

Aus dem
Institut für Pathologie der medizinischen Fakultät der Universität Rostock
Direktor: Prof. Dr. med. Andreas Erbersdobler

**Zytologische Diagnostik suspekter Pankreasläsionen: eine retrospektive
Analyse des Zeitraums 2005 - 2012 mit Re-Evaluation und DNA-
zytometrischer Zusatzuntersuchung**

Inauguraldissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)
der Universitätsmedizin Rostock

vorgelegt von
Ines Gebauer
geb. 13. Dezember 1983
aus Rostock

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Andreas Erbersdobler, Institut für Pathologie der
Universitätsmedizin Rostock
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Bettina Rau, ehemals Abteilung für Allgemeine-, Thorax-,
Gefäß- und Transplantationschirurgie der Universitätsmedizin Rostock
3. Gutachter: Prof. Dr. med. Nikolas Hendrik Stoecklein, Klinik für Allgem.-, Viszeral- und
Kinderchirurgie des Universitätsklinikums Düsseldorf

Tag der Einreichung 29.06.2015

Tag der Verteidigung: 07.11.2017

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	3
1.1 Epidemiologie und Ätiologie des Pankreaskarzinoms	3
1.2 Klinik des Pankreaskarzinoms	4
1.3 Diagnostik des Pankreaskarzinoms	5
1.3.1 Klinisch - radiologische Abklärung	5
1.3.2 Die Feinnadelaspirationsbiopsie	6
1.3.3 Histopathologische Diagnose: Einteilung des Pankreaskarzinoms nach WHO-Klassifikation, TNM-Stadien und histopathologisches Grading, Differentialdiagnosen	7
1.3.4 Histo / zytomorphologische Charakteristika verschiedener Pankreasraumforderungen	9
1.4 DNA-Zytometrie	13
1.5 Therapie des Pankreaskarzinoms	14
1.6 Prognose	15
2. Ziele der Arbeit	16
3. Material und Methoden	17
3.1 Zytologie	17
3.1.1 Materialgewinnung	17
3.1.2 Datenerhebung	18
3.1.3 Reevaluation	19
3.2 DNA-Zytometrie	20
3.2.1 Feulgen-DNA-Messung	20
3.2.2 Feulgen-Färbung	24
4. Resultate	25
4.1 Zytologie	25
4.2 Ergebnisse der Reevaluation	32
4.3 DNA-Zytometrie	33
4.4 Follow-up Daten	35
4.5 Auswertung der Histologien und Krebsregisterdaten	37

4.6 Besondere Kasuistiken	38
5. Diskussion	42
5.1 Methodendiskussion	42
5.1.1 Zytologische Probennahme	42
5.1.2 Validierung der Zytologie	44
5.1.3 Validierung der DNA-Zytometrie	44
5.2 Ergebnisdiskussion	45
5.2.1 Reevaluation der Zytologie	45
5.2.2 DNA-Zytometrie	49
5.3 Schlussfolgerung	51
6. Zusammenfassung	52
7. Literaturverzeichnis	54
8. Abkürzungsverzeichnis	60
9. Abbildungsverzeichnis	61
10. Tabellenverzeichnis	62
Thesen	63
Erklärung	64

1. Einleitung

Das Pankreas ist eine gemischt exokrine und endokrine Drüse, die sich quer im Retroperitoneum hinter dem Magen und transversalen Colon befindet. Zwischen der Wirbelsäule und dem Pankreas verlaufen die Aorta und die Vena cava inferior. Der Pankreaskopf ist vom duodenalen-C umgeben [18]. Diese spezielle anatomische Lage bedingt die schwierige Diagnostik des Pankreaskarzinoms. Zur Diagnostik des Pankreaskarzinoms werden primär bildgebende Verfahren wie Abdomensonografie und Computertomographie (CT) eingesetzt. Endoskopische Verfahren werden ebenfalls genutzt, teilweise zur Verifizierung der Diagnose, zur direkten Intervention bzw. zur Probengewinnung für eine zytologische Diagnostik. Die Zytologie dient der prä- und intraoperativen Pankreasdiagnostik, sowie der Abklärung suspekter Befunde in der Bildgebung [35;2;17;21;34;51;55;61;62].

1.1 Epidemiologie und Ätiologie des Pankreaskarzinoms

Epidemiologische Fakten zum Pankreaskarzinom zu erheben ist, aufgrund geographischer und zeitlicher Unterschiede hinsichtlich klinischer Diagnostik und medizinischer Versorgung weltweit, kompliziert. Eine Zunahme der Inzidenz, bedingt durch die Verbesserung der Diagnostik, wird seit den 1970er Jahren verzeichnet. Die höchsten Raten an Pankreaskarzinomen findet man unter den Nordamerikanern, speziell bei den Afroamerikanern, und den Menschen aus Ozeanien. Die wenigsten Fälle, vermutlich bedingt durch Unterdiagnostik, sind bei Menschen in Indien, Nord- und Zentralafrika sowie Süd-Ost-Asien zu finden. Weltweit sind 60% der Fälle in Industrieländern zu finden [16]. Im Jahr 2012 lag das Pankreaskarzinom mit rund 16700 Neuerkrankungen und fast ebenso vielen Verstorbenen auf dem vierten Platz der Krebstodesfälle in Deutschland [36]. Schätzungen nach werden 2016 mehr als 18000 Neuerkrankungen (Männer 9100, Frauen 9500) erwartet [36]. Die Inzidenz und Mortalität dieser Erkrankung liegen sehr nahe beieinander und ein langes Überleben stellt eine Ausnahme dar [40]. Das durchschnittliche 5-Jahres-Überleben beträgt für Männer 8% und Frauen 9%, damit hat es die geringste Überlebensrate aller Tumorerkrankungen. Das mittlere Erkrankungsalter beträgt für Männer 71 Jahre und für Frauen 75 Jahre [36].

Das Pankreaskarzinom ist zu 95% im exokrinen Anteil zu finden und entsteht aus prämaligen Vorstufen, der Pankreatischen intraepithelialen Neoplasie (PanIN). Der bekannteste und als sicher geltende Hauptrisikofaktor ist der Tabakkonsum sowie das Passivrauchen. Adipositas und / oder Bewegungsmangel erhöhen das Risiko [36;23;51;55;62;64]. In wie weit bestimmte Lebensweisen, Ernährungsgewohnheiten und Umweltfaktoren nachteilig sind, konnte nicht vollständig geklärt werden, übermäßiger Alkoholgenuss erhöht das Risiko. Patienten mit einem Diabetes mellitus Typ II oder chronischer / hereditärer Pankreatitis haben ebenfalls ein erhöhtes Erkrankungsrisiko [36;51;62]. Menschen mit sporadischem Pankreaskarzinom in der Familie und familiärem Pankreaskarzinom haben im Vergleich zur Normalbevölkerung ein erhöhtes Risiko, am Pankreaskarzinom zu erkranken [40;62;23]. Das Pankreaskarzinom des exokrinen Anteils befindet sich zu 60-70% im Pankreaskopf, 5-15% sind im Pankreaskörper und 10-15% im Pankreasschwanz zu finden. Die Mehrheit ist unifokal, es kann auch multifokal auftreten [16].

1.2 Klinik des Pankreaskarzinoms

Das Pankreaskarzinom entwickelt sich langsam, sodass keine spezifischen Frühsymptome wahr zu nehmen sind. Die Trias aus Rückenschmerzen, Ikterus und ungewolltem Gewichtsverlust ist sehr unspezifisch und kann bei vielen Erkrankungen auftreten [16;55;62;64]. Juckreiz kann gelegentlich vorhanden sein. Ein Diabetes mellitus Typ II findet sich bei 70% der Patienten und kann die Erstmanifestation des Tumors sein [16;2;21;51]. Späte Symptome ähneln denen der chronischen (chron.) Pankreatitis, mit Maldigestion und Schmerzen. Sie sind bedingt durch Metastasen oder Invasion in die Leber, das Duodenum oder das Peritoneum, mit möglicher Aszitesbildung. Selten können rezidivierende Thrombosen, eine Thrombophlebitis, Hypoglykämie oder Hyperkalzämie Hinweise auf ein Pankreaskarzinom sein [16]. Zum Zeitpunkt der Diagnose liegt meist ein über das Pankreasparenchym hinaus ausgebreiteter Tumor vor. Tumoren im Pankreaskopf breiten sich ins Duodenum, die Papilla Vateri, den intrapankreatischen Gallengang und über perineurale Invasion ins peripankreatische oder retroperitoneale Fettgewebe aus. Über Lymphgefäßeinbrüche gelangt der Tumor zu peripankreatischen Lymphknoten (LK). Als lokoregionäre Lymphknotenstationen sind die LKs entlang der A. mesenterica superior (A. mes. sup.), A. hepatica communis und im Ligamentum (Lig.) hepatoduodenale zu nennen.

Weiter entferntere Metastasen entlang der Aorta oder des Truncus coeliacus sind möglich. Körper- und Schwanztumoren breiten sich in die Milz, den Magen, die linke Niere, das Colon und das Peritoneum aus. Weitere lokoregionäre Lymphknotenmetastasen finden sich um den Pankreaskörper herum, den Schwanzlymphknotengruppen und in den LKs des Milzhilus. Über Lymphbahnen können die Lunge und Pleura erreicht werden. Eine hämatogene Aussaat in die Leber, die Lunge, die Knochen oder die Nieren sind möglich [16].

1.3 Diagnostik des Pankreaskarzinoms

1.3.1 Klinisch – radiologische Abklärung

Bei Verdacht auf ein Pankreaskarzinom werden verschiedene Untersuchungsmethoden angewendet. Als erste und nichtinvasive wird eine Abdomensonografie durchgeführt. Diese kann verdächtige Raumforderungen (RF) zeigen, die dann einer Abklärung bedürfen [16;2]. Das Multidetektor-CT ist die beste Bildgebung für das Pankreas und zeigt in 92% eine hypodense Masse und bei 4% eine diffuse Invasion. Frühzeichen im CT sind ein abrupter Gangabbruch und Dilatation des Pankreasganges. Das „double-duct sign“ (Dilatation des Gallen- und Pankreasganges) weist auf ein Pankreaskopfkarzinom hin. Eine weitere Methode ist der Endoskopische Ultraschall (EUS) mit möglicher Feinnadelaspirationsbiopsie (FNAB) zur Probengewinnung für eine zytologische Diagnostik. Bei der EUS zeigt sich das duktale Pankreaskarzinom als echoarme, nicht homogene Masse. Mit zunehmender Größe des Tumors wird seine Struktur heterogener mit zystischen und echoreichen Anteilen. Die Dilatation des Pankreas- und / oder Gallengangs, als indirektes Zeichen, sieht man bei Tumoren > 3 cm. Lymphknotenmetastasen zeigen sich in der EUS vergrößert und echoarm. Die Endoskopisch-retrograde-Cholangiopankreatikographie (ERCP) kann Gangverlegung, -verengung oder Obstruktion zeigen. Zusätzliche Methoden sind Magnet-Resonanz-Tomographie (MRT) oder die Bestimmung der Tumor-Marker CA 19-9 und Karzinoembryonales Antigen (CEA), welche wenig spezifisch sind und nicht dem Screening dienen. Die Positronen Emissions Tomographie (PET) hat diagnostischen Wert für Knochenmetastasen. Die Sensitivität und Spezifität der einzelnen Methoden reichen von 55-95%, durch Kombination dieser kann die Genauigkeit auf > 95% gesteigert werden. [16;2].

1.3.2 Die Feinnadelaspirationsbiopsie

Unter den verschiedenen Methoden der Zellmaterialgewinnung aus dem Pankreas sind die meist genutzten: Feinnadelaspirationsbiopsie, Sekretgewinnung mittels ERCP und Bürstenabstriche des Gangsystems [2;17].

Die Feinnadelaspirationsbiopsie ist ein diagnostisches Verfahren, bei dem unter Zuhilfenahme einer dünnen Hohlnadel (z.B. Menghini-Nadel) und folgender Aspiration Zellmaterial für eine zytologische Untersuchung gewonnen wird. Sie kann gezielt unter Ultraschall- oder CT- Kontrolle erfolgen [63]. Die FNAB wird für die prä- und intraoperative Diagnose von soliden oder zystischen RF im Pankreas eingesetzt und dient der Beurteilung der Malignität. Es gibt drei verschiedene Vorgehensweisen der FNAB: zum einen die perkutane transabdominale Aspiration, Ultraschall (US) oder CT gestützt. Die zweite Methode ist die EUS gestützte FNAB und als drittes Verfahren gibt es die direkte Visualisierung bzw. Palpation des Pankreas während einer Laparotomie. Bei den beiden erst genannten Methoden besteht aufgrund des Nadelweges durch verschiedenste Gewebe bzw. Organe das Risiko von Komplikationen. Diese sind bei der intraoperativ visuell gestützten FNAB selten, und bei der perkutanen Form nur in wenigen Fällen beobachtet worden. Zu den Komplikationen zählen: Infektionen, wie eine akute Pankreatitis, Implantationsmetastasen entlang des Nadelkanals, oder Fisteln innerhalb bzw. zur Umgebung des Pankreas [35;64]. Insgesamt sind ernste Komplikationen (0,05-0,5%) selten [18;58;27;41]. Welches Verfahren genutzt wird hängt vom Haus bzw. Untersucher ab. Die FNABs dienen nicht nur der zytologischen Diagnostik sondern können für Zusatzuntersuchungen genutzt werden [39;2;17;20].

Zusatzmethoden neben der Feinnadelaspirationsbiopsie:

Neben der Bestimmung der Tumor-Marker können folgende Methoden genutzt werden: Immunzytochemie zur Differenzierung zwischen duktalem und neuroendokrinen Tumor, die Molekularbiologie zur Darstellung von Genexpressionen, wie das Onkogen K-ras [23;51;62] sowie die DNA-Zytometrie [18]. Layfield et al. [39] und Kaur et al. [34] beschreiben eine Vielzahl weiterer Methoden, die die zytologische Diagnostik unterstützen können. Die Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) oder die Detektierung von bestimmten mikro-RNAs sind ebenfalls hilfreiche Methoden zur weiterführenden Diagnostik bei Pankreasraumforderungen [8;17;46;34;].

1.3.3 Histopathologische Diagnose: Einteilung des Pankreaskarzinoms nach WHO-Klassifikation, TNM-Stadien und histopathologisches Grading, Differentialdiagnosen

Die World Health Organization (WHO) teilt die Pankreastumoren nach histologischen Kriterien ein. Fünf Kategorien werden beschrieben: epitheliale Tumoren, reife Teratome, mesenchymale Tumoren, Lymphome und Metastasen. Die bedeutendste Entität ist die der epithelialen Tumoren mit benignen, prämaligen und malignen Tumoren. Die wichtigsten Entitäten sind:

- Benigne: seröses Zystadenom und Azinuszellzystadenom
- Prämaligne Läsionen: Intraduktale papilläre-muzinöse Neoplasie (IPMN) mit geringgradiger / hochgradiger Dysplasie und Muzinös-zystische Neoplasie mit geringgradiger / hochgradiger Dysplasie
- Maligne: Duktales Adenokarzinom und Varianten, Azinuszellkarzinom und neuroendokrine Neoplasie bzw. Karzinom.

Neben diesen Tumoren gibt es noch eine Vielzahl weiterer seltener Entitäten [16].

Die Stadieneinteilung basiert auf der TNM-Klassifikation und wird in die Stadien 0 bis IV eingeteilt. Die Faktoren Tumorausbreitung (T0-4), Lymphknotenbefall (N0-1) und das Vorhandensein von Fernmetastasen (M0-1) dienen dabei der Zuordnung in das Stadium [16]. Die Tabellen 1 und 2 zeigen eine Übersicht.

TNM-Klassifikation des Pankreaskarzinoms (8th Edition 2016)	
TX	Primärtumor kann nicht beurteilt werden
T0	Kein Anhalt für Primärtumor
Tis	Carcinoma in situ, inklusive PanIN-3
T1	Tumor begrenzt auf Pankreas ≤ 2 cm
T1 a	Tumor 0,5 cm oder kleiner
T1 b	Tumor größer 0,5 cm und kleiner 1 cm
T1 c	Tumor größer 1 cm und kleiner 2 cm
T2	Tumor begrenzt auf das Pankreas > 2 cm, aber kleiner 4 cm
T3	Tumor größer 4 cm, Infiltration ins peripankreatische Gewebe, Gallengang, Duodenum
T4	Infiltration in Truncus coeliacus, A. mes. sup. und/oder A. hepatica communis
NX	LK können nicht beurteilt werden
N0	Keine regionalen LK-Metastasen
N1	Metastasen in 1 bis 3 LK
N2	Metastasen in 4 oder mehr LK
M0	Keine Fernmetastasen
M1	Fernmetastasen vorhanden

Tabelle 1: TNM-Klassifikation des Pankreaskarzinoms

[69]

Stadieneinteilung des Pankreaskarzinoms nach UICC				
Stadium 0	Tis	N0	M0	Lokalisierter Tumor, operabel
Stadium IA	T1	N0	M0	
Stadium IB	T2	N0	M0	
Stadium IIA	T3	N0	M0	Infiltration in die Nachbarorgane
Stadium IIB	T1 - 3	N1	M0	Regionale LK-Metastasen, z.T. operabel aber nicht kurativ
Stadium III	T1 - 3	N2	M0	inoperabel
	T4	Alle N	M0	
Stadium IV	Alle T	Alle N	M1	Fernmetastasen

Tabelle 2 : Stadieneinteilung des Pankreaskarzinoms nach UICC

[69]

1.3.4 Histo / zytomorphologische Charakteristika verschiedener Pankreasraumforderungen

Die verschiedenen Läsionstypen im Pankreas lassen sich mit den genannten bildgebenden Verfahren nur bedingt voneinander unterscheiden, sodass eine sicher durchgeführte und morphologisch ausgewertete Histologie oder Zytologie bei der Diagnose dieser Läsionen eine wichtige Rolle spielt [18;2;21;51;55].

