

krebs:hilfe!

 Österreichische Vereinigung für klinische Onkologie

ÖSTERREICHISCHE  KREBSHILFE

HEFT 2:2007



Der Beitrag der Pathologie zur Onkologie

zusammengestellt von Prim. Univ.-Prof. Dr. Sigurd Lax und Prim. Univ.-Prof. Dr. Angelika Reiner-Concin

- 3 Pathologie und Krebsvorsorge am Beispiel der Gebärmutterhalszytologie**
Von Dr. Maria Schwendinger, Prim. Dr. Alexander Nader und Univ.-Prof. Dr. Reinhard Horvat
- 5 Am Anfang steht die Diagnose – die zentrale Rolle der histopathologischen Biopsiediagnostik für die Therapieplanung**
Von Prim. Univ.-Doz. Dr. Hans Feichtinger und Prim. Univ.-Doz. Dr. Felix Offner
- 7 Intraoperativer Schnellschnitt: Pathologe und Operateur als untrennbare Partner für die chirurgische Strategie**
Von Prim. Univ.-Prof. Dr. Roland Sedivy
- 9 Postoperative histopathologische Diagnose: Qualitätssicherung der Operation und Grundlage für die adjuvante Therapie**
Von Univ.-Prof. Dr. Fritz Wrba und Univ.-Prof. Dr. Helmut H. Popper
- 11 Erfordernisse einer komplexen Diagnostik als Grundlage für eine moderne, zielgerichtete Therapie**
Von Dr. Michael Vesely, Univ.-Prof. Dr. Andreas Chott und Univ.-Prof. Dr. Peter Regitnig
- 13 Immunhistochemie: Ein unersetzliches Tool in der onkologischen Pathologie für Tumortypisierung und Bestimmung prognostischer Faktoren**
Von Univ.-Prof. Dr. Bettina Zelger, Prim. Dr. Christa Freibauer und Prim. Univ.-Prof. Dr. Otto Dietze
- 14 Gene und Transkripte als Schlüssel für Diagnose und Therapie: Die zunehmende Bedeutung der Molekularpathologie**
Von Univ.-Prof. Dr. Gerald Höfler und Dr. Wolfgang Hulla
- 16 Die Bedeutung der mikrobiologischen Diagnostik und der Infektionspathologie für den Tumorpatienten**
Von Dr. Gerhard Tucek, Prim. Univ.-Doz. Dr. Christoph Wenisch und Prim. Dr. Otto Braun
- 18 Die Bedeutung von Biobanken in der modernen Onkologie**
Von Dr. Nikolaus Wick und Univ.-Prof. Dr. Klaus Kaserer
- 19 Steigerung der Zuverlässigkeit der pathologischen Diagnostik durch prozessorientierte qualitätsgesicherte Arbeitsweise**
Von OA Dr. Kurt Prein, Prim. Dr. Wolfgang Segal und Prim. Univ.-Doz. Dr. Gerhard Syré



Liebe LeserInnen!

Das Fach Pathologie ist für die Onkologie eine unverzichtbare klinisch-diagnostische Disziplin. In den letzten drei Jahrzehnten hat das Fachgebiet einen enormen Wandel erfahren. In weiten Kreisen der Bevölkerung wird das Berufsbild der PathologInnen zwar noch immer mit einem von „Ärzten der Toten“ in Verbindung gebracht, im Zentrum der beruflichen Tätigkeit steht aber heute vielmehr die Gewebs- und Zelldiagnostik für den lebenden Patienten. Vergleichbar mit den bildgebenden Verfahren haben sich auch die Methoden der Pathologie auf unglaubliche Weise weiterentwickelt und perfektioniert. So war es vor etwa 25 Jahren nur möglich, einige Gewebeeränderungen mittels spezieller Färbungen und der Elektronenmikroskopie darzustellen, wohingegen heute an einem in Paraffin eingebetteten Gewebematerial die Expression einer Vielzahl von Proteinen mit Hilfe der Immunhistochemie und anderer molekularpathologischer Methoden in situ unter dem Mikroskop sichtbar gemacht werden können. Außerdem können aus Paraffinblöcken DNA und RNA extrahiert und unter Zuhilfenahme der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) auf unterschiedliche genetische Veränderungen hin untersucht werden.



Wie nie zuvor ist die Pathologie heutzutage als diagnostisches Fach in den klinischen Alltag eingebunden und mit den anderen onkologisch tätigen Disziplinen vernetzt. Schon für die Krebsvorsorge leistet die Pathologie einen entscheidenden Beitrag, im speziellen durch die zytologische Krebsabstrichdiagnostik und durch die histopathologische Biopsiediagnostik von Krebsvorstufen und –frühstadien. Die

festen Integration der Pathologen in das interdisziplinäre Tumorboard erweitert dessen fachliches Spektrum wesentlich. Der Gesetzgeber hat die Bedeutung der Pathologie erkannt und die Etablierung von Tumorboards unter Beteiligung aller mit der Onkologie befasster Fächer unter Einbeziehung der Pathologen im Österreichischen Strukturplan Gesundheit 2006 festgeschrieben. Auf diese Weise leisten die PathologInnen zu Entscheidungen bezüglich des diagnostischen und therapeutischen Vorgehens aber auch zu speziellen Fragestellungen bei seltenen Tumorerkrankungen wichtige, klinisch äußerst relevante Beiträge.

Gerade für die Tumorthherapie spielt die Pathologie eine wesentliche Rolle. Die pathologische Aufarbeitung eines Operationspräparats stellt nach wie vor den Goldstandard dar, sie dient der Qualitätssicherung der operativen Therapie, liefert aber auch gleichzeitig die Basis für eine mögliche adjuvante Therapie und wichtige prognostische Parameter. Mittels Methoden wie Immunhistochemie und Molekularpathologie werden jene Veränderungen auf Protein- und Genomebene nachgewiesen, die den Schlüssel für eine moderne zielgerichtete Therapie darstellen. Als viel diskutiertes Beispiel sei hier der HER2/neu-Nachweis und die Möglichkeit der Trastuzumab-Therapie für das Mammakarzinom genannt. Außerdem wird durch die enge Verknüpfung von Morphologie und molekularer Genetik mit Hilfe der Pathologie auch die Entdeckung hereditärer Tumoren zunehmend verbessert. Dazu zählen beispielsweise das HNPCC-assoziierte Kolonkarzinom und das mit BRCA1-Mutationen assoziierte Mammakarzinom, die sich durch bestimmte histologische oder antigene, mittels Immunhistochemie darstellbare Eigenschaften auszeichnen.

Die Vielzahl an neuen therapeutischen Optionen und modernen diagnostischen Methoden verlangt eine aktive Rolle der Pathologie. Wir sehen dies als Chance, uns in einem sich dynamisch entwickelnden klinischen Umfeld fest eingebunden weiterzuentwickeln und eine aktive gestaltende Rolle zu übernehmen, um im Konzert der onkologisch tätigen Fächer mitzuspielen.

Dieser Themenschwerpunkt mit dem Titel „Der Beitrag der Pathologie zur Onkologie“ ist Ausdruck einer besonderen Wertschätzung und Anerkennung der täglichen Arbeit der PathologInnen, die meist abseits des Blickpunkts der breiten Öffentlichkeit im Dienste der KrebspatientInnen verrichtet wird. Den Herausgebern und der Redaktion sei dafür ein besonderer Dank unsererseits im Namen der „Pathologie Community“ ausgesprochen. Es wird dies von unserer Seite aber auch als Wunsch nach einer noch aktiveren Rolle der PathologInnen und einer stärkeren Einbindung in den klinischen Alltag empfunden, wobei diese Aufforderung von uns gerne zum Wohl der TumorpatientInnen angenommen wird.

Die in diesem Themenheft veröffentlichten Beiträge sollen eine wesentliche Auswahl jener Bereiche repräsentieren, in denen die Pathologie wichtige Beiträge für die Onkologie leistet. Die breite Streuung der Autoren soll unterstreichen, wie dicht auch das Netzwerk der Pathologien in Österreich geknüpft ist und somit eine flächendeckende Versorgung garantiert.

Prim. Univ.-Prof. Dr. Sigurd Lax
Institut für Pathologie
LKH Graz West

Prim. Univ.-Prof. Dr. Angelika Reiner-Concin
Institut für Pathologie
SMZ Ost/Donauspital, Wien

Pathologie und Krebsvorsorge am Beispiel der Gebärmutterhalszytologie

VON DR. MARIA SCHWENDINGER, PRIM. DR. ALEXANDER NADER UND UNIV.-PROF. DR. REINHARD HORVAT

Die zytologische Abstrichuntersuchung vom Gebärmuttermund wird seit vielen Jahrzehnten routinemäßig eingesetzt und hat sich als sehr bewährte Maßnahme in der Krebsvorsorge des Gebärmutterhalskarzinoms etabliert. Die Untersuchung des Portioabstrichs ist eine wenig belastende, kostengünstige und sehr effiziente Screening-Methode zur Detektion von Vorstufen und Frühstadien des Zervixkarzinoms.

Die Früherkennung ermöglicht die rechtzeitige Behandlung und verhindert somit die Entstehung eines invasiven Zervixkarzinoms. Durch eine Konisation können Patientinnen mit einem Carcinoma in situ oder einem mikroinvasiven Zervixkarzinom geheilt werden, wohingegen ein ausge-
dehnt invasives Zervixkarzinom mit einer deutlich schlechteren Prognose einhergeht.

Neben rezidivierenden Infekten, vor allem Chlamydieninfekten, allgemeiner Immunschwäche und familiärer Belastung stellt die Infektion mit onkogen wirksamen HPV-Stämmen das größte Risiko zur Entwicklung eines Zervixkarzinoms dar. Etwa 80 Prozent der Menschen kommen im Lauf ihres Lebens mit HPV in Kontakt und es wird geschätzt, dass etwa zehn Prozent der Frauen mit einem high risk HPV-Typ (HPV 16, 18, 45, 56) infiziert sind. Nur ein geringer Prozentsatz der Infektionen hat eine Epitheldysplasie zur Folge, wobei sich ein Großteil, insbesondere die leichten Dysplasien, vollständig zurückbilden. Ob eine Infektion zu dysplastischen Veränderungen am Epithel des Muttermunds führt, kann nur durch die zytologische, eventuell auch histologisch-bi-

optische Untersuchung festgestellt werden. Auch die HPV-Impfung ersetzt eine regelmäßige Abstrichkontrolle nicht, weil der Impfstoff zwar gegen etwa 70 Prozent der HPV-Stämme, jedoch nicht gegen alle onkogenen Virusstämme schützt.

Auch die HPV-Impfung ersetzt eine regelmäßige Abstrichkontrolle nicht, weil der Impfstoff zwar gegen etwa 70 Prozent der HPV-Stämme, jedoch nicht gegen alle onkogenen Virusstämme schützt.

Abstrich-Beurteilung

Die Abstrichergebnisse werden nach der PAP-Klassifikation beurteilt:

- PAP 0: zu wenig oder unbeurteilbares Zellmaterial
- PAP I und PAP II: weitgehend normales, unauffälliges Zellbild
- PAP III: auffälliges, jedoch unklares, abklärungsbedürftiges Zellbild
- PAP IIID: unterschiedliche Schweregrade der Dysplasie, mögliche Krebsvorstufen
- PAP IIIG: unklassifizierbare, atypische glanduläre Zellgruppen
- PAP IV: schwere Dysplasie oder Carcinoma in situ
- PAP V: invasives Karzinom

Für eine suffiziente Beurteilung eines Abstrichs sind, unabhängig vom zytologischen Bild, gewisse Kriterien von Bedeutung:

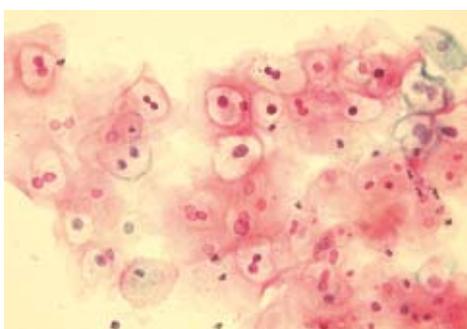
Klinische Information: Wichtig für die Interpretation der unterschiedlichen Zellbilder sind klinische Daten wie Alter, Regelanamnese, eine eventuell relevante Medikation (zum Beispiel: Hormonpräparate, Folsäureantagonisten), Vorerkrankungen und Operationen sowie der Lokalbefund.

Abstrichqualität: Der Abstrich sollte genügend und gut beurteilbares Zellmaterial aufweisen und sowohl Plattenepithelien des äußeren Muttermundes als auch Zylinderepithelien der Endozervix enthalten. Von den verschiedenen Abnahmegegeräten haben sich Szalay-

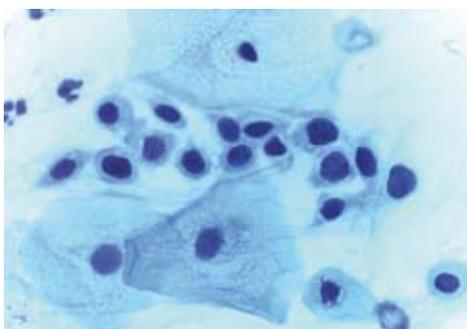
Spatel und Cytobrush bewährt, weil damit repräsentatives Material aus der Ekto- und Endozervix sowie aus der Übergangszone gewonnen wird. Dabei muss jedoch darauf geachtet werden, dass es manchmal durch forcierte Abstrichtechnik zu einer stärkeren Traumatisierung und Blutung und somit eingeschränkter Beurteilbarkeit des Zellmaterials kommen kann.

Beim Ausstreichen auf dem Objektträger muss darauf geachtet werden, dass das Zellmaterial nicht zu dick aufgetragen wird, weil die zelluläre Überlagerung die Beurteilbarkeit beeinträchtigt. Zudem dürfen Spatel oder Bürste nicht zu stark auf den Objektträger gepresst werden um Quetschungsartefakte zu verhindern. Eine rasche Fixation ist Voraussetzung für ein gut erhaltenes Zellmaterial.

Patienten- und Probenidentifikation: Nicht zuletzt ist eine eindeutige Identifikation der Patientinnen und die zweifelsfreie Zuordnung der Abstrichpräparate unerlässlich.



HPV-assoziierte Veränderung am Muttermund



Schwere Dysplasie (PAP IV)

Qualitätssicherung

Die Österreichische Gesellschaft für Zytologie (ÖGZ) hat ein Qualitätssicherungsprogramm erarbeitet, an dem diagnostische zytologische Laboratorien freiwillig teilnehmen können und das ihnen eine interne Selbstkontrolle und Standortbestimmung ermöglicht.

Dabei werden die Befundergebnisse, auch für einzelne Einsender, bezüglich Abstrichqualität, Repräsentativität und PAP-Gruppen statistisch ausgewertet. So werden in diesem Zusammenhang jene beiden Einsender ermittelt, welche die höchste oder niedrigste Zahl an eingeschränkt repräsentativen Abstrichen aufweisen.

