

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

Leiterin: Univ.-Prof. Dr. med. Irene Esposito

**Stellenwert der TTF-1- und der Napsin A-Immunzytochemie
in der zytologischen Diagnostik primärer Lungenkarzinome**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Christina Dickel

2026

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

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker
1. Gutachter: Prof. Dr. med. Stefan Biesterfeld
2. Gutachter: Prof. Dr. med. Ulrich Germing

Tag der Promotion: 08. September 2026

**Gewidmet meinen Eltern, meinem Mann Arne und unseren Kindern
Alessandra, Leo und Vincent. Danke für eure Liebe, eure Geduld und
eure unermüdliche Unterstützung.**

Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Studie war es, die diagnostische Aussagekraft der immunzytochemischen Marker TTF-1 und Napsin A in der zytologischen Diagnostik primärer Lungenkarzinome zu untersuchen und deren mögliche komplementäre diagnostische Bedeutung zu evaluieren.

Hierzu wurden 251 zytologische Proben aus 238 Patienten aus dem Zeitraum Juli 2011 bis Januar 2013 retrospektiv analysiert. Das untersuchte Material bestand überwiegend aus Ergusszytologien (116/251), gefolgt von Lungenproben (81/251) sowie Lymphknotenpunktaten (44/251). In einzelnen Fällen stammte das Material aus Leber-, Nebennieren- oder Pankreasläsionen.

Unter den untersuchten Fällen befanden sich 151 Adenokarzinome der Lunge. Der Marker TTF-1 war in 113 dieser 151 Fälle (74,8%) positiv, während Napsin A in 108 Fällen (71,5%) exprimiert wurde. Bei den 162 nicht-plattenepithelialen Lungenkarzinomen lag die Positivität für TTF-1 bei 71,0% (115/162) und für Napsin A bei 68,5% (111/162).

Zwischen der Expression von TTF-1 und Napsin A bestand über alle 251 Fälle hinweg eine hochsignifikante Korrelation: In 210 Fällen (83,7 %) waren beide Marker übereinstimmend positiv oder negativ, in den übrigen 41 Fällen (16,3 %) reagierten sie nicht gleichgerichtet.

Durch die kombinierte Anwendung beider Marker konnte die Sensitivität für den Nachweis pulmonaler Adenokarzinome auf bis zu 86,1% gesteigert werden. Die Ergebnisse zeigen, dass TTF-1 und Napsin A zuverlässige immunzytochemische Marker in der zytologischen Diagnostik primärer Lungenkarzinome darstellen und sich insbesondere in Kombination sinnvoll ergänzen.

Summary

The aim of this study was to evaluate the diagnostic performance of the immunocytochemical markers TTF-1 and Napsin A in the cytological diagnosis of primary lung carcinomas and to assess their potential complementary diagnostic value.

A total of 251 cytological specimens from 238 patients, collected between July 2011 and January 2013, were retrospectively analyzed. The majority of samples consisted of effusion cytology specimens (116/251), followed by lung samples (81/251) and lymph node specimens (44/251). In a small number of cases, the material originated from liver, adrenal gland, or pancreatic lesions.

Among the analyzed cases, 151 lung adenocarcinomas were identified. TTF-1 expression was observed in 113 of these 151 cases (74.8%), whereas Napsin A was positive in 108 cases (71.5%). Among 162 non-squamous lung carcinomas, TTF-1 positivity was detected in 71.0% (115/162) and Napsin A positivity in 68.5% (111/162).

The expression of TTF-1 and Napsin A showed a highly significant correlation across all 251 cases: in 210 cases (83.7%), both markers were concordantly positive or negative, whereas in the remaining 41 cases (16.3%) their results were discordant.

The combined use of both markers increased the sensitivity for the detection of pulmonary adenocarcinomas to up to 86.1%. These findings demonstrate that TTF-1 and Napsin A are reliable immunocytochemical markers in the cytological diagnosis of primary lung carcinomas, particularly when applied in combination.

Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
µm	Mikrometer
Abb.	Abbildung
ABC-Methode	Avidin-Biotin-Komplex
AI	Artificial Intelligence
AK	Antikörper
Aqua dest. / A. dest.	Destilliertes Wasser
BAP-1	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
BAL	broncho-alveoläre Lavage
BerEP4	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
B-Zellen	eine bestimmte lymphatische Population
ca.	circa
Ca.	Karzinom
Calretinin	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
CA125	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
CD56	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
cdx-2	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
CEA	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
Chromogranin	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
CK5/6	ein Antikörpermix für Immunhistochemie/-zytochemie
CK7	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
CK20	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
COPD	Chronisch-obstruktive Lungenerkrankung
CT	Computertomographie
CUP	Cancer of unknown primary (site)
Dako	Hersteller laborchemischer Produkte
dc-pathos	Bezeichnung der Datenbank der Cytopathologie
dc-systeme	Hersteller / Betreiber von dc-pathos
d.h.	das heißt
DGHO	Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und medizinische Onkologie
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EpCAM	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
ER	Östrogenrezeptor
Erg.	Ergüsse

FNP	Feinnadelpunktion
GATA-3	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
GBA	Gemeinsamer Bundesausschuss
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
HEA-125	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
HE-Färbung	Hämatoxylin-Eosin-Färbung
Her-2/neu	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
HNO	Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde
HPV	Humanes Papillom-Virus
HTG	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
ICD-0	International Classification of Diseases (Oncology)
ICD-M	International Classification of Diseases (Morphology)
kDa	Kilodalton
Ki-67	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
Le.	Leber
Lk.	Lymphknoten
Lu.	Lunge
Lt.	Laut, gemäß
M	Morbus
MGG-Färbung	May-Grünwald-Giemsa-Färbung
MG-Lösung	May-Grünwald-Lösung
MKG	Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie
Min.	Minuten
ml	Milliliter
MLH1	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
MSH2	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
MSH6	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
MRT	Magnetresonanztomographie
MSI	Mikrosatelliten-instabil
MSS	Mikrosatelliten-stabil
mSv	Millisievert
MTA	medizinisch-technische/r Assistent/-in
MW	Mittelwert
n	Zahl der Fälle
n.a.	nicht angegeben
NAPSA-Gen	Gen, das für das Enzym Napsin A kodiert
Napsin A	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
NCBI	National Center for Biotechnology Information

NH ₂ OH	Hydroxylamin, Oxyammoniak
NN	Nebenniere
NKX2-1-Gen	Gen zur Steuerung der Organogenese
NOS	not otherwise specified, nicht anderweitig spezifiziert
NSCLC	Non small cell lung cancer, nicht-kleinzelliges Lungenkarzinom
OP-Berichte	Operationsbericht
Pan	Pankreas
p16	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
p40	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
p53	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
p63	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
ΔNp63	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
TAp63	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
PAP-Färbung	Papanicolaou-Färbung
PAS	Perjodsäure-Schiff-Reagenz-Färbung
PAS-D	Diastase-resistente Perjodsäure-Schiffreagenz-Färbung
PAX-8	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
PBS-Puffer	Phosphatpuffer
PD-L1	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
PE	Perikardpunktat
pH	<i>pondus hydrogenii</i> , Einheit des Säure-/Basegehaltes von Lösungen („pH-Wert“)
pM1a	bestimmtes Stadium der TNM-Klassifikation
PMS2	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
PP	Pleurapunktat
PPV	positiver Prädiktionswert
PR	Progesteronrezeptor
PRAME	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
PSA	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
RF	Raumforderung
RH	Rundherd
RKI	Robert-Koch-Institut
SCLC	Small-cell Lung Cancer, kleinzelliges Lungenkarzinom
SD	Standardabweichung
SEER-Daten	Surveillance, Epidemiology, and End Results
Sec.	Sekunden
SMARCA4-Tumor	eine bestimmte Form von Lungentumoren

Sog.	sogenannt
SOP	<i>Standard Operating Procedure</i>
SOX-10	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
Synaptophysin	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
Tab.	Tabelle
Thyreoglobulin	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
TMA	Tissue microarrays
TNM-Klassifikation	Klassifikation der Stadieneinteilung für maligne Tumoren
TRPS1	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
TTF-1	ein Antikörper für Immunhistochemie/-zytochemie
UKD	Universitätsklinikum Düsseldorf
V.a.	Verdacht auf
Vgl.	Vergleiche
vs.	gegen (= im Vergleich zu)
WHO	World Health Organisation
x	Variable für die Vergrößerung eines Objektivs
z.B.	zum Beispiel

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Epidemiologie und Ätiologie der Bronchialkarzinome	1
1.2	Klinische Grundlagen der Bronchialkarzinome	5
1.3	Morphologische Grundlagen von Karzinomen in der Lunge und der Pleurahöhle	7
1.3.1	Formen der Bronchialkarzinome nach WHO-Klassifikation	7
1.3.2	Hauptformen von Lungenmetastasen	10
1.3.3	Tumorabsiedlungen in der Pleurahöhle	12
1.3.4	Andere Tumorabsiedlungen	13
1.4	Zytologische Tumordiagnostik	14
1.4.1	Zytologische Kriterien zur Tumorzellerkennung	14
1.4.2	Immunzytochemische Methoden zur Tumortypisierung	15
1.5	Wichtige Antikörper in der immunzytochemischen Differentialdiagnostik primärer Lungenkarzinome	16
1.5.1	Immunzytochemische Diagnostik von pulmonalen Adenokarzinomen	17
1.5.2	Immunzytochemische Diagnostik von pulmonalen Plattenepithelkarzinomen	20
1.5.3	Immunzytochemische Diagnostik von kleinzellig-neuroendokrinen Lungenkarzinomen	21
1.5.4	Immunzytochemische Diagnostik von extrapulmonal entstandenen Karzinomen und Mesotheliomen	22
2	Ziel der Untersuchung und Ethikvotum	25
2.1	Ziel der Untersuchung	25
2.2	Ethikvotum	26

3 Material und Methoden 27

3.1	Patientenkollektiv	27
3.1.1	Einschlusskriterien und Fallauswahl	27
3.1.2	Ausschluss von Fällen aus der Studie	28
3.1.3	Umgang mit Mehrfacheinsendungen	28
3.1.4	Endgültiges Patientenkollektiv	29
3.1.5	Alters- und Geschlechtsverteilung	30
3.2	Arbeitsschritte der zytologischen Routinediagnostik	31
3.2.1	Herstellung der Präparate	31
3.2.2	Routinefärbungen in der zytologischen Diagnostik	33
3.2.2.1	Papanicolaou-Färbung	33
3.2.2.2	May-Grünwald-Giemsa-Färbung	35
3.2.3	Diagnostische Klassifikation in der Routinediagnostik	36
3.2.4	Zytologische Malignitätskriterien	37
3.2.5	Tumortypisierung in der Routinediagnostik	38
3.2.6	Ergänzende Tumortypisierung durch Immunzytochemie	38
3.3	Statistische Auswertung	45

4 Ergebnisse 46

4.1	Enddiagnosen der Patienten	46
4.2	Entitäten-bezogene Altersverteilung der Patienten	49
4.3	Diagnostische Auswertung der Immunzytochemie	50
4.3.1	Eingesetzte immunzytochemische Marker	50
4.3.2	TTF-1- und Napsin A-Immunzytochemie in der Diagnostik von Adenokarzinomen der Lunge: Qualitative Auswertung	52

4.3.2.1	Diagnostische Aussagekraft von TTF-1 und Napsin A als singuläre immunzytochemische Marker	52
4.3.2.2	Korrelation der TTF-1- und der Napsin A-Expression	53
4.3.2.3	Ergänzende diagnostische Aussagekraft von Napsin A zum Goldstandard TTF-1	56
4.3.3	TTF-1- und Napsin A-Immunzytochemie in der Diagnostik von Adeno- karzinomen der Lunge: Quantitative Aspekte	57
4.3.4	Ergänzung von TTF-1 und Napsin A durch p63 zur Abgrenzung von Plattenepithelkarzinomen	59
4.3.5	Ergänzung von TTF-1 und Napsin A durch das Markerpanel zur Erkennung anderweitig entstandener Adenokarzinome	60
4.4	Falldokumentationen der TTF-1- und Napsin A-positiven Malignome, die nicht zu den Adenokarzinomen der Lunge bzw. den nicht plattenepithe- lialen Lungenkarzinomen gehörten	60
4.5	Falldokumentationen der 13 Patienten, die mit zwei Proben in der Studie vertreten sind	62
5	Diskussion	65
5.1	Die Pathologie als zentrales Fach der Tumordiagnostik	65
5.2	Morphologie und Immunhistochemie als wesentliche Standbeine der Lungentumordiagnostik	66
5.3	TTF-1 und Napsin A in der vergleichenden Anwendung: Kritische Wertung der eigenen Studie	68
5.3.1	Stand der Literatur zur Zeit der Studienplanung	68
5.3.2	Beurteilung der eigenen Studienergebnisse	70
5.4	Neuere Entwicklungen in der Immunhistochemie und Immunzytochemie	76
5.5	Ausblick: Kommende Entwicklungen in der Zytopathologie	80
6	Literatur	84

1 Einleitung

1.1 Epidemiologie und Ätiologie der Bronchialkarzinome

Maligne epitheliale Primärtumoren der Lunge, als Bronchialkarzinom oder Lungenkarzinom bezeichnet, sind bis heute weltweit eine sehr häufige Ursache tödlich verlaufender krebsbedingter Erkrankungen, auch in Deutschland (RKI 2025). Abzugrenzen wären sie von Lungenmetastasen von Primärtumoren anderer Organe sowie von nicht-epithelialen Tumoren, die in der Lunge entstanden oder in sie metastasiert sind, also z.B. Sarkomen, malignen Melanomen oder Lymphomen.

Als diese Arbeit konzipiert wurde, lagen vom Robert-Koch-Institut die Zahlen für 2010 vor; seinerzeit erkrankten ca. 52.000 Menschen in Deutschland neu an einem Bronchialkarzinom. Heute verfügen wir über die Zahlen für 2023, welche mehr als 58.000 Neuerkrankungen ausweisen (Tab. 1).

	2010		2023	
	Männer	Frauen	Männer	Frauen
Neuerkrankungen	35.040	17.030	33.490	24.850
Standardisierte Erkrankungsrate	60,7	26,5	49,4	33,1
Sterbefälle	29.381	13.627	26.614	18.349
Standardisierte Sterberate	49,9	19,8	37,7	22,6
5-Jahres-Prävalenz	49.000	27.100	56.800	48.400
Relatives 5- (bzw. 10-) Jahres-Überleben	16% (n.a.)	21% (n.a.)	19% (13%)	25% (18%)

Tab. 1: Statistische Kenndaten des Robert-Koch-Institutes zum Bronchialkarzinom im Vergleich der Jahre 2010 und 2023 (letzter verfügbare Daten) (RKI 2013, RKI 2025); n.a. = nicht angegeben

Die Zahlen zeigen im Vergleich für Männer eine leicht sinkende Inzidenz, während sie bei Frauen deutlich angestiegen ist. Die Prognose ist dabei, obwohl Frauen etwas häufiger überleben, bei beiden Geschlechtern nach wie vor sehr schlecht: Die Zahlen zeigen, dass im Vergleich zu einer ähnlichen Alterskohorte, deren Überleben ja als 100% gesetzt ist („relatives Überleben“), trotz aller Bemühungen der modernen Medizin die ganz große Mehrzahl der Patienten innerhalb von 5 bis 10 Jahren versterben. Aktuell stellen Bronchialkarzinome bei Männern und Frauen in der Inzidenzstatistik 12,1% bzw. 10,3% der Fälle unter allen malignen Tumoren, in der Mortalitätsstatistik aber 21,6% und 17,3% (RKI 2025). Nur Patienten mit ZNS-Tumoren, Karzinomen des Oberbauches (Leber, Gallenwege, Gallenblase, Pankreas) und mit malignen Mesotheliomen schneiden prognostisch schlechter ab (Abb. 1) (RKI 2025).

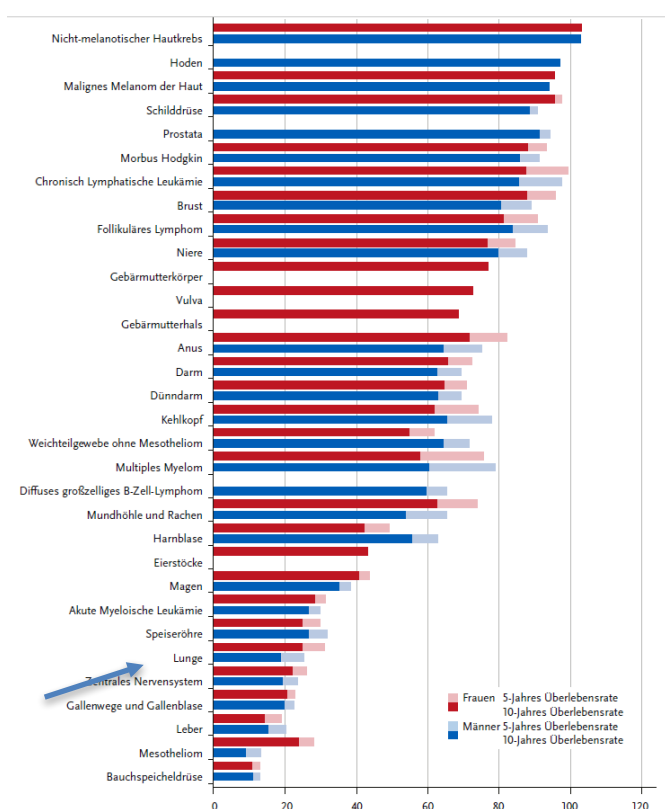


Abb. 1¹: Tumorprognostik in Deutschland 2021-2023 (RKI 2025, modifizierte Darstellung). Die Gesamtabbildung zeigt, ohne dass man bei der kleinen Wiedergabe Details erkennen muss, wie weit unten die Lungenkarzinome in der Tumorstatistik stehen (siehe unsererseits angebrachten Pfeil).

¹

Die Grafik ist lt. Angaben bei (RKI 2025) lizenziert unter einer [Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), siehe <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>, und kann daher frei verwendet werden.

Die Ursachen von Bronchialkarzinomen sind zwar verschieden, jedoch stellt das größte Risiko mit ca. 85% das inhalative Zigarettenrauchen dar (American Cancer Society 2019), bedingt durch die im Kondensat vorhandenen multiplen kanzerogenen Substanzen. Gleiche Zahlen (90% bei Männern, 80% bei Frauen) gibt auch das Robert-Koch-Institut aktuell an (RKI 2025). Von den ca. 7000 Chemikalien, die im Tabakrauch identifiziert sind, gelten ca. 70 als kanzerogen (Hiscock et al. 2012). Beeinflussende Faktoren sind die Dauer sowie die Anzahl der gerauchten Zigaretten pro Tag und auch das Einstiegsalter, durch die jeweils das Krebsrisiko signifikant erhöht wird. Die Zahl gerauchter Zigaretten wird im klinischen Alltag oft über den Begriff der Packungsjahre („*pack years*“) ausgedrückt, wobei ein Packungsjahr einem Jahr entspricht, in dem ein Packung Zigaretten von ca. 20 Stück täglich konsumiert wurde. Im Vergleich zum Risiko eines Nichtraucher steigt das Risiko eines langjährigen Rauchers um bis zum Faktor 24 an (Simonato et al. 2001).

Entsprechend geht der Anstieg der Tumorinzidenz auch bei Frauen allgemein anerkannt auf die seit den 60er- bzw. 70er Jahren steigenden Zahlen von Raucherinnen zurück. Andererseits erkranken nur ca. 10%-20% der Raucher im Laufe ihres Lebens an einem Bronchialkarzinom (DGHO 2025), die Ursachen hierfür sind bislang noch kaum bekannt. Fest steht wohl, dass in den Basalzellen der Bronchien Effekte von Mutationen kumulieren und dass bei Rauchern mehr Mutationen vorliegen als bei Nichtrauchern (Huang et al. 2022). Inwieweit diejenigen Raucher, die kein Karzinom bekommen, eine höhere Resilienz gegenüber Folgen der Mutationen haben und wie diese zustande kommt, z.B. durch individuell genetisch verschiedene Möglichkeiten zu einer wirksamen DNA-Reparatur, ist noch Gegenstand der wissenschaftlichen Forschung. Ziel dabei ist, unter den Rauchern die high-risk-Patienten zur Entwicklung eines Lungenkarzinoms zu ermitteln, beispielsweise über die Etablierung von epigenetischen Methylierungsmarkern (Bhardwaj et al. 2023).

Andere Faktoren, wie die berufliche Exposition bestimmter Stoffe (Asbest, Arsen, Radon), das Passivrauchen, Luftverunreinigung sowie genetische Faktoren, die im Zusammenhang mit der Entstehung eines Bronchialkarzinoms stehen, sind heute

ebenfalls wissenschaftlich ausreichend als auslösend belegt, stellen aber nur eine vergleichsweise geringe Zahl von Fällen (DGHO 2025).

Ein neuerer Review von Schabath und Cote (2019) fasst die bekannten Daten, die dort mit Quellen unterlegt sind, tabellarisch zusammen (Tab. 2). Da sie aus verschiedenen Arbeiten stammen, sind die erhöhten Risiken mal als Vielfaches, mal als prozentuale Erhöhung angegeben.

Risikofaktor	Erhöhung des Risikos auf ein Vielfaches bzw. um %
* Zigarettenrauchen	20-fach
Rauchen von Zigarren, Pfeifen oder Wasserpfeifen	1,9- bis 4,6-fach
** COPD, Emphysem oder chronische Bronchitis	2- bis 3-fach
** Chlamydia pneumoniae	1,2- bis 2,4-fach
HIV-Infektion	2-fach
** Tuberkulose	48% - 76%
** Pneumonie	30% - 57%
** Asthma	28% - 44%
Radon	14% - 29%
* Passivrauchen	25% - 28%
Asbest	12% - 24%
E-Rauchen und Cannabis	Aktuell nicht belegt („ <i>presently unknown</i> “)

Tab. 2: Erhöhung des Risikos zur Entwicklung eines Bronchialkarzinoms, modifiziert nach einem Review von Schabath und Cote (2019) und hier nach absteigendem Risiko angeordnet. * = Angegebene Vergleichsgruppe: Nie-Raucher. ** = Anamnestisches Auftreten („*History of*“). Kursiv in Tabelle und Legende: Originaltext der Tabelle im Review. Bei den Vielfachangaben muss man sich klarmachen, dass sie als Prozentangabe 100-mal höher anzugeben wären. Ein 20-fach höheres Risiko entspricht einer Erhöhung um 2000%.

Die Darstellung bezieht dabei auch internistische und infektiologische Erkrankungen mit ein, wobei aber darauf hingewiesen werden sollte, dass deren Auftreten zum Teil auch mit inhalativem Zigarettenrauchen in kausalem bzw. belegt ko-inzidentellem Zusammenhang steht. Dies gilt bekanntermaßen mindestens für COPD, Lungenemphysem, chronische Bronchitis und Asthma, so dass sich sicher die Frage stellt, inwieweit hier Epiphänomene, nicht hingegen Kausalitäten vorliegen könnten. In dem Review wird hierauf auch unter Darstellung der aktuellen Quellenlage breit eingegangen.

1.2 Klinische Grundlagen der Bronchialkarzinome

Frühsymptome eines Bronchialkarzinoms gibt es nicht. Klinisch leiden viele Patienten allerdings an einem wenig produktiven Husten, der bei Rauchern auch als „Raucherhusten“ bezeichnet wird und im Grunde zwar charakteristisch, aber unspezifisch ist.

Ebenso existierte bislang keine allgemeine Früherkennung, anders als es diese beispielsweise für Tumorerkrankungen der Haut, des Kolorektums oder der Cervix uteri im Rahmen von Vorsorgeprogrammen seit längerem gibt. Im Juni 2025 wurde vom Gemeinsamen Bundesausschuss aktuell aber die Einführung eines Vorsorgeprogramms zur Lungenkrebs-Früherkennung für die Hochrisikogruppe starker Raucherinnen und Rauchern beschlossen, das voraussichtlich ab April 2026 genutzt werden kann (GBA 2025, Bundesanzeiger 2025). Teilnehmen können dann Raucher oder Ex-Raucher zwischen 50 und 75 Jahren Alter, die mindestens 25 Jahre rauchen oder geraucht haben und mindestens 15 Packungsjahre aufweisen; Ex-Raucher müssen vor < 10 Jahren mit dem Rauchen aufgehört haben. Diesen Patienten wird jetzt ein jährliches low-dose-CT angeboten.

Bildgebendes Ziel ist die Detektion verdächtiger pulmonaler Rundherde in einer Hochrisiko-Situation, welche dann weiter abgeklärt werden müssten (aktuelle Übersicht bei Glandorf und Vogel-Claussen 2024). Als Zufallsbefund treten sie in Röntgenreihenuntersuchungen zwar nur selten auf, werden aber im Rahmen des neuen Vorsorgeprogramms gewiss viel häufiger sein. Ihr Durchmesser ist insgesamt variabel, ebenso die Binnenkonsistenz; neben homogen gestalteten Rundherden

können auf Inhomogenitäten wie Verknorpelungen, Verkalkungen oder Erweichungen auftreten, aus denen häufig bereits Anhaltspunkte über den Charakter des Rundherdes gewonnen werden können.

Älteren Zahlen zufolge, zusammengefasst von Ost und Fein (2000), schwankten die Angaben zur Malignität pulmonaler Rundherde deutlich und reichten von 10% bis 68%, waren also kaum zu vereinheitlichen. Unter ihnen befinden sich in erster Linie Lungenkarzinome, aber auch die nicht seltenen Lungenmetastasen anderweitiger Primärtumoren. Neuere Zahlen deuten darauf hin, dass durch die steigende Zahl von CT-Untersuchungen des Thoraxraumes (von 15,4 auf 20,7 pro 1000 Personenjahre, Faktor 1,34) überdurchschnittlich mehr Rundherde identifiziert wurden (von 3,9 auf 6,6 pro 1000 Personenjahre, Faktor 1,69) - dabei ergab sich für bildgebend maligne Rundherde keine Steigerung, so dass die Zunahme an Fällen auf gutartige Prozesse zurückgeführt wurde (Gould et al. 2015). Inzwischen werden Werte für Gutartigkeit von bis zu 95% angegeben (Mazzone und Lam 2022).

Konsens in der klinischen Medizin ist, dass der Ursache einer pulmonalen Raumforderung im Kontext von Patientenalter, Anamnese, bildgebendem und sonstigem klinischen Befund nachgegangen werden muss. In einigen Fällen kann abwartend vorgegangen werden und nach einem gewissen Zeitintervall bildgebend kontrolliert werden, insbesondere wenn man klinisch und radiologisch die Veränderung für eher entzündlich oder anderweitig reaktiv hält. Bei den meisten Fällen aber wird auch eine maligne Diagnose in Betracht gezogen werden müssen, was üblicherweise die Frage nach einer morphologischen Abklärung durch

- eine Biopsie für die Histologie oder
- durch die Gewinnung von Bronchialsekret, Lavageflüssigkeit oder von Bürstenabstrichen für die Zytologie stellen lässt.

Hierbei sollte zeitlich zügig vorgegangen werden, damit die Behandlung einer eventuellen Läsion malignen Ursprungs ohne Verzögerung begonnen werden kann; anders herum betrachtet dürfte die Zuordnung zu einer benignen Läsion dabei helfen, operative Eingriffe zu vermeiden oder wenigstens klein zu halten.

1.3 Morphologische Grundlagen von Karzinomen in der Lunge und der Pleurahöhle

Die vorliegende Arbeit befasst sich ausschließlich mit manifest malignen epithelialen Läsionen in der Lunge, abgesehen von vereinzelt malignen Mesotheliomen, auf die unten eingegangen wird. Daher wird im Folgenden weder für die Histologie, noch für die Zytologie erläutert, wie man benigne von malignen Läsionen abgrenzt. Ebenso wird nicht *en detail* behandelt, wie differentialdiagnostisch Karzinome von malignen Lymphomen, Melanomen, Sarkomen oder seltenen weiteren Tumoren unterschieden werden, abgesehen von Notwendigkeiten in Einzelfällen des in der Arbeit analysierten Tumormaterials. Dies vorausgesetzt, verbleiben die beiden Hauptgruppen der primären, also von lungeneigenen Zellen ausgehenden Bronchialkarzinome (Synonym: Lungenkarzinome) und der Lungenmetastasen, also Absiedlungen von Karzinomen, die anderweitig entstanden sind.