Histologische Charakteristika:

Raumforderung	Histologie
Chron. Pankreatitis	<ul style="list-style-type: none"> • Gewebsfibrose; Azinusatrophie; duktale Hyperplasie • entzündliches Infiltrat im Stroma • Fettnekrosen mit Kalziumsteinen in Pankreasperipherie
Pseudozyste	<ul style="list-style-type: none"> • solitäre, unilokuläre, mit Flüssigkeit gefüllte RF • Zystenwand ohne Epithelauskleidung • destruierendes Wachstum
IPMN	<ul style="list-style-type: none"> • vom Pankreasgang ausgehende papilläre epitheliale Proliferation • zystische Erweiterung der Gänge; Obstruktionen möglich • benigne, Borderline & maligne nichtinvasive / invasive werden unterschieden
PanIN^b	<ul style="list-style-type: none"> • Grad 1-3 werden unterschieden • meist im Pankreaskopf gelegen • papilläre / flache, nichtinvasive, epitheliale Neoplasien < 5 mm begrenzt auf das Pankreas • zentrolobuläre Atrophien möglich
Duktales Adenokarzinom gut differenziert	<ul style="list-style-type: none"> • neoplastische Gänge • irreguläre Form und Größe der Zellen mit Kernveränderungen
Duktales Adenokarzinom mäßig differenziert	<ul style="list-style-type: none"> • neoplastische Drüsen mit tubulären / azinären Strukturen • perineurale Invasion • Mitosen und Nekrosen möglich
Duktales Adenokarzinom wenig differenziert	<ul style="list-style-type: none"> • deutliche Kernveränderungen • pleomorphe, abgebrochene Gänge

Tabelle 3 : Histologische Charakteristika
[35]; ^b nach [16]

Chronische Pankreatitis:

Sie ist durch eine Fibrose, Azinusatrophie und duktale Hyperplasie gekennzeichnet. Das Stroma zeigt ein entzündliches Infiltrat mit Lymphozyten und Plasmazellen. Die Gänge sind teils dilatiert, ungeordnet und eine epitheliale Hyperplasie ist möglich. Im Endstadium besteht eine diffuse Fibrose, muzinöse Metaplasie und Fettgewebsnekrosen mit Kalziumgranulat im peripheren Pankreasgewebe (Tabelle 3).

Die Ausstriche sind oft zellarm, mit einem polymorphen Bild mit unterschiedlich großen dukталen Zellen, teils Azinuszellen, Makrophagen und anderen Entzündungszellen. Der Hintergrund ist schmutzig mit Detritus, Granulationsgewebe, Kalzifikation und Fibrose. Die Zellen können hyperplastisch / atypisch sein, Kernvergrößerungen und große Nukleoli sind möglich [35;6;38](Tabelle 4).

Pseudozyste:

Sie sind solitäre, unilokuläre und mit Flüssigkeit gefüllte RF. Die Zystenwand zeigt eine reaktive Fibrose und ist nicht mit Epithel ausgekleidet. Sie sind meist klein, können aber auch verdrängend wachsen, sodass die Enzymsekretion beeinträchtigt wird (Tabelle 3).

Ein aus der verschiedenfarbigen (klar, trüb, blutig oder braun) Zystenflüssigkeit erstelltes Sediment enthält eine Vielzahl von Zellen. Neben Makrophagen, Lymphozyten und nekrotischen Zellresten können auch atypische, spindelige Fibroblasten mit vergrößerten Kernen und prominenten Nukleoli zu sehen sein [35;6](Tabelle 4).

IPMN:

Die bei Männern häufiger zu findende IPMN geht vom Pankreasgang aus und führt zu dessen zystischer Erweiterung. Gekennzeichnet ist sie durch eine papilläre, epitheliale Proliferation, die im restlichen Gangsystem zu einer Obstruktion führen kann (Tabelle 3). Die IPMN wird in benigne, borderline und maligne nichtinvasive und invasive Läsionen eingeteilt. Die nichtinvasive IPMN breitet sich meist entlang der Gänge aus.

Die Zellen im Ausstrich sind groß, hochprismatisch und mit Muzin gefüllt. Eine Muzinhypersekretion kann zu sehen sein [35]. Die IPMN wird in die M-IPMN (Main-duct

IPMN) mit Dilatation des Hauptganges und Epithel vom intestinalen Typ sowie in die BD-IPMN (branch-duct IPMN) mit Epithel vom gastralen Typ und ohne Hauptgangdilatation unterteilt [38;49](Tabelle 4).

PanIN:

Diese Vorläuferläsion ist vermehrt im höheren Alter und im Pankreaskopf zu finden. Sie wird in 3 Grade eingeteilt: minimale, mäßige und ausgeprägte Dysplasie. Sie ist eine mikroskopisch papilläre (PanIN-1B) oder flache (PanIN-1A) nichtinvasive epitheliale Neoplasie <5 mm und auf das Pankreas begrenzt. Atrophien im zentrolobulären Bereich sind möglich. Die Zellen sind hochprismatisch bis kubisch und enthalten Muzin. Eine PanIN-3 von einem invasiven Pankreaskarzinom zytologisch zu unterscheiden ist schwierig, da beide die gleichen Zelltypen haben und meist nebeneinander vorkommen bzw. die PanIN im Karzinom zu finden ist [16](Tabelle 3&4).

Duktales Adenokarzinom:

Das duktales Adenokarzinom wird in gut-, mäßig- und gering-differenziert eingeteilt. Die Gänge sind neoplastisch, das Stroma ist variabel konfiguriert und die Zellen weisen irreguläre Größen und Formen auf. Das gut-differenzierte Karzinom ist epithelreich, die Zellen sind hochprismatisch bis kubisch und liegen in großen 3-D-Clustern oder im normalen Bienenwabenmuster vor. Einzelzellen sind selten. Die Zellkerne sind uniform, sphärisch / oval, können die 2fache Größe normaler Kerne haben, besitzen sichtbare Nukleoli und Überlappungen sind möglich. Kernmembranunregelmäßigkeiten sind selten zu finden, das Chromatin ist nur geringfügig verklumpt und vereinzelt zeigen sich Mitosefiguren. Beim mäßig-differenzierten Karzinom sind die gesamten Zellen mit Kernen größer und liegen in 3-D-Clustern. Es besteht eine hohe Kern-Plasma-Relation. Die Kerne haben ihre Polarität verloren und im Zytoplasma finden sich Vakuolen. Mitosen und Nekrosen sind zu finden. Die Kerne haben prominente Nukleoli und überlappen sich (sogenanntes Crowding). Beim wenig-differenzierten Karzinom erscheinen die Drüsen und Gänge pleomorph, teils abgebrochen oder blind endend. Die Zellen liegen in lose strukturierten Haufen oder als Einzelzellen vor, können vielkernig sein und haben unterschiedliche Größen mit teilweise anaplastischen Kernen [35;6](Tabelle 3&4).

Zytologische Charakteristika:

Läsionstyp	Beispiel	Zellform	Zellkern	Zusätzliche Merkmale
Entzündung	Chron. Pankreatitis	variable Größe & Konfiguration duktaler Zellen	Kernvergrößerung und große Nukleoli möglich	Entzündung deutlich → Makrophagen & andere Entzündungszellen, Fragmente, Detritus, Fibrose u.ä.
Nicht neoplastisch, zystisch	Pseudozyste	atypische, spindelförmige Fibroblasten	vergrößerte; prominente Nukleoli	Sediment oft mit Makrophagen, Lymphozyten und nekrotischen Zellresten
neoplastisch	IPMN	große, hochprismatische Zellen		variable Muzinhypersekretion
Vorläuferläsion	PanIN^b	hochprismatisch bis kubisch		Muzinproduktion
Karzinom	Duktales Adenokarzinom gut differenziert	hochprismatisch / kubisch; in 3-D-Cluster gelegen	uniform; 2 x normale Kerngröße; sphärisch/oval	geringe Chromatinverklumpung; Kernüberlappungen & Membranunregelmäßigkeiten möglich; Mitosefiguren
	Duktales Adenokarzinom mäßig differenziert	glanduläre /azinäre Differenzierung; 3-D-Cluster	vergrößerte, prominente Nukleoli; Crowding & Überlappung	hohe Kern-Plasma-Relation; Zellplasma mit Vakuolen
	Duktales Adenokarzinom wenig differenziert	lose strukturierte Zellhaufen	pleomorph; vielkernig	vielkernige Riesenzellen möglich

Tabelle 4 : Zytologische Charakteristika
[35]; ^b nach [16]

1.4 DNA-Zytometrie

Die DNA-Zytometrie ist ein Verfahren zur quantitativer Bestimmung von Zellkern-DNA. Sie kann als Einzelzell-Zytophotometrie oder als automatisierte Durchflusszytometrie durchgeführt werden [63;54].

Eine chromosomale Aneuploidie in vielen Tumoren korreliert mit der Patientenprognose und kann als Marker für Neoplasien in der diagnostischen Evaluation von Dysplasien / Borderline Läsionen genutzt werden. Am häufigsten wird die DNA-Zytometrie bei zervikale Dysplasien, Myelodysplasien und Borderline Tumoren des Ovars angewendet. Bei Tumoren des Weichgewebes, Knochentumoren und Urinausstrichen findet sie ebenfalls Anwendung. Am besten geeignet sind Zellausstriche und Abtupf- oder Sedimentationspräparate. Archiviertes Gewebe kann nach Vorbehandlung verwendet werden und unter Einschränkungen auch bereits bestehende Gewebeschnitte. Zur DNA-Markierung wird die Feulgen-Färbung eingesetzt, welche reproduzierbare quantitative Ergebnisse liefert und an vorher gefärbten bzw. fixierten Materialien verwendet werden kann [13-15;52;54;66]. Die Aneuploidie als Marker für neoplastisch transformierte Zellen, stellt eine numerische Chromosomenaberration dar. Ihr Nachweis bedeutet die eindeutige Neoplasiediagnose [13-15;52;54]. Ein Fehlen schließt diese nicht aus. Zwei Interpretationsmethoden der Messungen werden verwendet: Zum einen die „Stammlinien-Interpretation“, mit der eine geringe chromosomale Aneuploidie in großen Zellzahlen nachgewiesen werden kann. Es werden hunderte Tumorzellen im Vergleich zu Referenzzellen gemessen. Stellt sich dabei ein statistisch signifikanter Unterschied zum Normalgewebe heraus, kann eine Aneuploidie angenommen werden. Für kleine Zellzahlen ist diese Methode ungeeignet. Die zweite Interpretationsmethode ist die „Einzelzell-Interpretation“. Der DNA-Gehalt bis 4c (G2 / M-Phase-Zellen) gilt als normal und Ploidien >5c gelten als abnormal. Der Nachweis größerer chromosomaler Aneuploidien in wenigen Zellen ist damit möglich [13,52;54]. Die Kombination beider Interpretationen ist sinnvoll. Die DNA-Zytometrie bietet damit eine Unterstützung der zytologischen Malignitäts-Diagnose (DNA-Gehalt >5c). Als prognostische Variablen für die Routineanwendung wurden von der „Task Force on Standardization of Quantitative Methods in Diagnostic Pathology“ die DNA-Ploidie der Tumorstammlinie und die Variabilität der DNA-Werte um die normalen 2c-Werte (2c Deviation Index) vorgeschlagen [13-15].

1.5 Therapie des Pankreaskarzinoms

Die Resektabilität ist das wichtigste Kriterium für die Therapie des Pankreaskarzinoms, da nur sie eine Heilung ermöglicht [40;21;51;55]. Zum Diagnosezeitpunkt haben nur 10-20% der Patienten einen resektablen Tumor [35;64]. Viele der Patienten sind in einem hohen Alter und haben Komorbiditäten [40;53], die bei der Entscheidung für eine Operation mit bedacht werden müssen. Eine En-bloc-Resektion mit makroskopischer und mikroskopischer Resektion im Gesunden (R0) ist trotz Nachbarorganinfiltration möglich. Postoperative (Lokal)rezidive sind nach Weger et al. [65] bei 90% der Patienten, bedingt durch intraoperativ nicht erkannte Mikrometastasen, festzustellen. Das duktale Pankreaskopfkarzinom wird mittels partieller Duodenopankreatektomie mit / ohne Pyloruserhalt oder der klassischen Whipple-Operation (magenresezierende, partielle Duodenopankreatektomie mit kompletter und zirkulärer LK-Dissektion des Lig. hepatoduodenale, A. hepatica communis und Pfortader sowie rechts entlang der A. und V. mes. sup.) operiert [40;64;21;51;55;61;62]. Bei Linksausdehnung des Tumors erfolgt eine totale Pankreatektomie und bei Infiltration von Nachbarorganen wird erweiternd operiert. Die Pankreaslinksresektion wird bei einem Schwanztumor eingesetzt und bei einem Korpustumor erfolgt eine subtotale Pankreaslinksresektion, ggf. mit totaler Duodenopankreatektomie und Lymphadenektomie. Eine radikale Lymphadenektomie bietet keinen Vorteil bezüglich des Langzeitüberlebens. Fernmetastasen sind meist eine Kontraindikation für eine Operation. Werden intraoperativ erst Metastasen festgestellt, wird die Operation oft ohne Resektion beendet. Nach R0-Resektion im UICC-Stadium I-III erfolgt eine adjuvante Chemotherapie über 6 Monate mit Gemcitabin oder 5-Fluoruracil (5-FU) / Folinsäure. Bei R1-Resektion sollte eine additive Chemotherapie erfolgen. Das metastasierte bzw. lokal fortgeschrittene Pankreaskarzinom wird palliativ therapiert. Zuvor ist eine zytologisch und histologisch gesicherte Diagnose wünschenswert [40;2]. In der Palliativtherapie wird eine Chemotherapie mit Gemcitabin ggf. Kombinationstherapien angewendet. Die Chemotherapie bietet eine bessere Lebensqualität und längeres Überleben als bei einer rein supportiven Therapie. Eine Strahlentherapie wird nur bei symptomatischen Metastasen (z.B. Knochenmetastasen) eingesetzt. Die supportive Therapie beinhaltet eine suffiziente Schmerztherapie nach WHO-Stufenschema und Substitution von Pankreasenzymen und Insulin bei exo- und / oder endokriner Pankreasinsuffizienz. Weiterhin dient sie der Erhaltung bzw. Verbesserung der Lebensqualität durch Stenteinlage oder perkutaner transhepatischer Cholangiodrainage

(PTCD) bei tumorbedingter Cholestase bzw. der Behandlung von Stenosen des oberen Gastrointestinaltraktes durch Medikamente, Stents oder Operationen [40;2;21;38;51;55;62;64].

1.6 Prognose

Die Prognose des Pankreaskarzinoms ist schlecht, viele Patienten versterben in den ersten zwei Jahren nach Diagnosestellung. Der prognostisch wichtigste Faktor ist die Resektabilität [16]. Ohne Behandlung leben die Patienten durchschnittlich 3-5 Monate [16;64] und mit chirurgischer Therapie ca. 10-20 Monate, aber nur 10-20% haben zum Zeitpunkt der Diagnose einen resektablen Tumor [16;21;51;64]. Körper- und Schwanztumoren sind zum Diagnosezeitpunkt meist weiter fortgeschritten als die des Kopfes. Das durchschnittliche 5-Jahres-Überleben beträgt 3-5% (8% bzw. 9% in Deutschland [36]) und steigt nach Resektion auf 15-25%. Trotz erfolgreicher Resektion entstehen bei 70-90% der Patienten in den folgenden zwei Jahren Rezidive. Diese sind in regionalen LK, der Leber sowie dem Peritoneum zu finden. Patienten mit einem auf das Pankreas begrenzten, < 3 cm messenden, Tumor sowie nach R0 Resektion überleben länger. Prognostisch ungünstig sind Ausbreitung ins peripankreatische oder retroperitoneale Gewebe sowie das Vorhandensein von LK-Metastasen zum Diagnosezeitpunkt. Für das postoperative Überleben ist die Zahl der befallenen LK entscheidend. Histologische Faktoren sind prognostisch weniger bedeutsam, aber für eine Aussage zum postoperativen Überleben sind Grading, Mitoseindex und zelluläre Atypien hilfreich. Außerdem kann man Gefäßinvasion und perineurale Infiltration als Indikator nutzen [16].

2. Ziele der Arbeit

Das Pankreaskarzinom gehört zu den häufigen Karzinomen. Die oben genannten Symptome sind meist unspezifisch und treten zu einem fortgeschrittenen Zeitpunkt auf. Die Radiologische Diagnostik zeigt oft Raumforderungen, die einer Abklärung bedürfen. Diese kann durch eine Feinnadelpunktion mit zytologischer Diagnostik erfolgen, welche weniger invasiv als die histologische Diagnostik ist.

- Ziel dieser Arbeit war die retrospektive Reevaluation der Pankreaszytologiediagnostik im Institut für Pathologie der Universität Rostock an Hand der von Robins et al. [50] etablierten Kriterien.
- Zusätzlich sollte die Frage geprüft werden, ob die additive Verwendung der DNA-Zytometrie einen Zugewinn an diagnostischer Sicherheit bringt und eine routinemäßige Anwendung der DNA-Zytometrie möglich und sinnvoll ist.

3. Material und Methoden

3.1 Zytologie

3.1.1 Materialgewinnung

Probengewinnung in der Klinik für Gastroenterologie:

Die aus dem Befundarchiv des Instituts für Pathologie stammenden Proben wurden in der Klinik für Gastroenterologie der Universität Rostock während der Durchführung einer Endosonografie gewonnen. Diese Untersuchung dient der Diagnostik von gastrointestinalen oder auch mediastinalen Erkrankungen, kann therapeutisch z.B. zur Stenteinlage oder Probengewinnung und auch zum Staging von Tumorerkrankungen genutzt werden. Die Untersuchung kann, wenn es erforderlich ist, wiederholt werden.

