57,88	1,3	5,30
Rezidiv	0,116	0,545	4,7	40,27	9,0	64,00	1,2	5,90
PT 42	0,128	0,550	4,3	33,62	9,0	42,32	1,2	4,21
Rezidiv	0,103	0,498	4,8	47,05	10,0	48,93	1,1	4,65
PT 48	0,067	0,179	2,7	40,30	5,0	38,03	1,0	1,95
Rezidiv	0,090	0,324	3,6	40,28	7,0	45,36	1,1	3,17

Tabelle 10: AgNOR- und Zellparameter von Primärtumoren (PT) und dem jeweils dazugehörigen 1. Rezidiv

5 Diskussion

5.1 Vergleich AgNOR-abhängiger Parameter bei benignen und malignen Nervenscheidentumoren

Die Bedeutung der AgNOR's für die Zellproliferation wird seit über zwei Jahrzehnten auch an menschlichen Chromosomen untersucht. Ploton et al. (1986) stellten bei ihren Untersuchungen an Prostatagewebe fest, daß die AgNOR-Zahl die nukleäre und zelluläre Aktivität reflektiert. Crocker und Nar (1987) nutzten die AgNOR-Zählung an non-Hodgkin-Lymphomen und waren in der Lage, zwischen hoch- und niedrigmalignen Lymphomen zu unterscheiden. Crocker und Skilbeck (1987) testeten diese Methode an melanozytischen Hautläsionen und entdeckten, daß Naevuszellnaevi und Melanome unterschiedliche AgNOR-Zahlen haben. Egan und Smith (1987) stellten fest, daß myoepitheliale Zellen, die mit In-Situ-Karzinomen assoziiert sind, eine höhere AgNOR-Zahl im Vergleich zur Zahl der AgNOR's bei benignen Brusttumoren hatten. Bockmühl et al. (1991) und Rüschoff (1992) untersuchten das AgNOR-Verhalten in Karzinomen. Aber auch zur Beurteilung von nicht neoplastischem Gewebe ist die AgNOR-Untersuchung einsetzbar. Crocker und McGovern (1988) konnten z.B. zeigen, daß regenerierendes Gewebe, wie es bei der Leberzirrhose zu finden ist, eine erhöhte AgNOR-Zahl aufweist.

Die AgNOR-Morphometrie in Weichteilsarkomen wurde ebenfalls in mehreren Studien analysiert (Egan et al. 1988, Wrba et al. 1991, Tomita et al. 1993, Kuratsu et al. 1994, Miracco et al. 1996). Doch gerade bei dieser Tumorart ist die prognostische Relevanz argyrophiler Nukleolus organisierender Regionen immer noch umstritten. Während einige Autoren statistisch signifikante Zusammenhänge zwischen AgNOR-abhängigen Parametern und der Prognose bestimmter Weichteilsarkome nachwiesen (Egan et al. 1988a, Hara et al. 1991, Kuratsu et al. 1993, Tomita et al. 1993, Miracco et al. 1996), können sich andere Untersucher dieser Meinung nicht anschließen (Egan et al. 1988b, c, Wrba et al. 1991).

Die eigenen Untersuchungen führten zu dem Ergebnis, daß argyrophile Nukleolus organisierende Regionen bei Patienten mit neurogenen Sarkomen keine prognostische Aussagekraft besitzen.

Mittels der einfaktoriellen Varianzanalyse wurden mehrere AgNOR-abhängige Parameter hinsichtlich ihrer Aussagekraft zum Malignitätsgrad neurogener Sarkome ausgewertet. Diese Parameter waren die AgNOR-Fläche, die Gesamtfläche aller AgNOR's pro Zelle, die AgNOR-Zahl pro Zelle, der AgNOR-Gehalt (bzw. AgNOR-Quotient) und die höchste AgNOR-Zahl pro Nukleolus. Als benigne Vergleichsgruppe dienten 24 Neurinome. Anzumerken ist, daß die neurogenen Sarkome des Grades 1 nur der Vollständigkeit halber

aufgeführt wurden, eine statistisch verwertbare Aussage ist aufgrund der geringen Fallzahl (n=3) nicht möglich.

Keiner der o.g. Parameter erbrachte signifikante Unterschiede zwischen malignen und benignen Nervenscheidentumoren. Auch eine Unterscheidung zwischen den einzelnen Malignitätsgraden war bei keinem der untersuchten AgNOR-abhängigen Parameter signifikant. Die Variabilität von AgNOR-Fläche und AgNOR-Gesamtfläche war bei den Neurinomen deutlich kleiner als bei den malignen Tumoren. Der Vergleich der Mittelwerte ließ bei allen AgNOR-abhängigen Parametern einen Unterschied zwischen benignen und malignen Tumoren vermuten, dieser war jedoch nach der einfaktoriellen Varianzanalyse nur zufällig. Anhand der Boxplots wird veranschaulicht, daß die Zahl der Extremwerte fast aller AgNOR-Parameter (AgNOR-Gesamtfläche, AgNOR-Zahl, AgNOR-Gehalt, höchste AgNOR-Zahl) bei den neurogenen Sarkomen höher als bei den Neurinomen ist. Damit erklären sich auch die größere Standardabweichung und die höheren Mittelwerte bei den Sarkomen des 2. und 3. Malignitätsgrades.

Im Gegensatz dazu beobachteten Miracco et al. (1996) signifikante Unterschiede bezüglich verschiedener AgNOR-Parameter (AgNOR-Zahl, relative und absolute AgNOR-Fläche), der Mitoserate und des Nekroseanteils zwischen 30 neurogenen Sarkomen und einer Kontrollgruppe benigner Nervenscheidentumoren (6 benigne Schwannome und 6 Neurofibrome). Diese Unterschiede waren auch zwischen niedrig- und höhermalignen Nervenscheidentumoren signifikant. Für die Malignitätsgraduierung wurden ausschließlich klinische Angaben genutzt (beschwerdefrei bzw. vorhandene Lokalrezidive und/oder Metastasen innerhalb der ersten 4 Jahre nach Operation).

Bei den eigenen Untersuchungen hingegen wurde zwischen klinischen und morphometrisch ermittelten Daten unterschieden. Das Malignitätsgrading erfolgte beim vorhandenen Sarkommaterial nach dem System von van Unnik et al. (1993). Wie bereits erwähnt, werden bei diesem System ausschließlich die Mitoserate und der Nekroseanteil zur Einordnung in den entsprechenden Malignitätsgrad verwendet. Obwohl dieser histomorphometrische Parameter – ähnlich denen der italienischen Studie - signifikant mit den Überlebenszeiten korrelierte ($p=0,0204$), konnte kein signifikanter Unterschied beim Vergleich sämtlicher AgNOR-abhängiger Parameter mit dem Malignitätsgrading gefunden werden ($0,181 < p < 0,919$). Bemerkenswert ist jedoch, daß Tumorlokalisierung, Operationsart und Metastasierungsneigung bei den eigenen Untersuchungen einen statistisch signifikanten Einfluß auf die Überlebenszeiten hatten ($0,0001 < p < 0,0035$). Somit sind hier Parallelen zwischen klinischen Parametern und den von Miracco et al. (1996) festgelegten Kriterien für niedrig- und höhermaligne Nervenscheidentumoren zu vermuten.

Zum AgNOR-Gehalt (AgNOR-Quotient) wird nur in einer der ausgewerteten Studien eine Aussage gemacht. Allerdings ist der AgNOR-Quotient als Sekundärparameter errechenbar - er faßt das gegenläufige Verhalten von AgNOR-Zahl und - Fläche in einer Zahl zusammen. Rüschoff (1992) ermittelte den AgNOR-Gehalt bei Karzinomen und stellte signifikante Unterschiede hinsichtlich des Malignitätsgrades fest.

Der Vergleich der eigenen Ergebnisse mit denen von Miracco et al. (1996) macht auf ein grundsätzliches Problem aufmerksam. Bisher fehlen standardisierte Untersuchungsbedingungen mit vorher definierten Parametern. Dies gilt sowohl für das Malignitätsgrading als auch für das ausgewählte Tumormaterial. Beim Auswerten der vorliegenden Literatur fiel auf, daß häufig heterogenes Tumormaterial - also verschiedene Sarkomarten oder sogar Sarkome und Karzinome zusammen - morphometrisch untersucht wurde.

So stellten Hara et al. (1991) signifikante Unterschiede bezüglich der AgNOR-Zahl zwischen benignen und malignen neoplastischen Prozessen mit Lokalisation in der Hirnregion fest. Eine mit anderen Studien vergleichbare Aussage scheint jedoch fragwürdig zu sein, da das maligne Tumormaterial aus 15 Karzinomen bzw. deren Metastasen und nur einem malignen Weichteiltumor, in diesem Fall einem meningealen Sarkom, besteht. Kuratsu et al. (1991) untersuchten die AgNOR-Zahl bei 38 Weichteilsarkomen (davon 4 neurogene Sarkome) und beobachteten eine bessere Prognose bei niedrigeren als bei höheren AgNOR-Zahlen. In einer späteren Studie bestätigte das Team (Kuratsu et al. 1993) seine Beobachtungen anhand von 142 Weichteilsarkomen (davon 13 neurogene Sarkome). Auch eine japanische Studie (Tomita et al. 1993) berichtet von signifikanten Unterschieden bezüglich der AgNOR-Zahl zwischen niedrig-, mittel- und hochgradig malignen Weichteilsarkomen. Hier waren 10 neurogene Sarkome unter den 194 untersuchten Fällen. Wrba et al. (1991) untersuchten die AgNOR-Zahl und AgNOR-Größe bei 65 Sarkomen (davon 2 neurogene Sarkome) und 2 fibrozytischen Borderline-Tumoren. Anhand der AgNOR-Morphologie konnte keine Korrelation mit den histologischen Parametern (Malignitätsgrad, Zelldichte und Tumordurchmesser) gefunden werden. Es wurde jedoch beobachtet, daß Tumorzellen vorrangig grob granulierende AgNOR's besitzen. Die AgNOR-Zahl korrelierte hier hauptsächlich mit der Mitoserate, alle anderen Kriterien des Tumorgradings (Kernpleomorphie, Differenzierungsgrad, Nekroseanteil) sowie der Tumordurchmesser und die Zelldichte konnten anhand der AgNOR-Zahl nicht signifikant voneinander unterschieden werden.

Andere Autoren wählten dagegen für morphometrische Messungen nur homogene Serien aus. So untersuchten Bockmühl et al. (1991) ausschließlich Mammakarzinome. Rüschoff (1992) verglich 11 Karzinomarten miteinander, von denen mindestens 29 bis maximal 170

Fälle pro Organ zur Verfügung standen. Miracco et al. (1996) verglichen eine homogene Serie neurogener Sarkome mit einer Kontrollgruppe benigner Nervenscheidentumoren. Egan et al. erforschten das AgNOR-Verhalten in jeweils homogenen Gruppen infantiler Fibrosarkome (1988a), infantiler Ewing-Sarkome (1988b) und embryonaler Rhabdomyosarkome (1988c). Die AgNOR-Zahl von 16 fibrösen Proliferationen bei Kindern unterschied sich signifikant von der AgNOR-Zahl bei infantilen Fibrosarkomen, eine Unterscheidung der benignen fibrösen Proliferationen untereinander gelang nicht. Bei Ewing-Sarkomen und embryonalen Rhabdomyosarkomen konnte das englische Team anhand der AgNOR-Zahl keine Unterschiede hinsichtlich der Prognose feststellen.