1.3.1 Formen der Bronchialkarzinome nach WHO-Klassifikation

Die aktuelle WHO-Klassifikation von 2021 (WHO 2021) unterscheidet sehr viele Formen von Bronchialkarzinomen und ist im Folgenden modifiziert gegliedert wiedergegeben (Tab. 3). In ihr sind weitestgehend verbindlich die einzelnen, heute voneinander unterschiedenen Entitäten aufgeführt und erläutert. Vom Trend her wird die Klassifikation immer umfangreicher, letztendlich der Tatsache geschuldet, dass immer mehr Unterschiede zwischen Gruppe von Tumoren herausgearbeitet werden konnten, sei es mit immunhistochemischen, sei es mit molekularen Methoden. Nicht alle diese Gruppen unterscheiden sich allerdings (bisher) therapeutisch, was sich aber im Rahmen der Entwicklung neuer therapeutischer Ansätze durchaus ändern könnte.

In der Klassifikation werden insbesondere histologische Aspekte für die Einteilung der Lungenkarzinome in Untergruppen zugrunde gelegt, ferner auch bestimmte immunhistochemische und molekulare Gesichtspunkte.

Zytologische Kriterien hingegen spielen nur insofern eine Rolle, als sie zur Identifikation der Malignität der Raumforderung herangezogen werden. Für die hier

behandelte Tumortypisierung sind sie nicht wesentlich relevant, wohl allerdings für das spätere Tumorgrading.

Entität	ICD-M
Adenokarzinome	
<u>Minimal invasive Adenokarzinome</u>	
Minimal invasives nicht-muzinöses Adenokarzinom	8256/3
Minimal invasives muzinöses Adenokarzinom	8257/3
<u>Invasive nicht-muzinöse Adenokarzinome</u>	
Lepidisches Adenokarzinom	8250/3
Azinäres Adenokarzinom	8551/3
Papilläres Adenokarzinom	8260/3
Mikropapilläres Adenokarzinom	8265/3
Solides Adenokarzinom	8230/3
Muzinöses Adenokarzinom	8253/3
Gemischtes muzinöses und nicht-muzinöses Adenokarzinom	8254/3
Kolloides Adenokarzinom	8480/3
Fetaler Typ des Adenokarzinoms	8333/3
Enterischer Typ des Adenokarzinoms	8144/3
Adenokarzinom, NOS	8140/3
Plattenepithelkarzinome	
Plattenepithelkarzinom, NOS	8070/3
Verhornendes Plattenepithelkarzinom	8071/3
Nicht verhornendes Plattenepithelkarzinom	8072/3
Basaloides Plattenepithelkarzinom	8083/3
Lymphoepitheliales Karzinom	8082/3
Weitere nicht-kleinzellige Karzinome	
Großzelliges Karzinom	8012/3
Adenosquamöses Karzinom	8560/3

Tab. 3 (Anfang): WHO-Klassifikation epithelialer maligner Lungentumoren (WHO 2021). (WHO 2021). ICD-M: Morphologie-Schlüssel der *International Classification of Diseases*. NOS = not otherwise specified.

Entität	ICD-M
Sarkomatoide Karzinome	
Pleomorphes Karzinom	8022/3
Riesenzelliges Karzinom	8031/3
Spindelzelliges Karzinom	8032/3
Karzinom	8980/3
Andere epitheliale Tumoren	
NUT Karzinom	8023/3
Thorakaler SMARCA4-defizienter Tumor	8044/3
Speicheldrüsen-artige Karzinome	
Adenoid-zystisches Karzinom	8200/3
Epithelial-myoepitheliales Karzinom	8562/3
Mukoepidermoides Karzinom	8430/3
Hyalinisierendes klarzelliges Karzinom	8310/3
Myoepitheliales Karzinom	8982/3
Neuroendokrine Tumoren	
Karzinoid, NOS / neuroendokriner Tumor, NOS	8240/3
Typisches Karzinoid / neuroendokriner Tumor Grad1	8240/3
Atypisches Karzinoid / neuroendokriner Tumor Grad2	8249/3
Kleinzellig-neuroendokrines Karzinom	8041/3
Kleinzellig-neuroendokrines Karzinom mit begleitender nicht kleinzellig-neuroendokriner Komponente	8045/3
Großzellig-neuroendokrines Karzinom	8013/3
Großzellig-neuroendokrines Karzinom mit begleitender nicht großzellig-neuroendokriner Komponente	8013/3

Tab. 3 (Fortsetzung und Ende): WHO-Klassifikation epithelialer maligner Lungentumoren (WHO 2021). ICD-M: Morphologie-Schlüssel der *International Classification of Diseases*. NOS = not otherwise specified.

Blickt man nur auf die großen Gruppen, so ergibt sich aktuell folgende Verteilung der Lungenkarzinome in Deutschland: Von der DGHO (2025) aufgearbeitete Zahlen des Robert-Koch-Institutes zu den Jahren 2020-2022 gehen aus von

- 15% kleinzellig-neuroendokrinen Karzinomen (SCLC),
- 78% nicht-kleinzelligen Karzinomen (NSCLC), die alle anderen Tumorentitäten subsummieren, davon
 - 55% Adenokarzinome,
 - 27% Plattenepithelkarzinome,
 - 6% andere neuroendokrine Tumoren und
 - 12% seltene Formen bzw. nicht weiter klassifiziert.
- gut 7% von Fällen ohne verwertbare Angaben zur Histologie.

Rechnet man die unklaren Fälle jeweils heraus, dann ergibt sich als begründete Hypothese, dass derzeit etwa 52% der Lungenkarzinome Adenokarzinome sind, 26% Plattenepithelkarzinome, 16% der Lungenkarzinome kleinzellige Karzinome und 6% andere neuroendokrine Tumoren.

1.3.2 Hauptformen von Lungenmetastasen

Prinzipiell ist jeder maligne Tumor, also auch jedes Karzinom, befähigt, in die Lunge zu metastasieren. Insofern muss man bei jedem Karzinom in der Lunge nicht nur an ein Bronchialkarzinom, sondern auch an die Möglichkeit einer Lungenmetastase denken. Dabei helfen das Wissen um Häufigkeiten von Metastasen bestimmter Organkarzinome und die morphologische Erfahrung der Befunder, um zu einer schlüssigen Diagnose zu gelangen.

Bezogen auf Metastasen von Adenokarzinomen ist in erster Linie an Mammakarzinome, kolorektale Karzinome, Nierenzellkarzinome und Karzinome des oberen Gastrointestinaltraktes (Magen, Pankreas, Gallenwege) zu denken. Liegt ein Plattenepithelkarzinom vor, so könnte sein Ursprung gut im HNO-Bereich oder im MKG-Bereich bzw. im Ösophagus liegen, seltener auch im Genitalbereich. Kleinzellig-neuroendokrine Karzinome sind in jedem Organ möglich, kommen außerhalb der Lunge aber nur sehr selten vor; der extrapulmonale Anteil wird mit 2,5% - 5% aller kleinzellig-neuroendokrinen Karzinome angegeben (van der Henricus und Heijdra 2005, Wong et al. 2009), so dass bei einer fraglichen

Metastase in der Lunge „bis zum Beweis des Gegenteils“ davon ausgegangen wird, dass ein solcher Tumor lungeneigen ist.

Belastbare Zahlen zur pulmonalen Metastasierung liegen kaum vor. Das hat sicher damit zu tun, dass lange nicht alle Rundherde bei metastasierter Situation biopsiert werden (müssen), gerade wenn eine systemische Therapie gegeben werden kann. Besteht eine strahlentherapeutische Option, so wird allerdings sehr häufig seitens der Strahlentherapeuten auf eine vorherige Sicherung der Metastase gedrungen, insbesondere da Bestrahlungen Folgen für das Lungengerüst und damit für die Atemfunktion und den Gasaustausch haben können. Entsprechend ergibt sich bei manchen Tumoren eine Indikation, einen neu aufgetretenen Lungenrundherd zu biopsieren, bei anderen nicht, was wiederum die Genauigkeit von Zahlen einschränkt. Ein neuerer Review (Gerull et al. 2021) zum Vorkommen von Lungenmetastasen in Obduktionsstudien belegt die große Variabilität der Daten, die wohl nicht verallgemeinert werden können.

Eine Notwendigkeit, einen Rundherd auch bei bildgebend klarer Malignität histologisch zu untersuchen, ergibt sich darüber hinaus auch aus der Möglichkeit, dass ein zweiter unabhängiger Primärtumor vorliegen könnte. Bezogen auf die SEER-Daten für zwischen 1992 und 2008 erfasste 2,1 Millionen Tumorpatienten und unter Berücksichtigung von zehn gängigen ersten Primärtumoren (darunter acht Karzinome, ferner maligne Melanome und Non-Hodgkin-Lymphome) traten zweite Primärtumoren in einem mindestens 3 Jahre umfassenden Follow-Up bei immerhin 8,1% der Patienten auf. Interessanterweise verstarben nur 13% der Patienten am ersten Primärtumor, hingegen 55% am zweiten Primärtumor. Dessen Identifikation hat somit hohe klinische Relevanz (Daten nach Donin et al. 2016). Zweiter unabhängiger Primärtumoren nach einem ersten Bronchialkarzinom kann natürlich auch ein zweites Bronchialkarzinom sein, gerade wenn man sich die Feldkanzerisierung durch das inhalative Rauchen vor Augen führt. Ihr Anteil wird in diesem Zusammenhang auf 8% - 14% geschätzt (Hofmann et al. 2007, Quadrelli et al. 2009, Reck et al. 2023). Die nicht immer einfache Abgrenzung gegenüber einer Lungenmetastase des Ersttumors oder gegenüber einem Lokalrezidiv sollte in

jedem Einzelfall multidisziplinär erfolgen, da hiervon die Konzeption der Therapie abhängen kann (kurativ vs. palliativ).

1.3.3 Tumorabsiedlungen in der Pleurahöhle

Sieht man von malignen Mesotheliomen als der Hauptform pleuraeigener Malignome ab, so gehen maligne Tumordinfiltrate in der Pleurahöhle, die ca. 10% aller Ergüsse stellen (Piggott et al. 2023), fast ausschließlich auf metastasierte Karzinome zurück („Pleurakarzinose“). Leitsymptom sowohl bei malignen Mesotheliomen, als auch bei Pleurakarzinosen ist die Bildung unterschiedlich umfangreicher Pleuraergüsse.

Dabei ist sowohl möglich, dass eine Pleurakarzinose aus einem in der Lunge gelegenen Tumor (Bronchialkarzinom oder Lungenmetastase) durch Penetration der Pleura visceralis entsteht, als auch, dass ein Tumor benachbarter Organe durch lymphatische Aussaat die Pleurahöhle erreicht. Entsprechend sind die häufigsten Karzinome, die zu einer Pleurakarzinose führen, die Bronchialkarzinome selber, gefolgt von Mammakarzinomen. Zusammen stellen diese beiden Tumorentitäten ca. 50%-65% aller Pleurakarzinosen (Psallidas et al. 2016, Roberts et al. 2010, Taghizadeh et al. 2017), gefolgt von gastrointestinalen Karzinomen und gynäkologischen Karzinomen mit jeweils 10-12%. Ansonsten sind alle anderen Karzinome prinzipiell als Primärtumoren möglich. Klinisch kann eine Pleurakarzinose im späteren klinischen Verlauf eines Tumorleidens auftreten, aber auch am Anfang stehen, gerade wenn der sich bildende Pleuraerguss so voluminös ist, dass er respiratorische Probleme mit sich bringt und so den Patienten zu einem ersten ärztlichen Kontakt bringt.

Die morphologische Diagnostik an einem Pleurainfiltrat erfolgt dabei in erster Linie zytologisch durch Aufarbeitung eines Pleurapunktates oder eine primäre thorakoskopische Pleurabiopsie. Differentialdiagnostisch können Pleuraergüsse auch bei Tumorkranken durchaus gutartig sein, beispielsweise bei entzündlichen Veränderungen in der Lunge oder bei Herzinsuffizienz, und gerade bei älteren

Patienten ist stets ein malignes Mesotheliom im Spektrum zu erwartender Erkrankungen mit zu bedenken.

Auffällig ist, dass Pleurakarzinosen durch Bronchialkarzinome ganz überwiegend von Adenokarzinomen herrühren und nur selten auf Plattenepithelkarzinome oder auf kleinzellig-neuroendokrine Karzinome zurückgehen. Früher wurde dieses Phänomen auf die oft zentrale Lage dieser beiden Tumorentitäten zurückgeführt. Adenokarzinome traten hingegen bevorzugt peripher auf. Diese Verteilung der Tumoren hat sich aber in den letzten Jahrzehnten relativiert, ohne dass sich bei den Pleurakarzinose Verschiebungen in der Häufigkeit der Typen von Bronchialkarzinomen ergeben hätten. Das zu Pleuraergüssen Gesagte gilt gleichartig auch für die selteneren Perikardergüsse und (mit anderen Häufigkeiten bezüglich der zu erwartenden Primärtumoren) für Aszites.

1.3.4 Andere Tumorabsiedlungen

Auf andere Tumorabsiedlungen soll hier nur insoweit eingegangen werden, wie sie die hier vorgelegte Studie betreffen.

Lymphknotenmetastasen sind die am häufigsten auftretenden Metastasen überhaupt, üblicherweise in den regionären Lymphknoten. Aber auch der Befall von nicht-regionären Lymphknoten ist möglich. Welche Lymphknoten als regionär und welche als nicht-regionär gelten, hängt gemäß der TNM-Klassifikation vom Sitz des Primärtumors ab. Bei Bronchialkarzinomen sind dies vereinfacht ausgedrückt die Hiluslymphknoten (N1), die ipsilateralen mediastinalen Lymphknoten (N2) und die kontralateralen mediastinalen Lymphknoten (N3) (Wittekind 2017). Der Befall anderer Lymphknoten wird als Fernmetastasierung gewertet (M1). Rückschlüsse von der Größe und bildgebenden Beschaffenheit eines Lymphknotens darauf, ob er eine Karzinommetastase enthält, sind nur bedingt möglich. Zur Diagnosesicherung sind deswegen ein histologischer oder ein zytologischer Tumorzellnachweis notwendig.

Die Nebennieren weisen relativ häufig Tumoren auf, wobei am häufigsten das gutartige Nebennierenrindenadenom (sog. Inzidentalom) ist. Hierauf folgen in der Häufigkeit Metastasen von Bronchialkarzinomen, die offenbar eine besondere Affinität zu diesem Organ haben. Eine Literaturzusammenstellung von 313 Fällen von Nebennierenmetastasen ergab einen Anteil von Bronchialkarzinomen von 61,7%, allerdings in unterschiedlicher Häufigkeit zwischen den einzelnen Studien (Kuppuswamy 2017). Es folgen in der Häufigkeit Metastasen von Mammakarzinomen und kolorektalen Karzinomen (Sternfeld et al. 2013), was schon allein aufgrund der hohen Zahl dieser Primärtumoren verständlich ist. Alle anderen Tumorarten, darunter auch die beiden weiteren wichtigen Nebennieren-eigenen Tumorentitäten des Phäochromozytoms und des Nebennierenrindenkarzinoms, sind selten.

Andere typische Metastasierungsorgane für Karzinome, die für diese Studie keine Rolle spielen, wären Knochen, Leber und Gehirn.

1.4 Zytologische Tumordiagnostik

Die zytologische Tumordiagnostik verläuft heute in der Regel in mehreren Schritten. Am Anfang steht die Untersuchung von Präparaten, an denen Routinefärbungen (HE-, Pappenheim- oder Papanicolaou-Färbung) angewandt worden sind. An diesen erfolgt die eigentliche Sicherung von Tumorzellen.

Ergänzt werden diese Präparate in einem zweiten Schritt, soweit notwendig, durch immunzytochemische Methoden, die bei der Tumorsicherung hilfreich sein können, im besonderen Maße aber zur Tumortypisierung herangezogen werden. Bei besonderen Fragestellungen können in einem weiteren Schritt auch molekulopathologische Methoden angewandt werden.

1.4.1 Zytologische Kriterien zur Tumorzellerkennung

Die Routinediagnostik orientiert sich, unabhängig von der Präparationsart als Ausstrich, Zentrifugat oder Zellblock an allgemeinen Kriterien der Morphologie, die in den verschiedenen Standardwerken der Zytopathologie dargestellt sind (Koss und

Melamed 2006, Shidham und Atkinson 2007, Bubendorf et al. 2011, Cibas und Ducatman 2020, Dey 2022). Dabei werden auch spezielle Kapitel zur Organzytologie, also auch für Lungen-, Nebennieren-, Erguss- oder Lymphknotenpathologie vorgehalten. Zu den Malignitätskriterien gehört insbesondere die Beurteilung der Kernmorphologie, wobei auf die Kerngröße, die Kerngrößenvariabilität, die Kernform, die Kern-Plasma-Relation und die Verteilung und Beschaffenheit des Chromatins eingegangen wird. Bei manchen Fragestellungen sind auch Aspekte des Zytoplasmas wichtig, z.B. bei Schleimbildung mit konsekutiver Vakuolisierung. Lagerungsphänomene der auffälligen Zellen, vor allem die Bildung dreidimensionaler Zellverbände, sind ebenfalls von großer Bedeutung, gerade in der Ergusszytologie. Kommen entsprechende Aspekte, die auf Malignität deuten, in genügendem Maße zusammen, so kann die Diagnose eines malignen Tumordinfiltrates gestellt werden.

Lediglich für epitheliale maligne Mesotheliome und follikuläre Schilddrüsentumoren sind abweichende Kriterien notwendig (Shidham und Atkinson 2007, Droese 1995, Bubendorf et al. 2011); bei diesen Tumorentitäten spielen Kernveränderungen in der zytologischen Tumordiagnostik in der Regel keine führende Rolle.

Wichtig ist, sich klarzumachen, dass es neben „klar gutartigen“ und „klar bösartigen“ Diagnosen eine Grauzone gibt, in der eine eindeutige Diagnosestellung nicht möglich ist. Diese Fälle, in denen es Auffälligkeiten an den Zellen gibt, die Zweifel an Gutartigkeit aufkommen lassen, die aber nicht genügen, um Malignität zu beweisen, werden in der zytologischen Diagnostik als „zweifelhaft“ oder als „dringend [tumor]-verdächtig“ kategorisiert. Auf entsprechende Klassifikationen soll hier aber nicht näher eingegangen werden, weil in unserer Studie ausschließlich Tumorzell-positive Fälle analysiert wurden.

1.4.2 Immunzytochemische Methoden zur Tumortypisierung

Selbstverständlich ergeben sich bei der konventionellen zytologischen Diagnostik von Tumorzellen häufig bereits morphologische Hinweise darauf, um welche Entität es sich handeln könnte. So sehen klassische invasiv-duktales Mammakarzinome (NST-Typ nach WHO-Klassifikation) in einem Pleuraerguss oder einer Lungen-

zytologie anders aus als ein klassisches kolorektales Karzinom oder ein typisches Adenokarzinom der Lunge. Dennoch reicht die reine morphologische Diagnostik nicht dazu aus, eine beweisbare und therapeutisch nutzbare Tumortypisierung zu erbringen.

Hierzu wird die Immunzytochemie herangezogen, die heute aus der zytologischen Diagnostik nicht mehr wegzudenken ist. Sie kann sowohl an Ausstrichen oder Sedimenten als „klassische Immunzytochemie“ angewandt werden, aber auch als Immunhistochemie an histologischen Schnitten von aus zytologischem Material gewonnenen Zellblöcken. Die Immunzytochemie basiert auf dem Prinzip einer Antigen-Antikörper-Reaktion, deren Reaktionsprodukt anschließend durch eine Farbreaktion sichtbar gemacht wird.

Antigene können dabei sowohl im Zellkern, als auch im Zytoplasma oder an der Zellmembran liegen. Für ihre Identifizierung steht eine Vielzahl von mehr oder weniger spezifischen Antikörpern zur Verfügung, die auf der Oberfläche von Antigenen chemisch binden. An die Antikörper sind chemische Gruppen konjugiert, die mit einer speziellen Farbreaktion visualisiert werden können.

Die Auswertung der Immunreaktion nach konventioneller Gegenfärbung der Zellen und Gewebe mikroskopisch. Hierfür stehen qualitative Verfahren (ja / nein), semiquantitative Verfahren, die einen Score verwenden (beispielsweise 0 / 1+ / 2+ / 3+), oder quantitative Verfahren, bei denen die Zahl positiver und negativer Zellen ausgezählt werden, zur Verfügung. Heutzutage sind mehr als 1000 Antikörper gewerblich erhältlich. Im diagnostischen Einzelfall folgt die Auswahl der Antikörper den differentialdiagnostischen Erwägungen aus der primären konventionellen zytologischen Diagnostik.

1.5 Wichtige Antikörper in der immunzytochemischen Differentialdiagnostik primärer Lungenkarzinome

Im Folgenden soll auf wesentliche Antikörper in der Differentialdiagnostik von primären Lungenkarzinome eingegangen werden, und zwar sowohl im Hinblick auf

die Erkennung des Tumortyps, als auch in der Abgrenzung gegenüber gängigen Metastasen.

1.5.1 Immunzytochemische Diagnostik von pulmonalen Adenokarzinomen

Der wichtigste und gängigste Marker in der Erkennung einer pulmonalen Herkunft von Adenokarzinomen ist TTF-1, der seit ca. 20 Jahren in Gebrauch ist. Neuer und zur Zeit der Erstellung dieser Studie noch zum Teil experimentell ist Napsin A. IM Folgenden sollen die beiden Marker vorgestellt und in ihrem an histologischen Materialien ermittelten Stellenwert zur Zeit der Studienplanung eingeordnet werden. Die in den Arbeiten dargestellten Daten sind dabei qualitativer Natur (positiv / negativ) und berücksichtigen nicht, ob die Färbungen schwach oder stark waren bzw. ob sie sporadisch einzelne Zellen betrafen oder durchgehende Positivität bestand. Daher bieten die Daten eine gute Orientierung, die aber insofern nicht umfassend ist, als im klinischen Alltag durchaus Aspekte der Färbeintensität und der Expressionsverteilung eine Rolle spielen können.

TTF-1

Die Abkürzung TTF-1 steht für den „*thyroid transcription factor 1*“. Bei diesem handelt es sich, im folgenden Absatz zusammengefasst nach Turner et al. (2012) und der Charakterisierung des NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) (NCBI 2026 a) um einen im Zellkern liegenden Transkriptionsfaktor, der in der Embryonalzeit u.a. an der Regulation von Genen in der Schilddrüse und der Lunge teilhat (siehe hierzu auch Stahlman et al. 1996, Khor et al. 1999). Das TTF-1-Protein ist ein Polypeptid aus 371 Aminosäuren und einem Molekulargewicht von 38 kDa, welches vom NKX2-1-Gen auf Chromosom 14 (14q13) kodiert wird. Bei Ausschaltung des Gens an embryonalen Stammzellen im von Mäusen resultierten nicht lebensfähige Nachkommen mit Hypoplasie der Lunge, Agenesie der Schilddrüse und ausgedehnten Fehlbildungen im Prosencephalon (Kimura et al. 1996). Später wird TTF-1 in Follikelepithelien der Schilddrüse (inklusive C-Zellen), in Typ II-Pneumozyten und im Bronchialepithel exprimiert. In der Lunge ist TTF-1

verantwortlich für die Transkriptionsaktivität der Surfactantproteine A, B und C und der sekretorischen Clarazellproteine.

Die für die Immunhistochemie verwendeten Antikörper gegen das TTF-1 werden ebenfalls mit TTF-1 bezeichnet; bei Positivität zeigt sich nach Farbentwicklung eine Kernfärbung; Färbungen zytoplasmatischer Strukturen werden inzwischen als unspezifisch bzw. als Resultat von Kreuzreaktionen angesehen und nicht mehr diagnostisch berücksichtigt (Ordóñez 2012). TTF-1 ist seit ca. 2005 in der histologischen Tumordiagnostik etabliert; wissenschaftliche Artikel im Vorfeld sind etwa ab 2000 zu datieren. Aus der Übersichtsarbeit von Ordóñez zu histologischen Untersuchungen mit TTF-1, in der mehr als 20 Studien zusammengeführt worden sind, stammen die im Folgenden angeführten Daten. Die Arbeit erschien etwa zeitgleich zur Konzeption unserer zytologischen Studie. Da TTF-1, wie oben erwähnt, regelhaft in Epithelien der Lunge und der Schilddrüse vorkommt, ist es nicht überraschend, dass auch Malignome dieser Organe oft für den Marker positiv sind.

- Für nicht-muzinöse Adenokarzinome der Lunge inklusive der lepidischen Karzinome (früher: bronchiolo-alveoläre Karzinome) ergab sich auf der Basis von mehr als 3500 Fällen eine Positivität von 78%. Für die knapp 600 Fälle von kleinzellig-neuroendokrinen Karzinomen der Lunge lag der Wert bei über 87%². Für die knapp 600 übrigen neuroendokrinen Tumoren (Karzinoide, atypische Karzinoide und großzellig-neuroendokrine Karzinome) bewegten sich die Expressionsraten zusammengenommen bei knapp 40%, und von den etwa 1300 Plattenepithelkarzinomen der Lunge waren 6% positiv.
- In gut 230 Schilddrüsenkarzinomen lag, von den anaplastischen entdifferenzierten Karzinomen abgesehen, die Rate TTF-1-positiver Fälle bei 89%; bei den besonders häufigen papillären Karzinomen, die aktuell fast drei Viertel aller Schilddrüsenkarzinome stellen (73,5%, RKI 2025), betrug der Wert 98%.

Alle anderen Karzinomentitäten, für die in aller Regel ebenfalls dreistellige Patientenzahlen vorgelegen hatten, exprimierten nur recht selten TTF-1, am häufigsten noch Endometriumkarzinome mit etwa 9% und Adenokarzinome der

² An dieser Stelle soll darauf hingewiesen werden, dass auch kleinzellig-neuroendokrine Tumoren anderer Organe in etwa gleicher Häufigkeit TTF-1-positiv sind, so dass TTF-1 in Bezug auf diese Tumorentität nicht zur Frage nach dem Vorliegen eines Primärtumors oder einer Metastase beitragen kann.

Cervix uteri mit 7%. Im Bereich von 3%-5% rangieren Karzinome des Kolons, der Harnblase, des Ovars und der Niere. Alle anderen untersuchten Lokalisationen (Magen, Pankreas, Gallenwege, Leber, Mamma) lagen noch niedriger.

Napsin A

Die Aspartatproteinase Napsin A aus der Familie der A1-Peptidasen ist ein ebenfalls 38 kDA umfassendes Protein, das vom NAPSIN-Gen auf dem Chromosom 19 (19q13.33) kodiert wird. Ebenfalls zusammengefasst nach Turner et al. (2012) und NCBI-Angaben (NCBI 2026 b) kommt es bezogen auf die Lunge im Zytoplasma von Pneumozyten des Typs II und auch in Alveolarmakrophagen vor, außerdem in Nierentubuli und im Gangepithel des Pankreas. Von der Funktion her ist es an der Proteolyse des Prosurfactant-Proteins B beteiligt (Chuman et al. 1999, Brasch et al. 2003).

Die gegen das Napsin A Antigen gerichteten immunhistochemischen Antikörper führen bei Positivität nach Farbentwicklung zu einer granulären zytoplasmatischen Färbung. Die verwendeten kommerziellen Antikörper waren seit etwa 2010 in der histologischen Tumordiagnostik in Gebrauch, nachdem erste wissenschaftliche Artikel etwa 2003-2005 erschienen waren. Dabei zeigte sich, dass Napsin A (analog zu dem oben zu TTF-1 Gesagten) in vielen Tumoren der Organe positiv ist, in denen es regelhaft von gesunden Zellen exprimiert wird, nämlich der Lunge und der Niere. Kurz nach Konzeption unserer zytologischen Studie erschien 2012 eine große histologische Microarray-Studie an 1674 Fällen (Turner et al. 2012), die hier als repräsentatives Beispiel für die Leistungsfähigkeit von Napsin A stehen soll.

- Von über 300 Adenokarzinomen der Lunge exprimierten 87% Napsin A; die 200 Plattenepithelkarzinome der Lunge waren hingegen nur in sehr geringer Zahl positiv (2,5%).
- Von über 300 Nierenkarzinomen waren 59% positiv (nicht berücksichtigt hier die Urothelkarzinome des Nierenbeckens). Innerhalb der einzelnen histologischen Subtypen war die Expression bei papillären Nierenzellkarzinomen mit 72% am höchsten, gefolgt von den klarzelligen Karzinomen mit 52%.