Zudem werden die zytologischen Ergebnisse jeweils mit den histologischen Befunden verglichen und ebenfalls mittels einer Statistik dargestellt. Darüber hinaus wird in diesem Qualitätssicherungsprogramm gefordert, dass zumindest zehn Prozent der von den biomedizinischen Analytikern als unauffällig eingestuften Abstriche von einem Arzt ein weiteres Mal begutachtet werden.

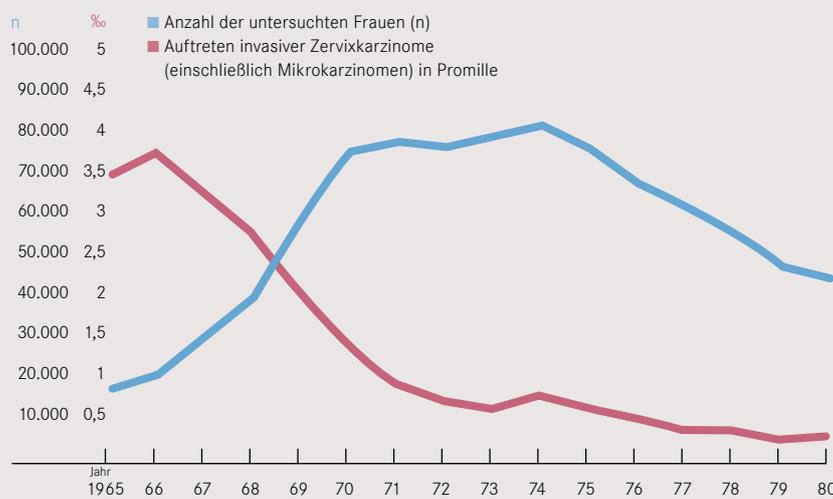
Zusätzlich bieten einige Institute ein spezielles Service an, das ebenfalls der Qualitätssicherung dient. Neben der jährlichen Statistik erhalten die Einsender eine Liste mit Namen jener Patientinnen mit auffälligem PAP-Befund, die der notwendigen Abstrichkontrolle nicht nachgekommen sind, oder von Patientinnen mit operationsbedürftigem Befund, wobei dem diagnostischen Labor keine Information über eine zwischenzeitlich durchgeführte Operation vorliegt. Diese Maßnahme garantiert die lückenlose Betreuung und weitere Kontrolle dieser Patientinnen.

Wie die Statistik zeigt, ist seit der Einführung des Routinescreenings in der gynäkologischen Zytologie in den 1960er Jahren die Inzidenz des invasiven Zervixkarzinoms massiv zurückgegangen (siehe Grafik).

Der PAP-Abstrich ist die Erfolgsgeschichte im Bereich der Vorsorgemedizin. PAP-Abstriche sind, wie bereits erwähnt, ein Screening-Verfahren, um Krebsvorstufen zu erkennen und so Morbidität und Mortalität des Plattenepithelkarzinoms des Gebärmutterhalses zu senken.

Der PAP-Abstrich ist aber auch ein Musterbeispiel eines komplexen diagnostischen Systems mit multiplen Variablen, bedingt durch Änderungen und Unterschiede in der Anatomie, Infektionsstatus, Entzündungen oder Blutungen, die alle Probleme bei der Entnahme verursachen und so zu einer schlechten Sensitivität führen können.

→ Veränderungen in der Inzidenz des invasiven Zervixkarzinoms seit 1965



Sensitivität und Spezifität

Sensitivität und Spezifität dieser Untersuchung werden in der Literatur sehr unterschiedlich angegeben. Man kann davon ausgehen, dass beide Werte zwischen 50 und 70 Prozent liegen, dass die individuelle Sensitivität aber durch regelmäßige Teilnahme bei dieser Screening-Untersuchung stark zunimmt und bei mehr als 80 Prozent liegt. Derzeit nehmen aber nur knapp 60 Prozent aller österreichischen Frauen regelmäßig an dieser Vorsorgeuntersuchung teil, eine Erhöhung der Teilnehmerate könnte durch ein Einladesystem (wie unter anderem EU-weit vorgesehen), erreicht werden, da das derzeitige opportunistische System der Krebsvorsorge nur ungenügend genutzt wird und die Anzahl von regelmäßig teilnehmenden Frauen in der Menopause stark zurückgeht.

Als zweite Ursache für die mangelnde Sensitivität der Untersuchung muss die Abstrichqualität genannt werden: die in den ÖGZ-Leitlinien formulierten Werte von maximal zehn Prozent an eingeschränkt beurteilbaren Abstrichen und fünf Prozent un beurteilbaren Abstrichen werden deshalb oft nicht erreicht. Ansatzpunkte für eine Verbesserung dieser Werte stellen einerseits die Standardisierung des Abnahmeprozesses, andererseits die Vereinheitlichung der Befundergebnisse und Interpretation, aber auch die verbesserte Kommunikation zwischen Gynäkologen und Pathologen dar. <

→ Den PAP-Abstrich optimieren

Ein zweiteiliges Projekt der Wiener Gebietskrankenkasse zur PAP-Abstrichoptimierung soll einerseits mögliche Verbesserungsmöglichkeiten aufzeigen, andererseits auch die Abnahmegeräte zur Gewinnung validieren.

58 Gynäkologen sowie alle niedergelassenen Vertragsfachärzte für Pathologie und Zytodiagnostik wurden zu diesem Projekt eingeladen. Allen teilnehmenden Gynäkologen werden Abnahmegeräte (Cytobrush oder Szalay-Spatel) für die Dauer des Projekts kostenlos zur Verfügung gestellt, die Kennzeichnung des Geräts erfolgt mittels Code auf der Zuweisung zur pathologisch-zytologischen Untersuchung. Eine externe Auswertung der Ergebnisse erfolgt anschließend durch Univ.-Prof. Dr. Peter Regitnig, Medizinische Universität Graz.

In einer Pilotstudie mit Einsendern des Wiener Hanusch-Krankenhauses konnte gezeigt werden, dass ein einmaliges Treffen aller Einsender und eine gemeinsame Diskussion der Probleme insgesamt die Repräsentativität der Abstriche zwar nicht steigern konnte, einzelne ausstrichtechnisch bedingte Mängel allerdings stark zurückgingen und dass subjektiv eine wesentliche Verbesserung der Arbeitssituation der befundenden und der einsendenden Ärzte erzielt werden konnte.

Kommunikation in komplexen Systemen, wie beim PAP-Abstrich, ist also wesentliche Voraussetzung zur Qualitätssteigerung.



Dr. Maria Schwendinger
Pathologie 1
Klinikum Kreuzschwestern, Wels

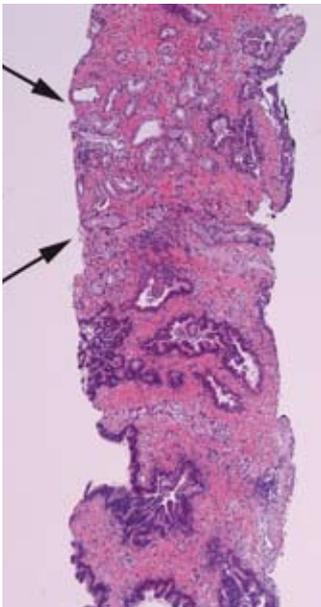


Prim. Dr. Alexander Nader
Institut für Pathologie und Mikrobiologie
Ferdinand-Hanusch-Krankenhaus
der Wiener Gebietskrankenkasse

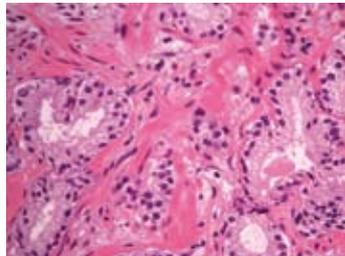
Univ.-Prof. Dr. Reinhard Horvat
Klinisches Institut für Pathologie
Medizinische Universität Wien

Am Anfang steht die Diagnose – die zentrale Rolle der histopathologischen Biopsiediagnostik für die Therapieplanung

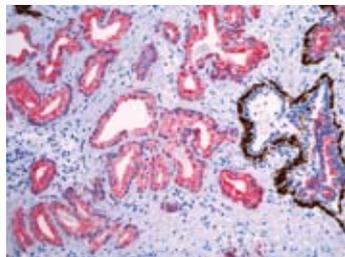
VON PRIM. UNIV.-DOZ. DR. HANS FEICHTINGER UND PRIM. UNIV.-DOZ. DR. FELIX OFFNER



Prostatabiopsie: fokale Infiltration durch ein invasives Adenokarzinom in der Stanze (HE-Färbung, 40x)



Azinäre Tumorzellverbände (400x)



Die immunohistochemische Doppelfärbung bestätigt die Karzinomdiagnose: Razemasemolekül im Zytoplasma der Tumorzellen (rot) und keine braune basale Zellschicht (200x)

Nach aktuellen Standards muss jeder klinische Verdacht auf einen malignen Tumor durch eine histopathologische Untersuchung verifiziert werden. Die mikroskopische Untersuchung von bioptisch gewonnenem Gewebe zählt somit zu den Kernaufgaben einer klinisch orientierten onkologischen Pathologie. Grundsätzliches Ziel der bioptischen Diagnostik in der Abklärung von Tumoren oder klinisch tumorverdächtigen Läsionen ist zunächst die präzise Artdiagnose der pathologischen Veränderung. Das bedeutet in erster Linie eine Abgrenzung reaktiver versus neoplastischer Prozesse sowie für den Fall einer Tumorerkrankung eine möglichst genaue Beurteilung ihres biologischen Verhaltens als Voraussetzung für die Planung weiterer diagnostischer Maßnahmen und des therapeutischen Vorgehens. Eine sichere Diagnose, die genaue Typisierung und die Gradierung eines malignen Tumors ist in jedem Fall prätherapeutisch anzustreben – sie bestimmt sowohl Art und Ausmaß einer primär chirurgischen Vorgangsweise als auch die Entscheidung für neoadjuvante oder palliative Therapiestrategien.

Nach wie vor stellt zwar die konventionelle mikroskopische Beurteilung der Veränderungen der Gewebearchitektur sowie der Zell- und Kernmorphologie und der proliferativen Aktivität die klassische Herangehensweise in der bioptischen Tumordiagnostik dar, angesichts der dynamischen Entwicklung in der medikamentösen Behandlung von Tumorerkrankungen – Stichwort zielgerichtete Therapien – muss sie aber vielfach durch molekulare diagnostische Methoden ergänzt werden. In der täglichen Praxis bedeutet dies subtile und aufwendige Diagnostik an immer weniger Untersuchungsmaterial mit weitreichenden Konsequenzen für die betroffenen Patienten.

Indikation, Entnahmetechnik und Probenaufbereitung

Jede palpatorisch, sonographisch oder radiologisch eindeutig topographisch zuordenbare tumorverdächtige Raumforderung oder endoskopisch auffällige und suspekta Läsion insbesondere im Gastrointestinaltrakt und im Bereich des harnableitenden Systems stellen Indikationen für eine bioptische Entnahme von Gewebe zur histologischen Untersuchung dar. Dies gilt mit der Einschränkung, dass eine Abklärung der Veränderung nicht auch durch weniger invasive Methoden oder eine definitive Exzision ohne vorhergehende präoperative Diagnostik erfolgen kann.

Eine spezifische Situation ergibt sich bei der Prostatabiopsie, die im Rahmen des PSA-Screenings ausschließlich auf Grund erhöhter Serum-PSA-Werte oder einer abnormen Dynamik in der Entwicklung des PSA-Spiegels – in den meisten Fällen also nur wegen eines biochemischen Befundes und ohne suspekten rektalen Tastbefund – zu einer Karzinomdiagnose führen kann (Abb. links).

Sofern die Gewebeentnahme nicht im Rahmen einer endoskopischen Untersuchung oder offen chirurgisch erfolgt, wird sie mittels Stanzbiopsie perkutan durchgeführt – bei oberflächennahen, palpatorisch eindeutigen Herdbefunden Freihand, unter allen anderen Bedingungen entweder sonographisch oder stereotaktisch gezielt. Die intraläsionale Positionierung des Biopsieinstruments wird dokumentiert.

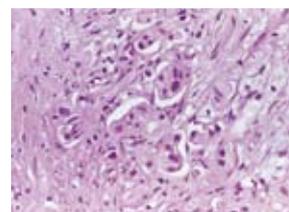


Mammatumor: Biopsienadel intraläsional

Die Wahl des Kalibers der Punktionsnadel richtet sich nach dem Risiko des Zugangs, der Größe des Herdes und nach den zu erwartenden Schwierigkeiten, an Hand des Materials eine zutreffende histologische Diagnose zu stellen.



Stanzbiopsie aus einer Raumforderung im Pankreaskopf (HE-Färbung, 2x)



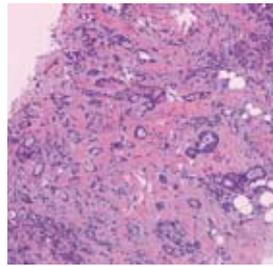
Wenige atypische Zellverbände sichern die Diagnose eines duktales Adenokarzinoms (400x)

Besondere Techniken haben sich mit der vakuum-assistierten, CT- oder MRI-gesteuerten Biopsie bei mammographisch suspekten, nicht palpablen Brustdrüsenveränderungen durchgesetzt. Eine

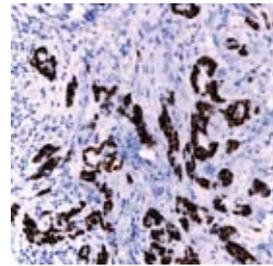
→ PATHOLOGIE

weitere, technisch und bildgebend aufwendige sowie diagnostisch herausfordernde Indikation ergibt sich bei stereotaktischen Biopsien von Tumoren des ZNS.

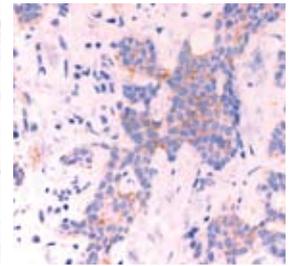
Die gewonnenen Gewebeproben sind nach Entnahme umgehend in zehnprozentigem, gepuffertem Formalin zu fixieren. Das in Paraffin eingebettete Material ist sowohl für konventionelle Histologie als auch für immunhistochemische und molekulare Untersuchungsmethoden geeignet (Abb. rechts).