Ablauf der Untersuchung in der Endoskopie der Abteilung für Gastroenterologie der Klinik für Innere Medizin der Universitätsmedizin Rostock:

Die Patienten wurden aufgefordert, fünf Tage vor der Untersuchung die Antikoagulation mit Acetylsalicylsäure, Clopidogrel o.ä. abzusetzen bzw. die Spritze mit niedermolekularem Heparin am Morgen der Untersuchung nicht zu spritzen. Weiterhin ist eine Nahrungskarenz von 12 Stunden vor der Untersuchung einzuhalten. Zur Untersuchung wird der Oropharynx mit einem 1%igen Xylokainspray betäubt und als allgemeine Sedation wird Midazolam und Propofol eingesetzt. Während der gesamten Untersuchung erfolgt eine EKG- und Blutdruck-Kontrolle. Die FNAB wird über das Endoskop mittels einer 19- oder 22-Gauge-Aspirationsnadel durchgeführt. Für die Punktion von soliden Strukturen wird überwiegend die 22-Gauge-Aspirationsnadel der Firma Cook (Echo-1-22) verwendet. Bei der Punktion liquider bzw. zystischer Strukturen wird hingegen die 19-Gauge-Aspirationsnadel (Cook, Echo-19) genutzt. In seltenen Fällen, wenn es um den Versuch der Histologiegewinnung geht, z.B. bei auffälligen Lymphknoten, werden die 19-Gauge-Aspirationsnadel (Cook, Echo-19) oder eine Trucut-Nadel (Cook, Echo-HD-22C) verwendet. Die Nadel wird durch die Darmwand in die ausgemachte Zielstruktur gestochen. Dann wird der innerhalb der Nadel gelegene Mandrin gezogen und die manuelle Saugung (eine spezielle Spritze mit zwei Stufen, 5 und 10 ml, die im Nadel-Set enthalten ist) aufgesetzt. Innerhalb der Läsion wird die Nadel zur Materialaspiration vor und zurück bewegt. Nach erfolgter Aspiration wird die Saugung abgenommen und das Nadelsystem durch den Biopsiekanal zurückgezogen. Das Nadelsystem wird mit

Natriumchlorid in ein Probenröhrchen ausgespült. Dann wird unter Licht das Röhrchen geschüttelt zur Sicherstellung der Materialgewinnung. Zur Steigerung der Materialausbeute wird die Prozedur meistens 2-3 mal wiederholt. Die Probenröhrchen werden binnen 30 Minuten in das Institut für Pathologie der Universität Rostock zur Aufarbeitung, Färbung nach Papanicolaou und Untersuchung geschickt.

3.1.2 Datenerhebung

Es wurden alle zytologischen Untersuchungen von Pankreasraumforderungen aus dem Zeitraum Januar 2005 bis August 2012 für diese Arbeit zusammengetragen. Als Grundlage der Datenerhebung diente das Computersystem "Pathix", in dem alle Untersuchungen des pathologischen Institutes der Universität Rostock bis 2012 elektronisch gespeichert wurden. Das Programm enthält Daten zu den Patienten, Informationen der Einsendescheine aus den Kliniken und die Diagnosen der Pathologen. Anhand der Suchparametern "Zytologisches Pankreasmaterial" und dem Zeitraum Januar 2005 bis August 2012 wurde das Befundarchiv durchsucht. Die gefundenen Fälle wurden in die Datenbank für diese Arbeit, in Form einer Excel-Tabelle, aufgenommen. Mit Hilfe des Computersystems "Pathix" konnte das Vorhandensein einer histologischen Einsendung zu einer zytologischen Einsendung erfragt werden. War dem so, wurden diese Daten ebenfalls mit in die Datenbank eingefügt. In die Tabelle flossen folgende Informationen ein: Alter und Geschlecht des Patienten, klinische Angaben, Indikation, Material, zytologischer Befund, Gruppeneinteilung nach WHO [16], Malignität, Materialart, histologischer Befund und Gruppeneinteilung nach WHO [16]. So ergab sich eine Rohdatenliste mit der Primärdiagnose. Diese wurde für die Entscheidung genutzt, welche Fälle für die Reevaluation aus dem Archiv des Institutes für Pathologie herausgesucht werden sollten. Eine von der Rohdatenliste abgeleitete Liste, die Patienten mit der Primärdiagnose "maligne" bzw. "suspekt" enthielt, wurde an das Klinische Krebsregister Rostock (Universitätsmedizin Rostock) geschickt, um mögliche Follow-up Daten über diese Patienten zu erhalten. Nach Erhalt der angefragten Daten wurden diese anonymisiert in die Datenbank dieser Arbeit mitaufgenommen.

3.1.3 Reevaluation

Als Kriterien der Reevaluation wurden die von Robins et al. 1995 [50] erstellten Kriterien zur Diagnose von Pankreaskarzinom aus FNABs verwendet. Das Vorhandensein von Makronukleolen war ein weiteres Auswertekriterium [42;19].

Robins unterschied Haupt- und Nebenkriterien. Hauptkriterien sind:

- Crowding
- Kernmembranirregularität
- Chromatinverklumpung

Nebenkriterien sind:

- Einzelzellen
- Kernvergrößerung
- Nekrosen
- Mitosen

Die ausgewählten Fälle wurden nach Heraussuchen zusammen mit einer auf zytologische Diagnostik spezialisierten Fachärztin für Pathologie erneut mikroskopiert. Die Ärztin hatte keine Kenntnis über die Primärdiagnose und hat anhand der genannten Kriterien die Zytologien neu bewertet. Die Bewertung wurde verschlüsselt mit "Kriterium vorhanden" entspricht 1, "nicht vorhanden" mit 0 und bei den Kriterien Crowding, Chromatinverklumpung und Kernvergrößerung zusätzlich mit 2 für "starkes Auftreten". Diese Ergebnisse wurden in die oben beschriebene Datenbank aufgenommen.

Während des Mikroskopieren wurden jene Fälle ausgewählt, die mittels DNA-Zytometrie untersucht werden sollten. Die Ergebnisse dieser Messungen wurden der Datenbank hinzugefügt.

3.2 DNA-Zytometrie

3.2.1 Feulgen-DNA-Messung

Die zytologischen Zellproben wurden hinsichtlich des Vorhandenseins aneuploider Zellen / Zell-Linien analysiert und der jeweilige DNA-Index wurde berechnet. Als Methode wurde die quantitative Analyse des DNA-Gehaltes pro Einzelzelle / -kern mittels Lichtabsorption nach Feulgen-Färbung im grünen Spektralbereich um 550 nm genutzt [23;13;53;67]. Die zwei Zellparameter "Kernfläche" und "integrierte optische Dichte" (IOD) (proportional zur DNA-Menge) wurden bildanalytisch gemessen. Das verwendete System ist das AHRENS-ICM-Bildanalyse-System. Mit ihm erfolgte eine photometrisch-mikroskopische Partikelanalyse (Partikel = Zellkern), sowie eine bildliche Darstellung und Speicherung jedes einzelnen Partikels. Die Messergebnisse hoher Partikelzahlen werden als Histogramm oder Korrelationsdiagramm, IOD versus Fläche, dargestellt. Eine Klassifizierung der Messparameter und Trennung unterschiedlicher Populationen ist bei Messgenauigkeit möglich. Weiterhin wird das System als quantitative Unterstützung der pathologisch-zytologischen Diagnostik verstanden. Beurteilungsgrundlage sind die Einzelzellkerne der zytologischen Präparate [22;29;30].

Messverfahren:

Die Einzelkernmessung erfolgt mit Durchlicht bei $550 \text{ nm} \pm 15 \text{ nm}$. Das gesamte Kamerabildfeld wird mit einer Auflösung von 736x560 Bildpunkten gespeichert. Über einen Schwellenwert relativ zum Umgebungslicht erfolgt eine automatische Partikeldetektion. Geeignete große Partikel werden mit Hilfe von verschiedenen Bildbearbeitungs-Operationen (Erosion, Dilatation) erkannt. Für die Extinktionsbestimmung eines Partikels wird der lokale Absorptionswert in den entsprechenden Extinktionswert umgerechnet und bezüglich Glare-(Streulicht-)Anteilen korrigiert. Die Gesamt-Extinktion eines Partikels (entspricht der IOD) ergibt sich aus der Summe aller zugehörigen Bildpunkte. Diese IOD wird später im Vergleich mit Normalzellen-IOD auf die DNA-Skala umgerechnet. Gleichzeitig erfolgt die Messung der Partikel-Fläche für alle Kerne. Diese beiden Zellparameter ermöglichen dann eine Zuordnung der ausgemessenen Kerne zu entsprechenden Zellpopulationen, welche im Histogramm und der Punktwolke erscheinen [22;29;30].

Messablauf:

Das Analysepräparat wird Bildfeld für Bildfeld gemessen, wobei die Zellkerne interaktiv ausgewählt werden. Dies kann durch das Okular oder die Kamera erfolgen, entscheidend für die Messung ist aber einzig das Kamerabild. Es bestehen zwei Strategien, um die Auswahl zu treffen: Zum einen nach zytomorphologischen Kriterien und zum anderen nach einem statistisch bestimmten Raster. Der Benutzer wählt aus der Gesamtzahl der gemessenen Partikel jene Zellkerne interaktiv am Bildschirm aus, die für die Auswertung genutzt werden sollen. Dies betrifft die Analysezellen als auch die Referenzzellen, die für die Festlegung der DNA-Skala benötigt werden. Es erfolgt somit ein Ausschluss von kaputten Kernen, Überlagerungen, Farbpartikeln und Aggregaten mehrerer Kerne. Die zytomorphologische Auswahl wird vom Benutzer und nicht vom Programm vorgenommen [22;12;29;30;56;57].

Qualitätskontrolle:

Vom System aus erfolgt während des gesamten Messablaufs eine Kontrolle, bezüglich der Farbintensität, der Homogenität des Präparates und der Variation der Messwerte durch Fixierungs-, Färbungs- und Systemeigenschaften. Wichtig ist das Einhalten vorgegebener Grenzwerte.

Das Programm nimmt eine Auswertung vor. Diese muss vom Benutzer überprüft bzw. abgeändert werden. Die Interpretation der Ergebnisse, entsprechend des Anwendungsbereiches bzw. des verwendeten Materials, obliegt dem Anwender [22;29;30].

Der DNA-Zytometrie Arbeitsplatz im Institutes für Pathologie der Universitätsmedizin Rostock

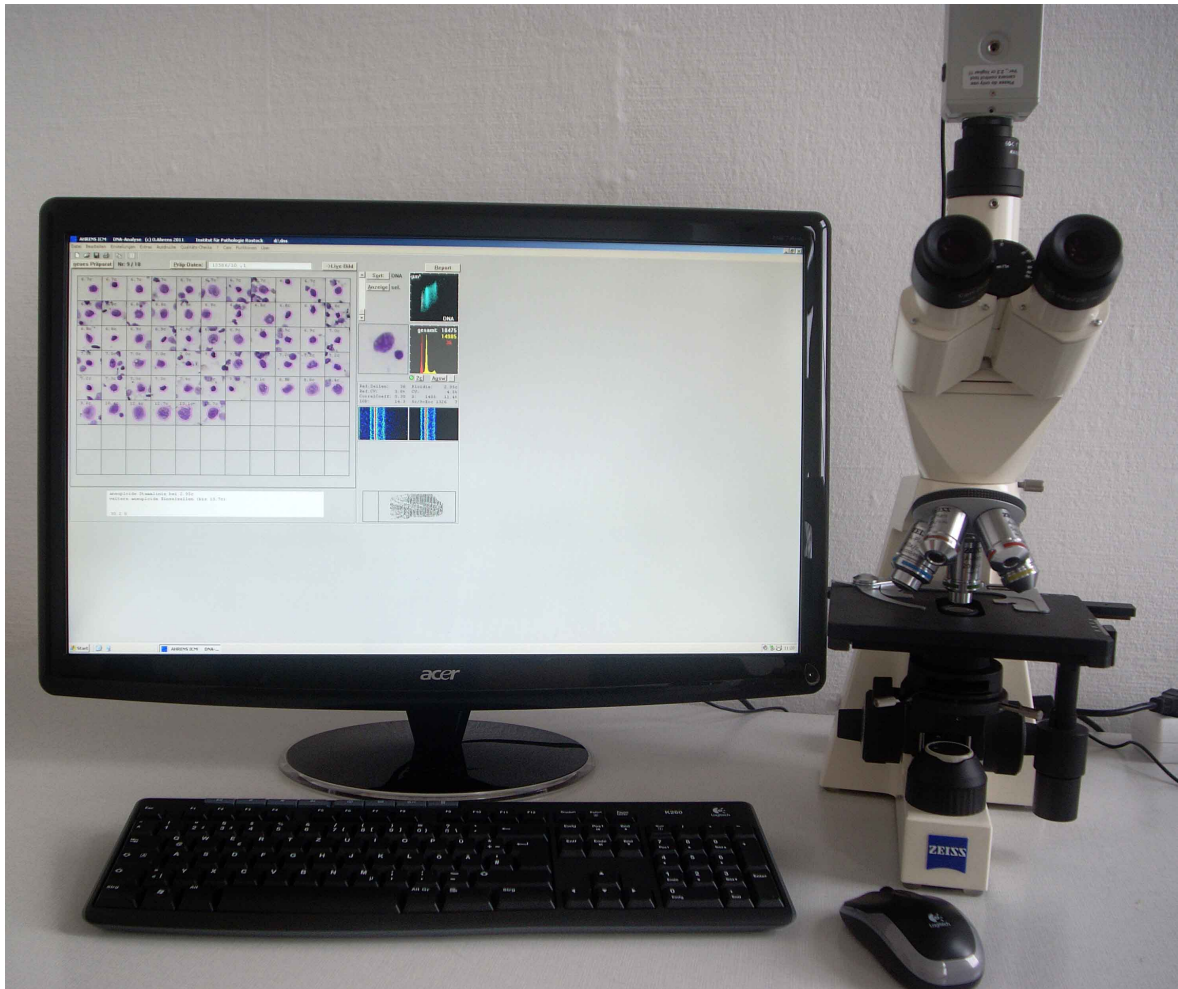


Abbildung 1: DNA-Zytometrie Arbeitsplatz im Institut für Pathologie der Universität Rostock

Repräsentative Histogramme der DNA-Zytometrie

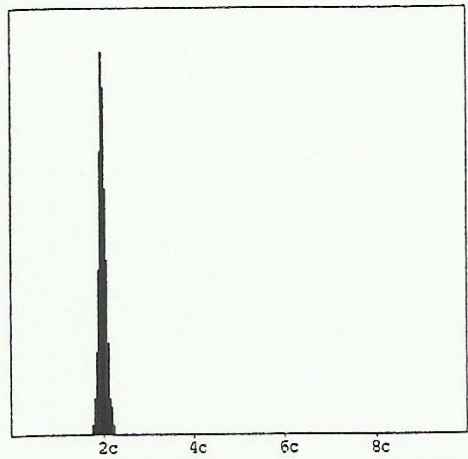


Abbildung 2: Histogramm eines Normalbefundes [22]

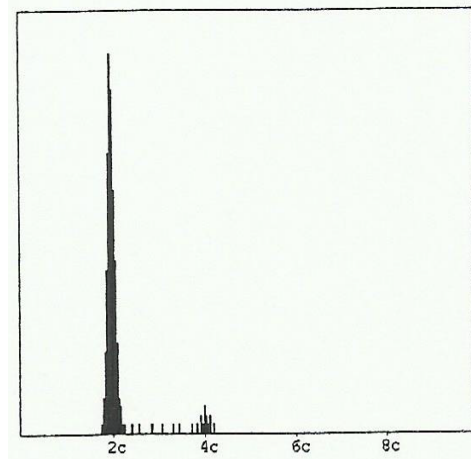


Abbildung 3: Histogramm eines Normalbefundes mit Proliferation [22]

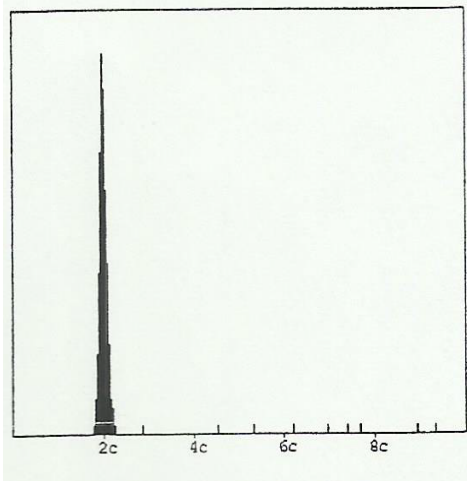


Abbildung 4: Histogramm mit aneuploiden Einzelzellen [22]

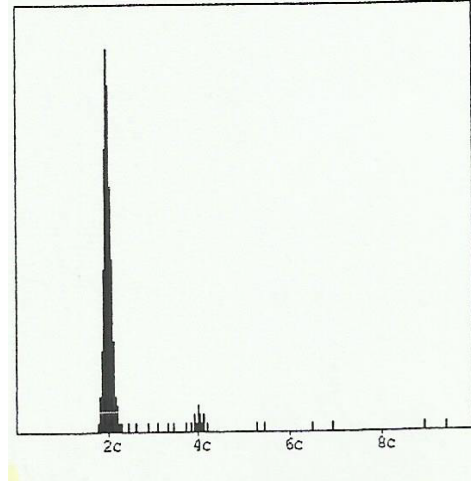


Abbildung 5: Histogramm mit proliferierenden Normalzellen und aneuploiden Einzelzellen $>5c$ [22]

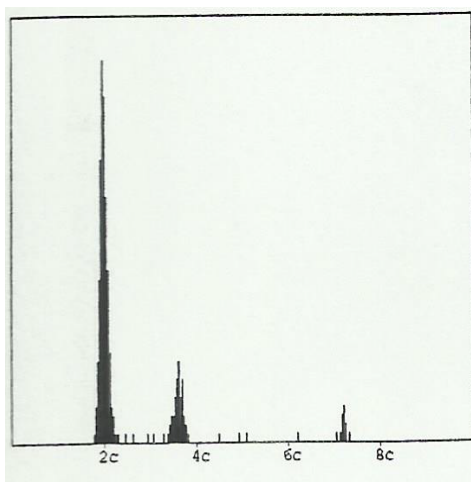


Abbildung 6: Histogramm mit aneuploider Stammlinie $3,2c$ [22]

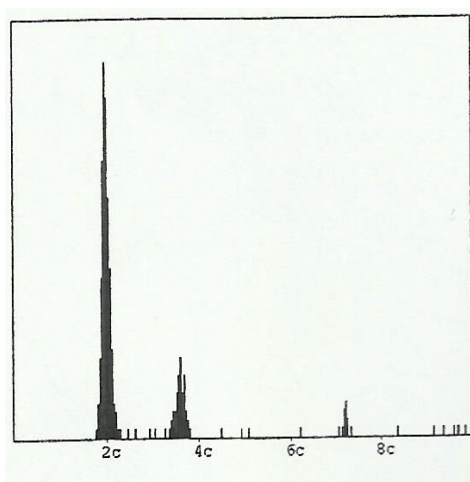


Abbildung 7: Histogramm mit aneuploider Stammlinie $3,5c$ und aneuploiden Einzelzellen [22]

3.2.2 Feulgen-Färbung

Die Feulgen-Färbung ist eine rotblaue Färbung von Gewebe mit hohem Aldehydanteil nach Reaktion mit fuchsinschwefliger Säure zum Nachweis von DNA [63;39]. Das folgende Färbe-Rezept wird im Institut für Pathologie der Universität Rostock verwendet, nachdem die ausgewählten Ausstriche wie unter 1. behandelt und entfärbt wurden.