Die übrigen untersuchten fast genau 800 Karzinome wiesen nur in 6,1% der Fälle eine Positivität auf, die in Karzinomen des Uterus (8,3%) und der Schilddrüse (7,3%) relativ am höchsten war, gefolgt von Karzinomen der Ovarien (6,7%) und der Leber (5,2%).

1.5.2 Immunzytochemische Diagnostik von pulmonalen Plattenepithelkarzinomen

Der Antikörper p63, der in Düsseldorf zur Zeit der Studiendurchführung häufig zum Einsatz kam, richtet sich gegen ein im Zellkern lokalisiertes Antigen des Proteins p63 („*transformation-related protein 63*“) (NCBI 2026 c). Dieses wiederum ist kodiert auf dem p63-Gen auf Chromosom 3 (3q27-29), das zur p53-Familie gehört und zum p53-Gen ein Homologes darstellt (Yang et al. 1998). Funktionell gehören die Produkte dieser Genfamilie zu den Transkriptionsfaktoren und nehmen Funktionen in der Genregulation wahr (NCBI 2026 c). Phylogenetische Analysen legen dabei nahe, dass das p53-Gen und ein weiteres Homologes, das p73-Gen, durch genetische Veränderungen aus dem p63-Gen hervorgegangen sind (Skipper 2007).

Für das p63-Gen sind mehr als 40 Mutationen bekannt, die Erkrankungen hervorrufen, insbesondere sehr spezielle Malformationen im Kopf-Hals-Bereich in Form von Spaltenbildungen. Innerhalb des ätiologisch sehr vielfältigen Formenkreises der orofazialen Spalten sind p63-bedingte Formen andererseits wiederum aber sehr selten (Übersicht bei Dixon et al. 2011 bzw. bei Mangold et al. 2017).

In der Kanzerogenese spielt p63 hingegen keine besondere Rolle. Während das p53-Gen als das am häufigsten mutierte Gen in der Kanzerogenese gilt, werden im onkologischen Umfeld Mutationen am p63-Gen nur selten beobachtet. Diesen Umstand kann man sich in der onkologischen Diagnostik zunutze machen. p63 ist eng verbunden mit der Entwicklung des Ektoderms, und die als Antigen genutzte Proteinstruktur wird insbesondere in Plattenepithelien und in Basalzellen exprimiert. Daher etablierte sich die p63-Immunhistochemie unter der Fragestellung einer Tumortypisierung als Marker für eine plattenepitheliale Tumorherkunft, auch bei nur geringer Tumordifferenzierung. Eine Meta-Analyse aus dem Jahr 2022, in der die Ergebnisse von 66 Studien zusammenfassend dargestellt wurden, ergab für die

Zuordnung eines Karzinoms zu einem Plattenepithelkarzinom in Abgrenzung gegenüber Adenokarzinomen, kleinzellig-neuroendokrinen Karzinomen und anderen Subtypen von Lungenkarzinomen eine Sensitivität von 94,2% bei einer Spezifität von 83% et al. 2022).

Inzwischen wurden allerdings die p63-Antikörper weitgehend durch p40-Antikörper abgelöst. Bei dem Protein p40, gegen den die p40-Antikörper gerichtet sind, handelt es sich biochemisch um eine Isoform von p63, also um ein mit p63 eng verwandtes Molekül. Der p40-Antikörper erkennt dabei nur die Variante Δ Np63, der p63-Antikörper die Varianten Δ Np63 und TAp63. Hieraus resultiert offenbar bezogen auf die Erkennung von Plattenepithelkarzinome im Vergleich zu p63 eine gleiche Sensitivität, aber höhere Spezifität: In der besagten Meta-Analyse ergaben sich, basierend auf 34 Studien, eine Sensitivität von 94% und eine im Vergleich zu p63 um neun Prozentpunkte höhere Spezifität von 92% (Chen et al. 2022). Auf den Umstand der höheren Spezifität war zuerst 2012 in einer histologischen Studie hingewiesen worden, in der offenbar erstmals p63 und p40 am gleichen Material verglichen wurden - seinerzeit wurde p40 noch als „*virtually unknown as a diagnostic marker in pathology*“ charakterisiert (Bishop et al. 2012). Eine erste zytologische Arbeit hierzu erschien 2014 (Jain et al. 2014). Auch in der Cytopathologie in Düsseldorf ist der Wechsel von p63 zu p40 in der Folgezeit vollzogen worden.

1.5.3 Immunzytochemische Diagnostik von kleinzellig-neuroendokrinen Lungenkarzinomen

Kleinzellig-neuroendokrine Lungenkarzinome, oft kurz als Kleinzeller bezeichnet, lassen sich im Prinzip bereits durch ihre typische Morphologie diagnostizieren; dennoch ist eine immunzytochemische Abgrenzung gegenüber anderen Tumoren notwendig. Sie sind positiv gegenüber Zytokeratinen, wobei meistens CK7 eingesetzt wird, und in der Regel auch TTF-1-positiv. Ergänzend bedarf es gemäß den Vorgaben der aktuellen WHO-Klassifikation von 2021 (WHO 2021) zwingend des Nachweises einer neuroendokrinen Differenzierung, die sich über eine Chromogranin-, eine Synaptophysin- bzw. eine CD56-Expression belegen lässt. Außerdem ist innerhalb der neuroendokrinen Tumoren zur Einordnung als kleinzelliges Karzinom wichtig, die Ki-67-Expression, die für die Proliferationsrate

von Tumoren steht, zu bestimmen. Bei Werten von $> 70\%$ wird ein Kleinzeller angenommen; bei geringeren Proliferationsraten wäre in Abhängigkeit von der Morphologie auch ein großzellig-neuroendokrines Karzinom möglich, bei weniger ausgeprägter Atypien auch ein typisches oder atypisches Karzinoid (WHO 2021).

Letzten Endes wird zusammenfassend die klassische morphologische Diagnose eines Kleinzellers immunzytochemisch durch den Nachweis einer Keratinexpression (als Äquivalent für eine epitheliale Herkunft des Tumors), einer Positivität für mindestens einen neuroendokrinen Marker und einer hohen Proliferationsrate abgesichert. Ansonsten müsste differentialdiagnostisch überlegt werden, ob ein basaloides Plattenepithelkarzinom, ein anderweitiges undifferenziertes Karzinom, ein sogenannter „kleinzellig-blauzelliger Tumor“ (Ewing-Sarkom, Askin-Tumor, Neuroblastom), ein Sarkom oder ein malignes Lymphom vorliegen könnten (Travis 2012, WHO 2021).

Napsin A spielt in der Diagnostik von kleinzellig-neuroendokrinen Karzinomen keine Rolle, da diese den Marker in aller Regel nicht exprimieren, sowohl in histologischen (Sayeda 2023), als auch in zytologischen Studien (HookKim et al. 2014).

1.5.4 Immunzytochemische Diagnostik von extrapulmonal entstandenen Karzinomen und Mesotheliomen

Um die immunzytochemische Diagnostik von Karzinomen, die extrapulmonal entstanden sind, rationell einsetzen zu könnte, sollte in erster Linie die Morphologie des Tumors berücksichtigt werden. Aus ihr lassen sich differentialdiagnostische Ansätze entwickeln. Das rationelle Arbeiten ist in der Zytologie noch wichtiger als in der Histologie, da die Zahl der Präparate mit Tumorzellen oft beschränkt ist. Außerdem muss bei Ergusspräparationen prinzipiell an die Möglichkeit eines malignen epithelialen Mesothelioms gedacht werden.

Alle im Folgenden im Kapitel 1.5.4 in Klammern gemachten Angaben für gängige Karzinome bezeichnen aus der klinischen Erfahrung typische Positivitäten von Tumoren einer bestimmten Herkunft, ohne im Einzelfall hierfür beweisend zu sein. Zu allen Tumorentitäten gibt es naturgemäß aber auch Fälle, die für

charakteristische Marker negativ sind, so wie es oben für TTF-1 und Napsin A für „typische pulmonale Adenokarzinome“ ausgeführt wurde. Außerdem kann es Fälle geben, in denen eine paradoxe Immunreaktion beobachtet, also ein Tumor eine unerwartete positive Markerexpression zeigt.

Typische Kombinationen von positiven Marker-Expressionen gibt es insbesondere für Mammakarzinome (CK7 und GATA-3, neuerdings als weiterer Marker TRPS1), kolorektale Karzinome (CK20 und cdx-2 bei CK7-Negativität), Prostatakarzinome (Androgenrezeptor und PSA), Urothelkarzinome (GATA-3 und p40 bzw. p63) oder Karzinome des oberen Gastrointestinaltraktes (CK7 sowie fokal cdx-2, oft mit gewisser Ko-Expression von CK20). Typisch für ein malignes epitheliales Mesotheliom wäre eine Calretinin-Positivität bei Negativität gegenüber EpCAM-Markern (berEP4, HEA). Gegenüber malignen Melanomen, die durchaus zytologisch (und auch histologisch) epithelial wirken können und lange nicht immer pigmentiert sind, ließe sich über die Negativität gegenüber Zytokeratinen und Positivität für SOX-10 und Melan-A abgrenzen.

Diese kursorischen Vorgehensweisen haben sich im diagnostischen Alltag bewährt, müssen aber lange nicht für jeden Einzelfall gelten, und es gibt letztendlich Fälle von Karzinomen, die sich nur unter Einsatz weiterer als der üblichen Marker oder überhaupt nicht einem Organ zuordnen lassen.

Soweit vorhanden, sollten natürlich auch klinisch-anamnestische Angaben zu malignen Vorerkrankungen bei der Wahl der Antikörper herangezogen werden, da Metastasen bereits vorbekannter Tumoren viel häufiger sind als ein zweiter Primärtumor. Auf die entsprechenden Daten für Lungenrundherde (8,1% Zweitmalignome in einem 3-Jahres-Follow-Up) war bereits oben hingewiesen worden (Daten nach Donin et al. 2016). Leider muss man sagen, dass in einer unveröffentlichten Datenerhebung aus 400 konsekutiven Tumorfällen der Cytopathologie Düsseldorf aus den Jahren 2014 und 2015 auf den Einsendescheinen nur in ca. 55% verwertbare Angaben zur Tumoranamnese gemacht waren, in den übrigen ca. 45% nicht. In etwa 10% der Fälle ließen sich ergänzend aus dem Befundungssystem dc-pathos frühere Tumordiagnosen

ermitteln. Im übrigen Drittel der Fälle aber musste letztendlich die zytologische Tumordiagnostik ohne entsprechende Angaben vorgenommen werden. Retrospektiv zeigte sich später im Dialog mit den klinischen Einsendern, dass in jedem zweiten dieser Fälle, also insgesamt etwa einem Sechstel aller Fälle, durchaus ein früherer maligner Tumor bekannt gewesen war, auf dem Einsendeschein aber nicht angegeben gewesen war. In diesen Fällen wäre bei mehr Bemühen in den einsendenden Kliniken und Praxen sicher ein gezielterer Einsatz der Immunzytochemie möglich gewesen wäre.

2 Ziel der Untersuchung und Ethikvotum

2.1 Ziel der Untersuchung

Am Funktionsbereich Cytopathologie am Universitätsklinikum Düsseldorf werden seit ca. 20 Jahren immunzytochemische Untersuchungen an Zytozentrifugaten, Sedimentausstrichen bzw. Ausstrichen von Punktaten oder Bürstungen von Oberflächen vorgenommen. Dabei konnten diverse Marker etabliert werden, mit denen durch Einzelanwendung oder im Verbund mit anderen Markern als Panel die Typisierung maligner Tumoren mit gutem Erfolg vorgenommen wird. Die Auswahl der vorgehaltenen Marker verändert sich dabei allerdings in Abhängigkeit davon, welche Neuentwicklungen seitens der Hersteller angeboten werden. So kann es sein, dass bestimmte Marker durch bessere, treffsicherere neue Marker ersetzt werden bzw. dass etablierte Marker durch einen neuen Marker ergänzt werden.

TTF-1 ist in der Cytopathologie schon seit Jahren erfolgreich als Marker für Adenokarzinome der Lunge im Einsatz und kann hierfür (bei allen Vorbehalten) als Goldstandard angesehen werden. Die genaue Treffsicherheit am eigenen Krankengut war zwar bis 2012, als die hier vorliegende Arbeit konzipiert wurde, aber noch nicht wissenschaftlich erhoben worden. Es bestand jedoch im klinischen Dialog mit unseren Haupteinsendern Konsens über den großen Nutzen von TTF-1. Etwa 2010 dann wurde in Düsseldorf ergänzend sowohl in der Histopathologie, als auch in der Zytopathologie vermehrt das Augenmerk auf den neuen Marker Napsin A gerichtet, über den seinerzeit noch wenige Daten über Anwendungen in der Zytopathologie vorlagen.

Deswegen wurde die hier vorgestellte retrospektive klinische Studie aufgelegt, in der die Expressionen von TTF-1 und Napsin A an Adenokarzinomen der Lungen und anderen Malignomen in der Zytologie verglichen und auf die histologische Enddiagnose und / oder den klinischen Verlauf der Patienten bezogen werden sollten. Hierzu standen alle Patientenfälle aus einem Zeitraum von ca. 15 Monaten zur Verfügung, an denen mindestens TTF-1 in der klinischen Diagnostik bereits angewandt worden war, überwiegend in Kombination mit anderen Markern. Bei

vielen dieser Fälle war auch bereits der Marker Napsin A mitgelaufen, in den übrigen Fällen wurde eine solche Färbung, soweit technisch noch möglich, ergänzt. Die Details zum Patientenkollektiv sind im Kapitel 3.1 wiedergegeben.

2.2 Ethikvotum

Zu der Studie, deren ursprünglicher Arbeitstitel „Vergleich der diagnostischen Aussagekraft von Napsin A und TTF-1 in der zytologischen Diagnostik pulmonaler Rundherde“ lautete, liegt ein positives Ethikvotum der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf vor (Studennummer Nr. 4007 vom 30.10.2012). Studienbeginn war der 01.04.2013.

3 Material und Methoden

3.1 Patientenkollektiv

3.1.1 Einschlusskriterien und Fallauswahl

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine retrospektive Analyse von in einem Zeitraum von gut 18 Monaten (Juli 2011- Januar 2013) zytopathologisch beurteilten Fällen aus dem Funktionsbereich Cytopathologie am UKD.

Insgesamt standen primär 287 konsekutiv gesammelte Fälle zur Verfügung, die darauf überprüft wurden, ob sie in die Studie aufgenommen werden könnten. Voraussetzungen hierfür war:

- Definitiver zytopathologischer Nachweis maligner Tumorzellen,
- Anwendung des etablierten immunzytochemischen Markers TTF-1 in der ergänzenden zytopathologischen Primärdiagnostik, ggfls. in Kombination mit anderen Markern,
- Anwendung des neu eingeführten immunzytochemischen Markers Napsin A bereits zum Zeitpunkt der zytopathologischen Primärdiagnostik oder nachträgliche Durchführbarkeit einer Napsin A-Immunzytochemie an noch vorhandenen weiteren Präparaten des Falles,
- Vorliegen einer histologischen Tumorsicherung und Tumortypisierung in der Anamnese oder im klinischen Verlauf,
- Erstellung eines *klinisches Follow-Up* anhand der von den Einsendern bereitgestellten Daten (Konsilschreiben, OP-Berichte, Arztbriefe)

In der Datenbank der im Funktionsbereich Cytopathologie verwendeten Software dc-pathos (Firma dc-systeme, Heiligenhaus, heute Teil der Firma Nexus) wurden die entsprechenden Fälle ermittelt und in eine Excel-basierte Datenbank eingebracht. Ebenso war es möglich, einen Abgleich mit den Datenbanken des Instituts für Pathologie und des Instituts für Neuropathologie vorzunehmen, die in eigenen Nummernkreise ebenfalls dc-pathos verwendeten.

3.1.2 Ausschluss von Fällen aus der Studie

Einige Fälle aus dem genannten Zeitraum konnten nicht berücksichtigt werden.

Dazu gehörten zum einen diejenigen 22 Fälle, in denen Napsin A noch nicht untersucht worden war und bei denen keine Präparate mehr zur Verfügung standen oder die immunzytochemische Untersuchung aus technischen Gründen nicht mehr möglich war.

Zum anderen konnte bei 14 Fällen das *Follow-Up* nicht oder nicht in ausreichendem Maße ermittelt werden, insbesondere weil nicht alle einsendenden Kliniken aus vornehmlich datenschutzrechtlichen Gründen nicht zu einer Kooperation bereit waren.

Fälle, bei denen zytologisch und histologisch bzw. klinisch-bildgebend bis zum Ende der Auswertung die Zuordnung der Tumordinfiltrate zu einem Ursprungsorgan nicht eindeutig geklärt werden konnten und Fälle von Metastasen, bei denen der Primärsitz nicht ermittelt werden konnte, wurden hingegen in der Studie belassen. Sie sind im Ergebnisteil entsprechend als z.B. „Colon / Ovar“ bezeichnet.

3.1.3 Umgang mit Mehrfacheinsendungen

Im Vorfeld der Studie war zu entscheiden, wie man mit Patienten mit Mehrfacheinsendungen umgehen sollte. Hier wurde bei der Studienplanung diskutiert, ob man solche Patienten dann nur einmal oder mehrfach in die Studie aufnehmen sollte. Die Diskussion bewegte sich letztendlich um die Frage, ob man „patientenbezogen“ oder „probenbezogen“ vorgehen wollte. Dabei wäre bei patientenbezogenem Vorgehen zu entscheiden gewesen, welche der Proben, also die erste, zweite oder dritte etc. zu berücksichtigen gewesen wäre. Bei probenbezogenem Vorgehen wäre zu überlegen gewesen, ob man zwischen zeitgleichen Eingängen (z.B. Pleurapunktat beidseits vom selben Tag mit verschiedenen Eingangsnummern) und zeitversetzten Eingängen (z.B. Pleurapunktat „heute“ und Lungenzytologie „vor vier Wochen“) unterscheiden sollte.

Um einem *Bias* mit dem Risiko der Verzerrung der Ergebnisse möglichst aus dem Weg zu gehen, wurde entschieden, rein „probenbezogen“ vorzugehen und dabei keine weiteren Kriterien anzulegen, also sowohl zeitgleiche, als auch zeitversetzte Eingänge zu berücksichtigen. Außerdem wurde vorgesehen, diese Fälle im Ergebnisteil gesondert zu dokumentieren (siehe Kapitel 4.4).

Insgesamt lagen von 4 Frauen und 9 Männern, also insgesamt 13 Patienten, im Untersuchungszeitraum jeweils zwei Proben, die die Einschlusskriterien erfüllten, vor, von keinem mehr als zwei Proben.

3.1.4 Endgültiges Patientenkollektiv

Insgesamt verblieben somit 251 Proben von 238 Patienten, von denen 225 mit einer Probe und 13 mit zwei Proben vertreten waren. Darunter waren 143 Männer (57,0%) und 95 Frauen (43,0%).

Das zytologische Material der 251 Proben wurde in 37 verschiedenen Kliniken von Krankenhäusern entnommen, darunter mit den meisten Proben

- das Florence-Nightingale-Krankenhaus in Kaiserswerth (n = 76),
- das Rhein-Maas-Klinikum Würselen (n = 24),
- das Universitätsklinikum Düsseldorf (n = 19) und
- das Städtische Klinikum Solingen (n = 15).

Jeweils 10-12 Proben, insgesamt 53, stammten aus dem Sana Krankenhaus Benrath, dem Rheinland-Klinikum Neuss, dem St. Vinzenz-Krankenhaus Düsseldorf, dem St. Nikolaus-Stiftshospital Andernach und dem Agaplesion Krankenhaus Hagen. Die übrigen 64 Proben stammten breit verteilt aus diversen Krankenhäusern in Düsseldorf und im Rhein-Ruhr-Raum, einzelne auch aus weiter entfernten Kliniken.

Bezogen auf die Entnahmetechnik kamen sowohl primäre Abstriche von Oberflächen (z.B. von Bronchialbürstungen) vor, als auch Sedimentausstriche von Flüssigkeitsaufbereitungen (z.B. von Pleuraergüssen) und Ausstriche von

Feinnadelpunktaten (z.B. von Lymphknotenpunktaten). Eine genaue Aufstellung findet sich im Ergebnisteil.

Zur Festlegung der Enddiagnose der Patienten wurden die vorliegenden morphologischen Erkenntnisse aus der zytologischen und immunzytochemischen Untersuchung mit anderen Angaben verknüpft. Hierzu zählten zum einen Ergebnisse früherer zytologischer und histologischer Untersuchungen im Funktionsbereich Cytopathologie sowie in den Instituten für Pathologie und Neuropathologie des UKD. Außerdem wurde vor Ort Einsicht in die klinischen Akten und in auswärtige Pathologiebefunde der jeweiligen Patienten genommen und auf diese Weise die morphologische Befundung mit Operations- und Konsilberichten sowie Entlassungs- und Verlaufsbriefen der Kliniken abgeglichen.

3.1.5 Alters- und Geschlechtsverteilung

Die Verteilung des Erkrankungsalters ist in Abbildung 2 wiedergegeben.

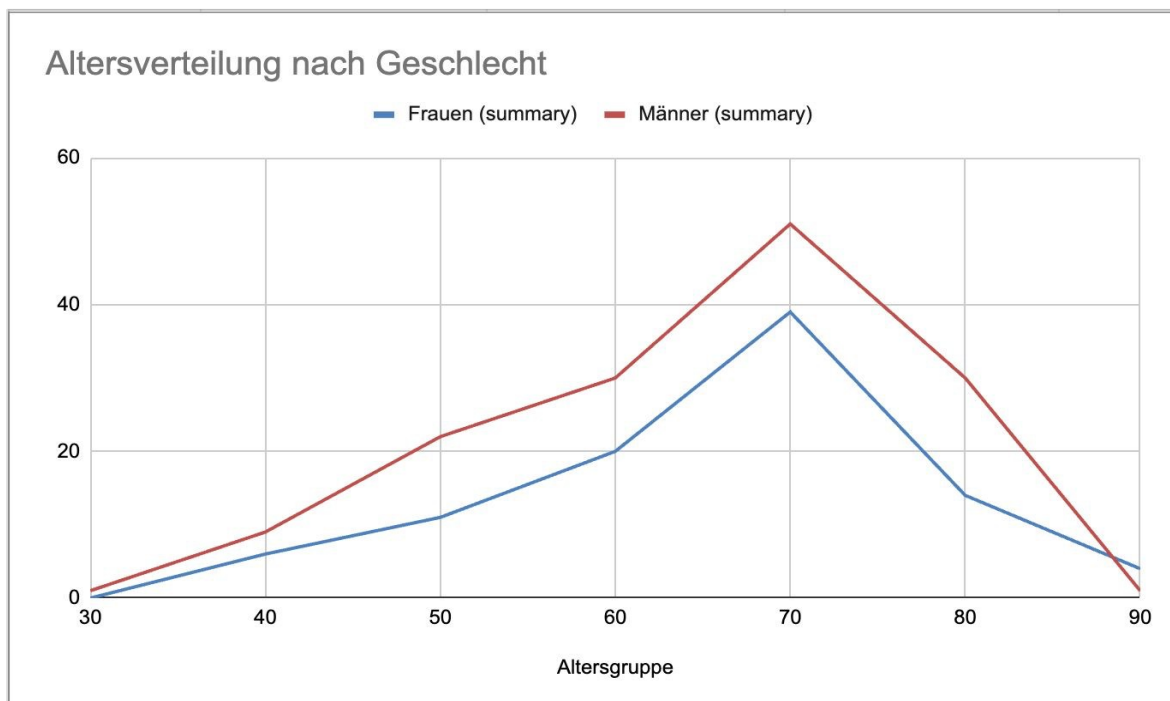


Abb. 2: Verteilung der Erkrankungsalter der 143 Männer und der 95 Frauen in Dekaden

Das Durchschnittsalter betrug bei den Männern 67,8 +/- 11,8 Jahre, bei den Frauen 69,3 +/- 11,8 Jahre. Die jüngste Patientin war 39 Jahre alt und die älteste 97 Jahre. Bei den Männern reichte die Altersspanne von 34 Jahren bis 90 Jahren. Die Verteilung der Altersklassen war bei beiden Geschlechtern vergleichbar (Pearson Chi²-Test: $p > 0,05$).

3.2 Arbeitsschritte der zytologischen Routinediagnostik

Die im Folgenden geschilderten Arbeitsschritte folgen den SOPs (*standard operating procedures*) der Cytopathologie am UKD zum Stand von 2011-2013, als die diagnostischen Leistungen an den Proben erbracht wurden. Inzwischen wurde viele der Vorgänge stärker automatisiert und im Ablauf deutlich verändert.

3.2.1 Herstellung der Präparate

Verarbeitung von Flüssigkeiten

Eingesandte Körperflüssigkeiten (z.B. Pleura-, Peritoneal- und Perikardpunktate, Bronchialsekrete, aber auch Liquor oder Serumpunktate sowie Urin oder Harnblasenspülungen etc.) sind zu zellarm, um aus ihnen direkt aussagekräftige Präparate zu generieren. Diese Materialien werden bevorzugt als unfixierte Flüssigkeiten verarbeitet; Ausnahmen bestehen für sicher mikrobiell besiedelte Flüssigkeiten aus dem Bronchialsystem und den ableitenden Harnwegen, die 1: versetzt mit 70%-igem Alkohol übersandt werden.

Durch kontrollierte Zentrifugation werden die Zellen in den Flüssigkeiten in ein Sediment am Boden der Zentrifugationsküvette bewegt. Nach Abpipettieren des Überstandes werden Sedimentausstriche gefertigt, deren Zahl wiederum durch die jeweiligen SOPs vorgegeben ist. Das Restsediment wird in isotoner alkoholischer Flüssigkeit resuspendiert und bis zum Ende der Diagnostik im Kühlschrank aufbewahrt, um ggfls. noch weitere Präparate auf gleichem Weg gewinnen zu können. Die Umdrehungszahlen der Zentrifuge variieren von Anwendung zu Anwendung und wurden im Laufe der Jahre optimiert.

Die Sedimentausstriche von Ergüssen werden je nach vorgesehener Färbung luftgetrocknet bzw. durch satte Besprühung mit alkoholischem Spray („Sprayfixierung“) feuchtfixiert, zur Zeit der Durchführung der Studie wurden jeweils fünf Objektträger hierfür angefertigt.

Zellblöcke wurden seinerzeit in Düsseldorf kaum verwendet. Heute sind sie eine übliche Methode der Zytopathologie. Dabei werden Sedimentanteile in Protein eingeschlossen und danach in Formalin fixiert und in einen gewöhnlichen Paraffinblock zur Fertigung von Schnitten überführt. Diese Methode (siehe auch Diskussion, Kapitel 5.4) war aber um 2011 herum noch in der Diskussion und in der damaligen historischen Konstruktion zwischen dem Institut für Pathologie und dem Funktionsbereich Cytopathologie schlichtweg nicht umsetzbar.

Feinnadelpunktate und Abstriche

Auch für Feinnadelpunktate existieren standardisierte Empfehlungen, z. B. zur Nutzung einer frei geführten Kanüle oder eines Binder-Ventils, eines Cameco-Griffes oder anderer Vorrichtungen, die eine gezielte Entnahme begünstigen. Die Probenentnahme erfolgt dabei durch eine aufgesetzte Spritze mittels Unterdrucks und einer kombinierten, fächerförmig stochernden Technik (Pokieser et al. 2001). Die entnommenen Zellen werden anschließend direkt durch den punktierenden Arzt auf Objektträger aufgebracht und nach unmittelbarer Sprayfixation alkoholfixiert eingesandt.

Gleiches gilt für Proben, die im Rahmen von Abstrichen oder Bürstungen (z. B. von der Oberfläche eines Bronchus) gewonnen werden. Die entsprechenden Instrumente (historisch Watteträger, heute gewerblich erhältliche Medizinprodukte) und Bürsten werden auf Objektträger abgerollt, die ebenfalls unmittelbar sprayfixiert werden.

„Unmittelbar“ meint, dass die Zellen nicht antrocknen dürfen, bevor die alkoholische Sprayfixation erfolgt. Ansonsten riskiert man Lufttrocknungsartefakte, durch die die

Anfärbung von Zellkernen und Zytoplasma viel blasser erfolgt als üblich. Hierdurch sind die diagnostischen Möglichkeiten methodisch eingeschränkt.