Diese Ergebnisse legen die Vermutung nahe, daß der Vergleich homogener Serien maligner Tumoren mit benignen Kontrollgruppen zu besser reproduzierbaren Resultaten führt.

Rüschhoff (1992) macht auf weitere Probleme aufmerksam, die die Vergleichbarkeit der morphometrisch ermittelten Parameter erschweren. Dies sind die Standardisierung der Färbetechnik, der Bildanalyseverfahren und der zu untersuchenden Gewebeproben. So ist die Silberreaktion von einer Vielzahl unspezifischer Einflußfaktoren abhängig. Beispielsweise ist eine Anfärbbarkeit der Nukleolus organisierenden Regionen an Autopsiematerial praktisch nicht mehr möglich. Ähnlich verhält es sich mit bioptischen Material, das während des Transports nicht eisgekühlt gelagert wurde. Auch die anschließende Fixierung der Gewebeproben in Alkohol bzw. Formalin führt zu unterschiedlichen Färbeergebnissen. Ebenso ist der Nekroseanteil des zu untersuchenden Gewebes von großem Einfluß auf das Färbeergebnis. Diese Faktoren können vom Untersucher retrospektiv nicht mehr beeinflußt werden. Bei den eigenen Messungen mußten drei Präparate wegen eines völligen Ausfalls der Silberreaktion von der Analyse ausgeschlossen werden. Selbst der Versuch, mittels Färbereihenuntersuchungen ein verwertbares Ergebnis zu erhalten, schlug fehl. Die von Rüschhoff (1992) empfohlene Nachfixierung der entparaffinierten Schnitte in vierprozentigem Formalin für 10 Minuten führte bei den eigenen Präparaten lediglich zu unspezifisch ockergelben Nukleolen, von denen die AgNOR's nicht mehr selektiert werden konnten. Auch der von Rüschhoff (1992) bemerkte Qualitätsverlust der Gelatine nach längerer Lagerung konnte bei den eigenen Färbungen nachvollzogen werden.

Bei den eigenen Untersuchungen wurde beobachtet, daß durch die Lagerung der Gewebeproben bei -22°C in lichtgeschützten Präparatekästen die Färbequalität 10 Tage erhalten blieb. Hingegen wurde bei offener Lagerung schon nach kurzer Zeit durch deutliches Verblässen der Präparate (teilweise bereits nach 24 Stunden) die Morphometrie

unmöglich gemacht. Bezüglich dieses Problems war jedoch kein Hinweis in der ausgewerteten Literatur zu finden.

Die Färbequalität wurde anhand der positiven Reaktion von Infiltratlymphozyten aus dem Tumorrandgebiet eingeschätzt - eine allgemein anerkannte Methode, die zur Standardisierung der Silberfärbung beiträgt.

Bei der Ermittlung der notwendigen Anzahl der zu untersuchenden Zellen für die AgNOR-Analyse wurde die Technik des sogenannten „kumulierten Mittelwertes“ genutzt (Romppanen 1982). Demnach reicht bereits eine Messung von 30 Normalgewebszellen bzw. 50 Malignomzellen aus, um im Mittel unter der Fehlergrenze von 5 % zu bleiben. Bei den eigenen Untersuchungen wurden pro Präparat 70 Zellen morphometrisch analysiert. Die dafür erforderliche Zeit lag zwischen 60 und 90 Minuten pro Präparat. Dem gegenüber messen andere Untersucher 100 bis 200 Zellen pro Präparat (Egan et al. 1988, Bockmühl et al. 1991, Hara et al. 1991, Wrba et al. 1991, Tomita et al. 1993, Kuratsu et al. 1994, Miracco et al. 1996). Die Messung einer derart großen Zellzahl ist jedoch so zeitaufwendig, daß der Nutzen einer routinemäßigen AgNOR-Analyse in Frage gestellt werden muß.

Letztlich ist die Rolle und der praktische Nutzen der AgNOR-Analyse in der Diagnostik von Malignomen immer noch umstritten. Während einige Autoren die genaue Rolle der AgNOR's bei Weichteilsarkomen als ungewiß darstellen (Egan et al. 1988, Kuratsu et al. 1995), werden von Rüschoff et al. (1994) die AgNOR's als häufig benutzter Marker in der Tumorpathologie bezeichnet. Dieses Team bemerkt aber auch einschränkend, daß die Standardisierung der AgNOR-Technik von zentraler Bedeutung ist. Gegenwärtig sind drei verschiedene Analysemethoden gebräuchlich. Die Zählmethode durch den Untersucher, die semiautomatische Bildanalyse mit der entsprechenden Computersoftware und die Mustererkennung. Die Zählmethoden, die auch bei den eigenen Messungen als Vergleichsmethode diente, wird von Rüschoff et al. (1994) als mühsam und schlechter reproduzierbar dargestellt. Aus diesem Grund wurden bei der statistischen Auswertung der eigenen Meßergebnisse ausschließlich die durch die Bildanalyse ermittelten Parameterdaten verwandt. Dieses Verfahren hat sich auch international durchgesetzt und ist bezüglich der Meßergebnisse besser reproduzierbar. Von einigen Untersuchern wurden zusätzlich bestimmte AgNOR-Verteilungsmuster, die sogenannte Mustererkennung, bei den Messungen berücksichtigt (Wrba et al. 1991, Rüschoff et al. 1994). Die Aussagekraft dieser Methode müßte allerdings noch in weiteren Studien geprüft werden.

5.2 Vergleich von Kernfläche, Nukleolenzahl und -fläche bei benignen und malignen Nervenscheidentumoren

Der Vergleich dieser Parameter mit Angaben aus der internationalen Literatur wird aufgrund der wenigen Veröffentlichungen erschwert. In der ausgewerteten Literatur werden von Rüschoff (1992) einige grundlegende Beziehungen zwischen AgNOR's und Kernflächen bei Urothelveränderungen beschrieben. Er beobachtete einen nahezu linearen Anstieg der AgNOR-Zahl pro Zelle mit zunehmender Kerngröße und eine stetige Abnahme des prozentualen Flächenanteils der AgNOR's pro Zelle bei zunehmendem Malignitätsgrad und zunehmender Zellgröße. Auch von Marbaix et al. (1988) wird anhand von Untersuchungen an Zervixkarzinomen eine Korrelation zwischen Kerngröße und AgNOR's angegeben.

Die eigenen Untersuchungen erfolgten unter der Fragestellung, ob sich benigne und maligne Nervenscheidentumoren der Grade 1 bis 3 in Bezug auf ihre Kernfläche, Nukleolenzahl und Nukleolenfläche voneinander unterscheiden lassen. Benigne Tumoren hatten signifikant kleinere Kernflächen als malignen Tumoren. Auch die neurogenen Sarkome der einzelnen Malignitätsgrade ließen sich anhand ihrer Kernflächen signifikant voneinander unterscheiden ($p=0,02$). Allerdings fiel auf, daß die mittleren Kernflächen der neurogenen Sarkome mit steigendem Malignitätsgrad abnahmen. Dies könnte mit der geringen Fallzahl der Sarkome 1. Grades ($n=3$) zusammenhängen. Diese Gruppe wurde lediglich der Vollständigkeit halber aufgeführt – sie hat keine statistisch verwertbare Aussagekraft. Eine weitere Ursache für dieses Phänomen könnte die weit größere Variabilität sowie Standardabweichung der Meßergebnisse bei den Sarkomen 3. Grades sein, wie in Abbildung 10 veranschaulicht wird. Eine histomorphometrische Erklärung für die kleiner werdenden Kernflächen konnte in der zur Verfügung stehenden Literatur allerdings nicht gefunden werden.

Auch in der Studie von Miracco et al. (1996) hatten die benignen Nervenscheidentumoren signifikant kleinere Kernflächen als die neurogenen Sarkome. Jedoch konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Kernflächen der niedrigmalignen (beschwerdefreie Patienten vier Jahre nach Operation) und höhermalignen Tumoren (Patienten mit Lokalrezidiven und/oder Metastasen innerhalb der ersten vier Jahre nach Operation) nachgewiesen werden. Bei den eigenen Meßergebnissen ist ebenfalls keine große Differenz zwischen den mittleren Kernflächen der Sarkome 2. Grades ($53,37 \mu\text{m}^2$) und denen der Sarkome 3. Grades ($52,64 \mu\text{m}^2$) erkennbar – obwohl nach der einfaktoriellen Varianzanalyse ein signifikanter Unterschied errechnet wird ($p=0,02$).

Das italienische Team untersuchte zusätzlich die Kernform benigner und maligner Nervenscheidentumoren, welche in den eigenen Messungen keine Berücksichtigung fand. Bei den benignen Tumoren waren die Kerne weniger rund als bei den malignen Tumoren. Zu Nukleolenzahl und -fläche machen Miracco et al. (1996) keine Aussage. Bei den eigenen Untersuchungen war der Unterschied anhand der Nukleolenzahl und -fläche zwischen Neurinomen und Sarkomen sowie zwischen den neurogenen Sarkomen der einzelnen Malignitätsgrade nicht signifikant ($p=0,471$ bzw. $p=0,087$). In der ausgewerteten Literatur wird zu diesen morphometrischen Parametern nur von wenigen Autoren eine Aussage gemacht. Rüschoff (1992) untersuchte die Nukleolenmaße lichtmikroskopisch und konnte anhand dieses Parameters nur zwischen benignen und malignen Urothelveränderungen unterscheiden. Kondo et al. (1988) halten nach ihren Untersuchungen an hepatozellulären Karzinomen weitergehende diagnostische und prognostische Aussagen anhand der Größenvariabilität der Nukleolen und deren Beziehung zur Kerngröße für möglich.

5.3 Vergleich der Primärtumoren mit deren Rezidiven

Lokalrezidive sind ein häufiges Phänomen bei Weichteilsarkomen und können mit einer Erhöhung des malignen Potentials kombiniert sein (Hajdu 1979, Snover et al. 1982). Die Lokalrezidivrate ist jedoch niedriger, wenn der Primärtumor weit exzidiert wurde. Bei Patienten mit Weichteilsarkomerkrankung entstehen durch das Versagen lokaler Kontrollmechanismen höher maligne Zellklone bei den Rezidivtumoren. Diese Klone können bei einer Tumorlokalisierung in der Kopf-Hals-Region allein eine tödliche Erkrankung hervorrufen oder die Metastasierung in entfernte Organe erhöhen (Armando et al. 1982, Markhede et al. 1982, Heise et al. 1986, Rooser et al. 1987).

Der Vergleich der drei Primär- mit den jeweils dazugehörigen Rezidivtumoren gestattete aufgrund der geringen Fallzahl nur eine kasuistische Darstellung.

Bei der Betrachtung der klinischen Befunde fällt auf, daß die Überlebenszeit bei dem männlichen Patienten (33 Monate) deutlich kürzer ist als bei den beiden Patientinnen (53 und 78 Monate). Wie anhand einer anderen Studie bereits nachgewiesen wurde, ist der Einfluß des Geschlechts bzw. des Alters für den Krankheitsverlauf unbedeutend (Snover et al. 1982). Vielmehr könnte die retroperitoneale Lokalisation des Primärtumors und dessen Durchmesser (9 cm) bei dem männlichen Patienten ursächlich mit der Überlebenszeit in Zusammenhang stehen. Die Primärtumoren der Patientinnen befanden sich im Bereich der unteren Extremität (Durchmesser 9 cm und 3 cm) und waren demnach auch besser operabel.