1. Xylol (bis sich die Deckgläschen von Objektträgern ablösen)
2. 100% Alkohol 5 Min.
3. 10% gepuffertes Formalin 50 Min.
4. destilliertes Wasser 5 Min.
5. 5 N HCL (muss immer frisch sein) 60 Min.
6. destilliertes Wasser 3 Min.
7. destilliertes Wasser 3 Min.
8. Schiff'sches Reagenz (darf nicht mehr kalt sein!) 120 Min.
9. NaSO₂ (muss immer frisch sein) 5 Min.
10. NaSO₂ 5 Min.
11. NaSO₂ 5 Min.
12. destilliertes Wasser 3 Min.
13. 80% Alkohol 3 Min.
14. 96% Alkohol 3 Min.
15. 100% Alkohol 3 Min.
16. Xylol 10 Min.

Eindecken mit z.B. Diatex

Objektträger müssen im Dunkeln aufbewahrt werden!!

4. Resultate

4.1 Zytologie

Im Zeitraum Januar 2005 bis August 2012 wurde in 153 Fällen zytologisches Material für die Pankreasdiagnostik gewonnen und in das Institut für Pathologie der Universitätsmedizin Rostock eingeschickt. Haupteinsendegrund war der Verdacht auf Malignität, der durch die pathologische Beurteilung bestätigt oder revidiert werden sollte. Doppelte Fälle (Patienten), insgesamt 19, wurden belassen. Somit wurden von 134 Patienten Pankreaszytologien ausgewertet.

Alters- und Geschlechtsverteilung:

Von den 134 Fällen waren 73 (54,5%) Patienten männlich, im Alter von 34-88 Jahren und 61 (45,5%) Patienten weiblich, im Alter von 25-88 Jahren. Das Durchschnittsalter weiblicher und männlicher Patienten betrug 63,5 Jahre. Eine pathologische Beurteilung konnte bei 146 der 153 Fällen erfolgen, bei den übrigen 7 Fällen war kein beurteilbares Zellmaterial gewonnen worden. Ein positives (malignes bzw. suspektes Zellbild) Ergebnis war bei 97 (66,5%) der Fälle zu finden und 49 (33,6%) waren negativ (benignes Zellbild).

Einsendegrund und Material:

Eine endosonografisch gestützte Pankreaspunktion wird hauptsächlich wegen des Verdachtes auf Malignität, und dabei meistens mittels FNAB, durchgeführt. Eine detaillierte Auflistung der Einsendungen im Institut für Pathologie der Universitätsmedizin Rostock bezüglich der Indikation und des Materials sind in der Tabelle 5 dargestellt.

		Häufigkeit	Prozent
Indikation	V. a. Malignität	145	94,8
	Zyste	6	3,9
	Artdiagnose	2	1,3
Material	FNAB	105	68,6
	Zystenpunktat	26	17
	Sekret/Saft	19	12,4
	sonstiges	3	2

Tabelle 5: Häufigkeit der Indikation und des Materials

In 146 Fällen konnte das Zellbild des Ausstriches hinsichtlich der Malignität beurteilt werden. Diese Ergebnisse sind in Tabelle 6 aufgezeigt.

	Häufigkeit	Prozent
Maligne	63	43,2
Verdächtig	34	23,3
Nicht maligne	49	33,6

Tabelle 6: Malignitätsbeurteilung des Zellbildes

In 41 von den 153 Fällen wurde neben einer Zytologie auch histologisch verwertbares Material eingesandt. Diese unterschiedlichen Materialien wurden pathologisch beurteilt und diagnostisch eingeteilt und sind in Tabelle 7 aufgelistet.

		Häufigkeit	Prozent
Material	Resektat	20	48,8
	PE/Flocke	20	48,8
	FNAB	1	2,4
Diagnose	Gutartig	8	19,5
	Karzinom	19	46,3
	Dysplasie/Borderline	10	24,4
	Keine Diagnose °	4	9,8

Tabelle 7: Material und Diagnose der Histologie

° verwertbares Material war nicht zu finden

Zur Reevaluation durch erneutes Mikroskopieren waren 103 der 153 Fälle geeignet. Bei den übrigen Zytologien waren die Färbungen teilweise zu stark verblasst, die Präparate nicht im Archiv zu finden bzw. bei der ersten Begutachtung war bereits nicht ausreichendes Material fest gestellt worden. Unter den 103 Fällen waren 52 von männlichen Patienten im Alter von 40-88 Jahren und 51 von weiblichen Patienten im Alter von 29-88 Jahren. Die in Tabelle 8 genannten Kriterien fanden bei verschiedenen Primärbeurteilungen Anwendung. Es wurden 62 (60,2%) als "maligne", 32 (31,1) als "suspekt" und 9 (8,7%) als "benigne" beurteilte Fälle ausgewählt.

Reevaluation der 103 Fälle nach den Kriterien von Robins et al. [50]				
	Kriterium	Häufigkeit	Anzahl	Gesamt
Hauptkriterien	Crowding	schwach	77	103
		stark	10	
		Nicht vorhanden	16	
	Kernmembran-irregularität ^d	ja	68	92
		nein	24	
	Chromatinverklumpung	wenig	46	103
		stark	2	
		Nicht vorhanden	55	
Nebenkriterien	Kernvergrößerung	>2x duktaler Kern	83	103
		Anaplastischer Kern	10	
		nein	10	
	Einzelzellen	ja	90	103
		nein	13	
	Nekrosen	ja	69	103
		nein	34	
	Mitosen ^e	ja	36	103
		nein	67	
	Makronukleolen	ja	30	103
		nein	73	

Tabelle 8: Reevaluation der 103 Fälle nach den Kriterien von Robins et al.

^d bei Giemsa-Färbung nicht beurteilbar

^e "ja" gewertet, wenn mindestens zwei eindeutig erkennbare Mitosen im Ausstrich gesehen wurden [50]; zusätzlich Makronukleolen als 8tes Kriterium [42;19]

Zytologische Präparate (Beispiele):

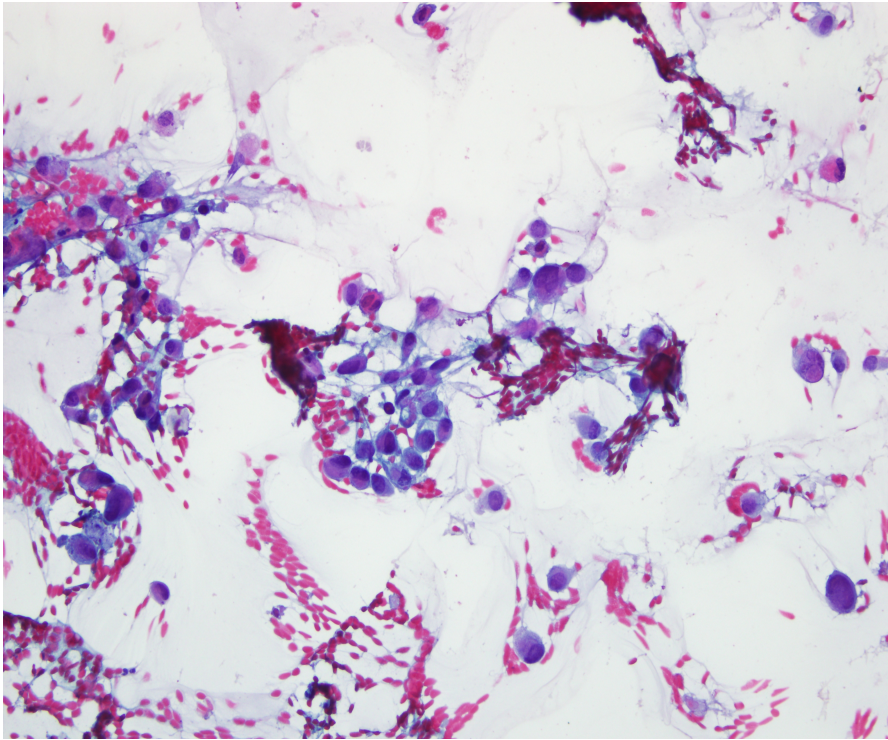


Abbildung 8: Pankreaskopfadenokarzinom - G4; Einzelzellen und anaplastische Zellkerne (Papanicolaou 20x)

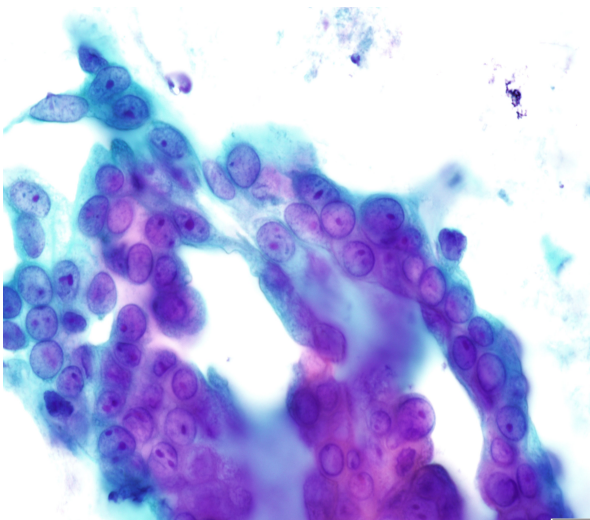


Abbildung 9: Pankreaskopfadenokarzinom - G1/2; Crowding und Makronukleolen (Papanicolaou 100x)

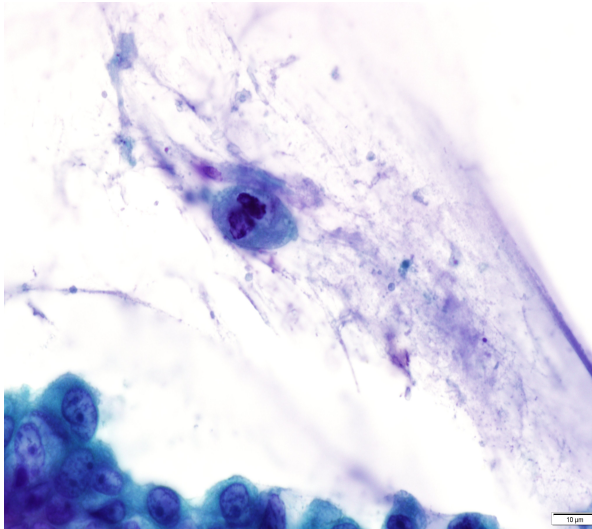


Abbildung 10: IPMN vom intestinalen Typ; Mitosefigur und Kernmembranirregularität (Papanicolaou 100x)

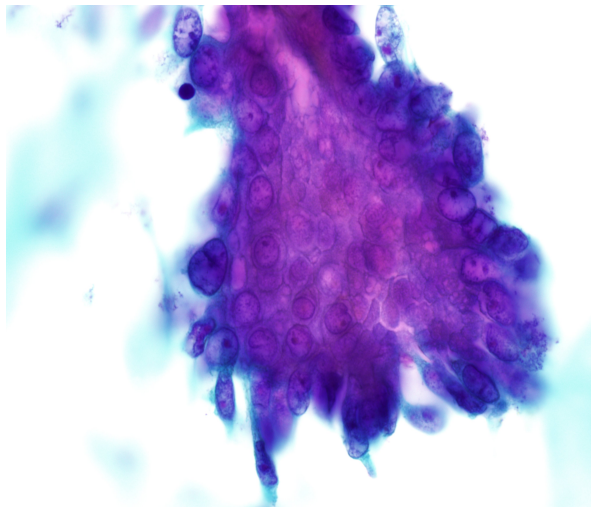


Abbildung 11: Adenokarzinom des Pankreas; Crowding und Nekrose (Papanicolaou 100x)

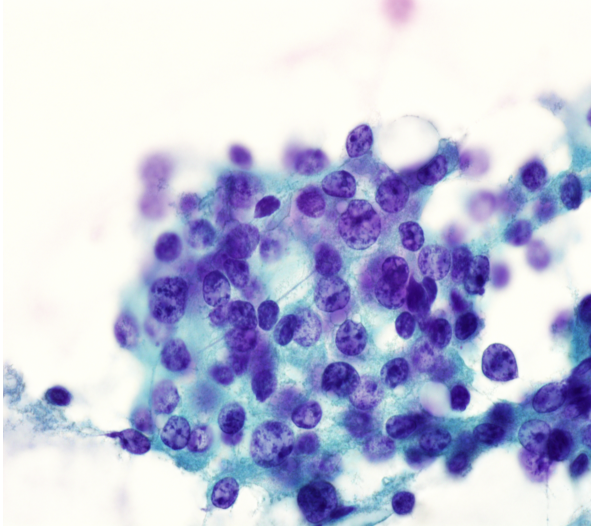


Abbildung 12: Adenokarzinom des Pankreaskopfes; Kernmembranirregularität, Chromatinverklumpung und Kernvergrößerung (Papanicolaou 100x)

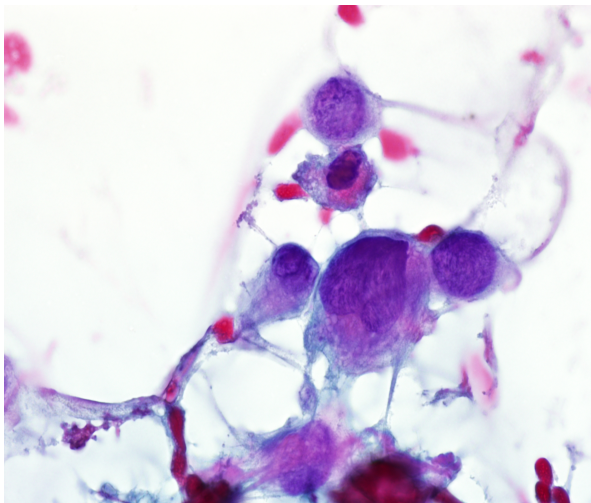


Abbildung 13: Pankreaskopfadenokarzinom - G4; anaplastische Riesenkerne

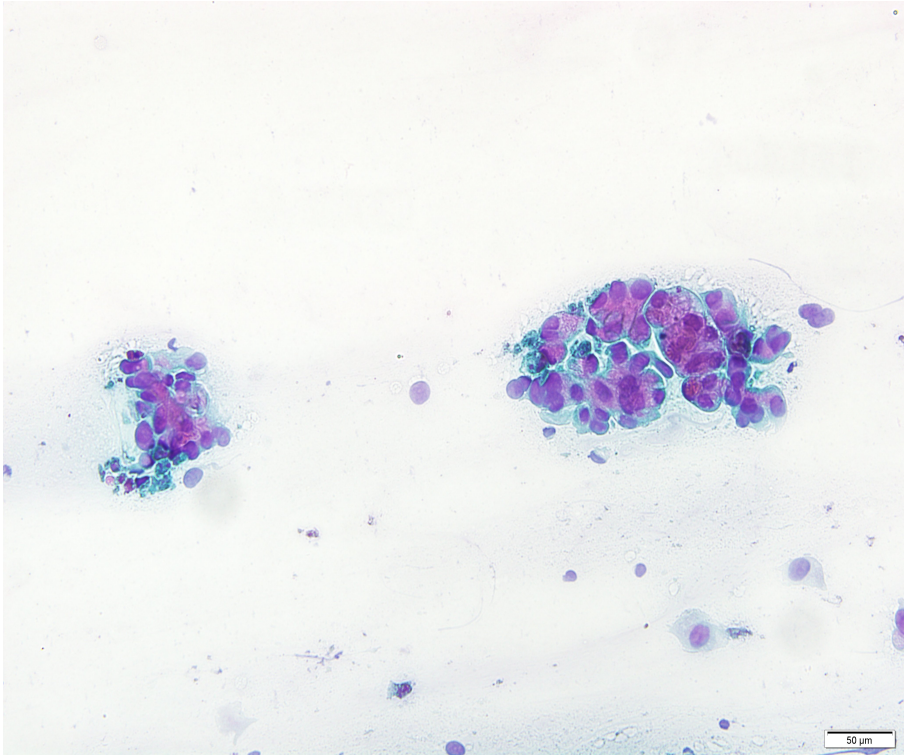


Abbildung 14: Adenokarzinom des Pankreaskorpus, Z.n. Operation nach Whipple; Crowding, Einzelzellen und Nekrose (Papanicolaou 20x)

4.2 Ergebnisse der Reevaluation

Bei der Reevaluation der 103 zytologischen Präparate nach Robins et al. [50] wurden die Zytologien neu bewertet. Bei dem Vorhandensein von \geq zwei Hauptkriterien oder einem Hauptkriterium und drei Nebenkriterien wurde das Zellbild als "maligne" eingestuft. Die 103 Fälle setzten sich wie folgt zusammen: neun Fälle waren in der Primärdiagnostik als "benigne", 32 Fälle als "suspekt" und 62 Fälle als "maligne" beurteilt worden. Die Reevaluation ergab, dass 25 "suspekte" Fälle als "maligne" klassifiziert werden konnten. Damit konnte eine 24,3%ige Steigerung der Klassifikation "maligne" durch die Reevaluation erreicht werden.

Eine weitere statistische Analyse der reevaluierten Fälle wurde nicht durchgeführt, da nicht bei allen Fällen eine Kenntnis über die tatsächliche histologische Diagnose bzw. das posttherapeutische Ergebnis der Patienten vorgelegen hatte. Tabelle 9 zeigt eine Übersicht.

Übersicht der Ergebnisse der 103 Reevaluationspräparate				
Beurteilung	Ausgangswert	Prozent	Nach Reevaluation	Prozent
"maligne"	62	60,2	87	84,5
"suspekt"	32	31,1	7	6,8
"benigne"	9	8,7	9	8,7

Tabelle 9: Ergebnisübersicht der 103 Reevaluationspräparate

4.3 DNA-Zytometrie

Für die Messung wurden 39 der 103 reevaluierten Pankreaszytologien aus dem Zeitraum Januar 2005 bis August 2012 ausgewählt. Die Zytologien stammten von 25 männlichen Patienten im Alter von 40–88 Jahren und von 14 weiblichen Patienten im Alter von 56–88 Jahren. Die DNA-Zytometrie sollte ebenfalls bei verschiedenen Beurteilungen Anwendung finden, sodass jeweils 18 primär als "maligne" und 18 als "suspekt", sowie drei als "benigne" beurteilte Fälle ausgewählt wurden. Die Messergebnisse der DNA-Zytometrie sind in Tabelle 10 dargestellt.