Die Zahl der Präparate, die zur Diagnostik zur Verfügung stehen, hängt somit allein davon ab, wie viele (tumorzellhaltige) Ausstriche der Kliniker herstellt. Auch hier nutzen andere Einrichtungen inzwischen die Zellblocktechnik oder die Dünnschichtzytologie, indem die gewonnenen Zellen in einer Suspension übersandt werden und nicht mehr vom Kliniker, sondern erst in der Pathologie später technisch verarbeitet werden. Auf diese Weise lassen sich wesentlich größere Zahlen von für die Diagnostik geeigneten Präparaten erreichen.

3.2.2 Routinefärbungen in der zytologischen Diagnostik

Je nach Materialart erfolgen anschließend routinemäßige Färbungen. Für alkoholfixierte Präparate wird vor allem die Papanicolaou-Färbung („Pap-Färbung“) verwendet, d.h. für Feinnadelpunktate, Bürstenausstrichen und alkoholfixierte Sedimentausstriche aus Ergusspräparationen. An den luftgetrockneten Präparaten von Ergüssen steht die May-Grünwald-Giemsa-Färbung („MGG-Färbung“, synonym Pappenheim-Färbung) zur Verfügung. Die Pap-Färbung erfolgte in einem Färbeautomaten Varistain 24-4, die MGG-Färbung manuell in Küvetten.

Andere konventionelle Färbungen wie PAS-Reaktion, Eisenfärbung oder HE-Färbung werden in Düsseldorf an zytologischen Präparaten nicht routinemäßig angefertigt, können jedoch bei entsprechender klinischer Indikation nachträglich durchgeführt werden.

3.2.2.1 Papanicolaou-Färbung

Die nach ihrem Entwickler, dem griechisch-amerikanischen Zytologen Papanicolaou benannte Färbung verwendet drei Farbstoffe, nämlich Hämatoxylin, Orange II 2b und Polychrome 3b zur kontrastreichen Darstellung von Details von Zellkernen und Zytoplasma. Sie ist internationaler Standard in der gynäkologischen Abstrichzytologie und findet auf vielfach Verwendung in der extragynäkologischen Zytologie. Ihr Ablauf ist in der folgenden Tabelle 4 wiedergegeben.

Schritt	Reagenzien	Inkubationszeit
1	96% Ethanol	2 Minuten
2	96% Ethanol	1 Minute
3	70% Ethanol	1 Minute
4	50% Ethanol	1 Minute
5	Aqua dest.	1 Minute
6	Hämatoxylin	2 Minuten
7	Leitungswasser	3 Minuten
8	Leitungswasser	3 Minuten
9	NH ₂ OH	1 Minute
10	70% Ethanol	1 Minute
11	70% Ethanol	1 Minute
12	80% Ethanol	1 Minute
13	96% Ethanol	1 Minute
14	Orange II 2b	2 Minuten
15	96% Ethanol	1 Minute
16	96% Ethanol	1 Minute
17	Polychrom 3b	2 Minuten
18	96% Ethanol	1 Minute
19	96% Ethanol	1 Minute
20	99,5% Ethanol	2 Minuten
21	Xylol	1 Minute
22	Xylol	1 Minute
23	Voclear	1 Minute
24	Voclear	1 Minute

Tab. 4: Protokoll der Papanicolaou-Färbung gemäß den SOPs am Funktionsbereich Cytopathologie der Universitätsklinik Düsseldorf.

Zunächst erfolgt eine schrittweise Rehydrierung durch Alkoholbäder mit abnehmender Konzentration - beginnend bei 96% Ethanol und endend in A. dest. Dieser Prozess bringt das Präparat in ein wässriges Milieu, das für die nachfolgende Färbung mit Hämatoxylin, einem basischen Farbstoff zur Kernfärbung, notwendig ist. Überschüssiges Hämatoxylin wird anschließend mit Wasser ausgespült. Darauf

folgt eine erneute Entwässerung über Alkoholstufen mit steigender Konzentration, die das Präparat auf die abschließende Färbung mit hydrophoben Farbstoffen vorbereitet – typischerweise Orange II 2b für das Zytoplasma insbesondere von hornbildenden Plattenepithelien und Polychrom 3b für die differenzierte Darstellung von Zellbestandteilen. Überschüssige Farbstoffe werden mit Ethanol ausgewaschen. Danach erfolgt die Inkubation in Xylol bzw. in Voclear, bevor die Präparate mit einem geeigneten Medium und einem Deckglas eingedeckt werden und dann mikroskopiefähig sind.

3.2.2.2 May-Grünwald-Giemsa-Färbung

Bei den luftgetrockneten Präparaten wird international üblich zur Diagnostik standardisiert die May-Grünwald-Giemsa-Färbung angewandt. Ihren Schwerpunkt hat sie in der Hämatologie als Standardfärbung für Blutausstriche oder Knochenmark, wird aber auch in der extragynäkologischen Zytologie vielfach genutzt. Bei ihr werden die beiden Farbstoffe Methylenblau und Eosin in einer gemeinsamen Lösung, ferner auch Azur verwendet (Tab. 5).

Schritt	Reagenzien	Inkubationszeit
1	Eosin-Methylenblau-Lösung	5 Minuten
2	Spülung mit Phosphatpuffer (pH 6,8)	1 Minute
3	Spülung mit Phosphatpuffer (pH 6,8)	1 Minute
4	Azur-Eosin-Methylenblau-Lösung	15 Minuten
5	Spülung mit Phosphatpuffer (pH 6,8)	1 Minute
6	Spülung mit Phosphatpuffer (pH 6,8)	1 Minute

Tab. 5: Protokoll der MGG-Färbung gemäß den SOPs am Funktionsbereich Cytopathologie der Universitätsklinik Düsseldorf.

Die MGG-Färbung findet durchgehend im wässrigen Milieu statt, zur Spülung wird ein Phosphatpuffer (pH 6,8) verwendet. Nach dem letzten Spülvorgang werden die Präparate auch hier mit einem geeigneten Medium und einem Deckglas eingedeckt und können anschließend mikroskopiert werden.

3.2.3 Diagnostische Klassifikation in der Routinediagnostik

Die Beurteilung zytologischer Präparate erfolgt nach bestimmten Kriterien, wie sie in den üblichen Lehrbüchern der Zytologie niedergelegt sind (Koss und Melamed 2006, Cibas und Ducatman 2020, Dey 2022). In Deutschland existiert darüber hinaus ein Kategorisierungsvorschlag für zytologische Diagnosegruppen, der von der Deutschen Gesellschaft für Pathologie und der Deutschen Gesellschaft für Zytologie gemeinsam herausgegeben wurde (Böcking 1998). Dieser wird in Düsseldorf stringent befolgt und umfasst folgende Gruppen:

- Unzureichendes Untersuchungsmaterial, wenn das Zellmaterial insgesamt zu spärlich ist oder beispielsweise Zellen aus der Zielläsion nicht erfasst sind (z.B. ausschließlich Zellen aus der Mundhöhle bei klinischer Frage nach einem Bronchialkarzinom),
- kein Nachweis von malignen Tumorzellen (= negativ), wenn in zureichendem Material ausschließlich morphologisch gutartige Zellen vorliegen,
- kein sicherer Ausschluss von malignen Tumorzellen (= zweifelhaft), wenn auffällige oder abnorme Zellen vorliegen, die aber noch keine Tumordiagnose rechtfertigen (z.B. leichte oder mittlere Dysplasien),
- maligne Tumorzellen wahrscheinlich (= dringender Verdacht), wenn schwere Dysplasien nachgewiesen werden oder Tumorzellen in zu geringer Zahl nachgewiesen werden („abzählbar wenige“), um bereits sicher zu sein, also Restzweifel verbleiben,
- mit Nachweis von malignen Tumorzellen (= sicher positiv), wenn aus zytologischer Sicht kein Zweifel am Vorliegen von Tumorzellen besteht, also genügend eindeutig atypische Zellen dargestellt werden konnten.

Die unterstrichenen Passagen werden in Düsseldorf allen Befunden, abgesehen von der Formularbefunden in der gynäkologischen Krebsvorsorge, vorangestellt, bevor die Befunde näher erläutert und in den klinischen Zusammenhang gestellt werden. Eine etwas modifizierte Nomenklatur existiert aus inhaltlichen Gründen für mögliche Neoplasien der Schilddrüse und des Mesothels.

3.2.4 Zytologische Malignitätskriterien

In unsere Studie wurden nur Fälle aufgenommen, die in der zytologischen Routinediagnostik „sicher positiv“ eingeordnet worden waren, die also die zytologischen Malignitätskriterien erfüllten.

Diese wurden von den Zytologiassistentinnen und den in der Zytopathologie tätigen Fachärzten/-innen jeweils auf die Präparate angewandt. Dabei soll herausgestellt werden, dass es nicht „das eine“ und entscheidende Kriterium gibt, sondern dass sich im Zusammenwirken aller Kriterien und der persönlichen Erfahrung der Befunder ein morphologisches Bild ergibt, das dann in der jeweiligen Diagnose mündet.

Prinzipiell lassen sich allgemeine Kriterien, kernbezogene Kriterien und zytoplasmatische Kriterien unterscheiden. Hierzu gehören vor allem

- Allgemeine Kriterien: Hyperzellularität, Lagerungsauffälligkeiten der Zellen und Zellgruppen, Polaritäts- und Schichtungsverlust, Bildung auffälliger Zellverbände, aber auch Dissoziation von Zellen mit disperser Verteilung statt in kohärenten Gruppen,
- kernbezogene Kriterien: Anisonukleose, Kernpolymorphie, Hyperchromasie, Chromatinvergröberung, Auftreten von vielen, möglicherweise auch atypischen Mitosen, zugunsten des Kerns verschobene Kern-Plasma-Relation,
- zytoplasmatische Kriterien: vermehrte Basophilie des Zytoplasmas, Auftreten von Vakuolen

In Anrechnung zu bringen sind Umstände, die eine weniger harte Interpretation erfordern, insbesondere Effekte einer floriden Entzündung mit Regeneratepithel, außerdem therapeutische Effekte wie eine laufende oder frühere Strahlen- bzw. Chemotherapie, die à priori geeignet sind, tumorähnliche Veränderungen an Zellen hervorzurufen.

3.2.5 Tumortypisierung in der Routinediagnostik

In der Pap- oder MGG-basierten zytologischen Diagnostik ist es durchaus möglich, bestimmte Tumorarten sicher zu diagnostizieren bzw. wahrscheinlich zu machen. Derartige Überlegungen reichen aber nur selten aus, um heutigen Ansprüchen der Exaktheit und Genauigkeit der Tumortypisierung, von der ja konkrete therapeutische Entscheidungen abhängen, zu genügen. Ein Beispiel dafür wäre eine kräftige Verhornung in einer Zytologie, in der die Tumorzellen in sogenannten fischzugartigen Verbänden liegen und Desmosomen ausbilden - das kann in der Tat nur ein verhornendes Plattenepithelkarzinom sein. Auch Adenokarzinome „im Ganzen“ lassen sich gut erkennen, und oft lässt sich auch eine Tumorherkunft aus der Morphologie heraus vermuten, aber selten beweisen. Gleiches gilt auch für kleinzellig-neuroendokrine Karzinome und manche andere Entitäten.

3.2.6 Ergänzende Tumortypisierung durch Immunzytochemie

Die Immunzytochemie als ergänzende Methode wurde in der Cytopathologie am UKD ca. 2000/2005 etabliert und wird seitdem immer weiter um hinzukommende Marker ergänzt. Von den verschiedenen zur Verfügung stehenden Methoden wird dort die ABC-Methode angewandt.

Dabei wird zunächst das Antigen, das dargestellt werden soll, mit dem Primärantikörper markiert, anschließend wird ein geeigneter, kovalent an Biotin gebundener („biotinylierter“) Sekundärantikörper appliziert, welcher in einer chemischen Reaktion an den Primärantikörper gekoppelt wird. In einem dritten Schritt wird ein Komplex aus Avidin, Biotin und Enzym mit dem biotinylierten Sekundärantikörper zur Reaktion gebracht und das Reaktionsprodukt farblich visualisiert. Dazwischen liegen jeweils Spül- und Differenzierungsvorgänge, die zum einen unspezifischen Färbungen entgegenwirken und zum anderen dafür sorgen sollen, dass ein klares und gut auswertbares, möglichst spezifisches Signal entsteht.

In Tab. 6 sind die einzelnen Schritte des Reaktionsablaufs gemäß den Vorgaben der SOPs dargestellt.

Schritt	Reagenz	Inkubationszeit
1	Xylol	2-mal 10 Minuten
2	Ethanol 100%	10 Minuten
3	Ethanol 100%	10 Minuten
4	Ethanol 96%	10 Minuten
5	Ethanol 96%	10 Minuten
6	PBS-Puffer	5 Minuten
7	Zitratpuffer im Wasserbad	20 Minuten bei 80 °C
8	Objektträger abkühlen lassen	20 Minuten
9	PBS-Puffer	5 Minuten
10	1ml H ₂ O ₂ auf 100 ml Methanol	30 Minuten
11	PBS-Puffer	3-mal 10 Sekunden
12	PBS-Puffer	2-mal 10 Minuten
13	Normalserum	20 Minuten
14	Primärantikörper	12 Stunden bei 25 °C in einer "feuchten Kammer"
15	Tris 0,5M in PBS 1:10	2-mal 5 Minuten
16	Sekundärantikörper	30 Minuten
17	Tris 0,5M in PBS 1:10	2-mal 5 Minuten
18	ABC-Elite Standard Kit	30 Minuten
19	Tris 0,5M in PBS 1:10	2-mal 5 Minuten
20	AEC-Kit	40 Minuten
21	steriles Aqua dest.	2-mal 5 Minuten
22	Mayer Hämatoxylin	1 Minute
23	fließendes Wasser	10 Minuten
24	Eindecken mit Aquatex	

Tab. 6: SOP-basierter Ablauf der manuell durchgeführten immunzytochemischen Färbereaktionen über zwei Arbeitstage. Tag 1: Schritte 1-11, danach Verbleib in PBS-Puffer, Tag. 2: Schritte 12-24

Die wesentlichen Schritte in der Präanalytik sind Schritt 7 (*Antigen retrieval*, d.h. Erhitzen in Zitratpuffer zur besseren Freilegung des Zellantigens), durchgeführt an den am Kern bindenden Antikörpern, und Schritt 10 (Hemmung der endogenen Peroxidase zur Vorbeugung unspezifischer Bindungen). Innerhalb des eigentlichen

Ablaufes der immunologischen Reaktionen sind Schritt 14 (Inkubation mit dem Primärantikörper), Schritt 16 (Inkubation mit dem hierzu korrespondierenden Sekundärantikörper) und die Schritte 18 und 22 (Farbentwicklung am Antigen-Antikörper-Komplex und Gegenfärbung) entscheidend.

Die immunzytochemischen Färbungen wurden in der Cytopathologie am UKD im Zeitraum von 2011 bis 2013, in welche die Studienfälle bearbeitet wurden, noch manuell durchgeführt, woraus auch der zeitliche Aufwand von zwei Arbeitstagen resultiert. Seit etwa 2015/2016 erfolgen alle immunzytochemischen Anwendungen dort mittels Färbeautomaten gewerblicher Anbieter, wodurch sich der zeitliche Rahmen auf einige Stunden an einem einzigen Arbeitstag reduziert hat.

An den 251 Fällen dieser Studie wurden in wechselnder Häufigkeit im Rahmen der Routinediagnostik 16 verschiedene Marker eingesetzt (Tabelle 7).

a) Antikörpername / -charakterisierung, b) Bindungsregion in der Zelle, c) Typische positive Tumoren	Art, Verdünnung, Hersteller, Klon
berEP4 a) EPCAM Antikörper (Epithelial Cell Adhesion Molecule) b) Zellmembran c) Karzinome (in Abgrenzung gegenüber Mesotheliomen)	Monoklonal, 1:200, Dako, Denmark A/S, Klon: Ber-EP4 (4)
CA-125 a) Carbohydrate Antigen oder Cancer Antigen 125 b) Zellmembran teils auch Zytoplasma c) Gynäkologische Adenokarzinome, auch Pankreas-Ca./Colon-Ca. möglich	Monoklonal, 1:200, Leica Biosystems, Klon: OC125
Calretinin a) Calretinin Antikörper b) Zytoplasma c) Mesotheliome (in Abgrenzung gegenüber Karzinomen)	Monoklonal, 1:200, Dako, Denmark A/S, Klon: DAK Calret 1

Tab. 7 (Anfang): Alphabetische Auflistung und vereinfachte Charakterisierung der eingesetzten Primärantikörper (modifiziert und ergänzt nach Kuppuswamy 2017)

a) Antikörpername / -charakterisierung, b) Bindungsregion in der Zelle, c) Typische positive Tumoren	Art, Verdünnung, Hersteller, Klon
cdx-2 a) intestinal-spezifischer-Transkriptionsfaktor; Homeobox- Gen b) Zellkern c) Kolorektale Karzinome; andere Karzinome des Gastrointestinaltraktes	Monoklonal, 1:5000, BioGenex, Den Haag, Nr.MU 392-UC, Klon CDX2-88
CEA a) Carcinoembryonic Antigen Gene Family Antikörper b) Zytoplasma c) Adenokarzinome (in Abgrenzung zu Mesotheliomen)	Monoklonal, 1:100, DCS innovative, Hamburg, Klon: CEA 31
CK 5/6 a) Keratin 5+6 Antikörper gepoolt b) Zytoplasma c) spricht im Gesamtkontext ggfls. für Plattenepithelkarzinom	Monoklonal, 1:100, Dako, Denmark A/S, Klon: D5/16 B4
CK 7 a) Keratin 7 Antikörper b) Zytoplasma c) spricht im Gesamtkontext für nicht-kolorektales Adenokarzinom	Monoklonal, 1:2000, Dako, Denmark A/S, Klon: OV-TL 12/30 (1)
CK 20 a) Keratin 20 Antikörper b) Zytoplasma c) spricht im Gesamtkontext für kolorektales Adenokarzinom	Monoklonal, 1:500, Dako, Denmark A/S, Klon: Ks 20.8
ER (Östrogenrezeptor) a) ER (Estrogen Receptor α / ESR1) b) Zellkern c) Mammakarzinome und gynäkologische Adenokarzinome	Monoklonal, 1:35 bis 1:50, Dako, Denmark, Klon: 1D5
HEA a) HEA / HE4 (WFDC2) (Ep-CAM) b) Zytoplasma hauptsächlich, selten Membran c) Karzinome (in Abgrenzung gegenüber Mesotheliomen)	Monoklonal, 1:100-1:200, Biozol, Klon: HEA125

Tab. 7 (Fortsetzung): Alphabetische Auflistung und vereinfachte Charakterisierung der eingesetzten Primärantikörper (modifiziert und ergänzt nach Kuppuswamy 2017)

a) Antikörpername / -charakterisierung, b) Bindungsregion in der Zelle, c) Typische positive Tumoren	Art, Verdünnung, Hersteller, Klon
Mammoglobin a) Mammoglobin (Mammoglobin A / SCGB2A2) b) Zytoplasma c) Mammakarzinome (nicht sehr sensitiv, aber hochspezifisch)	Monoklonal, 1:100-1:200, Roche, Klon: 31A5
Napsin A a) Napsin a Aspartic Peptidase (NAPSA) Antikörper b) vorwiegend im Zytoplasma c) Adenokarzinome der Lunge, Nierenzellkarzinome	Monoklonal, 1:200, Diagnostic Biosystems, Pleasanton USA, Klon: KCG1.1
p63 a) Tumor Protein p63 Antikörper b) Zellkern c) Plattenepithelkarzinome, Urothelkarzinome	Monoklonal, 1:200, DCS innovative, Hamburg, Klon: SF1-6
Synaptophysin a) Synaptophysin Antikörper b) Zytoplasma c) Tumoren mit neuroendokriner Differenzierung	Monoklonal, 1:100, Dako, Denmark A/S, Klon: SY 38
Thyreoglobulin a) Humanes Thyreoglobulin (hTg) b) Zytoplasma c) Schilddrüsen CA (außer medulläre Formen)	Monoklonal, 1:200, Dako, Denmark, Klon: DAK-Tg6
TTF1 a) Thyroid-Transkriptions-Faktor 1 Antikörper b) Zellkern c) Schilddrüsenkarzinom, Adenokarzinom der Lunge	Monoklonal, 1:200, Arcis, Hiddenhausen, Nr.DM 285, Klon 8G7G3/1 (Monoklonal, 1:200, DCS innovative, Hamburg, Klon: SPT24)

Tab. 7 (Fortsetzung und Ende): Alphabetische Auflistung und vereinfachte Charakterisierung der eingesetzten Primärantikörper (modifiziert und ergänzt nach Kuppuswamy 2017)

Der Einsatz der immunzytochemischen Marker erfolgte fallbezogen, wobei für die konkrete Markerwahl neben der Zahl der vorhandenen geeigneten Präparate auch die Angaben zur Tumoranamnese und zum klinischen Verdacht eine Rolle spielten. Da bekanntermaßen in aller Regel keine singuläre Immunreaktion eine Zuordnung eines Adenokarzinoms zu einem Ursprungsorgan wirklich beweist, werden hierzu sogenannte „Markerpanel“ angewendet, die im Gesamtkontext eine Zuordnung zu einer definitiven Entität erlauben oder zumindest sehr wahrscheinlich machen.

Eine typische Markerkonstellation bei klinischer Frage nach einem Lungenkarzinom (ohne nähere Angaben), das morphologisch nicht-kleinzellig imponiert, könnte beispielsweise die Marker TTF-1, Napsin A und p63 umfassen.

Ergibt sich ohne klinischen Verdacht auf ein bestimmtes Organsystem morphologisch das Bild eines Adenokarzinoms, so wäre ein bestimmtes, etwa 2005 in Düsseldorf entwickeltes Antikörperpanel anwendbar (Abbildung 3).

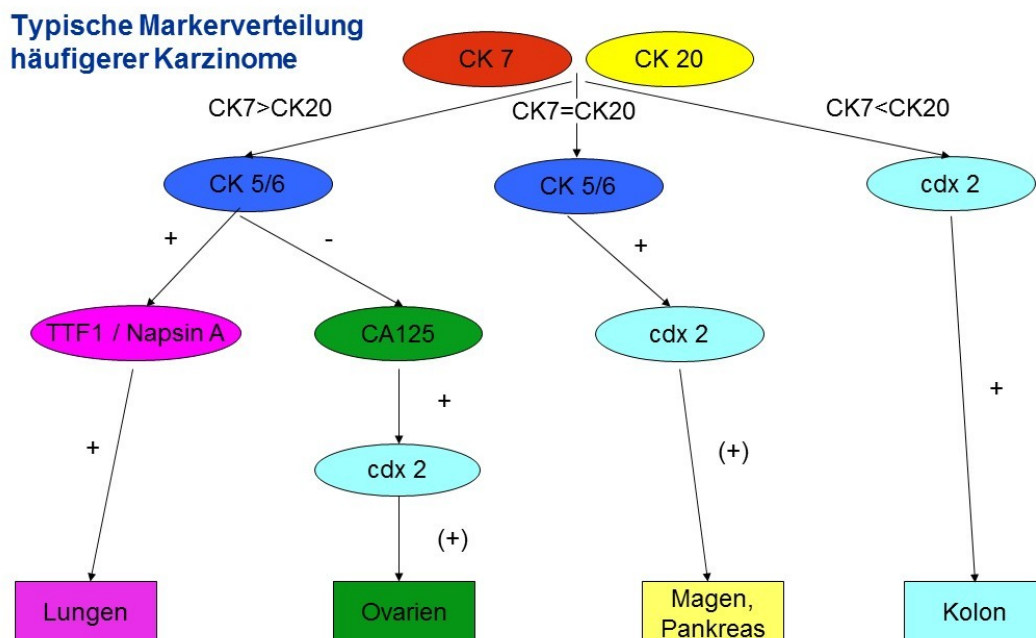


Abb. 3: Algorithmus zur diagnostischen Interpretation der immunzytochemischen Färbeargebnisse bei häufig auftretenden Adenokarzinomen (ohne Berücksichtigung von Mammakarzinomen). Modifiziert nach Pomjanski et al. 2005 (Biesterfeld 2015)

Die Auswertung der immunzytochemischen Färbungen erfolgte im Rahmen der fachärztlichen Befundung semiquantitativ, gerade auch um eine vergleichende Bewertung von einer bestimmten Immunfärbung als gleichartig, stärker oder schwächer im Vergleich zu einer anderen Immunfärbung objektivieren zu können. Gleiches galt für die Auswertung der nachträglichen Napsin A-Bestimmungen. Der verwendete Score ist in Tabelle 8 wiedergegeben.

Semiquantitative Auswertung der Immunzytochemie	
Score	Immunzytochemisches Färbeergebnis
0	Negativität der Tumorzellen
1	< 20% der Tumorzellen positiv
2	20% - 40% der Tumorzellen positiv
3	40% - 60% der Tumorzellen positiv
4	60% - 80% der Tumorzellen positiv
5	> 80% der Tumorzellen positiv

Tab. 8: Semiquantitative Auswertung immunzytochemischer Präparate durch Schätzung der Zahl immunreaktiver Tumorzellen. Die Färbeintensität wird dabei nicht berücksichtigt.

Wendet man dieses Auswerteschema auf eine Anwendung gemäß Abbildung 3 an, so würde man beispielsweise ein Adenokarzinom mit einem Score 1 für CK7, einem Score 4 für CK20 und einer cdx-2-Positivität (etwa Score 3) einem kolorektalen Ursprung zuordnen. Läge hingegen ein Score 5 für CK7, ein Score 1 für CK20 und TTF-1-Positivität vor, so wäre ein pulmonaler Ursprung naheliegend.

„Beweisend“ ist aber kein Ergebnis einer immunzytochemischen Untersuchung. Für alle Marker sind in bestimmten prozentualen Anteilen von Fällen, besonders gut dokumentiert in der seit 2000 von Frisman entwickelten und vom Elsevier-Verlag weitergeführten Online-Datenbank *Immunoquery* (Wheeler 2002, Immunoquery 2026), von der Erwartung abweichende Expressionen möglich (vgl. Jaschinski 2024). Entsprechend muss immer der Grundsatz bedacht werden, dass die Immunzytochemie eine Ergänzung, aber kein Ersatz für die Morphologie ist.

3.3 Statistische Auswertung

Mithilfe des Excel-Programms erfolgte eine deskriptive Auswertung mit Berechnung üblicher Kenngrößen (Mittelwert, Standardabweichung, Median etc.).

Außerdem wurden Vierfelder- bzw. Mehrfelder-Tafeln aufgestellt und bezüglich der Beziehungen zwischen den dargestellten Variablen ausgewertet. Statistisch wurden diese unter Angabe von Übereinstimmungen und Abweichungen der jeweils verglichenen Größen mit dem Pearson-Chi²-Test ausgewertet (Lenhard 2026, Statologie 2026). Diese Darstellungen sind analog zu solchen zur Berechnung von Sensitivität, Spezifität, positivem und negativem Prädiktionswert etc., entsprechen ihnen aber, wie im letzten Abschnitt vom Kapitel 3.2.6 ausgeführt, aufgrund der bekannten möglichen, vom „Üblichen“ abweichenden Reaktionen, nicht wirklich, da es kein definitives „richtig“ oder „falsch“ (-positiv oder -negativ) in der Immunzytochemie gibt. Dies gilt insbesondere für die Spezifität; hierauf wird in der Diskussion an geeigneter Stelle eingegangen.

4 Ergebnisse

4.1 Enddiagnosen der Patienten

Insgesamt erwiesen sich somit 151 Fälle als Adenokarzinome der Lunge (60,2%), 100 als andere Malignome (39,8%).

80 der 100 Fälle konnten abschließend geklärt werden, wobei die Plattenepithelkarzinome der Lunge (n = 24) den größten Anteil stellten, gefolgt von Adenokarzinomen der Mamma (n = 15), des Ovars (n = 11) und des Pankreas (n = 7). Außerdem kamen vier neuroendokrine Lungenkarzinome vor, eines davon kleinzellig, ferner weitere Einzelfälle anderer Karzinome und sieben „Nicht-Karzinome“, nämlich vier maligne Mesotheliome der Pleura, zwei primäre Sarkome der Lunge und eine Lungenmetastase eines malignen Melanoms mit unklarem Sitz des Primärtumors.