Das Staging aller Rezidivtumoren (IV B, IV A, IV A) war höher als das aller Primärtumoren (II B, II B, II A) - ein Prognosefaktor, der eine Aussage über den Malignitätsgrad, den Tumordurchmesser und die Metastasierung macht. Frühere Studien an Weichteilsarkomen zeigten, daß die Tumorlokalisation, die Größe des Primärtumors und die Methode der Primäroperation in bedeutendem Maße die Lokalrezidivrate beeinflussen (Rosenberg 1983, Adam et al. 1984, Collin et al. 1986, Heise et al. 1986, Rosser et al. 1990). Lokalrezidive wiederum gehen häufig mit einem höheren Malignitätsgrad (Shiu und Hajdu 1981, Potter et al. 1985) und einer damit verbundenen kürzeren Lebenserwartung einher (Hajdu 1979, Snover et al. 1982, Kuratsu et al. 1994). Bei dem männlichen Patienten war ein Wechsel des Malignitätsgrades (Grad 2 beim Primärtumor, Grad 3 bei den Rezidivtumoren) zu beobachten. Bei den weiblichen Patientinnen wurden Primär- und Rezidivtumoren dem Malignitätsgrad 2 zugeordnet. Außerdem war die Lokalrezidivrate bei dem Mann höher (drei Rezidivtumoren) als bei den Frauen (jeweils ein Rezidivtumor).

Ebenso bestimmt die Metastasierung die Prognose der Erkrankung (Markhede et al. 1982, Ueda et al. 1988, Alvegard et al. 1990, Becker et al. 1991, Tsokos et al. 1992, Tomita et al. 1993, Rummelink et al. 1994, Enzinger und Weiss 1995). In den drei beschriebenen Fällen wurden zum Zeitpunkt der Erstoperation keine Lymphknotenmetastasen nachgewiesen. Bei den Rezidivoperationen dieser Patienten waren jedoch sowohl Lymphknoten als auch Fernmetastasen vorhanden.

Hinsichtlich der AgNOR-abhängigen Parameter (AgNOR-Fläche, Gesamtfläche aller AgNOR's pro Zelle, AgNOR-Zahl pro Zelle, AgNOR-Gehalt, höchste AgNOR-Zahl pro Nukleolus) kann keine einheitliche Tendenz beim Vergleich der Primärtumoren mit deren Rezidivtumoren beobachtet werden. Die AgNOR-Zahl ist in zwei Fällen bei den Primärtumoren kleiner als bei den Rezidiven. Im Fall des männlichen Patienten ist die AgNOR-Zahl des Rezidivtumors kleiner als die des Primärtumors, obwohl dieser Patient den ungünstigsten klinische Verlauf aufwies. 1994 verglichen Kuratsu et al. die Primär- und Rezidivtumoren von 44 Patienten mit Weichteilsarkomerkrankung (davon 3 neurogene Sarkome) und stellten eine signifikante AgNOR-Zahl-Erhöhung bei den Rezidivtumoren im Vergleich zu den Primärtumoren fest. Einschränkend bemerken die Autoren jedoch, daß sich beim separaten Vergleich von Primär- mit Rezidivtumoren eines jeden histologischen Subtypen kein signifikanter Unterschied der AgNOR-Zahlen ergibt. Zu den anderen AgNOR-Parametern wird in der vorliegenden Literatur keine Aussage gemacht.

5.4 Der prognostische Einfluß klinischer Daten

5.4.1 Alter und Geschlecht

Alter und Geschlecht haben keinen direkten Einfluß auf die Prognose von Weichteilsarkomerkrankungen (Snover et al. 1982, Raney et al. 1987). Allerdings sind Patienten mit Morbus von Recklinghausen, die an einem neurogenen Sarkom erkranken, im Mittel 15 Jahre jünger als solche ohne assoziierte Neurofibromatose (Ducatman und Scheithauer 1986, Hruban et al. 1990). Außerdem haben Erkrankte mit vorbestehendem Morbus von Recklinghausen eine geringere 5-Jahres-Überlebensrate (15-30 %) als solche ohne Recklinghausen'sche Erkrankung (45-75 %; Weiss und Brooks 1996). In den eigenen Untersuchungen lag das mittlere Diagnosealter aller Patienten bei 41,7 Jahren. Es rangierte zwischen 15 und 72 Jahren. Mit 43,2 Jahren war bei den weiblichen Patienten das mittlere Diagnosealter um mehr als 1 Jahr höher als bei den männlichen Patienten (Mittelwert: 42,0 Jahre). In der Literatur werden neurogene Sarkome typischerweise als eine Erkrankung des Erwachsenenalters beschrieben (Enzinger und Weiss 1995). Der Erkrankungsbeginn liegt zwischen der 2. und der 5. Lebensdekade (im Mittel: 32 Jahre). Selten beginnt die Erkrankung vor dem 20. Lebensjahr (Katenkamp und Stiller 1990, Weiss und Brooks 1996). Durch die Zusammenfassung der Patienten in drei Altersgruppen wurde versucht, der Morbiditätshäufung im Erwachsenenalter Rechnung zu tragen. Es fällt auf, daß Patienten der 4. und 5. Lebensdekade gegenüber jüngeren oder älteren Patienten eine etwas günstigere Prognose zu haben scheinen (siehe Abbildung 1). Nach dem Log-Rank-Test ist dieser Unterschied jedoch statistisch nicht signifikant ($p=0,0587$).

Ebenso hat das Geschlecht keinen statistisch signifikanten Einfluß auf die Überlebenszeiten der ausgewerteten 33 Patienten ($p=0,9523$). In den eigenen Untersuchungen werden bei der Geschlechtsverteilung, wie in der vorliegenden Literatur beschrieben, Frauen leicht bevorzugt (Ducatman et al. 1986, Hruban et al. 1990, Katenkamp & Stiller 1990, Enzinger und Weiss 1995, Weiss und Brooks 1996). Diese Angaben beziehen sich auf Patienten ohne vorbestehenden Morbus von Recklinghausen. Mit assoziierter Neurofibromatose wird von den o.g. Autoren eine männliche Dominanz beobachtet. Katenkamp und Stiller (1990) geben den Anteil der mit einer Neurofibromatose assoziierten neurogenen Sarkome mit 26-40 % an, während andere Autoren (Ducatman et al. 1986, Hruban et al. 1990, Enzinger und Weiss 1995) sogar von über der Hälfte der Fälle sprechen. Die Neurofibromatose Typ I (Morbus von Recklinghausen) wurde in der vorliegenden Untersuchung nur bei zwei Patienten (ein Mann, eine Frau) beobachtet (3,8 %). Eine Ursache für diesen geringen Anteil könnten die

fehlenden klinischen Angaben bei 20 Primärtumoren sein, die nicht in die Auswertung einfließen konnten.

5.4.2 Tumorlokalisation und Metastasierung

Bezüglich der Tumorlokalisation lassen sich anhand der eigenen Fälle zwei prognostische Gruppen bilden. Die schlechteste Prognose hatten die Patienten mit retroperitoneal gelegenen neurogenen Sarkomen (mittlere Überlebenszeit: 10,9 Monate). Die günstigste Prognose war bei den Erkrankten zu beobachten, bei denen sich das Sarkom im Bereich der Extremitäten befand. Von den fünf Patienten, die bei Abschluß der Datenerfassung noch am Leben waren, lagen die Tumoren ausschließlich im Bereich der Extremitäten. Die übrigen lebten im Mittel 21,5 Monate länger als die Patienten mit Tumoren im Bereich des Retroperitoneums. Auch Patienten mit einer Tumorlokalisation im Kopf-Hals-Bereich hatten dem gegenüber eine deutlich kürzere Überlebenszeit (21,3 Monate). Diese Ergebnisse stimmen im wesentlichen mit denen von Kuratsu et al. (1994) überein. Die Untersucher stellten bei einer heterogenen Serie von Weichteilsarkomen mit den dazugehörigen Rezidivtumoren die ungünstigste Prognose bei einer Tumorlokalisation in der Kopf-, Hals- und Retroperitonealregion fest.

Die Einteilung der eigenen Fälle in Patientengruppen wurde in Anlehnung an das Schema der o.g. Studie gemacht (siehe Abbildung 5). In Gruppe 1 sind die elf Patienten zusammengefaßt, bei denen die Tumoren in der Kopf-, Hals- und Retroperitonealregion gelegen waren. In Gruppe 2 sind neun Patienten mit Tumoren in Bereich der Rumpfwand und des Intestinums vertreten. Gruppe 3 wird durch die dreizehn Patienten repräsentiert, bei denen die Tumoren im Bereich der Extremitäten lokalisiert waren. Diese Gruppe hatte die günstigste Prognose. Die kürzeste Überlebenszeit hatten Patienten der Gruppe 1. Der Unterschied der Überlebenszeit zwischen den drei Patientengruppen war signifikant ($p=0,0006$).

Die Metastasierung maligner Weichteiltumoren wurde in mehreren Studien als unabhängiger prognostischer Faktor bestätigt (el-Jabbour et al. 1990, Peiper et al. 1997). Die Fähigkeit der Tumorzellen zur Metastasierung setzt proteolytische Aktivität, Motilität und Angioinvasivität voraus. Diese Eigenschaften lassen sich heute molekularpathologisch oder immunhistochemisch zumindest partiell erkennen, etwa durch den Nachweis eines Gefäßpermeabilitätsfaktors (Brown et al. 1995) oder bestimmter Gendefekte (Kitadai et al. 1995), die eng mit der Metastasierung korreliert sein sollen. Auch andere Faktoren, wie das

Cathepsin D, sollen die Metastasierungsneigung von Tumoren begünstigen. Diese Theorie hat jedoch noch keine allgemeine Akzeptanz gefunden (Liotta und Stetler-Stevenson 1993, Remmele und Sauer-Manthey 1993). Rosai (1993) zieht daher nur den indirekten Schluß, daß zunehmende Tumorgroße, Invasivität, Aneuploidie und höherer Malignitätsgrad mit der Metastasierungswahrscheinlichkeit korreliert sind.

In den eigenen Untersuchungen ist die mittlere Überlebenszeit der Patienten, bei denen bereits zum Zeitpunkt der Primäroperation eine Metastasierung der Lymphknoten festgestellt wurde, im Mittel 14,2 Monate kürzer als bei den Patienten ohne Lymphknotenbefall. In der ersten Gruppe lebte noch ein Patient bei Abschluß der Datenerfassung, während von den Patienten ohne Lymphknotenmetastasierung noch vier bei Abschluß der Datenerfassung am Leben waren. Die beiden Patienten mit Lymphknoten- und Fernmetastasen zum Zeitpunkt der Primäroperation überlebten die Krankheit deutlich kürzer als die metastasenfrenen Patienten. Auffällig ist auch, daß zu der Gruppe ohne postoperative Metastasierung ausschließlich die fünf Patienten gehörten, die bei Abschluß der Datenerfassung noch lebten. Bei der statistischen Auswertung wurden die Überlebenszeiten dieser Patienten (keine Metastasen; Lymphknotenmetastasen) den Überlebenszeiten der übrigen Patienten (postoperative Fernmetastasen; Lymphknoten- und postoperative Fernmetastasen; Lymphknoten-, Fernmetastasen und postoperative Fernmetastasen) gegenübergestellt. Der Unterschied der Überlebenszeiten zwischen diesen beiden Patientengruppen war signifikant ($p < 0,0001$).