Invasives duktales Mammakarzinom (100x)



Immunhistochemischer Nachweis des Östrogenrezeptors in Tumorzellkernen (200x)



HER2/neu-Rezeptor nicht überexprimiert und keine Indikation für Trastuzumab (200x)

„Tissue is the issue“

Allgemeine Regeln bei der Biopsieentnahme sind so augenscheinlich, dass sie im klinischen Alltag oft nicht ausreichend berücksichtigt werden. Wir möchten deshalb einige explizit in Erinnerung rufen:

- Je größer ein Tumor, umso mehr Proben sollten aus der Läsion entnommen werden, sodass trotz Tumorheterogenität und Variabilitäten im Wachstumsmuster ausreichend diagnostische Abschnitte in den Biopsien enthalten sind.
- Repräsentative und diagnostische Biopsien aus ulzerierten Tumoren können zumeist nicht aus dem zentralen nekrotischen Anteil, sondern aus der Peripherie der Läsion gewonnen werden.
- Eine Biopsieentnahme sollte so erfolgen, dass die Beziehung zwischen Tumor und Stroma und somit ein potentiell invasives Wachstum gut beurteilt werden kann.

- Tief in Weichteilen liegende Tumoren sind häufig mit prominenten reaktiven Veränderungen im umgebenden Gewebe assoziiert und müssen zur Gewinnung von diagnostischem Material entsprechend invasiv biopsiert werden.

- Bei Entnahme mehrfacher Proben müssen alle Fragmente zur histologischen Untersuchung einer zentralen Pathologie zugeführt werden. Eine Aufteilung auf mehrere Untersucher ist abzulehnen.

- Biopsisch gewonnenes Gewebe ist auf allen Ebenen der Verarbeitung von der Entnahme über die Fixation und die makroskopische Beurteilung bis zur Einbettung von allen Beteiligten bewusst schonend zu behandeln, um Artefakte, die eine exakte Diagnose verhindern, zu vermeiden.

- Gefrierschnittuntersuchungen von Tumorbiopsien sind – mit Ausnahme von großen Exzisionsbiopsien und spezifischer Fragestellung

→ Organbezogene Indikationen und onkologisch relevante Diagnosen

Organ	Indikation	Onkologisch relevante Diagnosen
Mamma	palpable, sonographisch und/oder mammographisch suspekter Raumforderung, suspekter Mikroverkalkungen	DCIS, histologische Subtypen des Mammakarzinoms einschließlich Sonderformen; Lymphom, Metastasen (selten!)
Prostata	PSA-Erhöhung, suspekter rektaler Tastbefund	Prostatakarzinom
Lymphknoten	persistierende Lymphknotenschwellung mit Verdacht auf Metastase oder Lymphom	Metastasen bekannter oder unbekannter Primärtumoren; Lymphome; Kommentar: Metastasen unbekannter Primärtumoren können in über 95 Prozent durch Immunhistochemie (ICH) zugeordnet werden; bei Lymphomverdacht ist eine Exzisionsbiopsie indiziert!
Weichteile	Raumforderung	Sarkome, Lymphome, Metastasen; Kommentar: IHC für exakte Typisierung häufig unverzichtbar
Pankreas	Raumforderung	duktales Adenokarzinom, neuroendokrine Tumoren, Azinuszellkarzinom, Metastasen; Kommentar: Abgrenzung Adenokarzinom/chronische Pankreatitis oft sehr schwierig; Zytologie zusätzlich hilfreich
Mediastinum	Raumforderung	Metastasen, Lymphome, Thymome, Keimzelltumoren; Kommentar: Tumorentitäten durch IHC gut klassifizierbar
Retroperitoneum	Raumforderung	Metastasen, Lymphome, Sarkome; Kommentar: Tumorentitäten durch IHC gut klassifizierbar
Pleura	Raumforderung	Infiltration durch Karzinome, Mesotheliom, Lymphom; Kommentar: Tumorentitäten durch IHC gut klassifizierbar
Leber	Raumforderung; diffuse Parenchymveränderung	primär hepatische Tumoren – hepato- und cholangiozelluläres Karzinom, Metastasen bei bekannten oder unbekanntem Primärtumoren, Lymphome, hämatologische Neoplasien; Kommentar: cholangiozelluläres Karzinom versus Adenokarzinommetastase auch mit IHC nicht sicher abgrenzbar – Klinik!
Lunge	periphere Raumforderung	Bronchuskarzinomsubtypen, Metastasen
Nebenniere	Raumforderung	primärer Nebennierentumor, Metastasen
Niere	Raumforderung – nicht zystisch	Nierenzellkarzinom, Metastasen
ZNS	Raumforderung	glialer Tumor, Metastase, Lymphom

– obsolet. Schnelleinbettungsverfahren garantieren innerhalb weniger Stunden eine exakte Diagnose an gut fixiertem und optimal präpariertem Gewebe.

- Abhängig von der vermuteten oder bereits vor Biopsie bekannten Natur einer neoplastischen Erkrankung soll bereits zum Zeitpunkt der Probenentnahme Bedacht auf zusätzlich zur konventionellen Histopathologie erforderliche Spezialuntersuchungen wie Abklatschzytologie, Elektronenmikroskopie, Zytogenetik, zytometrische oder molekulare Methoden genommen werden.
- Biopsien nach konservativer Tumortherapie lassen aufgrund der induzierten morphologischen Veränderungen keine präzise Klassifizierung von Neoplasien zu und sind bestenfalls zur Regressionsbeurteilung geeignet.

Organe und Fragestellungen

Wichtige organbezogene Indikationen und onkologisch relevante Diagnosen, die mit Hilfe von Stanzbiopsien unter Einbeziehung immunologischer Methoden zur Subtypisierung von Tumorgewebe mit hoher Sicherheit abgeklärt werden können, sind in nebenstehender Tabelle ohne Anspruch auf Vollständigkeit zusammengefasst.

Raumforderungen in der Schilddrüse sind in der präoperativen Abklärung eine Domäne der Feinnadelaspirationszytologie, Punktionen der Milz sind wegen des hohen Blutungsrisikos und der geringen Aussagekraft Rarität.

Die endoskopische Gewebeentnahme bei Tumoren des Gastrointestinaltraktes, der ableitenden Harnwege und des Bronchialsystems dient in erster Linie der exakten Typisierung der dort vorkommenden Primärtumoren.

Bewertung der Befunde

Die gemeinsame kritische Bewertung der Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchung von Biopsien bei malignen Tumoren ist eine der wichtigsten Aufgaben der interdisziplinären Zusammenarbeit zwischen den jeweils beteiligten klinischen Abteilungen Onkologie, Radiologie und Pathologie.

Dieser Erfordernis wird durch die verpflichtende Einrichtung von Tumorboards, in denen durch die Integration und Diskussion aller verfügbaren Befunde eine optimale, auf die jeweilige Tumorerkrankung zugeschnittene Therapie erarbeitet wird, Rechnung getragen.

Zusammenfassung

Endoskopische und perkutane Biopsien sind minimal invasive Möglichkeiten der prätherapeutischen Tumordiagnostik mit geringem Komplikationsrisiko und hoher Aussagekraft. Die Untersuchung von biopsisch gewonnenem Tumorgewebe mit konventionellen histologischen sowie immunologischen und molekularen Methoden liefert Schlüsselinformationen für die Therapie und Prognose maligner Erkrankungen.

*Prim. Univ.-Doz. Dr. Hans Feichtinger
Pathologisch-Bakteriologisches Institut
Krankenanstalt Rudolfstiftung, Wien*

*Prim. Univ.-Doz. Dr. Felix Offner
Pathologisches Institut
LKH Feldkirch, Vorarlberg*

Intraoperativer Schnellschnitt: Pathologe und Operateur als untrennbare Partner für die chirurgische Strategie

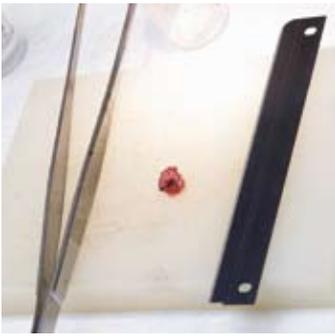
VON PRIM. UNIV.-PROF. DR. ROLAND SEDIVY

„Der Pathologe weiß alles, kann alles, es ist nur zu spät“ – ein Teil eines humoresken Aphorismus, der lange Zeit seine Gültigkeit hatte und von so manchem populärwissenschaftlichen Autor gerne zitiert wurde. Die Realität der modernen klinischen Pathologie zeigt aber ein gänzlich anderes Bild. Der moderne Pathologe ist heute vielmehr der „Detektiv mit dem Mikroskop“ und ein wesentlicher Partner der Kliniker. Die intensivste Zusammenarbeit ergibt sich im Bereich des intraoperativen Schnellschnitts oder Gefrierschnitts. Für alle chirurgisch tätigen Fächer ist der Gefrierschnitt eine nicht mehr weg zu denkende Serviceleistung der Pathologie und der Bedarf ist stetig im Steigen begriffen.

Die wichtigsten Indikationen zur Einholung eines intraoperativen histologischen Befunds bestehen in der Dignitätsevaluation von Tumoren oder tumorösen Läsionen sowie der Beurteilung der Resektionsränder bei Malignomen. Fragestellungen, die naturgemäß von hoher Dringlichkeit sind, da das weitere operative Vorgehen erheblich vom Ergebnis der Pathohistologie abhängig ist. In der weit überwiegenden Mehrheit der Fälle kann eine eindeutige Aussage

getroffen werden, die es zum Beispiel erlaubt organerhaltend zu operieren, damit so radikal wie notwendig, aber so schonend wie möglich vorgegangen werden kann.

In jüngerer Zeit hat sich die Untersuchung des Sentinel-Lymphknotens als eine weitere, sehr wichtige Indikation eingestellt. Die Erfassung selbst von Mikrometastasen, hilft in der Entscheidung, eine erweiterte Lymphadenektomie vorzunehmen. Die Negativität erspart zunächst dem Patienten diesen weiter reichenden Eingriff. Gerade aber die sorgfältige Aufarbeitung des Sentinel-Lymphknotens mit mehreren Schnittebenen erfordert einen höheren Zeit-, Personal- und Labormaterialaufwand, der gemessen an den Konsequenzen, seine Berechtigung aufweist. In Folge wird am Restmaterial im Paraffin eine Panzytokeratin- (epitheliale Malignome) oder Melanozytenfärbung angeschlossen, um an dem vollständig in Stufenschnitten aufgearbeiteten Lymphknoten, auch kleinste Metastasen aufzuspüren. Eine Zusammenfassung der Indikationen (gemäß Qualitätsstandards der Österreichischen Gesellschaft für Pathologie; www.pathology.at) ist auf der nächsten Seite angeführt.



Intraoperativer Schnellschnitt: Nach der makroskopischen Beurteilung wird das Gewebe auf einem Stempel in ein Gel eingebracht und im Kryocat aufgefroren.

Indikationen

- Dignitätsdiagnose
- Resektionsgrenzen-Prüfung auf eine eventuell gegebene Tumorfiltration
- Lymphknotenstaging (sofern es den OP-Verlauf beeinflusst)
- Gewebeidentifizierung (zum Beispiel Nebenschilddrüse versus Schilddrüse)
- Beurteilung der Repräsentativität (zum Beispiel Proben für molekularpathologische oder elektronenoptische Diagnostik)
- Organspezifische Besonderheiten

Technische Einschränkungen

Obwohl der Gefrierschnitt eine sehr rasche und zielführende Methode ist, bestehen dennoch Limitationen technischer Natur. Einerseits sind nur orientierende Gewebsschnitte, insbesondere bei größeren Operationspräparaten möglich – eine umfassende Aufarbeitung muss in diesen Situationen der Paraffinhistologie überlassen bleiben. Auch entstehen durch das Auffrieren der Probe Artefakte, die die anschließende histologische Bewertung, der nach dem Auftauen in Paraffin eingebetteten Probe, schwieriger gestalten. Andererseits sind zytologische Veränderungen im Gefrierschnitt wesentlich stärker entwickelt, sodass gegebene Kernatypien nicht immer ausreichend verlässlich eingeschätzt werden können. Zusätzlich gehen in dem gefrorenen Untersuchungsgewebe viele Epitope verloren, die Ziel einer etwaigen notwendigen Antikörperbindung im Rahmen einer Immunhistochemie sind. Dadurch kann das immunhistochemische Resultat verfälscht oder sogar verunmöglicht werden.

Um dieser Einschränkung zu entgehen, ist ein Zurückhalten von Gewebsstücken von Nöten, die nur in Paraffin eingebettet werden. Dies ist allerdings bei sehr kleinen Materialien oft kein gangbarer Weg. Hier muss der potenzielle Epitopverlust in Kauf genommen oder der Gefrierschnitt abgelehnt werden. Um die suffiziente Aufarbeitung im Paraffin zu gewährleisten, stellen zu kleine Gewebe zum Beispiel für eine primäre Tumordiagnostik sogar eine Kontraindikation dar. Eine Zusammenfassung über Limitationen und Kontraindikationen (gemäß Qualitätsstandards der Österreichischen Gesellschaft für Pathologie) wird unten dargestellt.

Limitationen und Kontraindikationen

- Zu wenig Untersuchungsmaterial (zum Beispiel Mammatumor <5mm)

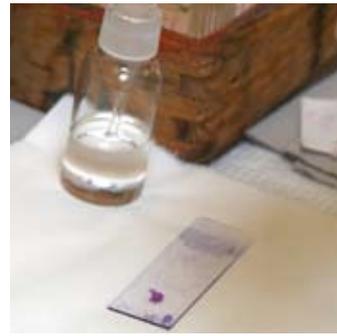
- Mangelnde Eignung (zum Beispiel Fettgewebe, nekrotisches Material, Knochen)
- Zerstörung anatomischer Strukturen mit Behinderung der nachfolgenden adäquaten Paraffindiagnostik
- Ungeeignete Fragestellung (zum Beispiel Wiederholung von biopsisch gesicherter Tumordiagnose ohne besondere Begründung)
- Hohes Infektionsrisiko (zum Beispiel Tbc, AIDS)
- Rasche Diagnose ohne OP-taktische oder therapeutische Notwendigkeit

Ablauf der intraoperativen Schnellschnittdiagnostik

Das zu untersuchende Gewebe wird je nach Bedarf mit unterschiedlichen Fadenmarkierungen vom operierenden Kollegen orientiert und abhängig von der Infrastruktur an die Pathologie gesandt. Die bestehenden Möglichkeiten reichen dabei von Übermittlung per Rohrpostanlage, über Botenlauf bis zum Transport mit Rettungsfahrzeugen. In wenigen Ausnahmefällen, vor allem in privaten Krankenhäusern, besteht die Möglichkeit eines Gefrierschnitts innerhalb des OP-Bereichs durch einen eigenen Schnellschnittplatz. Leider ist letztere Möglichkeit eine Ausnahme, obwohl sie die unmittelbare und auch persönliche Interaktion zwischen Operateur und Pathologen erlaubt. Natürlich ist es auch die schnellste aller Varianten, einen Gefrierschnitt abzuwickeln.