Aneuploidie	Auftreten	Häufigkeit	Prozent
> 5c	Nicht vorhanden	1	2,6
	Vorhanden	38	97,4
> 9c	Nicht vorhanden	20	51,3
	Vorhanden	19	48,7

Tabelle 10 : Messergebnisse der DNA-Zytometrie

Die 18 primär "suspekten" Fälle sollten durch die DNA-Zytometrie eine weitere Diagnosesicherung erhalten. Von diesen waren 11 zuvor durch die Reevaluation als "maligne" beurteilt worden und die DNA-Zytometrie bestätigte diese Beurteilung. Damit galten nach der Reevaluation noch sieben Fälle weiterhin als "suspekt". Von diesen konnten vier weitere durch die DNA-Zytometrie als "maligne" klassifiziert werden und eine Diagnosesicherung erhalten. Wie aus Tabelle 11 ersichtlich, wurden auch zwei "benigne" Fälle durch die DNA-Zytometrie als "maligne" beurteilt. Diese beiden Fälle werden im Kapitel 4.6 näher erläutert.

Übersicht der Ergebnisse der 39 DNA-Zytometrie Fälle						
Beurteilung	Ausgangswert	%	Nach Reevaluation	%	Nach DNA-Zytometrie	%
"maligne"	18	46,15	29	74,4	35	89,7
"suspekt"	18	46,15	7	17,9	3	7,7
"benigne"	3	7,7	3	7,7	1	2,6

Tabelle 11: Ergebnisübersicht der 39 DNA-Zytometrie Fälle

Histogramme der DNA-Zytometrie aus den eigenen Messungen (Beispiele)

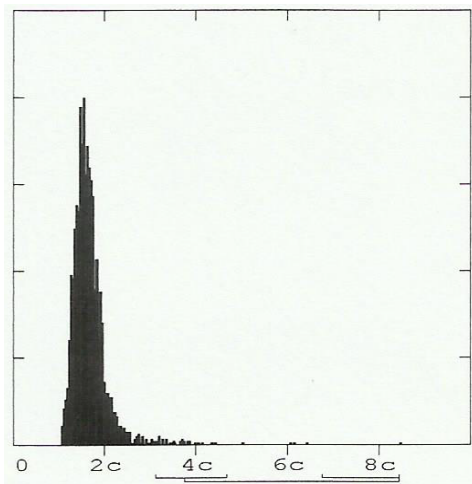


Abbildung 15: Histogramm eines Normalbefundes

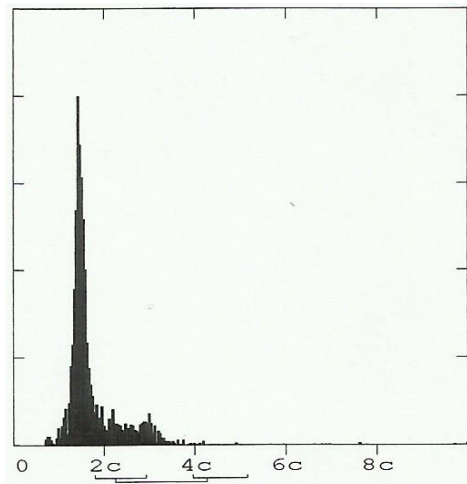


Abbildung 16: Histogramm eines Normalbefundes mit Proliferation (IPMN)

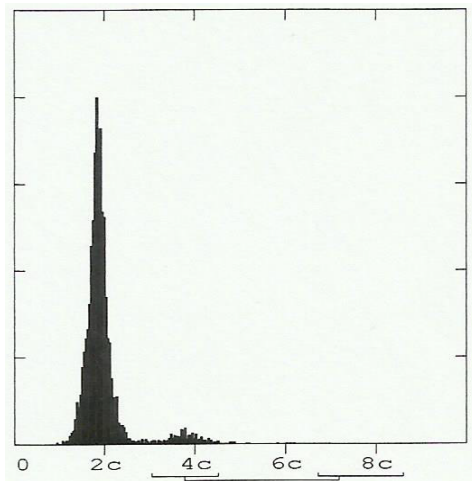


Abbildung 17: Histogramm mit aneuploider Stammlinie 3,8c (neuroendokriner Tumor)

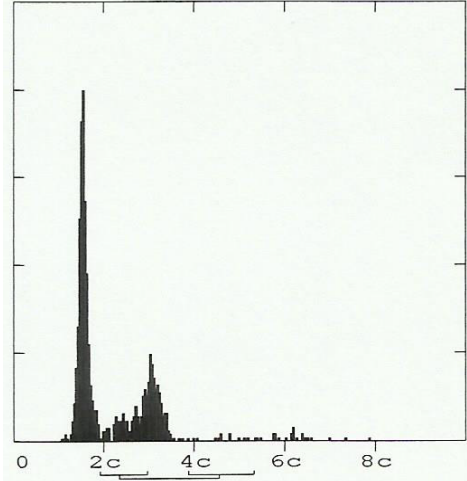


Abbildung 18: Histogramm mit aneuploider Stammlinie 3,2c und aneuploiden Einzelzellen (Pankreasadenokarzinoms)

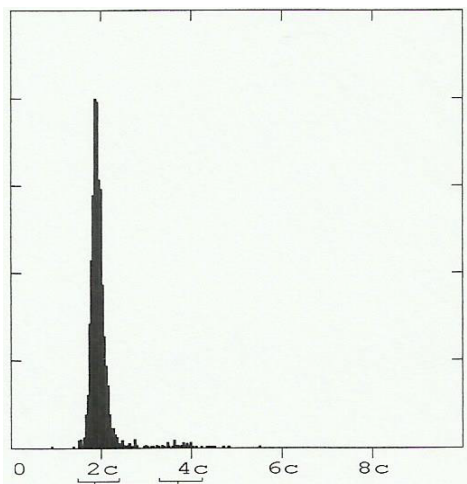


Abbildung 19: Histogramm eines Normalbefundes mit Proliferation (muzinös-zystischen Tumor)

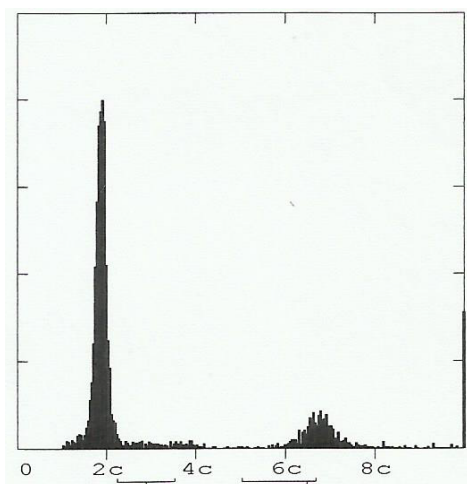


Abbildung 20: Histogramm mit aneuploider Stammlinie (Rezidiv eines Gallenblasenkarzinoms)

4.4 Follow-up Daten

Die an das Klinische Krebsregister Rostock gesendete Liste beinhaltete 100 Patienten, von denen Informationen erfragt wurden. In das Register aufgenommen waren 80 Patienten mit entsprechenden Informationen zu einer möglichen Therapie, dem Gesamtüberleben in Monaten, einem möglichen Rezidiv, dem Rezidiv freien Überleben (RFS) sowie der Todesangabe. Eine Therapie konnte 57 der 80 Patienten angeboten werden bzw. wurde durchgeführt und ist in Tabelle 12 dargestellt.

Therapieoption	Häufigkeit	Prozent
Operation	16	28,1
Gemcitabin mono	26	45,6
Gemcitabin plus anderes Chemotherapeutikum	9	15,8
Chemotherapie ohne Gemcitabin	1	1,8
Radio-Chemotherapie	4	7
Sonstiges (Immuntherapie u. a.)	1	1,8

Tabelle 12: Therapieoptionen der Patienten laut Krebsregister Rostock

Während der Weiterbeobachtung durch das Klinische Krebsregister Rostock konnte bei 67 der 80 Patienten eine Aussage zu einem möglichen erlittenen Rezidiv bzw. zum RFS getroffen werden. Ein Rezidiv des Pankreaskarzinoms trat bei 34 (50,7%) der 67 Patienten auf und 33 (49,3%) blieben ohne dieses. Das RFS war unterschiedlicher Länge, mit einer Spanne von einem bis zu 68 Monaten. Die Mehrheit der Patienten erlitt frühzeitig ein Rezidiv 31,1% nach einem, 9% nach zwei, 7,5% nach drei Monaten bzw. 6% nach fünf Monaten.

Eine Aussage zum Gesamtüberleben nach Diagnosestellung und Tod der Patienten konnte ebenfalls getroffen werden. Der Tod bzw. eine letzte Information wurde dem Klinischen Krebsregister Rostock entweder direkt oder durch den behandelnden Hausarzt / Arzt mitgeteilt. In einigen Fällen wurde diese Information mittels des Computersystems "Pathix" durch eine erneute Einsendung von Material zur pathologischen Untersuchung gewonnen. Bei den übrigen Personen ist nicht bekannt, ob sie noch leben oder bereits verstorben sind. Von den 80 weiter beobachteten Patienten sind 64 (80%) verstorben und bei den verbliebenen 16 (20%) Patienten gab es eine letzte Information, die nicht der Tod war, an das Klinische Krebsregister Rostock bzw. im Computersystem "Pathix" wurde ein

erneuter Auftrag gefunden. Der überwiegende Teil der Patienten verstarb im ersten Jahr nach Diagnose (61,4%). Nur in Einzelfällen konnten Überlebenszeiten von mehr als zwei Jahren registriert werden. Einer dieser Einzelfälle war eine Patientin mit der klinischen Angabe: Z.n. Operation eines Plattenepithelkarzinoms der Gallenblase 2004, aktuell B-Symptomatik und fragliche RF im Operationsgebiet. Eine endosonographische Punktion der RF am Pankreaskopf erfolgte. Der zytologischen Befund beschrieb ein hämorrhagisches Punktat mit Nachweis von Tumorzellen passend zu einem Plattenepithelkarzinom. Die Histologie zeigte ein subtotal regressiv verändertes bzw. nekrotisches Rezidiv eines Plattenepithelkarzinoms der Gallenblase mit Infiltration im parapankreatischen bzw. paraduktalen Bereich des Ductus choledochus und herdförmiger Infiltration der Duodenalwand. Die Reevaluation ergab den Befund "maligne" und die DNA-Zytometrie zeigte Aneuploidien von 14,1-27,1c. Die durchgeführte Therapie war eine neoadjuvante kombinierte Radio-Chemo-Therapie mit Cisplatin/5-FU bis 2007, folgend die Duodenopankreatektomie und PLF-Schema (Cisplatin, Leukovorin und 5-FU) 2007. Die letzte Information war 2009 an das Klinische Krebsregister Rostock und 2012 ein erneuter Auftrag in der Pathologie. Ein RFS von 67 Monaten war letztlich zu verzeichnen.

Ein weiterer Einzelfall, eine Patientin mit einem RFS von 59 Monaten. Klinisch: V.a. ein muzinöses Adenom / Adenokarzinom bei zystischer Formation des Pankreaskopfes und Atrophie der / des Kauda / Korpus. Zytologisch war ein Zellbild passend zu einem muzinösen zystischen Tumor oder einem intraduktalen papillär-muzinösen Tumor des Pankreas zu sehen. Die Histologie bewies die IPMN des Pankreas, sowie in weiten Abschnitten mit hochgradigen Dysplasien vom Grad eines Carcinoma in situ. Die Reevaluationsbeurteilung war "maligne". Die Therapie war eine kephale Duodenopankreatektomie mit R0 2005 und die letzte Information an das Klinische Krebsregister Rostock war 2010, welche nicht der Tod war.

Die genannten Kriterien und/oder die DNA-Zytometrie sollten zur Diagnosesicherung für verschiedene Entitäten genutzt werden, dies ist aus den Daten des Klinischen Krebsregisters Rostock ebenfalls ersichtlich. Neben den verschiedenen Therapien, siehe Tabelle 12, waren auch unterschiedliche Diagnosen den Daten zu entnehmen. So fanden sich bei den 80 gelisteten Patienten hauptsächlich duktale Adenokarzinome des Pankreas, aber auch mehrere IPMN, ein gastrointestinaler Stromatumor (GIST), ein

Cholangiokarzinom, Plattenepithelkarzinome der Galle sowie Metastasen eines Nierenzell- bzw. eines Prostatakarzinoms. Eine genaue Übersicht zeigt Tabelle 13.

Diagnosen der 80 Patienten der Follow-up Daten		
Diagnose	Anzahl	Prozent
Adenokarzinom	64	80,0
IPMN	9	11,25
Pankreatitis/Pseudozyste	1	1,25
Plattenepithelkarzinom Galle/Pankreas	2	2,5
Cholangiokarzinom	1	1,25
GIST	1	1,25
Metastase	2	2,5

Tabelle 13: Diagnosen aus den Follow-up Daten

4.5 Auswertung der Histologien und Krebsregisterdaten

Im Rahmen der gesamten Datenerhebung konnten insgesamt 83 Fälle der 103 Reevaluationspräparate ermittelt werden, die eine gleichzeitig vorliegende maligne oder benigne Histologie und / oder im Klinischen Krebsregister Rostock gelistet waren. Diese 83 Fälle hatten eine gesicherte Diagnose und waren für eine Aussage über die diagnostische Treffsicherheit der Zytologie nutzbar.

Die 83 Fälle setzten sich wie folgt zusammen: sieben Fälle waren in der Primärdiagnostik als "benigne", 23 Fälle als "suspekt" und 53 Fälle als "maligne" beurteilt worden. Die Reevaluation ergab, dass 19 "suspekte" Fälle und 2 "benigne" Fälle als "maligne" klassifiziert werden konnten. Damit konnte eine 25,3 %-tige Steigerung der Klassifikation "maligne" durch die Reevaluation der Zytologien erzielt werden. Die zwei primär "benignen" Fälle wurden durch die Reevaluation an Hand der Kriterien nach Robins et al. [50] als "maligne" beurteilt, stellten sich histologisch als IPMN und Adenokarzinom des Pankreas dar und hatten nach dem Klinischen Krebsregister Rostock eine tumorspezifische Therapie erhalten. An Hand der ermittelten Werte lässt sich somit eine Sensitivität für die

Zytologie, nach Abgleich mit gesicherten Daten einer Histologie und / oder des Krebsregisters Rostock, von 89,16% errechnen.

Die ermittelten Werte sind in Tabelle 14 dargestellt. Die verbliebenen vier suspekten Fälle werden unter 4.6 erläutert.

Übersicht der 83 Fälle mit gesicherter Diagnose				
Beurteilung	Ausgangswert	Prozent	Nach Reevaluation	Prozent
"maligne"	53	63,86	74	89,16
"suspekt"	23	27,71	4	4,82
"benigne"	7	8,43	5	6,02

Tabelle 14: Ergebnisübersicht der 83 gesicherten Diagnosen

4.6 Besondere Kasuistiken

Im Verlauf der Ergebnisdarstellung sind besondere Fälle angedeutet worden, die hier näher beschrieben werden.

Zunächst die beiden "falsch maligne" gemessenen Fälle der DNA-Zytometrie: Diese stellten sich wie folgt dar. Der erste Fall, ein Sekret, wies mikroskopisch viele Zylinderepithelien aber keine Tumorzellen auf, folglich als "benigne" klassifiziert. In der DNA-Zytometrie wurde aber eine Stammlinie bei 3,7c gemessen. Hier wurden zu wenige Zylinderepithelien als Referenzzellen genutzt.

Der zweite Fall, eine FNAB, klinisch "ein hämorrhagisch-detritisches Pankreaspunktat mit wenigen atypischen Epithelien, die allenfalls einen Tumorverdacht begründen", als "suspekt" und angesichts des klinischen Befundes als "benigne" beurteilt. In der DNA-Zytometrie ergab sich eine Stammlinie bei 2,3c. Die beschriebenen wenigen atypischen Zellen wurden mit gemessen und waren somit ausschlaggebend für die Aneuploidie und einer Malignitätsdiagnose.

Die DNA-Zytometrie wurde auch an verschiedenen Entitäten, wie neuroendokrine Tumoren, IPMN oder muzinöse Tumoren, eingesetzt. Als erstes zu nennen ist ein Zystenpunktat, in der ersten Beurteilung diagnostiziert als "Pankreaspunktat aus einer zystischen Läsion mit Nachweis von Schleim und papillären Epithelformationen, bis mäßigen Atypien. Ein intraduktaler papillär-muzinöser Tumor wurde erwogen, evtl. auch ein Zystadenom". Unter Anwendung der zytomorphologischen Kriterien ergab sich ein nicht malignes Ergebnis, aber bei der Auswertung mittels DNA-Zytometrie wurde der Fall "maligne" mit Aneuploidien von $>5c$ und $>9c$.

Ein zweiter Fall, eine FNAB, mit erster Beurteilung: "Blutiges Pankreaspunktat mit zum Teil diskohäsiven Zellgruppen mit geringen Kerngrößenschwankungen, differentialdiagnostisch Zellen eines neuroendokrinen Tumors oder Lymphozyten entsprechend". Dieser Fall wurde in der primären zytologischen Diagnose als "suspekt" eingestuft. Eine vorhandene Histologie sicherte einen neuroendokrinen Tumor. Die Anwendung der Kriterien nach Robins et al. [50] ergab ein nicht malignes Ergebnis, wohingegen in der DNA-Zytometrie Aneuploidien von $>5c$ gemessen wurden und somit der Fall als maligne eingestuft wurde.

Ein dritter Fall, ein Pankreassekret bzw. Gallensekret, diagnostiziert als "Pankreas- und Gallengangsekret mit Einschluss von mäßiggradig atypischen Epithelverbänden. Bei entsprechendem klinischen Befund ist das Bild hochgradig suspekt auf ein Karzinom im Pankreas- oder Gallengangsbereich". Auch dieser Fall war in der Primärdiagnose als "suspekt" und nach unserer Reevaluation mit den Kriterien nach Robins et al. [50] als nicht maligne beurteilt worden. Die DNA-Zytometrie erbrachte Aneuploidien von $>5c$ und $>9c$, damit konnte die Malignität gesichert werden.