5.4.3 Tumorausdehnung, Operationsmethode, Staging und Malignitätsgrading

Mehrere Untersucher stellten bei Weichteilsarkomen einen statistisch signifikanten Einfluß der Tumorausdehnung auf die Überlebenszeit fest (Gustafson 1994, Meterissian et al. 1995, Angelov et al. 1998). Jedoch wird von Guillou et al. (1997) beim Vergleich zweier Gradingssysteme nachgewiesen, daß der Einfluß des Malignitätsgrades auf die Überlebenszeit größer als der der Tumorausdehnung ist.

Bei den eigenen Untersuchungen lebten die Patienten, bei denen der Tumordurchmesser kleiner als 5 cm war, im Mittel 11,9 Monate länger als die Patienten mit einem Tumordurchmesser über 5 cm. Die Zahl der Patienten, die bei Abschluß der Datenerfassung noch lebten, ist jedoch in der ersten Untersuchungsgruppe niedriger ($n=1$) als in der zweiten Untersuchungsgruppe ($n=4$). Die Tumorausdehnung hatte in der vorliegenden Arbeit keinen statistisch signifikanten Einfluß auf die Überlebenszeiten ($p=0,4161$). Möglicherweise ist dieses Ergebnis damit zu erklären, daß die Größe des Tumors nicht ohne Berücksichtigung

seiner Lokalisation und damit seiner Operabilität bewertet werden sollte. So betonen mehrere Autoren die prognostische Bedeutung einer radikalen chirurgischen Behandlung bei neurogenen Sarkomen (Raney et al. 1987, Vauthey et al. 1995, Angelov et al. 1998). Patienten, bei denen nach Exzision des Primärtumors ein tumorfreier Rand nachgewiesen wurde, lebten signifikant länger und hatten eine niedrigere Lokalrezidivrate und Metastasierung als solche Patienten, bei denen keine vollständige Tumorexzision oder nur eine palliative Tumormassenreduktion erfolgte.

Auch in den eigenen Untersuchungen ist die radikale chirurgische Tumorexzision von prognostischer Bedeutung. Die günstigste Prognose hatten die Patienten, bei denen der Tumor primär weit im Gesunden exzidiert werden konnte und die Patienten, bei denen eine sekundäre Extremitätenamputation erfolgte. In beiden Fällen wurde ein tumorfreier Rand gesichert. Die ungünstigste Prognose hatten die Patienten, bei denen nur eine palliative Tumormassenreduktion erfolgen konnte. Bei der Unterteilung in zwei Patientengruppen wurde der Erhaltung eines tumorfreien Randes Rechnung getragen. In Gruppe 1 sind die Patienten zusammengefaßt, bei denen das neurogene Sarkome weit im Gesunden exzidiert werden konnte (primäre bzw. sekundäre weite Exzision bzw. sekundäre Amputation). Gruppe 2 wird durch die Patienten vertreten, bei denen ein tumorfreier Rand nach Operation nicht gewährleistet war (primäre bzw. sekundäre Tumorausschälung bzw. primär palliative Tumormassenreduktion; siehe Abbildung 4). Der Unterschied der Überlebenszeiten dieser beiden Patientengruppen war statistisch signifikant ($p=0,0035$).

Das Staging nach der UICC, TNM Klassifikation Maligner Tumoren liefert eine Kurzinformation über den Zustand und die vermutete Ausbreitungstendenz des Tumors zu einem bestimmten Zeitpunkt, vorzugsweise zum Zeitpunkt der ersten histologischen Diagnosestellung (Soft Tissue. In: Hermanek et al. 1992).

Bei der Prüfung des Tumorstagings auf seine Validität hinsichtlich der Prognose ist anzumerken, daß durch die Untergliederung in vier Staging-Gruppen (Stadium I bis IV; auf die Untergliederung in A und B wurde hier verzichtet) in Gruppe 1 nur eine geringe Patientenzahl ($n=2$) vertreten ist. Damit ist eine statistisch verwertbare Aussage nicht möglich. Allerdings ist eine deutliche Tendenz zu erkennen. Patienten mit einem frühen Tumorstadium überlebten die Tumorerkrankung länger als solche mit fortgeschrittenem Staging. Nach dem Log-Rank-Test war dieser Unterschied jedoch statistisch nicht signifikant ($p=0,0841$).

Der histologische Malignitätsgrad ist neben dem Tumorstadium und dem Tumortyp prognostisch und therapeutisch relevant (el-Jabbour et al. 1990, Meterissian et al. 1995,

Angelov et al. 1998, Donhuijsen 1998). Da es für das Grading der Weichteilsarkome bisher kein einheitlich anerkanntes System gibt, legen einige Autoren die Malignitätsgrade des untersuchten Tumormaterials individuell fest (Kuratsu et al. 1993, Tomita et al. 1993, Miracco et al. 1996). Andere Untersucher (Wrba et al. 1991, Kuratsu et al. 1994) beziehen sich auf allgemein anerkannte Grading-Systeme, wie beispielsweise dem System nach Coindre et al. (1988) oder Enzinger und Weiss (1995).

In der vorliegenden Arbeit wurde die letztere Methode angewandt und aus der Vielzahl von Grading-Systemen das nach van Unnik et al. (1993) benutzt. Bei diesem System werden ausschließlich die Mitoserate und der Nekroseanteil berücksichtigt, da diese Parameter die entscheidendsten Informationen über den Malignitätsgrad des Tumors geben (Mandard et al. 1981, Albus-Lutter et al. 1986, Enzinger 1986). Seine Anwendung ist relativ einfach und der subjektive Einfluß geringer als beispielsweise bei den Systemen von Trojani et al. (1984), Katenkamp und Stiller (1990) und Enzinger und Weiss (1995), bei denen zusätzlich die Tumordifferenzierung in die Beurteilung einfließt.

In den eigenen Untersuchungen wurden die Sarkome des 1. Malignitätsgrades wegen der geringen Fallzahl ($n=2$) zusammen mit den Sarkomen des 2. Malignitätsgrades aufgeführt und statistisch ausgewertet (siehe Abbildung 2). Diese Patientengruppe lebte im Mittel 25 Monate länger als die Patienten mit Sarkomen des 3. Malignitätsgrades. Auch der Anteil der Patienten, die bei Abschluß der Datenerfassung noch am Leben waren, ist in Gruppe 1 höher als in Gruppe 2. Patienten mit Sarkomen des 1. und 2. Grades lebten signifikant länger als Patienten mit Sarkomen des 3. Grades ($p=0,0204$).

6 Zusammenfassung

In den letzten zwei Jahrzehnten wurden in zunehmenden Maße morphologische Tumorparameter auf ihre prognostische Bedeutung bei Malignomerkrankungen untersucht. Als ein wichtiger morphometrisch zu ermittelnder Faktor sind argyrophile Nukleolus organisierende Regionen (AgNOR's) zu nennen, die zentrale Schaltstellen zur Regulation der Proteinsynthese darstellen. Die Silberfärbung Nukleolus organisierender Regionen ist an Eiweiße gebunden, die mit aktivierten NOR-Genen assoziiert sind und so die Aktivität bzw. Proliferationspotenz einer Zelle auf molekularer Ebene anzeigen. AgNOR's konnten bei bestimmten karzinomatös und sarkomatös entartetem Gewebe als neuartiger morphologischer Tumorparameter bereits präoperativ zu einer verbesserten Prognoseeinschätzung beitragen. In dieser Arbeit sollte die Bedeutung der AgNOR's neben histopathologischen und klinischen Faktoren für die Prognose neurogener Sarkome untersucht werden.

In einer retrospektiven Studie wurden 65 formalinfixierte, in Paraffin eingebettete neurogene Sarkome sowie 24 Neurinome aus dem Archiv des Institutes für Pathologische Anatomie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg untersucht. Es handelte sich um Tumormaterial mit bekanntem klinischen Verlauf aus den Jahren 1982 bis 1994. Es wurde die Bedeutung sowohl morphometrisch ermittelter Daten (AgNOR-abhängige Parameter, Kernfläche, Nukleolenzahl und -fläche) als auch klinischer Daten (Geschlecht, Alter, Lokalrezidivrate, Tumorausdehnung, Metastasierung, Resektionsart, Tumorlokalisation, Tumorstaging) für die Prognose neurogener Sarkome untersucht.

Aufgrund unterschiedlicher Datenmengen erfolgte die Auswertung der ermittelten Parameter nach zwei Schemata. Zum einen wurde das Verhalten AgNOR-abhängiger Parameter, der Kernfläche sowie der Nukleolenzahl und -fläche aller neurogenen Sarkome der Malignitätsgrade 1 bis 3 untersucht und mit dem einer benignen Kontrollgruppe (24 Neurinome) verglichen. Für die morphometrischen Messungen wurde ein Bildanalyzesystem genutzt. Das Malignitätsgrading erfolgte nach van Unnik et al. (1993). Zum anderen war der Einfluß von Geschlecht, Alter, Lokalrezidivrate, Tumorausdehnung, Metastasierung, Resektionsart, Tumorlokalisation, Tumorstaging und des Malignitätsgrades auf die Überlebenszeiten von Interesse. Diese Auswertung wurde anhand der ambulanten und stationären Behandlungsunterlagen von 33 Patienten vorgenommen.

Bei drei Patienten erfolgte ein kasuistischer Vergleich der Primärtumoren mit den jeweiligen Rezidivtumoren anhand morphometrischer und klinischer Daten.

Alle erhobenen Befunde wurden mit Angaben aus der Literatur verglichen und analysiert.

Es kamen nur homologe neurogene Sarkome mit positiver S-100-Reaktion zur Auswertung. Das maligne Tumormaterial bestand aus 53 Primärtumoren und 12 Tumorrezidiven. Drei neurogene Sarkome entsprachen dem Malignitätsgrad 1, sechsundzwanzig neurogene Sarkome dem Malignitätsgrad 2 und vierundzwanzig dem Malignitätsgrad 3. Bei den 53 Patienten handelte es sich um 28 Frauen und 25 Männer. Das mittlere Erkrankungsalter lag bei 41,7 Jahren.

Der prognostische Einfluß der AgNOR-Zahl und -Fläche, des AgNOR-Gehalts, der Nukleolenzahl und -fläche, des Alters, Geschlechts, der Tumorausdehnung und des Stagings bei Patienten mit neurogenen Sarkomen war statistisch nicht signifikant. Damit können argyrophile Nukleolus organisierende Regionen nicht als prognostische Marker bei neurogenen Sarkomen genutzt werden.

Einen statistisch signifikanten Einfluß auf die Prognose neurogener Sarkome hatten die Kernfläche, die Tumorlokalisation, die Metastasierung, die Resektionsart sowie der Malignitätsgrad. Anhand der Kernfläche ließen sich neurogene Sarkome von Neurinomen statistisch signifikant unterscheiden. Auch die Unterscheidung der neurogenen Sarkome der einzelnen Malignitätsgrade war anhand der Kernfläche signifikant ($p=0,02$). Damit ist die mittlere Kernfläche von prognostischer Bedeutung bei Patienten, die an einem neurogenen Sarkom erkrankt sind. Auch beim kasuistischen Vergleich der Primär- mit den Rezidivtumoren ist die Kernfläche der einzige morphometrisch ermittelte Parameter, der eine deutliche Tendenz erkennen läßt. Die mittleren Kernflächen aller drei Rezidivtumoren waren größer als die der Primärtumoren.

Die in der vorliegenden Arbeit nachgewiesene prognostische Bedeutung der klinischen und histopathologischen Parameter (Tumorlokalisation, Metastasierung, Resektionsart, Malignitätsgrad) unterstreicht die Notwendigkeit einer fachübergreifenden Diagnostik und Therapieplanung bei Patienten mit neurogenen Sarkomen.