Die zweitschnellste Form ist die Verwendung einer Rohrpostanlage, die aber aufgrund der Größe der „Bomben“ nur kleinere Präparate zum Verschicken zulässt. Der Botendienst ist der probate Weg, der lediglich von der Lokalisation der Pathologie in seinen zeitlichen Möglichkeiten bestimmt wird. Die Forderung, dass ein Institut für Klinische Pathologie möglichst in unmittelbarer Nähe zu den Operationsräumen beheimatet ist, wird oftmals durch die gegebenen Gebäudestrukturen nicht ermöglicht. Auch die räumlichen Voraussetzungen von mindestens 12m² (gemäß Qualitätsstandards der Österreichischen Gesellschaft für Pathologie) sind selbst bei bestehenden Schnellschnitträumen im Sterilbereich nicht erfüllt. Die Hoffnung besteht, dass bei Neuerrichtungen oder Umbauten diesem berechtigten Wunsch entsprochen wird.

Zeiten, in jenen die Pathologie sich mehrheitlich mit der Prosektur-tätigkeit auszeichnete und am besten versteckt am Rand des Spitals oder im Keller untergebracht wurde, sollten längst der Vergangenheit angehören. Auch lange Fahrstrecken (teils bis zu einer Stunde oder mehr) mittels Sanitätskraftwagen können durch telepathologische Anwendungen ersetzt werden – zu klären sind allerdings damit



Nach ein bis zwei Minuten werden 2-5µm dicke Schnitte angefertigt die drei bis fünf Minuten lang gefärbt werden, bevor sie beurteilt werden können.

verbundene Rechtsfragen hinsichtlich der Diagnoseverantwortung. Hier bestehen jedoch gelebte Beispiele in Österreich und Deutschland, die bei der Umsetzung als Diskussions- und Umsetzungshilfe herangezogen werden können. Kleinste Optiken und moderne Datenübermittlungstechnik eröffnen dabei ungeahnte qualitätssteigernde Maßnahmen. Leider ist dies Erhalten von Krankenanstalten nicht immer bewusst und meist die Aufstockung und Expansion bürokratischer Ebenen wichtiger als eine spürbare Investition in pflegerisches und ärztliches Personal sowie moderne Infrastruktur. Die angesprochene Anwendung der Telepathologie bedarf natürlich einiger technischer, personeller und finanzieller Grundvoraussetzungen, die vielerorts keinerlei Hindernisse darstellten. Der Nutzen für die Patienten rechtfertigte in jenen Häusern mit telepathologischen Einrichtungen jedenfalls die Aufwendungen.

Ist das Material schließlich an der Pathologie eingelangt, erfolgt eine erste makroskopische Sichtung mit Beschreibung und der Ausgabe von relevanten Schnittproben. Dabei werden zuvor die Resektionsränder mit Tusche markiert, um auch histologisch die Orientierung beibehalten zu können. Das Gewebe wird auf einem Stempel („Schwammerl“) in ein Gel auf- bzw. eingebracht, welches bei runden minus 20 bis minus 24 Grad Celsius im Kryocaut auffriert. Nach ein bis zwei Minuten kann die technische Assistenz zwei bis 5µm dicke Schnitte anfertigen. Grundsätzlich ist ein hoher Fettanteil dem

Schneideprozess abträglich und führt zu schlechten bis gar keinen Schnitten. Dies erklärt in solchen Fällen den Rückzug des Pathologen mit der beiderseitig oftmals ungeliebten Aussage des „Paraffin abwarten“ oder der gänzlichen Zurückweisung des Gefrierschnitts. Sind die hauchdünnen Schnitte ausgeführt folgt eine Schnellfärbung, die zwischen drei und fünf Minuten benötigt. Gegebenenfalls kann auch eine Abklatschzytologie hergestellt werden. Gerade die intraoperative Schnellszytologie ist eine bedeutende Erweiterung, die kaum jenen Limitationen unterliegt, wie der Gefrierschnitt. Das Ergebnis des Gefrierschnitts wird über Telefon oder Gegensprechanlage durchgegeben. Der gesamte Vorgang an der Pathologie (ohne Wegzeit) benötigt, je nach Aufwand und Probe zwischen zehn und 20 Minuten.

Die intraoperative Schnellschnittdiagnostik ist damit heute ein integraler Bestandteil einer qualitativ hochwertigen operativen Leistung, die von den Kostenträgern gefördert und nicht behindert werden darf. Beispiele aus anderen Ländern, die durch Kranksparen Gefrierschnitte aus Kostengründen unterbinden, dürfen in Österreich nicht Schule machen und es ist zu hoffen, dass wir wenigstens in dieser Hinsicht eine „Insel der Seligen“ bleiben.

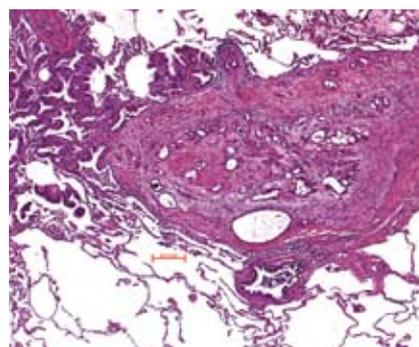


Prim. Univ.-Prof. Dr. Roland Sedivy
Institut für Klinische Pathologie
Landeskrankenhaus St. Pölten

Postoperative histopathologische Diagnose: Qualitätssicherung der Operation und Grundlage für die adjuvante Therapie

VON UNIV.-PROF. DR. FRITZ WRBA UND UNIV.-PROF. DR. HELMUT H. POPPER

Die moderne Behandlung maligner Tumoren stellt eine multidisziplinäre Herausforderung dar, in der praktisch allen Fachbereichen der Medizin wichtige Aufgaben zukommen. Aufgrund der raschen Entwicklung, die laufend sowohl zu neuen therapeutischen Substanzen, als auch zu Verbesserungen diagnostischer Möglichkeiten führt, sind alle Fachbereiche angehalten ihre Tumorkonzepte ständig zu überprüfen und dem modernen Bedarf entsprechend anzupassen.



Blutgefäßeinbruch bei Lungenkarzinom

Unabhängig von dieser Dynamik stellt bei soliden Tumoren, die den überwiegenden Teil aller Neoplasien ausmachen, weiterhin die komplette chirurgische Resektion des Tumors die grundsätzliche Therapie der Wahl dar. Weltweit besteht darüber Übereinstimmung, dass eine komplette Tumorsektion (inklusive des dem Tumor angelagerten Gewebes von Lymph- und Blutdrainage) die wichtigste Voraussetzung für eine mögliche kurative Therapie ist. Aus diesem Grund hat sich zu Recht eine Stan-

Standardisierung der chirurgischen Techniken für annähernd alle Typen solider Tumoren in allen möglichen anatomischen Lokalisationen etabliert. In Ergänzung dazu sind natürlich alle zusätzlichen Therapien, sowohl in neoadjuvanter als auch in adjuvanter Form angewendet, als standardisierte Protokolle vorliegend.



Die Genauigkeit von pathologischen Diagnosen hängt wesentlich von der Qualität des Untersuchungsmaterials ab. Adäquate Probenentnahme ist Voraussetzung für eine hochwertige Diagnostik (rechts: mesenchymaler Lungentumor).

Entscheidungsparameter

Grundsätzlich basiert jede individuelle Entscheidung über den Einsatz der verfügbaren therapeutischen Maßnahmen auf biologischen Parametern der vorliegenden Neoplasie. Diese Parameter betreffen die Morphologie des Tumors (histologischer Typ, Differenzierung/Grading), Tumorgöße und Ausdehnung (inklusive der Erfassung möglicher Lymphknotenmetastasen, entsprechend dem Staging), Resektionsränder (R-Status), eventueller Blutgefäßeinbruch, sowie, wenn angebracht, der Nachweis von Synthese und Expression therapierelevanter Zielproteine (zum Beispiel Steroidhormonrezeptoren, c-erbB2, EGFR). In den letzten Jahren nahm auch die Bedeutung von bestimmten Genveränderungen für ein mögliches Ansprechen auf bestimmte Therapien zu (P53, c-KIT, EGFR, VEGFR, PDGFR).

Die standardisierte Bestimmung von sowohl therapie-, als auch prognoserelevanten biologischen Parametern zählt zu den wesentlichen Aufgaben einer modernen Pathologie. Dadurch gewährleistet die Pathologie einen grundsätzlichen Beitrag zur Qualitätssicherung von Operationspräparaten, ebenso wie zur individuellen Therapieplanung und Dokumentation eines möglichen Therapieerfolgs.

Standardisierte Verarbeitung von resezierten Geweben

Die Genauigkeit und Nachvollziehbarkeit von pathologischen Diagnosen ebenso wie von den damit verbundenen Resultaten der Bestimmungen therapierelevanter Parameter hängt wesentlich von der Qualität des Untersuchungsmaterials ab. So ermöglicht jede Form standardisierten chirurgischen Vorgehens von Seiten der Pathologie ebenfalls ein darauf abgestimmtes standardisiertes Protokoll einzusetzen. Dadurch gelingt es mögliche Missinterpretationen und Fehler auf ein Minimum zu reduzieren. Standardisierte Verarbeitungen, Untersuchungen und Nomenklaturen sind heutzutage sowohl nach lokaler, minimal invasiver Chirurgie (endoskopische Resektionen), als auch nach großen chirurgischen Eingriffen State of the Art.

Die Verarbeitung für die endgültige pathologische Diagnose beginnt mit der makroskopischen Einschätzung und Beurteilung des gesamten Resektats. Dabei werden alle für die Bestimmung des Tumorstadiums (TNM-System) und des Radikalitätsstatus (R-Status) notwendigen Parameter erfasst und beschrieben. Dies betrifft die Größe des Tumors, die lokale Ausbreitung oder Infiltrationstiefe bei strukturierten Geweben, sowie mögliche Lymphknotenmetastasen oder

Tumorfoci. Der Beurteilung des Resektionsrandes/der Resektionsfläche kommt zusätzliche Bedeutung zu. Diese im Rahmen einer ersten makroskopischen Beurteilung erfassbaren Parameter bilden auch die Grundlage qualitätssichernder Informationen über den vorangegangenen chirurgischen Eingriff. Der Zustand des Resektats, die Integrität anhaftender Flächenstrukturen (Faszien, Membranen, Tumorkapsel), sowie die Anzahl der mitresezierten Lymphknoten bilden dafür wichtige Kategorien.

Zusätzlich bildet die makroskopische Begutachtung die Basis für eine intelligente Gewebeentnahme zur weiteren histologischen Begutachtung. Die in Folge gestellte Diagnose bildet den Goldstandard für alle weiteren Konsequenzen. Dabei muss auch bedacht werden, dass das für die Histologie entnommene Gewebe häufig das einzige Probenmaterial darstellt, welches in Folge auch für weiterführende Untersuchungen (Proteinexpression, Genanalysen) ebenso wie für Kontrolluntersuchungen oder für forensische Zwecke verwendet werden kann. Die Installation von Tumorbanken, in denen frisches Gewebe unbegrenzt gelagert werden kann, hat in diesem Zusammenhang eine zusätzliche Bedeutung erfahren.

Auch in der Diagnostik nicht-neoplastischer Erkrankungen werden am Resektat noch wesentliche Erkenntnisse von der Pathologie für die Klinik geliefert. So kann eine grobe Erregertypisierung bei entzündlichen Prozessen durchgeführt werden. Bei Pneumonien können gram-negative von Gram-positiven bakteriellen Infektionen unterschieden werden, mykotische Pneumonien können zumindest in große Erregergruppen unterteilt werden, und bei parasitären Pneumonien können manchmal direkte Typendiagnosen gestellt werden. Über funktionelle hormonelle Störungen, zum Beispiel zur Abklärung der Ursache einer postmenopausalen Blutung kann durch den Nachweis spezieller Veränderungen des Endometriums ebenfalls eine klinisch relevante Aussage gemacht werden.

Zusammenfassung

Die Rolle der onkologischen Pathologie im multidisziplinären Konzert des modernen Tumormanagements liegt darin, alle möglichen morphologischen und biologischen Parameter zu erfassen, die einerseits eine exakte Diagnose mit Tumorigradung und -staging und andererseits auch die Identifikation von Parametern ermöglichen,

die in direkten Zusammenhang mit speziellen Tumortherapien stehen. Im Rahmen des dafür notwendigen standardisierten Vorgehens werden auch qualitätssichernde Schritte gesetzt, die für eine moderne Tumortherapie (Chirurgie) unerlässlich sind. In der Diagnostik nicht-neoplastischer Prozesse sind ebenfalls verschiedenste klinisch relevante Aussagen möglich und zählen zum diagnostischen Standard.



Univ.-Prof. Dr. Fritz Wrba
Institut für Pathologie
Medizinische Universität Wien



Univ.-Prof. Dr. Helmut H. Popper
Institut für Pathologie
Medizinische Universität Graz

Erfordernisse einer komplexen Diagnostik als Grundlage für eine moderne, zielgerichtete Therapie

VON DR. MICHAEL VESELY, UNIV.-PROF. DR. ANDREAS CHOTT UND UNIV.-PROF. DR. PETER REGITNIG

Für die Chemotherapie von Leukämien und malignen Lymphomen werden seit Jahrzehnten verschiedene Medikamente eingesetzt, vorwiegend in Form von Kombinationen mehrerer Zytostatika nach genau definierten Therapieprotokollen. Die Auswahl der Therapie richtet sich nach dem Typ der hämatologischen Neoplasie. So gibt es etwa eigene Therapieprotokolle für akute myeloische Leukämien, akute lymphatische Leukämien, Hodgkin-Lymphome, Burkitt-Lymphome und andere Non-Hodgkin-Lymphome oder chronische myeloproliferative Erkrankungen. Somit ist die rasche und korrekte histologische Diagnose mit Einsatz des gesamten methodischen Spektrums der modernen Hämatopathologie (einschließlich Immuntypisierung, Molekularbiologie und Zytogenetik) nach wie vor der Schlüssel einer erfolgreichen Behandlung dieser Neoplasien.

Zielgerichtete Therapien hämatologischer Neoplasien

Nahezu alle Leukämien und Lymphome weisen für den jeweiligen Subtyp charakteristische genetische Veränderungen auf. Viele davon sind Translokationen (Verlagerung eines Teiles eines Chromosomenarmes zu einem anderen Chromosom). Die Mehrzahl dieser Translokationen führt zu einer Aneinanderlagerung bzw. Fusion von

zwei Genen, die funktionell für die Entstehung oder Progression dieser Neoplasien verantwortlich sind. Diese Fusionierung kann nicht nur mittels konventioneller Zytogenetik, sondern auch mit molekularbiologischen Methoden, etwa mit Fluoreszenz in situ Hybridisierung (FISH) oder Genamplifikationsmethoden (RT-PCR) nachgewiesen werden. Der



Nachweis der Translokation t(8;14) bei Burkitt-Lymphom mittels FISH

Nachweis dieser Translokationen ist somit bei morphologischen Grenzfällen differentialdiagnostisch hilfreich. Einige dieser genetischen Veränderungen charakterisieren Entitäten, die eine besondere Therapie erfordern (zum Beispiel das Burkitt-Lymphom) oder für die es bereits eine spezifische, nur bei Vorliegen der Fusion der involvierten Gene wirksame Therapie gibt, etwa der Interferon-alpha-Therapie und Tyrosinkinaseinhibitoren (Imatinib, Dasatinib)

bei chronischer myeloischer Leukämie oder der Retinoidtherapie bei akuter Promyelozytenleukämie.

