

Aus dem Institut für Cytopathologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. A. Böcking

**DNA-Zytometrie zur Differenzierung zwischen
Pleomorphen Adenomen und Karzinomen
der Speicheldrüsen**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der

Zahnmedizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität

Düsseldorf

vorgelegt von

Oliver Stupar

2010

Als Inauguraldissertation
gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf

Referent: Univ.-Prof. Dr. med. Alfred Böcking

Korreferent: Univ.-Prof. Dr. med. Jörg Schipper

Inhaltsverzeichnis

1	<u>EINLEITUNG</u>	1
1.1	EMBRYOLOGIE	1
1.2	EPIDEMIOLOGIE	1
1.3	LOKALISATION UND VERTEILUNG.....	2
1.4	ÄTIOLOGIE	3
1.5	KLASSIFIKATION DER SPEICHELDRÜSENTUMOREN.....	5
1.6	HISTOPATHOLOGIE AUSGEWÄHLTER SPEICHELDRÜSENTUMOREN	7
1.6.1	PLEOMORPHES ADENOM	7
1.6.2	ZYSTADENOLYMPHOM (WARTHIN-TUMOR)	8
1.6.3	AZINUSZELLKARZINOM.....	8
1.6.4	MUKOEPIDERMOIDKARZINOM	9
1.6.5	ADENOID-ZYSTISCHES KARZINOM	10
1.6.6	ADENOKARZINOM.....	10
1.7	DIAGNOSTIK DER SPEICHELDRÜSENTUMOREN.....	11
1.7.1	PROBEBIOPSIE.....	12
1.7.2	STANZBIOPSIE	12
1.7.3	FEINNADELASPIRATIONSBIOPSIE	12
1.8	DNA ZYTOMETRIE	16
1.8.1	ANEUPLOIDIE	17
1.8.2	DNA-BILDZYTOMETRIE.....	20
1.9	ZIELE DER ARBEIT	23

2	<u>MATERIAL UND METHODEN</u>	24
2.1	PATIENTEN UND PRÄPARATE.....	24
2.1.1	PRÄPARATEGEWINNUNG.....	27
2.1.2	ZYTOLOGISCHE DIAGNOSTIK.....	27
2.1.3	FEULGEN-FÄRBUNG	29
2.2	GERÄTE UND MESSTECHNIK.....	32
2.2.1	MESSTECHNIK	32
2.2.2	GERÄTETECHNIK.....	34
2.2.3	MESSVORGANG	34
2.2.4	QUALITÄTSSICHERUNG	35
2.2.5	INTERPRETATION DER MESSERGEBNISSE	36
2.3	STATISTISCHE AUSWERTUNGEN UND ANALYSEN	37
3	<u>ERGEBNISSE</u>	39
3.1	DESKRIPTIVE DARSTELLUNG KLINISCHER DATEN	39
3.1.1	PATIENTENKOLLEKTIV	39
3.1.2	ALTER UND GESCHLECHT.....	39
3.1.3	ZYTOLOGISCHE UND HISTOPATHOLOGISCHE DIAGNOSEN	40
3.1.3.1	ZYTOLOGISCHE DIAGNOSEQUALITÄT	40
3.1.3.2	DIGNITÄTSDIAGNOSTIK	42
3.1.4	ZYTOLOGISCHE, HISTOLOGISCHE UND DNA-ZYTOMETRISCHE DIAGNOSEN	48
3.2	ANALYTISCHE STATISTIK	50
3.2.1	STAMMLINIENMODALWERTE	52
3.2.1.1	STAMMLINIEN DER ADENOME.....	53
3.2.1.2	STAMMLINIEN DER KARZINOME	54
3.2.1.3	LAGE DER STAMMLINIENMODALWERTE IM VERGLEICH ADENOME UND KARZINOME ..	55
3.2.1.4	VIER-FELDER-TAFEL STAMMLINIENMODALWERTE	56

3.2.2	EXCEEDING EVENTS.....	57
3.2.2.1	ANZAHL DER 9C EXCEEDING EVENTS	57
3.2.2.2	9C EXCEEDING EVENTS BEI ADENOMEN	58
3.2.2.3	9C EXCEEDING EVENTS BEI KARZINOMEN.....	59
3.2.2.4	ANZAHL DER 9C EX EVENTS IM VERGLEICH VON ADENOMEN UND KARZINOMEN	60
3.2.2.5	VIER-FELDER-TAFEL 9C EXCEEDING EVENTS.....	61
3.2.3	AUFTRETEN VON 5C EXCEEDING EVENTS.....	62
3.2.3.1	5C EXCEEDING EVENTS BEI ADENOMEN	63
3.2.3.2	5C EXCEEDING EVENTS BEI KARZINOMEN.....	64
3.2.3.3	5C EXCEEDING EVENTS IM VERGLEICH VON ADENOMEN UND KARZINOMEN.....	65
3.2.3.4	VIER-FELDER-TAFEL 5C EXCEEDING EVENTS.....	66
3.2.4	2C DEVIATION INDEX	67
3.2.4.1	VIER-FELDER-TAFEL 2C DEVIATION INDEX	69
3.2.5	MULTIVARIATE ANALYSE.....	70
3.2.5.1	VIER-FELDER-TAFEL DNA-ZYTOMETRIE	73
4	<u>DISKUSSION</u>	74
4.1	PATIENTEN UND PRÄPARATE.....	74
4.2	DNA-ZYTOMETRIE.....	75
4.3	ANEUPLOIDIE ALS MALIGNITÄTSMERKMAL	76
4.4	AUSSAGEN DER DESKRIPTIVEN STATISTIK.....	77
4.5	AUSSAGEN DER ANALYTISCHEN STATISTIK	80
4.6	BEWERTUNG DER DNA-ZYTOMETRIE.....	81
5	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	82

6	<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	84
7	<u>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</u>	94
8	<u>ABBILDUNGSVERZEICHNIS</u>	96
9	<u>TABELLENVERZEICHNIS</u>	98
10	<u>TESTVERZEICHNIS</u>	100
11	<u>ANHANG</u>	103
12	<u>DANKSAGUNG</u>	119
13	<u>CURRICULUM VITAE</u>	121

1 EINLEITUNG

1.1 EMBRYOLOGIE

In der 6. bis 9. Embryonalwoche entstehen die Speicheldrüsen aus soliden ektodermalen Epithelsprossen der Mundschleimhaut. Durch Teilung und Sprossung entwickelt sich ein Gangsystem mit terminalen Azini. Korbartig wird diese duktulo-aziniäre Einheit von kontraktilen Myoepithelzellen umgeben, welche zusammen das gemeinsame Bauprinzip aller Speicheldrüsen bilden [Böcker et al., 2004].

1.2 EPIDEMIOLOGIE

95% aller Speicheldrüsentumoren bei Erwachsenen sind epithelialen Ursprungs [Böcker et al., 2004]. Die epithelialen Speicheldrüsentumoren haben einen Anteil von ca. 0,3% an allen Neoplasien. Bezogen auf die Kopf-Hals-Region mit Ausnahme von Hirn- und Hauttumoren liegt ihr Anteil bei 4-6% [Lang u. Ihrler, 2003].

Für Speicheldrüsenmalignome findet sich in Deutschland eine Inzidenzrate von 0,6:100.000 bei Männern und 0,4:100.000 bei Frauen [Globocan, 2007]. Die Mortalitätsrate für Männer liegt bei 0,35 und für Frauen bei 0,26. Die Mortalitätsraten der weiteren Kopf-Hals-Malignome in Deutschland kann Tabelle 1 entnommen werden [Schlesinger-Raab et al., 2003].

Tabelle 1: Rohe Mortalitätsraten für bösartige Tumoren der Kopf-Hals-Region berechnet aus der jährlichen Anzahl der Todesfälle bzw. Neuerkrankungen bezogen auf 100.000 der Bevölkerung in Deutschland [nach Schlesinger-Raab et al., 2003]

Lokalisation	Männer	Frauen
Zunge	1,64	0,66
Lippe	0,06	0,04
Speicheldrüse	0,35	0,26
Mundhöhle	2,14	0,61
Larynx	3,34	0,44
Oropharynx	2,14	0,66
Nasopharynx	0,24	0,10
Hypopharynx	2,15	0,32
Nase und Nasennebenhöhlen	0,25	0,14
Gesamt	12,31	3,23

1.3 LOKALISATION UND VERTEILUNG

Aus dem Speicheldrüsen-Register in Hamburg kann folgende Verteilung des Sitzes der Speicheldrüsentumoren entnommen werden [Seifert et al., 1992]:

- 80% in der Glandula parotis
- 10% in der Glandula submandibularis
- 1% in der Glandula sublingualis
- 9% in den kleinen Speicheldrüsen

Abbildung 1 zeigt, dass 57% der Kopfspeicheldrüsentumoren auf die Adenome entfallen, 28% auf die Karzinome. In jeweils 4% der Fälle lagen nichtepitheliale Tumoren bzw. maligne Lymphome vor, in je 1% periglanduläre bzw. nicht klassifizierbare Tumoren und in 5% der Fälle Metastasen [Seifert u. Sobin, 1992; Doerr et al, 1996].

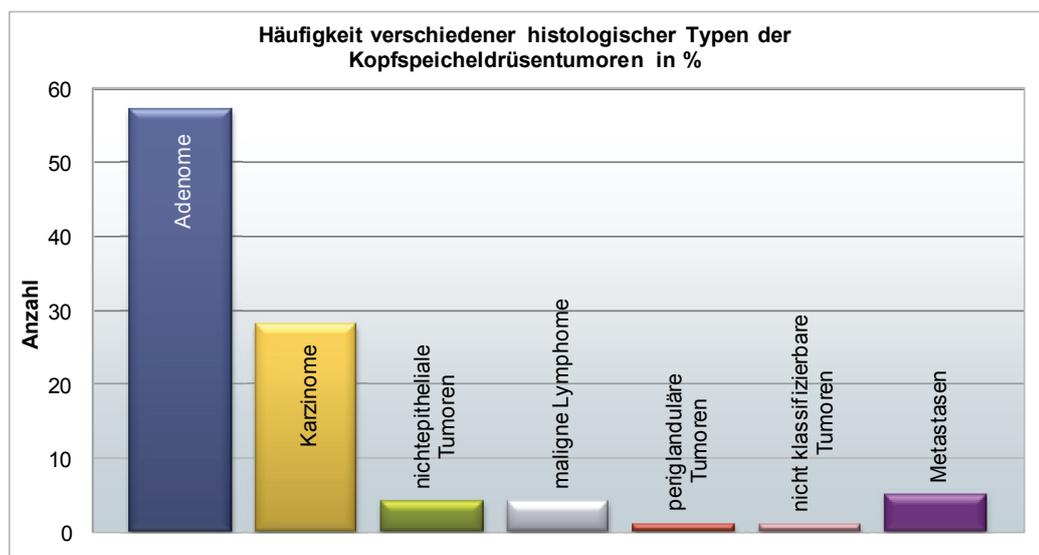


Abbildung 1: Häufigkeit verschiedener histologischer Typen der Kopfspeicheldrüsentumoren in % [Doerr et al., 1996]

Das Verhältnis von benignen zu malignen Speicheldrüsentumoren ist abhängig von ihrer Lokalisation. In der Glandula parotis beträgt es 4:1, in der Glandula submandibularis 1:1, in der Glandula sublingualis 1:9 und in den kleinen Speicheldrüsen 1:1 (Tabelle 2).

Bei Erwachsenen überwiegt der epitheliale Ursprung der Speicheldrüsentumoren.

Bei Kindern sind dagegen benigne, mesenchymale Tumoren häufiger [Böcker et al., 2004].

Insgesamt sind Speicheldrüsentumoren im Kindes- und Jugendalter bis zu einem Alter von 20 Jahren selten und stellen nur 4-5% aller Tumoren der Speicheldrüsen dar [Doerr et al., 1996].

Tabelle 2: Verteilung und Verhältnis von benignen zu malignen Speicheldrüsentumoren in Abhängigkeit ihrer Lokalisation [nach Seifert et al., 1992; Böcker et al., 2004]

Lokalisation	Verteilung	Verhältnis benigne/maligne Speicheldrüsentumoren
Glandula Parotis	80%	4:1
Glandula submandibularis	10%	1:1
Glandula sublingualis	1%	1:9
Kleine Speicheldrüsen	9%	1:1

1.4 ÄTIOLOGIE

Zu Ursachen der Entstehung maligner Speicheldrüsenneoplasien gibt es nur wenige gesicherte Untersuchungen.

Risikofaktoren für die Entstehung von Speicheldrüsentumoren sind exogene, chemische Noxen wie Asbest, Blei, Nickel [Ellis et al., 1991; Horn-Ross et al., 1997] oder Substanzen bei der Gummi- und Kautschukverarbeitung [Horn-Ross et al., 1997; Mancuso u. Brennan, 1970]. Des Weiteren wird der Einfluss von Haarspray und Alkohol erwähnt. [Spitz et al., 1984 u. 1990].

Das Einwirken ionisierender Strahlung führt zum vermehrten Auftreten maligner Speicheldrüsentumoren [Rice et al., 1976]. Röntgenstrahlen bei zahnärztlichen Untersuchungen erhöhen das Risiko der Entstehung von Parotistumoren.

Da Speicheldrüsen in der Lage sind Jod zu konzentrieren, liegt auch bei Patienten, die sich einer Radiojodtherapie unterzogen haben ein erhöhtes Risiko vor Tumoren in diesen Organen zu entwickeln [Preston-Martin et al., 1988; Preston-Martin u. White, 1990].

Eine virusassoziierte Tumorentstehung wird auch bei Speicheldrüsentumoren für möglich gehalten. Hierbei stehen vor allem das Epstein-Barr-Virus, das Zytomegalievirus und das Humane Papillomavirus im Vordergrund. Die Rolle dieser onkogenen Viren bei der Tumorgenese ist nicht eindeutig geklärt. Es wird diskutiert, dass diese als onkogen geltenden Viren eine Dysregulation der Onkogene in Wirtszellen verursachen und die Tumorentwicklung durch die Einschleusung viraler Onkogene begünstigen [Atula et al., 1998; Seifert, 1984; Scully, 1988].

Tumoren der Speicheldrüsen sind bisher zytogenetisch und molekulargenetisch nur unzureichend untersucht worden. Die untersuchten Tumoren zeigen eine deutliche Häufung an Chromosomenaberrationen. So kommen bei 87% der pleomorphen Adenome Translokationen vor, zumeist in Verbindung mit Chromosom 8.

Es ergeben sich Translokationen mit Chromosom 3, Chromosom 12, Chromosom 5, Chromosom 1 und Chromosom 9. [Röser et al., 2005].

Aus Tabelle 3 sind die Translokationen und spezifischen Veränderungen bei den unterschiedlichen Tumortypen zu entnehmen [Röser et al., 2005; Doerr et al., 1996].

**Tabelle 3: Verteilung chromosomale Veränderungen bei Speicheldrüsentumoren
[nach Röser et al., 2005]**

Morphologie	Fälle mit chromosomalen Veränderungen	Fälle mit Translokationen	Häufigste Translokation	Häufigkeit	Betroffene Chromosomen	Anteil
Azinuszellkarzinome	11 (3%)	36%	Keine	--	1 -Y +8	50% 55% 27%
Adenokarzinome	12 (3%)	42%	Keine	--	12 -Y	60% 33%
Warthin-Tumoren	19 (5%)	42%	t(11;19)	63%	11 19 16 1	40% 33% 27% 27%
Mukoepitheloidkarzinome	25 (6,5%)	52%	t(11;19)	46%	11 19	44% 38%
B-Zell-Lymphome	12 (3%)	58%	Mehrfach		14 11 8	29% 21% 21%
Adenoidzystische Karzinome	23 (6%)	65%	--	27%	9 6 12 17	33% 19% 14% 14%
Maligne epitheliale Tumoren	19 (5%)	74%	t(4;8)	29%	8 4 9	43% 18% 15%
Pleomorphe Adenome	264 (69%)	87%	t(3;8)	24%	8 3 12 5 1 9	57% 32% 18% 14% 13% 12%
Insgesamt	385 (100%)	77 (57%)				

1.5 KLASSIFIKATION DER SPEICHELDRÜSENTUMOREN

Die pathohistologische Klassifikation fußt auf dem Vergleich der zellulären Differenzierung und des mikroskopischen Bauprinzips eines Tumors mit der jeweiligen normalen Gewebestruktur.

Nach der WHO werden Kopfspeicheldrüsentumoren wie folgt klassifiziert [Seifert, 1991].

Tabelle 4: WHO Klassifikation der Kopfspeicheldrüsentumoren [Seifert, 1991]

1	Adenome
1.1	Pleomorphes Adenom 1. Typ I Mischtyp 2. Typ II Stromareich 3. Typ III Stromaarm
1.2	Myoepitheliom
1.3	Basalzelladenom
1.4	Zyst-Adenolymphom (Whartin-Tumor)
1.5	Onkozytom (onkozytäres Adenom)
1.6	Kanalikuläres Adenom
1.7	Talgdrüsenadenom
1.8	Gangpapillom (duktales Papillom) 1. Invertes duktales Papillom 2. Intraduktales Papillom 3. Sialadenoma papilliferum
1.9	Zystadenom 1. Papilläres Zystadenom 2. Muzinöses Zystadenom
2	Karzinome
2.1	Azinuszellkarzinome
2.2	Mukoepidermoidkarzinom
2.3	Adenoidzystisches Karzinom
2.4	Polymorphes low-grade Adenokarzinom (terminales Gangadenokarzinom)
2.5	Epithelial – Myoepitheliales Karzinom
2.6	Basalzell-Adenokarzinom
2.7	Talgdrüsenkarzinom
2.8	Papilläres Zystadenokarzinom
2.9	Muzinöses Adenokarzinom
2.10	Onkozytäres Karzinom
2.11	Speichelgangkarzinom
2.12	Adenokarzinom
2.13	Malignes Myoepitheliom
2.14	Karzinom im pleomorphen Adenom (maligner Misch tumor)
2.15	Plattenepithelkarzinom
2.16	Kleinzelliges Karzinom
2.17	Undifferenziertes Karzinom
2.18	Andere Karzinome
3	Nichtepitheliale Tumore
4	Maligne Lymphome
5	Sekundäre Tumore
6	Unklassifizierbare Tumore
7	Tumorähnliche Läsionen
7.1	Sialadenose
7.2	Onkozytose
7.3	Nekrotisierende Sialometaplasie (Speicheldrüseninfarkt)
7.4	Benigne lymphoepitheliale Läsion
7.5	Speicheldrüsenzysten
7.6	Chronische sklerosierende Sialadenitis der Submandibularis (Küttner Tumor)
7.7	Zystische lymphoide Hypoplasie bei AIDS

1.6 HISTOPATHOLOGIE AUSGEWÄHLTER SPEICHELDRÜSENTUMOREN

1.6.1 PLEOMORPHES ADENOM

Das pleomorphe Adenom tritt am häufigsten in der Glandula parotis mit einem Altersgipfel im 4. Bis 6. Lebensjahrzehnt auf.

Die Bezeichnung pleomorphes Adenom beschreibt dessen histomorphologische Vielfalt.

Pleomorphe Adenome lassen sich nach der Differenzierung der Epithelzellen und seiner Beschaffenheit des Stromas in vier Typen einteilen [Seifert et al., 1984; Reichart et al., 2002]:

Tabelle 5: Typen der pleomorphen Adenome und ihre prozentuale Verteilung

Typ	Beschreibung	Anteil
Typ 1	Klassischer Typ Stroma und Epithel mit annähernder Gleichverteilung	30%
Typ 2	Stromareicher Typ stromareich, zellarm, mukoid-chondroide Stromastruktur	55%
Typ 3	Zellreicher, stromaarmer Typ vielgestaltige Differenzierung des Epithels	9%
Typ 4	Zellreicher, stromaarmer Typ uniforme Differenzierung des Epithels	6%

Jahrzehnte wurde die biologische Dignität des pleomorphen Adenoms kontrovers diskutiert. Untersuchungsstatistiken weisen aber bis heute keine Merkmale für Malignität oder Semimalignität nach.

Die Entwicklung eines sekundären Karzinoms in einem vorbestehenden pleomorphen Adenom wird mit 3% aller pleomorphen Adenome angegeben [Eneroth et al., 1968; Seifert et al., 1984].

Ihre allgemein anerkannte Therapie ist eine chirurgische Entfernung dieses Tumors. Aufgrund einer möglichen multilobulären Struktur und einer sehr dünnen, nicht immer vollständigen Kapsel, besteht bei einer Extirpation die Gefahr einer unvollständigen Entfernung mit Rezidivbildung [Seifert et al., 1984; Reichart et al., 2002].

1.6.2 ZYSTADENOLYMPHOM (WARTHIN-TUMOR)

Das Zystadenolymphom ist der zweithäufigste Speicheldrüsentumor und zählt zu den monomorphen Adenomen. Er ist fast ausschließlich im unteren Anteil der Glandula Parotis anzutreffen. In 10% der Fälle wird eine bilaterale oder multifokale Lokalisation beobachtet.

Überwiegend sind Männer im Alter von 60 bis 70 Jahren betroffen.

Die Histologie weist neben einer monomorphen, epithelialen Komponente auch lymphatisches Stroma auf. Es werden vier Typen unterschieden:

Tabelle 6: Typen des Zystadenolymphoms und ihre prozentuale Verteilung

Typ	Beschreibung	Anteil
Typ 1	Klassischer Typ mit 50% lymphoidem Stromaanteil, monomorphen Epithelzellen mit doppel- reihiger Anordnung	77%
Typ 2	Stromaarmer Typ mit 30% lymphoidem Stromaanteil, monomorphen Epithelien	13,5%
Typ 3	Stromareicher Typ mit 70% lymphoidem Stromaanteil	2%
Typ 4	Metaplastischer Typ mit Plattenepithelmetaplasien, regressiven Veränderungen, Pseudozysten und hyalinen Bezirken	7,5%

Klinisch zeigt sich zumeist eine drei bis vier Zentimeter große Raumforderung, die über der Unterlage gut verschieblich ist. Der Tumor ist von Zysten durchsetzt.

Eine maligne Transformation und Entwicklung sekundärer Karzinome in vorbestehenden Zystadenolymphomen ist sehr selten [Seifert et al., 1984; Reichart et al., 2002].

1.6.3 AZINUSZELLKARZINOM

Das Azinuszellkarzinom tritt zu 90% in der Glandula parotis auf. Vorwiegend sind Frauen im Alter zwischen 50 und 60 Jahren betroffen. Die Tumoren lassen sich von den Azinuszellen aus der Grenzzone zwischen Schaltstücken und Drüsenazini ableiten.

Nach dem Wachstumsmuster werden folgende Typen unterschieden [Reichart et al., 2002]:

- solider, azinärer Typ
- mikrozystischer Typ
- papillär, zystischer Typ
- follikulärer Typ

Alle Typen sind lokal, invasiv wachsend. Gelegentlich metastasieren sie lymphogen oder hämatogen. Es werden eine hoch-differenzierte Form mit niedrigem Malignitätsgrad und eine niedrig-differenzierte Form mit hohem Malignitätsgrad unterschieden [Donath u. Ußmüller, 2001; Reichart et al., 2002].

1.6.4 MUKOEPIDERMIOIDKARZINOM

Primäre Lokalisation des Mukoepidermoidtumors sind die kleinen Speicheldrüsen des Gaumens und Mundbodens. Beide Geschlechter sind hauptsächlich im Alter von 50 bis 60 Jahren betroffen. Der Tumor leitet sich von den Zellen der mittleren Abschnitte des Speichelgangsystems ab. Er zeigt sowohl Plattenepithel-differenzierungen als auch schleimbildende Becherzellen. Diese können überdies Zysten bilden.

Es werden eine hoch-differenzierte Form mit niedrigem Malignitätsgrad (low-grade-type of malignancy) und eine niedrig-differenzierte Form mit höherem Malignitätsgrad (high-grade-type of malignancy) unterschieden.

Niedrig-differenzierte Mukoepidermoidkarzinome haben eine 5-Jahres-Überlebensrate von 25%, hoch-differenzierte Mukoepidermoidkarzinome dagegen eine von 95% [Reichart et al., 2002].

1.6.5 ADENOID-ZYSTISCHES KARZINOM

Das adenoid-zystische Karzinom ist zu 70% in den kleinen Speicheldrüsen und zu 30% in den großen Speicheldrüsen lokalisiert. Beide Geschlechter sind meist im Alter von 50 bis 70 Jahren betroffen. Das Karzinom lässt sich von Zellen des terminalen Speichelgangsystems ableiten. Es werden drei Typen unterschieden:

Tabelle 7: Typen des adenoid-zystischen Karzinoms und deren prozentuale Verteilung

Typ	Beschreibung	Anteil
Kribiformer Typ	Kribiforme Zellnester mit Ansammlungen mukoiden Materials	40-50%
Tubulärer Typ	Verbände kubischer Epithelzellen, von hyalinem Stroma begrenzt	20-30%
Solid-basaloider Typ	Solide Zellansammlungen aus kubischen Epithelzellen mit zentralen Nekroseherden	20%

Der Tumor wächst langsam lokal infiltrierend entlang der Gefäßnervenverläufe und der Knochenkanäle. Dies führt zu einer hohen Rate an lokoregionären Rezidiven nach operativer Entfernung.

Die Art des primären operativen Vorgehens entscheidet über die Länge der rezidivfreien Zeit.

Radikalchirurgische und strahlentherapeutische Maßnahmen werden individuell eingesetzt [Stennert u. Jungehülsing, 2001; Reichart et al., 2002].

1.6.6 ADENOKARZINOM

Adenokarzinome sind zu 70% in der Glandula parotis lokalisiert.

Sie bilden eine heterogene Gruppe histologisch verschiedener Differenzierungsrichtungen.

Es werden drei Typen mit unterschiedlichem histologischen Bauplan wie in Tabelle 8 aufgeführt.

Tabelle 8: Typen des Adenokarzinoms

Typ		Beschreibung
Typ 1	Solider Typ	mit mäßig differenzierten Drüsenstrukturen
Typ 2	Tubulärer Typ	mit tubulären Formationen, die Speichelgangstrukturen ähneln
Typ 3	Papillärer Typ	papilläre Tumorzellformationen mit Zysten und Schleimbildung

Klinisch imponiert eine wenig verschiebliche Raumforderung, die häufig von einer Facialisparesie begleitet wird. Das Adenokarzinom zählt zu den Speicheldrüsenkarzinomen höherer Malignität. Die 5-Jahres-Überlebensrate liegt bei nur 40% [Seifert et al., 1984; Reichart et al., 2002].

1.7 DIAGNOSTIK DER SPEICHELDRÜSENTUMOREN

Für die Diagnostik der Speicheldrüsentumoren stehen diverse Untersuchungsmethoden zur Verfügung. Eine klinische Befunderhebung basiert auf einer Anamnese mit Inspektion und Palpation der Kopf- und Halsregion [Mann, 1992].

Darüber hinaus gibt es verschiedene solide, bildgebende Verfahren als Ergänzung [Kreß et al., 1993; Mann et al., 1997; Paris et al., 2003]:

- Sonographie
- Röntgendiagnostik mit Sialographie
- Sialoendoskopie
- Computertomographie (CT)
- Magnetresonanztomographie (MRT)
- Szintigraphie

Darüber hinaus gibt es folgende diagnostische Verfahren der morphologischen Gewebeuntersuchung mit mikroskopischer Beurteilung [Doerr et al., 1996]:

- Probenbiopsie / Probeexzision
- Nadelstanzbiopsie
- Feinnadelaspirationsbiopsie

1.7.1 PROBEBIOPSIE

Eine Probebiopsie oder Probeexzision ist in Ausnahmefällen nur der speziellen Diagnostik entzündlicher, lymphoepithelialer oder lymphoproliferativer Speicheldrüsenerkrankungen vorbehalten [Gross et al., 2004]. Zur Routine-Tumordiagnostik ist sie kontraindiziert, weil bei tiefer liegenden Raumforderungen Gesichtsnerven verletzt werden und eine Kapselverletzung mit Rezidiven, sowie eine Tumorstreuung erfolgen kann [Olsen, 1987; Chilla, 1995; Stennert u. Jungehülsing, 2001].

1.7.2 STANZBIOPSIE

Mit zahlreichen Nachteilen und hoher Komplikationsrate wird die Stanzbiopsie nicht mehr länger in der allgemeinen, morphologischen Speicheldrüsendiagnostik angewendet. Da eine Tumorstreuung durch den Stichkanal erfolgen kann, sollte eine Stanzbiopsie nur bei unmittelbar nachstehender Operation erfolgen [Olson, 1987; Stennert u. Jungehülsing, 2001].

1.7.3 FEINNADELASPIRATIONSBIOPSIE

Die Basis der Feinnadelaspirationsbiopsie (FNAB) ist die Gewinnung von einzelnen Zellen zur mikroskopischen Untersuchung.

Die Diagnostik von Zellen (Zytodiagnostik) ist in der Gynäkologie seit vielen Jahren ein anerkanntes Routineverfahren. Weltweit konnte innerhalb der letzten 50 Jahre mit Abstrichen der Zervix uteri eine Optimierung der Frühdiagnostik erreicht werden [Koss, 1989; Parker et al., 1997]. Die Mortalität des Zervixkarzinoms konnte mit Hilfe der Zytodiagnostik in Deutschland auf nahezu die Hälfte gesenkt werden [Möbius, 1993].

Darüber hinaus sahen schon vor 20 Jahren sehr viele Krankenhausärzte in den USA die Feinnadelpunktion der Schilddrüse als unerlässliches Verfahren zur Abklärung eines Tumorverdachts. In 85% aller Fälle kann ein Pathologe damit ein Schilddrüsenkarzinom ausschließen [Solomon u. Keeler, 1982; Röher et al., 1987; Dietlein et al., 1999].

Des Weiteren sind Feinnadelpunktionen auch an folgenden Körperteilen möglich:

- Augen
- Schilddrüse
- Lymphknoten
- Lunge mit Mediastinum
- Brustwand
- Leber
- Bauchspeicheldrüse
- Nebennieren
- Prostata
- Retroperitoneum
- Weichteile
- Speicheldrüse

Bei Speicheldrüsen ist die Differenzialdiagnose für den behandelnden Arzt zwischen entzündlichen oder neoplastischen Veränderungen der Speicheldrüse nicht immer leicht zu stellen.

Eine morphologische, minimalinvasive Diagnostik mit hoher Treffsicherheit wird mit Hilfe der FNAB ermöglicht. Unter palpatorischer oder besser sonographischer Kontrolle wird eine Raumforderung mit einer sehr feinen Nadel punktiert [Knapp et al., 1989; Weerda u. Gehrking, 2000].

Die sehr dünne Nadel (Durchmesser 0,7 Millimeter) wird, wie in Abbildung 2 dargestellt, bei einer FNAB auf eine leere Spritze aufgesetzt und in die verdächtige Raumforderung geführt. Dabei kann die Haut an der betreffenden Stelle betäubt werden. Durch Anziehen des Spritzenstempels wird ein Unterdruck erzeugt, der die Zellen in die Spritzenkanüle saugt. Besondere Präzision erreicht eine Punktion unter Ultraschallkontrolle. Die FNAB ist ein Standardverfahren für Raumforderungen in der Speicheldrüsendiagnostik [Atula et al., 1996; Stennert u. Jungehülsing, 2001; Postema et al., 2004].

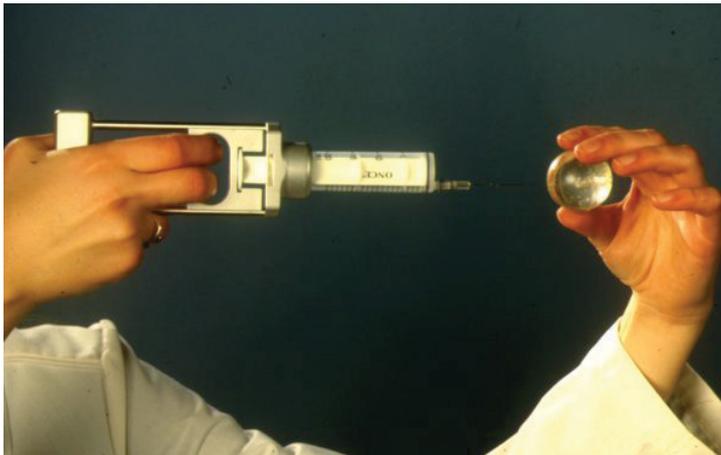


Abbildung 2: Simulation einer FNAB mit einem Einmalspritzenhalter (Cameco®)

Die FNAB der Speicheldrüse zeichnet sich durch eine sehr geringe Komplikationsrate von nur 0,5% aus. Auch wenn die Ergebnisse nicht immer gleich gut sind, werden eine recht hohe Sensitivität von 92% und eine Spezifität von bis zu 100% beschrieben [Stewart et al., 2000; Atula et al., 1996].

Die Treffsicherheit der Zytodiagnostik der Speicheldrüsen zeigt deutlich eine Abhängigkeit von der Art und Menge des Untersuchungsmaterials [Cardillo, 1990; Kumar et al, 1991].