20 Fälle konnten nicht ganz eindeutig topographisch oder von Seiten der zugrunde liegenden Entität geklärt werden (7,8%).

- Bei sieben metastatisch in mediastinalen Lymphknoten (n = 5) bzw. in der Pleurahöhle (n = 2) dargestellten Plattenepithelkarzinomen blieb der Primärtumor unklar. Hier kämen aus topographischer Sicht in erster Linie zwar Plattenepithelkarzinome der Lunge in Betracht. Denkbar wären aber auch Tumorentstehungen z.B. im Ösophagus oder im Kopf-Hals-Bereich.
- Bei vier Karzinomen in der Lunge und drei Pleurakarzinosen wurde ein „nicht-kleinzelliges Karzinom“ diagnostiziert (NSCLC). Eine weitergehende Differenzierung (Adenokarzinom vs. Plattenepithelkarzinom) war aber weder bei uns zytologisch, noch auswärts histologisch sicher möglich.
- Drei Lungenkarzinome wurden als adenosquamöses Karzinom eingestuft.
- Eine Metastase eines Adenokarzinoms in der Nebenniere ließ sich nicht sicher zuordnen, und bei jeweils einem weiteren Adenokarzinom ließ sich differentialdiagnostisch nicht zwischen Magen und Pankreas bzw. zwischen Ovar und Colon als Herkunftsort entscheiden.

Die abschließend gestellten Diagnosen der Patienten zeigt Tab. 9, die Beziehung zwischen Entnahmelokalisation und den Enddiagnosen der Patienten Tab. 10.

Entität	Männer	Frauen	Gesamt
Adenokarzinome	113	85	198
Lunge	96	55	151
Andere Organe	17	30	47
Mamma	0	15	15
Ovar	0	11	11
Pankreas	6	1	7
Colon	5	0	5
Niere	1	1	2
Prostata	1	0	1
Magen	1	0	1
Schilddrüse	0	1	1
Urachus	1	0	1
Magen oder Pankreas	1	0	1
Ovar oder Colon	0	1	1
Nebenniere (*)	1	0	1
Plattenepithelkarzinome	21	10	31
Lunge	15	9	24
Andere Organe	6	1	7
Lymphknoten (*)	4	1	5
Pleura (*)	2	0	2
Andere Karzinome	13	2	15
Lunge	9	2	11
nicht-kleinzellig	4	0	4
adenosquamös	3	0	3
neuroendokrin	2	1	3
kleinzellig-neuroendokrin	0	1	1
Andere Organe	4	0	4
Pleura, nicht kleinzellig (*)	3	0	3
Harnwege	1	0	1
Andere Malignome	5	2	7
Lunge	2	0	2
Sarkom	2	0	2
Andere Organe	3	2	5
Malignes Mesotheliom	2	2	4
Melanom (*)	1	0	1

Tab. 9: Detaillierte Darstellung der abschließenden klinischen Diagnosen, bezogen auf den Primärtumor auf alle 251 Proben von 143 Männern und 95 Frauen. Metastatische Absiedlungen, die nicht klar einem Primärtumor zugeordnet werden konnten, sind mit dem Symbol (*) markiert.

Entität /	n	Entnahmelokalisation					
		Erg	Lu	Lk	Le	NN	Pan
Adenokarzinome	198						
Lunge	151	74	50	26	1	1	
Mamma	15	12		3			
Ovar	11	11					
Pankreas	7	3	1	1	1		1
Colon	5	1	1	1	2		
Niere	2		1	1			
Prostata	1			1			
Magen	1			1			
Schilddrüse	1	1					
Urachus	1		1				
Magen / Pankreas	1	1					
Ovar / Colon	1	1					
Nebenniere (*)	1					1	
Plattenepithelkarzinome	31						
Lunge	24	2	19	3			
Lymphknoten (*)	5			5			
Pleura (*)	2	2					
Andere Karzinome	15						
Lunge							
nicht-kleinzellig	4	1	1		2		
adenosquamös	3		2	1			
neuroendokrin	3	1	1	1			
klz.-neuroendokrin	1				1		
Pleura, nicht-klz. (*)	3	3					
Harnwege	1		1				
Andere Malignome	7						
Sarkom Lunge	2	1	1				
Malignes Mesotheliom	4	3	1				
Melanom (*)	1		1				
Insgesamt	251	116	81	44	7	2	1

Tab. 10: Entnahmelokalisationen der 251 Proben. Erg = Ergüsse, Lu = Lunge (Abstriche, Sekrete, Lavagen, Punktate), Lk = Lymphknoten, Le = Leber, NN = Nebenniere, Pan = Pankreas

Von den 251 Proben stammten 116 aus Punktionen von Körperhöhlenergüssen (46,2%) und 81 aus der Lunge (32,3%, hierbei subsummiert Bronchialsekrete, Bronchialbürstungen, Lavagen und Feinnadelpunktate). Außerdem wurden Feinnadelaspirate bzw. Punktate untersucht, und zwar 44 aus Lymphknoten (17,5%), sieben aus der Leber (2,8%), zwei aus der Nebenniere (0,8%) und eines aus dem Pankreas (0,4%). Innerhalb der Gruppe der Körperhöhlenergüsse stammten die allermeisten aus der Pleura (n = 108) und einzelne aus dem Perikard (n = 7) bzw. dem Peritoneum (Aszites, n = 1).

4.2 Entitäten-bezogene Altersverteilung der Patienten

Die Angabe einer Altersverteilung ist nur bezogen auf Entitäten sinnvoll, die mit einer hinreichenden Zahl von Fällen im Patientenkollektiv vertreten waren. In Tab. 11 sie wiedergegeben für Konstellationen mit n > 10 Proben.

Entität	Alter Männer	Alter Frauen	Gesamtzahl der Tumoren
	MW + /- SD	MW + /- SD	
Alle Tumoren	67,8 +/-11,8	69,3 +/- 11,8	251
Adenokarzinome Lunge	68,9 +/- 11,8	68,4 +/- 12,0	151
Plattenepithelkarzinome Lunge	67,9 +/- 10,2	68,3 +/- 7,5	24
Nicht-Adenokarzinome Lunge	66,3 +/- 10,2	67,5 +/- 9,1	35
Adenokarzinome Mamma	-	69,3 +/- 14,7	15
Magen-Darm-Karzinome	61,2 +/- 12,3	-	12
Adenokarzinom Ovar	-	71,0 +/- 11,6	11

Tab. 11: Altersverteilung von Tumorentitäten bzw. -entitätengruppen von mindestens 10 Patienten; Angabe von Mittelwerten +/- Standardabweichung (SD) in Jahren. Die Gruppe der „Nicht-Adenokarzinome Lunge“ enthält die 24 Plattenepithelkarzinome und die 11 Fälle, die als nicht-kleinzellig, adenosquamös, neuroendokrin oder kleinzellig-neuroendokrin abgeschlossen worden waren. Die Gruppe „Magen-Darm-Karzinome“ der Männer umfasst die 11 Karzinome des Colons, des Magens, des Pankreas und den einen Fall, bei dem sich zwischen einer Tumorherkunft aus Magen oder Pankreas nicht entscheiden ließ. Die beiden Fälle von Frauen blieben wegen der mangelnden Repräsentativität der Datenverteilung unberücksichtigt.

4.3 Diagnostische Auswertung der Immunzytochemie

4.3.1 Eingesetzte immunzytochemische Marker

Für alle 251 Proben lag aus der primären Diagnostik ein Ergebnis zur TTF-1-Expression vor. 112 Proben waren bereits primär auch mit Napsin A untersucht worden, bei den übrigen 139 Proben wurde dieses im Rahmen dieser Studie nachgeholt. Darüber hinaus wurden sporadisch bzw. in Paneln 14 weitere Marker an verschiedener Zahl von Proben angewandt (Tabelle 12).

Entität	n	Immunhistochemischer Marker													
		p 6 3	C K 5 / 6	C K 7	C K 2 0	c d x - 2	C a 1 2 5	b e r E P 4	H E A 1 2 5	C a l	S y n	M a g l o	C E A	E R	H T G
Adenokarzinome	198														
Lunge	151	90	45	45	44	44	16	8	1	4	2	4	7	5	
Mamma	15		7	7	7	7	11				1	8	3	7	
Ovar	11	1	8	8	7	8	9					1	6		
Pankreas	7	1	5	6	6	5		1					1		
Colon	5	2	3	4	5	5							1		
Niere	2	1													
Prostata	1														
Magen	1		1	1	1	1									
Schilddrüse	1					1	1								1
Urachus	1			1	1										
Magen / Pankreas	1		1	1	1	1									
Ovar / Colon	1					1	1						1		
Nebenniere	1	1													
Plattenepithelkarzinome	31														
Lunge	24	20	1	2	2	2		1			1				
Lymphknoten	5	5													
Pleura	2	1						1	1						

Tab. 12 (Anfang): Detaillierte Darstellung von 569 weiteren immunzytochemischen Untersuchungen an den 251 Proben; weitere Erläuterungen siehe umseitig.

Entität	n	Immunhistochemischer Marker													
		p 6 3	C K 5 / 6	C K 7	C K 2 0	c d x - 2	C a 1 2 5	b e r e P 4	H E A 1 2 5	C a l	S y n	M a g l o	C E A	E R	H T G
Andere Karzinome	15														
Lunge															
nicht-kleinzellig	4	3	1	2	1	1		1							
adenosquamös	3	3													
neuroendokrin	3	1	1	1	1						2				
klz.-neuroendokrin	1														
Pleura, nicht-klz.	3	2	1	1	1	2									
Harnwege	1	1	1	1	1										
Andere Malignome	7														
Malignes Mesotheliom	4	1	2	2	2	2	1	3	1	3			1		
Sarkom Lunge	2							2							
Melanom (*)	1														
Insgesamt	251	133	77	82	80	80	39	17	3	7	6	13	20	12	1

Tab. 12 (Fortsetzung und Ende): Detaillierte Darstellung von 570 weiteren immunzytochemischen Untersuchungen an den 251 Proben; für die in der Tabelle nicht erwähnten Marker TTF-1 und Napsin A waren die Untersuchungen an allen Proben komplett. Cal = Calretinin, Syn = Synaptophysin, Maglo = Mammoglobin. Weitere Erläuterungen zu den Markern siehe Material und Methoden.

Die Marker CK5/6, CK7, CK20 und cdx-2 wurden ganz überwiegend als Panel zur Tumortypisierung von Adenokarzinomen angewandt, weswegen sie etwa gleich häufig (n = 77 bis n = 82) vorkamen. p63 wiederum als Marker für eine plattenepitheliale Differenzierung wurde vorwiegend bei Verdacht oder auch zum Ausschluss von Plattenepithelkarzinomen eingesetzt (n = 133), was die hohe Zahl von Anwendungen erklärt, die insgesamt einem Lungenkarzinom zugeordnet wurden.

4.3.2 TTF-1- und Napsin A-Immunzytochemie in der Diagnostik von Adenokarzinomen der Lunge: Qualitative Auswertung

4.3.2.1 Diagnostische Aussagekraft von TTF-1 und Napsin A als singuläre immunzytochemische Marker

Bei der qualitativen Auswertung wurden Fälle mit Score 0 als negativ und Fälle mit den Scores 1 - 5 als positiv gewertet. Die Treffsicherheit der beiden Marker wird im Folgenden zunächst jeweils einzeln, bezogen auf Adenokarzinome der Lunge bzw. „nicht-plattenepitheliale Lungenkarzinome“ der Lunge im Vergleich zu den verbleibenden „übrigen Tumoren“ dargestellt. Unter den „nicht-plattenepithelialen Lungenkarzinomen“ werden die Adenokarzinome, die adenosquamösen Karzinome und die neuroendokrinen bzw. kleinzellig-neuroendokrinen Karzinome subsummiert.

Tabelle 13 zeigt die Datenverteilung für TTF-1, die hoch signifikante Unterschiede zwischen den verglichenen Gruppen belegte (jeweils $p < 0,0001$).

Diagnostische Aussagekraft von TTF-1			
	+	-	Gesamt
Adenokarzinome Lunge	113	38	151
Übrige Tumoren	3	97	100
Gesamt	116	135	251
Nicht-plattenepitheliale Lungenkarzinome	115	47	162
Übrige Tumoren	1	88	89
Gesamt	116	135	251

Tab. 13: Vier-Felder-Tafel zur diagnostischen Aussagekraft von TTF-1 an allen 251 Tumorproben. Pearson-Chi²-Test: jeweils $p < 0,0001$ (signifikant)

TTF-1 wurde von 113 der 151 Adenokarzinome der Lunge (74,8%) bzw. von 115 der 162 nicht-plattenepithelialen Lungenkarzinomen (71,0%). Nur drei Fälle, die nicht als Adenokarzinom der Lunge klassifiziert wurden, waren TTF-1-positiv, darunter zwei Fälle, die aber zu oberbegrifflichen Gruppe der nicht-plattenepithelialen Lungenkarzinome gehörte. Sie wurden als adenosquamöses Karzinom bzw. als kleinzellig-neuroendokrines Karzinom abgeschlossen.

Nur ein einzelner Fall eines nicht den Lungen zugeordneten Karzinoms (siehe hierzu Kapitel 4.3) war TTF-1- positiv (1/89, 1,1%).

Die Datenverteilung für Napsin A ist in Tabelle 14 wiedergegeben. Auch hier zeigte sich ein hochsignifikant unterschiedliches Expressionsmuster zwischen den verglichenen Gruppen.

Diagnostische Aussagekraft von Napsin A			
	+	-	Gesamt
Adenokarzinome Lunge	108	43	151
Übrige Tumoren	5	95	100
Gesamt	113	138	251
Nicht-plattenepitheliale Lungenkarzinome	111	51	162
Übrige Tumoren	2	87	89
Gesamt	113	138	251

Tab. 14: Vier-Felder-Tafel zur diagnostischen Aussagekraft von Napsin A an allen 251 Tumorproben. Pearson-Chi²-Test: jeweils p < 0,0001 (signifikant)

Von den Adenokarzinomen der Lunge waren insgesamt 108 Napsin A-positiv (71,5%), von den nicht-plattenepithelialen Lungenkarzinomen 111 (68,5%). Fünf Fälle, die nicht als Adenokarzinom der Lunge klassifiziert wurden, exprimierten Napsin A, von welchen aber drei zu den weiteren nicht-plattenepithelialen Lungenkarzinomen gehörten.

Zwei der 89 Fälle (2,2%) von nicht der Lunge zugehörnden Karzinomen (siehe hierzu Kapitel 4.3) war positiv für Napsin A, darunter das oben erwähnte Karzinom, das auch eine TTF-1-Expression gezeigt hatte.

4.3.2.2 Korrelation der TTF-1- und der Napsin A-Expression

Die Verteilung der Expressionen von TTF-1 und von Napsin A ist in Tabelle 15 wiedergegeben. In 210 Fällen (83,7%) waren beide Marker entweder positiv (n = 94) bzw. negativ (n = 116), in 19 bzw. 22 Fällen war einer der beiden Marker positiv, der andere negativ (16,3%). Diese Korrelation war hochsignifikant, zeigt aber auch, dass in fast genau jedem sechsten Fall TTF-1 und Napsin A nicht gleichgerichtet reagieren.

Korrelation TTF-1 und Napsin A (alle Fälle)			
TTF-1	Napsin A		
	+	-	Gesamt
+	94	22	116
-	19	116	135
Gesamt	113	138	251

Tab. 15: Vier-Felder-Tafel zur Expression von TTF-1 und Napsin A an allen 251 Tumorproben. Übereinstimmung (Konvergenz): 83,7% (210/251). Pearson-Chi²-Test: $p < 0,0001$ (signifikant)

Tabelle 16 zeigt die statistisch hochsignifikanten Zusammenhänge zwischen der Expression beider Marker getrennt für Adenokarzinome und nicht-plattenepitheliale Lungenkarzinome im Vergleich zu den übrigen Tumoren.

Korrelation TTF-1 und Napsin A (Adenokarzinome Lunge)			
TTF-1	Napsin A		
	+	-	Gesamt
+	91	22	113
-	17	21	38
Gesamt	108	43	151
Korrelation TTF-1 und Napsin A (nicht-plattenepitheliale Lungenkarzinome)			
TTF-1	Napsin A		
	+	-	Gesamt
+	93	22	115
-	18	29	47
Gesamt	111	51	162

Tab. 16: Vier-Felder-Tafeln zur Expression von TTF-1 und Napsin A an 151 Tumorproben von Adenokarzinomen der Lunge bzw. 162 nicht-plattenepithelialen Lungenkarzinomen. Übereinstimmung (Konvergenz) bei den Adenokarzinomen 74,2% (112/151), bei den nicht-plattenepithelialen Lungenkarzinomen 75,3% (122/162). Pearson-Chi²-Test: jeweils $p < 0,0001$ (signifikant)

Innerhalb der Fälle, die nur einen der beiden Marker exprimierten, zeigt sich ein leichter Trend in Richtung [TTF-1 + / Napsin A -] von 22:17 bzw. 22:18; insgesamt sind aber die abweichenden Expressionen am Ende als vergleichbar häufig anzusehen. Auch wenn die Korrelationen in den Vier-Felder-Tafeln im Chi²-Test jeweils hochsignifikant bleiben, ergibt sich eine nicht gleichgerichtete Expression bei den Lungenkarzinomen von letztendlich fast genau 25%, unabhängig davon,

welchen der beiden Vergleichen man betrachtet. Entsprechend stellt sich die Frage, inwieweit sich beider Marker in ihrer diagnostischen Bedeutung ergänzen.

4.3.2.3 Ergänzende diagnostische Aussagekraft von Napsin A zum Goldstandard TTF-1

Im Versuchsaufbau war TTF-1 als Goldstandard in der morphologischen Diagnostik von Adenokarzinomen der Lunge vorausgesetzt worden, auch wenn TTF-1 vor allem an Histologien, weniger an Zytologien validiert war. Den möglichen Zuwachs an identifizierten Fällen durch die Napsin A-Immunzytochemie zeigt Tabelle 17, der Effekt selber dargestellt in Rot.

Synergistische diagnostische Aussagekraft von Napsin A im Vergleich zum Goldstandard TTF-1				
Entität	Immunzytochemisches Profil			Gesamt
	TTF-1 +	TTF-1 - / Napsin A +	TTF-1 - / Napsin A -	
Adenokarzinome der Lunge	113 74,8%	17 11,3%	21 13,9%	151 100%
Nicht- plattenepitheliale Lungenkarzinome	115 71,0%	18 11,1%	29 17,9%	162 100%

Tab. 17: Darstellung der Synergieeffekte der Napsin A-Immunzytochemie an 151 Tumorproben von Adenokarzinomen der Lunge bzw. 162 nicht-plattenepithelialen Lungenkarzinomen bei vorgegebener Positivität oder Negativität von TTF-1. Rot dargestellt: 17 Adenokarzinome der Lunge (11,3%) bzw. 18 nicht-plattenepitheliale Lungenkarzinome (11,1%) wären durch die Hinzunahme der Napsin A-Immunzytochemie identifiziert worden.

Wie oben unter 4.2.2.1 dargestellt, war die TTF-1-Immunzytochemie in 113 der 151 Adenokarzinome positiv, was einer Sensitivität von 74,8% entsprach. In 91 dieser 113 Fälle war auch Napsin A positiv und wurde darüber hinaus auch in 17 TTF-1-negativen Adenokarzinomen exprimiert. Insgesamt exprimierten somit 130 Adenokarzinome TTF-1 und / oder Napsin A. Nähme man diese 17 ausschließlich

Napsin A-positiven Fälle als diagnostischen Zugewinn an, so steigerte sich die Sensitivität auf 86,1%.

Drehte man hingegen versuchsweise den Spieß um und setzte Napsin A als Standard, dann wäre die anfängliche Sensitivität mit 108 positiven Fällen (71,5%) etwas geringer und würde durch 21 Napsin A-negative, aber TTF-1-positive Fälle wieder auf 85,4% gesteigert.

Für die nicht-plattenepithelialen Lungenkarzinome ergäben sich sehr gut vergleichbare Zahlen. Für TTF-1 als Standard wäre die durch TTF-1-Positivität gegebene Sensitivität 71,0% (115/162), die sich durch Napsin A-Expression von 18 der 47 der TTF-1-negativen Fälle auf 82,1% (133/162) erhöhen ließe. Bei umgekehrtem Ansatz ergäbe sich an Werten 68,5% (111/162) und später wieder 82,1% (133/162).

Allerdings müssen diese Ergebnisse, was den Zuwachs an diagnostischer Aussagekraft betrifft, im Kontext eines Falles gesehen werden, der bei TTF-1-Negativität stark positiv gegenüber Napsin A war, aber nicht einem Adenokarzinom der Lunge oder einem nicht-plattenepithelialen Lungenkarzinom entsprach (siehe Kapitel 4.3).

4.3.3 TTF-1- und Napsin A-Immunzytochemie in der Diagnostik von Adenokarzinomen der Lunge: Quantitative Aspekte

Die semiquantitative Auswertung der Markerexpressionen in der Immunzytochemie mithilfe eines von 1 bis 5 reichenden Scores ist in der Cytopathologie am UKD seit vielen Jahren etabliert und wurde für alle Marker routinemäßig durchgeführt. Dies galt auch für die Auswertungen der nachträglich vorgenommenen 139 Napsin A-Färbungen, die den Routineuntersuchungen im Rahmen unserer Studie hinzugefügt wurden. Der Score (siehe Material und Methoden) berücksichtigt ausschließlich die geschätzte Zahl der für den Marker positiven Tumorzellen, nicht hingegen die Färbeintensität.

In den folgenden tabellarischen Aufstellungen für Adenokarzinome der Lunge (Tabelle 18) und nicht-plattenepitheliale Lungenkarzinome (Tabelle 19) sind negative Fälle mit einem Score 0 belegt worden.

Semiquantitative Bestimmung der TTF-1- und der Napsin A-Expression: Adenokarzinome der Lunge							
TTF-1	Napsin A						
	0	1	2	3	4	5	Gesamt
0	37					1	38
1	6	19	2				27
2			8				8
3			2	12			14
4				6	19	5	30
5						34	34
Gesamt	43	19	12	18	19	40	151

Tab. 18: Vergleich der semiquantitativen Bestimmung der Expression von TTF-1 und Napsin A bei 151 Adenokarzinomen der Lunge.

Übereinstimmung der Expressionsstärke (Konvergenz) 85,4% (129/151), bezogen auf alle Fälle, bzw. 80,7% (92/114), bezogen auf die Fälle mit Expression mindestens von einem der beiden Marker. Chi²-Test: $p < 0,0001$ (signifikant)

Semiquantitative Bestimmung der TTF-1- und der Napsin A-Expression: Nicht-plattenepitheliale Lungenkarzinome							
TTF-1	Napsin A						
	0	1	2	3	4	5	Gesamt
0	45	1				1	47
1	6	20	2				28
2			8				8
3			2	12			14
4		1		6	19	5	31
5						34	34
Gesamt	51	22	12	18	19	40	162

Tab. 19: Vergleich der semiquantitativen Bestimmung der Expression von TTF-1 und Napsin A bei 162 nicht-plattenepithelialen Lungenkarzinomen.

Übereinstimmung der Expressionsstärke (Konvergenz) 85,2% (138/162), bezogen auf alle Fälle, bzw. 79,5% (93/117), bezogen auf die Fälle mit Expression mindestens von einem der beiden Marker. Chi²-Test: $p < 0,0001$ (signifikant)

Die Datenverteilungen zeigen, dass nicht nur eine hohe Konvergenz der Expressionsstärken bezogen auf die exakt gleiche Kategorie besteht, sondern dass darüber hinaus auch die abweichenden Expressionen ganz überwiegend nur eine Abweichung um einen Score nach oben oder unten (+/- 1) zeigten. Nur zwei Fälle zeigten einen stärkeren Unterschied im Scoring zwischen TTF-1 und Napsin A, nämlich einer mit einem Ergebnis (0 / 5, Adenokarzinom) und einer mit einem Ergebnis (4 / 1, nicht-plattenepitheliales Lungenkarzinom [Kleinzeller]).

Bei diesen im Ganzen nur geringen Unterschieden erschien eine weitere Vertiefung hier nicht zielführend; es gibt keine Anzeichen dafür, dass über die qualitative Auswertung hinaus diagnostisch nutzbare Ergebnisse durch eine weitere Betrachtung der semiquantitativen Daten herauszuarbeiten gewesen wären.

4.3.4 Ergänzung von TTF-1 und Napsin A durch p63 zur Abgrenzung von Plattenepithelkarzinomen

Im Hinblick auf eine p63-Expression wurden 133 der 251 Proben (53,0%) untersucht, von denen 103 negativ und 30 und damit ca. ein Viertel (22,6%) positiv waren.

Von den 31 Plattenepithelkarzinomen exprimierte keines TTF-1 oder Napsin A. In 26 Fällen (83,9%) wurde als weiterer Marker p63 eingesetzt. Jeweils 13 von ihnen waren für diesen Marker negativ bzw. positiv, so dass sich im Hinblick auf die Detektion einer plattenepithelialen Differenzierung eine Sensitivität von 50% ergab. Innerhalb der 24 der 31 Plattenepithelkarzinome, die einem Primärtumor in der Lunge zugeordnet werden konnten, war die Verteilung identisch. Von 20 mit p63 untersuchten Fällen (83,3%) war auch hier jeweils die Hälfte negativ bzw. positiv.

Von den übrigen 107 p63-Untersuchungen waren 90 negativ, 17 positiv. Die 90 negativen Fälle betrafen vor allem Adenokarzinome der Lunge, ferner einige anderweitig entstandene Karzinome und ein malignes Mesotheliom. Von den positiven Fällen betrafen 14 betrafen Adenokarzinome der Lunge, einer ein adenosquamöses Lungenkarzinom und zwei ein nicht-kleinzelliges Karzinom der Lunge. In acht dieser Fälle waren TTF-1 und Napsin A negativ, dennoch wurden die

Fälle in der Zusammenschau von Morphologie, Immunzytochemie sowie Klinik und Bildgebung abschließend als Adenokarzinome (n = 7) bzw. nicht-kleinzelliges Karzinom (n = 1) eingestuft und als solche in dieser Studie behandelt.

4.3.5 Ergänzung von TTF-1 und Napsin A durch das Markerpanel zur Erkennung anderweitig entstandener Adenokarzinome

Bei der Durchsicht der Datenbank ergaben sich hier komplexe Zusammenhänge, die hier nicht referiert werden können. Die diagnostischen Wechselwirkungen zwischen dem Markerpaar TTF-1 / Napsin A und den vier Markern des Markerpanels (CK5/6, CK7, CK20 und cdx-2) waren vielfältig, wurden dann aber unter Zugrundelegung der Morphologie und dem in Material und Methoden dargestellten Score-basierten Algorithmus interpretiert und auf die klinisch-bildgebenden Erkenntnisse bezogen.

4.4 Falldokumentationen der TTF-1- und Napsin A-positiven Malignome, die nicht zu den Adenokarzinomen der Lunge bzw. den nicht-plattenepithelialen Lungenkarzinomen gehörten

Nur zwei der 100 Fälle, die nicht zu den Adenokarzinomen der Lunge bzw. den nicht-plattenepithelialen Lungenkarzinomen gehörten, exprimierten TTF-1 (n = 1) und / oder Napsin A (n = 2).

1: Der eine Fall betraf eine 81-jährige Patientin, bei der am Sana Krankenhaus Gerresheim ein Pleuraerguss punktiert worden war. Anamnestisch war bei ihr ein Schilddrüsenkarzinom bekannt, vermutet wurde eine Lungenmetastase mit Pleurakarzinose dieses Tumors. Im Punktat fanden sich diverse gruppiert angeordnete maligne epitheliale Tumorzellen. Diese exprimierten stark TTF-1 (Score 5), HTG (Score 5) und CA-125 (Score 3) und waren für cdx-2 negativ (Score 0). Entsprechend wurde bei diesem typischen Expressionsmuster das Vorliegen einer Pleurakarzinose des Schilddrüsenkarzinoms bestätigt. Die nachträgliche Bestimmung der Napsin A-Expression ergab dann ebenfalls eine starke Expression (Score 4) (Abb. 4).