→ Therapeutisch wichtige genetische Veränderungen bei Leukämien und Lymphomen

Neoplasie	zytogenetische Veränderung	involvierte Gene	therapeutische Konsequenz
chronische myeloische Leukämie	t(9;22)(q34;q11)	BCR/ABL	Imatinib-, Dasatinib-, Interferon-Therapie
Burkitt-Lymphom	t(8;14)(q24;q32) t(2;8)(p11;q24) t(8;22)(q24;q11)	C-MYC/ IGH C-MYC/IGK C-MYC/IGL	Burkitt-Protein
akute Promyelozytenleukämie	t(15;17)(q22;q21)	PML/RARA	Retinoid-Therapie

Bei anderen Neoplasien, zum Beispiel der B-zelligen chronischen lymphatischen Leukämie und bei Plasmazell-Myelom können durch den Einsatz molekularbiologischer Untersuchungen genetische Subtypen definiert werden, die eine markant unterschiedliches biologisches Verhalten zeigen und teilweise auch eine andere Therapie erfordern.

→ Prognostisch und therapeutisch wichtige genetische Veränderungen bei B-CLL

Genetische Veränderung	Häufigkeit	involvierte Gene (bzw. -regionen)	Prognose
del 13q14	60 Prozent	D13S913	gut
del 13q34	50 Prozent	LAMP1	gut
del 11q22	20 Prozent	ATM1	schlecht
+12	20 Prozent	-	intermediär*
del 17p13	20 Prozent	p53	schlecht**
t(11;14)(q13;q32)	Null Prozent (?)	CCND1/IGH	sehr schlecht (?)

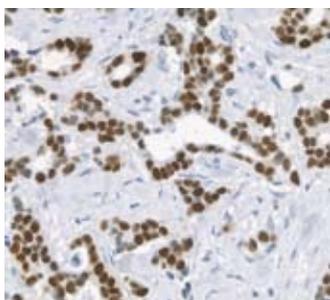
* häufig Rituximab - therapierefraktär

** häufig Rituximab - therapierefraktär, gutes Ansprechen auf Alemtuzumab-Therapie

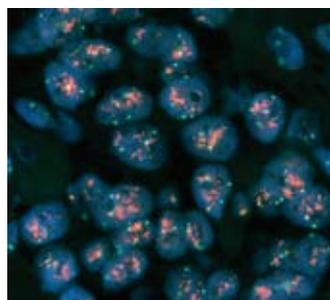
Auch bei den akuten myeloischen und lymphatischen Leukämien stellen bestimmte zytogenetische Veränderungen nach wie vor der wichtigste Prognosefaktor dar. Klinische Konsequenz dieses Erkenntnis ist der Einsatz einer allogenen Knochenmarkstransplantation bei jüngeren Patienten mit prognostisch ungünstiger Genetik nach initialer Chemotherapie.

Karzinome und Weichgewebstumore

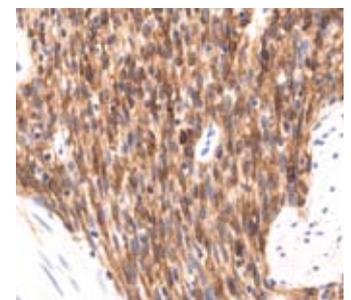
Einige der häufigsten Malignome sind in physiologischerweise hormonsensitiven Geweben entstehende Karzinome, wie das Mamma-, das Ovarial- und das Prostatakarzinom. Die Beeinflussung durch Steroidhormone im Normalgewebe wird durch spezielle Rezeptormoleküle gesteuert. Karzinome in diesen Organen können die Expression dieser Hormonrezeptoren beibehalten oder – als Spiegelbild des biologischen Differenzierungsverlusts – teilweise oder auch völlig verlieren. Somit ist der Nachweis der Rezeptormolekülexpression als Indikator der biologischen Differenzierung oder einer Anaplasie ein hochsignifikanter Prognosefaktor. Noch wichtiger ist der Nachweis des Rezeptorstatus als prädiktiver Faktor für das Ansprechen auf eine medikamentöse hormonelle Blockade des Tumorzellwachstums bei diesen Neoplasien. Besonders beim Mammakarzinom ist die antiöstrogene Therapie eine der effektivsten therapeutischen Optionen, jedoch nur bei Rezeptor-positiven Tumoren wirksam. Dementsprechend wird bei jedem Mammatumor der



Starke Proteinexpression in den Kernen der Tumorzellen Abb. 1



Zahlreiche HER2-Gensignale (rot) beim Mammakarzinom Abb. 2



Nachweis des c-Kit-Proteins (CD117) in einem GIST Abb. 3

Östrogen- und Progesteronrezeptorstatus bestimmt. Als Methode der Wahl hat sich seit vielen Jahren der Nachweis der Rezeptormolekülexpression am histologischen Schnitt mittels semiquantitativer Immunhistochemie bewährt (Abb. 1), da diese Methode besser die therapeutische Response als die früher eingesetzten biochemischen Methoden voraussagen kann.

Weitere Schlüssel-moleküle bei epithelialen Malignomen sind in der Zellmembran verankerte Rezeptormoleküle für Wachstumsfaktoren der Gruppe 1, deren Prototyp der Epidermal Growth Factor Rezeptor (EGFR) ist. Auch diese Rezeptoren besitzen eine Tyrosinkinaseaktivität und führen über eine Kaskade von aktivierten Molekülen, sogenannte Signaltransduktion, zu einer Stimulation des Zellwachstums. Beim Mammakarzinom ist ein weiteres Rezeptormolekül aus dieser Gruppe, das HER2-Protein, bei etwa 20 Prozent der Tumoren abnorm stark exprimiert. Genetische Grundlage dieser Überexpression ist meist eine Amplifikation des für dieses Protein kodierenden Gens am Chromosom 17. Diese HER2-positiven Tumoren verhalten sich biologisch deutlich aggressiver und sprechen schlechter auf

eine konventionelle Chemotherapie an, sind jedoch durch verschiedene moderne Medikamente zielgerichtet beeinflussbar. Dazu zählen den Rezeptor selbst blockierende monoklonale Antikörper (Trastuzumab) und die Tyrosinkinaseaktivität oder die Signaltransduktion blockierende Moleküle (Tyrosinkinaseinhibitoren und Signaltransduktionshemmer). Diese Substanzen wirken jedoch naturgemäß nur bei HER2-positiven Tumoren. Somit wird heute der HER2-Status routinemäßig bei jedem Mammakarzinom (mittels immunhistochemischem Nachweis der Proteinüberexpression bzw. Darstellung der Genamplifikation durch FISH) ebenso wie der Hormonrezeptorstatus bestimmt (Abb. 2).

Der EGFR ist bei zahlreichen Malignomen, unter anderem bei kolorektalen, Bronchus- und HNO-Karzinomen dereguliert, meist durch Mutation des am Chromosom 7 lokalisierten Gens. Diese Tumoren sind gleichfalls gut durch einen spezifisch gegen das Rezeptormolekül gerichteten monoklonalen Antikörper (Cetuximab) behandelbar.

Der häufigste im Verdauungstrakt auftretende mesenchymale Tumor ist der sogenannte gastrointestinale stromale Tumor (GIST). Dieser ist biologisch als potentiell maligne einzustufen, etwa die Hälfte der Patienten entwickeln hämatogene, seltener lymphogene Metastasen. Auch hier haben neuere molekularbiologische Erkenntnisse nicht nur zu einer histologischen Reklassifikation, sondern auch zu neuen Therapieoptionen dieses gegen eine konventionelle Zytostatikatherapie chemoresistenten Tumors geführt. Bei GIST finden sich Mutationen von Wachstumsfaktor-Rezeptoren, typischerweise dem auch von hämatopoetischen Stammzellen und Mastzellen exprimierten Molekül c-Kit (CD117) und dem platelet derived growth factor receptor alpha (Abb. 3). Dadurch wird der Tumor therapeutisch durch Tyrosinkinaseinhibitoren beeinflussbar, etwa mit dem auch zur Behandlung der chronischen myeloischen Leukämie eingesetzten Imatinib. Ein Teil der Tumoren entwickelt eine Resistenz gegen diese Therapie. Hier scheinen neu entwickelte Substanzen aus dieser Medikamentengruppe (Sunitinib) ausgezeichnete Ergebnisse zu bringen.

Die Aufgaben der modernen Pathologie

Die Fülle von neuen biologischen und genetischen Erkenntnissen hat nicht nur das theoretische Verständnis für die Mechanismen der Entstehung und Progression maligner Neoplasien erweitert und vertieft, sondern auch zur Entwicklung neuer, maßgeschneidert in die Tumorbiologie eingreifender Medikamente geführt. Aufgabe der modernen, klinisch orientierten Pathologie ist es daher, über die konventionelle Tumorklassifikation hinaus diese Veränderungen mit dem gesamten methodischen Spektrum einschließlich Immunhistochemie und molekularpathologischen Techniken zu suchen. Dies ermöglicht bei vielen Patienten dramatisch verbesserte Behandlungsergebnisse. Zudem ist der Nachweis spezifischer Veränderungen auch für den rationellen Einsatz dieser meist gut verträglichen, teilweise jedoch sehr teuren

Substanzen wichtig. Die Pathologie leistet somit auch einen gesundheitsökonomisch wichtigen Beitrag zum modernen multidisziplinären Management onkologischer Patienten.

Univ.-Prof. Dr. Andreas Cbott
 Institut für Pathologie
 Medizinische Universität Wien



Dr. Michael Vesely
 Jakob-Erdheim-Institut für Pathologie und Klinische
 Bakteriologie, Krankenhaus Hietzing, Wien



Univ.-Prof. Dr. Peter Regitnig
 Institut für Pathologie
 Medizinische Universität Graz

Immunhistochemie: Ein unersetzliches Tool für Tumortypisierung und Bestimmung prognostischer Faktoren

VON UNIV.-PROF. DR. BETTINA ZELGER, PRIM. DR. CHRISTA FREIBAUER UND PRIM. UNIV.-PROF. DR. OTTO DIETZE

Die Immunhistochemie ist eine Methode zur Darstellung von zell- und gewebsspezifischen Antigenen/Proteinen mittels Antikörpern und dem anschließenden Sichtbarmachen der gebundenen Antikörper. Die dabei entstehenden Antigen-Antikörper-Komplexe können mit geeigneten Farbstoffen (Chromogenen) oder Fluoreszenzfarbstoffen detektiert werden, wodurch die Verteilung der Antigene am histologischen Schnitt sichtbar wird. Die Markierung mit Chromogenen ermöglicht eine Analyse der gefärbten Schnitte im Lichtmikroskop, was die Methode für die Anwendung in der Routine geeignet macht. Die Markierung mit Fluoreszenzfarbstoffen hingegen bedarf eines Fluoreszenzmikroskopes. Zur Gewinnung von polyklonalen Antikörpern werden durch Immunisieren von Tieren Antiseren verwendet. Monoklonale Antikörper gewinnt man aus Zellkulturen (sog. Hybridomzellen), ebenfalls nach Immunisierung von Tieren. Je nach Lokalisation des untersuchten Antigens findet man Reaktionen im Zytoplasma, im Zellkern oder in der Zellmembran. Ist der Nachweis nicht empfindlich genug, gibt es Möglichkeiten, durch Vervielfachen der Marker die Empfindlichkeit zusteigern (z.B. ABC-Methode, siehe Schema).

Die meisten Antikörper können heute am routinemäßig formalinfixierten Gewebe eingesetzt werden. Das bietet die Möglichkeit, archivierte Paraffinblöcke auch noch nach vielen Jahren nachträglich zu bearbeiten. Nur mehr wenige Antikörper sind ausschließlich an Nativ- bzw. Gefriermaterial anwendbar. Auch zytologische Präparate und Zellblockpräparate, die aus Zellsuspensionen wie Pleurapunktaten hergestellt werden können, sind für die immunhistochemische Technik geeignet.

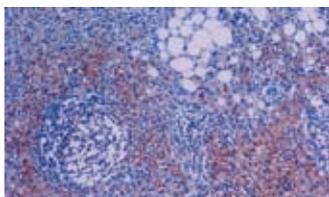
Anwendungsbereiche in der Onkologie:

- Diagnostik
- Prädiktive Faktoren für die Tumorthherapie
- Prognostische Faktoren

Immunhistochemische Gewebstypisierung

In der Tumorpathologie ist die immunhistochemische Gewebstypisierung ein wesentlicher Bestandteil der Diagnostik. Tumore unterschiedlicher Herkunft können morphologisch sehr ähnlich aussehen. Um diese Tumore zu klassifizieren, benötigt man oft eine Kombination von immunhistochemischen Markern, die bestimmte Zelleigenschaften darstellen. Die Beurteilung des histomorphologischen Bildes und die Interpretation der immunhistochemischen Färbereaktionen gemeinsam führen schließlich den Pathologen zur Diagnose. „Diagnostische Marker“ unterscheiden sich in Bezug auf ihr Anwendungsgebiet. In der Tumordiagnostik werden häufig zellspezifische Marker, die epitheliale oder mesenchymale Zellen charakterisieren, eingesetzt. Dadurch wird die Unterscheidung zwischen Karzinom und Sarkom ermöglicht. Auch Marker, die spezifische Zellinhaltsstoffe wie Hormone, Enzyme oder Glykoproteine darstellen, liefern Unterscheidungsmerkmale für die Tumordiagnostik. Mit der geeigneten Auswahl an immunhistochemischen Antikörpern kann in vielen Fällen ein Tumor auch dann, wenn er schlecht differenziert ist, noch histologisch klassifiziert werden. Beispielsweise kann bei einem undifferenzierten spindelzelligen Tumor, bei dem eine Expression von Keratinen nachgewiesen werden kann, ein spindelzelliges Karzinom diagnostiziert werden. Expressieren die Zellen einer spindelzelligen Läsion hingegen S-100 Protein bzw. einen melanozytären Marker wie Melan A, so handelt es sich um ein malignes Melanom. Die Immunhistochemie ist auch Voraussetzung für Diagnose von neuroendokrinen Tumoren, die wesentliche therapeutische Konsequenzen nach sich zieht.

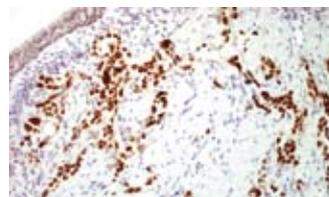
Bei der Untersuchung von Metastasengewebe, das morphologisch keine Rückschlüsse auf den Primärtumor zulässt, kann durch organ- oder zellspezifische Marker oft der Primärtumor identifiziert werden.