Fehldiagnosen werden meist bei pleomorphen Adenomen, hochdifferenzierten, zystischen Mukoepidermoidkarzinomen, Azinuszellkarzinomen und malignen Lymphomen gemacht [Layfield et al., 1987].

Die Übereinstimmung von zytologischen und histopathologischen Diagnosen wird mit durchschnittlich 85-98% angegeben [Doerr et al., 1996].

Abbildung 3 bis Abbildung 5 zeigen mikroskopische Aufnahmen von Ausstrich-Präparaten von Speicheldrüsen-FNABn samt Diagnosen.

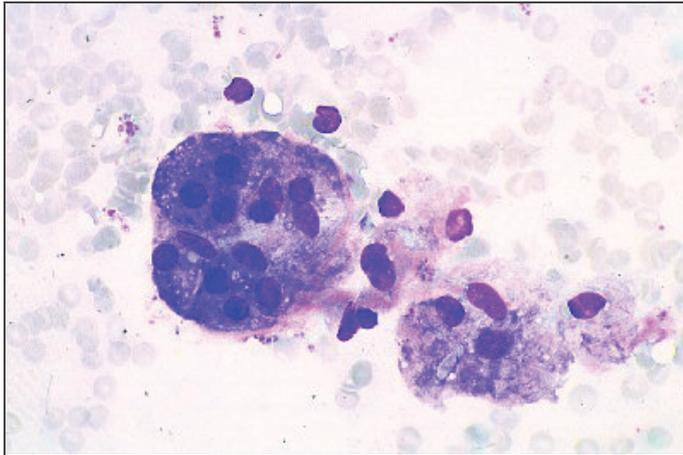


Abbildung 3: Glandula Parotis: normale Azinusepithelien (630x)

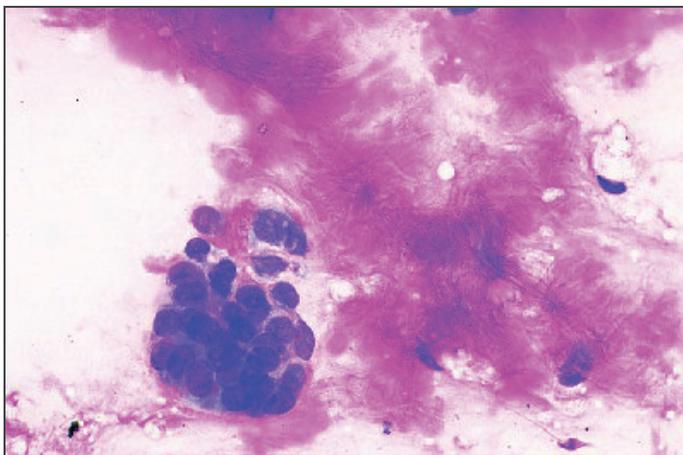


Abbildung 4: Glandula parotis: pleomorphes Adenom (630x)

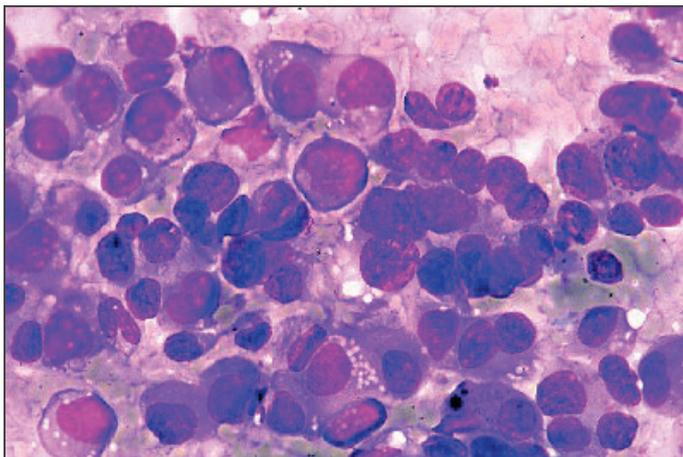


Abbildung 5: Glandula Parotis: wenig differenziertes Adenokarzinom (630x)

1.8 DNA ZYTOMETRIE

Die DNA Zytometrie ist ein Verfahren zur Diagnose von Tumoren durch die Messung von Abweichungen des normalen DNA-Gehaltes in den Zellen.

Nach einer spezifischen, stöchiometrischen Anfärbung der DNA von Zellkernen mit fluoreszierenden oder im sichtbaren Licht absorbierenden Farbstoffen erfolgt eine photometrische Messung der emittierten Fluoreszenz oder des absorbierten Lichtes pro Zellkern. Es resultieren DNA Histogramme, in denen die Zellkern-DNA-Gehalte gegen ihre Häufigkeit graphisch aufgetragen werden.

Dafür gibt es zwei dominierende Messprinzipien [Böcking, 1990]:

- Durchflusszytometrie (DNA-flow-cytometry, DNA-FCM)
- TV-Bildanalysesysteme (DNA-image-cytometry, DNA-ICM)

Bei der Durchflusszytometrie (DNA-FCM) werden angefärbte Zellen unter hohem Druck durch eine Kapillare an einem UV-Licht- oder Laserstrahl vorbeigeführt. Dabei messen Photodioden das emittierte Fluoreszenzlicht.

In der Bildzytometrie (DNA-ICM) werden mit TV-Bildanalysesystemen die integrierten optischen Dichten (IODn) von Zellen gemessen, die auf Glasobjektträger fixiert sind [Motherby, 1999].

Die DNA Durchflusszytometrie kann eine große Anzahl von Zellen innerhalb weniger Minuten messen. Hierbei müssen Zellen eines zu untersuchenden Präparates durch enzymatische oder mechanische Verfahren in Lösung gebracht werden. Das erklärt die Unbrauchbarkeit histologischer und zytologischer Standardpräparate auf Glasobjektträgern.

Die Ergebnisse der Durchflusszytometrie und Bildzytometrie stimmen nicht immer überein. Es werden bis zu 43% Diskrepanzen zwischen beiden Messverfahren berichtet.

Eine höhere Übereinstimmung zwischen beiden Methoden lässt sich finden, wenn die Messungen am gleichen Material durchgeführt werden [Ahlgren et al., 1999; Berner et al., 1993; Wang et al., 2000].

Bei der DNA-Durchflusszytometrie werden selten vorkommende, einzelne Zellen (rare events) mit hohem DNA-Gehalt (Einzelzellaneuploidie) nicht erfasst [Motherby, 1999].

Präparate der konventionellen Exfoliativzytologie, Punktionszytologie und enzymatische Zellvereinzellungen können nach quantitativer Färbung der Zellkern-DNA nach Feulgen und Rossenbeck (1928) einer DNA-Messung mit einem TV-Bildanalyse-system (siehe Abbildung 6) zugeführt werden (DNA-ICM) [Böcking, 1995].



Abbildung 6: TV-Bildanalyse-system, AutoCyte QUIC-DNA®

1.8.1 ANEUPLOIDIE

Alle menschlichen Zellen mit Ausnahme der Keimzellen enthalten je 2 x 23 Chromosomen, entsprechend einem doppelten, diploiden Chromosomensatzes (2c).

Bei normalen Zellteilungen liegt unmittelbar vor der Zellteilung, in der G2-Phase des Zellzyklus ein 4-facher, tetraploider Chromosomensatz vor (4c) [Böcking, 1990].

In manchen Geweben kommt es zu einer regelhaften Vervielfachung des Chromosomensatzes im Sinne ganzzahliger Potenzierungen des $2c$ -Wertes, $2^n c$ ($4c$, $8c$, $16c$, etc.). Diesen Prozess bezeichnet man als physiologische, euploide Polyploidisierung [Böcking, 1995; Biesterfeld et al., 1994].

Numerische oder strukturelle Abweichungen normaler, euploider Chromosomensätze, messbar am veränderten DNA-Gehalt der Zellen, bezeichnet man als Aneuploidie.

Die meisten Tumoren, auch gutartige Tumoren zeigen numerische und / oder strukturelle Chromosomenaberrationen (chromosomale Aneuploidie) [Böcking, 2002].

Strukturelle Chromosomenaberrationen unterteilt man in balancierte oder unbalancierte Aberrationen.

Ursache der Chromosomenaberration sind Defekte und Dysfunktionen von Zellorganellen wie Zentromeren, Zentriolen, Zentrosomen, Telomeren und Spindelfasern. Sie führen zu einem ungleichen Aufteilen des verdoppelten Chromosomensatzes in der Mitose.

Mögliche Effekte der chromosomalen Aneuploidie sind [Böcking, 2006]:

- Zelltod
- Immortalisierung
- Stopp der Zellteilung
- neoplastische Transformation
- Resistenz bei Chemotherapie

Chromosomale Aneuploidie, die durch genetische Instabilität verursacht wird, ist ein frühes Schlüsselereignis in der Tumorgenese [Böcking, 1995; Haroske et al., 2001].

Die Entstehung einer neoplastischen Zelle wird molekularbiologisch als Kettenreaktion mehrfacher Aneuploidisierungen beschrieben [Duesberg et al., 2004].

Das quantitative, zytometrische Äquivalent chromosomaler Aneuploidie ist die DNA-Aneuploidie [Böcking, 1998].

Die Abweichungen des DNA-Gehaltes von der Norm können mit der DNA-Zytometrie gemessen werden. Übersteigen die gemessenen Werte einzelner Zellen den systembedingten Messfehler des Verfahrens ($\pm 10\%$), so liegt eine DNA-Aneuploidie vor [Haroske et al., 2001].

Der Nachweis einer chromosomalen Aneuploidie oder der mit ihr verbundenen Mengenveränderung der DNA (analog: DNA-Aneuploidie) gilt international als Marker für die neoplastische Transformation von Zellen [Böcking, 2002; Böcking u. Motherby 1999; Motherby et al., 1998a u. 1998b; Nadjari et al., 1999a u. 1999b].

Durch den Nachweis einer DNA-Aneuploidie konnten maligne Erkrankungen früher als mit histologischen Untersuchungen von Biopsien nachgewiesen werden [Grote et al., 2001; Maraki et al., 2004, 2005a u. 2005b; Remmerbach et al., 2001 u. 2003].

Obwohl Aneuploidie auch bei malignen Tumoren der Speicheldrüsen festgestellt wurde, sind die Untersuchungen hier weniger aufschlussreich und zeichnen sich oft durch eine geringe Fallzahl aus [Driemel et al., 2005 u. 2006].

Die Nichtnachweisbarkeit von DNA Aneuploidie schließt Malignität nicht aus, da einige wenige Tumoren so geringe Aberrationen zeigen, dass sie keinen DNA-zytometrisch nachweisbaren Effekt haben [Böcking, 1998].

1.8.2 DNA-BILDZYTOMETRIE

Die Messgrösse in der Bildzytometrie ist der DNA-Gehalt der Zellkerne, um den Nettoeffekt chromosomaler Aberrationen auf den Zellkern-DNA-Gehalt als diagnostischen Marker zu nutzen [Böcking, 1998]. Der DNA-Gehalt kann durch die Zytometrie nicht direkt gemessen werden. Nach einer quantitativen Färbung der Zellkern-DNA nach R. Feulgen, ist die IOD des Kerns das zytometrische Äquivalent seines DNA-Gehalts.

Die Messung des nukleären DNA-Gehaltes erfordert eine Skalierung der IOD-Werte durch einen Vergleich mit den Werten von Zellen mit bekanntem DNA-Gehalt von $2c$, die Referenzzellen genannt werden.

In einem DNA-Histogramm wird die Häufigkeitsverteilung der IOD der Zellkerne in der Einheit c wiedergegeben, wobei $1c$ die Hälfte des Zellkern-DNA-Gehalts von Zellen einer normalen, nicht pathologischen, diploiden Population in der G₀/G₁ Phase des Zellzyklus entspricht [Böcking, 2002].

Der modale Wert eines Histogramm-Peaks repräsentiert dabei den häufigsten Wert (Gipfel) innerhalb dieses Peaks [Böcking u. Nguyen, 2004].

Abbildung 7 zeigt ein Histogramm mit diploider DNA-Verteilung.

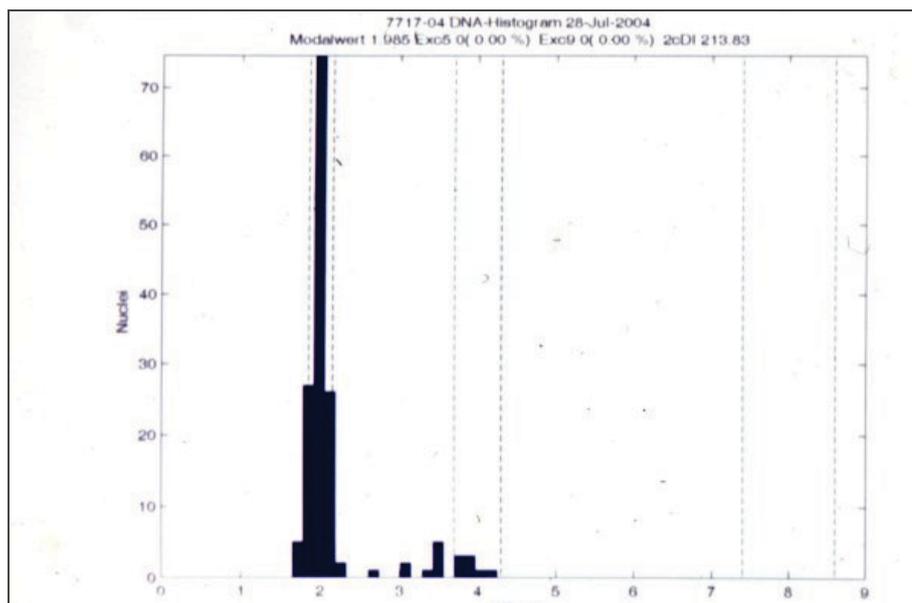


Abbildung 7: DNA-Histogramm mit diploider DNA-Verteilung

Als DNA-Aneuploidie bezeichnet man DNA-Verteilungen von Zellpopulationen, die statistisch signifikant von denen normaler Zellen (ruhend, proliferierend, polyploid) differieren [Böcking et al., 1994].

Das Ziel der DNA-Zytometrie ist das Erkennen von nicht normalen (aneuploiden) DNA-Stammlinien, die statistisch signifikant von den Lagen normaler diploider Stammlinien abweichen, sowie die Identifizierung von Zellen mit einem DNA-Gehalt größer 9c. Die DNA-Stammlinie repräsentiert die G0/G1-Phase-Fraktion des DNA-Histogramms einer proliferierenden Zellpopulation [Böcking, 2002].

Abbildung 8 zeigt ein Histogramm mit aneuploider DNA-Verteilung.

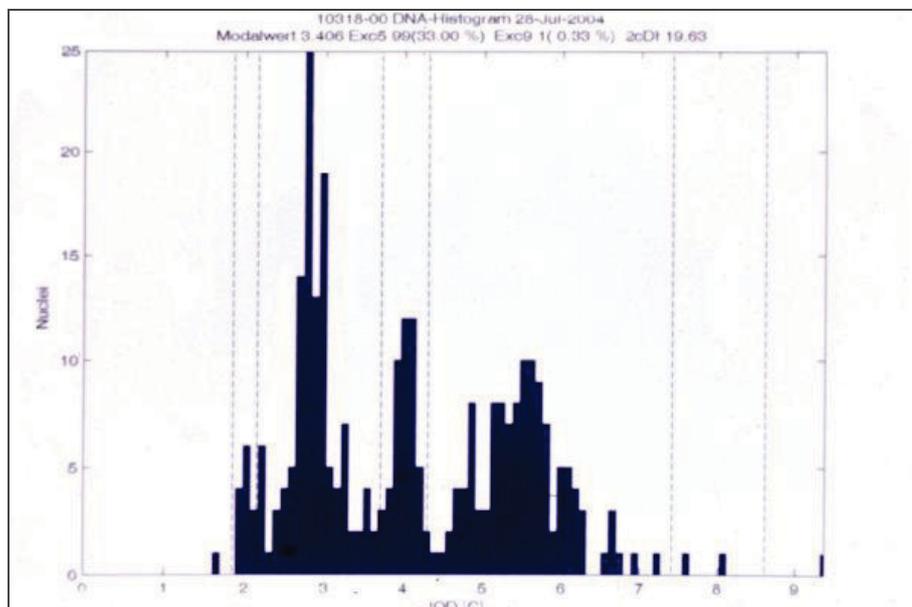


Abbildung 8: DNA-Histogramm mit aneuploider DNA-Verteilung

Physiologische Faktoren (euploide Polyploidisierung, Replikation, Apoptose, Nekrose) und unphysiologische Faktoren (Virusinfektionen, Strahlen-, Zytostatikatherapie, Vitamin B12-Mangel, Zellhyperregeneration) die den DNA-Gehalt beeinflussen, müssen bei der Interpretation des DNA-Histogramms berücksichtigt werden [Böcking, 1995].

Die Befundung der DNA-Histogramme erfolgt qualitativ in den angeführten Kategorien:

- DNA-Diploid / Euploid
- DNA-Polyploid / Euploid
- DNA-Aneuploid

Präsentiert sich die DNA-Verteilung wie folgt, so wird eine DNA-Euploidie interpretiert:

DNA-Diploid: Stammlinie zwischen 1,8c und 2,2c

DNA-Polyploid: Stammlinie zwischen 1,8c und 2,20c **und**
Stammlinie zwischen 3,60c und 4,40c

Präsentiert sich die DNA-Verteilung wie folgt, so wird bei Speicheldrüsenkarzinomen eine DNA-Aneuploidie interpretiert:

1. Bei einem Vergleich der Referenzzellpopulation mit der G0/1 Phase-Fraktion einer DNA-Stammlinie der Analysezellpopulation spricht man vom Auftreten einer abnormen Stammlinie, wenn der DNA-Index einer Stammlinie außerhalb von [1,8c; 2,2c] und [3,6c; 4,4c] liegt (Stammlinienaneuploidie) [Böcking et al., 1995; Haroske et al., 2001].
2. Das Auftreten von Zellen mit einem DNA Gehalt größer 9c (9c Exceeding Events, 9c EE) (Einzelzellaneuploidie) [Chatelain et al., 1989a].

Standardisierte Maßnahmen der Qualitätskontrolle und der Qualitätssicherung werden von der ESACP (European Society for Analytical Cellular Pathology) vorgegeben und publiziert [Böcking et al., 1995; Giroud et al., 1998; Haroske et al., 1998 u. 2001].

1.9 ZIELE DER ARBEIT

Ziel der im Folgenden beschriebenen Untersuchung ist es, Erkenntnisse über die DNA-Verteilung von Speicheldrüsentumoren mit Hilfe der DNA-Bildzytometrie zu gewinnen.

Besondere Aufmerksamkeit liegt dabei auf den pleomorphen Adenomen im Vergleich zu Karzinomen.

Eine diagnostische Differenzierungsmöglichkeit zwischen pleomorphen Adenomen und der Gruppe der Karzinome soll erörtert werden.

Studien zeigen, dass auch die gelegentliche Diagnose aneuploider Zellpopulationen in als gutartig klassifizierten Neoplasien regelmäßig als frühes Zeichen einer malignen Progression gewertet werden kann [Lindberg et al., 1999; Maraki et al., 2004].

Die Untersuchung der DNA-Verteilung mit Hilfe der DNA-Bildzytometrie kann deshalb auch für die Speicheldrüsentumoren zu einer Verbesserung der Dignitätsbewertung und Sicherung der Malignitäts-Diagnose beitragen.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 PATIENTEN UND PRÄPARATE

Im Archiv des Instituts für Cytopathologie der Heinrich-Heine-Universität konnten 701 eingesendete FNABn von Raumforderungen der Speicheldrüsen aus einem Zeitraum von April 1995 bis September 2005 eruiert werden.

Bei 153 Präparaten lagen die zytologischen Diagnosen ‚pleomorphes Speicheldrüsenadenom‘ oder ‚Speicheldrüsenkarzinom‘ vor.

Davon mussten 55 Präparate aufgrund verschiedener Kriterien von einer DNA-Zytometrie ausgeschlossen werden:

- Zu wenig Zellmaterial
- Blutüberlagerung der Tumorzellen
- Zu starke Kernüberlagerungen
- Keine Referenzzellen im selben Präparat

Somit blieben 98 zytologische Präparate für eine DNA-Zytometrie als Gegenstand dieser Studie.

- 29 Präparate stammten vom Evangelischen Krankenhaus Düsseldorf, Hals-Nasen-Ohren Abteilung, Prof. Dr. med. A. Kurzeja
- 59 Präparate von Einsendungen der Hals-Nasen-Ohren Klinik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, Prof. Dr. med. U. Ganzer / Prof. Dr. med. J. Schipper
- 10 Präparate aus verschiedenen Kliniken und Praxen über ganz Deutschland verteilt.

Die Grundgesamtheit der 98 Patienten setzte sich aus 49 Frauen und 49 Männern zusammen, deren Alter bei Diagnosestellung zwischen zwölf und 88 Jahren betrug.

Das Durchschnittsalter aller Patienten lag bei 53,0 Jahren. Das Alter der Frauen betrug durchschnittlich 52,6 Jahre (12 Jahre – 88 Jahre) und das der Männer 53,4 Jahre (14 Jahre – 87 Jahre).

Abbildung 9 beschreibt die Altersverteilung der Patienten (n = 98) mit einem Speicheldrüsentumor nach Geschlecht differenziert.

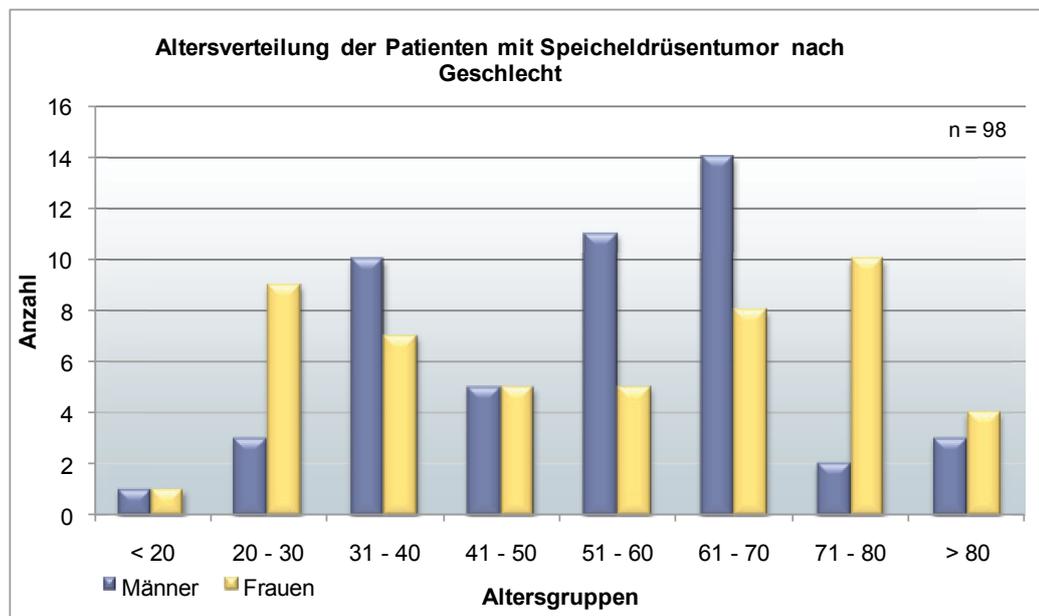


Abbildung 9: Altersverteilung der punktierten Patienten mit einem Speicheldrüsentumor unterschieden nach Geschlecht

Die zytologische Befundung erfolgte standardisiert nach einer von den Deutschen Gesellschaften für Pathologie und für Zytologie herausgegebenen Nomenklatur für die extragenitale Zytologie [Böcking u. Freudenberg, 1998].

Folgende zytologische Diagnosen und Kategorien lagen vor:

Tabelle 9: Zusammenfassung der zytologischen Diagnosen und Kategorien

Zytologische Diagnose	gesamt	Anzahl in zytologischen Kategorien		
		positiv	dringend verdächtig	zweifelhaft
pleomorphes Adenom der Speicheldrüse	71	66	5	--
monomorphes Adenom der Speicheldrüse	1	1	--	--
Karzinom der Speicheldrüse	16	12	3	1
Speicheldrüsentumor unklarer Dignität	6	4	2	--
maligner Tumor mit unklarer Zelltypisierung	1	1	--	--
Adenom (eventuell Adenolymphom)	1	1	--	--
Aus Zellvereinzelnung ohne eigene zytologische Diagnose	2	--	--	--
Gesamt	98	85	10	1

Zwei Präparate wurden aus histopathologischen Zellvereinzelnungen ohne eigene zytologische Diagnose verwendet. Sie hatten histologisch die Diagnose Azinuszellkarzinom (siehe Fall 11 und 12 in Tabelle 32).

Nach erfolgter DNA Messung ist ein histologisches oder klinisches Follow-up für 77 Präparate ermittelt worden. Hierbei dienten postoperative histopathologische Untersuchungen und Krankenakten als Grundlage.

In 19 Fällen konnte kein Follow-up ermittelt werden, da bei diesen Patienten lediglich eine ambulante präoperative Punktion und Diagnostik in der Klinik durchgeführt wurde.

2.1.1 PRÄPARATEGEWINNUNG

Die 98 gemessenen Präparate setzten sich einerseits aus 96 konventionell gefärbten Ausstrichen von FNABn der Kopfspeicheldrüsen und andererseits aus zwei Präparaten einer enzymatischen Zellvereinzelung von formalinfixierten Zellproben zusammen.

Zur Gewinnung eines konventionellen FNAB-Präparates ist eine Speicheldrüsenpunktion vom behandelnden Arzt in der jeweiligen Klinik oder Praxis durchgeführt worden. Das Zellmaterial wurde dann auf einen Objektträger aufgetragen, ausgestrichen und luftgetrocknet.

Die Präparate konnten anschließend routinemäßig im Institut für Cytopathologie für die Zytodiagnostik nach Pappenheim gefärbt werden.

Zur Zellvereinzelung wurden aus 70 mm dicken Paraffinschnitten ausgewählte Gewebebereiche enzymatisch herausgelöst und durch Zentrifugation auf einem Objektträger angereichert.

2.1.2 ZYTOLOGISCHE DIAGNOSTIK

Die an den gefärbten Präparaten gestellten Diagnosen wurden folgenden diagnostischen Kategorien zugeordnet, siehe auch Tabelle 10 [Böcking u. Freudenberg, 1998].

Tabelle 10: Kategorisierung der zytologischen Diagnosen

Kategorie	Beschreibung
Tumorzell-negativ	Das Untersuchungsmaterial enthält keine Tumorzellen.
Tumorzell-zweifelhaft	Tumorzellen sind nicht sicher auszuschließen. Die Wahrscheinlichkeit für einen Speicheldrüsentumor beträgt ca. 30%.
Tumorzell-dringend verdächtig	Das Untersuchungsmaterial enthält Tumorzellen mit einer Wahrscheinlichkeit von ca. 70%.
Tumorzell-positiv	Das Untersuchungsmaterial enthält Tumorzellen mit einer Wahrscheinlichkeit von 100%.

Die zytologischen Diagnosen der gemessenen Präparate verteilen sich wie folgt auf die genannten diagnostischen Kategorien:

- 85 Tumorzell-positive Fälle
- 10 Tumorzell-dringend verdächtige Fälle
- 1 Tumorzell-zweifelhafter Fall
- 2 Tumorzell-positive Fälle aus Zellvereinzellungen

Der Erkennung von Tumorzellen lagen unten aufgeführte Diagnosekriterien zugrunde [Feichter u. Dalquen, 2000]:

- Verschiebung der Kern-Plasma-Relation zu Gunsten des Kerns
- Anisonukleose
- Kernpleomorphie, Kernüberlappungen
- Kernhyperchromasie
- Mitosereichtum
- Vergrößerung der Chromatinstruktur
- Irreguläre Chromatinverteilung
- Irreguläre Kernmembran
- Starke Variation im Reifegrad der Zellen

Eine erfahrene Zytopathologin, Frau Dr. med. N. Pomjanski hat sämtliche Präparate einer zusätzlichen diagnostischen Begutachtung unterzogen und alle zyto-diagnostisch relevanten Regionen auf dem Objektträger mit einem Farbstift markiert. Diese Objektträger wurden danach fotokopiert, um im Anschluss an die Feulgen-Färbung die Areale erneut nachzuzeichnen und für die Messung zielgerichtet relevant lokalisieren zu können.

In Abbildung 10 werden die beschriebenen klinischen und zytologischen Daten zusammengefasst und dargestellt:

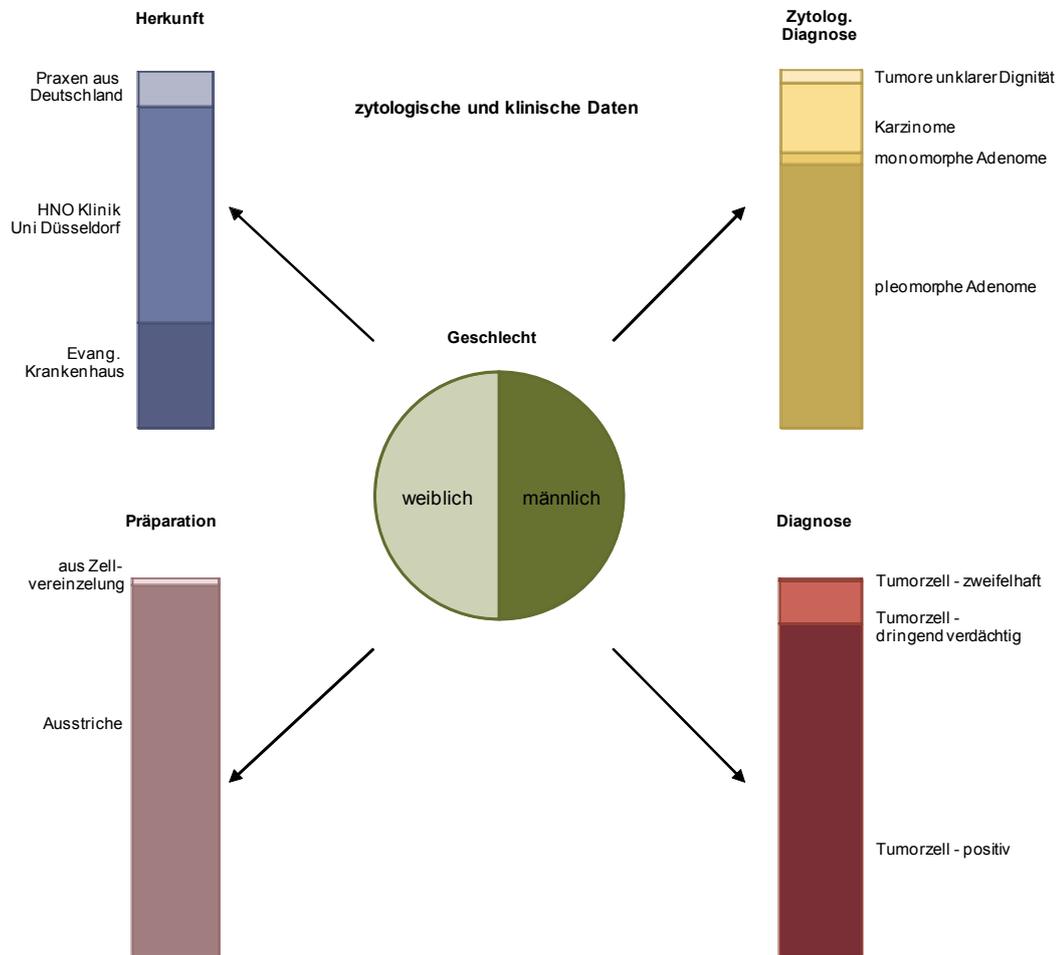


Abbildung 10: Zusammenfassende Darstellung klinischer und zytologischer Daten

2.1.3 FEULGEN-FÄRBUNG

Die Basis für eine densitometrische Messung des DNA-Gehalts von Zellkernen ist eine quantitative Färbung der DNA nach R. Feulgen und H. Rossenbeck [Feulgen u. Rossenbeck, 1924].

Die im Rahmen der Routinediagnostik vorgefärbten Präparate wurden zuerst zum Entdecken für 72 Stunden in Xylol getaucht.

Die anschließende Feulgen-Färbung erfolgte in einer automatisierten Färbemaschine (Varistain[®] 24-4, Shandon, Abbildung 11) [Chatelain et al., 1989b].



Abbildung 11: Automat für die temperaturkontrollierte Feulgen-Färbung

Die Feulgen-Färbung ermöglicht eine spezifische, stöchiometrische Färbung der Zellkern-DNA und bildet damit die Basis für eine zytometrische DNA-Mengen-Analyse.

Eine saure Hydrolyse (5N HCl) führt bei der Feulgen-Färbung zum Abspalten der Purinbasen Adenin und Guanin aus der DNA-Doppelstrang-Helix.