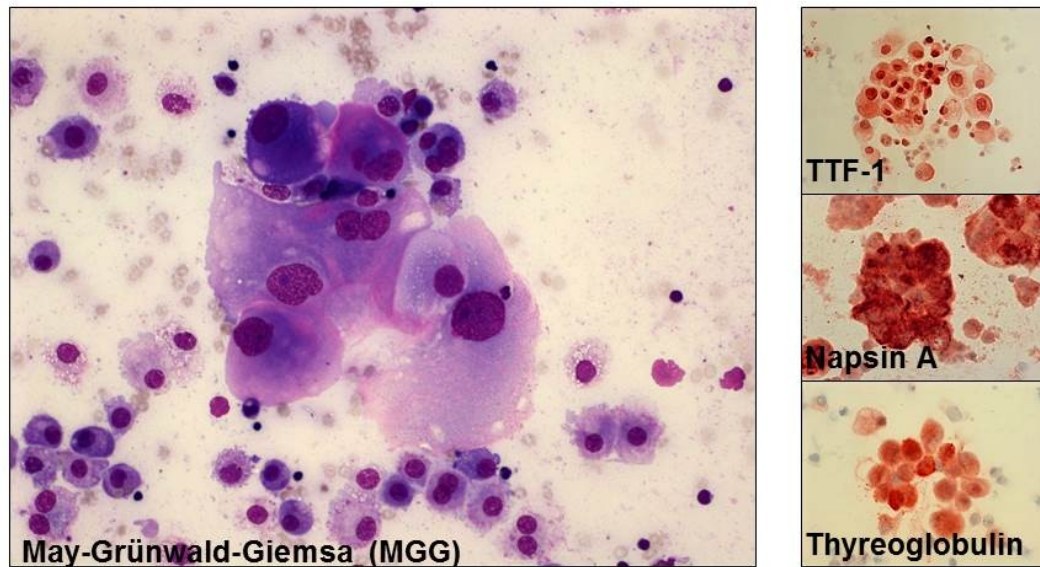


Abb. 4: Zytologische Bilder einer Pleurakarzinose eines Schilddrüsenkarzinoms (MGG-Färbung) mit TTF-1-, Napsin A- und Thyreoglobulin-Expression

2: Beim zweiten Fall handelte es sich um eine 77-jährige Patientin, bei der am Florence-Nightingale-Krankenhaus in Kaiserswerth eine Pleurapunktion vorgenommen worden war. Zytologisch fanden sich reichlich gruppiert angeordnete Tumorzellen, die zunächst im Hinblick auf die Zuordnung zu einer epithelialen Genese oder einer mesothelialen Genese untersucht wurden. Dabei zeigte sich eine starke Ko-Expression der für Epithelien typischen Marker berEP4 und HEA (jeweils Score 4) und des für Mesothelien typischen Markers Calretinin (Score 5), so dass in dieser „ersten Runde“ eine Unterscheidung zwischen einer Karzinominfiltration und einem malignen Mesotheliom nicht möglich war.

Daraufhin wurde das Markerpanel erweitert und ergab bei Negativität für TTF-1 eine starke Positivität für CK5/6 (Score 5). Abschließend wurde ein malignes epitheliales Mesotheliom diagnostiziert und später referenzpathologisch an einer pleuralen Histologie am Mesotheliomregister in Bochum bestätigt. Bei der nachträglichen Bestimmung der Napsin A-Expression wurde eine starke Expression dieses Markers nachgewiesen (Score 5), die Diagnose aber auf der Basis der Referenzpathologie unverändert belassen.

Beide Fälle zusammenfassend zeigte TTF-1, ohne hier der Diskussion vorgreifen zu wollen, jeweils die zu erwartende typische, also richtig positive (Schilddrüsen-

karzinom) bzw. richtig negative (Mesotheliom) Expression, während Napsin A bei beiden Fällen eher unerwartet positiv war.

4.5 Falldokumentationen der 13 Patienten, die mit zwei Proben in der Studie vertreten sind

Im Rahmen der Versuchsplanung war überlegt worden, ob man bei den 13 Patienten, denen zweimal Untersuchungszeitraum Proben entnommen worden waren, nur die erste Tumorzell-positiven Probe oder beiden Proben berücksichtigen sollte. Es wurde entschieden, beide Proben zuzulassen und die Ergebnisse an diesen Fällen gesondert zu dokumentieren.

Falldokumentationen

Insgesamt lagen bei 13 Patienten zwei Eingangsmaterialien vor.

1-8: Acht Fälle (66,7%) entstammten gemäß den Unterlagen Adenokarzinomen der Lunge, wobei in sieben Fällen zweimal das Material aus dem gleichen Organsystem entnommen wurde (4 x Pleura, 2 x Lymphknoten, 1 x Bronchus). Bei einem Fall lagen Einsendungen aus dem Perikard bzw. einem Lymphknoten vor. Fünf dieser Fälle zeigten in beiden Proben gleichartige Resultate für TTF-1 und Napsin A, wobei aber zum Teil unterschiedliche Scores vorkamen. Jeweils einmal war in einer beiden Proben TTF-1 oder Napsin A positiv, in der anderen negativ, während der andere Marker seine Ausprägung behielt. In einem Fall waren in einer Probe beide Marker negativ, in der anderen positiv.

9: In einem Fall war an zwei Pleurapunktaten jeweils ein Adenokarzinom diagnostiziert worden, das bei TTF-1-Positivität einiger Tumorzellen (Score 1) und in einer Probe nachweisbarer (Score 3), in der anderen Probe fehlender Napsin A-Expression einem Primärtumor der Lunge zugeordnet worden war. Auch der allgemeine Marker für Adenokarzinome, das CK7, war jeweils positiv (Score 5), und p63 als plattenepithelialer Marker wurde mangels morphologischer Hinweise auf eine solche Differenzierung erst gar nicht untersucht.

Im abschließenden Arztbrief war dann aber allgemeiner von einem „nicht-kleinzelligen Karzinom“ der Lunge die Rede, so dass man klinisch der Zuordnung zu einem Adenokarzinom (und damit Ausschluss eines Plattenepithelkarzinoms) nicht folgen mochte. Warum dieses so war, ließ sich nicht mehr aufklären.

10: Von einem Patienten wurden relativ zeitnah zwei Bronchialsekrete untersucht. Beide ergaben übereinstimmend Tumorzellen eines Plattenepithelkarzinoms. Das Immunprofil war jeweils in beiden Proben identisch (TTF-1 und Napsin A negativ, p63 positiv mit Score 4).

11: Zwei zeitgleich eingesandte Pleurapunktate beidseits wiesen jeweils Tumorzellen eines Adenokarzinoms auf, das TTF-1- und Napsin A-negativ war. Eines der beiden Punktate wurden ergänzend weiteruntersucht und wiesen ein Immunprofil auf, das eine starke CK7- (Score 4) und eine starke CK20-Expression (Score 5) aufwies und auch für cdx-2 positiv war (Score 1). Entsprechend wurde eine Tumorerkrankung im oberen Gastrointestinaltrakt (Magen/Pankreas/Gallenwege) favorisiert; ein eindeutiger Primärtumor wurde aber nicht identifiziert.

12: Dieser Fall zeigte Tumorzellen eines Ovarialkarzinoms. Beide Proben stammten aus Pleuraergüssen bei klinisch bekannten Lungenmetastasen. Die Tumorzellen in beiden Proben waren erwartungsgemäß TTF-1- und Napsin A-negativ, exprimierten aber deutlich Ca125 (Score 5 bzw. Score 1), der eine von ihnen auch cdx-2 (Score 1), so dass sich ein mit dem Primärtumor konsistentes Immunprofil ergab.

13: Der letzte der 13 Fälle stellte sich insofern besonders dar, als bei ihm zwei verschiedene Karzinome diagnostiziert wurden. Von der 73-jährigen Patientin wurde zum einen ein Bronchialsekret eingesandt, das Tumorzellen eines klinisch abschließend der Lunge zugeordneten Plattenepithelkarzinoms enthielt. Die Tumorzellen waren TTF-1- und Napsin A-negativ, einige exprimierten aber den für Plattenepithelien typischen Marker p63 (Score 1). Am gleichen Tag wurde auch die Punktion eines mediastinalen Lymphknotens durchgeführt, der Tumorzellen eines Adenokarzinoms aufwies. Diese waren ebenfalls für TTF-1 und Napsin A negativ, exprimierten aber mit CK7 (Score 1), CK20 (Score 5) und cdx-2 (Score 2) ein

Markerprofil, das in erster Linie für einen Primärtumor im Oberbauch (Magen, Gallenwege, Pankreas) sprach. Tatsächlich wurde dieses Karzinom im abschließenden Arztbrief dem Pankreas zugeordnet.

Interpretation

Fasst man es aus dem Blickwinkel der TTF-1 und Napsin A-Immunzytochemie zusammen, dann lagen vor:

- acht Fälle mit jeweils gleichartiger TTF-1- und Napsin A-Expression, nämlich fünf Adenokarzinome der Lunge, ein Plattenepithelkarzinom der Lunge, ein metastasiertes Adenokarzinom von Magen / Pankreas und ein metastasiertes Adenokarzinom des Ovars (Fälle 1-5, 10-12),
- drei Adenokarzinome der Lunge mit zwischen den beiden Proben einen oder beide Marker betreffender diskrepanter Immunzytochemie (Fälle 6-8),
- ein Adenokarzinom mit diskrepanter, jeweils einmal positiver Expression von TTF-1- und Napsin A, das für uns unerklärlich später als „nicht-kleinzelliges Karzinom“, also als nicht sicher aus der Adeno- oder plattenepithelialen Reihe stammend, eingeordnet wurde (Fall 9), sowie
- ein Fall, bei dem sich die beiden Proben von TTF-1- und Napsin A-negativen Adenokarzinomen als verschiedenen Primärtumoren (Lunge und Oberbauchorgane, später klinisch dem Pankreas zugeordnet) zugehörig darstellten (Fall 13).

Entsprechend ergaben sich in fünf der 13 Fälle (38,5%) durch die Hinzunahme einer zweiten Probe ein Erkenntniszugewinn.

5 Diskussion

5.1 Die Pathologie als zentrales Fach der Tumordiagnostik

Mit den Sätzen "Jede Krebsdiagnose wird vom Pathologen gestellt. Höchstpersönlich mit seinen zwei Augen. Individuell für jede Patientin und jeden Patienten" (BDP 2013) weist der Bundesverband Deutscher Pathologen schon seit mehr als 10 Jahren auf die Rolle der Pathologie als zentralem Dienstleister in der Tumordiagnostik hin. In der Tat ist es in aller Regel so, dass die klinischen und bildgebenden Fächer viele tumorweisende Befunde zusammentragen, aber doch der Pathologie die „harte Diagnostik“ von Malignität und Invasivität obliegt. Dabei gibt es auch immer wieder Überraschungen in beide Richtungen, beispielsweise wenn sich eine klinische Peritonealkarzinose als Miliartuberkulose entpuppt oder sich eine klinische gutartige orale Schleimhautproliferation als durch ein malignes Lymphom bedingt erweist.

Wichtig ist, sich klarzumachen, wie „wertvoll“ manche zu untersuchende Proben sind, die klinischerseits gewonnen werden, und sie entsprechend diagnostisch auszureizen. Nur wenige Materialien können schnell und wiederholt ohne großen Aufwand abgenommen werden, z.B. Mundhöhlenabstriche oder Urin. Überwiegend aber braucht es zur Materialgewinnung einen mehrtägigen Vorlauf, hohen technisch-apparativen Aufwand, verbunden mit hohen Kosten. Hierzu zählen alle Gewebe oder Zellsuspensionen, für die endoskopische Eingriffe notwendig sind. Aber auch theoretisch „einfacher“ zu gewinnende Proben wie Ergusspunktate oder Liquor bedeuten jeweils einen Eingriff am Patienten, immer verbunden mit der Möglichkeit von Komplikationen, z.B. iatrogen bedingte Infektionen. Entsprechend ist die Pathologie gehalten, unter Berücksichtigung der Regeln der Wirtschaftlichkeit alles zu tun, was der Diagnosesicherung dient und lieber noch eine Untersuchung mehr zu machen, bevor man sagt, dass zur abschließenden Diagnostik neues und aussagekräftigeres Material benötigt wird.

Auch in der vorliegenden Arbeit geht es um Materialien, die nicht leicht zu gewinnen sind. Von den 251 Proben stammten 116 (46,2%) aus Ergusspunktionen, 81 (32,2%)

aus der Bronchoskopie bzw. aus CT-gesteuerten Lungenpunktionen und 44 (17,5%) aus Punktionen von Lymphknoten; die übrigen 10 Entnahmen wurden ebenfalls durch CT-gesteuerte Punktionen erzielt (Leber, Nebenniere, Pankreas).

5.2 Morphologie und Immunhistochemie als wesentliche Standbeine der Lungentumordiagnostik

Bezogen auf die Klärung von tumorverdächtigen Läsionen in der Lunge stehen für morphologische Untersuchungen histologische Verfahren an Gewebe und zytologische Verfahren an Sekreten, Punktaten oder Abstrichen zur Verfügung. Wenn sie sich als neoplastisch darstellen sollte, wäre zunächst die Frage nach ihrer groben Herkunft zu beantworten (epithelial, mesenchymal, lymphatisch etc.). Danach stellt sich die Frage nach der feineren Zuordnung zu einem bestimmten Tumortyp. Die hier vorlegte Studie behandelt in erster Linie Karzinome der Lunge, weswegen an diesen der weitere genauere Ablauf skizziert werden soll.

Nach wie vor rein auf der Basis der HE-Färbung, also der gängigen Routinefärbung im Fach Pathologie, und ggfls. der PAS-Färbung wird in der Diagnostik, soweit in diesem ersten Schritt möglich, geklärt bzw. als begründete Hypothese formuliert,

- ob der Tumor ein Plattenepithelkarzinom, ein Adenokarzinom, ein kleinzelliges Karzinom oder ein anderweitiges Karzinom ist bzw. einer Mischform angehören könnte und
- ob er ein Primärtumor oder eine Lungenmetastase ist.

Dazu verhilft zum einen die diagnostische ärztliche Erfahrung, in die auch die klinischen Angaben auf dem Einsendeschein einzubeziehen sind. Zum anderen ist es möglich, in Fällen, in denen bereits zuvor ein maligner Tumor diagnostiziert wurde, die alten Präparate vergleichend hinzuzuziehen und zu bestimmen, ob sich die Morphologie beider Tumoren gleicht oder wenigstens ähnelt. Der erste Aspekt, also die rein histologische Tumortypisierung, ist in aller Regel auf der Basis der Routinefärbungen gut möglich und lässt sich auch durchaus noch innerhalb der genannten Gruppen verfeinern. Beispielsweise kann innerhalb der Gruppe der Plattenepithelkarzinome zwischen verhornenden und nicht verhornenden Formen unterschieden werden, ebenso zwischen Karzinomen von guter, mäßiger oder

geringer Differenzierung (Grading). Schwieriger und oft ohne Hinzuziehung der Immunhistochemie nicht möglich ist die Unterscheidung zwischen pulmonalen Primärtumoren und Lungenmetastasen anderweitig entstandener Karzinome.

Rein auf der Basis HE- oder PAS-gefärbter Schnitte wurde bis vor gut 30 Jahren, nämlich bis in die frühen 90er Jahre, die gesamte Tumordiagnostik durchgeführt. In den 90er Jahren wurde dann die Immunhistochemie zur diagnostischen Reife entwickelt und immer weiter verfeinert. Ihre Anwendbarkeit macht aber die Einhaltung vieler methodischer Aspekte notwendig, die nicht trivial sind (siehe hierzu Kraus 2008) und zum Teil immer noch nicht gelöst sind, z.B. das Problemfeld der fehlenden Verwendbarkeit bereits MGG-gefärbter Zytologien. Aus technischer Sicht wurden seitdem Schritt für Schritt die Detektionssysteme der Antigen-Antikörper-Bindungen verbessert und die Handfärbungen, bei denen die MTAs mit Objektträgern gefüllte Küvetten manuell nach bestimmten Zeiten von einer Lösung in die andere stellten, durch maschinelle Färbungen in ebenso immer weiter perfektionierten Färbeautomaten abgelöst. Aus inhaltlicher Sicht wurden von der Industrie immer neue Antikörper auf den Markt gebracht, von denen sich manche etablieren konnten, während andere nach gewisser Zeit wieder verlassen wurden. Letzteres hatte oft zu tun mit der zu geringen Spezifität der Antikörper - nicht selten zeigte sich erst im klinischen Alltag, dass diese eben doch deutlich niedriger war als zunächst angenommen bzw. als von der Industrie angegeben. So wurde früher gerne die Diagnose neuroendokriner Eigenschaften in Tumoren auf eine Positivität für den Marker NSE („Neuronen-spezifische Enolase“) gegründet - dieser Marker wird heute nicht mehr verwendet, da er auch mit vielen anderen Epithelarten reagieren kann. Aufgrund dessen war später im Pathologenkreis sein Name auch etwas spöttisch als „nearly stains everything“ neu definiert worden.

Durch die Immunhistochemie hat sich die Tumordiagnostik ganz wesentlich verbessert, gerade für Adenokarzinome: Da es Marker gibt, die für bestimmte Organabstammungen typisch, wenn auch nicht beweisend sind und die man Panel-artig anwenden kann, ist auf diesem Gebiet gerade die Abgrenzung zwischen Primärtumoren und Lungenmetastasen sowie zwischen Karzinominfiltraten und malignen Mesotheliomen ganz entscheidend erleichtert worden (siehe Kapitel

1.5.4). Anders sieht es bei Plattenepithelkarzinomen auf, bei denen eine Organzuordnung auch immunhistochemisch nicht möglich ist.

Unsere Studie hat sich mit TTF-1, einem bei Studienplanung bereits etablierten Marker für Adenokarzinome der Lunge, und Napsin A befasst, das als neuer Marker in der Histologie gerade hinzutrat und nun an einer spezialisierten Abteilung für Zytologie erprobt werden sollte.

5.3 TTF-1 und Napsin A in der vergleichenden Anwendung: Kritische Wertung der eigenen Studie

5.3.1 Stand der Literatur zur Zeit der Studienplanung

Um 2011 herum wurde bereits eine Kombination aus CK7- und TTF-1-Expression als indikativ für ein primäres Adenokarzinom der Lunge angesehen. Diese Konstellation liegt aber nicht in allen Fällen vor. Die aktuelle Quellenlage geht bis heute unverändert von einer TTF-1-Positivität der Adenokarzinome von ca. 70%-80% aus (Pomjanski et al. 2005, Turner et al. 2012, Conner und Hornick 2015), wobei die TTF-1-positiven Adenokarzinome dann in aller Regel eine starke und annähernd durchgehende Expression aufweisen. Zu bedenken ist, dass die papillären, die medullären und die follikulären Schilddrüsenkarzinome ebenfalls annähernd durchgehend TTF-1-positiv sind.

Die Frage war, ob durch einen anderen Marker diese Lücke zu schließen wäre. Hierzu bot sich das recht neu auf den Markt gekommene Napsin A an, das in der Cytopathologie in Düsseldorf seit etwa 2010 erprobt worden war und zunächst in diversen Fällen „mitgelaufen“ war, ohne dass eine diagnostische Auswertung erfolgt wäre. Jedenfalls war bis Studienbeginn vermieden worden, Fälle von Adenokarzinomen, die für TTF-1 negativ waren und auch keine Expression von Markern aus dem für Lungenmetastasen typischen Panel aufwiesen, aufgrund einer Napsin A-Expression doch den primären Lungenkarzinomen zuzuordnen. Eine solche Vorgehensweise erschien seinerzeit zu spekulativ und hätte das Risiko einer hierauf seitens der Kliniker folgenden falschen therapeutischen Entscheidung

eingeschlossen. Deswegen erschien es angebracht, in einer klinischen Studie aus der Routinediagnostik Napsin A systematisch anzuwenden und hieraus Schlussfolgerungen für den klinischen Einsatz zu ziehen.

Die in der Einleitung zitierte große Studie zu Napsin A (Turner et al. 2012) war seinerzeit noch nicht erschienen. Es gab aber kleinere Vorläuferstudien. Schon 2003 zeigten Hirano et al. an Lungenkarzinomen eine Napsin A-Expression in 90,7% der Fälle (39 von 43). Eine andere Studie wies auf die Persistenz der Napsin A-Expression im Rahmen der Tumorprogression hin (Suzuki et al. 2005): Bei 83 Primärtumoren betrug die Rate Napsin A-positiver Fälle 84,3%, bei 21 Lymphknotenmetastasen 81,0% und bei 8 Rezidiven 87,5% - ähnlich wie man es für TTF-1 auch kennt. Eine frühe Studie an Pleuraergüssen, durchgeführt mit der Methode der Zellblockhistologie, befasste sich mit 12 Pleurakarzinomen durch Lungenkarzinome und 23 Pleurakarzinomen durch extrapulmonale Karzinome sowie 5 Mesotheliomen (Dejmek et al. 2007). In 48 der 50 Fällen waren die Ergebnisse für TTF-1 und Napsin A identisch mit dem Unterschied, dass TTF-1 in 8 (66,7%) und Napsin A in 10 (83,3%) der 12 Pleurakarzinomen durch Lungenkarzinome positiv gewesen war. Alle 28 Fälle von anderweitigen Pleurakarzinomen bzw. Mesotheliomen waren mit beiden Markern negativ. Etwa zeitgleich zu der Studienplanung erschienen weitere Arbeiten mit ähnlichen Resultaten bei von Studie zu Studie unterschiedlicher Zielsetzung und Studiengröße (Ye et al. 2011, Mukhopadhyay und Katzenstein 2012, Ordóñez 2012, Kadivar und Boozari 2013), die aber zur Studienplanung nicht mehr berücksichtigt wurden.

Alles in allem zeigten die Arbeiten der anderen Gruppen, dass Napsin A durchaus eine Option für die Routinediagnostik in der Düsseldorfer Cytopathologie bieten könnte. Attraktiv war auch, dass der Marker mit Zytoplasma / Zellmembran ein anderes Kompartiment färbt als der Kernmarker TTF-1, so dass prospektiv auch an einer Simultanfärbung mit mehrfarbiger Entwicklung der Färbesignale beider gedacht werden könnte, wie sie bereits für Anwendungen am Zellblock beschrieben ist (Liu et al. 2012, Johnson et al. 2012).

5.3.2 Beurteilung der eigenen Studienergebnisse

Patientenkollektiv

Bei der vorliegenden Studie, die mit Ein- und Ausschlusskriterien in Kapitel 3.1 definiert ist, war es möglich, von ursprünglich geplant 287 Einsendematerialien aus der Routinediagnostik 251 (von 238 Patienten) und damit 87,5% zu verwenden. Nur 36 Fälle mussten verworfen werden, weil keine nachträgliche Napsin A-Färbung mangels Restpräparaten mehr möglich war ($n = 22$) bzw. weil klinische Angaben nicht vollständig genug vorlagen und deswegen die Tumorzusammenfassung nicht ausreichend sicher möglich war ($n = 14$). Diese Verlustquote von 12,5% der Ausgangsmaterialien erscheint vertretbar und spricht nicht für einen systemischen Bias im Datensatz.

Bei den verbliebenen 251 Einsendematerialien war es möglich, sie mit TTF-1, Napsin A und in vielen Fällen mit weiteren Markern immunzytochemisch zu untersuchen. Gleichzeitig konnten andere Untersuchungsergebnisse der Patienten, insbesondere diejenigen zur Zuordnung des Tumorsprungs, analysiert werden und auf diese Weise die Ergebnisse der Immunzytochemie validiert werden. Am Ende standen 151 Fällen von Adenokarzinomen der Lunge (60,2%) 100 andere Malignome (39,8%) gegenüber, was einer durchaus sinnvollen Verteilung entspricht. Jedenfalls waren auf diese Weise sowohl die zu testende Entität als auch die übrigen Malignome, die man als Krankheitskontrollgruppe definieren kann, gut repräsentiert.

Zwei Aspekte beim Patientenkollektiv fallen allerdings auf. Zum einen waren die Patienten mit Lungenkarzinomen im Mittel mit 67,5 - 68,9 Jahren, je nach gebildeter Untergruppe, jünger als das vom Robert-Koch-Institut angegebene mittlere Erkrankungsalter für 2012-2013 von 69 (Frauen) bzw. 70 Jahren (Männer) es erwarten ließe (RKI 2015, RKI 2017). Hierfür gibt es wohl keinen klar zu benennenden Grund. Zum anderen wurden nur wenige endokrine Tumoren untersucht, darunter nur ein kleinzelliges Karzinom, obwohl die Kleinzeller etwa 16% der Lungenkarzinome stellen (DGHO 2025). Das liegt vor allem daran, dass bei vielen kleinzelligen Karzinomen parallel histologische Entnahmen getätigt wurden, so dass die ergänzenden immunhistochemischen Untersuchungen außerhalb

durchgeführt worden. Hinzu kommt, dass die typische Zytomorphologie von kleinzelligen Karzinomen in vielen Fällen auch die Diagnosestellung ohne weitere Immunzytochemie ermöglicht. Entsprechend werden in der Cytopathologie in Düsseldorf kleinzellige Karzinome nicht mit adjuvanten Methoden weiteruntersucht.

TTF-1 und Napsin A als sensitive immunzytochemische Marker von pulmonalen Adenokarzinomen³

Beide Marker markierten in unserer Studie, rein qualitativ („Ja/Nein“) ausgewertet, die meisten der 151 pulmonalen Adenokarzinome, und zwar TTF-1 113 (74,8%) und Napsin A 108 (71,5%). Die Expressionsraten waren somit für TTF-1 zwar etwas höher, aber letztendlich für beide Marker fast gleich und entsprachen auch den oben aufgeführten Positivitätsraten aus der Literatur.

Allerdings zeigten sich deutliche Unterschiede in der fallbezogenen Korrelation: 91 Fälle waren für beide Marker positiv, 21 für beide Marker negativ, was einer Konvergenz von 74,2% entspricht. Von den übrigen 39 Fällen exprimierten 22 ausschließlich TTF-1 und 17 ausschließlich Napsin A. Dieses Ergebnis lässt erkennen, dass bei aller Korrelation die beiden Marker nicht als deckungsgleich in ihrer Aussage angesehen werden können, sondern sich in gewisser Weise durchaus ergänzen. Wie im Ergebnisteil bereits dargestellt, kann man diese Ergänzung in beiden Richtungen denken:

- Die Erkennung von pulmonalen Adenokarzinomen durch ihre TTF-1-Expression ließe sich von 113 Fällen durch die 17 rein Napsin A-positiven Fälle auf 130 Fälle steigern, so dass die Gesamtsensitivität von 74,8% auf 86,1% ansteigen würde.
- Gleichermäßen würde durch die Hinzunahme der ausschließlich 22 ausschließlich TTF-1-positiven Fälle die auf Napsin A-Positivität basierende Sensitivität von 71,5% auf den gleichen Gesamtwert steigen.

³ Ähnliche Zahlen wie die im Folgenden dargestellten ergeben sich auch, wenn man statt mit „pulmonalen Adenokarzinomen“ mit „nicht-plattenepithelialen Karzinomen“ rechnet, wie es im Ergebnisteil ausgeführt ist. Aufgrund der guten Vergleichbarkeit soll auf letztere Gruppe hier aber nicht mehr eingegangen werden.

Entsprechend ließen sich verschiedene Handlungsszenarien entwickeln. Läge beispielsweise bei einem Adenokarzinom klinisch ein Verdacht auf einen Primärtumor der Lunge vor, so würde man TTF-1 als den knapp sensitiveren und bereits etablierten Marker primär einsetzen und bei Negativität um Napsin A ergänzen können; blieben beide negativ, wäre dann ein Markerpanel zur Differenzierung von Metastasen anzuschließen. Würde hingegen klinisch eine Metastasierung vermutet, so könnte man TTF-1 mit einem Markerpanel gemeinsam im ersten Schritt der immunzytochemischen Untersuchungen einsetzen und ggfls. dann bei Negativität aller richtungsweisender Marker Napsin A nachziehen.

Dass über die qualitative „Ja-/Nein“-Entscheidung hinaus semiquantitative Aspekte eine Rolle spielen könnten, lässt sich zumindest für die Zytologie aus unserer Studie nicht ableiten.

TTF-1 und Napsin A: Zwei immunzytochemische Marker mit hoher Spezifität

Die eingeschränkte Spezifität von immunhistochemischen Marker ist oft der Grund, warum sie sich letzten Endes nicht durchsetzen bzw. ihr Einsatz mit Vorbehalten erfolgt. An unserem Untersuchungsmaterial ließ sich zeigen, dass der Einsatz beider Marker an den 100 Fällen, die nicht Adenokarzinomen der Lunge zugeordnet wurden, als durchaus spezifisch gelten darf.