Desmoplastisches Melanom (S-100 Protein)



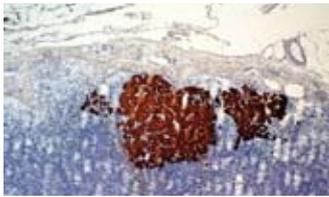
Mammärer Morbus Paget mit neoplastischen Zellen (Zytokeratin 7)



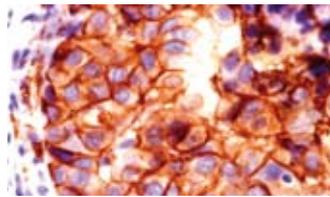
Großzelliges Bronchuskarzinom (TTF 1)



Detektion vereinzelter Tumorzellen in einem Pleurapunktat (TTF 1)



Lymphknotenmetastase: positive Reaktion mit epithelialem Marker



Mammakarzinom mit Hercep-Test: Positives Ergebnis 3+

Diagnostische Sicherheit

In biopsischen Gewebentnahmen, wo mitunter wenig Tumormasse für die histologische Untersuchung zur Verfügung steht, ist die Immunhistochemie ein wesentlicher Bestandteil, der die diagnostische Sicherheit der Untersuchung deutlich steigert. Hier sei das Beispiel der Prostatastanzen erwähnt, wo ein Fehlen basaler p63-positiver Epithelien bei gleichzeitiger Racemase-Positivität die Diagnose bei oft winzigen Tumorausläufern möglich macht. Ein unabdingbarer Baustein ist die immunphänotypische Subtypisierung bei malignen Lymphomen und Leukämien. Auch der immunhistochemische Erregernachweis hat in der Onkologie seinen Stellenwert, man denke an Lymphome und undifferenzierte nasopharyngeale Karzinome und ihre EBV-Assoziation oder an HPV-assoziierte Tumore.

Prädiktive Faktoren für die Tumorthherapie

Parallel mit der Entwicklung der therapeutischen Möglichkeiten in der Onkologie geht auch die Entwicklung der Immunhistochemie. Um eine zielgerichtete, individuelle und effiziente, antitumorale Therapie zum Einsatz zu bringen bzw. um das Ansprechen auf eine bestimmte Therapie vorherzusagen zu können, gibt es immunhistochemische Untersuchungsmethoden aufgrund derer diese Informationen geliefert werden können. Bei jedem diagnostizierten Mammakarzinom wird eine immunhistochemische Bestimmung von Östrogen- und Progesteronrezeptoren durchgeführt, die einerseits entscheidend ist für das voraussichtliche Ansprechen auf Antihormontherapie, andererseits auch einen Marker für die Prognose darstellt. Ein weiteres Anwendungsgebiet der Immunhistochemie ist

die Bestimmung des HER2-neu-Status beim Mammakarzinom, die Voraussetzung ist für eine exakte Therapieselektion. Auch bei anderen Tumorentitäten geht die Entwicklung der „targeted therapies“ weiter, was für die Pathologen eine Herausforderung bedeutet. Prognostische Marker in der Immunhistochemie sind vor allem Antikörper, die mit der Tumorzellproliferation in Zusammenhang stehen, wie z.B. das zellzyklusassoziierte Antigen Ki67, das jene Zellkerne anfärbt, die sich nicht in der Ruhephase (G0) der Mitose befinden. Andere immunhistochemische prognostische und prädiktive Marker lassen durch eine geänderte Proteinexpression auf genetische Veränderungen schließen, Beispiele dafür sind die Darstellung von Wachstumsfaktoren (z.B. epidermaler Wachstumsfaktor-Rezeptor, EGF-R), Onkogenen (z.B. HER2-neu, Cyclin D1, p21) und Tumorsuppressorgenen (z.B. p53). Die Immunhistochemie unterscheidet nicht zwischen neoplastischen und nicht-neoplastischen Läsionen. Auch die Dignitätsbeurteilung ist nicht vorrangige Sache der Immunhistochemie, obwohl sie hier insbesondere bei in situ Neoplasien im Grading hilfreich und diagnostisch wertvoll sein kann. In der onkologischen Diagnostik ist die Immunhistochemie ein nicht mehr wegzudenkender Bestandteil eines „state of the art“- Befundes. Der Mehraufwand in der Diagnostik wird jedenfalls gerechtfertigt durch individuelle und effiziente Therapiemöglichkeiten, die für die TumorpatientInnen signifikant höhere Heilungs- und Überlebensraten nach sich ziehen.



Univ.-Prof. Dr. Bettina Zelger
Institut für Pathologie
Medizinische Universität Innsbruck



Prim. Dr. Christa Freibauer
Abteilung für Klinische Pathologie
Landeskrankenhaus Wienviertel Mistelbach

Prim. Univ.-Prof. Dr. Otto Dietze
Institut für Pathologie
St. Johannes-Spital, Salzburg

Gene und Transkripte als Schlüssel für Diagnose und Therapie: Die zunehmende Bedeutung der Molekularpathologie

VON UNIV.-PROF. DR. GERALD HÖFLER UND DR. WOLFGANG HULLA

Konnte vor etwa 25 Jahren durch die Einführung der Immunhistochemie die histomorphologische Beurteilung um die Einbeziehung des spezifischen zellulären Phänotyps erweitert werden, so erlauben molekulare Untersuchungen heute in zunehmendem Maße die Beurteilung krankheitsspezifischer genotypischer Veränderungen. Dies gestattet bei bestimmten Erkrankungen eine verfeinerte Diagnostik, die wiederum die Grundlage neuer, patientenspezifisch abgestimmter, therapeutischer Strategien bildet.

Die Untersuchung von Genen (molekulare DNA, „Vorlage“), deren Transkripten (mRNA, „Übersetzung“) und den daraus abgeleiteten

Proteinen, aus denen Zellen, Gewebe und Organe aufgebaut sind, stellt eine wichtige Ergänzung konventioneller diagnostischer Methoden in der Pathologie dar.

Ein Hauptanwendungsbereich der Molekularpathologie umfasst Untersuchungen im Rahmen der hämato-onkologischen Diagnostik. Die Identifikation maligne transformierter Zellen und der Nachweis dieser Zellen im weiteren Krankheitsverlauf (Erkennung der minimalen Resterkrankung) spielt hier eine zentrale Rolle. Eine zunehmende Bedeutung nehmen die Ergebnisse auch in der Risikoabschätzung ein.

Ein weiteres Einsatzgebiet stellt die Mikrobiologie dar, da hohe Spezifität und Sensitivität, sowie das oft wesentlich raschere Ergebnis der molekularen Diagnostik in schwierigen Fällen die konventionellen Methoden des Erregernachweises erweitern. Weiters können sogar Erreger erfasst werden, die mit konventionellen Techniken nicht nachweisbar sind.

Zahlreiche hereditär bedingte Erkrankungen können im Kontext klinischer Screening-Verfahren durch molekulare Methoden identifiziert werden. Dadurch kann eine rechtzeitige Therapie potentiell gefährdeter Patienten eingeleitet werden (zum Beispiel Aderlasstherapie bei hereditärer Hämochromatose).

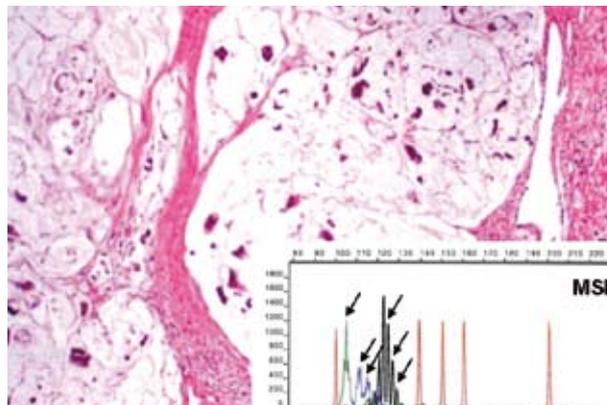
In diesem Beitrag sollen Einsatzbereiche der Untersuchungen von Genen und ihren Transkripten im Kontext der klinisch pathologischen Diagnostik anhand einiger Beispiele dargestellt werden.

Onkologie

Die Amplifikation eines Onkogens (HER2/neu) ist einer der wichtigsten prädiktiven Faktoren für die Therapie des Mammakarzinoms. Der Nachweis der Amplifikation ist Voraussetzung für die Trastuzumab-Therapie. Weiters bedeutet eine Amplifikation Resistenz gegenüber CFM, 5-FU, MTX und Tamoxifen sowie Radiotherapie, hingegen Sensitivität gegenüber Doxorubicin. Die Standardmethode zum Nachweis des Amplifikationsgrades des HER2/Neu-Onkogens stellt die Immunhistochemie (HercepTest) dar. Diese ist jedoch in einem Teil der Fälle nicht sicher aussagekräftig. Hier lässt sich durch die Bestimmung der Anzahl der Genkopien des HER2/Neu-Gens mittels FISH-Technik (Fluoreszenz in-situ Hybridisierung) eine eindeutige Unterscheidung treffen.

Das Dickdarmkarzinom ist in 15 bis 20 Prozent durch vererbte Ursachen bedingt. Davon ist ein Drittel der Fälle auf eine Störung eines DNA-Reparaturmechanismus zurückzuführen. Das entsprechende Krankheitsbild wird HNPCC (Hereditary Non-Polyposis Colon Carcinoma) bezeichnet. Es manifestiert sich bei jungen Patienten durch Tumoren (muzinöse Adenokarzinome), die überwiegend im rechtsseitigen Dickdarm (Coecum, Colon ascendens) lokalisiert sind.

Funktionsstörungen in DNA-Reparaturgenen (hMSH2, hMSH6, hMLH1, hPMS1, hPMS2) lassen sich durch die daraus resultierende hohe Mutationsrate in sogenannten Mikrosatelliten nachweisen. Hierbei handelt es sich um repetitive DNA-Sequenzen, deren Länge sich bei Vorliegen einer Störung des DNA-Reparaturmechanismus verändert. Diese so genannte „Mikrosatelliteninstabilität“ (MSI) lässt sich durch Untersuchung der Länge der entsprechenden PCR-Produkte nachweisen (siehe Abb.). Von einer derartigen genetischen Veränderung betroffene Patienten müssen in ein engmaschiges Nachsorgeprogramm aufgenommen werden. Die Sequenz-Analyse der DNA-Reparatur-Gene erlaubt im Weiteren die Identifizierung von gefährdeten Familienmitgliedern.



Nachweis der Mikrosatelliteninstabilität (MSI) eines muzinösen Adenokarzinoms (Colon ascendens)

Der Nachweis der Translokation der Gene SYT/SSX mittels RT-PCR ist aus formalin-fixiertem, paraffin-eingebetteten Gewebe möglich und spielt eine wichtige Rolle in der Diagnose von Synovialsarkomen.

Hämatologie

Die Anwendung molekulpathologischer Untersuchungen in der Hämatologie liegt in der Erstellung von Diagnosen in Zusammenschau mit histomorphologischen und immunhistochemischen Befunden. In weiterer Folge kann sie in der Erarbeitung einer individuellen Risikoabschätzung, in der Beurteilung der Krankheitsausbreitung, in der Therapiekontrolle und in der Früherfassung eines Rezidivs eine wichtige Rolle spielen.

Leukämien

Krankheitsspezifische genetische Veränderungen von Leukämiezellen lassen sich durch verschiedene Methoden nachweisen. Seit langem bekannt ist das so genannte Philadelphia-Chromosom, das bei der chronisch-myeloischen Leukämie zytogenetisch nachgewiesen werden kann. Die Nachweisgrenze dieser Methode liegt allerdings nur bei etwa ein Prozent translokations-positiver Zellen. Zur Feststellung des Therapieerfolgs ist bei Verwendung moderner Behandlungsmethoden – wie zum Beispiel spezifische Tyrosinkinasehemmer (Imatinib) und nach Knochenmarkstransplantation – jedoch eine wesentlich höhere Sensitivität nötig, die durch die quantitative RT-PCR (reverse transcription-PCR, die quantitative Erfassung von Transkripten) erreicht wird. In analoger Weise lässt sich auch eine Vielzahl anderer Translokationen wie zum Beispiel

PML-RAR α bei der Promyelozytenleukämie bestimmen. Eine spezifische Mutation des JAK2 Gens (V617F) wird in der Mehrzahl der Fälle der chronischen myeloproliferativen Erkrankungen Polyzythämia vera und essentielle Thrombozythämie gefunden und erleichtert die Diagnose von Frühstadien.

Der Nachweis spezifischer genetischer Veränderungen wie zum Beispiel der Translokation PML/RAR α oder von FLT3 Duplikationen stellt einen wichtigen prognostischen Parameter dar, der in seiner Bedeutung

die Klassifikation der Erkrankungen nach FAB deutlich übertrifft.

Maligne Lymphome

Maligne Lymphome stellen eine klonale Proliferation von B- oder T-Zellen dar. In Lymphknoten, anderen Gewebeproben und auch im peripheren Blut lässt sich ein monoklonales Rearrangement der Immunglobulin-Schwerketten-Gene oder der T-Zell-Rezeptor-Gene mittels PCR nachweisen und dient zur Abgrenzung von reaktiven (polyklonalen) Zellpopulationen. Mit diesen Methoden werden ungefähr 80 Prozent der monoklonalen Rearrangement-Muster erfasst. Durch diese Untersuchung können selbst dann noch klonale (maligne) Zellpopulationen erfasst werden, wenn

die rein morphologischen Kriterien eines Lymphoms nicht mehr erfüllt sind.

Der Nachweis von spezifischen Translokationen wie BCL2/Immunglobulin Schwereketten-Gen beim folliculären Lymphom oder NPM/ALK beim großzellig-anaplastischen Lymphom unterstützt die morphologische und immunhistochemische Diagnostik.

Erregerdiagnostik

Der konventionelle Nachweis von Erregern wird in einigen Fällen durch molekularpathologische Untersuchungen abgelöst. Dies ist vor allem dann notwendig, wenn Kulturmethoden sehr lange dauern wie zum Beispiel bei einem Nachweis von Mykobakterien.

Darüber hinaus ist nur mit molekularen Methoden die Identifizierung von nicht kultivierbaren Organismen, wie Bartonella henselae (Erreger der Katzenkratzkrankheit) oder Tropheryma whippelii, möglich.

Genetisch bedingte Stoffwechselerkrankungen

Genetisch bedingte Stoffwechselerkrankungen wie die hereditäre Hämochromatose oder Morbus Wilson werden oft erst durch das Vorliegen einer Leberzirrhose entdeckt. Das Vorliegen entsprechender klinischer und histomorphologischer Veränderungen erfordert für eine definitive Diagnose den Nachweis des zugrunde liegenden genetischen Defekts. Dadurch können weitere Genträger in einer betroffenen Familie erkannt und rechtzeitig einer präventiven Therapie zugeführt werden.