Um die morphometrisch ermittelbare Kernfläche als allgemeingültigen Prognosemarker bei neurogenen Sarkomen nutzen zu können, sind weitere Studien notwendig. Dies gilt auch für andere immunhistochemisch oder molekularpathologisch erfaßbarer Parameter. Bisher fehlen jedoch noch bei vielen Tumorgruppen vergleichbare Studien zur prognostischen Relevanz histopathologischer, morphometrisch erfaßbarer und klinischer Faktoren unter vorher definierten Rahmenbedingungen.

Literaturverzeichnis

1. Adam J: Mathematik und Informatik in der Medizin. 1. Aufl. Volk und Gesundheit, Berlin, 1980
2. Adam YG, Oland J, Halevy A, Reif R: Primary retroperitoneal soft-tissue sarcoma. *J Surg Oncol* 25 (1984) 8-11
3. Albus-Lutter CE, de Stefani E, van Unnik JAM: Clinicopathologic relations in soft tissue sarcomas. In: *Management of Soft Tissue and Bone Sarcomas*. Raven Press, New York, 1986, S. 27-34
4. Alvegard TA, Berg NO, Baldetorp BO, et al.: Cellular DNA content and prognosis of high-grade soft tissue sarcoma: The Scandinavian sarcoma group experience. *J Clin Oncol* 8 (1990) 538
5. Angelov L, Davis A, O'Sullivan B, Bell R, Guha A: Neurogenic sarcomas: experience at the University of Toronto. *Neurosurgery* 43 (1998) 64-65
6. Armando EG, Frederick RE, Donald LM: The management of locally recurrent soft-tissue sarcoma. *Ann Surg* 196 (1982) 87-91
7. Becker RL, Venzon UMCD, Lack EE, et al.: Cytometry and morphometry of malignant fibrous histiocytoma of the extremities. Prediction of metastasis and mortality. *Am J Surg Pathol* 15 (1991) 957
8. Bockmühl U, Theissig F, Dimmer V, Kunze KD: The impact of nucleolar organizer regions for the lymph node spread and prognosis of invasive ductal mammary carcinoma. *Path. Res. Pract.* 187 (1991) 437-443
9. Brown LF, Berse B, Jackman RW et al.: Expression of vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) and its receptors in breast cancer. *Hum Pathol* 26 (1995) 86-91

10. Choong PFM, Akerman M, Willen H, et al.: Expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and Ki-67 in soft tissue sarcoma. Is prognostic significance histotype-specific? *APMIS* 103 (1995) 797-805
11. Coindre JM, Trojani M, Contesso G et al.: Reproducibility of a histopathologic grading system for adult soft tissue sarcoma. *Cancer* 58 (1986) 306-309
12. Coindre JM, Binh Bui N, Bonichon F et al.: Histologic grading in spindle cell soft tissue sarcomas. *Cancer* 61 (1988) 2305-2309
13. Coindre JM: Histologic grading of adult soft tissue sarcomas. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* 82 (1998) 59-63
14. Collin C, Hajdu SI, Godbold J, Friedrich C, Brennan MF: Localized operable soft tissue sarcoma of the lower extremity. *Arch Surg* 121 (1986) 1425-1433
15. Crocker J, McGovern J: Nucleolar organiser regions in normal, cirrhotic and carcinomatous livers. *J Clin Pathol* 41 (1988) 1044-1048
16. Crocker J, Nar P: Nucleolar organizer regions in lymphomas. *J Pathol* 151 (1987) 111-118
17. Crocker J, Skilbeck N: Nucleolar organiser region assoziated protein in melanocytic lesions of skin: a quantitative study. *J Clin Pathol* 40 (1987) 888-890
18. Darnell J, Lodish H, Baltimore D: *Molecular Cell Biology*. Scientific American Books, New York, 1986, S. 269-369
19. Donhuijsen K: Histologisches Malignitätsgrading. *Dt Ärztebl* 95 (1998) A-2391-2395 (Heft 39)
20. Drobnjak M, Latres E, Pollack D, et al.: Prognostic implications of p53 nuclear overexpression and high proliferation index of Ki-67 in adult soft-tissue sarcomas. *J Natl Cancer Inst* 86 (1994) 549-554

21. Ducatman BS, Scheithauer BW: Post-irradiation neurofibrosarcoma. *Cancer* 51 (1983) 1028-1033
22. Ducatman BS, Scheithauer BW, Piegras DG, Reiman HM, Ilstrup DM: Malignant peripheral nerve sheath tumors. A clinicopathologic study of 120 cases. *Cancer* 57 (1986) 2006-2021
23. Egan MJ, Raafat F, Crocker J, Smith K: Nucleolar organizer regions in fibrous proliferations of childhood und infantile fibrosarcoma. *J Clin Pathol* 41 (1988) 31-33
24. Egan MJ, Raafat F, Crocker J, Williams D: Prognostic importance of nucleolar organizer regions in Ewing's sarcoma of childhood. *J Clin Pathol* 41 (1988) 232
25. Egan MJ, Raafat F, Crocker J, Williams D: Prognostic importance of nucleolar organizer regions in embryonal rhabdomyosarcoma. *J Clin Pathol* 41 (1988) 477
26. Egan MJ, Smith K: Expression of S100 protein in breast lesions. *J Clin Pathol* 40 (1987) 1485-1486
27. el-Jabbour JN, Akhtar SS, Kerr GR, McLaren KM, Smyth JF, Rodger A, Leonard RC: Prognostic factors for survival in soft tissue sarcoma. *Br J Cancer* 62 (1990) 857-861
28. Enzinger FM: Clinicopathological correlation in soft tissue sarcomas. In: *Management of Soft Tissue and Bone Sarcomas*. Raven Press, New York, 1986, S. 1-8
29. Enzinger FM, Weiss SW: *Soft Tissue Tumors*. 3. Aufl. Gay SM, CV Mosby Company, St. Louis (usw.), 1995, 889 S.
30. Epstein JI: *Prostate biopsy interpretation*. Lippincott-Raven, Philadelphia, 1995
31. Erlandson RA: Peripheral nerve sheath tumors. *Ultrastruct Pathol* 9 (1985) 113-122
32. Feldkamp MM, Lau N, Provias JP, Gutmann DH, Guha A: Acute presentation of a neurogenic sarcoma in a patient with neurofibromatosis type 1: A pathological and molecular explanation. Case report. *J Neurosurg* 84 (1996) 867-873

33. Foley KM, Woodruff JM, Ellis FT, Posner JB: Radiation-induced malignant and atypical PNST. *Ann Neurol* 7 (1980) 311-318
34. Goodpasture C, Bloom SE: Visualization of nucleolar organizer regions in mammalian chromosomes using silver staining. *Chromosoma* 53 (1975) 37-50
35. Guillou L, Coindre JM, Bonichon F, Nguyen BB, Terrier P, Collin F, Vilain MO, Mandard AM, Le Doussal V, Leroux A, Jacquemier J, Duplay H, Sastre-Garau X, Costa J: Comparative study of the National Cancer Institute and French Federation of Cancer Centers Sarcoma Group grading systems in a population of 410 adult patients with soft tissue sarcoma. *J Clin Oncol* 15 (1997) 350-362
36. Guillou L, Coindre JM: How should we grade soft tissue sarcomas and what are the limitations ? *Pathology Case Reviews* 5/6 (1998) 105-110
37. Gustafson P: Soft tissue sarcoma. Epidemiology and prognosis in 508 patients. *Acta Orthop Scand Suppl* 259 (1994) 1-31
38. Gustafson P, Ferno M, Akerman M, et al.: Flow cytometric S-phase fraction in soft-tissue sarcoma – prognostic importance analysed in 160 patients. *Br J Cancer* 75 (1997) 94-100
39. Hajdu SI: *Pathology of Soft Tissue Tumors*. Lea and Febiger, Philadelphia, 1979
40. Hara A, Sakai N, Yamada H, Yoshimi N, Tanaka T, Mori H: Rapid detection of proliferating potential in human brain tumors by nucleolar organizer region staining on squash preparations. *J Cancer Res Oncol* 117 (1991) 510-514
41. Harms V: *Biomathematik Statistik und Dokumentation*. 5. Aufl. Harms, Kiel, 1988
42. Heise HW, Myers MH, Russel WO, Suit HD, Enzinger FM, Edomsonson JH et al.: Recurrence-free survival time for surgically treated soft tissue sarcoma patients: Multivariate analysis of five prognostic factors. *Cancer* 57 (1986) 172-177
43. Henderson AS, Warburton D, Atwood KC: Localization of rDNA in the rhesus (*Macaca Mulatta*) chromosome complement. *Chromosoma* 44 (1974) 367-370

44. Howell WM, Denton TE, Diamond JR: Differential staining of the regions of human chromosomes. *Experientia* 31(1975) 260-262
45. Hruban RH, Shiu MH, Senie RT, Woodruff JM: Malignant peripheral nerve sheath tumors of the buttock and lower extremity. A study of 43 cases. *Cancer* 66 (1990) 1253-1265
46. Kaplan EL, Meier P: Non-parametric estimation from incomplete observations. *J Am Stat Assoc* 53 (1958) 457-481
47. Katenkamp D, Stiller D: Weichgewebstumoren: Pathologie, histologische Diagnostik und Differentialdiagnose. J. A. Barth, Leipzig, 1990
48. Kirchner T, Wunsch PH: Weichgewebstumoren. Biopsische Diagnostik und statistische Analyse. Urban & Schwarzenberg, München (usw.), 1981, IX, 187 S.
49. Kitadai Y, Bucana CD, Ellis LM, Anzai H, Tahara D, Fidler IJ: In situ mRNA hybridization technique for analysis of metastasis-related genes in human colon carcinoma cells. *Am J Pathol* 147 (1995) 1238-1247
50. Kondo F, Wada K, Kondo Y: Morphometric analysis of hepatocellular carcinoma. *Virch Arch A Pathol Anat* 413 (1988) 425-430
51. Kuratsu S, Aozasa K, Myoui A, Tsujimoto M, Ueda T, Uchida A, Hamada H, Ono K, Matsumoto K: Prognostic significance of argyrophilic nucleolar organizer staining in soft-tissue sarcomas. *Int. J. Cancer* 48 (1991) 211-214
52. Kuratsu S, Myoui A, Tomita Y, Naka N, Uchida A, Ono K, Aozasa K: Usefulness of argyrophilic nucleolar organizer staining for histologic grading of soft-tissue sarcomas. *J Surg Oncol* 54 (1993) 139-145
53. Kuratsu S, Ohsawa M, Naka N, Myoui A, Tomita Y, Uchida A, Ono K, Aozasa K: Usefulness of argyrophilic nucleolar organizer staining for predicting prognosis of patients with recurrent soft-tissue sarcoma. *Oncology* 51 (1994) 244-250