Ein spezieller Fall, war ein weiteres Zystenpunktat in der Primärdiagnose beurteilt als "Endosonografisches Punktat einer zystischen Raumforderung des Pankreaskopfes mit atypischen papillären und teils muzinösen Zellverbänden, vereinbar mit Zellverbänden eines teils muzinösen und papillären Adenokarzinoms". diagnostiziert als "maligne". Die nachfolgende Histologie ergab den Befund eines serös-mikrozystischen Adenoms des Pankreaskopfes, allerdings mit zusätzlichem Nachweis einer PanIN II. Bei der Reevaluation an Hand der zytomorphologischen Kriterien nach Robins et al. [50] ergab sich ein nicht malignes Ergebnis für diesen Fall, aber die DNA-Zytometrie zeigte

Aneuploidien von $>5c$, wahrscheinlich bedingt durch die vorhandenen atypischen Zellen der gefundenen PanIN II.

Wie zuvor unter 4.5 angedeutet waren nach der Auswertung der Histologien und Krebsregisterdaten vier Fälle weiterhin als suspekt gewertet. Diese Fälle stellten sich wie folgt dar. Der erste Fall mit V.a. einen Tumor war klinisch eine FNAB eines unklaren Pankreasschwanzprozesses mit Pseudozyste oder nekrotischer Einschmelzung. Zytologisch stellte sich ein hämorrhagisch-detritisches Pankreaspunktat mit wenigen atypischen Epithelien dar, die allenfalls einen Tumorverdacht begründen würden. Die Reevaluation mittels der Kriterien von Robins et al. [50] und die DNA-Zytometrie waren negativ. Eine Histologie war nicht vorhanden, aber aus dem Klinischen Krebsregister Rostock war eine letzte Information, welche nicht der Tod war, zu entnehmen.

Der zweite Fall mit V.a. eine muzinöse Neoplasie eines Pankreaspunktates hatte folgende klinische Angaben: eine unklare tumorverdächtige langstreckige DHC-Stenose, Cholangitis, Z.n. Magen-Karzinom und Gastrektomie sowie Lippen-, und Prostata-Karzinom. Zytologisch stellte sich ein schleimhaltiges Pankreaspunktat mit detritischen, nicht näher klassifizierbaren Zellen dar. Unter Berücksichtigung der klinischen Angaben kann an eine muzinöse Neoplasie gedacht werden. Die Reevaluation mittels der Kriterien von Robins et al. [50] war negativ. Erneut war keine Histologie vorhanden. Aus dem Klinischen Krebsregister Rostock war ersichtlich, dass der Patient 13 Monate nach Diagnosestellung überlebte und letztlich aus nicht genanntem Grund verstarb.

Der dritte Fall war ein Zystenpunktat. Klinische Angaben waren ein Mammakarzinom mit Zufallsbefund eines zystischen Pankreaskopftumors, bestehend aus mikrozystisch durchsetzten soliden Anteil und größeren Zysten. Zytologisch stellten sich atypische, papilläre und teils muzinöse Zellverbände dar, welche vereinbar mit Zellverbänden eines teils muzinösen und papillären Adenokarzinoms wären. Die Reevaluation mittels der Kriterien von Robins et al. [50] und die DNA-Zytometrie waren negativ. Die vorhandene Histologie ergab ein seröses mikrozystisches Adenom des Pankreaskopfes mit Resektion im Gesunden, folglich kein Eintrag im Klinischen Krebsregister Rostock.

Der vierte Fall: Eine FNAB mit dem V.a. ein Melanomrezidiv. Klinische Angaben waren eine Punktion eines kleinen LK retrogastral und die FNAB des Pankreaskorpus vom Magen ausgehend, bei Z.n. Entfernung eines Melanoms. Zytologisch stellt sich ein sehr

zellarmes und deutliches Feinnadelpunktat mit Sekretniederschlägen und fokal teils stärkergradig degenerativ verändertes Zylinderepithel wie aus der Magenschleimhaut, sowie ganz vereinzelt atypische blastäre Zellen mit verschobener Kern-Zytoplasma-Relation, prominenter Kernmembran und großem lachsroten Nukleolus dar. Die Reevaluation mittels der Kriterien von Robins et al. [50] war negativ. Ein histologisches Präparat war nicht vorhanden. Der Patient war im Klinischen Krebsregister Rostock gelistet, zwar ohne Informationen über eine spezifische Therapie bezüglich des Melanoms, aber eine letzte Information, welche nicht der Tod war, war zu entnehmen.

5. Diskussion

5.1 Methodendiskussion

5.1.1 Zytologische Probennahme

Für diese Arbeit wurden alle zytologischen Untersuchungen von Pankreasraumforderungen aus dem Zeitraum Januar 2005 bis August 2012 des Instituts für Pathologie der Universität Rostock verwendet. Die Probennahme kann durch drei verschiedener Verfahren erfolgen. Zum einen die Ultraschall- oder CT-gestützte perkutane transabdominale Aspiration, die vom Untersucher und dessen Handhabung abhängig ist [35;33;58]. Sie ist für alle Arten des Pankreaskarzinoms nutzbar und kann ggf. wiederholt werden. Die zweite Methode ist die EUS gestützte FNAB. Sie wurde in den frühen 1990er Jahren eingeführt und benötigt Training und Erfahrung des Anwenders. Ein möglicher Untersuchungsablauf ist unter 3.1.1 aufgeführt und ähnlich wurden die Abläufe auch in anderen Studien [10;17;25;37;41;43;58;68] beschrieben. Die EUS gestützte FNAB wird ebenfalls für die Diagnose und das Staging benigner und maligner Läsionen des Abdomens bzw. Beckens eingesetzt. Sie ist auch ein wichtiger Bestandteil bei der Behandlung von Lungenkarzinomen oder anderen mediastinalen Erkrankungen [6;58]. Zudem kann sie bei kleinen Tumorherden zur Materialgewinnung genutzt werden. Trotz der erforderlichen Erfahrung des Untersuchers und einer guten Verständigung zwischen Endoskopiker und Zytopathologen ist die EUS gestützte FNAB heute die Standardmethode in großen Medizinentren [35;2;17;20;37;41;5]. Als drittes Verfahren gibt es die direkte Visualisierung bzw. Palpation des Pankreas während einer Laparotomie. Sie war die Methode der Wahl, bevor bildgebende Verfahren weit verbreitet wurden. Mit der Laparotomie kann die Läsion präzise und mit hoher Genauigkeit lokalisiert werden, ohne große Komplikationen zu befürchten. Zudem werden die Proben nicht durch Zellmaterial aus dem Gastrointestinaltrakt verunreinigt. Die EUS gestützte FNAB hat eine Sensitivität von 94% und eine Spezifität von 100%. Zudem ist ihre Sensitivität höher als die von Bürstenabstrichen (50%) [16;2;17;20;43;48;27;62] und die aus der Untersuchung von in ERCP gewonnenen Sekreten (33-54%). Es gibt auch falsch positive / negative Ergebnisse aus FNABs, diese lassen sich durch zellarme Aspire, Fehlinterpretation oder auch Trefferungenauigkeit bzw. Verfehlung der Zielmasse erklären [18;17]. Eine Reduktion der eben beschriebenen Fehlermöglichkeiten ist durch die seit einigen Jahren verwendete Vorgehensweise der rapid on-site cytopathological examination (ROSE) möglich. Wenn

die technischen und personellen Voraussetzungen gegeben sind, sollte dieses Vorgehen genutzt werden, denn eine größere Materialausbeute der zu untersuchenden RF des Pankreas bei minimaler Punktionsanzahl ist möglich und kann letztlich eine Qualitätssteigerung und eine bessere Diagnosestellung bedingen [26;11;43;48]. Die Art des gewonnen Materials bzw. der mögliche Abgleich mit einem vorhandenen histologischen Präparat ist für die Diagnosestellung von großem Interesse, da die Sensitivität von FNABs höher als die von Bürstenabstrichen [16;2;17;20;43;48;27;62] oder von ERCP-Sekreten ist. In dieser Arbeit sind entsprechende Beispiele bei der Betrachtung der vorhandenen Histologien aufgefallen. Zwei Fälle konnten nur allein durch die vorhandene Histologie als Karzinom diagnostiziert werden. Der erste Fall war ein Präparat eines Pankreassaftes von 2005. Der Patient war klinisch auffällig mit Rückenschmerzen seit Jahren und der V.a. ein Pankreaskopfkarzinom mit Lebermetastasen wurde gestellt. Zytologisch wurde das Präparat als zellarmer Pankreassaft mit unauffälligem Gangepithel und ganz vereinzelt abnormen bis gering atypischen Gangepithelien beurteilt. Die Reevaluation mittels der Kriterien von Robins et al. [50] war negativ. Die entnommene Histologie erbrachte die Diagnose eines gering bis mäßig differenzierten Adenokarzinoms des Pankreas.

Der zweite Fall war ein Pankreassekret von 2010. Sonographisch stellte sich ein erweiterter Pankreasgang unklarer Genese dar und der V.a. eine IPMN wurde gestellt. Zytologisch wurde das Präparat als Pankreassekret mit weitgehend unauffälligen Zylinderepithelien beurteilt. Die Reevaluation war negativ. In dem entnommenen histologischen Präparat wurde eine IPMN vom gastralen Typ mit geringen Atypien (low grade) im Ductus pancreaticus und seinen Nebengängen (Hauptgang- und Seitengangtyp) diagnostiziert. Beide beschriebenen Fälle zeigen auf, dass die Nutzung von anderem Material (z.B. Sekret oder Saft) als eine FNAB für die zytologische Beurteilung eine exakte Diagnosestellung erschweren [16;2;17;20;43;48;27;62]. Das genutzte Material ist ebenso wichtig für die allgemeine Beurteilbarkeit bzw. Genauigkeit der Diagnosestellung, wie der Untersucher mit seiner Erfahrung, der Probengewinnung und deren Aufarbeitung selbst [58;6;10;12;38;68].

5.1.2 Validierung der Zytologie

Es wurde eine Rohdatenliste erstellt an Hand derer die Präparate für die Reevaluation und DNA-Zytometrie ausgewählt wurden. Ein Nachteil dieser Vorgehensweise ist, dass es sich um eine retrospektive Untersuchung handelte. Auch wenn die beurteilende Pathologin keine Information über die zuvor erstellte Primärdiagnose hatte, erfolgte dennoch nur eine Neubewertung bestehender Präparate. Weiterhin wurden nicht alle Patienten bis zur endgültigen Diagnose nach verfolgt bzw. die vom Krebsregister Rostock erfragten Daten beinhalteten nicht alle gelisteten Patienten. Die erwähnten Histologien der Operationspräparate wurden nicht erneut mikroskopisch beurteilt. Als positiver Aspekt der Arbeit ist zu sehen, dass ein homogenes Patientenkollektiv untersucht wurde. Die Untersuchungen stammten aus einem einzigen Zentrum, der Klinik für Gastroenterologie und dem Institut für Pathologie der Universität Rostock. Die Gewinnung der Proben und Untersuchung dieser erfolgte unter standardisierten Bedingungen und wurde durch eine kleine Anzahl von erfahrenen Ärzten durchgeführt. Die Literatur zeigt ebenfalls, wie wichtig ein gutes und aufeinander abgestimmtes Team bei der Probengewinnung und Aufarbeitung dieser ist [58;6;10;38;68].

5.1.3 Validierung der DNA-Zytometrie

Die Auswahl der 39 Fälle für die DNA-Zytometrie erfolgte während der Reevaluation der 103 Pankreaszytologien. Gewählt wurden Zytologien, die genügend Zellmaterial, sowohl benigne Zellen als Referenzzellen als auch maligne oder suspekten Zellverbände, enthielten. Bei dem am Institut für Pathologie der Universität Rostock verwendeten Verfahren der DNA-Zytometrie handelt es sich um das AHRENS-ICM-Bildanalyse-System. Vorteil und zugleich Nachteil bei diesem Verfahren ist, dass die zytologisch-morphologische Auswahl der Zellen vom fachlich versierten Benutzer selbst und nicht vom Programm vorgenommen werden muss. Allerdings birgt diese Vorgehensweise Fehleinschätzungen bzw. -interpretationen, die nicht vollständig durch die Qualitätskontrolle minimiert werden können. Selbst bei standardisiertem Vorgehen sind Vergleiche zwischen verschiedenen Anwendern schwer möglich. Ein weiterer Nachteil ist, dass genügend Zellmaterial vorhanden sein musste, um eine Dignitäts-Beurteilung zu machen [13]. Baron et al. [7] zeigten jedoch, dass auch mit wenig Zellmaterial die DNA-Zytometrie durchführbar ist.

Problematisch ist das Nachfixieren bzw. Um- / Neufärben alter Präparate, obwohl dies noch nach Jahren möglich ist [7;13;65]. Alte Präparate sind teilweise schon verblasst und das Entfärben, auch jüngerer Präparate, erfolgt mit aggressiver Salzsäure. Dieser Vorgang kann die Feulgen Farbbannahme der Kerne beeinträchtigen, was den IOD minimiert, der für die Dignitätsbestimmung gemessen wird. Diese Fehlerquelle betrifft den gesamten Ausstrich, also auch die gewählten Referenzzellen, sodass eine Messung dennoch möglich ist. Vorteilhaft ist, dass der Benutzer die Auswahl der zu messenden Zellen trifft, und gleichzeitig Artefakte und unerwünschte Zellen ausschließen kann, die nicht mehr in die Messung und Bewertung eingehen können. Weiterhin können durch das Nutzen der DNA-Zytometrie mittels des AHRENS-ICM-Bildanalyse-System schnell hunderte Zellen in einem Bild bzw. in aufeinander folgenden Bildern innerhalb von Minuten gemessen werden, was eine routinemäßige Nutzung gut möglich macht [13-15].

5.2 Ergebnisdiskussion

5.2.1 Reevaluation der Zytologie

Das Befunden von Pankreaszytologien ist in den meisten Fällen nicht einfach, da die Gewinnung von repräsentativen Material nicht immer gelingt. Durch ein geschultes und auf einander abgestimmtes Team [3;6;58] bzw. unter Anwendung von ROSE [26;11;43;48] kann dies überwunden werden. Weiterhin lassen sich Fehler bzw. Fehlinterpretationen durch das Anwenden von erarbeiteten zytomorphologischen Kriterien eingrenzen [50;19;42;44;45;68]. Nach der ersten Befunderstellung wurden 32 der 103 Fälle als "suspekt" eingestuft. Dass heißt 31,1% der Gesamtfälle waren nicht sicher diagnostizierbar und mussten klinisch weiter abgeklärt werden. Nach Reevaluation und unter konsequenter Anwendung der aus der Literatur beschriebenen Kriterien [50;19;60] konnte eine Steigerung der Klassifikation "maligne" um 24,3% erreicht werden. Damit konnten letztlich 93,2% der reevaluierten Gesamtfälle ("benigne" und "maligne") sicher diagnostiziert werden. Mit diesen Ergebnissen befindet sich das eigenen Zentrum (Institut für Pathologie der Universitätsmedizin Rostock) auf einem ähnlichen Level bezüglich der Diagnose von Pankreaskarzinomen aus Ausstrichpräparaten, wie zuvor in verschiedenen Studien der Literatur beschrieben wurde [3-6;10;28;42] und konnte eine Verbesserung gegenüber der Primärdiagnose aufweisen. Es zeigte sich, dass suspekta Fälle besser interpretiert werden können und eine definitive Diagnose mit allen Konsequenzen für den

Patienten gestellt werden konnte [50;42-45].

Das Problem mit der geringen Zellzahl in manchen zytologischen Präparaten und damit verbundener eingeschränkter Diagnose ist bekannt [8;9;17;42;60], kann aber durch Zusammenarbeit der einzelnen Beteiligten (Radiologe, Gastroenterologe, Pathologe und Patient) [1;3;6;58], effizient genutzter Bildgebung [2] und standardisierter Probengewinnung [17], ggf. mittels ROSE [26;11;43;48] verbessert werden. Bellizzi et al. [10] waren strikter und sahen in der zytologischen Diagnostik von Pankreaszytologien nur ein Hilfsmittel und meinten, FNABs sollten nur durchgeführt werden, wenn das Resultat das Potential hat das Patientenmanagement zu verändern. Die gewonnenen Zytologien sollten z.B. durch Zusatzmethoden wie Serum IgG4-Bestimmung zum Ausschluss von IgG4-assoziierten Erkrankungen, weiter abgeklärt werden, um unnötige Operationen zu vermeiden.

Mit der Nutzung von zytologischen Untersuchungsmethoden und / oder weiterer Methoden ist ein Zugewinn an diagnostischer Genauigkeit möglich. Weiterhin ist bei der Aussicht auf Heilung die Operation mit der Gewinnung eines histologischen Präparates der Standard zur Diagnosestellung [1;5;23]. Die Histologie und ihrer Befundung bleibt der Goldstandard bei der Diagnose eines Pankreaskarzinoms [1;5;23]. Sollte eine Operation mit entsprechender Histologiegewinnung nicht möglich sein, ist die Beurteilung von entsprechend entnommenem und aufgearbeitetem zytologischem Material ggf. unter Nutzung weiterer Untersuchungsmethoden zur Diagnosestellung und für die Planung der Therapiestrategie zu empfehlen [1;5;20;48]. Zum Ermitteln der diagnostischen Genauigkeit bzw. der tatsächlichen Treffsicherheit der gewählten Untersuchungsmethode ist der Abgleich mit gesicherten Daten eines Klinischen Krebsregisters sehr zu empfehlen.

In Zusammenschau der Resultate ist somit nur die Aussage möglich, dass die Reevaluation bzw. die konsequente Nutzung der genannten Kriterien eine Verbesserung der Zuordnung der Ausstriche in eine der Kategorien "maligne" oder "benigne" erlaubt.

Nach Auswertung der Histologien und erhaltenen Daten des Klinischen Krebsregister Rostock, siehe Punkt 4.5, waren vier Fälle nicht eindeutig als "maligne" oder "benigne" an Hand der genutzten Untersuchungsmethoden (Reevaluation nach den Kriterien von Robins et al. [50] und DNA-Zytometrie) zu klassifizieren. Die beschriebenen Fälle in ihrer Komplexität zeigen, dass die Auswertung und Beurteilung aller vorhandenen und erhobenen Daten im Gesamtkontext wichtig sind, um eine gesicherte Diagnose zu stellen

bzw. um die Nutzung von Untersuchungsmethoden bzw. mögliche neue Varianten zu bewerten. Nur eine strukturierte Neubewertung und daraus gezogenen Schlüssen von bereits beurteilten Fällen ist ohne den Abgleich mit gesicherten Daten nicht aussagekräftig genug.

Die Erarbeitung von zytomorphologischen Kriterien zur Verbesserung der Diagnostik von Pankreaskarzinomen aus Ausstrichpräparaten und deren Gewichtung wurde in der Vergangenheit durch eine Vielzahl von Studien gezeigt [50;10;19;42-45;68]. Die Tabellen 15 und 16 geben einen kurzen Überblick.