Zukünftige Entwicklungen

Die neuesten Technologien ermöglichen die parallele Analyse

mehrerer tausend genetischer Parameter zum Beispiel durch die DNA-Chip-Technologie. Ein derartiges genetisches Profil entspricht der unterschiedlichen Expression von Genen und soll krankheitsspezifische Veränderungen möglichst vollständig erfassen. Auf der Basis dieser genomweiten Untersuchungen können wesentlich einfachere, jedoch noch immer aussagekräftige Gensignaturen bestimmt werden, die eine präzisere prognostische Abschätzung maligner Erkrankungen zulassen. Ein Beispiel hierfür ist der von Gensignaturen abgeleitete immunhistochemische Nachweis der CD10, BCL6 und MUM1 Expression zur Zuordnung diffuser großzelliger B-Zell-Lymphome zum „germinal“ oder „non-germinal center“ Typ.

Durch die Analyse der Verteilung genetischer Variationen (SNPs: single nucleotide polymorphisms, Veränderungen einzelner Nucleotide einer DNA-Sequenz) können auch Prädispositionen für Erkrankungen erfasst werden, ohne dass der spezifische genetische Defekt bekannt sein muss. Weiters könnten genetische Risikoprofile für multifaktoriell bedingte Erkrankungen erstellt werden oder auch das Ansprechverhalten oder die Gefahr von Nebenwirkungen bestimmter Medikamente erfasst werden.



Univ.-Prof. Dr. Gerald Höfler
Institut für Pathologie
Medizinische Universität Graz



Dr. Wolfgang Hulla
Pathologisch-bakteriologisches Institut
Kaiser-Franz-Josef-Spital, Wien

Die Bedeutung der mikrobiologischen Diagnostik und der Infektionspathologie für den Tumorpatienten

VON DR. GERHARD TUCEK, PRIM. UNIV.-DOZ. DR. CHRISTOPH WENISCH UND PRIM. DR. OTTO BRAUN

Der rasche Fortschritt auf dem Gebiet der hämatologisch-onkologischen Therapie bedeutet auch neue Herausforderungen für die Infektionsdiagnostik und -therapie. Im Rahmen intensiver anti-neoplastischer Therapien treten immer häufiger interkurrente infektiöse Erkrankungen auf und stellen einen schwerwiegenden limitierenden prognostischen Faktor dar. Die Infektionsdiagnostik, wie sie von den pathologisch-bakteriologischen Instituten angeboten wird, ist ein unverzichtbarer Bestandteil der interdisziplinären Onkologie.

Therapieassoziierte Probleme

Die häufigste therapieassoziierte „Komplikation“ ist die Neutropenie, da bei einem Absinken der Zahl der neutrophilen Granulozyten unter 500 pro Mikroliter Blut mit einem signifikanten Anstieg der Infektionshäufigkeit zu rechnen ist. Fieber beim neutropenischen Patienten ist als Notfall zu werten und bedarf einer raschen und umfassenden Infektionsdiagnostik als Basis der kalkulierten Therapie.

Das neutropenische Fieber wird als Temperaturerhöhung über 38 Grad Celsius bei einer absoluten Neutrophilenzahl von unter 500 pro Mikroliter definiert. Weiters findet sich ein Anstieg von Entzündungsparametern, wie dem C-reaktiven Protein im Blut.

Die Hauptursache des neutropenischen Fiebers sind bakterielle Infekte, wobei vor allem Staphylokokken, Enterokokken, aber auch Gram-negative Erreger inklusive Pseudomonas nachgewiesen werden.

Da viele Tumorpatienten bereits vielfache Krankenhausaufenthalte hinter sich haben, ist auch mit Antibiotika-resistenten Selektionskeimen bzw. Hospitalismuskernen zu rechnen. In erster Linie sei im Gram-positiven Bereich der Methicillin-resistente Staphylococcus aureus (MRSA) erwähnt, im Gram-negativen Bereich stellen hochresistente Escherichia coli oder Klebsiellen-Stämme ein zunehmendes Problem dar. Diese Keime produzieren Breitpektrum-Betalaktamasen (Extended-spectrum Beta-Lactamases, sogenannte ESBL). Pseudomonas ist gegenüber vielen Antibiotika resistent.

Bei länger dauernder Neutropenie und/oder fehlendem Therapieerfolg der antibiotischen Therapie ist an eine invasive Pilzinfektion vor allem mit *Candida species* und *Aspergillus species* zu denken; entsprechende Kulturmedien für diese Pilzarten stehen zur Verfügung.

Antibiogrammaustestung

Vor Beginn einer antibiotischen Therapie sollten auf jeden Fall Blutkulturen (peripher-venös, gegebenenfalls auch zentral aus implantierten Kathetern bzw. Port-a-cath-System) sowie auch eine Harnkultur abgenommen werden. Zudem sollten tiefe mikrobiologische Abstriche aus allen kutanen Läsionen (zum Beispiel Ulcus) entnommen werden. Die Blutkulturen, im Normalfall je eine aerobe und eine anaerobe Flasche, werden im bakteriologischen Labor in einem automatisierten System bebrütet und überwacht, bei Auftreten eines Keimwachstums (meist innerhalb der ersten 48 Stunden) alarmiert das Gerät, es wird von der betreffenden Blutkultur eine Gram-Färbung hergestellt und das Ergebnis telefonisch den Klinikern bekannt gegeben. Aufgrund dieses Befundes kann der Kliniker sofort eine entsprechende antibiotische Therapie einleiten.

Als weiterer Arbeitsschritt folgt der Ausstrich des Blutes auf Nährböden (Agarplatten) und die Erstellung des Antibiogramms. In den meisten Laboratorien erfolgt die Antibiogrammaustestung auf der Basis der Bestimmung der minimalen Hemmkonzentrationen, diese Arbeitsschritte können teilweise bereits durch automatisierte Systeme durchgeführt werden. Der Vorteil dieser Systeme besteht auch darin, dass Resistenzmechanismen vieler Bakterien gegenüber Antibiotika rasch und zuverlässig detektiert werden. Das Antibiogramm ist für den klinisch tätigen Arzt eines der wichtigsten Kriterien zur Auswahl des „adäquaten“ Antibiotikums. Es ermöglicht aber auch eine Korrektur oder Ergänzung einer bereits laufenden empirischen Therapie.

Schon in naher Zukunft werden neu entwickelte genetische Untersuchungsmethoden (Gen-Sonden) einen noch rascheren Direktnachweis der häufigsten bakteriellen Infektionserreger aus dem Blut oder anderen Untersuchungsmaterialien ermöglichen.

Jede länger dauernde antibiotische Therapie kann zu einem Ungleichgewicht der physiologischen Darmbakterienflora führen. In diesem Zusammenhang ist die Antibiotika-assoziierte Kolitis, hervorgerufen durch das Bakterium *Clostridium difficile*, eine gefährliche, oft lebensbedrohliche Form einer Dickdarmentzündung. Sie ist gekennzeichnet durch massive, meist schleimige Durchfälle mit Flüssigkeits- und Elektrolytverlust. Im Extremfall kann eine Darmperforation mit Peritonitis resultieren. Regelmäßige Einsendungen von Stuhlproben an das bakteriologische Labor, insbesondere bei Kolitisverdacht und vorangegangener antibiotischer Therapie, ermöglichen eine rasche Identifizierung des Erregers und die Ergreifung effizienter Gegenmaßnahmen.

Keinesfalls sinnvoll dagegen und daher abzulehnen sind routinemäßige Stuhluntersuchungen auf Sprosspilze (*Candida*), da diese natürlicherweise im Darm existieren. Die Menge der im Darm vorkommenden Pilze variiert individuell sehr stark, ist von den Ernährungsgewohnheiten und auch von medikamentösen Fakto-

ren abhängig. Während und unmittelbar nach Antibiotikatherapie ist regelmäßig eine starke Vermehrung von *Candida species* im Darm und Stuhl zu beobachten.

Harnwegsinfektionen

Die Diagnostik von Harnwegsinfektionen stellt eine weitere wichtige, für den Patienten praktisch nicht belastende Maßnahme dar, wobei allerdings wesentliche Unterschiede in der Befundinterpretation je nach Gewinnungsart des Harns zu berücksichtigen sind. Nicht nur die Identifikation von potentiell pathogenen Erregern von Harnwegsinfektionen, sondern auch die Keimzahl ist ein wichtiges Kriterium zur Unterscheidung einer Harnwegsinfektion von einer möglichen Kontamination. Während bei Mittelstrahlharnen erst eine Keimzahl von 10^5 oder darüber signifikant für einen Harnwegsinfekt ist, wird die Grenze bei Einmalkatheterharnen, insbesondere im Fall von urologischen Neoplasmen, bei 10^4 festgesetzt. Die überwiegende Zahl von Harnwegsinfektionen wird nach wie vor von *Escherichia coli* hervorgerufen, es ist allerdings auch in Österreich eine deutliche Zunahme von hochresistenten Breitspektrum-Betalaktamasen-bildenden Stämmen feststellbar.

Onkologisches Screening

Vielorts ist das sogenannte onkologische Screening üblich, das heißt, dass in regelmäßigen zeitlichen Abständen (zum Beispiel einmal wöchentlich) Abstrichkulturen von verschiedenen Körperstellen und Körperöffnungen zur mikrobiologischen Untersuchung eingesandt werden. Diese Vorgangsweise hat nur insoweit Sinn, als es den Nachweis von hochresistenten Problemkeimen bzw. Hospitalismuskernen (MRSA, ESBL) betrifft. Eine Austestung der standorttypischen Bakterienflora ist dagegen nicht sinnvoll. Wichtig ist jedoch die Erstellung eines jährlichen „Resistenzberichtes“, der eine exakte Aussage über die Häufigkeit spezifischer Antibiotika-resistenter Bakterien erlaubt. Das ist insbesondere für onkologische Abteilungen im Sinne des Einsatzes der empirischen (kalkulierten) Therapie notwendig. Nur so können internationale und nationale Standards und Richtlinien auf die spezifische mikrobielle Situation in onkologischen Zentren angewandt werden.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die mikrobiologische Diagnostik ebenso wie die klinische Infektiologie ein integrierter Bestandteil der interdisziplinären onkologischen Zusammenarbeit ist.



OA Dr. Gerhard Tucek

*Leiter des bakteriologischen Labors, Pathologisch-bakteriologischen Institut
Kaiser Franz Josef-Spital, Wien*



Prim. Univ.-Doz. Dr. Christoph Wenisch

*4. Medizinische Abteilung
Kaiser-Franz-Josef-Spital, Wien*

Prim. Dr. Otto Braun

*Pathologisch-bakteriologisches Institut
Waldviertelklinikum Horn*

Die Bedeutung von Biobanken in der modernen Onkologie

VON DR. NIKOLAUS WICK UND UNIV.-PROF. DR. KLAUS KASERER

Traditionellerweise wird in der Diagnostik von Tumoren dem Patienten bioptisch oder chirurgisch Tumorgewebe entnommen und vom Pathologen der histologische Tumortyp und das Tumorstadium erhoben. Beide Parameter dienen wesentlich zur Einschätzung der individuellen Voraussage des Krankheitsverlaufs. Die pathohistologische Untersuchung ist für die meisten Tumorarten nach wie vor der Goldstandard, anhand der die richtige Therapie für den individuellen Patienten ausgewählt wird.

Entscheidungen auf Basis molekularer Besonderheiten

Durch die Einführung neuer, auf den Erkenntnissen der Molekularbiologie beruhenden Therapien, wird dieses Konzept der „patientenorientierten Therapieindividualisierung“ zunehmend erweitert. Zusätzlich zu Tumortyp und -stadium werden Therapieentscheidungen auch von den molekularen Besonderheiten des Tumorgewebes (Biomarker) beeinflusst. Patienten, die auf bestimmte Therapieformen besonders gut ansprechen, können über ihre „Biomarker-Signatur“ identifiziert werden. So sind zum Beispiel die völlig neuartigen sogenannten DNA chips oncoType DX™ bzw. Mammprint™ imstande, aufgrund der genetischen Signatur des Tumorgewebes voraussagen, welche Patientinnen bei gleichem histologischem Tumortyp und Tumorstadium von einer Chemotherapie profitieren werden.

Weiters existieren erste Therapien, die sich gegen, dem Tumor eigene, veränderte Moleküle – eben Biomarker – richten, und viele weitere werden derzeit von der pharmazeutischen Industrie entwickelt und getestet. Beispiele sind das beim Mammakarzinom angewendete Trastuzumab und das bei chronisch myeloischen Leukämien, gastrointestinalen Stromatumoren und Hirntumoren angewendete Imatinib. Voraussetzung für die Anwendung und Wirksamkeit dieser Medikamente ist der Nachweis der jeweiligen Biomarker im Tumorgewebe jener Patienten, die für die Therapie in Frage kommen.

Voraussetzungen zur Identifizierung

Wesentlich für die verlässliche Identifizierung von Biomarkern – sowohl in der Diagnostik als auch in der Entwicklung – ist jedoch ein guter Erhaltungszustand des Tumorgewebes. Übliche Aufbewahrungsmethoden von Tumorgeweben wie Formalinfixierung und Einbettung in Paraffin gewährleisten diesen notwendigen Erhaltungszustand des Gewebes nicht ausreichend, sodass es notwendig geworden ist, das Gewebe auch in tiefgefrorenem Zustand aufzubewahren und Biobanken oder -archive aufzubauen.

Repräsentative Teile des im Rahmen chirurgischer oder bioptischer Eingriffe entnommenen Gewebes werden sofort nach der chirurgischen Entfernung durch den Pathologen dem Operationspräparat entnommen, tiefgefroren und bei minus 80 Grad Celsius bzw. in flüssigem Stickstoff aufbewahrt. Bei der Asservierung des Gewebes ist besonders darauf zu achten, dass erstens repräsentatives Gewebe entnommen wird und zweitens die Bestimmung von Tumortyp und Tumorstadium durch die Gewebsentnahmen nicht unmöglich gemacht wird. Beide Punkte sind nur gewährleistet, wenn die Asser-

vierung des Gewebes durch einen geschulten Pathologen erfolgt, sodass Gewebebanken in der Regel durch klinisch-pathologische Institute betreut werden und dort lokalisiert sind.

Der medizinische Nutzen einer Biobank muss durch ausreichende Ressourcen verschiedener Qualitäten sichergestellt sein: Unter biologischen Ressourcen wird die Gesamtheit aller archivierten Gewebeproben subsumiert. Sie sind das Herzstück der Biobank. Es liegt an allen beteiligten Personen, dem Patienten, dem Arzt, dem technischen und dem wissenschaftlichen Personal, ob eine Gewebeprobe auch wirklich ihren Weg in die Biobank und deren Folgeuntersuchungen findet. Damit hängen zwingend die personellen Ressourcen zusammen. Speziell geschultes Personal im operativen wie im strategischen Bereich muss langfristig gesichert für den Betrieb einer Biobank zur Verfügung stehen. Eine weitere Voraussetzung sind technische Ressourcen, also die Infrastruktur. Dabei legen die Abläufe in der Diagnostik die Ansiedelung einer Biobank auf einem histopathologischen Institut nahe. Innerhalb dieses gilt es, die Laborausstattung zur Verfügung zu stellen und die Anschaffung von Lagerkapazitäten – wie Tanks mit flüssigem Stickstoff bei minus 196 Grad Celsius oder Tiefkühlchränke für minus 80 Grad Celsius – zur langfristigen Kühlung von Material, sowie von Geräten für die Aufarbeitung und für die molekulare oder morphologische Bearbeitung der Proben bei leistbaren Raummieten und Raumpflegekosten zu ermöglichen.