Hierbei entstehen freie Aldehydgruppen, die anschließend mit fuchsinschwefliger Säure (Schiff'sches Reagenz, Merck, Nr. 1.09033.0500) zu einem violetten Farbkomplex reagieren. Eine vorhergehende Formalinfixierung stabilisiert die DNA.

Abbildung 12 zeigt das Reaktionsschema der Feulgen-Färbung.

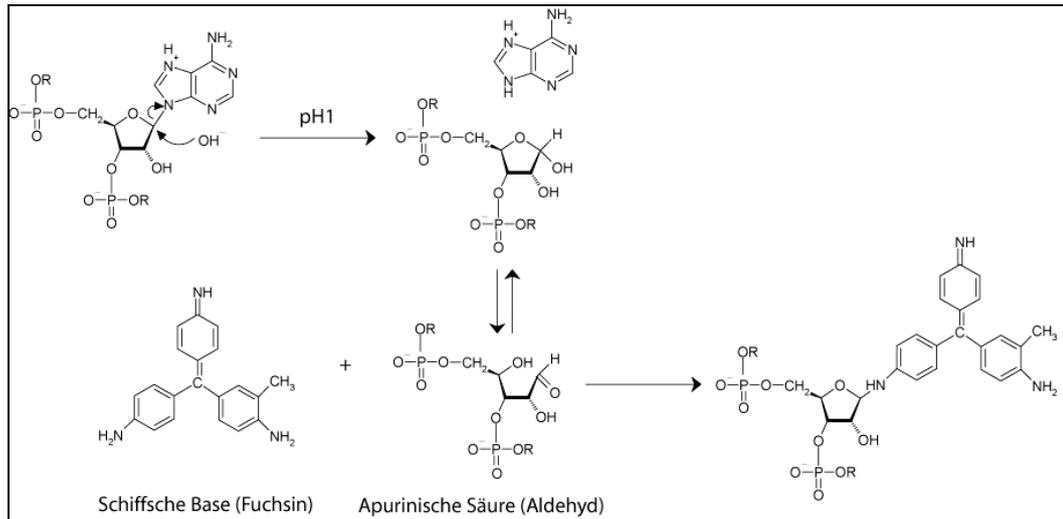


Abbildung 12: Reaktionsschema der DNA bei einer Feulgen-Färbung

Die Färbung ist DNA-spezifisch und fällt mit Ribonukleinsäuren (RNA) negativ aus. Nach der Färbung werden die Präparate mit Entellan[®] (Merck, Darmstadt, Nr. 1.07961.0500) eingedeckelt und lichtgeschützt aufbewahrt.

Zur Feulgen-Färbung konnten folgende Proben verwendet werden:

- Ungefärbte, luftgetrocknete Präparate
- nach Pappenheim gefärbte Präparate
- Paraffinblöcke mit formalinfixierten Gewebe für eine enzymatische Zellvereinzelung

Das genaue Färbeschema einer Feulgenfärbung ist in nachfolgender Tabelle aufgeführt.

Tabelle 11: Färbeschema Feulgenfärbung

Substanz	Zeit und Temperatur
Xylol	15 Minuten
Ethanol 99,5%	5 Minuten
Ethanol 96%	5 Minuten
10% gepuffertes Formalin	50 Minuten
Aqua destillata	10 Minuten
Aqua destillata	5 Minuten
5N HCl	60 Minuten bei 27°C
Aqua destillata	3 Bäder für jeweils 2 Minuten bei Raumtemperatur
Schiff'sches Reagenz	60 Minuten bei 25°C
SO ₂	3 Bäder für jeweils 5 Minuten bei Raumtemperatur
H ₂ O	10 Minuten bei Raumtemperatur
Aqua destillata	2 Bäder für jeweils 1 Minute
Ethanol 70%	3 Minuten
Ethanol 96%	3 Minuten
Ethanol 100%	3 Minuten
Xylol	15 Minuten

2.2 GERÄTE UND MESSTECHNIK

2.2.1 MESSTECHNIK

Die Erfassung der IOD pro Zellkern ist das Messprinzip der statischen DNA-Zytometrie. Als IODn werden die aufsummierten Grauwerte aller Pixel eines Zellkernbildes angegeben.

Die IOD-Werte gemessener Analysezellen werden dabei in Bezug zu den IODn interner Referenzzellen gesetzt.

Als interne Referenzzellen wurden 30 normale, gesunde Zellen mit diploidem Chromosomensatz verwendet. Ihr IOD-Mittelwert wird als 2c gesetzt.

Für jede Messung wird von der Bildanalysesoftware eine so genannte Messmaske generiert, welche das Bild eines Zellkerns exakt abdeckt. Darin wird die IOD bestimmt.

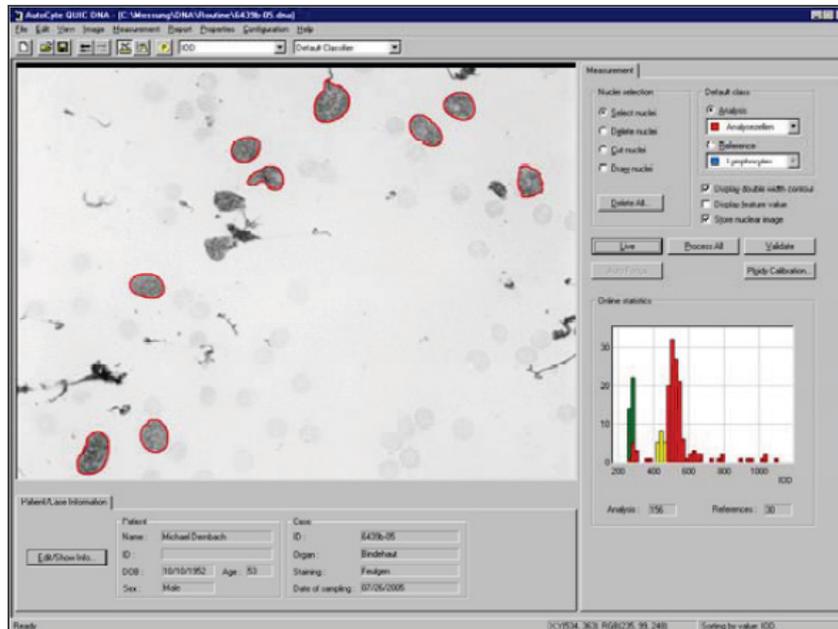


Abbildung 13: Messmonitor zur diagnostischen DNA-Bildzytometrie des Geräts AutoCyte-Quick-DNA®

In Abbildung 13 ist ein dergestaltiger Messmonitor abgebildet. In der Aufnahme sind links mehrere markierte Feulgen-gefärbte Zellkerne zu sehen, rechts unten ist ein DNA-Histogramm mit den IOD-Gehalten mit Referenzzellen (blau) und Analysezellen (rot) gezeigt.

Zur Bestimmung des mittleren Grauwertes des Hintergrundes oder auch Leerwert (I_0) genannt muss eine zweite Messmaske generiert werden, die der Kernmaske eng anliegt und dieser in Form und Größe genau entspricht. Die Bildanalysesoftware korrigiert insbesondere Streulicht (glare) und Lichtbeugungen am Zellkernrand, um Messfehlern vorzubeugen [Kindermann u. Hilgers, 1994].

2.2.2 GERÄTECHNIK

Das verwendete TV-Bildanalyse-System (AutoCyte-Quick-DNA[®], Zeiss, Jena, Deutschland und Tripath, Burlington, USA) besteht im wesentlichen aus:

- einem Zeiss-Axioskop Mikroskop mit 40er Objektiv (n.A. 0,75) und 570 nm Interferenzfilter (+/- 10 nm Halbwertsbreite)
- einer Schwarzweißkamera mit 572 Linien (VarioCam[®], CCIR[®], PCO Computer Optics, Kelheim) und Kameraadapter mit Vergrößerungsfaktor 1,6
- einem Pentium PC mit einem frame grabber board (Fa. Leutron[®], Zürich, Schweiz) zur Bildanalyse
- einem Monitor
- einem Farbdrucker

2.2.3 MESSVORGANG

Die Messung der Zellkerne erfolgt interaktiv durch den Untersucher.

Eine Messsequenz umfasst die Auswahl der zu messenden Zellkerne, welche auf dem Monitor mit der Maus einzeln angeklickt werden können. Die Zellkerne werden getrennt nach Analysezellen und Referenzzellen in einer Bildergalerie (Image Galery) aufgeführt. Artefakte, unscharfe oder autolytische Kerne können qualitativ selektiert und eliminiert werden.

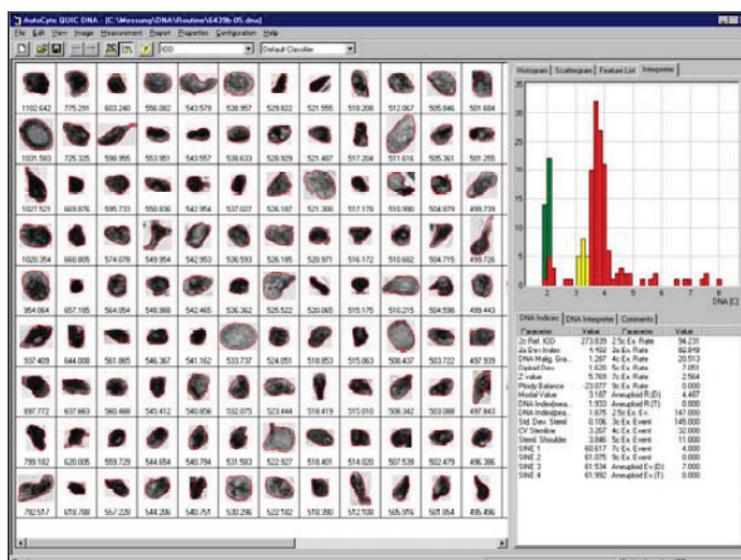


Abbildung 14: Messmonitor der DNA-Bildzytometrie: Links: Bildgalerie vermessener Zellkerne eines Karzinoms. Rechts: Zugehöriges DNA-Histogramm

Für jede Messung wurden, wenn möglich, 300 Analysezellen ausgewählt.

Als Referenzzellen standen in den Präparaten Lymphozyten oder Granulozyten zur Verfügung. Ihre Anzahl wurde, wenn vorhanden, auf 30 festgelegt.

Für jede neue Messung galten folgende qualitative Standards:

- Die Justierung des Mikroskops nach dem Köhler'schen Beleuchtungsprinzip muss gewährleistet sein.
- Ein Schwarz- und ein Weißabgleich des TV-Kamera-Framegrabber-Systems sind durchzuführen.
- Der Variationskoeffizient (CV) der Referenzzellen sollte unter 5% betragen.
- Der relative Fehler des Mittelwertes (REM) der Referenzzellen sollte kleiner als 1,5% sein.
- Es sollten nicht weniger als 30 Referenzzellen zur internen Kalibrierung im selben Präparat gemessen werden.
- Die mittlere IOD der Referenzzellen darf nicht mehr als 10% Abweichung vom Mittelwert der vorherigen Messungen betragen.
- Der Korrelationskoeffizient r der Kernfläche versus die IODn der Referenzzellen sollte kleiner als 0,4 betragen.
- Es sollte keine Drift der IOD Werte während der Messung feststellbar sein.
- Bei wiederholten Überschreitungen von Schwellenwerten in Einzelmessungen muss das Präparationsprotokoll und das Messsystem überprüft werden (PRESS-PRO4-Test), [Böcking, 2006; Giroud et al., 1998].

2.2.4 QUALITÄTSSICHERUNG

Die Messungen und das TV-Bildanalysesystem entsprachen den Standards und Anforderungen der European Society for Analytical Cellular Pathology, ESACP [Böcking et al., 1995; Haroske et al., 1998 u. 2001; Giroud et al., 1998].

Die ESACP standardisierte die Messmethodik und Messpräzision, interne Kalibrierung, Fehlerkorrekturen, diagnostische Interpretationen der Messergebnisse sowie Maßnahmen zur Qualitätskontrolle. Hierbei wird für jedes neue, gewebe-spezifische Präparationsprotokoll eine Hydrolysekurve für die Optimierung der Feulgen-Färbung angelegt.

Der PRESS-PRO4-Test (Prototype Reference Standard Slides) sichert die Qualität der gesamten Methodik von der DNA-Färbung bis zu den IOD-Messungen an einzelnen Zellkernen. Er besteht aus einem Glasobjektträger mit vier Rattenleber-Tupfpräparaten [Böcking, 2006; Giroud et al., 1998].

2.2.5 INTERPRETATION DER MESSERGEBNISSE

Die diagnostisch relevanten Prinzipien der Interpretation von Histogrammen in der DNA-Bildzytometrie sind [Böcking, 2006]:

- (1) der Nachweis einer diploiden Stammlinie ($2c \pm 10\%$)
- (2) der Nachweis euploid-polyploider Stammlinien ($4c, 8c, 16c \pm 10\%$)
- (3) der Nachweis aneuploider Einzelzellen (9c EE)
- (4) der Nachweis einer aneuploiden Stammlinie ($> < 2c, 4c, 8c, 16c \pm 10\%$)
- (5) der Nachweis mehrerer aneuploider Stammlinien mit Polyploidisierung.
- (6) der Nachweis mehrerer aneuploider Stammlinien ohne Polyploidisierung
- (7) der Nachweis der Kombination von (3) mit (4), (5) oder 6
- (8) die Bestimmung der Dignität einer Läsion über den qualitativen Nachweis von DNA-Aneuploidie
- (9) die Bestimmung des Malignitätsgrades bzw. des Progressionsrisikos einer Läsion über die Quantifizierung von DNA-Aneuploidie
- (10) die Bestimmung des Therapieerfolges einer Läsion über die Beurteilung einer prognostisch relevanten Änderung des DNA-Histogramms über die Zeit
- (11) die Histogrammtypen peridiploid bis multiploid geben eine mit der Tumorprogression zunehmende maligne Potenz wieder

Die Bestimmung der Dignität der vermessenen Läsion erfolgt durch den qualitativen Nachweis einer DNA-Aneuploidie über den Nachweis abnormer Stammlinien oder abnorm hoher Einzelwerte (EE: Exceeding Events).

Die Identifizierung abnormer DNA-Stammlinien erfolgt durch den Vergleich der Lage eines unbekanntes Peaks mit denjenigen normaler DNA-Peaks.

Bei der Identifizierung abnorm hoher Einzelwerte wird der DNA-Gehalt einzelner Zellen auf Zugehörigkeit zu Zellzyklusphasen pathologischer Zellpopulationen getestet [Böcking, 2006].

Die Interpretation der Messergebnisse und der DNA-Histogramme erfolgte in Absprache mit Frau Dr. med. Pomjanski und Herrn Prof. Dr. med. Böcking. Präparate, deren Zellanzahl und Grenzwerte nach der ersten Messung nicht eingehalten werden konnten, wurden in einer zweiten Messung erneut vermessen und wenn möglich für die Auswertung herangezogen. Ziel war es die qualitativen Standards der Zahl an Analysezellen und Referenzzellen nach ESACP einzuhalten. In Tabelle 33 werden die Zahlenwerte der Analysezellen und Referenzzellen exakt aufgeführt.

2.3 STATISTISCHE AUSWERTUNGEN UND ANALYSEN

In der deskriptiven Statistik wurden die Fälle der Studie in Vier-Felder-Tafeln dargestellt und die Kennzahlen Spezifität, Sensitivität, Negativer und Positiver Prädiktionswert zur Charakterisierung benigner und maligner Tumoren der Fallstudie berechnet. Die Einordnung der Fälle in die erstellten Vier-Felder-Tafeln können Tabelle 34 entnommen werden.

Um Rückschlüsse auf die Grundgesamtheit von Speicheldrüsentumoren bezüglich der Differenzierung von pleomorphen Adenomen und Karzinomen mittels der DNA-Zytometrie ziehen zu können, wurden Methoden der analytischen Statistik eingesetzt.

Zur Aufbereitung der Daten wurden zu Beginn jeder Analyse Mittelwert, Standardabweichung, Median, Interquartilbereich (IQ=25%-50%), Minimum und Maximum berechnet. Die grafische Darstellung wurde mit Boxplots umgesetzt und die jeweiligen Konfidenzintervalle angegeben.

Für die Auswertung der Ploidieparameter der Speicheldrüsentumoren wurden folgende Hypothesentests durchgeführt:

- t-Test
- Wilcoxon-Test
- Mann-Whitney-U-Test

Für sämtliche Analysen ist ein Signifikanzniveau von $\alpha = 5\%$ festgesetzt worden. Basierend auf den Erkenntnissen der durchgeführten Analysen wurden abschließend die untersuchten Fälle jeweils in Vier-Felder-Tafeln eingeordnet und wiederum die Kennzahlen Spezifität, Sensitivität, Negativer und Positiver Prädiktionswert berechnet. Die Einordnung der Fälle in die erstellten Vier-Felder-Tafeln können Tabelle 35 entnommen werden.

Sämtliche statistischen Datenanalysen und Grafiken sind mit Minitab (Minitab® 15.1.1.0.) erstellt worden.

3 ERGEBNISSE

3.1 DESKRIPTIVE DARSTELLUNG KLINISCHER DATEN

3.1.1 PATIENTENKOLLEKTIV

In der vorliegenden Studie sind 98 Patientenfälle zur Differenzierung von pleomorphen Adenomen und Karzinomen der Speicheldrüsen mit Hilfe der DNA-Bildzytometrie untersucht worden.

Nach Beendigung des Messvorgangs ist für 77 Fälle ein histopathologisches oder klinisches Follow-up ermittelt worden. In zwei Fällen lag lediglich eine Zellvereinzellung der Histopathologie vor und in den verbliebenen 19 Fällen konnten keine Krankenakten rekrutiert werden.

3.1.2 ALTER UND GESCHLECHT

Das Kollektiv der 98 Patienten setzt sich aus 49 Frauen und 49 Männern zusammen, deren Alter bei Diagnosestellung zwischen zwölf und 88 Jahren lag (siehe auch Kapitel 2.1). Das Durchschnittsalter der Frauen mit 52,6 Jahren und der Männer mit 53,4 Jahren differiert um 0,8 Jahre nur unwesentlich.

Die Altersverteilung der Patienten wurde in Abbildung 15 differenziert nach der Dignität der Tumordiagnosen dargestellt (sieben Diagnosen mit unklarer Dignität sind in Abbildung 15 nicht berücksichtigt).

Es präsentiert sich eine Verteilung des pleomorphen Adenoms über alle Altersklassen mit einem erhöhten Vorkommen im Alter vom 31 bis 80 Jahren.

Die Speicheldrüsenkarzinome treten dagegen vorwiegend in der Altersgruppe zwischen 51 und 80 Jahren auf.

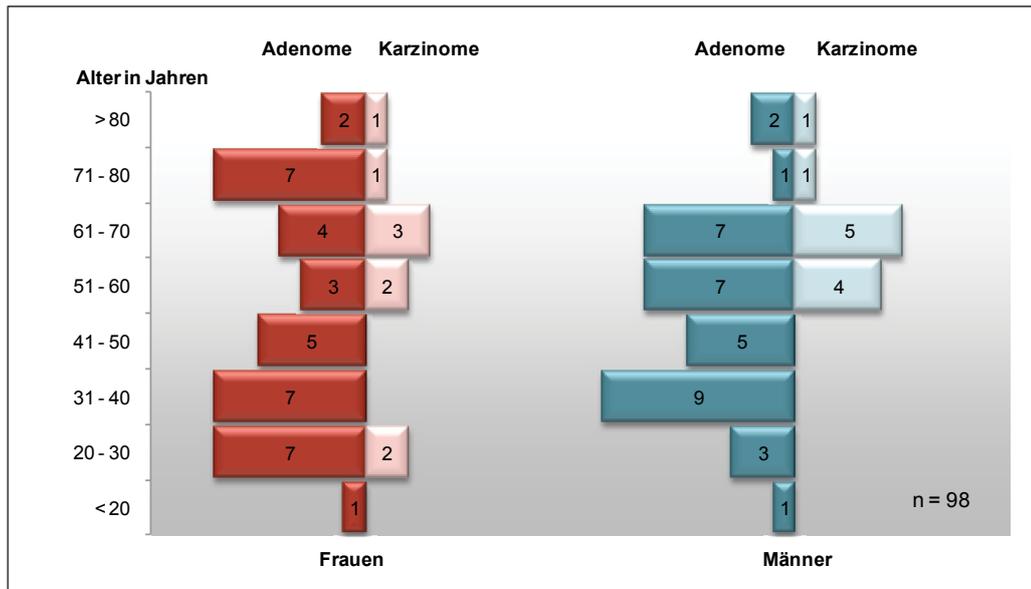


Abbildung 15: Verteilung der Adenome und Karzinome nach Geschlecht und Alter

3.1.3 ZYTOLOGISCHE UND HISTOPATHOLOGISCHE DIAGNOSEN

3.1.3.1 ZYTOLOGISCHE DIAGNOSEQUALITÄT

In dieser Studie konnten für insgesamt 77 Fälle eine zytologische und histopathologische Diagnose gesichert und gegenübergestellt werden. Eine zytologische Diagnose wird als richtig gewertet, falls keine Differenzen zum Follow-up bestehen.

Für eine Gegenüberstellung der zytologischen Diagnosen mit dem histologischen und klinischen Follow-up wurden elf Diagnosegruppen (Tabelle 12) gebildet und die Fälle entsprechend eingeordnet. Die Einordnung der einzelnen Fälle kann in Tabelle 32 eingesehen werden.

Tabelle 12: Diagnosegruppen für die 77 FNABs mit Follow-up

Gruppe	Zytologische Diagnose	Follow-up (Histologie und Klinik)	DNA Aneuploid	DNA Euploid
1	Adenome (pleomorph und andere)	Adenome	1	50
2	dringend verdächtig auf Adenom (pleomorph) (15, 71, 90)	Pleomorphes Adenom (15, 71), chron. Sialadenitis (90)	0	3
3	Monomorphes Adenom (9), Pleomorphes Adenom (37)	Azinuszell-Ca (9), Adenoidzystisches Ca (37)	0	2
4	dringend verdächtig, Tu-Zellen unklarer Dignität (58, 95)	Benigner, zystischer Parotis-Tu (58), Pleomorphes Adenom (95)	0	2
5	Tu-Zellen unkl. Dignität (81, 98)	Pleomorphes Adenom (81, 98)	0	2
6	Tu-Zellen unkl. Dignität. A.e. Adeno-Ca oder Mucoepidermoid-Ca (64)	Adeno-Ca (64)	1	0
7	Zweifelhaft, abnorme Plattenepithelien (18)	gering differenziertes Plattenepithel-Ca (18)	1	0
8	dringend verdächtig auf Plattenepithel-Ca (21), zys- tisches Ca (35), Adeno-Ca (97)	Plattenepithel-Ca (21), Spinozelluläres Ca (35), maligner epithelialer Tu (97)	3	0
9	Karzinome und andere maligne Tumoren	Karzinome und andere maligne Tumoren	10	0
10	Maligner, a.e. mesenchymale Tumor, Vimentin 100% (96)	Melanom-Metastase (96)	1	0
11	Pleomorphes Adenom, atypische Epithelien, eine herdförmige maligne Trans- formation sollte am Resektat ausgeschlossen werden (68)	Pleomorphes Adenom mit erhöhter Proliferations- tendenz (68)	1	0
Anzahl			18	59

Die Einteilung in DNA Aneuploid und DNA Euploid erfolgte entsprechend der Ploidieparameter, wie sie vor Studienbeginn im Institut für Cytophathologie verwendet wurden (Aneuploidie $\hat{=}$ aneuploide Stammlinie oder 9c Exceeding Events).

Problem bei der Einteilung der Ergebnisse sind Fall 82 (Gruppe 1) und Fall 68 (Gruppe 11), die trotz benignem Follow-up aneuploid sind. Aneuploidie existiert nur in malignen Tumoren. Diese Diskrepanz wird in Kapitel 4.4 diskutiert.

3.1.3.2 DIGNITÄTSDIAGNOSTIK

Für die Differenzierung zwischen pleomorphen Adenomen und Karzinomen wird die Treffsicherheit der zytologischen Dignitätsdiagnostik mit Hilfe folgender statistischer Maßzahlen zusätzlich berechnet:

- Sensitivität
- Spezifität
- Positiver Prädiktionswert (PPV)
- Negativer Prädiktionswert (NPV)

Die Sensitivität errechnet sich als Quotient aus der Anzahl der zytologisch richtig-positiven Fälle und der Anzahl aller tatsächlich positiven Tumorfälle.

$$\text{Sensitivität} = \frac{\text{Anzahl der richtig positiven Testergebnisse}}{\text{Anzahl aller tatsächlich positiven Fälle}} * 100$$

Die Spezifität errechnet sich als Quotient aus der Anzahl der zytologisch richtig-negativen Fälle und der Anzahl aller tatsächlich negativen Fälle.

$$\text{Spezifität} = \frac{\text{Anzahl der richtig negativen Testergebnisse}}{\text{Anzahl aller tatsächlich negativen Fälle}} * 100$$

Der positive Prädiktionswert errechnet sich als Quotient aus der Anzahl der zytologisch richtig-positiven Fälle und der Anzahl aller als positiv erkannten Fälle.

$$\text{PPV} = \frac{\text{Anzahl der richtig positiven Testergebnisse}}{\text{Anzahl aller positiv erkannten Fälle}} * 100$$

Der negative Prädiktionswert errechnet sich als Quotient aus der Anzahl der zytologisch richtig-negativen Fälle und der Anzahl aller als negativ erkannten Fälle.

$$\text{NPV} = \frac{\text{Anzahl der richtig negativen Testergebnisse}}{\text{Anzahl aller negativ erkannten Fälle}} * 100$$

Die Berechnung der Kennwerte wird mit einer Vier-Felder-Tafel ausgeführt.

Die Aufteilung der absoluten Häufigkeiten wird zunächst in einem allgemeinen Schema in Tabelle 13 dargestellt.

Tabelle 13: Häufigkeiten in der Vier-Felder-Tafel

		Test		
		Negativ	positiv	Summe
Krankheit	negativ	<i>Anzahl der richtig negativen</i>	<i>Anzahl der falsch positiven</i>	<i>Anzahl der tatsächlich negativen</i>
	positiv	<i>Anzahl der falsch negativen</i>	<i>Anzahl der richtig positiven</i>	<i>Anzahl der tatsächlich positiven</i>
Summe		<i>Anzahl der negativ erkannten</i>	<i>Anzahl der positiv erkannten</i>	<i>Gesamtanzahl</i>

In den folgenden Vier-Felder-Tafeln werden die Fälle anhand ihrer Diagnosegruppen als richtig negativ, richtig positiv, falsch negativ, falsch positiv bezüglich der Dignität bewertet und jeweils dem histologischen und klinischen Follow-up gegenübergestellt. Diskrepanzen in der histogenetischen Klassifikation zytologischer und histologischer Befunde bleiben an dieser Stelle unberücksichtigt.

Die Bewertung wurde dabei differenziert vorgenommen unter Betrachtung der Diagnosen

- nur aus der Zytologie (Tabelle 14)
- aus der Zytologie und der DNA-Zytometrie Ploidie-Parameter, wie bis dato im Institut für Cytopathologie gebräuchlich (DNA Aneuploidie bei Stammlinien-aneuploidie und / oder 9c Exceeding Events) (Tabelle 15)
- aus der Zytologie und DNA-Zytometrie und Neubewertung von Fall 68 als Frühkarzinom (Tabelle 16).

Die daraus resultierende Gruppenzuordnung und die Ergebnisse der Kennzahlen sind in einer Übersicht in Tabelle 17 nochmals zusammengefasst.

Tabelle 14: Vier-Felder-Tafel zur Gegenüberstellung von Diagnoseergebnissen aus Zytologie versus Histologie von Speicheldrüsentumoren

		Test auf maligne Zellen (Zytologie)		Summe
		Negativ (benigne)	Positiv (maligne)	
Wahrer Zustand Maligne Zellen (Histopathologie)	Negativ (benigne)	54	5	59
	Positiv (maligne)	2	16	18
Summe		56	21	77

In dieser Vier-Felder-Tafel werden zur Bewertung die Ergebnisse betrachtet, welche die Zytologie liefert. In der Zytologie werden bereits bei Zweifeln an Benignität die untersuchten Fälle als positiv (maligne) gewertet.

Folgende Kennzahlen können berechnet werden:

- Spezifität 91,5%
- Sensitivität 88,9%
- NPV 96,4%
- PPV 76,2%

Tabelle 15: Vier-Felder-Tafel zur Gegenüberstellung von Diagnoseergebnissen aus der Zytologie und DNA-Zytometrie versus Histologie von Speicheldrüsentumoren

		Test auf maligne Zellen (Zytologie und DNA-Zytometrie)		Summe
		Negativ (benigne)	Positiv (maligne)	
Wahrer Zustand Maligne Zellen (Histopathologie)	Negativ (benigne)	57	2	59
	Positiv (maligne)	2	16	18
Summe		59	18	77

In dieser Vier-Felder-Tafel werden zur Bewertung die Ergebnisse betrachtet, welche die Zytologie in Kombination mit der DNA-Zytometrie liefert.

Die DNA-Zytometrie bestätigt die positive Diagnose der Zytologie in allen Fällen. Bei negativer oder unklarer Zytologie entscheidet die DNA-Zytometrie. Benignität wird hier mit einer Polyploidisierung bis 8c diagnostiziert.

Folgende Kennzahlen können berechnet werden:

- Spezifität 96,6%
- Sensitivität 88,9%
- NPV 96,6%
- PPV 88,9%

Tabelle 16: Vier-Felder-Tafel zur Gegenüberstellung von Diagnoseergebnissen aus der Zytologie, DNA-Zytometrie und Fall 68 versus Histologie von Speicheldrüsentumoren

		Test auf maligne Zellen (Zytologie, DNA-Zytometrie, Fall 68)		
		Negativ (benigne)	Positiv (maligne)	Summe
Wahrer Zustand Maligne Zellen (Histopathologie)	Negativ (benigne)	58	0	58
	Positiv (maligne)	2	17	19
Summe		60	17	77

In dieser Vier-Felder-Tafel werden zur Bewertung ebenfalls die Ergebnisse betrachtet, welche die Zytologie in Kombination mit der DNA-Zytometrie liefert. Allerdings wird Benignität hier mit einer Polyploidisierung bis 16c diagnostiziert [Thunissen et al., 1992]. Außerdem wird der Fall 68 (Gruppe 11, DNA-Aneuploid) als Frühkarzinom gewertet (siehe Kapitel 4.4).

Folgende Kennzahlen können berechnet werden:

- Spezifität 100,0%
- Sensitivität 89,5%
- NPV 96,7%
- PPV 100,0%

Tabelle 17: Übersicht der Gruppenzuordnung und den Ergebnissen der Kennzahlen aus den Vier-Felder-Tafeln in Tabelle 14 bis Tabelle 16

		Tabelle 14 Nur Zytologie	Tabelle 15 Zytologie und DNA- Zytometrie	Tabelle 16 Zytologie, DNA- Zytometrie, Fall 68
Gruppenzuordnung	Richtig negativ	1, 2	1 (exkl. Fall 82), 2, 4, 5	1, 2, 4, 5
	Richtig positiv	6, 7, 8, 9,10	6, 7, 8, 9,10	6, 7, 8, 9,10,11
	Falsch negativ	3	3	3
	Falsch positiv	4, 5, 11	11, Fall 82 (Gruppe 1)	--
Kennzahlen	Spezifität	91,5%	96,6%	100,0%
	Sensitivität	88,9%	88,9%	89,5%
	NPV	96,4%	96,6%	96,7%
	PPV	76,2%	88,9%	100,0%

Die Differenzierung zwischen pleomorphen Adenomen und Karzinomen der Speicheldrüsen anhand der Zytologie erfolgt in dieser Studie mit einer statistischen Sensitivität von 88,9% und einer Spezifität von 91,5%.

Werden die Ergebnisse der DNA-Zytometrie in die Diagnoseerstellung einbezogen, kann die Spezifität auf 96,6% gesteigert werden und der PPV erhöht sich von deutlich von 76,2% auf 88,9%. Mit Hilfe der DNA-Zytometrie können benigne Tumoren besser erkannt werden.

Eine benigne Interpretation einer 16c-Polyploidisierung in Fall 82 und die Neubewertung von Fall 68 als Frühkarzinom kann die Spezifität auf 100% steigern. Somit können alle benignen Tumoren eindeutig erkannt werden.

Der negative Prädiktionswert weist in der Gesamtbetrachtung 96,7% der Adenome als negativ diagnostizierte Befunde aus. Alle als Karzinom diagnostizierten Fälle stellen sich als richtig positiv heraus (PPV = 100%).

Schwierigkeiten bei der korrekten Angabe der Dignität bereiten gelegentlich hochdifferenzierte Karzinome wie das Azinuszellkarzinom oder das Adenoidzystische Karzinom in der Diagnostik der Zytologie von Raumforderungen der Speicheldrüsen, ebenso ist die histogenetische Klassifikation der Tumoren nicht immer korrekt. In Tabelle 18 werden nochmals alle Fälle mit einer von der Histologie abweichenden zytologischen Diagnose aufgeführt.