54. Kuratsu S, Tomita Y, Myoui A, Uchida A, Ono K, Aozasa K: DNA ploidy pattern and cell cycle stage of tumor cells in soft-tissue sarcomas: clinical implications. *Oncology* 52 (1995) 363-370
55. Laissue JA, Gebbers JO: Einführung in die Spezielle Pathologie. Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart, New York, 1991, S. 444-454.
56. Lewin B: Gene Expression. Vol. 2. Eucaryotic Chromosomes. 2. Aufl. J. Wiley, New York, 1980, S. 875-878
57. Liotta A, Stetler-Stevenson WG: Principles of molecular cell biology of cancer: cancer metastasis. In: De Vita VT, Hellmann S, Rosenberg SA (Hrsg): Cancer: principles & practice of oncology. J. B. Lippincott and Co., Philadelphia, 1993, S. 134-149
58. Mandard AM, Chasley J, Mandard JC: The pathologist's role in a multidisciplinary approach for soft tissue sarcomas. A reappraisal. *J Surg Oncol* 1 (1981) 69
59. Marbaix E, Dewandeleer S, Habba C, Liegeois P, Willems T, Rahier J, Donnez J: Nucleolar organizer regions in the normal and carcinomatous epithelium of the uterine cervix. A morphometric study. *Int J Gynecol Pathol* 8 (1989) 237-245
60. Markhede G, Angervall L, Stener B: A multivariate analysis of the prognosis after surgical treatment of malignant soft-tissue tumors. *Cancer* 49 (1982) 1721-1733
61. Meterissian SH, Reilly JA Jr, Murphy A, Romsdahl MM, Pollock RE: Soft-tissue sarcomas of the shoulder girdle: factors influencing local distant metastases, and survival. *Ann Surg Oncol* 2 (1995) 530-536
62. Miracco C, Montesco MC, Santopietro R, Spina D, d'Amore ESG, Tosi P, Ninfo V: Proliferative activity, angiogenesis, and necrosis in peripheral nerve sheath tumors: A quantitative evaluation for prognosis. *Mod Pathol* 9 (1996) 1108-1117
63. Peiper M, Zurakowski D, Zornig C: Survival in primary soft tissue sarcoma of the extremities and trunk. *Langenbecks Arch Chir* 382 (1997) 203-208

64. Peto R, Pike MC, Armitage P, Breslow NE, Cox DR, Howard S et al.: Design and analysis of randomized clinical trials requiring prolonged observation of each patient: Analysis and example. *Br J Cancer* 35 (1977) 1-39
65. Ploton D, Menager M, Jeannesson P, Himber G, Pigeon F, Adnet JJ: Improvement in the staining and in the visualization of the argyrophilic proteins of the nucleolar organizer region at the optical level. *Histochem J* 18 (1986) 5-14
66. Potter DA, Glenn J, Kinsella T, Glatstein E, Lack EE, Restrepo C et al.: Pattern of recurrence in patients with high-grade soft-tissue sarcomas. *J Clin Oncol* 3 (1985) 53-366
67. Raney B, Schnauffer L, Ziegler M, Chatten J, Littman P, Jarrett P: Treatment of children with neurogenic sarcoma. Experience at the Children's Hospital of Philadelphia, 1958-1984. *Cancer* 59 (1987) 1-5
68. Rath SA, Antoniadis G, Oberle J-W, Richter H-P: Tumoren der peripheren Nerven. Präoperative Diagnostik und Mikrochirurgie. *Klinikarzt* 9 (1999) 268-272
69. Ravaud A, Bui NB, Coindre JM, et al.: Prognostic variables for the selection of patients with operable soft tissue sarcomas to be considered in adjuvant chemotherapy trials. *Br J Cancer* 66 (1992) 961-969.
70. Remmele W, Sauer-Manthey J: Comparative biochemical and immunohistochemical studies on the cathepsin D content of human breast cancer. *Virch Arch A* 422 (1993) 467-473
71. Remmelink M, Salmon I, Petein M, et al.: Determination of DNA ploidy, nuclear size and proliferative activity by means of the computer-assisted image analysis of Feulgen-stained nuclei in 68 soft tissue tumors of adults. *Hum Pathol* 25 (1994) 694
72. Romppanen T: Practical approach to a morphometrical study. In: Collan Y, Romppanen T (eds): *Morphometry in morphological diagnosis*. Kuopio University Press, Kuopio, 1982, S. 47-63

73. Rooser B, Attewell R, Berg NO, Rydholm A: Survival in soft tissue sarcoma: Prognostic variables identified by multivariate analysis. *Acta Orthop Scand* 58 (1987) 516-522
74. Rosai J: Principles of oncologic pathology. In: De Vita VT, Hellmann S, Rosenberg SA (eds.): *Cancer: Principles & Practice of Oncology*. J. B. Lippincott Co., Philadelphia, 1993, S. 228-229
75. Rosenberg SA, Tepper J, Glatstein E, Costa J, Baker A, Brennan M et al.: The treatment of soft tissue sarcomas of the extremities: Prospective randomized evaluations of (1) limb sparing surgery plus radiation compared with amputation and (2) the role of adjuvant chemotherapy. *Ann Surg* 186 (1983) 305-315
76. Rosser B, Gustafson P, Rydholm A: Is there no influence of local control on the rate of metastases in high-grade soft tissue sarcoma? *Cancer* 65 (1990) 1727-1729
77. Rudolph P, Kellner U, Chassevent A, et al.: Prognostic relevance of a novel proliferation marker, Ki-S11, for soft-tissue sarcoma. A multivariate analysis. *Am J Pathol* 150 (1997) 1997-2007.
78. Rüschoff J: Nukleolus Organisierende Regionen (NORs) in der Pathomorphologischen Tumordiagnostik. Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart, Jena, New York, 1992. 144 S.
79. Rüschoff J, Fauser G, Knuchel R, Hofstädter F: AgNOR quantification with special reference to staining patterns. *Zentralbl Pathol* 140 (1994) 23-30
80. Schwarzacher HG, Mikelsaar AV, Schnede W: The nature of the Ag-staining of nucleolus organizer regions. *Cytogenetics and Cell Genetics* 20 (1978) 24-39
81. Shiu HD, Hajdu SI: Management of soft tissue sarcoma of extremity. *Semin Oncol* 8 (1981) 172-179
82. Snover DC, Sumner HW, Dehner LP: Variability of histologic pattern in recurrent soft tissue sarcomas originally diagnosed as liposarcoma. *Cancer* 49 (1982) 1005-1015

83. Soft Tissue. In: American Joint Committee on Cancer: Manual for Staging of Cancer. JB Lippincott Company, Philadelphia, 4th ed, 1992, S. 131-135
84. Soft Tissue. In: Hermanek P, Sobin LH (eds): UICC, TNM Classification of Malignant Tumors. Springer, New York, London, Paris, Tokyo, Berlin, Heidelberg, 5th ed, 1992
85. Tierney JF, Mosseri V, Steward LA, Souhami RL, Parmar MK: Adjuvant chemotherapy for soft-tissue sarcoma: review and meta-analysis of the published results of randomised clinical trials. *Br J Cancer* 72 (1995) 469-475
86. Tomita Y, Aozasa K, Myoui A, Kuratsu S, Uchida A, Ono K, Matsumoto K: Histologic grading in soft-tissue sarcomas. An analysis of 194 cases including AgNOR count and mast-cell count. *Int. J. Cancer* 54 (1993) 194-199
87. Trojani M, Contesso G, Coindre JM, Rouesse J, Bui NB, de Mascarel A, Goussot JF, David M, Bonichon F, Lagarde C: Soft tissue sarcomas of adults: Study of pathological prognostic variables and definition of a histopathological grading system. *Int J Cancer* 33 (1984) 37-42
88. Tsokos M, Webber BL, Parham DM, et al.: Rhabdomyosarkoma: A new classification scheme related to prognosis. *Arch Pathol Lab Med* 116 (1992) 847
89. Ueda T, Aozasa K, Tsujimoto M, et al.: Multivariate analysis for clinical prognostic factors in 163 patients with soft tissue sarcoma. *Cancer* 62 (1988) 1444
90. Ueda T, Aozasa K, Tsujimoto M, et al.: Prognostic significance of ki-67 reactivity in soft tissue sarcomas. Proliferation – a marker of metastasis? *APMIS* 102 (1994) 915-924
91. van Unnik JA, Coindre JM, Contesso C, Albus-Lutter CE, Schiodt T, Sylvester R, Thomas D, Bramwell V, Mouridsen HT: Grading of soft tissue sarcomas: Experience of the EORTC Soft Tissue and Bone Sarcoma Group. *Eur J Cancer* 29 A (1993) 2089-2093

92. Vauthey JN, Woodruff JM, Brennan MF: Extremity malignant peripheral nerve sheath tumors (neurogenic sarcomas): a 10-year experience. *Ann Surg Oncol* 2 (1995) 126-131
93. Watabe K, Kumanishi T, Ikuta F: Tactile-like corpuscles in neurofibromas: Immunohistochemical demonstration of S-100 protein. *Acta Neuropathol* 61 (1983) 173-177
94. Weiss SW, Brooks JSJ: *Soft Tissue Tumors*. Williams & Wilkins, Baltimore, Philadelphia, Hong Kong (usw.), 1996
95. Woodruff JM: The pathology and treatment of peripheral nerve tumors and tumor-like conditions. *A Cancer J Clin* 43 (1993) 290-308
96. Woodruff JM, Selig AM, Crowley K, Allen PW: Schwannoma with malignant transformation: a rare distinctive peripheral nerve tumor. *Am Surg Pathol* 18 (1994) 882-895
97. Wrba F, Augustin I, Fertl H: Nucleolar organizer regions in soft tissue sarcomas. *Oncology* 48 (1991) 166-170

Tumor-Nr.	AgNOR Fläche [µm ²]	AgNOR Gesamtfläche [µm ²]	AgNOR Zahl/Zelle [z/Zelle]	AgNOR-Quotient [z/µm ²]	höchste AgNOR Zahl [z/Nukl.]	Kernfläche [µm ²]	Nukleolenzahl [NZ/Zelle]	Nuk.ges. Fläche [µm ² /Zelle]
1	0,080	0,373	4,6	57,73	12,0	48,33	1,0	3,64
2	0,120	0,275	2,3	19,02	3,0	43,79	1,2	1,99
3	0,119	0,281	2,4	19,79	4,0	44,77	1,2	2,05
4	0,117	0,273	2,3	19,84	6,0	44,18	1,2	2,05
5	0,089	0,245	2,8	31,01	7,0	41,77	1,0	2,21
6	0,121	0,280	2,3	19,11	4,0	43,92	1,2	1,99
7	0,087	0,297	3,4	38,88	5,0	49,51	1,1	2,38
8	0,084	0,321	3,8	45,28	5,0	53,23	1,1	2,70
9	0,088	0,291	3,3	37,73	5,0	49,25	1,1	2,39
10	0,130	0,396	3,1	23,60	4,0	40,45	1,0	2,42
11	0,103	0,213	2,8	30,99	7,0	32,90	1,1	2,16
12	0,084	0,365	4,0	40,26	4,0	44,45	1,1	3,18
13	0,112	0,359	3,4	32,60	6,0	37,36	1,1	2,34
14	0,103	0,242	3,0	34,22	4,0	43,60	1,0	2,06
15	0,113	0,395	3,1	23,16	6,0	32,93	1,2	2,48
16	0,094	0,334	4,1	37,65	5,0	38,54	1,2	3,25
17	0,086	0,358	3,3	39,16	10,0	46,54	1,1	2,74
18	0,103	0,492	5,3	47,28	6,0	40,11	1,0	4,62
19	0,107	0,257	2,8	30,85	7,0	32,93	1,1	2,18
20	0,112	0,330	4,0	40,86	5,0	42,45	1,0	3,16
21	0,082	0,258	2,7	27,26	7,0	39,36	1,3	2,01
22	0,110	0,479	4,1	35,36	5,0	41,44	1,1	3,52
23	0,113	0,306	3,2	33,59	8,0	42,02	1,1	2,29
24	0,090	0,319	3,5	32,58	6,0	49,01	1,0	2,65