Es liegt auf der Hand, dass die Verortung und Bearbeitung der Proben unter höchsten Qualitätsstandards, die ständige ethische und rechtliche Begleitung der Biobankagenden, die diagnostischen Analysen und die Forschungsprojekte der Bereitstellung von ausreichenden und kontinuierlichen finanziellen Ressourcen bedürfen. Die Errichtung großer Biobanken, die ihrerseits vernetzt sind, verlangt die transparente Aufschlüsselung von Gemein- und Einzelkosten, um dem biomedizinischen Wert einen kontrollierbaren finanziellen Wert gegenüberzustellen.

Finanzierung als kritische Größe

Die kritische Größe innerhalb der angeführten Ressourcen stellt erwartungsgemäß die Finanzierungsseite dar. Ein Träger der Biobank wie eine Universitätsklinik stellt zumeist das hoch qualifizierte Personal und die fachgerechte Abwicklung der Gewebsspende zur Verfügung. Sie kommt oft auch der Bereitstellung der Räumlichkeiten als einer wichtigen Position des Anlagevermögens nach. Durch Eigenkapital des Trägers der Biobank, das im Falle der Universitäten Bundesmittel und somit Steuereinnahmen darstellt und das mit etwa 30 Prozent des Gesamtkapitals zu berechnen ist, kann bereits davon jedoch nur ein Teil bedient werden. Wenn nun noch Großgeräte, zusätzliches Personal und – das im Fall von Forschungsprojekten nicht unbeträchtliche – Umlaufvermögen wie Laborreagenzien miteinbezogen werden, wird offensichtlich, dass die eklatante Finanzierungslücke mit Fremdkapital geschlossen werden muss. Es ist also unausweichlich, an eine Finanzierung aus Drittmitteln zu denken. Dafür kommen zwei Varianten in Frage:

- Mit dem Einwerben von akademischer und industrieller Forschungsförderung gezielt für die Biobank oder im Rahmen von Projekten, die sich die Gewebeproben zunutze machen, wie zum Beispiel die Krebsforschung, wird ein großer Teil der fehlenden Mittel zu bewerkstelligen sein. Die Institutionalisierung gemeinsamer österreichischer Biobankaktivitäten im nationalen und europäischen Forschungsumfeld im Rahmen mehrjähriger Forschungsschwerpunkte sollte dafür als geeignete und glaubwürdige Plattform dienen.

- Da die Biobank im Sinne der individuell angepassten Therapie für die Patienten von großer Bedeutung ist, wäre es auch notwendig, zusätzlich öffentliche und private Gesundheitssysteme als Finanzierungsquellen heranzuziehen. Letztlich wird ja durch die am Patienten orientierte Therapieindividualisierung eine Ökonomisierung der Therapiekosten erreicht und dadurch sicher gestellt, dass für alle Patienten der Zugang zur optimalen Diagnostik und Therapie erhalten bleibt. Es ist ausdrücklich darauf hinzuweisen, dass die strenge Hand der

Betreiber der Biobank dafür sorgen muss, dass die generierten Finanzströme im Sinne der Öffentlichkeit eingesetzt werden. Die Tatsache, dass alle Beteiligten innerhalb des medizinischen Systems zu sorgfältigem und anonymem Umgang mit den Gewebeproben verpflichtet sind, sollte es ähnlich wie bei der elektronischen Gesundheitsakte garantieren, dass der öffentliche Auftrag zum Erhalt der Gesundheit und der Vermeidung und Heilung von Krankheit auch als oberste Regel der Biobank befolgt wird. Dies trifft exakt den Berufsbegriff des Fachs Pathologie, die sich seit je her dem Gewebe widmet und die treibende Kraft der Biobanken in Österreich verkörpert.

Dr. Nikolaus Wick (links)



Univ.-Prof. Dr. Klaus Kaserer (rechts)



*Klinisches Institut für Pathologie
Medizinische Universität Wien*

Steigerung der Zuverlässigkeit der pathologischen Diagnostik durch prozessorientierte qualitätsgesicherte Arbeitsweise

VON OA DR. KURT PREIN, PRIM. DR. WOLFGANG SEGA UND PRIM. UNIV.-DOZ. DR. GERHARD SYRÉ

Die breite Öffentlichkeit assoziiert mit dem Fach Pathologie üblicherweise die Obduktionstätigkeit. Ihre Bedeutung für eine unabhängige Qualitätssicherung in der Medizin ist unbestritten, in Wirklichkeit aber ist die Pathologie das zentrale diagnostische Fach für Tumorerkrankungen.

Vom Pathologen werden möglichst eindeutige und „harte“ Diagnosen verlangt, welche die Basis für grundlegende therapeutische Weichenstellungen sind und mit entsprechenden Konsequenzen für den Patienten verbunden sind. Qualitätsgesicherte Arbeit muss daher für alle Pathologen Pflicht und Anliegen sein.

Anforderungen an die Qualität

Fachlich gliedert sich pathologisch-diagnostische Arbeit in verschiedenen Phasen. Entscheidend für reproduzierbare und verlässliche Ergebnisse ist die Organisation der Materialverarbeitung. Diese umfasst alle Vorgänge beginnend bei der Präanalytik (Entnahmetechnik, Fixation, klinische Angaben, Einsendung) über die Präparation der verschiedenen Materialien in den Labors bis zum fertigen Produkt (histologischer Schnitt, immunhistochemische Färbung, zytologischer Abstrich, mikrobiologische Kultur). Diese Abläufe sind gut dokumentierbar und sollten in eindeutiger Art und Weise festgelegt werden.

Die eigentliche diagnostische Leistung ist beeinflusst durch den menschlichen Faktor einer individuellen Wertung und beruht auf der Qualität des einzelnen Befunders. Diese Qualität wird durch verschiedene Faktoren gewährleistet, wie Ausbildung, eigene Fortbildung und Zusammenarbeit innerhalb eines Instituts. Außerdem institutsübergreifend in Form von Konsiliarbe-

urteilungen durch andere Pathologen, die sich intensiv mit einem Teilgebiet beschäftigen, sowie in regelmäßigen Fallbesprechungen mit den klinisch tätigen Ärzten (zum Beispiel Tumorboard) und durch das Einhalten bestimmter international anerkannter Standards.

Eine besonders anspruchsvolle Leistung speziell bei onkologischen Erkrankungen stellt der intraoperative Schnellschnitt zur Beurteilung der Resektionsränder und der Lymphknoten dar. Ziel ist eine individuell angepasste und optimale Ausdehnung eines operativen Eingriffs.

Qualitätssicherung

In den letzten Jahren haben die Österreichische Gesellschaft für Pathologie und die Österreichische Gesellschaft für Zytologie große Bemühungen hinsichtlich Qualitätssicherung unternommen. Als Beispiel hervorzuheben ist dabei das Projekt freiwillige Selbstkontrolle in der Zytologie mit der Möglichkeit einer Teilnahme an einer österreichweiten Auswertung. Im Teilbereich gynäkologische Zytologie wurden beispielsweise im Jahr 2004 Daten von über einer Million Abstrichen gesammelt und nach unterschiedlichen Gesichtspunkten gewertet. Detailliert werden PAP-Ergebnisse und die Korrelation von zytologischer und nachfolgender histologischer Untersuchung, aber auch die Abstrichqualität der zuweisenden Ärzte analysiert. Das bereits seit 1998 durchgeführte Projekt liefert Daten für ein fachlich-orientiertes Benchmarking (www.cytology.at).

Ein weiterer Meilenstein zur Sicherung der diagnostischen Qualität von Mammakarzinomen wurde von Prim. Univ.-Prof. Dr. Angelika Reiner



Gemeinsame Befundbesprechungen sichern die diagnostische Qualität.

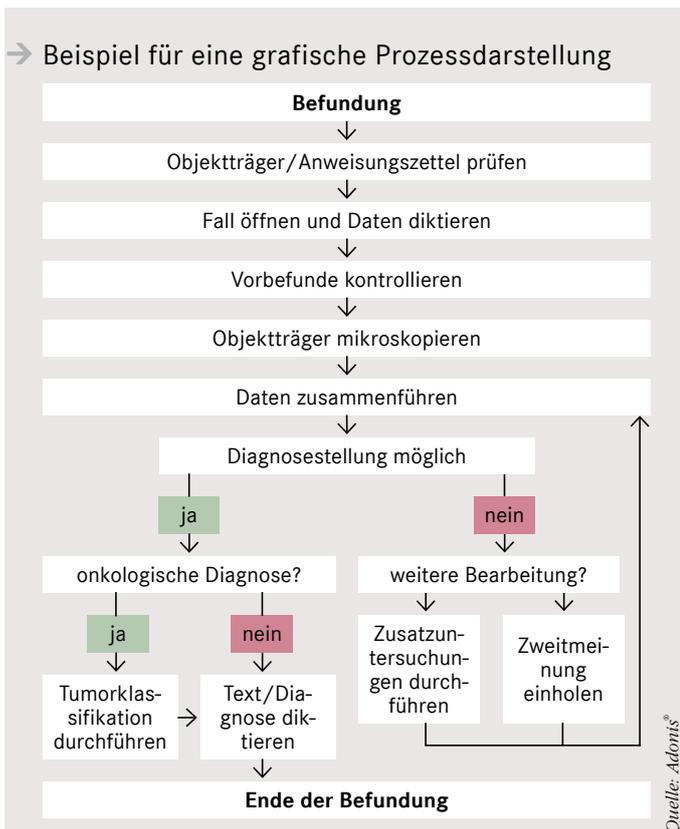
mit der Einführung von Ringversuchen zum Thema Hormonrezeptoren und HER2/neu gesetzt.

Qualitätsstandard

Die Österreichische Gesellschaft für Pathologie hat im letzten Jahrzehnt unter der Federführung von Univ.-Prof. Dr. Hans-Peter Dinges Leitlinien zu allen wichtigen Detailgebieten des Fachs veröffentlicht. Diese befassen sich unter anderem mit korrekter makroskopischer Aufarbeitung und histopathologischer Diagnostik von onkologischen Präparaten unter Einschluss erforderlicher Spezialuntersuchungen, wie zum Beispiel Immunhistochemie. Die Dokumente sind über das Internet allgemein zugänglich (www.pathology.at) und definieren den in Österreich üblichen State of the Art. Vergleichbar dazu wurde unter Univ.-Prof. Dr. Franz Allerberger (AGES) für den Bereich Mikrobiologie ein diagnostischer Minimalstandard definiert und vom Gesundheitsministerium als Richtlinie veröffentlicht. Speziell für die onkologische Diagnostik gibt es umfangreiche Leitlinien des College of American Pathologists (www.cap.org) hinsichtlich Befundinhalt und Befundexaktheit. Weiters betroffen ist die Pathologische Diagnostik auch von Leitlinien/Richtlinien, die von den Gesellschaften der zuweisenden Fachgebiete erarbeitet wurden oder von Anforderungen der Studienprotokolle für diverse Tumorerkrankungen.

Qualitätsmanagement und Prozessorientierung

Qualitätssicherung klärt definitionsgemäß die Frage „wie gut“ etwas funktioniert und ob das vereinbarte Qualitätsniveau erreicht wird. Qualitätsstandards beantwortet die Frage „was“ gemacht werden soll. Die konsequente Weiterentwicklung des Qualitätsgedankens betrifft das „wie“ etwas im Detail gemacht wird.



Die vorhin erwähnte Materialverarbeitung ist ideal in Form von Prozessen darstellbar. Aufeinander folgende Tätigkeiten werden im Detail inklusive der möglichen Einflussgrößen (Input) und der erwarteten Ergebnisse (Output) beschrieben, weiters geklärt werden Durchführung, Verantwortlichkeit und Informationsfluss. Auf Basis der Prozessbeschreibungen können auch sinnvolle Kennzahlen definiert werden, die für eine begleitende Kontrolle verwendet werden können.

Dieser weit gefasste Qualitätsgedanke überschreitet die Dimension der nachträglichen Sicherung von vereinbarten Qualitätsniveaus durch eine vorausschauende exakte Definition. Bei Einhaltung einer prozessorientierten Arbeitsweise ist mit hoher Sicherheit ein bestimmtes Endergebnis zu erwarten.

Durch die Beschäftigung mit Prozessmanagement wird die Arbeitsweise in einem Institut zunehmend strukturiert. Routineprozesse werden optimiert, seltene Ereignisse werden festgelegt und prinzipiell entschieden. Veränderung zum Besseren und Überarbeitung der Abläufe soll immer möglich sein (KVP: kontinuierlicher Verbesserungsprozess).

Prozessdefinitionen sind grundsätzlich mit Aufwand verbunden. Diese Arbeit ist aber gut investiert, da die Beschäftigung mit der Materie immer wieder neue Gesichtspunkte eröffnet, an die noch nicht gedacht wurde. Ein wesentlicher Vorteil ist die Einschulung neuer Mitarbeiter, die an Hand vorbereiteter Prozessbeschreibungen sehr rasch und umfassend erfolgen kann.

Die Tiefe und Genauigkeit der Dokumentation muss dabei gut mit den Erfordernissen der Praxis abgestimmt werden. Überreglementierung kann den Arbeitsfluss eher hemmen und kontraproduktiv wirken. Die Darstellung soll neben den Texten auch ein Ablaufdiagramm enthalten, um die Inhalte rasch veranschaulichen zu können.

Bedenkt man die möglichen enormen Konsequenzen inkorrekt oder fehlerhafter Diagnosen, muss konsequenterweise eine Null-Fehler-Strategie verfolgt werden. In der Industrie gibt es Qualitätsmanagementsysteme, die mit diesem Ansatz entwickelt wurden (zum Beispiel Six Sigma). Eine detaillierte prozessartige Darstellung der Arbeitsabläufe ist dafür immer eine Grundvoraussetzung und schafft die entsprechende Transparenz. Im Sinne eines lebendigen Qualitätsmanagement muss auch jedes Institut seine eigenen Prozesse definieren. Die Mitgestaltung durch die Institutsmitarbeiter fördert die Identifizierung mit dem Qualitätsmanagement-Gedanken. Ist das System einmal aufgebaut, ist es nur ein kleiner Schritt zu einer externen Zertifizierung (zum Beispiel ISO 9001), die aus Sicht der Autoren angestrebt werden sollte.



OA Dr. Kurt Prein
Institut für Pathologie
LKH Graz West

Prim. Dr. Wolfgang Segal
Institut für Pathologie
Krankenhaus der Barmberzigen Schwestern Linz



Prim. Univ.-Doz. Dr. Gerbard Syré
Institut für Pathologie
AKH der Stadt Linz