TTF-1 war in drei dieser 100 Fälle positiv (3,0%), und zwar in einem adenosquamösen Lungenkarzinom, einem nicht kleinzelligen neuroendokrinen Lungenkarzinom und in einem pleural metastasierten Schilddrüsenkarzinom. In allen drei Tumorentitäten ist eine TTF-1-Expression typisch und im Grunde zu erwarten. Bei adenosquamösen Karzinomen liegt die zu erwartende Rate positiver Fälle bei ca. 80% wie bei Adenokarzinomen der Lunge auch, bei neuroendokrinen Malignomen der Lunge bei ebenfalls 80% und bei Schilddrüsenkarzinomen, von anaplastischen Formen abgesehen, bei > 95% (Zahlen nach einer aktuellen umfassenden TMA-Studie von Möller et al. 2024).

Entsprechend wären die Positivitäten der drei Fälle als „richtig“ bzw. „biologisch erwartungsgemäß“ positiv anzusehen und die Spezifität des Markers allgemein mit 100% und bezogen auf Primärtumoren der Lunge als Bezugsgröße mit 99% anzugeben - dann nämlich müsste die TTF-1-positive Pleurakarzinose des Schilddrüsenkarzinoms als „falsch positiv im Sinne der Fragestellung“ angesehen werden.

Bei Napsin A waren fünf der 100 Fälle, die nicht als Adenokarzinom der Lunge eingeordnet waren, für den Marker positiv. Von diesen betrafen drei andere nicht-plattenepitheliale Karzinome der Lunge, nämlich ein adenosquamöses Karzinom und zwei nicht kleinzellige neuroendokrine Malignome⁴; weiterhin positiv waren die Pleurakarzinose durch ein Schilddrüsenkarzinom und eines der malignen Mesotheliome.

Wie lässt sich nun hier die Spezifität abschätzen? Das adenosquamöse Karzinom sollte als richtig positiv gewertet werden, weil die Napsin A-Expressionsrate in den Adeno-Anteilen eines gemischten Karzinoms derjenigen der Adenokarzinome der Lunge entsprechen sollte. Schwieriger wird es mit den neuroendokrinen Tumoren: In der aktuellen Literatur gelten Karzinoide und kleinzellig-neuroendokrine Karzinome als Napsin A-negativ (Zhang et al. 2014, Rekhtman et al. 2018), nicht kleinzellige neuroendokrine Malignome weisen eine Expression in ca. 15% der Fälle auf (Rekhtman et al. 2018). Somit ist die Expression von Napsin A in unseren beiden Tumoren weder in engerem Sinne zu erwarten gewesen, noch kann man sie als falsch positiv werten. Ähnlich ist es bei Schilddrüsenkarzinomen; aus den wenigen Arbeiten hierzu lässt sich entnehmen, dass zwischen 25% und 30% der Fälle Napsin A positiv sind und dass die Markerexpression auch in Metastasen erhalten bleibt (Chernock et al. 2013 und insbesondere Wu et al. 2020). Bei malignen Mesotheliomen, von denen eines Napsin A exprimierte und zwar in fast allen Tumorzellen (Score 5), sieht die Sachlage anders aus, da maligne Mesotheliome als Napsin A-negativ gelten (Ordóñez 2013, Porcel 2018). Dieser Fall müsste somit bzgl. der Napsin A-Expression als falsch positiv gewertet werden.

⁴ Dabei handelte es sich bei dem adenosquamösen Karzinom und einem der beiden neuroendokrinen Malignome um diejenigen Fälle, die auch TTF-1-positiv waren.

Zusammenfassend ergäbe sich somit, je nach dem, wie streng man die Maßstäbe anlegte, eine Spezifität von 96% bis 99%.

Das Problem, ab wann man eine Markerexpression als aberrant bezeichnen soll bzw. sie noch im Rahmen der biologischen Bandbreite, die zwischen den malignen Tumoren einfach vorkommt, akzeptieren muss, ist im Grunde unlösbar. Klar ist aber, dass man immer wieder mit überraschenden Ergebnissen bei einzelnen Markern rechnen muss und dass diese in manchen Fällen auch zu Fehleinschätzungen und damit zu Fehldiagnosen in der Tumorzuordnung führen können. Hierzu gibt es verschiedene, als „*pitfall*“ oder „*trap*“ bezeichnete Fallberichte, in denen TTF-1 und/oder Napsin A in einem klarzelligen Ovarialkarzinom, einem kolorektalen Karzinom, einem Gallenwegskarzinom, einem Endometriumkarzinom oder gar in einem diffus-großzelligen B-Zell-Lymphom vorgekommen waren (Jain et al. 2016, Ito et al. 2017, Kubo et al. 2018, Alfonso-Rosa et al. 2025, Khedkar et al. 2025, Noack et al. 2025, Tran et al. 2025). Ähnlich knifflig wird es in der Diagnostik, wenn ein pulmonal metastasiertes TTF-1-positives papilläres Schilddrüsenkarzinom auf ein TTF-1-positives Adenokarzinom der Lunge trifft und beide Tumoren gemeinsam zu multiplen Lungenrundherden geführt haben (Xue et al. 2013).

Immunzytochemische Differentialdiagnostik zwischen pulmonalen Adenokarzinomen und Plattenepithelkarzinomen

Die Unterscheidung zwischen einem pulmonalen Adenokarzinom und einem Plattenepithelkarzinom an zytologischen Präparaten ist gerade im Hinblick auf mögliche adjuvante therapeutische Optionen nach wie vor relevant. Vielfach gelingt dieses schon unter Anwendung der üblichen morphologischen Kriterien (zur Literatur siehe Kapitel 1.4.1). Bleiben Zweifel, so steht die Immunzytochemie als ergänzende Methode zur Verfügung.

Bezogen auf TTF-1 und Napsin A ergab sich in keinem der 31 Plattenepithelkarzinome eine Positivität; der für Plattenepithelkarzinome seinerzeit in Gebrauch befindliche Marker p63 wurde an 26 dieser 31 Fälle untersucht und war in 13 Fällen positiv. Die Sensitivität von 50% liegt somit (bei allerdings nur kleiner

Stichprobe) deutlich unter den Werten aus der Literatur, im Review zusammengestellt von Chen et al. (2022) mit 94,7%.

Weitere 107 Fälle, die u.a. auch mit p63 untersucht wurden, wurden diagnostisch nicht als Plattenepithelkarzinome, sondern als Adenokarzinome, vor allem der Lunge, oder anderweitige Karzinome bzw. als malignes Mesotheliom abgeschlossen.

In 17 dieser 107 Fälle war p63 positiv (15,9%). Auffälligerweise stammten alle diese Proben aus primären Karzinomen der Lunge, darunter 14 Adenokarzinome - diese Fälle könnte man gut begründet als falsch positiv einordnen.

Zwei Fälle wurden später abschließend als NSCLC beurteilt, so dass sich offenbar auch in der auswärtigen Histologie keine eindeutige Zuordnung zu einem Adenokarzinom oder einem Plattenepithelkarzinom ergeben hatte. Ein Fall wurde als adenosquamöses Karzinom klassifiziert, also als ein Tumor, der adenoide und squamoide Eigenschaften parallel aufweist - in diesen drei Fällen dürfte eine Expression von p63 wohl als im Rahmen des Möglichen oder zu Erwartenden sein, so dass man diese Fälle nicht als falsch positiv kategorisieren sollte.

Als Spezifität ließe sich somit, wenn man die letzten drei Fälle abzieht, ein Wert von 86,5% angeben (Fallzahl: 104, richtig negativ: 90, falsch positiv: 14); dieser Wert wäre dann gut vergleichbar mit der von Chen et al. (2022) angegebenen Spezifität von 83%.

Was man aus Mehrfacheinsendungen lernen bzw. ableiten kann

Retrospektiv war die Überlegung, bei den 13 Patienten, die über zwei statt nur einer Einsendung verfügten, beide Proben mit in die Studie aufzunehmen, sicher sehr gut, weil sie in der Tat zu neuen, wenn auch nur fallspezifischen Erkenntnissen geführt hat. Diese sind bereits im Abschnitt „Interpretation“ des Kapitels 4.4 wiedergegeben. Kurz zusammengefasst wiesen acht der 13 Fälle jeweils ein gleichartiges Resultat der Immunzytochemie bzgl. TTF-1 und Napsin A auf. In vier Fällen gab es zwischen den beiden Proben bei gleicher Enddiagnose Abweichungen in der Expression bei mindestens einem der beiden Marker. Im letzten Fall wurden Proben aus dem

Bronchialsystem und aus einem mediastinalen Lymphknoten untersucht; die topographische Nähe beider Entnahmen würde in erster Linie eine identische Artdiagnose des Tumors erwarten lassen. Überraschenderweise lagen aber ein Plattenepithelkarzinom der Lunge (Bronchialsekret) und ein Adenokarzinom des Pankreas (mediastinaler Lymphknoten) vor.

Die Aufarbeitung der 13 Fälle bleibt natürlich eine Sammlung von Momentaufnahmen, mahnt aber, dass man auch an ein zweites Material unbefangen und offen herangehen sollte und mit allen Eventualitäten der Tumorbilogie rechnen muss.

5.4 Neuere Entwicklungen in der Immunhistochemie und Immunzytochemie

Die hier vorgelegte Studie diene als eine Art Qualitätskontrolle der Zytodiagnostik am Universitätsklinikum Düsseldorf, an dem der größte deutsche universitäre zytologische Schwerpunkt vorgehalten wird. Sie zeigte, dass eine TTF-1- und Napsin A-basierte immunzytochemische Zusatzdiagnostik an verschiedenen zytologischen Materialien im Kontext mit Morphologie und weiteren Markern zu sinnvollen und in Therapie umzusetzenden Diagnosen in der Tumorpathologie der Lunge führt. Die Methoden der Zytologie sind also durchaus geeignet, schonend gewonnenes Material, das sich in der nicht-operativen Routinediagnostik gewinnen lässt, diagnostisch auszureizen, so dass eine prätherapeutische Histologiegewinnung nicht immer notwendig erscheint. Dies gilt insbesondere in der Ergussdiagnostik. Bei den technisch aufwendigen Bronchoskopien allerdings wird verständlicherweise häufig sowohl biopsiert (Histologie), als auch Bronchialsekret gewonnen bzw. eine bronchiale Bürstung durchgeführt (Zytologie).

Gegenüber dem 2012 gewählten Ansatz haben sich durch neuere Entwicklungen im Fach Pathologie auch in der zytologischen Diagnostik allerdings methodische und inhaltliche Veränderungen ergeben, Der heutige Stand ist dabei breit in entsprechenden, ca. 1.000 Seiten umfassenden Handbüchern niedergelegt (Dabbs

2021, Lin et al. 2022). Auf einige wichtige Entwicklungen soll im Folgenden, bezogen auf den Standort Düsseldorf und unsere Studie, eingegangen werden.

Veränderungen in der Aufarbeitung zytologischer Materialien

In Düsseldorf wurde seinerzeit nicht nur in der Routinediagnostik, sondern auch in der Immunzytochemie fast ausschließlich an Ausstrichpräparaten gearbeitet, unabhängig von der Art der primären Probengewinnung. Das heißt, dass nicht nur vom Kliniker gewonnene Proben direkt dort ausgestrichen wurden, sondern auch, dass eingesandte Flüssigkeiten, wie in Material und Methoden beschrieben, zu Sedimentausrichen verarbeitet wurden.

Hiervon sind viele Pathologien inzwischen abgerückt und verwenden mindestens für eingesandte Flüssigkeiten zunehmend Zellblockverfahren. Hierbei werden die Sedimente, die bei der Zentrifugation entstehen, in eine Proteinmatrix verbracht und dann zu einem Paraffinblock weiterverarbeitet. Auf diese Weise ergibt sich die Option, histologische Schnitte in viel größerer Zahl zu gewinnen, als dieses bei der zytologischen Ausstrichtechnik möglich wäre. So wird die Gefahr vermindert, nicht genügend Präparate für immunzytochemische Färbungen zur Verfügung zu haben. Manche Pathologien, darunter auch die Universitätsklinik Zürich, die über einen großen zytologischen Eingang verfügt, lassen sich inzwischen auch Materialien, die der Kliniker austreichen könnte (z.B. Bronchialbürstungen, Lymphknotenpunktate sekrete oder Schilddrüsenpunktate), in eine Fixationsflüssigkeit überführt zusenden bzw. gewinnen sie in einer eigenen Ambulanz selber und verarbeiten auch solche Proben zu Zellblöcken. In Düsseldorf war zu der Zeit, als unsere Studie geplant und durchgeführt wurde, aus historisch-politischen Gründen das Zellblockverfahren absolut im Hintergrund und konnte insbesondere nicht für adjuvante Methoden, also auch nicht für die Immunzytochemie, genutzt werden.

Eine andere Möglichkeit, die gerne Institute für Pathologie nutzen, die einen großen Eingang in der gynäkologischen Zytologie haben, ist, auch extragynäkologische Materialien als Dünnschichtzytologie aufzuarbeiten - insbesondere vor der Überlegung beispielsweise aus einer großen Pathologie in Norddeutschland, die etwa 120.000 gynäkologische Zytologien und ca. 3.000 extragynäkologische Zytologien bearbeitet, über eine Vereinheitlichung der Methodik eine bessere

Qualität auch bei den selteneren extragynäkologischen Präparaten zu erreichen und Ressourcen einzusparen. Die Dünnschichtzytologie ist allerdings weder ärztlich, noch im Bereich der Zytoassistenz unumstritten. In Düsseldorf wird sie in der extragynäkologischen Zytologie nicht angewandt.

Der Trend jedenfalls geht bei beiden Ansätzen berechtigterweise in die Richtung, durch mehr zur Verfügung stehende Präparate auch ein Mehr an Markeranwendungen möglich zu machen.

Standardisierung der Laborabläufe

Ein anderes methodisches Gebiet ist die zunehmende Standardisierung in den eigentlichen Laborabläufen. Hierzu gehört zum einen die Perfektionierung der Präanalytik, beispielsweise durch besseres Demaskieren durch vorherige Fixation blockierter Antigenstrukturen („*antigen retrieval*“). Hier ergaben sich über die Jahre noch deutliche Modifikationen (Shi et al. 2011, Shi et al. 2019, Mebratie und Dagnaw 2024, Koji 2025).

Außerdem sind anders als 2012 heute fast alle Abläufe in der Immunzytochemie in Färbeautomaten durchführbar, was besser reproduzierbare Bedingungen für die Dauer und den exakten Ablauf der einzelnen Färbeschritte bietet. Unsere Studie wurde noch unter größerem zeitlichen Aufwand per Handfärbung durchgeführt, was heute nicht mehr *lege artis* ist.

Auswahl an Antikörpern

Die Zahl der Primärantikörper, die seitens der Industrie angeboten werden, wird von Jahr zu Jahr umfangreicher. Manche von ihnen setzen sich aufgrund der Erkenntnisse, die man mit ihnen gewinnen kann, durch, andere verschwinden nach ein paar Jahren wieder. Insbesondere gefragt sind in der eigentlichen Diagnostik Antikörper, die wie TTF-1 oder Napsin A als „organtypisch“ gelten können, weil sie eben nur in wenigen Organtumoren „typischerweise“ exprimiert werden. Wie oben bereits angesprochen, gibt es aber Ausnahmen, so dass bei der Interpretation immer eine gewisse Vorsicht walten sollte.

Seit 2012 haben sich aber einige Marker durchaus etablieren können, nämlich bezogen auf Karzinome GATA-3 (Mammakarzinome, Urothelkarzinome), TRPS1 (Mammakarzinome, insbesondere auch Triple-negative Fälle) oder PAX-8 (gynäkologische Karzinome, Nierenzellkarzinome, Schilddrüsenkarzinome). Dafür sind Uroplakin, Mammoglobin und Ca-125 aus dem Spektrum gängiger Marker ausgeschieden. Außerdem hat, wie vorne erwähnt, der Marker p40 den Marker p63 bei den meisten Fragestellungen abgelöst, insbesondere bei der Identifizierung einer plattenepithelialen Komponente. Ferner hat sich p16 als Marker für eine transformierende HPV-Infektion bei Karzinomen der Cervix uteri und im HNO-Bereich durchgesetzt. In der Melanomdiagnostik wären SOX-10 und PRAME als neue sinnvolle Marker zu erwähnen, in der Mesotheliomdiagnostik BAP-1 etc. Entsprechend gilt es, die Entscheidungsbäume bei der Zuordnung eines Karzinoms zu einem bestimmten Organ oder Organsystem immer wieder zu modifizieren.

„Gesucht“ wird noch der Marker, der bei Plattenepithelkarzinomen eine Organzuordnung ermöglicht. Hier gibt es bislang keine immunhistochemischen Verfahren, um zwischen Primärtumoren der Haut, des MKG-/HNO-Bereiches, des Ösophagus oder des Genitalbereichs zu differenzieren. Dies kann im Einzelfall die Entscheidung, ob eine kurative oder eine palliative Situation vorliegt, unmöglich machen und hat auf diese Weise auch Einfluss auf die Behandlung der Patienten. Klassisches Beispiel ist das Auftreten eines Plattenepithelkarzinoms in der Lunge bei vorbekanntem Plattenepithelkarzinom im HNO-Bereich - hier lässt sich die Frage, ob ein zweiter Primärtumor oder eine Lungenmetastase vorliegt, nicht verlässlich klären.

Automatisierung der Auswertung immunhistochemischer und immunzytochemischer Reaktionen

An automatisierten Auswertungen immunhistochemischer oder immunzytochemischer Reaktionen durch Bildanalysesysteme wird bereits seit langem gearbeitet. Erste Systeme hierzu für wissenschaftliche Untersuchungen stammen bereits aus den 90er Jahren, konnten sich aber auf dem Markt nicht etablieren. Das hatte sicher zum einen mit den eingeschränkten Möglichkeiten der

Bildverarbeitungssoftware im Vergleich zu heute zu tun, aber auch mit den bis heute bestehenden Problemen in der Standardisierung. Außerdem hat sich gezeigt, dass Quantifizierungen auf diesem Gebiet nicht regelhaft nötig sind, sondern dass meistens qualitative Ja-/Nein-Aussagen oder semiquantitative Schätzungen ausreichen, um zu einer adäquaten Beurteilung zu gelangen. Die eigene Studie zeigte ja auch, dass für TTF-1 und Napsin A eine qualitative Aussage genügte, um zu überzeugenden Ergebnissen zu kommen und dass die Schätzung der Zahl positiver Zellen keine Verbesserung der Aussage brachte.

5.5 Ausblick: Kommende Entwicklungen in der Zytopathologie

Insgesamt darf die Immunzytochemie als etabliert gelten, und es wird kaum Institute geben, die auf ihren Einsatz, egal ob an konventionellen Ausstrichen, Zellblöcken oder Dünnschichtpräparaten durchgeführt, komplett verzichten werden. Insofern beantwortet sich die rhetorische Frage, die auf der Titelseite eines aktuellen Heftes der zytologischen Fachzeitschrift *Acta Cytologica* gestellt wurde (Band 69, Heft 1, 2025), nämlich „*Immunocytochemistry in Cytology: Myth or Reality*“, im Grunde von selber - die Methode ist längst nicht nur an spezialisierten Fachinstituten, sondern auch in Pathologien, die wenig zytologischen Eingang haben, längst etabliert und in der Realität der Krankenversorgung angekommen. Gleiches gilt auch für molekularpathologische Anwendungen, die aber nicht alle Institute selber ausführen; zum Teil werden sie von dort nach auswärts an spezialisierte Zentren weitervergeben. Gerade weil zytologische Materialien oft Alkohol-fixiert sind, sind sie in der Regel für molekularpathologische Verfahren methodisch gut geeignet.

Alle Methoden, also die klassische Erkennung und Zuordnung von Zellen (Zytologie) oder Geweben (Histologie) in den Routinefärbungen, die Immunzytochemie und die vielfältigen und weiter wachsenden Möglichkeiten der Molekularpathologie, unterliegen aber subjektiven interpretatorischen Einflüssen durch die Befunder, die sich trotz aller Ringversuche und Konsensus-Konferenzen nicht beseitigen lassen werden. Besonders gut sind diese Einschränkungen im Besonderen für die Diagnostik von Biopsien oder Abstrichen von der Portio dokumentiert (Stoler und Schiffman 2001, dalla Palma et al. 2009).

Das wachsende Feld der Digitalisierung und der künstlichen Intelligenz (*artificial intelligence*, AI) wird hier im Moment als Chance gesehen, die Objektivität der diagnostischen Aussagen zu verbessern, und wird in den nächsten Jahren rapide auch das Fach Pathologie verändern. Ein Beleg hierfür, wie sehr dieses Feld wissenschaftlich explodiert, ist die rapide steigende Zahl an Publikationen, die in Pubmed ausgewiesen werden (Abb. 5).

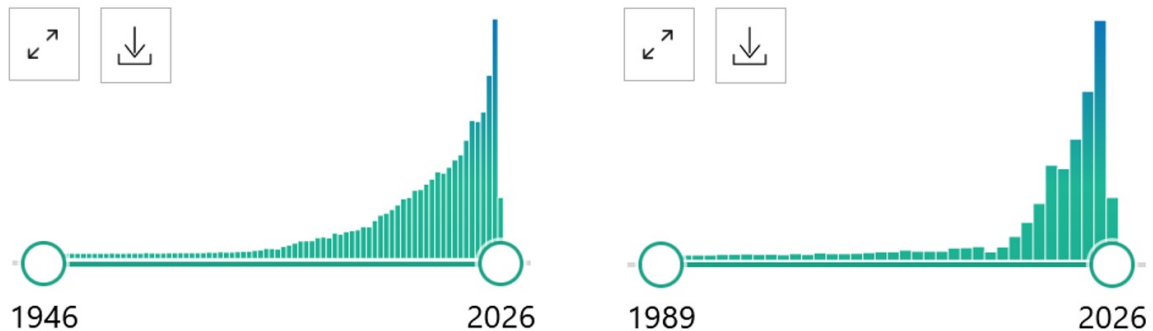


Abb. 5: Etwa exponentielle Zunahme von wissenschaftlichen Artikeln in Pubmed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>), unskalierte Darstellung. Links: Recherche für „digital pathology“, 37.630 Artikel; rechts: Recherche für „(digital pathology) and (artificial intelligence)“, 3.642 Artikel. Stand: 10.3.2026

Aktuelle Artikel zu AI in der Pathologie beziehen sich fast ausschließlich auf die Histopathologie, auch an der Lunge (siehe zur Übersicht bei van de Haar 2025). Anwendungen setzen voraus, dass die zu untersuchenden Präparate durch ein Bildanalysesystem komplett digitalisiert vorliegen. Sie können dann von einer Software, die an einem Lerndatensatz geschult und entwickelt wurde, analysiert werden. Ziel dabei ist zum einen, zu vollautomatisierten Diagnosen an Fällen mit Normalbefunden oder Befunden mit geringer Relevanz zu gelangen, also z.B. Magen-Darm-Biopsien ohne Auffälligkeiten zu identifizieren bzw. umgekehrt gesehen, aus den vielen Biopsien auf diesem Gebiet diejenigen zu ermitteln, die relevante entzündliche, neoplastische oder für das AI-basierte System „überraschende“ Befunde aufweisen. Eine andere Anwendung wäre, durch AI zu besser objektivierbaren Diagnosen zu gelangen, beispielsweise bei der Tumortypisierung oder beim Tumorgading. Dabei sollten natürlich gerade die „überraschenden“ Dinge, die auffallen, später in den Lerndatensatz übertragen werden, um dann in Zukunft der Diagnostik als AI-basiertes Kriterium zur Verfügung zu stehen. Voll digitalisierte Pathologien, an denen nicht mehr am Mikroskop,

sondern nur noch am Bildschirm gearbeitet wird, gibt es schon einige, die AI-basierte Diagnostik in der täglichen Krankenversorgung ist aber noch eine Vorstellung der (möglicherweise nahen) Zukunft.

Ein weiteres Ziel, das formuliert worden ist, wäre der Anspruch, ergänzende Untersuchungen unnötig zu machen. So gibt es beispielsweise einen Ansatz, mit AI-basierter Diagnostik vorherzusagen, welche Tumoren Mikrosatelliten-stabil (MSS) und welche Mikrosatelliten-instabil (MSI) sind. Diese Erkenntnisse werden heute immunhistochemisch über den Einsatz von vier speziellen Markern (MLH1, MSH2, MSH6, PMS2) bzw. molekularpathologisch gewonnen, was dann möglicherweise nicht mehr notwendig wäre.

Die Zytopathologie steht in diesen aktuellen Überlegungen relativ weit hinten - ist aber andererseits viel weiter vorne, als man glauben könnte. Auf diesem Gebiet ist nämlich die Automatisierung vor allem im Bereich der gynäkologischen Zytologie mit Dünnschichtpräparaten bereits weit vorangekommen (Übersicht bei Wang et al. 2024 sowie Harinath et al. 2026), deren Entwicklung im Grunde als Blaupause auch für die extragynäkologische Zytologie dienen kann. Seit den späten 90er Jahren gibt es bereits automatisierte Screeningverfahren, mit denen gerade die großen gynäkozytologischen Labore schon seit längerem in der Krankenversorgung arbeiten. Derzeit sind insbesondere die Systeme ThinPrep Imager (Hologic) und BD FocalPoint (Surepath) dafür im Einsatz. Vom Prinzip her werden den Befundern von dem Screenen des eingescannten Präparates nach Vergleich mit einem großen Lerndatensatz auffällige Strukturen präsentiert; enthalten diese für die befundenden Ärzte und Zytologieassistenten keine diagnostisch suspekten Zellen, so wird das Präparat als negativ befundet (Pap I). Sind einzelne Strukturen verdächtig auf Tumorzellen oder deren Vorstufen, so wird das Präparat zusätzlich konventionell mäanderförmig durchmustert und anschließend eine Diagnose gestellt. Diagnosen der übrigen Pap-Gruppen, insbesondere der Gruppen Pap IIID1 und höher, werden bislang noch nicht nach automatisierten Präparateanalyse vergeben.

In der extragynäkologischen Zytologie werden AI-basierte Verfahren sicher in Zukunft auch Einzug halten, jedenfalls an größeren Standorten. Als Problem wird

hier gesehen, die entsprechenden Lerndatensätze zu entwickeln, wo es doch nur in begrenztem Maße Kontrollproben gibt. Ziele könnten hier aber sowohl durchaus sein, ähnlich wie oben bei der Histopathologie dargestellt, zum einen auffällige Zellen und Tumorzellen zu identifizieren, als auch, Tumoren zu typisieren oder ihre Zugehörigkeit zu einem Primärorgan zu bestimmen. Dies würde bedeuten, dass die Arbeit, die heute am Mikroskop mit Routine- und Spezialfärbungen bzw. mit Immunzytochemie geleistet wird, in Zukunft ganz wesentlich AI-basiert erledigt werden könnte.

Bis dahin sind aber noch viele Schritte zu gehen. Es ist nämlich nicht damit getan, Softwareentwicklungen mit der Schaffung moderner Lerndatensätze etc. voranzubringen. Genauso ist notwendig, methodische Probleme in der zytopathologischen Technik zu überwinden. Als ein wesentlicher Punkt wird dabei gesehen, dass zytologische Präparate, auch diejenigen, die als Dünnschichtzytologie aufgearbeitet wurden, dreidimensionale Strukturen enthalten können, die nach dem Einscannen der Präparate nur zweidimensional abgebildet werden. Hier ergibt sich also die Gefahr, dass wesentliche Informationen verlorengehen, die in der konventionellen Zytologie genutzt werden könnten. Möglicherweise wären hier Scanner hilfreich, deren Software speziell auf die Belange der Zytologie ausgelegt wären, z.B. durch das Verwenden höherer Vergrößerungen oder das sogenannte volumetrische Scannen (Harinath et al. 2026). Im Moment werden in der Zytopathologie die aktuellen Entwicklungen noch als eine Art Lernkurve gesehen, an deren Ende dann eine verbesserte Sensitivität und Spezifität der zytologischen Diagnostik stehen soll (Kim et al. 2024).