Zusammenfassung zytologischer Kriterien für die Diagnostik des Pankreaskarzinoms in der Literatur		
Autoren	Fallzahl	Zytologische Kriterien
Mitchell und Carney	9	3-D-Fragmente; Kernvergrößerung; Kernmembranirregularität
Fekete et al.	74	Verlust Kernpolarität; maligne Einzelzellen; prominente Kerne; Chromatinverklumpung; Kernmembranirregularität; nekrotischer Hintergrund
Al-Kaisi und Siegler	134	3-D-“Bälle“; große Kerne; hohe Kern-Plasma-Relation; Kernmembranfalten; große Nukleoli; Nekrosen
Kocjan et al.	62	Kernvergrößerung; Kernmembranirregularität; crowded Zellen in 3-D; unübliche Chromatinverteilung; Anisonukleose; hohe Kern-Plasma-Relation; prominente Nukleoli
Cohen et al.	78	Anisonukleose; große Kerne; Kernmolding
Robins et al.	90	Haupt: Overlapping/Crowding; Kernmembranirregularität; Chromatinverklumpung Neben: Einzelzellen; Nekrosen; Mitosen; Kernvergrößerung

Tabelle 15: Zusammenfassung zytologischer Kriterien für die Diagnostik von Pankreaskarzinomen aus der Literatur

[42]

Frequenz von spezifischen zytologischen Charakteristika des duktales Adenokarzinoms des Pankreas: Datenzusammenstellung aus der Literatur				
	Frequenz in %			
Zytologische Charakteristika	Cohen et al, 1991	Robins et al, 1995	Ylagan et al, 2002	Lin und Staerckel, 2003
Anisonukleose	98	100	100	97
Kernmembranirregularität	94	100	100	97
Kernvergrößerung	92	100	100	99
Verlust Honigwabemuster/Overlapping	67	100	100	92
Nichtzusammenhängen der Zellen	n.a.	93	n.a.	n.a.
Chromatinaufhellung und Verklumpen	55	98	77	14
Prominente Nukleoli	47	n.a.	77	14
Hintergrundnekrose	57	80	40	7
Mitosefiguren	n.a.	n.a.	n.a.	22

Tabelle 16: spezifische zytologische Charakteristika des duktales Pankreasadenokarzinoms: Datenzusammenstellung
[10]

Die Kriterien von Robins et al. [50] wurden als Grundlage für diese Arbeit gewählt, weil diese als erste Haupt- und Nebenkriterien unterteilten und damit eine sehr hohe Sensitivität und Spezifität für die Diagnosestellung eines Pankreaskarzinom erzielten, wenn \geq zwei Hauptkriterien / ein Haupt- und drei Nebenkriterien zutrafen.

Nicht nur suspekta / atypische Fälle oder zellarme Präparate waren schwierig zu diagnostizieren, sondern auch Zytologien von (chronischer) Pankreatitis [6;8;19;42;67], reaktiven / inflammatorischen Prozessen [3;59;60], Präparate vom gut-differenzierten Adenokarzinomen des Pankreas [3;8;42;31] sowie spezielle Entitäten wie neuroendokrine Tumoren [3;24;48]. Ähnliche Erfahrungen zeigten sich auch in der Literatur. Lin und Staerckel et al. [42] stellten fest, dass die zytologischen Kriterien für gut-differenzierte Adenokarzinome redefiniert bzw. anders gewichtet werden müssten, um auch dieses Karzinom akkurat diagnostizieren zu können. Afify et al. [3], die sich ebenfalls auf Robins et al. [50] bezogen, konnten, möglicherweise bedingt durch die geringe Zellgröße und leichte Übersehbarkeit, in ihrer Studie drei von fünf neuroendokrine Tumoren nicht

diagnostizieren. Solche oder ähnliche Fallstricke können immer wieder auftreten und müssen bei der Routinediagnostik beachtet werden. Eine diagnostische Absicherung in diesen schwierigen Fällen kann durch Verwendung von Zusatzmethoden erfolgen. Diese Arbeit zeigt ebenfalls bei Einzelfällen diese Probleme, sodass diese für die Untersuchung mittels DNA-Zytometrie ausgewählt wurden.

5.2.2 DNA-Zytometrie

Die DNA-Zytometrie als Zusatzmethode zur Diagnostik von Pankreaskarzinomen aus zytologischem Material ist anwendbar, auch für eine routinemäßige Nutzung [17;39;46]. Die DNA-Zytometrie hilft bei der Beurteilung / Diagnosesicherung von speziellen Entitäten, wie neuroendokrine Tumoren, IPMN oder muzinösen Tumoren, die bei Verwendung der zytomorphologischen Kriterien nicht immer als sicher "maligne" diagnostiziert wurden. In der vorliegenden Arbeit gibt es exemplarische Fälle, die unter 4.6 beschrieben wurden. Anhand dieser Beispiele kann der DNA-Zytometrie ein Zugewinn an diagnostischer Sicherheit zugesprochen werden [54;66]. Sie kann damit für die Diagnosestellung einer Neoplasie eingesetzt werden bzw. mit einer möglichen histologischen Nachverfolgung / Bestätigung sogar eine Frühdiagnose von Malignität ermöglichen [13;32;54;66].

Der als speziell beschriebene Fall mit dem serös-mikrozystischen Adenom und parallelem Vorkommen einer PanIN II zeigte hingegen die diagnostischen Grenzen der DNA-Zytometrie.

In drei benignen Fällen, die sich in unserem Kollektiv befanden, wurde in der Auswertung deutlich, wie sehr die Nutzung der DNA-Zytometrie vom Anwender abhängt [22;29;30]. In zwei von drei Fällen wurden Aneuploidien von $>5c$ nachgewiesen. Die beiden "falsch maligne" gemessenen Fälle wurden unter 4.6 dargestellt. Der erst genannte Fall mit den vielen Zylinderepithelien weist auf die richtige Auswahl der Referenzzellen hin. In diesem Fall wurden zu wenige Zylinderepithelien als Referenzzellen gewählt, sodass diese während der Messung als nicht normal gewertet wurden. Der zweit genannte Fall mit den wenigen atypischen Epithelien zeigt die Auswirkungen der Einzellzellbeurteilung auf. Die Interpretation der DNA-Zytometrie in diesem Fall muss bei der Präsenz von nur wenigen

atypischen Einzellzellen und gemessenen Aneuploidien kritisch vorgenommen werden [13-15].

Um falsch positive Fälle, wie beispielsweise oben beschriebene, zu vermeiden, sollte die Wahl der Referenzzellen genau bedacht und mit dem vorhandenen Material im Ausstrich abgeglichen werden. Repräsentative Epithelzellen des zu untersuchenden Organs, wie z.B. Gang- / Drüsenepithel aus Galle / Pankreas, sind den universal vorkommenden Granulozyten oder Lymphozyten vorzuziehen. Eine weitere Möglichkeit wäre der Einsatz von normalen Zellen des jeweiligen Organs als diploider externer Standard [66]. Letztlich ist, durch die geschilderten Beispiele, zu erkennen, dass die DNA-Zytometrie als weitere diagnostische Methode nicht unkritisch eingesetzt werden darf, sondern sie sollte immer mit allen vorhandenen Befunden (interdisziplinär[1]) bewertet und interpretiert werden.

5.3 Schlussfolgerung

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass die Diagnostik des Pankreaskarzinoms an zytologischem Material möglich ist. Die Gewinnung des zytologischen Materials ist nicht immer einfach, kann aber durch die Etablierung von ROSE erleichtert werden [26;11;43;48] und die Nutzung bekannter zytomorphologischer Kriterien [50;10;19;42;44;45;68] kann die Diagnosestellung verbessern. Zudem kann die Zahl der suspekten Fälle minimiert werden. Die größtmögliche diagnostische Sicherheit bietet weiterhin die während einer Operation gewonnene Histologie [1;5], aber bei Kontraindikationen zur Operation, wie Multimorbidität des Patienten [53] oder fehlender Resektabilität kann die Zytologie für eine mögliche lebensverlängernde oder Lebensqualität erhaltende Therapie von großem Nutzen sein. Wenn immer nötig und möglich, sollte eine Zytologie zur Diagnostik bzw. zur Abschätzung der Therapiestrategie gewonnen werden [65;52]. Die Kombination verschiedenster Untersuchungsmethoden wie Histologie, Zytologie, Molekularbiologie, radiologische Darstellung oder klinische Symptomatik und die interdisziplinäre Beurteilung der Befunde sind am besten geeignet für die Diagnosestellung des zu behandelnden Patienten [1;11;23;34;37;51;55;62].

6. Zusammenfassung

Diese retrospektive Arbeit befasste sich mit der zytologischen Diagnostik suspekter Pankreasläsionen des Zeitraums 2005 - 2012 aus dem Institut für Pathologie der Universitätsmedizin Rostock. Die Präparate (103) wurden an Hand der von Robins et al. [50] etablierten Kriterien reevaluiert. Ein Teil der Fälle (39) erhielt eine DNA-zytometrische Analyse, um einen möglichen Zugewinn an diagnostischer Sicherheit zu evaluieren bzw. zu testen, ob eine routinemäßige Anwendung der DNA-Zytometrie möglich und sinnvoll ist. Weiterhin konnten 83 Fällen ermittelt und ausgewertet werden, bei denen gleichzeitig zur Zytologie ein histologisches Präparat und / oder ein Eintrag im Klinischen Krebsregister Rostock vorlag. Diese gesicherten Diagnosen waren für eine Aussage über die diagnostische Treffsicherheit der Pankreaszytologie nutzbar.

Ziel der Arbeit war, die diagnostische Sicherheit des eigenen Zentrums (Institut für Pathologie der Universitätsmedizin Rostock) bezüglich der Diagnose von Pankreaskarzinomen aus Ausstrichpräparaten zu ermitteln und eine mögliche Verbesserung unter der konsequenten Nutzung der Kriterien nach Robins et al. [50] zu evaluieren, indem die erhobenen Daten mit gesicherten Diagnosen aus vorhandenen histologischen Präparaten und / oder Einträgen aus dem Klinischen Krebsregister abgeglichen wurden.

Nach Reevaluation und unter konsequenter Anwendung der aus der Literatur beschriebenen Kriterien [50;19;60] konnte eine 24,3% Reduktion der "suspekten" Beurteilung erreicht und letztlich 93,2% der reevaluierten Gesamtfälle ("benigne" und "maligne") sicher diagnostiziert werden. Es zeigte sich, dass suspekte Fälle mit den Kriterien nach Robin et al. [50] besser interpretiert werden können. Die Reevaluationsergebnisse konnten durch die Auswertung der gesicherten Diagnosen aus den histologischen Präparaten und Daten des Klinischen Krebsregister Rostock validiert werden. Die diagnostische Treffsicherheit von zytologischen Befunden konnte somit ermittelt und eine Sensitivität von 89,16% errechnet werden. Weiterhin zeigte diese Arbeit, dass die DNA-Zytometrie als Zusatzmethode zur Diagnostik von Pankreaskarzinomen aus zytologischem Material routinemäßige nutzbar ist [17;39;46] und bei speziellen Entitäten, wie neuroendokrinen oder muzinösen Tumoren zusätzliche diagnostische Sicherheit gibt.

Schlussendlich ist die Diagnostik des Pankreaskarzinoms aus zytologischem Material mit hinreichender diagnostischer Sicherheit möglich. Die größtmögliche diagnostische

Sicherheit bietet weiterhin ein histologisches Präparat. Letztlich ist die Kombination verschiedenster Untersuchungsmethoden wie Histologie, Zytologie, Molekularbiologie, radiologische Darstellung oder klinische Symptomatik und die interdisziplinäre Beurteilung der erhobenen Befunde am Effektivsten für die Diagnosestellung des betroffenen Patienten.

7 Literaturverzeichnis

1. Abdelgawwad MS., Alston E. and Eltoum IA. The Frequency and Cancer Risk Associated With the Atypical Cytologic Diagnostic Category in Endoscopic Ultrasound-Guided Fine-Needle Aspiration Specimens of Solid Pancreatic Lesions. *Cancer (Cancer Cytopathol)* 2013; 121: 620-628
2. Adler D, Schmidt CM, Al-Haddad M, Barthel JS, Ljung B-M, Merchant NB, Romagnuolo J, Shaaban AM, Simeone D, Pitman MB, Field A and Layfield LJ. Clinical Evaluation, Imaging Studies, Indications for Cytologic Study, and Preprocedural Requirements for Duct Brushing Studies and Pancreatic FNA: The Papanicolaou Society of Cytopathology Recommendation for Pancreatic and Biliary Cytology. *Diagn. Cytopathol.* 2014; 42:325-332
3. Afify AM, Al-Khafaji BM, Kim B and Scheiman JM. Endoscopic Ultrasound-Guided Fine Needle Aspiration of the Pancreas Diagnostic Utility and Accuracy. *Acta Cytol* 2003; 47: 341-348
4. Al- Kasi N, Siegler EE. Fine needle aspiration cytology of the pancreas. *Acta Cytol* 1989; 33: 145-152
5. Almadi MA. and Barkun AN. Endoscopic Ultrasound Guided Fine Needle Aspiration: Results are Reproducible. *The Saudi Journal of Gastroenterology* 2012; 18(6): 347-348
6. Bardales RH, Stelow EB, Mallery S, Lai R, Stanley MW. Review of Endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration cytology. *Diagn Cytopathol* 2006; 34: 140-175
7. Baron TH, Harewood GC, Rumalla A, Pochron NL, Stadheim LM, Gores GJ, Therneau TM, de Groen PC, Sebo TJ, Salomao DR and Kipp BR. A prospective comparison of Digital Image Analysis and Routine Cytology for the Identification of Malignancy in Biliary Tract Strictures. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2:214-219
8. Barr Fritcher EG, Caudill JL, Blue JE, Djuric K, Feipel L, Maritim BK, Ragheb AA, Halling KC, Henry MR, and Clayton AC: Identification of Malignant Cytologic Criteria in Pancreatobiliary Brushings With Corresponding Positive Fluorescence In Situ Hybridization Results. *Am J Clin Pathol* 2011; 136:442-449
9. Basir Z, Pello N, Dayer AM, Shidham VB and Komorowski RA. Accuracy of cytologic Interpretation of Pancreatic Neoplasms by Fine Needle Aspiration and Pancreatic Duct Brushings. *Acta Cytol* 2003; 47: 733-738
10. Bellizzi AM, Stelow EB. Pancreatic Cytopathology A Practical Approach an Review. *Arch Pathol Lab Med.* 2009;133:388-404
11. Bergeron JP., Perry KD., Houser PM and Yang J. Endoscopic Ultrasound-Guided Pancreatic Fine-Needle Aspiration: Potential Pitfalls in One Institution's Experience of 1212 Procedures. *Cancer (Cancer Cytopathol)* 2015; 123: 98-107
12. Biesterfeld S. and Deacu L. DNA Image Cytometry in the Differential Diagnosis of Benign and Malignant Lesions of the Bile Duct, the Pancreatic Duct and the Papilla of Vater. *Anticancer Research* 2009; 29: 1579-1584

13. Böcking A. DNA-Zytometrie und Automation in der klinischen Diagnostik. *Verh. Dtsch. Ges. Path.* 1990; 74: 176-185
14. Böcking A, Giroud F, Reith A. Consensus report of the European Society for Analytical Cellular Pathology task force on standardisation of diagnostic DNA image cytometry. *European Society for Analytical Cellular Pathology. Anal Cell Pathol.* 1995; 8:67-74
15. Böcking A, Giroud F, Reith A. Consensus report of the ESACP task force on standardisation of diagnostic DNA image cytometry. *European Society for Analytical Cellular Pathology. Anal Quant Cytol Histol.* 1995; 17:1-7
16. Bosman F.T., Carneiro F., Hruban R. H., Theise N.D. (Eds). *WHO Classification of Tumors of the Digestive System.* IARC: Lyon 2010 ; 4te Auflage; S.280-291
17. Brugge W, DeWitt J, Klapman JB, Ashfaq R, Shidham V, Chhieng D, Kwon R, Baloch Z, Zarka M and Staerkel G. Techniques for Cytologic Sampling of Pancreatic and Bile Duct Lesions. *Diagn. Cytopathol.* 2014; 42:333-337
18. Bubendorf L., Feichter G.E., Obermann E.C., Dalquen P. *Zytopathologie*, Springer 2011, 3te. Auflage S.398-410
19. Cohen MB, Egerter DP, Holly EA, Ahn DK, Miller TR. Pancreatic carcinoma: Regression analysis to identify improved cytologic criteria. *Diagn Cytopathol* 1991; 7: 341-347
20. Costache MI., Iordache S., Karstensen JG., Săftoiu A., Vilman P. Endoscopic Ultrasound-Guided Fine Needle Aspiration: From the Past to the Future. *Endosc Ultrasound* 2013; 2(2): 77-85
21. De La Cruz MSD., Young AP. and Ruffin MT. Diagnosis and Management of Pancreatic Cancer. *Am Fam Physician.* 2014; 89 (8): 626-632
22. Dr. Olaf Ahrens Messtechnische Beratung; *Handbuch der DNA-Zytometrie des Institutes für Pathologie der Universität Rostock*
23. Esposito I., Konukiewitz B., Schlitter AM., Klöppel G. Pathology of pancreatic ductal adenocarcinoma: Fact, challenges and future development. *World J Gastroenterol* 2014; 20(38): 13833-13841
24. Fernandez-del Castillo C. Standardized Cytopathology Reporting for the Pancreas: The Time is Right. *Cancer Cytopathology* 2014;122: 397-398
25. Gagovic V., Spier BJ., DeLee RJ., Barancin C., Lindstrom M., Einstein M., Byrne S., Harter J., Agni R., Pfau PR., Frick TJ., Soni A., Gopal DV. Endoscopic ultrasound fine-needle aspiration characteristics of primary adenocarcinoma versus other malignant neoplasms of the pancreas. *Can J Gastroenterol* 2012; 26(10): 691-696
26. Ganc RL., Carbonari APC., Colaiacovo R., Araujo J., Filippi S., Silva RA., Pacheco Junior MP., Rossini LGB., Giovannini M. Rapid on-site cytopathological examination (ROSE) performed by endosonographers and its improvement in the diagnosis of pancreatic solid lesions. *Acta Cirúrgica Brasileira* 2015 Vol. 30(7): 503-508
27. Garcia JJ. Endoscopic Ultrasound-Guided Fine Needle Aspiration for Solid Pancreatic Masses. Optimizing the Diagnostic Yield. *J Gastrointestin Liver Dis*