Tabelle 18: Abweichungen der zytologischen und histologischen Diagnosen

Nr	Eingang Nr	zytologische Diagnose	zytolog. Kategorie	Histologie und Klinik	DNA-Diagnose	Gruppe
9	3334-96	Monomorphes Adenom	positiv	Azinuszellkarzinom	Diploid	3
37	3744-00	Pleomorphes Adenom	positiv	Adenoidzystisches Karzinom	Diploid	3
58	7764-02	Tumorzellen mit Zystenbildung (unklare Dignität)	dringender Verdacht	zystisch regressiv veränderter benigner Tumor der Parotis	Diploid	4
68	4474-03	Pleomorphes Adenom mit herdförmiger maligner Transformation (Karzinom)	positiv	Pleomorphes/ Monomorphes Adenom mit erhöhter Proliferation	Aneuploid	11
81	4202-04	Adenom, ggf. Karzinom (Tumor unklarer Dignität)	positiv	Pleomorphes Adenom, Rezidiv	Polyploid	5
95	6071-05	Neoplastische Zellen (Tumor unklarer Dignität)	dringender Verdacht	Pleomorphes Adenom	Diploid	4
98	8545-05	Adenom, gut differenziertes Adenokarzinom (unklare Dignität)	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	5

3.1.4 ZYTOLOGISCHE, HISTOLOGISCHE UND DNA-ZYTOMETRISCHE DIAGNOSEN

Die DNA-Bildzytometrie betrachtet die dem Chromosomensatz entsprechenden DNA-Gehalte und untersucht unter Anwendung der Stammlinien- und Einzelzellinterpretationen, ob ein DNA-Gehalt typisch (euploid) oder atypisch (aneuploid) ist. Chromosomale Aneuploidie wird als numerische Abweichung vom euploiden Chromosomensatz bezeichnet und gilt zytogenetisch damit als Nachweis einer Neoplasie, wenn sie klonal auftritt.

Die DNA-Diagnosen werden folgendermaßen unterteilt:

- euploid-diploid
- euploid-polyploid
- aneuploid

Der Aufbau und die Verteilung des Patientenkollektivs mit den Diagnosen der DNA-Bildzytometrie, Zytologie und Histologie sind in einem Flussdiagramm (Abbildung 16) zusammenfassend dargestellt.

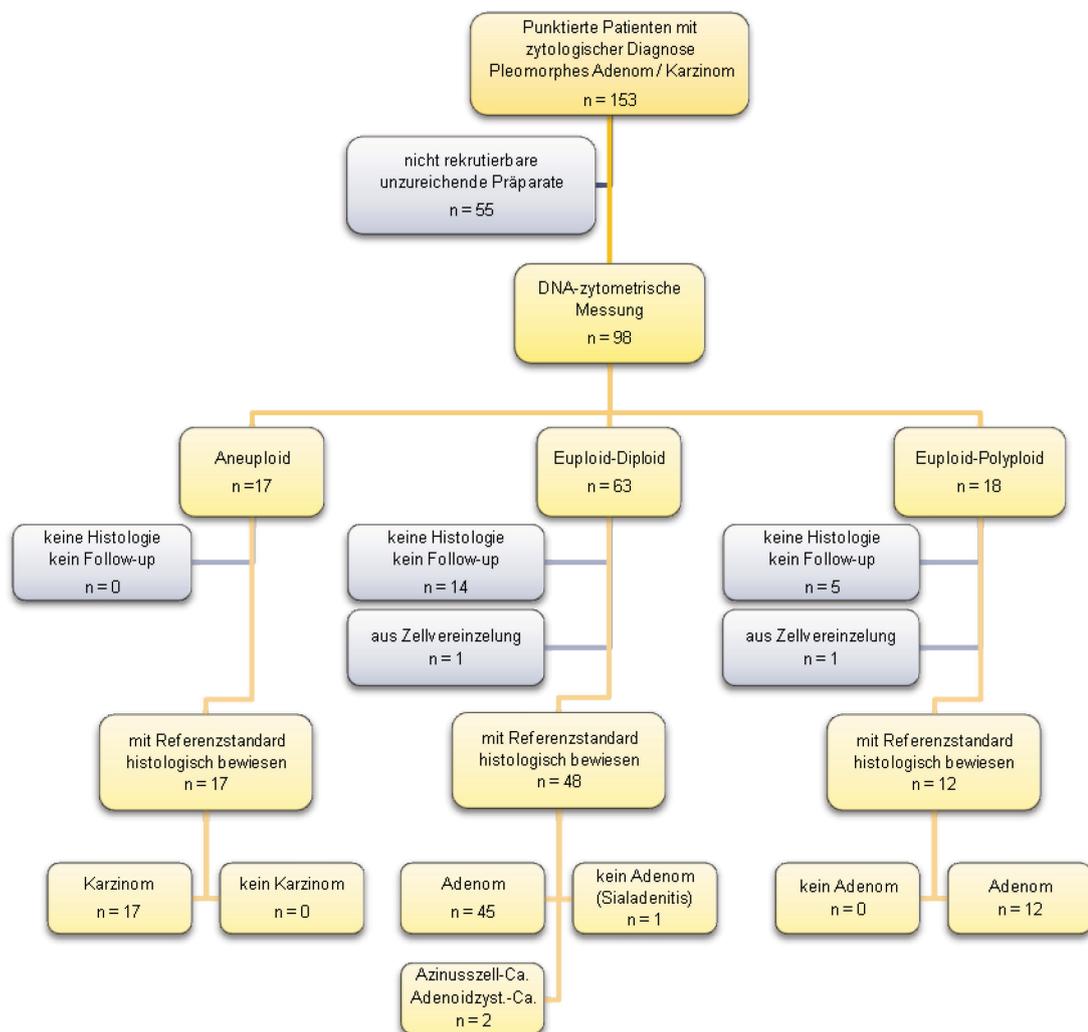


Abbildung 16: Flussdiagramm der DNA-Bildzytometrischen Ergebnisse

Insgesamt wurden 63 Speicheldrüsentumoren mit einer euploid-diploiden Diagnose gemessen. Unter den diploiden Ergebnissen sind jeweils ein Azinuszellkarzinom und ein Adenoidzystisches Karzinom mit histologischem Follow-up.

Bei 18 Fällen konnte eine euploid-polyploide DNA-Diagnose gestellt werden.

Alle 17 Fälle mit aneuploider DNA-Diagnose sind maligne Tumoren der Speicheldrüse und wurden somit histologisch als richtig bestätigt. In einem pleomorphen Adenom mit herdförmiger erhöhter Proliferationstendenz und fokalem kapselüberschreitenden Wachstum wurde DNA-Aneuploidie festgestellt und damit Malignität richtig zytometrisch angenommen (Fall 68, Tabelle 32).

Eine Übersicht der DNA-Bildzytometrischen Ergebnisse zeigen die im Anhang dieser Arbeit abgelegten Tabelle 32 und Tabelle 33.

3.2 ANALYTISCHE STATISTIK

Für die statistische Auswertung der Messergebnisse der DNA-Zytometrie wurden die endgültigen Diagnosen der Histopathologie und dem klinischem Follow-up verwendet. Wo nicht vorhanden, wurde allein die zytologische Diagnose einbezogen. Thema der statistischen Auswertung ist ein Vergleich von pleomorphen Adenom und Speicheldrüsenkarzinomen. Von diesen beiden Diagnosen abweichende Fälle blieben daher unberücksichtigt (Tabelle 19). Die untersuchte Stichprobe umfasste somit 72 pleomorphe Adenome und 17 Karzinome.

Tabelle 19: Fälle mit histologischer Diagnose abweichend von ‚Pleomorphes Adenom‘ bzw. ‚Speicheldrüsenkarzinom‘

Nr	zytologische Diagnose	Zytolog. Kategorie	Histologie und Klinik	DNA-Diagnose
3	Pleomorphes Adenom	dringender Verdacht	---	Diploid
9	Monomorphes Adenom	positiv	Azinuszellkarzinom	Diploid
26	Adenokarzinom	positiv	Metastase, Melanom	Aneuploid
43	Adenom, Adenolymphom	positiv	Zystadenolymphom	Diploid
58	Tumorzellen mit Zystenbildung (unklare Dignität)	dringender Verdacht	zystisch regressiv veränderter benigner Tumor der Parotis	Diploid
75	Tumor unklarer Dignität	positiv	---	Diploid
90	Pleomorphes Adenom	dringender Verdacht	Chronische Sialadenitis, Fibrose	Diploid
92	Adenokarzinom, gering differenziert, Pankreaskarzinommetastase	positiv	Diffuse Metastasierung eines Pankreaskarzinoms, klinisches Follow-up	Aneuploid
96	Maligner Tumor, Tumorzelltypisierung unklar	positiv	Metastase eines malignen Melanoms	Aneuploid

Aufgrund des vergleichsweise geringen Stichprobenumfangs bei den Karzinomen bezieht sich die nachstehende Auswertung verschiedener Parameter vorrangig auf Aussagen zu pleomorphen Adenomen.

Tabelle 20 gibt einen Überblick und eine kurze Definition der wichtigsten Messparameter der DNA-Bildzytometrie.

Tabelle 20: Definition der DNA-Messparameter

Messparameter	Definition
Stammlinienmodalwert (Stemline Modal Value)	Häufigster vorkommender Wert der DNA-Gehalte einer Zellpopulation (Position der Stammlinie)
9c Exceeding Events	Anzahl der Zellen mit einem DNA-Gehalt $\geq 9c$
5c Exceeding Events	Anzahl der Zellen mit einem DNA-Gehalt $\geq 5c$
2c Deviation Index	Varianz der DNA-Werte um den 2c-Wert
Variationskoeffizient Stammlinie (CV Stemline)	Relative Standardabweichung der Stammlinie

3.2.1 STAMMLINIENMODALWERTE

Bei euploiden (diploiden, polyploiden) Zellkern-DNA-Gehalten liegt die Stammlinie bei 2c, 4c oder 8c mit einer Ober- bzw. Unterschreitung von 10%, das heißt zum Beispiel in einem Bereich von 1,8c bis 2,2c.

Bei aneuploiden DNA-Gehalten liegt die Stammlinie außerhalb der definierten Bereiche.

In Abbildung 17 sind die Stammlinienmodalwerte der Adenome und Karzinome dieser Studie zusammenfassend dargestellt. Pleomorphe Adenome dieser Studie weisen ausschließlich DNA-Stammlinien im diploiden Bereich auf. Karzinome zeigen dagegen häufig auch aneuploide Stammlinien.

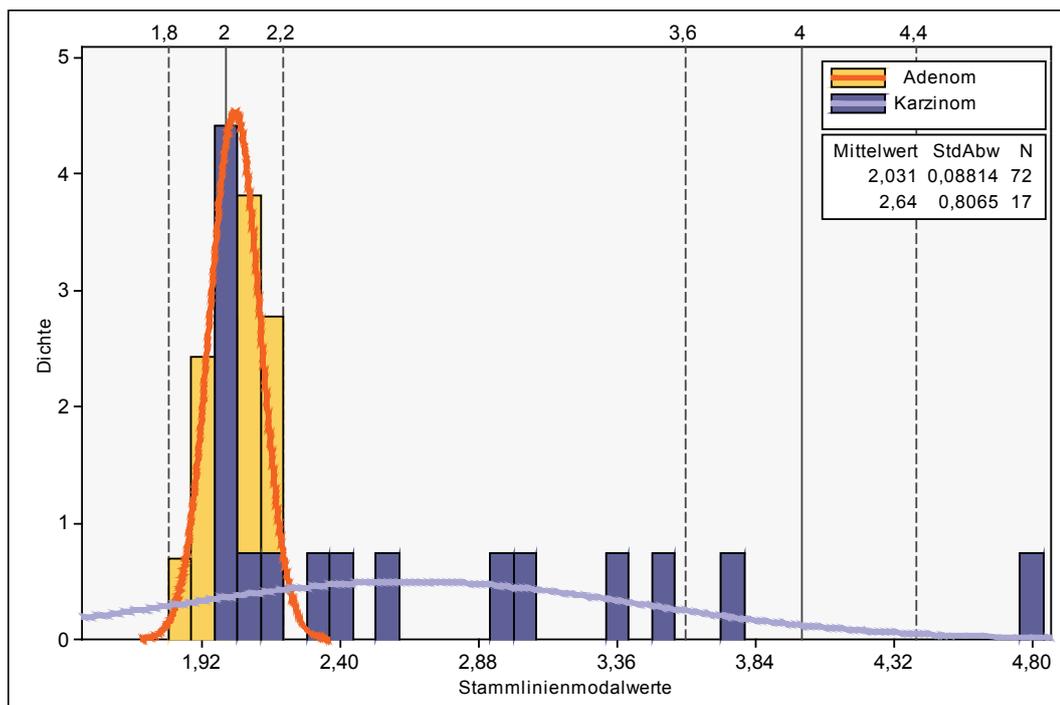


Abbildung 17: Histogramm der Stammlinien bei Adenomen und Karzinomen

Eine differenzierte Auswertung der Stammlinienmodalwerte erfolgt in den nachfolgenden Kapiteln.

3.2.1.1 STAMMLINIEN DER ADENOME

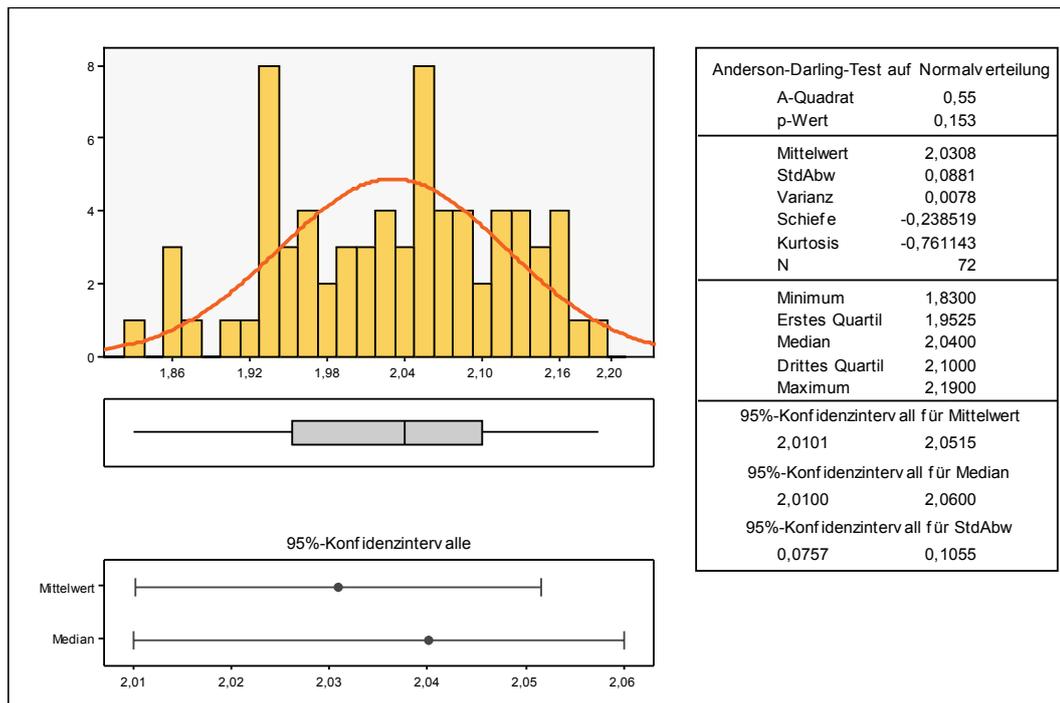


Abbildung 18: deskriptive Statistik der Stammlinienmodalwerte bei Adenomen

Die Stammlinienmodalwerte aller Adenome in dieser Studie liegen in einem Intervall von 1,83c (Minimum) und 2,19c (Maximum) und bewegen sich damit geschlossen innerhalb des definierten Bereichs für DNA-Diploidie.

Das 95%-Konfidenzintervall für den Mittelwert der Stammlinienmodalwerte der Grundgesamtheit wird von 2,01c und 2,05c angegeben. Das bedeutet, Adenome sind diploid im Bezug auf die Lage ihrer DNA-Stammlinie.

3.2.1.2 STAMMLINIEN DER KARZINOME

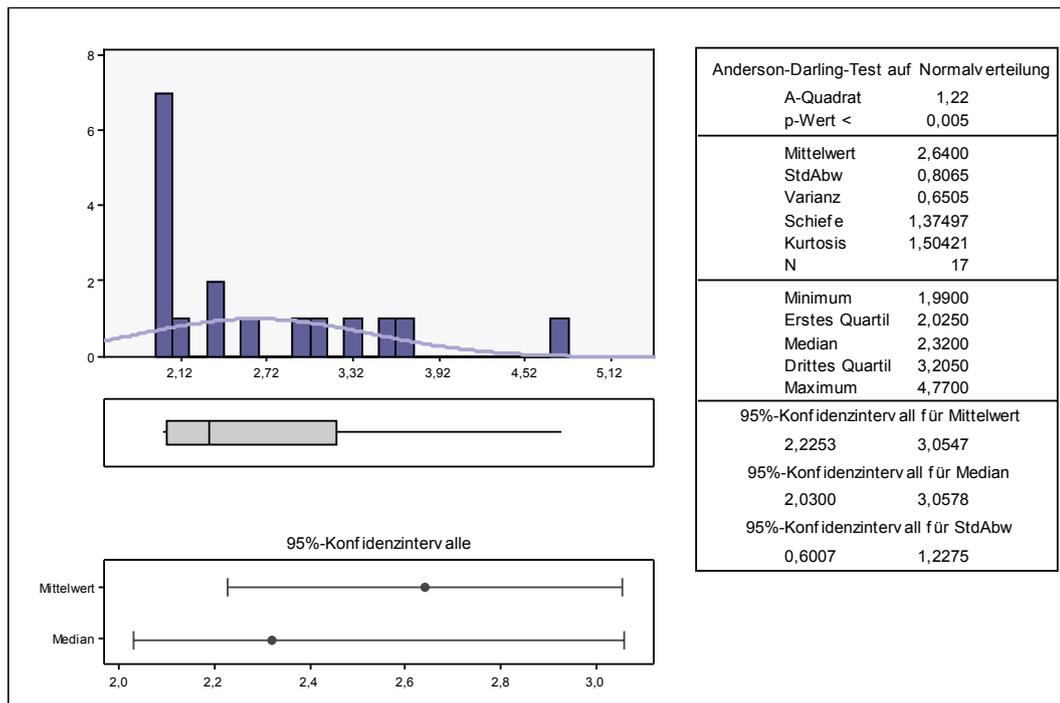


Abbildung 19: deskriptive Statistik der Stammlinienmodalwerte bei Karzinomen

Der Mittelwert der Stammlinienmodalwerte der Karzinome liegt mit 2,64c eindeutig im aneuploiden Bereich.

Das 95%-Konfidenzintervall des Medians geht indes von 2,03c bis 3,06c und erstreckt sich damit vom diploiden bis in den aneuploid definierten Bereich.

Der durchgeführte Wilcoxon-Test lässt die signifikante Aussage zu, dass der Stammlinienmodalwert bei Karzinomen größer als 2c ist (Test 1).

3.2.1.3 LAGE DER STAMMLINIENMODALWERTE IM VERGLEICH ADENOME UND KARZINOME

Den Vergleich der Stammlinien von Adenomen und Karzinomen veranschaulichen die Boxplots in Abbildung 20.

Bei den Adenomen ist die Streubreite um den Median sehr gering, bei den Karzinomen dagegen sehr groß. Aus der Darstellung ist zu entnehmen, dass die Stammlinien von Karzinomen auch diploid sein können.

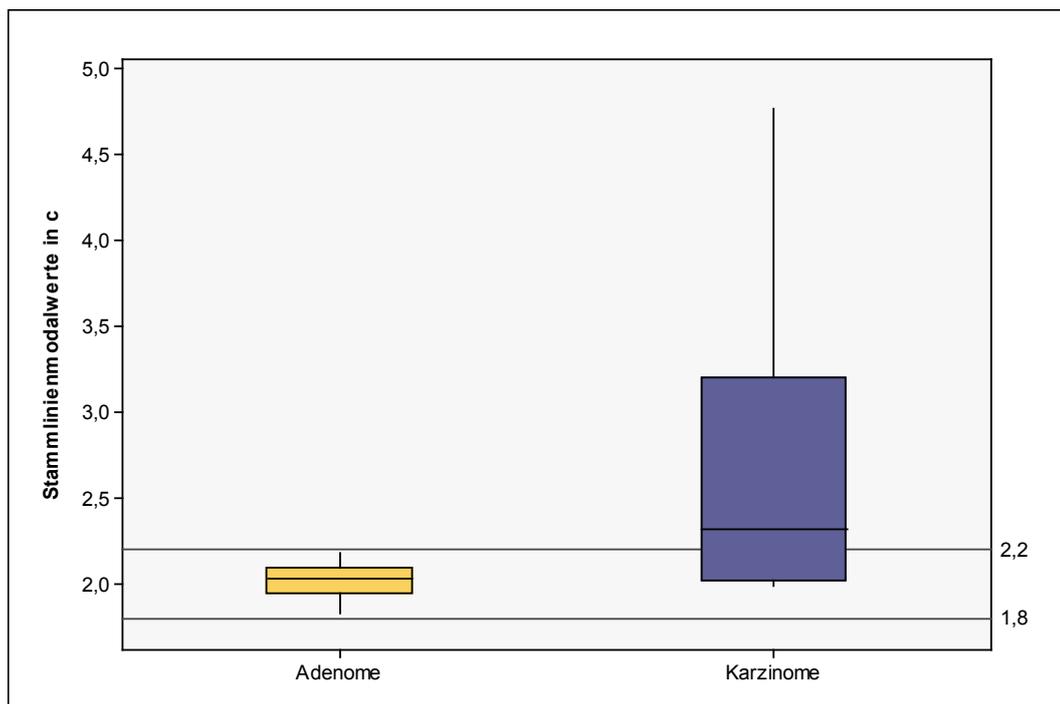


Abbildung 20: Boxplots der Stammlinien von Adenomen und Karzinomen

Bei der Gegenüberstellung differenziert sich die Lage der Stammlinien durch die hohe Variabilität bei den Karzinomen.

Für die statistische Absicherung der Hypothese wurde ein Mann-Whitney-U-Test (Test 2) durchgeführt, der einen signifikanten Unterschied der Mittelwerte der Stammlinienmodalwerte zwischen Adenomen und Karzinomen aufzeigt.

3.2.1.4 VIER-FELDER-TAFEL STAMMLINIENMODALWERTE

Richtig negativ: Stammlinie liegt zwischen 1,8 und 2,2 und ist ein Adenom

Falsch negativ: Stammlinie liegt zwischen 1,8 und 2,2 und ist ein Karzinom

Falsch positiv: Stammlinie liegt nicht zwischen 1,8 und 2,2 und ist ein Adenom

Richtig positiv: Stammlinie liegt nicht zwischen 1,8 und 2,2 und ist ein Karzinom

Tabelle 21: Vier-Felder-Tafel der Stammlinienmodalwerte

		DNA-Bildzytometrie Lage der Stammlinie		Summe
		diploid	aneuploid	
Enddiagnose Statistik	Adenom	72	0	72
	Karzinom	8	9	17
	Summe	80	9	89

Spezifität 100,0%

Sensitivität 52,9%

NPV 90,0%

PPV 100,0%

3.2.2 EXCEEDING EVENTS

Neben der Stammlinienmessung kann mit der DNA-Bildzytometrie durch den Nachweis abnorm hoher Einzelwerte auch eine Einzelzellinterpretation vorgenommen werden.

Prognostisch relevant sind DNA-Gehalte größer 9c und / oder größer 5c in einzelnen Zellen. Die Anzahl identifizierter Zellen mit einem erhöhten DNA-Gehalt wird als 5c Exceeding Events bzw. 9c Exceeding Events erfasst.

3.2.2.1 ANZAHL DER 9c EXCEEDING EVENTS

In dieser Studie sind bei 82% der untersuchten Karzinome (n = 14) 9c Events vorgekommen. Dabei traten bei 35% (n = 6) zwischen ein oder zwei 9c Exceeding Events auf, bei 47% (n = 8) sogar mehr als zwei.

Lediglich bei 2 von 72 (2,8%) Adenomen konnten 9c Exceeding Events gemessen werden.

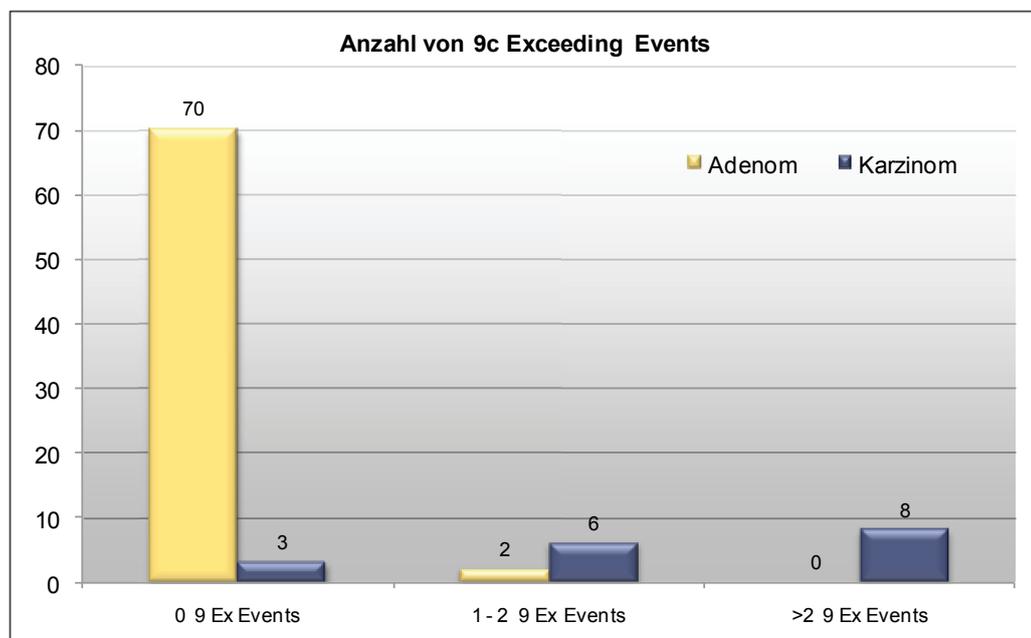


Abbildung 21: Anzahl von 9c Exceeding Events bei Karzinomen und Adenomen

3.2.2.2 9c EXCEEDING EVENTS BEI ADENOMEN

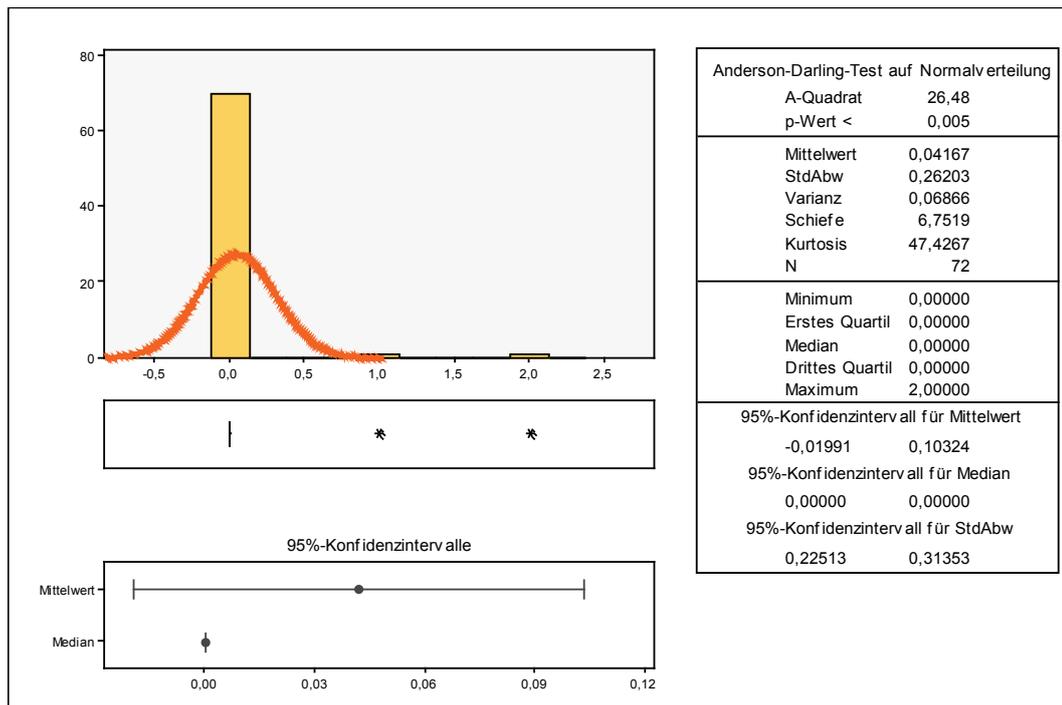


Abbildung 22: deskriptive Statistik der 9c Events bei Adenomen

Das Ergebnis des durchgeführten Wilcoxon-Tests (Test 3) bedeutet, dass bei Adenomen mit einem Signifikanzniveau von $\alpha = 95\%$ keine 9c Exceeding Events auftreten.

In zwei von 76 Adenomfällen traten allerdings ein bzw. zwei 9c Exceeding Events auf. Diese beiden Fälle werden in Tabelle 22 einzeln vorgestellt.

Tabelle 22: Adenome mit 9c Exceeding Events

Nr	Eingang Nr	Zytolog. Diagnose	Histologie und Klinik	DNA Diag.	5c Ex Events	9c Ex Events	Stem Mod Val	2c DI
10	9887-96	Pleomorphes Adenom	----	Polyploid	8,00	2,00	2,00	2,00
82	5699-04	Pleomorphes Adenom	Pleomorphes Adenom	Polyploid	2,00	1,00	1,94	0,98

Im Fall 10 liegt jeweils eine Stammlinie bei 2c, 4c und 8c vor. Das Gesamtbild der DNA-Verteilung deckt sich nicht mit dem eines malignen Tumors.

Im Fall 82 gibt es eine Stammlinie bei 2c und 4c. Das DNA-Histogramm präsentiert sich insgesamt neutral und unauffällig.

Beide Fälle sind gekennzeichnet durch eine euploid-polyploide DNA-Diagnose mit stabilem Chromosomensatz. Bei gut abgrenzbaren Stammlinien kann mit beginnender Polyploidisierung bei pleomorphen Adenomen Einzelzellaneuploidie in geringer Zahl auftreten. Die Diagnose ‚aneuploid‘ wird gestellt, wenn darüber hinaus eine große chromosomale Variabilität vorliegt.