Außerdem sind natürlich auch finanzielle, rechtliche und ethische Aspekte zu betrachten. Die Umrüstung auf rein digitale Systeme in der Pathologie ist teuer, ein höherer Ertrag pro Fall nicht zu erwarten. Rechtlich stellt sich die Frage, was das „Dokument“ ist, auf dessen Analyse die Diagnostik beruht. Bleibt es das Originalpräparat, das gescannt, dann aber nicht beurteilt würde, oder geht die Dokumenteneigenschaft auf die generierte Bilddatei über, an der ein AI-basierter Algorithmus „selbständig“, aber als „*black box*“ arbeitet? Diese Fragen wurden bereits vor einigen Jahren aufgeworfen (Sullivan und Schweikart 2019) und sind

bisher nur insoweit gelöst, wie der Einsatz der gynäkologischen Screener (siehe oben) gediehen ist, mit denen Präparate ohne pathologische Veränderungen identifiziert werden sollen - nicht aber für die Diagnosestellung von relevanten morphologisch fassbaren Erkrankungen, insbesondere Tumorerkrankungen.

Gerade auf diesem Gebiet wäre außerdem zu fragen, inwieweit die Befunder davon zu überzeugen sein wären, ihre spezialisierte Arbeit, die auf viel Erfahrung und diagnostischem Fingerspitzengefühl beruht, an eine solche diagnostische „*black box*“ abzugeben. Dahinter steht die auch ethische Frage, eine automatisiert gewonnene morphologische Diagnose in einen Text fassen zu müssen, der in Therapie umgesetzt wird. Wer nämlich formulieren soll, wie sicher eine Diagnose ist, sollte selber entscheidend am diagnostischen Prozess beteiligt gewesen sind, um z.B. bei "Zellen eines Adenokarzinoms in einer Probe aus der Lunge" guten Gewissens zwischen

- Das Zellbild entspricht einem primären Adenokarzinom der Lunge und
- Das Zellbild ist indikativ für ein ... oder
- Das Zellbild spricht für ein ... oder
- Das Zellbild passt zu einem ... oder
- Das Zellbild ist vereinbar mit einem ...

semantisch zu unterscheiden, je nach dem Sicherheitsgrad der Organzuordnung. Außerdem darf nicht unterschätzt werden, dass Erfahrung irgendwo herkommen muss und entsprechend vor der Absegnung oder Modifizierung von Maschinengemachten Diagnosen viel primäre Beschäftigung mit den Möglichkeiten und Grenzen der Zytomorphologie stehen muss.

6 Literatur

Alfonso-Rosa C, Machuca-Aguado J, Montaña-Ramírez AM, Rubio-Garrido FJ (2025): The TTF-1 and Napsin A Trap: Metastatic Endometrial Carcinoma Masquerading as Lung Primary. *Int J Surg Pathol* 11: 10668969251403167

American Cancer Society (2019): Cancer Facts & Figures 2019, Atlanta

BDP (Zitierweise) (2013): Bundesverband deutscher Pathologen: Pathologie - Unser Ziel ist Ihre Heilung. Zuletzt online abgerufen am 26.1.2026 unter https://www.pathologie.de/Resources/Persistent/3/2/d/5/32d5fa82acd8fb2c9fc3034cd1176e0e752146e9/Brosch%C3%BCre%20Pathologie_%20Unser%20Ziel%20ist%20Ihre%20Heilung.pdf

Bhardwaj M, Schöttker B, Holleczer B, Brenner H (2023): Enhanced selection of people for lung cancer screening using AHRR (cg05575921) or F2RL3 (cg03636183) methylation as biological markers of smoking exposure. *Cancer Communications* 43: 956-959

Biesterfeld S (2015): Zurverfügungstellung urheberrechtlicher geschützter Abbildungen aus dem Bestand des Funktionsbereichs Cytopathologie des Universitätsklinikums Düsseldorf

Bishop JA, Teruya-Feldstein J, Westra WH, Pelosi G, Travis WD, Rekhtman N (2012): p40 (Δ Np63) is superior to p63 for the diagnosis of pulmonary squamous cell carcinoma. *Mod Pathol* 25: 405–15

Böcking A (1998): Standardisierung der zytopatologischen Diagnostik. *Pathologe* 19: 236-241

Brasch F, Ochs M, Kahne T, Guttentag S, Schauer-Vukasinovic V, Derrick M, Johnen G, Kapp N, Muller KM, Richter J, Giller T, Hawgood S, Buhling F (2003): Involvement of napsin A in the C- and N-terminal processing of surfactant protein B in type-II pneumocytes of the human lung. *J Biol Chem* 278: 49006-49014

Bubendorf L, Feichter GE, Obermann EC, Dalquen P (2011): Zytologische Tumorkriterien. In: Klöppel G, Kreipe HH, Remmele W (Hrsg.): Pathologie, Band Zytopathologie. 3. Auflage, Springer-Verlag, S. 33-45

Bundesanzeiger (Zitierweise) (2025): Bekanntmachung eines Beschlusses des Gemeinsamen Bundesausschusses über eine Änderung der Krebsfrüherkennungs-Richtlinie: Einführung der Lungenkrebsfrüherkennung mittels Niedrigdosis-Computertomographie bei Rauchern. Verkündet am 18.06.2025, erschienen im Bundesanzeiger am 04.09.2025. Zuletzt abgerufen am 28.01.2026 über den Link <https://www.bundesanzeiger.de/pub/de/amtlicher-teil?0&year=2025&edition=BAnz+AT+04.09.2025>

Chen H, Katakura S, Horita N, Namkoong H, Kato I, Hara Y, Kobayashi N, Fujii S, Kaneko T (2022): Immunohistochemical markers to diagnose primary squamous cell carcinoma of the lung: a meta-analysis of diagnostic test accuracy. *Ther Adv Med Oncol* 14: 17588359211065152

Chernock RD, El-Mofty SK, Becker N, Lewis JS (2013): Napsin A expression in anaplastic, poorly differentiated, and micropapillary pattern thyroid carcinomas. *Am J Surg Pathol* 37: 1215-1222

Chuman Y, Bergman A, Ueno T, Saito S, Sakaguchi K, Alaiya AA, Franzén B, Bergman T, Arnott D, Auer G, Appella E, Jörnvall H, Linder S: (1999): Napsin A, a member of the aspartic protease family, is abundantly expressed in normal lung and kidney tissue and is expressed in lung adenocarcinomas. *FEBS letters* 462: 129-134

Cibas ES, Ducatman BS (2020): *Cytology. Diagnostic principles and clinical correlates*. 5. Ausgabe, Elsevier, Amsterdam

Conner JR, Hornick JL (2015): Metastatic carcinoma of unknown primary: diagnostic approach using immunohistochemistry. *Advances in anatomic pathology*. 22: 149-167

Dabbs DJ (2021): *Diagnostic Immunohistochemistry. Theranostic and Genomic Applications*. 6. Auflage, Elsevier Verlag

dalla Palma P, Giorgi Rossi P, Collina G, Buccoliero AM, Ghiringhello B, Gilioli E, Onnis GL, Aldovini D, Galanti G, Casadei GP, Aldi M, Gomes VV, Giubilato P, Ronco G and the NTCC Pathology Group (2009): The reproducibility of CIN diagnosis among different pathologists: data from histology reviews from a multicenter randomized study. *Am J Clin Pathol* 132: 125-132

Dejmek A, Naucier P, Smedjeback A, Kato H, Maeda M, Yashima K, Maeda J, Hirano T (2007): Napsin A (TA02) is a useful alternative to thyroid transcription factor-1 (TTF-1) for the identification of pulmonary adenocarcinoma cells in pleural effusions. *Diagnostic cytopathology*. 35: 493-497

Dey P (2022): *Diagnostic Cytology*. JP Medical, London

DGHO (Zitierweise) (2025): Lungenkarzinom, nicht-kleinzellig (NSCLC). Hrsg: Deutsche Gesellschaft für Hämatologie und Medizinische Onkologie e.V., April 2025. Zuletzt abgerufen am 28.01.2026 unter <https://www.onkopedia.com/de/onkopedia/guidelines/lungenkarzinom-nicht-kleinzellig-nsclc/@@guideline/html/index.html>

Dixon MJ, Marazita ML, Beaty TH, Murray JC (2011): Cleft lip and palate: understanding genetic and environmental influences. *Nature Rev Gen* 12: 167-178

Donin N, Filson C, Drakaki A, Tan HJ, Castillo A, Kwan L, Litwin M, Chamie K (2016): Risk of second primary malignancies among cancer survivors in the United States, 1992 through 2008. *Cancer* 122: 3075-3086

Droese M (1995): Punktionszytologie der Schilddrüse, Atlas und Handbuch. 2. Auflage. F.K. Schattauer Verlag Stuttgart/New York

GBA (Zitierweise) (2025): Gemeinsamer Bundesausschuss: Lungenkrebs-Früherkennung bei starken Raucherinnen und Rauchern wird voraussichtlich ab April 2026 Kassenleistung. Pressemitteilung vom 18.6.2025. Zuletzt abgerufen am 28.01.2026 unter <https://www.g-ba.de/presse/pressemitteilungen-meldungen/1263/>

Gerull WD, Puri V, Kozower BD (2021): The epidemiology and biology of pulmonary metastases. J Thorac Dis 13: 2585-2589

Glandorf J, Vogel-Claussen J (2024): Incidental pulmonary nodules - current guidelines and management. Fortschr Röntgenstr (RÖFO) 196: 582-590

Gould MK, Tang T, Liu IL, Lee J, Zheng C, Danforth KN, Kosco AE, Di Fiore JL, Suh DE (2015): Recent Trends in the Identification of Incidental Pulmonary Nodules. Am J Respir Crit Care Med 192: 1208-1214

Harinath L, Bai X, Minkowitz J, Zeng X, Harrington S, Zhao C, Pantanowitz L (2026): Artificial Intelligence in Gynecologic Cytology. Acta Cytol 70: 52-71

Hirano T, Gong Y, Yoshida K, Kato Y, Yashima K, Maeda M, Nakagawa A, Fujioka K, Ohira T, Ikeda N, Ebihara Y, Auer G, Kato H (2003): Usefulness of TAO2 (napsin A) to distinguish primary lung adenocarcinoma from metastatic lung adenocarcinoma. Lung Cancer. 41: 155-162

Hiscock R, Bauld L, Amos A, Fidler JA, Munafo M (2012): Socioeconomic status and smoking: a review. Ann N Y Acad Sci 1248: 107-123

Hofmann HS, Neef H, Schmidt P (2007): Primary lung cancer and extrapulmonary malignancy. Eur J Cardiothorac Surg 32: 653-658

HooKim K, Kavuri S, Lauer SR, Cohen C, Reid MD (2014): Napsin A expression in small cell carcinoma of the lung: a cytologic study with review of differentials. J Am Soc Cytopathol 3: 90-95

Huang Z, Sun S, Lee M, Maslov AY, Shi M, Waldman S, Marsh A, Siddiqui T, Dong X, Peter Y, Sadoughi A, Shah C, Ye K, Spivack SD, Vijg J (2022): Single-cell analysis of somatic mutations in human bronchial epithelial cells in relation to aging and smoking. Nat Genet 54: 492-498

Immunoquery (Zitierweise) (2023): Immunoquery-Datenbank, Elsevier Verlag Amsterdam. Online unter <https://app.immunoquery.com/main>, zuletzt abgerufen am 2.3.2026, Passwort-pflichtig

Ito T, Nakanishi K, Goto H (2017): A case of napsin A-positive metastatic lung cancer originating from the colon. Surg Case Rep 3: 114

Jain D, Mallick SR, Singh V, Singh G, Mathur SR, Sharma MC (2016): Napsin A expression in anaplastic lymphoma kinase-positive diffuse large B-cell lymphoma: a diagnostic pitfall. Appl Immunohistochem Mol Morphol 24: e34-e40

Jain D, Mathur SR, Guleria R, Iyer VK (2014): Utility and pattern of positivity of p40 in the diagnosis of squamous cell carcinoma of the lung by cytology: the first study on fine needle aspiration smears. *Cytopathol* 25: 330-335

Johnson H, Cohen C, Fatima N, Duncan D, Siddiqui MT (2012): Thyroid transcription factor 1 and Napsin A double stain: utilizing different vendor antibodies for diagnosing lung adenocarcinoma. *Acta Cytol* 56: 596-602

Kadivar M, Boozari B (2013): Applications and limitations of immunohistochemical expression of "Napsin-A" in distinguishing lung adenocarcinoma from adenocarcinomas of other organs. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 21: 191-195

Khedkar R, Agrawal R, Yadav S, Kaushal RK (2025): Aberrant Expression of Pneumocytic Markers (TTF-1 and Napsin-A) in Biliary Duct and Gallbladder Adenocarcinomas; A Potential Diagnostic Pitfall. *Int J Surg Pathol* 33: 661-665

Khoor A, Whitsett JA, Stahlman MT, Olson SJ, Cagle PT (1999): Utility of surfactant protein B precursor and thyroid transcription factor 1 in differentiating adenocarcinoma of the lung from malignant mesothelioma. *Hum Pathol* 30: 695-700

Kim D, Thrall MJ, Michelow P, Schmitt FC, Vielh PR, Siddiqui MT, Sundling KE, Virk R, Alperstein S, Bui MM, Chen-Yost H, Donnelly AD, Lin O, Liu X, Madrigal E, Zakowski MF, Parwani AV, Jenkins E, Pantanowitz L, Li Z (2024): The current state of digital cytology and artificial intelligence (AI): global survey results from the American Society of Cytopathology Digital Cytology Task Force. *J Am Soc Cytopathol* 13: 319-328

Kimura S (1996): Thyroid-specific enhancer-binding protein role in thyroid function and organogenesis. *Trends Endocrinol Metab* 7: 247-252

Koji T (2025): Reflections on the Principles of Fixation in Histochemistry and Cytochemistry: With a Special Focus on Immunohistochemistry and In Situ Hybridization. *Acta Histochem Cytochem* 58: 31-43

Koss LG, Melamed MR (2006): Koss' diagnostic cytology and its histopathologic bases. 5. Auflage, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia

Kraus HL (2008): Immunhistometrisch gestützte Untersuchungen zur Färbekonstanz manuell bzw. im Färbeautomaten durchgeführter immunhistochemischer Kernreaktionen am Beispiel des Östrogen- und des Progesteronrezeptors. *Med. Diss., RWTH Aachen*

Kubo T, Hirohashi Y, Fujita H, Sugita S, Kikuchi Y, Shinkawa T, Nakatsugawa M, Tsujiwaki M, Sudo Y, Asai Y, Umeda Y, Takahashi H, Hasegawa T, Torigoe T (2018): Occult ovarian clear-cell carcinoma diagnosed as primary adenocarcinoma of the lung: A case report of a diagnostic pitfall for clinicians and pathologists. *Respir Med Case Rep* 25: 306-308

Kuppuswamy L (2017): Treffsicherheit der Zytodiagnostik bei endosonographisch gewonnenen Nebennierenpunktaten. *Med. Diss., Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf*

Lenhard A (2026): Psychometrica. Zuletzt online abgerufen am 14.2.2026 unter <https://www.psychometrica.de/testkennwerte.html>

Lin F, Prichard JW, Liu H, Wilkerson ML (2022): Handbook of Practical Immunohistochemistry. 3. Auflage, Springer Verlag

Liu L, Cohen C, Siddiqui MT (2012): Thyroid transcription factor 1 and napsin a double staining in lung adenocarcinoma in pleural fluid. Acta Cytol 56: 425-430

Mangold E, Kreiß M, Nöthen MM (2017): Syndromale und nichtsyndromale orofaziale Spalten. Med Gen 29: 397-412

Mazzone PJ, Lam L (2022): Evaluating the Patient With a Pulmonary Nodule: A Review. JAMA 327: 264-273

Mebratie DY, Dagnaw GG (2024): Review of immunohistochemistry techniques: Applications, current status, and future perspectives. Semin Diagn Pathol 41: 154-160

Möller K, Gulzar T, Lennartz M, Viehweger F, Kluth M, Hube-Magg C, Bernreuther C, Bawahab AA, Simon R, Clauditz TS, Sauter G, Schlichter R, Hinsch A, Kind S, Jacobsen F, Burandt E, Frost N, Reck M, Marx AH, Krech T, Lebok P, Fraune C, Steurer S (2024): TTF-1 is a highly sensitive but not fully specific marker for pulmonary and thyroidal cancer: a tissue microarray study evaluating more than 17,000 tumors from 152 different tumor entities. Virchows Archiv 485: 815-828

Mukhopadhyay S, Katzenstein AL (2012): Comparison of monoclonal napsin A, polyclonal napsin A, and TTF-1 for determining lung origin in metastatic adenocarcinomas. Am J Clin Pathol 138: 703-711

NCBI (Zitierweise) (2026a): NKX2-1 NK2 homeobox 1 [*Homo sapiens* (human)]. Zuletzt abgerufen am 28.1.2026 unter <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=DetailsSearch&Term=7080>

NCBI (Zitierweise) (2026b): NAPS A napsin A aspartic peptidase [*Homo sapiens* (human)]. Zuletzt abgerufen am 28.1.2026 unter <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/9476>

NCBI (Zitierweise) (2026c): TP63 tumor protein p63. Zuletzt abgerufen am 28.1.2026 unter <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=DetailsSearch&Term=8626>

Noack P, Grosse C, Eschemann S, Dislich B, Langer R (2025): Immunohistochemical TTF-1 and Napsin a Expression in Gastrointestinal Adenocarcinomas-Low Frequency but an Important Pitfall. Diagnostics (Basel) 15: 1490

Ordóñez NG (2012): Napsin A expression in lung and kidney neoplasia: a review and update. Adv Anat Pathol 19: 66-73

Ordóñez NG (2013): Value of PAX8, PAX2, napsin A, carbonic anhydrase IX, and claudin-4 immunostaining in distinguishing pleural epithelioid mesothelioma from metastatic renal cell carcinoma. *Mod Pathol* 26: 1132-1143

Ost D, Fein A (2000): Evaluation and management of the solitary pulmonary nodule. *Am J Respir Crit Care Med* 162: 782-787

Piggott LM, Hayes C, Greene J, Fitzgerald DB (2023): Malignant pleural disease. *Breathe (Sheff)* 19: 230145

Pomjanski N, Grote HJ, Doganay P, Schmiemann V, Buckstegge B, Böcking A (2005): Immunocytochemical identification of carcinomas of unknown primary in serous effusions. *Diagn Cytopthol* 33: 309-315

Porcel JM (2018): Biomarkers in the diagnosis of pleural diseases: a 2018 update. *Ther Adv Respir Dis* 12: 1753466618808660

Psallidas I, Kalomenidis I, Porcel JM, Robinson BW, Stathopoulos GT (2016): Malignant pleural effusion: from bench to bedside. *Eur Respir Rev* 140: 189-198

Quadrelli S, Lyons G, Colt H, Chimondeguy D, Silva C (2009): Lung cancer as a second primary malignancy: increasing prevalence and its influence on survival. *Ann Surg Oncol* 16: 1033-1038

Reck M, Dettmer S, Kauczor HU, Kaaks R, Reinmuth N, Vogel-Claussen J (2023): Lung cancer screening with low-dose computed tomography: current status in Germany. *Dtsch Arztebl Int* 120: 387-392

Rekhtman N, Pietanza CM, Sabari J, Montecalvo J, Wang H, Habeeb O, Kadota K, Adusumilli P, Rudin CM, Ladanyi M, Travis WD, Joubert P (2018): Pulmonary large cell neuroendocrine carcinoma with adenocarcinoma-like features: napsin A expression and genomic alterations. *Mod Pathol* 31: 111-121

RKI 2013 (Zitierweise): Robert Koch-Institut und Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (2013). Krebs in Deutschland 2009/2010. Online: https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs_in_Deutschland/fruehere_ausgaben/downloads/krebs_in_deutschland_9.pdf?__blob=publicationFile, zuletzt abgerufen am 2.5.2025; auch als gedrucktes Exemplar erhältlich

RKI 2015 (Zitierweise): Robert Koch-Institut und Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (2015). Krebs in Deutschland 2011/2012. Online: https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs_in_Deutschland/fruehere_ausgaben/downloads/krebs_in_deutschland_10.pdf?__blob=publicationFile, zuletzt abgerufen am 9.5.2025, auch als gedrucktes Exemplar erhältlich

RKI 2017 (Zitierweise): Robert Koch-Institut und Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (2017). Krebs in Deutschland 2013/2014. Online: https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs_in_Deutschland/fruehere_ausgaben/downloads/krebs_in_deutschland_11.pdf?__blob=publicationFile

[blob=publicationFile](#), zuletzt abgerufen am 9.5.2025, auch als gedrucktes Exemplar erhältlich

RKI 2025 (Zitierweise): Robert Koch-Institut und Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. (2025). Krebs in Deutschland 2021-2023. Online: https://www.krebsdaten.de/Krebs/DE/Content/Publikationen/Krebs_in_Deutschland/krebs_in_deutschland_2023.pdf?_blob=publicationFile, zuletzt abgerufen am 13.2.2026; auch als gedrucktes Exemplar erhältlich

Roberts ME, Neville E, Berrisford RG, Antunes G, Ali NJ, BTS Pleural Disease Guideline Group (2010): Management of a malignant pleural effusion: British Thoracic Society Pleural Disease Guideline 2010. Thorax 65 (Suppl 2): 32-40

Sayed S, Naqvi A, Begum H, Juergens RA, Finley C, Coschi CH, Cutz JC, Bonert M (2023): Prevalence of Thyroid Transcription Factor-1 (TTF-1)-Negative Small Cell Carcinoma and Napsin A Positivity in Small Cell Carcinoma in a Cross-Sectional Study of Lung Core Biopsies. Cureus 15: e37015.

Schabath MB, Cote ML (2019): Cancer Progress and Priorities: Lung Cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 28: 1563-1579

Shi SR, Shi Y, Taylor CR, Gu J (2019): New dimensions of antigen retrieval technique: 28 years of development, practice, and expansion. Appl Immunohistochem Mol Morphol 27: 715-721

Shi SR, Shi Y, Taylor CR (2011): Antigen retrieval immunohistochemistry: review and future prospects in research and diagnosis over two decades. J Histochem Cytochem 59: 13-32

Shidham VG, Atkinson BF (2007): Cytopathologic diagnosis of serous fluids, Saunders Elsevier, Amsterdam

Simonato L, Agudo A, Ahrens W, Benhamou E, Benhamou S, Boffetta P, Brennan P, Darby SC, Forastiere F, Fortes C, Gaborieau V, Gerken M, Gonzales CA, Jöckel KH, Kreuzer M, Merletti F, Nyberg F, Pershagen G, Pohlmann H, Rösch F, Whitley E, Wichmann HE, Zambon P (2001): Lung cancer and cigarette smoking in Europe: an update of risk estimates and an assessment of inter-country heterogeneity. Int J Cancer 91: 876-887

Skipper M: Dedicated protection for the female germline. Nature Rev Mol Cell Biol 2007; 8: 4-5

Stahlman MT, Gray ME, Whitsett JA (1996): Expression of thyroid transcription factor-1 (TTF-1) in fetal and neonatal human lung. J Histochem Cytochem 44: 673-678

Statologie (2026): Online unter <https://statologie.de/chi-quadrat-unabhaengigkeitstest-rechner/>, zuletzt aufgerufen am 14.02.2026

Sternfeld A, Reisch N, Müller OA, Mussack T, Hallfeldt K, Beuschlein F (2013): Tumoren der Nebenniere. In: Göke B, Fürst H, Reincke M, Auernhammer CJ (Hrsg.):

Manual Endokrine Tumoren. Tumorzentrum München und W. Zuckschwerdt Verlag München, 3. Auflage, S. 104-121

Stoler MH, Schiffman M (2001): Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance-Low-grade Squamous Intraepithelial Lesion Triage Study Group: Interobserver reproducibility of cervical cytologic and histologic interpretations: realistic estimates from the ASCUS-LSIL Triage Study. JAMA 285: 1500-1505

Sullivan HR, Schweikart SJ (2019): Are Current Tort Liability Doctrines Adequate for Addressing Injury Caused by AI? AMA J Ethics 21: E160-E166

Suzuki A, Shijubo N, Yamada G, Ichimiya S, Satoh M, Abe S, Sato N (2005): Napsin A is useful to distinguish primary lung adenocarcinoma from adenocarcinoma from other organs. Pathol Res Pract 201: 579-586

Taghizadeh N, Fortin M, Tremblay A (2017): US Hospitalizations for Malignant Pleural Effusions: Data From the 2012 National Inpatient Sample. Chest 151: 845-854

Tran NT, Van Thai N, Khuyen NT, Le LT, Khoa LTA (2025): Aberrant TTF-1 expression in metastatic colorectal adenocarcinoma mimicking primary lung cancer: a case report and review of diagnostic pitfalls. Diagn Pathol 21: 1

Travis WD (2012): Update on small cell carcinoma and its differentiation from squamous cell carcinoma and other non-small cell carcinomas. Mod Pathol 25 (Suppl 1): S18-S30

Turner BM, Cagle PT, Sainz IM, Fukuoka J, Shen SS, Jagirdar J. Napsin A, a new marker for lung adenocarcinoma, is complementary and more sensitive and specific than thyroid transcription factor 1 in the differential diagnosis of primary pulmonary carcinoma: evaluation of 1674 cases by tissue microarray. Arch Pathol Lab Med 2012; 136: 163-171

van de Haar MA, Al-Asi H, Doganay F, Yilmaz I, Alazab N, Xiao Y, Balan J, Dangott BJ, Nassar A, Reynolds JP, Akkus Z (2025): Challenges and Opportunities in Cytopathology Artificial Intelligence. Bioengineering 12: 176

van der Henricus H, Heijdra YF (2005): Extrapulmonary small cell carcinoma. South Med J 98: 345-349

Wang YL, Gao S, Xiao Q, Li C, Grzegorzec M, Zhang YY, Li XH, Kang Y, Liu FH, Huang DH, Gong TT, Wu QJ (2024): Role of artificial intelligence in digital pathology for gynecological cancers. Comput Struct Biotechnol J 24: 205-212

Wheeler D (2002): Pathology and the internet. Adv Anat Pathol 9: 261-262

WHO (Zitierweise) (2021): WHO classification of tumours: Thoracic tumours. 5. Auflage. IARC, Lyon

Wittekind C (Hrsg.) (2017): TNM-Klassifikation maligner Tumoren. 8. Auflage, Wiley

Wong YN, Jack RH, Mak V, Henrik M, Davies EA (2009): The epidemiology and survival of extrapulmonary small cell carcinoma in South East England, 1970-2004. *BMC Cancer* 29: 209

Wu J, Zhang Y, Ding T, Cheng R, Gong W, Guo Y, Luo Y, Pan Y, Zhai Q, Sun W, Lin D, Sun B (2020): Napsin A Expression in Subtypes of Thyroid Tumors: Comparison with Lung Adenocarcinomas. *Endocr Pathol* 31: 39-45

Xue L, Luan Z, Liu Y, Zou S, Jiang J, Wu N, Lu N, Lin D (2013): Pulmonary metastasis of a papillary thyroid carcinoma and primary lung adenocarcinoma: two coincident carcinomas at the same location. *Diagn Pathol* 8: 26

Yang A, Kaghad M, Wang Y, Gillett E, Fleming MD, Dötsch V, Andrews NC, Caput D, McKeon F (1998): p63, a p53 homolog at 3q27-29, encodes multiple products with transactivating, death-inducing, and dominant-negative activities. *Mol Cell* 2: 305-316

Ye J, Findeis-Hosey JJ, Yang Q, McMahon LA, Yao JL, Li F, Xu H (2011): Combination of napsin A and TTF-1 immunohistochemistry helps in differentiating primary lung adenocarcinoma from metastatic carcinoma in the lung. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 19: 313-317

Zhang C, Schmidt LA, Hatanaka K, Thomas D, Lagstein A, Myers JL (2014): Evaluation of napsin A, TTF-1, p63, p40, and CK5/6 immunohistochemical stains in pulmonary neuroendocrine tumors. *Am J Clin Pathol* 142: 320-324

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. med. Stefan Biesterfeld für die Überlassung des Themas sowie für die engagierte Betreuung dieser Dissertation. Seine fachliche Unterstützung, wertvollen Anregungen und seine Geduld während der gesamten Entstehungszeit dieser Arbeit haben maßgeblich zu ihrem Gelingen beigetragen.

Ebenso möchte ich mich bei den Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern des Instituts für Pathologie und Cytopathologie für ihre Unterstützung und die Bereitstellung der notwendigen Materialien bedanken.

Mein Dank gilt außerdem den beteiligten Kliniken und Einrichtungen, die durch die Bereitstellung von Patientendaten die Durchführung dieser Arbeit ermöglicht haben.