2013; 22: 127-128

28. Goodale RL, Kazimiera GP, Dressel T, Samuelson J. Cytologic studies for the diagnosis of pancreatic cancer. *Cancer* 1981; 47: 1652-1655
29. Haroske G., Dimmer V., Meyer W. and Kunze KD. DNA histogram interpretation based on statistical approaches. *Analytical Cellular Pathology* 1997; 15: 157-173
30. Haroske G., Giroud F., Reith A. and Böcking A. Part I: Basic considerations and recommendations for preparation, measurement and interpretation. *Analytical Cellular Pathology* 1998; 17: 189-200
31. Hejka AG, Bernacki EG. Cytopathology of well-differentiated columnar adenocarcinoma of the pancreas diagnosed by fine needle aspiration (abstr). *Acta Cytol* 1990; 34: 716
32. Herrera MF, van Heerden JA, Katzmann JA, Weiland LH, Nagorney DM and Ilstrup D. Evaluation of DNA Nuclear Pattern as a prognostic Determinant in resected Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Ann. Surg.* 1992; 215(2): 120-124
33. Itho K, Yamanaka K, Koike M, Nakamura A, Hayashi A, Kimura K, Morioka Y, Kawaii T. Definitive diagnosis of pancreatic carcinoma with percutaneous fine needle aspiration biopsy under ultrasonic guidance. *Am J Gastroenterol* 1979; 71: 469-472
34. Kaur S., Baine MJ., Jain M., Sasson AR., Batra SK. Early diagnosis of pancreatic cancer: challenges and new developments. *Biomark Med.* 2012; 6(5): 597-612
35. Koss' diagnostic cytologie and its histopathologic bases/ editor, Leopold G. Koss, coeditors, Myron R. Melamed. - 5th. ed. 2006; S.1428-1456
36. Krebs in Deutschland 2011/2012.
10. Ausgabe. Robert Koch-Institut (Hrsg) und die Gesellschaft
der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (Hrsg). Berlin, 2015
37. Kudo T., Kawakami H., Kuwatani M., Eto K., Kawahata S., Abe Y., Onodera M., Ehira N., Yamato H., Haba S., Kawakubo K., Sakamoto N. Influence of the safety and diagnostic accuracy of preoperative endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration for resectable pancreatic cancer on clinical performance. *World J Gastroenterol* 2014; 20(13): 3620-3627
38. Kurtycz D, Tabatabai ZL, Michaels C, Young N, Schmidt CM, Farrell J, Gopal D, Simeone D, Merchant NB, Field A and Pitman MB. Postbrushing and Fine-Needle Aspiration Biopsy Follow-Up and Treatment Options for Patients with Pancreatobiliary Lesions: The Papanicolaou Society of Cytopathology Guidelines. *Diagn. Cytopathol.* 2014; 42:363-371
39. Layfield LJ, Ehya H, Filie AC, Hruban RH, Jhala N, Joseph L, Vielh P and Pitman MB. Utilization of Ancillary Studies in the Cytologic Diagnosis of Biliary and Pancreatic Lesions: The Papanicolaou Society of Cytopathology Guidelines for Pancreatobiliary Cytology. *Diagn. Cytopathol.* 2014; 42:351-362
40. Leitlinienprogramm Onkologie (Deutsche Krebsgesellschaft, Deutsche Krebshilfe, AWMF): S3-Leitlinie Exokrines Pankreaskarzinom, Langversion 1.0, 2013, AWMF Registernummer: 032-010OL, <http://leitlinienprogramm-onkologie.de/Leitlinien.7.0.html>

41. Lewitowicz P., Matykiewicz J., Heciak J., Koziel D. and Gluszek S. Percutaneous Fine Needle Biopsy in Pancreatic Tumors: A Study of 42 Cases. *Gastroenterology Research and Practice* 2012; Article ID 908963, 7 pages
42. Lin F, Staerckel G. Cytologic criteria for well differentiated adenocarcinoma of the pancreas in fine-needle aspiration biopsy specimens. *Cancer*. 2003; 99: 44-50
43. Matsuyama M., Ishii H., Kuraoka K., Yukisawa S., Kasuga A., Ozaka M., Suzuki S., Takano K., Sugiyama Y., Itoi T. Ultrasound-guided vs endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration for pancreatic cancer diagnosis. *World J Gastroenterol* 2013; 19(15): 2368-2373
44. Mitchell ML, Carney CN. Cytologic criteria for the diagnosis of pancreatic adenocarcinoma. *Am J Clin Pathol* 1985; 83: 171-176
45. Mitchell ML, Bittner CA, Wills JS, Parker FP. Fine needle aspiration cytology of the pancreas: A retrospective study of 73 cases. *Acta Cytol* 1988; 32: 447-451
46. Moreno Luna LE, Kipp B, Halling KC, Sebo TJ, Kremers WK, Roberts LR, Barr Fritcher EG, Levy MJ and Gores GJ. Advanced Cytologic Techniques for the Detection of Malignant Pancreatobiliary Strictures. *Gastroenterology* 2006; 131(4):1064-1072
47. Motulsky H. . *Intuitive biostatistics*. Oxford University Press. Inc.1995: S.129-132
48. Nelsen EM., Buehler D., Soni AV., Gopal DV. Endoscopic ultrasound in the evaluation of pancreatic neoplasms-solid and cystic: A review. *World J Gastrointest Endosc* 2015; 7(4): 318-327
49. Pitman MB, Centeno BA, Ali SZ, Genevay M, Stelow E, Mino-Kenudson M, del Castillo CF, Schmidt CM, Brugge W and Layfield L. Standardized Terminology and Nomenclature for Pancreatobiliary Cytology: The Papanicolaou Society of Cytopathology Guidelines. *Diagn. Cytopathol.* 2014; 42:338-350
50. Robins DB, Katz RL, Evans DB, Atkinson EN, Green L. Fine-needle aspiration of the pancreas. In quest of accuracy. *Acta Cytol* 1995; 39:1-10
51. Rossi ML., Rehman AA., Gondi CS. Therapeutic options for the management of pancreatic cancer. *World J Gastroenterol* 2014; 20(32): 11142-11159
52. Rumalla A, Baron TH, Leontovich O, Burgart LJ, Yacavone RF, Therneau TM, de Groen PC, Sebo TJ. Improved diagnostic yield of endoscopic biliary brush cytology by digital image analysis. *Mayo Clin Proc.* 2001; 76(1):29-33
53. Sears RJ, Duckworth CW, Decaestecker C, Bourgeois N, Ledent T, Deviere J, Salmon I, Kiss R, Yeaton P. Image cytometry as a discriminatory tool for cytologic specimens obtained by endoscopic retrograde cholangiopancreatography. *Cancer* 1998; 84(2):119-126
54. Sebo TJ. Digital image analysis. *Mayo Clin Proc* 1995; 70:81-82
55. Seufferlein T., Bachet JB., Van Cutsem E. & Rougier P., on behalf of the ESMO Guidelines Working Group. Pancreatic adenocarcinoma: ESMO-ESDO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology* 2012; 23(7): 33-40
56. Shankey TV., Rabinovitch PS., Bagwell B., Bauer KD., Duque RE., Hedley DW., Mayall BH. and Wheelless L. Guidelines for Implementation of Clinical DNA

Cytometry. Cytometry 1993; 14: 472-477

57. Southern JF., Warshaw AL. and Lewandrowski KB. DNA Ploidy Analysis of Mucinous Cystic Tumors of the Pancreas-Correlation of Aneuploidy with Malignancy and Poor Prognosis. *Cancer* 1996; 77: 58-62
58. Standards of Practice Task Force Members: Suen KC, Abdul-Karim FW, Kaminsky DB, Layfield LJ, Miller TR, Spires SE and Stanley DE, consultant Members: CWM Bedrossian, MB Cohen, Frable WJ, Kline TS, LiVolsi VA, Nguyen G-K, Powers CN, Silverman JF, Stanley MW and Thomson TA. Guidelines of the Papanicolaou Society of Cytopathology for Fine-Needle Aspiration Procedure and Reporting. *Diagn. Cytopathol.* 1997; 17:239-247
59. Soudah B, Fritsch RS, Wittekind C, Hilka B, Spindler B. Value of the cytologic analysis of fine needle aspiration biopsy specimens in the diagnosis of pancreatic carcinoma. *Acta Cytol* 1989; 33: 875-880
60. Tao LC, Ho CS, Michael BS, McLoughlin MJ, McHattie BS and J. Percutaneous fine needle aspiration biopsy of the pancreas: Cytodiagnosis of pancreatic carcinoma. *Acta Cytol* 1978; 22: 215-219
61. Tempero MA., Arnoletti JP., Behrman SW., Ben-Josef E., Beson III AB., Casper ES., Cohen SJ., Czito B., Ellenhorn JDI., Hawkins WG., Herman J., Hoffman JP., Ko A., Komanduri S., Koong A., Ma WW., Malafa MP., Merchant NB., Mulvihill SJ., Muscarella II P., Nakakura EK., Obando J., Pitman MB., Sasson AR., Tally A., Thayer SP., Whiting S., Wolff RA., Wolpin BM., Freedman-Cass DA., and Shead DA. Pancreatic Adenocarcinoma, Version 2.2012 Featured Updates to the NCCN Guidelines. *JNCCN* 2012; 10: 703-713
62. Vincent A., Herman J., Schulick R., Hruban RH., Goggins M. Pancreatic cancer. *Lancet* 2011; 378(9791): 607-620
63. Walter de Gruyter GmbH & Co.KG. 2001 Pschyrembel Klinisches Wörterbuch 259. Auflage
64. Warshaw AL, Fernandez-del Castillo C. Pancreatic carcinoma. *N Engl J Med* 1992;326:455-465
65. Weger AR, Glaser KS, Schwab G, Oefner D, Bodner E, Auer GU, Mikuz G. Quantitativ nuclear DNA content in fine needle aspiration of pancreatic cancer. *Gut.* 1991; 32: 325-328
66. Yeaton P, Kiss R, Deviere J, Salomon I, Bourgeois N, Pasteels JL, Cremer M. Use of cell image analysis in the detection of cancer from specimens obtained during endoscopic retrograde cholangiopancreatography. *Am J Clin Pathol.* 1993; 100(5):497-501
67. Yeaton P, Sears RJ, Ledent T, Salmon I, Kiss R and Decaestecker. Discrimination between Chronic Pancreatitis and Pancreatic Adenocarcinoma using artificial Intelligence-Related Algorithms based on Image Cytometry-Generated Variables. *Cytometry.* 1998; 32: 309-316
68. Ylagan LR, Edmundowicz S, Kasal K, Walsh D, Lu DW. Endoscopic ultrasound guided fine-needle aspiration cytology of pancreatic carcinoma: a 3-year experience and review of the literature. *Cancer* 2002; 96(6): 362-369
69. Brierley JD, Gospodarowicz MK, Wittekind Ch. TNM Classification of Malignant

Tumors, 8th Edition. Wiley-Blackwell 2016; S. 93-95

8 Abkürzungsverzeichnis

5-FU	5-Fluoruracil
A. mes. sup.	Arteria mesenterica superior
CEA	Karzinoembryonales Antigen
chron.	chronisch
CT	Computertomographie
EKG	Elektrokardiogramm
ERCP	Endoskopisch-retrograde-Cholangiopankreatikographie
ERP	Endoskopisch-retrograde-Pankreatikographie
EUS	Endoskopischer Ultraschall
FISH	Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung
FNAB	Feinnadelaspirationsbiopsie
GIST	gastrointestinaler Stromatumor
IOD	integrierte optische Dichte
IPMN	Intraduktale papilläre-muzinöse Neoplasie
Lig.	Ligamentum
LK	Lymphknoten
MRT	Magnet-Resonanz-Tomographie
n.a.	not available
nm	Nanometer
o.ä.	oder ähnliches
PanIN	Pankreatische intraepitheliale Neoplasie
PET	Positronen Emissions Tomografie
PTCD	perkutane transhepatische Cholangiodrainage
R0	makroskopische und mikroskopische Resektion im Gesunden
R1	makroskopische Resektion im Gesunden
ROSE	Rapid on-side cytopathological examination
RF	Raumforderung
RFS	Rezidiv free Survival
UICC	Union for International Cancer Control
US	Ultraschall
V. mes. sup.	Vena mesenterica superior
WHO	World Health Organization

9 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: DNA-Zytometrie Arbeitsplatz im Institut für Pathologie der Universität Rostock

Abbildung 2: Histogramm eines Normalbefundes

Abbildung 3: Histogramm eines Normalbefundes mit Proliferation

Abbildung 4: Histogramm mit aneuploiden Einzelzellen

Abbildung 5: Histogramm proliferierender Normalzellen und aneuploider Einzelzellen

Abbildung 6: Histogramm mit aneuploider Stammlinie 3,2c

Abbildung 7: Histogramm mit aneuploider Stammlinie 3,5c und aneuploiden Einzelzellen

Abbildung 8: Pankreaskopfadenokarzinom - G4; Einzelzellen und anaplastische Zellkerne (Papanicolaou 20x)

Abbildung 9: Pankreaskopfadenokarzinom - G1/2; Crowding und Makronukleolen (Papanicolaou 100x)

Abbildung 10: IPMN vom intestinalen Typ - G4; Mitosefigur und Kernmembranirregularität (Papanicolaou 100x)

Abbildung 11: Adenokarzinom des Pankreas; Crowding und Nekrose (Papanicolaou 100x)

Abbildung 12: Adenokarzinom des Pankreaskopfes; Kernmembranirregularität, Chromatinverklumpung und Kernvergrößerung (Papanicolaou 100x)

Abbildung 13: Pankreaskopfadenokarzinom - G4; anaplastische Riesenkerne

Abbildung 14: Adenokarzinom des Pankreaskorpus, Z.n. Operation nach Whipple; Crowding, Einzelzellen und Nekrose (Papanicolaou 20x)

Abbildung 15: Histogramm eines Normalbefundes

Abbildung 16: Histogramm eines Normalbefundes mit Proliferation (IPMN)

Abbildung 17: Histogramm mit aneuploider Stammlinie 3,8c (neuroendokriner Tumor)

Abbildung 18: Histogramm mit aneuploider Stammlinie 3,2c und aneuploiden Einzelzellen (Pankreasadenokarzinom)

Abbildung 19: Histogramm eines Normalbefundes mit Proliferation (mucinös-zystischen Tumor)

Abbildung 20: Histogramm mit aneuploider Stammlinie (Rezidiv eines Gallenblasenkarzinoms)

10 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	TNM-Klassifikation des Pankreaskarzinoms
Tabelle 2:	Stadieneinteilung des Pankreaskarzinoms nach UICC
Tabelle 3:	Histologische Charakteristika
Tabelle 4:	Zytologische Charakteristika
Tabelle 5:	Häufigkeit der Indikation und des Materials
Tabelle 6:	Malignitätsbeurteilung des Zellbildes
Tabelle 7:	Material und Diagnose der Histologie
Tabelle 8:	Reevaluation der 103 Fälle nach den Kriterien von Robins et al.
Tabelle 9:	Ergebnisübersicht der 103 Reevaluationspräparate
Tabelle 10:	Messergebnisse der DNA-Zytometrie
Tabelle 11:	Ergebnisübersicht der 39 DNA-Zytometrie Fälle
Tabelle 12:	Therapieoptionen der Patienten laut Krebsregister Rostock
Tabelle 13:	Diagnosen aus den Follow-up Daten
Tabelle 14:	Ergebnisübersicht der 83 gesicherten Diagnosen
Tabelle 15:	Zusammenfassung zytologischer Kriterien für die Diagnostik von Pankreaskarzinomen aus der Literatur
Tabelle 16:	spezifische zytologische Charakteristika des duktales Pankreasadenokarzinoms: Datenzusammenstellung

Thesen

1. Im Jahr 2012 lag das Pankreaskarzinom mit rund 16700 Neuerkrankungen und fast ebenso vielen Verstorbenen auf dem 4ten Platz der Krebstodesfälle in Deutschland. Die Zahlen zeigen, dass die Inzidenz und Mortalitätsrate dieser Erkrankung sehr nahe beieinander liegen und ein langes Überleben eine Ausnahme darstellt.
2. Die Diagnostik des Pankreaskarzinoms gestaltet sich, bedingt durch die anatomische Lage dieses Organs, schwierig. Gewonnene Zytologien dienen nicht nur der Abklärung suspekter Befunde in der Bildgebung, sondern können auch die Therapiemöglichkeiten beeinflussen und damit dem oft älteren Patienten eine gewisse Lebensqualität erhalten.
3. Die Sicherheit der getroffenen Diagnose anhand eines zytologischen Präparates ist nicht nur für den Patienten von immenser Wichtigkeit, sondern auch für das jeweilige Institut bzw. Zentrum, um eine eigene Qualitätskontrolle zu leisten bzw. einen Vergleich zu ermöglichen. Dazu ist es wichtig und nötig, dass eigene Ergebnisse (empirische/fachliche Diagnose) ermittelt, bewertet und ggf. verbessert werden.
4. Die konsequente Nutzung von zyto-morphologischen Kriterien bei Pankreaszytologien verbessert bzw. vereinfacht die Diagnosestellung und erhöht die Sensitivität.
5. Die konsequente Nutzung von zyto-morphologischen Kriterien minimiert die Anzahl von suspekten Fällen.
6. Die DNA-Zytometrie als Zusatzmethode bei der Diagnostik von Pankreaskarzinomen aus Pankreaszytologien ist möglich und kann eine definitive Diagnose erleichtern, muss aber kritisch bewertet werden.
7. Die zusätzliche Nutzung der DNA-Zytometrie kann die Diagnose "suspekt" in ihrer Häufigkeit reduzieren.
8. Die zyto-morphologischen Kriterien können teilweise spezielle Entitäten wie das IPMN, neuroendokrine Tumore oder papillär-muzinöse Adenokarzinome nicht mit Sicherheit diagnostizieren, sodass in diesen Fällen die DNA-Zytometrie als diagnostisches Mittel zur Diagnosestellung genutzt werden kann.

Erklärung

Ich versichere, dass ich diese Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe geschrieben, keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen kenntlich gemacht habe. Die Arbeit wurde bisher keiner Prüfungskommission vorgelegt und auch noch nicht veröffentlicht.

Rethwisch, den 30.05.2017

Ines Gebauer