3.2.2.3 9c EXCEEDING EVENTS BEI KARZINOMEN

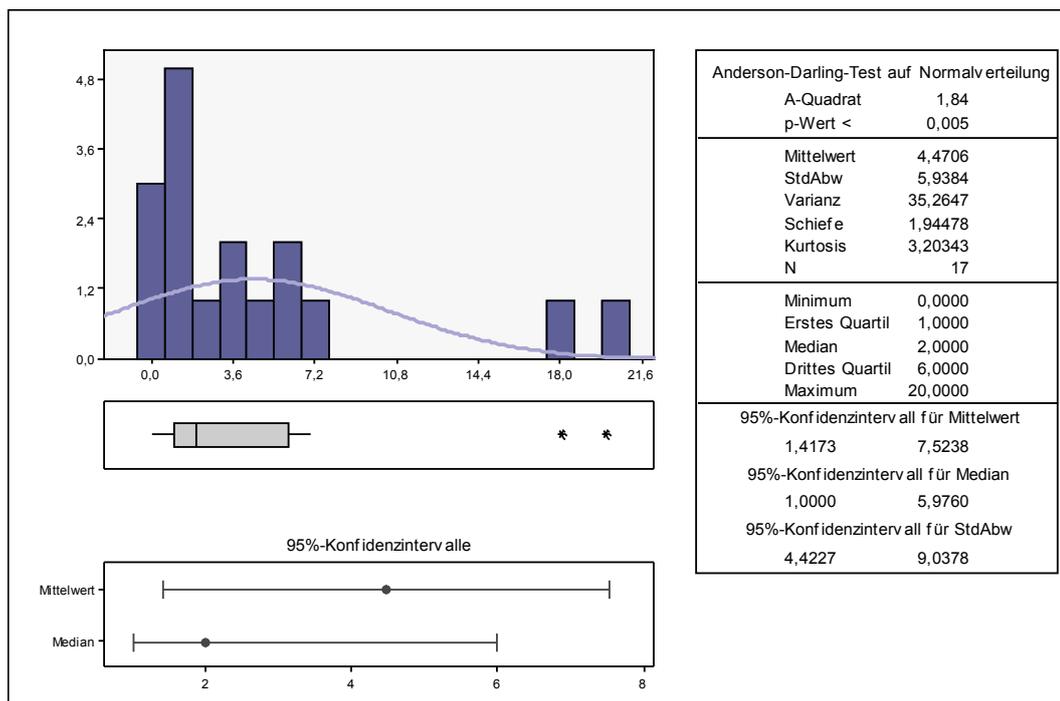


Abbildung 23: deskriptive Statistik der 9c Events bei Karzinomen

Bei den Karzinomen fallen die relativ breiten 95%-Konfidenzintervalle für Mittelwert und Median auf:

Tabelle 23: 95%-Konfidenzintervalle des Mittelwerts und Medians

	Untere Intervallgrenze	Obere Intervallgrenze
Mittelwert	1,4173	7,5238
Median	1,0000	5,9760

3.2.2.5 VIER-FELDER-TAFEL 9c EXCEEDING EVENTS

Definierter Schwellenwert: Adenome haben keine 9c Exceeding Events,

Karzinome mindestens ein 9c Exceeding Events

Richtig negativ: es tritt kein 9c Exceeding Event auf und Adenom

Falsch negativ: es tritt kein 9c Exceeding Event auf und Karzinom

Falsch positiv: es tritt mindestens ein 9c Exceeding Event auf und Adenom

Richtig positiv: es tritt mindestens ein 9c Exceeding Event auf und Karzinom

Tabelle 24: Vier-Felder-Tafel der 9c Exceeding Events

		DNA-Bildzytometrie Anzahl 9c Ex Events		Summe
		diploid	aneuploid	
Enddiagnose Statistik	Adenom	70	2	72
	Karzinom	3	14	17
	Summe	73	16	89

Spezifität 97,2%

Sensitivität 82,4%

NPV 95,9%

PPV 87,5%

3.2.3 AUFRETEN VON 5c EXCEEDING EVENTS

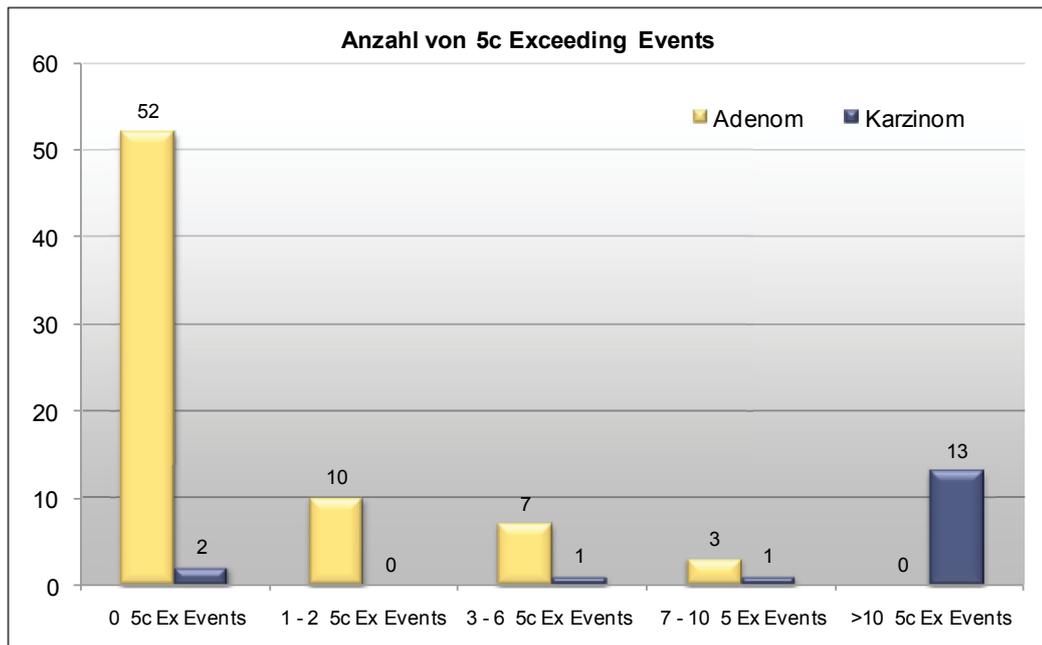


Abbildung 25: Anzahl von 5c Exceeding Events bei Karzinomen und Adenomen

Bei den Karzinomen treten sehr häufig 5c Exceeding Events auf. Nur in 12% der Fälle ($n = 2$) gab es kein 5c Exceeding Event. Bei 88% der Fälle ($n = 15$) wurde mindestens ein 5c Exceeding Event gemessen, bei 76% der Karzinome ($n = 13$) sogar mehr als zehn 5c Exceeding Events. Das Maximum der Anzahl von 5c Exceeding Events liegt bei 67.

Bei 72% ($n = 52$) der Adenome kommen keine 5c Exceeding Events vor, bei 14% ($n = 10$) der Adenome maximal zwei 5c Exceeding Events. Lediglich bei 4% ($n = 3$) der Adenome treten zwischen sieben und zehn 5c Exceeding Events auf.

3.2.3.1 5c EXCEEDING EVENTS BEI ADENOMEN

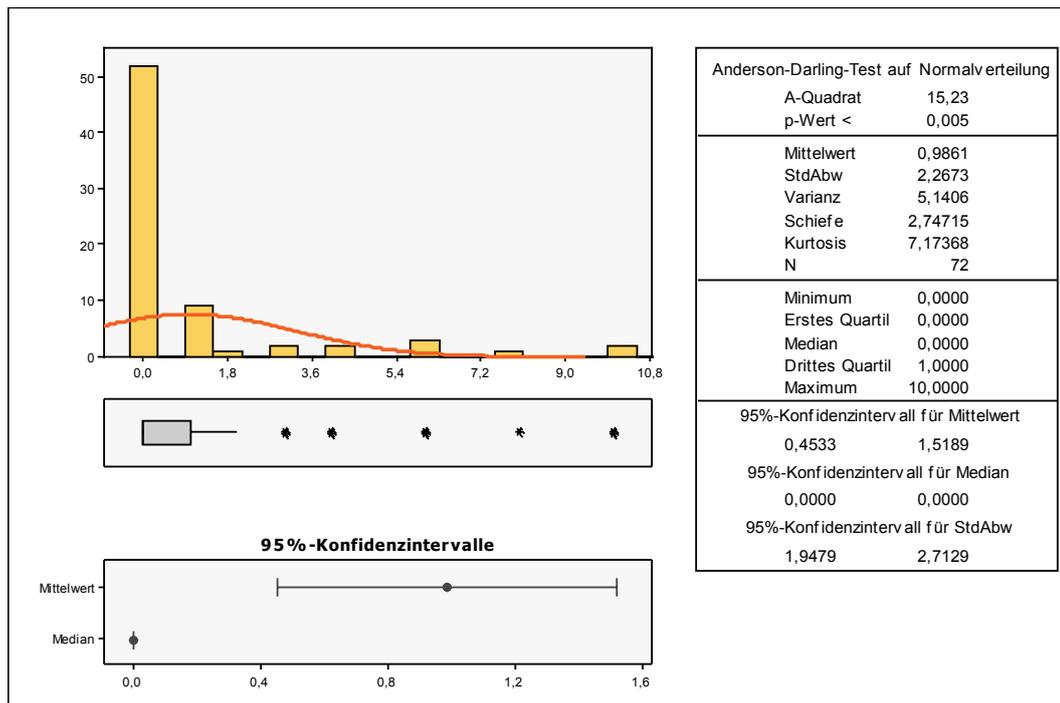


Abbildung 26: deskriptive Statistik der 5c Ex Events bei Adenomen

Der Median der Anzahl der 5c Exceeding Events liegt bei 0, allerdings treten einige Fälle mit 5c Exceeding Events auf. Das 95%-Konfidenzintervall zeigt, dass sich die Anzahl der 5c Exceeding Events bei Adenomen in einem Bereich zwischen 0,5 und 1,5 bewegt.

Da auch eine höhere Anzahl von 5c Exceeding Events bei Adenom aufgetreten ist (Ausreißer), wurde für die Festlegung eines Schwellenwertes mit einer statistischen Auswertung die unteren und oberen Abweichungsgrenzen erfasst (Abbildung 27). Der resultierende Schwellenwert der 5c Exceeding Events bei Adenomen liegt bei 5,5.

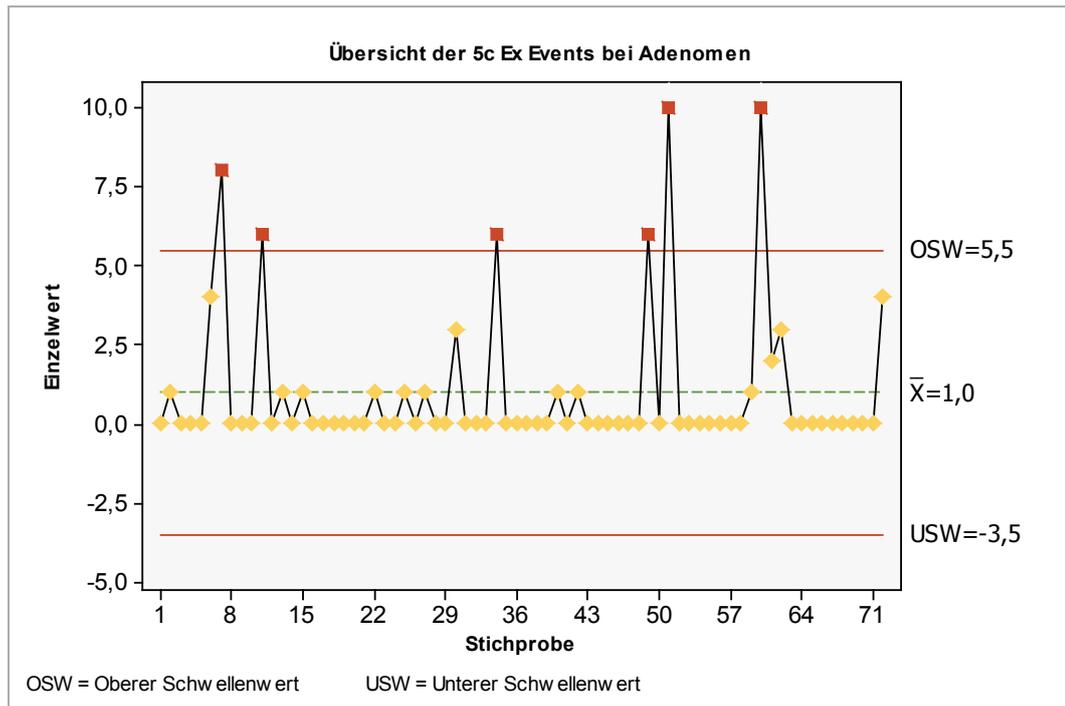


Abbildung 27: Schwellenwerte der 5c Exceeding Events bei Adenomen

3.2.3.2 5C EXCEEDING EVENTS BEI KARZINOMEN

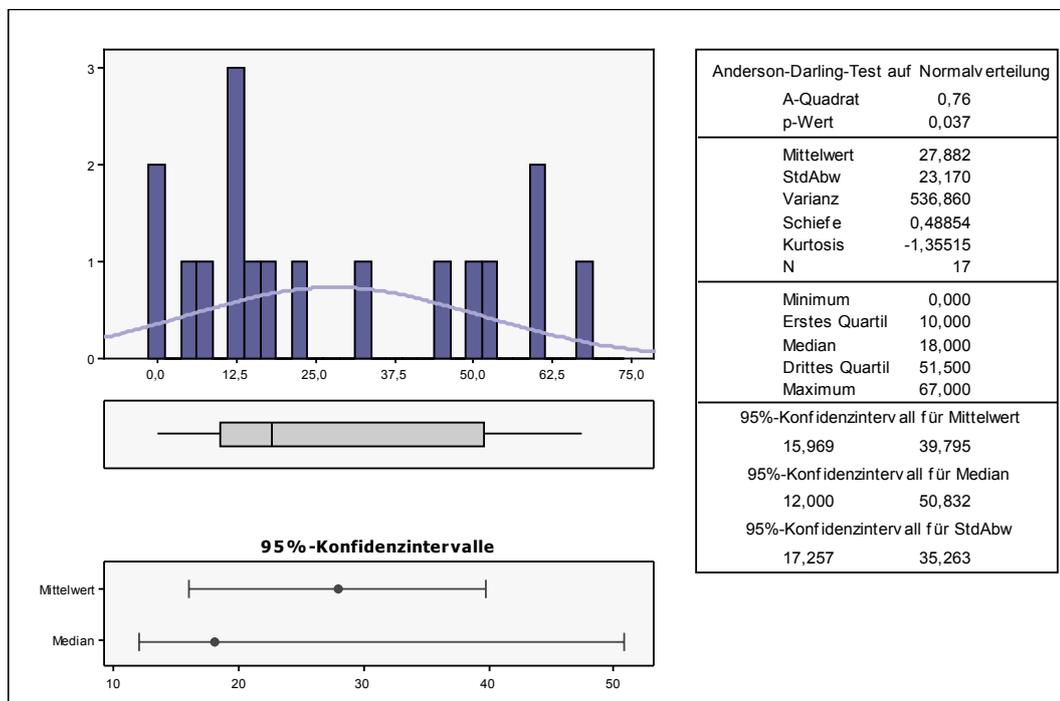


Abbildung 28: deskriptive Statistik der 5c Ex Events bei Karzinomen

Das 95%-Konfidenzintervall des Medians erstreckt sich über einen Bereich von 12,0 bis 50,8 5c Exceeding Events, mit einem Median von 18. Im Vergleich zu den Adenomen fallen die hohe Anzahl und das vielfache Vorkommen von 5c Exceeding Events bei den Karzinomen auf.

3.2.3.3 5C EXCEEDING EVENTS IM VERGLEICH VON ADENOMEN UND KARZINOMEN

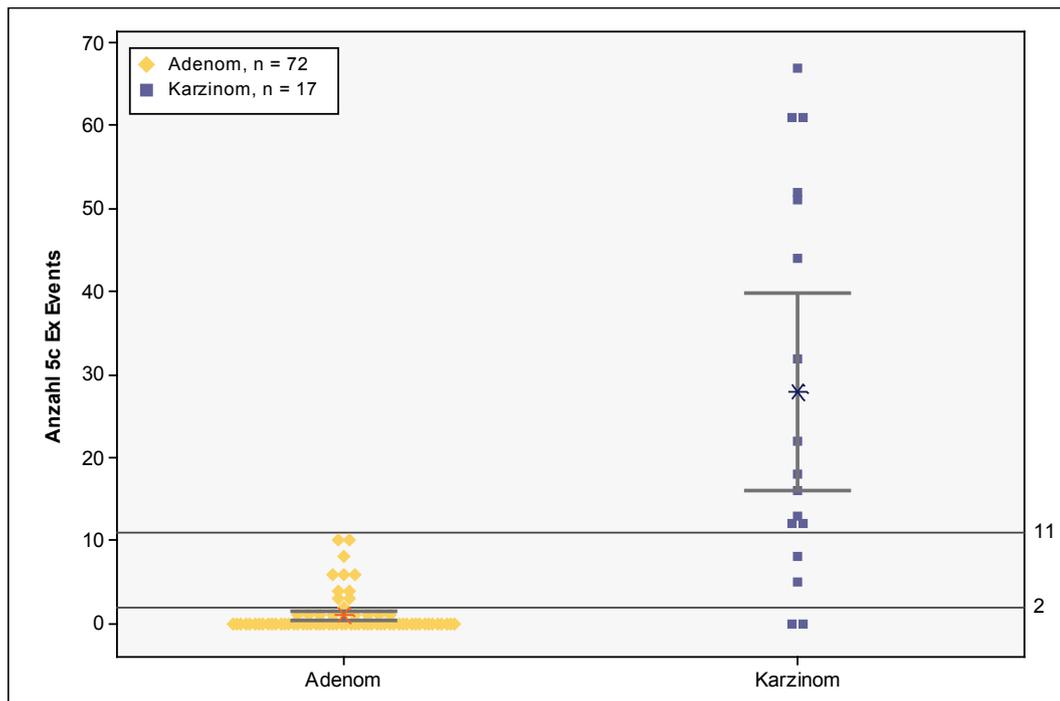


Abbildung 29: Anzahl der 5c Exceeding Events bei Adenomen und Karzinomen

Das Konfidenzintervall des Mittelwerts der Adenome liegt zwischen 0,5 und 1,5 und damit deutlich unter dem Häufigkeitsbereich der Karzinome (Abbildung 29). Das Konfidenzintervall des Mittelwerts bei den Karzinomen geht von 16,0 bis 39,7 5c Exceeding Events.

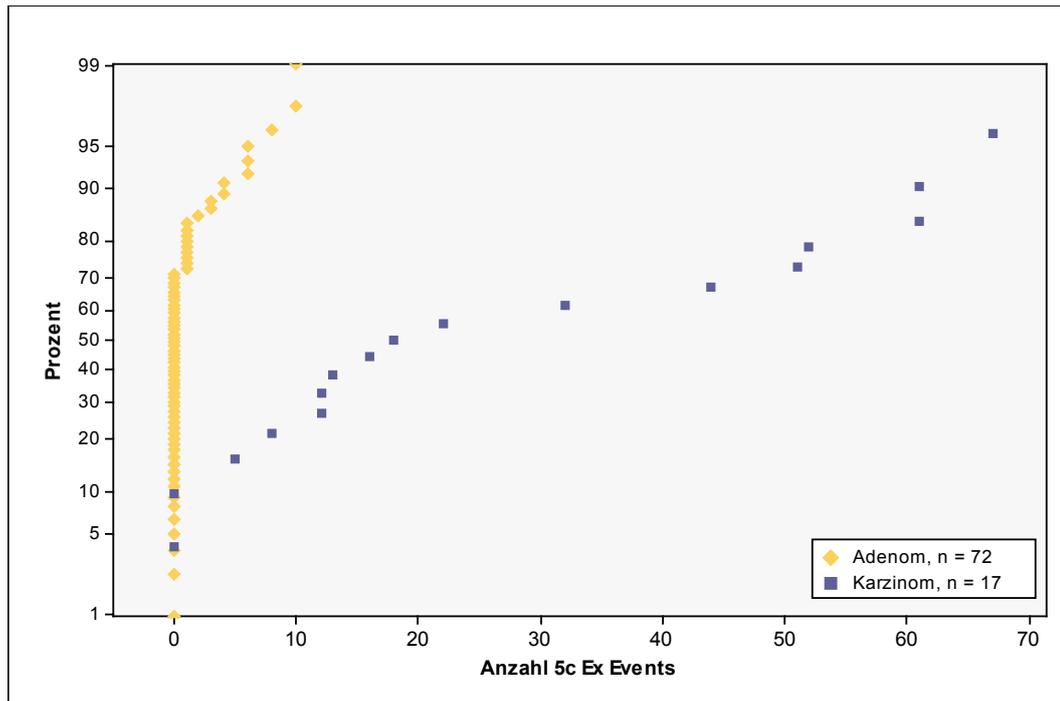


Abbildung 30: Variabilität der 5c Ex Events bei Adenomen und Karzinomen

Abbildung 30 veranschaulicht die relativ dichte Lage der 5c Exceeding Events bei den Adenomen und die ausgeprägt hohe Variabilität der Karzinomen.

Im Vergleich von Adenomen und Karzinomen kann nach Durchführung eines Mann-Whitney-U-Tests ein signifikanter Unterschied im Bezug auf die Anzahl der auftretenden 5c Exceeding Events nachgewiesen werden (Test 7).

3.2.3.4 VIER-FELDER-TAFEL 5C EXCEEDING EVENTS

Definierter Schwellenwert: Adenome haben maximal sechs 5c Exceeding Events, Karzinome mehr als sechs 5c Exceeding Events

Richtig negativ: es treten max. sechs 5c Exceeding Events auf und Adenom

Falsch negativ: es treten max. sechs 5c Exceeding Events auf und Karzinom

Falsch positiv: es treten mehr als sechs 5c Exceeding Events auf und Adenom

Richtig positiv: es treten mehr als sechs 5c Exceeding Events auf und Karzinom

Tabelle 25: Vier-Felder-Tafel der 5c Exceeding Events

		DNA-Bildzytometrie Anzahl 5c Ex Events		Summe
		diploid	aneuploid	
Enddiagnose Statistik	Adenom	69	3	72
	Karzinom	3	14	17
	Summe	72	17	89

Spezifität 95,8%

Sensitivität 82,4%

NPV 95,8%

PPV 82,4%

3.2.4 2C DEVIATION INDEX

Der 2c Deviation Index ist die Streuung der DNA-Gehalte um 2c und kennzeichnet die Variabilität der Stammlinie. Dieser Wert korreliert eng mit einer zunehmenden Anzahl von Exceeding Events.

Daher kann dieser Parameter für die Interpretation herangezogen werden, wenn keine Exceeding Events auftreten. Er unterstützt die Prognose einer aneuploiden Abweichung von genetisch instabilen Grenzfällen in einer frühen Phase.

Die statistische Auswertung wird demgemäß ausschließlich für die Adenome vorgenommen.

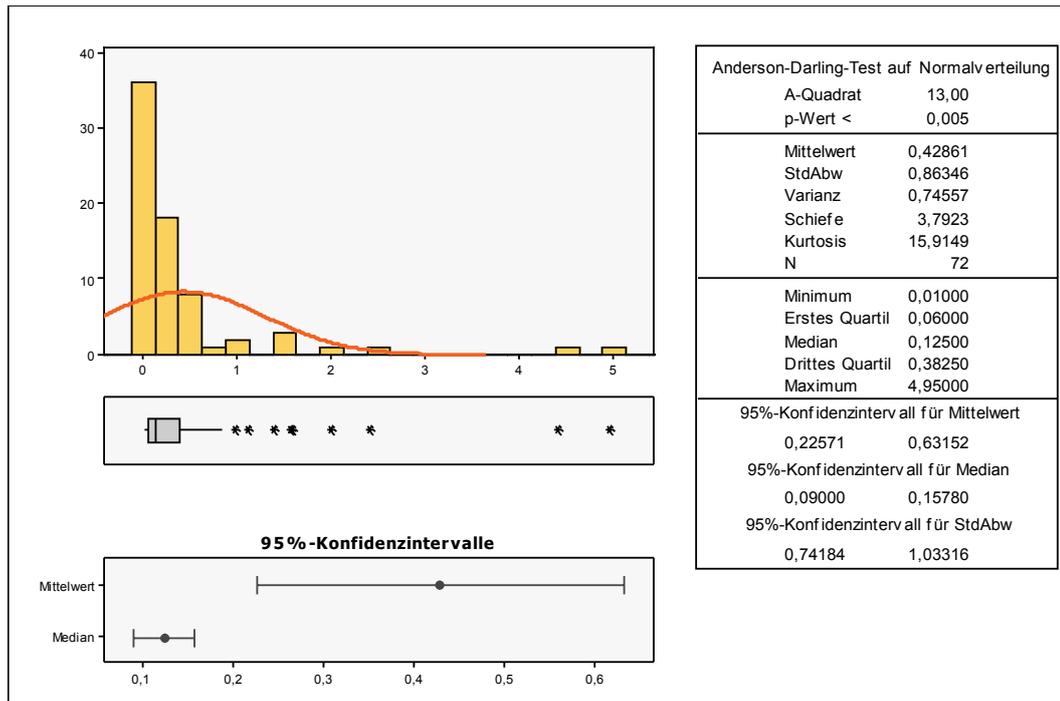


Abbildung 31: deskriptive Statistik des 2c Deviation Index bei Adenomen

Das 95%-Konfidenzintervall des Medians beschreibt einen Bereich von 0,09 und 0,16, der eine sehr geringe Schwankung um den Stammlinienmodalwert charakterisiert.

Ein erhöhter 2c Deviation Index bis 0,4 kann bei Adenomen durch das Auftreten von einigen wenigen 5c Events erklärt werden.

Das Ergebnis aus dem durchgeführten t-Test auf den Mittelwert (Test 8) und dem Wilcoxon-Test auf den Median unterstützen die signifikante Aussage, dass der 2c Deviation Index bei Adenomen kleiner als 0,4 ist.

Unter Betrachtung dieses Ergebnisses können die betroffenen Fälle in Tabelle 26 nochmals betrachtet werden.

Tabelle 26: Fälle mit erhöhtem 2c Deviation Index ohne Exceeding Events

Nr	Eingangs Nr	Zytolog. Diagnose	Histologie und Klinik	DNA Diag	2c DI	5c Ex Events	9c Ex Events	Stem Mod Val
12	31720-96	Azinuszellkarzinom	Azinuszellkarzinom	Diploid	0,56	0,00	0,00	2,03
84	8147-04	Pleomorphes Adenom	----	Polyploid	0,50	0,00	0,00	2,04
85	11277-04	Tumor unklarer Dignität, Pleomorphes Adenom	----	Diploid	0,43	0,00	0,00	1,93

3.2.4.1 VIER-FELDER-TAFEL 2C DEVIATION INDEX

Definierter Schwellenwert: 2 c DI ≤ 0,4, keine Exceeding Events

Richtig negativ: 2 c DI ≤ 0,4, keine Exceeding Events und Adenom

Falsch negativ: 2 c DI ≤ 0,4, keine Exceeding Events und Karzinom

Falsch positiv: 2 c DI > 0,4, keine Exceeding Events und Adenom

Richtig positiv: 2 c DI > 0,4, keine Exceeding Events und Karzinom

Tabelle 27: Vier-Felder-Tafel des 2c Deviation Index

		DNA-Bildzytometrie 2c DI und keine Rare Events		
		diploid	aneuploid	Summe
Enddiagnose Statistik	Adenom	50	2	52
	Karzinom	1	1	2
	Summe	51	3	54

Der 2c DI wurde nur in den 54 Fällen untersucht, bei denen keine Exceeding Events vorkommen. Die daraus resultierende sehr geringe Fallzahl von 2 Karzinomen verhindert eine Berechnung der Sensitivität und des negativen Prädiktionswerts.

Spezifität 96,2%

NPV 98,0%

3.2.5 MULTIVARIATE ANALYSE

In der abschließenden Hauptkomponentenanalyse wird der gemeinschaftliche Zusammenhang der verschiedenen Einflussfaktoren auf die Adenome und Karzinome untersucht. Die Dimension der Variablen wird dabei auf zwei Hauptkomponenten reduziert.

Folgende Variablen wurden in die Hauptkomponentenanalyse einbezogen:

- Stammlinienmodalwert
- Anzahl der 5c Exceeding Events
- Anzahl der 9c Exceeding Events
- 2c Deviation Index
- Variationskoeffizient der Stammlinie (CV Stemline)

Die erste Hauptkomponente wird von allen fünf Ploidieparametern mit jeweils annähernd gleichem Anteil beschrieben, während bei der zweiten Hauptkomponente in erster Linie die Anzahl der 5c Exceeding Events, die Lage der Stammlinie und deren Streuung richtungsweisend ist.

In Abbildung 32 sind der Verlauf und die Steigungen (Ladungen) der fünf Variablen dargestellt. Die Ladungen der einzelnen Ploidieparameter zeigt deren Beitrag an den beiden Hauptkomponenten.

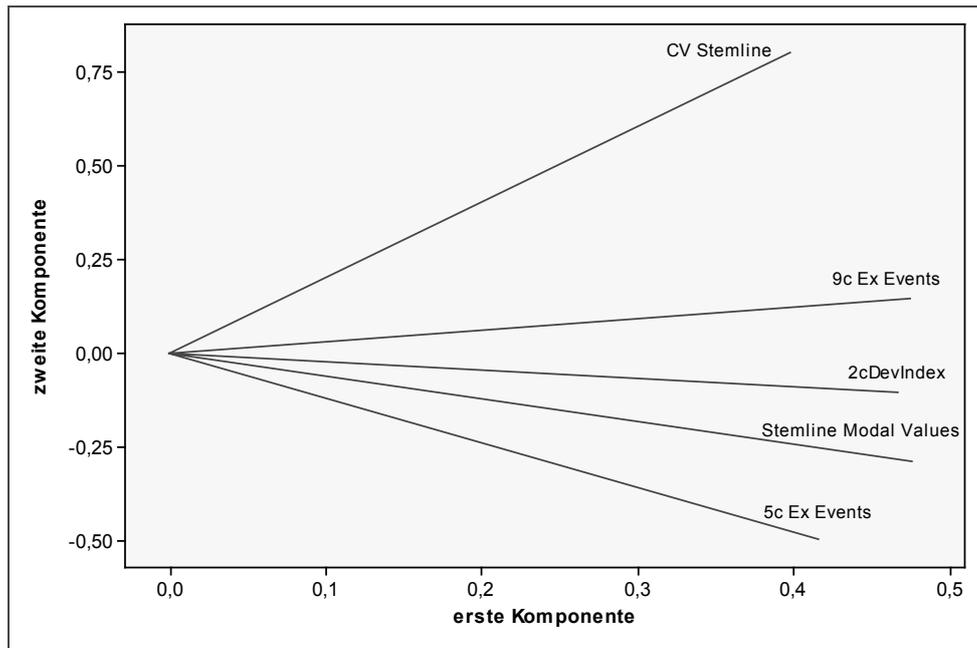


Abbildung 32: Ladungsdiagramm der Ploidieparameter

Die Beschreibung der Variablen wird dadurch auf die folgenden beiden Hauptkomponenten reduziert (Test 9).

- Ausmaß der Aneuploidie (1. Hauptkomponente, X-Achse)
- Variabilität der Aneuploidie (2. Hauptkomponente, Y-Achse)

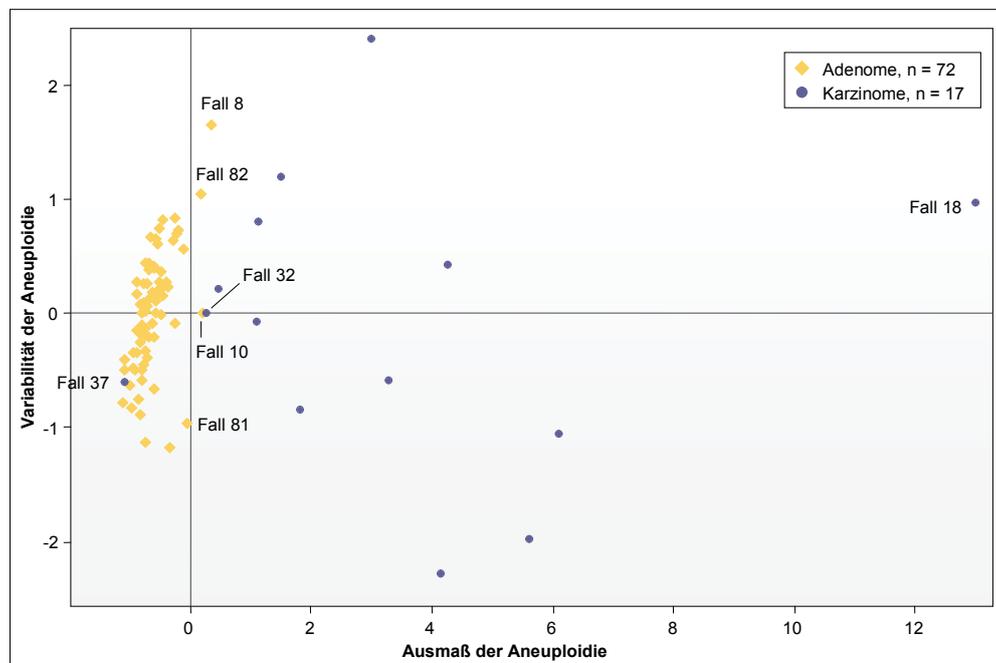


Abbildung 33: Streudiagramm der beiden Hauptkomponenten

Die multivariate Analyse präsentiert bei den Adenomen eine weitgehend diploide bzw. polypleide DNS-Verteilung. Karzinome sind dagegen gekennzeichnet durch ein zunehmendes Ausmaß und ausgeprägte Variabilität der Aneuploidie (Abbildung 33). Die Fälle aus Tabelle 28 sind bezüglich ihrer Lage im Streudiagramm der Hauptkomponentenanalyse auffällig.

Tabelle 28: nennenswerte Fälle der Hauptkomponentenanalyse

Nr	Eingang Nr	Zytolog. Diagnose	Histologie und Klinik	DNA Diagnose	2cDI	5c Ex Events	9c Ex Events	Stem Mod Val
8	14792-95	Pleomorphes Adenom	Pleomorphes Adenom	Polyploid	0,84	4	0	2,11
10	9887-96	Pleomorphes Adenom	---	Polyploid	2,00	8	2	2,00
18	13476-97	abnorme Plattenepithelien, zweifelhaft	gering diff. Plattenepithel Ca	Aneuploid	28,40	44	18	4,77
32	13658-99	Karzinom	papillär-zyst. Ca Azinuszell-Ca	Aneuploid	2,10	8	1	2,15
37	3744-00	Pleomorphes Adenom	Adenoidzystisches Ca	Diploid	0,01	0	0	2,01
81	4202-04	Adenom, ggf. Karzinom (Tumor unklarer Dignität)	Pleomorphes Adenom, Rezidiv	Polyploid	4,39	10	0	2,07
82	5699-04	Pleomorphes Adenom	Pleomorphes Adenom	Polyploid	0,98	2	1	1,94

Die graphische Darstellung der Hauptkomponenten zeigt, dass die DNA-Bildzytometrie eine sehr deutliche Differenzierung von Adenomen und Karzinomen ergibt.