Tabelle 11: AgNOR- und Zellparameter aller benignen Tumoren

Tumor-Nr.	AgNOR Fläche [µm²]	AgNOR Gesamtfläche [µm²]	AgNOR Zahl/Zelle [z/Zelle]	AgNOR-Quotient [z/µm²]	höchste AgNOR Zahl [z/Nukl.]	Kernfläche [µm²]	Nukleolenzahl [NZ/Zelle]	Nuk.ges. Fläche [µm²/Zelle]
25	0,089	0,272	3,0	34,07	4,0	49,25	1,0	2,03
26	0,071	0,281	4,0	55,74	3,0	44,41	1,4	2,66
27	0,125	0,551	4,4	35,36	7,0	85,38	1,1	5,54

Tabelle 12: AgNOR- und Zellparameter der neurogenen Sarkome des Malignitätsgrades 1

Tumor-Nr.	AgNOR Fläche [µm²]	AgNOR Gesamt-fläche [µm²]	AgNOR Zahl/Zelle [z/Zelle]	AgNOR-Quotient [z/µm²]	höchste AgNOR Zahl [z/Nukl.]	Kern-fläche [µm²]	Nukleolenzahl [NZ/Zelle]	Nuk.ges. Fläche [µm²/Zelle]
28	0,082	0,244	3,0	36,18	4,0	39,57	1,1	2,39
29	0,105	0,330	3,1	29,66	5,0	59,05	1,1	2,23
30	0,167	1,018	6,1	36,52	9,0	57,88	1,3	5,30
31	0,149	0,629	4,2	28,46	7,0	64,58	1,2	4,22
32	0,129	0,803	6,2	48,29	14,0	58,42	1,2	5,53
33	0,059	0,216	3,7	62,66	6,0	59,07	1,0	2,83
34	0,091	0,207	2,3	24,74	4,0	35,45	1,1	1,77
35	0,069	0,227	3,3	47,14	4,0	52,92	1,1	2,50
36	0,074	0,345	4,7	63,42	9,0	80,34	1,2	3,85
37	0,082	0,321	3,9	48,13	9,0	64,20	1,1	3,24
38	0,075	0,275	3,7	49,08	4,0	51,19	1,1	2,50
39	0,102	0,397	3,9	38,33	7,0	57,23	1,1	3,32
40	0,098	0,397	4,0	41,14	6,0	58,89	1,1	3,05
41	0,131	0,523	4,0	30,61	6,0	59,99	1,2	3,42
42	0,128	0,550	4,3	33,62	9,0	42,32	1,2	4,21
43	0,126	0,490	3,9	30,99	3,3	44,58	1,2	3,98
44	0,102	0,346	3,4	33,46	7,0	46,84	1,0	2,60
45	0,111	0,188	1,7	15,14	5,0	23,45	1,1	1,08
46	0,119	0,165	1,4	11,65	3,0	18,89	1,1	0,86
47	0,118	0,562	4,8	40,73	9,0	72,67	1,3	4,80
48	0,067	0,179	2,7	40,30	5,0	38,03	1,0	1,95
49	0,110	0,382	3,5	31,56	5,0	59,82	1,1	2,36
50	0,102	0,375	3,7	35,88	7,0	58,02	1,1	2,77
51	0,098	0,266	2,7	27,97	4,0	43,99	1,0	2,21
52	0,113	0,350	3,1	27,43	6,0	62,59	1,1	2,61
53	0,074	0,489	6,6	88,20	5,0	77,73	1,1	5,72

Tabelle 13: AgNOR- und Zellparameter der neurogenen Sarkome des Malignitätsgrades 2

Tumor-Nr.	AgNOR Fläche [µm²]	AgNOR Gesamtfläche [µm²]	AgNOR Zahl/Zelle [z/Zelle]	AgNOR-Quotient [z/µm²]	höchste AgNOR Zahl [z/Nukl.]	Kernfläche [µm²]	Nukleolenzahl [NZ/Zelle]	Nuk.ges. Fläche [µm²/Zelle]
54	0,093	0,300	3,2	34,88	5,0	55,69	1,1	2,51
55	0,077	0,613	7,9	102,4	14,0	66,23	1,4	8,12
56	0,134	0,463	3,4	25,61	5,0	42,71	1,1	2,76
57	0,118	0,469	4,0	33,39	6,0	56,75	1,2	2,96
58	0,069	0,228	3,3	47,47	4,0	58,08	1,1	2,54
59	0,106	0,533	5,0	47,73	10,0	46,08	1,3	3,96
60	0,097	0,331	3,4	35,36	6,0	46,67	1,2	3,16
61	0,110	0,358	3,6	35,27	9,0	47,78	1,2	3,26
62	0,106	0,264	2,5	23,64	3,0	42,09	1,0	2,23
63	0,066	0,231	3,5	52,51	4,0	42,92	1,1	2,64
64	0,140	0,518	3,7	26,62	6,0	57,12	1,1	3,56
65	0,101	0,401	4,0	39,34	6,0	73,14	1,2	2,99
66	0,098	0,351	3,6	36,35	5,0	65,95	1,1	2,74
67	0,092	0,312	3,4	37,32	5,0	43,84	1,1	2,89
68	0,110	0,372	3,4	30,79	5,0	39,32	1,0	2,74
69	0,101	0,390	3,9	38,40	7,0	50,91	1,2	3,56
70	0,130	0,648	5,0	37,90	7,0	54,03	1,1	4,54
71	0,076	0,449	5,9	78,21	12,0	55,02	1,1	5,32
72	0,123	0,202	1,7	13,45	3,0	17,54	1,1	0,90
73	0,093	0,220	2,4	25,64	5,0	44,20	1,0	2,01
74	0,129	1,408	10,9	84,58	20,0	114,94	1,1	10,79
75	0,108	0,355	3,3	30,35	5,0	35,64	1,1	2,70
76	0,121	0,587	4,8	39,93	7,0	63,46	1,2	3,45
77	0,104	0,512	4,9	47,08	4,0	43,10	1,3	7,27

Tabelle 14: AgNOR- und Zellparameter der neurogenen Sarkome des Malignitätsgrades 3

Thesen

1. In dieser Arbeit sollte die Bedeutung argyrophiler Nukleolus organisierender Regionen neben histopathologischen und klinischen Faktoren für die Prognose neurogener Sarkome untersucht werden.
2. In einer retrospektiven Studie wurden 65 formalinfixierte, in Paraffin eingebettete neurogene Sarkome sowie 24 Neurinome aus dem Archiv des Institutes für Pathologische Anatomie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg untersucht. Es handelte sich um Tumormaterial mit bekanntem klinischen Verlauf, welches von 28 weiblichen und 25 männlichen Patienten stammte. In die Auswertung gingen 53 Primärtumoren und 12 Tumorrezidive ein.
3. Als Vergleich zu den morphometrisch ermittelten Daten wurde der Einfluß von Geschlecht, Alter, Tumorausdehnung, Metastasierung, Resektionsart, Tumorlokalisation, Tumorstaging und des Malignitätsgrades auf die Überlebenszeiten untersucht. Diese Auswertung wurde anhand der ambulanten und stationären Behandlungsunterlagen von 33 Patienten vorgenommen.
4. Nukleolus organisierende Regionen spielen bei der Zellteilung eine entscheidende Rolle. Sie stellen Segmente der DNA dar, in denen ribosomale Gene liegen. Während der Interphase befinden sie sich im Nukleolus, während der Mitose dagegen auf bestimmten akrozentrischen Chromosomen. Sie sollen während der Telophase des Zellzyklus die Konzentration der Chromosomen in den beiden Tochterzellkernen bewirken. Damit reflektieren sie das Potential für die Zellproliferation.
5. Für die Einteilung maligner Tumoren gibt es bisher kein einheitliches Gradingssystem. In der vorliegenden Arbeit wurde die Methode von van Unnik et al. (1993) zum Grading von Weichteilsarkomen angewandt. Bei diesem System werden ausschließlich Mitoserate und Nekroseanteil zur Einordnung in den Malignitätsgrad verwendet.
6. Patienten mit neurogenen Sarkomen des 1. und 2. Malignitätsgrades lebten signifikant länger als Patienten mit neurogenen Sarkomen des 3. Malignitätsgrades ($p=0,0204$). Damit bestätigt sich die prognostische Relevanz dieses histopathologischen Faktors.

7. Die Kernflächen neurogener Sarkome sind signifikant größer als die der Neurinome. Ebenso lassen sich die Kernflächen der neurogenen Sarkome der einzelnen Malignitätsgrade anhand ihrer Größe signifikant voneinander unterscheiden ($p=0,02$). Dieser morphometrisch ermittelte Parameter hat damit einen prognostischen Aussagewert bei neurogenen Sarkomen.
8. Bei den übrigen morphometrischen Parameter (AgNOR-Zahl und -Fläche, mittlerer AgNOR-Gehalt, Nukleolenzahl und -fläche) war der Unterschied zwischen neurogenen Sarkomen und Neurinomen sowie innerhalb der neurogenen Sarkome nicht signifikant. Damit haben AgNOR's und die Nukleolenmorphometrie keine prognostische Bedeutung bei neurogenen Sarkomen.
9. Für Tumorlokalisierung, Operationsart und Metastasierung wurde eine prognostische Relevanz nachgewiesen ($0,0001 < p < 0,0035$). Dies unterstreicht den therapeutischen Wert einer radikalen chirurgischen Exzision mit Erhaltung eines tumorfreien Randes. Alter, Geschlecht, Tumorausdehnung und Staging hatten keinen Einfluß auf die Überlebenszeiten.
10. Bisher fehlen vergleichbare Studien zur prognostischen Relevanz morphometrisch ermittelter Daten unter vorher definierten Rahmenbedingungen. Daher kommt - auch aus finanziellen Gründen - einem sorgfältig betriebenen histopathologischen Grading an konventionell gefärbten Schnittpräparaten, zusammen mit der Auswertung klinischer Parameter, ein vorrangiger Stellenwert zu.

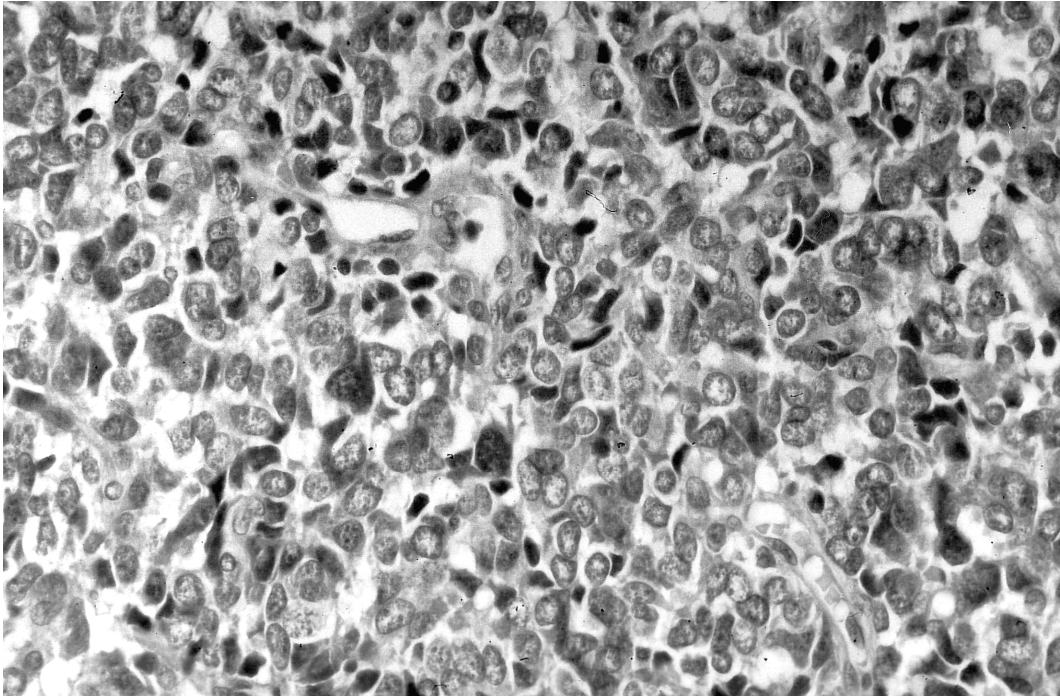


Abbildung 13: Neurogenes Sarkom G 2. 16jährige weibliche Patientin; retroperitoneale Lokalisation; Lokalrezidiv acht Monate nach Operation des Primärtumors; 23 Monate Überlebenszeit (HE, 1000 x)