3.2.5.1 VIER-FELDER-TAFEL DNA-ZYTOMETRIE

In diese Vier-Felder-Tafel werden alle betrachteten Parameter einbezogen und unter Berücksichtigung der in den Einzelauswertungen festgelegten Schwellenwerte eine gemeinsame Analyse durchgeführt.

Tabelle 29: Vier-Felder-Tafel aller Parameter

		DNA-Bildzytometrie Alle Parameter		
		diploid	aneuploid	Summe
Enddiagnose Statistik	Adenom	72	0	72
	Karzinom	1	16	17
	Summe	73	16	89

Die Treffsicherheit der Zytologie und der DNA-Zytometrie ermöglicht in kombinierter Anwendung unter Berücksichtigung der erkannten Schwellenwerte folgende Sensitivitäten und Spezifitäten:

Spezifität 100,0%

Sensitivität 94,1%

NPV 98,6%

PPV 100,0%

4 DISKUSSION

Ziel dieser Arbeit war es mit Hilfe der DNA-Bildzytometrie Erkenntnisse über die DNA-Eigenschaften von pleomorphen Adenomen und Karzinomen der Speicheldrüse zu gewinnen und eine zytometrische Differenzierungsmöglichkeit zu erarbeiten.

Es sollte festgestellt werden, ob die DNA-Bildzytometrie einen Stellenwert als weiterführende Ergänzung in der zytologischen Dignitäts-Diagnostik bei Speicheldrüsentumoren einnehmen kann.

Abschließend galt es zu bewerten, ob die präoperative zytologische Speicheldrüsendiagnostik mit Hilfe der DNA-Bildzytometrie verbessert werden kann.

4.1 PATIENTEN UND PRÄPARATE

Die für diese Studie verwendeten Präparate stammen aus dem Archiv des Cytopathologischen Instituts der HHU Düsseldorf. Das als Stichprobe verwendete Kollektiv setzte sich aus regionalen und deutschlandweiten Einsendungen zusammen.

Bislang lag für die DNA-Bildzytometrischen Studien von Speicheldrüsen selten eine Stichprobe mit vergleichbar großem Umfang ($n = 98$) und Zeitraum (10 Jahre) vor [Driemel et al., 2006; Röser et al., 2005].

Insgesamt konnten 153 Präparate mit den zytologischen Diagnosen pleomorphes Adenom oder Karzinom der Speicheldrüse selektiert werden. Davon mussten 55 Präparate aufgrund unzureichender Präparatequalität ausgeschlossen werden, vorwiegend verursacht durch einen Mangel an Zellen bei der Punktion.

Wesentlich für die Qualität der Präparate ist die Technik der Feinnadelpunktion, um untersuchungsrelevante Zellanteile zu gewinnen [Geisinger u. Weidner, 1986].

In dieser Studie wurden Präparate verwendet, deren Gewinnung bei der Punktion keiner einheitlichen, standardisierten Vorgabe folgte. Die angewendete Methode variierte je nach punktierendem Arzt. Hierin liegt ein wesentlicher Grund für den Ausschluss einer hohen Anzahl an Präparaten.

Somit wurden 98 Präparate DNA-zytometrisch untersucht und in 77 Fällen durch ein histologisches oder klinisches Follow-up bestätigt.

4.2 DNA-ZYTOMETRIE

Die Zellkern-DNA ist einer der wichtigsten Malignitätsmarker in der zytologischen Diagnostik [Dreyer et al., 1995; Motherby et al., 1998a u. 1998b]. Die DNA-Messung wird überwiegend mit zwei Systemen, der Durchflusszytometrie oder der DNA-Bildzytometrie durchgeführt [Mairinger u. Gschwendtner, 1998].

In Studien konnte die DNA-Bildzytometrie im Vergleich zur Durchflusszytometrie eine größere Genauigkeit beim Erkennen von einzelnen aneuploiden Zellen aufweisen [Elsheikh et al., 1992; Zbieranowski et al., 1992; Mairinger u. Gschwendtner, 1998].

Vorteil der DNA-Bildzytometrie ist hier die subjektive Auswahl der Zellen mit auffälligen Strukturen und der Nachweis kleiner aneuploider Tumorzellpopulationen. Ein unerwünschtes Messen von unauffälligem Normalgewebe oder Zellartefakten kann vermieden werden. [Elsheikh et al., 1992; Zbieranowski et al., 1992; Mairinger u. Gschwendtner, 1998].

Nachteile der Durchflusszytometrie sind mögliche Beschädigung der Zellen hoher DNA-Gehalte durch enzymatische Prozesse der Zellvereinzelnung [Liung et al., 1989] und eine hohe Rate zerstörter Tumorzellen bei der Materialaufbereitung [Auer et al., 1993].

Mögliche Fehlermessungen in der DNA-Zytometrie werden durch das Vorliegen von Zellkernfragmenten, beschädigten Zellen [Haroske et al., 1993] und Überlappung von Zellkernen [Berryman et al., 1984] verursacht.

Diese Fehler können durch den Untersucher beherrscht und reduziert werden wenn er die zu untersuchenden Areale vorher selektiv auswählt [Elsheikh et al., 1992; Höfken et al., 1995].

4.3 ANEUPLOIDIE ALS MALIGNITÄTSMERKMAL

Der DNA-Gehalt des Zellkerns wird in zahlreichen Studien allgemein als Marker für Malignität anerkannt [Böcking et al., 1985; Makiyama et al., 1995; Mellin, 1990]. Als wesentlicher Faktor für eine maligne Transformation wird die chromosomale Aneuploidie ausgewiesen [Böcking u. Motherby, 1999; Duesberg et al., 2004]. Der Molekularbiologe Peter Duesberg beschreibt die Entstehung einer Tumorzelle als eine Kettenreaktion mehrfacher Aneuploidisierungen [Duesberg et al., 2004].

Untersuchungen des DNA-Gehaltes von Speicheldrüsentumoren sind nicht sehr zahlreich. Insbesondere pleomorphe Adenome und Karzinome der Speicheldrüse wurden diesbezüglich nur von wenigen Autoren mit ausreichend hohen Fallzahlen untersucht [Driemel et al., 2005; Röser et al., 2005].

Gleichwohl wird auch bei Speicheldrüsentumoren Aneuploidie eindeutig als Malignitätsmerkmal erkannt [Driemel et al., 2005].

In der vorliegenden Arbeit wurde durch Messung der IOD an Präparaten von FNABn der DNA-Gehalt der Zellkerne mittels DNA-Bildzytometrie bestimmt und zwischen euploiden, euploid-polyploiden und aneuploiden Gruppen unterschieden. Es konnte gezeigt werden, dass pleomorphe Adenome DNA-euploid, Speicheldrüsenkarzinome dagegen vorwiegend DNA-aneuploid oder euploid-polyploid sind. Eine Ausnahme bei den Speicheldrüsenkarzinomen bilden hochdifferenzierte Azinuszellkarzinome und Adenoidzystische Karzinome mit einer euploiden DNA-Verteilung.

Ein pleomorphes Adenom mit herdförmiger, maligner Transformation wurde anhand der DNA-zytometrischen Messung als aneuploid diagnostiziert. Dieser Fall wird als Frühkarzinom interpretiert (Fall 68), wie in Kapitel 4.4 ausgeführt.

4.4 AUSSAGEN DER DESKRIPTIVEN STATISTIK

Aus den Ergebnissen der Vier-Felder-Tafeln in der deskriptiven Statistik lässt sich ableiten, dass die DNA-Bildzytometrie die zytologischen Diagnosen untermauern bzw. spürbar verbessern kann.

Die Kennzahlen zur Beschreibung der Treffsicherheit der DNA-Bildzytometrie im Vergleich zur Zytologie sind in Tabelle 30 gegenübergestellt.

Tabelle 30: Treffsicherheit Zytologie und Zytologie mit DNA-Bildzytometrie

	Zytologie	Zytologie mit DNA-Bildzytometrie
Spezifität	91,5%	100%
Sensitivität	88,9%	89,5%
NPV	96,4%	96,7%
PPV	76,2%	100%

Die Zytologie differenziert benigne und maligne Tumoren der Speicheldrüse mit einer Spezifität von 91,5% und einer Sensitivität von 88,9%.

Eine Kombination mit der DNA-Bildzytometrie verbessert die bisherigen Ergebnisse und sichert eine Zytologische Diagnose zusätzlich ab. Vor allem in ‚dringend verdächtigen‘ oder ‚zweifelhaften‘ Fällen kann die DNA-Bildzytometrie die zytologischen Diagnosen konkretisieren und klarer bestimmen (siehe Tabelle 31) und dadurch den PPV deutlich steigern. Die DNA-Bildzytometrie erhöht die Spezifität auf 100% und die Sensitivität auf 89,5%.

Die relativ niedrige Spezifität alleiniger Zytologie dieser Studie im Literaturvergleich ([Stewart et al., 2000; Atula et al., 1996] bis 100%) begründet sich in der Wertung bereits zweifelhaft benigner Veränderungen als Test-positiv.

In der präoperativen FNAB der Speicheldrüsen soll dem Operateur bereits bei Zweifeln an der Benignität einer Läsion ein Warnsignal gegeben werden und damit gleichzeitig die Indikation für eine ergänzende DNA-Bildzytometrie gestellt werden. Hierdurch steigt die Spezifität auf 100%.

In der Literatur wird für die zytologische Diagnostik eine Sensitivität von 70 bis 92% beschrieben [Atula et al., 1996; Stewart et al., 2000]. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bewegen sich ebenso in diesem Bereich.

Tabelle 31: Ergänzung der zytologischen Diagnosen durch die DNA-Bildzytometrie in ausgewählten Fällen

Nr	zytologische Diagnose	Zytolog. Kategorie	Histologie und Klinik	DNA-Diagnose
15	Pleomorphes Adenom	dringender Verdacht	Pleomorphes Adenom	Diploid
18	abnorme Plattenepithelien (Karzinom), zweifelhaft	zweifelhaft	gering differenziertes Plattenepithelkarzinom	Aneuploid
21	Plattenepithelkarzinom	dringender Verdacht	Plattenepithelkarzinom	Aneuploid
58	Tumorzellen mit Zystenbildung (unklare Dignität)	dringender Verdacht	zystisch regressiv veränderter benigner Tumor der Parotis	Diploid
68	Pleomorphes Adenom mit herdförmiger maligner Transformation (Karzinom)	Positiv	Pleomorphes / Monomorphes Adenom mit erhöhter Proliferation	Aneuploid
71	Pleomorphes Adenom	dringender Verdacht	Pleomorphes Adenom	Diploid
81	Adenom, ggf. Karzinom (Tumor unklarer Dignität)	positiv	Pleomorphes Adenom, Rezidiv	Polyploid
95	Neoplastische Zellen (Tumor unklarer Dignität)	dringender Verdacht	Pleomorphes Adenom	Diploid
96	Maligner Tumor, Tumorzelltypisierung unklar	positiv	Metastase eines malignen Melanoms	Aneuploid
97	mäßig differenziertes Adenokarzinom	dringender Verdacht	Maligner epithelialer Tumor	Aneuploid
98	Adenom, gut differenziertes Adenokarzinom (unklare Dignität)	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid

Pleomorphe Adenome können eine Polyploidisierung des DNA-Gehaltes der Zellen bis 16c aufweisen [Thunissen et al., 1992]. Das Vorliegen weniger Zellen mit einem DNA-Gehalt größer 9c rechtfertigt also in diesem Fall noch keine maligne Diagnose. Fall 82 (pleomorphes Adenom) zeigte eine euploide Polyploidisierung mit einer Zelle, deren DNA-Gehalt größer 9c ist. Zytologisch-morphologisch waren die Zellen des Präparates jedoch unauffällig, die zytologische Diagnose vor Follow-up lautete demnach ‚Pleomorphes Adenom‘.

In allen anderen Fällen der vorliegenden Studie, wo eine DNA-Aneuploidie lediglich durch Zellen mit einem DNA-Gehalt größer 9c definiert war, wurde bereits zytologisch ein maligner Tumor diagnostiziert.

Das heißt, einzelne Zellen mit einem DNA-Gehalt größer 9c dürfen nur im Zusammenhang mit der Zellmorphologie zur Abgrenzung benigner und maligner Speicheldrüsentumoren gewertet werden.

Zusätzlich zu diskutieren ist Fall 68. Zytologisch wurde hier ein pleomorphes Adenom diagnostiziert mit der Empfehlung, Malignität am Resektat auszuschließen.

Die postoperative Histologie zeigte einen 2,5cm durchmessenden epithelialen Tumor mit geringen nukleären Atypien und fokalem kapselüberschreitenden Wachstum. Die abschließende Stellungnahme des Referenzpathologen spricht von einer Kombination eines pleomorphen Adenoms mit einem monomorphen Adenom mit lokal erhöhtem Proliferationsreichtum.

Es handelt sich um eine Sonderkonstellation, eine echte Perineuralinfiltration war nicht nachweisbar. Eine Verlaufskontrolle wird empfohlen.

DNA-zytometrisch zeigten sich eine aneuploide Stammlinie bei 2,97c sowie 5 Zellen mit einem DNA-Gehalt größer 9c.

Aufgrund der Unsicherheiten sowohl der zytologischen, histologischen als auch referenzpathologischen Diagnose bezüglich einer klaren Abgrenzung eines benignen von einem malignen Speicheldrüsentumor wird es für gerechtfertigt gehalten, angesichts der beschriebenen DNA-Aneuploidie – welche nur bei malignen Tumoren vorkommt [Duesberg et al., 2004] – von einem Frühkarzinom zu sprechen.

DNA-Aneuploidie kann einer klar morphologisch fassbaren malignen Zellveränderung oft um Jahre vorausgehen [Remmerbach et al., 2001 u. 2003; Maraki et al., 2004, 2005a u. 2005b].

4.5 AUSSAGEN DER ANALYTISCHEN STATISTIK

Die Messwerte der DNA-Bildzytometrie wurden statistisch untersucht und ausgewertet. Für die Stammlinienmodalwerte, 9c Exceeding Events, 5c Exceeding Events und den 2c Deviation Index von Adenomen und Karzinomen der Speicheldrüse wurden jeweils die Sensitivität und Spezifität, sowie der negative und positive Prädiktionswert berechnet. Zunächst wurden diese statistischen Kennzahlen für die einzelnen Parameter und anschließend in einer ganzheitlichen Betrachtung unter Anwendung einer multivariaten Auswertung berechnet.

Die Stammlinienmodalwerte für sich alleine betrachtet können keine überzeugende Differenzierung von Adenomen und Karzinomen zeigen (Spezifität: 100%, Sensitivität: 52,9%).

In dieser Studie haben 8 von 17 Karzinomen der Speicheldrüse eine diploide Stammlinie. Diploide Stammlinien bei Speicheldrüsenkarzinomen werden auch in Studien der DNA-Durchflusszytometrie bestätigt [Driemel et al., 2006].

Die Anzahl der 5c Exceeding Events (Spezifität: 82,4%, Sensitivität: 95,8%) und 9c Exceeding Events (Spezifität: 97,2%, Sensitivität: 82,4%) erweisen sich als gute Indikatoren, um pleomorphe Adenome von Karzinomen der Speicheldrüse zu unterscheiden.

Der 2c Deviation Index kann die Treffsicherheit der DNA-Bildzytometrie ergänzen (Spezifität 96,2%).

Zusammen betrachtet weisen die Messwerte einen positiven Synergieeffekt auf und liefern eine Spezifität von 100% und eine gesteigerte Sensitivität von 94,1%.

Die Anwendung der DNA-Bildzytometrie sichert eine Zytologische Diagnose zusätzlich ab und liegt über den bisherigen Ergebnissen aus der Literatur [Stewart et al., 2000; Atula et al., 1996].

4.6 BEWERTUNG DER DNA-ZYTOMETRIE

Die DNA-Bildzytometrie ist sensitiv, reproduzierbar und lässt die Dignität bei Speicheldrüsentumoren sicherer als die Zytologie allein differenzieren.

Ein wesentlicher Vorteil dieses Verfahrens ist, dass die Messung aus Routinepräparaten erfolgen kann und alle Ergebnisse überprüft, miteinander verglichen sowie abgespeichert und nachgemessen werden können.

Die FNAB ist in der Kombination mit der DNA-Bildzytometrie ein in der Gebührenordnung der Krankenkassen anerkanntes und preiswertes Verfahren. Es ist eine für Patienten schmerzarme, minimalinvasive und schnelle Form der ambulanten Speicheldrüsentumordiagnostik und verbessert die präoperative Planung.

Die DNA-Bildzytometrie ist ein vorwiegend untersucherunabhängiges Messverfahren zur Verbesserung der Treffsicherheit der zytopathologischen Diagnostik von Speicheldrüsentumoren.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Die DNA-Bildzytometrie ist eine Untersuchungsmethode zur quantitativen Messung der Chromosomen in Zellkernen mittels computergestützter, digitaler Bildanalyse.

Der Nachweis von Störungen des DNA-Gehaltes (chromosomale Aneuploidie) ist ein Marker für neoplastische Transformationen von Zellen. Die angewendete DNA-Bildzytometrie bietet neben dem Nachweis einer Stammlinienaneuploidie die Möglichkeit zur Einzelzellinterpretation und damit auch den Nachweis von Einzelzellaneuploidie.

In der vorliegenden Arbeit wurden mittels der DNA-Bildzytometrie insgesamt 98 Speicheldrüsentumoren untersucht, um Einblick in deren DNA-Verteilung zu gewinnen und die Qualität dieser Untersuchungsmethode zu bewerten. Die Studie wurde mit deskriptiver und analytischer Statistik beschrieben und ausgewertet.

Die deskriptive Statistik dieser Studie bestätigt der Zytologie eine Sensitivität von 88,9% und eine Spezifität von 91,5%. Der Einsatz der DNA-Bildzytometrie auf FNABn der Speicheldrüse verbessert die Diagnosegenauigkeit mit einer Sensitivität von 89,5% und einer Spezifität von 100%.

In der analytischen Statistik wurden Messparameter der DNA-Bildzytometrie zunächst einzeln untersucht und abschließend gemeinsam ausgewertet.

Die Ergebnisse der DNA-zytometrischen Messung zeigen, dass Stammlinienmodalwerte alleine betrachtet keine überzeugende Differenzierung zwischen pleomorphen Adenomen und Karzinomen zulassen, in Kombination mit Indikatoren der Einzelzellaneuploidie die Treffsicherheit deutlich erhöhen (Sensitivität: 94,1%, Spezifität: 100%).

Grundsätzlich konnte gezeigt werden, dass pleomorphe Adenome euploid, Speicheldrüsenkarzinome dagegen vorwiegend aneuploid sind. Eine Ausnahme bilden hochdifferenzierte Azinuszellkarzinome und Adenoidzystische Karzinome mit einer euploiden DNA-Verteilung.

Zusammenfassend präsentiert sich die DNA-Bildzytometrie als sensitives, reproduzierbares Diagnoseverfahren, das die Ergebnisse der Zytologie absichert und die Einordnung der Dignität bei Speicheldrüsentumoren in der präoperativen Planung erhöhen kann.

6 LITERATURVERZEICHNIS

Quellen aus der Literatur

Ahlgren G, Falkmer U, Gadaleanu V, Abrahamsson PA (1999): Evaluation of DNA ploidy combined with cytometric proliferation index of imprints from core needle biopsies in prostate cancer. *Eur Urol* 36. Seite 314-319

Atula T, Grenman R, Laippala P, Klemi PJ (1996): Fine-needle aspiration biopsy in the diagnosis of parotid gland lesions: Evaluation of 438 biopsies. *Diagn Cytopathol* 15 (3). Seite 185-190

Atula T, Grenman R, Klemi P (1998): Human papillomavirus, Eppstein-Barr virus, human herpesvirus 8, and human cytomegalovirus involvement in salivary gland tumours. *Oral Oncology* 34 (5). Seite 391-395

Auer G, Askenstein U, Ahrens O (1993): Cytophotometry. *Hum Pathol* 20. Seite 518-527

Berner A, Danielsen HE, Juul NO, Juul MEH, Pettersen EO, Rweith A, Nesland JM, Fossa SD (1993): Caveats in the estimation of DNA ploidy in paraffin embedded specimens of primary prostate cancer and lymph node metastases by flow and image cytometry. *Anal Cell Pathol*. Seite 339-352

Berryman I, Sterrett GF, Papadimitriou JM (1984): Feulgen DNA cytophotometry in histologic sections of mammary neoplasms. *Analyt Quant Cytol* 6. Seite 19-23

Biesterfeld S, Gerres K, Fischer-Wein G, Böcking A (1994): Polyploidy in non-neoplastic tissues. *J Clin Pathol* 47. Seite 38-42

Böcker W, Denk H, Heitz P (2004): *Pathologie*. 3. Auflage. München. Urban und Fischer Verlag. Seite 651-661

Böcking A (1990): *DNA-Zytometrie und Automation in der klinischen Diagnostik*. Basel. *Beitr Onkol Karger* vol.38. Seite 298-347

Böcking A (1995): DNA measurements. When and why? In: Compendium on quality assurance, proficiency testing, and workload limitations. Edited by: Wied GL, Keebler CM, Rosenthal DL, Schenk U, Somrak TM, Vooijs GP (eds.). Chicago, Illinois, USA. *Tutorials of Cytology*. Seite 170-188

Böcking A (1998): Abklärung plattenepithelialer Dysplasien mittels DNA-Bildzytometrie. *Deutsches Ärzteblatt* 95 (12). Seite A 658-663

Böcking A (2002): Identifizierung progredienter Dysplasien des Plattenepithels mittels DNA Bildzytometrie. *MTA Dialog* 6 (3). Seite 490-493

Böcking A (2006): DNA Bildzytometrie-Methode zur Früherkennung und Malignitäts-Gradierung bösartiger Tumoren. In: Samsel W, Böcking A: Prognostische und therapeutische Bedeutung der DNA-Zytometrie beim Prostatakarzinom GEK-Edition: Schriftenreihe zur Gesundheitsanalyse Ba. Asgard-Verlag. Seite 46-97

Böcking A, Auffermann W, Vogel H, Schlöndorff G, Göbbels R (1985): Diagnosis and grading of malignancy in squamous epithelial lesions of the larynx with DNA-cytophotometry. *Cancer* 56. Seite 1600-1604

Böcking A, Striepeke E, Auer H, Füzesi L (1994): Static DNA-cytometry. Biological background, technique and diagnostic interpretation. In: *Tutorials of Cytology*. Edited by Wied L, Keebler CM, Rosenthal DL, Schenk U, Somrak TM, Vooijs GP. Chicago, Illinois, USA. Seite 107-128

Böcking A, Giroud F, Reit A (1995): Consensus report of the European Society for Analytical Cellular Pathology Task Force on Standardization of Diagnostic DNA Image Cytometry. *Anal Quant Cytol Histol* 17 (1). Seite 1-7

Böcking A, Freudenberg N (1998): Standardisierte Befunderstellung in der extragenitalen Zytologie. *Pathologe* 19. Seite 235-258

Böcking A, Motherby H (1999): Abklärung zervikaler Dysplasien mittels DNA-Bildzytometrie. *Pathologe* 20 (1). Seite 25-33

Böcking A, Nguyen VQH (2004): Diagnostic and Prognostic Use of DNA Image Cytometry in Cervical Squamous Intraepithelial Lesions and Invasiv Carcinoma. *Cancer Cytopathol* 102. Seite 41-54

Cardillo MR (1990): Salivary gland masses: The diagnostic value of fine-needle aspiration. Arch Anat. Cytol Pathol 38. Seite 25-32

Chatelain R, Schunck T, Schindler AE, Böcking A (1989a): Diagnosis of prospective malignancy in koilocytic dysplasia of the cervix with DNA-Cytometry. J Reprod. Med 34. Seite 505-510

Chatelain R, Willms A, Biesterfeld S, Auffermann W, Böcking A (1989b): Automated Feulgen Staining with a Temperature-Controlled Staining Machine. Analytical and Quantitative Cytology and Histology 11. Seite 211-217

Chilla R (1995): Diagnostik und Therapie der Speicheldrüsentumoren. HNO 43. Seite 627-633

Dietlein M, Dressler J, Joseph K, Leisner B, Moser E, Reiners C, Rendl J, Schich H, Schober U (1999): Guidelines in thyroid diagnosis. Nuklearmedizin 38. Seite 215-218

Doerr W, Seifert G, Uehlinger E (1996): Spezielle pathologische Anatomie; Bd.1 Pathologie der Speicheldrüsen; 1. Seifert, Gerhard: Oralpathologie. 2. Auflage. Berlin, Heidelberg. Springer-Verlag.

Donath K, Ußmüller J (2001): Ätiopathogenese und Histopathologie der Speicheldrüsenenerkrankungen. Laryngo-Rhino-Orol 80 Suppl 1. Seite 1-25

Dreyer T, Popella C, Hinrichs B, Bohle RM, Pohlmann U, Schulz A, Glanz H (1995): Grading of precancerous laryngeal lesions by multiparameter image analysis at separate epithelial layers. J Pathol 177. Seite 385-393

Driemel O, Maier H, Kraft K, Haase S, Hemmer J (2005): Flow cytometric DNA ploidy in salivary gland tumours. Oncol Rep 13. Seite 161-165

Driemel O, Kraft K, Hemmer J (2006): Flow cytometric S-phase fraction contributes to diagnosis of diploid malignant salivary gland tumours. Int J Oral Maxillofac Surg 35. Seite 947-950

Duesberg P, Ruhong L, Rasnick D (2004): Aneuploidy approaching a perfect score in predicting and preventing cancer. Cell Cycle 306. Seite 823-828

Ellis GI, Auclair PI, Gnepp DR (1991): Surgical pathology of the salivary glands. Philadelphia, London. Saunders.

Elsheikh TM, Silverman JF, Mc Cool JW, Riley RS (1992): Comparative DNA analysis of solid tumors by flow cytometric and image analyses of touch imprints and flow cell suspensions. AM J Clin Pathol 98. Seite 296-304

Eneroth CM, Blank C, Jacobsson PÅ (1968): Carcinoma in pleomorphic adenoma of parotid gland. Acta Oto-laryng. 66. Seite 477

Feichter G, Dalquen P (2000): Zytopathologie. 2. Auflage. Berlin, Heidelberg. Springer-Verlag.

Feulgen R, Rossenbeck H (1924): Mikroskopisch-chemischer Nachweis einer Nucleinsäure vom Typus der Thymonucleinsäure und die darauf beruhende elektive Färbung von Zellkernen in mikroskopischen Präparaten. Hoppe Seylers Z Physiol Chem 135. Seite 203-248

Geisinger KR, Weidner N (1986): Aspiration cytology of salivary glands. Semin Diagn. Pathol 3. Seite 219-226

Giroud F, Haroske G, Reith A, Böcking A (1998): 1997 ESACP consensus report on diagnostic DNA image cytometry. Part II: Specific recommendations for quality assurance. Anal Cell Pathol 17. Seite 201-208

Gross M, Ben-Yaacov A, Rund D, Elidan J (2004): Role of open incisional biopsy in parotid tumors. Acta Otolaryngol 124. Seite 758-760

Grote HJ, Friedrichs N, Pomjanski N, Guhde HF, Reich O, Böcking A (2001): Prognostic significance of DNA-cytometry in carcinoma of the uterine cervix FIGO stage IB and II. Anal Cell Pathol 23. Seite 97-105

Haroske G, Meyer W, Dimmer V, Kunze KD, Theissing F (1993): Feasibility and limitations of a cytometric DNA ploidy analysis procedure in tissue sections. Zentralblatt Pathol 139: Seite 407-417

Haroske G, Giroud F, Reith A, Böcking A (1998): 1997 ESACP consensus report on diagnostic DNA image cytometry. Part I: Basic considerations and recommendations for preparation, measurement and interpretation. Anal Cell Pathol 17. Seite 189-200

Haroske G, Baak JPA, Danielsen H, Giroud F, Gschwendtner A, Oberholzer M, Reith A, Spieler P, Böcking A (2001): Fourth updated ESACP consensus report on diagnostic DNA image cytometry. *Anal Cell Pathol* 23. Seite 89-95

Höfken F, Welkoborsky HJ, Jakob R, Mann W (1995): DNA-zytometrische Untersuchungen von Mund und Rachenspülflüssigkeit als Screening-Verfahren zur Diagnose von Malignomen der Mundhöhle und des Oropharynx. *Laryngo-Rhino-Otol* 74. Seite 678-683

Horn-Ross PL, Ljung BM, Morrow M (1997): Environmental factors and the risk of salivary gland cancer. *Epidemiology* 8 (4). Seite 414-419

Kindermann D, Hilgers CH (1994): Glare-correction in DNA image cytometry. *Anal. Cell. Pathol.* 6. Seite 165-180

Knapp I, Mann W, Wachter W (1989): Stellenwert der ultraschallgesteuerten Feinnadelbiopsie in der Diagnostik unklarer Halstumoren. *Laryngo-Rhino-Otol* 68. Seite 683-689

Koss LG (1989): The Papanicolaou test for cervical cancer detection. Triumph and tragedy. *JAMA* 261 (5). Seite 737-743

Kreß E, Schulz HG, Neumann TH (1993): Die Diagnostik der Erkrankungen der großen Kopfspeicheldrüsen durch Sonographie, Sialographie und CT-Sialographie. *HNO* 41. Seite 345-351

Kumar N, Kapila K, Verma K (1991): Fine needle aspiration cytology of mucoepidermoid carcinoma. *Acta Cytol* 35. Seite 357-359

Lang S, Ihrler S (2003): Kopfspeicheldrüsen aus MANUAL Kopf-Hals-Malignome, Tumorzentrum München. 3. Auflage. München, Wien, New York. W. Zuckschwerdt Verlag. Seite 225-230

Layfield LJ, Tan P, Glasgow BJ (1987): Fine-needle aspiration of salivary gland lesions. *Arch Pathol Lab Med* 111. Seite 346-353

Lindberg JO, Stenling RB, Rutegard JN (1999): DNA Aneuploidy as a marker of premalignancy in surveillance of patients with ulcerative colitis. *Br J Surg* 86. Seite 947-950

Liung BM, Mayal B, Lottich C, Boyer C, Sylvester SS, Leight GS, Siegler HF, Smith HS (1989): Cell dissociation techniques in human breast cancer- variations in tumor cell viability and DNA ploidy. *Breast Cancer Res Treat* 13. Seite 153-159

Mairinger T, Geschwendtner A (1998): Ploidy determination in prostatic adenocarcinoma using thin histological sections: A more sensitive way of detecting aneuploid tumor clones. *Prostate* 37. Seite 30-35

Makiyama K, Tokunaga M, Itsuno M, Zea-Iriarte W, Hara K (1995): DNA aneuploidy in a case of rectosigmoid adenocarcinoma complicated by ulcerative colitis. *J Gastroenterol* 30. Seite 258-263

Mancuso TF, Brennan MJ (1970): Epidemiological considerations of cancer of the gallbladder, bile ducts and salivary glands in the rubber industry. *J Occup Med* 12. Seite 333-341

Mann W (1992): Kopfspeicheldrüsen – Diagnostische Verfahren. In: Naumann HH, Helms J, Herberhold C, Kastenbauer E (Hrsg.) *Oto-Rhino-Laryngologie in Klinik und Praxis*. Band 2. Stuttgart, New York. Thieme Verlag. Seite 702

Mann W, Welkoborsky H.-J., Maurer J (1997): *Kompodium Ultraschall im Kopf-Hals-Bereich*. Stuttgart, New York. Thieme Verlag. Seite 75-79

Maraki D, Becker J, Böcking A (2004): Cytologic and DNA-cytometric very early diagnosis of oral cancer. *J Oral Pathol* 33. Seite 1-7

Maraki D, Hengge UR, Becker J, Böcking A (2005a): Very early cytological and DNA-cytometric diagnosis of in situ carcinoma in an immunosuppressed liver transplant recipient. *J Oral Pathol Med* 34. Seite 1-3

Maraki D, Megahed M, Böcking A, Becker J (2005b): Aktuelle Verfahren zur Früherkennung von Mundkrebs und zur Diagnostik von blasenbildenden Mundschleimhauterkrankungen. *Hessisches Zahnärzte Magazin* 9. Seite 44-53

Mellin W (1990): Cytophotometry in Tumor Pathology. A critical review of methods and applications and some results of DNA analysis. *Path Res Pract* 186. Seite 37-62

Möbius G (1993): Cytological early detection of cervical carcinoma: possibilities and limitations. Analysis of failures. *J Cancer Clin Oncol* 119 (9). Seite 513-521

Motherby H (1999): Adjuvante Untersuchungsmethoden zur Verbesserung der Treffsicherheit der Ergusszytologie. Düsseldorf. Habilitationsschrift der Medizinischen Fakultät Heinrich-Heine Universität. Seite 36-40

Motherby H, Marcy T, Hecker M, Ross B, Nadjari B, Auer H, Müller KM, Häussinger D, Strauer BE, Böcking A (1998a): Static DNA cytometry as a diagnostic aid in effusion cytology: I. DNA aneuploidy for identification and differentiation of primary and secondary tumors of the serous membranes. *Anal Quant Cytol Histol* 20. Seite 153-161

Motherby H, Nadjari B, Remmerbach T, Marcy T, Pommjanski N, Müller W, Knops K, Häussinger D, Strauer BE, Böcking A (1998b): Static DNA cytometry as a diagnostic aid in effusion cytology: II. DNA aneuploidy for identification of neoplastic cells in equivocal effusions. *Anal Quant Cytol Histol* 20. Seite 162-168

Nadjari B, Kersten A, Ross B, Motherby H, Krallmann R, Sundmacher R, Böcking A (1999a): Cytologic and DNA cytometric diagnosis and therapy monitoring of squamous cell carcinoma in situ and malignant melanoma of cornea and conjunctiva. *Anal Quant Cytol Histol* 21 (5). Seite 387-396

Nadjari B, Motherby H, Pooschke T, Pooschke S, Gabbert HE, Simon D, Roher HD, Feldkamp J, Tharandt L, Böcking A (1999b): DNA aneuploidy as a specific marker of neoplastic cells in FNAB of thyroid. *Anal Quant Cytol Histol* 21 (6). Seite 481-488

Olsen KD (1987): The parotid lump – don't biopsy it. *Postgraduate Medicine* 81. Seite 225-231

Paris J, Facon F, Chrestian MA, Giovanni A, Zanart M (2003): Recurrences of pleomorphic adenomas of the parotid: changing attitudes. *Rev Laryngol Otol Rhinol (Bord)* 124. Seite 229-234

Parker SL, Tong T, Bolden S, Wingo PA (1997): Cancer statistics. *CA, Cancer J Clinicians* 47. Seite 5-27

Postema RJ, van Velthuysen ML, van den Brekel MWM, Balm AJM, Deterse JL (2004): Accuracy of fine needle aspiration cytology of salivary gland lesion in the Netherlands Cancer Institute. *Head & Neck* 26. Seite 418-424

Preston-Martin S, Thomas DC, White SC, Cohen D (1988): Prior exposure to medical and dental X-rays related to tumors of the parotid glands. *J Natl Cancer Inst* 80. Seite 943-949

Preston-Martin S, White SC (1990): Brain and salivary gland tumors related to prior dental radiography: Implications for current practice. *JADA* 120. Seite 151-158

Reichart PA, Hausamen JE, Becker J, Neukam FW, Schliephake H, Schmelzeisen R (2002): *Curriculum Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten, Chirurgie Band II*. Berlin. Quintessenz Verlag. Seite 320-334

Remmerbach T, Weidenbach H, Pomjanski N, Knops K, Mathes S, Hemprich A, Böcking A (2001): Cytologic and DNA-cytometric early diagnosis of oral cancer. *Anal Cell Pathol* 22. Seite 211-221

Remmerbach T, Weidenbach H, Hemprich A, Böcking A (2003): Earliest detection of oral cancer using non-invasive brush biopsy including DNA-image cytometry: Report on four cases. *Anal Cell Pathol* 25. Seite 159-166

Rice DH, Batsakis JG, Mc Clatchey KD (1976): Postirradiation malignant salivary gland tumor. *Arch Otolaryngol* 102 (11). Seite 699-701

Röher HD, Goretzki PE, Wahl RA (1987): *Chirurgische Therapie des Schilddrüsenkarzinoms. Schilddrüsenmalignome: Diagnostik, Therapie und Nachsorge*. New York. Schattauer.

Röser K, Jäkel KT, Bullerdiek J, Löning T (2005): Bedeutung molekularzytogenetischer Befunde bei Speicheldrüsentumoren am Beispiel des Mukoepidermoidkarzinoms. *Pathologie* 26 Springer Medizin Verlag. Seite 359-366

Schlesinger-Raab A, Lang S, Steuer-Vogt MK, Hölzel D (2003): *Zur Epidemiologie der Kopf-Hals-Malignome aus MANUAL Kopf-Hals-Malignome, Tumorzentrum München*. 3. Auflage. München, Wien, New York. W. Zuckschwerdt Verlag. Seite 3-4

Scully C (1988): Viruses and salivary gland disease: Are there associations? Oral Surg Oral Med Oral Pathol 66. Seite 179-183

Seifert G (1984): Virale Erkrankungen der Speicheldrüsen. Dtsch. Z. Mund Kiefer Gesichtschir. 8. Seite 187-194

Seifert G (1991): WHO Histological Typing of Salivary Gland Tumors. 2. Edition. Berlin, Heidelberg. Springer-Verlag.

Seifert G, Miehke A, Haubrich J, Chilla R (1984): Speicheldrüsenkrankheiten. Pathologie-Klinik-Therapie-Fazialischirurgie. Stuttgart, New York. Thieme Verlag.

Seifert G, Sobin LH (1992): WHO histological classification of salivary gland tumours. A commentary on the second edition. Cancer 70. Seite 79-85

Seifert G, Steinbach E, Holtmann S, Kastenbauer E (1992): Kopfspeicheldrüsen – Pathologie und Klinik aus Naumann HH, Helms J, Herberhold C, Kastenbauer E (Hrsg.): Oto-Rhino-Laryngologie in Klinik und Praxis. Band 2. Stuttgart, New York. Thieme Verlag. Seite 750-765

Solomon DH, Keeler EB (1982): Cost-effective analysis of the evaluation of thyroid nodule. Ann Intern Med 96. Seite 227

Spitz MR, Tilley BC, Batsakis JG, Gibeau JM, Newell GR (1984): Risk factors for major salivary gland carcinoma. A case-comparison study. Cancer 54. Seite 1854-1859

Spitz MR, Fueger JJ, Goepfert H, Newell GR (1990): Salivary gland cancer, A case-control investigation of risk factors. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 116. Seite 1163-1166

Stennert E, Jungehülsing M (2001): Chirurgie der Glandula parotis einschließlich rekonstruktiver Fazialis-Chirurgie: Standard und Qualitätssicherung. Laryngo-Rhino-Orol 80 Suppl 1. Seite 156-197

Stewart CJ, Mac Kenzie K, Mc Garry GW, Mowat A (2000): Fine-needle aspiration cytology of salivary gland: a review of 341 cases. Diagn Cytopathol 22 (3). Seite 139-146

Thunissen FB, Peterse JL, Buchholtz R, Van der Beek JM, Bosman FT (1992): Polyploidy in pleomorphic adenomas with cytological atypia. *Cytopathology* Band 3, 2. Auflage. Seite 101-109

Wang N, Wilkin C, Böcking A, Tribukait B (2000): Evaluations of tumor heterogeneity of prostate carcinoma by flow- and image DNA cytometry and histopathological grading. *Anal Cell Pathol* 20. Seite 49-62

Weerda H, Gehrking E (2000): Die (sonographisch kontrollierte) Feinnadelpunktionszytologie im Kopf-Halsbereich. *HNO* 48. Seite 419-420

Zbieranowski I, Le Riche JC, Palcic B, Gascoyne R, Connors J (1992): Determination of DNA ploidy in archival tissue from non-Hodkin's lymphoma using flow and image cytometry. *Anal Cell Pathol* 4. Seite 303-313

Quellen aus dem Internet

Internationale Agentur für Krebsforschung, Globocan

Inzidenzraten aufgeteilt auf die verschiedenen Speicheldrüsentumoren

Referenz: <http://www-dep.iarc.fr/C15-IX/PDF/4DIGIT/T07.pdf> Internet, 09.04.2009

Cancer Incidence in Five Continents Vol. IX, IARC 2007

Internationale Agentur für Krebsforschung, Globocan

Inzidenzraten aller Speicheldrüsentumoren

Referenz: http://www-dep.iarc.fr/C15-IX/PDF/BYSITE/S_C07.pdf Internet, 09.04.2009

Cancer Incidence in Five Continents Vol. IX, IARC 2007

7 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

Abkürzung	Bedeutung
a.e.	am ehesten
abnorm.	abnormal
Ana. Cells	Analysis Cells
analyt.	analytisch
aneupl.	aneuploid
Ca	Karzinom
chron.	Chronisch
CT	Computertomographie
CV	Variationskoeffizient
DI	Deviation Index
Diag.	Diagnose
diff.	Differenziert
Dig.	Dignität
Dipl.	Diploid
DNA	deoxyribonucleic acid, Desoxyribonukleinsäure
DNA-FCM	DNA-flow-cytometry, Durchflusszytometrie
DNA-ICM	DNA-image-cytometrie, DNA-Bildzytometrie
EE	Exceeding Events
Ep.	Epithel
Epithel.	Epithelial
ESACP	European Society for Analytical Cellular Pathology
Ex	Exceeding
exkl.	Exklusive
fn	falsch negativ
FNAB	Feinnadelaspirationsbiopsie
Fp	falsch positiv
G0	Ruhephase im Zellzyklus
G1, G2	Wachstumsphasen im Zellzyklus
HHU	Heinrich-Heine-Universität
lo	Leerwert
IOD	integrierte optische Dichte
IQ	Interquartilbereich
Mal. Gr.	Malignancy Grade
Malig.	Maligne

Abkürzung	Bedeutung
Metast.	Metastasierend
Mono.	Monomorph
MRT	Magnetresonanztomographie
neoplast.	neoplastisch
NPV	Negativer Prädiktionswert
Nr	Nummer
OSW	Oberer Schwellenwert
papill.	Papillär
PC	Personal Computer
pl.	pleomorph
PolypI.	Polyploid
PPV	Positiver Prädiktionswert
PRESS	Prototype Reference Standard Slides
Prolif.	Proliferation
R	Korrelationskoeffizient
Ref Cells	Reference Cells
REM	Relativer Fehler des Mittelwertes
rn	richtig negativ
RNA	Ribonukleinsäuren
rp	richtig positiv
Should Fract	Shoulder Fraction
spinozell.	spinozellulär
StdDev	Standard Deviation, Standardabweichung
StdAbw	Standardabweichung
Stem	Stemline
Stem Mod Val	Stemline Modal Value, Stammlinienmodalwert
Transform.	Transformation
Tu	Tumor
undiff.	undifferenziert
unkl.	unklar
USW	Unterer Schwellenwert
UV	Ultraviolett
vs	versus
WHO	World Health Organization
zw.	zweifelhaft
zyst.	zystisch
zytolog.	zytologisch

8 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Häufigkeit verschiedener histologischer Typen der Kopfspeicheldrüsentumoren in % [Doerr et al., 1996].....	2
Abbildung 2: Simulation einer FNAB mit einem Einmalspritzenhalter (Cameco®)	14
Abbildung 3: Glandula Parotis: normale Azinusepithelien (630x).....	15
Abbildung 4: Glandula parotis: pleomorphes Adenom (630x)	15
Abbildung 5: Glandula Parotis: wenig differenziertes Adenokarzinom (630x).....	15
Abbildung 6: TV-Bildanalyzesystem, AutoCyte QUIC-DNA®	17
Abbildung 7: DNA-Histogramm mit diploider DNA-Verteilung	20
Abbildung 8: DNA-Histogramm mit aneuploider DNA-Verteilung	21
Abbildung 9: Altersverteilung der punktierten Patienten mit einem Speicheldrüsentumor unterschieden nach Geschlecht.....	25
Abbildung 10: Zusammenfassende Darstellung klinischer und zytologischer Daten .	29
Abbildung 11: Automat für die temperaturkontrollierte Feulgen-Färbung.....	30
Abbildung 12: Reaktionsschema der DNA bei einer Feulgen-Färbung	31
Abbildung 13: Messmonitor zur diagnostischen DNA-Bildzytometrie des Geräts AutoCyte-Quick-DNA®	33
Abbildung 14: Messmonitor der DNA-Bildzytometrie: Links: Bildgalerie vermessener Zellkerne eines Karzinoms. Rechts: Zugehöriges DNA-Histogramm	34
Abbildung 15: Verteilung der Adenome und Karzinome nach Geschlecht und Alter .	40
Abbildung 16: Flussdiagramm der DNA-Bildzytometrischen Ergebnisse	49
Abbildung 17: Histogramm der Stammlinien bei Adenomen und Karzinomen.....	52
Abbildung 18: deskriptive Statistik der Stammlinienmodalwerte bei Adenomen	53
Abbildung 19: deskriptive Statistik der Stammlinienmodalwerte bei Karzinomen	54
Abbildung 20: Boxplots der Stammlinien von Adenomen und Karzinomen	55
Abbildung 21: Anzahl von 9c Exceeding Events bei Karzinomen und Adenomen.....	57
Abbildung 22: deskriptive Statistik der 9c Events bei Adenomen.....	58

Abbildung 23: deskriptive Statistik der 9c Events bei Karzinomen	59
Abbildung 24: Anzahl der 9c Exceeding Events bei Adenomen und Karzinomen	60
Abbildung 25: Anzahl von 5c Exceeding Events bei Karzinomen und Adenomen.....	62
Abbildung 26: deskriptive Statistik der 5c Ex Events bei Adenomen.....	63
Abbildung 27: Schwellenwerte der 5c Exceeding Events bei Adenomen	64
Abbildung 28: deskriptive Statistik der 5c Ex Events bei Karzinomen.....	64
Abbildung 29: Anzahl der 5c Exceeding Events bei Adenomen und Karzinomen	65
Abbildung 30: Variabilität der 5c Ex Events bei Adenomen und Karzinomen	66
Abbildung 31: deskriptive Statistik des 2c Deviation Index bei Adenomen	68
Abbildung 32: Ladungsdiagramm der Ploidieparameter	71
Abbildung 33: Streudiagramm der beiden Hauptkomponenten.....	71

9 TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Rohe Mortalitätsraten für bösartige Tumoren der Kopf-Hals-Region berechnet aus der jährlichen Anzahl der Todesfälle bzw. Neuerkrankungen bezogen auf 100.000 der Bevölkerung in Deutschland [nach Schlesinger-Raab et al., 2003]	1
Tabelle 2: Verteilung und Verhältnis von benignen zu malignen Speicheldrüsentumoren in Abhängigkeit ihrer Lokalisation [nach Seifert et al., 1992; Böcker et al., 2004].....	3
Tabelle 3: Verteilung chromosomale Veränderungen bei Speicheldrüsentumoren [nach Röser et al., 2005].....	5
Tabelle 4: WHO Klassifikation der Kopfspeicheldrüsentumoren [Seifert, 1991].....	6
Tabelle 5: Typen der pleomorphen Adenome und ihre prozentuale Verteilung	7
Tabelle 6: Typen des Zystadenolymphoms und ihre prozentuale Verteilung.....	8
Tabelle 7: Typen des adenoid-zystischen Karzinoms und deren prozentuale Verteilung.....	10
Tabelle 8: Typen des Adenokarzinoms	11
Tabelle 9: Zusammenfassung der zytologischen Diagnosen und Kategorien.....	26
Tabelle 10: Kategorisierung der zytologischen Diagnosen.....	27
Tabelle 11: Färbeschema Feulgenfärbung	32
Tabelle 12: Diagnosegruppen für die 77 FNABs mit Follow-up.....	41
Tabelle 13: Häufigkeiten in der Vier-Felder-Tafel	43
Tabelle 14: Vier-Felder-Tafel zur Gegenüberstellung von Diagnoseergebnissen aus Zytologie versus Histologie von Speicheldrüsentumoren	44
Tabelle 15: Vier-Felder-Tafel zur Gegenüberstellung von Diagnoseergebnissen aus der Zytologie und DNA-Zytometrie versus Histologie von Speicheldrüsentumoren	45

Tabelle 16: Vier-Felder-Tafel zur Gegenüberstellung von Diagnoseergebnissen aus der Zytologie, DNA-Zytometrie und Fall 68 versus Histologie von Speicheldrüsentumoren.....	46
Tabelle 17: Übersicht der Gruppenzuordnung und den Ergebnissen der Kennzahlen aus den Vier-Felder-Tafeln in Tabelle 14 bis Tabelle 16	47
Tabelle 18: Abweichungen der zytologischen und histologischen Diagnosen	48
Tabelle 19: Fälle mit histologischer Diagnose abweichend von ‚Pleomorphes Adenom‘ bzw. ‚Speicheldrüsenkarzinom‘	51
Tabelle 20: Definition der DNA-Messparameter	51
Tabelle 21: Vier-Felder-Tafel der Stammlinienmodalwerte.....	56
Tabelle 22: Adenome mit 9c Exceeding Events.....	58
Tabelle 23: 95%-Konfidenzintervalle des Mittelwerts und Medians.....	59
Tabelle 24: Vier-Felder-Tafel der 9c Exceeding Events	61
Tabelle 25: Vier-Felder-Tafel der 5c Exceeding Events	67
Tabelle 26: Fälle mit erhöhtem 2c Deviation Index ohne Exceeding Events.....	69
Tabelle 27: Vier-Felder-Tafel des 2c Deviation Index.....	69
Tabelle 28: nennenswerte Fälle der Hauptkomponentenanalyse.....	72
Tabelle 29: Vier-Felder-Tafel aller Parameter.....	73
Tabelle 30: Treffsicherheit Zytologie und Zytologie mit DNA-Bildzytometrie.....	77
Tabelle 31: Ergänzung der zytologischen Diagnosen durch die DNA-Bildzytometrie in ausgewählten Fällen.....	78
Tabelle 32: Übersicht der Diagnosen aus der DNA-Bildzytometrie im Kontext zur Zytologie und Histologie	103
Tabelle 33: Messwerte der DNA-Bildzytometrie	108
Tabelle 34: Einordnung der Fälle in die Vier-Felder-Tafeln deskriptive Statistik.....	113
Tabelle 35: Einordnung der Fälle in die Vier-Felder-Tafeln analytische Statistik	115

10 TESTVERZEICHNIS

Die Nullhypothese wird verworfen, falls $p < \alpha$.

In diesem Fall kann die Nullhypothese zugunsten der Alternativhypothese abgelehnt werden.

Test 1: Wilcoxon-Test: Stemline Modal Values_Karzinom

Test von Median = 2,000 im Vergleich zu Median > 2,000

	N	N für Test	Wilcoxon-Statistik	p
Stemline Modal Values_Karzinom	17	17	149,0	0,000

	Geschätzter Median
Stemline Modal Values_Karzinom	2,545

Test 2: Mann-Whitney-U-Test: Vergleich der Stammlinien von Adenomen und Karzinomen

	N	Median
Stemline Modal Values_Adenom	72	2,0400
Stemline Modal Values_Karzinom	17	2,3200

Punktschätzung für ETA1-ETA2 ist -0,2500

95,1 Prozent KI für ETA1-ETA2 ist (-0,8297;-0,0699)

W = 2929,0

Test von ETA1 = ETA2 im Vergleich zu ETA1 nicht = ETA2 ist signifikant bei 0,0012

Der Test ist signifikant bei 0,0012 (korrigiert für Bindungen)

Test 3: Wilcoxon-Test: 9c Events_Adenom

Vorzeichentest für Median = 1,000 im Vergleich zu < 1,000

	N	Unter	Gleich	Über	p	Median
9c Ex Events_Adenom	72	70	1	1	0,0000	0,00000

Test 4: Wilcoxon-Test: 9c Ex Events_Karzinom

Test von Median = 1,000 im Vergleich zu Median > 1,000

	N	N für Test	Wilcoxon-Statistik	p	Geschätzter Median
9c Ex Events_Karzinom	17	12	70,5	0,008	3,000

Test 5: Mann-Whitney-Test und KI: 9c Ex Events_Adenom; 9c Ex Events_Karzinom

	N	Median
9c Ex Events_Adenom	76	0,000
9c Ex Events_Karzinom	21	3,000

Punktschätzung für ETA1-ETA2 ist -3,000

99,0 Prozent KI für ETA1-ETA2 ist (-5,002;-1,000)

W = 3090,0

Test von ETA1 = ETA2 im Vergleich zu ETA1 nicht = ETA2 ist signifikant bei

0,0000

Der Test ist signifikant bei 0,0000 (korrigiert für Bindungen)

Test 6: t-Test bei einer Stichprobe: 5c karzinom transformiert

Test auf Mü = -1,00062 im Vergleich zu > -1,00062

Variable	N	Mittelwert	StdAbw	SE des Mittelwerts	Untere 95% -Schranke
t					
5c karzinom transformier	21	-0,125	1,042	0,227	-0,518
3,85					

Variable	p
5c karzinom transformier	0,001

Test 7: Mann-Whitney-Test und KI: 5c Ex Events_Adenom; 5c Ex Events_Karzinom

	N	Median
5c Ex Events_Adenom	72	0,00
5c Ex Events_Karzinom	17	18,00

Punktschätzung für ETA1-ETA2 ist -18,00

95,1 Prozent KI für ETA1-ETA2 ist (-41,00;-12,00)

W = 2728,5

Test von ETA1 = ETA2 im Vergleich zu ETA1 nicht = ETA2 ist signifikant bei

0,0000

Der Test ist signifikant bei 0,0000 (korrigiert für Bindungen)

Test 8: t-Test bei einer Stichprobe: 2c DI Adenom transformiert

durchgeführte Transformation für 2c DeviationIndex der Adenome:

$$-1,17854 + 0,506904 * \text{Arcsinus} \left(\left(X - 0,0456672 \right) / 0,0136298 \right)$$

Test auf $\mu = 0,40398$ im Vergleich zu nicht = $0,40398$

Variable	N	Mittelwert	StdAbw	SE des Mittelwerts	95%-KI
t					
2cDI_Ad_trans	72	0,010	1,028	0,121	(-0,231; 0,252)

Variable	p
2cDI_Ad_trans	0,002

Test 9: Eigenwertanalyse der Korrelationsmatrix

Eigenwertanalyse der Korrelationsmatrix
86 Fälle verwendet, 3 Fälle enthalten fehlende Werte

Eigenwert	3,1280	0,4763	0,3120	0,0836
Anteil	0,782	0,119	0,078	0,021
Kumulativ	0,782	0,901	0,979	1,000

Variable	PC1	PC2	PC3	PC4
Stemline Modal Values	0,530	-0,290	-0,351	-0,716
5c Ex Events	0,482	-0,587	0,569	0,316
9c Ex Events	0,521	0,184	-0,582	0,596
CV Stemline	0,464	0,733	0,463	-0,180

11 ANHANG

Tabelle 32: Übersicht der Diagnosen aus der DNA-Bildzytometrie im Kontext zur Zytologie und Histologie

Nr	Eingangsnr	Geschl.	Alter	zytologische Diagnose	Zytolog. Kategorie	Histologie und Klinik	DNA-Diagnose	Gruppe Tabelle 12	Enddiagnose für analyt. Statistik
1	4642-95	w	32	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
2	6036-95	w	82	Pleomorphes Adenom	positiv	----	Polyploid	----	Adenom
3	6953-95	w	65	Pleomorphes Adenom	dringender Verdacht	---	Diploid	----	Lost for statistics
4	9197-95	w	46	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
5	11041-95	w	24	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
6	13106-95	m	68	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
7	14659-95	m	60	Adenokarzinom	positiv	Maligner Speicheldrüsentumor	Aneuploid	9	Karzinom
8	14792-95	w	45	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Polyploid	1	Adenom
9	3334-96	w	67	Monomorphes Adenom	positiv	Azinuszellkarzinom	Diploid	3	Lost for statistics
10	9887-96	m	88	Pleomorphes Adenom	positiv	----	Polyploid	----	Adenom
11	13221-96	w	56	Azinuszellkarzinom	(Zellvereinzlung)	Azinuszellkarzinom	Polyploid	----	Karzinom
12	31720-96	w	27	Azinuszellkarzinom	(Zellvereinzlung)	Azinuszellkarzinom	Diploid	----	Karzinom
13	945-97	m	25	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
14	3395-97	m	67	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
15	3639-97	W	49	Pleomorphes Adenom	dringender Verdacht	Pleomorphes Adenom	Diploid	2	Adenom
16	4515-97	W	51	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Polyploid	1	Adenom
17	10688-97	M	59	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
18	13476-97	M	65	abnorme Plattenepithelien (Karzinom), zweifelhaft	zweifelhaft	gering differenziertes Plattenepithelkarzinom	Aneuploid	7	Karzinom
19	14293-97	M	35	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Polyploid	1	Adenom
20	1740-98	M	45	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom

Nr	Eingangs Nr	Geschl.	Alter	zytologische Diagnose	Zytolog. Kategorie	Histologie und Klinik	DNA-Diagnose	Gruppe Tabelle 12	Enddiagnose für analyt. Statistik
21	4833-98	M	64	Plattenepithelkarzinom	dringender Verdacht	Plattenepithelkarzinom	Aneuploid	8	Karzinom
22	9655-98	M	48	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
23	11063-98	M	42	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
24	13022-98	M	51	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
25	14271-98	M	63	Adenokarzinom	positiv	Adenokarzinom	Aneuploid	9	Karzinom
26	784-99	W	82	Adenokarzinom	positiv	Metastase, Melanom	Aneuploid	9	Lost for statistics
27	3165-99	W	14	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
28	8285-99	M	74	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
29	9321-99	W	33	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
30	11037-99	W	83	Pleomorphes Adenom	positiv	----	Diploid	----	Adenom
31	11858-99	M	34	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Polyploid	1	Adenom
32	13658-99	W	57	Karzinom	positiv	papillär-zystisches Karzinom, Azinuszellkarzinom	Aneuploid	9	Karzinom
33	37-00	M	35	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
34	868-00	W	51	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
35	1394-00	M	82	Karzinom (zystisch verändert)	dringender Verdacht	Spinozelluläres Karzinom	Aneuploid	8	Karzinom
36	1895-00	M	38	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
37	3744-00	W	27	Pleomorphes Adenom	positiv	Adenoidzystisches Karzinom	Diploid	3	Karzinom
38	3905-00	M	35	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
39	5296-00	M	12	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
40	5427-00	M	53	Pleomorphes Adenom	positiv	----	Diploid	----	Adenom
41	6489-00	M	58	mäßig differenziertes Adenokarzinom	positiv	Metastasen, Karzinom, nur klinisches Follow-up	Aneuploid	9	Karzinom
42	8761-00	W	41	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
43	10090-00	M	53	Adenom, Adenolymphom	positiv	Zystadenolymphom	Diploid	1	Lost for statistics
44	11034-00	W	33	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Polyploid	1	Adenom

Nr	Eingangs Nr	Geschl.	Alter	zytologische Diagnose	Zytolog. Kategorie	Histologie und Klinik	DNA-Diagnose	Gruppe Tabelle 12	Enddiagnose für analyt. Statistik
45	11221-00	M	25	Pleomorphes Adenom	dringender Verdacht	----	Diploid	----	Adenom
46	13328-00	W	41	Pleomorphes Adenom	positiv	----	Diploid	----	Adenom
47	4469-01	M	67	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
48	5261-01	W	53	Pleomorphes Adenom	positiv	----	Polyploid	----	Adenom
49	5708-01	M	65	Pleomorphes Adenom	positiv	----	Diploid	----	Adenom
50	5802-01	W	30	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
51	6562-01	W	74	Pleomorphes Adenom	positiv	----	Diploid	----	Adenom
52	12012-01	M	67	Mukoepidermoidkarzinom	positiv	Mukoepidermoidkarzinom	Aneuploid	9	Karzinom
53	12258-01	W	30	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
54	14223-01	W	33	Pleomorphes Adenom	positiv	----	Diploid	----	Adenom
55	14225-01	M	44	Pleomorphes Adenom	positiv	----	Polyploid	----	Adenom
56	548-02	W	74	Pleomorphes Adenom	positiv	----	Diploid	----	Adenom
57	2226-02	W	24	Pleomorphes Adenom	positiv	----	Diploid	----	Adenom
58	7764-02	M	70	Tumorzellen mit Zystenbildung (unklare Dignität)	dringender Verdacht	zystisch regressiv veränderter benigner Tumor der Parotis	Diploid	4	Lost for statistics
59	8837-02	M	39	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
60	8990-02	W	31	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
61	9243-02	W	64	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
62	9475-02	W	73	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
63	12416-02	W	38	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
64	13660-02	W	74	Adenokarzinom (Dignität unsicher)	positiv	Adenokarzinom	Aneuploid	6	Karzinom
65	3398-03	W	28	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
66	3579-03	W	64	undifferenziertes Karzinom, Adenokarzinom	positiv	Karzinom	Aneuploid	9	Karzinom
67	3827-03	W	77	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Polyploid	1	Adenom

Nr	Eingangs Nr	Geschl.	Alter	zytologische Diagnose	Zytolog. Kategorie	Histologie und Klinik	DNA-Diagnose	Gruppe Tabelle 12	Enddiagnose für analyt. Statistik
68	4474-03	W	63	Pleomorphes Adenom mit herdförmiger maligner Transformation (Karzinom)	positiv	Pleomorphes/Monomorphes Adenom mit erhöhter Proliferation	Aneuploid	11	Karzinom
69	4772-03	M	49	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
70	5823-03	W	27	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Polyploid	1	Adenom
71	6925-03	M	61	Pleomorphes Adenom	dringender Verdacht	Pleomorphes Adenom	Diploid	2	Adenom
72	7993-03	W	69	Pleomorphes Adenom	positiv	----	Diploid	----	Adenom
73	8007-03	W	71	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
74	8425-03	W	32	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
75	8708-03	W	87	Tumor unklarer Dignität	positiv	----	Diploid	----	Lost for statistics
76	9127-03	M	37	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
77	9247-03	M	59	Adenokarzinom, Plattenepithelkarzinom, Mischdifferenzierung	positiv	Plattenepithelkarzinom	Aneuploid	9	Karzinom
78	12436-03	M	83	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
79	1216-04	W	73	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
80	2177-04	M	69	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Polyploid	1	Adenom
81	4202-04	W	77	Adenom, ggf. Karzinom (Tumor unklarer Dignität)	positiv	Pleomorphes Adenom, Rezidiv	Polyploid	5	Adenom
82	5699-04	M	55	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Polyploid	1	Adenom
83	8146-04	W	75	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Polyploid	1	Adenom
84	8147-04	M	35	Pleomorphes Adenom	positiv	----	Polyploid	----	Adenom
85	11277-04	M	66	Pleomorphes Adenom (unklare Dignität)	positiv	----	Diploid	----	Adenom
86	11956-04	W	28	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
87	11994-04	M	67	Pleomorphes Adenom	positiv	----	Diploid	----	Adenom
88	13076-04	M	37	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
89	129-05	M	54	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Polyploid	1	Adenom

Nr	Eingang Nr	Geschl.	Alter	zytologische Diagnose	Zytolog. Kategorie	Histologie und Klinik	DNA-Diagnose	Gruppe Tabelle 12	Enddiagnose für analyt. Statistik
90	1191-05	M	51	Pleomorphes Adenom	dringender Verdacht	Chronische Sialadenitis, Fibrose	Diploid	2	Lost for statistics
91	1314-05	W	61	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
92	2604-05	W	73	Adenokarzinom, gering differenziert, Pankreaskarzinommetastase	positiv	Diffuse Metastasierung eines Pankreaskarzinoms, klinisches Follow-up	Aneuploid	9	Lost for statistics
93	4451-05	M	80	gering differenzierter epithelialer Tumor, Adenokarzinom	positiv	Maligner epithelialer Tumor	Aneuploid	9	Karzinom
94	4989-05	M	29	Pleomorphes Adenom	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	1	Adenom
95	6071-05	M	34	Neoplastische Zellen (Tumor unklarer Dignität)	dringender Verdacht	Pleomorphes Adenom	Diploid	4	Adenom
96	7336-05	M	62	Maligner Tumor, Tumorzelltypisierung unklar	positiv	Metastase eines malignen Melanoms	Aneuploid	10	Lost for statistics
97	7987-05	M	57	mäßig differenziertes Adenokarzinom	dringender Verdacht	Maligner epithelialer Tumor	Aneuploid	8	Karzinom
98	8545-05	W	66	Adenom, gut differenziertes Adenokarzinom (unklare Dignität)	positiv	Pleomorphes Adenom	Diploid	5	Adenom