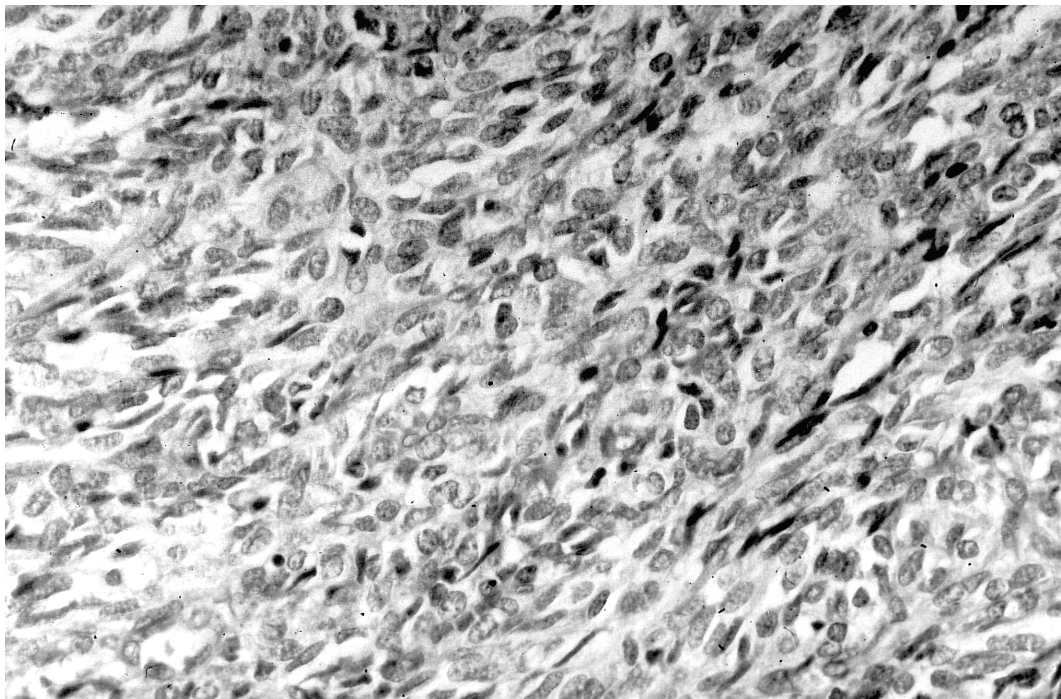


Abbildung 14: Undifferenziertes neurogenes Sarkom G 3. 22jährige weibliche Patientin; Lokalisation am Hals; kein Lokalrezidiv; 15 Monate Überlebenszeit (HE, 1000 x)

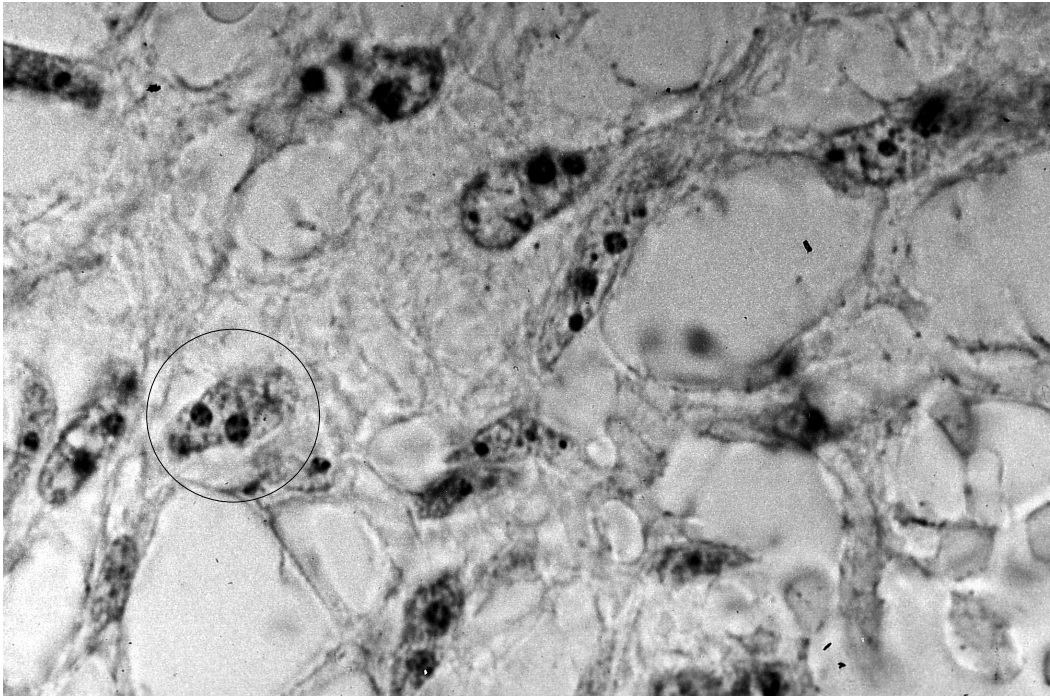


Abbildung 15: Silberfärbung eines neurogenen Sarkoms, 5000fache Vergrößerung

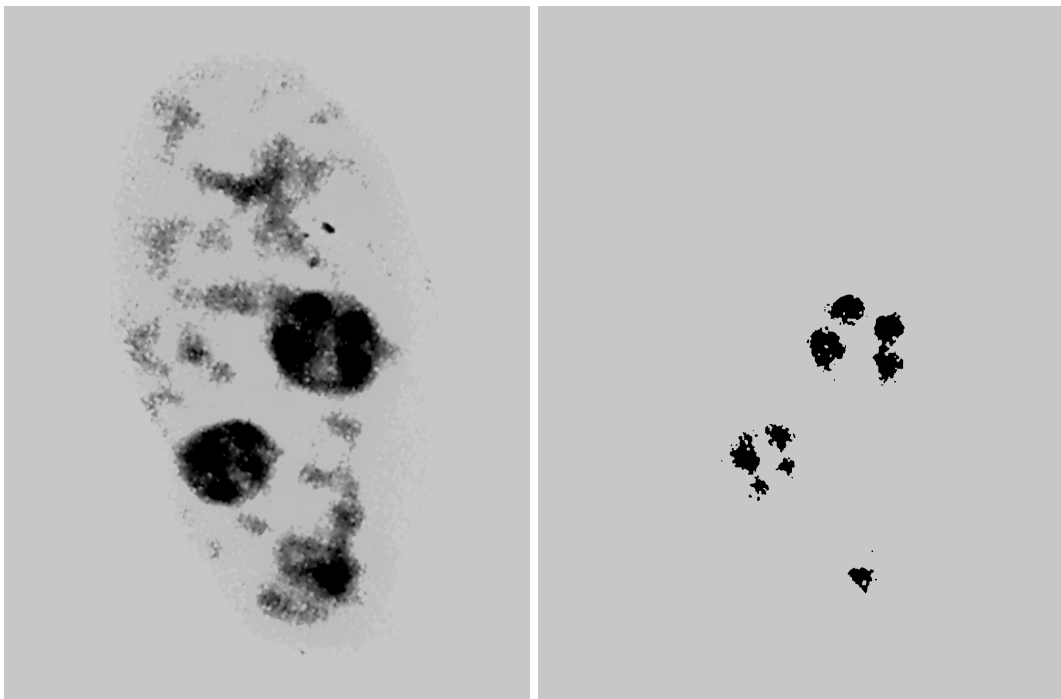


Abbildung 16: Vermessung einer silbergefärbten Zelle.

Links: Zustand nach manueller Segmentierung eines in Abbildung 15 dargestellten Zellkerns (ca. 18500 x)

Rechts: Durch Grauwertanalyse abgegrenzte AgNOR's

Lebenslauf

- 14.12.1968 in Halle(Saale) geboren als Tochter von Drogistin, Laborantin
Ingeborg Rasch, geb. Hankel und Drogist, Finanzökonom Gerhard Rasch
- 1975 bis 1985 Polytechnische Oberschule in Halle (Saale)
- 1985 bis 1987 Erweiterte Oberschule in Halle (Saale)
- 1987 Abitur
- 1987 bis 1988 Vorpraktikum für das Studium der Humanmedizin in der Klinik für
Orthopädie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
- 1988 bis 1994 Studium der Humanmedizin an der Martin-Luther-Universität
Halle-Wittenberg
- 1994 vorläufige Approbation als Ärztin
- 1994 bis 1995 Ärztin im Praktikum in der Median-Klinik Lobenstein im Fachgebiet
Orthopädie
- 1995 bis 1996 Ärztin im Praktikum im Städtischen Krankenhaus Martha-Maria
Halle-Dölau im Fachgebiet Anästhesiologie/Intensivmedizin
- 1996 Approbation als Ärztin
- 1996 bis 1997 Assistenzärztin für Innere Medizin im Carl-von-Basedow-Klinikum
Merseburg
- 1998 Geburt der Tochter Franziska Rasch und Erziehungsjahr
- 1999 Assistenzärztin in der Praxis für Allgemeinmedizin bei
Frau Dr. med. Rosemarie Kortmann in Roitzsch
- 1999 Hospitation in der Chirurgischen Praxis bei Herrn Dr. med. Manfred
Burkhardt, Poliklinik Johann Christian Reil in Halle (Saale)

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre hiermit an Eides Statt, daß alle Arbeiten zur vorliegenden Dissertation von mir selbständig durchgeführt und nur die hier angegebenen Hilfsmittel verwendet wurden.

Von mir wurde nur dieser Antrag zur Eröffnung eines Promotionsverfahrens eingereicht.

Halle(Saale), 08. November 1999

A handwritten signature in black ink, reading "Gabriele Paul". The signature is written in a cursive style with a long, sweeping tail on the final letter.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. F.-W. Rath für die Überlassung des Themas, für die Möglichkeit, diese Arbeit im Institut für Pathologie an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg durchzuführen und für die Unterstützung und Beratung bei der Fertigstellung der Arbeit.

Ebenso danke ich Herrn Prof. Dr. med. H.-J. Holzhausen, der mich in fachlichen Fragen umfangreich beraten und in der Durchführung der Arbeit, insbesondere bei der Reklassifizierung und Malignitätsgraduierung der neurogenen Sarkome, unterstützt hat.

Herrn Dr. med. habil. P. Würfl danke ich für die Beratung bei der Auswertung der stationären Behandlungsunterlagen.

Weiterhin danke ich Herrn Prof. Dr. rer. nat. J. Haerting für die Beratung bei der statistischen Auswertung und der graphischen Gestaltung der Meßergebnisse.

Mein Dank gilt ebenfalls den medizinisch-technischen Assistentinnen Frau Rudek und Frau Scheffel für ihre Hilfe bei der histologischen Aufbereitung des Tumormaterials.