Tabelle 33: Messwerte der DNA-Bildzytometrie

Nr	Eingang Nr	Zytolog. Diagnose	Histologie und Klinik	DNA Diag.	Ref Cells Nr	CV Ref Cells in %	REM Ref Cells in %	2c DI	DNA Mal. Gr.	5c EE	9c EE	Ana. Cells Nr.	Stem Mod Val	Std Dev Stem	CV Stem	Stem Shoul Fract	2,5c Ex Rate	5c Ex Rate	9c Ex Rate
1	4642-95	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	30	3,38	0,62	0,14	0,10	0	0	303	2,19	0,06	2,88	14,19	1,65	0,00	
2	6036-95	Pl. Ad.	---	Polypl.	30	2,24	0,41	0,55	0,34	1	0	304	2,12	0,11	5,22	7,89	9,21	0,33	0
3	6953-95	Pl. Ad.	---	Dipl.	12	1,22	0,35	0,11	0,08	0	0	82	1,91	0,10	5,03	23,17	2,44	0,00	0
4	9197-95	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	30	2,24	0,41	0,11	0,08	0	0	316	2,06	0,06	2,94	31,01	2,22	0,00	0
5	11041-95	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	30	1,51	0,28	0,02	0,01	0	0	311	2,06	0,08	3,87	20,26	0,32	0,00	0
6	13106-95	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	39	4,65	0,74	0,05	0,04	0	0	309	2,09	0,11	5,20	18,45	1,29	0,00	0
7	14659-95	Adeno-Ca	Malig. Tumor	Aneupl.	21	3,03	0,66	3,67	1,57	18	20	250	2,02	5,20		5,20		7,20	1,6
8	14792-95	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Polypl.	30	4,95	0,90	0,84	0,47	4	0	303	2,11	0,16	7,44	9,90	9,57	1,32	0
9	3334-96	Mono. Ad.	Azinuszell-Ca	Dipl.	32	2,88	0,51	0,04	0,03	0	0	316	2,03	0,10	4,83	24,05	1,90	0,00	0
10	9887-96	Pl. Ad.	---	Polypl.	31	1,50	0,27	2,00	0,84	8	2	308	2,00	0,09	4,87	13,64	9,74	2,60	0,65
11	13221-96	Azinuszell-Ca	Azinuszell-Ca	Polypl.	30	2,23	0,41	2,06	0,85	16	0	334	1,99			4,79		4,79	0
12	31720-96	Azinuszell-Ca	Azinuszell-Ca	Dipl.	30	4,40	0,80	0,56	0,34	0	0	358	2,03			13,97		0,00	0
13	945-97	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	8	3,05	1,08	0,10	0,07	0	0	39	1,83	0,09	4,76	12,82	5,13	0,00	0
14	3395-97	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	32	2,94	0,52	0,06	0,04	0	0	307	1,94	0,10	5,19	20,85	0,98	0,00	0
15	3639-97	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	30	2,03	0,37	0,30	0,20	0	0	56	1,95	0,08	3,96	8,39	8,93	0,00	0
16	4515-97	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Polypl.	32	1,02	0,18	4,95	1,36	6	0	332	2,01	0,05	2,41	0,60	97,59	1,81	0
17	10688-97	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	30	3,42	0,62	0,08	0,06	0	0	321	2,17	0,08	3,72	8,41	1,87	0,00	0
18	13476-97	abnorm. Platten- ep. (zw.)	gering diff. Plattenep. Ca	Aneupl.	20	4,74	1,06	28,40	2,58	44	18	78	4,77	0,64	14,00	1,28	94,90	56,4 0	23,1
19	14293-97	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Polypl.	31	1,54	0,28	0,30	0,20	1	0	219	1,97	0,09	4,48	24,66	4,11	0,46	0
20	1740-98	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	30	4,87	0,89	0,31	0,20	0	0	303	2,07	0,10	4,97	17,82	6,60	0,00	0

Nr	Eingangs Nr	Zytolog. Diagnose	Histologie und Klinik	DNA Diag.	Ref Cells Nr	CV Ref Cells in %	REM Ref Cells in %	2c DI	DNA Mal. Gr.	5c EE	9c EE	Ana. Cells Nr.	Stem Mod Val	Std Dev Stem	CV Stem	Stem Shoul Fract	2,5c Ex Rate	5c Ex Rate	9c Ex Rate
21	4833-98	Plattenep. Ca	Plattenep. Ca	Aneupl.	30	4,91	0,89	1,89	1,54	5	1	49	2,32	0,13	5,78	4,08	67,30	10,20	2,04
22	9655-98	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	35	3,91	0,66	0,20	0,14	1	0	307	2,09	0,13	6,30	11,07	5,54	0,33	0
23	11063-98	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	35	4,72	0,80	0,06	0,04	0	0	311	1,88	0,10	5,25	16,72	0,64	0,00	0
24	13022-98	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	30	4,48	0,82	0,09	0,07	0	0	302	1,98	0,11	5,31	19,21	1,99	0,00	0
25	14271-98	Adeno-Ca	Adeno-Ca	Aneupl.	30	4,76	0,87	5,96	1,48	61	3	300	3,35	0,20	5,89	9,33	96,00	20,33	1
26	784-99	Adeno-Ca	Metastase, Melanom	Aneupl.	30	4,51	0,82	11,40	1,92	65	5	314	4,42	0,21	4,90	11,22	98,40	20,83	1,6
27	3165-99	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	30	4,47	0,82	0,10	0,07	0	0	309	1,86	0,11	5,75	16,18	1,62	0,00	0
28	8285-99	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	39	4,58	0,73	0,18	0,13	0	0	322	2,02	0,10	4,76	23,29	4,97	0,00	0
29	9321-99	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	36	4,71	0,79	0,13	0,09	0	0	304	1,97	0,10	5,32	19,41	3,29	0,00	0
30	11037-99	Pl. Ad.	---	Dipl.	34	4,75	0,81	0,06	0,04	0	0	310	2,06	0,08	4,17	9,35	1,29	0,00	0
31	11858-99	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Polyp.	12	2,18	0,63	1,11	0,57	1	0	48	2,14	0,13	6,11	18,75	4,17	2,08	0
32	13658-99	Ca	papill.-zyst. Ca, Azinuszell-Ca	Aneupl.	32	1,95	0,34	2,10	0,86	8	1	301	2,15	0,11	5,25	13,00	14,00	2,67	0,33
33	37-00	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	33	1,22	0,21	0,14	0,10	0	0	56	1,94	0,09	4,46	16,07	3,57	0,00	0
34	868-00	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	31	4,97	0,89	0,06	0,04	0	0	313	1,94	0,13	6,27	17,25	6,07	0,00	0
35	1394-00	Ca (zyst. verändert)	Spinozell. Ca	Aneupl.	30	3,73	0,68	2,58	0,97	22	1	318	1,99	0,16	8,09	4,72	57,23	6,92	0,31
36	1895-00	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	31	4,17	0,75	0,40	0,25	1	0	337	2,13	0,07	3,27	17,21	7,72	0,30	0
37	3744-00	Pl. Ad.	Adenoidzyst. Ca	Dipl.	20	4,28	0,96	0,01	0,01	0	0	311	2,01	0,06	2,93	16,72	0,00	0,00	0
38	3905-00	Pl. Ad., Warthin Tumor	Pl. Ad.	Dipl.	32	4,72	0,83	0,21	0,15	0	0	318	2,12	0,13	6,10	13,21	11,95	0,00	0
39	5296-00	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	30	3,71	0,68	0,47	0,29	1	0	307	2,10	0,11	5,30	22,48	8,47	0,33	0
40	5427-00	Pl. Ad.	---	Dipl.	31	4,84	0,87	0,10	0,07	0	0	311	2,07	0,10	4,87	19,94	2,25	0,00	0

Nr	Eingangs Nr	Zytolog. Diagnose	Histologie und Klinik	DNA Diag.	Ref Cells Nr	CV Ref Cells in %	REM Ref Cells in %	2c DI	DNA Mal. Gr.	5c EE	9c EE	Ana. Cells Nr.	Stem Mod Val	Std Dev Stem	CV Stem	Stem Shoul Fract	2,5c Ex Rate	5c Ex Rate	9c Ex Rate
41	6489-00	Adeno-Ca	Metastasen, Ca	Aneupl.	42	4,08	0,63	4,31	1,27	52	2	306	3,06	0,34	11,27	7,21	87,54	17,05	0,66
42	8761-00	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	30	2,79	0,51	0,06	0,05	0	0	311	2,09	0,10	4,89	28,30	0,64	0,00	0
43	10090-00	Adenom, Adenolymphom	Zystadeno-lymphom	Dipl.	40	4,72	0,75	0,05	0,04	0	0	301	2,10	0,10	4,89	14,29	1,33	0,00	0
44	11034-00	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Polypl.	30	2,60	0,47	0,44	0,28	3	0	302	2,06	0,09	4,23	19,21	6,95	0,99	0
45	11221-00	Pl. Ad.	---	Dipl.	12	2,05	0,59	0,22	0,15	0	0	39	2,01	0,08	4,17	15,38	5,13	0,00	0
46	13328-00	Pl. Ad.	---	Dipl.	5	1,66	0,74	0,10	0,07	0	0	319	2,15	0,06	2,61	12,23	1,57	0,00	0
47	4469-01	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	30	2,53	0,46	0,06	0,05	0	0	300	2,13	0,09	4,37	23,33	1,33	0,00	0
48	5261-01	Pl. Ad.	---	Polypl.	30	1,77	0,32	2,40	0,93	6	0	311	1,93	0,06	3,32	7,07	53,70	1,93	0
49	5708-01	Pl. Ad.	---	Dipl.	25	3,53	0,71	0,03	0,02	0	0	303	2,05	0,07	3,62	15,84	0,33	0,00	0
50	5802-01	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	32	2,94	0,52	0,16	0,11	0	0	306	2,16	0,07	3,43	19,93	4,90	0,00	0
51	6562-01	Pl. Ad.	---	Dipl.	30	2,48	0,45	0,01	0,01	0	0	133	2,03	0,08	4,01	28,57	0,00	0,00	0
52	12012-01	Mukoepid.-Ca	Mukoepid.-Ca	Aneupl.	11	1,31	0,39	7,86	1,66	61	6	299	3,73	0,33	9,12	8,39	91,95	20,47	2,01
53	12258-01	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	7	4,55	1,72	0,10	0,07	0	0	102	1,91	0,10	5,30	14,71	0,00	0,00	0
54	14223-01	Pl. Ad.	---	Dipl.	34	1,56	0,27	0,06	0,04	0	0	302	2,13	0,09	4,09	15,23	0,99	0,00	0
55	14225-01	Pl. Ad.	---	Polypl.	35	1,64	0,28	0,59	0,35	1	0	313	2,12	0,10	4,66	17,57	13,42	0,32	0
56	548-02	Pl. Ad.	---	Dipl.	30	1,53	0,28	0,13	0,09	0	0	251	1,96	0,06	3,11	17,93	3,19	0,00	0
57	2226-02	Pl. Ad.	---	Dipl.	9	2,31	0,77	0,15	0,10	1	0	300	2,07	0,10	4,83	22,67	5,33	0,33	0
58	7764-02	Tu mit Zyst. (unkl. Dig.)	Zyst. benign. Tu	Dipl.	30	2,98	0,54	0,41	0,26	2	0	173	2,15	0,17	7,31	13,29	30,64	1,16	0
59	8837-02	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	30	3,68	0,67	0,08	0,06	0	0	315	2,16	0,08	3,54	5,08	0,00	0,00	0
60	8990-02	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	35	4,97	0,84	0,05	0,03	0	0	304	2,16	0,13	6,40	14,14	0,33	0,00	0
61	9243-02	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	30	4,60	0,84	0,05	0,04	0	0	304	2,02	0,09	4,57	18,75	0,66	0,00	0

Nr	Eingangs Nr	Zytolog. Diagnose	Histologie und Klinik	DNA Diag.	Ref Cells Nr	CV Ref Cells in %	REM Ref Cells in %	2c DI	DNA Mal. Gr.	5c EE	9c EE	Ana. Cells Nr.	Stem Mod Val	Std Dev Stem	CV Stem	Stem Shoul Fract	2,5c Ex Rate	5c Ex Rate	9c Ex Rate
62	9475-02	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	31	4,55	0,82	0,07	0,05	0	0	301	2,04	0,10	4,87	21,26	1,99	0,00	0
63	12416-02	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	30	4,85	0,88	0,14	0,10	0	0	311	1,98	0,09	4,58	13,18	3,54	0,00	0
64	13660-02	Adeno-Ca (Tu unkl. Dig.)	Adeno-Ca	Aneupl.	45	3,66	0,55	2,82	1,02	12	1	319	2,55	0,15	6,08	6,90	64,89	3,76	0,31
65	3398-03	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	33	1,66	0,29	0,02	0,02	0	0	299	1,93	0,11	5,85	19,73	0,00	0,00	0
66	3579-03	Undiff. Ca, Adeno-Ca	Ca	Aneupl.	35	3,92	0,66	8,12	1,69	67	6	300	3,50	0,24	7,05	6,67	84,67	22,33	2
67	3827-03	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Polyp.	31	2,81	0,50	1,57	0,72	6	0	302	2,05	0,10	4,83	16,23	21,52	1,99	0
68	4474-03	Pl. Ad. (malign. Transform.)	Pl. / Mono. Ad. mit Prolif.	Aneupl.	38	2,59	0,42	4,57	1,31	32	5	335	2,97	0,21	6,64	14,60	99,10	9,60	1,5
69	4772-03	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	42	3,84	0,59	0,02	0,02	0	0	320	2,16	0,11	5,18	9,06	0,31	0,00	0
70	5823-03	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Polyp.	30	1,92	0,35	1,58	0,72	10	0	364	1,95	0,05	2,48	7,69	22,80	2,75	0
71	6925-03	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	30	2,27	0,41	0,01	0,01	0	0	68	2,01	0,07	3,55	16,18	1,47	0,00	0
72	7993-03	Pl. Ad.	---	Dipl.	33	3,17	0,55	0,08	0,06	0	0	80	2,10	0,09	4,08	23,75	1,25	0,00	0
73	8007-03	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	37	1,53	0,25	0,07	0,05	0	0	403	2,15	0,10	4,64	16,13	1,24	0,00	0
74	8425-03	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	11	3,40	1,02	0,33	0,22	0	0	200	2,05	0,13	6,48	15,50	9,50	0,00	0
75	8708-03	Tu unkl. Dig.	---	Dipl.	37	3,79	0,62	0,07	0,05	0	0	326	2,04	0,07	3,29	15,03	1,53	0,00	0
76	9127-03	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	30	3,60	0,66	0,12	0,09	0	0	178	2,03	0,05	2,55	16,29	2,81	0,00	0
77	9247-03	Adeno-Ca, Plattenep. Ca	Plattenep. Ca	Aneupl.	30	3,45	0,63	2,46	0,95	13	4	315	2,03	0,16	7,92	10,16	27,30	4,13	1,27
78	12436-03	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	30	2,47	0,45	0,07	0,05	0	0	300	2,05	0,07	3,29	19,00	1,67	0,00	0
79	1216-04	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	31	4,60	0,83	0,03	0,02	0	0	340	1,92	0,06	3,26	24,12	0,59	0,00	0
80	2177-04	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Polyp.	30	1,94	0,35	0,21	0,15	1	0	309	1,86	0,09	4,86	25,57	3,24	0,32	0
81	4202-04	Ad., ggf. Ca (Tu unkl. Dig.)	Pl. Ad., Rezidiv	Polyp.	30	4,48	0,82	4,39	1,29	10	0	307	2,07	0,13	3,28	6,51	96,74	3,26	0

Nr	Eingangs Nr	Zytolog. Diagnose	Histologie und Klinik	DNA Diag.	Ref Cells Nr	CV Ref Cells in %	REM Ref Cells in %	2c DI	DNA Mal. Gr.	5c EE	9c EE	Ana. Cells Nr.	Stem Mod Val	Std Dev Stem	CV Stem	Stem Shoul Fract	2,5c Ex Rate	5c Ex Rate	9c Ex Rate
82	5699-04	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Polypl.	30	2,52	0,46	0,98	0,52	2	1	305	1,94	0,17	8,33	11,80	13,44	0,66	0,33
83	8146-04	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Polypl.	31	2,83	0,51	0,48	0,30	3	0	309	2,04	0,11	5,08	16,83	6,47	0,97	0
84	8147-04	Pl. Ad.	---	Polypl.	30	2,42	0,44	0,50	0,31	0	0	302	2,04	0,11	5,35	18,54	11,92	0,00	0
85	11277-04	Pl. Ad. (unkl. Dig.)	---	Dipl.	30	3,64	0,66	0,43	0,27	0	0	341	1,93	0,09	4,52	22,29	13,20	0,00	0
86	11956-04	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	30	4,82	0,88	0,06	0,04	0	0	327	1,99	0,09	4,36	21,41	0,92	0,00	0
87	11994-04	Pl. Ad.	---	Dipl.	30	3,00	0,55	0,04	0,03	0	0	304	1,96	0,10	4,95	22,37	0,66	0,00	0
88	13076-04	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	30	3,39	0,62	0,04	0,03	0	0	302	1,94	0,12	6,06	19,54	0,33	0,00	0
89	129-05	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Polypl.	30	4,67	0,85	0,15	0,10	0	0	303	1,86	0,09	4,58	26,73	4,29	0,00	0
90	1191-05	Pl. Ad.	Sialadenitis	Dipl.	32	4,21	0,74	0,05	0,03	0	0	300	1,97	0,11	5,43	24,67	0,67	0,00	0
91	1314-05	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	34	3,16	0,54	0,13	0,09	0	0	324	2,08	0,07	3,31	11,73	2,78	0,00	0
92	2604-05	Adeno-Ca, Pankreas-Ca metast.	Metast., Pankreas-Ca	Aneupl.	30	4,87	0,89	23,14	2,43	111	24	206	3,53	0,32	8,48	6,37	99,02	54,41	11,76
93	4451-05	Epithel. Tu, Adeno-Ca	Malig. epithel. Tu	Aneupl.	30	4,33	0,79	2,24	0,90	12	7	300	2,37	0,25	10,83	11,49	26,69	4,05	2,36
94	4989-05	Pl. Ad.	Pl. Ad.	Dipl.	30	2,95	0,54	0,09	0,07	0	0	308	2,13	0,08	3,81	21,10	1,62	0,00	0
95	6071-05	Neopla. Zellen (Tu unkl. Dig.)	Pl. Ad.	Dipl.	31	4,81	0,86	0,05	0,04	0	0	302	1,95	0,12	5,75	15,89	2,32	0,00	0
96	7336-05	Malig. Tu	Metast. malig. Melanoms	Aneupl.	33	1,17	0,20	2,68	0,99	10	3	332	2,40	0,09	3,75	9,34	37,35	3,01	0,9
97	7987-05	mäßig diff. Adeno-Ca	Malig epithel. Tu	Aneupl.	30	3,67	0,67	3,47	1,14	51	1	360	2,04	0,13	6,60	3,33	66,11	14,17	0,28
98	8545-05	Ad., gut diff. Adeno-Ca (unkl. Dig.)	Pl. Ad.	Dipl.	30	2,25	0,41	1,39	0,66	4	0	305	2,00	0,05	2,67	12,13	25,57	1,31	0

Tabelle 34: Einordnung der Fälle in die Vier-Felder-Tafeln deskriptive Statistik

Nr	Vier-Felder-Tafel Zytologie vs Histologie				Vier-Felder-Tafel Zytologie, DNA-Zytometrie vs Histologie				Vier-Felder-Tafel Zytologie, DNA-Zytometrie, Fall 68 vs Histologie			
	rn	fp	fn	rp	rn	fp	fn	rp	rn	fp	fn	rp
1	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
2	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
3	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
4	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
5	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
6	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
7	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X
8	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
9	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o
10	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
11	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
12	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
13	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
14	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
15	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
16	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
17	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
18	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X
19	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
20	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
21	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X
22	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
23	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
24	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
25	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X
26	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X
27	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
28	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
29	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
30	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
31	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
32	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X
33	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
34	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
35	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X
36	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
37	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o
38	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
39	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
40	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
41	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X
42	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
43	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
44	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
45	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
46	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
47	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
48	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
49	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
50	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
51	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
52	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X

Nr	Vier-Felder-Tafel Zytologie vs Histologie				Vier-Felder-Tafel Zytologie, DNA-Zytometrie vs Histologie				Vier-Felder-Tafel Zytologie, DNA-Zytometrie, Fall 68 vs Histologie			
	rn	fp	fn	rp	rn	fp	fn	rp	rn	fp	fn	rp
53	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
54	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
55	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
56	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
57	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
58	o	X	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
59	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
60	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
61	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
62	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
63	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
64	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X
65	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
66	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X
67	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
68	o	X	o	o	o	X	o	o	o	o	o	X
69	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
70	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
71	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
72	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
73	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
74	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
75	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
76	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
77	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X
78	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
79	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
80	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
81	o	X	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
82	X	o	o	o	o	X	o	o	X	o	o	o
83	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
84	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
85	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
86	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
87	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
88	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
89	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
90	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
91	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
92	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X
93	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X
94	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
95	o	X	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
96	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X
97	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X
98	o	X	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
Nr	rn	fp	fn	rp	rn	fp	fn	rp	rn	fp	fn	rp
∑	54	5	2	16	57	2	2	16	58	0	2	17

Tabelle 35: Einordnung der Fälle in die Vier-Felder-Tafeln analytische Statistik

Nr	Vier-Felder-Tafel Stammlinien- modalwerte				Vier-Felder-Tafel 9c Exceeding Events				Vier-Felder-Tafel 5c Exceeding Events				Vier-Felder-Tafel 2c DI				Vier-Felder-Tafel multivariate Analyse alle Parameter			
	rn	fp	fn	rp	rn	fp	fn	rp	rn	fp	fn	rp	rn	fp	fn	rp	rn	fp	fn	rp
1	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
2	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	--	--	--	--	X	o	o	o
3	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	
4	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
5	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
6	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
7	o	o	X	o	o	o	o	⊗	o	o	o	X	--	--	--	--	o	o	o	X
8	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	--	--	--	--	X	o	o	o
9	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	
10	⊗	o	o	o	o	X	o	o	o	o	X	o	--	--	--	--	X	o	o	o
11	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	o	⊗	--	--	--	--	o	o	o	X
12	o	o	X	o	o	o	X	o	o	X	o	o	o	o	o	⊗	o	o	o	X
13	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
14	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
15	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
16	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	--	--	--	--	X	o	o	o
17	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
18	o	o	o	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	--	--	--	--	o	o	o	X
19	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	--	--	--	--	X	o	o	o
20	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
21	o	o	o	⊗	o	o	o	X	o	X	o	o	--	--	--	--	o	o	o	X
22	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	--	--	--	--	X	o	o	o
23	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
24	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
25	o	o	o	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	--	--	--	--	o	o	o	X
26	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	
27	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
28	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
29	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
30	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
31	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	--	--	--	--	X	o	o	o
32	o	o	X	o	o	o	o	⊗	o	o	o	X	--	--	--	--	o	o	o	X
33	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
34	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
35	o	o	X	o	o	o	o	⊗	o	o	o	X	--	--	--	--	o	o	o	X
36	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	--	--	--	--	X	o	o	o
37	o	o	X	o	o	o	X	o	o	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o
38	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
39	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	--	--	--	--	X	o	o	o
40	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
41	o	o	o	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	--	--	--	--	o	o	o	X

Nr	Vier-Felder-Tafel Stammlinien- modalwerte				Vier-Felder-Tafel 9c Exceeding Events				Vier-Felder-Tafel 5c Exceeding Events				Vier-Felder-Tafel 2c DI				Vier-Felder-Tafel multivariate Analyse alle Parameter			
	rn	fp	fn	rp	rn	fp	fn	rp	rn	fp	fn	rp	rn	fp	fn	rp	rn	fp	fn	rp
42	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
43	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
44	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	--	--	--	--	X	o	o	o
45	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
46	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
47	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
48	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	--	--	--	--	X	o	o	o
49	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
50	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
51	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
52	o	o	o	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	--	--	--	--	o	o	o	X
53	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
54	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
55	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	--	--	--	--	X	o	o	o
56	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
57	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	--	--	--	--	X	o	o	o
58	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
59	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
60	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
61	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
62	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
63	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
64	o	o	o	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	--	--	--	--	o	o	o	X
65	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
66	o	o	o	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	--	--	--	--	o	o	o	X
67	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	--	--	--	--	X	o	o	o
68	o	o	o	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	--	--	--	--	o	o	o	X
69	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
70	⊗	o	o	o	X	o	o	o	o	o	X	o	--	--	--	--	X	o	o	o
71	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
72	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
73	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
74	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
75	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
76	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
77	o	o	X	o	o	o	o	⊗	o	o	o	X	--	--	--	--	o	o	o	X
78	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
79	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
80	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	--	--	--	--	X	o	o	o
81	⊗	o	o	o	X	o	o	o	o	o	X	o	--	--	--	--	X	o	o	o
82	⊗	o	o	o	o	X	o	o	X	o	o	o	--	--	--	--	X	o	o	o
83	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	--	--	--	--	X	o	o	o

Nr	Vier-Felder-Tafel Stammlinien-modalwerte				Vier-Felder-Tafel 9c Exceeding Events				Vier-Felder-Tafel 5c Exceeding Events				Vier-Felder-Tafel 2c DI				Vier-Felder-Tafel multivariate Analyse alle Parameter			
	rn	fp	fn	rp	rn	fp	fn	rp	rn	fp	fn	rp	rn	fp	fn	rp	rn	fp	fn	rp
84	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	o	o	X	o	X	o	o	o
85	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	o	o	X	o	X	o	o	o
86	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
87	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
88	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
89	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
90	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
91	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
92	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
93	o	o	o	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	--	--	--	--	o	o	o	X
94	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
95	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o
96	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
97	o	o	X	o	o	o	o	⊗	o	o	o	X	--	--	--	--	o	o	o	X
98	⊗	o	o	o	X	o	o	o	X	o	o	o	--	--	--	--	X	o	o	o
Nr	rn	fp	fn	rp	rn	fp	fn	rp	rn	fp	fn	rp	rn	fp	fn	rp	rn	fp	fn	rp
Σ	72	0	8	9	70	2	3	14	69	3	3	14	50	1	2	1	72	1	0	16

In Tabelle 35 sind folgende Vier-Felder-Tafeln aufgeführt:

- Vier-Felder-Tafel zur Gegenüberstellung von Diagnoseergebnissen aus Zytologie versus Histologie von Speicheldrüsentumoren
- Vier-Felder-Tafel Stammlinienmodalwerte
- Vier-Felder-Tafel 9c Exceeding Events
- Vier-Felder-Tafel 5c Exceeding Events
- Vier-Felder-Tafel 2c Deviation Index
- Vier-Felder-Tafel DNA-Zytometrie

Alle untersuchten Fälle wurden entsprechend des untersuchten Parameters in die Felder aufgeteilt. Die Zuordnung wurde durch ein ‚x‘ gekennzeichnet. Der relevante Parameter für die endgültige DNA-zytometrische Diagnose wurde durch ein ‚⊗‘ gekennzeichnet.

Markenrechtlicher Hinweis

Die in dieser Arbeit wiedergegebenen **Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenzeichen** usw. können auch ohne besondere **Kennzeichnung** geschützte Marken sein und als solche gesetzlichen Bestimmungen unterliegen.

Sämtliche in dieser Arbeit abgedruckten Screenshots unterliegen dem **Urheberrecht** © des jeweiligen Herstellers.

12 DANKSAGUNG

Meine besondere Dankbarkeit gilt Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Alfred Böcking, Direktor des Institutes für Cytopathologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, für die Überlassung dieses interessanten Dissertationsthemas sowie für seine anhaltend freundliche, kompetente Beratung und seine engagierte Förderung und Motivation.

Ebenso gebührt mein Dank Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Jörg Schipper, Direktor der Hals-, Nasen- und Ohrenklinik für seine Bereitschaft das Korreferat zu übernehmen.

Für die fachliche Begleitung im gesamten Bereich der DNA-Zytometrie bedanke ich mich ganz herzlich bei Frau Dr. med. Natalia Pomjanski, Oberärztin und stellvertretende Institutsleiterin.

Weiterhin danke ich Herrn Prof. Dr. med. Uwe Ganzer von der Hals-Nasen-Ohren Klinik der HHU Düsseldorf und Herrn Prof. Dr. med. Adam Kurzeja vom Evangelischen Krankenhaus Düsseldorf, für die entgegenkommende, klinische Betreuung.

Für die freundlichen, hilfreichen Anregungen, wertvollen Vorschläge, wissenschaftliche Betreuung, fachliche Unterstützung während der Ausarbeitung und Fertigstellung der Arbeit möchte ich bei Herrn Dr. med. Martin Schramm, Institut für Cytopathologie, Dr. Alexandre S. C. Onofre, Aracaju, Sergipe, Brasilien und Dr. med. Murat Bas, Klinikum rechts der Isar der TU München, meinen umfassenden Dank aussprechen.

Ich möchte mich generell bei allen Mitarbeitern des Institutes für Cytopathologie bedanken, insbesondere bei Frau Birgit Buckstegge für die technische Vorbereitung und Färbung der Präparate und bei Frau Maike Hellmann, Eleonore Schumann und Birgit Hotze als Ansprechpartnerinnen für sämtliche verwaltungstechnische Angelegenheiten.

Mein persönlicher Dank gilt Bettina Scharnbeck, Dipl. Ing. M.Sc., Roche Diagnostics GmbH Penzberg, die mich bei der statistischen Ausarbeitung der Messdaten und der Korrektur der Arbeit erfolgreich unterstützt und geduldig und unermüdlich im versierten Umgang mit EDV-Technologien betreut hat.

Für die gegenseitige Unterstützung und Motivation und die zahlreichen konstruktiven Diskussionen möchte ich meinem Studienfreund Herrn Besnik Kurtaj Dankeschön sagen.

Besonderen Dank möchte ich meiner Schwester Tanja Stupar und meiner jüngst verstorbenen Mutter Margret Stupar aussprechen, die mir während der Zeit der Erstellung der Arbeit immer unterstützend zur Seite standen.

Meinem ehemaligen Chef, Herrn Dr. med. dent. Wilhelm Dicks und meinem Chef, Herrn Dr. med. dent. Achim Kneuertz möchte ich dafür danken, dass sie es mir ermöglicht haben, meine Dissertation neben der Ausübung meiner zahnärztlichen Tätigkeit fertigzustellen.

Zum Abschluss möchte ich mich bei allen weiteren Freunden, Kollegen und Mitarbeitern bedanken, die mich bei der Fertigstellung dieser Arbeit unterstützt haben.

13 CURRICULUM VITAE

Name	Oliver Stupar
Geboren	10. März 1972 in Düsseldorf
Staatsangehörigkeit	deutsch
Familienstand	ledig
Schulbildung	
1979 - 1983	Grundschule Düsseldorf – Gerresheim
1983 - 1991	Gymnasium Gerresheim am Poth
Juni 1991	Allgemeine Hochschulreife (Abitur)
Studium	
WS 1991/1992	Studium der Humanmedizin Universität Homburg /Saar
Juli 1995	Ärztliche Vorprüfung
WS 1996/1997	Studium der Zahnmedizin Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
September 1998	Zahnärztliche Vorprüfung, erster Teil
September 1999	Zahnärztliche Vorprüfung, zweiter Teil
November 2004	Staatsexamen Zahnmedizin
Dezember 2004	Approbation als Zahnarzt
Zahnärztliche Tätigkeit	
Dez 2005 bis März 2009	Assistenz Zahnarzt Praxis Dr. W. Dicks, Weeze
seit Mai 2009	Angestellter Zahnarzt Praxis Dr. Kneuert, Solingen

Abstract

Die DNA-Bildzytometrie ist eine Untersuchungsmethode zur quantitativen Messung der Chromosomen in Zellkernen mittels computergestützter, digitaler Bildanalyse.

Der Nachweis von Störungen des DNA-Gehaltes (chromosomale Aneuploidie) ist ein Marker für neoplastische Transformationen von Zellen. Die angewendete DNA-Bildzytometrie bietet neben dem Nachweis einer Stammlinienaneuploidie die Möglichkeit zur Einzelzellinterpretation und damit auch den Nachweis von Einzelzellaneuploidie.

In der vorliegenden Arbeit wurden mittels der DNA-Bildzytometrie insgesamt 98 Speicheldrüsentumoren untersucht, um Einblick in deren DNA-Verteilung zu gewinnen und die Qualität dieser Untersuchungsmethode zu bewerten. Die Studie wurde mit deskriptiver und analytischer Statistik beschrieben und ausgewertet.

Die deskriptive Statistik dieser Studie bestätigt der Zytologie eine Sensitivität von 88,9% und eine Spezifität von 91,5%. Der Einsatz der DNA-Bildzytometrie auf FNABn der Speicheldrüse verbessert die Diagnosegenauigkeit mit einer Sensitivität von 89,5% und einer Spezifität von 100%.

In der analytischen Statistik wurden Messparameter der DNA-Bildzytometrie zunächst einzeln untersucht und abschließend gemeinsam ausgewertet.

Die Ergebnisse der DNA-zytometrischen Messung zeigen, dass Stammlinienmodalwerte alleine betrachtet keine überzeugende Differenzierung zwischen pleomorphen Adenomen und Karzinomen zulassen, in Kombination mit Indikatoren der Einzelzellaneuploidie die Treffsicherheit deutlich erhöhen (Sensitivität: 94,1%, Spezifität: 100%).

Grundsätzlich konnte gezeigt werden, dass pleomorphe Adenome euploid, Speicheldrüsenkarzinome dagegen vorwiegend aneuploid sind. Eine Ausnahme bilden hochdifferenzierte Azinuszellkarzinome und Adenoidzystische Karzinome mit einer euploiden DNA-Verteilung.

Zusammenfassend präsentiert sich die DNA-Bildzytometrie als sensitives, reproduzierbares Diagnoseverfahren, das die Ergebnisse der Zytologie absichern und die Einordnung der Dignität bei Speicheldrüsentumoren in der präoperativen Planung erhöhen kann.